Tierärztliche Hochschule Hannover

Institut für Biometrie, Epidemiologie und Informationsverarbeitung

Resistenzsituation bei landwirtschaftlichen Nutztieren – Repräsentative epidemiologische Untersuchungen zu Beta-Laktamasen mit erweitertem Wirkungsspektrum (ESBL) produzierenden *Enterobacteriaceae* in Deutschland

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung des Grades einer Doktorin

der Naturwissenschaften

- Doctor rerum naturalium -

(Dr. rer.nat.)

vorgelegt von

Johanna Hering

Gera

Hannover 2014

Wissenschaftliche Betreuung:

Univ.-Prof. Dr. Lothar Kreienbrock

Institut für Biometrie, Epidemiologie und Informationsverarbeitung

Univ.-Prof. Dr. Manfred Kietzmann

Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie

1. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Lothar Kreienbrock

   Univ.-Prof. Dr. Manfred Kietzmann

2. Gutachter: Prof. Dr. Stefan Schwarz

Tag der mündlichen Prüfung: 18.11.2014

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung 1
1.1 Resistenzen in Enterobakterien 2
1.2 ESBL-produzierende Enterobakterien 3
1.3 Zusammenhang zwischen Antibiotikaeinsatz und dem Auftreten resistenter Bakterien 7
1.4 Epidemiologische Querschnittsstudie im Forschungsverbund „RESET“ 11
2. Publikationen 15
2.1 Mastschweine 15
2.2 Masthähnchen 18
3. Übergreifende Diskussion 43
3.1 Studiendesign 43
3.1.1 Studienregion 43
3.1.2 Probennahme 45
3.1.3 Laboranalysen 48
3.1.4 Fragebogen 49
3.2 Ergebnisse 51
3.2.1 Mastschwein 51
3.2.2 Masthähnchen 56
3.3 Risikofaktoren 59
3.3.1 Statistische Modellbildung 59
3.3.2 Mastschwein 62
3.3.3 Masthähnchen 67
4. Schlussfolgerung 71
5. Zusammenfassung 74
6. Summary 76
Literaturverzeichnis 78
Anhang 92
a) Fragebogen Mastschwein 92
b) Fragebogen Masthähnchen 105

c) Einverständniserklärung 117
Abbildungsverzeichnis 121
Tabellenverzeichnis 121
Abkürzungsverzeichnis 122
Danksagung 123

1. Einleitung

Antimikrobielle Resistenzen stellen ein zunehmendes Problem in der Human- und Veterinärmedizin dar (Kaye et al., 2004; Goossens and Grabein, 2005). Immer mehr Bakterien entwickeln Eigenschaften, die sie unempfindlich gegenüber antibiotisch wirksamen Substanzen machen, so dass die bakteriostatische bzw. bakterizide Wirkung der Antibiotika dann nicht mehr gegeben ist und die Bekämpfung bakteriell verursachter Krankheiten somit erschwert wird.

Bei der Beschreibung von Resistenzen muss zwischen natürlicher und erworbener Resistenz unterschieden werden. So sind z.B. gram-negative Bakterien von Natur aus resistent gegen Vancomycin, da das Medikament die äußere Membran der Bakterien nicht durchdringen kann. Eine erworbene Resistenz hingegen bedeutet eine Veränderung im Genpool der Bakterien, so dass ein ehemals effektives Medikament nicht mehr wirkt (Kaye et al., 2004).

Natürliche oder intrinsische Resistenzen sind spezies- oder genusspezifische Eigenschaften, die hauptsächlich auf dem Fehlen von Zielstrukturen für Antibiotika oder auf Unzugänglichkeit der Zielstrukturen basieren. Erworbene Resistenzen sind stammspezifische Eigenschaften, die auf der Ausbildung von Mutationen oder dem Erwerb von Resistenzgenen basieren. Das Resistenzgen liegt meist auf einem Plasmid oder einem ähnlichen mobilen Element, welches durch vertikalen oder horizontalen Gentransfer an andere Bakterien übertragen werden kann. Beim vertikalen Gentransfer werden die Resistenzgene durch Zellteilung an die Tochtergeneration weitergegeben. Beim horizontalen Gentransfer werden die Gene an Bakterien anderer Arten durch den Austausch von Plasmiden oder anderen mobilen genetischen Elementen weitergegeben. Es gibt somit drei Möglichkeiten des Gentransfers: Intraspezies-Transfer innerhalb einer

Art, Interspezies-Transfer innerhalb einer Gattung und Intergenus-Transfer zwischen verschiedenen Gattungen (Schwarz et al., 2013).

Um die Effektivität von Antibiotika zu erhalten, ist ein bestimmungsgemäßer und verantwortungsbewusster Einsatz unverzichtbar. Hierfür sind regelmäßige Schulungen und Weiterbildungen der behandelnden Tierärzte erforderlich. Zur Orientierung dienen u.A. die Antibiotikaleitlinien der Bundestierärztekammer (Bundestierärztekammer und der Arbeitsgruppe Tierarzneimittel (AGTAM) der Länderarbeitsgemeinschaft Verbraucherschutz, 2010). Sie enthalten Informationen zur Wahl des geeigneten Wirkstoffes, Dosierung und Anwendungsdauer. Auch tierartenspezifische Unterschiede werden berücksichtigt. Die Leitlinien werden den neuesten wissenschaftlichen Erkenntnissen angepasst und regelmäßig aktualisiert.

1.1 Resistenzen in Enterobakterien

Eine große Gruppe von Bakterien sind die *Enterobacteriaceae*. Dabei handelt es sich um gram-negative Bakterien, die bei Mensch und Tier zur normalen Darmflora gehören. Pathogene Vertreter können beim Menschen Harn- und Atemwegsinfektionen, Wundinfektionen und sogar eine Lungenentzündung oder Sepsis auslösen (Nordmann et al., 2011). In der Veterinärmedizin können Enterobakterien beispielsweise Auslöser für Durchfallerkrankungen, Mastitiden und Salmonellosen sein (Plonait and Bickhardt, 1988; Dirksen et al., 2006).

Darmbakterien werden mit dem Kot ausgeschieden, gelangen in die Umwelt und können von anderen Wirten wieder aufgenommen werden und sich dort ansiedeln. Sie spielen deshalb eine Rolle beim Austausch von resistenten Keimen zwischen verschiedenen Lebensräumen (z.B. Tiere und Menschen) und zwischen verschiedenen Bakteri-

enspezies und -stämmen. Darmbakterien sind daher gute Indikatoren für das Auftreten von Resistenzen und bieten sich für die Resistenzforschung besonders an.

Da bei jeder antibiotischen Behandlung sowohl die eigentlich die Indikation verursachenden Bakterien wie auch andere (nicht Zielbakterien) „behandelt“ werden, können sich bei jeder antibiotischen Behandlung Resistenzen entwickeln. Die Weitergabe der Resistenzgene erfolgt dann vertikal (innerhalb der Enterobakterien) oder horizontal (auf andere Bakteriengenera). Erfolgt eine solche Behandlung bzw. die Resistenzentwicklung bei lebensmittelliefernden Tieren, so können die resistenten Bakterien über Lebensmittel auch auf den Menschen übertragen werden (Leverstein-van Hall et al., 2011; Overdevest et al., 2011; Eller et al., 2013). Somit ergibt sich bei der Erforschung der noch unklaren Resistenzmechanismen ein erhöhtes Verbraucherschutzpotential.

1.2 ESBL-produzierende Enterobakterien

Beta-Laktamasen mit erweitertem Wirkungsspektrum (ESBL) sind plasmidgebundene Enzyme, die den Beta-Laktamring von Antibiotika (siehe Abb. 1) hydrolysieren können. Dazu gehören vor allem alle Beta-Laktam-Antibiotika, wie die Penicilline, Cephalosporine und Monobaktame. Inzwischen gibt es auch weltweite Berichte über Carbapenem-Resistenzen. Beim Menschen wurden vor allem Carbapenemase produzierende Salmonellen entdeckt. Von großer Bedeutung ist aber auch das erst kürzlich beschriebene Vorkommen bei Haus- und Wildtieren sowie lebensmittelliefernden Tieren wie Geflügel, Rindern und Schweinen (Fischer et al., 2012; Stein et al., 2013; Guerra et al., 2014).

Die Resistenzgene werden bei der Zellteilung an die nächste Generation weitergegeben (vertikale Übertragung) oder auch zwischen verschiedenen Bakterienarten durch horizontalen Gentransfer übertragen (Shah et al., 2004).

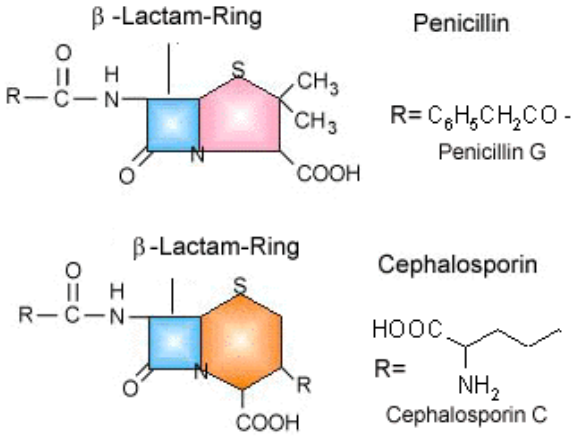

Abbildung 1: Beta-Laktam-Antibiotika
(mit freundlicher Genehmigung: Ernst-Georg Beck,
http://www.zum.de/Faecher/Materialien/beck/13/bs13-7.htm, Zugriff am 26.11.2013, CC-BY-SA)

ESBL-Enzyme weisen verschiedene Genotypen auf. CTX-M (Cefotaxim-resistent, Typ München) ist der häufigste Enzymtyp in Südamerika (Villegas et al., 2008), Afrika (Mshana et al., 2011), Asien (Yu et al., 2007; Zhang et al., 2013; Rao et al., 2014), den USA (Hoban et al., 2014) und Europa (Cantón et al., 2008; Nicolas-Chanoine et al., 2012; Wu et al., 2013).

In Deutschland treten am häufigsten die Typen CTX-M-1 und CTX-M-15 auf (Eller et al., 2013; Leistner et al., 2014), es wurde aber auch der seltene ESBL-Typ CTX-M-8 gefunden (Eller et al., 2014).

In den letzten Jahren häufen sich in der Human- und Veterinärmedizin generell Meldungen über das Auftreten von ESBL-produzierenden Enterobakterien in Deutschland (Eller et al., 2013; Laube et al., 2013; Schmid et al., 2013). Die genauen Resistenzmechanismen der Beta-Laktamase sind noch unklar, allerdings gibt es Hinweise auf eine

mögliche Übertragung resistenter Bakterien durch Menschen- bzw. Tierkontakte untereinander, Kontakte von Menschen mit Tieren sowie durch den Verzehr von tierischen Lebensmitteln (Ewers et al., 2011; Overdevest et al., 2011; Dierikx et al., 2013a). In einer aktuellen Fall-Kontroll-Studie wurden eine asiatische Muttersprache sowie der regelmäßige Verzehr von Schweinefleisch als Faktoren identifiziert, die mit der Kolonisation mit ESBL-bildenden *E. coli* assoziiert sind (Leistner et al., 2013). Inwiefern diese Berichte zunächst einzelne Beobachtungen darstellen oder aber ein wesentliches Risiko für die Resistenzentwicklung in der Bevölkerung darstellen, ist Gegenstand derzeit durchgeführter Risikoanalysen.

Mögliche Ursachen für die Übertragung resistenter Bakterien in der Tierhaltung sind zunächst Tierkontakte im Stall (Schouten et al., 2004; Correia-Gomes et al., 2013), sowie Tiertransporte innerhalb oder zwischen Regionen oder auch das Einbringen neuer Tiere in Bestände (Cernicchiaro et al., 2009; Zhang et al., 2010; Snow et al., 2012). Auch verunreinigte Futtermittel, sowie Tröge und Tränken können eine Rolle spielen (van der Wolf et al., 1999). Ebenso ist eine Übertragung resistenter Keime durch Insekten, Nager und Vögel denkbar (Guenther et al., 2011; Guenther et al., 2012). Ein großes Risiko stellt die Behandlung kranker Tiere über Futter oder Trinkwasser dar. Reste von Antibiotika können über längere Zeit in den Futtertrögen oder Tränkeleitungen verbleiben und so über Wochen in geringen Mengen durch die Tiere aufgenommen werden oder sich in der Tierumgebung ausbreiten. Eine Verteilung von Antibiotika in der direkten Umgebung von behandelten Tieren wurde in mehreren Studien nachgewiesen (Kietzmann et al., 1995; Hamscher et al., 2003; Scherz, 2013). Eine Langzeitgabe (21 Tage) von Enrofloxacin an Geflügel in geringer Dosierung (10 % der vorgegebenen Dosierung) führte zu einer Selektion hochgradig resistenter *E. coli* (Scherz et al., 2014). Eine Verschleppung von Antibiotika konnte auch in einer Studie

an Schweinen nachgewiesen werden. Es wurden unbehandelte Schweine über einen Zeitraum von fünf Tagen in Buchten untergebracht, wo zuvor andere Schweine oral mit Sulfadimidin behandelt wurden. Die Sulfadimidin-Konzentration im Urin der unbehandelten Schweine betrug daraufhin bis zu 4 µg/ml (Kietzmann et al., 1995).

Neuere Studien zeigen ein Vorkommen von resistenten Keimen in Luft und Boden außerhalb der Stallgebäude, welches somit eine weitere Gefahr zur Übertragung bzw. zum Eintrag resistenter Bakterien darstellt (Laube et al., 2014a).

Enterobakterien sind ubiquitär verbreitet und gelangen beispielsweise durch das Ausbringen von Gülle oder durch Abwasser in die Umwelt. Dort können resistente Bakterien unter anderem durch kontaminierte Ackerpflanzen in die Lebensmittelkette gelangen (Reinthaler et al., 2010).

Neben diesen grundsätzlichen Wegen der Erreger- und damit der Resistenzübertragung spielen die konkreten Mechanismen bei der Entstehung und Transmission ESBL-produzierender Enterobakterien eine besondere Rolle. Bezüglich der genauen Übertragungswege gibt es aber weiterhin große Wissensdefizite. Dies liegt zum einen daran, dass ESBL-produzierende Keime in der Nutztierhaltung erst seit einiger Zeit erforscht werden und zum anderen an der großen Heterogenität der durchgeführten Studien. Zwar gibt es mittlerweile einige Studien zur Resistenzlage bei lebensmittelliefernden Tieren, allerdings sind diese Studien nicht immer vergleichbar. Zum einen unterscheidet sich die Art der Probennahme. Es wird entweder Kot von lebenden Schweinen untersucht, Abstriche im Schlachtbetrieb genommen, Fleisch bzw. Lebensmittel beprobt oder es werden bereits anderweitig gewonnene Isolate für eine tiefergehende Betrachtung verwendet. Abgesehen davon, dass die einzelnen Länder, in denen die Untersuchungen stattfinden, nicht miteinander vergleichbar sind, da sie sich hinsichtlich ihrer landwirtschaftlichen Strukturen und der landestypischen Merkmale in der Tierhaltung

grundlegend voneinander unterscheiden, existieren zahlreiche Unterschiede im Studiendesign. Die Anzahl der untersuchten Betriebe und deren Lage spielt beispielsweise eine entscheidende Rolle. Lagen alle untersuchten Betriebe in der gleichen Region? Ist diese Region typisch für das jeweilige Land? Wie viele Tiere wurden beprobt? Wurde die Probennahme immer gleich ausgeführt? Welche Labormethode wurde verwendet? Diese und weitere Aspekte des Studiendesigns sind häufig nur unzureichend in der Literatur dokumentiert, oder unterscheiden sich explizit. Ein einheitlicher, international akzeptierter Standard zur Probennahme und zum epidemiologischen Studiendesign gibt es derzeit nicht, so dass ein umfassender Vergleich der unterschiedlichen Studien nicht möglich ist (Hille et al., 2014).

1.3 Zusammenhang zwischen Antibiotikaeinsatz und dem Auftreten resistenter Bakterien

Resistente Bakterien entstanden nicht erst mit dem Einsatz von Antibiotika, sondern schon lange zuvor. Antimikrobielle Substanzen werden natürlicherweise von Pilzen und Bodenbakterien gebildet, die dadurch einen Selektionsvorteil bezüglich Nahrung und Lebensraum erhielten. Die Bakterien waren zwar sehr viel geringeren Mengen an antimikrobiellen Stoffen ausgesetzt als in der heutigen Zeit, aber sie entwickelten bereits Eigenschaften, die sie vor den inhibitorischen Aktivitäten antimikrobieller Substanzen schützten. Mit der Einführung von Antibiotika in der Human- und Tiermedizin stieg die Zahl der resistenten Bakterien. Seit einiger Zeit treten auch Resistenzen gegen synthetisch hergestellte Antibiotika auf (Schwarz and Chaslus-Dancla, 2001).

Tabelle 1 zeigt die zeitliche Koinzidenz der Entdeckung und Einführung bestimmter Antibiotika im Zusammenhang mit dem ersten Auftreten resistenter Bakterien. Es ist

deutlich zu erkennen, wie schnell sich Bakterien dem selektiven Druck anpassen können.

Tabelle 1: Zusammenhang zwischen Produktion und Einführung bestimmter Antibiotika und dem Auftreten von resistenten Bakterien (SCHWARZ u. CHASLUS-DANCLA 2001)

Antibiotikum	Entdeckung/Produktion	Einführung in der Medizin	erstes Auftreten resistenter Bakterien
Penicillin	1940	1943	1940
Streptomycin	1944	1947	1947, 1956
Tetracyclin	1948	1952	1956
Erythromycin	1952	1955	1956
Vancomycin	1956	1972	1987
Nalidixinsäure	1960	1962	1966
Gentamycin	1963	1967	1970
Fluorochinolone	1978	1982	1985

Ein Zusammenhang zwischen dem Einsatz von Antibiotika und der Selektion resistenter Bakterien wurde in verschiedenen Studien nachgewiesen (Heinemann et al., 2000; Teuber, 2001; Carattoli, 2008; Liebana et al., 2013).

Der Einsatz von Antibiotika in der Veterinärmedizin ist in den letzten Jahren in den Fokus der Öffentlichkeit gerückt. Im Jahr 2010 wurde die Verordnung über das datenbankgestützte Informationssystem über Arzneimittel des Deutschen Instituts für Medizinische Dokumentation und Information (DIMDI-Arzneimittelverordnung) verabschiedet, welche gesetzlich vorschreibt, dass die in Deutschland verkauften Mengen an Antibiotika in der Veterinärmedizin erfasst werden müssen (Anonym, 2010). Die Auswertung der Daten, welche vom Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) durchgeführt wurde, zeigt einen Gesamtverbrauch von rund 1.706 Tonnen antibiotisch wirksamer Medikamente im Jahr 2011 im Veterinärbereich (BVL, 2013a). Im Jahr 2012 sank die verbrauchte Menge leicht, hier waren es etwa 1.619 Tonnen (BVL, 2013b).

Im Rahmen einer Querschnittsstudie in verschiedenen Regionen Deutschlands wurde ermittelt, dass in 495 Mastschweine haltenden Betrieben im Jahr 2011 20.375 kg Antibiotika eingesetzt wurden, darunter vor allem Tetrazykline und Beta-Laktame. Mastschweine wurden während der im Schnitt 115tägigen Mast an durchschnittlich 4,2 Tagen mit einem antibiotischen Wirkstoff behandelt. In 33 teilnehmenden Masthähnchenbetrieben wurden 3.645 kg Antibiotika im Jahr 2011 eingesetzt. Am häufigsten kamen Polypeptide und Beta-Laktame zum Einsatz. Während der durchschnittlichen Dauer der Hähnchenmast von 39 Tagen wurde jedes Tier im Schnitt an 10,1 Tagen mit einem Wirkstoff behandelt. Bei der Gabe eines Kombinationsproduktes mit mehreren Wirkstoffen reduziert sich die Anzahl der Behandlungstage entsprechend (van Rennings et al., 2013).

Auch, wenn ein direkter Zusammenhang auf Populationsebene bislang aussteht, zeigen aggregierte Daten einen Zusammenhang zwischen der Therapiehäufigkeit und dem Auftreten von resistenten Bakterien (Tab. 2). Die Therapiehäufigkeit ist die Anzahl der Tage, an denen jedes Tier in einer Herde durchschnittlich mit einem antibiotischen Wirkstoff behandelt wird. Dies bezieht sich auf Einzelwirkstoffe. Bei Kombinationspräparaten wird die Anwendung jedes Wirkstoffes separat gezählt. Die einzelnen Tierarten und Nutzungsrichtungen (Mastrind, Milchkuh, Mastschwein, Mastkalb, Mastpute und Masthähnchen) werden unterschiedlich häufig mit Antibiotika behandelt. Daher beziehen sich die Antibiotikaanwendungen für alle Tierarten auf eine Dauer von 100 Tagen. In Tabelle 2 ist ersichtlich, dass bei den verschiedenen Tierarten unterschiedlich hohe Resistenzraten auftreten. Je höher die Therapiehäufigkeit, desto höher sind auch die gefundenen Resistenzraten in Isolaten aus Lebensmitteln, die aus diesen Tierarten hergestellt wurden.

