

*Emissionen von ESBL/AmpC - bildenden Enterobakterien in das  
Umfeld von Tierhaltungen*



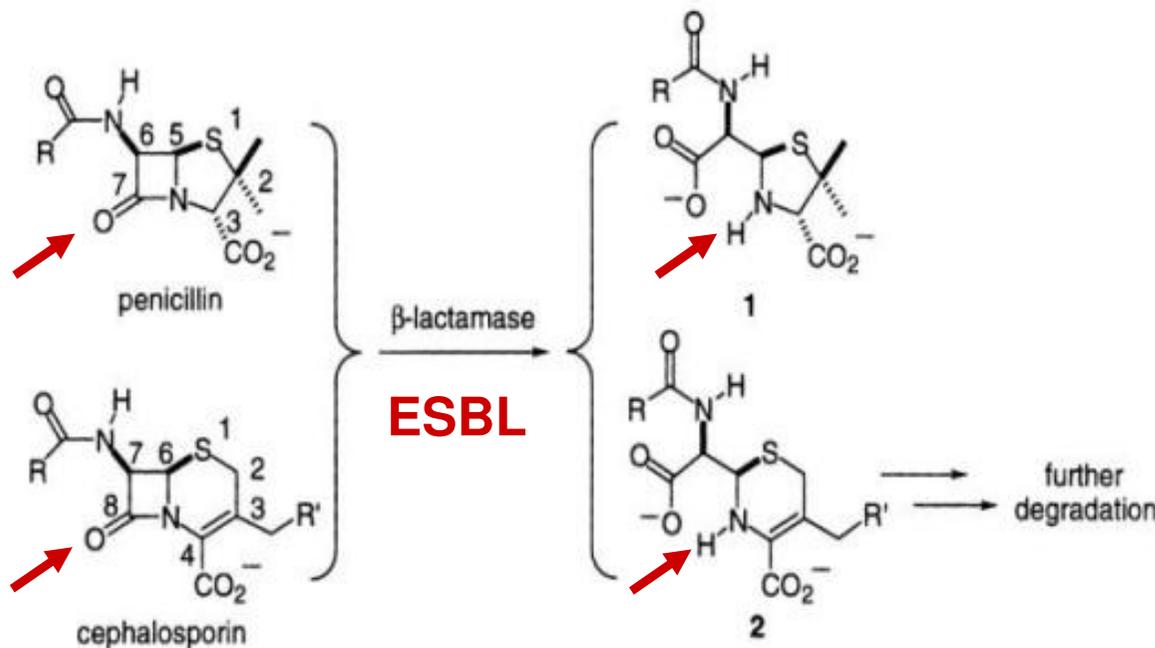
*Anika Friese, Henriette Laube, Christina von Salviati, Uwe Rösler*

