

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



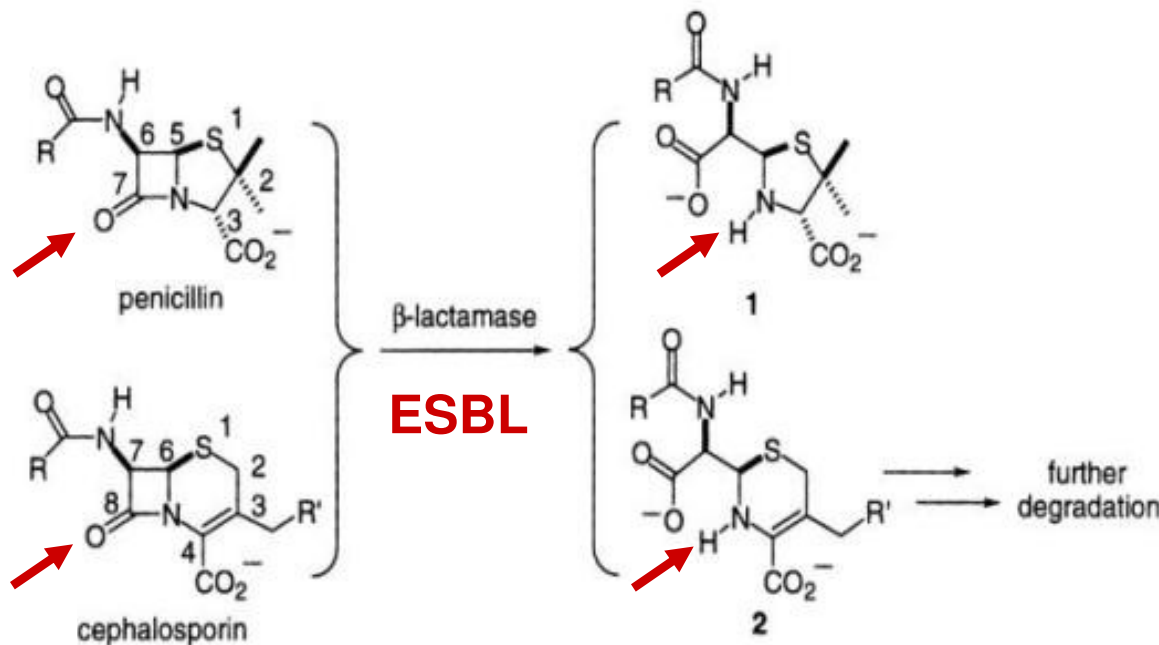
Anika Friese, Henriette Laube, Christina von Salviati, Uwe Rösler

