



Hochschule Neubrandenburg  
University of Applied Sciences

Fachbereich Agrarwirtschaft und Lebensmittelwissenschaften  
Studiengang Agrarwirtschaft

## **Masterthesis**

zur Erlangung des akademischen Grades  
„Master of Science (M.Sc.)“

### **Prävalenz antibiotikaresistenter Erreger in Abwässern ausgewählter Schlachthöfe**

vorgelegt von:  
Jette Frieda Kleist

**Erstprüferin:** Prof. Dr. Lisa Bachmann  
**Zweitprüfer:** Dr. Timo Homeier-Bachmann

Neubrandenburg  
14.08.2023

urn:nbn:de:gbv:519-thesis2023-0248-3



# Inhaltsverzeichnis

<b>Inhaltsverzeichnis</b> .....	<b>I</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b> .....	<b>III</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b> .....	<b>IV</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>V</b>
<b>1 Einleitung</b> .....	<b>8</b>
<b>2 Literaturübersicht und Stand des Wissens</b> .....	<b>10</b>
2.1 <i>Escherichia coli</i> .....	10
2.1.1 Merkmale .....	10
2.1.2 Pathogene <i>E. coli</i> .....	11
2.2 <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	12
2.2.1 Merkmale .....	12
2.2.2 Pathogene <i>K. pneumoniae</i> .....	12
2.3 Antibiotika .....	13
2.3.1 Wirkung von Antibiotika .....	14
2.3.2 Einteilung von Antibiotika.....	15
2.3.3 Antibiotika in der Tierhaltung .....	17
2.3.4.1 Antibiotika in der Schweinehaltung.....	19
2.3.4.2 Antibiotika in der Geflügelhaltung .....	19
2.4 Bedeutung bakterieller antimikrobieller Resistenzen (AMR) .....	20
2.4.1 Maßnahmen zur Bekämpfung von AMR.....	21
2.4.2 Bakterielle Resistenzmechanismen.....	23
2.4.3 Verbreitungsmechanismen .....	25
2.5 Extended-Spectrum- $\beta$ -Laktamase (ESBL) .....	26
2.6 Multiresistente gramnegative Erreger (MRGN) .....	29
2.7 Schlachtung und Schlachthöfe .....	32
2.7.1 Schlachthofabwässer.....	32
2.7.2 Resistente Erreger in Schlachthofabwässern.....	33
<b>3 Material und Methoden</b> .....	<b>35</b>
3.1 Schlachthöfe und Probenahme .....	35
3.2 Untersuchung des Probenmaterials .....	36
3.2.1 Wasserfiltration .....	37
3.2.2 Bakteriologische Untersuchung .....	37
3.2.3 DNA-Isolierung und -Sequenzierung .....	38

3.2.4 Resistenzbestimmung .....	39
<b>4 Ergebnisse .....</b>	<b>41</b>
4.1 Bakteriologische Untersuchung.....	41
4.2 Resistenzbestimmung .....	42
4.3 DNA-Sequenzierung .....	46
4.3.1 <i>E. coli</i> .....	46
4.3.1.1 Vergleich der phäno- und genotypischen Resistenz .....	47
4.3.2 <i>K. pneumoniae</i> .....	48
4.3.2.1 Vergleich der phäno- und genotypischen Resistenz .....	49
<b>5 Diskussion .....</b>	<b>51</b>
5.1 Kritik der verwendeten Materialien und Methoden .....	51
5.2 AMR-Prävalenzen und Resistenzbestimmung .....	52
5.3 DNA-Sequenzierung .....	54
5.3.1 Vergleich phäno- und genotypischer Resistenzen .....	55
5.3.2 Schlachthof HG (G).....	56
5.3.2.1 <i>E. coli</i> .....	56
5.3.2.2 <i>K. pneumoniae</i> .....	57
5.3.3 Schlachthof GPS (G).....	57
5.3.3.1 Relevante Resistenzgene.....	57
5.3.3.2 Relevante STs .....	58
5.3.3.3 Mögliche Klone .....	60
5.3.4 Schlachthof BG (S).....	61
5.3.4.1 Relevante Resistenzgene.....	61
5.3.4.2 Relevante STs .....	62
5.3.4.3 Mögliche Klone .....	63
5.3.5 Schlachthof HT (S).....	63
5.3.5.1 Relevante Resistenzgene.....	63
5.3.5.2 Relevante STs .....	64
5.3.5.3 Mögliche Klone .....	64
5.3.6 Nachgewiesene Resistenzgene .....	64
5.4 Schlussfolgerungen und Bedeutung der Ergebnisse im One-Health-Kontext.....	65
<b>6 Ausblick .....</b>	<b>68</b>
<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>69</b>
<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>71</b>
<b>Anhang .....</b>	<b>94</b>
<b>Eidesstattliche Erklärung .....</b>	<b>114</b>

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Wirkungsmechanismen der wichtigsten Antibiotika.....	16
Abbildung 2: Antibiotika-Einsatz in der Tierhaltung nach Ländern 2017 und 2030 (Prognose).....	17
Abbildung 3: Entwicklung des Antibiotika-Einsatzes in der deutschen Tierhaltung von 2011 bis 2021 .....	18
Abbildung 4: Komplexität der Verbreitung von AMR .....	22
Abbildung 5: Einteilung der $\beta$ -Laktamasen nach Ambler .....	28
Abbildung 6: Auszug der Deutschlandkarte mit Standortmarkierungen der beprobten Schlachthöfe.....	36
Abbildung 7: Reinkulturen von <i>E. coli</i> (links) und <i>K. pneumoniae</i> (rechts) auf „CHROMagar™ ESBL“-Nährböden.....	38
Abbildung 8: VITEK 2-Carrier mit Probenmaterial und AST-Karten .....	39
Abbildung 9: Anzahl an ESBL-, MDR- und 3MRGN-Isolaten je Schlachthof .....	43
Abbildung 10: Unterteilung der Resistenztypen nach Schlachthöfen und Bakterien.....	44
Abbildung 11: Anzahl an detektierten Resistenzgenen nach Antibiotikaklassen aus <i>E. coli</i> -Isolaten .....	47
Abbildung 12: Anzahl an detektierten Resistenzgenen nach Antibiotikaklassen aus <i>K. pneumoniae</i> -Isolaten .....	49

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Klassifizierung multiresistenter Enterobakterien basierend auf ihren phänotypischen Resistenzeigenschaften (R = resistent oder intermediär, S = sensibel) .....	30
Tabelle 2: Übersicht über die beprobten Schlachthöfe .....	35
Tabelle 3: Übersicht über enthaltene Antibiotika mit jeweiligen Konzentrationen und MHK-Bereichen der "AST-N389"-Karte .....	40
Tabelle 4: Anzahl der insgesamt isolierten E. coli- und K. pneumoniae-Isolaten aus den jeweiligen Schlachthöfen.....	41
Tabelle 5: Auswertung der bakteriologischen Untersuchung unterteilt nach Schlachthöfen, Probennahmetagen und verwendeten Selektivnährböden .....	94
Tabelle 6: Isolierte Bakterien mit Labornummer, ursprünglichem Selektivnährboden, Schlachthof und Datum der Probennahme.....	95
Tabelle 7: Ergebnisse der Resistenzbestimmung sortiert nach Schlachthof, Tag der Beprobung und Art des Bakteriums .....	99
Tabelle 8: Übersicht der vertretenen Sequenztypen bei E. coli-Isolaten des Schlachthofs HG (G).....	102
Tabelle 9: Übersicht der vertretenen Sequenztypen bei E. coli-Isolaten des Schlachthofs GPS (G).....	102
Tabelle 10: Übersicht der vertretenen Sequenztypen bei E. coli-Isolaten des Schlachthofs BG (S).....	103
Tabelle 11: Übersicht der vertretenen Sequenztypen bei E. coli-Isolaten des Schlachthofs HT (S).....	104
Tabelle 12: Übersicht der vertretenen Sequenztypen bei K. pneumoniae-Isolaten aller Schlachthöfe .....	105
Tabelle 13: Geno- und phänotypische Charakterisierung der K. pneumoniae-Isolate....	106
Tabelle 14: Geno- und phänotypische Charakterisierung der E. coli-Isolate des Schlachthofs HG (G).....	107
Tabelle 15: Geno- und phänotypische Charakterisierung der E. coli-Isolate des Schlachthofs GPS (G).....	108
Tabelle 16: Geno- und phänotypische Charakterisierung der E. coli-Isolate des Schlachthofs BG (S).....	110
Tabelle 17: Geno- und phänotypische Charakterisierung der E. coli-Isolate des Schlachthofs HT (S).....	112

## Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
°C	Grad Celsius
3MRGN	Resistenz multiresistenter gramnegativer Bakterien gegen drei bestimmte Gruppen von Antibiotika
4MRGN	Resistenz multiresistenter gramnegativer Bakterien gegen vier bestimmte Gruppen von Antibiotika
AbwV	Abwasserverordnung
AMR	Antimikrobielle Resistenz
APEC	aviär-pathogene <i>E. coli</i>
ArgeVet	Arbeitsgemeinschaft der Leitenden Veterinärbeamten der Länder
AST	Empfindlichkeitsprüfung von Antibiotika (engl. antimicrobial susceptibility testing)
BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung
<i>bla</i>	β-Laktamase-Gen
BLE	Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung
BMEL	Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft
BMZ	Bundesministerium für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung
BVL	Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit
DNA	Desoxyribonukleinsäure
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control
EFSA	European Food Safety Authority
EHEC	enterohämorrhagische <i>E. coli</i>
EPEC	enteropathogene <i>E. coli</i>
ESBL	Extended-Spectrum-β-Laktamase
ETEC	enterotoxische <i>E. coli</i>
EU	Europäische Union

EUCAST	European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases
ExPEC	extraintestinalpathogene <i>E. coli</i>
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
g	Erdbeschleunigung
GLASS	Global Antimicrobial Resistance Surveillance System
I	intermediär
InPEC	intestinalpathogene <i>E. coli</i>
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
kg	Kilogramm
KRINKO	Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention
L	Liter
LB-Medium	Luria-Bertani-Medium
MDR	multiresistent (engl. multidrug-resistant)
MHK	minimale Hemmstoffkonzentration
mL	Milliliter
mRNA	Boten-Ribonukleinsäure (engl. messenger-RNA)
NaCl	Natriumchlorid
NAK	Nationales Antibiotika-Sensitivitätstest-Komitee in Deutschland
PBP	Penicillin-bindendes Protein
PDR	panresistent (engl. pandrug-resitant)
R	resistent
RKI	Robert Koch-Institut
RNA	Ribonukleinsäure
S	Svedberg-Sedimentationskonstante
S	sensibel
SEPEC	Sepsis-verursachende <i>E. coli</i>
SNP	Single nucleotide polymorphism
ST	Sequenztyp
STEC	Shigatoxin-bildende <i>E. coli</i>



t	Tonnen
UNEP	United Nations Environment Programme
UPEC	uropathogene <i>E. coli</i>
USA	United States of America
UV	Ultraviolettstrahlung
WHO	World Health Organization
WOAH	World Organization for Animal Health
XDR	extensively drug-resistant
β	Beta
μL	Mikroliter
μm	Mikrometer

## 1 Einleitung

Antibiotika haben seit ihrer Entdeckung im Jahr 1928 bahnbrechende Entwicklungen in der Medizin ermöglicht. Als Wunderwaffe gegen bakterielle Infektionen revolutionierten sie die Behandlung von bakteriell bedingten Krankheiten, die zuvor schwerwiegende und oft tödliche Konsequenzen hatten (Choi, 2012; Friedrich, 2006). Im Laufe der Zeit kam es zum übermäßigen und häufig unsachgemäßen Einsatz von Antibiotika was dazu führte, dass Bakterien präzise Mechanismen entwickelten, die ihnen eine Resistenz gegen antibiotische Wirkstoffe verleihen und somit einst unkomplizierte Behandlung von Infektionen deutlich erschweren (Akova, 2016; Prescott, 2014).

Die rasende Ausbreitung von Antibiotikaresistenzen stellt heute eine der drängendsten Herausforderungen der modernen Medizin dar. Die stetig wachsende Prävalenz antibiotikaresistenter Erreger ist eine große Bedrohung für die humane und tierische Gesundheit (Schulz-Stübner, 2023). Hierbei spielt auch die intensive Nutztierhaltung zur Produktion von Lebensmitteln wie Fleisch eine Rolle, da sie mit einem massiven Einsatz von Antibiotika einhergeht. So kamen allein im Jahr 2021 rund 600 t Antibiotika in der deutschen Nutztierhaltung zum Einsatz (BLE, 2023a). Diese Praxis hat zu einer maßgeblichen Selektion resistenter Bakterienstämme geführt, weshalb die WHO bakterielle Antibiotikaresistenzen heute als eine der größten Bedrohungen der globalen Gesundheit einstuft (WHO, 2021a).

Die Wege der Verbreitung von Antibiotikaresistenzen sind vielfältig. Als eine wichtige Schnittstelle zwischen Tierhaltung und Umwelt haben sich Schlachthöfe und insbesondere ihre Abwässer als Hotspots für resistente Erreger herausgestellt (Danko et al., 2021; Lepuschitz et al., 2019). Schlachthöfe leiten ihr Abwasser in der Regel in öffentliche Gewässer ein, was ein erhebliches Risiko für die Freisetzung von resistenten Erregern und Resistenzgenen in die Umwelt darstellt (Savin et al., 2020b). Durch den Eintrag resistenter Erreger in die Umwelt können sich diese unkontrolliert ausbreiten, was zu einer nicht kontrollierbaren Besiedlung von Menschen und Tieren führen kann (BMZ, 2022; Woolhouse & Ward, 2013).

Um das Risiko, welches von Schlachthofabwässern ausgeht, besser einschätzen zu können, wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit die Abwässer von vier deutschen Schweine- und Geflügelschlachthöfen an sechs verschiedenen Tagen beprobt und auf das Vorhandensein antibiotikaresistenter *Escherichia coli* und *Klebsiella pneumoniae* untersucht. Ziel war es, die Prävalenz und Diversität dieser antibiotikaresistenten *Enterobacterales* aus den Abwässern mittels phäno- und genotypischer Untersuchungen zu eruieren,

um einen Einblick in die Resistenzsituation verschiedener Schlachthöfe zu gewinnen. Außerdem sollte herausgefunden werden, ob die Schlachthöfe über eine persistierende Flora resistenter Erreger verfügen, welche über den Beprobungszeitraum frequent in den Abwässern nachzuweisen ist, oder ob das Vorkommen resistenter Erreger ausschließlich von den angelieferten Tieren bestimmt wird und sich täglich verändert.

## 2 Literaturübersicht und Stand des Wissens

### 2.1 *Escherichia coli*

#### 2.1.1 Merkmale

Mit der erstmaligen Beschreibung der Spezies *Escherichia (E.) coli* im Jahr 1885, damals unter dem Namen *Bacterium coli commune*, setzte der Kinderarzt Dr. Theodor Escherich einen bedeutenden Meilenstein für Medizin und Forschung (Hacker & Blum-Oehler, 2007). Die gegenwärtige Verfügbarkeit einer vollständigen Genomsequenz und die einfache Handhabung, machen *E. coli* zu einem der wichtigsten Organismen in der Forschung. Heutzutage gibt es kaum eine zelluläre Lebensform, die so gut verstanden ist wie *E. coli* (Blount, 2015; Hacker & Blum-Oehler, 2007). *E. coli* ist der häufigste Kommensale im Magen-Darm-Trakt von Menschen und warmblütigen Tieren, stellt jedoch gleichzeitig einen der wichtigsten Krankheitserreger dar (Kaper et al., 2004).

Zugehörig zur Ordnung der *Enterobacterales*, ist *E. coli* Mitglied der Familie der *Enterobacteriaceae*. Bei der Spezies handelt es sich um gramnegative, fakultativ anaerobe, stäbchenförmige Mikroorganismen, welche eine Größe von 1,1-1,5 µm x 2,0-6,0 µm aufweisen (Brenner & Farmer III, 2005). Der Gastrointestinaltrakt neonataler Menschen und Tiere wird innerhalb weniger Stunden nach der Geburt von *E. coli* besiedelt (Kaper et al., 2004). Kommensale Vertreter sind dabei vor allem in der Muzinschicht des Dickdarms, insbesondere im Caecum und im Colon zu finden. Aus der Muzinschicht, welche die Epithelzellen des gesamten Darmtrakts bedeckt, werden sie mit abgebauten Schleimkomponenten in das Darmlumen abgegeben und so mit den Fäkalien ausgeschieden (Poulsen et al., 1994; Tenaillon et al., 2010). Die Prävalenz und Dichte von *E. coli* im Mikrobiom des Darms schwankt dabei je nach Wirt, Darmmorphologie, Ernährungsgewohnheiten und anderen, im Mikrobiom vertretenen, Spezies. Unabhängig all dieser Faktoren ist *E. coli* jedoch der vorherrschende fakultativ anaerobe Organismus im Gastrointestinaltrakt, was u.a. auf seine hohe Konkurrenzfähigkeit zurückzuführen ist (Bülte & Goll, 2014; Tenaillon et al., 2010).

Als häufigster Kommensale im Gastrointestinaltrakt ist die Beziehung zwischen *E. coli* und seinem Wirtsorganismus in der Regel symbiotischer Natur. So kann *E. coli* bspw. die Ansiedlung von, für die Gesundheit des Wirtsorganismus bedenklichen, Mikroorganismen im Darmmikrobiom verhindern (Bülte & Goll, 2014; Kaper et al., 2004). Die Verursachung von Krankheiten durch kommensale Stämme von *E. coli* ist selten und tritt in der Regel nur ein, wenn der Wirt immunsupprimiert ist, oder seine gastrointestinalen Barrieren geschädigt sind (Kaper et al., 2004).

### 2.1.2 Pathogene *E. coli*

Neben dem Vorkommen als häufigster Kommensale im Gastrointestinaltrakt von Menschen und warmblütigen Tieren, tritt *E. coli* jedoch auch als Pathovar auf, wobei es die Ursache für diverse Krankheiten darstellen kann (Kaper et al., 2004). Ein Pathovar kann dabei als eine pathogene Variante einer taxonomisch verwandten Gruppe von Mikroorganismen, die einen Wirt asymptomatisch, also kommensal, besiedelt, benannt werden (Riley, 2020). Im Laufe der Evolution entwickelten sich hochgradig angepasste Klone von *E. coli*, die spezifische Virulenzmerkmale erwarben, welche wiederum ihre Anpassungsfähigkeit verbesserten und ihnen die Möglichkeit verlieh, verschiedene Krankheiten zu verursachen (Kaper et al., 2004). Darunter fallen Erkrankungen von einer Gastroenteritis bis hin zu extraintestinalen Infektionen von Harnwegen, der Blutbahn oder des zentralen Nervensystems (Croxen & Finlay, 2010). Die Virulenzattribute, die das Verursachen von Krankheiten ermöglichen, sind dabei auf genetischen Elementen kodiert. Diese können in unterschiedliche Bakterienstämme eingebracht werden, was die Entstehung neuer Kombinationen und Virulenzfaktoren ermöglicht. Nur die Virulenzfaktoren, die besonders durchsetzungsfähig waren, konnten sich langfristig zu spezifischen *E. coli*-Pathovaren entwickeln und etablieren, was ihnen die Fähigkeit verleiht, auch bei gesunden Menschen und Tieren Krankheiten hervorzurufen (Kaper et al., 2004). Beispielhaft für erfolgreiche Virulenzfaktoren von *E. coli* sind u.a. Kolonisierungsfaktoren, die Fähigkeit in Epithelzellen des Dünndarms einzudringen oder die Produktion von Hämolysin oder Toxinen zu nennen (Bell & Kyriakides, 2009).

Grundsätzlich lassen sich durch *E. coli*-Pathovare verursachte, Krankheiten danach unterteilen, wo sich das Krankheitsgeschehen im Organismus lokalisiert. Dabei unterscheidet man Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts (InPEC - intestinalpathogene *E. coli*), sowie Erkrankungen des Urogenitaltrakts und Krankheitsbilder wie Meningitis oder Sepsis (ExPEC - extraintestinalpathogene *E. coli*) (Kaper et al., 2004). Relevante pathogene InPEC-Vertreter sind z.B. enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC), enterotoxische *E. coli* (ETEC), enteropathogene *E. coli* (EPEC) oder Shigatoxin-bildende *E. coli* (STEC). Für ExPEC sind z.B. uropathogene *E. coli* (UPEC), Sepsis-verursachende *E. coli* (SEPEC) oder aviär-pathogene *E. coli* (APEC) zu nennen (Bell & Kyriakides, 2009; Bischoff, 2009; Denamur et al., 2021).

Die Übertragung von *E. coli* kann u.a. über den Verzehr kontaminierter Lebens- bzw. Futtermittel sowie kontaminiertem Wasser, aber auch durch oralen oder oral-fäkalen Kontakt zwischen Organismen erfolgen (WHO, 2018).

## **2.2 *Klebsiella pneumoniae***

### **2.2.1 Merkmale**

Bei *Klebsiella (K.) pneumoniae*, ebenfalls zugehörig zu den *Enterobacterales*, handelt es sich um ein gramnegatives, unbewegliches, fakultativ anaerobes und stäbchenförmiges Bakterium, welches einen Durchmesser von 0,3-1 µm und eine Länge von 0,6-6 µm aufweist (Pavan et al., 2022). Es werden drei Typen von *K. pneumoniae* unterschieden: der opportunistische, der hypervirulente und der multiresistente Typ (Martin & Bachman, 2018). *K. pneumoniae* kommen ubiquitär auf Schleimhautoberflächen von Menschen und Tieren, sowie in der Umwelt vor und können somit sowohl freilebend als auch wirtsassoziiert überleben. Primär werden der Gastrointestinaltrakt, aber auch der Nasen-Rachen-Raum besiedelt, wo das Bakterium entweder als Kommensale, als opportunistischer Erreger oder als potenzielles Pathogen vorkommen kann (Wang et al., 2020; Wyres et al., 2020; Wyres & Holt, 2018). Schätzungen weisen darauf hin, dass *K. pneumoniae* ein häufiger Bewohner des Darmtrakts von Säugetieren ist und auch in Vögeln konnte die Gattung nachgewiesen werden (Wyres & Holt, 2018). Im landwirtschaftlichen Kontext betrachtet, liegen zum heutigen Zeitpunkt nur wenige Informationen über die Bedeutung und Auswirkung von *K. pneumoniae*-assoziierten Infektionen auf das Wohlergehen und die Produktivität landwirtschaftlicher Nutztiere vor. Auch über die Epidemiologie, die Resistenzprofile und -entwicklung bei Isolaten, die nicht von humaner Herkunft sind, ist bislang wenig bekannt (Wareth & Neubauer, 2021). Schierack et al. (2007) untersuchten die Zusammensetzung der *Enterobacterales*-Populationen im Darm gesunder Schweine, woraus resultierte, dass *K. pneumoniae* in 84% der Proben in der Untergruppe der schleimhautassoziierten Bakterien nachgewiesen werden konnte.

### **2.2.2 Pathogene *K. pneumoniae***

*K. pneumoniae* verfügt über zahlreiche genetische Faktoren, die es dem Bakterium ermöglichen Krankheiten zu verursachen. Alle Stämme von *K. pneumoniae* beinhalten eine Untergruppe zentraler chromosomal kodierter Pathogenitätsfaktoren, welche die Grundvoraussetzungen für die Entstehung opportunistischer Infektionen in Säugetieren bilden (Wyres et al., 2020). Zu den etabliertesten Virulenzfaktoren von *K. pneumoniae* gehören die Polysaccharidkapsel, Lipopolysaccharide als Endotoxin, Siderophore und Pili (Podschun & Ullmann, 1998). Auch die Nutzung von Allantoin oder Sekretionssystemen konnten als Virulenzfaktoren identifiziert werden. Die verschiedenen Virulenzfaktoren können den Schweregrad einer *K. pneumoniae*-Infektion und damit die Virulenz des infizierenden Stammes bestimmen. Somit kann auch die Fähigkeit des kolonisierenden Stammes,

eine Infektion auszulösen zu können, bestimmt werden, was im Umkehrschluss das pathogene Potenzial eines Stammes definieren kann (Martin & Bachman, 2018).

Beim Menschen ist *K. pneumoniae* vor allem für extraintestinale Infektionen, wie z.B. Pneumonie, Zystitis, Pyelonephritis oder Septikämie verantwortlich (Laupland et al., 2007; Podschun & Ullmann, 1998; Shon et al., 2013). Aber auch bei Tieren kann *K. pneumoniae* die Ursache für Infektionen der Harn- oder Atemwege sowie einer Sepsis sein (Brisse & Duijkeren, 2005). Bei Milchkühen stellt *K. pneumoniae* außerdem einen relevanten Erreger für Mastitiserkrankungen dar (Cheng et al., 2020; Dahmen et al., 2013). In den USA gilt *K. pneumoniae* als eine der Hauptursachen für Krankenhausinfektionen und infiziert dabei als opportunistischer Erreger primär hospitalisierte oder anderweitig immunsupprimierte Personen (Magill et al., 2014; Podschun & Ullmann, 1998). Von besonderer Schwere sind dabei die *K. pneumoniae*-assoziierten Pneumonien, da ihre Sterblichkeitsrate bei bis zu 50% liegt (Podschun & Ullmann, 1998). In jüngerer Vergangenheit trat *K. pneumoniae* jedoch immer häufiger in Form von hypervirulenten Stämmen auf und verursachte somit auch bei gesunden, nicht immunsupprimierten Menschen Infektionen (Paczosa & Mecsas, 2016). Von Juni bis Oktober 2019 wurden 17 Patienten aus medizinischen Einrichtungen in Mecklenburg-Vorpommern mit einem extensiv-antibiotikaresistentem *K. pneumoniae*-Stamm des Sequenztyps 307 infiziert bzw. kolonisiert. Infizierte Patienten entwickelten daraufhin Septikämien, Pneumonien oder Harnwegsinfektionen. Der *K. pneumoniae*-Stamm produzierte die Carbapenemasen NDM-1 und OXA-48 sowie die Extended-Spectrum- $\beta$ -Laktamase *bla*<sub>CTX-M-15</sub> und war der erste dokumentierte Ausbruch dieser Art in Deutschland (Haller et al., 2019; Heiden et al., 2020).

### 2.3 Antibiotika

Einer der wohl bedeutendsten Meilensteine in der Geschichte der Medizin war die Entdeckung der antibiotischen Wirkung des Schimmelpilzes *Penicillium* durch Alexander Fleming im Jahr 1928 (Fleming, 1929; Friedrich, 2006). Im Laufe der Jahre entwickelten sich Antibiotika zu den mit erfolgreichsten Medikamenten, die der Medizin zur Verfügung stehen und haben die Prognosen von Patienten mit bakteriellen Infektionen dramatisch verbessert (Choi, 2012). Darüber hinaus machte die Einführung von Antibiotika in die klinische Anwendung auch viele moderne Verfahren, wie Organtransplantationen oder Operationen am offenen Herzen möglich (Hutchings et al., 2019). Aufgrund der zahlreichen Anwendungen, die Antibiotika ermöglichen, ist die moderne Medizin heute auf antibiotischen Wirkstoffen aufgebaut und ihre Verfügbarkeit und Anwendung zu einer Selbstverständlichkeit geworden. Diese Selbstverständlichkeit führte jedoch zu einem häufigen Antibiotikaeinsatz, wel-

cher wiederum zu der Entstehung eines riesigen Reservoirs an Resistenzgenen in Bakterien führte (Prescott, 2014). Dieser schnelle Anstieg der antimikrobiellen Resistenz (AMR) stellt eine globale Herausforderung dar, da Infektionen mit resistenten Erregern mit herkömmlichen Antibiotika nur noch schwer oder gar nicht mehr therapierbar sind, was mit einer hohen Morbidität und Mortalität einhergeht (Akova, 2016).

### **2.3.1 Wirkung von Antibiotika**

Der Begriff Antibiotikum leitet sich vom griechischen "antibiosis" ab, was wörtlich so viel wie „gegen das Leben" bedeutet (Etebu & Ariekpar, 2016). Ursprünglich definierte der Begriff Antibiotikum eine Substanz, die von einem Mikroorganismus produziert wird und das Wachstum anderer Mikroorganismen hemmt. Mit der Entwicklung synthetischer Methoden wurde diese ursprüngliche Definition jedoch erweitert und umfasst nun auch Substanzen, die ganz oder teilweise durch chemische Synthese hergestellt werden und in geringen Konzentrationen das Wachstum von Mikroorganismen hemmen können (Russell, 2004).

Der Einsatz von Antibiotika führt zu einer Abtötung der bakteriellen Erreger im Wirtorganismus, ohne die wirtseigenen Zellen zu schädigen, was mit dem Prinzip der selektiven Toxizität zu erklären ist (Dierich & Fille, 2020). Die antibiotischen Substanzen weisen dabei eine antibakterielle Wirkung auf, welche bakteriostatisch oder bakterizid sein kann. Bei einer bakteriostatischen Wirkung einer Substanz kommt es zu einer reversiblen Vermehrungshemmung von Bakterien. Wird die bakteriostatische Substanz dem Organismus nicht mehr verabreicht woraufhin seine Wirkung nachlässt, können die Bakterien sich wieder vermehren. Eine bakterizide Substanz hingegen führt zu einer irreversiblen Vermehrungshemmung, da die Bakterien durch die Substanz abgetötet werden (Calderón & Perdue Sabundayo, 2007). Antibiotika mit einer bakteriostatischen Wirkung sind z.B. Tetracykline, Makrolide oder Chloramphenicol, während für Antibiotika mit bakterizider Wirkung bspw.  $\beta$ -Laktam-Antibiotika, Fluorchinolone, Aminoglykoside oder Fosfomycin zu nennen sind (Weiler & Corti, 2014). Bei bakterizid wirkenden Substanzen erfolgt eine weitere Unterteilung in primär und sekundär bakterizid. Sekundär bakterizide Substanzen töten nur Bakterien ab, die sich in Vermehrung befinden, während bei einer primären Bakterizidie auch ruhende Bakterien abgetötet werden (Fille & Ziesing, 2020). Der Effekt von sowohl bakteriziden als auch bakteriostatischen Antibiotika hängt, je nach Substanz, von der Konzentration des Wirkstoffes sowie der Dauer der Verabreichung ab (Weiler & Corti, 2014).



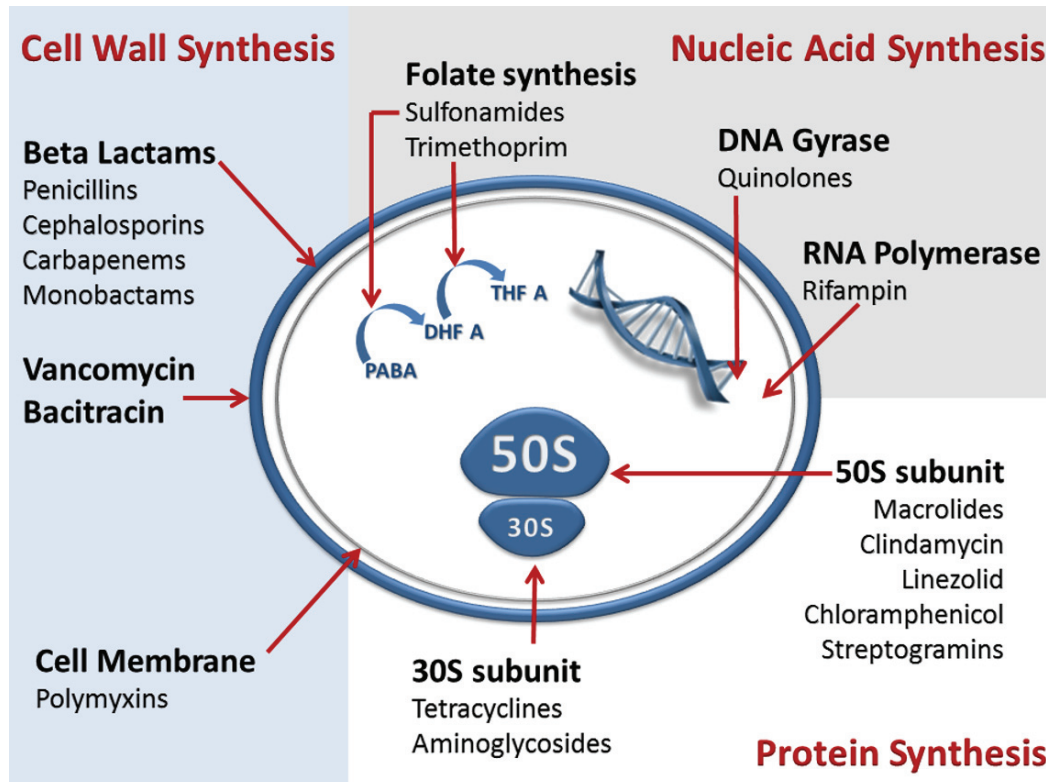
### 2.3.2 Einteilung von Antibiotika

Heutzutage stehen der Medizin zahlreiche antibiotische Wirkstoffe verschiedener Antibiotikaklassen zur Verfügung. Für die Klassifizierung gibt es diverse Möglichkeiten, die gängigsten Klassifizierungsschemata beruhen jedoch auf den Molekularstrukturen, der Wirkungsweise und dem Wirkungsspektrum eines Wirkstoffes. Auch die Art der Verabreichung (injizierbar, oral oder lokal) kann bei der Klassifizierung herangezogen werden (Calderón & Perdue Sabundayo, 2007). Antibiotika derselben Strukturklasse haben in der Regel ähnliche Muster bezogen auf Wirksamkeit, Toxizität und potenzielle allergische Nebenwirkungen (Etebu & Ariekpar, 2016).

Bei einer Klassifizierung nach den Wirkungsmechanismen können fünf Gruppen, bezogen auf den vom Antibiotikum angegriffenen Ort, unterschieden werden. Das sind die Störung der Zellwandbiosynthese, die Störung der Proteinbiosynthese, die Störung der Nukleinsäuresynthese, die Schädigung der Zytoplasmamembran und die Störung der Synthese essenzieller Metaboliten (Fille & Ziesing, 2020). Die größten und relevantesten Antibiotikaklassen sowie Antibiotika und ihre Wirkungsmechanismen sind in Abbildung 1 dargestellt (Kapoor et al., 2017). Antibiotika, die die Zellwandbiosynthese stören sind u.a. die zu den  $\beta$ -Laktam-Antibiotika gehörenden Penicilline, Cephalosporine, Carbapeneme und Monobactame (Kapoor et al., 2017).  $\beta$ -Laktame verfügen über einen  $\beta$ -Laktam-Ring und greifen mit diesem in die bakteriellen Enzyme ein, die für die Synthese der Peptidoglykanschicht notwendig sind. Dies führt zu einer Unterbrechung dieser Schicht und somit zur Lyse des Bakteriums (Džidic et al., 2018). Auch Vancomycin, Bacitracin, sowie Polymyxine zielen auf die Zellwand ab (Kapoor et al., 2017). Zu den Antibiotika, die die Proteinbiosynthese stören, zählen u.a. Tetracykline, Aminoglykoside, Makrolide oder Chloramphenicol. Diese Antibiotika stören die Transkription und synthetisieren damit die in der mRNA enthaltenen Proteine (Kapoor et al., 2017). Die Proteinbiosynthese wird durch Ribosomen und zytoplasmatische Faktoren katalysiert, die Störung dieser durch Antibiotika erfolgt am Ribosom (Fille & Ziesing, 2020; Kapoor et al., 2017). Das bakterielle 70S-Ribosom, welches aus den zwei Ribonukleoprotein-Untereinheiten 30S und 50S besteht, wird durch Antibiotika gehemmt, da diese auf die 30S- oder 50S-Untereinheit abzielen und somit die Proteinbiosynthese des Bakteriums hemmen (Vannuffel & Cocito, 1996; Yoneyama & Katsumata, 2006). Ein dritter, wichtiger Wirkmechanismus von Antibiotika ist die Störung der Nukleinsäuresynthese, welche auf drei verschiedene Weisen erfolgen kann. Dies sind die Hemmung der Folsäuresynthese, Hemmung der RNA-Polymerase oder Hemmung der DNA-Gyrase (Fille & Ziesing, 2020). Sulfonamide und Trimethoprim hemmen verschiedene Schritte des Folsäurestoffwechsels. Während Sulfonamide die Dihydropterinsäuresynthese hemmen, erfolgt bei der Gabe von Trimethoprim eine Hemmung der Dihydrofolatreduktase

(Yoneyama & Katsumata, 2006). Rifampicin hemmt die RNA-Polymerase, also die Transkription, und wirkt somit auf das Bakterium ein (Fille & Ziesing, 2020).

Ein weiterer Wirkungsmechanismus ist die Schädigung der Zytoplasmamembran. Dies geschieht durch z.B. Polymyxin B oder Daptomycin, welche durch die Membranschädigung bakterizid wirken (Fille & Ziesing, 2020).



**Abbildung 1: Wirkungsmechanismen der wichtigsten Antibiotika**

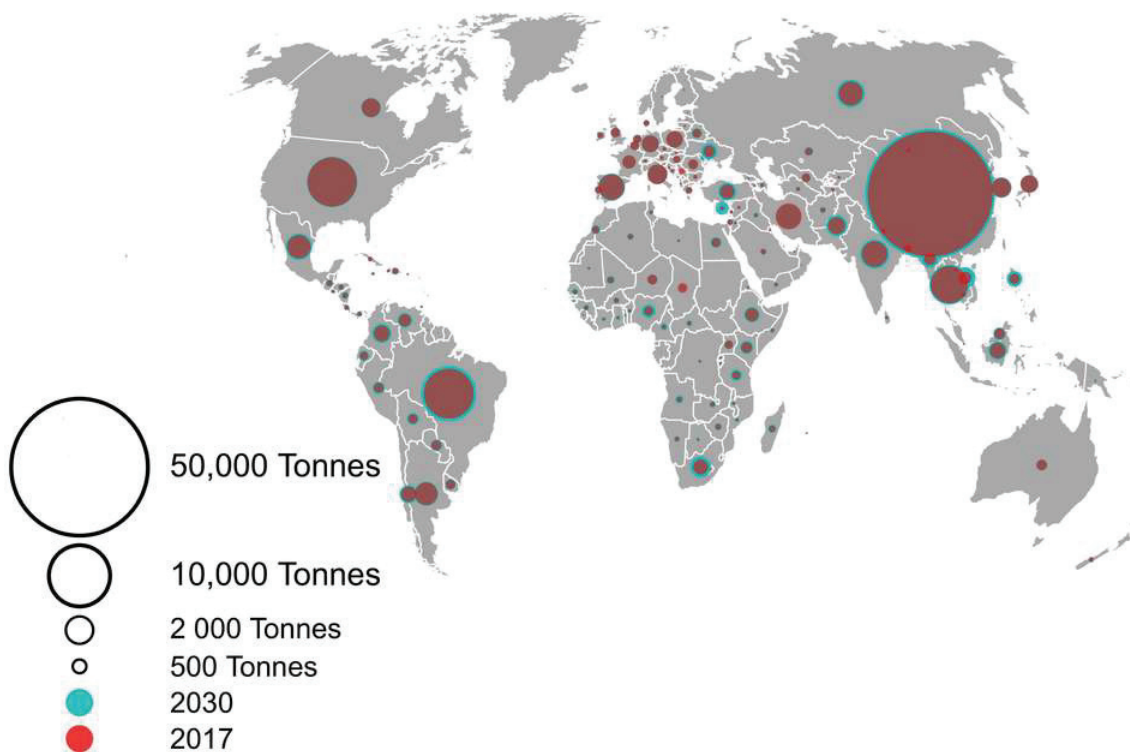
Quelle: (Kapoor et al., 2017)

Spricht man vom antibiotischen Wirkungsspektrum, umfasst dies die Anzahl von Mikroorganismen, die von einer antibiotischen Substanz beeinflusst werden. Erfasst ein Antibiotikum eine Vielzahl diverser Erreger, spricht man von Breitspektrumantibiotika, werden nur wenige Arten gehemmt, handelt es sich um Schmalspektrumantibiotika (Fille & Ziesing, 2020). Breitspektrumantibiotika zeigen meist sowohl gegen grampositive als auch gramnegative Erreger eine Wirksamkeit, Schmalspektrumantibiotika wirken nur für eine der beiden Gruppen. Zu den Breitspektrumantibiotika gehören u.a. zahlreiche  $\beta$ -Laktam-Antibiotika (z.B. Ampicillin, Amoxicillin, Cephalosporine der 3., 4. und 5. Generation), Aminoglykoside, Tetracycline oder Chinolone. Als Schmalspektrumantibiotika sind z.B. Penicilline, Cephalosporine der 1. und 2. Generation, Vancomycin oder Polymyxin zu nennen (Pancu et al., 2021).