## Resistenzmechanismus: ESBL-/AmpC-produzierende Bakterien

ESBL = **E**xtended-**S**pektrum  $\beta$ -Laktamase  
 AmpC- $\beta$ -Laktamase

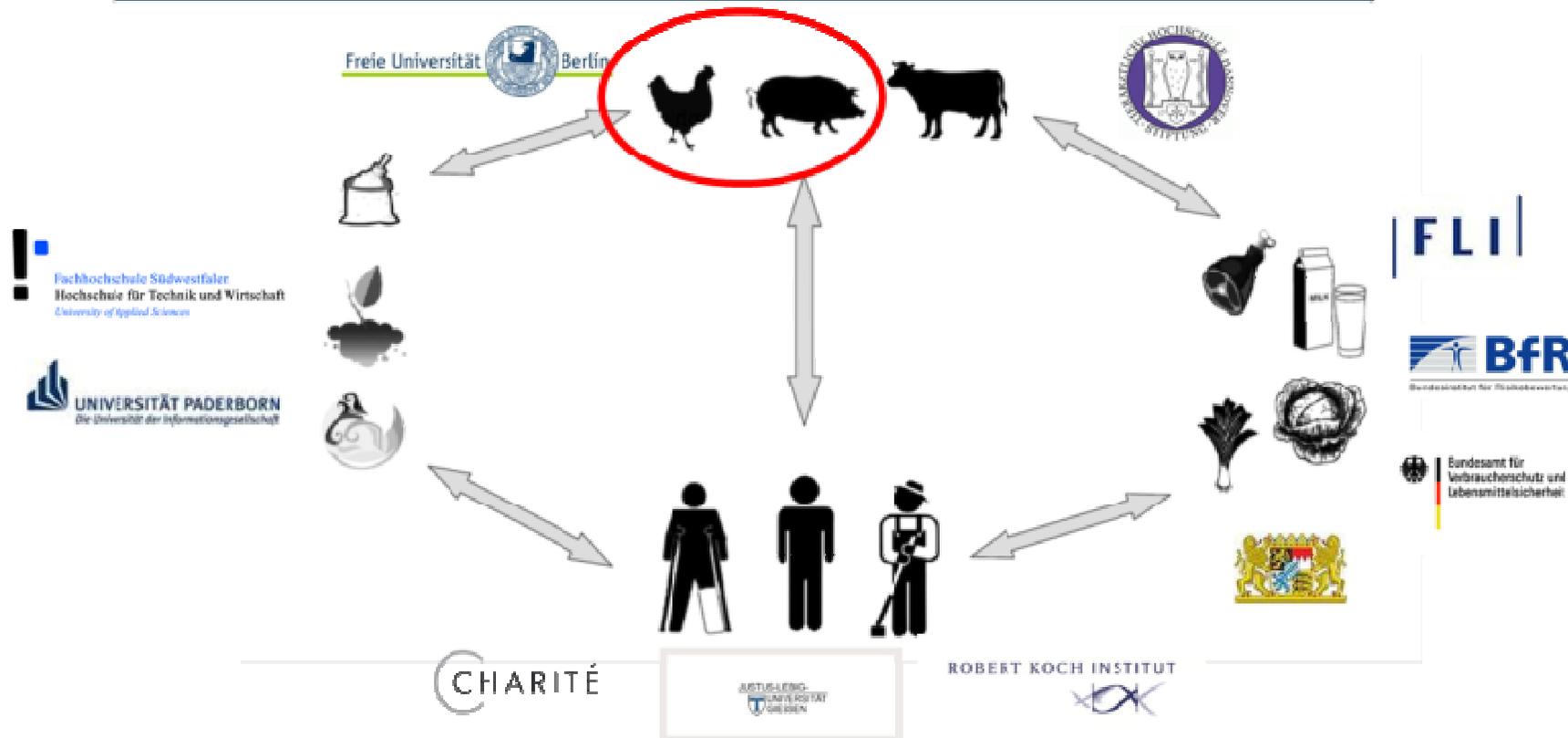


$\beta$ -Laktamase spalten  $\beta$ -Laktam-Ring  
 von  $\beta$ -Laktam-Antibiotika



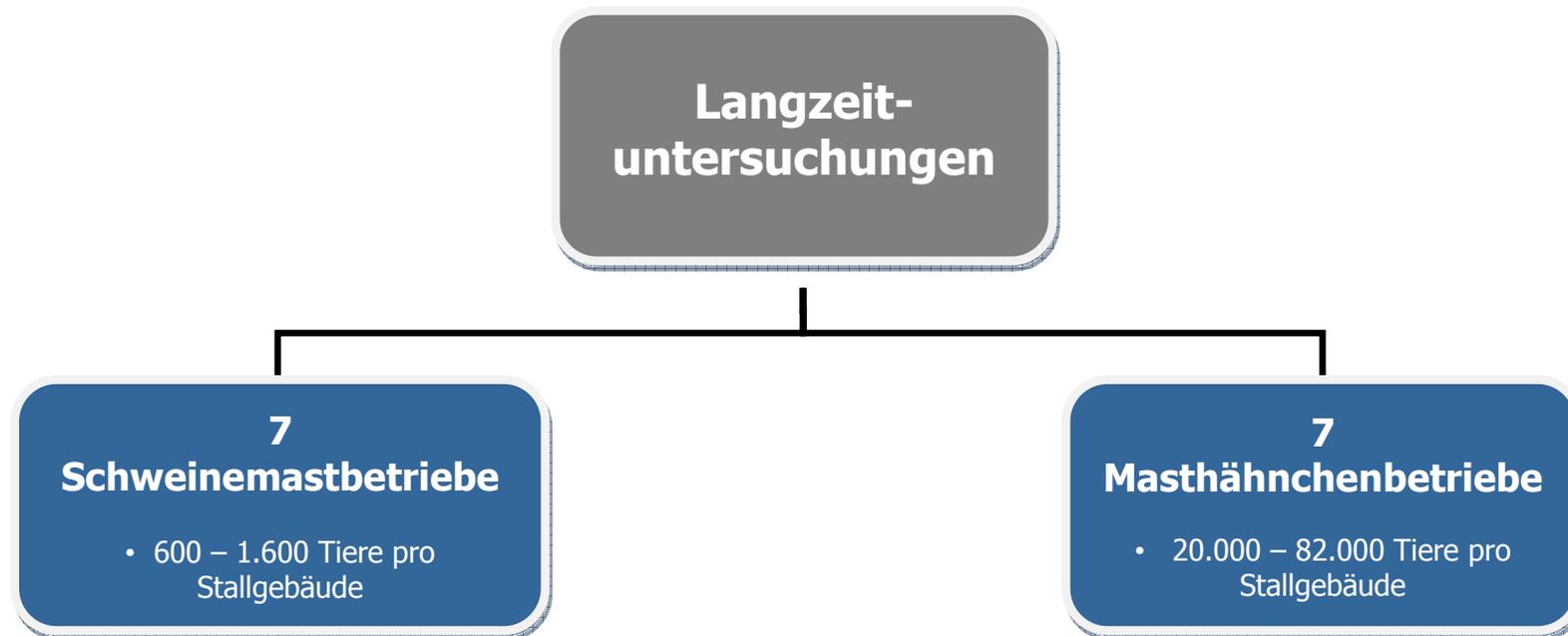
- Resistenz gegen viele  $\beta$ -Laktam-Antibiotika einschließlich Cephalosporine der 3. Generation
- $\beta$ -Laktamase-Inhibitoren keine Wirkung bei AmpCs
- Gene plasmid-kodiert