Resistenzmechanismus: ESBL-/AmpC-produzierende Bakterien

ESBL = **E**xtended-**S**pektrum β -Laktamase
 AmpC- β -Laktamase

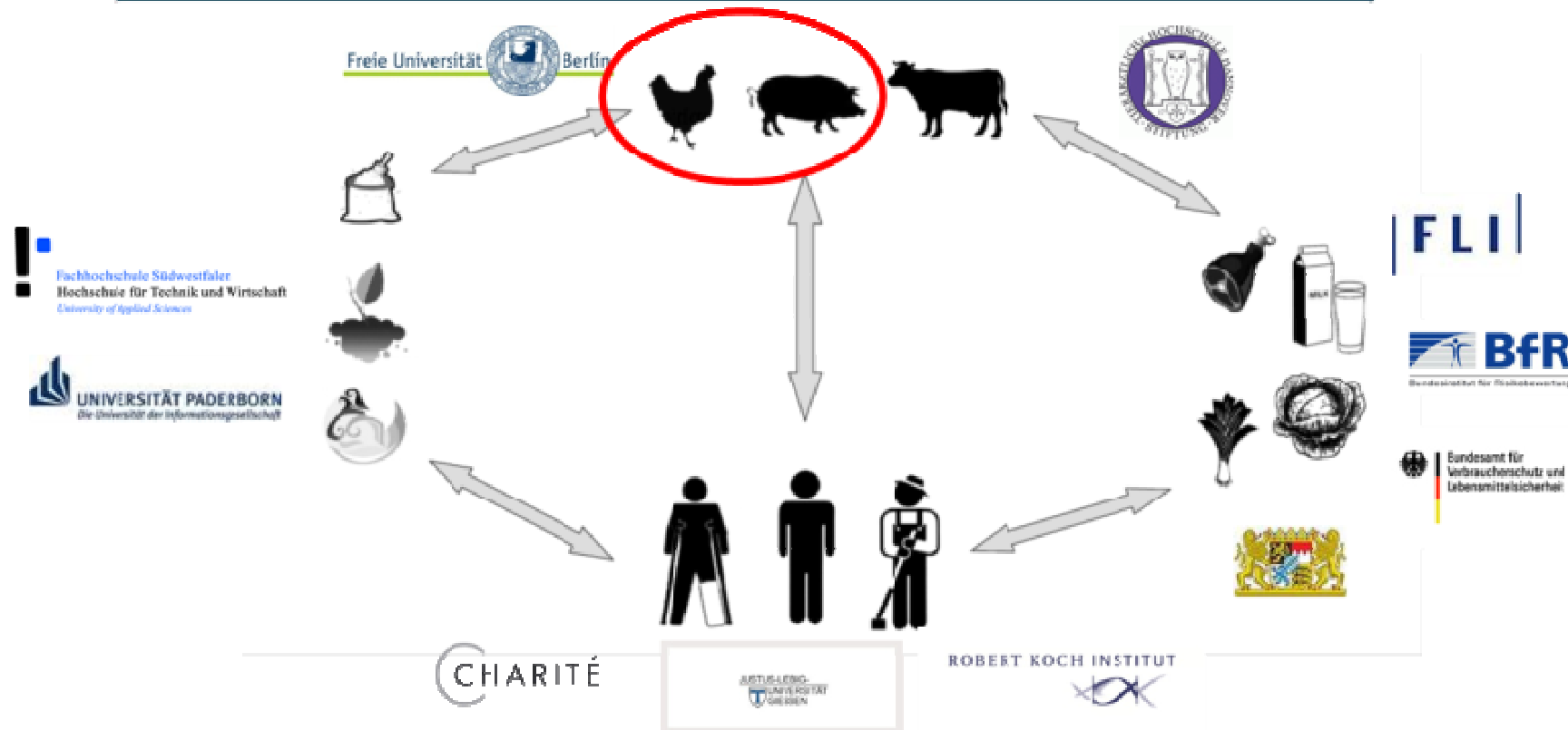
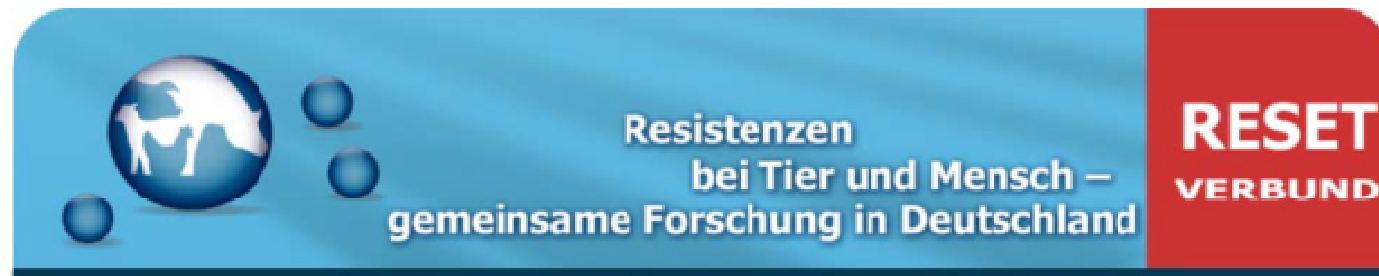


