

## Antibiotikaeinsatz in der Bayerischen Schweinehaltungspraxis – ABYS: Antibiotikaeinsatz und Antibiotikaresistenz in ökologischen Betrieben

Bassitta R<sup>1</sup>, Bartuschat A<sup>2</sup>, Harms K<sup>2</sup>, Bauer J<sup>2</sup>, Straubinger RK<sup>1</sup>, Poljak S<sup>3</sup>, Storch J<sup>3</sup>,  
Dennhöfer J<sup>3</sup>, Schwaller A<sup>3</sup>, Hamann J<sup>3</sup> & Hölzel CS<sup>1</sup>

*Keywords: antibiotics, manure, antimicrobial resistance, pig, farm management.*

### Abstract

*Between 2012 and 2014, ABYS study recorded antibiotic use, detection and resistance data for 23 organic and 35 conventional pig farms. Antibiotic contents of farm-made fertilizers were assessed by LC/MS-MS. Phenotypic antimicrobial resistance was investigated in *Escherichia (E.) coli* (indicator bacteria); antimicrobial resistance genes of the total bacterial microbiota (*sul(II)*, *tet(A)*, *tet(B)*, *tet(M)*; marker *qacEΔ1*) were quantified by qPCR.*

*Measured in nUDD (number of animals treated multiplied by treatment days), colistin was the most frequently used antibiotic, in organic farms followed by tylosin, doxycycline and amoxicillin. Antibiotic residues were rarely detected; however, manure contained up to 10<sup>8</sup> antimicrobial resistance genes per gram; concentrations were higher when the antibiotic had been used on farm.*

*In six farms, antimicrobial resistant *E. coli* were tracked from the moment when pigs were placed on farm. Some isolates carried a broad variety of resistances from the very beginning that were maintained until slaughter, despite the fact that partly no antibiotics were applied during fattening. Approaches for reducing carry-over of antimicrobial resistant bacteria will be discussed.*

### Einleitung und Zielsetzung

Der Arzneimitteleinsatz bei landwirtschaftlichen Nutztieren steht in der Kritik als eine der möglichen Ursachen für die Verbreitung antibiotikaresistenter Keime. Die Anwendung von Antibiotika bei ökologisch erzeugten Tieren ist eng reglementiert, ein Mastschwein etwa darf über die gesamte Lebensdauer nur einmalig antibiotisch behandelt werden. Die Häufigkeit antibiotischer Therapie vieler Betriebe wird – abhängig von der Tierart, Produktionsrichtung und Betriebsgröße – aktuell zentral erfasst; hierbei erfolgt keine Unterscheidung nach einzelnen Wirkstoffen, Resistenzdaten werden in diesem Zusammenhang nicht erhoben. Ziel der vorliegenden Studie war es, Daten zum Antibiotikaeinsatz sowie Daten zum Antibiotikanachweis in Faeces bzw. Jauche behandelter Tiere, zur Haltungsumwelt und zum Futtermittelbereich mit Resistenzdaten zu vernetzen. So sollten mögliche Zusammenhänge identifiziert werden, die eine Risikobeurteilung von Tierhaltungsparametern erlauben. Im Hinblick

---

<sup>1</sup> Veterinärwissenschaftliches Department, Tierärztliche Fakultät, LMU München, Korrespondenz: PD Dr. Christina Hölzel, Schönleutnerstr. 8, 85764 Oberschleißheim, C. Hoelzel@lmu.de

<sup>2</sup> Lehrstuhl für Tierhygiene, WZW, TUM, Weihenstephaner Berg 3, 85354 Freising

<sup>3</sup> Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL), Veterinärstraße 2, 85764 Oberschleißheim

auf eine mögliche Exposition des Verbrauchers wurde außerdem das Resistenzverhalten von Bakterien untersucht, die vom Schlachtkörper von Schweinen isoliert wurden, nachdem die Tiere während des kompletten Mastzeitraums regelmäßig beprobt und alle Antibiotikaanwendungen tier- und taggenau erfasst worden waren.

### Methoden

Die Datenerhebung erfolgte im Rahmen des Projekts ABYS im Zeitraum zwischen März 2013 und November 2014 in insgesamt 58 Betrieben, 23 davon ökologisch bewirtschaftet. In die statistischen Auswertungen zur Resistenzselektion wurden betriebsbezogene Daten aufgenommen, die nach Stand des Wissens oder hypothetisch im Zusammenhang mit der Anwendung von Antibiotika und/oder mit dem Resistenzgeschehen stehen; die Daten waren überwiegend den Bereichen „Hygiene“, „Tiergesundheit“, „Fütterung“ und „Antibiotikaeinsatz“ zugeordnet. In der Regel wurden mindestens eine Betriebsbegehung durchgeführt und zweimal beprobt (Frühjahr/Herbst); je Beprobungszeitpunkt und ökologischem Betrieb wurden sowohl eine Jauche- als auch eine Gülleprobe erhoben. In insgesamt sechs longitudinal betrachteten Betrieben – zwei davon ökologisch bewirtschaftet – wurden darüber hinaus Faecesproben über den gesamten Zeitraum von der Einstellung bis zur Schlachtung engmaschig erhoben und untersucht; als Probenmaterial dienten Gülle, Jauche und Festmist, Faecesproben von Schweinen und Landwirten sowie Hals- und Bauchstücke vom Schlachtkörper.