# Verbundprojekt RESET



# Studiendesign

---



- Betriebe mit positiven ESBL-Status
- zeitgleiche Untersuchungen innerhalb und außerhalb des Stalls
- drei Probenahmen über eine Mastperiode

## Probenahme im Stall

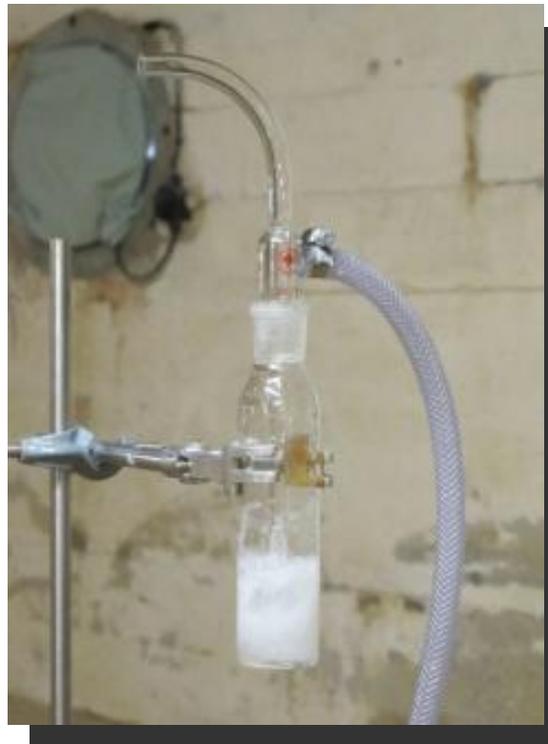
- **Tierproben:**

*Kotproben / Kloakentupfer*



- **Luftproben:**

3 via Impingement



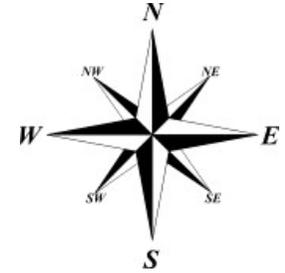
- **Umgebungsproben:**

Staub, Sockentupfer, Sammelkot, Futter, ...