β -Laktamase spalten β -Laktam-Ring
 von β -Laktam-Antibiotika

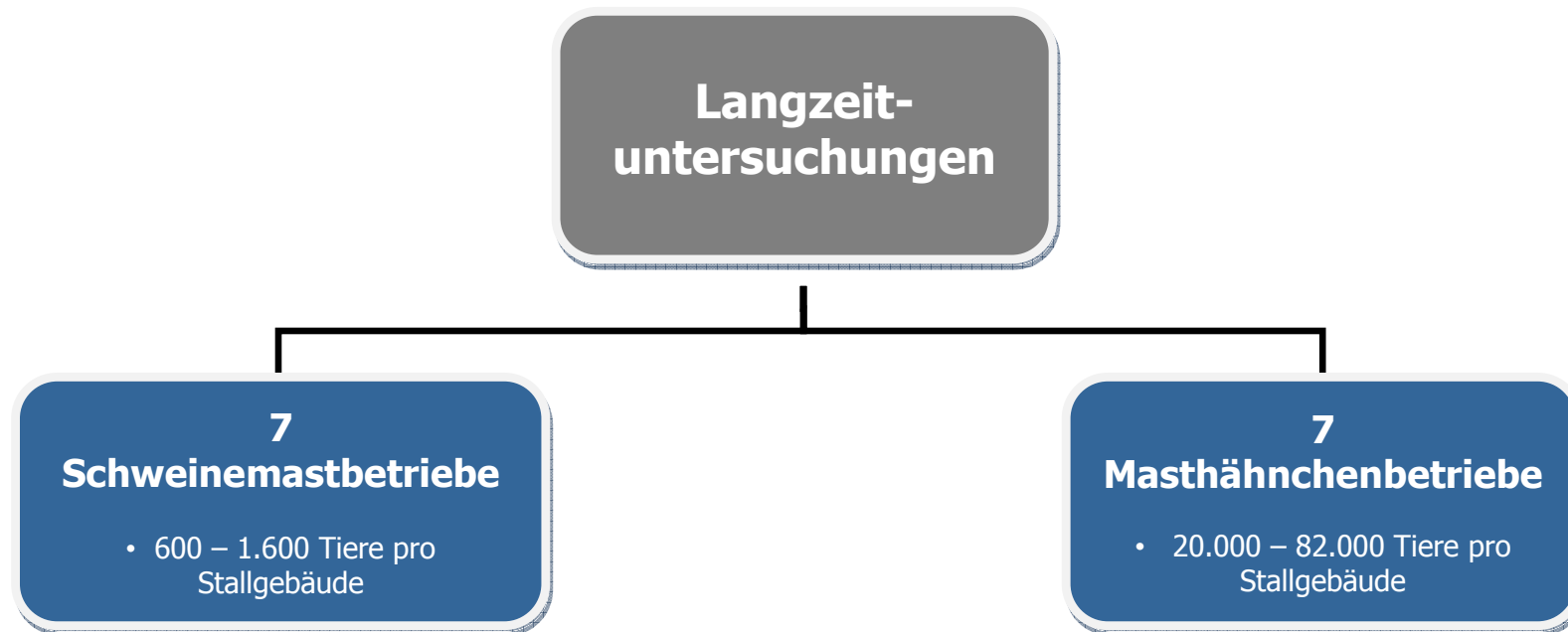


- Resistenz gegen viele β -Laktam-Antibiotika einschließlich Cephalosporine der 3. Generation
- β -Laktamase-Inhibitoren keine Wirkung bei AmpCs
- Gene plasmid-kodiert

Verbundprojekt RESET



Studiendesign



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

Probenahme im Stall

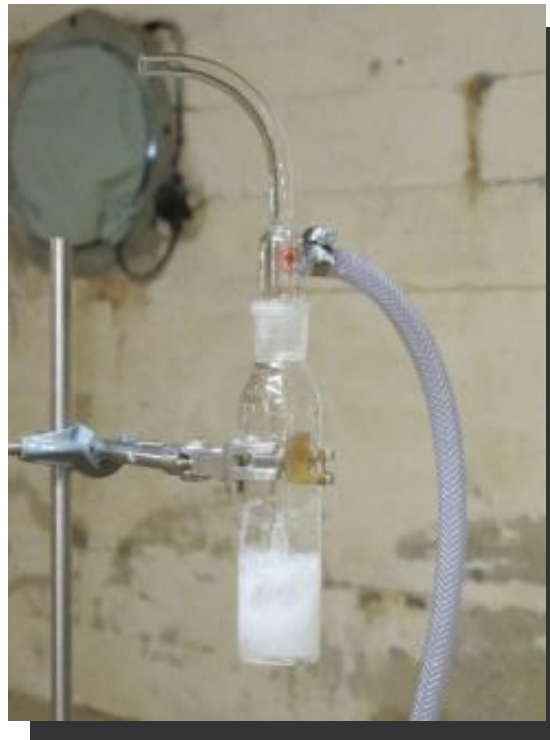
- **Tierproben:**

Kotproben / Kloakentupfer



- **Luftproben:**

3 via Impingement



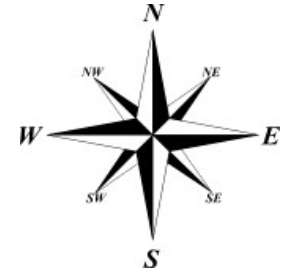
- **Umgebungsproben:**

Staub, Sockentupfer,
Sammelkot, Futter, ...