### 2.3.3 Antibiotika in der Tierhaltung

Die global steigende Nachfrage nach tierischem Eiweiß resultiert in einer Ausdehnung der intensiven Tierhaltung, welche mit einer Zunahme des Einsatzes von Antibiotika einhergeht (Delgado, 2003; Henchion et al., 2014; Page & Gautier, 2012). Somit dienen, Schätzungen zufolge, 50% aller global eingesetzten mikrobiellen Mittel tierärztlichen Zwecken. 73% dieser, für die Anwendung bei Tieren verkauften Antibiotika, werden, laut Schätzungen, für landwirtschaftliche Nutztiere verwendet (van Boeckel et al., 2017).

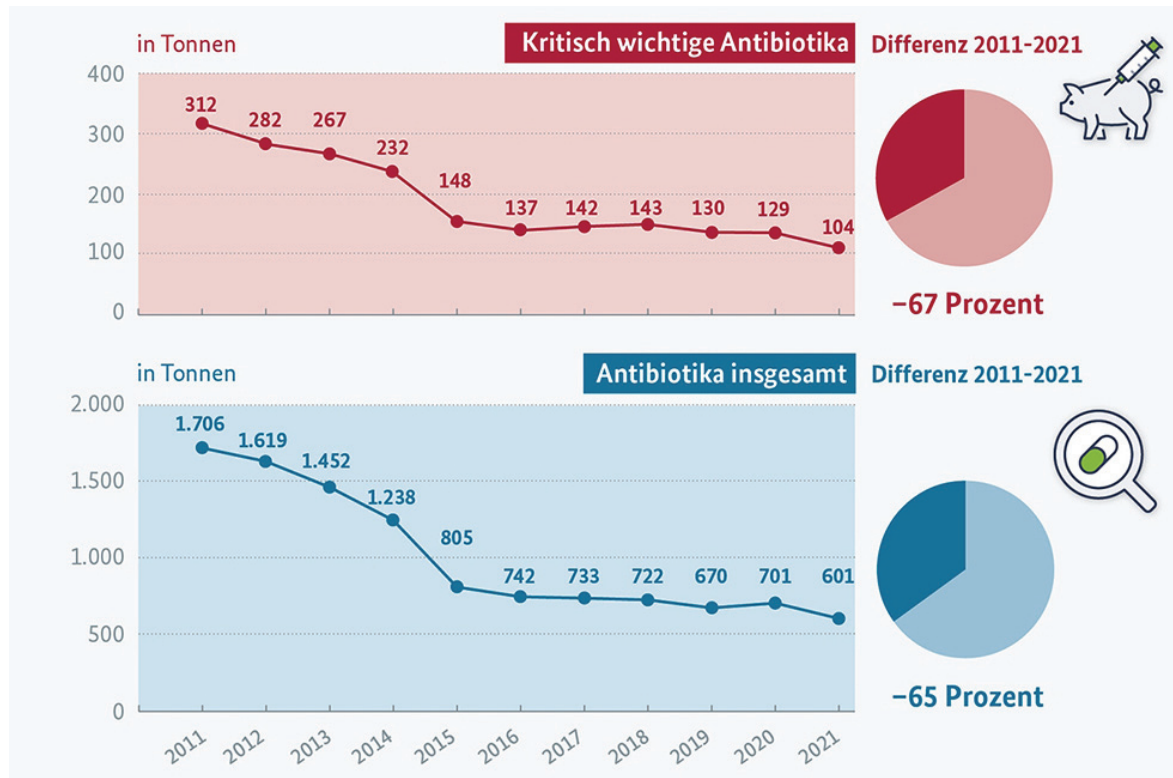
Schätzungen von Tiseo et al. (2020) zufolge, wurden im Jahr 2017 weltweit 93.309 t Antibiotika bei Geflügel, Rindern und Schweinen eingesetzt. Sie prognostizierten, basierend auf der gegenwärtigen Lage, dass der Antibiotikaeinsatz bis zum Jahr 2030 um 11,5% auf 104.079 t ansteigen wird. Dieser prognostizierte Anstieg war bei Schweinen am größten und trug zu 45% des vermuteten Gesamtanstieges bei. Bei Geflügel lag der Anteil am Gesamtanstieg bei 33%, bei Rindern bei 22%. In Abbildung 2 sind der gegenwärtige und prognostizierte globale Antibiotika-Einsatz dargestellt. Die Größe der Kreise kennzeichnet dabei die Menge an verwendeten Antibiotika, dunkelrote Kreise stellen Verbrauchsmengen aus 2017 dar, blaue Ringe den prognostizierten Zuwachs bis 2030. Daraus wird ersichtlich, dass Asien, insbesondere China, sowohl heute als auch in Zukunft die größten Antibiotikamengen verbraucht.



**Abbildung 2: Antibiotika-Einsatz in der Tierhaltung nach Ländern 2017 und 2030 (Prognose)**  
Quelle: (Tiseo et al., 2020)

Mit 45% des weltweiten Verbrauchs war China 2017 der global größte Verbraucher von antimikrobiellen Tierarzneimitteln. Zu den weiteren großen Verbrauchern zählen z.B. Brasilien (7,9%), die USA (7,0%) oder Thailand (4,0%) (Tiseo et al., 2020).

In Deutschland sind pharmazeutische Unternehmen seit 2011 verpflichtet, die Mengen an Antibiotika, die sie an Tierärzte abgeben, zu melden. Seitdem ist die, an Veterinärmediziner abgegebene Menge an Antibiotika im Allgemeinen sowie den Reserveantibiotika, um ca. zwei Drittel zurückgegangen (siehe Abbildung 3) (BLE, 2023a).



**Abbildung 3: Entwicklung des Antibiotika-Einsatzes in der deutschen Tierhaltung von 2011 bis 2021**

Quelle: (BLE, 2023a)

Die dominierende Wirkstoffklasse in der Tiermedizin war im Jahr 2020 die Klasse der Penicilline mit einer Abgabemenge von 277,7 t, gefolgt von Tetracyclinen mit 147,8 t. Die dritt- und viertgrößten Abgabemengen fallen auf Sulfonamide (65,3 t) und Makrolide (60,8 t). Die Abgabemengen von Cephalosporinen sind vergleichsweise gering, was u.a. auf ein Umwidmungsverbot und eine Antibigrammpflicht für diese Wirkstoffklasse und Fluorchinolone zurückzuführen ist. 2020 betrug die Abgabemenge für Cephalosporine der 3. Generation 1,0 t, für die der 4. Generation 0,3 t (BVL & BfR, 2021).

Die Anwendung der verschiedenen Antibiotika dient nicht nur zur Behandlung bakterieller Erkrankungen. Auch zur Kontrolle der Ausbreitung von Infektionen (Metaphylaxe) und zur

Vorbeugung von Infektionen (Prophylaxe) werden Antibiotika eingesetzt. Um die Futtereffizienz zu verbessern und das Wachstum zu fördern, kommt es in einigen Ländern ebenfalls zur Verabreichung von Antibiotika (Aarestrup, 2005). In der EU ist der Einsatz von Antibiotika zur Wachstumsförderung und Verbesserung der Futtereffizienz seit 2006 verboten (Europäische Kommission, 2005).

#### **2.3.4.1 Antibiotika in der Schweinehaltung**

Im November 2022 umfasste der deutsche Schweinebestand rund 21,4 Millionen Schweine, davon 9,7 Millionen (25,5%) Mastschweine, 6,4 Millionen (29,9%) Ferkel, 3,9 Millionen (18,2%) Jungschweine und 1,4 Millionen (6,5%) Zuchtsauen (Statistisches Bundesamt, 2022). Die größten Mengen antibiotischer Arzneimittel werden dabei in der Schweinemast eingesetzt, gefolgt von den Mastferkeln. Auch wenn die Verbrauchsmenge bei Mastferkeln zwischen 2017 und 2021 um 27% gesunken ist, lag sie im Jahr 2021 noch bei rund 39 t. Bei adulten Mastschweinen sank die Menge ebenfalls um 24%, was in einer Verbrauchsmenge von ca. 50 t für das Jahr 2021 resultiert (BfR, 2022).

Da der Einsatz von Antibiotika als Wachstumsförderer in der EU und somit auch in Deutschland verboten ist, kommen Antibiotika hier zur Behandlung oder Metaphylaxe zum Einsatz (Barton, 2014). Die prophylaktische Anwendung antibiotischer Arzneimittel ist in Deutschland untersagt, was auf der "Leitlinie für den sorgfältigen Umgang mit antibakteriell wirksamen Tierarzneimitteln" der Bundestierärztekammer (2015) beruht.

Antibiotika, die in der deutschen Schweinehaltung am häufigsten eingesetzt werden, sind diverse Penicilline, Tetrazykline, Cephalosporine, Makrolide, Fluorchinolone aber auch das Reserveantibiotikum Colistin (Schaekel et al., 2017; Van Rennings et al., 2015).

#### **2.3.4.2 Antibiotika in der Geflügelhaltung**

Geflügelfleisch gehört zu den wichtigsten Nahrungsquellen der wachsenden Weltbevölkerung, was sich auch in den Produktionszahlen widerspiegelt. Die EU zählt zu den global stärksten Produzenten von Geflügelfleisch mit einer jährlichen Produktionsmenge von rund 13,4 Millionen t (European Commission, 2022; Landoni & Albarellos, 2015). Auch in Deutschland ist Geflügel die Nutztierart mit der größten Population. 2020 wurden in Deutschland mehr als 173 Millionen Vögel gehalten. Dabei sind Hühner mit über 159 Millionen Tieren am stärksten vertreten und machen 90% des gesamtdeutschen Bestandes aus. 6,65% fallen auf Puten zurück und mit rund 1,16% folgen Enten. Der Legehennenbestand umfasste 2021 49,6 Millionen Hennen, der Bestand an Masthühnern lag 2020 bei 92 Millionen Tieren (BLE, 2021).

Nach der Schweinehaltung weist die Geflügelmast die höchsten Antibiotika-Einsatzmengen innerhalb der deutschen Nutztierhaltung auf. 2021 wurden in der Putenmast rund 31 t und in der Hühnermast rund 29 t Antibiotika verbraucht (BfR, 2022).

Antibiotika werden bei Geflügel in der Regel der gesamten Herde verabreicht, sodass bei Krankheiten oder der Prophylaxe/Metaphylaxe dieser, nicht das Einzeltier, sondern alle Tiere eine Antibiose erhalten (Poole & Sheffield, 2013). Am häufigsten werden in deutschen Mastgeflügelbeständen Aminoglykoside, Lincosamide, Polypeptide und  $\beta$ -Laktam-Antibiotika eingesetzt (Kasabova et al., 2021).

## **2.4 Bedeutung bakterieller antimikrobieller Resistenzen (AMR)**

Antimikrobielle Resistenz (AMR) ist kein neuzeitliches, sondern ein seit mehreren Millionen Jahren bestehendes, natürliches Phänomen (Bhullar et al., 2012; D'Costa et al., 2011). Sobald sich Bakterien in Anwesenheit von therapeutisch erforderlichen Konzentrationen eines Antibiotikums weiterhin vermehren, die vorher als wirksam gegen sie galten, werden sie als antibiotikaresistent eingeordnet (Hof et al., 2022; WHO, 2011). Somit ist die minimale Hemmstoffkonzentration (MHK) des Bakterienstammes gegenüber einem Antibiotikum so hoch, dass selbst bei der zugelassenen Höchstdosierung kein therapeutischer Erfolg zu erwarten ist (Ziesing & Fille, 2020). Dies stellt die Human- und Veterinärmedizin vor große Herausforderungen in der Therapie bakterieller Infektionen (Schulz-Stübner, 2023). Jeder Einsatz von Antibiotika trägt dazu bei, dass die Selektion und Verbreitung von Resistenzen gefördert wird. Dies ist damit zu begründen, dass jeder Kontakt von Bakterien mit Antibiotika die Wahrscheinlichkeit erhöht, dass die Bakterien gegenüber diesem Wirkstoff Resistenzen entwickeln (Antão & Wagner-Ahlf, 2018; Davies & Davies, 2010). Von der Markteinführung eines neuen Antibiotikums bis zum Auftreten von Resistenzen dauert es meist nur drei bis fünf Jahre (Antão & Wagner-Ahlf, 2018). Die Ausbildung neuer AMR ist dabei stark an die Art und Qualität des Antibiotikaeinsatzes gekoppelt. Die Tatsache, dass Antibiotika sowohl in der Human- als auch Veterinärmedizin, häufig zu oft und nicht immer zielgerichtet eingesetzt werden, beschleunigt die Entstehung und Verbreitung bakterieller AMR maßgeblich. Die zunehmende Globalisierung, besonders des Warenverkehrs und die Mobilität von Menschen, aber auch Tieren, hat zur Folge, dass sich lokal auftretende Resistenzen schnell großflächig ausbreiten können (Antão & Wagner-Ahlf, 2018; Meyer, 2019). Die kontinuierliche Zunahme und rasante Ausbreitung von Resistenzen bei einer gleichzeitig sinkenden Anzahl wirksamer Antibiotika führte dazu, dass die WHO bakterielle AMR als eine der größten Bedrohungen für die globale Gesundheit einstufte. Das aktuelle Resistenzgeschehen und dessen Entwicklung lässt die WHO darauf schließen, dass es eines Tages möglicherweise kein wirksames Antibiotikum mehr gibt. Diese sind für die Beherrschbarkeit

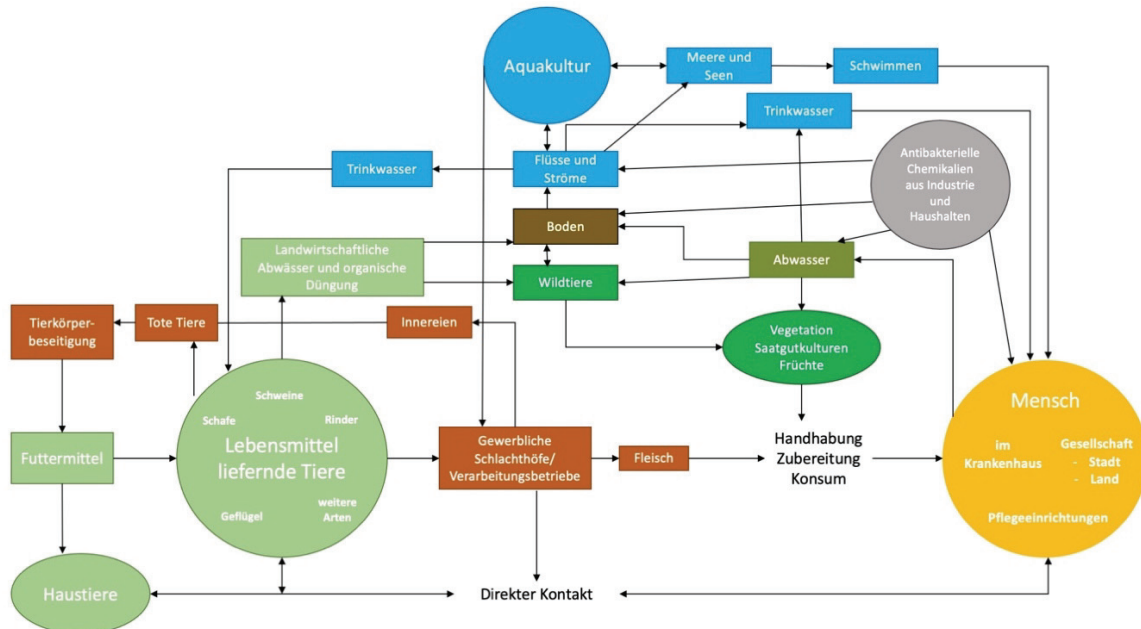
lebensbedrohlicher Infektionen, sowie für medizinische Behandlungen wie Operationen oder Organtransplantationen jedoch unverzichtbar. Ohne Antibiotika, wären jegliche Eingriffe hochriskant (WHO, 2021a). Allein im Jahr 2019 gab es in der gesamten europäischen Region der WHO 133.000 Todesfälle, die auf bakterielle AMR zurückzuführen waren und 541.000 Fälle, bei denen der Tod mit bakterieller AMR in Verbindung stand. Die sieben führenden Erreger, die für diese Todesfälle verantwortlich waren, sind, in absteigender Reihenfolge der Mortalität, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *K. pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus pneumoniae* und *Acinetobacter baumannii* (Mestrovic et al., 2022). Betrachtet man AMR-assoziierte Todesfälle auf globaler Ebene, waren bakterielle AMR für, Schätzungen zufolge, 1,27 Millionen Todesfälle verantwortlich und standen mit 4,95 Millionen Todesfällen im Zusammenhang (Murray et al., 2022). Aktuelle Prognosen zufolge, könnten AMR bis zum Jahr 2050 weltweit bis zu 10 Millionen Todesfälle pro Jahr verursachen, was der Zahl der Todesfälle durch Krebs im Jahr 2020 entsprechen würde (O'Neill, 2016).

#### **2.4.1 Maßnahmen zur Bekämpfung von AMR**

Um dies zu verhindern, wurden weltweit verschiedene Maßnahmen ergriffen. 2015 bspw. erstellte die WHO einen globalen 5-Stufen-Plan zur Bekämpfung von AMR. Innerhalb dieses Plans gilt es zu priorisierende antibiotikaresistente Bakterien auszuwählen, indem verschiedene Kriterien definiert werden (Taconelli & Magrini, 2017). In diesem Zuge wurde das "Global Antimicrobial Resistance Surveillance System" (GLASS) initiiert, welches AMR-Daten auf globaler Ebene erfasst und analysiert (WHO, 2021b). So konnte die WHO besonders gefährliche resistente Keime identifizieren, für die die Entwicklung neuer Antibiotika von hoher Priorität ist. Dazu gehören insbesondere *Acinetobacter baumannii* und *Pseudomonas aeruginosa* mit einer Carbapenem-Resistenz, sowie *Enterobacterales* mit Carbapenem-Resistenz oder ESBL-Produktion (Taconelli & Magrini, 2017). Darüber hinaus unterteilt die WHO die verfügbaren Antibiotika seit 2017 in drei Klassen, die "access group", die "watch group" und die "reserve group". Erstere umfasste solche Wirkstoffe, die die erste oder zweite Wahl in der Therapie sein sollen und dabei den besten therapeutischen Erfolg bei minimalem Potenzial für Resistenzen bieten (z.B. Amoxicillin, Ampicillin, Tetrazyklin). Die "watch group" umfasst ebenfalls Wirkstoffe erster oder zweiter Wahl für Mediziner, welche jedoch nur für bestimmte, wenige Infektionen eingesetzt werden sollen, da diese anfälliger gegenüber AMR sind (z.B. Cefotaxim, Ciprofloxacin, Meropenem). Die dritte Gruppe umfasst die sogenannten Reserveantibiotika, welche nur hoch selektiert bei lebensbedrohlichen Infektionen durch multiresistente Erreger eingesetzt werden sollen. Ihr Einsatz muss

genau überwacht werden, um ihre kontinuierliche Wirksamkeit gewährleisten und aufrechterhalten zu können (z.B. Colistin, Polymyxin B, Tigecyclin) (WHO, 2021c).

Eine Schlüsselrolle zur Bekämpfung der globalen AMR-Problematik spielt außerdem das One-Health-Konzept, welches ein integrierter, vereinheitlichender Ansatz ist, der darauf abzielt, die Gesundheit von Menschen, Tieren und Ökosystemen nachhaltig auszugleichen und zu optimieren, indem es anerkennt, dass die Gesundheit von Menschen, Tieren, Pflanzen und der weiteren Umwelt eng miteinander verbunden und voneinander abhängig sind (WHO, 2022a). Jeder dieser drei Bereiche hat immer einen direkten oder indirekten Einfluss auf die anderen beiden (Wieler, 2020). Diese Verbundenheit bedeutet auch, dass Mensch und Tier nicht nur die gleiche Umwelt, sondern auch viele Infektionskrankheiten teilen (Zinsstag et al., 2012). Von anerkannten Arten human-pathogener Erreger sind rund 58% zoonotisch, was eine Übertragbarkeit zwischen Mensch und Tier ermöglicht (Woolhouse & Ward, 2013). Diese Übertragbarkeit von pathogenen Erregern bedeutet ebenfalls eine Übertragbarkeit von resistenten Bakterien bzw. Resistenzgenen zwischen Menschen, Tieren und auch der Umwelt (Woolhouse & Ward, 2013). In der Human- und Veterinärmedizin sowie in der Landwirtschaft eingesetzte Antibiotika beeinflussen Menschen, Tiere aber auch Boden und Wasser, welche in ständigen wechselseitigen Beziehungen zueinander stehen (siehe Abbildung 4).



**Abbildung 4: Komplexität der Verbreitung von AMR**  
Quelle: Eigene Darstellung in Anlehnung an BMZ (2022)

Vom Menschen ausgehende AMR-Erreger können in die landwirtschaftliche Tierhaltung gelangen und umgekehrt, z.B. über direkten Kontakt oder über Umwege wie Abwässer, Fleisch, Boden usw. (BMZ, 2022). Die komplexen, vielseitigen Austauschwege führen



dazu, dass sich auch die ökologische Gesamtsituation ständig verändert und somit ein Reservoir für verschiedene Resistenzfaktoren gebildet wird, welches sich permanent vergrößert (Danko et al., 2021). Diese Reservoirs, in denen antimikrobielle Mittel eingesetzt werden (z.B. Human- oder Veterinärmedizin), werden auch als "Hotspots" für horizontalen Gentransfer (siehe Punkt 2.4.2) vermutet. Aufgrund der vielen Reservoirs für Resistenzdeterminanten spricht man auch von Resistomen. Ein Resistom ist die Sammlung aller Arten von AMR-Genen und ihren Vorläufern, sowie potenziellen Resistenzmechanismen in pathogenen sowie kommensalen Bakterien, in einem bestimmten System (z.B. Bodenresistom im Boden) oder innerhalb einer mikrobiellen Gemeinschaft (z.B. ein Organismus) (Kim & Cha, 2021).

Aufgrund dieser Komplexität und basierend auf dem One Health-Ansatz wurde der "One Health Joint Plan of Action" erarbeitet. Neben der WHO sind in diesem Plan auch andere globale Organisationen involviert, um AMR möglichst ganzheitlich bekämpfen zu können (WHO, 2022b). Zum einen ist die "Food and Agriculture Organization of the United Nations" (FAO) beteiligt, welche sich insbesondere auf die AMR-Bekämpfung in der Landwirtschaft und entlang der Lebensmittelkette fokussiert, indem sie Agrarnahrungsmittelsysteme umgestalten will (FAO, 2022). Ebenfalls beteiligt sind die "United Nation Environment Programme" (UNEP), die sich auf die Umwelt spezialisieren, indem sie eine Umweltagenda festlegen und die nachhaltige Umweltentwicklung fördern (UNEP, 2022). Als vierte Organisation ist die "World Organization for Animal Health" (WOAH) beteiligt. Sie hat als Ziel die weltweite Tiergesundheit zu verbessern und versucht die Resistenzausbreitung durch die Entwicklung internationaler AMR-Standards in der Veterinärmedizin zu vermindern (WHO, 2022b). Auf europäischer Ebene gibt es seit 2017 den "EU One Health Action Plan against Antimicrobial Resistance", welcher das übergeordnete Ziel verfolgt, wirksame Behandlungsoptionen zur Therapie von Infektionskrankheiten zu erarbeiten (European Commission, 2017).

#### **2.4.2 Bakterielle Resistenzmechanismen**

AMR sind kein modernes Phänomen und keine grundsätzlich neue evolutionäre Eigenschaft von Bakterien. Seit jeher nutzen Bakterien Abwehrmechanismen, um sich vor schädlichen Substanzen zu schützen (Blenn & Beyaert, 2022; Geiss, 2012). Antibiotika sind dabei ursprünglich nichts anderes als von Mikroorganismen gebildete Substanzen, die in der Natur jedoch nur in kleinen Mengen vorkommen. Durch die Einführung antibiotischer Medikamente zur Therapie bakterieller Infektionen, kam es zu einer Veränderung des natürlichen Gleichgewichts zwischen antibiotischen Substanzen und Bakterien, da sich die Antibiotika-

menge zu der ursprünglichen, natürlichen Menge an antibiotischer Substanz um Zehnerpotenzen vergrößert hat (Berger-Bächi, 2000). Die evolutionäre Entwicklung antimikrobiell wirkender Substanzen, sowie die Einführung von Antibiotika führten zwangsläufig dazu, dass die Bakterien Mechanismen entwickelten, die diese, für sie schädliche Wirkung aufheben oder vermindern können (Berger-Bächi, 2000; Ziesing & Fille, 2020). So weist eine Vielzahl von Bakterienarten genetische Informationen von Eigenschaften auf, die es ihnen ermöglichen antibiotische Substanzen inaktivieren oder neutralisieren zu können. Diese Informationen tragen sie zum Teil seit Milliarden von Jahren (Geiss, 2012).

Resistenzen werden zunächst zwischen primären, bei einer Art natürlich vorkommenden und sekundären, erworbenen Resistenzen unterschieden (Blenn & Beyaert, 2022). Primäre Resistenzen gehen immer auf eine stets vorhandene, genetisch konstituierte Unempfindlichkeit einer Bakterienart gegen ein Antibiotikum zurück (Ziesing & Fille, 2020). Grund dafür können z.B. das Fehlen erforderlicher Zielstrukturen oder spezielle Struktureigenschaften sein, die das Antibiotikum zum Wirken benötigt. So sind bspw. Mykoplasmen aufgrund des Fehlens einer Mureinschicht, grundsätzlich resistent gegen den Wirkstoff Penicillin G, da dessen Wirkungsmechanismus die Störung der Mureinschicht-Synthese ist (Selbitz et al., 2011; Ziesing & Fille, 2020). Sekundäre Resistenzen sind auf Mutationen oder den Genaustausch (siehe 2.4.3) zurückzuführen. Mutiert ein Bakterium, kann dies dazu führen, dass der Angriffspunkt des Antibiotikums verloren geht oder sich verändert, oder dass das Bakterium eine Eigenschaft gewinnt, mit dem es das Antibiotikum abwehren oder inaktivieren kann (Fritsche, 2016).

Bakterielle Resistenzen gegenüber einem oder mehreren Antibiotika können verschiedenen Mechanismen geschuldet sein. Ein bedeutender Mechanismus hierbei ist die Fähigkeit zur Bildung von Enzymen, die eine enzymatische Inaktivierung des Antibiotikums verursachen können. Eines der bekanntesten Beispiele hierfür sind die  $\beta$ -Laktamase-bildenden Bakterien, welche den  $\beta$ -Laktam-Ring der  $\beta$ -Laktam-Antibiotika spalten und u.a. Enterobakterien eine Penicillin- und/oder Cephalosporin-Resistenz verleihen (Heisig, 2006; Ziesing & Fille, 2020). Weitere inaktivierende Enzyme sind Aminoglykosid-modifizierende Enzyme oder Chloramphenicol-Azetyltransferasen (Ziesing & Fille, 2020). Ein weiterer Resistenzmechanismus ist die Fähigkeit, die Konzentration des antibiotischen Wirkstoffes am Wirkungsort zu verringern. Dies erfolgt z.B. über einen verminderten Influx durch Veränderungen der Barriere-Permeabilität (z.B. Vancomycin-Resistenz bei *Staphylococcus aureus*) oder einen verstärkten Efflux durch z.B. Effluxpumpen (Cui et al., 2000; Selbitz et al., 2011; Ziesing & Fille, 2020). Mittels dieser Pumpen wird ein eindringendes Antibiotikum so schnell aus der Zelle entfernt, dass es keine Wirkung entfalten kann (z.B. Tetrazyklin-Resistenz bei *E. coli*)

(Li & Nikaido, 2004; Ziesing & Fille, 2020). Einige Bakterien können die Wirkstoffkonzentration auch durch die Produktion von Schutzproteinen so verringern, dass das Antibiotikum keine Wirkung mehr zeigt (Selbitz et al., 2011). Auch die Überproduktion des Moleküls, auf das das Antibiotikum abzielt ist ein möglicher Resistenzmechanismus. Wird das Zielmolekül durch das Bakterium überexprimiert, kann die Antibiotika-Konzentration zu gering sein, um seine Wirkung zu entfalten (Ziesing & Fille, 2020).

Ein häufig zu beobachtendes Phänomen ist die sogenannte Kreuzresistenz gegenüber zwei oder mehr Antibiotika. Von Kreuzresistenzen spricht man, wenn ein bestimmter Resistenzmechanismus nicht nur gegen ein, sondern auch gegen mehrere Antibiotika (gruppen) wirksam ist (Ziesing & Fille, 2020)

### **2.4.3 Verbreitungsmechanismen**

AMR ist genetisch verankert und es gibt verschiedene Wege, auf denen Bakterien Resistenzgene erwerben oder weitergeben können. Dabei ist eine Möglichkeit, dass die Resistenzgene auf Plasmiden lokalisiert sind. Plasmide sind selbstreplizierende, extrachromosomale, zirkuläre DNA-Stücke. Die Expression der Gene auf den Plasmiden kann den Wirtsbakterien helfen, sich an nachteilige Umwelteinflüsse (z.B. die Anwesenheit von Antibiotika) oder an Nischen anzupassen. Für ein Bakterium stellen Plasmide eine nicht unerhebliche metabolische Belastung dar, was u.a. an der Expression von Plasmidprodukten liegt. Da die Expression dieser nur in bestimmten Umgebungen einen Selektionsvorteil bietet (z.B. Resistenzgenen bei Anwesenheit von Antibiotika), sind Mechanismen notwendig, die die Übertragung der Plasmide sicherstellen, um ein Fortbestehen zu sichern (Million-Weaver & Camps, 2014; Silva et al., 2012).

Bei der Verbreitung von Resistenzgenen unterscheidet man grundsätzlich zwischen vertikalem und horizontalem Gentransfer (Transmission) (Beyaert & Blenn, 2019). Kommt es zur asexuellen Vermehrung durch Zweiteilung, entstehen zwei genomisch identische Bakterienzellen, sogenannte Klone. Die Weitergabe der Resistenzgene an die Nachkommen bezeichnet man als vertikale Transmission (Seoane et al., 2011). Neben dem vertikalen spielt auch der horizontale Transfer von Resistenzgenen eine wichtige Rolle in der Ausbreitung von AMR. Bei der horizontalen Transmission gibt es drei wesentliche Mechanismen, die Transformation, die Transduktion und die Konjugation (Beyaert & Blenn, 2019). Die Transformation beschreibt die Aufnahme freier, in der Umwelt vorhandener DNA durch eine Bakterienzelle. Stirbt ein Organismus ab, wird seine DNA mit Resistenzgenen frei und kann von Bakterien aufgenommen werden (Ziesing & Fille, 2020). Bei der Transduktion erfolgt die Übertragung der DNA mittels Phagen, die als Transporter zwischen zwei Bakterienzellen

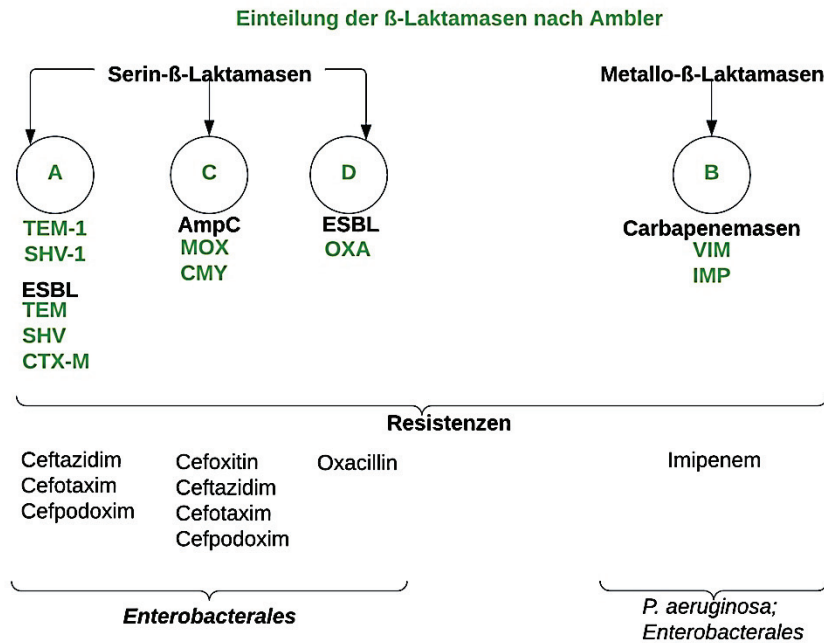
len fungieren. Dabei infiziert eine Bakteriophage eine Bakterienzelle und integriert das Phagen genom in das bakterielle Genom. Anschließend kommt es entweder zur Lyse der Wirtszelle, wodurch neu produzierte Phagen freigesetzt werden, welche ein Resistenzgen des Wirtsgenoms beinhalten können und dieses weitertragen. Kommt es nicht zur Lyse der Wirtszelle, wird diese als Prophage in das Wirtsgenom eingebaut, wodurch die Wirtszelle z.B. AMR-Gene erwerben kann (Schmidt, 2017). Konjugation beschreibt die direkte DNA-Übertragung zwischen Bakterienzellen mittels Sexpili. Ein Sexpilus stellt eine Verbindung zwischen zwei Bakterienzellen her, über welche Plasmid-DNA oder Chromosomen-Fragmente übertragen werden können (Ziesing & Fille, 2020).

Die, auf Plasmiden lokalisierten, (Resistenz-)Gene sind für das Überleben eines Wirtes nicht essentiell, bieten ihm jedoch unter bestimmten Umständen (Selektions-)Vorteile und werden daher häufig zwischen Bakterien ausgetauscht. So scheint es für Bakterien insgesamt vorteilhaft zu sein, Plasmide untereinander auszutauschen (Boucher et al., 2013; Harrison et al., 2010; Heuer & Smalla, 2012).

## **2.5 Extended-Spectrum- $\beta$ -Laktamase (ESBL)**

Bereits Alexander Fleming stellte kurz nach seiner Entdeckung von Penicillin eine Unempfindlichkeit einiger Bakterien gegenüber den Penicillinen fest. Die Ursache dieser Unempfindlichkeit konnte er zu diesem Zeitpunkt jedoch nicht einordnen. 1940 fanden Wissenschaftler eine Erklärung für dieses Phänomen. Die unempfindlichen Bakterien produzierten ein Enzym, welches das Antibiotikum für sie ungefährlich machte (Abraham & Chain, 1940). Dieses Enzym, die  $\beta$ -Laktamase, kann den  $\beta$ -Laktam-Ring im Antibiotikum hydrolysieren und das Antibiotikum somit unwirksam machen (Tooke et al., 2019).  $\beta$ -Laktamasen gehören zu den am besten untersuchten Enzymfamilien weltweit und stellen eine der Hauptursachen für Resistenzen gegen  $\beta$ -Laktam-Antibiotika von gramnegativen Bakterien dar (Bradford, 2001; Bush, 2018). Besagte Enzyme sind Plasmid-vermittelt und treten sowohl bei gramnegativen als auch grampositiven Bakterien auf. Das Vorkommen bei den gramnegativen Bakterien ist jedoch deutlich höher, was sie dort zum primären AMR-Mechanismus macht (Tooke et al., 2019). Eine Vielzahl an Gattungen gramnegativer Bakterien verfügt über eine natürlich vorkommende, chromosomal vermittelte  $\beta$ -Laktamase. Angenommen wird, dass sich die Enzyme aus Penicillin-bindenden Proteinen (PBP) entwickelt haben, mit denen sie eine gewisse Sequenzhomologie aufweisen. Diese Entwicklung ist vermutlich auf  $\beta$ -Laktam-produzierende Bodenorganismen in der Umwelt zurückzuführen, was zu einem Selektionsdruck für die Bakterien führte (Bradford, 2001; Ghuyssen, 1991).

Die anhaltende Exposition von Bakterienstämmen gegenüber einer Vielzahl von  $\beta$ -Laktamen, welche das häufigste Mittel der Wahl in der Behandlung bakterieller Infektionen darstellen, hat in diesen Bakterien zu einer dynamischen und kontinuierlichen Produktion und Mutation von  $\beta$ -Laktamasen geführt, die ihr Substratspektrum so ständig erweitern konnten und können. Punktmutationen in einzelnen Aminosäuren der Enzyme führten zum Aminosäureaustausch, wodurch Extended-Spectrum- $\beta$ -Laktamasen (ESBL) entstanden. Diese verfügen über ein erweitertes Aktivitätsspektrum, verglichen mit einfachen  $\beta$ -Laktamasen, wodurch sie eine zusätzliche Resistenz gegen Cephalosporine der 3. und 4. Generation vermitteln (Paterson & Bonomo, 2005; Pitout & Laupland, 2008; Witte & Mielke, 2003). Mitte der 1980er-Jahre wurden in Westeuropa erstmalig ESBL-Isolate entdeckt. Heute sind sie eines der am schnellsten wachsenden Probleme in der Behandlung von Infektionskrankheiten. Eine Vielzahl von *Enterobacterales* sind in der Lage ESBL zu produzieren, die bekanntesten ESBL-Bildner sind darunter jedoch *K. pneumoniae* und andere *Klebsiella spp.*, sowie *E. coli* (Nathisuwan et al., 2001). Die Möglichkeit, Protein- und Nukleotid-Sequenzinformationen zu entschlüsseln, eröffnete die Erkenntnis, dass  $\beta$ -Laktamasen nicht eine einzige homologe Klasse bilden, sondern in mehrere Klassen unterteilt werden können und dass sie über eine Reihe von biochemischen Verfahren verfügen, die Enzymaktivitäten gegenüber verschiedenen  $\beta$ -Laktam-Wirkstoffen ermöglichen (Tooke et al., 2019). Im Laufe der Jahre entstanden zahlreiche Varianten um ESBL zu klassifizieren. Die heute gängigen Schemata sind zum einen die molekulare Klassifikation nach Ambler und zum anderen die funktionale Klassifikation nach Bush-Jacoby-Medeiros. Ambler unterteilte die  $\beta$ -Laktamasen entsprechend ihrer Proteinhomologie in vier Klassen (siehe Abbildung 5), während Bush-Jacoby-Medeiros eine Klassifizierung bezogen auf die funktionellen Eigenschaften der Enzyme vornahm (Ambler, 1980; Bush et al., 1995).



**Abbildung 5: Einteilung der  $\beta$ -Laktamasen nach Ambler**

Quelle: Eigene Darstellung in Anlehnung an Pfeifer (2007)

Bei der Ambler-Klassifizierung werden die  $\beta$ -Laktamasen in vier Klassen (A, B, C, D) unterteilt. Die Unterscheidung beruht auf der Proteinhomologie, also der Aminosäureähnlichkeit und berücksichtigt keine phänotypischen Merkmale. Außerdem unterscheiden die Klassen sich grundlegend in ihren hydrolytischen Mechanismen (Paterson & Bonomo, 2005; Tooke et al., 2019). So sind die  $\beta$ -Laktamasen der Klassen A, C und D Serin- $\beta$ -Laktamasen, die der Klasse B Metallo- $\beta$ -Laktamasen (Shaikh et al., 2015). Metallo- $\beta$ -Laktamasen machen Antibiotika mittels Metallo-Hydrolase/Oxidreduktase unwirksam. Sie verfügen dabei über ein breites Substratspektrum und können praktisch alle  $\beta$ -Laktame mit Ausnahme der Monobactame hydrolisieren (Palzkill, 2013). Durch Chelatbildner kann ihre Resistenzvermittlung gehemmt werden (Pfeifer, 2010). Serin- $\beta$ -Laktamasen verwenden Serin (proteinogene Aminosäure) im aktiven Zentrum, um den viergliedrigen  $\beta$ -Laktamring zu hydrolisieren (Hall & Barlow, 2004). ESBL werden den Serin- $\beta$ -Laktamasen, genauer den Klassen A und D, zugeordnet, welche sich wiederum in 9 verschiedene Familien (SHV, TEM, CTX-M, OXA, PER, VEB, BES, TLA und GES) unterteilen lassen (Jacoby, 1994; Witte & Mielke, 2003).