Tabelle 2: Zusammenhang von Therapiehäufigkeit und Antibiotikaresistenzen bei verschiedenen Tierarten (in Anlehnung an: http://www.bfr.bund.de/cm/343/zusammenhang-von-therapiehaeufigkeit-und-antibiotikaresistenzen.pdf)

Therapiehäufigkeit	Tierart	Resistenzrate
0,1	Mastrind	**24** %
1	Milchkuh	**20** %
4	Mastschwein	**77** %
7	Mastkalb	**83** %
22	Mastpute	**90** %
26	Masthähnchen	**90** %

Bei einer Behandlung mit Antibiotika sind neben den Zielbakterien auch immer Nicht-Zielbakterien betroffen. Diese können Resistenzen entwickeln, da der Wirkstoff speziell auf die Zielbakterien angepasst ist und somit eine Selektion resistenter Nicht-Zielbakterien fördert. Besonders bedeutsam ist eine ausreichend lange Gabe der Medikamente in vorgeschriebener Dosierung, da bei einem Abbruch der Behandlung oder bei Unterdosierung nicht alle pathogenen Bakterien eliminiert werden und ein Adaptieren der Bakterien an das Medikament möglich ist. Gegebenenfalls spielen auch Behandlungen kranker Tiere auf oralem Weg eine Rolle, da Reste der Antibiotika in Leitungen oder Trögen zurückbleiben können und so von den Tieren noch über Wochen oder Monate aufgenommen werden (McEwen and Fedorka-Cray, 2002).

In Deutschland gab es bisher keine systematischen Untersuchungen zur ESBL-Prävalenz bei Nutztieren, Lebensmitteln und dem Menschen. Aus diesem Grund wurde der Forschungsverbund RESET gegründet, welcher die Resistenzsituation untersucht und mögliche Übertragungswege und Risikofaktoren aufzeigt.

Ziel des Forschungsverbundes war es zudem, einen Vorschlag für einen Standard für Studiendesign und Labormethoden für die Untersuchung ESBL-bildender Bakterien in Tierbeständen festzulegen, welcher für folgende Studien genutzt werden kann. Dazu wurden verschiedene Probenarten getestet sowie eine genau definierte Anzahl an Betrieben und Tieren beprobt. Die Betriebe lagen dabei in vorher festgelegten, typischen Regionen. Zudem wurde ein umfangreicher und praxisnaher Erhebungsbogen für verschiedene Tierarten entwickelt sowie eine einheitliche Labormethode verwendet.

1.4 Epidemiologische Querschnittsstudie im Forschungsverbund „RESET“

Der Forschungsverbund RESET „ESBL and (fluoro)quinolone Resistance in *Enterobacteriaceae*“ (www.reset-verbund.de) ist ein vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) gefördertes Projekt, das sich mit der Erforschung von Resistenzen gegen Antibiotika bei Enterobakterien beschäftigt. Dazu wurden verschiedene sich ergänzende Studien von zehn Verbundpartnern und fünf weiteren assoziierten Partnern aus der Human- und Veterinärmedizin, der Grundlagen- und der angewandten Forschung sowie der Epidemiologie durchgeführt. Ziel des Verbundes war es, einen Überblick über die Resistenzsituation von Enterobakterien bei landwirtschaftlichen Nutztieren, in Lebensmitteln und im Menschen zu erlangen und mögliche Übertragungswege zu identifizieren. Daraus soll eine Risikobewertung für die Übertragung resistenter Bakterien auf den Menschen entwickelt und die Bedeutung für die menschliche Gesundheit abgeschätzt werden. Das Zusammenwirken der verschiedenen Studien ermöglicht eine globale Betrachtung der Resistenzproblematik und verknüpft epidemiologische, molekulargenetische und pharmakologische Daten, welche

auch weiterführend zur Kontrolle der Resistenzentwicklung (beispielsweise im Rahmen von DART) eingesetzt werden können.

Das Vorkommen von ESBL-bildenden Enterobakterien bei Krankenhauspatienten und in der Allgemeinbevölkerung wird mit Hilfe von Querschnitts- und Fall-Kontroll-Studien untersucht. Eine Querschnittsstudie am RKI beschäftigt sich mit der Verbreitung von ESBL-bildenden *E. coli* aus verschiedenen humanen Probenmaterialien, gewonnen von gesunden Probanden, aus ambulant erworbenen Infektionen und aus Krankenhausinfektionen. Die Verbreitung von ESBL-bildenden *E. coli* in der Allgemeinbevölkerung (gesunde Probanden) wurde bei insgesamt 3.000 Personen durch das LGL Bayern erhoben. Auch wurden vergleichende Untersuchungen zu ESBL-, AmpC- und Carbapenemase-bildenden Enterobakterien bei Mensch und Tier durchgeführt. In einer Fall-Kontroll-Studie an der Charité wurden 100 Patienten mit ESBL-Infektion oder -Kolonisation untersucht. Dazu wurden Abstriche bzw. klinische Isolate entnommen. Außerdem wurde mittels Fragebogen der Antibiotikaeinsatz in den letzten zwölf Monaten, die Ernährungsgewohnheiten, ob Auslandreisen durchgeführt wurden sowie andere Risikofaktoren wie Alter, Geschlecht und die Krankengeschichte erhoben. Zur weiteren Typisierung wurden die Isolate an das RKI gesendet. Patienten, die nicht mit ESBL infiziert bzw. kolonisiert waren, dienten als Kontrollgruppe. Somit konnten die durch ESBL verursachten Kosten, die Verweildauer, die Morbidität und die Mortalität berechnet werden. Auch bereits bestehende Daten aus anderen Studien wurden verknüpft und für die Risikofaktorenanalyse verwendet.

In landwirtschaftlichen Betrieben wurden ebenfalls Untersuchungen zum ESBL-Vorkommen durchgeführt. Dazu gab es Querschnitts- und Longitudinalstudien mit Untersuchungen verschiedener Nutztiere, der Stallumgebung und von Lebensmitteln. Das Ziel war zum einen, den Kenntnisstand der ESBL-Prävalenz in tierhaltenden Be-

trieben zu erweitern und zum anderen die Übertragungswege über Lebensmittel auf den Menschen zu erforschen. In einer Longitudinalstudie der Freien Universität Berlin wurde die Dynamik der Resistenzsituation in Nutztierhaltungen untersucht. Dazu wurde zunächst die ESBL-Prävalenz in schweine- und geflügelhaltenden Betrieben ermittelt und die Entwicklung des Resistenzstatus während der Mast beobachtet. Dabei wurden Stallmanagement, Hygienemaßnahmen und Antibiotikaeinsatz dokumentiert sowie der Einfluss des ESBL-Status zum Zeitpunkt des Einstallens auf die Herdenprävalenz untersucht. Des Weiteren wurde die direkte und indirekte Tierumgebung sowie die Luft außerhalb der Stallgebäude untersucht, um die Ausbreitung und das Übertragungsrisiko im Stall und die Emissionsfracht aus dem Stall abschätzen zu können. Studien der Universität Paderborn an mit Gülle gedüngtem Gemüse wurden durchgeführt, um die Übertragung resistenter Enterobakterien auf Feldfrüchte zu untersuchen. Es wurde die Aufnahme von Antibiotika durch die Gemüse Lauch und Weißkohl aus mit Gülle gedüngtem Boden untersucht und mögliche Auswirkungen antibiotikabelasteter pflanzlicher Lebensmittel auf die Resistenzentstehung und Verbreitung abgeschätzt.

Die im Folgenden dargestellten Ergebnisse, die im Rahmen einer epidemiologischen Querschnittsstudie der Tierärztlichen Hochschule Hannover erhoben wurden, haben die Analyse der Verbreitung und Übertragung ESBL-bildender *E. coli* bei verschiedenen Nutztierarten zum Ziel. Im Rahmen dieser Studie werden die Resultate phänotypischer Untersuchungen der Proben präsentiert, so dass im Folgenden von Cefotaxim-resistenten *E. coli* (CREC) berichtet wird. Dazu wurden in vier Regionen Deutschlands – dem Nordwesten, dem Osten, der Mitte und dem Süden – repräsentative Betriebe für die jeweilige Region ausgewählt. Die Betriebe sollten kommerziell eine der vier Tierarten Mastschwein, Masthähnchen, Milchvieh oder Mastrinder halten. Insgesamt wur-

den 124 landwirtschaftliche Betriebe untersucht. Pro Betrieb wurden in zwei Tiergruppen je drei Sammelkotproben, je ein paar Sockentupfer und je eine Sammelstaubprobe, d.h. insgesamt zehn Proben entnommen und auf das Vorkommen Cefotaxim-resistenter *E. coli* untersucht. Des Weiteren wurden zur Analyse möglicher Risikofaktoren und Übertragungswege in jedem Betrieb Daten mit Hilfe eines umfangreichen Fragebogens erhoben.

Im Rahmen dieser kumulativen Dissertationsschrift werden die Ergebnisse der Tierarten Mastschweine und Masthähnchen vorgestellt. Hierzu wird jeweils eine Publikation vorgelegt. Die Teilstudie zu Mastrindern und Milchkühen wird getrennt veröffentlicht und hier nicht näher betrachtet.

2. Publikationen

2.1 Mastschweine

Die nachfolgende Veröffentlichung beinhaltet für landwirtschaftliche Betriebe, welche Mastschweine halten, eine genaue Beschreibung des Studiendesigns sowie der Planung und Durchführung der Studie. Die CREC-Prävalenzen und identifizierte Risikofaktoren werden vorgestellt und diskutiert. Der Artikel wurde in der Fachzeitschrift „Preventive Veterinary Medicine“ (116(2014) 129-37 doi: 10.1016/j.prevetmed.2014.06.014) im Jahr 2014 veröffentlicht.

Prevalence and potential risk factors of cefotaxime resistant *Escherichia coli* in German fattening pig farms – a cross-sectional study

Johanna Hering[1)], Katja Hille[1)], Cornelia Frömke[1)], Christiane von Münchhausen[1)], Maria Hartmann[1)], Bettina Schneider[1)], Anika Friese[2)], Uwe Roesler[2)], Roswitha Merle[1)], Lothar Kreienbrock[1)]

[1)] Department of Biometry, Epidemiology and Information Processing, WHO Collaborating Centre for Research and Training in Veterinary Public Health, University of Veterinary Medicine Hanover, Foundation, Buenteweg 2, D-30559 Hannover, Germany

[2)] Institute for Animal Hygiene and Environmental Health, Department of Veterinary Medicine, Free University Berlin, Robert-von-Ostertag-Str. 7 – 13, D-14163 Berlin, Germany

Abstract

A cross-sectional study concerning farm prevalence and risk factors for the count of cefotaxime resistant *Escherichia coli* (*E. coli*) (CREC) positive samples per sampling group on German fattening pig farms was performed in 2011 and 2012. Altogether 48 farms in four agricultural regions in the whole of Germany were investigated. Faecal samples, boot swabs and dust samples from two sampling groups per farm were taken and supplemental data were collected using a questionnaire. On 85 % of the farms, at least one sample contained cefotaxime resistant *E. coli* colonies. Positive samples were more frequent in faeces (61 %) and boot swabs (54 %) than in dust samples (11 %). Relevant variables from the questionnaire were analysed in a univariable mixed effect Poisson regression model. Variables that were related to the number (risk) of positive samples per sampling group with a *p*-value < 0.2 were entered in a multivariable model. This model was reduced to statistically significant variables via backward selection. Factors that increased the risk for positive samples involved farm management and hygienic aspects. Farms that had a separate pen for diseased pigs had a 2.8 higher mean count of positive samples (95 %-CI [1.71; 4.58], p = 0.001) than farms without an extra pen. The mean count was increased on farms with under-floor exhaust ventilation compared to farms with over floor ventilation (2.22 [1.43; 3.46], p = 0.001) and more positive samples were observed on farms that controlled flies with toxin compared to farms that did not (1.86 [1.24; 2.78], p = 0.003). It can be concluded, that CREC are wide spread on German fattening pig farms. In addition the explorative approach of the present study suggests an influence of management strategies on the occurrence of cefotaxime resistant *E. coli*.

2.2 Masthähnchen

Im Rahmen der Querschnittsstudie wurden verschiedene Tierarten untersucht, wobei das Studiendesign und hierin insbesondere das Konzept der Probenentnahme und der Laboranalysen grundsätzlich für jede Tierart identisch waren. Die zweite Veröffentlichung bezieht sich auf die Ergebnisse bei der Haltung von Masthähnchen. Der Artikel wurde in der Fachzeitschrift „Preventive Veterinary Medicine“ im Jahr 2014 in der nachfolgenden Form eingereicht.

Prevalence and potential risk factors for the occurrence of cefotaxime resistant *Escherichia coli* in German broiler farms – a cross-sectional study

Johanna Hering[a], Katja Hille[a], Cornelia Frömke[a], Christiane von Münchhausen[a], Maria Hartmann[a], Bettina Schneider[a], Anika Friese[b], Uwe Roesler[b], Lothar Kreienbrock[a]

[a] Department of Biometry, Epidemiology and Information Processing, WHO Collaborating Centre for Research and Training in Veterinary Public Health, University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation, Buenteweg 2, D-30559 Hannover, Germany

[b] Institute for Animal Hygiene and Environmental Health, Department of Veterinary Medicine, Free University Berlin, Robert-von-Ostertag-Str. 7 – 13, D-14163 Berlin, Germany

Corresponding Author

Prof. Dr. Lothar Kreienbrock

Department of Biometry, Epidemiology and Information Processing

WHO Collaborating Centre for Research and Training in Veterinary Public Health

University of Veterinary Medicine, Hannover

Bünteweg 2

D-30559 H a n n o v e r

G E R M A N Y

Tel.: + 49 (0) 511 / 953-7950

Fax: + 49 (0) 511 / 953-7974

E-mail: lothar.kreienbrock@tiho-hannover.de

Abstract

In this cross-sectional study the farm prevalence of cefotaxime resistant *Escherichia coli* (CREC) as well as risk factors for the number of samples with CREC per flock in German broiler farms were evaluated. In total, 59 flocks on 34 broiler farms were sampled. The farms in four agricultural regions of Germany were examined. Per broiler flock, three faecal samples, a pair of boot swabs and one dust sample from the ventilation flap or the automatic feeder were taken and examined for the presence of CREC. CREC isolates were detected in samples from each farm (100 %). The proportion of positive samples was high in all three sample types (collective faecal samples: 80.8 %, boot swabs: 78.0 % and dust samples: 57.6 %).

A standardised questionnaire was used to capture data on possible risk factors. From 210 variables recorded in the questionnaire, 148 variables were excluded if one answer category was chosen less than five times due to sparse data problems. The 62 remaining variables were analysed with Poisson regression models with mixed effects. Seven variables with a p-value < 0.2 within the univariable analysis were entered into a multivariable model. After backward selection, only one risk factor remained. More positive samples were found if sheep, goats or horses were found within a 1 km radius of the respective farms ($p = 0.031$).

Keywords

antibiotic resistance, ESBL, epidemiologic study, broilers

1. Introduction

Extended-spectrum β-lactamases (ESBL) are enzymes produced by Gram-negative bacteria that confer resistance to most beta-lactam antibiotics. In the last years, the number of ESBL findings have increased in humans and also in food producing animals (Hiroi et al., 2012b; Friese et al., 2013; Laube et al., 2013). Previous studies have shown that ESBL-producing *Escherichia* (*E.*) *coli* are present on broiler farms throughout Europe. In Poland an individual animal prevalence of 55 % (18 out of 33) was found by Wasyl et al. (2012). Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring (SWEDRES-SVARM, 2013) reported a prevalence of 49 % in the 200 tested animals. From 76 faecal samples taken in Portugal from broilers at slaughterhouse level, 32 samples (42.1 %) contained cefotaxime resistant *E. coli* (Costa et al., 2009). In two studies from Switzerland, farm prevalences of 63.4 % (59 out of 93) and 25 % (30 out of 120) were observed (Endimiani et al., 2012; Geser et al., 2012).

The current cross-sectional study is part of the research network RESET (www.reset-verbund.de). The objective of this study was to evaluate the prevalence of CREC on broiler farms in four representative regions of Germany. In an explorative analysis potential risk factors for the appearance of these CREC should be assessed.

2. Material and Methods

2.1 Study population

Broiler farms in four regions of Germany with different agricultural structures (Merle et al., 2012) were sampled. In the course of the present project also farms keeping fattening pigs were analysed in a cross-sectional study following a similar protocol (He-

ring et al. 2014). Districts were chosen based on data on farm and animal density as published by the "Regionaldatenbank Deutschland" (www.regionalstatistik.de, 12. January 2010).

Participating farmers were informed and recruited at information events organised in collaboration with local farmers' associations and veterinary offices. The inclusion criterion was that farms had commercial broiler production. The sizes of the included farms are comparable with the sizes of commercial farms in the federal states where farms were sampled (Beck, 2014). All farmers who volunteered were included in the study after written consent.

Eleven farms were investigated in the northwest of Germany, four farms in Central Germany, seven farms in the eastern part and twelve farms in the south. In total, 59 flocks on 34 broiler farms were included. Flocks were defined as separate animal groups with no direct contact to each other. On 25 farms two flocks were investigated. On nine farms which only had one stable only one flock could be sampled. Flock size ranged from 12,000 to 45,200 animals.

2.2 Sampling and Laboratory investigations

All farms were visited between May 2011 and October 2012. Sampling and laboratory protocols were analogous to the accompanying study on pigs (Hering et al., 2014). If possible, two broiler flocks were sampled which were housed in separate stables. Per flock, three collective faecal samples were taken from the stable floor and one pair of boot swabs was taken inside the stable. Additionally, a dust sample from the ventilation traps was collected.

All microbiological analyses were carried out in the Institute for Animal Hygiene and Environmental Health of the Free University Berlin as previously described (Ref.). An amount of 0.1 g of dust was dissolved in PBS (phosphate-buffered saline) with 0.01 % TWEEN 20, shaken for 30 min and 1 ml of this solution was added to 9 ml Luria-Bertani(LB)-broth (Merck kGaA, Darmstadt, Germany). One boot swab and 25 g of each pooled faecal sample were inoculated in 125 ml and 225 ml LB-broth, respectively. The LB-broth was incubated aerobically at 37°C for 24 h and then streaked onto MacConkey agar plates (Oxoid, CM 0115, Wesel, GER) containing 1 mg/l cefotaxime. After incubation under the same conditions one characteristic *E. coli* colony was chosen randomly for each sample and the species was confirmed using MALDI TOF (Microflex™, Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Germany).

A sample was defined positive if upon cultivation of sample material on cefotaxime containing MacConkey agar colonies occurred and the bacterial species of these colonies was confirmed as *E. coli* by MALDI TOF.

2.3 Questionnaire

On each farm a questionnaire asking for factors possibly related to the occurrence of cefotaxime resistance was completed. The questionnaire was compiled for broiler farms, discussed and pre-tested in cooperation with different veterinarians and farmers. It consisted of three parts. The general part contained questions concerning the management, number of animals, contact between animals, agricultural and geographical aspects. The second part concentrated on stable management, feeding attributes and hygiene. The last part contained questions on the number and weight of the investigat-

ed animals, type of litter and administering of antibiotics. A printed version of the questionnaire was completed during the farm visit by the study epidemiologist.

2.4 Statistical analyses

The objective of the study was to estimate the prevalence of cefotaxime resistant *E. coli* (CREC) on German broiler farms. Occurrence of CREC on a broiler farm was defined as the finding of at least one positive sample out of three faecal samples, one pair of boot swabs and one dust sample in at least one out of two flocks. Secondary, associations among potential risk factors and the number of positive samples were investigated in an exploratory risk factor analysis.

Questionnaire information was included as factors in the risk factor analyses if all categories of the factor had at least five observations or if a merging of categories with less than five observations was possible. Associations among factors were investigated with Cramer's V and associated factors were entered into multivariable models only separately. In addition, the correlation matrix of the predicators computed for the multivariable models was examined for further multicollinearity. The influence of each potential risk factor on the number of positive samples was analysed with a univariable Poisson regression model for mixed effects. The model consisted of the fixed risk factor and the farms as a random effect reflecting the hierarchical structure of the study design. Candidate risk factors were included in the main multivariable analysis if the associated univariable p-value was < 20 %. In the multivariable analysis, the number of positive samples was dependent on the candidate risk factors (fixed effects) and the farm as a random effect. Risk factors were reduced to statistically significant factors using a backward selection with a cut-off point of $\alpha = 5$ %.