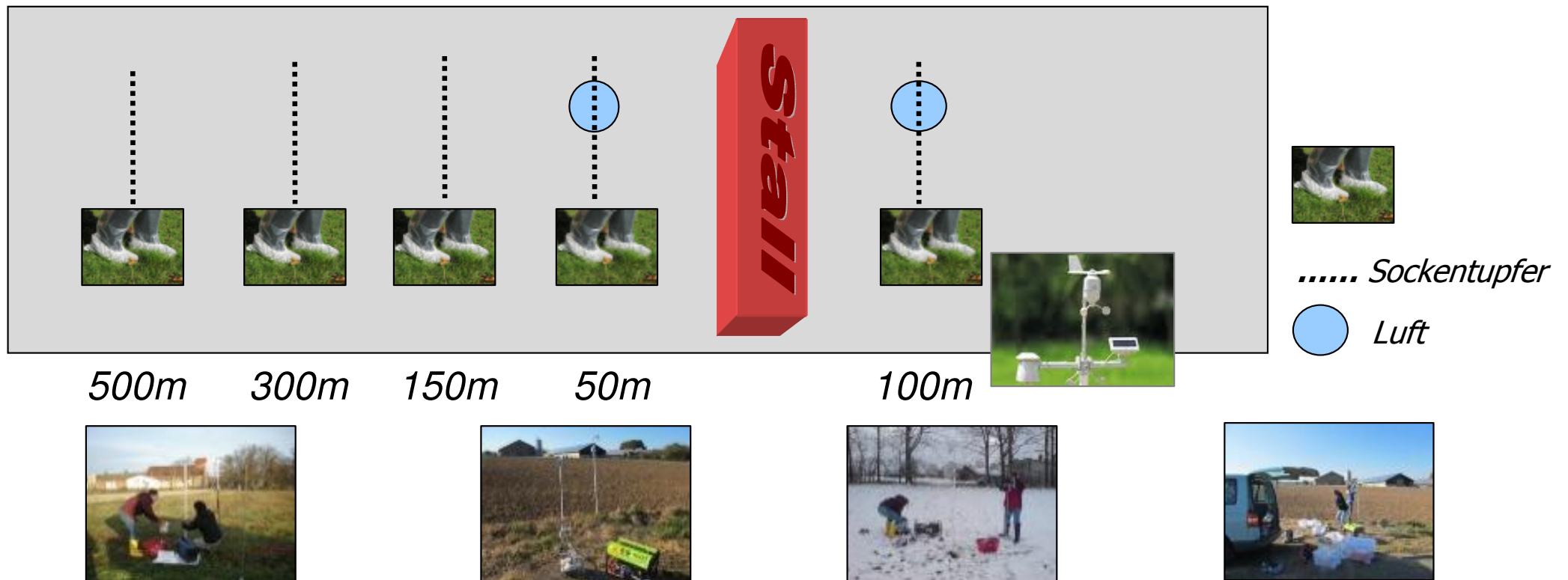


Probenahme außerhalb

- *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
(1µg/ml Cefotaxim)