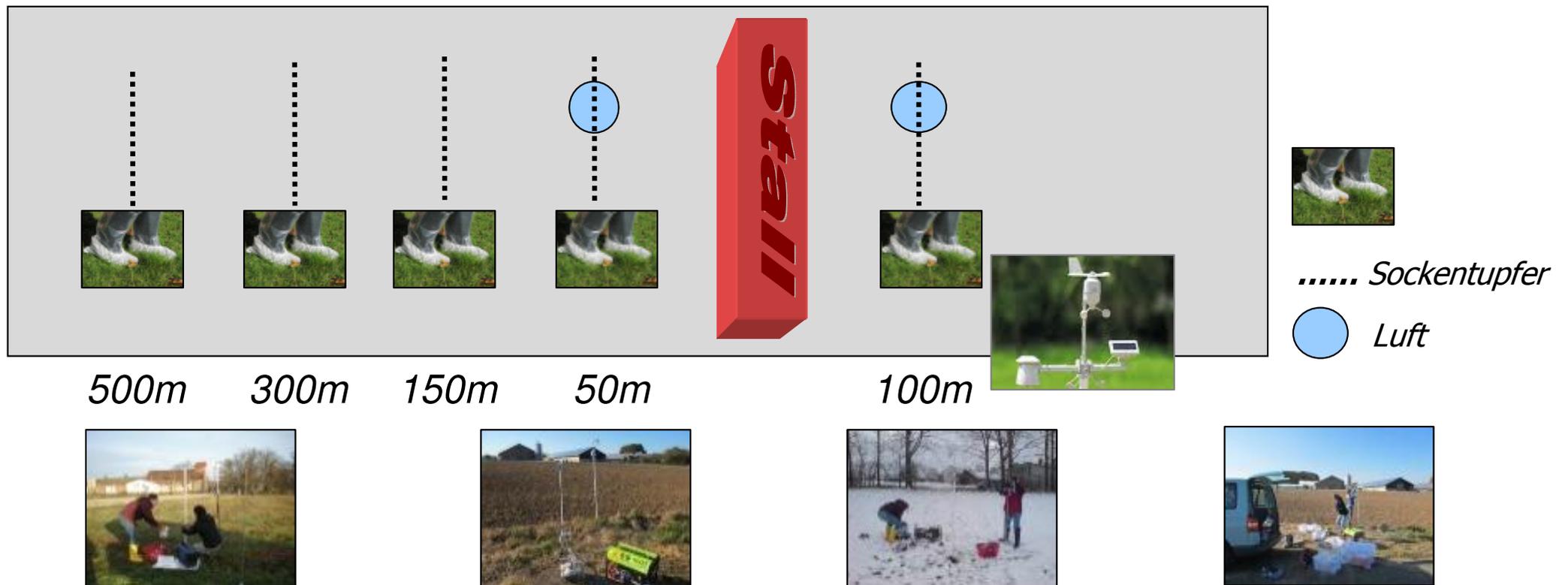


# Probenahme außerhalb

- *Luftproben*
- *Sockentupfer der Bodenoberflächen*



**windabgewandt** ← **windzugewandt**



## Labordiagnostische Untersuchungen

---

- Anreicherung aller Proben in LB-Bouillon nach Miller → 37 °C, 24 h
- quantitative Untersuchung von Kot- und Staubproben



***ESBL/AmpC-E. coli auf MacConkey-Agar***  
*(1 µg/ml Cefotaxim)*

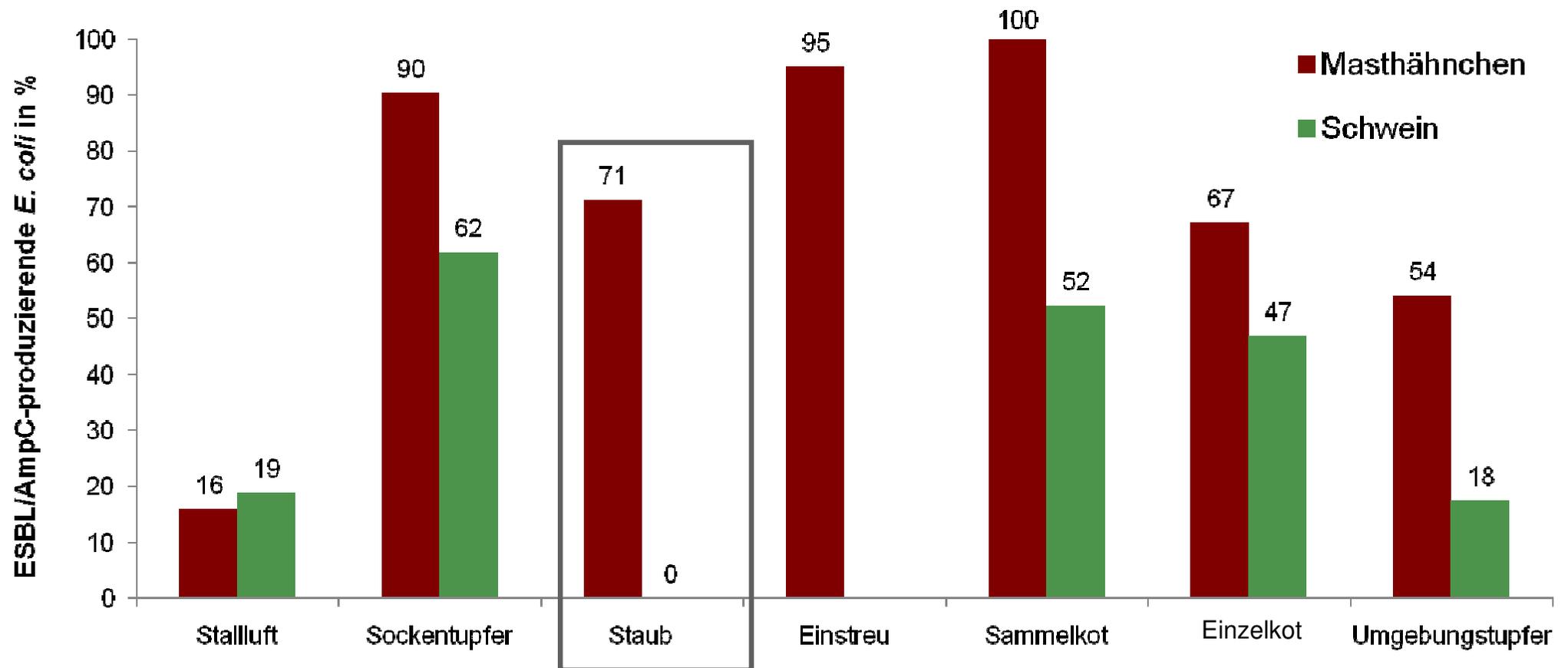
- *Speziesidentifizierung phänotypisch und via MALDI TOF*
- *PCR zur Detektion von ESBL-Genen (CTX-M, TEM und SHV) und des AmpC-Gens CMY*
- *Vergleich ausgewählter Isolate mit Pulsfeldgelelektrophorese*