To verify the robustness of the results, several sensitivity analyses were conducted. First, the backward selected model based on the cut-off point of 5 % was compared with a model based on the Akaike Information Criteria (AIC). Furthermore, a logistic regression model to investigate associations among the potential risk factors and the occurrence of a positive sample was constructed. The outcome was the dichotomous information of a cefotaxime resistant vs. non-resistant sample. Due to the investigation of individual samples, a second level of hierarchy was introduced: five individual samples were measured within each flock per farm. Model construction was analogous to the Poisson regression model. First, potential risk factors were tested in univariable logistic regression models and all risk factors with a univariable *p*-value less than 0.2 entered into the multivariable model. All models consisted of the information of cefotaxime resistant / non-resistant sample dependent on the fixed risk factor(s). The random effects farm and the hierarchical term flock within a farm were investigated. In addition to the factors analysed with the Poisson regression model, the association between the sample type (faecal, boot swab or dust) and the outcome was modelled.

As final sensitivity analysis, a multivariable mixed Poisson regression model was constructed solely based on known risk factors for the transmission of *Enterobacteriaceae* and herd management recommendations (Persoons et al., 2011; EFSA, 2012; Torralbo et al., 2014). In this model 20 fixed factors were included: access to the stable for other people, number of broilers, breed: Cobb, keeping of pigs, keeping of cattle, duration of fattening period, housing out the whole flock at the same time, origin of water, average daily growth rates, average loss rate, spreading of slurry on fields, disinfection of hands before entering the stable, disinfection of boots, hygiene fluice, age of stables, number of broilers per flock, weight of the investigated broilers, bedding depth, treat-

ment of investigated group with antibiotics and treatment of investigated group with beta-lactam-antibiotics and the farm as the random effect.

Two-way interactions were investigated in the backward selected models. Interactions were considered relevant if $p < \alpha = 10$ %.

All analyses were based on two-sided hypotheses. Due to the explorative nature of the risk factor analyses, a multiplicity correction was omitted. SAS®, Version 9.3 TS Level 1M3 (SAS Institute Inc., 2012) and R, version 3.0.3 (R-Core-Team, 2014), with the R-package psych, version 1.4.3 (Revelle, 2014) were used for the statistical analyses.

3. Results

3.1 Description of laboratory results

The sampling of 59 flocks on 34 farms resulted in 177 faecal samples, 59 pairs of boot swabs and 59 dust samples. The proportion of samples from which cefotaxime resistant *E. coli* colonies could be cultivated was high in all sample types: About 81 % in faecal samples, 78 % in boot swabs and 58 % in dust samples (see Table 1).

On every farm at least one faecal sample was positive (Table 2). The number of positive samples from flocks from the same farm was comparable. In 18/25 = 72 % of the farms, both sampled flocks had a high number of positive faecal samples (2 or 3 out of 3). On 3 farms (12 %), in both flocks the number of findings was consistently low with a maximum of 1 positive faecal sample per flock. Large variability with 2 or 3 positive faecal samples in one flock and no positive faecal sample in the other flock was observed on only one farm (4 %).

3.2 Risk factors

In total 210 variables were captured from the questionnaire. Of these, 148 variables were excluded due to low variability to avoid sparse data problems. Therefore, 62 variables remained for the univariable analysis. Variables with a *p*-value less than 0.2 are shown in Table 3. In the multivariable analysis, the factor if grain was cultivated was excluded because it was highly associated with the factor of the size of the agricultural area.

The multivariable model contained seven variables. After the backward selection only one risk factor remained (see Table 4). Farms investigated in this study had a higher number of positive samples if sheep, goats or horses were found within a 1 km radius of the farm (ratio of count means = 1.37 [95 %-CI = 1.03; 1.82], $p = 0.031$). The amount of variance accounted for by the random effect farm was less than 0.001.

Compliance with model assumptions was examined with conditional and marginal residual plots. For thirteen samples the difference between the observed and predicted value based on the original data unit was in the range of 1.85 and 2.31. A reanalysis of the backward selected model resulted in the ratio of count means = 1.34 (95 %-CI = [0.94; 1.91], $p = 0.096$) showing similar point estimate and confidence limits and a larger *p*-value due to the reduced sample size compared to the main model.

The main model resulted in an underdispersion of 0.39 which may indicate conservative statistical inference. Furthermore, the accuracy of the model was investigated with a confusion matrix comparing the observed values with the predicted ones. Exact agreement of observed and predicted values was found in 34 % of the data pairs and a κ-coefficient of 0.111. With a precision of ±1, agreement was found in 78 % pairs with

a weighted κ-coefficient of 0.250 (score matrix: score = 1 for precise or ±1 agreement, 0 otherwise).

To test the robustnessof the results, sensitivity analyses were performed. To verify the results of the main analysis, the mixed Poisson model was rerun with variables selected according to the AIC instead of a backward selection. In this model, the risk factor "sheep, goats or horses within a 1 km radius of the farm" had ratio of count means of 1.44 (95 %-CI = [1.08; 1.92], $p = 0.016$). In addition, farms with an average loss rate per year larger than 2.5 % had a 1.28 higher count mean compared to farms with a loss rate/year of at most 2.5 % (95 %-CI = [0.96; 1.70, $p = 0.087$]). Thirty-seven percent of the pairs of observed and predicted number of positive samples had the same value (κ-coefficient = 0.166). With a precision of ±1.78 % the pairs showed agreement (weighted κ-coefficient = 0.315).

In the multivariable logistic regression analysis with backward selection the risk factor of sheep, goats or horses within a 1km radius of the farm was found as well (odds ratio OR = 7.59, 95 %-CI = [2.96; 19.43], $p < 0.001$). In addition, on farms with qualified staff caring for the broilers the odds for a positive sample was increased by 5.35 compared to farms without qualified staff (95 %-CI = [2.06; 13.90], $p = 0.001$). Smaller odds for the occurrence of positive samples were found on farms which housed out the whole flock at the same time compared to farms which did not (OR = 0.33 [0.13; 0.81], $p = 0.016$). Furthermore, on farms with more than 7.5 fattening rounds per year the odds of positive samples were increased by 2.74 (95 %-CI = [1.03; 7.27], $p = 0.043$) compared to farms with less than 7.5 fattening rounds/year. Smaller occurrences of positive samples were found in dust samples compared to faecal samples (OR = 0.13, 95 %-CI = [0.05; 0.34], $p < 0.001$). Two two-way interactions had a *p*-value less than 10 %: i) the odds ratio for the comparison of faecal vs. dust as well as

faecal vs. boot swap samples were higher on farms with more than 7.5 fattening rounds compared to farms with at most 7.5 rounds and ii) the odds ratio for the comparison of faecal vs. dust samples was higher on farms with sheep, goats or horses within a 1 km radius of the farm compared to farms without. All interactions were quantitative, i.e. the effects had the same directions (see table 4 for detailed results of the interaction contrasts). In this model, the variance for the farms was 0.312 and for the flocks on one farm < 0.001.

In the multivariable Poisson regression model based on common herd management recommendations no significant risk factors remained after backward selection.

4. Discussion

The data presented here were collected with a similar protocol for different types of livestock in Germany (Hering et al., 2014). High percentages of positive samples were found in broilers. On each of the 34 broiler farms in this study, at least one sample was positive.

These results are comparable to other studies. In Belgian broilers, ceftiofur-resistant *E. coli* were found in 92.3 % of individual faecal swabs taken on 32 farms (Persoons et al., 2011). In two studies from the Netherlands chicken meat was sampled. Of these meat samples 94 % (n = 98) and 79.8 % (n = 89) were positive for cefotaxime resistant *E. coli* (CREC) (Leverstein-van Hall et al., 2011; Overdevest et al., 2011). On five broiler farms in Belgium, up to 100 individual cloacal swabs per farm were investigated for ESBL-producing *E. coli*. The animal prevalence was 27 % (133 out of 489 broilers) while the farm prevalence was 100 % (5 out of 5) (Smet et al., 2008). Blanc et

al. (2006) took faecal samples from 10 broiler farms in Spain and found ESBL-producing *E. coli* on all of these farms. Another study from the Netherlands found 100 % of 26 investigated broiler farms to be positive for ESBL-producing *E. coli* (Dierikx et al., 2013). In Germany, Friese et al. (2013) investigated eight broiler fattening farms by analysing pooled faecal samples. ESBL-positive samples were observed on all eight investigated farms. *E. coli* belongs to the natural intestinal flora and ESBL-producing clones seem to spread very quickly in poultry flocks and can easily be disseminated to other bacteria even without selective pressure (Shah et al., 2004; Hiroi et al., 2012a).

When comparing dust samples in our studies on broiler and fattening pig farms, the proportion of positive dust samples was much higher on broiler farms (60 % vs. 9 %) (Hering et al., 2014). It can be assumed that dust on pig farms mainly contains feed and skin particles, whereas in broiler stables it also contains feathers and litter particles and therefore also dried faeces (Pearson and Sharples, 1995). This assumption is in line with the study by Laube et al. (2013). Therefore, more attention should be paid to the filtration of exhaust air in order to avoid the emission of bacteria into the environment.

The presence of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* in sheep and horses has been described earlier (Vo et al., 2007; Ramos et al., 2013). Possible sources of transmission are rats or flies inside the stable and the surrounding (Guenther et al., 2012; Blaak et al., 2014). Other animal species like sheep and horses in surrounding stables are often housed in old stables in villages with many niches where germs can hardly be removed. In combination with indirect transmission, e.g. via stable boots, this might explain the factor we identified: Sheep, goats or horses within 1 km radius of farms. Therefore, this factor may be interpreted in terms of a collective group of responsible risk factors, in this case the more general structure of the farm environment. This result

is similar to the results from the study on pig farms, where key areas of risk were identified and model-based risk factors may be interpreted as proxies for these areas (Hering et al., 2014).

Nevertheless, it must be pointed out that the highly standardised farm management in Germany limited the scope to detect significant differences. This is due to a small number of broiler-companies setting strict rules for their members, which restricts individual management on the farms.

This fact, as well as the expected prevalence, was not known beforehand. The required number of farms was determined prior to data collection, based on the approximate two-sided 95 %-confidence interval for one proportion. Taking into account a prevalence of 20 % with an absolute error of ±10 %, approximately 50 flocks had to be investigated. With the study data this power-calculation even holds true on the farm-level if farm-prevalences are set at 80 %. Nonetheless, this power-calculation is not suitable to perform a risk analysis.

Therefore, all descriptions of risk factors have to be interpreted on an exploratory level. Multiple adjustment was left out in order to visualise associations between outcome and described factors (Bender and Lange, 2001).

The risk factor "sheep, goats or horses within a 1 km radius of the farm" was detected in all models. The variables selected according to the Poisson model with the smallest AIC showed that also farms with an average loss rate per year larger than 2.5 % had a higher risk for the presence of ESBL-producing *E. coli*. A high loss rate indicates health-problems within the herd which may be caused by resistant bacteria or more generally result in an increase in antimicrobial treatment.

In the logistic regression model, farms with qualified employees caring for the broilers had a higher risk for positive samples than farms without qualified staff. These employees may transmit bacteria from stable to stable. People with a high degree of contact with live broilers, like the farm personnel, have an increased risk of ESBL carriage (Huijbers et al., 2014). If the whole flock was housed out at the same time the number of positive samples was smaller than on farms that house out in two steps. Bacteria may be transmitted by personnel who catch the biggest animals prior to housing out the remaining flock. Farms with more than 7.5 fattening runs per year had a higher number of positive samples. A large number of fattening runs leads to a short servicing period between the fattening runs. In this short space of time, maybe not all bacteria can be removed from the stables by cleaning and disinfection (Bragg and Plumstead, 2003).

For ceftiofur-resistant *E. coli*, the following risk factors were identified by Persoons et al. (2011): Poor hygienic condition of the medicinal treatment reservoir, no acidification of drinking water, more than three feed changes during the production cycle, hatchery of origin, breed, litter material used and treatment with amoxicillin. Some hygiene measures are also included in our univariable analyses (Table 3) but did not remain after multivariable adjustment. Antibiotic treatment during fattening cannot always explain higher rates of ESBL-producing bacteria (Cohen Stuart et al., 2012). As even one-day old broilers are already positive when they are housed in, the transmission of resistant bacteria from parent and grand-parent poultry to broilers has been suggested (Bortolaia et al., 2010; Laube et al., 2013).

Conclusion

The recent study was the first cross-sectional study concerning prevalence and risk factors for ESBL-producing *E. coli* in broilers in different regions of Germany. On all farms cefotaxime resistant *E. coli* were detected. The prevalence in all sample types was high. On the investigated large scale fattening farms management strategies are highly standardised. This reduces the possibility of identifying factors that may be starting points for developing intervention strategies to reduce the transmission of resistances. Further studies are necessary to reduce the burden of resistant bacteria on broiler farms.

Acknowledgements

This study is part of the RESET Consortium financially supported by the German Federal Ministry of Education and Research (BMBF) through the German Aerospace Center (DLR), grant number 01KI1013A (RESET).

The authors wish to thank all participating farmers and veterinarians and the project partners of RESET. Special thanks for the laboratory analyses go to Maja Thieck, Henriette Laube and Christina von Salviati and Bettina Schneider for their support with data management.

Conflict of interest statement

The authors had no conflicts of interest.

References

Beck, M.M., 2014. MEG-Marktbilanz Eier und Geflügel 2014. Eugen Ulmer KG.

Bender, R., Lange, S., 2001. Adjusting for multiple testing—when and how? J Clin Epidemiol. 54, 343-349.

Blaak, H., Hamidjaja, R.A., van Hoek, A.H.A.M., de Heer, L., de Roda Husman, A.M., Schets, F.M., 2014. Detection of Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)-Producing *Escherichia coli* on Flies at Poultry Farms. Appl Environ Microbiol. 80, 239–246.

Blanc, V., Mesa, R., Saco, M., Lavilla, S., Prats, G., Miró, E., Navarro, F., Cortés, P., Llagostera, M., 2006. ESBL- and plasmidic class C β-lactamase-producing *E. coli* strains isolated from poultry, pig and rabbit farms. Vet Microbiol. 118, 299–304.

Bortolaia, V., Bisgaard, M., Bojesen, A.M., 2010. Distribution and possible transmission of ampicillin- and nalidixic acid-resistant *Escherichia coli* within the broiler industry. Vet Microbiol. 142, 379–386.

Bragg, R.R., Plumstead, P., 2003. Continuous disinfection as a means to control infectious diseases in poultry. Evaluation of a continuous disinfection programme for broilers. Onderstepoort J Vet Res. 70, 219-229.

Cohen Stuart, J., van den Munckhof, T., Voets, G., Scharringa, J., Fluit, A., Leverstein-Van Hall, M., 2012. Comparison of ESBL contamination in organic and conventional retail chicken meat. Int J Food Microbiol. 154, 212–214.

Costa, D., Vinué, L., Poeta, P., Coelho, A.C., Matos, M., Sáenz, Y., Somalo, S., Zarazaga, M., Rodrigues, J., Torres, C., 2009. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* isolates in faecal samples of broilers. Vet Microbiol. 138, 339-344.

Dierikx, C., van der Goot, J., Fabri, T., van Essen-Zandbergen, A., Smith, H., Mevius, D., 2013. Extended-spectrum-β-lactamase- and AmpC-β-lactamase-producing *Esche-*

richia coli in Dutch broilers and broiler farmers. J Antimicrob Chemother. 68, 60-67.

EFSA, 2012. Scientific Opinion on the use of animal-based measures to assess welfare of broilers. EFSA Journal 2012 10, 2774.

Endimiani, A., Rossano, A., Kunz, D., Overesch, G., Perreten, V., 2012. First countrywide survey of third-generation cephalosporin-resistant *Escherichia coli* from broilers, swine, and cattle in Switzerland. Diagn Microbiol Infect Dis. 73, 31-38.

Friese, A., Schulz, J., Laube, H., 2013. Faecal occurrence and emissions of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (laMRSA) and ESBL/AmpC-producing *E. coli* from animal farms in Germany. Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 126, 175–180.

Geser, N., Stephan, R., Hachler, H., 2012. Occurrence and characteristics of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Enterobacteriaceae* in food producing animals, minced meat and raw milk. BMC Vet Res. 8, 21.

Guenther, S., Bethe, A., Fruth, A., Semmler, T., Ulrich, R.G., Wieler, L.H., Ewers, C., 2012. Frequent Combination of Antimicrobial Multiresistance and Extraintestinal Pathogenicity in *Escherichia coli* Isolates from Urban Rats (*Rattus norvegicus*) in Berlin, Germany. PLoS ONE 7, e50331.

Hering, J., Hille, K., Frömke, C., von Münchhausen, C., Hartmann, M., Schneider, B., Friese, A., Rösler, U., Merle, R., Kreienbrock, L., 2014. Prevalence and potential risk factors for the occurrence of cefotaxime resistant *Escherichia coli* in German fattening pig farms-A cross-sectional study. Prev Vet Med. 116, 129-137.

Hiroi, M., Matsui, S., Kubo, R., Iida, N., Noda, Y., Kanda, T., Sugiyama, K., Hara-Kudo, Y., Ohashi, N., 2012a. Factors for occurrence of extended-spectrum β-lactamase-producing *Escherichia coli* in broilers. J Vet Med Sci. 74, 1635–1637.

Hiroi, M., Yamazaki, F., Harada, T., Takahashi, N., Iida, N., Noda, Y., Yagi, M., Nishio, T., Kanda, T., Kawamori, F., Sugiyama, K., Masuda, T., Hara-Kudo, T., Ohashi, N., 2012b. Prevalence of Extended-Spectrum β-Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Food-Producing Animals. J Vet Med Sci. 74, 189-195.

Huijbers, P.M.C., Graat, E.A.M., Haenen, A.P.J., van Santen, M.G., van Essen-Zandbergen, A., Mevius, D.J., van Duijkeren, E., van Hoek, A.H.A.M., 2014. Extended-spectrum and AmpC β-lactamase-producing *Escherichia coli* in broilers and people living and/or working on broiler farms: prevalence, risk factors and molecular characteristics. J Antimicrob Chemother.

Laube, H., Friese, A., von Salviati, C., Guerra, B., Käsbohrer, A., Kreienbrock, L., Roesler, U., 2013. Longitudinal monitoring of extended-spectrum-beta-lactamase/AmpC-producing *Escherichia coli* at German broiler chicken fattening farms. Appl. Environ Microbiol. 79, 4815–4820.

Leverstein-van Hall, M.A., Dierikx, C.M., Cohen Stuart, J., 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., on behalf of the national, E.s.g., 2011. Dutch patients, retail chicken meat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains. Clin Microbiol Infect. 17, 873–880.

Merle, R., Busse, M., Rechter, G., Meer, U., 2012. Regionalisierung Deutschlands anhand landwirtschaftlicher Strukturdaten. Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 125, 52-59.

Overdevest, I., Willemsen, I., Rijnsburger, M., Eustace, A., Xu, L., Hawkey, P., Heck, M., Savelkoul, P., Vandenbroucke-Grauls, C., van der Zwaluw, K., Huijsdens, X., Kluytmans, J., 2011. Extended-Spectrum β-Lactamase Genes of *Escherichia coli* in Chicken Meat and Humans, the Netherlands. Emerging Infect Dis. 17.

Pearson, C.C., Sharples, T.J., 1995. Airborne Dust Concentrations in Livestock Buildings and the Effect of Feed. J Agr Eng Res. 60, 145-154.

Persoons, D., Haesebrouck, F., Smet, A., Herman, L., Heyndrickx, M., Martel, A., Catry, B., Berge, A.C., Butaye, P., Dewulf, J., 2011. Risk factors for ceftiofur resistance in *Escherichia coli* from Belgian broilers. Epidemiol Infect. 139, 765–771.

R-Core-Team, 2014. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL http://www.R-project.org/.

Ramos, S., Igrejas, G., Silva, N., Jones-Dias, D., Capelo-Martinez, J.-L., Caniça, M., Poeta, P., 2013. First report of CTX-M producing *Escherichia coli*, including the new ST2526, isolated from beef cattle and sheep in Portugal. Food Control. 31, 208-210.

Revelle, W., 2014. psych: Procedures for Personality and Psychological Research. Northwestern University, Evanston, Illinois, USA, http://CRAN.R-project.org/package = psych Version = 1.4.3.

SAS Institute Inc., 2012. SAS/STAT 9.3 SAS User's Guide. SAS, Cary, North Carolina, USA.

Shah, A.A., Hasan, F., Ahmed, S., Hameed, A., 2004. Characteristics, epidemiology and clinical importance of emerging strains of Gram-negative bacilli producing extended-spectrum β-lactamases. Res Microbiol. 155, 409-421.

Smet, A., Martel, A., Persoons, D., Dewulf, J., Heyndrickx, M., Catry, B., Herman, L., Haesebrouck, F., Butaye, P., 2008. Diversity of extended-spectrum β-lactamases and class C β-Lactamases among cloacal *Escherichia coli* isolates in belgian broiler farms. Antimicrob Agents Chemother. 52, 1238–1243.

Swedres-Svarm, 2013. Use of antimicrobials and occurrence of antimicrobial resistance in Sweden 2012. Swedish Institute for Communicable Disease Control and National Veterinary Institute, Solna/Uppsala.

Torralbo, A., Borge, C., Allepuz, A., García-Bocanegra, I., Sheppard, S.K., Perea, A., Carbonero, A., 2014. Prevalence and risk factors of *Campylobacter* infection in broiler flocks from southern Spain. Prev Vet Med. 114, 106-113.