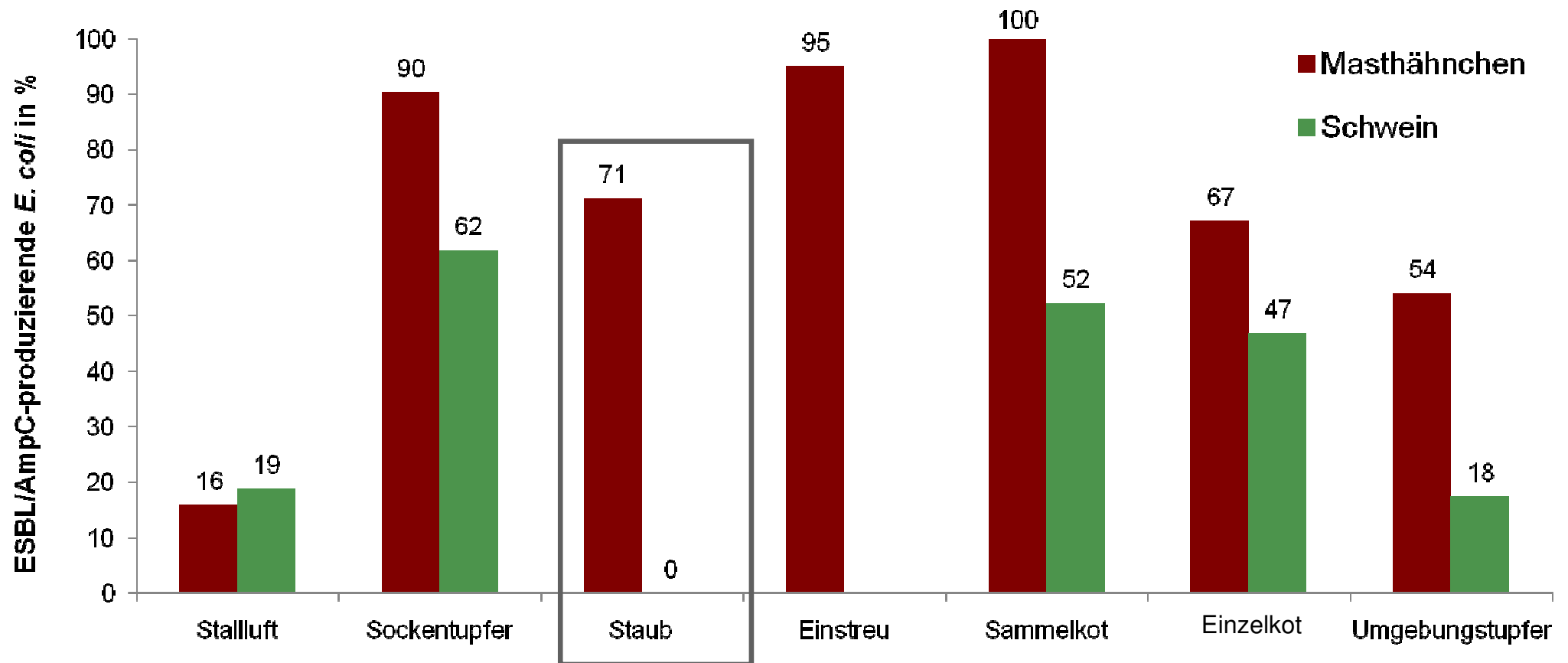
- *Speziesidentifizierung phänotypisch und via MALDI TOF*
- *PCR zur Detektion von ESBL-Genen (CTX-M, TEM und SHV) und des AmpC-Gens CMY*
- *Vergleich ausgewählter Isolate mit Pulsfeldgelelektrophorese*