*Hintergrund • Material & Methoden • Ergebnisse • Diskussion • Ausblick*



## Ergebnisse innen

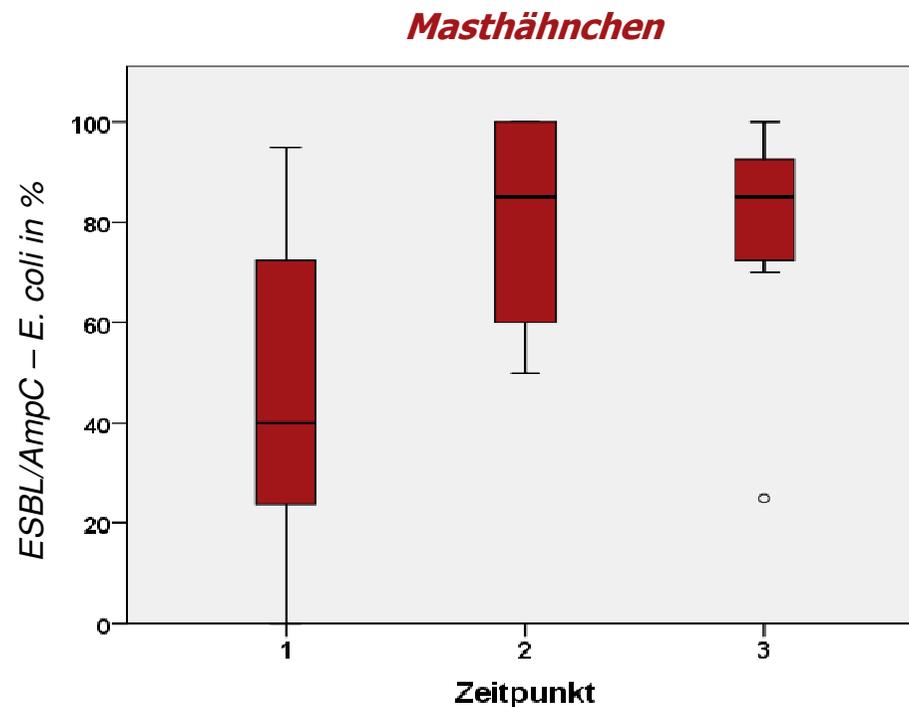


Untersuchung von 7 Betrieben zu jeweils 3 Zeitpunkten



# Prävalenzverlauf Masthähnchen

## Einzeltierproben



(7 untersuchte Schweinemastbetriebe, je 20 Einzeltierkotproben pro Betrieb und Zeitpunkt)

Zeitpunkt 1 → nach Einstellung  
Zeitpunkt 2 → Mitte der Mast  
Zeitpunkt 3 → Ende der Mast