Vo, A.T.T., van Duijkeren, E., Fluit, A.C., Gaastra, W., 2007. Characteristics of extended-spectrum cephalosporin-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from horses. Vet Microbiol. 124, 248-255.

Wasyl, D., Hasman, H., Cavaco, L., Aarestrup, F., 2012. Prevalence and characterization of cephalosporin resistance in nonpathogenic *Escherichia coli* from food-producing animals slaughtered in Poland. Microb Drug Resist. 18, 79–82.

Table 3: Frequency (n, %) of samples by sample type and broiler farms which showed bacterial growth on MacConkey agar containing 1 mg/l cefotaxime

Sampling material	Cefotaxime resistant *E. coli*		
	Not resistant	Resistant	Total
Faeces	34 19.2	143 80.8	177
Boot swabs	13 22.0	46 78.0	59
Dust	25 42.4	34 57.6	59
Total number of samples	72 24.4	223 75.6	295
Farms	0 0.0	34 100.0	34

Table 4: Patterns of positive and negative samples

Farms with two flocks							
Faeces			Boot swabs		Dust		Number of farms
1 - 2	3-4	5 - 6	1	2	1	2	
■	■	■	■	■	■	■	6
■	■	■	■	■	■	□	5
■	■	■	■	■	□	□	5
■	■	■	□	□	■	□	1
■	■	□	■	□	■	■	1
■	■	□	■	□	■	□	1
■	■	□	□	□	■	■	1
■	■	□	□	□	■	□	1
■	■	□	□	□	□	□	1
■	□	□	■	□	■	■	1
■	□	□	■	□	■	□	1
■	□	□	■	□	□	□	1
Sum							25

Farms with one flock					
Faeces			Boot swaps	Dust	
1	2	3	1	1	
■	■	■	■	■	2
■	■	■	□	■	1
■	■	□	■	■	3
■	■	□	■	□	1
■	□	□	■	□	2
Sum					9

■ positive samples

□ negative samples

Table 4: Variables and corresponding rate ratios with 95 %-confidence interval in the multivariable models

Variable	Category		Poisson model after backward selection (main model)		Logistic regression model after backward selection		Poisson model with smallest AIC	
	reference		Ratio of mean counts (95 % CI)	*p*-value	Odds ratio (95 % CI)	*p*-value	Ratio of mean counts (95 % CI)	*p*-value
Sheep/goats/horses within 1 km radius of farm	no	yes	1.37 (1.03; 1.82)	0.031	7.59 (2.96; 19.43)	< 0.001	1.44 (1.08; 1.92)	0.016
Average loss rate per year	> 0 - ≤2.5	> 2.5	-	-	-	-	1.28 (0.96; 1.70)	0.087
Qualified employees caring for the broilers	no	yes	-	.	5.35 (2.06; 13.90)	0.001	-	-
Housing out the whole flock at the same time	no	yes	-	-	0.33 (0.13; 0.81)	0.016	-	-
Number of fattening runs	≥0 - ≤7.5	> 7.5	-	-	2.74 (1.03; 7.27)	0.043	-	-
Type of sample			n.a.[1]			< 0.001	n.a.	
	faecal	dust	n.a.		0.13 (0.05; 0.34)	< 0.001	n.a.	
	faecal	boot swap	n.a.		0.54 (0.17; 1.72)	0.298	n.a.	
Interaction: Type of sample by number of fattening runs						0.091		
Comparison faecal vs. dust	≥0 - ≤7.5	> 7.5	n.a.		6.54 (1.04; 41.33)	0.046	n.a.	
Comparison faecal vs. boot swap	≥0 - ≤7.5	> 7.5	n.a.		5.70 (0.72; 45.40)	0.100	n.a.	
Interaction: Type of sample by sheep/goats/horses within 1 km radius of farm						0.061		
Comparison faecal vs. dust	no	yes	n.a.		5.00 (1.09; 22.91)	0.038	n.a.	
Comparison faecal vs. boot swap	no	yes	n.a.		0.64 (0.09; 4.54)	0.651	n.a.	

[1]n.a. = not available

3. Übergreifende Diskussion

In anderen europäischen Ländern zeigt sich eine hohe Prävalenz von ESBL-produzierenden Enterobakterien in Nutztierbeständen (Horton et al., 2011; Dierikx et al., 2013b; Liebana et al., 2013). Die hiermit vorgestellte Querschnittsstudie zur Resistenzsituation bei landwirtschaftlichen Nutztieren ist die erste systematische epidemiologische Studie zur CREC-Prävalenz bei Mastschweinen und Masthähnchen in Deutschland (Ergebnisse zu Mastrindern und Milchkühen werden an anderer Stelle publiziert; siehe auch (Schmid et al., 2013)). Ziel der Studie war es, Erkenntnisse über die Resistenzsituation bei gesunden landwirtschaftlichen Nutztieren in Deutschland zu erlangen und mögliche Faktoren zu identifizieren, die mit dem Auftreten von Resistenz assoziiert sind, um somit eine Grundlage für weitere Maßnahmen zur Reduktion der Ausbreitung von Resistenzen zu erhalten. Dabei wurde ein globaler Ansatz gewählt, in dem die wichtigsten Nutztierarten eingeschlossen wurden. Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Daten von Mastschweinen und Masthähnchen für eine tiefergehende Auswertung ausgewählt.

3.1 Studiendesign

3.1.1 Studienregion

Die zu untersuchenden Betriebe sollten in unterschiedlichen Regionen liegen, um ein repräsentatives Ergebnis für ganz Deutschland zu erhalten. Diese Regionen, die sich hinsichtlich ihrer landwirtschaftlichen Struktur unterscheiden, wurden in einer

vorangegangenen Untersuchung mit Hilfe von Methoden der Clusteranalyse ermittelt (Merle et al., 2012). Im Nordwesten und der Mitte Deutschlands werden hauptsächlich Milchvieh und Mastschweine gehalten. Besonders im Nordwesten sind die Betriebe groß mit einer hohen Tierzahl pro Betrieb. Im Süden hingegen gibt es vor allem kleinere Betriebe mit Milchvieh und Rindermast. Im Osten werden zum Großteil Geflügel und Mastschweine gehalten. Die sehr großen Betriebe im Osten Deutschlands befinden sich häufig auf ehemaligen landwirtschaftlichen Produktionsgenossenschaften. Im Rahmen der hier durchgeführten Untersuchungen wurde angestrebt, in jeder Region die gleiche Anzahl an Betrieben je Tierart zu untersuchen. Aufgrund der örtlichen Gegebenheiten, wie z.B. ein Überschuss an Schweinemastbetrieben in der Mitte Deutschlands oder das Vorhandensein von sehr wenigen, aber großen Masthähnchenbetrieben im Osten, wurde hiervon im Sinn einer allgemeinen Proportionalität zum Teil abgewichen.

Pro Region wurden ein oder mehrere repräsentative Landkreise ausgewählt, die untersucht werden sollten. In diesen Landkreisen fanden Informationsveranstaltungen zur Studie statt, welche vom zuständigen Veterinäramt oder einem landwirtschaftlichen Verband angekündigt wurden. Zu diesen Treffen wurden Landwirte eingeladen, welche eine gewerbliche Haltung von Mastschweinen, Masthähnchen, Mastrindern oder Milchkühen praktizierten. Die meisten der an der Informationsveranstaltung teilnehmenden Landwirte erklärten sich bereit, ihren Betrieb untersuchen zu lassen. Weitere Betriebe wurden nach persönlicher Kommunikation zusätzlich aufgenommen. Somit wurde ein Großteil der Betriebe des jeweiligen Landkreises erfasst. Es erfolgte keine Vorselektion der Betriebe; der Resistenzstatus des Betriebs war vorab nicht bekannt.

Insgesamt kann somit festgestellt werden, dass das ausgewählte Untersuchungskollektiv als repräsentativ für die deutsche Nutztierhaltung angesehen werden kann. Damit können die Ergebnisse der Untersuchung auf diese Zielgesamtheit verallgemeinert werden.

3.1.2 Probennahme

Gemäß EG-Verordnung 2160/2003 soll die Prävalenz der zu untersuchenden Keime auf die epidemiologische Einheit bezogen werden. Dies sind in unserem Fall pro Betrieb jeweils zwei Tiergruppen, wobei möglichst die jüngste und die älteste Gruppe ausgewählt wurde, um den Verlauf der Besiedelung mit resistenten Keimen beurteilen zu können. Außerdem kann so einer Fehlklassifizierung entgegen gewirkt werden, da bei Beprobung nur einer Herde pro Betrieb eine falsch-negative Eingruppierung des Betriebes wahrscheinlicher ist (EFSA, 2007). Pro Tiergruppe wurden drei Sammelkotproben, ein Paar Sockentupfer sowie eine Sammelstaubprobe entnommen. Die Untersuchung der verschiedenen Probenarten erfolgte, um die Übertragung der resistenten Keime durch den Stallstaub in die Umwelt zu überprüfen. Über den Kot der Tiere ausgeschiedene Bakterien können entweder auf den Stallgang gelangen und werden dort mit Hilfe von Sockentupfern aufgenommen, oder sie werden durch die Luft aufgewirbelt und in der untersuchten Sammelstaubprobe erfasst. Zum Nachweis von Enterobakterien im Stall und der Umgebung ist es daher üblich, Kotproben und Sockentupfer zu verwenden (Buhr et al., 2007; Marin and Lainez, 2009; Nathues et al., 2013). Die Anzahl der Proben sowie das Probenahmeverfahren wurden an die Grundlagenstudien der European Food Safety

Authority (EFSA) angepasst, welche fünf Kotproben und zwei Staubproben vorgibt (Käsbohrer and Heckenbach, 2006; EFSA, 2007).

Die Kotproben wurden an verschiedenen Stellen (mehrere Buchten bzw. verteilt über die Länge des Hähnchenmaststalles) genommen, um den Status des gesamten Abteils zu erhalten und sicherzustellen, dass Kot von vielen verschiedenen Tieren erfasst wird (BVL, 2012). Die Sockentupfer im Mastschweinestall wurden auf dem Gang zwischen den Buchten entnommen. Dazu wurden zunächst Stiefelüberzieher angezogen und darauf die Sockentupfer, um eine Kontamination zu vermeiden. Die Staubproben sollten einen Überblick über resistente Bakterien in der Tierumgebung bieten. Dazu wurde die Fensterbank, Futterautomaten oder Lüftungsklappen beprobt.

Diese Art der Probenahme wurde auch in weiteren Studien des Forschungsverbundes durchgeführt (Fischer et al., 2012; Laube et al., 2013; Schmid et al., 2013). Zur Vergleichbarkeit der Ergebnisse mit anderen Studien ist es notwendig, standardisierte Verfahren zu etablieren (Hille et al., 2014). Dies bedeutet einerseits die Auswahl des Studienkollektives mit Hilfe eines strukturierten Erhebungsplans inklusive der detaillierten Festlegung, welche Proben wie entnommen werden und wie diese verpackt und versendet werden sollen sowie die Festlegung eines adäquaten Probenumfanges. Dieser Probenumfang wird im Allgemeinen so berechnet, dass die wahre Prävalenz eines Erregers bzw. hier der Resistenz in der Zielpopulation mit einer vorgegebenen Genauigkeit und einer Sicherheitswahrscheinlichkeit von 95 % überdeckt werden kann (Kreienbrock et al., 2012).

Die Probennahme der hier berichteten Untersuchungen orientierte sich an den Vorgaben der EFSA bzw. des Zoonosen-Monitorings. Die EU-weit koordinierten Grundlagenstudien der EFSA legen fest, dass die Mitgliedsländer der EU bestimmte Zoonosen und Zoonoseerreger umfassend überwachen und die Ergebnisse jährlich der EFSA übermitteln müssen. Dazu liegen detaillierte Protokolle zur Probennahme vor und die Labormethoden sind für jeden Erreger genau festgelegt. Diese Verfahren gelten für alle 27 EU-Mitgliedsstaaten und müssen strikt eingehalten werden. Ziel der Untersuchungen ist die Gewinnung von vergleichbaren und repräsentativen Daten zu Prävalenz und Resistenzen bestimmter Erreger (EFSA, 2012). In Deutschland dient dazu als Grundlage die Richtlinie 2003/99/EG zur Überwachung von Zoonosen und Zoonoseerregern. Dazu wird vom Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) jährlich ein neuer Stichprobenplan entwickelt. Er enthält beispielsweise konkrete Vorgaben über die zu untersuchenden Zoonoseerreger, die Anzahl der zu untersuchenden Proben, die genauen Probenahmeverfahren und die anzuwendenden Labormethoden. Das BfR wird dabei von einer Expertengruppe aus Sachverständigen der Länder beraten und berücksichtigt die Vorgaben der Europäischen Kommission und der EFSA (BVL, 2012).

Zusammengefasst kann daher festgestellt werden, dass die verwendeten Techniken zur Entnahme von Proben sowie deren Anzahl dem derzeitigen Stand der Wissenschaft entsprechen. Zudem ist davon auszugehen, dass der Erhebungsplan als Grundlage für zukünftige Untersuchungen verwendet werden kann.

3.1.3 Laboranalysen

Die Verwendung von einheitlichen Verfahren ist notwendig, da es sonst auch bei einem einheitlichen Probenahmeverfahren zu unterschiedlichen Prävalenzen kommen kann. Die Anzahl der positiven Proben ist beispielsweise nach Anreicherung deutlich höher als nach einem Direktausstrich (Laube et al., 2013; Reich et al., 2013). Daher wurde im Forschungsverbund ein grundsätzlich einheitliches Verfahren der Laboranalysen entwickelt.

Nach Entnahme der Proben wurden diese gekühlt und noch am gleichen Tag an das Institut für Tier- und Umwelthygiene der Freien Universität Berlin geschickt. Ebenfalls in Anlehnung an die Empfehlungen der EFSA wurden international standardisierte mikrobiologische Nachweisverfahren verwendet. Zum Nachweis von ESBL-bildenden *E. coli* wird ein Direktausstrich auf Selektivagar empfohlen (BVL, 2012). Die Proben wurden auf MacConkey-Agar mit 1 mg/l Cefotaxim ausgestrichen und inkubiert. Für jede Probe wurde eine charakteristische *E. coli*-Kolonie zufällig ausgewählt und die Art mit Hilfe der MALDI TOF (Microflex ™, Bruker Daltonik GmbH, Bremen) bestätigt. Durch die Verwendung von Selektivagar ist die Labormethode sehr sensitiv, da nur resistente Bakterien wachsen. Die Verwendung von MacConkey-Agar zur Bestimmung ESBL-bildender Enterobakterien ist auch in der humanmedizinischen Mikrobiologie üblich (Chander and Shrestha, 2013; Machado et al., 2013). Die Bestätigung der Bakterienart per MALDI TOF bietet eine zusätzliche Sicherheit und verhindert das Auftreten falschpositiver Ergebnisse (Pavlovic et al., 2013). Eine Quantifizierung des Keimgehaltes fand nicht statt.

Die bevorzugte Methode für die selektive Isolierung von ESBL-bildenden Bakterien ist ein chromogener Agar (z. B. MacConkey-Agar) mit 1 mg / l Cefotaxim oder Ceftriaxon. Die Verwendung von geringen Konzentrationen des Antibiotikums führt zu einer optimalen Empfindlichkeit des Tests. Eine Anreicherung in einem Medium wie Mueller- Hinton, wie bei unserer Studie durchgeführt, wird empfohlen. ESBL-Produzenten sind resistent gegen Cefotaxim; daher können sie phänotypisch bestimmt werden (EFSA, 2011).

Durch die Einhaltung der Vorgaben bezüglich der Analyseverfahren wurde somit eine Vergleichbarkeit von Studienergebnissen erreicht. Da diese auch in internationalen Studien zur Anwendung kommt (EFSA, 2011), ist auch von einer hohen externen Validität auszugehen.

3.1.4 Fragebogen

Zur Analyse möglicher Risikofaktoren für das Auftreten von Cefotaxim-resistenten *E. coli* in Mastbetrieben ist es notwendig, einen speziellen Erhebungsbogen zu verwenden. Im Gegensatz zu den verwendeten Labormethoden liegen für die Befragung von tierhaltenden Betrieben bisher keine allgemein anerkannten standardisierten Erhebungsinstrumente vor. Dies liegt zum einen an den unterschiedlichen Betriebsstrukturen in verschiedenen Ländern, welche unterschiedliche Fragen erfordern und zum anderen an den bisher nur in begrenzter Zahl durchgeführten Befragungen, so dass eine Validierung dieses Untersuchungsinstruments gar nicht oder nur im lokalen Kontext einer durchgeführten Untersuchung erfolgt. Da ein gut entwickelter Fragebogen ein wichtiges Instrument zur Datenerfassung darstellt und eine Vergleichbarkeit unterschiedlicher Studien garantiert,

sollten zukünftig Standards für die Befragung tierhaltender Betriebe in Deutschland festgelegt werden (Hille et al., 2014).

Da in der vorgestellten Studie mehrere Tierarten untersucht wurden, war für jede Tierart ein separater Fragebogen erforderlich. Dazu wurden bereits bestehende Fragebögen aus Vorgängerstudien verwendet und angepasst. Als Grundlage diente ein Fragebogen zu Salmonellen-Infektionen bei Schweinen in Nordwestdeutschland (Gotter et al., 2012b). Die tierartspezifischen Fragen zu Masthähnchen, Milchkühen und Mastrindern wurden in Zusammenarbeit mit Fachtierärzten für die jeweiligen Tierarten entwickelt. Die Fragebögen zu den verschiedenen Tierarten wurden harmonisiert und allgemeine Fragen zum Betrieb waren jeweils unter der gleichen Fragennummer zu finden. Die tierartspezifischen Teile enthielten Fragen zur Organisation der Ställe, Fütterung, Leistungsdaten und dem Hygienemanagement des Betriebes. Auch diese Fragen waren inhaltlich identisch und wurden unter der gleichen Fragennummer geführt, aber auf die jeweilige Tierart angepasst. Der Fragebogen wurde im Rahmen der Studie in einem Probedurchlauf bei Landwirten auf seine Praxistauglichkeit getestet. Die Befragung wurde von der Probennehmerin durchgeführt, um zu garantieren, dass alle Fragen richtig interpretiert und keine Frage unbeantwortet blieb.

Daher kann davon ausgegangen werden, dass das hier verwendetet Untersuchungsinstrument eine bestmögliche interne Validität besitzt.

3.2 Ergebnisse

3.2.1 Mastschwein

Bei insgesamt 48 Mastschweine haltenden Betrieben wurden Cefotaxim-resistente *E. coli* in 62 % der Kotproben, 54 % der Sockentupfer und 11 % der Staubproben gefunden. Da *E. coli* zur natürlichen Darmflora gehört, wurden die meisten Bakterien im Kot festgestellt. Die Entnahme der Sockentupfer-Proben fand am Stallboden innerhalb der Abteile statt. Diese enthielten somit auch Kot und weisen ähnlich hohe CREC-Funde auf. Insgesamt wurden positive Kotproben in 83 % der Betriebe, positive Sockentupfer in 73 % der Betriebe und positive Staubproben in 21 % der Betriebe gefunden. In sieben Betrieben (15 %) wurden keine Cefotaxim-resistenten *E. coli* nachgewiesen.

Die beiden untersuchten Tiergruppen pro Betrieb hatten den größtmöglichen Altersunterschied und waren so weit wie möglich voneinander entfernt eingestallt. Wenn vorhanden, wurden die jüngsten und die ältesten Mastschweine beprobt, um festzustellen, ob es zwischen Anfang und Ende der Mastperiode einen unterschiedlichen Resistenzstatus gibt. Die unterschiedliche Lage der Abteile sollte Rückschlüsse auf die Übertragung innerhalb eines Betriebes erlauben, auch wenn die Tiere keinen Kontakt haben. Dabei konnte beobachtet werden, dass in den meisten Betrieben (58 %) beide Tiergruppen ähnlich hohe CREC-Quoten aufwiesen (zwei bis drei von drei positiven Kotproben). In 29 % der Betriebe wurde keine oder eine positive Kotprobe pro Tiergruppe entdeckt. Nur in 12 % der Betriebe war der Unterschied zwischen den Gruppen größer. Hier wies eine Gruppe drei positive Kotproben auf und die andere keine oder eine. Eine mögliche Erklärung für die konstant hohen Resistenzquoten ist möglicherweise die Übertragung von resistenten Bak-

terien bereits im Zuchtbereich. Hier könnte eine Besiedelung bereits im Ferkelalter stattfinden und bis in den Mastbereich bestehen bleiben (Liebana et al., 2013). Auch wenn die Tiere in unterschiedlichen Abteilen gehalten werden, verlieren sie die resistenten Bakterien offenbar nicht wieder.