Die global prävalentesten  $\beta$ -Laktamasen sind der Klasse A zuzuordnen. Zugehörig zu dieser Klasse ist u.a. TEM, die erste Plasmid-vermittelte  $\beta$ -Laktamase, die in Gramnegativen identifiziert wurde. Sie weist eine Aktivität gegenüber Aminopenicillinen und Cephalosporinen der frühen Generationen auf (Tooke et al., 2019). Die Familie CTX-M ist die heutzutage am weitesten verbreitete  $\beta$ -Laktamase mit mehr als 100 verschiedenen Varianten (Shaikh et al., 2015). Im Gegensatz zu anderen ESBL-Familien stellt die der *bla*<sub>CTX-M</sub>-Enzyme eine komplexe, inhomogene Gruppe dar. Phylogenetische Analysen lassen vermuten, dass

*bla*<sub>CTX-M</sub> nicht durch Mutationen früherer Plasmid-vermittelter Enzyme entstanden, sondern durch die Mobilisierung chromosomaler *bla*-Gene der Gattung *Kluyvera spp.* (Cantón et al., 2008). Diese ursprünglich mobilisierten *bla*<sub>CTX-M</sub>-Gene beeinflussten Cefotaxim stärker als Ceftazidim, was im Hauptmerkmal aller *bla*<sub>CTX-M</sub>-Varianten, der höheren Resistenz gegen Cefotaxim als gegen Ceftazidim resultiert (Bonnet, 2004; Cantón et al., 2008). Punktmutationen führten jedoch dazu, dass einige *bla*<sub>CTX-M</sub>-Typen (z.B. *bla*<sub>CTX-M-15</sub> oder *bla*<sub>CTX-M-32</sub>) ihre Aktivität gegenüber Ceftazidim, verglichen mit z.B. *bla*<sub>CTX-M-3</sub> oder *bla*<sub>CTX-M-1</sub>, signifikant erhöhen konnten (Cartelle et al., 2004; Poirel, 2002).

Die Fähigkeit zur Verbreitung über Plasmide sowie die Fähigkeit einer schnellen Erweiterung ihres Substratspektrums sind Faktoren für den großen Erfolg von ESBL-Familien wie *bla*<sub>CTX-M</sub> oder *bla*<sub>TEM</sub> (Tooke et al., 2019). Die Tatsache, dass ESBL ihr Aktivitätsspektrum so rasant erweitern können, stellt eine erhebliche Gefahr für die Wirksamkeit von  $\beta$ -Laktam-Antibiotika dar. Die meisten, heute verfügbaren  $\beta$ -Laktam-Antibiotika, können bereits von ESBL hydrolysiert werden, was einen Therapieerfolg verhindert (Pfeifer, 2007; Tooke et al., 2019). Neben der ständigen Verbesserung und Weiterentwicklung der  $\beta$ -Laktam-Antibiotika stellen Kombinationen von resistenzanfälligen  $\beta$ -Laktamen mit Mechanismus-basierten  $\beta$ -Laktamaseinhibitoren eine der wichtigsten Strategien zur Bekämpfung von ESBL-vermittelten Resistenzen dar. Beispiel für solche Inhibitoren sind Clavulansäure, Sulbactam und Tazobactam, welche als irreversible Inhibitoren für Klasse-A-Enzyme wirken (Drawz & Bonomo, 2010). In der medizinischen Praxis haben sich Penicillin-Inhibitor-Kombinationen wie bspw. Amoxicillin/Clavulansäure, Ampicillin/Sulbactam oder Piperacillin/Tazobactam etabliert, was die Behandlung von Infektionen mit ESBL-Erregern der Klasse A ermöglichen kann (Drawz & Bonomo, 2010; Tooke et al., 2019).

## **2.6 Multiresistente gramnegative Erreger (MRGN)**

Spricht man in Deutschland von multiresistenten gramnegativen Erregern, sind gramnegative Bakterien gemeint, die gegen drei (3MRGN) oder vier (4MRGN) Antibiotikagruppen aus einer Auswahl definierter Wirkstoffe resistent sind (Exner et al., 2017). Im klinischen Alltag wird der Begriff "multiresistent" immer häufiger verwendet, wobei er in der Literatur und international oft unterschiedlich definiert wird (Hamprecht & Göttig, 2018). Die international etablierte Definition MDR (multidrug-resistant) bedeutet im Wesentlichen, dass ein Erreger resistent gegen mehr als einen antimikrobiellen Wirkstoff ist. So wird ein Erreger als MDR eingestuft, wenn er resistent gegenüber mindestens einem Wirkstoff aus drei oder mehr antimikrobiellen Kategorien ist. Steigerungen von MDR sind XDR (extensively drug-resistant) und PDR (pandrug-resistant) (Magiorakos et al., 2012). Von XDR spricht man, wenn ein Erreger nur noch gegenüber einer oder zwei antimikrobiellen Kategorien sensibel ist.

Bei einer Panresistenz (PDR) handelt es sich um eine Resistenz gegenüber allen verfügbaren antimikrobiellen Kategorien (Basak et al., 2016). Kritisiert wird, dass diese Definition(en) nicht präzise genug seien. Aufgrund international schwankender Verfügbarkeit von Antibiotika und den unterschiedlichen Breakpoints für Resistenzen zwischen z.B. der EU und den USA, sei somit nicht eindeutig definiert, wann und wo ein Erreger als MDR oder XDR eingestuft wird (Alagna et al., 2020; Hawkey et al., 2018).

Aufgrund dessen hat die Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) des Robert Koch-Instituts (RKI) eine eigene Definition für Multiresistenzen bei gramnegativen Stäbchen erarbeitet, um anhand dieser Behandlungsempfehlungen und Präventionsmaßnahmen aussprechen zu können. Dieser Definition wurde die klinische Relevanz der Resistenz zu Grunde gelegt und es wurden nur Antibiotika berücksichtigt, die primär zur Behandlung schwerwiegender Infektionen eingesetzt werden. Aufgrund dessen wurden keine Reserveantibiotika berücksichtigt und auf eine genetische Klassifizierung verzichtet. Tabelle 1 stellt die entsprechenden Definitionen für 3MRGN und 4MRGN dar, wobei für die vier Antibiotikagruppen die Leitantibiotika angegeben sind, auf deren Unwirksamkeit die Eingruppierung folgt (KRINKO, 2012).

**Tabelle 1: Klassifizierung multiresistenter Enterobakterien basierend auf ihren phänotypischen Resistenzeigenschaften (R = resistent oder intermediär, S = sensibel)**

Antibiotikagruppe	Leitsubstanz	Enterobakterien	
		3MRGN <sup>1</sup>	4MRGN <sup>2</sup>
Acylureidopenicilline	Piperacillin	R	R
3./4. Generations-Cephalosporine	Cefotaxim und/oder Ceftazidim	R	R
Carbapeneme	Imipinem und/oder Meropenem	S	R
Fluorchinolone	Ciprofloxacin	R	R

Quelle: Eigene Darstellung in Anlehnung an KRINKO (2012)

Laut der Definition der KRINKO spricht man von 3MRGN, wenn ein Bakterium eine Resistenz gegenüber allen aufgeführten Antibiotikagruppen, ausgenommen von Carbapenemen aufweist. Bei 4MRGN ist eine zusätzliche Carbapenem-Resistenz vorhanden (KRINKO, 2012). Da ESBL per Definition resistent gegen Penicilline und Cephalosporine sind, kann man bei 3MRGN auch von ESBL-Bildnern mit einer zusätzlichen Resistenz gegen Fluorchinolone sprechen (Hübner, 2013). So ist der 3MRGN-Phänotyp bei *E. coli* in der Regel



durch ESBL bedingt, während bei *K. pneumoniae* meist Fluorchinolon-Resistenzen in Kombination mit Resistenzen gegen Cephalosporine der 3. Generation die Ursache darstellen (KRINKO, 2012).

Die Definitionen 3MRGN und 4MRGN sind ausschließlich in Deutschland etabliert und werden in anderen Ländern nicht verwendet. Im internationalen Kontext wird somit immer von MDR gesprochen.

## **2.7 Schlachtung und Schlachthöfe**

Trotz des anhaltenden Abwärtstrends der Konsummengen spielt Fleisch weiterhin eine bedeutende Rolle in der Ernährung der deutschen Bevölkerung. Im Jahr 2022 lag der Pro-Kopf-Verbrauch von Geflügelfleisch bei 12,7 kg und bei 29 kg für Schweinefleisch (BLE, 2023b). Die Menge an, in Deutschland geschlachtetem Geflügel im Jahr 2022, lag bei 701,4 Millionen Tieren, was einer Schlachtmenge von ca. 1,5 Millionen t entspricht, von denen 1,1 Millionen t auf Masthähnchen entfallen. Für die Schweinefleischproduktion wurden in Deutschland (2022) insgesamt 47 Millionen Schweine geschlachtet, woraus 4,5 Millionen t Fleisch produziert wurden (Statistisches Bundesamt, 2023).

### **2.7.1 Schlachthofabwässer**

In Schlachthöfen fallen bei Schlachtprozessen große Mengen an organischen Materialien wie Blut, Fäkalien, Fetten und Haaren an, welche durch Reinigungsprozesse ins Abwasser gelangen. Der genaue Wasserverbrauch pro geschlachtetem Tier ist aufgrund unterschiedlicher Abläufe und Techniken in den Schlachthöfen schwer zu bestimmen. Laut einer finnischen Datenerhebung beträgt der Wasserverbrauch beim Schwein zwischen 2 bis 8,3 L/kg Schlachtgewicht und bei Geflügel zwischen 12,8 bis 14 L/kg Schlachtgewicht (Salminen, 2002). Orientiert man sich an den Mittelwerten, entspräche das einem Wasserverbrauch von rund 22,5 Millionen L Wasser in Schweineschlachthöfen und rund 20,3 Millionen L Wasser in Geflügelschlachthöfen in Deutschland für das Jahr 2022. So entstehen erhebliche Mengen an stark organisch belasteten Abwässern, welche u.a. Blut, Fett, Protein, Fäkalien, Haare, Schwebstoffe, Reinigungsmittel, aber auch Pathoviren und Arzneimittelrückstände enthalten, bzw. enthalten können (Bustillo-Lecompte & Mehrvar, 2015; Jian & Zhang, 1999). So werden Abwässer aus Schlachthöfen und Verarbeitungsbetrieben weltweit als schädlich beurteilt (Bustillo-Lecompte & Mehrvar, 2017). Der Umgang mit diesen Abwässern ist in Deutschland in der Abwasserverordnung (AbwV) geregelt, die Anforderungen für die Einleitung von Abwässern in Gewässer festlegt. Für die Fleischwirtschaft sind in der AbwV Grenzwerte (z.B. für chemischen Sauerstoffbedarf, Stickstoff, Phosphor) vorgegeben, die nicht überschritten werden dürfen, wenn das Abwasser in Gewässer eingeleitet wird (Bundesministerium der Justiz, 1997). Dies ist darin begründet, dass die, bei Schlachtprozessen entstehenden, Mengen an organischen Rückständen nicht durch natürliche Abbauprozesse bewältigt werden können, was in einer massiven Beeinträchtigung der Wasserqualität, dem Tod von Wasserlebewesen und Gewässereutrophierung resultieren würde (Bustillo-Lecompte & Mehrvar, 2017). Um die Grenzwerte nicht zu überschreiten, werden z.B. chemische, biochemische und/oder physikalische Techniken zur Abwasseraufbereitung in den Schlachthöfen eingesetzt, welche in Deutschland in der Regel über

betriebseigene Kläranlagen verfügen (Musa & Idrus, 2021; Savin et al., 2020c). Die Grenzwerte der AbwV berücksichtigen jedoch lediglich die organische Verunreinigung des Wassers. Für mikrobiologische Verunreinigungen gibt es keinerlei gesetzliche Grenzwerte und Verordnungen (Savin et al., 2020c). Dies hat zur Folge, dass im Abwasser enthaltene Bakterien in öffentliche Gewässer gelangen, was Schlachthofabwässer zu einem massiven Einflussfaktor für die Ausbreitung von AMR in die Umwelt macht (Savin et al., 2020b)

### 2.7.2 Resistente Erreger in Schlachthofabwässern

Bei der immer schneller voranschreitenden Ausbreitung von AMR gelten Abwässer heute als Hotspots für die Verbreitung von pathogenen Bakterien und den genetischen Austausch von Genen, die AMR kodieren (Lepuschitz et al., 2019). Insbesondere Schlachthofabwässer gelten dabei als besonders relevant. Dies ist damit zu begründen, dass landwirtschaftliche Nutztiere selbst als eine bedeutende Quelle für die Freisetzung von AMR in die Umwelt gelten (Rousham et al., 2018). Durch Fäkalien, Blut etc. gelangen somit auch potenziell AMR-tragende Bakterien in die Abwässer und damit auch in die Umwelt (Savin et al., 2021a). Um das Risiko der Ausbreitung von AMR durch Schlachthofabwässern einzuordnen, wird im Folgenden ein Überblick über die AMR-Prävalenzen in Abwässern von Schlachthöfen gegeben.

Zwei deutsche Geflügelschlachthöfe, bzw. deren Abwässer wurden auf das Vorkommen antibiotikaresistenter Erreger, darunter *E. coli* und *K. pneumoniae*, untersucht. Insgesamt waren 92,7% der Proben aus Schlachthof 1 und 80,5% des Schlachthofs 2 positiv auf mindestens eine resistente Bakterienart. Dabei war *E. coli* in beiden Schlachthöfen mit über 90% (Schlachthof 1) und 80% (Schlachthof 2) am dominantesten vertreten. *K. pneumoniae* trat in Schlachthof 1 in unter 10% und in Schlachthof 2 in ca. 40% der Proben auf. Fast alle *E. coli*-Isolate waren ESBL-positiv und 50,5% (Schlachthof 1) bzw. 40,9% (Schlachthof 2) waren darüber hinaus 3MRGN, 10,8% bzw. 8,6% waren ebenfalls resistent gegenüber Colistin. Auch von den *K. pneumoniae*-Isolaten (zusammengefasst mit *E. cloacae complex* und *Citrobacter spp.*) beider Schlachthöfe waren fast alle ESBL-positiv, der 3MRGN-Anteil war mit 60% bzw. 67,9% jedoch deutlich höher als bei *E. coli*. 17,9% aus Schlachthof 2 waren außerdem Colistin-resistent. Die dominantesten Resistenzgene bei *E. coli* waren *bla*<sub>CTX-M-1</sub>, *bla*<sub>CTX-M-15</sub>, *bla*<sub>SHV-12</sub>, *bla*<sub>TEM-1</sub>, *bla*<sub>TEM-116</sub>, *bla*<sub>TEM-52c</sub> und *bla*<sub>TEM-52</sub>. Bei *K. pneumoniae* war *bla*<sub>SHV-2</sub> das dominanteste Resistenzgen, gefolgt von *bla*<sub>SHV-28</sub>, *bla*<sub>SHV-2</sub> und weiteren *bla*<sub>SHV</sub>-Typen. *bla*<sub>TEM</sub> und *bla*<sub>CTX-M</sub> waren nur sehr gering vertreten (Savin et al., 2020b). Wenig später untersuchten Savin et al. (2021) erneut die Prävalenz von AMR-Erregern im Abwasser eines Geflügelschlachthofes, wo erneut eine Vielzahl von AMR-Erregern festgestellt werden konnte. Von den nachgewiesenen Bakterien waren 24,7% *K. pneumoniae* und

22,7% *E. coli*. Von den *E. coli*-Isolaten wies die Mehrheit einen *bla*<sub>TEM</sub>-Genotyp auf (27,3% *bla*<sub>TEM-116</sub>, jeweils 22,7% *bla*<sub>TEM-52</sub> und *bla*<sub>TEM-1</sub>). Bei 13,6% der Isolate wurden *bla*<sub>CTX-M-1</sub> und *bla*<sub>SHV-12</sub> nachgewiesen. *K. pneumoniae*-Isolate wurden ausschließlich mit *bla*<sub>SHV</sub> identifiziert, wobei 66,7% *bla*<sub>SHV-2</sub> und 8,3% *bla*<sub>SHV-12</sub> trugen. Interessant ist, dass die höchste 3MRGN-Rate ebenfalls auf *E. coli* (40,9%) und *K. pneumoniae* fiel. Auch Colistin-Resistenzen wiesen nur die beiden Arten auf (9,1% der *E. coli*- und 4,2% der *K. pneumoniae*-Isolate) (Savin et al., 2021a).

Eine weitere Untersuchung von Savin et al. (2020a) beschäftigte sich mit AMR im Abwasser von zwei deutschen Schweineschlachthöfen. Wie auch bei den Untersuchungen der Geflügelschlachthöfe, war im Abwasser der Schweineschlachthöfe eine sehr hohe Prävalenz antibiotikaresistenter Keime zu beobachten (95,5% in beiden Schlachthöfen). Auch hier waren ESBL-*E. coli* mit 85,1% die am stärksten vertretene Art. Die 3MRGN-Rate lag bei 27,9%. ESBL-*K. pneumoniae* waren in knapp über 40% der Abwasserproben der Schlachthöfe isolierbar. Hier lag die 3MRGN-Rate bei 29,9%. Resistenzen gegenüber Colistin konnten bei keiner der beiden Arten festgestellt werden. Die bei *E. coli* dominierenden *bla*-Gene waren *bla*<sub>CTX-M</sub> (76,3%, davon 65,2% *bla*<sub>CTX-M-1</sub>), *bla*<sub>TEM</sub> (11,6%) und *bla*<sub>SHV</sub> (2,2%). Bei *K. pneumoniae* war *bla*<sub>CTX-M-1</sub> mit 61,4% am stärksten vertreten und trat oft in Kombination mit *bla*<sub>SHV</sub> oder *bla*<sub>TEM</sub> auf. 32,4% der Isolate trug *bla*<sub>CTX-M-15</sub> allein oder ebenfalls in Kombination mit *bla*<sub>SHV</sub> oder *bla*<sub>TEM</sub>.

2021 wurde eine weitere Untersuchung veröffentlicht, in welcher Savin et al. (2021b) klinisch relevante *E. coli* aus den Abwässern von jeweils zwei Schweine- und Geflügelschlachthöfen wurden. Dabei wurden u.a. resistente Hochrisikoklone von ExPEC, darunter UPEC, nachgewiesen. 51,4% der *E. coli*-Isolate aus den Geflügel- und 58,3% der, aus Schweineschlachthöfen isolierten, wurden als multiresistent eingestuft. Bei 17,1% bzw. 19,4% der Isolate konnte ebenfalls eine Resistenz gegenüber Colistin festgestellt werden. In allen verdächtigen Isolaten konnten *bla*-Gene nachgewiesen werden. Das waren vor allem *bla*<sub>OXA</sub>, *bla*<sub>CTX-M</sub>, *bla*<sub>TEM</sub> und *bla*<sub>SHV</sub>.

Homeier-Bachmann et al. (2021) untersuchten Abwässer von sieben Schweine- und Geflügelschlachthöfen, von denen vier im Rahmen der vorliegenden Untersuchung ebenfalls untersucht wurden. Dabei wurden in allen Abwasserproben hohe Mengen an multiresistenten Erregern nachgewiesen. 100% der 25 ESBL-produzierende Bakterienstämme (19 *E. coli* und sechs *K. pneumoniae*) aus Geflügelschlachthöfen waren multiresistent (3MRGN). Bei den Proben aus den Schweineschlachthöfen waren 57% der *E. coli*-Isolate 3MRGN, sowie alle der *K. pneumoniae*-Isolate. Die dominantesten Resistenzgene gehörten zur *bla*<sub>CTX-M</sub>-Familie.

### 3 Material und Methoden

#### 3.1 Schlachthöfe und Probennahme

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Abwässer von vier Schlachthöfen, davon zwei Schweine- und zwei Geflügelschlachthöfe, beprobt. Die Schlachthöfe befinden sich in den Bundesländern Niedersachsen und Nordrhein-Westfalen (siehe Abbildung 6). Genauere Angaben zu den Schlachthöfen, wie die, in dieser Arbeit verwendeten Abkürzungen für die Schlachthöfe, sind Tabelle 2 zu entnehmen. Im weiteren Verlauf dieser Arbeit werden die Schlachthöfe mit den entsprechenden Abkürzungen benannt. Die Geflügelschlachthöfe erhalten hinter ihrem Kürzel ein zusätzliches (G), die Schweineschlachthöfe ein (S).

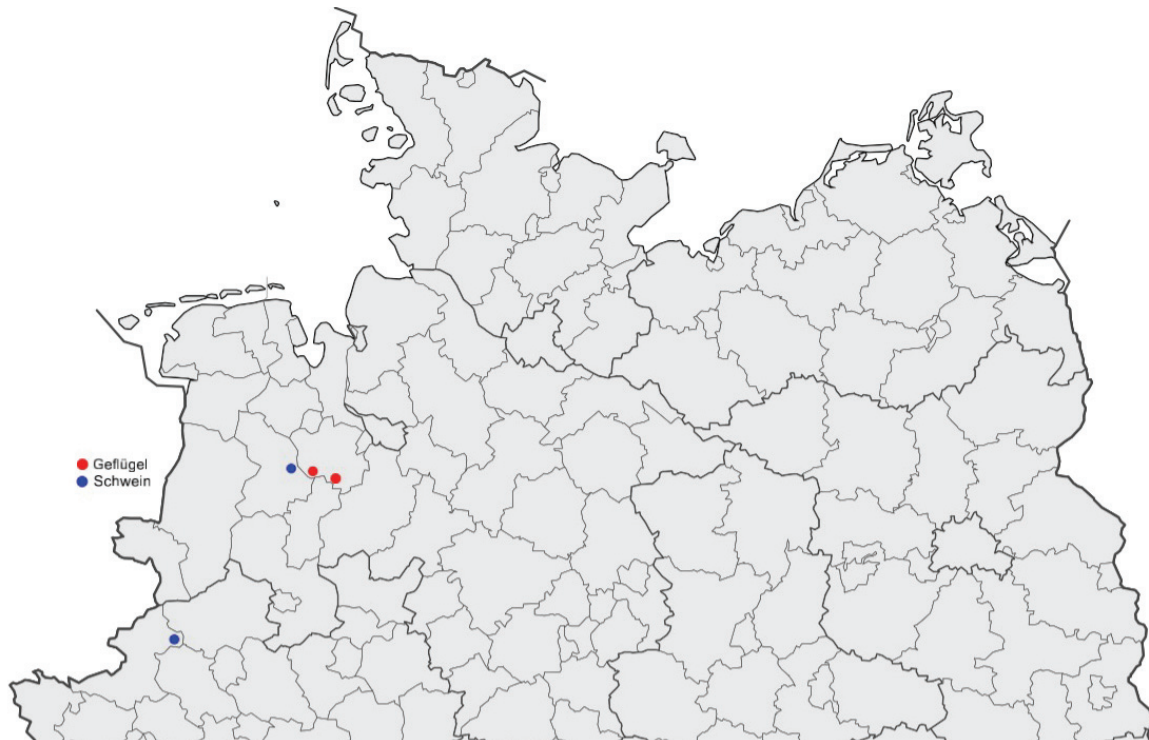
**Tabelle 2: Übersicht über die beprobten Schlachthöfe**

Ort	Bundesland	Tierart	Abkürzung
Großenkneten	Niedersachsen	Geflügel	HG (G)
Wildeshausen	Niedersachsen	Geflügel (Puten)	GPS (G)
Garrel	Niedersachsen	Schweine	BG (S)
Schöppingen	Nordrhein-Westfalen	Schweine	HT (S)

Die Durchführung der Probennahmen erfolgte extern. Die Proben wurden dabei am Abwasser-Auslass des jeweiligen Schlachthofs genommen, bevor das Abwasser in natürliche Gewässer einfließt.

Die Probennahme erfolgte an insgesamt sechs Tagen, wobei jede Probe als Duplikat entnommen wurde. Der erste Probendurchgang wurde an drei aufeinanderfolgenden Tagen an den jeweiligen Schlachthöfen durchgeführt. Dieser Vorgang wurde zwei Wochen später, wieder an drei aufeinanderfolgenden Tagen, wiederholt.

Bei dieser Untersuchung handelt es sich um die Fortführung einer Studie von Homeier-Bachmann et al. (2021), in welcher die Abwässer derselben vier Schlachthöfe, sowie drei weiterer, in dieser Untersuchung nicht beprobten, Schlachthöfe auf AMR-*Enterobacterales* untersucht wurden.



**Abbildung 6: Auszug der Deutschlandkarte mit Standortmarkierungen der beprobten Schlachthöfe**

Quelle: Eigene Darstellung

Die Wasserproben, welche ein Volumen von ca. 500 mL umfassten, wurden in sterilen Plastikbehältnissen gekühlt zum Friedrich-Loeffler-Institut (Greifswald, Insel Riems) transportiert, wo anschließend entsprechende, im weiteren Verlauf aufgeführte, Untersuchungen durchgeführt wurden.

### 3.2 Untersuchung des Probenmaterials

Um die Wasserproben auf das Vorhandensein antibiotikaresistenter Erreger zu untersuchen und diese weiter differenzieren zu können, wurden verschiedene Untersuchungsmethoden angewandt. Um die Erreger zunächst aus dem Wasser isolieren zu können, wurden die Proben in einer speziellen Filtrationsanlage filtriert. Anschließend folgte eine bakteriologische Untersuchung zur Gewinnung von Isolaten. Mit den erhaltenen Isolate wurde eine DNA-Isolierung durchgeführt, die DNA wurde wiederum für eine Vollgenomsequenzierung in das Microbial Genome Sequencing Center (Pittsburgh, USA) geschickt. Zur Resistenzbestimmung wurden Empfindlichkeitsprüfungen von Antibiotika für die Isolate im VITEK 2 an der Hochschule Neubrandenburg durchgeführt.

In den folgenden Unterpunkten werden die einzelnen Untersuchungen detailliert erläutert.

### 3.2.1 Wasserfiltration

Als Grundlage für alle folgenden Untersuchungen wurden die Wasserproben filtriert. Dafür wurden ca. 200 mL je Wasserprobe durch eine sterile Gaze vorfiltriert, um grobe Schmutzpartikel zu entfernen. Ca. 100 mL des filtrierten Wassers wurden anschließend mit einem EZ-Fit-Filtrationssystem von Merck Millipore durch einen sterilen Membranfilter mit einem Porendurchmesser von 0,45 µm erneut filtriert. Der Membranfilter wurde anschließend in 10 mL Cefotaxim-haltiges LB-Medium (2 µg Cefotaxim/mL Medium) gegeben und über Nacht bei 37 °C in einem Inkubationsschüttler bebrütet. Bakterienwachstum wird durch eine deutliche Trübung des LB-Mediums sichtbar. Proben, die anhand der Trübung auf das Vorhandensein antibiotikaresistenter Erreger schließen ließen, wurden anschließend auf Agarplatten ausgestrichen (siehe Punkt 3.2.2).

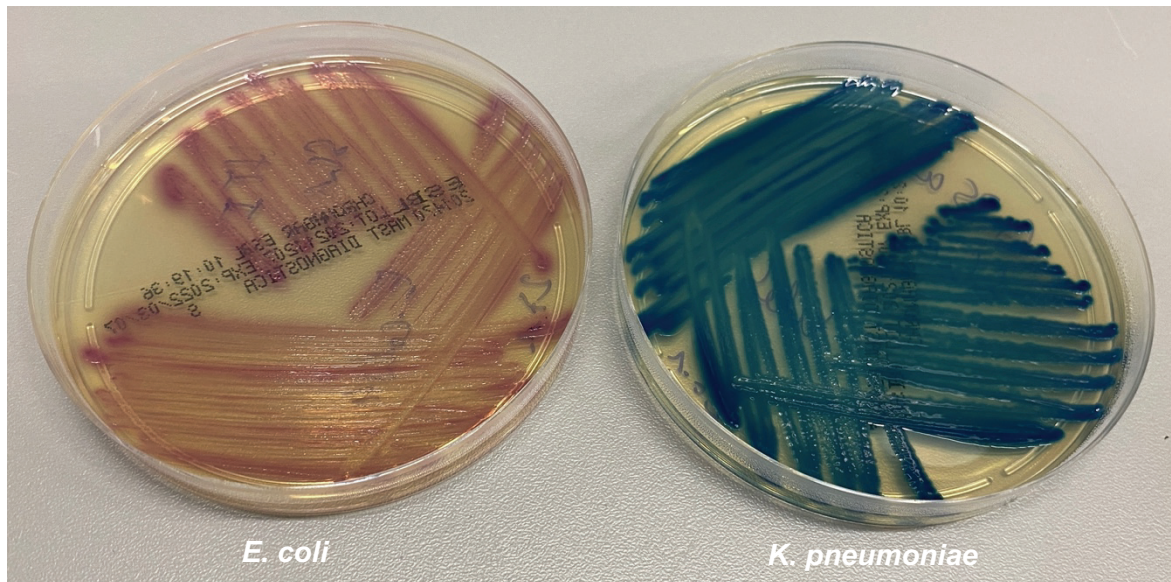
### 3.2.2 Bakteriologische Untersuchung

Um die Proben, welche zuvor in LB-Medium angereichert wurden, auf das Vorhandensein resistenter Erreger zu untersuchen, erfolgte eine bakteriologische Untersuchung. Dafür wurden jeweils 100 µL des angereicherten LB-Mediums auf Agarplatten pipettiert und mittels Verdünnungsausstrich ausplattiert. Verwendet wurden dafür jeweils drei verschiedene Selektiv-Nährböden. Grundlage der Nährböden war immer der chromogene Nährboden „CHROMagar™“ des Herstellers Mast Diagnostica GmbH. Das im Nährboden enthaltene chromogene Substrat wird bei Kontakt mit spezifischen mikrobiellen Enzymen in ein Chromogen und eine Zuckerkomponente gespalten. Dieses Chromogen bildet bei Sauerstoffkontakt ein Dimer, welches Bakterienkolonien in spezifische Farben einfärbt, was einen Nachweis von Organismen und die visuelle Differenzierung verschiedener Spezies ermöglicht (Merck KGaA, 2021). *E. coli* zeigen sich in einer pink/violetten bis rötlichen Färbung, während *K. pneumoniae* in einem metallischen Blau erscheint.

Für die bakteriologische Untersuchung wurden die Fertigplatten „CHROMagar™ ESBLE“, „CHROMagar™ COL-APSE“ und „CHROMagar™ mSuperCARBA“ verwendet. „CHROMagar™ ESBLE“ diente zur Detektion von ESBLE-produzierenden gramnegativen Bakterien. „CHROMagar™ COL-APSE“ ermöglicht die Detektion von gramnegativen Bakterien mit einer Colistin-Resistenz und mittels der „CHROMagar™ mSuperCARBA“ können Carbapenemase-produzierende gramnegative Bakterien detektiert werden (CHROMagar™, 2020).

Nach Beimpfung der Nährböden mit Probenmaterial wurden diese über Nacht, bei einer Temperatur von 37 °C, in einem Brutschrank inkubiert. Nach der Inkubation erfolgte eine visuelle Auswertung der Platten.

Von Proben, bei denen der Verdacht des Vorhandenseins resistenter *E. coli* und/oder resistenter *K. pneumoniae* bestand, wurden Subkulturen erstellt. Die Subkulturen wurden immer auf dem jeweiligen Nährboden angelegt, von dem die Ausgangskolonie stammte. Ziel war es, Reinkulturen der verdächtigen Kolonien zu erhalten (siehe Abbildung 7), um diese weiter untersuchen zu können.



**Abbildung 7: Reinkulturen von *E. coli* (links) und *K. pneumoniae* (rechts) auf „CHROMagar™ ESBL“-Nährböden**

Quelle: Eigene Aufnahme

### 3.2.3 DNA-Isolierung und -Sequenzierung

Zur Durchführung einer Vollgenomsequenzierung ist die Isolation der DNA der, zu untersuchenden, Bakterienisolate notwendig. Dafür wurde das jeweilige Probenmaterial in 10 mL LB-Medium, welches mit 2 µL/mL Cefotaxim versetzt war, übertragen und über Nacht in einem Inkubationsschüttler bei 37 °C bebrütet. Aus den so entstandenen Übernachtskulturen der Isolate wurde die DNA isoliert.

Für die Präparation der DNA wurde das "MasterPure™ DNA Purification Kit for Blood, Version II" verwendet (LGC Limited, 2021). Je 1 mL des flüssigen Nährmediums aus der Übernachtskultur wurde in Reaktionsgefäße überführt und anschließend bei 8000 g und 20 °C für 5 Minuten zentrifugiert. Der dabei entstandene Überstand wurde abpipettiert und verworfen. Die Rückstände wurden mit jeweils 300 µL „Tissue and Cell Lysis Solution“ resuspendiert, um die Zellmembranen der Bakterien zu zerstören. Nach dem Mischvorgang wurde 1 µL RNase A (5 µg/µL) hinzugefügt, um RNA-freie DNA gewinnen zu können. Die Lösung wurde im Anschluss bei einer Temperatur von 37 °C für 30 Minuten inkubiert und direkt im Anschluss 3-5 Minuten auf Eis gestellt. Nachfolgend wurden 175 µL „MPC Protein Precipitation Reagent“ zur Probe hinzugegeben, welche anschließend 10 Sekunden gevortext und dann 10 Minuten bei 10000 g und 4 °C zentrifugiert wurde. Der entstandene Überstand

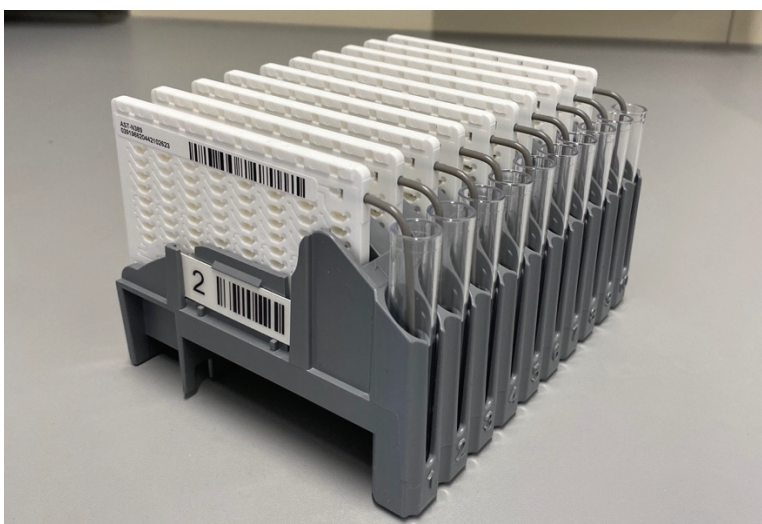


wurde in ein neues, sauberes Tube überführt und der Pellet verworfen. Der Überstand wurde mit 500 µL Isopropanol versetzt, das Tube 30-40 Mal geschwenkt und anschließend erneut für 10 Minuten bei 10000 g und 4 °C zentrifugiert. Im Anschluss wurde das Isopropanol abgegossen, ohne dabei das entstandene DNA-Pellet aufzuwirbeln. Um die DNA zu reinigen, wurde sie zweimal mit 100 µL eiskaltem, 75%igen Ethanol gespült. Der übrige Rest Ethanol wurde abpipettiert und die Pellets getrocknet, bis sie farblos erschienen. Zum Resuspendieren der DNA wurde diese mit 35 µL Nuklease-freiem Wasser versetzt und bei -20 °C eingefroren. Die isolierten DNA-Proben wurden zur Vollgenomsequenzierung zum "Microbial Genome Sequencing Center" in Pittsburgh (USA) geschickt. Die Auswertung der Sequenzierungsergebnisse erfolgte im Friedrich-Loeffler-Institut.

### 3.2.4 Resistenzbestimmung

Eine Resistenzbestimmung wurde im mikrobiologischen Labor der Hochschule Neubrandenburg mittels VITEK 2 durchgeführt. Mit dem VITEK 2 des Herstellers bioMérieux wurden Empfindlichkeitsprüfungen von Antibiotika (AST) für die isolierten Bakterien, sowie ein Nachweis von Resistenzmechanismen durchgeführt.

Dafür wurde Koloniematerial der jeweiligen Probe mit einem sterilen Wattestäbchen entnommen und in Einweg-Reagenzgläser mit 3 mL 0,45%iger NaCl-Lösung gegeben. Bei dem somit entstandenen Inokulum wurde der McFarland, welcher die Trübung einer Bakteriensuspension angibt, gemessen. Dieser muss bei einem McFarland-Standard zwischen 0,50 und 0,63 liegen. Im Anschluss werden 145 µL des Inokulums in 3 mL 0,45%ige NaCl-Lösung pipettiert, vermischt und anschließend in einen VITEK-Carrier gestellt. Für die AST und den Nachweis von Resistenzmechanismen werden spezielle AST-Karten benötigt, welche für jede Probe an den jeweiligen Platz im Carrier gestellt werden (siehe Abbildung 8).



**Abbildung 8: VITEK 2-Carrier mit Probenmaterial und AST-Karten**

Quelle: Eigene Darstellung

Für die Untersuchung wurden die Karten „AST-N389“ verwendet. Jede Karte verfügt über 64 Vertiefungen, welche mit verschiedenen Antibiotika und dem notwendigen Kulturmedium in Verdünnungsreihen befüllt sind. In Tabelle 3 sind die, in der „AST-N389“ enthaltenen Antibiotika, sowie die verwendeten Konzentrationen und die MHK-Bereiche aufgeführt.

**Tabelle 3: Übersicht über enthaltene Antibiotika mit jeweiligen Konzentrationen und MHK-Bereichen der "AST-N389"-Karte**

Antibiotikum	Konzentrationen in µg/mL	MHK-Bereich in µg/mL
Amikacin	2, 4, 16, 48	1-64
Aztreonam	2, 8, 32	1-64
Cefepim	0,25, 1, 4, 16, 32	0,12-32
Cefotaxim	0,5, 2, 4, 8, 32	0,25-64
Ceftazidim	0,25, 1, 2, 8, 32	0,12-64
Ciprofloxacin	0,06, 0,12, 0,5, 0,1	0,06-4
Fosfomycin	8, 16, 32	16-256
Gentamicin	4, 8, 32	1-16
Imipenem	0,5, 2, 8, 16	0,25-16
Meropenem	0,5, 2, 6, 12	0,25-16
Piperacillin	4, 16, 32, 64	4-128
Piperacillin/Tazobactam	2/4, 8/4, 24/4, 32/4, 32/8, 48/8	4/4-128/4
Tigecyclin	1,5, 4, 8	0,5-8
Tobramycin	8, 16, 64	1-16
Trimethoprim/Sulfamethoxazol	1/19, 4/76, 16/304	20 (1/19) - 320 (16/304)

Quelle: Eigene Darstellung in Anlehnung an bioMérieux, 2021

Die Carrier mit den AST-Karten und dem Inokulum werden im VITEK 2 vollautomatisiert verdünnt, befüllt, versiegelt, bebrütet und alle 15 Minuten abgelesen. Dabei werden Rohdaten aus Trübungs- und colorimetrischen Messungen analysiert (Pan & Yu, 2014). Die Erstellung der Antibiogramme erfolgt anschließend nach den Richtwerten des European Committee of Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), welche jährlich aktualisiert werden (NAK, 2023). Für jedes getestete Antibiotikum wird ein Ergebnis gestellt, welches entweder "sensibel", "intermediär" oder "resistent" lautet. Intermediär gegenüber einem Antibiotikum bedeutet, dass das Bakterium von einer Konzentration dieses Wirkstoffs inhibiert wird, welche mit einem unsicheren therapeutischen Ergebnis assoziiert ist (Rodloff et al., 2008)

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Bakteriologische Untersuchung

Da jede Probe, mit Ausnahme der Beprobung des Schlachthofs HT (S) am 24.01., als Duplikat genommen wurde, wurden 39 Abwasserproben einer bakteriologischen Untersuchung unterzogen. Ziel dabei war die Erregerisolierung mit dem Fokus auf *E. coli* und *K. pneumoniae*. Die detaillierten Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung sind in den Tabellen 5 und 6 (siehe Anhang) dargestellt. Von den Proben, die nach der Vorselektion in Cefotaxim-haltigem-LB-Medium auf verschiedenen Selektionsnährböden ausplattiert wurden, konnten 98 Isolate kultiviert werden. Davon wuchsen 82 auf ESBL-Selektivnährböden und 16 auf Colistin-Selektivnährböden. Auf den Carbapenem-haltigen Nährböden konnte bei keiner Probe ein Wachstum festgestellt werden. Bei 87 Isolaten deutete das morphologische Aussehen auf *E. coli* hin, 11 Isolate wiesen morphologische Merkmale von *K. pneumoniae* auf.