**Anzahl ESBL/AmpC – *E. coli***  
(geometrischer Mittelwert):

Sammelkot

$1,4 \times 10^6$  KbE/g

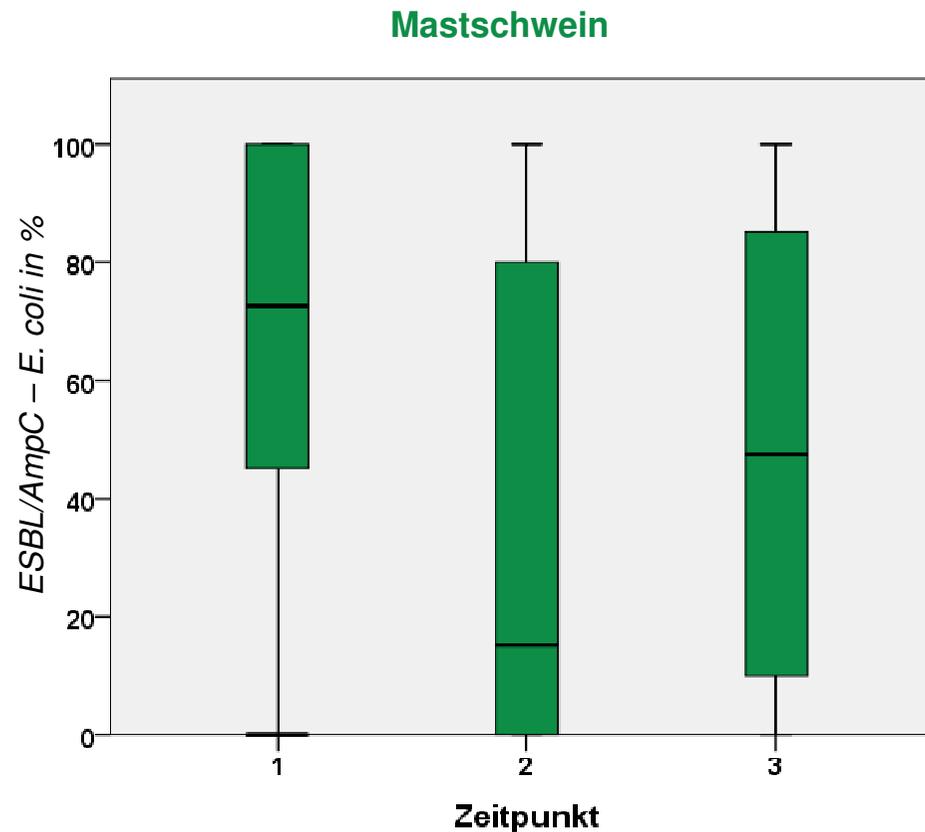
Staub

$1,7 \times 10^4$  KbE/g



# Prävalenzverlauf Mastschwein

## Einzeltierproben



Zeitpunkt 1 → nach Einstellung  
Zeitpunkt 2 → Mitte der Mast  
Zeitpunkt 3 → Ende der Mast

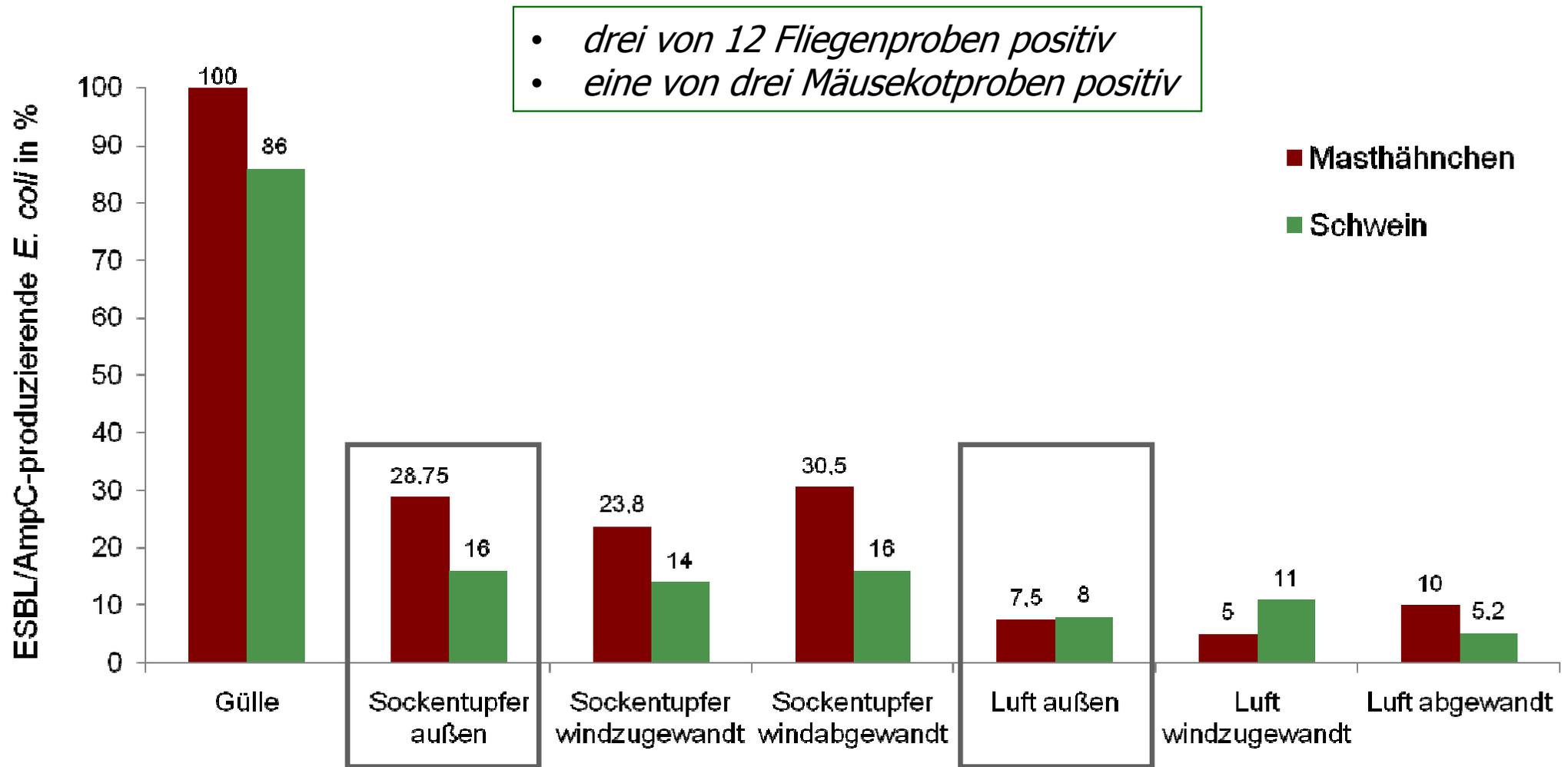
**Anzahl ESBL/AmpC – *E. coli***  
(geometrischer Mittelwert):