Betrachtet man die unterschiedlichen Altersgruppen anhand des Gewichtes der untersuchten Tiere, stellt sich heraus, dass die jüngsten Tiere mit unter 50 kg mehr Cefotaxim-resistente *E. coli* aufweisen (84 %), als die zweite Gewichtsgruppe mit 50 bis 80 kg (64 %) und die ältesten Tiere mit mehr als 80 kg (68 %). Der Unterschied ist statistisch nicht signifikant, deutet aber auf eine höhere Besiedelung mit resistenten Bakterien am Anfang der Mastperiode hin, was in anderen Studien bereits beschrieben wurde (Hansen et al., 2013).

Die Ergebnisse anderer Studien weisen mit 5 bis 15 % deutlich geringere Anzahlen ESBL-produzierender *E. coli* auf (Machado et al., 2008; Geser et al., 2011). Lediglich in Spanien enthielten 80 % der 10 untersuchten Mastschweine haltenden Betriebe ESBL-bildende *E. coli* (Mesa et al., 2006). In Deutschland wurde erst eine weitere epidemiologische Studie zu ESBL-produzierenden *E. coli* bei Mastschweinen, ebenfalls im Rahmen des Projektes RESET, durchgeführt. Von den 16 dort untersuchten Betrieben wurden in 7 (43,75 %) ESBL-bildende *E. coli* entdeckt (Friese et al., 2013).

Die unerwartet hohe Anzahl an positiven Proben liegt zum einen möglicherweise daran, dass Resistenzen sich dynamisch entwickeln und sich in den letzten Jahren ausgebreitet haben. Andererseits fanden bisher keine systematischen Untersuchungen in Nutztierbeständen in Deutschland statt, die Aussagen über die Entwicklung der Resistenzsituation

ermöglicht hätten. Zudem wurden deutlich mehr Betriebe beprobt, als in den vergleichbaren Studien anderer Länder und eine sensitive Labormethode mit Selektivagar wurde angewendet. Eine Bestätigung ESBL-verdächtiger Kolonien mittels PCR fand bisher nur für andere Teilstudien des Reset-Verbundes statt, welche nach dem gleichen Schema beprobt und analysiert wurden. In diesen anderen Studien wurde ein positiver prädiktiver Wert von 85 % der Cefotaxim-resistenten Isolate ermittelt (Friese et al., 2013; Laube et al., 2013). Der positive prädiktive Wert (ppW) gibt hier an, wie groß die Wahrscheinlichkeit ist, dass die ESBL-verdächtigen Kolonien auch als wirklich resistent bestätigt werden. Dieser Wert ist grundsätzlich von der Sensitivität und der Spezifität der Laboranalysen abhängig, vor allem aber auch von der Prävalenz des zu untersuchenden Phänomens (Kreienbrock et al., 2012). Auch bei hoher Spezifität ist bei geringen Prävalenzen die Gefahr von Verzerrungen hoch, d.h. es werden dann Proben als falsch-positiv klassifiziert (Abb. 2). Niedrige Prävalenzen erzeugen dann einen niedrigen positiven prädiktiven Wert. Je größer allerdings die Prävalenz, desto kleiner ist die Fehlklassifikation (Kreienbrock et al., 2012).

Die mit dem verwendeten Laborverfahren gefundene Prävalenz $P_{apparent}$ (auch apparente Prävalenz genannt) setzt sich somit mit der Wahrscheinlichkeit Sen aus den wirklich positiven Proben und mit der Wahrscheinlichkeit (1–Spez) aus den falsch-positiven Proben zusammen, d.h. es gilt

$$P_{apparent} = P_{Studie} \times \mathrm{Sen} + (1 - P_{Studie}) \times (1 - \mathrm{Spez}), \qquad (*)$$

wobei P_{Studie} die Prävalenz bezeichnet, die man in der Studienpopulation erhalten würde, wenn man ein perfektes labordiagnostisches Verfahren mit Sen = 100 % und Spez =

100 % verwenden würde. In diesem Sinne stellt der positive prädiktive Wert den Anteil der wahr positiven an der apparenten Prävalenz dar, d.h. es gilt

$$\mathrm{ppw} = \frac{P_{\mathrm{Studie}}}{P_{\mathrm{app}}}, \qquad (**)$$

Da man im vorliegenden Fall unterstellen kann, dass für die Sensitivität Sen = 100 % gilt, lässt sich somit für die Studie eine Schätzung der Spezifität des Verfahrens ableiten, denn aus (*) und (**) folgt direkt

$$\mathrm{Spez}_{\mathrm{geschätzt}} = 1 - \frac{P_{\mathrm{app}} - \mathrm{Sen} \cdot \mathrm{ppw} \cdot P_{\mathrm{app}}}{1 - \mathrm{ppw} \cdot P_{\mathrm{app}}} . \qquad (***)$$

Unterstellt man also ppW = 85 % sowie eine apparente Prävalenz von P_{app} = 60 %, so ergibt sich eine geschätzte Spezifiät $\mathrm{Spez}_{\mathrm{geschäzt}}$ = 81,6 %. Damit kann vor dem Hintergrund der hier gefundenen Prävalenzen in der Regel davon ausgegangen werden, dass die ESBL-verdächtigen Kolonien auch tatsächlich als solche bestätigt werden. Dies wird auch in Abb. 2 deutlich, die den relativen Fehler bei der Schätzung der Prävalenz vor dem Hintergrund der hier gemachten Überlegungen in Abhängigkeit von den hier getroffenen Annahmen zeigt.

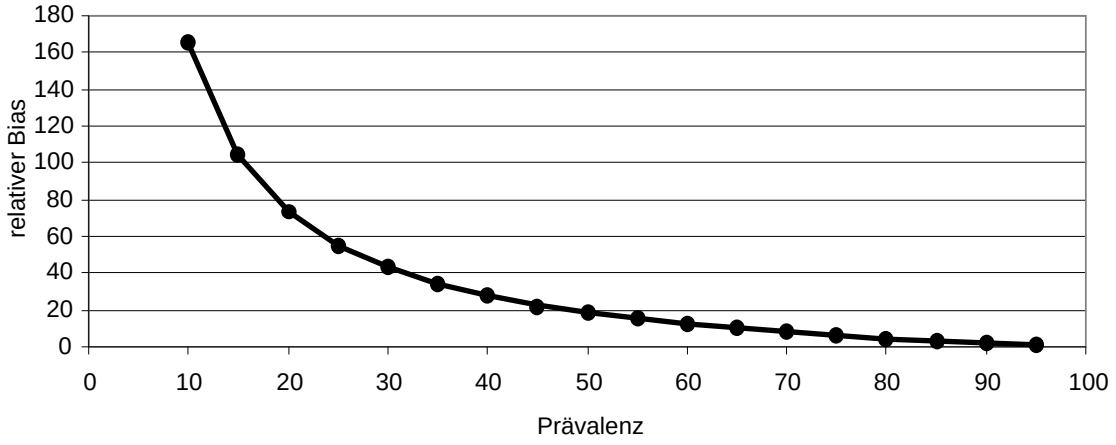

Abbildung 2: Fehlklassifikation bei Prävalenzschätzung (Sensitivität = 100 %, Spezifiät = 81,6 %)

Insgesamt zeigt sich also, dass das gewählte diagnostische Verfahren bereits auf der Ebene der gefundenen Verdachtsproben eine hohe Verlässlichkeit hat und durchaus empfohlen werden kann, dass in weiteren Studien oder Monitoringprogrammen hierauf zurückgegriffen werden sollte, so dass der Aufwand einer anschließenden Bestätigung nur dann angezeigt ist, wenn eine tiefergehende mikrobiologische Bewertung zu erfolgen hat. Damit kann nicht davon ausgegangen werden, dass die hier im Vergleich zu anderen Autoren gefundenen höheren Anteile resistenter Enterobakterien auf ein sensitiveres Laborverfahren zurückzuführen sind, sondern tatsächlich höhere Anteile in der Zielpopulation anzunehmen sind.

Denkbar ist allerdings, dass die Studienergebnisse durch eine Teilnahmeselektion beeinflusst worden sind, d.h. dass ein Selektionseffekt aufgrund der freiwilligen Teilnahme der Landwirte vorliegt. So ist ggf. zu erwarten, dass Betriebe mit weniger gutem Management nicht teilgenommen haben und eine Beprobung dieser Betriebe eher zu noch höheren Anteilen von Resistenz geführt hätte. Inwiefern die unterschiedlich hohen Anteile von Fun-

den resistenter Enterobakterien in ausländischen Studien auch durch Unterschiede in den landwirtschaftlichen Strukturen zwischen den Ländern sowie zwischen verschiedenen Regionen in einem Land verursacht worden sein können bzw. auch ein in jüngster Zeit aufgetretener besonderer Selektionsdruck aufgetreten ist, kann hier nicht weiter beurteilt werden.

3.2.2 Masthähnchen

Die Untersuchung von 34 Masthähnchenbetrieben ergab eine Betriebsprävalenz von 100 %. Die Verteilung der positiven Proben auf die verschiedenen Probenarten zeigte auch hier einen höheren Anteil in Kotproben (80,8 %) und Sockentupfern (77,0 %) als im Staub, welcher mit 57,6 % allerdings auch einen erhöhten Anteil positiver Proben aufweist.

Die Anzahl an Studien zur ESBL-Prävalenz bei Masthähnchen ist bisher gering. Die Ergebnisse der hier vorgelegten Untersuchung sind vergleichbar mit anderen Studien, welche ebenfalls eine Prävalenz von 100 % aufdeckten (Persoons et al., 2011; Dierikx et al., 2013a; Friese et al., 2013; Huijbers et al., 2014). Studien, in denen Einzeltiere beprobt wurden, zeigen eine geringere Prävalenz von ca. 50 % (Smet et al., 2008; Wasyl et al., 2012; Kameyama et al., 2013). Die Tendenz scheint aber auch hier steigend zu sein, so wurde in einer aktuellen Studie eine Einzeltierprävalenz von 91 % gefunden (Abreu et al., 2014). Aufgrund der Sammelkotproben ist die Bestimmung der Einzeltierprävalenz bzw. der Intraherdenprävalenz in unserer Studie nicht möglich.

ESBL-produzierende Enterobakterien verbreiten sich in Geflügelbeständen durch die hohen Tierzahlen auf engem Raum und kontaminierte Ställe, in denen auch durch Reinigung und Desinfektion nicht alle Bakterien eliminiert werden, sehr schnell (Hiroi et al., 2012). Die hohe Anzahl an resistenten Bakterien im Staub ist möglicherweise damit zu erklären, dass im Staub eines Hähnchenmaststalles neben Futterbestandteilen und Hautschuppen auch Federn und Einstreumaterial verbunden mit Kot enthalten sind (Pearson and Sharples, 1995). Außerdem wird der Staub häufig durch das Herumflattern der Tiere aufgewirbelt und verteilt sich im gesamten Stall. Somit werden hier deutlich höhere Prävalenzen erreicht als beispielsweise im Staub eines Schweinemaststalles. Dies ist im Hinblick auf einen Austrag resistenter Bakterien durch die Abluft der Mastställe besonders kritisch zu betrachten. ESBL-produzierende *E. coli* wurden daher bereits in der Umgebungsluft außerhalb der Ställe nachgewiesen (Laube et al., 2014a).

In den hier untersuchten Betrieben verringerte sich die CREC-Prävalenz im Laufe der Mastperiode in geringem Maße, aber nicht statistisch signifikant. So zeigten Tiere im Alter von 0-13 Tagen eine Prävalenz von 80 %, mit 13-28 Tagen 74 % und Tiere, die über 28 Tage alt waren 73 % (nicht in 3 berichtet). Dieses Resultat ist im Einklang mit anderen Untersuchungen, bei denen beschrieben wurde, dass Küken direkt nach dem Einstallen in den Maststall ESBL-positiv getestet wurden (Cohen Stuart et al., 2012; Laube et al., 2013). Die Besiedelung findet scheinbar bereits in den Brütereien statt, so dass hohe Prävalenzen in den Betrieben vor diesem Hintergrund sehr plausibel sind. Eine Untersuchung von Niederländischen Großeltern- und Elterntierbetrieben sowie Masthähnchen zeigte hohe Anteile von resistenten Bakterien in allen Stufen der Broilerproduktion. Die ESBL-Prävalenz bei den Großeltern- und Elterntierherden war dabei allerdings geringer als die

der Masthähnchen, welche innerhalb der ersten Woche von 0-24 % auf 96-100 % anstieg und sich bis zur Schlachtung nicht mehr veränderte (Dierikx et al., 2013b). In einer Longitudinalstudie von Laube et al. (2013) hingegen stieg die ESBL-Prävalenz im Laufe der Mastperiode. Eine mögliche Ursache für diesen Unterschied liegt in der Art der Beprobung.

Wegen der identischen Probenverarbeitung in beiden Studien zu Schweinen und Broilern gelten die Überlegungen zur diagnostischen Sicherheit auch für die Überlegungen bei Broilern analog, wobei durch die höheren Prävalenzen hier der relative Fehler der Prävalenzschätzung als noch geringer einzustufen ist.

Dies gilt auch, wenn eine Selektion von Betrieben durch die freiwillige Teilnahme an der Studie diskutiert wird. Trotz einer potentiellen Selektion gut geführter Betriebe wurde eine Betriebsprävalenz von 100 % beobachtet, so dass nicht anzunehmen ist, dass ein anderes Kollektiv substantielle Änderungen der Ergebnisse hätte erzeugen können. Auch eine Untersuchung einer größeren Anzahl an Betrieben hätte hier vermeintlich nur zu einer geringen Veränderung in der Prävalenz geführt.

Es ist daher auch hier davon auszugehen, dass die gefundenen Anteile resistenter Bakterien eine hohe Verlässlichkeit besitzen und Unterschiede zu den Befunden anderer Autoren eher in anderen Betriebsstrukturen bzw. einem zeitlichen Trend bei der Resistenzentwicklung zu suchen sind.

3.3 Risikofaktoren

3.3.1 Statistische Modellbildung

Um eine Assoziation des Auftretens resistenter Bakterien zu verschiedenen Faktoren vorzunehmen, wurde ein umfangreicher Erhebungsbogen in jedem Betrieb nach Abschluss der Probennahme ausgefüllt. Um Missverständnissen in der Fragestellung vorzubeugen, wurde der Fragebogen gemeinsam von der Probennehmerin und dem Landwirt bearbeitet, so dass ein hohes Maß an Standardisierung erfolgt ist. Dies garantiert auch, dass für jeden Betrieb ein Fragebogen vorhanden ist, im Gegensatz zu Studien, bei denen ein Fragebogen zugesendet wird und die Rücksendung eventuell nicht erfolgt (Derks et al., 2013; Mughini-Gras et al., 2014; Pothmann et al., 2014). Zur Analyse von Risikofaktoren wurden die Daten aus den Fragebögen mit den Laborergebnissen über statistische Modelle verknüpft.

Für einige Risikofaktoren, bei denen es mehrere Antwortmöglichkeiten mit jeweils einer geringen Anzahl an Antworten gab, wurden Kategorien angelegt, um die Anzahl der Beobachtungen zu erhöhen und somit aussagekräftigere Faktoren zu erhalten. Bei einzelnen Variablen zeigte sich, dass diese von fast allen teilnehmenden Betrieben gleich beantwortet wurden. Auch, wenn diese Variablen hoch mit dem Auftreten von Resistenzen verknüpft sind, war es dann nicht möglich, diese Variablen statistisch zu bewerten. Wenn weniger als fünf Beobachtungen pro Kategorie auftraten, wurde der Risikofaktor nicht weiter in Betracht gezogen, da die mangelnde Variabilität im Untersuchungskollektiv keine sinnvolle statistische Modellbildung ermöglichte. Faktoren wurden auf gegenseitige Assoziation mittels Cramer’s V (Fleiss et al., 2003) und der Auswertung der Korrelati-

onsmatrix der Faktoren aus den Modellen überprüft. Assoziierte Faktoren wurden nur getrennt in mehrfaktorielle Modelle aufgenommen. Damit konnte bei der Modellbildung sichergestellt werden, dass keine Faktoren in das statistische Modell aufgenommen wurden, die einen zufälligen Zusammenhang mit der Zielgröße hatten.

Für jeden potentiellen Risikofaktor wurde ein einfaktorielles Poisson-Regressionsmodell erstellt, welches die Anzahl der positiven Proben in Bezug zu dem jeweiligen Risikofaktor als festen Effekt enthielt. Der Betrieb wurde als zufälliger Effekt hinzugefügt, um die hierarchische Struktur der Studie abzubilden. Die Faktoren, die im einfaktoriellen Modell in Zusammenhang zum Auftreten von Resistenz einen p-Wert $< 0{,}2$ zeigten, wurden in ein mehrfaktorielles Modell zur weiteren statistischen Analyse übernommen. Das mehrfaktorielle Modell enthielt die Anzahl der positiven Proben in Abhängigkeit von möglichen Risikofaktoren als feste Effekte und dem Betrieb als zufälligen Effekt (Brown and Prescott, 2006). Durch das Entfernen nicht statistisch signifikanter Variablen durch die Rückwärtsselektion zu $\alpha = 5$ % wurden für beide Tierarten Faktoren ermittelt, welche das Auftreten resistenter Bakterien begünstigen. Aufgrund der hohen Anzahl positiver Proben und der limitierten Anzahl an Betrieben müssen diese Faktoren allerdings zurückhaltend interpretiert werden, so dass es sinnvoll war, die ermittelten Faktoren mit Hilfe von Sensitivitätsanalysen zur Modellbildung zu überprüfen. So erfolgte als Alternative zur Rückwärtsselektion im Poisson-Regressionsmodell eine Selektion der Variablen basierend auf dem Akaike-Informationskriterium (Dohoo et al., 2009). Ein weiteres alternatives Modell wurde als logistische Regression auf Basis der fünf Einzelproben pro Tiergruppe in Anlehnung an das Hauptmodell erstellt. In diesem Modell wurde zusätzlich zum Betrieb der verschachtelte Effekt Tiergruppe innerhalb des Betriebes als zufälliger Term ins Modell

aufgenommen (H. Stryhn (persönliche Kommunikation mit C. Frömke am 6. September 2013)). Zusätzlich wurde eine mehrfaktorielle Poisson-Regression basierend auf biologischen Kriterien modelliert. Diese Kriterien beinhalteten beispielsweise Anzahl und Kontakt anderer Tiere zu den untersuchten Masttieren, die Herkunft der Masttiere, Herkunft von Futter und Tränkwasser und die Häufigkeit der Desinfektion der Ställe. Die Modellbildung der drei alternativen mehrfaktoriellen Modelle erfolgte analog zum beschriebenen Poisson-Regressionsmodell mit Rückwärtsselektion. Zusätzlich wurde der Einfluss von Zweifach-Wechselwirkungen zu $\alpha = 10$ % untersucht.

Die einfaktorielle Poisson-Regression wurde zudem noch für jede Probenart separat modelliert, um weitere alternative Prüfungen vorzunehmen.

Alle *p*-Werte der paarweisen Tests und Konfidenzintervalle wurden für zweiseitige Hypothesen berechnet. Da es sich um eine explorative Studie handelt, wurde auf eine Multiplizitätskorrektur verzichtet (Bender & Lange (2001). Die Auswertung erfolgte mit SAS®, Version 9.3 TS Level 1M3 (SAS, 2012) und R, Version 3.0.3 (R-Core-Team, 2014) mit dem R-Paket psych, version 1.4.3 (Revelle, 2014).

Die Analyse einer solch großen Datenmenge bei einer limitierten Anzahl an teilnehmenden Betrieben führte dazu, dass einige Faktoren zu geringe Beobachtungen aufwiesen und dadurch nicht weiter analysiert werden konnten. Andererseits wurden identifizierte Risikofaktoren durch die Verwendung verschiedener alternativer Modelle überprüft, um durch diese Form der Sensitivitätsanalysen sicherzustellen, dass sich keine artifiziellen Befunde in der Modellierung ergeben. Es diente insbesondere ein Modell anhand biologi-

scher Kriterien zur Plausibilitätssicherung. Dieses Modell ließ fachliche Informationen mit einfließen, die in der Literatur diskutiert werden.

3.3.2 Mastschwein

ESBL-produzierende *E. coli* sind in der Haltung von Mastschweinen weit verbreitet (Carattoli, 2008; Guenther et al., 2011; Zurfluh et al., 2013), was wir auch in dieser Studie nachweisen konnten.

Insgesamt konnten drei Risikofaktoren identifiziert werden. Zum einen erhöht das Vorhandensein einer Krankenbucht das Risiko der Übertragung resistenter Keime, da die Tiere durch das Treiben in eine andere Bucht möglicherweise mit anderen Schweinen oder der Stalleinrichtung in Kontakt kommen und somit Bakterien und hiermit Resistenzen übertragen können. Ein erhöhtes Risiko für die Infektion mit Salmonellen beim Umstallen einzelner Schweine während der Mast konnte bereits nachgewiesen werden (Gotter et al., 2012b). Zum zweiten wurden mehr resistente Proben gefunden, wenn es eine Unterflur-Abluft in den Ställen gab und drittens bei Betrieben, welche Gift gegen Fliegen einsetzten. Die Unterflur-Abluft wird normalerweise bevorzugt, da es sich positiv auf das Stallklima auswirkt, wenn die Abluft unterhalb des Bodens abgesaugt wird. Partikel können nicht aufsteigen und die Atemwege der Tiere werden weniger gereizt. Auch die Bekämpfung von Fliegen und anderen Schädlingen ist positiv zu bewerten, da diese ebenfalls Bakterien übertragen können. Zudem ist eine weitere Möglichkeit, dass der Einsatz von Gift erst erforderlich ist, wenn es einen Schädlingsbefall gibt.