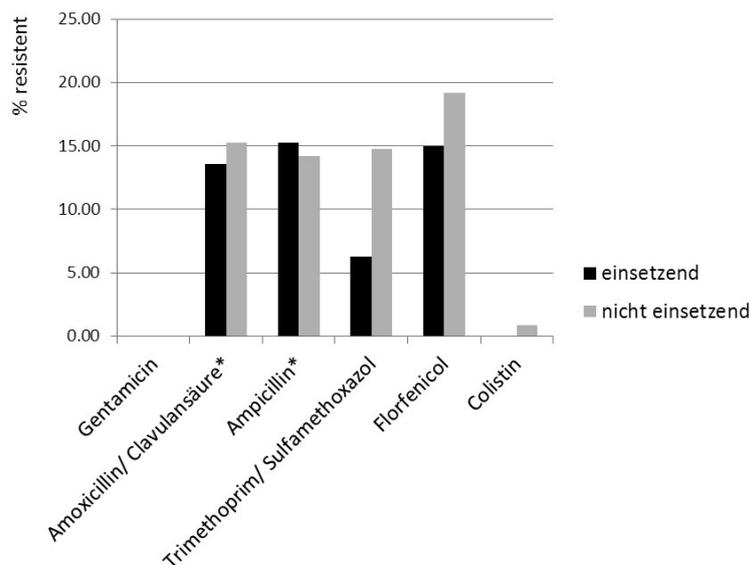
Die Proben wurden für den analytischen Nachweis von Antibiotika aufbereitet, zudem wurden die Gesamt-DNA extrahiert und *E. coli*-Isolate als Indikatorkeime gewonnen. Der Nachweis von 34 Antibiotika erfolgte mit drei verschiedenen validierten Analysemethoden unter der Anwendung von LC-MS/MS als Detektionsmethode. Die Resistenztestung der Indikatorkeime erfolgte mittels Mikrodilution nach ISO 20776-1:2006 (International Organization for Standardization, ISO). Die Resistenzgene *tet(A)*, *tet(B)*, *tet(M)*, *su(II)* und der Multiresistenz-Marker *qacEΔ1* in der Gesamt-DNA wurden mittels qPCR quantifiziert und zur ebenfalls molekularbiologisch erhobenen Gesamtkeimzahl in Beziehung gesetzt (Bassitta, 2016).

### Ergebnisse

Gemessen in  $nUDD_{adjust}$  (Produkt aus der Anzahl behandelter Tiere mit den Behandlungstagen pro Wirkstoff; van Rennings, 2013) wurden die Tiere in ökologischen wie konventionellen Betrieben am häufigsten mit Colistin behandelt, im ökologischen Bereich gefolgt von Tylosin, Doxycyclin und Amoxycillin. Neun der ökologischen Betriebe setzten während der Projektlaufzeit keinerlei Antibiotikum ein; berücksichtigt man weder die Behandlungsdauer noch die Zahl der behandelten Tiere (fasst also Einzeltier- und Gruppenbehandlungen zusammen), wurden in Antibiotika-einsetzenden Betrieben an erster Stelle Beta-Laktame – häufig auch Cephalosporine der vierten Generation – und Makrolide eingesetzt.

In zwei Jaucheproben ökologischer Betriebe wurden Fluorquinolone oberhalb der Nachweisgrenze (5 ng/g) nachgewiesen; Tetrazykline (> 50 ng/g) waren in Jauche und/ oder Festmistproben aus zwei Betrieben nachweisbar. Beta-Laktame, Florfenicol, Makrolide und Sulfonamide lagen in allen Proben zum Zeitpunkt der Ausbringung unter der jeweiligen Nachweisgrenze (5 bzw. 50 ng/g). Colistin war im Analysespektrum nicht enthalten. Die Resistenzsituation zwischen ökologischen Antibiotika-einsetzenden und nicht-einsetzenden Betrieben unterschied sich für

Sulfonamid-Trimethoprim-Kombinationen, mit höheren Resistenzraten in nicht-einsetzenden Betrieben. Bei Amoxicillin (in Kombination mit Clavulansäure), Ampicillin und Colistin traten die Resistenzen im ökologischen Bereich unabhängig vom Einsatz dieser Wirkstoffe auf (Abb. 1).