*Einzeltierkot*

$1,42 \times 10^4$  KbE/g

(7 untersuchte Schweinemastbetriebe, je 20 Einzeltierkotproben pro Betrieb und Zeitpunkt)

## Ergebnisse außen



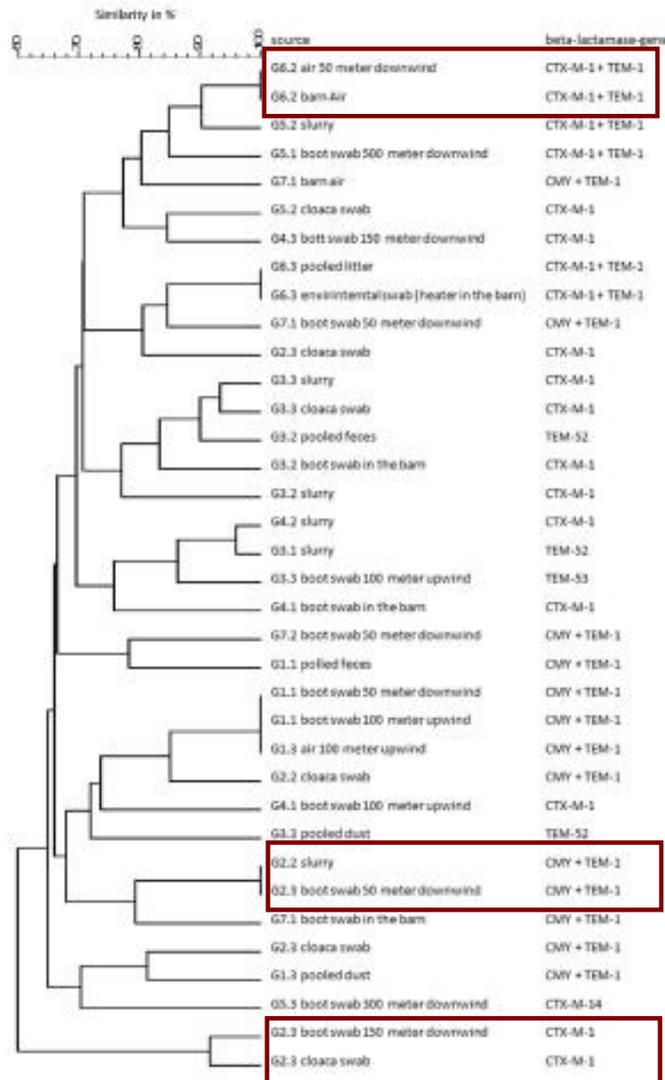
Untersuchung von 7 Betrieben zu jeweils 3 Zeitpunkten