Grundsätzlich ist die Identifikation einzelner Risikofaktoren auf Populationsebene schwierig, da einerseits potentiell beteiligte Faktoren stets in einem mehr oder weniger großen assoziativen Zusammenhang stehen, so dass die Gefahr von Confounding besteht bzw. sogar ein interaktives Zusammenwirken der Faktoren auftreten kann. Zudem sind die beteiligten Resistenzmechanismen wie der Plasmidtransfer nur unzureichend durch Faktoren, wie Haltung und Betriebsmanagement abzubilden. Bisher fand allerdings nur eine grobe Charakterisierung des Erregers als Cefotaxim-resistent statt. Eine genauere Bestimmung der Resistenzgene könnte eine weitere Unterteilung der Ergebnisse ermöglichen, ist aber folgenden Untersuchungen vorbehalten. Einzelne identifizierte Faktoren müssen daher stets kritisch hinterfragt werden, da sich jeweils Betriebe mit unterschiedlichen Strukturen dahinter verbergen, welche berücksichtigt werden müssen.

So ist beispielsweise die Region ein Faktor, der vielfältig mit anderen in Beziehung steht. In jeder Region gibt es unterschiedliche Betriebe mit jeweils typischen Strukturen und Betriebsmerkmalen. Untersucht man diese genauer, stellt man fest, dass sich hinter dem Faktor Region z.B. die Größe der Betriebe, die Fütterungsart oder die durchgeführten Hygienemaßnahmen verbergen. Die Region selbst birgt somit kein erhöhtes Risiko, sondern die Faktoren, welche die Region charakterisieren. Dies hat sich auch in der hier durchgeführten Studie bestätigt, bei der dem Faktor Region im multifaktoriellen Modell keine Bedeutung mehr zugekommen ist.

Die hohe Anzahl an positiven Proben erschwert zusätzlich die Identifizierung bestimmter Risikofaktoren. Auch kann der Zusammenhang einzelner Faktoren nur teilweise anhand statistischer Methoden beschrieben werden. Die Ergebnisse müssen daher in einem breiteren Kontext betrachtet werden, d.h. die ermittelten Risikofaktoren sollten zu bestimmten

Bereichen global zugeordnet werden. So spiegeln die hier identifizierten Faktoren einer vorhandenen Krankenbucht und die Art der Abluft bestimmte Management-Strukturen wider. Der Einsatz von Fliegengift lässt sich generell zum Bereich der Stallhygiene zuordnen, so dass die gefundenen Faktoren auch als Stellvertreter (Proxivariablen) aufgefasst werden können.

Solche Betrachtungsweisen der Diskussion von Risikofaktoren in Komplexen finden sich bislang vor allem in Studien zum Auftreten von Zoonoseerregern in Tierbeständen. So wurden für das Auftreten von *Yersinia* spp.. höhere Prävalenzen nachgewiesen, wenn wiederkehrende gesundheitliche Probleme auftraten und die tägliche Gewichtszunahme der Mastschweine unter dem Durchschnitt lagen (von Altrock et al., 2011). Ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Auftreten verschiedener Bakterienarten konnte nicht nachgewiesen werden, wenn auch *Campylobacter* spp.. und *Y. enterocolitica* häufiger in Betrieben mit geringem Salmonellenstatus auftraten (Nathues et al., 2013). Für Salmonellen wurden neben dem Umstallen der Tiere während der Mast folgende Risikofaktoren identifiziert: kein eigenes Transportfahrzeug für verschiedene Altersgruppen und Kontakt der Schweine zu anderen Tieren. Das Risiko verringerte sich, wenn der Transporter nicht gereinigt wurde und wenn keine sauberen Stiefel verfügbar waren (Gotter et al., 2012b). Dies zeigt ebenfalls, dass einzelne Faktoren nicht separat, sondern in einem größeren Zusammenhang betrachtet werden müssen. Von besonderer Bedeutung ist eine sorgfältige Reinigung und Desinfektion nicht nur der Bereiche, mit denen die Tiere in Kontakt kommen, sondern auch der Umgebung wie z.B. der Decke der Abteile. Dies wurde in Mastschweine haltenden Betrieben für *Salmonella* spp.. nachgewiesen (Gotter et al., 2012a).

In der Literatur sind nur sehr wenige Informationen über Risikofaktoren für das Auftreten von resistenten *E. coli* bei Mastschweinen auf Populationsebene verfügbar. Aktuelle Studien belegen, dass häufige Antibiotikagaben eine wichtige Rolle spielen (Liebana et al., 2013). So wurde beispielsweise eine ESBL-Prävalenz von 79 % bei Mastschweinen nachgewiesen, bei denen regelmäßig Cephalosporine eingesetzt wurden. Im Vergleich dazu gab es bei Betrieben, welche keine Cephalosporine einsetzten, nur eine Prävalenz von 20 % (Hammerum et al., 2014).

Auch in unserer Studie konnten höhere Anteile von Resistenzen bei behandelten Schweinen festgestellt werden, jedoch erfüllte nach der Rückwärtsselektion im multifaktoriellen Poisson-Regressionsmodell die Antibiotikaanwendung nicht mehr die Einschlusskriterien in das Modell. Dies belegt, dass ein Zusammenwirken verschiedener Faktoren vorliegt, welches die unmittelbare Interpretation einzelner Faktoren erschwert. Eine Assoziation des Antibiotikaeinsatzes mit den identifizierten Risikofaktoren konnte mittels Cramer's V nicht nachgewiesen werden. 56 % der Betriebe, die eine Krankenbucht hatten und 63 % der Betriebe ohne Krankenbucht setzten auch Antibiotika ein. 70 % der Betriebe mit Unterflurabluft und 52 % der Betriebe mit anderer Lüftungsart verabreichten Antibiotika. 66 % der Betriebe, die Fliegengift einsetzten und 44 % der Betriebe ohne Einsatz von Fliegengift führten bei den untersuchten Tieren eine Antibiotikagabe durch. Auch wenn ein mathematischer Zusammenhang nicht direkt besteht, so ist doch vorstellbar, dass Landwirte, welche bestimmte Maßnahmen ergreifen, die das Tierwohl erhöhen, wie das Anlegen einer Krankenbucht oder die Bekämpfung von Schädlingen, gesundheitsbewusster mit den Tieren umgehen und somit ein indirekter Zusammenhang mit dem Einsatz von Antibiotika besteht.

Eine weitere bei anderen Autoren diskutierte Frage ist die nach der Herkunft der resistenten Bakterien. Eine Übertragung im Zuchtbereich von Sau zu Ferkel bzw. von Zuchtbetrieben zu Mastbetrieben ist denkbar und einige Studien zeigen auch eine diesbezügliche Evidenz auf Populationsebene (Hansen et al., 2013; Liebana et al., 2013). Da in der vorliegenden Studie ausschließlich Mastbetriebe untersucht wurden, ist eine Aussage zu solchen Übertragungswegen hier allerdings nicht möglich, so dass dies hier nicht bewertet werden kann.

Neben einer Weitergabe resistenter Keime vom Zucht- zum Mastbereich spielen auch Verunreinigungen der Umwelt eine Rolle. Resistente Bakterien wurden beispielsweise im Abwasser und in der Gülle von schweinehaltenden Betrieben gefunden, welche somit durch Düngung auf die Felder gelangen können (Barton, 2014). Auf mit Gülle gedüngten Feldern wurden ESBL-produzierende *E. coli* bereits nachgewiesen, ebenso in Schweinegülle. Somit findet eine Verteilung der resistenten Bakterien in der Umwelt statt, die wiederum zu Belastungen in Betrieben führen kann (Friese et al., 2013). Auch dieser Zyklus einer Resistenzübertragung kann hier nicht bestätigt werden, jedoch mag das Auffinden der Klimaführung als assoziierter Faktor in Teilen als ein Beleg für eine Evidenz dienen, dass hier mittelbare Zusammenhänge auch durch die hier vorliegende Studie belegt sind.

Im Allgemeinen sollte eine Reduzierung der Anzahl resistenter Bakterien in tierhaltenden Betrieben zum einen durch eine verbesserte Tiergesundheit insgesamt, jedoch auch bereits in den Zuchtbetrieben, angestrebt werden. Dies beinhaltet unter anderem verbesserte Haltungsbedingungen sowie eine generelle Gesundheitsvorsorge z.B. durch Impfungen (Blaha, 2005). Um genau zu prüfen, welche Faktoren tatsächlich zur Reduzierung der Re-

sistenzen einen nachhaltigen Beitrag liefern, sind zudem begleitende Interventionsstudien erforderlich.

3.3.3 Masthähnchen

Bei den Hähnchenbetrieben war die Identifikation von Risikofaktoren für das Auftreten von Cefotaxim-resistenten *E. coli* noch schwieriger als bei den Mastschweine haltenden Betrieben. In jedem untersuchten Betrieb wurde mindestens eine positive Probe gefunden, so dass nur eine geringe Variation in der Studienpopulation vorhanden war, was die Identifizierung von Risikofaktoren grundsätzlich erschwert hat. Außerdem ist die Haltung von Mastgeflügel in Deutschland sehr standardisiert, d.h. die Anzahl der Tiere pro Stallgebäude ist annähernd gleich, Stall- und Fütterungsmanagement sind vergleichbar und meist kamen die Tiere einer Region sogar aus der gleichen Brüterei, so dass die Variabilität potentieller Risikofaktoren extrem eingeschränkt ist.

Der von uns identifizierte Risikofaktor, die Anwesenheit von Schafen, Ziegen oder Pferden in 1 km Stallumgebung sollte daher wiederum als eine Proxivariable für einen Risikofaktor angesehen werden, so dass in tiefergehenden Studien überprüft werden muss, inwiefern hier ein Resistenz fördernder Bereich identifiziert werden kann. Eine mögliche direkte infektionsmedizinische Erklärung kann sein, dass resistente Bakterien von besiedelten Schafen oder Pferden (Vo et al., 2007; Ramos et al., 2013), welche angrenzend an die Stallgebäude grasen, in das Innere der Hähnchenställe eingetragen werden. Insgesamt bleibt auch hier zu vermuten, dass der gefundene Faktor ein generelles Strukturmerkmal repräsentiert. Ställe in Regionen der Intensivhaltung (mit unterschiedlichen Management-

strukturen etc.) haben ggf. andere Nähen zu Betrieben mit Schafen und Pferden, so dass auch dies einen Beitrag zu diesem Faktor darstellen kann.

Andere Autoren haben dagegen weitere Faktoren, die das Vorkommen resistenter Bakterien begünstigen, auf Populationsebene identifiziert. Das Vorkommen ESBL-produzierender *E. coli* auf mit Geflügelkot gedüngten Flächen und im Kot selber wurde bereits nachgewiesen (Friese et al., 2013; Laube et al., 2014b). Somit können sich die resistenten Bakterien in der Umwelt ausbreiten und beispielsweise durch verunreinigte Stiefel oder Geräte, aber auch durch generelle Emission wieder in die Nutztierhaltung eingetragen werden. Einen weiteren möglichen Übertragungsweg stellen Insekten wie z.B. Fliegen dar. ESBL-produzierende *E. coli* wurden in mehreren Fliegen verschiedener Geflügelbetriebe nachgewiesen. Dabei handelte es sich um den gleichen Typ, welcher in den Betrieben im Hühnerkot und im Spülwasser vorkam (Blaak et al., 2014).

Eine Belgische Studie identifizierte verschiedene Faktoren, welche Einfluss auf das Auftreten von Ceftiofur-resistenten *E. coli* haben. Dazu gehörten eine nicht sachgemäße Medikamentenaufbewahrung, keine Ansäuerung des Tränkwassers, mehr als drei Futterwechsel während der Mastperiode, Brüterei und Rasse der Tiere, das Einstreumaterial sowie die Behandlung mit Amoxicillin (Persoons et al., 2011). Wir konnten keinen der Faktoren in der multifaktoriellen Analyse bestätigen.

Bei Masthähnchen kann nicht davon ausgegangen werden, dass allein die Reduzierung der Antibiotikagaben zu einer verringerten Resistenz führt (Cohen Stuart et al., 2012), da bereits bei Küken direkt nach dem Einstallen ESBL-bildende *E. coli* nachgewiesen wurden und diese im Laufe der kurzen Mastperiode nicht wieder verloren gehen (Cohen

Stuart et al., 2012; Laube et al., 2013; Hille et al., 2014). Diese Übertragung von resistenten Bakterien durch Elterntiere oder die Umwelt auf Küken wurde bereits in diversen Studien nachgewiesen (Mamber and Katz, 1985; Bortolaia et al., 2010).

In einer Norwegischen Studie wurden Cephalosporin-resistente *E. coli* bei Masthähnchen nachgewiesen, obwohl keine Cephalosporine in der Hähnchenhaltung eingesetzt wurden und auch nur sehr geringe Mengen anderer Antibiotika. Dies legt den Schluss nahe, dass eine Übertragung bereits in den Brütereien von den Eltern- bzw. Großelterntieren auf die Küken erfolgt (Mo et al., 2014) oder dass es einen Eintrag über das Personal gegeben hat.

Auch eine weitere Wirkstoffklasse, die Carbapeneme werden in der Nutztierhaltung nicht eingesetzt. Trotzdem wurden in vier tierhaltenden Betrieben in Deutschland Carbapenemase-bildende Keime gefunden. Bisher ist unklar, wie diese Bakterien eingetragen wurden. Denkbar ist eine Übertragung über belebte Vektoren wie Menschen oder Tiere, beispielsweise Schadnager oder unbelebte Vektoren wie Futter oder durch die Luft (BfR, 2014).

In den Niederlanden wurde die Beobachtung gemacht, dass die ESBL-Prävalenz bei Broilern in der ersten Woche nach Einstallung bis auf 100 % anstieg und zwar unabhängig davon, ob Antibiotika verabreicht wurden oder nicht. Sogar in gereinigten und desinfizierten Ställen konnten noch ESBL-produzierende *E. coli* nachgewiesen werden. Futtermittel, welche eine oder mehrere Wochen im Stall lagerten, waren ebenfalls besiedelt, wahrscheinlich durch den Kontakt mit kontaminiertem Staub (Dierikx et al., 2013b).

Der Ursprung humaner Infektionen mit ESBL-bildenden *E. coli* ist derzeit noch unklar und wird intensiv erforscht. Eine mögliche Übertragung von Nutztieren auf den Men-

schen wurde vom Bundesinstitut für Risikobewertung untersucht. Dazu wurden die im Rahmen des Forschungsverbundes RESET erfassten Resistenzgene vom Menschen mit denen von Masthähnchen, Rind und Mastschwein verglichen. Die Ergebnisse zeigen, dass die gleichen Typen der Resistenzgene (CTX-M-1, CTX-M-14, CTX-M-15) sowohl in der gesunden Allgemeinbevölkerung wie auch in Nutztieren zu finden sind. Dabei sind die meisten Übereinstimmungen beim Rind festgestellt worden, gefolgt vom Schwein. Bei Masthähnchen wurden am seltensten die gleichen ESBL-Gene gefunden. Allerdings lagen zu Rindern auch die meisten Daten vor, während nur eine geringe Anzahl an Masthähnchenisolaten verfügbar war (BfR, 2013).

Die Identifikation von Faktoren, welche das Auftreten resistenter Keime begünstigen, gestaltet sich in den Masthähnchenbetrieben aufgrund der hohen Standardisierung der Haltungsbedingungen mit in Deutschland nur drei großen Integrationen, die wesentlich bei der Festlegung der Arbeitsabläufe im Betrieb beteiligt sind, als schwierig. Insgesamt erscheint eine Übertragung von Resistenzen vom Zuchtbereich zum Mastbereich als eine wichtige Option zur Vermeidung der Übertragung und Entwicklung von Resistenzen und sollte zukünftig vermieden werden. Außerdem sollte in weiteren Studien geprüft werden, ob der Einsatz von Reinigungs- und Desinfektionsmitteln zu einer vollständigen Beseitigung resistenter Keime im Stall führt bzw. sollten genaue Vorgaben zur Reinigung und Desinfektion erarbeitet werden. Auch wenn in den meisten Studien ein Zusammenhang zwischen Antibiotikaeinsatz und auftretender Resistenz bei Masthähnchen nicht nachgewiesen werden konnte, sollte eine Verbesserung der Tiergesundheit zu einer geringeren Notwendigkeit des Antibiotikaeinsatzes führen, um die Entstehung und Verbreitung von Resistenzen nicht weiter zu fördern.

4. Schlussfolgerung

Die vorgestellte Studie belegt erstmalig systematisch die hohen Prävalenzen von Cefotaxim-resistenten *E. coli* in deutschen Masttierhaltungen. Eine derart hohe Besiedelung bei verschiedenen Tier- und Betriebsarten wurde nicht erwartet, so dass sich allein durch diesen epidemiologischen Befund die Notwendigkeit ergibt, Maßnahmen zu ergreifen, die die Herkunft der resistenten Bakterien eingrenzen und die Anteile von Bakterien mit Resistenzen verringern.

Innerhalb der Betriebe wurden auf epidemiologischer Grundlage Risikofaktoren ermittelt, die das Auftreten von Cefotaxim-resistenten *E. coli* begünstigen. Dabei zeigte sich die enorme Relevanz des Zusammenspieles verschiedener Faktoren. Untersucht man die Risikofaktoren mit Hilfe verschiedener statistischer Modelle (z.B. Poisson, logistische Regression, Variablen nach biologischen Kriterien ausgewählt), so ändern sich einzelne Faktoren. Allerdings handelt es sich immer um bestimmte Gruppen, denen die Faktoren zugeordnet werden können. Hier spielten das Betriebsmanagement, die Stallhygiene oder auch bauliche Merkmale immer eine zentrale Rolle. Eine übergeordnete Betrachtung der identifizierten Faktoren ist daher notwendig, um die komplexen Zusammenhänge zu erkennen. Resistenzgene verbreiten sich horizontal und können somit auf andere Bakterienarten übertragen werden. Daher ist es nicht ausreichend, einen identifizierten Risikofaktor, wie beispielsweise den Einsatz von Fliegengift, zu entfernen oder zu verändern, da die identifizierten Faktoren in einem breiteren Kontext betrachtet werden müssen.

Die hohe Standardisierung in der Masttierhaltung erschwert die Identifizierung von Risikofaktoren zusätzlich. In der Rinderhaltung gibt es die geringste Integration, so dass die Betriebe individuell und nach eigenen Vorstellungen die betrieblichen Abläufe umsetzen können. Durch diese Unterschiede in den rinderhaltenden Betrieben können dort viele Faktoren identifiziert werden, die mit der Resistenzsituation zusammenhängen. In der Schweinehaltung ist die Standardisierung dagegen bereits weiter fortgeschritten und viele Vorgaben und Empfehlungen zur Guten Praxis der Schweinehaltung geben nur wenig Raum für individuelle Betriebsabläufe. Daher ist die Risikofaktorenanalyse hier erschwert. Die Masthähnchen- bzw. Geflügelhaltung stellt die höchste Form der Standardisierung in der Masttierhaltung in Deutschland dar. Da es genaue Vorgaben zur Anzahl der Tiere in den Ställen, Rassenauswahl, Fütterungs- und Hygienevorschriften gibt, ist eine Beurteilung einzelner Faktoren, die zu den hohen Prävalenzen führen, kaum noch möglich.

Dennoch konnten insgesamt Bereiche identifiziert werden, deren genauere Betrachtung Ansätze zur systematischen Reduktion der Resistenzproblematik liefern können. Hierzu zählen die Verbesserung des Managements des gesamten Betriebes, z.B. durch Schulungen des Personals, verbesserte und standardisierte Hygienemaßnahmen, welche eine optimale Reduzierung der Bakterien im gesamten Stall garantieren sowie die Optimierung baulicher Merkmale. In diesen Bereichen sollten weiterführende Interventionsuntersuchungen zeigen, wie die Verbreitung resistenter Keime in der konkreten betrieblichen Situation reduziert werden kann.

Neben diesen Ergebnissen zeigte sich, dass die Untersuchung verschiedener Probenarten zur Charakterisierung des Resistenzstatus eines Betriebes für praxisnahe Monitoringstu-

dien nicht erforderlich ist. Im Wesentlichen konnten die Bakterien über den Sammelkot identifiziert werden. Zur weiteren Kontrolle des Resistenzstatus erscheinen daher Kotproben, die mit einer einfachen Screeningmethode als „Resistenz verdächtig“ eingestuft werden, somit ausreichend.