Hintergrund • Material & Methoden • Ergebnisse • Diskussion • Ausblick



Ergebnisse innen

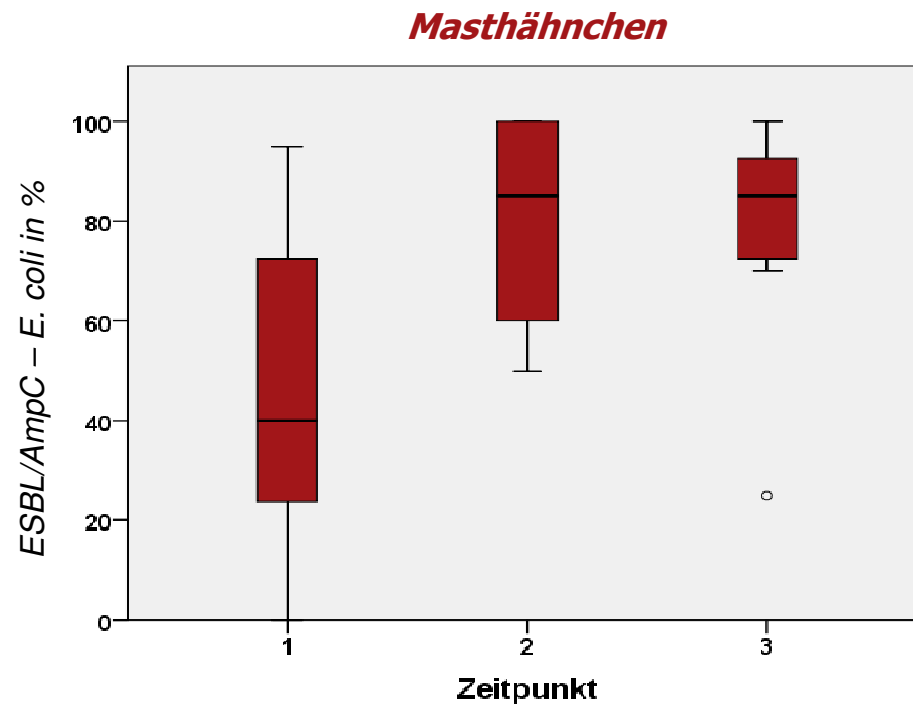


Untersuchung von 7 Betrieben zu jeweils 3 Zeitpunkten



Prävalenzverlauf Masthähnchen

Einzeltierproben



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

Zeitpunkt 1 → nach Einstallung
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