## Bestimmung der ESBL/AmpC-Gene

Detected genes	Confirmed as ESBL/AmpC	E. coli isolates	E. coli isolates (n = 409) [%]	E. coli isolates	E. coli isolates (n = 276) [%]
single bla <sub>CTX-M</sub>	+	46	11.2	134	48,6
single bla <sub>TEM-1</sub>	(-)	54	13.2	33	11.9
single bla <sub>CMY</sub>	+	81	19.8	3	1
single bla <sub>SHV-12</sub>	+	51	12.5	1	0.4
single bla <sub>TEM-52</sub>	+	33	8		
single bla <sub>TEM-206</sub>	(-)			2	0.7
bla <sub>CMY</sub> & bla <sub>TEM-1</sub>	+	78	19,1	1	0.4
bla <sub>SHV-12</sub> & bla <sub>TEM-1</sub>	+	37	9	1	0.4
bla <sub>CTX-M</sub> & bla <sub>CMY</sub>	+	7	1.7		
bla <sub>CTX-M</sub> & bla <sub>TEM-1</sub>	+	9	2.2	71	25.4
bla <sub>SHV-12</sub> & bla <sub>TEM-52</sub>	+	2	0.5		
bla <sub>CMY</sub> & bla <sub>TEM-52</sub>	+	1	0.2		
bla <sub>SHV-12</sub> & bla <sub>CTX-M</sub>	+	1	0.2	1	0.4
bla <sub>CTX-M</sub> & bla <sub>SHV-12</sub> & bla <sub>TEM-1</sub>	+	1	0.2	1	0.4
bla <sub>CMY</sub> & bla <sub>SHV-12</sub> & bla <sub>TEM-1</sub>	+	1	0.2		
None of the 4 genes	(-)	7	1.7	28	10.1



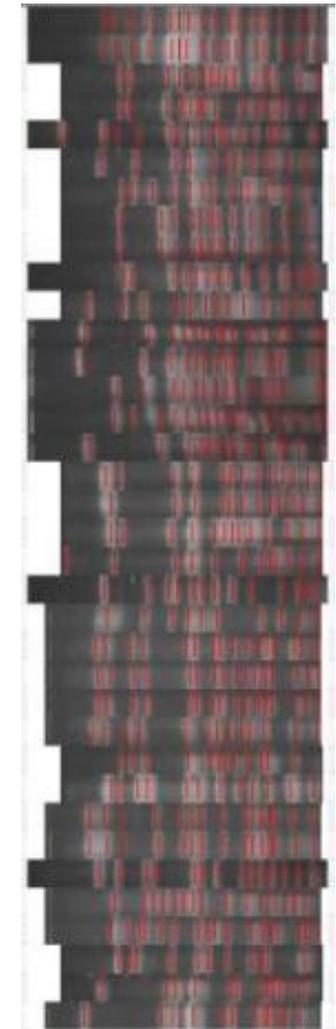
# Pulsfeld-Gel-Elektrophorese



Stallluft + Außenluft

Sockentupfer außen+ Gülle

Sockentupfer außen+ Kot



## Innerhalb

---

- weite Verbreitung von ESBL/AmpC-produzierender *E. coli* bei Masthähnchen, niedrig- und höherprävalente Betriebe beim Schwein
- Detektion schon bei Eintagsküken, bei Schwein Untersuchungsstart erst nach Flatdeck
- ESBL/AmpCs sporadisch in Stallluft, regelmäßig in Staub beim Masthähnchen – nie beim Schwein
- unterschiedliche Enzymfamilien bei Schwein (CTX) und Masthähnchen (CMY, TEM, SHV)

## Außerhalb

---

- hohe Nachweisraten von ESBL/AmpC- *E. coli* in Gülle
  - Nachweis auf Boden der Umgebung, vereinzelt auch in Außenluft
- Emission via Austrag von Gülle und/oder Luft bzw. Staub wahrscheinlich
- identische Restriktionsprofile einiger *E. coli* von außen und innen
- auch andere Bakterien (*Acinetobacter* and *Pseudomonas*) mit ESBL/AmpC-Genen wurden in Proben der Bodenoberflächen gefunden

? Transfer bzw. Anreichern von Resistenzgenen in der Umwelt ?

? Risikobewertung ?

## Zukünftige Themen...

---

- Untersuchungen zur Tenazität der Erreger bei unterschiedlichen Umweltbedingungen
- Verbreitung der resistenten Mikroorganismen entlang der verschiedenen Produktionsstufen → vertikale Transmission
- Entwicklung und Validierung von Interventionsmaßnahmen

# Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit



- Prof. Rösler
- Dr. Murugaiyan
- Dr. Roschanski
- Henriette Laube
- Christina von Salviati
- Niels Kühl
- Alexandra Irrgang
- Maja Thieck
- Heike Jansen
- Susann Sellenthin

## Alle Landwirte und Tierärzte



## Alle Partner

- Prof. Dr. Kreienbrock
- Dr. Guerra
- Dr. Käsbohrer
- Jennie Fischer
- Katja Hille
- ....