Im Allgemeinen sollte eine Reduzierung der Anzahl positiver Proben in tierhaltenden Betrieben zum einen durch eine verbesserte Tiergesundheit insgesamt, jedoch auch bereits in den Zuchtbetrieben, angestrebt werden. Die Reduktion des Antibiotikaeinsatzes muss auch weiterhin als wesentlicher Bestandteil der Strategie gegen die Ausbreitung von Resistenzen angesehen werden. Dies beinhaltet unter anderem verbesserte Haltungsbedingungen sowie eine generelle Gesundheitsvorsorge (z.B. durch Impfungen).

5. Zusammenfassung

Johanna Hering (2014)

Resistenzsituation bei landwirtschaftlichen Nutztieren – Repräsentative epidemiologische Untersuchungen zu Beta-Laktamasen mit erweitertem Wirkungsspektrum (ESBL) produzierenden *Enterobacteriaceae* in Deutschland

Im Rahmen des Forschungsverbundes „RESET“ wurde eine Querschnittsstudie durchgeführt. Dazu wurden in landwirtschaftlichen Betrieben mit Mastschweinen, Mastrindern, Milchkühen oder Masthähnchen Proben von Tieren und deren Umgebung entnommen und auf Cefotaxim-resistente *E. coli* untersucht. Zudem wurden mögliche Risikofaktoren in einem Fragebogen erfasst. Die Ergebnisse der Tierarten Mastschwein und Masthähnchen werden hier dargestellt.

Insgesamt wurden 48 Mastschweine haltenden Betriebe und 34 Masthähnchenbetriebe beprobt, die auf vier unterschiedliche Regionen Deutschlands verteilt sind. Die Regionen unterscheiden sich hinsichtlich der Betriebsstruktur und -größe sowie Tierzahl deutlich voneinander. Pro Betrieb wurden sechs Sammelkot-, zwei Sockentuper- und zwei Staubproben entnommen, die auf das Vorkommen von resistenten *E. coli* untersucht wurden.

Cefotaxim-resistente *E. coli* wurden in 85 % der Schweinemastbetriebe und 100 % der Hähnchenmastbetriebe nachgewiesen. Dabei kamen die resistenten Bakterien häufiger in der tiernahen Umgebung (Kot, Sockentupfer) vor. Die untersuchten Staubproben waren seltener positiv, allerdings war die Anzahl in den Hähnchenmastbetrieben unerwartet hoch. Insgesamt zeigen die Ergebnisse eine hohe Prävalenz von ESBL-produzierenden *E. coli* in der deutschen Masttierhaltung.

Die Analyse von Risikofaktoren für das Auftreten von ESBL-bildenden *E. coli* gestaltete sich schwierig, da aufgrund der hohen Anzahl positiver Proben und der limitierten Anzahl an untersuchten Betrieben die statistische Power gering war. Des Weiteren sind die untersuchten Faktoren in der Regel stark miteinander assoziiert. Auch das hohe Maß an Standardisierung landwirtschaftlicher Prozesse (insbesondere in der Geflügelhaltung) führt zu sehr homogenen Untersuchungskollektiven, die die Identifizierung von Risikofaktoren erheblich erschwert. Die analysierten Faktoren bieten allerdings einen ersten Überblick über mögliche Kriterien, die das Auftreten resistenter Bakterien in der Tiermast begünstigen. Hierzu zählen Betriebsmanagement, Stallhygiene und bauliche Merkmale der Stallgebäude. Ein gutes Management des gesamten Betriebes, was sich mit der Prävention von Krankheiten auseinandersetzt und klare Strukturen aufweist, vor allem auch in Bezug auf die Reinigung und Desinfektion der tiernahen Bereiche, kann zur Reduzierung des Auftretens von Resistenzen beitragen.

Das oberste Ziel zur Verringerung des Auftretens von Resistenz in der Tierhaltung ist die Reduktion des Antibiotikaeinsatzes durch grundsätzliche Verbesserung der Tiergesundheit. Durch verbesserte Haltungsbedingungen und gezielte vorbeugende Maßnahmen wie Impfungen kann dies erreicht werden. Zudem muss eine Übertragung resistenter Bakterien von Zuchttieren auf die Masttiere vermieden werden. Es ist außerdem notwendig, die Hygienemaßnahmen in den Betrieben weiter zu verbessern. Eine weitere intensive Überwachung der Resistenzsituation sollte dazu beitragen, mögliche Defizite aufzudecken, um die Reduzierung der Resistenz zu fördern.

6. Summary

Johanna Hering (2014)

Resistance situation in farm animals - representative epidemiological studies to extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Enterobacteriaceae* in Germany

A cross-sectional study was carried out as part of the research network “RESET”. On farms with fattening pigs, cattle, dairy cows or broiler chickens, faecal samples and the direct animal surrounding was examined for the presence of cefotaxime-resistant *E. coli*. Also, possible risk factors were captured in a questionnaire. The results of the fattening pigs and broiler chickens are shown here.

In total, 48 farms with fattening pigs and 34 chicken farms which are spread over four different regions of Germany were sampled. The regions differ in farm structure, size and number of animals significantly. Six mixed faecal samples, two boot swabs and two dust samples were taken per farm and were examined for the occurrence of resistant *E. coli*.

Cefotaxime-resistant *E. coli* were detected in 85 % of pig farms and 100 % of the chicken farms. The resistant bacteria were more frequently close to animals (manure, boot swabs). The dust samples were less frequent positive, even though the number in the chicken fattening farms was unexpectedly high. Overall, the results indicate a high prevalence of ESBL-producing *E. coli* in German commercial animal fattening plants.

The analysis of risk factors for the appearance of ESBL-producing *E. coli* was difficult, because the statistical power was low due to the high number of positive samples and the limited number of examined farms. Furthermore the investigated factors were usually

strongly associated. Also the high degree of standardization of agricultural processes (particularly in the poultry farming) leads to very homogeneous study populations, which narrows the identification of risk factors. The factors analysed provide a first overview of possible criteria that favour the occurrence of resistant bacteria in fattened livestock. This includes management structures, hygienic aspects and structural characteristics of the stables. A good management of the entire farm, which deals with the prevention of diseases and has clear structures, especially in the cleaning and disinfection of the animal surroundings can contribute to the reduction of resistances.

The main objective to reduce the resistance rates in animal husbandry is the reduction of the antimicrobials through fundamental improvement of animal health. This can be achieved through improved housing conditions and preventive measures such as vaccinations. In addition, a transfer of resistant bacteria from breeding animals to the fattening animals must be avoided. In addition it is required to improve the hygienic measures in the farms. A more intensive monitoring of the resistance situation should contribute to uncover possible deficits and thereby to promote the reduction of resistance.

Literaturverzeichnis

Abreu, R., Castro, B., Espigares, E., Rodríguez-Álvarez, C., Lecuona, M., Moreno, E., Espigares, M., Arias, A., 2014. Prevalence of CTX-M-type extended-spectrum β-lactamases in *Escherichia coli* strains isolated in poultry farms. Foodborne Pathog Dis. 11, 868-873.

Anonym, 2010. Verordnung über das datenbankgestützte Informationssystem über Arzneimittel des Deutschen Instituts für Medizinische Dokumentation und Information (DIMDI-Arzneimittelverordnung). Bundesministerium für Gesundheit und Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz, BGBl. I, S. 140, 144.

Barton, M.D., 2014. Impact of antibiotic use in the swine industry. Curr Opin Microbiol. 19, 9-15.

BfR, 2013. Source Attribution von ESBL beim Menschen. In, Antibiotikaresistenz in der Lebensmittelkette, URL http://www.bfr.bund.de/cm/350/antibiotikaresistenz-in-der-lebensmittelkette-tagungsband.pdf , 45-48.

BfR, 2014. Antibiotikaresistenz: Carbapenemasebildende Keime in Nutztierbeständen. Bundesinstitut für Risikobewertung, URL http://www.bfr.bund.de/cm/343/ antibiotikaresistenz-carbapenemasebildende-keime-in-nutztierbestaenden.pdf.

Blaak, H., Hamidjaja, R.A., van Hoek, A.H.A.M., de Heer, L., de Roda Husman, A.M., Schets, F.M., 2014. Detection of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* on flies at poultry farms. Appl Environ Microbiol. 80, 239-246.

Blaha, T., 2005. Animal health and animal health care concepts changing over time. Dtsch Tierarztl Wochenschr. 112, 284-285.

Bortolaia, V., Bisgaard, M., Bojesen, A.M., 2010. Distribution and possible transmission of ampicillin- and nalidixic acid-resistant *Escherichia coli* within the broiler industry. Vet Microbiol. 142, 379-386.

Brown, H., Prescott, R., 2006. Applied Mixed Models in Medicine. John Wiley & Sons Chicester, England.

Buhr, R.J., Richardson, L.J., Cason, J.A., Cox, N.A., Fairchild, B.D., 2007. Comparison of four sampling methods for the detection of *Salmonella* in broiler litter. Poult Sci. 86, 21-25.

BVL, 2012. Zoonosen-Monitoring 2012. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL), Berlin.

BVL, 2013a. Hintergrundinformation: Zahlen über die Antibiotikaabgabe 2011 in der Tiermedizin nach Regionen und Wirkstoffklassen. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL), Berlin.

BVL, 2013b. Zweite Datenerhebung zur Antibiotikaabgabe in der Tiermedizin. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL), Berlin.

Cantón, R., Novais, A., Valverde, A., Machado, E., Peixe, L., Baquero, F., Coque, T.M., 2008. Prevalence and spread of extended-spectrum β-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in Europe. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 144-153.

Carattoli, A., 2008. Animal reservoirs for extended spectrum β-lactamase producers. Clin Microbiol Infect. 14, 117-123.

Cernicchiaro, N., Pearl, D.L., Ghimire, S., Gyles, C.L., Johnson, R.P., LeJeune, J.T., Ziebell, K., McEwen, S.A., 2009. Risk factors associated with *Escherichia coli* O157:H7 in Ontario beef cow–calf operations. Prev Vet Med. 92, 106-115.

Chander, A., Shrestha, C.D., 2013. Prevalence of extended spectrum beta lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* urinary isolates in a tertiary care hospital in Kathmandu, Nepal. BMC Res Notes 6, 487.

Cohen Stuart, J., van den Munckhof, T., Voets, G., Scharringa, J., Fluit, A., Leverstein-Van Hall, M., 2012. Comparison of ESBL contamination in organic and conventional retail chicken meat. Int J Food Microbiol. 154, 212-214.

Correia-Gomes, C., Mendonça, D., Vieira-Pinto, M., Niza-Ribeiro, J., 2013. Risk factors for *Salmonella* spp. in Portuguese breeding pigs using a multilevel analysis. Prev Vet Med. 108, 159-166.

Derks, M., van Werven, T., Hogeveen, H., Kremer, W.D., 2013. Veterinary herd health management programs on dairy farms in the Netherlands: use, execution, and relations to farmer characteristics. J Dairy Sci. 96, 1623-1637.

Dierikx, C., van der Goot, J., Fabri, T., van Essen-Zandbergen, A., Smith, H., Mevius, D., 2013a. Extended-spectrum-β-lactamase- and AmpC-β-lactamase-producing *Escherichia coli* in Dutch broilers and broiler farmers. J Antimicrob Chemother. 68, 60-67.

Dierikx, C.M., van der Goot, J.A., Smith, H.E., Kant, A., Mevius, D.J., 2013b. Presence of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* in the broiler production pyramid: a descriptive study. PLoS One 8, e79005.

Dohoo, I., Martin, W., Stryhn, H., 2009. Veterinary Epidemiologic Research. VER Inc Charlottetown, PEI, Canada.

EFSA, 2007. Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on the Analysis of the baseline study on the prevalence of *Salmonella* in holdings of laying hen flocks of Gallus gallus. EFSA Journal 2007 97.

EFSA, 2012. The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2010. EFSA Journal 2012 10, 2598.

EFSA, 2011. Scientific Opinion on the public health risks of bacterial strains producing extended-spectrum β-lactamases and/or AmpC β-lactamases in food and food-producing animals. EFSA Journal 2011 9, 2322.

Eller, C., Leistner, R., Guerra, B., Fischer, J., Wendt, C., Rabsch, W., Werner, G., Pfeifer, Y., 2014. Emergence of extended-spectrum β-lactamase (ESBL) CTX-M-8 in Germany. J Antimicrob Chemother. 69, 562-564.

Eller, C., Simon, S., Miller, T., Frick, J.-S., Prager, R., Rabsch, W., Guerra, B., Werner, G., Pfeifer, Y., 2013. Presence of β-lactamases in extended-spectrum-cephalosporin-resistant *Salmonella enterica* of 30 different serovars in Germany 2005–11. J Antimicrob Chemother. 68, 1978-1981.

Ewers, C., Grobbel, M., Bethe, A., Wieler, L.H., Guenther, S., 2011. Extended-spectrum beta-lactamases-producing gram-negative bacteria in companion animals: action is clearly warranted! Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 124, 94-101.

Fischer, J., Rodríguez, I., Schmoger, S., Friese, A., Roesler, U., Helmuth, R., Guerra, B., 2012. *Escherichia coli* producing VIM-1 carbapenemase isolated on a pig farm. J Antimicrob Chemother. 67, 1793-1795.

Fleiss, J.L., Levin, B., Paik, M.C., 2003. Statistical Methods for Rates and Proportions. John Wiley & Sons Hoboken, NJ, USA.

Friese, A., Schulz, J., Laube, H., von Salviati, C., Hartung, J., Roesler, U., 2013. Faecal occurrence and emissions of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus*

aureus (laMRSA) and ESbl/AmpC-producing *E. coli* from animal farms in Germany. Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 126, 175-180.

Geser, N., Stephan, R., Kuhnert, P., Zbinden, R., Kaeppeli, U., Cernela, N., Haechler, H., 2011. Fecal carriage of extended-spectrum-lactamase producing *Enterobacteriaceae* in swine and cattle at slaughter in Switzerland. J Food Protect. 74, 446-449.

Gotter, V., Blaha, T., Klein, G., 2012a. A case-control study on the occurrence of *Salmonella* spp.. in the environment of pigs. Epidemiol Infect. 140, 150-156.

Gotter, V., Klein, G., Koesters, S., Kreienbrock, L., Blaha, T., Campe, A., 2012b. Main risk factors for *Salmonella*-infections in pigs in north-western Germany. Prev Vet Med. 106, 301-307.

Guenther, S., Bethe, A., Fruth, A., Semmler, T., Ulrich, R.G., Wieler, L.H., Ewers, C., 2012. Frequent combination of antimicrobial multiresistance and extraintestinal pathogenicity in *Escherichia coli* isolates from urban rats (Rattus norvegicus) in Berlin, Germany. PLoS One 7, e50331.

Guenther, S., Ewers, C., Wieler, L.H., 2011. Extended-spectrum beta-lactamases producing *E. coli* in wildlife, yet another form of environmental pollution? Frontiers in Microbiology 2.

Guerra, B., Fischer, J., Helmuth, R., 2014. An emerging public health problem: Acquired carbapenemase-producing microorganisms are present in food-producing animals, their environment, companion animals and wild birds. Vet Microbiol. 171, 290-297.

Hammerum, A.M., Larsen, J., Andersen, V.D., Lester, C.H., Skovgaard Skytte, T.S., Hansen, F., Olsen, S.S., Mordhorst, H., Skov, R.L., Aarestrup, F.M., Agersø, Y., 2014. Characterization of extended-spectrum β-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* obtained from Danish pigs, pig farmers and their families from farms with high or no

consumption of third- or fourth-generation cephalosporins. J Antimicrob Chemother. 69, 2650-2657.

Hamscher, G., Pawelzick, H.T., Sczesny, S., Nau, H., Hartung, J., 2003. Antibiotics in dust originating from a pig-fattening farm: a new source of health hazard for farmers? Environ Health Perspect. 111, 1590-1594.

Hansen, K.H., Damborg, P., Andreasen, M., Nielsen, S.S., Guardabassi, L., 2013. Carriage and fecal counts of cefotaxime M-producing *Escherichia coli* in pigs: a longitudinal study. Appl Environ Microbiol. 79, 794-798.

Heinemann, J.A., Ankenbauer, R.G., Amábile-Cuevas, C.F., 2000. Do antibiotics maintain antibiotic resistance? Drug Discovery Today 5, 195-204.

Hille, K., Fischer, J., Falgenhauer, L., Sharp, H., Brenner, G.M., Kadlec, K., Friese, A., Schwarz, S., Imirzalioglu, C., Kietzmann, M., Münchhausen, C.v., Kreienbrock, L., 2014. Zum Vorkommen von Extended-Spektrum-Beta-Laktamase und AmpC-produzierenden *Escherichia coli* in Nutztierbeständen: Ergebnisse ausgewählter europäischer Studien. BMTW 127, 403–411.

Hiroi, M., Matsui, S., Kubo, R., Iida, N., Noda, Y., Kanda, T., Sugiyama, K., Hara-Kudo, Y., Ohashi, N., 2012. Factors for occurrence of extended-spectrum β-lactamase-producing *Escherichia coli* in broilers. J Vet Med Sci. 74, 1635-1637.

Hoban, D.J., Badal, R., Bouchillon, S., Hackel, M., Kazmierczak, K., Lascols, C., Hawser, S., 2014. In vitro susceptibility and distribution of beta-lactamases in *Enterobacteriaceae* causing intra-abdominal infections in North America 2010-2011. Diagn Microbiol Infect Dis. 79, 367-372.

Horton, R.A., Randall, L.P., Snary, E.L., Cockrem, H., Lotz, S., Wearing, H., Duncan, D., Rabie, A., McLaren, I., Watson, E., La Ragione, R.M., Coldham, N.G., 2011. Fecal

carriage and shedding density of CTX-M extended-spectrum β-lactamase-producing *Escherichia coli* in cattle, chickens, and pigs: implications for environmental contamination and food production. Appl Environ Microbiol. 77, 3715-3719.

Huijbers, P.M., Graat, E.A., Haenen, A.P., van Santen, M.G., van Essen-Zandbergen, A., Mevius, D.J., van Duijkeren, E., van Hoek, A.H., 2014. Extended-spectrum and AmpC β-lactamase-producing *Escherichia coli* in broilers and people living and/or working on broiler farms: prevalence, risk factors and molecular characteristics. J Antimicrob Chemother. 69, 2669-2675

Kameyama, M., Chuma, T., Yabata, J., Tominaga, K., Iwata, H., Okamoto, K., 2013. Prevalence and epidemiological relationship of CMY-2 AmpC β-lactamase and CTX-M extended-spectrum β-lactamase-producing *Escherichia coli* isolates from broiler farms in Japan. J Vet Med Sci. 75, 1009-1015.

Kietzmann, M., Markus, W., Chavez, J., Bollwahn, W., 1995. Drug residues in untreated swine. Dtsch Tierarztl Wochenschr. 102, 441-442.

Kreienbrock, L., Pigeot, I., Ahrens, W., 2012. Epidemiologische Methoden. Springer Spektrum Berlin Heidelberg.

Käsbohrer, A., Heckenbach, K., 2006. Monitoring of antimicrobial resistance on the basis of the E.U. Zoonoses Directive. Int J Med Microbiol. 296 Suppl 41, 39-43.

Laube, H., Friese, A., Salviati, C., Guerra, B., Rösler, U., 2014a. Transmission of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* between broiler chicken farms and their vicinity. Vet Microbiol. 79, 2759-2766.

Laube, H., Friese, A., von Salviati, C., Guerra, B., Käsbohrer, A., Kreienbrock, L., Roesler, U., 2013. Longitudinal Monitoring of Extended-Spectrum-Beta-Lactamase/AmpC-

Producing *Escherichia coli* at German Broiler Chicken Fattening Farms. Appl Environ Microbiol. 79, 4815-4820.

Laube, H., Friese, A., von Salviati, C., Guerra, B., Rösler, U., 2014b. Transmission of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* from broiler chicken farms to surrounding areas. Vet Microbiol. 172, 519-527.

Leistner, R., Meyer, E., Gastmeier, P., Pfeifer, Y., Eller, C., Dem, P., Schwab, F., 2013. Risk factors associated with the community-acquired colonization of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) positive *Escherichia coli*: an exploratory case-control study. PLoS One 8, e74323.

Leistner, R., Sakellariou, C., Gürntke, S., Kola, A., Steinmetz, I., Kohler, C., Pfeifer, Y., Eller, C., Gastmeier, P., Schwab, F., 2014. Mortality and molecular epidemiology associated with extended-spectrum β-lactamase production in *Escherichia coli* from bloodstream infection. Infect Drug Resist. 7, 57-62.

Leverstein-van Hall, M.A., Dierikx, C.M., Cohen Stuart, J., 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., on behalf of the national, E.s.g., 2011. Dutch patients, retail chicken meat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains. Clin Microbiol Infect. 17, 873-880.

Liebana, E., Carattoli, A., Coque, T.M., Hasman, H., Magiorakos, A.-P., Mevius, D., Peixe, L., Poirel, L., Schuepbach-Regula, G., Torneke, K., Torren-Edo, J., Torres, C., Threlfall, J., 2013. Public health risks of enterobacterial isolates producing extended-spectrum β-lactamases or AmpC β-lactamases in food and food-producing animals: an EU perspective of epidemiology, analytical methods, risk factors, and control options. Clin Infect Dis. 56, 1030-1037.