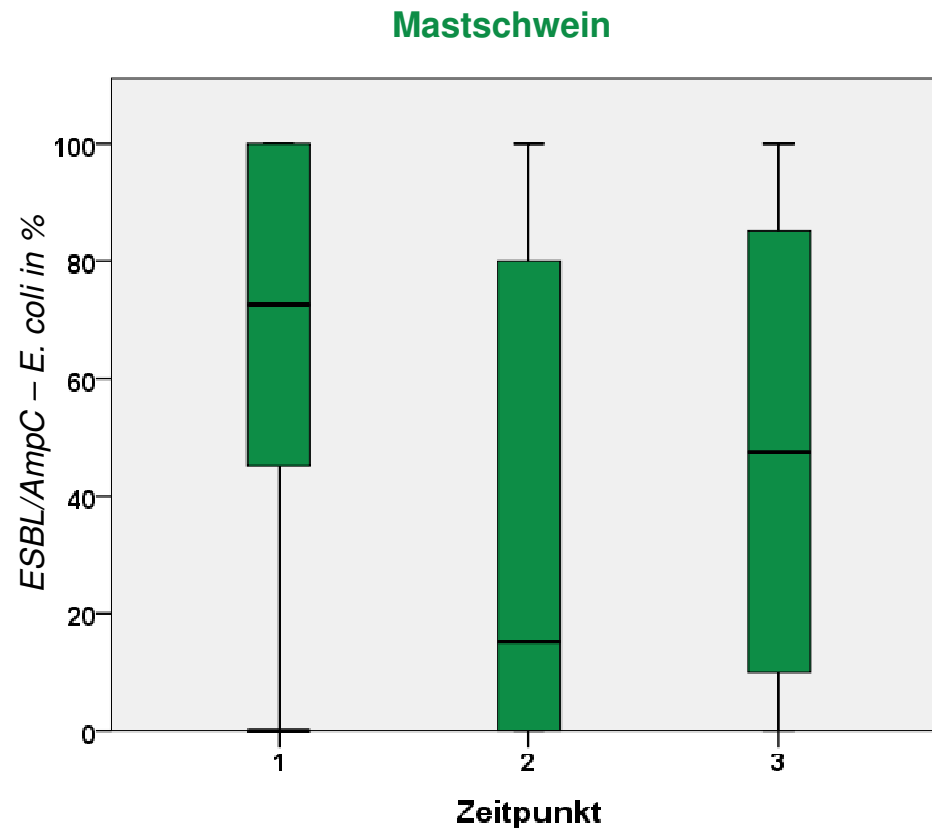
Staub

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



Prävalenzverlauf Mastschwein

Einzeltierproben



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

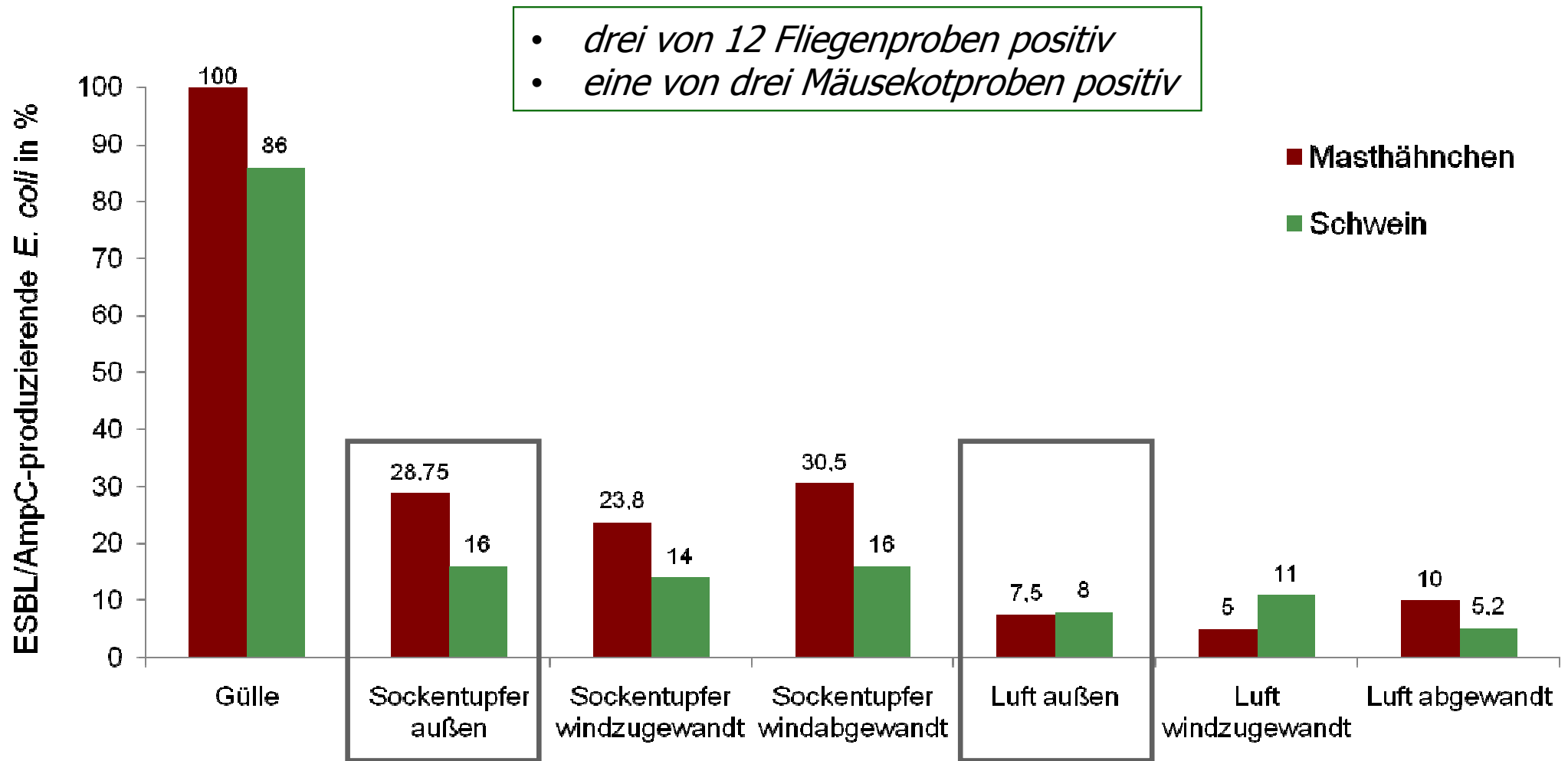
Anzahl ESBL/AmpC – *E. coli*
(geometrischer Mittelwert):