**Tabelle 4: Anzahl der insgesamt isolierten *E. coli*- und *K. pneumoniae*-Isolaten aus den jeweiligen Schlachthöfen**

	HG (G)	GPS (G)	BG (S)	HT (S)
<i>E. coli</i>	8	29	24	26
<i>K. pneumoniae</i>	4	2	2	3

In allen Proben der Schlachthöfe GPS (G), BG (S) und HT (S) konnten ESBL-verdächtige *E. coli* nachgewiesen werden. Beim Schlachthof HG (G) konnten nur an zwei Proben Tagen (25+26.02.2022) ESBL-verdächtige *E. coli* sowie *K. pneumoniae* isoliert werden, alle weiteren Proben dieses Schlachthofs waren AMR-unverdächtig. Somit beinhalteten 74,36% aller Proben ESBL-verdächtige Erreger.

Aus den zwei positiven Proben des Schlachthofs HG (G) konnten insgesamt 8 *E. coli*- und 4 *K. pneumoniae*-Isolate mit ESBL-Verdacht kultiviert werden. Somit waren 8,33% der Proben ESBL-verdächtig, bei 0% bestand ein Verdacht auf Colistin-resistente Erreger.

Aus den positiven Proben des Schlachthofs GPS (G) wurden insgesamt 17 *E. coli*-Isolate von ESBL-Selektivnährböden und 12 von Colistin-haltigen Böden isoliert. Außerdem konnten zwei *K. pneumoniae*-Isolate von Colistin-haltigen Platten isoliert werden. 100% der Proben beinhalteten potenzielle ESBL-Erreger, bei 66,67% (8/12 Proben) konnten phänotypisch Colistin-resistente Bakterien nachgewiesen werden.

Aus den Proben des Schlachthofs BG (S) konnten insgesamt 26 AMR-verdächtige Erreger isoliert werden. Darunter waren 24 ESBL-verdächtige *E. coli* und zwei ESBL-verdächtige *K. pneumoniae*. Bei keiner Probe trat ein Wachstum auf Colistin-haltigen Nährböden auf. Auch bei diesem Schlachthof lag die ESBL-Verdachtsrate bei 100%.

Bei der bakteriologischen Untersuchung der Abwasserproben von Schlachthof HT (S) konnten insgesamt 24 ESBL-verdächtige *E. coli*-Isolate kultiviert werden. Außerdem kultiviert wurden zwei *E. coli*-Isolate mit einer phänotypischen Colistin-Resistenz, drei ESBL-verdächtige *K. pneumoniae*-Isolate und eines mit phänotypischer Colistin-Resistenz. Auch bei diesem Schlachthof lag die ESBL-Verdachtsrate bei 100%, phänotypische Colistin-Resistenzen zeigten sich in einer Probe (9%).

#### **4.2 Resistenzbestimmung**

Im Rahmen der Resistenzbestimmung wurden Antibiogramme für jedes einzelne Isolat erstellt. Die detaillierten Ergebnisse für jedes Isolat sind in Tabelle 7 aufgeführt (siehe Anhang).

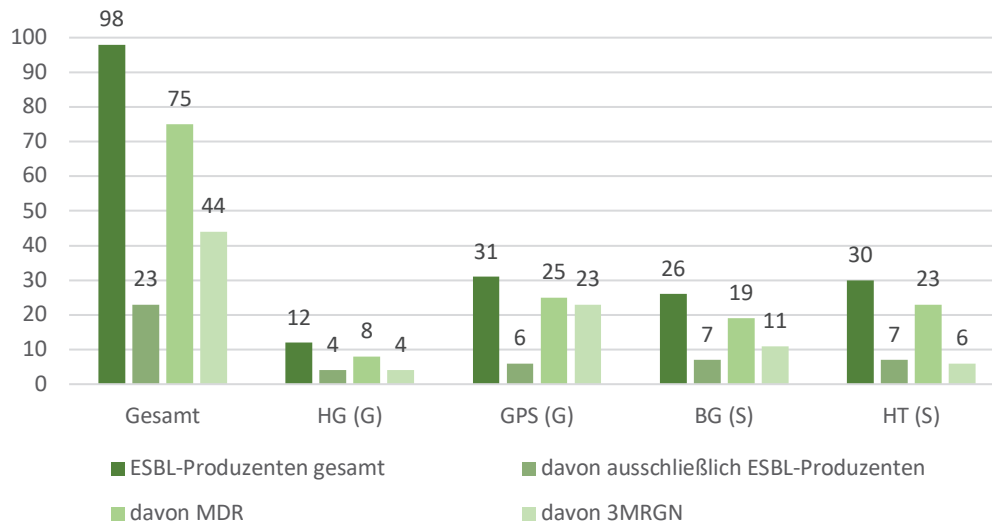
Von den insgesamt 98 kultivierten Isolaten handelte es sich bei 100% um ESBL-Produzenten. Von diesen Isolaten waren 75 als MDR zu identifizieren (76,53%), wovon wiederum 44 Isolate (44,9%) der Definition von 3MRGN entsprachen (siehe Abbildung 9).

Unter den untersuchten Abwässern des Schlachthofs HG (G) war die Prävalenz von AMR-Erregern mit 12 Isolaten am geringsten. Dabei waren alle Isolate ESBL-Bildner (100%), bei acht (66,66%) handelte es sich um MDR, wovon vier Isolate (33,33%) als 3MRGN identifiziert wurden.

Die meisten AMR-Isolate stammen aus dem Schlachthof GPS (G). Auch hier handelte es sich bei allen 31 Isolaten (100%) um ESBL-Produzenten. Von diesen Isolaten waren 25 Isolate MDR (80,65%), von denen wiederum 23 (74,19%) als 3MRGN galten. Der Schlachthof GPS (G) wies unter allen Schlachthöfen den höchsten Anteil an 3MRGN-Erregern auf.

Aus den Abwasserproben des Schlachthofs BG (S) wurden 26 AMR-Erreger isoliert, von denen erneut 100% ESBL produzierten. 19 dieser Isolate (73,08%) wurden als MDR identifiziert, von denen 11 (42,31%) der Definition von 3MRGN entsprachen.

Der Schlachthof HT (S) wies die zweithöchste AMR-Prävalenz auf. Von den 30 Isolaten wurden 100% als ESBL identifiziert. Davon waren 23 Isolate MDR (76,67%) und wiederum sechs Isolate 3MRGN (20%).



**Abbildung 9: Anzahl an ESBL-, MDR- und 3MRGN-Isolaten je Schlachthof**

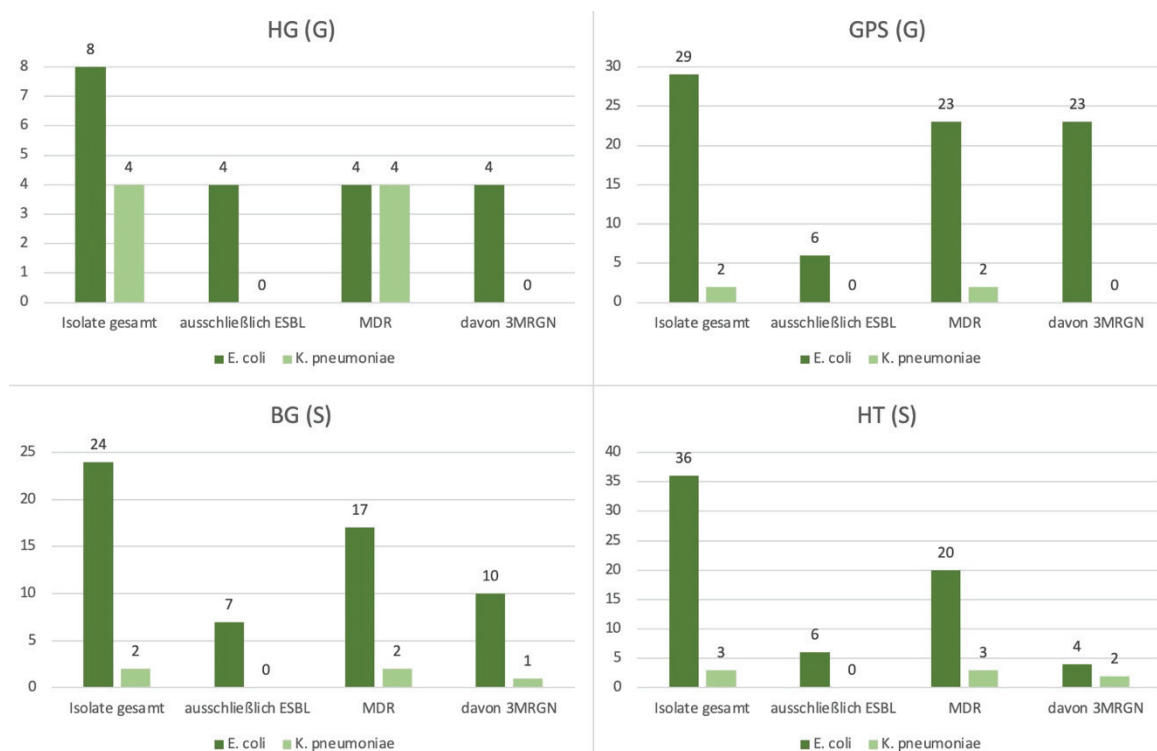
Die in Abbildung 10 dargestellten Resistenztypen in Bezug auf die jeweilige Bakterienart zeigen, dass der Anteil resistenter *E. coli* in allen Schlachthöfen deutlich höher war als der von *K. pneumoniae*. Außerdem wird deutlich, dass alle *K. pneumoniae*-Isolate MDR z.T. 3MRGN waren. Grundsätzlich handelte es sich bei allen Isolaten um ESBL-Produzenten.

Im Schlachthof HG (G) waren vier *E. coli*-Isolate ausschließlich ESBL-Bildner. Die weiteren vier Isolate waren sowohl MDR als 3MRGN. Alle vier *K. pneumoniae*-Isolate entsprachen der Definition von MDR.

Im Schlachthof GPS (G) handelte es sich bei sechs *E. coli*-Isolaten um ausschließliche ESBL-Bildner, die weiteren 23 Isolate entsprachen sowohl MDR als auch 3MRGN. Die zwei *K. pneumoniae*-Isolate entsprachen der MDR-Definition.

Aus dem Schlachthof BG (S) wurden sieben *E. coli*-Isolate als ausschließliche ESBL-Bildner identifiziert. Bei 17 handelte es sich um MDR, von denen wiederum zehn 3MRGN entsprachen. Bei den zwei *K. pneumoniae*-Isolaten handelte es sich um MDR, eines entsprach zusätzlich 3MRGN.

Bei den *E. coli*-Isolaten des Schlachthofs HT (S) waren sechs ausschließliche ESBL-Bildner. 20 entsprachen MDR, davon vier zusätzlich 3MRGN. Bei den *K. pneumoniae*-Isolaten waren alle drei Isolate MDR. Zwei dieser Isolate konnten als 3MRGN identifiziert werden.



**Abbildung 10: Unterteilung der Resistenztypen nach Schlachthöfen und Bakterien**

Alle Isolate wiesen eine Resistenz gegenüber  $\beta$ -Laktam-Antibiotika auf. Getestet wurden Antibiotika, die den Penicillinen, Aminopenicillinen oder den Cephalosporinen der 1., 3. oder 4. Generation angehören. Auch bei der Kombination von Amoxicillin mit dem  $\beta$ -Laktamase-Inhibitor Clavulansäure zeigten alle Isolate eine Resistenz. Der  $\beta$ -Laktamase-Inhibitor Tazobactam konnte die  $\beta$ -Laktamasen teilweise hemmen. So zeigte kein Isolat bei der Wirkstoffkombination Ceftozolan/Tazobactam eine phänotypische Resistenz. Bei der Kombination von Piperacillin und Tazobactam wurde eine leichte Resistenzminderung beobachtet. Vier *E. coli*-Isolate zeigten hierbei eine phänotypische Resistenz, ein *E. coli*- sowie ein *K. pneumoniae*-Isolat waren sensibel. Bei allen anderen Isolaten ergab die Resistenzbestimmung ein intermediäres Ergebnis.

Alle Isolate waren empfindlich gegenüber den Reserveantibiotika Imipenem und Meropenem, welche zu den Carbapenemen gehören. Auch gegen Amikacin waren alle Isolate sensibel.

Zwei *E. coli*-Isolate (3033 und 3118) zeigten eine Resistenz gegen Gentamicin und Tobramycin. Das Isolat 3117 war ebenfalls resistent gegen Tobramycin, während alle weiteren Isolate sensibel gegen die zwei Wirkstoffe waren.

Die größten Unterschiede im Resistenzverhalten wurden bei Ciprofloxacin beobachtet. 41 *E. coli*-Isolate waren gegenüber diesem Wirkstoff phänotypisch resistent. Sieben zeigten ein intermediäres Ergebnis und 38 waren sensibel. Von den *K. pneumoniae*-Isolaten waren drei resistent, neun intermediär und keines sensibel.

Kein Isolat zeigte eine Resistenz oder ein intermediäres Ergebnis gegenüber Tigecyclin.

Eine phänotypische Resistenz gegenüber Fosfomycin zeigten zwei *E. coli*- und zwei *K. pneumoniae*-Isolate. Erstere stammen aus dem Schlachthof GPS (G), während letztere aus den Schlachthöfen HG (G) und BG (S) isoliert wurden.

Bei 14 *E. coli*-Isolaten, davon 12 aus dem Schlachthof GPS (G) und zwei aus dem Schlachthof HT (S), sowie bei zwei *K. pneumoniae*-Isolaten des Schlachthofs GPS (G), wurde eine phänotypische Resistenz gegenüber dem Reserveantibiotikum Colistin festgestellt.

Bei der Wirkstoffkombination Trimethoprim/Sulfamethoxacol zeigten 58 *E. coli*- und 10 *K. pneumoniae*-Isolate eine phänotypische Resistenz, während alle anderen sensibel waren.

### 4.3 DNA-Sequenzierung

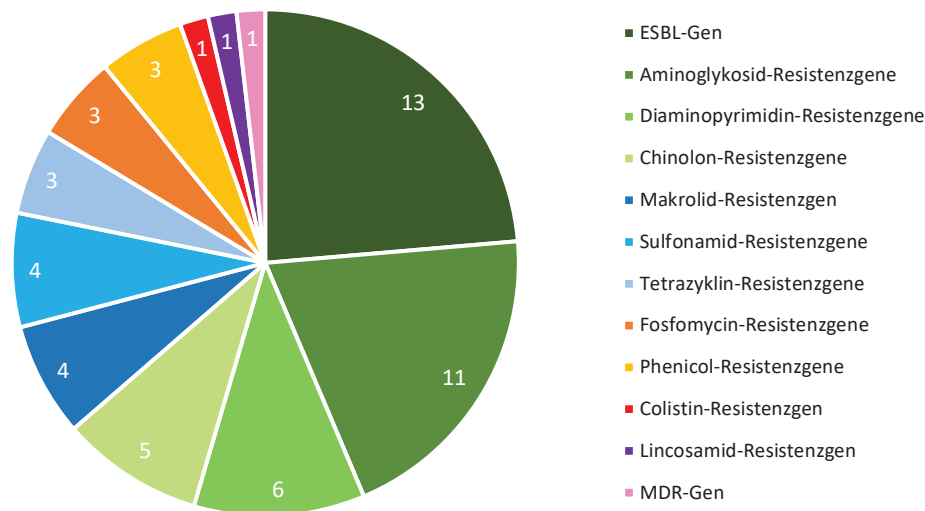
Die Gesamtgenomsequenzierung der Isolate ermöglichte die Entschlüsselung der Bakterien-DNAs, wodurch ein Vergleich von phänotypischen Resistenzmerkmalen und im Genom verankerten Resistenzgenen möglich wurde. Dadurch konnten Zusammenhänge zwischen Geno- und Phänotypen festgestellt werden. Die Ergebnisse der Genomsequenzierung für die Isolate jedes Schlachthofs wurden in den Tabellen 8 bis 17 im Anhang tabellarisch nach Sequenztypen sowie detektierten Resistenzgenen und phänotypischer Resistenzausprägung aufgeführt.

#### 4.3.1 *E. coli*

Bei den *E. coli*-Isolaten aller Schlachthöfe wurden insgesamt 30 verschiedene Sequenztypen nachgewiesen (siehe Tabellen 8 bis 11). Im Schlachthof HG (G) wurden zwei verschiedene Sequenztypen gefunden, die gleichmäßig verteilt waren (4:4). Die Isolate aus dem Schlachthof GPS (G) gehörten zu neun verschiedenen Sequenztypen. Vier der 32 *E. coli*-Isolate waren von bislang unbekanntem Sequenztypen. Die aus dem Schlachthof BG (S) isolierten *E. coli*-Isolate gehörten zu insgesamt 10 verschiedenen Sequenztypen. Die größte Diversität an Sequenztypen wurde bei den Isolaten des Schlachthofs HT (S) festgestellt, wo insgesamt 26 untersuchte Isolate zu 17 verschiedenen Sequenztypen gehörten.

Hinsichtlich der detektierten Resistenzgene wurden insgesamt 55 verschiedene Resistenzgene nachgewiesen. Die meisten dieser Gene traten in allen Schlachthöfen auf, während einige wenige nur auf einem Schlachthof vorkamen. Die detaillierte Übersicht über die detektierten Resistenzgene und ihre Verteilung ist in den Tabellen 14 bis 17 im Anhang zu finden. Die nachgewiesenen Resistenzgene lassen sich insgesamt in 12 Gruppen unterteilen, bezogen auf die Antibiotikaklassen, gegen die sie Resistenzen vermitteln können. Abbildung 11 stellt diese Gruppen und die Anzahl an nachgewiesenen Resistenzgenen pro Antibiotikaklasse dar. Es wird deutlich, dass die meisten Gene (23,64%) zu den ESBL-Genen gehören. Ebenfalls stark vertreten waren Gene, die Aminoglykosid-Resistenz vermitteln können (20%). Es wurden auch jeweils vier bis sechs verschiedene Resistenzgene für die Klassen der Diaminopyrimidine, Chinolone, Makrolide und Sulfonamide nachgewiesen. Für die Antibiotikaklassen der Tetracycline, Fosfomycine und Phenicolide waren jeweils drei Resistenzgene nachweisbar. Für Colistin und Lincosamide konnte jeweils nur ein Resistenzgen nachgewiesen werden. Außerdem ließ sich das Gen *mdf(A)* sequenzieren, welches ein MDR-Gen ist und mehrere Antibiotikaklassen inaktivieren kann.





**Abbildung 11: Anzahl an detektierten Resistenzgenen nach Antibiotikaklassen aus *E. coli*-Isolaten**

#### 4.3.1.1 Vergleich der phäno- und genotypischen Resistenz

In 100% der Isolate ließ sich mindestens ein ESBL-Gen nachweisen. Das vorherrschende Resistenzgen war *bla*<sub>CTX-M-15</sub>, das in 37 Isolaten (42,53%) gefunden wurde. Weitere stark vertretene ESBL-Gene waren *bla*<sub>CTX-M-1</sub> (33x) und *bla*<sub>TEM-1B</sub> (27x). Phänotypisch spiegelte sich dieses Ergebnis wider, da alle Isolate eine phänotypische Resistenz gegenüber  $\beta$ -Laktam-Antibiotika zeigten. Lediglich bei der Wirkstoffkombination Ceftozolan/Tazobactam war bei keinem Isolat eine phänotypische Resistenz nachzuweisen.

Auch Aminoglykosid-Resistenzgene waren stark präsent. 73 der 87 Isolate (83,91%) verfügten über mindestens eines dieser Resistenzgene, viele Isolate wiesen bis zu vier Resistenzgene dieser Gruppe auf. Das am häufigsten vorkommende Gen war *aph(6)-IId\_1*, das in 52 von 87 Isolaten (59,77%) vorhanden war. Ebenfalls häufig nachweisbar waren die Gene *aph(3'')-Ib\_5* (42x), *ant(3'')-Ia\_1* (29x) und *aadA5\_1* (22x). Trotz des hohen Vorkommens dieser Gene wiesen nur die Isolate 3033 (GPS (G)) und 3117 sowie 3118 (BG (S)) eine phänotypische Resistenz gegen Aminoglykoside auf. Alle weiteren Isolate waren phänotypisch sensibel.

In den Isolaten wurden insgesamt sechs verschiedene Diaminopyrimidin-Resistenzgene detektiert, welche in 61 von 87 Isolaten (70,11%) vorkamen. Bis auf das Isolat 2910 HT (S), welches zwei dieser Resistenzgene trug, trug jedes weitere Isolat nur jeweils eines. Am häufigsten war das Gen *dfrA17\_1* vertreten, welches in 23 Isolaten nachgewiesen wurde, gefolgt von *dfrA1\_10*, welches in 24 Isolaten nachvorkam. 58 Isolate wiesen eine phänotypische Resistenz gegen die Wirkstoffkombination Trimethoprim/Sulfamethoxazol auf. Sechs Isolate zeigten trotz Vorhandensein des Gens keine Resistenz.

Für die Chinolone/Fluorchinolone wurden fünf assoziierte Resistenzgene nachgewiesen, welche in 21 Isolaten (24,14%) gefunden wurden. Am häufigsten war das Gen *qnrS1\_1* vertreten, welches insgesamt 15 mal vorkam (17,24%). Von den 21 Isolaten, die eines dieser Resistenzgene trugen, zeigten zehn Isolate keine phänotypische Resistenz. Interessanterweise waren 37 Isolate phänotypisch resistent und sieben Isolate phänotypisch intermediär gegenüber Chinolonen/Fluorchinolonen, obwohl kein entsprechendes Resistenzgen nachgewiesen wurde.

Vier Resistenzgene, die eine Makrolid-Resistenz vermitteln können, wurden in insgesamt 20 Isolaten (22,99%) nachgewiesen. Da keine Resistenzbestimmung für Makrolide durchgeführt wurde, kann über die phänotypische Resistenz keine Aussage getroffen werden.

Ebenfalls vier verschiedene Resistenzgene wurden für Sulfonamide detektiert. Diese waren in 68 Isolaten (78,16%) nachweisbar, wobei das Gen *sul2\_2* am häufigsten vorkam. Eine phänotypische Resistenz gegen Sulfonamide zeigten 58 Isolate, wobei zwei Isolate kein entsprechendes Resistenzgen besaßen. Bei 12 Isolaten mit Resistenzgen wurde keine phänotypische Resistenz festgestellt.

Es wurden drei verschiedene Tetrazyklin-Resistenzgene detektiert, die in 34 Isolaten (39,08%) vorkamen, wobei das Gen *tet(A)\_6* am häufigsten auftrat. Keines der insgesamt 87 Isolate zeigte eine phänotypische Resistenz gegenüber dem untersuchten Wirkstoff Tigecyclin.

Für die Fosfomycin-Resistenzgene wurden drei verschiedene in der Sequenzierung gefunden, die jedoch nur bei neun Isolaten (10,34%) nachgewiesen wurden. Das am häufigsten vorkommende Gen war *fosA7\_1*. Nur zwei Isolate des Schlachthofs GPS (G), die das Gen *fosA3\_1* trugen, zeigten eine phänotypische Resistenz gegen Fosfomycin.

Bei den Phenicol-Resistenzgenen wurden drei verschiedene detektiert, welche in 15 Isolaten vertreten waren. Da keine Resistenzbestimmung durchgeführt wurde, kann über die phänotypische Ausprägung dieser Gene keine Aussage getroffen werden.

Für das Reserveantibiotikum Colistin wurde ein Resistenzgen, das Gen *mcr-1.1\_1*, gefunden. Dieses war in 15 Isolaten (17,24%) vorhanden und führte bei 14 Isolaten zu einer phänotypischen Resistenz gegen Colistin.

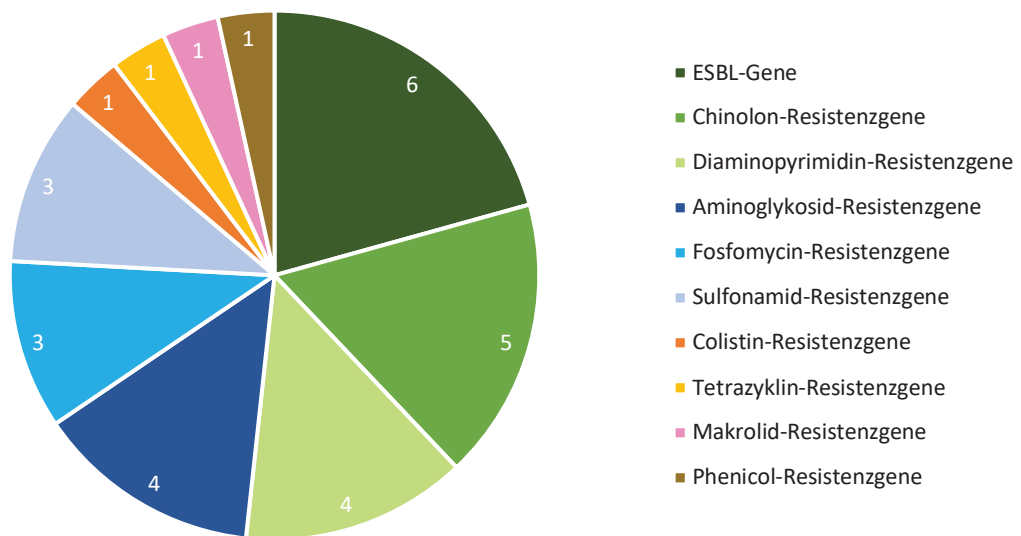
Das MDR-Gen *mdf(A)* war in 86 Isolaten (98,85%) vorhanden.

#### **4.3.2 K. pneumoniae**

Bei den *K. pneumoniae*-Isolaten aller Schlachthöfe wurden insgesamt vier verschiedene Sequenztypen nachgewiesen (siehe Tabelle 12 im Anhang). Dabei handelte es sich bei allen Isolaten der Schlachthöfe HG (G) und HT (S) um den ST39. Die zwei Isolate des

Schlachthofs GPS (G) wiesen den Sequenztyp ST1774 auf. Der einzige Schlachthof, bei dem zwei verschiedene Sequenztypen detektiert wurden, war der Schlachthof BG (S), bei dem ein Isolat den ST248 aufwies, das zweite Isolat den ST896.

Insgesamt wurden 30 Resistenzgene bei den Isolaten detektiert. Ähnlich wie bei den Resistenzgenen der *E. coli*-Isolate, fanden sich viele dieser Resistenzgene in allen Schlachthöfen wieder. Die Resistenzgene lassen sich, bezogen auf die Antibiotikaklassen, in 10 Gruppen teilen. Diese werden in Abbildung 12 mit der Anzahl an jeweils nachgewiesenen Resistenzgenen pro Antibiotikaklasse dargestellt.



**Abbildung 12: Anzahl an detektierten Resistenzgenen nach Antibiotikaklassen aus *K. pneumoniae*-Isolaten**

#### 4.3.2.1 Vergleich der phäno- und genotypischen Resistenz

Am diversesten vertreten waren die ESBL-Gene, welche in allen 11 Isolaten (100%) vorhanden waren. Dabei am prävalentesten war das Gen *bla*<sub>CTX-M-15</sub>, welches in 100% der Isolate gefunden wurde. Ebenfalls häufig traten die Gene *bla*<sub>TEM-1B</sub> (9x) und *bla*<sub>SHV-187</sub> (7x) auf. Alle Isolate zeigten eine phänotypische Resistenz gegen  $\beta$ -Laktam-Antibiotika.

An Chinolon-Resistenzgenen konnten fünf verschiedene nachgewiesen werden, wobei alle Isolate mindestens eines dieser Gene trugen. In 100% der Isolate vertreten waren die Gene *Oqx*<sub>A\_1</sub> und *Oqx*<sub>B\_1</sub>. Drei Isolate (3034, 3036 (HT (S)) und 3104 (BG (S))) waren phänotypisch resistent gegen Chinolone, während die übrigen neun intermediär waren.

Vier Diaminopyrimidin-Resistenzgene wurden nachgewiesen, von denen das Gen *dfrA14\_5* am häufigsten vorkam (8 von 11 Isolate). Insgesamt trugen alle 11 Isolate mindestens eines dieser Gene. Alle Isolate, außer die Nummer 3028 (BG (S)) waren phänotypisch resistent gegen Trimethoprim/Sulfamethoxazol.

Aminoglykosid-Resistenzgene wurden in 10 von 11 Isolaten gefunden. In jedem dieser 10 Isolate traten die Gene *aph(6)-ld\_1* und *aph(3'')-lb\_5* auf. Das Isolat, welches kein Aminoglykosid-Resistenzgen trug, war die Nummer 3028 vom Schlachthof BG (S). Alle 11 Isolate waren phänotypisch sensibel gegen Aminoglykoside.

Drei der sequenzierten Gene wurden als Fosfomycin-Resistenzgene identifiziert und waren in allen 11 Isolaten vorhanden. Das am häufigsten vertretene Gen war *fosA6\_3*, das in acht Isolaten nachgewiesen wurde. Lediglich die Isolate 3030 (HG (G)) und 3028 (BG (S)) zeigten eine phänotypische Resistenz gegen Fosfomycin. Die anderen neun Isolate waren trotz Resistenzgenen sensibel.

Drei Gene wurden als Sulfonamid-Resistenzgene detektiert. In allen 11 Isolaten kamen diese vor, wobei das Gen *sul1\_5* in 10 von 11 Isolaten am häufigsten vertreten war. Mit Ausnahme von 3028 (BG (S)) waren alle Isolate phänotypisch resistent gegen Sulfonamide.

Wie auch bei den *E. coli*-Isolaten wurde das Gen *mcr-1.1\_1* als einziges Resistenzgen gegen Colistin detektiert. Es war ausschließlich in den beiden Isolaten des Schlachthofs GPS (G) (2919 und 2996) vorhanden, die auch eine phänotypische Resistenz gegenüber Colistin zeigten.

Das einzige detektierte Tetrazyklin-Resistenzgen *tet(A)\_6* wurde in zehn Isolaten gefunden. Alle 11 Isolate waren jedoch phänotypisch sensibel gegenüber Tetrazyklin.

In den beiden Isolaten des Schlachthofs GPS (G) (2919 und 2996) wurde ein Phenicol-Resistenzgen (*catA2\_1*) gefunden. Da Phenicole nicht in der Resistenzbestimmung enthalten waren, ist die phänotypische Ausprägung des Gens nicht bekannt. Dieselben Isolate trugen auch das einzige Makrolid-Resistenzgen *mph(A)\_2*, über das ebenfalls keine phänotypischen Informationen vorliegen.

## 5 Diskussion

Die heute verfügbare Literatur zu antibiotikaresistenten Erregern in Abwässern von Schlachthöfen zeigt deutlich, dass besagte Abwässer oft stark mit AMR-Erregern belastet sind. Der Ursprung dieser Bakterien liegt dabei in den Tieren, die zur Schlachtung in die Schlachthöfe gelangen. Durch die hohen Antibiotikamengen, die besonders bei Schweinen und Geflügel eingesetzt werden, ist die Prävalenz von AMR bei diesen Tieren häufig sehr hoch. Die Prävalenzsituation resistenter *E. coli* bei sowohl Schweinen als auch Geflügel wird im EU-Raum heute als "hoch" bis teilweise "extrem hoch" eingestuft (EFSA & ECDC, 2022). Der prozentuale Anteil von ESBL-*E. coli*, isoliert aus gesunden Schlachtschweinen, ist dabei im gesamteuropäischen Vergleich in Deutschland am höchsten (Ramos et al., 2020). Beim Vergleich der AMR-Prävalenzen zwischen Schweinen und Geflügel wird schnell deutlich, dass die Belastung von Geflügel deutlich höher ist (De Koster et al., 2021; Ewers et al., 2012; Ramos et al., 2020; Silva et al., 2019). Bei genauerer Betrachtung fällt außerdem auf, dass bei beiden Tierarten die ESBL-Gene der *bla*<sub>CTX-M</sub>-Familie, besonders *bla*<sub>CTX-M-1</sub> und *bla*<sub>CTX-M-15</sub>, sowie *bla*<sub>SHV-12</sub> und *bla*<sub>TEM-52</sub> die vorherrschenden Resistenzgene, sowohl bei *E. coli* als auch *K. pneumoniae*, sind (Blaak et al., 2015; Dahms et al., 2015; Ewers et al., 2012; Leangapichart et al., 2021; Li et al., 2022; Silva et al., 2019; Von Salviati et al., 2015). Diese resistenten Bakterien können während der Schlachtprozesse in die Abwässer und somit auch in die Umwelt gelangen.

Ziel dieser Arbeit war es, die Prävalenz und Diversität antibiotikaresistenter *E. coli* und *K. pneumoniae* in Abwässern vier ausgewählter Schweine- und Geflügelschlachthöfe festzustellen. Durch die phäno- und genotypische Untersuchung der Isolate sollte ein Einblick über die Resistenzsituation geschaffen werden. Es galt außerdem herauszufinden, ob es in den Schlachthöfen eine persistierende Flora gewisser Erreger gibt, oder ob das Vorkommen resistenter Erreger ausschließlich von den angelieferten Tieren bestimmt wird und sich täglich verändert.

### 5.1 Kritik der verwendeten Materialien und Methoden

Grundsätzlich werden die Methoden, die für die vorliegende Untersuchung genutzt wurden, als geeignet betrachtet, um die formulierte Fragestellung der Arbeit zu beantworten. Trotzdem hätten weitere Untersuchungen dabei geholfen, die Ergebnisse und somit die Beantwortung der Fragestellung zu präzisieren.

Um ein vollumfänglicheres Bild der *E. coli*/*K. pneumoniae*-Prävalenzen der Schlachthöfe gewinnen zu können, wäre es sinnvoll gewesen, alle morphologisch verdächtigen Kolonien

zu subkultivieren. Im Fall dieser Untersuchung wurden stichprobenmäßig eine bis vier Kolonien je Bakterienart aus einer Probe subkultiviert. So ist es möglich, dass die Diversität der vorhandenen Bakterien nicht vollumfänglich erfasst werden konnte. Es ist darüber hinaus möglich, dass durch Fehler in der Subkultivierung identische Kolonien als vermeintlich unterschiedliche Kolonien subkultiviert wurden. Dies kann dazu führen, dass Isolate als vermeintliche Klone betrachtet werden, obwohl sie ursprünglich aus der gleichen Kolonie stammten.

Um den Verdacht vermeintlicher Klone zu bestätigen, wäre die Durchführung einer Analyse des Core-Genoms (Core-SNP-Analyse) notwendig. Die Untersuchung des Core-Genoms ermöglicht es, Aussagen über den Grad der genetische Verwandtschaft zwischen Isolaten zu machen und diese ggf. als Klone zu identifizieren (Bennett et al., 2012, 2010).

Bei vermeintlichen Klonen, die an verschiedenen Tagen isoliert wurden, wäre außerdem eine Untersuchung der Biofilmbildung sinnvoll gewesen, um genauere Aussagen darüber treffen zu können, warum diese Isolate in der Lage sind, in den Schlachthöfen zu persistieren. Dabei wäre auch der Vergleich mit den Ergebnissen der DNA-Sequenzierung sinnvoll gewesen, um das Vorhandensein möglicher Gene, die eine Biofilmbildung begünstigen, mit der phänotypischen Biofilmbildung diskutieren zu können.

## **5.2 AMR-Prävalenzen und Resistenzbestimmung**

Die Ergebnisse der Tabellen 5 bis 7 im Anhang zeigen, dass in den Abwässern der Schlachthöfe eine hohe Anzahl antibiotikaresistenter *E. coli* und *K. pneumoniae* nachgewiesen werden konnten, von denen viele, aufgrund ihres Resistenzprofils, als 3MRGN eingestuft wurden. Insgesamt handelte es sich bei den 98 Isolaten bei 88,78% um *E. coli* und bei 11,22% um *K. pneumoniae*. Vergleichbare Verhältnisse wurden auch in einer früheren Studie von Savin et al. (2021a) festgestellt.

Interessanterweise lag die AMR-Rate in drei der vier Schlachthöfe bei 100%, da dort in jeder Abwasserprobe resistente Erreger nachgewiesen wurden. Der Schlachthof HG (G) wies eine vergleichsweise geringe Prävalenz von AMR-Erregern auf, da nur in zwei von insgesamt 12 Abwasserproben AMR-Bakterien gefunden wurden. Der Grund für diese geringe Belastung mit AMR-Erregern ist nicht bekannt. Es besteht die Möglichkeit, dass dieser Schlachthof über eine erweiterte Abwasseraufbereitung verfügt, die mikrobielle Verunreinigungen des Wassers beseitigt und somit den Austrag resistenter Erreger in die Umwelt minimieren kann. Da seitens des Schlachthofs keine Informationen dazu vorliegen, kann diese Annahme nicht bestätigt werden. Insgesamt lag die Prävalenz antibiotikaresistenter Erreger über alle vier Schlachthöfe somit bei 74,36%.

Eine genauere Charakterisierung der Isolate zeigt eine hohe Prävalenz von ESBL-Bildnern, aber auch die Anzahl an MDR/3MRGN-Erregern war sehr hoch. Die ESBL-Rate der 98 Isolate lag bei 100%. Von diesen Isolaten waren 75 (76,53%) außerdem MDR, wovon 44 Isolate (44,9%) als 3MRGN einzustufen sind. Von den 98 Isolaten handelte es sich bei 11 um *K. pneumoniae*. Von diesen wurden alle als ESBL und MDR identifiziert, fünf Isolate wurden darüber hinaus als 3MRGN identifiziert. Bei den übrigen 87 Isolaten handelte es sich um *E. coli*. Vergleicht man die Prävalenzen mit vergleichbaren Untersuchungen, sind diese wenig überraschend. So konnten in mehreren deutschen Untersuchungen von Schlachthofabwässern ähnlich hohe Prävalenzen an ESBL- und 3MRGN-*E. coli* sowie -*K. pneumoniae* nachgewiesen werden (Homeier-Bachmann et al., 2021; Savin et al., 2020b, 2020c, 2021b, 2021a).

Vergleicht man die Ergebnisse der beprobten Geflügelschlachthöfe mit denen der Schweineschlachthöfe, zeigt sich eine deutlich höhere Prävalenz von antibiotikaresistenten Erregern in den Schweineschlachthöfen. Dieser Unterschied ist vor allem auf die geringe Belastung des Schlachthofs HG (G) zurückzuführen. Der zweite Geflügelschlachthof GSP (G) wies, wie auch die Schweineschlachthöfe, eine 100%ige Belastung mit antibiotikaresistenten Erregern auf. Besonders hervorzuheben ist der hohe Anteil von 3MRGN-Erregern im Schlachthof GPS (G) mit 75%, der deutlich höher ist als in vergleichbaren Studien (Savin et al., 2020b, 2020c).