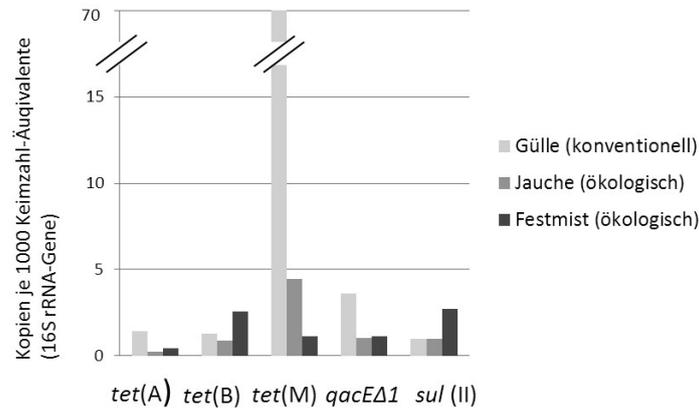
\* als „einsetzend“ galten hier Betriebe mit Einsatz von Ampicillin und/oder Amoxicillin

**Abbildung 1: Resistenzprävalenz bei *E. coli* (n gesamt = 249) in ökologischen Betrieben mit und ohne Wirksamkeitseinsatz**

Über die Faeces der zugekauften Tiere wurden antibiotikaresistente, vor allem auch multiresistente Keime, in die longitudinal betrachteten Betriebe eingetragen; die entsprechenden Resistenzen waren zum Zeitpunkt der Schlachtung in den Faeces und/oder auf dem Fleisch nach wie vor nachweisbar, obwohl in den untersuchten Betrieben selbst keine Antibiotikabehandlung durchgeführt worden war.

Abgesehen vom Antibiotikaeinsatz insgesamt und der Produktionsform (ökologisch / konventionell) konnte in binär-logistischen Modellen kein signifikanter Einfluss auf das Resistenzgeschehen für einen einzelnen der erhobenen Betriebsparameter festgestellt werden, auch nicht für einen einzelnen Faktoren aus dem Bereich Hygienemanagement.

Metagenomisch wurden hohe absolute Konzentrationen (Median bis  $10^8$  pro g) und beträchtliche relative Anteile von Resistenzgenen in der Gesamtbakterienpopulation nachgewiesen; für *tet(B)* und *sul(II)* wurden im Festmist durchschnittlich höhere Werte erreicht als in Gülleproben aus konventioneller Haltung (Abb. 2). Für *tet(A)*, *tet(M)* und *qacEΔ1* lagen die Werte in Gülleproben höher, für *tet(M)* um ein Vielfaches, hier war auch die absolute Konzentration in der Gülle statistisch signifikant höher als in den ökologischen Probenarten.



**Abbildung 2: Relative Abundanz von Resistenzgenen in unterschiedlichen Wirtschaftsdüngern**

### Schlussfolgerungen

Auch in ökologischen Betrieben kommen kritisch diskutierte Antibiotika wie Colistin und Cephalosporine 4. Generation zum Einsatz. Allerdings weisen die Gesamtauswertungen darauf hin, dass die Antibiotika-Applikationsart und/oder der geringe Anteil der mit Antibiotika behandelten Tiere am Gesamtbestand in ökologischen Betrieben allgemein eine Selektion resistenter Keime nicht begünstigen. Die bloße Abwesenheit selektierender Faktoren (Antibiotikaeinsatz) führt nur sehr langsam zu einem Rückgang von Resistenzen im Bestand. Unter anderem über den Zukauf kann es zu einem Eintrag resistenter Keime in die Betriebe kommen; übliche Hygienemaßnahmen reichen allein nicht aus, um resistente Keime aus dem Bestand zu drängen, so dass neue Konzepte geprüft und diskutiert werden müssen.

### Danksagung

ABYS wurde gefördert durch das Bayerische Staatsministerium für Umwelt und Verbraucherschutz, Az. 47a-G7131-2011/27-22.

### Literatur

- van Rennings L, Merle R, von Münchhausen C, Stahl J, Honscha W, Käsbohrer A & Kreienbrock L (2013) Variablen zur Beschreibung des Antibiotikaeinsatzes beim Lebensmittel liefernden Tier. Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift 126: 297-309.
- Bassitta R (2016) Untersuchungen zur Selektion von Resistenzgenen in bayerischen Schweinehaltungsbetrieben und zur Übertragung antibiotikaresistenter *E. coli* zwischen Tier und Mensch. Dissertation. Ludwig-Maximilians-Universität. München.