Einzeltierkot

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

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

Ergebnisse außen



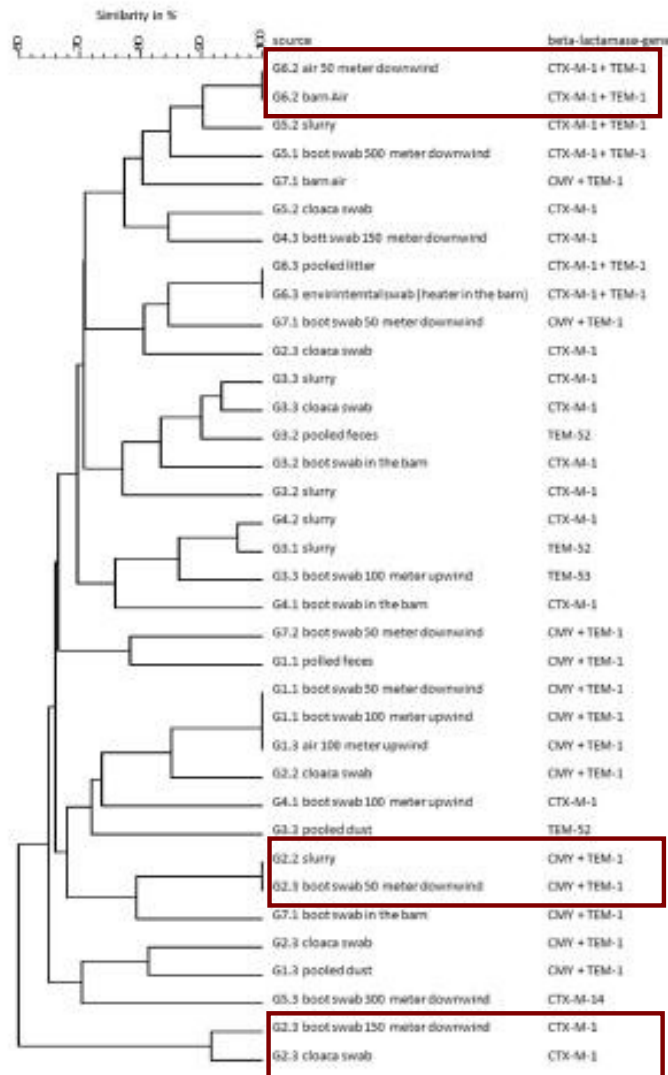
Untersuchung von 7 Betrieben zu jeweils 3 Zeitpunkten

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 _{CTX-M}	+	46	11.2	134	48,6
single bla _{TEM-1}	(-)	54	13.2	33	11.9
single bla _{CMY}	+	81	19.8	3	1
single bla _{SHV-12}	+	51	12.5	1	0.4
single bla _{TEM-52}	+	33	8		
single bla _{TEM-206}	(-)			2	0.7
bla _{CMY} & bla _{TEM-1}	+	78	19,1	1	0.4
bla _{SHV-12} & bla _{TEM-1}	+	37	9	1	0.4
bla _{CTX-M} & bla _{CMY}	+	7	1.7		
bla _{CTX-M} & bla _{TEM-1}	+	9	2.2	71	25.4
bla _{SHV-12} & bla _{TEM-52}	+	2	0.5		
bla _{CMY} & bla _{TEM-52}	+	1	0.2		
bla _{SHV-12} & bla _{CTX-M}	+	1	0.2	1	0.4
bla _{CTX-M} & bla _{SHV-12} & bla _{TEM-1}	+	1	0.2	1	0.4
bla _{CMY} & bla _{SHV-12} & bla _{TEM-1}	+	1	0.2		
None of the 4 genes	(-)	7	1.7	28	10.1



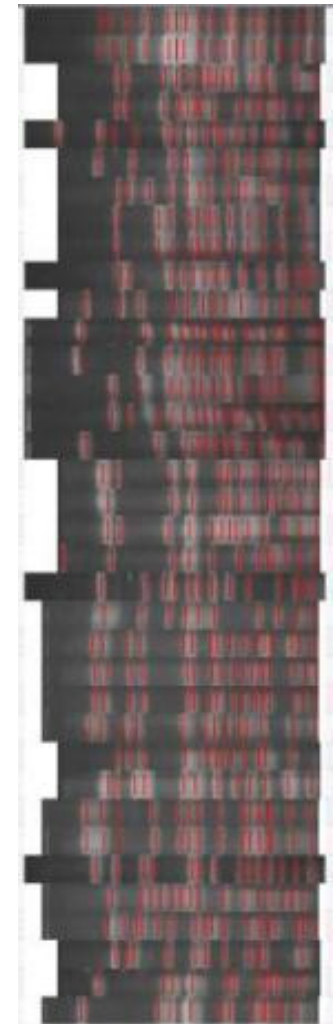
Pulsfeld-Gel-Elektrophorese



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
-