Alle isolierten Bakterien zeigten einen ESBL-Phänotyp oder eine Erweiterung davon. Die 98 Isolate waren gegenüber allen sieben getesteten  $\beta$ -Laktam-Antibiotika resistent. Lediglich die Zugabe von Tazobactam konnte das Resistenzverhalten teilweise einschränken. So führte die Kombination von Ceftozolan mit Tazobactam in 100% der Fälle zu einer Sensibilität. Da Ceftozolan nicht ohne Inhibitor getestet wurde, kann keine Aussage darüber getroffen werden, ob die Isolate eine grundsätzliche Sensibilität gegenüber dem Wirkstoff aufweisen oder ob diese durch das Tazobactam hervorgerufen wurde. Letzteres ist jedoch zu vermuten. Bei der Kombination von Piperacillin und Tazobactam zeigten alle Isolate ein intermediäres Ergebnis. Auch hier ist es naheliegend, dass die leichte Hemmung der Resistenz durch den Inhibitor Tazobactam hervorgerufen wurde. Der  $\beta$ -Laktamase-Inhibitor Clavulansäure konnte keine Resistenzhemmung erzielen, da alle Isolate eine Resistenz gegenüber der Wirkstoffkombination Amoxicillin/Clavulansäure aufwiesen. Interessant ist auch, dass auch die Proben beider Geflügelschlachthöfe Isolate beinhalteten, die gegen Cephalosporine der 3.- (z.B. Cefotaxim) und 4. Generation (Cefepim) resistent sind. Dies ist insofern interessant, da Cephalosporine der 3. und 4. Generation nicht für den Einsatz bei Geflügel zugelassen sind (BfR, 2022).

Hervorzuheben ist das Vorhandensein von Isolaten, die Resistenzen gegen das humane Reserveantibiotikum Colistin aufweisen. Insgesamt wurden 14 *E. coli*- und zwei *K. pneumoniae*-Isolate als resistent gegenüber Colistin identifiziert. Ein weiteres *E. coli*-Isolat trug zwar das entsprechende Resistenzgen *mcr-1.1\_1*, zeigte jedoch keine phänotypische Ausprägung des Gens. Von den insgesamt 16 Colistin-resistenten Bakterien, einschließlich der beiden *K. pneumoniae*-Isolate, stammten 14 vom Schlachthof GPS (G), während die zwei übrigen vom Schlachthof HT (S) stammten. Somit deutet das Ergebnis auf ein höheres Vorkommen an Colistin-Resistenzen bei Geflügel als bei Schweinen hin. Dieses Ergebnis wird auch von einer Untersuchung von Savin et al. (2020a) unterstützt, die ebenfalls eine höhere Prävalenz an Colistin-Resistenzen in *Enterobacterales* aus Abwässern aus Geflügelschlachthöfen im Vergleich zu Schweineschlachthöfen zeigte. Auch Homeier-Bachmann et al. (2021) zeigten ähnliche Verhältnisse an Colistin-resistenten Erregern zwischen Schlachthöfen der Tierarten auf. Bakterien, die resistentes Verhalten gegen das Reserveantibiotikum Colistin aufweisen, stellen eine ernsthafte Bedrohung für die humane Gesundheit dar. Die Erhaltung der Wirksamkeit von Reserveantibiotika ist essenziell, um zukünftig weiterhin bakterielle Infektionen kontrollieren zu können (Valiakos & Kapna, 2021). Der Austrag von Colistin-resistenten Erregern aus den Schlachthöfen GPS (G) und HT (S) ist daher als äußerst besorgniserregend zu bewerten.

### 5.3 DNA-Sequenzierung

Bei der Betrachtung der Ergebnisse der Gesamtgenomsequenzierung fällt zunächst auf, dass die Isolate eine hohe genetische Vielfalt aufweisen. Die Genomdaten der Isolate unterscheiden sich deutlich zwischen den verschiedenen Schlachthöfen, doch auch innerhalb eines Schlachthofes sind die Isolate von großer Diversität. Insgesamt ist die Vielfalt der Isolate aus den Schweineschlachthöfen deutlich größer als die der Isolate, die aus den Geflügelschlachthöfen stammen. Dies ist jedoch vermutlich auch der grundsätzlich geringen Prävalenz des Schlachthofs HG (G) geschuldet. Betrachtet man die Tabellen 8 bis 17 (siehe Anhang), sind jedoch, trotz der Vielfalt, einige Ähnlichkeiten zu erkennen, da manche Isolate identische Resistenzgen-Profile aufweisen. Der horizontale Gentransfer ist ein Erklärungsansatz für die teilweise identischen AST-Muster der Isolate. So ist es wahrscheinlich, dass besagte Isolate von Tieren eines Betriebes stammen. Da die Zusammensetzung des Mikrobioms maßgeblich von Haltungsfaktoren abhängt, sind Tiere eines Betriebs wahrscheinlich Wirte sehr ähnlicher Bakterienpopulationen (Brade & Distl, 2016; Isaacson & Kim, 2012). Innerhalb eines Betriebes kommt es wahrscheinlich zum horizontalen Gentransfer zwischen Bakterien, welche somit, auf Plasmiden lokalisierte Resistenzgene unter-



einander austauschen können. Diese Bakterien erlangen unter entsprechenden Umständen einen Selektionsvorteil, weshalb sie vermehrt im Wirtstier vorhanden sind. Durch die Schlachtprozesse gelangen diese Bakterien in die Schlachthof-Umwelt und somit auch ins Abwasser.

### 5.3.1 Vergleich phäno- und genotypischer Resistenzen

Vergleicht man die Ergebnisse der phänotypischen Resistenzbestimmung mit denen der Gesamtgenomsequenzierung fällt auf, dass diese in den meisten Fällen übereinstimmen. So führte bspw. das Vorhandensein von ESBL-Genen in jedem Fall zu einer Ausprägung einer phänotypischen Resistenz des jeweiligen Isolates gegen  $\beta$ -Laktam-Antibiotika. Bei vielen Isolaten zeigten sich jedoch andere Ergebnisse. So verfügte eine Vielzahl von Isolaten z.B. über mehrere Aminoglykosid-Resistenzgene (z.B. *aph(3'')-Ib\_5* oder *aph(6)-Id\_1*), welche jedoch nur bei drei von 98 Isolaten in einer phänotypischen Resistenz resultierten. Alle weiteren Isolate waren, trotz des Vorhandenseins mehrerer Aminoglykosid-Resistenzgene, phänotypisch sensibel. Dieses Bild zeigte sich u.a. auch bei Tetrazyklin- oder Fosfomycin-Resistenzgenen. Nicht exprimierte Resistenzgene konnten bereits öfter u.a. bei *E. coli* und *K. pneumoniae* festgestellt werden. Grund dafür war in manchen Fällen, dass die Gene nicht exprimiert werden konnten, da ihnen die, für die Transkription erforderlichen Promotersequenzen fehlten (Xu et al., 2014). Es konnte jedoch auch beobachtet werden, dass die erforderlichen Expressionssysteme für Resistenzgene in Bakterien ausgeschaltet und auch wieder aktiviert werden können. Der Grund und die Mechanismen dafür sind allerdings nicht bekannt. In vielen Fällen kann der Grund für die Inaktivität von Resistenzgenen nicht benannt werden (Enne et al., 2006).

Einige Isolate zeigten jedoch auch ein entgegengesetztes Phänomen. So zeigten bspw. viele Isolate des Schlachthofs GPS (G) eine Resistenz gegen Ciprofloxacin, obwohl kein entsprechendes Resistenzgen vorhanden war. Möglicherweise verfügen diese Isolate über unspezifische Resistenzen, wie z.B. Efflux-Pumpen, die die Resistenz verursachen. Ebenfalls möglich wäre das Vorhandensein spezifischer Resistenzgene und/oder -mechanismen, die in den verwendeten Datenbanken noch nicht enthalten waren und somit nicht detektiert werden konnten.

## 5.3.2 Schlachthof HG (G)

### 5.3.2.1 *E. coli*

Die *E. coli*-Isolate, die aus dem Schlachthof HG (G) isoliert wurden, wiesen große Ähnlichkeiten zueinander auf, was auf Klone hindeuten kann. Mögliche Klone sind hierbei die Isolate 2946, 2947, 2948 und 2949 (ST1276) sowie 2981, 2982, 2993 und 2994 (ST4981). Die Isolate wiesen jeweils den gleichen Sequenztyp als auch das gleiche AST-Profil und die gleichen Resistenzgene auf, woraus der Verdacht hervorgeht, dass es sich um Klone handeln könnte.

Die erste, vermeintliche, Klongruppe umfasst die Isolate 2946, 2947, 2948 und 2949, welche alle aus einer Probe vom 25.01.2022 isoliert wurden. Alle Isolate verfügten über die gleichen Resistenzgene, welche sich auch phänotypisch gleich ausprägten. Die einzigen Resistenzgene, die zu einer phänotypischen Resistenz führten, waren *bla*<sub>CTX-M-55</sub> und *bla*<sub>TEM-106</sub>. Außerdem führte das Gen *qnrS1\_1* zu einem intermediären Ergebnis bei Ciprofloxacin. Die Isolate wiesen den ST1276 auf. Dieser ST wurde bereits in anderen Studien bei Geflügel nachgewiesen, jedoch ist über diesen Sequenztyp aufgrund einer begrenzten Datengrundlage nicht viel bekannt (Blaak et al., 2015; Randall et al., 2011).

Die zweite, vermeintliche Klon-Gruppe umfasste die Isolate 2981, 2982, 2993 und 2994, welche aus einer Abwasserprobe vom 26.01.2022 stammen. Auch ihre Resistenzgene waren identisch und hatten die gleiche phänotypische Ausprägung. Zu einer phänotypischen Resistenz führten hier die ESBL-Gene *bla*<sub>CTX-M-15</sub> und *bla*<sub>TEM-1B</sub>, sowie die Gene *sul2\_3* und *dfrA17\_1*, welche beide eine Resistenz gegen Trimethoprim/Sulfamethoxazol vermitteln. Die Isolate wiesen den ST4981 auf, den Homeier-Bachmann et al. (2021) bereits im Jahr 2021 im Abwasser des selben Schlachthofs nachweisen konnten. In der Literatur taucht der ST4981 im Kontext mit Milchkühen oder klinischen Isolaten von Menschen auf (Tello et al., 2022; Zhang et al., 2017). Interessanterweise konnte der ST4981 auch bei *E. coli* in Bewässerungswasser für Gemüse in der Schweiz nachgewiesen werden (Gekendidis et al., 2018). Dies ist insofern interessant, wenn man die AMR-Kreisläufe (siehe Abbildung 4) im Hinterkopf behält. So ist es möglich, dass diese *E. coli* ebenfalls aus Schlachthöfen oder der landwirtschaftlichen Tierhaltung stammten und über diese ins Wasser gelangten. Da dieses zur Bewässerung von Gemüse für die humane Ernährung verwendet wurde, könnten die resistenten *E. coli* über den Verzehr des Gemüses auf Menschen übertragen werden.

Homeier-Bachmann et al. (2021) wiesen in den Isolaten mit dem ST4981 das Gen *csgA* nach, welches mit einer verbesserten Fähigkeit zur Biofilmbildung von Bakterien assoziiert wird (Barnhart & Chapman, 2010). Auch in dieser Untersuchung verfügten die vier Isolate mit dem ST4981 über dieses Gen. Da die Isolate jedoch gänzlich andere Resistenzgen-

Profile aufwiesen und nur an einem der sechs Probennahmetagen isoliert werden konnten, ist nicht davon auszugehen, dass es sich bei diesen Bakterien um einen persistierenden „Hauskeim“ handelt, welcher sich im Schlachthof HG (G) und seinem Abwassersystem seit der Untersuchung von Homeier-Bachmann et al. (2021) etabliert hat.

### 5.3.2.2 *K. pneumoniae*

Vier *K. pneumoniae*-Isolate (3029, 3030, 3031, 3032) konnten aus dem Abwasser des Schlachthofes vom 26.01.2022 isoliert werden. Sie wiesen erhebliche geno- und phänotypische Ähnlichkeiten auf, weshalb es sich um Klone handeln könnte. Die Isolate verfügten u.a. über drei verschiedene ESBL-Gene. Dies waren die Gene *bla*<sub>CTX-M-15</sub>, *bla*<sub>TEM-1B</sub> und *bla*<sub>SHV-187</sub>. Diese resultierten auch phänotypisch in einer Resistenz gegen  $\beta$ -Laktam-Antibiotika. Außerdem war bei allen Isolaten das Gen *fosA\_3* nachweisbar, welches jedoch nur beim Isolat 3030 zu einer phänotypischen Resistenz gegen Fosfomycin führte. Die Gene *qnrB1\_1*, *OqxA\_1* und *OqxB\_1* führten bei den Isolaten zu einem intermediären Ergebnis bei der AST-Untersuchung. Die Diaminopyrimidin-Resistenzgene *dfra14* und *dfra7\_5* führten bei allen Isolaten zu einer phänotypischen Resistenz gegen Trimethoprim/Sulfamethoxazol. Alle weiteren vorhandenen Resistenzgene führten zu keiner phänotypischen Resistenz.

Die Isolate wiesen den ST39 auf. Dieser wird in der Literatur als relevanter *K. pneumoniae*-Klon bei erkrankten, hospitalisierten Menschen aufgeführt (Belbel et al., 2014; Galani et al., 2021; Räsänen et al., 2019). Somit sind die gefundenen Isolate potenziell von klinischer Bedeutung, weshalb ihr Austrag in die Umwelt kritisch ist, da er so in die menschliche Umwelt gelangen kann.

### 5.3.3 Schlachthof GPS (G)

#### 5.3.3.1 Relevante Resistenzgene

Die *E. coli*-Isolate des Schlachthofs GPS (G) wiesen eine große Vielfalt an Resistenzgenen auf. Von den insgesamt 34 Resistenzgenen handelte es sich bei neun um ESBL-Gene. Am häufigsten traten dabei *bla*<sub>CTX-M-15</sub>, *bla*<sub>CTX-M-55</sub>, *bla*<sub>TEM-1B</sub> und *bla*<sub>TEM-106</sub> auf. Diese führten zu phänotypischen Resistenzen gegen  $\beta$ -Laktam-Antibiotika bei jedem Isolat.

Das Isolat 3033 verfügte über drei verschiedene Gene, die Aminoglykosid-Resistenzen vermitteln. Dies waren die Gene *aph(3'')-Ib\_5*, *aph(6)-Id\_1* und *aac(3)-IIa\_6*. Der Großteil der Isolate aller Schlachthöfe verfügte über mehrere Aminoglykosid-Resistenzgene, im Falle des Isolats besteht jedoch die Besonderheit, dass es eines der drei Isolate von allen 98 ist,

bei dem die Resistenzgene zu einer phänotypischen Resistenz führten. Es war dabei sowohl gegen Gentamicin als auch Tobramycin resistent. Mögliche Gründe für die Inaktivität des Großteils der Resistenzgene wurden unter Punkt 5.3.1 beschrieben.

13 Isolate wiesen das Colistin-Resistenz-vermittelnde Gen *mcr-1.1\_1* auf. Dieses führte dabei bei 12 Isolaten zu einer phänotypischen Colistin-Resistenz. Nur das Isolat 3080 war, trotz Vorhandensein des Resistenzgens, phänotypisch sensibel. Das Gen *mcr-1.1\_1* hat eine große Relevanz in Bezug auf Colistin-Resistenzen. Es taucht in zahlreichen Studien, sowohl im Kontext mit Schweinen und Geflügel, als auch mit klinisch relevanten Isolaten von Menschen auf (Ali et al., 2021; Lee et al., 2022; Majewski et al., 2021; Soliman et al., 2021).

Ebenfalls häufig traten die Gene *tet(A)\_6* und *tet(B)\_2* auf, welche Tetrazyklin-Resistenzen vermitteln können. Jedoch vermittelte keines dieser Gene bei einem Isolat eine phänotypische Resistenz gegen Tetrazykline, was auf eine, unter Punkt 5.3.1 beschriebene, unbekannte Inaktivität der Gene hinweist. Dies war sowohl bei den *E. coli*- als auch den *K. pneumoniae*-Isolaten der Fall.

Ebenfalls inaktiv war das Fosfomycin-Resistenzgen *fosA\_6*, welches in den zwei *K. pneumoniae*-Isolaten 2919 und 2996 nachgewiesen werden konnte.

Interessant ist die Betrachtung der Resistenzgene für Chinolone/Fluorchinolone. Vier verschiedene Gene traten bei insgesamt sechs Isolaten auf. Jedoch war von denen Isolaten nur die Nummer 3033 phänotypisch resistent. 22 Isolate waren jedoch phänotypisch resistent, verfügten aber über kein entsprechendes Resistenzgen, was auf unbekannte Resistenzgene/-mechanismen hinweist (siehe Punkt 5.3.1).

Insgesamt stimmten die phäno- und genotypischen Resistenzen der Isolate des Schlachthofs GPS (G) jedoch im Großen und Ganzen überein.

### 5.3.3.2 Relevante STs

Sieben *E. coli*-Isolate hatten den ST4981. Dieser trat ebenfalls im Abwasser des Schlachthofs HG (G) auf. Im Schlachthof HG (G) konnten Homeier-Bachmann et al. (2021) diesen bereits ebenfalls nachweisen (siehe Punkt 5.3.2.1). Bei vier Isolaten mit diesem ST handelt es sich möglicherweise um Klone, was unter Punkt 5.2.3.3 genauer diskutiert wird.

Das *E. coli*-Isolat 2945 wies den ST1011 auf. Dieser konnte in einer brasilianischen Studie bei ExPEC identifiziert werden (Maluta et al., 2014). Es wird vermutet, dass der ST1011 ein großes zoonotisches Potenzial haben kann (Elnahriry et al., 2016). Der Austrag dieses STs in die Umwelt stellt somit eine potenzielle Gefahr für die humane und tierische Gesundheit dar.

Auch der ST5451, welcher ausschließlich beim Isolat 3033 vorkam, tritt in der Literatur im Kontext mit ExPEC auf (Sarowska et al., 2022). Dies ist jedoch die einzig bekannte Studie, in der der ST5451 diskutiert wurde.

Der frequenteste ST, der bei *E. coli*-Isolaten dieses Schlachthofs nachgewiesen konnte, war der ST410. Dabei handelt es sich um einen Hochrisiko-Klon von *E. coli*, welcher als globaler ExPEC-Erreger gemeldet wird (Chen et al., 2022; Roer et al., 2018). Der ST410 ist häufig mit den ESBL-Genen *bla*<sub>CTX-M-15</sub> und *bla*<sub>OXA-181</sub> assoziiert (Chen et al., 2022). Bei *bla*<sub>OXA-181</sub> handelt es sich um eine Variante von *bla*<sub>OXA-48</sub>, welche prinzipiell in der Lage ist Carbapenem-Resistenzen zu vermitteln (Nirupama et al., 2018; Székely et al., 2013). Diese Gene sind in den Isolaten nicht vorhanden, dafür weisen sie jedoch *bla*<sub>CTX-M-15</sub> auf. Schaufler et al. (2016) beschrieben den ST410 als klinisch relevanten Klon, der sich ohne große genetische Veränderungen an Umgebungen anpassen und diese wechseln kann. So weist der ST410 eine großflächige Verbreitung bei Menschen, Haustieren und landwirtschaftlichen Nutztieren auf. Während die Verbreitung von *bla*<sub>CTX-M-15</sub> meist Plasmid-gesteuert ist, erfolgt sie beim ST410 über klonale Verbreitung (Falgenhauer et al., 2016). Isolate des ST410 verfügen in vielen Studien über viele verschiedene Resistenzgene, wie es auch in der vorliegenden Untersuchung der Fall ist. Dies unterstreicht die Möglichkeit zum Auftreten von panresistenten Isolaten mit epidemischen Potenzial innerhalb dieses STs (Falgenhauer et al., 2016; Mavroidi et al., 2012). Die, in dieser Untersuchung nachgewiesenen Isolate mit dem ST410 verfügten außerdem über das Gen *mcr-1.1\_1*, welches in jedem Fall zu einer phänotypischen Colistin-Resistenz führte. Unter Anbetracht der großen klinischen Relevanz, die der ST410 hat, birgt eine Resistenz gegenüber dem Reserveantibiotikum Colistin eine große potenzielle Gefahr.

Einmal vertreten war der ST533 (Isolat 3081), über welchen wenig bekannt ist. Er trat jedoch sowohl in Deutschland als auch Brasilien in Zusammenhang mit UPEC bei Menschen und in der Schweiz bei Hunden auf (Huber et al., 2013; Minarini et al., 2007). Das Isolat 3081 ist somit von potenziell klinischer Relevanz.

Zwei Isolate (3110 und 3112) hatten den ST10, welcher zu den globalen ExPEC-Linien gehört, die bei humanen Infektionen eine immer bedeutendere Rolle spielen (Manges & Johnson, 2012). Auch bei Geflügel konnte dieser *E. coli*-ST bereits nachgewiesen werden, ebenfalls im Zusammenhang mit ExPEC (Bergeron et al., 2012; Leverstein-van Hall et al., 2011).

### 5.3.3.3 Mögliche Klone

Innerhalb des Schlachthofs GPS (G) tauchten die meisten Isolate auf, bei denen es sich potenziell um Klone handeln könnte. Diese Vermutungen entstanden, da diese Isolate sowohl identische phäno- und genotypischen Resistenzen als auch die gleichen STs aufweisen. Um zu bestätigen, dass es sich tatsächlich um Klone handelt wäre eine Untersuchung des Core-Genoms notwendig. Potentielle Klone waren die *E. coli*-Isolate:

- 2916, 2917, 2979, 2980
- 3083 und 3084
- 3094, 3098, 3109, 3113, 3114
- 3095, 3096, 3099

Auch bei den *K. pneumoniae*-Isolaten 2919 und 2996 könnte es sich um Klone handeln.

Die erste potentielle Klon-Gruppe umfasst vier 3MRGN-Isolate des ST4981. Die Isolate 2916 und 2917 stammen aus einer Probe vom 24.01.2022, während die Isolate 2979 und 2980 aus einer Probe vom 26.01.2022 stammen. Möglicherweise wurden am 24. und 26.01.2022 Tiere aus dem gleichen Betrieb im Schlachthof geschlachtet, wodurch an beiden Tagen betriebseigene Bakterien der jeweiligen Mastbetriebe in den Schlachthof und somit das Abwasser gelangten und somit an beiden Tagen nachweisbar waren. Ein weiterer Erklärungsansatz für das wiederholte Auftreten der potenziellen Klone ist eine gute Anpassungsfähigkeit an die Bedingungen des Schlachthof(-abwassers), was es den Bakterien ermöglicht dort über mehrere Tage zu überleben. Ein Hinweis dafür ist das Vorhandensein des Gens *csgA*, welches ihnen dabei verhelfen kann, Biofilme zu bilden um sich somit im Schlachthof festzusetzen. Da jedoch zu späteren Zeitpunkten keine weiteren Isolate dieser vermeintlichen Klone nachgewiesen werden konnten, ist die Fähigkeit zur Biofilmbildung möglicherweise nicht stark genug, um einen langanhaltenden Biofilm zu bilden. Es besteht außerdem die Möglichkeit, dass der ST4981, dem die Isolate angehören, grundsätzlich nicht gut genug an die Bedingungen im Schlachthof angepasst ist, um dort längerfristig zu überleben. Informationen darüber sind jedoch nicht in der verfügbaren Literatur beschrieben und somit nur Spekulation. Insgesamt kann hier nicht von einem vermeintlichen „Hauskeim“ gesprochen werden.

Das vermeintliche Klonpaar 3083 und 3084 wurde aus der Abwasserprobe vom 07.02.2022 isoliert. Die Isolate wurden als 3MRGN identifiziert und weisen den ST744 auf, welcher bereits bei Geflügel nachgewiesen wurde, insbesondere bei AMR-*E. coli* (Ćwiek et al., 2021). Nach aktuellem Kenntnisstand scheint der ST744 keine klinische Relevanz zu haben. Erneut traten keine vermeintlichen Klone dieser Isolate auf.

Die Isolate 3094, 3098, 3109, 3113 und 3114 stellen ebenfalls potenzielle Klone dar und wurden alle als 3MRGN eingestuft. Die Isolate stammen aus den Proben des 08. und 09.02.2022 und wiesen den ST410 auf, welcher bereits unter Punkt 5.3.3.2 ausführlich diskutiert wurde. Da die Ausbreitung des ST410 häufig klonal erfolgt, ist dies ein weiterer Hinweis, dass es sich um Klone handeln könnte (Falgenhauer et al., 2016). Ebenfalls sprachen Schaufler et al. (2016) dem ST410 eine gute Anpassungsfähigkeit an verschiedene Umgebungen zu, ohne sich genetisch verändern zu müssen. Diese gute Anpassungsfähigkeit könnte erklären, warum sich die Isolate an zwei verschiedenen Tagen im Abwasser nachweisen ließen. Außerdem verfügten alle Isolate über das Gen *csgA*, was ihnen weitere Anpassungsvorteile verleihen kann. Auch der Eintrag durch die Schlachtung von Tieren aus dem gleichen Betrieb stellt eine mögliche Erklärung dar. Unter Anbetracht dessen, dass es sich beim ST410 um einen Hochrisiko-Klon handelt, ist das Vorhandensein einer phäno- und genotypischen Resistenz gegen Colistin bei allen fünf Isolaten als äußerst gefährlich einzustufen.

Ebenfalls vom ST410 waren die vermeintlichen Klone 3095, 3096 und 3099, ebenfalls isoliert am 08.02.2022 und ebenfalls 3MRGN. Sie wiesen andere Resistenzgene auf als die zuvor genannten fünf Isolate, weshalb sie als eigene potenzielle Klon-Gruppe gewertet wurden. Auch sie waren sowohl phäno- als auch genotypisch resistent gegen Colistin.

Bei den zwei *K. pneumoniae*-Isolaten (2919 und 2996), die aus diesem Schlachthof isoliert wurden, könnte es sich ebenfalls um Klone handeln. Sie hatten den ST1774, über den jedoch in der Literatur im Zusammenhang mit *K. pneumoniae* keine Informationen gefunden werden konnten.

Weitere vermeintliche Klone tauchten nicht auf, womit der Großteil der Isolate des Schlachthofs GPS (G) einmalig auftrat, was für eine große Diversität an AMR-Erregern im Abwasser spricht.

### **5.3.4 Schlachthof BG (S)**

#### **5.3.4.1 Relevante Resistenzgene**

Auch in den Proben dieses Schlachthofs wurde eine große Vielfalt an Resistenzgenen nachgewiesen. Insgesamt konnten 40 Resistenzgene bei *E. coli* und 20 bei *K. pneumoniae* nachgewiesen werden.

Wie auch im Schlachthof GPS (G), verfügten fast alle Isolate über Aminoglykosid-Resistenzgene, welche jedoch nur in zwei von 20 Fällen zu einer phänotypischen Resistenz führten und somit ebenfalls hauptsächlich inaktiv waren.

Insgesamt traten neun verschiedene ESBL-Gene (*E. coli* und *K. pneumoniae* zusammengefasst) auf. Jedes Isolat verfügte dabei über mindestens eines dieser Gene und in jedem Fall kam es zu einer phänotypischen Resistenz gegen  $\beta$ -Laktam-Antibiotika. Am häufigsten kamen die Gene *bla*<sub>CTX-M-15</sub>, *bla*<sub>CTX-M-1</sub> und *bla*<sub>TEM-1B</sub> vor.

Keines der Isolate verfügte über ein Colistin-Resistenzgen und keines wies eine phänotypische Colistin-Resistenz auf.

Die Tetrazyklin-Resistenzgene *tet(A)*\_6 und *tet(B)*\_2 sowie das Fosfomycin-Resistenzgen *fosA7* waren in allen Isolaten, in denen sie nachgewiesen wurden, aus unbekanntem Grund inaktiv und vermittelten somit keine phänotypische Resistenz.

Wie auch beim Schlachthof GPS (G) kam es teilweise zu phänotypischen Resistenzen gegen Ciprofloxacin, obwohl keine entsprechenden Resistenzgene nachgewiesen werden konnten. Dies spricht ebenfalls für unbekannte Resistenzgene und/oder -mechanismen.

Dieser Schlachthof war der einzige dieser Untersuchung, bei dem ein Gen nachgewiesen wurde, welches Resistenzen gegen Lincosamide vermittelt. Dabei handelte es sich um das Gen *Inu(F)*\_1, welches in fünf Genen vorkam. Da kein Antibiotikum dieser Klasse phänotypisch untersucht wurde, ist die Expression dieses Gens unbekannt.

#### 5.3.4.2 Relevante STs

Das Isolat 2914 war das einzige mit dem ST117. Dieser umfasst eine Gruppe von multiserotypen ExPEC-Stämmen, die bereits beim Mensch als auch bei Geflügel und Milchvieh nachgewiesen werden konnten. Dabei wurden sie als hochvirulente Klone mit zoonotischem Potenzial gewertet (Bergeron et al., 2012; Homeier-Bachmann et al., 2022; Kim et al., 2017; Maluta et al., 2014; Mora et al., 2012; Ronco et al., 2017). Beim Schwein kommt der ST117 ebenfalls vor, die Datenlage ist aber deutlich geringer (Norizuki et al., 2018; Olaitan et al., 2015).

Fünf Isolate waren dem ST58 zuzuordnen, welcher im Zusammenhang mit ExPEC steht und als hochvirulent gilt. Er führt beim Menschen häufig zu Septikämien, konnte aber auch bereits bei Schweinen und Geflügel nachgewiesen werden (Ahmed et al., 2017; Borges et al., 2019; Chah et al., 2018; Reid et al., 2022).

Der ST131 war einmal vertreten. Hierbei handelt es sich um einen hochriskanten *E. coli*-Klon, welcher eine der dominantesten ExPEC-Linien weltweit darstellt. Der ST131 exprimiert meist *bla*<sub>CTX-M-15</sub>, was bei diesem Isolat (2940) nicht der Fall ist, da nur das ESBL-Gen *bla*<sub>CTX-M-1</sub> vorhanden ist. Der ST131 gilt als einer der relevantesten pathogenen *E. coli* beim Menschen, ist global weit verbreitet und hat maßgeblich zur Ausbreitung von AMR bei *E. coli* beigetragen. Somit stellt der ST131 ein Paradebeispiel für einen multiresistenten



Hochrisiko-Klon dar, dessen Verbreitung dringend vermieden werden muss (Mathers et al., 2015; Nicolas-Chanoine et al., 2014).

Die STs ST4981, ST10 und ST410 waren ebenfalls in den *E. coli*-Isolaten dieses Schlachthofs vertreten. Dabei trat der ST4981 siebenmal auf, der ST410 zehnmal und der ST10 zweimal. Die Relevanz dieser STs wurde bereits unter Punkt 5.3.3.2 diskutiert.

#### 5.3.4.3 Mögliche Klone

Im Schlachthof BG (S) bestand nur bei den Isolaten 2985 und 2988 der Verdacht, dass es sich um potenzielle Klone handeln könnte. Sie hatten den ST75 und wurden aufgrund ihrer phänotypischen Resistenzen als ESBL eingestuft. Der ST75 ist in der Literatur bisher wenig beschrieben und taucht dort im Kontext mit humanen Infektionen des Urogenitaltrakts auf (Matsukawa et al., 2019). Beide Isolate wurden am 26.01.2022 isoliert und tauchten nicht erneut auf.

#### 5.3.5 Schlachthof HT (S)

##### 5.3.5.1 Relevante Resistenzgene

Insgesamt konnten 32 Resistenzgene bei den *E. coli*- und 15 bei den *K. pneumoniae*-Isolaten festgestellt werden.

Auch hier zeigte sich das Phänomen, dass die zahlreichen Aminoglykosid-Resistenzgene inaktiv waren und bei keinem Isolat zu einer phänotypischen Resistenz führten.

Insgesamt wiesen sowohl die *E. coli*-Isolate als auch die *K. pneumoniae*-Isolate sieben verschiedene ESBL-Gene auf, wobei das Gen *bla*<sub>CTX-M-1</sub> bei den *E. coli*-Isolaten mit Abstand am prävalentesten war. Jedes Isolat wies mindestens ein ESBL-Gen auf und war resistent gegen  $\beta$ -Laktam-Antibiotika. Bei *K. pneumoniae* wiesen alle drei Isolate die Gene *bla*<sub>CTX-M-15</sub>, *bla*<sub>TEM-1B</sub> und *bla*<sub>SHV-187</sub> auf.

Zwei Isolate (3121 und 3122) wiesen das Gen *mcr-1.1\_1* auf, was in einer phänotypischen Colistin-Resistenz resultierte. Alle anderen Isolate waren sensibel.

Wie auch bei den Schlachthöfen GPS (G) und BG (S) beschrieben, waren auch hier die bei *E. coli* vorhandenen Resistenzgene für Tetrazykline, Fosfomycin und Chinolone/Fluorchinolone inaktiv und führten zu keiner phänotypischen Resistenz. Nur bei den *K. pneumoniae*-Isolaten führten die vorhandenen Chinolon/Fluorchinolon-Resistenzgene bei zwei Isolaten zu einer Resistenz und bei einem zu einem intermediären Ergebnis.

### 5.3.5.2 Relevante STs

In keinem Schlachthof traten so viele verschiedene *E. coli*-STs auf, wie im Schlachthof HT (S). Insgesamt waren es 17 verschiedene, wovon die meisten jedoch nur jeweils einmal auftraten. Nur sechs STs tauchten in mehreren Isolaten auf.

Der ST23 war zweimal nachweisbar. Dieser ST steht in Zusammenhang mit ExPEC-Erkrankungen beim Menschen und scheint ein Reservoir in Geflügelbeständen zu haben (Manges, 2016). Außerdem konnten ETEC mit dem ST23 bei Schweinen nachgewiesen werden. Ob diese ein zoonotisches Potential aufweisen, wurde in der Untersuchung von Wyrsh et al. (2015) nicht beschrieben.

Die vorhandenen, klinisch relevanten STs ST58, ST10, ST75, ST410 und ST117 wurden in dieser Arbeit bereits diskutiert. Der ST58 und der ST410 waren jeweils dreimal vorhanden, der ST10 zweimal und der ST75 und ST117 jeweils einmal.

Alle weiteren gefundenen STs wiesen keine besonderen Charakteristiken auf, die relevant für die Diskussion dieser Arbeit waren oder wiesen in der Literatur keine Daten auf.

### 5.3.5.3 Mögliche Klone

Im Schlachthof HT (S) gab es keine *E. coli*-Isolate, bei denen es sich um potenzielle Klone handeln könnte. Bei zwei der drei isolierten *K. pneumoniae*-Isolate (3034 und 3036) könnte es sich jedoch möglicherweise um Klone handeln. Sie hatten den ST39 und wiesen identische phäno- und genotypische Resistenzen auf. Eingestuft wurden sie beide als 3MRGN. Das dritte *K. pneumoniae*-Isolat 3035 unterschied sich nur hinsichtlich der phänotypischen Resistenzausprägung bei Ciprofloxacin von den anderen beiden Isolaten. Diese war hier intermediär, bei den anderen Isolaten resistent. Somit wurde die Nummer 3035 als MDR eingestuft. Alle weiteren Resistenzen waren sowohl phäno- als auch genotypisch gleich.

### 5.3.6 Nachgewiesene Resistenzgene

Vergleicht man die in dieser Untersuchung nachgewiesenen Resistenzgene mit denen, die bei Schweinen und Geflügel vorkommen, sind viele Übereinstimmungen festzustellen. Beim Schwein ist das mit Abstand prävalenteste Resistenzgen das ESBL-Gen *bla*<sub>CTX-M-1</sub> (Dahms et al., 2015; Ewers et al., 2012; Silva et al., 2019). Im Schweineschlachthof HT (S) war *bla*<sub>CTX-M-1</sub> ebenfalls das mit Abstand prävalenteste Resistenzgen. Im Schlachthof BG (S) kam das Gen ebenfalls sehr häufig vor, insgesamt dominierte *bla*<sub>CTX-M-15</sub> jedoch mit leichtem Abstand. In der Literatur taucht *bla*<sub>CTX-M-15</sub> zwar frequent in Untersuchungen beim Schwein auf, reiht sich dabei aber meist hinter anderen Resistenzgenen, wie *bla*<sub>SHV-12</sub>, *bla*<sub>CTX-M14</sub> oder, wie bereits erwähnt, *bla*<sub>CTX-M-1</sub> ein (Dahms et al., 2015; Von Salviati et al.,

2015). Während *bla*<sub>SHV-12</sub> und *bla*<sub>CTX-M-14</sub> bei Schweinen sehr häufig nachgewiesen werden, war dies in den Abwässern der Schweineschlachthöfe nicht der Fall. *bla*<sub>CTX-M-14</sub> konnte nicht nachgewiesen werden, *bla*<sub>SHV-12</sub> war in einem Isolat des Schlachthofs HT (S) vorhanden (Ewers et al., 2012; Silva et al., 2019). Ebenfalls häufig wird über das Colistin-Resistenzgen *mcr-1* bei Schweinen berichtet (Duggett et al., 2016; Kieffer et al., 2017; Shafiq et al., 2019). Dieses konnte nur in zwei *E. coli*-Isolaten des Schlachthofs HT (S) nachgewiesen werden. In einer Studie von Maynard et al. (2003), die die Prävalenz von Resistenzgenen bei Schweinen über einen Zeitraum von 23 Jahren untersuchte, tauchten viele Resistenzgene auf, die auch in den Schweineschlachthöfen BG (S) und HT (S) gefunden werden konnten (z.B. *aph(3')-Ia*, *tet(A)*, *tet(B)*, *floR* oder *sul1*).

Wie auch bei Schweinen geht bei Geflügel aus der Literatur hervor, dass *bla*<sub>CTX-M-1</sub> das prävalenteste Resistenzgen, gefolgt von *bla*<sub>TEM-52</sub> und *bla*<sub>SHV-12</sub> ist (Blaak et al., 2015; Bortolaia et al., 2010; Silva et al., 2019). Dies spiegelte sich in den detektierten Resistenzgenen in den Geflügelschlachthöfen jedoch nicht wider. In beiden Schlachthöfen war *bla*<sub>CTX-M-15</sub> das deutlich prävalenteste ESBL-Gen. *bla*<sub>CTX-M-1</sub> tauchte nur bei drei Isolaten des Schlachthofs GPS (G) auf, *bla*<sub>TEM-52</sub> war nicht nachweisbar und *bla*<sub>SHV-12</sub> wurde in vier Isolaten gefunden. Das Colistin-Resistenzgen *mcr-1* ist bereits in vielen Studien bei Geflügel nachgewiesen worden (Adelowo et al., 2014; Jamil et al., 2022; Lentz et al., 2016). Im Schlachthof GPS (G) konnten 13 *E. coli*- und zwei *K. pneumoniae*-Isolate mit diesem Gen detektiert werden.

Somit ist es nicht verwunderlich, dass viele der Resistenzgene, die in Schweinen und Geflügel vorkommen auch in den beprobten Schlachthöfen nachweisbar sind.

Betrachtet man weitere Untersuchungen von Schlachthofabwässern, konnten dort sehr ähnliche Ergebnisse festgestellt werden. In deutschen Schweine- und Geflügelschlachthöfen zeigten sich hohe Prävalenzen von bspw. *bla*<sub>CTX-M-1</sub>, *bla*<sub>CTX-M-15</sub>, *bla*<sub>SHV-12</sub> oder *bla*<sub>TEM-1</sub> (Homeier-Bachmann et al., 2021; Savin et al., 2021a, 2021b, 2020c, 2020b). Auch das Colistin-Resistenzgen *mcr-1* konnte bei Schweine- und Geflügelschlachthöfen, wie auch in dieser, Untersuchung nachgewiesen werden (Homeier-Bachmann et al., 2021; Savin et al., 2020a).

#### **5.4 Schlussfolgerungen und Bedeutung der Ergebnisse im One-Health-Kontext**

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Prävalenzsituation resistenter *E. coli* und *K. pneumoniae* in drei von vier Schlachthöfen deutlich ausgeprägt ist. Nur die Proben des Schlachthofs HG (G) war an vier von sechs Proben Tagen gänzlich frei von diesen AMR-

Erregern. Auch die Diversität der Isolate war groß, was sich in der großen Anzahl nachgewiesener Resistenzgene und Sequenztypen widerspiegelt. Die Geflügelschlachthöfe HG (G) und GPS (G) hatten ein vergleichsweise hohes Aufkommen von potenziellen *E. coli*-Klonen. Ob es sich tatsächlich um Klone handelt, konnte in dieser Untersuchung nicht ermittelt werden. Für die eindeutige Identifizierung von Klonen wären weiterführende Untersuchungen notwendig. In keinem der Schlachthöfe konnte eine persistierende Flora resistenter Keime nachgewiesen werden. Vermeintliche Klone konnten sich maximal zwei Tage in den Abwassersystemen des Schlachthofs GPS (G) halten. Eine etablierte „Hausflora“ hätte in deutlich mehr, wenn nicht in jeder Probe, nachgewiesen werden können. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass das Vorkommen resistenter Erreger gänzlich durch die Tiere, die an einem Tag im Schlachthof geschlachtet werden, bedingt ist und sich täglich ändert.

Die Tatsache, dass ein Großteil der Isolate über eine Vielzahl verschiedener Resistenzgene verfügt, verdeutlicht die ernste AMR-Situation in der deutschen Schweine- und Geflügelhaltung. Viele Isolate verfügten über deutlich mehr als zehn verschiedene Resistenzgene. Diese können mittels horizontalem Gentransfer an weitere Bakterien, die in der Umwelt vorhanden sind, weitergegeben werden, was zu einer unkontrollierbaren Ausbreitung diverser AMR-Gene führen kann. Da viele Isolate zu STs gehörten, die global als pathogen gelten sind auch die gefundenen Isolate als potenziell pathogen zu bewerten. Dabei ist es äußerst besorgniserregend, dass besonders in den Schlachthöfen GPS (G), BG (S) und HT (S) eine Vielzahl von Hochrisiko-*E. coli*-Klonen mit einem breiten genomisch verankerten Spektrum an Resistenzgenen gefunden wurden. So stellt bspw. der Eintrag von *E. coli* der STs ST1011, ST410, ST10, ST58 oder ST131 in die Umwelt eine massive Gefahr für die menschliche Gesundheit, aber auch für die Gesundheit von Tieren dar. Viele dieser STs stehen in Zusammenhang mit ExPEC und gehören dabei z.T. zu den global wichtigsten Linien. Darüber hinaus besteht bei vielen dieser STs zoonotisches Potenzial. Die Minimierung der Verbreitung solcher multiresistenten Hochrisiko-Klone ist von großer Wichtigkeit, da sie die Gesundheit von Menschen und Tieren erheblich gefährden können. Da die Ausbreitungswege der resistenten Erreger jedoch nicht kontrollierbar sind, sobald sie in öffentliche Gewässer gelangen, ist die Besiedelung von Menschen und Haus-, Nutz- und Wildtieren vermutlich unvermeidbar.

Grundsätzlich stellt die große Zahl an ESBL-, MDR- und besonders 3MRGN-Erregern, die die beprobten Schlachthöfe in die Umwelt einleiten, eine große Bedrohung für die Medizin und somit die humane und tierische Gesundheit dar. Daher ist es von großer Relevanz, dass die Abwasseraufbereitungen von Schlachthöfen im Hinblick auf die Entfernung von mikrobiellen Verunreinigungen ausgebaut werden. Mögliche Verfahren, die in Versuchen

bereits positive Ergebnisse in Hinblick auf die Entfernung von Bakterien aus Abwasser lieferten, sind z.B. spezielle Membranfiltrationsanlagen oder die Ozonierung, Chlorung oder UV-Bestrahlung des Abwassers (Alexander et al., 2019; Oh et al., 2014; Riquelme Breazeal et al., 2013; Zhuang et al., 2015). Dabei sind die Kosten, die mit einer Erweiterung der Abwasseraufbereitung verbunden sind allerdings nicht zu vernachlässigen. Die einzusetzenden Verfahren sollen bestmögliche Erfolge bei der Eliminierung resistenter Erreger erzielen, müssen aber auch wirtschaftlich umsetzbar für die Schlachthöfe sein. Da die Kosten für die Implementierung solcher Verfahren nicht bekannt sind, kann keine Aussage über die wirtschaftlich und funktional beste Methode getroffen werden. Es ist jedoch anzunehmen, dass die Kosten hoch sind. Daher entstehen Bedenken, dass Schlachthöfe von den Umsetzungen dieser Maßnahmen und den damit verbundenen hohen Investitionen, absehen. Da es derzeit keine gesetzlichen Vorschriften seitens der Politik gibt, die den Eintrag von AMR in die Umwelt reglementieren und ggf. mit Strafen verhängen, hätten freiwillige Maßnahmen zur Implementierung einer mikrobiellen Abwasseraufbereitung für die Schlachthöfe keine unmittelbaren Vorteile. Somit ist es wichtig, dass die Bedeutung von AMR und den verbundenen drohenden Gefahren sowohl in der Gesellschaft als auch in der Politik bewusster und präsenter wird. Leider ist ein flächendeckender Ausbau der Abwasseraufbereitung in Schlachthöfen zur Beseitigung von AMR wahrscheinlich nur dann umsetzbar, wenn dies gesetzlich vorgeschrieben wird.

Um dem One-Health-Ansatz gerecht zu werden, stellt die Minimierung des Eintrags resistenter Erreger in die Umwelt durch Schlachthöfe mittels erweiterter Abwasseraufbereitung vermutlich die einzige Möglichkeit dar. Selbstverständlich sollte auch die Entstehung von Resistenzen durch einen bewussteren Einsatz von Antibiotika in der Tierhaltung minimiert werden. Sinkt die Anzahl an AMR-Erregern, die Schlachttiere in den Schlachthof eintragen, sinkt auch die Anzahl an AMR-Erregern, die über das Abwasser in die Umwelt gelangen.

## 6 Ausblick

Die vorliegende Untersuchung hat deutlich gezeigt, dass Schlachthöfe eine wesentliche Rolle in der Verbreitung von AMR spielen. Um umfassendere Aussagen über den Anteil, den Schlachthöfe an der Ausbreitung von AMR in die Umwelt und somit in die Gesellschaft beitragen, treffen zu können, sind weitere Untersuchungen zu diesem Thema unerlässlich. Es wäre notwendig, Schlachthöfe über noch längere Zeiträume zu beproben, um präzisere Aussagen über die nachzuweisenden Isolate treffen und fundierte Schlussfolgerungen ziehen zu können. Zusätzlich wären detailliertere Informationen über die Schlachthöfe selbst, einschließlich ihrer Reinigungs- und Abwasseraufbereitungsmethoden, äußerst hilfreich. Interessant und aufschlussreich wäre es auch, die Mastbetriebe, die die Schlachthöfe mit Schlachttieren beliefern, zu untersuchen, um weitere Erkenntnisse über die Isolate zu gewinnen, die im Abwasser nachweisbar sind.

Ein weiterer wichtiger Schritt ist die Ausweitung der Forschung über spezifische mikrobielle Abwasseraufbereitungsmethoden, die speziell auf die Bedürfnisse von Schlachthöfen zugeschnitten sind. Die Verfahren zur Beseitigung von AMR aus Abwasser sollten noch intensiver erforscht werden. Dabei ist es essentiell, auch wirtschaftliche Aspekte zu berücksichtigen, um praktikable, wirksame und kosteneffiziente Lösungen zu finden.

Jedoch wird der Erfolg solcher Bemühungen in erheblichem Maße davon abhängen, ob das Bewusstsein für die Bedrohung, die AMR darstellt, sowohl in der Politik als auch in der Gesellschaft zunimmt. Ohne ausreichende Aufmerksamkeit und entsprechende politische Regulierungen ist es unwahrscheinlich, dass Schlachthöfe aus eigenem Antrieb besagte Änderungen vornehmen werden. Sollte die Beseitigung von mikrobiellen Verunreinigungen im Abwasser nicht durch verbindliche politische Vorgaben durchgesetzt werden, wird eine signifikante Verbesserung der AMR-Prävalenz in den Abwässern von Schlachthöfen als unwahrscheinlich betrachtet.

Insgesamt ist es unerlässlich, dass die Thematik der Antibiotikaresistenzen weiterhin intensiv erforscht und entsprechende Maßnahmen ergriffen werden, um diese wachsende Bedrohung für die globale Gesundheit zu bewältigen. Die Kooperation von Wissenschaft, Politik, Wirtschaft und der Gesellschaft ist von entscheidender Bedeutung, um effektive Lösungen zu finden und die Verbreitung von AMR einzudämmen. Nur durch ein ganzheitliches und gemeinschaftliches Vorgehen, wie es der One Health-Ansatz anstrebt, kann die Gefahr der Antibiotikaresistenz bekämpft werden.

## Zusammenfassung

Die rasante Ausbreitung antibiotikaresistenter Erreger stellt ein globales Problem dar, welches sowohl wissenschaftlich als auch gesellschaftlich immer bedeutender wird. Bei der Freisetzung resistenter Bakterien spielen u.a. die Landwirtschaft und die fleischverarbeitende Industrie eine wesentliche Rolle. Um den Anteil, den Schlachthöfe bei der Freisetzung dieser resistenten Erreger in die Umwelt beitragen, einschätzen zu können, beschäftigt sich die vorliegende Arbeit mit der Untersuchung von Abwasserproben aus jeweils zwei Geflügel- und Schweineschlachthöfen an insgesamt sechs verschiedenen Tagen im Jahr 2022. Der Fokus der Untersuchung lag dabei auf der Untersuchung der Prävalenz und Diversität von ESBL/3MRGN-*Escherichia coli* und -*Klebsiella pneumoniae* innerhalb der Schlachthofabwässer. Außerdem sollte herausgefunden werden, ob es Hinweise auf persistierende Keime in den Schlachthöfen gibt, oder ob das Vorkommen resistenter Erreger ausschließlich von den angelieferten Schlachttieren bestimmt wird und sich täglich verändert. Zur Beantwortung dieser Fragestellungen wurden phäno- und genotypische Untersuchungen mit den isolierten Bakterien durchgeführt.

Die AMR-Prävalenz der vier Schlachthöfe lag bei insgesamt 74,36%, bei drei Schlachthöfen sogar bei 100%. Insgesamt ergab die Untersuchung eine stärkere Belastung der Schweineschlachthöfe, verglichen mit den Geflügelschlachthöfen. Von den 98 isolierten Bakterien handelte es sich bei 88,78% um *E. coli*, bei den übrigen 11,22% um *K. pneumoniae*. Bei allen 98 Isolaten handelte es sich um ESBL-Produzenten, von denen 75 (76,53%) als MDR identifiziert wurden, wovon wiederum 44 Isolate (44,9%) der Definition von 3MRGN entsprachen. Diese Ergebnisse passen zu denen vergleichbarer Untersuchungen zur AMR-Prävalenz von Schlachthofabwässern. Die genotypische Untersuchung der Isolate zeigte eine starke Prävalenz der Resistenzgene *bla*<sub>CTX-M-15</sub>, *bla*<sub>CTX-M-1</sub> und *bla*<sub>TEM-1B</sub>. Die Diversität der nachgewiesenen Resistenzgene umfasste 55 verschiedene Resistenzgene bei den *E. coli*- und 30 bei den *K. pneumoniae*-Isolaten, welche Resistenzen gegen insgesamt 11 verschiedene Antibiotikaklassen vermitteln können.

Die Ergebnisse der Untersuchung sprachen nicht für das Vorhandensein einer persistierenden Flora resistenter Keime in den Schlachthöfen. Somit konnte die Schlussfolgerung gezogen werden, dass das Vorkommen resistenter Erreger gänzlich durch die Schlachttiere, die an einem Tag im jeweiligen Schlachthof geschlachtet werden, bedingt ist und sich täglich ändert.

Besorgniserregend ist, dass viele der, bei den *E. coli*-Isolaten nachgewiesenen Sequenztypen als globale Hochrisiko-Klone mit enormem klinischen Potenzial gelten. Der Eintrag dieser potenziell pathogenen Isolate, welche über eine Vielzahl an Resistenzgenen verfügen, in die Umwelt, stellt eine große Gefahr dar. Da ihre Ausbreitung in der Umwelt nicht

kontrollierbar ist, ist eine Besiedlung von Menschen sowie Haus-, Nutz- und Wildtieren vermutlich unvermeidbar, was eine gravierende Bedrohung für die Gesundheit von Menschen und Tieren darstellt.

Um die unkontrollierbare Ausbreitung resistenter Erreger aus Schlachthöfen zu minimieren, ist eine Erweiterung der Anlagen für die Abwasseraufbereitung hinsichtlich der Beseitigung mikrobieller Verunreinigungen von großer Relevanz. Für die flächendeckende Etablierung solch spezialisierter Abwasseraufbereitungen sind politische Maßnahmen notwendig, welche die Beseitigung mikrobieller Verunreinigungen von Abwässern vorschreiben.



## Literaturverzeichnis

- Aarestrup, F.M., 2005. Veterinary Drug Usage and Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 96, S. 271–281. <https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2005.pto960401.x>
- Abraham, E.P., Chain, E., 1940. An Enzyme from Bacteria able to Destroy Penicillin. *Nature* 146, S. 837–837. <https://doi.org/10.1038/146837a0>
- Adelowo, O.O., Fagade, O.E., Agersø, Y., 2014. Antibiotic resistance and resistance genes in *Escherichia coli* from poultry farms, southwest Nigeria. *J Infect Dev Ctries* 8, S. 1103–1112. <https://doi.org/10.3855/jidc.4222>
- Ahmed, S., Olsen, J.E., Herrero-Fresno, A., 2017. The genetic diversity of commensal *Escherichia coli* strains isolated from non-antimicrobial treated pigs varies according to age group. *PLoS ONE* 12, e0178623. <https://doi.org/10.1371/jour>
- Akova, M., 2016. Epidemiology of antimicrobial resistance in bloodstream infections. *Virulence* 7, S. 252–266. <https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1159366>
- Alagna, L., Palomba, E., Mangioni, D., Bozzi, G., Lombardi, A., Ungaro, R., Castelli, V., Prati, D., Vecchi, M., Muscatello, A., Bandera, A., Gori, A., 2020. Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacteria Decolonization in Immunocompromised Patients: A Focus on Fecal Microbiota Transplantation. *IJMS* 21, 5619. <https://doi.org/10.3390/ijms21165619>
- Alexander, J., Bollmann, A., Seitz, W., Schwartz, T., 2015. Microbiological characterization of aquatic microbiomes targeting taxonomical marker genes and antibiotic resistance genes of opportunistic bacteria. *Science of The Total Environment* 512–513, S. 316–325. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.01.046>
- Alexander, J., Hembach, N., Schwartz, T., 2019. Die Problematik der Antibiotikaresistenten Bakterien. Modernisierungsreport. <https://www.ifg.kit.edu/download/MDR%202019-20%20Beitrag%20Schwartz%20et.%20al..pdf>
- Ali, A., Fontana, H., Sano, E., Li, R., Humayon, M., Rahman, S., Lincopan, N., Mohsin, M., 2021. Genomic features of a high-risk *mcr-1.1*-positive *Escherichia coli* ST10 isolated from cattle farm environment. *Environ Sci Pollut Res* 28, S. 54147–54152. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-15437-6>
- Almandoz, M.C., Pagliero, C.L., Ochoa, N.A., Marchese, J., 2015. Composite ceramic membranes from natural aluminosilicates for microfiltration applications. *Ceramics International* 41, S. 5621–5633. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2014.12.144>
- Ambler, R.P., 1980. The structure of  $\beta$ -lactamases. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 289, S. 321–331. <https://doi.org/10.1098/rstb.1980.0049>
- Antão, E.-M., Wagner-Ahlf, C., 2018. Antibiotikaresistenz: Eine gesellschaftliche Herausforderung. *Bundesgesundheitsbl* 61, S. 499–506. <https://doi.org/10.1007/s00103-018-2726-y>
- Barancheshme, F., Munir, M., 2018. Strategies to Combat Antibiotic Resistance in the Wastewater Treatment Plants. *Front. Microbiol.* 8, 2603. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02603>

- Barton, M.D., 2014. Impact of antibiotic use in the swine industry. *Current Opinion in Microbiology* 19, S. 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2014.05.017>
- Basak, S., Singh, P., Rajurkar, M., 2016. Multidrug Resistant and Extensively Drug Resistant Bacteria: A Study. *Journal of Pathogens* 2016, S. 1–5. <https://doi.org/10.1155/2016/4065603>
- Belbel, Z., Chettibi, H., Dekhil, M., Ladjama, A., Nedjai, S., Rolain, J.-M., 2014. Outbreak of an *armA* Methyltransferase-Producing ST39 *Klebsiella pneumoniae* Clone in a Pediatric Algerian Hospital. *Microbial Drug Resistance* 20, S. 310–315. <https://doi.org/10.1089/mdr.2013.0193>
- Bell, C., Kyriakides, A., 2009. Pathogenic *Escherichia coli*, in: *Foodborne Pathogens*. Elsevier, S. 581–626. <https://doi.org/10.1533/9781845696337.2.581>
- Bennett, J.S., Bentley, S.D., Vernikos, G.S., Quail, M.A., Cherevach, I., White, B., Parkhill, J., Maiden, M.C., 2010. Independent evolution of the core and accessory gene sets in the genus *Neisseria*: insights gained from the genome of *Neisseria lactamica* isolate 020-06. *BMC Genomics* 11, 652. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-652>
- Bennett, J.S., Jolley, K.A., Earle, S.G., Corton, C., Bentley, S.D., Parkhill, J., Maiden, M.C.J., 2012. A genomic approach to bacterial taxonomy: an examination and proposed reclassification of species within the genus *Neisseria*. *Microbiology* 158, S. 1570–1580. <https://doi.org/10.1099/mic.0.056077-0>
- Berger-Bächli, B., 2000. Mechanismen der Antibiotika- Resistenzbildung in Bakterien. Bergeron, C.R., Prussing, C., Boerlin, P., Daignault, D., Dutil, L., Reid-Smith, R.J., Zhanel, G.G., Manges, A.R., 2012. Chicken as Reservoir for Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* in Humans, Canada. *Emerg. Infect. Dis.* 18, S. 415–421. <https://doi.org/10.3201/eid1803.111099>
- Beyaert, I., Blenn, T., 2019. Resistenzen und Resistenzgene. *Uro-News* 23, 18–19. <https://doi.org/10.1007/s00092-019-2342-7>
- BfR, 2022. Therapiehäufigkeit und Antibiotikaverbrauchsmengen 2018–2021: Entwicklung in zur Fleischerzeugung gehaltenen Rindern, Schweinen, Hühnern und Puten: Bericht des BfR vom 20. Dezember 2022. BfR-Stellungnahmen. <https://doi.org/10.17590/20221216-083830>
- Bhullar, K., Waglechner, N., Pawlowski, A., Koteva, K., Banks, E.D., Johnston, M.D., Barton, H.A., Wright, G.D., 2012. Antibiotic Resistance Is Prevalent in an Isolated Cave Microbiome. *PLoS ONE* 7, e34953. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034953>
- bioMérieux, 2021. VITEK 2 AST-N429. <https://resourcecenter.bioomerieux.com/search/424321>
- Bischoff, S.C., 2009. Probiotika, Präbiotika und Synbiotika. Georg Thieme Verlag, Stuttgart. <https://doi.org/10.1055/b-002-29652>
- Blaak, H., Van Hoek, A.H.A.M., Hamidjaja, R.A., Van Der Plaats, R.Q.J., Kerkhof-de Heer, L., De Roda Husman, A.M., Schets, F.M., 2015. Distribution, Numbers, and Diversity of ESBL-Producing *E. coli* in the Poultry Farm Environment. *PLoS ONE* 10, e0135402. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135402>

- BLE, 2023a. Entwicklung des Antibiotika-Einsatzes in der deutschen Tierhaltung von 2011 bis 2021. <https://www.landwirtschaft.de/diskussion-und-dialog/tierhaltung/antibiotika-in-der-nutztierhaltung>
- BLE, 2023b. Fleischverzehr 2022 auf Tiefstand (Pressemitteilung). [https://www.ble.de/SharedDocs/Pressemitteilungen/DE/2023/230403\\_Fleischverzehr.html#:~:text=Die%20vorläufigen%20Angaben%20des%20Bundesinformati-onszentrums,so%20niedrig%20wie%20noch%20nie](https://www.ble.de/SharedDocs/Pressemitteilungen/DE/2023/230403_Fleischverzehr.html#:~:text=Die%20vorläufigen%20Angaben%20des%20Bundesinformati-onszentrums,so%20niedrig%20wie%20noch%20nie)
- BLE, 2021. Geflügelhaltung in Deutschland. <https://www.bmel-statistik.de/landwirtschaft/tierhaltung/gefluegelhaltung#:~:text=Geflügel%20ist%20das%20häufigste%20Nutztier,13%2C1%20Kilogramm%20pro%20Kopf>.
- Blenn, B., Beyaert, I., 2022. Resistenzmechanismen bei Bakterien. *Uro-News* 26, S. 10–11. <https://doi.org/10.1007/s00092-022-4910-5>
- Blount, Z.D., 2015. The unexhausted potential of *E. coli*. *eLife* 4, e05826. <https://doi.org/10.7554/eLife.05826>
- BMZ, 2022. Why antimicrobial resistance (AMR) calls for a multisectoral One Health approach – NOW. <https://health.bmz.de/stories/why-antimicrobial-resistance-amr-calls-for-a-multisectoral-one-health-approach-now/>
- Bonnet, R., 2004. Growing Group of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases: the CTX-M Enzymes. *Antimicrob Agents Chemother* 48, S. 1–14. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.1.1-14.2004>
- Borges, C.A., Tarlton, N.J., Riley, L.W., 2019. *Escherichia coli* from Commercial Broiler and Backyard Chickens Share Sequence Types, Antimicrobial Resistance Profiles, and Resistance Genes with Human Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*. *Food-borne Pathogens and Disease* 16, S. 813–822. <https://doi.org/10.1089/fpd.2019.2680>
- Bortolaia, V., Guardabassi, L., Trevisani, M., Bisgaard, M., Venturi, L., Bojesen, A.M., 2010. High Diversity of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases in *Escherichia coli* Isolates from Italian Broiler Flocks. *Antimicrob Agents Chemother* 54, S. 1623–1626. <https://doi.org/10.1128/AAC.01361-09>
- Boucher, H.W., Talbot, G.H., Benjamin, D.K., Bradley, J., Guidos, R.J., Jones, R.N., Murray, B.E., Bonomo, R.A., Gilbert, D., for the Infectious Diseases Society of America, 2013. 10 x '20 Progress--Development of New Drugs Active Against Gram-Negative Bacilli: An Update From the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases* 56, S. 1685–1694. <https://doi.org/10.1093/cid/cit152>
- Brade, W., Distl, O., 2016. Die intestinale Mikrobiota bei Schweinen: Strukturen und Funktionen. *Berichte über Landwirtschaft - Zeitschrift für Agrarpolitik und Landwirtschaft* Band 94, Mai 2016. <https://doi.org/10.12767/BUEL.V94I1.91>
- Bradford, P.A., 2001. Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases in the 21st Century: Characterization, Epidemiology, and Detection of This Important Resistance Threat. *Clin Microbiol Rev* 14, S. 933–951. <https://doi.org/10.1128/CMR.14.4.933-951.2001>
- Brenner, D.J., Farmer III, J.J., 2005. “*Enterobacteriales*,” in: *Bergey’s Manual® of Systematic Bacteriology*. Springer US, Boston, MA, S. 587–850. [https://doi.org/10.1007/0-387-28022-7\\_13](https://doi.org/10.1007/0-387-28022-7_13)

- Brisse, S., Duijkeren, E. van, 2005. Identification and antimicrobial susceptibility of 100 *Klebsiella* animal clinical isolates. *Veterinary Microbiology* 105, S. 307–312. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2004.11.010>
- Bülte, M., Goll, M., 2014. *Escherichia coli*: Eigenschaften, Vorkommen und Präventionsmaßnahmen, 2. komplett überarb. Aufl. Pathogene Mikroorganismen. Behr, Hamburg. ISBN 978-3-95468-154-9
- Bundesministerium der Justiz, 1997. Verordnung über Anforderungen an das Einleiten von Abwasser in Gewässer (Abwasserverordnung - AbwV). <https://www.gesetze-im-internet.de/abwv/AbwV.pdf>
- Bundestierärztekammer, 2015. Leitlinien für den sorgfältigen Umgang mit antibakteriell wirksamen Tierarzneimitteln, 3. Auflage, Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co KG, Hannover, Deutschland. <https://www.bundestieraerztekammer.de/tieraerzte/leitlinien/>
- Bush, K., 2018. Past and Present Perspectives on  $\beta$ -Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 62, e01076-18. <https://doi.org/10.1128/AAC.01076-18>
- Bush, K., Jacoby, G.A., Medeiros, A.A., 1995. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 39, S. 1211–1233. <https://doi.org/10.1128/AAC.39.6.1211>
- Bustillo-Lecompte, C., Mehrvar, M., 2017. Slaughterhouse Wastewater: Treatment, Management and Resource Recovery, in: Farooq, R., Ahmad, Z. (Eds.), *Physico-Chemical Wastewater Treatment and Resource Recovery*. InTech. <https://doi.org/10.5772/65499>
- Bustillo-Lecompte, C.F., Mehrvar, M., 2015. Slaughterhouse wastewater characteristics, treatment, and management in the meat processing industry: A review on trends and advances. *Journal of Environmental Management* 161, S. 287–302. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.07.008>
- BVL, BfR, 2021. Lagebild zur Antibiotikaresistenz im Bereich Tierhaltung und Lebensmittelkette 2021. [https://www.bmel.de/SharedDocs/Downloads/DE/\\_Tiere/Tiergesundheit/Tierarzneimittel/lagebild-antibiotikaeinsatz-bei-tieren-2021.pdf?\\_\\_blob=publicationFile&v=3](https://www.bmel.de/SharedDocs/Downloads/DE/_Tiere/Tiergesundheit/Tierarzneimittel/lagebild-antibiotikaeinsatz-bei-tieren-2021.pdf?__blob=publicationFile&v=3)
- Calderón, C., Perdue Sabundayo, B., 2007. Antimicrobial Classifications: Drugs for Bugs, in: Schwalbe, R., Steele-Moore, L., Goodwin, A. (Eds.), *Antimicrobial Susceptibility Testing Protocols*. CRC Press, S. 7–52. <https://doi.org/10.1201/9781420014495.ch2>
- Cantón, R., Novais, A., Valverde, A., Machado, E., Peixe, L., Baquero, F., Coque, T.M., 2008. Prevalence and spread of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Clinical Microbiology and Infection* 14, S. 144–153. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01850.x>
- Cartelle, M., Del Mar Tomas, M., Molina, F., Moure, R., Villanueva, R., Bou, G., 2004. High-Level Resistance to Ceftazidime Conferred by a Novel Enzyme, CTX-M-32, Derived from CTX-M-1 through a Single Asp240-Gly Substitution. *Antimicrob Agents Chemother* 48, S. 2308–2313. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.6.2308-2313.2004>

- Chah, K.F., Ugwu, I.C., Okpala, A., Adamu, K.Y., Alonso, C.A., Ceballos, S., Nwanta, J.N., Torres, C., 2018. Detection and molecular characterisation of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing enteric bacteria from pigs and chickens in Nsukka, Nigeria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 15, S 36–40. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.06.002>
- Chen, L., Peirano, G., Kreiswirth, B.N., Devinney, R., Pitout, J.D.D., 2022. Acquisition of genomic elements were pivotal for the success of *Escherichia coli* ST410. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 77, S. 3399–3407. <https://doi.org/10.1093/jac/dkac329>
- Cheng, J., Zhang, J., Han, B., Barkema, H.W., Cobo, E.R., Kastelic, J.P., Zhou, M., Shi, Y., Wang, J., Yang, R., Gao, J., 2020. *Klebsiella pneumoniae* isolated from bovine mastitis is cytopathogenic for bovine mammary epithelial cells. *Journal of Dairy Science* 103, S. 3493–3504. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17458>
- Choi, J.H., 2012. The Meaning and Impact of Appropriate Use of Antibiotics. *Infect Chemother* 44, S. 331. <https://doi.org/10.3947/ic.2012.44.5.331>
- Christgen, B., Yang, Y., Ahammad, S.Z., Li, B., Rodriguez, D.C., Zhang, T., Graham, D.W., 2015. Metagenomics Shows That Low-Energy Anaerobic–Aerobic Treatment Reactors Reduce Antibiotic Resistance Gene Levels from Domestic Wastewater. *Environ. Sci. Technol.* 49, S. 2577–2584. <https://doi.org/10.1021/es505521w>
- CHROMagar™, 2020. CHROMagar™ Orientation. <https://mast-group.com/de/products/microbiology/chromagar-ready-made-plates/?page=2&listMode=grid>
- Croxen, M.A., Finlay, B.B., 2010. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. *Nat Rev Microbiol* 8, S. 26–38. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2265>
- Cui, L., Murakami, H., Kuwahara-Arai, K., Hanaki, H., Hiramatsu, K., 2000. Contribution of a Thickened Cell Wall and Its Glutamine Nonamidated Component to the Vancomycin Resistance Expressed by *Staphylococcus aureus* Mu50. *Antimicrob Agents Chemother* 44, S. 2276–2285. <https://doi.org/10.1128/AAC.44.9.2276-2285.2000>
- Ćwiek, K., Woźniak-Biel, A., Karwańska, M., Siedlecka, M., Lammens, C., Rebelo, A.R., Hendriksen, R.S., Kuczkowski, M., Chmielewska-Władyka, M., Wieliczko, A., 2021. Phenotypic and genotypic characterization of mcr-1-positive multidrug-resistant *Escherichia coli* ST93, ST117, ST156, ST10, and ST744 isolated from poultry in Poland. *Braz J Microbiol* 52, S. 1597–1609. <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00538-8>
- Dahmen, S., Métayer, V., Gay, E., Madec, J.-Y., Haenni, M., 2013. Characterization of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-carrying plasmids and clones of *Enterobacteriaceae* causing cattle mastitis in France. *Veterinary Microbiology* 162, S. 793–799. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.10.015>
- Dahms, C., Hübner, N.-O., Kossow, A., Mellmann, A., Dittmann, K., Kramer, A., 2015. Occurrence of ESBL-Producing *Escherichia coli* in Livestock and Farm Workers in Mecklenburg-Western Pomerania, Germany. *PLOS ONE* 10, e0143326. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0143326>

- Danko, D., Bezdan, D., Afshin, E.E., Ahsanuddin, S., Bhattacharya, C., Butler, D.J., 2021. A global metagenomic map of urban microbiomes and antimicrobial resistance. *Cell* 184, S. 3376–3393. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.05.002>
- Davies, J., Davies, D., 2010. Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiol Mol Biol Rev* 74, S. 417–433. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00016-10>
- D’Costa, V.M., King, C.E., Kalan, L., Morar, M., Sung, W.W.L., Schwarz, C., Froese, D., Zazula, G., Calmels, F., Debruyne, R., Golding, G.B., Poinar, H.N., Wright, G.D., 2011. Antibiotic resistance is ancient. *Nature* 477, S. 457–461. <https://doi.org/10.1038/nature10388>
- De Koster, S., Ringenier, M., Lammens, C., Stegeman, A., Tobias, T., Velkers, F., Ver-nooij, H., Kluytmans-van Den Bergh, M., Kluytmans, J., Dewulf, J., Goossens, H., on behalf of the i-4-1-Health Study Group, 2021. ESBL-Producing, Carbapenem- and Ciprofloxacin-Resistant *Escherichia coli* in Belgian and Dutch Broiler and Pig Farms: A Cross-Sectional and Cross-Border Study. *Antibiotics* 10, 945. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10080945>
- Delgado, C.L., 2003. Rising Consumption of Meat and Milk in Developing Countries Has Created a New Food Revolution. *The Journal of Nutrition* 133, S. 3907-3910. <https://doi.org/10.1093/jn/133.11.3907S>
- Denamur, E., Clermont, O., Bonacorsi, S., Gordon, D., 2021. The population genetics of pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* 19, S. 37–54. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0416-x>
- Dierich, M.P., Fille, M., 2020. Antimikrobielle und antivirale Therapie - Allgemeines, in: *Medizinische Mikrobiologie Und Infektiologie*. Springer, Berlin, Heidelberg, Deutschland, S. 933–933. [http://link.springer.com/10.1007/978-3-662-61385-6\\_90](http://link.springer.com/10.1007/978-3-662-61385-6_90)
- Drawz, S.M., Bonomo, R.A., 2010. Three Decades of  $\beta$ -Lactamase Inhibitors. *Clin Microbiol Rev* 23, S.160–201. <https://doi.org/10.1128/CMR.00037-09>
- Duggett, N.A., Sayers, E., AbuOun, M., Ellis, R.J., Nunez-Garcia, J., Randall, L., Horton, R., Rogers, J., Martelli, F., Smith, R.P., Brena, C., Williamson, S., Kirchner, M., Davies, R., Crook, D., Evans, S., Teale, C., Anjum, M.F., 2016. Occurrence and characterization of *mcr-1*- harbouring *Escherichia coli* isolated from pigs in Great Britain from 2013 to 2015. *J. Antimicrob. Chemother.* dkw477. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw477>
- Džidic, S., Šušković, J., Kos, B., 2018. Antibiotic Resistance Mechanisms in Bacteria: Biochemical and Genetic Aspects. *Food technology and biotechnology* 46, S. 11–21. <https://hrcak.srce.hr/file/34842>
- EFSA, ECDC, 2022. The European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2019–2020. *EFS2* 20. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7209>
- Elnahriry, S.S., Khalifa, H.O., Soliman, A.M., Ahmed, A.M., Hussein, A.M., Shimamoto, T., Shimamoto, T., 2016. Emergence of Plasmid-Mediated Colistin Resistance Gene *mcr-1* in a Clinical *Escherichia coli* Isolate from Egypt. *Antimicrob Agents Chemother* 60, S. 3249–3250. <https://doi.org/10.1128/AAC.00269-16>

- Enne, V.I., Delsol, A.A., Roe, J.M., Bennett, P.M., 2006. Evidence of Antibiotic Resistance Gene Silencing in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 50, S. 3003–3010. <https://doi.org/10.1128/AAC.00137-06>
- Etebu, E., Arikekpar, I., 2016. Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. *International Journal of Applied Microbiology and Biotechnology Research*. S. 90–101. [http://www.bluepenjournals.org/ijambr/pdf/2016/October/Etebu\\_and\\_Arikekpar.pdf](http://www.bluepenjournals.org/ijambr/pdf/2016/October/Etebu_and_Arikekpar.pdf)
- Europäische Kommission, 2005. Verbot von Antibiotika als Wachstumsförderer in Futtermitteln tritt in Kraft. Brüssel. [https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/de/IP\\_05\\_1687](https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/de/IP_05_1687)
- European Commission, 2022. Poultry. [https://agriculture.ec.europa.eu/farming/animal-products/poultry\\_en](https://agriculture.ec.europa.eu/farming/animal-products/poultry_en)
- European Commission, 2017. A European One Health Action Plan against Antimicrobial Resistance. [https://health.ec.europa.eu/system/files/2020-01/amr\\_2017\\_action-plan\\_0.pdf](https://health.ec.europa.eu/system/files/2020-01/amr_2017_action-plan_0.pdf)
- Ewers, C., Bethe, A., Semmler, T., Guenther, S., Wieler, L.H., 2012. Extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing and AmpC-producing *Escherichia coli* from livestock and companion animals, and their putative impact on public health: a global perspective. *Clinical Microbiology and Infection* 18, S. 646–655. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03850.x>
- Exner, M., Bhattacharya, S., Christiansen, B., Gebel, J., Goroncy-Bermes, P., Hartemann, P., Heeg, P., Ilschner, C., Kramer, A., Larson, E., Merckens, W., Mielke, M., Oltmanns, P., Ross, B., Rotter, M., Schmithausen, R.M., Sonntag, H.-G., Trautmann, M., 2017. Antibiotic resistance: What is so special about multidrug-resistant Gram-negative bacteria? *GMS Hygiene and Infection Control*; 12:Doc05. <https://doi.org/10.3205/DGKH000290>
- Fahrenfeld, N., Ma, Y., O'Brien, M., Pruden, A., 2013. Reclaimed water as a reservoir of antibiotic resistance genes: distribution system and irrigation implications. *Front. Microbiol.* 4. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00130>
- Falgenhauer, L., Imirzalioglu, C., Ghosh, H., Gwozdziński, K., Schmiedel, J., Gentil, K., Bauerfeind, R., Kämpfer, P., Seifert, H., Michael, G.B., Schwarz, S., Pfeifer, Y., Werner, G., Pietsch, M., Roesler, U., Guerra, B., Fischer, J., Sharp, H., Käsbohrer, A., Goesmann, A., Hille, K., Kreienbrock, L., Chakraborty, T., 2016. Circulation of clonal populations of fluoroquinolone-resistant CTX-M-15-producing *Escherichia coli* ST410 in humans and animals in Germany. *International Journal of Antimicrobial Agents* 47, S. 457–465. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.03.019>
- FAO, 2022. One Health. <https://www.fao.org/one-health/en>
- Fille, M., Ziesing, S., 2020. Antimikrobielle und antivirale Therapie – Antibakterielle Wirkung, in: Suerbaum, S., Burchard, G.-D., Kaufmann, S., Schulz, T. (Eds.), *Medizinische Mikrobiologie Und Infektiologie*. Springer, Berlin, Deutschland, S. 935–937. ISBN 978-3-662-61384-9 978-3-662-61385-6

- Fleming, A., 1929. On the Antibacterial Action of Cultures of a Penicillium, with Special Reference to their Use in the Isolation of B. influenzae. *British journal of experimental pathology* 10, S. 226–236. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2048009/pdf/brjexppathol00255-0037.pdf>
- Friedrich, C., 2006. Die Geschichte der  $\beta$ -Lactam-Antibiotika: Zwischen Zufall und gezielter Entwicklung. *Pharmazie in unserer Zeit* 35, S. 392–398. <https://doi.org/10.1002/pauz.200600184>
- Fritsche, O., 2016. Medizinische Mikrobiologie, in: *Mikrobiologie*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, S. 251–294. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-49729-6\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-662-49729-6_9)
- Galani, I., Karaiskos, I., Angelidis, E., Papoutsaki, V., Galani, L., Souli, M., Antoniadou, A., Giamarellou, H., 2021. Emergence of ceftazidime-avibactam resistance through distinct genomic adaptations in KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* of sequence type 39 during treatment. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 40, S. 219–224. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-04000-9>
- Geiss, H.K., 2012. Antibiotikaresistenz: Entstehung, Mechanismen und klinische Bedeutung, in: Darai, G., Handermann, M., Sonntag, H.-G., Zöller, L. (Eds.), *Lexikon der Infektionskrankheiten des Menschen*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, S. 32–75. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-17158-1\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-642-17158-1_2)
- Gekenidis, M.-T., Qi, W., Hummerjohann, J., Zbinden, R., Walsh, F., Drissner, D., 2018. Antibiotic-resistant indicator bacteria in irrigation water: High prevalence of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli*. *PLoS ONE* 13, e0207857. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207857>
- Ghuysen, J.-M., 1991. SERINE  $\beta$ -LACTAMASES AND PENICILLIN-BINDING PROTEINS. *Annu. Rev. Microbiol.* 45, 37–67. <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.45.100191.000345>
- Goswami, K.P., Pugazhenti, G., 2020. Treatment of poultry slaughterhouse wastewater using tubular microfiltration membrane with fly ash as key precursor. *Journal of Water Process Engineering* 37, 101361. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101361>
- Guo, M.-T., Yuan, Q.-B., Yang, J., 2013. Microbial selectivity of UV treatment on antibiotic-resistant heterotrophic bacteria in secondary effluents of a municipal wastewater treatment plant. *Water Research* 47, S. 6388–6394. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.08.012>
- Hacker, J., Blum-Oehler, G., 2007. In appreciation of Theodor Escherich. *Nat Rev Microbiol* 5, S. 902–902. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1810>
- Hall, B.G., Barlow, M., 2004. Evolution of the serine  $\beta$ -lactamases: past, present and future. *Drug Resistance Updates* 7, S. 111–123. <https://doi.org/10.1016/j.drug.2004.02.003>
- Haller, S., Kramer, R., Becker, K., Bohnert, J.A., Eckmanns, T., Hans, J.B., Hecht, J., Heidecke, C.-D., Hübner, N.-O., Kramer, A., Klaper, K., Littmann, M., Marlinghaus, L., Neumann, B., Pfeifer, Y., Pfennigwerth, N., Rogge, S., Schaufler, K., Thürmer, A., Werner, G., Gatermann, S., 2019. Extensively drug-resistant *Klebsiella pneumoniae* ST307 outbreak, north-eastern Germany, June to October 2019. *Eurosurveillance* 24. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.50.1900734>



- Hamprecht, A., Göttig, S., 2018. Häufigkeit und Vorkommen multiresistenter gramnegativer Erreger: 3MRGN/4MRGN. *Dtsch med Wochenschr* 143, S. 625–633. <https://doi.org/10.1055/s-0043-113597>
- Harrison, P.W., Lower, R.P.J., Kim, N.K.D., Young, J.P.W., 2010. Introducing the bacterial 'chromid': not a chromosome, not a plasmid. *Trends in Microbiology* 18, S. 141–148. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2009.12.010>
- Hawkey, P.M., Warren, R.E., Livermore, D.M., McNulty, C.A.M., Enoch, D.A., Otter, J.A., Wilson, A.P.R., 2018. Treatment of infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacteria: report of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy/Healthcare Infection Society/British Infection Association Joint Working Party†. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 73, iii2–iii78. <https://doi.org/10.1093/jac/dky027>
- Heiden, S.E., Hübner, N.-O., Bohnert, J.A., Heidecke, C.-D., Kramer, A., Balau, V., Gierer, W., Schaefer, S., Eckmanns, T., Gatermann, S., Eger, E., Guenther, S., Becker, K., Schaufler, K., 2020. A *Klebsiella pneumoniae* ST307 outbreak clone from Germany demonstrates features of extensive drug resistance, hypermucoviscosity, and enhanced iron acquisition. *Genome Med* 12, 113. <https://doi.org/10.1186/s13073-020-00814-6>
- Heisig, P., 2006. Wirkungs- und Resistenzmechanismen der  $\beta$ -Lactam-Antibiotika: Penicillin-bindende Proteine,  $\beta$ -Lactamasen und Signalproteine. *Pharm. Unserer Zeit* 35, S. 400–408. <https://doi.org/10.1002/pauz.200600185>
- Hembach, N., Alexander, J., Hiller, C., Wieland, A., Schwartz, T., 2019. Dissemination prevention of antibiotic resistant and facultative pathogenic bacteria by ultrafiltration and ozone treatment at an urban wastewater treatment plant. *Sci Rep* 9, 12843. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49263-1>
- Henchion, M., McCarthy, M., Resconi, V.C., Troy, D., 2014. Meat consumption: Trends and quality matters. *Meat Science* 98, S. 561–568. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.06.007>
- Heuer, H., Smalla, K., 2012. Plasmids foster diversification and adaptation of bacterial populations in soil. *FEMS Microbiol Rev* 36, S. 1083–1104. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2012.00337.x>
- Hiller, C.X., Hübner, U., Fajnorova, S., Schwartz, T., Drewes, J.E., 2019. Antibiotic microbial resistance (AMR) removal efficiencies by conventional and advanced wastewater treatment processes: A review. *Science of The Total Environment* 685, S. 596–608. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.315>
- Hof, H., Schlüter, D., Bruder, D., Cornely, O.A., Dörries, R., Geginat, G., Reischl, U., Schnitzler, P., Wendt, C., 2022. *Medizinische Mikrobiologie*, 8., unveränderte Auflage, Duale Reihe / Thieme. Thieme, Stuttgart. ISBN 9783132443174
- Homeier-Bachmann, T., Heiden, S.E., Lübcke, P.K., Bachmann, L., Bohnert, J.A., Zimmermann, D., Schaufler, K., 2021. Antibiotic-Resistant Enterobacteriaceae in Wastewater of Abattoirs. *Antibiotics* 10, 568. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050568>

- Homeier-Bachmann, T., Kleist, J.F., Schütz, A.K., Bachmann, L., 2022. Distribution of ESBL/AmpC-*Escherichia coli* on a Dairy Farm. *Antibiotics* 11, 940. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11070940>
- Huang, J.-J., Hu, H.-Y., Tang, F., Li, Y., Lu, S.-Q., Lu, Y., 2011. Inactivation and reactivation of antibiotic-resistant bacteria by chlorination in secondary effluents of a municipal wastewater treatment plant. *Water Research* 45, S. 2775–2781. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.02.026>
- Huber, H., Zweifel, C., Wittenbrink, M.M., Stephan, R., 2013. ESBL-producing uropathogenic *Escherichia coli* isolated from dogs and cats in Switzerland. *Veterinary Microbiology* 162, S. 992–996. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.10.029>
- Hübner, N.-O., 2013. Hygienemaßnahmen bei Infektionen oder Besiedlung mit multiresistenten gramnegativen bakteriellen Erregern. [https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/Kommission/Ergaenzende\\_Informationen/MRGN\\_Vortrag.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/Kommission/Ergaenzende_Informationen/MRGN_Vortrag.pdf?__blob=publicationFile)
- Hutchings, M.I., Truman, A.W., Wilkinson, B., 2019. Antibiotics: past, present and future. *Current Opinion in Microbiology* 51, S. 72–80. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.008>
- Isaacson, R., Kim, H.B., 2012. The intestinal microbiome of the pig. *Anim. Health. Res. Rev.* 13, S. 100–109. <https://doi.org/10.1017/S1466252312000084>
- Jacoby, G.A., 1994. Genetics of extended-spectrum beta-lactamases. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 13, S. 2–11. <https://doi.org/10.1007/bf02390679>
- Jamil, A., Zahoor, M.A., Nawaz, Z., Siddique, A.B., Khurshid, M., 2022. Genetic Diversity of *Escherichia coli* Coharboring mcr-1 and Extended Spectrum Beta-Lactamases from Poultry. *BioMed Research International* 2022, S. 1–9. <https://doi.org/10.1155/2022/8224883>
- Jian, T., Zhang, X., 1999. Bioprocessing for slaughterhouse wastewater and its computerized control and supervisory system. *Resources, Conservation and Recycling* 27, S. 145–149. [https://doi.org/10.1016/S0921-3449\(98\)00094-9](https://doi.org/10.1016/S0921-3449(98)00094-9)
- Kähler, K., Kunert, U., 2009. Automatisierung in der Mikrobiologie (Identifizierung und antimikrobielle Empfindlichkeitsprüfung), in: Neumeister, B., Geiss, H.K., Braun, R.W., Kimmig, P., *Mikrobiologische Diagnostik*. Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart. ISBN 978-3-13-743602-7
- Kaper, J.B., Nataro, J.P., Mobley, H.L.T., 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology* 2, S. 123–140. <https://doi.org/10.1038/nrmicro818>
- Kapoor, G., Saigal, S., Elongavan, A., 2017. Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol* 33, S. 300–305. [https://doi.org/10.4103/joacp.JOACP\\_349\\_15](https://doi.org/10.4103/joacp.JOACP_349_15)
- Kasabova, S., Hartmann, M., Freise, F., Hommerich, K., Fischer, S., Wilms-Schulze-Kump, A., Rohn, K., Käsbohrer, A., Kreienbrock, L., 2021. Antibiotic Usage Pattern in Broiler Chicken Flocks in Germany. *Front. Vet. Sci.* 8, 673809. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.673809>

- Kieffer, N., Aires-de-Sousa, M., Nordmann, P., Poirel, L., 2017. High Rate of MCR-1–Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* among Pigs, Portugal. *Emerg. Infect. Dis.* 23, S. 2023–2029. <https://doi.org/10.3201/eid2312.170883>
- Kim, D.-W., Cha, C.-J., 2021. Antibiotic resistome from the One-Health perspective: understanding and controlling antimicrobial resistance transmission. *Exp Mol Med* 53, S. 301–309. <https://doi.org/10.1038/s12276-021-00569-z>
- Kim, S.-W., Karns, J.S., Van Kessel, J.A.S., Haley, B.J., 2017. Genome Sequences of Five Multidrug-Resistant *Escherichia coli* Sequence Type 117 Isolates Recovered from Dairy Calves. *Genome Announcements* 5, e00732-17. <https://doi.org/10.1128/genomea.00732-17>
- KRINKO, 2012. Hygienemaßnahmen bei Infektionen oder Besiedlung mit multiresistenten gramnegativen Stäbchen. *Bundesgesundheitsbl.* 55, S. 1311–1354. <https://doi.org/10.1007/s00103-012-1549-5>
- Kucera, J., 2023. Reverse Osmosis, 3. Ausgabe John Wiley & Sons. [https://books.google.de/books?hl=de&lr=&id=3I29EAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP30&dq=reverse+osmosis+definitions&ots=Bjr\\_A-GE0c&sig=n9SbgjeKfztlT-hfP49ia2-IBpo#v=onepage&q=reverse%20osmosis%20definitions&f=false](https://books.google.de/books?hl=de&lr=&id=3I29EAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP30&dq=reverse+osmosis+definitions&ots=Bjr_A-GE0c&sig=n9SbgjeKfztlT-hfP49ia2-IBpo#v=onepage&q=reverse%20osmosis%20definitions&f=false)
- Lan, L., Kong, X., Sun, H., Li, C., Liu, D., 2019. High removal efficiency of antibiotic resistance genes in swine wastewater via nanofiltration and reverse osmosis processes. *Journal of Environmental Management* 231, S. 439–445. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.10.073>
- Landoni, M.F., Albarellos, G., 2015. The use of antimicrobial agents in broiler chickens. *The Veterinary Journal* 205, S. 21–27. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.04.016>
- Laupland, K.B., Ross, T., Pitout, J.D.D., Church, D.L., Gregson, D.B., 2007. Community-onset Urinary Tract Infections: A Population-based Assessment. *Infection* 35, S. 150–153. <https://doi.org/10.1007/s15010-007-6180-2>
- Leangapichart, T., Lunha, K., Jiwakanon, J., Angkittrakul, S., Järhult, J.D., Magnusson, U., Sunde, M., 2021. Characterization of *Klebsiella pneumoniae* complex isolates from pigs and humans in farms in Thailand: population genomic structure, antibiotic resistance and virulence genes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 76, S. 2012–2016. <https://doi.org/10.1093/jac/dkab118>
- Lee, S., An, J.-U., Woo, J., Song, H., Yi, S., Kim, W.-H., Lee, J.-H., Ryu, S., Cho, S., 2022. Prevalence, Characteristics, and Clonal Distribution of *Escherichia coli* Carrying Mobilized Colistin Resistance Gene *mcr-1.1* in Swine Farms and Their Differences According to Swine Production Stages. *Front. Microbiol.* 13, 873856. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.873856>
- Lentz, S.A., De Lima-Morales, D., Cuppertino, V.M., Nunes, L.D.S., Da Motta, A.S., Zavascki, A.P., Barth, A.L., Martins, A.F., 2016. Letter to the editor: *Escherichia coli* harbouring *mcr-1* gene isolated from poultry not exposed to polymyxins in Brazil. *Eurosurveillance* 21. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.26.30267>

- Lepuschitz, S., Schill, S., Stoeger, A., Pekard-Amenitsch, S., Huhulescu, S., Inreiter, N., Hartl, R., Kerschner, H., Sorschag, S., Springer, B., Brisse, S., Allerberger, F., Mach, R.L., Ruppitsch, W., 2019. Whole genome sequencing reveals resemblance between ESBL-producing and carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates from Austrian rivers and clinical isolates from hospitals. *Science of The Total Environment* 662, S. 227–235. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.179>
- Leverstein-van Hall, M.A., Dierikx, C.M., Stuart, J.C., Voets, G.M., Van Den Munckhof, M.P., Van Essen-Zandbergen, A., Platteel, T., Fluit, A.C., Van De Sande-Bruinsma, N., Scharinga, J., Bonten, M.J.M., Mevius, D.J., 2011. Dutch patients, retail chicken meat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains. *Clinical Microbiology and Infection* 17, S. 873–880. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03497.x>
- LGC Limited, 2021. MasterPure DNA Purification Kit for Blood Version II. [https://biosearchtech.a.bigcontent.io/v1/static/manual\\_MB711400\\_MasterPure-Blood#:~:text=This%20kit%20uses%20a%20rapid,generation%20sequencing%20and%20PCR%20amplification.](https://biosearchtech.a.bigcontent.io/v1/static/manual_MB711400_MasterPure-Blood#:~:text=This%20kit%20uses%20a%20rapid,generation%20sequencing%20and%20PCR%20amplification.)
- Li, X.-Z., Nikaido, H., 2004. Efflux-Mediated Drug Resistance in Bacteria: *Drugs* 64, S. 159–204. <https://doi.org/10.2165/00003495-200464020-00004>
- Li, Z., Xin, L., Peng, C., Liu, C., Wang, P., Yu, L., Liu, M., Wang, F., 2022. Prevalence and antimicrobial susceptibility profiles of ESBL-producing *Klebsiella Pneumoniae* from broiler chicken farms in Shandong Province, China. *Poultry Science* 101, 102002. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.102002>
- Magill, S.S., Edwards, J.R., Bamberg, W., Beldavs, Z.G., Dumyati, G., Kainer, M.A., Lynfield, R., Maloney, M., McAllister-Hollod, L., Nadle, J., Ray, S.M., Thompson, D.L., Wilson, L.E., Fridkin, S.K., 2014. Multistate Point-Prevalence Survey of Health Care-Associated Infections. *N Engl J Med* 370, S. 1198–1208. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1306801>
- Magiorakos, A.-P., Srinivasan, A., Carey, R.B., Carmeli, Y., Falagas, M.E., Giske, C.G., Harbarth, S., Hindler, J.F., Kahlmeter, G., Olsson-Liljequist, B., Paterson, D.L., Rice, L.B., Stelling, J., Struelens, M.J., Vatopoulos, A., Weber, J.T., Monnet, D.L., 2012. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection* 18, S. 268–281. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
- Majewski, P., Gutowska, A., Smith, D.G.E., Hauschild, T., Majewska, P., Hryszko, T., Gizycka, D., Kedra, B., 2021. Plasmid Mediated mcr-1.1 Colistin-Resistance in Clinical Extraintestinal *Escherichia coli* Strains Isolated in Poland. *Front. Microbiol.* 12, 547020. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.547020>
- Maluta, R.P., Logue, C.M., Casas, M.R.T., Meng, T., Guastalli, E.A.L., Rojas, T.C.G., Montelli, A.C., Sadatsune, T., De Carvalho Ramos, M., Nolan, L.K., Da Silveira, W.D., 2014. Overlapped Sequence Types (STs) and Serogroups of Avian Pathogenic (APEC) and Human Extra-Intestinal Pathogenic (ExPEC) *Escherichia coli* Isolated in Brazil. *PLoS ONE* 9, e105016. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105016>

- Manges, A.R., 2016. *Escherichia coli* and urinary tract infections: the role of poultry-meat. *Clinical Microbiology and Infection* 22, S. 122–129.  
<https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.11.010>
- Manges, A.R., Johnson, J.R., 2012. Food-Borne Origins of *Escherichia coli* Causing Extraintestinal Infections. *Clinical Infectious Diseases* 55, S. 712–719.  
<https://doi.org/10.1093/cid/cis502>
- Martin, R.M., Bachman, M.A., 2018. Colonization, Infection, and the Accessory Genome of *Klebsiella pneumoniae*. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 8, 4.  
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00004>
- Mathers, A.J., Peirano, G., Pitout, J.D.D., 2015. *Escherichia coli* ST131: The Quintessential Example of an International Multiresistant High-Risk Clone, in: *Advances in Applied Microbiology*. Elsevier, S. 109–154.  
<https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2014.09.002>
- Matsukawa, M., Igarashi, M., Watanabe, H., Qin, L., Ohnishi, M., Terajima, J., Iyoda, S., Morita-Ishihara, T., Tateda, K., Ishii, Y., Saga, T., Aoki, K., Bonomo, R.A., 2019. Epidemiology and genotypic characterisation of dissemination patterns of uropathogenic *Escherichia coli* in a community. *Epidemiol. Infect.* 147, e148.  
<https://doi.org/10.1017/S0950268819000426>
- Mavroidi, A., Miriagou, V., Malli, E., Stefanos, A., Dalekos, G.N., Tzouveleakis, L.S., Petinaki, E., 2012. Emergence of *Escherichia coli* sequence type 410 (ST410) with KPC-2  $\beta$ -lactamase. *International Journal of Antimicrobial Agents* 39, S. 247–250.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.11.003>
- Maynard, C., Fairbrother, J.M., Bekal, S., Sanschagrín, F., Levesque, R.C., Brousseau, R., Masson, L., Larivière, S., Harel, J., 2003. Antimicrobial Resistance Genes in Enterotoxigenic *Escherichia coli* O149:K91 Isolates Obtained over a 23-Year Period from Pigs. *Antimicrob Agents Chemother* 47, S. 3214–3221.  
<https://doi.org/10.1128/AAC.47.10.3214-3221.2003>
- McKinney, C.W., Pruden, A., 2012. Ultraviolet Disinfection of Antibiotic Resistant Bacteria and Their Antibiotic Resistance Genes in Water and Wastewater. *Environ. Sci. Technol.* 46, S. 13393–13400. <https://doi.org/10.1021/es303652q>
- Meckes, M.C., 1982. Effect of UV light disinfection on antibiotic-resistant coliforms in wastewater effluents. *Appl Environ Microbiol* 43, S. 371–377.  
<https://doi.org/10.1128/aem.43.2.371-377.1982>
- Melin, T., Rautenbach, R., 2007. Ultrafiltration und Mikrofiltration, in: *Membranverfahren*, VDI-Buch. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, S. 309–368.  
[https://doi.org/10.1007/978-3-540-34328-8\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-540-34328-8_10)
- Merck KgaA, 2021. Chromogene Nährmedien [WWW Document]. Merck.  
<https://www.merckmillipore.com/DE/de/products/industrial-microbiology/bioburden-testing/microbiological-water-testing/water-testing-for-food-and-beverage-industry/rapid-cultural-testing-methods/chromogenic-media/3Zyb.qB.d7UAAAFDD3FUTxl.,nav?ReferreURL=https%3A%2F%2Fwww.google.com%2F> (accessed 2.7.22).

- Mestrovic, T., Robles Aguilar, G., Swetschinski, L.R., Ikuta, K.S., Gray, A.P., Davis Weaver, N., Han, C., 2022. The burden of bacterial antimicrobial resistance in the WHO European region in 2019: a cross-country systematic analysis. *The Lancet Public Health* 7, e897–e913. [https://doi.org/10.1016/S2468-2667\(22\)00225-0](https://doi.org/10.1016/S2468-2667(22)00225-0)
- Meyer, E., 2019. Prävention der Resistenzentwicklung in Krankenhaus, Arztpraxis und in der Veterinärmedizin, in: Schulz-Stübner, S., Dettenkofer, M., Mattner, F., Meyer, E., Mahlberg, R., Multiresistente Erreger: Diagnostik - Epidemiologie - Hygiene - Antibiotika - "Stewardship". Springer, Berlin, Deutschland. [http://link.springer.com/10.1007/978-3-662-58213-8\\_6](http://link.springer.com/10.1007/978-3-662-58213-8_6)
- Million-Weaver, S., Camps, M., 2014. Mechanisms of plasmid segregation: Have multi-copy plasmids been overlooked? *Plasmid* 75, S. 27–36. <https://doi.org/10.1016/j.plasmid.2014.07.002>
- Minarini, L.A.R., Camargo, I.L.B.C., Pitondo-Silva, A., Darini, A.L.C., 2007. Multilocus Sequence Typing of Uropathogenic ESBL-Producing *Escherichia coli* Isolated in a Brazilian Community. *Curr Microbiol* 55, S. 524–529. <https://doi.org/10.1007/s00284-007-9026-3>
- Mora, A., López, C., Herrera, A., Viso, S., Mamani, R., Dhabhi, G., Alonso, M.P., Blanco, M., Blanco, J.E., Blanco, J., 2012. Emerging avian pathogenic *Escherichia coli* strains belonging to clonal groups O111:H4-D-ST2085 and O111:H4-D-ST117 with high virulence-gene content and zoonotic potential. *Veterinary Microbiology* 156, S. 347–352. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.10.033>
- Munir, M., Wong, K., Xagorarakis, I., 2011. Release of antibiotic resistant bacteria and genes in the effluent and biosolids of five wastewater utilities in Michigan. *Water Research* 45, S. 681–693. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.08.033>
- Murray, C.J.L., Ikuta, K.S., Sharara, F., Swetschinski, L., Robles Aguilar, G., Gray, A., Han, C., Bisignano, C., Rao, P., Wool, E., 2022. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet* 399, S. 629–655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)
- Musa, M.A., Idrus, S., 2021. Physical and Biological Treatment Technologies of Slaughterhouse Wastewater: A Review. *Sustainability* 13, 4656. <https://doi.org/10.3390/su13094656>
- Nathisuwan, S., Burgess, D.S., Lewis, J.S., 2001. Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases: Epidemiology, Detection, and Treatment. *Pharmacotherapy* 21, S. 920–928. <https://doi.org/10.1592/phco.21.11.920.34529>
- Nationales Antibiotika-Sensitivitätstest-Komitee in Deutschland, 2023. EUCAST-Dokumente - Nationales Antibiotika-Sensitivitätstest-Komitee (NAK) [WWW Document]. <https://www.nak-deutschland.org/nak-deutschland/EUCAST-Dokumente.html> (accessed 4.3.23).
- Nicolas-Chanoine, M.-H., Bertrand, X., Madec, J.-Y., 2014. *Escherichia coli* ST131, an Intriguing Clonal Group. *Clin Microbiol Rev* 27, S. 543–574. <https://doi.org/10.1128/CMR.00125-13>

- Nirupama, K.R., O.R., V.K., Pruthvishree, B.S., Sinha, D.K., Murugan, M.S., Krishnaswamy, N., Singh, B.R., 2018. Molecular characterisation of bla OXA-48 carbapenemase-, extended-spectrum  $\beta$ -lactamase- and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from farm piglets in India. *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 13, S. 201–205. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.01.007>
- Noor, Z.Z., Rabiou, Z., Sani, Mohd.H.Mohd., Samad, A.F.A., Kamaroddin, Mohd.F.A., Perez, M.F., Dib, J.R., Fatima, H., Sinha, R., Khare, S.K., Zakaria, Z.A., 2021. A Review of Bacterial Antibiotic Resistance Genes and Their Removal Strategies from Wastewater. *Curr Pollution Rep* 7, S. 494–509. <https://doi.org/10.1007/s40726-021-00198-0>
- Norizuki, C., Kawamura, K., Wachino, J., Suzuki, M., Nagano, N., Kondo, T., Arakawa, Y., 2018. Detection of *Escherichia coli* Producing CTX-M-1-Group Extended-Spectrum- $\beta$ -Lactamases from Pigs in Aichi Prefecture, Japan, between 2015 and 2016. *Jpn J Infect Dis* 71, S. 33–38. <https://doi.org/10.7883/yoken.JJID.2017.206>
- Oh, J., Salcedo, D.E., Medriano, C.A., Kim, S., 2014. Comparison of different disinfection processes in the effective removal of antibiotic-resistant bacteria and genes. *Journal of Environmental Sciences* 26, S. 1238–1242. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(13\)60594-X](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(13)60594-X)
- Olaitan, A.O., Thongmalayvong, B., Akkhavong, K., Somphavong, S., Paboriboune, P., Khounsy, S., Morand, S., Rolain, J.-M., 2015. Clonal transmission of a colistin-resistant *Escherichia coli* from a domesticated pig to a human in Laos: Table 1. *J. Antimicrob. Chemother.* dkv252. <https://doi.org/10.1093/jac/dkv252>
- O'Neill, J., 2016. Tackling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report and Recommendations. Review on Antimicrobial Resistance. [https://amr-review.org/sites/default/files/160518\\_Final%20paper\\_with%20cover.pdf](https://amr-review.org/sites/default/files/160518_Final%20paper_with%20cover.pdf)
- Paczosa, M.K., Meccas, J., 2016. *Klebsiella pneumoniae*: Going on the Offense with a Strong Defense. *Microbiol Mol Biol Rev* 80, S. 629–661. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00078-15>
- Page, S.W., Gautier, P., 2012. Use of antimicrobial agents in livestock: Utilisation des agents antimicrobiens chez les animaux d'élevage -ES- Uso de agentes <https://doi.org/10.20506/rst.31.1.2106>
- Palzkill, T., 2013. Metallo- $\beta$ -lactamase structure and function: Metallo- $\beta$ -lactamase structure and function. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1277, S. 91–104. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2012.06796.x>
- Pancu, D.F., Scurtu, A., Macasoi, I.G., Marti, D., Mioc, M., Soica, C., Coricovac, D., Horhat, D., Poenaru, M., Dehelean, C., 2021. Antibiotics: Conventional Therapy and Natural Compounds with Antibacterial Activity—A Pharmacotoxicological Screening. *Antibiotics* 10, 401. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10040401>
- Paterson, D.L., Bonomo, R.A., 2005. Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases: a Clinical Update. *Clinical Microbiology Reviews* 18, 657–686. <https://doi.org/10.1128/cmr.18.4.657-686.2005>

- Pavan, H.K., Shreevatsa, B., Dharmashekara, C., Shruthi, G., Prasad, K.S., S Patil, S., Shivamallu, C., 2022. Review of Known and Unknown Facts of *Klebsiella Pneumoniae* and its Relationship with Antibiotics. Biomed. Pharmacol. J. 15, S. 643-650. <https://doi.org/10.13005/bpj/2403>
- Pfeifer, Y., 2010. ESBL, AmpC und Carbapenemase: Vorkommen, Verbreitung und Diagnostik  $\beta$ -Lactamase-bildender Gram-negativer Krankheitserreger / ESBL, AmpC and carbapenemases: emergence, dissemination and diagnostics of  $\beta$ -lactamase-producing Gram-negative pathogens. LaboratoriumsMedizin 34, S. 205–215. <https://doi.org/10.1515/jlm.2010.042>
- Pfeifer, Y., 2007. ESBL und AmpC:  $\beta$ -Laktamasen als eine Hauptursache der Cephalosporin-Resistenz bei Enterobakterien. Epidemiologisches Bulletin, S.247–250. [https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/Erreger\\_ausgewaehlt/ESBL/ESBL\\_28\\_07.pdf?\\_\\_blob=publicationFile#:~:text=Neben%20den%20ESBL%20sind%20die,fenden%20Verbreitung%20der%20Resistenz%20bei.](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/Erreger_ausgewaehlt/ESBL/ESBL_28_07.pdf?__blob=publicationFile#:~:text=Neben%20den%20ESBL%20sind%20die,fenden%20Verbreitung%20der%20Resistenz%20bei.)
- Philipp, M., Masmoudi Jabri, K., Wellmann, J., Akrouf, H., Bousselmi, L., Geißen, S.-U., 2021. Slaughterhouse Wastewater Treatment: A Review on Recycling and Reuse Possibilities. Water 13, 3175. <https://doi.org/10.3390/w13223175>
- Pitout, J.D., Laupland, K.B., 2008. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: an emerging public-health concern. The Lancet Infectious Diseases 8, S. 159–166. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(08\)70041-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(08)70041-0)
- Podschun, R., Ullmann, U., 1998. *Klebsiella* spp. as Nosocomial Pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing Methods, and Pathogenicity Factors. Clin Microbiol Rev 11, S. 589–603. <https://doi.org/10.1128/CMR.11.4.589>
- Poirel, L., 2002. Biochemical analysis of the ceftazidime-hydrolysing extended-spectrum-beta-lactamase CTX-M-15 and of its structurally related beta-lactamase CTX-M-3. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 50, S. 1031–1034. <https://doi.org/10.1093/jac/dkf240>
- Poole, T., Sheffield, C., 2013. Use and Misuse of Antimicrobial Drugs in Poultry and Livestock: Mechanisms of Antimicrobial Resistance. Pakistan Veterinary Journal 33, S. 266–271. <https://pubag.nal.usda.gov/download/58191/pdf>
- Poulsen, L.K., Lan, F., Kristensen, C.S., Hobolth, P., Molin, S., Krogfelt, K.A., 1994. Spatial distribution of *Escherichia coli* in the mouse large intestine inferred from rRNA in situ hybridization. Infect Immun 62, S. 5191–5194. <https://doi.org/10.1128/iai.62.11.5191-5194.1994>
- Prescott, J.F., 2014. The resistance tsunami, antimicrobial stewardship, and the golden age of microbiology. Veterinary Microbiology 171, S. 273–278. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.02.035>
- Räisänen, K., Koivula, I., Ilmavirta, H., Puranen, S., Kallonen, T., Lyytikäinen, O., Jalava, J., 2019. Emergence of ceftazidime-avibactam-resistant *Klebsiella pneumoniae* during treatment, Finland, December 2018. Eurosurveillance 24. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.19.1900256>



- Ramos, S., Silva, V., Dapkevicius, M.D.L.E., Caniça, M., Tejedor-Junco, M.T., Igrejas, G., Poeta, P., 2020. *Escherichia coli* as Commensal and Pathogenic Bacteria among Food-Producing Animals: Health Implications of Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase (ESBL) Production. *Animals* 10, 2239. <https://doi.org/10.3390/ani10122239>
- Randall, L.P., Clouting, C., Horton, R.A., Coldham, N.G., Wu, G., Clifton-Hadley, F.A., Davies, R.H., Teale, C.J., 2011. Prevalence of *Escherichia coli* carrying extended-spectrum -lactamases (CTX-M and TEM-52) from broiler chickens and turkeys in Great Britain between 2006 and 2009. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 66, S. 86–95. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq396>
- Reid, C.J., Cummins, M.L., Börjesson, S., Brouwer, M.S.M., Hasman, H., Hammerum, A.M., Roer, L., Hess, S., Berendonk, T., Nešporová, K., Haenni, M., Madec, J.-Y., Bethe, A., Michael, G.B., Schink, A.-K., Schwarz, S., Dolejska, M., Djordjevic, S.P., 2022. A role for ColV plasmids in the evolution of pathogenic *Escherichia coli* ST58. *Nat Commun* 13, 683. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28342-4>
- Rice, R.G., 1996. Applications of ozone for industrial wastewater treatment — A review. *Ozone: Science & Engineering* 18, S. 477–515. <https://doi.org/10.1080/01919512.1997.10382859>
- Riley, L.W., 2020. Distinguishing Pathovars from Nonpathovars: *Escherichia coli*. *Microbiol Spectr* 8, 8.4.1. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.AME-0014-2020>
- Riquelme Breazeal, M.V., Novak, J.T., Vikesland, P.J., Pruden, A., 2013. Effect of wastewater colloids on membrane removal of antibiotic resistance genes. *Water Research* 47, A. 130–140. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.09.044>
- Rodloff, A., Bauer, T., Ewig, S., Kujath, P., Müller, E., 2008. Susceptible, Intermediate, and Resistant – The Intensity of Antibiotic Action. *Deutsches Ärzteblatt international*. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2008.0657>
- Roer, L., Overballe-Petersen, S., Hansen, F., Schønning, K., Wang, M., Røder, B.L., Hansen, D.S., Justesen, U.S., Andersen, L.P., Fulgsang-Damgaard, D., Hopkins, K.L., Woodford, N., Falgenhauer, L., Chakraborty, T., Samuelsen, Ø., Sjöström, K., Johannesen, T.B., Ng, K., Nielsen, J., Ethelberg, S., Stegger, M., Hammerum, A.M., Hasman, H., 2018. *Escherichia coli* Sequence Type 410 Is Causing New International High-Risk Clones. *mSphere* 3, e00337-18. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00337-18>
- Ronco, T., Stegger, M., Olsen, R.H., Sekse, C., Nordstoga, A.B., Pohjanvirta, T., Lilje, B., Lyhs, U., Andersen, P.S., Pedersen, K., 2017. Spread of avian pathogenic *Escherichia coli* ST117 O78:H4 in Nordic broiler production. *BMC Genomics* 18, 13. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-3415-6>
- Rousham, E.K., Unicomb, L., Islam, M.A., 2018. Human, animal and environmental contributors to antibiotic resistance in low-resource settings: integrating behavioural, epidemiological and One Health approaches. *Proc. R. Soc. B.* 285, 20180332. <https://doi.org/10.1098/rspb.2018.0332>
- Russell, A.D., 2004. Types of Antibiotics and Synthetic Antimicrobial Agents, in: Denyer, S.P., Hodges, N.A., Gorman, S.P. (Eds.), *Hugo and Russell's Pharmaceutical Microbiology*. Blackwell Science Ltd, Oxford, UK, S. 152–186. <https://doi.org/10.1002/9780470988329.ch10>

- Salminen, E., 2002. Finnish Expert Report on Best Available Techniques in Slaughterhouses and Installations for the Disposal or Recycling of Animal Carcasses and Animal Waste. The Finnish Environment. <https://helda.helsinki.fi/server/api/core/bitstreams/ffbe4778-9d58-4292-a271-b4343f853afa/content>
- Sarowska, J., Olszak, T., Jama-Kmieciak, A., Frej-Madrzak, M., Futoma-Koloch, B., Gawel, A., Drulis-Kawa, Z., Choroszy-Krol, I., 2022. Comparative Characteristics and Pathogenic Potential of *Escherichia coli* Isolates Originating from Poultry Farms, Retail Meat, and Human Urinary Tract Infection. *Life* 12, 845. <https://doi.org/10.3390/life12060845>
- Savin, M., Alexander, J., Bierbaum, G., Hammerl, J.A., Hembach, N., Schwartz, T., Schmithausen, R.M., Sib, E., Voigt, A., Kreyenschmidt, J., 2021a. Antibiotic-resistant bacteria, antibiotic resistance genes, and antibiotic residues in wastewater from a poultry slaughterhouse after conventional and advanced treatments. *Sci Rep* 11, 16622. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96169-y>
- Savin, M., Bierbaum, G., Blau, K., Parcina, M., Sib, E., Smalla, K., Schmithausen, R., Heinemann, C., Hammerl, J.A., Kreyenschmidt, J., 2020a. Colistin-Resistant *Enterobacteriaceae* Isolated From Process Waters and Wastewater From German Poultry and Pig Slaughterhouses. *Front. Microbiol.* 11, 575391. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.575391>
- Savin, M., Bierbaum, G., Hammerl, J.A., Heinemann, C., Parcina, M., Sib, E., Voigt, A., Kreyenschmidt, J., 2020b. ESKAPE Bacteria and Extended-Spectrum- $\beta$ -Lactamase-Producing *Escherichia coli* Isolated from Wastewater and Process Water from German Poultry Slaughterhouses. *Appl Environ Microbiol* 86, e02748-19. <https://doi.org/10.1128/AEM.02748-19>
- Savin, M., Bierbaum, G., Hammerl, J.A., Heinemann, C., Parcina, M., Sib, E., Voigt, A., Kreyenschmidt, J., 2020c. Antibiotic-resistant bacteria and antimicrobial residues in wastewater and process water from German pig slaughterhouses and their receiving municipal wastewater treatment plants. *Science of The Total Environment* 727, 138788. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138788>
- Savin, M., Bierbaum, G., Kreyenschmidt, J., Schmithausen, R., Sib, E., Schmoeger, S., Käsbohrer, A., Hammerl, J., 2021b. Clinically Relevant *Escherichia coli* Isolates from Process Waters and Wastewater of Poultry and Pig Slaughterhouses in Germany. *Microorganisms* 9, 698. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040698>
- Schaekel, F., May, T., Seiler, J., Hartmann, M., Kreienbrock, L., 2017. Antibiotic drug usage in pigs in Germany—Are the class profiles changing? *PLoS ONE* 12, e0182661. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182661>
- Schaufler, K., Semmler, T., Wieler, L.H., Wöhrmann, M., Baddam, R., Ahmed, N., Müller, K., Kola, A., Fruth, A., Ewers, C., Guenther, S., 2016. Clonal spread and interspecies transmission of clinically relevant ESBL-producing *Escherichia coli* of ST410—another successful pandemic clone? *FEMS Microbiology Ecology* 92, fiv155. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiv155>
- Schierack, P., Walk, N., Reiter, K., Weyrauch, K.D., Wieler, L.H., 2007. Composition of intestinal *Enterobacteriaceae* populations of healthy domestic pigs. *Microbiology* 153, S. 3830–3837. <https://doi.org/10.1099/mic.0.2007/010173-0>

- Schmidt, O., 2017. Horizontaler Gentransfer bei Bakterien, in: Genetik und Molekularbiologie. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, S. 175–186. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-50274-7\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-662-50274-7_10)
- Schulz-Stübner, S., 2023. Prävention der Resistenzentwicklung in Krankenhaus, Arztpraxis und Veterinärmedizin, in: Multiresistente Erreger. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, S. 33–70. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-65708-9\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-662-65708-9_2)
- Schwermer, C.U., Krzeminski, P., Wennberg, A.C., Vogelsang, C., Uhl, W., 2018. Removal of antibiotic resistant *E. coli* in two Norwegian wastewater treatment plants and by nano- and ultra-filtration processes. *Water Science and Technology* 77, S. 1115–1126. <https://doi.org/10.2166/wst.2017.642>
- Selbitz, H.-J., Truyen, U., Valentin-Weigand, P. (Eds.), 2011. Resistenzmechanismen und -entstehung, in: Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, b-002-5219. <https://doi.org/10.1055/b-002-5219>
- Seoane, J., Yankelevich, T., Dechesne, A., Merkey, B., Sternberg, C., Smets, B.F., 2011. An individual-based approach to explain plasmid invasion in bacterial populations: Plasmid invasion in bacterial populations. *FEMS Microbiology Ecology* 75, S. 17–27. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.00994.x>
- Shafiq, M., Huang, J., Ur Rahman, S., Shah, J.M., Chen, L., Gao, Y., Wang, M., Wang, L., 2019. High incidence of multidrug-resistant *Escherichia coli* coharboring *mcr-1* and <https://doi.org/10.2147/IDR.S209473>
- Shaikh, S., Fatima, J., Shakil, S., Rizvi, S.Mohd.D., Kamal, M.A., 2015. Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences* 22, S. 90–101. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.08.002>
- Shon, A.S., Bajwa, R.P.S., Russo, T.A., 2013. Hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*: A new and dangerous breed. *Virulence* 4, S. 107–118. <https://doi.org/10.4161/viru.22718>
- Silva, F., Queiroz, J.A., Domingues, F.C., 2012. Evaluating metabolic stress and plasmid stability in plasmid DNA production by *Escherichia coli*. *Biotechnology Advances* 30, S. 691–708. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.12.005>
- Silva, N., Carvalho, I., Currie, C., Sousa, M., Igrejas, G., Poeta, P., 2019. Extended-Spectrum- $\beta$ -Lactamase and Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae in Food-Producing Animals in Europe: An Impact on Public Health?, in: Capelo-Martínez, J., Igrejas, G., Antibiotic Drug Resistance. Wiley, S. 261–273. <https://doi.org/10.1002/9781119282549.ch12>
- Soliman, A.M., Ramadan, H., Zarad, H., Sugawara, Y., Yu, L., Sugai, M., Shimamoto, T., Hiott, L.M., Frye, J.G., Jackson, C.R., Shimamoto, T., 2021. Coproduction of Tet(X7) Conferring High-Level Tigecycline Resistance, Fosfomycin FosA4, and Colistin Mcr-1.1 in *Escherichia coli* Strains from Chickens in Egypt. *Antimicrob Agents Chemother* 65, e02084-20. <https://doi.org/10.1128/AAC.02084-20>

- Statistisches Bundesamt, 2023. Fleischproduktion im Jahr 2022 um 8,1 % gesunken (Pressemitteilung No. Nr. 051). [https://www.destatis.de/DE/Presse/Pressemitteilunggen/2023/02/PD23\\_051\\_413.html#:~:text=Schweinefleisch%3A%20Schlachtmenge%20um%209%2C8,oder%204%2C8%20Millionen%20zurueck.](https://www.destatis.de/DE/Presse/Pressemitteilunggen/2023/02/PD23_051_413.html#:~:text=Schweinefleisch%3A%20Schlachtmenge%20um%209%2C8,oder%204%2C8%20Millionen%20zurueck.)
- Statistisches Bundesamt, 2022. Schweinebestand seit 2020 um 18,2 % gesunken (Pressemitteilung No. 557). [https://www.destatis.de/DE/Presse/Pressemitteilunggen/2022/12/PD22\\_557\\_413.html](https://www.destatis.de/DE/Presse/Pressemitteilunggen/2022/12/PD22_557_413.html)
- Székely, E., Damjanova, I., Jánvári, L., Vas, K.E., Molnár, S., Bilca, D.V., Lőrinczi, L.K., Tóth, Á., 2013. First description of bla<sub>NDM-1</sub>, bla<sub>OXA-48</sub>, bla<sub>OXA-181</sub> producing *Enterobacteriaceae* strains in Romania. *International Journal of Medical Microbiology* 303, S. 697–700. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2013.10.001>
- Taconelli, E., Magrini, N., 2017. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery and development of new antibiotics. <http://remed.org/wp-content/uploads/2017/03/global-priority-list-of-antibiotic-resistant-bacteria-2017.pdf>
- Tello, M., Ocejó, M., Oporto, B., Lavín, J.L., Hurtado, A., 2022. Within-farm dynamics of ESBL-producing *Escherichia coli* in dairy cattle: Resistance profiles and molecular characterization by long-read whole-genome sequencing. *Front. Microbiol.* 13, 936843. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.936843>
- Tenaillon, O., Skurnik, D., Picard, B., Denamur, E., 2010. The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* 8, S. 207–217. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2298>
- Tiseo, K., Huber, L., Gilbert, M., Robinson, T.P., Van Boeckel, T.P., 2020. Global Trends in Antimicrobial Use in Food Animals from 2017 to 2030. *Antibiotics* 9, 918. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9120918>
- Tooke, C.L., Hinchliffe, P., Bragginton, E.C., Colenso, C.K., Hirvonen, V.H.A., Takebayashi, Y., Spencer, J., 2019.  $\beta$ -Lactamases and  $\beta$ -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. *Journal of Molecular Biology* 431, S. 3472–3500. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.04.002>
- Umweltbundesamt, 2012. Bekanntmachung der Liste der Aufbereitungsstoffe und Desinfektionsverfahren gemäß § 11 der Trinkwasserverordnung – 17. Änderung –. [https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/481/dokumente/17\\_aenderung\\_aufbereitungsstoffe\\_desinfektionsverfahren\\_11\\_trinkwv\\_11\\_2012.pdf](https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/481/dokumente/17_aenderung_aufbereitungsstoffe_desinfektionsverfahren_11_trinkwv_11_2012.pdf)
- UNEP, 2022. UNEP joins alliance to implement One Health approach. <https://www.unep.org/news-and-stories/press-release/unep-joins-alliance-implement-one-health-approach>
- US Water Alliance, 2017. A Guidebook for Developing and Implementing Regulations for Onsite Non-potable Water Systems. <https://uswateralliance.org/sites/uswateralliance.org/files/NBRC%20GUIDEBOOK%20FOR%20DEVELOPING%20ONWS%20REGULATIONS.pdf>
- Valiakos, G., Kapna, I., 2021. Colistin Resistant mcr Genes Prevalence in Livestock Animals (Swine, Bovine, Poultry) from a Multinational Perspective. A Systematic Review. *Veterinary Sciences* 8, 265. <https://doi.org/10.3390/vetsci8110265>

- van Boeckel, T.P., Glennon, E.E., Chen, D., Gilbert, M., Robinson, T.P., Grenfell, B.T., Levin, S.A., Bonhoeffer, S., Laxminarayan, R., 2017. Reducing antimicrobial use in food animals. *Science* 357, S. 1350–1352. <https://doi.org/10.1126/science.aao1495>
- Van Rennings, L., Von Münchhausen, C., Otilie, H., Hartmann, M., Merle, R., Honscha, W., Käsböhrer, A., Kreienbrock, L., 2015. Cross-Sectional Study on Antibiotic Usage in Pigs in Germany. *PLoS ONE* 10, e0119114. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119114>
- Vannuffel, P., Cocito, C., 1996. Mechanism of Action of Streptogramins and Macrolides: *Drugs* 51, S. 20–30. <https://doi.org/10.2165/00003495-199600511-00006>
- Von Salviati, C., Laube, H., Guerra, B., Roesler, U., Friese, A., 2015. Emission of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* from pig fattening farms to surrounding areas. *Veterinary Microbiology* 175, 77–84. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.10.010>
- Von Sonntag, C., Von Gunten, U., 2012. *Chemistry of Ozone in Water and Wastewater Treatment: From Basic Principles to Applications*. IWA Publishing. <https://doi.org/10.2166/9781780400839>
- Wang, G., Zhao, G., Chao, X., Xie, L., Wang, H., 2020. The Characteristic of Virulence, Biofilm and Antibiotic Resistance of *Klebsiella pneumoniae*. *IJERPH* 17, 6278. <https://doi.org/10.3390/ijerph17176278>
- Wareth, G., Neubauer, H., 2021. The Animal-foods-environment interface of *Klebsiella pneumoniae* in Germany: an observational study on pathogenicity, resistance development and the current situation. *Vet Res* 52, 16. <https://doi.org/10.1186/s13567-020-00875-w>
- Weiler, S., Corti, N., 2014. Antibiotikatherapie: Wirkung und Resistenz. *Med Klin Intensivmed Notfmed* 109, S. 167–174. <https://doi.org/10.1007/s00063-013-0307-2>
- WHO, 2022a. One Health. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/one-health>
- WHO, 2022b. One Health Joint Plan of Action. [https://wedocs.unep.org/bitstream/handle/20.500.11822/40843/one\\_health.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://wedocs.unep.org/bitstream/handle/20.500.11822/40843/one_health.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- WHO, 2021a. Antimicrobial resistance. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
- WHO, 2021b. Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report: 2022. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240062702>
- WHO, 2021c. 2021 AWaRe classification. <https://www.who.int/publications/i/item/2021-aware-classification>
- WHO, 2018. *E. coli*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>
- WHO, 2011. *Tackling antibiotic resistance from a food safety perspective in Europe*. World Health Organization, Copenhagen. ISBN 978-92-890-1421-2 978-92-890-1422-9

- Wieler, L.H., 2020. One Health, in: Suerbaum, S., Burchard, G.-D., Kaufmann, S.H.E., Schulz, T.F. (Eds.), *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, S. 45–49. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-61385-6\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-662-61385-6_5)
- Witte, W., Mielke, M., 2003.  $\beta$ -Laktamasen mit breitem Wirkungsspektrum. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz* 46, S. 881–890. <https://doi.org/10.1007/s00103-003-0693-3>
- Woolhouse, M.E.J., Ward, M.J., 2013. Sources of Antimicrobial Resistance. *Science* 341, S. 1460–1461. <https://doi.org/10.1126/science.1243444>
- Wyres, K.L., Holt, K.E., 2018. *Klebsiella pneumoniae* as a key trafficker of drug resistance genes from environmental to clinically important bacteria. *Current Opinion in Microbiology* 45, S. 131–139. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2018.04.004>
- Wyres, K.L., Lam, M.M.C., Holt, K.E., 2020. Population genomics of *Klebsiella pneumoniae*. *Nat Rev Microbiol* 18, S. 344–359. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0315-1>
- Wyrsh, E., Chowdhury, P.R., Abraham, S., Santos, J., Darling, A.E., Charles, I.G., Chapman, T.A., Djordjevic, S.P., 2015. Comparative genomic analysis of a multiple antimicrobial resistant enterotoxigenic *E. coli* O157 lineage from Australian pigs. *BMC Genomics* 16, 165. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1382-y>
- Xu, L., Zhai, Y., Lyu, Y., Wang, Q., An, S., Chen, J., Chen, Y., 2014. Identification of *Klebsiella pneumoniae* strains harboring inactive extended-spectrum beta-lactamase antibiotic-resistance genes. *Chinese Medical Journal* 127, S. 3051–3057. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0366-6999.20140628>
- Yoneyama, H., Katsumata, R., 2006. Antibiotic Resistance in Bacteria and Its Future for Novel Antibiotic Development. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 70, S. 1060–1075. <https://doi.org/10.1271/bbb.70.1060>
- Yuan, Q.-B., Guo, M.-T., Yang, J., 2015. Fate of Antibiotic Resistant Bacteria and Genes during Wastewater Chlorination: Implication for Antibiotic Resistance Control. *PLoS ONE* 10, e0119403. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119403>
- Zhang, Y., Liao, K., Gao, H., Wang, Q., Wang, X., Li, H., Wang, R., Wang, H., 2017. Decreased Fitness and Virulence in ST10 *Escherichia coli* Harboring blaNDM-5 and mcr-1 against a ST4981 Strain with blaNDM-5. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 7, 242. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00242>
- Zhang, Y., Zhuang, Y., Geng, J., Ren, H., Zhang, Y., Ding, L., Xu, K., 2015. Inactivation of antibiotic resistance genes in municipal wastewater effluent by chlorination and sequential UV/chlorination disinfection. *Science of The Total Environment* 512–513, S. 125–132. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.01.028>
- Zhuang, Y., Ren, H., Geng, J., Zhang, Y., Zhang, Y., Ding, L., Xu, K., 2015. Inactivation of antibiotic resistance genes in municipal wastewater by chlorination, ultraviolet, and ozonation disinfection. *Environ Sci Pollut Res* 22, S. 7037–7044. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3919-z>

Ziesing, S., Fille, M., 2020. Resistenz, in: Suerbaum, S., Burchard, G.-D., Kaufmann, S.H.E., Schulz, T.F., Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, S. 939–942. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-61385-6\\_92](https://doi.org/10.1007/978-3-662-61385-6_92)

Zinsstag, J., Meisser, A., Schelling, E., Bonfoh, B., Tanner, M., 2012. From ‘two medicines’ to ‘One Health’ and beyond. *Onderstepoort J Vet Res* 79, <https://doi.org/10.4102/ojvr.v79i2.492>

## Anhang

**Tabelle 5: Auswertung der bakteriologischen Untersuchung unterteilt nach Schlachthöfen, Probennahmetagen und verwendeten Selektivnährböden**

Ort des Schlachthofs	Zeitpunkt der Probennahme	Genutzte Selektivnährböden		
		ESBL	COL	CARBA
Großenkneten (Geflügel) (HG)	24.01.2022	-	-	-
	25.01.2022	+	-	-
	26.01.2022	+	-	-
	07.02.2022	-	-	-
	08.02.2022	-	-	-
	09.02.2022	-	-	-
Wildeshausen (Geflügel) (GPS)	24.01.2022	+	+	-
	25.01.2022	+	-	-
	26.01.2022	+	+	-
	07.02.2022	+	+	-
	08.02.2022	+	+	-
	09.02.2022	+	+	-
Garrel (Schweine) (BG)	24.01.2022	+	-	-
	25.01.2022	+	-	-
	26.01.2022	+	-	-
	07.02.2022	+	-	-
	08.02.2022	+	-	-
	09.02.2022	+	-	-
Schöppingen (Schweine) (HT)	24.01.2022	+	-	-
	25.01.2022	+	-	-
	26.01.2022	+	+	-
	07.02.2022	+	-	-
	08.02.2022	+	-	-
	09.02.2022	+	+	-



**Tabelle 6: Isolierte Bakterien mit Labornummer, ursprünglichem Selektivnährboden, Schlachthof und Datum der Probennahme**

<b>Nummer des Isolats</b>	<b>Selektivnährboden</b>	<b>Bakterium</b>	<b>Schlachthof</b>	<b>Datum der Probennahme</b>
2910	ESBL	<i>E. coli</i>	HT (S)	24.01.2022
2911	ESBL	<i>E. coli</i>	HT (S)	24.01.2022
2912	ESBL	<i>E. coli</i>	HT (S)	24.01.2022
2913	ESBL	<i>E. coli</i>	HT (S)	24.01.2022
2914	ESBL	<i>E. coli</i>	BG (S)	24.01.2022
2915	ESBL	<i>E. coli</i>	BG (S)	24.01.2022
2916	ESBL	<i>E. coli</i>	GPS (G)	24.01.2022
2917	ESBL	<i>E. coli</i>	GPS (G)	24.01.2022
2919	COL	<i>K. pneumoniae</i>	GPS (G)	24.01.2022
2920	ESBL	<i>E. coli</i>	BG (S)	24.01.2022
2921	ESBL	<i>E. coli</i>	BG (S)	24.01.2022
2938	ESBL	<i>E. coli</i>	BG (S)	25.01.2022
2939	ESBL	<i>E. coli</i>	BG (S)	25.01.2022
2940	ESBL	<i>E. coli</i>	BG (S)	25.01.2022
2941	ESBL	<i>E. coli</i>	BG (S)	25.01.2022
2942	ESBL	<i>E. coli</i>	GPS (G)	25.01.2022
2943	ESBL	<i>E. coli</i>	GPS (G)	25.01.2022
2944	ESBL	<i>E. coli</i>	GPS (G)	25.01.2022
2945	ESBL	<i>E. coli</i>	GPS (G)	25.01.2022
2946	ESBL	<i>E. coli</i>	HG (G)	25.01.2022
2947	ESBL	<i>E. coli</i>	HG (G)	25.01.2022
2948	ESBL	<i>E. coli</i>	HG (G)	25.01.2022
2949	ESBL	<i>E. coli</i>	HG (G)	25.01.2022
2950	ESBL	<i>E. coli</i>	HT (S)	25.01.2022
2951	ESBL	<i>E. coli</i>	HT (S)	25.01.2022
2952	ESBL	<i>E. coli</i>	HT (S)	25.01.2022
2953	ESBL	<i>E. coli</i>	HT (S)	25.01.2022
2979	ESBL	<i>E. coli</i>	GPS (G)	26.01.2022
2980	ESBL	<i>E. coli</i>	GPS (G)	26.01.2022

2981	ESBL	<i>E. coli</i>	HG (G)	26.01.2022
2982	ESBL	<i>E. coli</i>	HG (G)	26.01.2022
2983	ESBL	<i>E. coli</i>	GPS (G)	26.01.2022
2984	ESBL	<i>E. coli</i>	GPS (G)	26.01.2022
2985	ESBL	<i>E. coli</i>	BG (S)	26.01.2022
2986	ESBL	<i>E. coli</i>	BG (S)	26.01.2022
2987	ESBL	<i>E. coli</i>	BG (S)	26.01.2022
2988	ESBL	<i>E. coli</i>	BG (S)	26.01.2022
2989	ESBL	<i>E. coli</i>	HT (S)	26.01.2022
2990	ESBL	<i>E. coli</i>	HT (S)	26.01.2022
2991	ESBL	<i>E. coli</i>	HT (S)	26.01.2022
2992	ESBL	<i>E. coli</i>	HT (S)	26.01.2022
2993	ESBL	<i>E. coli</i>	HG (G)	26.01.2022
2994	ESBL	<i>E. coli</i>	HG (G)	26.01.2022
2996	COL	<i>K. pneumoniae</i>	GPS (G)	24.01.2022
3028	ESBL	<i>K. pneumoniae</i>	BG (S)	25.01.2022
3029	ESBL	<i>K. pneumoniae</i>	HG (G)	26.01.2022
3030	ESBL	<i>K. pneumoniae</i>	HG (G)	26.01.2022
3031	ESBL	<i>K. pneumoniae</i>	HG (G)	26.01.2022
3032	ESBL	<i>K. pneumoniae</i>	HG (G)	26.01.2022
3033	COL	<i>E. coli</i>	GPS (G)	26.01.2022
3034	ESBL	<i>K. pneumoniae</i>	HT (S)	26.01.2022
3035	ESBL	<i>K. pneumoniae</i>	HT (S)	26.01.2022
3036	ESBL	<i>K. pneumoniae</i>	HT (S)	26.01.2022
3080	ESBL	<i>E. coli</i>	GPS (G)	07.02.2022
3081	ESBL	<i>E. coli</i>	GPS (G)	07.02.2022
3082	COL	<i>E. coli</i>	GPS (G)	07.02.2022
3083	ESBL	<i>E. coli</i>	GPS (G)	07.02.2022
3084	ESBL	<i>E. coli</i>	GPS (G)	07.02.2022
3085	COL	<i>E. coli</i>	GPS (G)	07.02.2022
3086	ESBL	<i>E. coli</i>	BG (S)	07.02.2022
3087	ESBL	<i>E. coli</i>	BG (S)	07.02.2022

3088	ESBL	<i>E. coli</i>	BG (S)	07.02.2022
3089	ESBL	<i>E. coli</i>	BG (S)	07.02.2022
3090	ESBL	<i>E. coli</i>	HT (S)	07.02.2022
3091	ESBL	<i>E. coli</i>	HT (S)	07.02.2022
3092	ESBL	<i>E. coli</i>	HT (S)	07.02.2022
3093	ESBL	<i>E. coli</i>	HT (S)	07.02.2022
3094	COL	<i>E. coli</i>	GPS (G)	08.02.2022
3095	COL	<i>E. coli</i>	GPS (G)	08.02.2022
3096	COL	<i>E. coli</i>	GPS (G)	08.02.2022
3097	ESBL	<i>E. coli</i>	GPS (G)	08.02.2022
3098	COL	<i>E. coli</i>	GPS (G)	08.02.2022
3099	COL	<i>E. coli</i>	GPS (G)	08.02.2022
3100	ESBL	<i>E. coli</i>	BG (S)	08.02.2022
3101	ESBL	<i>E. coli</i>	BG (S)	08.02.2022
3102	ESBL	<i>E. coli</i>	BG (S)	08.02.2022
3103	ESBL	<i>E. coli</i>	BG (S)	08.02.2022
3104	ESBL	<i>K. pneumoniae</i>	BG (S)	08.02.2022
3105	ESBL	<i>E. coli</i>	HT (S)	08.02.2022
3106	ESBL	<i>E. coli</i>	HT (S)	08.02.2022
3107	ESBL	<i>E. coli</i>	HT (S)	08.02.2022
3108	ESBL	<i>E. coli</i>	HT (S)	08.02.2022
3109	COL	<i>E. coli</i>	GPS (G)	09.02.2022
3110	ESBL	<i>E. coli</i>	GPS (G)	09.02.2022
3111	COL	<i>E. coli</i>	GPS (G)	09.02.2022
3112	ESBL	<i>E. coli</i>	GPS (G)	09.02.2022
3113	COL	<i>E. coli</i>	GPS (G)	09.02.2022
3114	COL	<i>E. coli</i>	GPS (G)	09.02.2022
3115	ESBL	<i>E. coli</i>	BG (S)	09.02.2022
3116	ESBL	<i>E. coli</i>	BG (S)	09.02.2022
3117	ESBL	<i>E. coli</i>	BG (S)	09.02.2022
3118	ESBL	<i>E. coli</i>	BG (S)	09.02.2022
3119	ESBL	<i>E. coli</i>	HT (S)	09.02.2022

3120	ESBL	<i>E. coli</i>	HT (S)	09.02.2022
3121	COL	<i>E. coli</i>	HT (S)	09.02.2022
3122	COL	<i>E. coli</i>	HT (S)	09.02.2022
3123	ESBL	<i>E. coli</i>	HT (S)	09.02.2022
3124	ESBL	<i>E. coli</i>	HT (S)	09.02.2022

Tabelle 7: Ergebnisse der Resistenzbestimmung sortiert nach Schlachthof, Tag der Beprobung und Art des Bakteriums

Proben-Nr.	Probestag	Schlachthof	Bakterium	ESBL	MDR	3MRGN	Amoxicillin	Ampicillin	Amoxicillin/ Clavulansäure	Piperacillin/ Tazobactam	Cefalexin	Cefotaxim	Ceftazidim	Ceftozolan/ Tazobactam	Cefepim	Aztreonam	Imipenem	Meropenem	Amikacin	Gentamicin	Tobramycin	Ciprofloxacin	Tigecyclin	Fosfomycin	Colistin	Trimethoprim/ Sulfamethoxazol	
2946	2	HG (G)	<i>E. coli</i>	+	-	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S
2947	2	HG (G)	<i>E. coli</i>	+	-	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S
2948	2	HG (G)	<i>E. coli</i>	+	-	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S
2949	2	HG (G)	<i>E. coli</i>	+	-	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S
2981	3	HG (G)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R
2982	3	HG (G)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R
2993	3	HG (G)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R
2994	3	HG (G)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R
3029	3	HG (G)	<i>Kleb.</i>	+	+	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	I		S	S	R
3030	3	HG (G)	<i>Kleb.</i>	+	+	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	I		R	S	R
3031	3	HG (G)	<i>Kleb.</i>	+	+	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	I		S	S	R
3032	3	HG (G)	<i>Kleb.</i>	+	+	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	I		S	S	R
2916	1	GPS (G)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R
2917	1	GPS (G)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R
2919	1	GPS (G)	<i>Kleb.</i>	+	+	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	I		S	R	R
2996	1	GPS (G)	<i>Kleb.</i>	+	+	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	I		S	R	R
2942	2	GPS (G)	<i>E. coli</i>	+	-	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2943	2	GPS (G)	<i>E. coli</i>	+	-	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2944	2	GPS (G)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R
2945	2	GPS (G)	<i>E. coli</i>	+	-	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2979	3	GPS (G)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R
2980	3	GPS (G)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R
2983	3	GPS (G)	<i>E. coli</i>	+	-	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2984	3	GPS (G)	<i>E. coli</i>	+	-	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
3033	3	GPS (G)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S	R	R	R
3080	4	GPS (G)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R
3081	4	GPS (G)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R
3082	4	GPS (G)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R
3083	4	GPS (G)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	R
3084	4	GPS (G)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	R

3085	4	GPS (G)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S
3094	5	GPS (G)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R
3095	5	GPS (G)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R
3096	5	GPS (G)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R
3097	5	GPS (G)	<i>E. coli</i>	+	-	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
3098	5	GPS (G)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R
3099	5	GPS (G)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R
3109	6	GPS (G)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R
3110	6	GPS (G)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R
3111	6	GPS (G)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R
3112	6	GPS (G)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R
3113	6	GPS (G)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R
3114	6	GPS (G)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R
2914	1	BG (S)	<i>E. coli</i>	+	+	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
2915	1	BG (S)	<i>E. coli</i>	+	-	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2920	1	BG (S)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R
2921	1	BG (S)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
2938	2	BG (S)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
2939	2	BG (S)	<i>E. coli</i>	+	+	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
2940	2	BG (S)	<i>E. coli</i>	+	+	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
2941	2	BG (S)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
3028	2	BG (S)	<i>Kleb.</i>	+	+	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	I		R	S	S
2985	3	BG (S)	<i>E. coli</i>	+	-	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2986	3	BG (S)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
2987	3	BG (S)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
2988	3	BG (S)	<i>E. coli</i>	+	-	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
3086	4	BG (S)	<i>E. coli</i>	+	-	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S
3087	4	BG (S)	<i>E. coli</i>	+	-	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S
3088	4	BG (S)	<i>E. coli</i>	+	-	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
3089	4	BG (S)	<i>E. coli</i>	+	-	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
3100	5	BG (S)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	R	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R
3101	5	BG (S)	<i>E. coli</i>	+	+	-	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
3102	5	BG (S)	<i>E. coli</i>	+	+	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
3103	5	BG (S)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R
3104	5	BG (S)	<i>Kleb.</i>	+	+	+				S		R	R	S	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S	R	

3115	6	BG (S)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	R	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R
3116	6	BG (S)	<i>E. coli</i>	+	+	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
3117	6	BG (S)	<i>E. coli</i>	+	+	-				S		R	R	S	I	R	S	S	S	S	R	I	S	S	S	R	
3118	6	BG (S)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	
2910	1	HT (S)	<i>E. coli</i>	+	+	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	
2911	1	HT (S)	<i>E. coli</i>	+	-	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
2912	1	HT (S)	<i>E. coli</i>	+	+	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	
2913	1	HT (S)	<i>E. coli</i>	+	-	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
2950	2	HT (S)	<i>E. coli</i>	+	+	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	
2951	2	HT (S)	<i>E. coli</i>	+	+	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	
2952	2	HT (S)	<i>E. coli</i>	+	+	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	
2953	2	HT (S)	<i>E. coli</i>	+	-	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
2989	3	HT (S)	<i>E. coli</i>	+	-	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
2990	3	HT (S)	<i>E. coli</i>	+	+	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	
2991	3	HT (S)	<i>E. coli</i>	+	+	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R	
2992	3	HT (S)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	
3034	3	HT (S)	<i>Kleb.</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R		S	S	R	
3035	3	HT (S)	<i>Kleb.</i>	+	+	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	I		S	S	R	
3036	3	HT (S)	<i>Kleb.</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R		S	S	R	
3090	4	HT (S)	<i>E. coli</i>	+	+	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	
3091	4	HT (S)	<i>E. coli</i>	+	+	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	
3092	4	HT (S)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R	
3093	4	HT (S)	<i>E. coli</i>	+	+	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	
3105	5	HT (S)	<i>E. coli</i>	+	-	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
3106	5	HT (S)	<i>E. coli</i>	+	-	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	
3107	5	HT (S)	<i>E. coli</i>	+	+	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	
3108	5	HT (S)	<i>E. coli</i>	+	+	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	
3119	6	HT (S)	<i>E. coli</i>	+	+	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	
3120	6	HT (S)	<i>E. coli</i>	+	+	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	
3121	6	HT (S)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	
3122	6	HT (S)	<i>E. coli</i>	+	+	+	R	R	R	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	
3123	6	HT (S)	<i>E. coli</i>	+	+	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	
3124	6	HT (S)	<i>E. coli</i>	+	+	-	R	R	R	I	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	

**Tabelle 8: Übersicht der vertretenen Sequenztypen bei E. coli-Isolaten des Schlachthofs HG (G)**

Isolat	Sequenztyp	
	ST1276	ST4981
2946	X	
2947	X	
2948	X	
2949	X	
2981		X
2982		X
2993		X
2994		X

**Tabelle 9: Übersicht der vertretenen Sequenztypen bei E. coli-Isolaten des Schlachthofs GPS (G)**

Isolat	Sequenztyp									
	ST6448	ST4981	ST1011	ST5451	ST410	ST533	ST744	ST2320	ST10	/
2916		X								
2917		X								
2942										X
2943										X
2944		X								
2945			X							
2979		X								
2980		X								
2983										X
2984										X
3033				X						
3080					X					
3081						X				
3082		X								
3083							X			
3084							X			
3085		X								
3094					X					
3095					X					
3096					X					
3097								X		
3098					X					
3099					X					
3109					X					
3110									X	
3111					X					
3112									X	
3113					X					
3114					X					



**Tabelle 10: Übersicht der vertretenen Sequenztypen bei E. coli-Isolaten des Schlachthofs BG (S)**

Isolat	Sequenztyp									
	ST117	ST540	ST58	ST453	ST4981	ST131	ST88	ST75	ST10	ST410
2914	X									
2915		X								
2920			X							
2921				X						
2938					X					
2939						X				
2940							X			
2941				X						
2985								X		
2986					X					
2987					X					
2988								X		
3086			X							
3087			X							
3088			X							
3089							X			
3100							X			
3101								X		
3102			X							
3103									X	
3115								X		
3116						X				
3117							X			
3118										X

Tabelle 11: Übersicht der vertretenen Sequenztypen bei E. coli-Isolaten des Schlachthofs HT (S)

Isolat	Sequenztyp																	
	ST58	ST1665	ST871	ST1607	ST10	ST75	ST1131	ST348	ST297	ST23	ST1139	ST410	ST101	ST641	ST117	ST4519	ST7488	
2910	X																	
2911		X																
2912			X															
2913				X														
2950	X																	
2951					X													
2952	X																	
2953					X													
2989							X											
2990								X										
2991					X													
2992									X									
3090										X								
3091											X							
3092												X						
3093									X									
3105													X					
3106													X					
3107														X				
3108															X			
3119																X		
3120										X								
3121												X						
3122												X						
3123																X		
3124																		X

**Tabelle 12: Übersicht der vertretenen Sequenztypen bei K. pneumoniae-Isolaten aller Schlachthöfe**

Isolat	Sequenztyp			
	ST1774	ST248	ST39	ST896
2919 GPS (G)	X			
2996 GPS (G)	X			
3028 BG (S)		X		
3029 HG (G)			X	
3030 HG (G)			X	
3031 HG (G)			X	
3032 HG (G)			X	
3034 HT (S)			X	
3035 HT (S)			X	
3036 HT (S)			X	
3104 BG (S)				X

**Tabelle 13: Geno- und phänotypische Charakterisierung der K. pneumoniae-Isolate**

Antibiotika-Klassen/Gen-assoziierte Funktion	Gen/Phänotyp	2919 GPS (G)	2996 GPS (G)	3029 HG (G)	3030 HG (G)	3031 HG (G)	3032 HG (G)	3034 HT (S)	3035 HT (S)	3036 HT (S)	3028 BG (S)	3104 BG (S)
Aminoglykoside	aadA2_1	X	X									
	aph(6)-IId_1	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X
	aph(3'')-Ib_5	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X
	aph(3')-Ia_1			X	X	X	X	X	X	X		X
	Phänotyp	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
β-Laktam-Antibiotika	blaSHV-11_1	X	X									
	blaCTX-M-15_1	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	blaTEM-1B_1			X	X	X	X	X	X	X	X	X
	blaSHV-145_1										X	
	blaSHV-187_1			X	X	X	X	X	X	X		
	blaSHV-110_1											X
	blaOXA-1_1											X
Phänotyp	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Colistin	mcr-1.1_1	X	X									
	Phänotyp	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Phenicol-Antibiotika	catA2_1	X	X									
	Phänotyp	NT	NT									
Sulfonamide	sul1_5	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
	sul2_2	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
	sul2_3											X
	Phänotyp	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
Tetrazykline	tet(A)_6	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
	Phänotyp	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Fosfomycin	fosA_6	X	X									
	fosA_3			X	X	X	X	X	X	X	X	
	fosA6_1											X
	Phänotyp	S	S	S	R	S	S	S	S	S	R	S
Chinolone/Fluorchinolone	qnrS1_1	X	X								X	
	qnrB1_1			X	X	X	X	X	X	X		X
	OqxA_1	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	OqxB_1	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
	aac(6')-Ib-cr_1											X
	Phänotyp	I	I	I	I	I	I	R	I	R	I	R
Diaminopyrimidine	dfrA12_8	X	X									
	dfrA1_8										X	
	dfrA14_5			X	X	X	X	X	X	X		X
	dfrA7_5			X	X	X	X	X	X	X		
	Phänotyp	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
Makrolide	mph(A)_2	X	X									
	Phänotyp	NT	NT									

**Tabelle 14: Geno- und phänotypische Charakterisierung der E. coli-Isolate des Schlachthofs HG (G)**

Antibiotika-Klassen/Genasoziierte Funktion	Gen/Phänotyp	2946	2947	2948	2949	2981	2982	2993	2994
Aminoglykoside	aadA5_1					X	X	X	X
	aph(3'')-Ib_5	X	X	X	X	X	X	X	X
	aph(3')-Ia_1					X	X	X	X
	aph(6)-Id_1	X	X	X	X	X	X	X	X
	Phänotyp	S	S	S	S	S	S	S	S
β-Laktam-Antibiotika	blaCTX-M-15_1					X	X	X	X
	blaCTX-M-55_1	X	X	X	X				
	blaTEM-106_1	X	X	X	X				
	blaTEM-1B_1					X	X	X	X
	Phänotyp	R	R	R	R	R	R	R	R
Colistin									
	Phänotyp	S	S	S	S	S	S	S	S
Phenicol-Antibiotika	floR_2	X	X	X	X				
	Phänotyp	NT	NT	NT	NT				
Sulfonamide	sul2_2	X	X	X	X				
	sul2_3					X	X	X	X
	Phänotyp	S	S	S	S	R	R	R	R
Tetrazykline	tet(A)_6	X	X	X	X				
	tet(B)_2					X	X	X	X
	Phänotyp	S	S	S	S	S	S	S	S
Fosfomycin									
	Phänotyp	S	S	S	S	S	S	S	S
Chinolone/Fluorchinolone	qnrS1_1	X	X	X	X				
	Phänotyp	I	I	I	I	R	R	R	R
Diaminopyrimidine	dfrA17_1					X	X	X	X
	Phänotyp	S	S	S	S	R	R	R	R
MDR-Gen	mdf(A)_1	X	X	X	X	X	X	X	X

**Tabelle 15: Geno- und phänotypische Charakterisierung der E. coli-Isolate des Schlachthofs GPS (G)**

Antibiotika-Klassen/Genassoziierte Funktion	Gen/Phänotyp	2 9 1 6	2 9 1 7	2 9 4 2	2 9 4 3	2 9 4 4	2 9 4 5	2 9 7 9	2 9 8 0	2 9 8 3	2 9 8 4	3 0 3 3	3 0 8 0
Aminoglykoside	aadA5_1	X	X					X	X				
	aph(3'')-Ib_5	X	X					X	X			X	X
	aph(3')-Ia_1	X	X					X	X				
	aph(6)-Id_1	X	X					X	X			X	X
	aac(3)-IIa_6											X	
	ant(3'')-Ia_1												
	Phänotyp	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
β-Laktam-Antibiotika	blaCTX-M-15_1	X	X			X		X	X			X	X
	blaCTX-M-55_1						X						
	blaCTX-M-1_1												
	blaCTX-M-27_1												
	blaTEM-106_1												
	blaTEM-1B_1	X	X			X		X	X			X	
	blaTEM-141_1												
	blaSHV-12_1			X	X					X	X		
	blaOXA-1_1											X	
	Phänotyp	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Colistin	mcr-1.1_1											X	X
	Phänotyp	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
Phenicol-Antibiotika	floR_2												
	catA1_1											X	
	Phänotyp											NT	
Sulfonamide	sul1_5											X	X
	sul2_2												
	sul2_3	X	X					X	X				
	sul3_2												X
	Phänotyp	R	R	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R
Tetrazykline	tet(A)_6											X	
	tet(B)_2	X	X			X		X	X				
	Phänotyp	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Fosfomycin	fosA3_1												
	Phänotyp	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Chinolone/Fluorchinolone	qnrB1_1											X	
	qnrB19_1												
	qnrS1_1			X	X					X	X		
	aac(6'')-Ib-cr_1											X	
	Phänotyp	R	R	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R
Diaminopyrimidine	dfrA1_10												X
	dfrA14_5											X	
	dfrA17_1	X	X			X		X	X				
	Phänotyp	R	R			R	S	R	R	S	S	R	R
Makrolide	mph(A)_2												
	Phänotyp												
MDR-Gen	mdf(A)_1	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	

3081	3082	3083	3084	3085	3094	3095	3096	3097	3098	3099	3109	3110	3111	3112	3113	3114
	X	X	X													
X	X	X	X		X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X
	X	X	X													
X	X	X	X		X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X
					X	X	X		X	X	X		X		X	X
S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	X			X	X	X	X		X	X	X		X		X	X
		X	X													
								X				X		X		
X																
					X				X		X				X	X
	X											X	X	X		
		X	X													
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
	X			X	X	X	X		X	X	X		X		X	X
S	R	S	S	R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S	R	R
X																
		X	X													
NT		NT	NT													
X		X	X													
X					X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X
	X	X	X													
					X	X	X		X	X	X		X		X	X
R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
X												X				
X	X	X	X													
S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
		X	X													
S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
								X								
R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
X					X	X	X		X	X	X		X		X	X
												X		X		
	X	X	X													
R	R	R	R	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
		X	X													
		NT	NT													
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

**Tabelle 16: Geno- und phänotypische Charakterisierung der E. coli-Isolate des Schlachthofs BG (S)**

Antibiotika-Klassen/Genassoziierte Funktion	Gen/Phänotyp	2914	2915	2920	2921	2938	2939	2940	2941	2985	2986	2987	2988
Aminoglykoside	aadA2_1			X									
	aadA5_1							X					
	aph(3'')-Ib_2				X				X	X			X
	aph(3'')-Ib_5	X		X			X						
	aph(6)-Id_1	X		X	X		X		X	X			X
	ant(2'')-Ia_1												
	ant(3'')-Ia_1	X				X	X				X	X	
Phänotyp		S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
β-Laktam-Antibiotika	blaCTX-M-15_1				X	X	X		X		X	X	
	blaCTX-M-1_1	X	X	X				X		X			X
	blaTEM-106_1												
	blaTEM-1B_1	X		X	X				X				
	blaTEM-1C_1					X					X	X	
	blaOXA-1_1												
	blaCMY-2_1												
	blaCARB-16_1												
Phänotyp	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Colistin													
	Phänotyp	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Phenicol-Antibiotika	floR_2												
	catA1_1	X											
	cmlA1_1					X					X	X	
	Phänotyp	NT				NT					NT	NT	
Sulfonamide	sul1_5	X					X						
	sul2_2							X					
	sul2_3	X		X			X						
	sul3_2			X		X					X	X	
	Phänotyp	R	S	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S
Tetrazykline	tet(A)_6	X					X						
	tet(B)_2				X				X				
	Phänotyp	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Fosfomycin	fosA7_1									X			X
	Phänotyp	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Chinolone/Fluorchinolone	qnrB1_1						X						
	qnrB19_1												
	qnrS1_1			X									
	aac(6'')-Ib-cr_1												
	Phänotyp	S	S	R	R	R	S	S	R	S	R	R	S
Diaminopyrimidine	dfrA1_10	X					X						
	dfrA17_1							X					
	dfrA36_1												
	dfrA5_1			X									
	dfrA8_1												
	Phänotyp	R	S	R	S	S	R	R	S	S	S	S	S
Makrolide	mph(A)_2												
	mph(B)_1	X					X						
	mph(G)_1												
	mef(C)_1												
	Phänotyp	NT					NT						
Lincosamide	lnu(F)_1			X		X					X	X	
	Phänotyp			NT		NT					NT	NT	
MDR-Gen	mdf(A)_1	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X



3 0 8 6	3 0 8 7	3 0 8 8	3 0 8 9	3 1 0 0	3 1 0 1	3 1 0 2	3 1 0 3	3 1 1 5	3 1 1 6	3 1 1 7	3 1 1 8
							X				
			X			X					
				X					X		
				X	X			X	X	X	
							X		X		X
S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
X		X		X					X	X	X
	X		X			X	X				
				X	X		X	X		X	X
										X	
					X			X			
					X			X			
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
											X
											NT
							X		X	X	X
					X	X		X			X
			X						X		
S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R
				X			X		X		X
S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
					X			X			
S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
									X		
	X										
X		X					X				
I	I	S	S	R	S	S	R	R	S	I	R
							X		X	X	
			X			X					X
	X			X							
					X			X			
S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R
							X				
							X		X	X	
					X			X			
					X			X			
					NT		NT	NT	NT	NT	
							X				
							NT				
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X



3 0 9 1	3 0 9 2	3 0 9 3	3 1 0 5	3 1 0 6	3 1 0 7	3 1 0 8	3 1 1 9	3 1 2 0	3 1 2 1	3 1 2 2	3 1 2 3	3 1 2 4
X		X					X				X	X
X												
					X	X		X	X	X		
X					X	X		X	X	X		
X												
	X		X	X		X			X	X		
S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
								X	X	X		
X	X	X			X	X	X				X	X
					X	X		X				
X												
				X						X		
			X									
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
									X	X		
S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S
								X				
								NT				
	X		X	X		X						
X	X	X				X	X	X	X	X	X	X
					X				X	X		
R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R
			X	X				X				
X												
S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
			X	X								
S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S
	X								X	X		
X		X					X				X	X
					X			X				
						X						
R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R
X					X							
X					X							
NT					NT							
X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

### **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.

Neubrandenburg, August 2023

Jette Frieda Kleist