Machado, E., Coque, T.M., Cantón, R., Sousa, J.C., Peixe, L., 2008. Antibiotic resistance integrons and extended-spectrum β-lactamases among *Enterobacteriaceae* isolates recovered from chickens and swine in Portugal. J Antimicrob Chemother. 62, 296-302.

Machado, E., Coque, T.M., Cantón, R., Sousa, J.C., Peixe, L., 2013. Commensal *Enterobacteriaceae* as reservoirs of extended-spectrum beta-lactamases, integrons, and sul genes in Portugal. Front Microbiol. 4, 80.

Mamber, S.W., Katz, S.E., 1985. Effects of antimicrobial agents fed to chickens on some gram-negative enteric bacilli. Appl Environ Microbiol. 50, 638-648.

Marin, C., Lainez, M., 2009. *Salmonella* detection in feces during broiler rearing and after live transport to the slaughterhouse. Poult Sci. 88, 1999-2005.

McEwen, S.A., Fedorka-Cray, P.J., 2002. Antimicrobial Use and Resistance in Animals. Clin Infect Dis. 34, S93-S106.

Mesa, R.J., Blanc, V., Blanch, A.R., Cortés, P., González, J.J., Lavilla, S., Miró, E., Muniesa, M., Saco, M., Tórtola, M.T., Mirelis, B., Coll, P., Llagostera, M., Prats, G., Navarro, F., 2006. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in different environments (humans, food, animal farms and sewage). J Antimicrob Chemother. 58, 211-215.

Mo, S.S., Norström, M., Slettemeås, J.S., Løvland, A., Urdahl, A.M., Sunde, M., 2014. Emergence of AmpC-producing *Escherichia coli* in the broiler production chain in a country with a low antimicrobial usage profile. Vet Microbiol. 171, 315-320.

Mshana, S.E., Imirzalioglu, C., Hain, T., Domann, E., Lyamuya, E.F., Chakraborty, T., 2011. Multiple ST clonal complexes, with a predominance of ST131, of *Escherichia coli* harbouring $bla^{\text{CTX-M-15}}$ in a tertiary hospital in Tanzania. Clin Microbiol Infect. 17, 1279-1282.

Mughini-Gras, L., Enserink, R., Friesema, I., Heck, M., van Duynhoven, Y., van Pelt, W., 2014. Risk factors for human salmonellosis originating from pigs, cattle, broiler chickens and egg laying hens: a combined case-control and source attribution analysis. PLoS One 9, e87933.

Nathues, C., Grüning, P., Fruth, A., Verspohl, J., Blaha, T., Kreienbrock, L., Merle, R., 2013. *Campylobacter* spp.., *Yersinia enterocolitica*, and *Salmonella enterica* and their simultaneous occurrence in German fattening pig herds and their environment. J Food Prot. 76, 1704-1711.

Nicolas-Chanoine, M.-H., Jarlier, V., Robert, J., Arlet, G., Drieux, L., Leflon-Guibout, V., Laouénan, C., Larroque, B., Caro, V., Mentré, F., ß, t.s.G.C., 2012. Patient's Origin and Lifestyle Associated with CTX-M-Producing *Escherichia coli*: A Case-Control-Control Study. PLoS ONE 7, e30498.

Overdevest, I., Willemsen, I., Rijnsburger, M., Eustace, A., Xu, L., Hawkey, P., Heck, M., Savelkoul, P., Vandenbroucke-Grauls, C., van der Zwaluw, K., Huijsdens, X., Kluytmans, J., 2011. Extended-Spectrum β-Lactamase Genes of *Escherichia coli* in Chicken Meat and Humans, the Netherlands. Emerging Infect Dis. 17.

Pavlovic, M., Huber, I., Konrad, R., Busch, U., 2013. Application of MALDI-TOF MS for the Identification of Food Borne Bacteria. Open Microbiol J. 7, 135-141.

Pearson, C.C., Sharples, T.J., 1995. Airborne Dust Concentrations in Livestock Buildings and the Effect of Feed. J Agr Eng Res. 60, 145-154.

Persoons, D., Haesebrouck, F., Smet, A., Herman, L., Heyndrickx, M., Martel, A., Catry, B., Berge, A.C., Butaye, P., Dewulf, J., 2011. Risk factors for ceftiofur resistance in *Escherichia coli* from Belgian broilers. Epidemiol Infect. 139, 765-771.

Pothmann, H., Nechanitzky, K., Sturmlechner, F., Drillich, M., 2014. Consultancy to dairy farmers relating to animal health and herd health management on small- and medium-sized farms. J Dairy Sci. 97, 851-860.

R-Core-Team, 2014. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Ramos, S., Igrejas, G., Silva, N., Jones-Dias, D., Capelo-Martinez, J.-L., Caniça, M., Poeta, P., 2013. First report of CTX-M producing *Escherichia coli*, including the new ST2526, isolated from beef cattle and sheep in Portugal. Food Control 31, 208-210.

Rao, L., Lv, L., Zeng, Z., Chen, S., He, D., Chen, X., Wu, C., Wang, Y., Yang, T., Wu, P., Liu, Y., Liu, J.-H., 2014. Increasing prevalence of extended-spectrum cephalosporin-resistant *Escherichia coli* in food animals and the diversity of CTX-M genotypes during 2003–2012. Vet Microbiol. 172, 534-541.

Reich, F., Atanassova, V., Klein, G., 2013. Extended-spectrum β-lactamase- and AmpC-producing enterobacteria in healthy broiler chickens, Germany. Emerg Infect Dis. 19, 1253-1259.

Reinthaler, F.F., Feierl, G., Galler, H., Haas, D., Leitner, E., Mascher, F., Melkes, A., Posch, J., Winter, I., Zarfel, G., Marth, E., 2010. ESBL-producing *E. coli* in Austrian sewage sludge. Water Research 44, 1981-1985.

Revelle, W., 2014. psych: Procedures for Personality and Psychological Research. Northwestern University, Evanston, Illinois, USA, http://CRAN.R-project.org/package = psych Version = 1.4.3.

SAS, 2012. SAS/STAT 9.3 SAS User's Guide. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA.

Scherz, G., 2013. Carryover of subtherapeutic antimicrobial dosages of enrofloxacin and the influence on the development of antibiotic resistance of commensal *Escherichia coli* in the intestine of poultry. Hannover, tierärztl. Hochsch., Diss.

Scherz, G., Stahl, J., Glünder, G., Kietzmann, M., 2014. Effects of carry-over of fluoroquinolones on the susceptibility of commensal *E. coli* in the intestinal flora of poultry. BMTW 127, 478–485.

Schmid, A., Hörmansdorfer, S., Messelhäusser, U., Käsbohrer, A., Sauter-Louis, C., Mansfeld, R., 2013. Prevalence of extended-spectrum β-lactamase-producing *Escherichia coli* on bavarian dairy and beef cattle farms. Appl Environ Microbiol. 79, 3027-3032.

Schouten, J.M., Bouwknegt, M., van de Giessen, A.W., Frankena, K., De Jong, M.C., Graat, E.A., 2004. Prevalence estimation and risk factors for *Escherichia coli* O157 on Dutch dairy farms. Prev Vet Med. 64, 49-61.

Schwarz, S., Chaslus-Dancla, E., 2001. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. Vet Res. 32, 201-225.

Schwarz, S., Kadlec, K., Silley, P., 2013. Antimicrobial Resistance in Bacteria of Animal Origin. ZETT Verlag 2013.

Shah, A.A., Hasan, F., Ahmed, S., Hameed, A., 2004. Characteristics, epidemiology and clinical importance of emerging strains of Gram-negative bacilli producing extended-spectrum β-lactamases. Res Microbiol. 155, 409-421.

Smet, A., Martel, A., Persoons, D., Dewulf, J., Heyndrickx, M., Catry, B., Herman, L., Haesebrouck, F., Butaye, P., 2008. Diversity of Extended-Spectrum β-Lactamases and Class C β-Lactamases among Cloacal *Escherichia coli* Isolates in Belgian Broiler Farms. Antimicrob Agents Chemother. 52, 1238-1243.

Snow, L.C., Warner, R.G., Cheney, T., Wearing, H., Stokes, M., Harris, K., Teale, C.J., Coldham, N.G., 2012. Risk factors associated with extended spectrum beta-lactamase *Escherichia coli* (CTX-M) on dairy farms in North West England and North Wales. Prev Vet Med. 106, 225-234.

Stein, C., Makarewicz, O., Pfeifer, Y., Brandt, C., Ramos, J.C., Klinger, M., Pletz, M.W., 2013. Direct RNA-based detection and differentiation of CTX-M-type extended-spectrum β-lactamases (ESBL). PLoS One 8, e80079.

Teuber, M., 2001. Veterinary use and antibiotic resistance. Curr Opin Microbiol 4, 493-499.

van der Wolf, P.J., Bongers, J.H., Elbers, A.R.W., Franssen, F.M.M.C., Hunneman, W.A., van Exsel, A.C.A., Tielen, M.J.M., 1999. *Salmonella* infections in finishing pigs in The Netherlands: bacteriological herd prevalence, serogroup and antibiotic resistance of isolates and risk factors for infection. Vet Microbiol. 67, 263-275.

van Rennings, L., von Münchhausen, C., Honscha, W., Ottilie, H., Käsbohrer, A., Kreienbrock, L., 2013. Repräsentative Verbrauchsmengenerfassung von Antibiotika in der Nutztierhaltung - Kurzbericht über die Ergebnisse der Studie "VetCAb-Pilot". Fachinformation (Stand: 26. Juni 2013).

Villegas, M.V., Kattan, J.N., Quinteros, M.G., Casellas, J.M., 2008. Prevalence of extended-spectrum β-lactamases in South America. Clin Microbiol Infect. 14, 154-158.

Vo, A.T.T., van Duijkeren, E., Fluit, A.C., Gaastra, W., 2007. Characteristics of extended-spectrum cephalosporin-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from horses. Vet Microbiol. 124, 248-255.

von Altrock, A., Roesler, U., Waldmann, K.H., 2011. Herd factors associated with the serological *Yersinia* prevalence in fattening pig herds. Foodborne Pathog Dis. 8, 1249-1255.

Wasyl, D., Hasman, H., Cavaco, L.M., Aarestrup, F.M., 2012. Prevalence and characterization of cephalosporin resistance in nonpathogenic *Escherichia coli* from food-producing animals slaughtered in Poland. Microb Drug Resist. 18, 79-82.

Wu, G., Day, M.J., Mafura, M.T., Nunez-Garcia, J., Fenner, J.J., Sharma, M., van Essen-Zandbergen, A., Rodríguez, I., Dierikx, C., Kadlec, K., Schink, A.K., Wain, J., Helmuth, R., Guerra, B., Schwarz, S., Threlfall, J., Woodward, M.J., Woodford, N., Coldham, N., Mevius, D., 2013. Comparative analysis of ESBL-positive *Escherichia coli* isolates from animals and humans from the UK, The Netherlands and Germany. PLoS One 8, e75392.

Yu, Y., Ji, S., Chen, Y., Zhou, W., Wei, Z., Li, L., Ma, Y., 2007. Resistance of strains producing extended-spectrum β-lactamases and genotype distribution in China. J Infect. 54, 53-57.

Zhang, L., Lü, X., Zong, Z., 2013. The emergence of blaCTX-M-15-carrying *Escherichia coli* of ST131 and new sequence types in Western China. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 12, 35.

Zhang, X.-S., Chase-Topping, M.E., McKendrick, I.J., Savill, N.J., Woolhouse, M.E.J., 2010. Spread of *E. coli* O157 infection among Scottish cattle farms: Stochastic models and model selection. Epidemics 2, 11-20.

Zurfluh, K., Hächler, H., Nüesch-Inderbinen, M., Stephan, R., 2013. Characteristics of Extended-Spectrum β-Lactamase- and Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* Isolates from Rivers and Lakes in Switzerland. Appl Environ Microbiol. 79, 3021-3026.

Anhang

a) Fragebogen Mastschwein

A Allgemeine Angaben zum Betrieb

A-1	Region	☐Nordwest ☐Ost ☐Mitte ☐Süd
A-2	Haltungsart	☐konventionell ☐ökologisch
A-3	Wie viele Tiere halten Sie zurzeit je Produktionsgruppe? (wenn keine, dann „0“ eintragen)	

Produktionsgruppe	Anzahl Tiere
Sauen	
Jungsauen	
Eber	
Saugferkel	
Absetzferkel	
Aufzuchtschweine	
Mastschweine	

A-4	Wie viele Stallgebäude für Mastschweine gibt es in Ihrem Betrieb? Betrieb = Hofstelle	……Stallgebäude
A-5	Wie viele Altersgruppen gibt es in diesen Ställen?	……Altersgruppen ☐unterschiedlich

A-6 Welche und wie viele der folgenden Tierarten halten Sie außerdem auf diesem Betrieb?
(wenn keine, dann „0“ eintragen)

A-7 Haben diese Tiere Kontakt zu den Schweinen?

Tierart	Anzahl Tiere	Kontakt		
		Ja	Nein	n.b.
Rinder		☐	☐	☐
Geflügel		☐	☐	☐
Schafe		☐	☐	☐
Ziegen		☐	☐	☐
Pferde		☐	☐	☐
Hunde		☐	☐	☐
Katzen		☐	☐	☐

A-8	Welche Personen betreuen die Tiere? (Mehrfachnennungen möglich)	☐Sie ☐n.b. ☐Familienangehörige ☐k.A. ☐Fachkräfte ☐angelernte Kräfte ☐Azubis

A-9 Welche Personen haben Zutritt zum Bestand?	☐Betriebspersonal einschließlich Tierarzt, Berater ☐Familienmitglieder ☐weitere Personen ☐n.b.
A-10 Haben betreuende Personen privaten Kontakt zu anderen Tieren?	☐Ja, zu Nutztieren ☐n.b. ☐Ja, nicht zu Nutztieren ☐k.A. ☐Nein
A-11 Nimmt Ihr Betrieb am QS System teil?	☐Ja ☐n.b. ☐Nein ☐k.A. ☐Anderes:…….
A-12 Welche Salmonellen Kategorisierung hat Ihr Betrieb zurzeit?	☐I ☐n.b. ☐II ☐k.A. ☐III

B Ackerbau

B-1 Betreiben Sie Ackerbau? Wenn nein - > weiter bei Teil C	☐Ja ☐n.b. ☐Nein ☐k.A.
Wenn ja, B-2 Wie viel ha landwirtschaftliche Nutzfläche haben Sie? Acker + Weide	…….. ha
B-3 Bauen Sie Lauch an?	☐Ja ☐Nein ☐n.b. ☐k.A.
B-4 Bauen Sie Weißkohl an?	☐Ja ☐Nein ☐n.b. ☐k.A.

	Lauch	Weißkohl

B-5	Wenn ja (Lauch und/oder Weißkohl), welche Bodenart haben Sie bei Lauch und Weißkohl?	☐humoser Sand ☐schwach humoser Sand ☐Sand ☐lehmiger Sand ☐Sand-Lehm ☐sandiger Lehm ☐Lehm ☐schluffiger Lehm ☐lehmiger Ton ☐Ton ☐andere ☐n.b.	☐humoser Sand ☐schwach humoser Sand ☐Sand ☐lehmiger Sand ☐Sand-Lehm ☐sandiger Lehm ☐Lehm ☐schluffiger Lehm ☐lehmiger Ton ☐Ton ☐andere ☐n.b.
B-6	Wenn ja, welchen pH-Wert haben die Flächen mit Lauch & Weißkohl? (eine Nachkommastelle)	Lauch ……	Weißkohl ……
B-7	Bringen Sie Gülle/Jauche/Mist auf die Ackerflächen aus? wenn unterschiedlich, bei Lauch & Weißkohl	☐Ja ☐Nein ☐n.b. ☐k.A.	
B-8	Bringen Sie Gülle/Jauche/Mist auf die Grünlandflächen aus?	☐Ja ☐Nein ☐n.b. ☐k.A.	
B-9	Bauen Sie Getreide an? Wenn ja, wird Stroh von mit Gülle/Jauche/Mist gedüngten Feldern in der eigenen Tierhaltung eingesetzt?	☐Ja ☐Nein ☐n.b. ☐k.A. ☐Ja ☐Nein ☐n.b. ☐k.A.	

C. Antibiotikaverbrauch

C-1	Wie werden die Bestandsdaten (Leistungsdaten, Mortalität, Futterverbrauch…) erfasst? (Mehrfachnennungen möglich)	☐Sauenplaner ☐Mastplaner ☐Excel-Tabellen ☐Papier ☐Anders: …….. ☐n.b.

D Geographische Aspekte

Gibt es in der näheren Umgebung (Radius ca. 1 km)	ja	nein	n.b.
schweinehaltende Betriebe	☐	☐	☐
rinderhaltende Betriebe	☐	☐	☐
geflügelhaltende Betriebe	☐	☐	☐
Haltungen von Schafen, Ziegen, Pferden	☐	☐	☐
Wild- und Zootierhaltungen	☐	☐	☐
Gewässer mit Wasservögeln	☐	☐	☐
Kläranlagen	☐	☐	☐
Schlachtbetriebe	☐	☐	☐
Verarbeitungsbetriebe	☐	☐	☐
Tierkörperbeseitigungsanlagen	☐	☐	☐
Mülldeponien, Kompostierungsanlagen	☐	☐	☐
Biogasanlagen	☐	☐	☐
Landwirtschaftliche Anbaufläche	☐	☐	☐
Wald	☐	☐	☐
Krankenhaus	☐	☐	☐

E Organisation der Ställe

E-1 Wie wird Ihr Betrieb geführt?	☐reiner Mastbetrieb ☐geschlossenes System ☐Ferkelaufzüchter mit angeschlossener Mast ☐n.b. ☐k.A.

E-2	Woher stammen die Mastschweine?	☐keine Tierzukäufe im Mastbereich ☐Zukäufe von ***einer*** Herkunft ☐Zukäufe von ***mehreren*** Herkünften ☐in ***einer*** Lieferung ☐in ***unterschiedlichen*** Lieferungen ☐n.b. ☐k.A.
E-3	Wenn geschlossenes System, wie wird der Flatdeckbereich in der Regel belegt?	☐kontinuierlich ☐Rein - Raus ☐Abteil ☐Stall ☐keine räumliche Trennung zwischen Flatdeckferkeln und Mastschweinen ☐n.b. ☐k.A.
E-4	Wie wird der Mastbereich in der Regel belegt?	☐kontinuierlich ☐Rein - Raus ☐Abteil ☐Stall ☐n.b. ☐k.A.
E-5	Wie lange dauert die Mastperiode?	……Tage
E-6	Wird während der Mast umgestallt?	☐Ja ☐n.b. ☐Nein ☐k.A.
E-7	Werden während der Mastphase einzelne Schweine umgesetzt?	☐Ja ☐n.b. ☐Nein ☐k.A.
E-8	Wo verbleiben üblicherweise kranke Schweine und Kümmerer? (Mehrfachnennungen möglich)	☐in der Bucht ☐n.b. ☐in einer Krankenbucht ☐k.A. ☐in einem Krankenstall, -abteil ☐Rückstallung zu jüngeren Tieren ☐Sonstiges _____
E-9	Wo verbleiben Restbestände? (Mehrfachnennungen möglich)	☐bleiben bei Neueinstallung von Ferkeln im Abteil ☐werden bei einer anderen Tiergruppe untergebracht ☐werden in einen gesonderten Stall verbracht ☐bei Neueinstallung sind nie Restbestände vorhanden ☐n.b. ☐k.A.

F Fütterungsmerkmale eines Stalls

F-1	Herkunft des Futters in der Endmast	☐Betriebseigenes ☐beides ☐Zukaufsfutter ☐n.b.
F-2	Fütterungstechnik in der Endmast (Mehrfachnennungen möglich)	☐rationiert ☐ad libitum ☐Trogfütterung per Hand ☐Breiautomaten ☐Flüssigfütterung ☐Sensorfütterung ☐Trockenfutterautomat ☐sonstiges
F-3	Struktur des Futtermittels (Mehrfachnennungen möglich)	☐Mehl ☐fermentiertes Futter ☐Pellets ☐sonstiges:_____ ☐Corn-Cob-Mix ☐n.b.
F-4	Herkunft des Tränkwassers	☐öffentliche Wasserversorgung ☐Brunnen mit Trinkwasserqualität ☐Brunnen ohne Untersuchung (Viehbrunnen) ☐n.b.
F-5	Erhält das Tränkwasser einen Säurezusatz? um den pH-Wert zu senken	☐Ja ☐Nein ☐n.b.
F-6	Welche Tränken verwenden Sie? (Mehrfachnennungen möglich)	Nippel tränken: ☐am Fressplatz ☐außerhalb des Fressplatzes Napf tränken: ☐am Fressplatz ☐außerhalb des Fressplatzes Trog: ☐am Fressplatz ☐außerhalb des Fressplatzes

G Leistung

Durchschnittliche Mastleistung pro Mastdurchgang in den letzten 12 Monaten:	
G-1 Tageszunahme	……..g/Tag
G-2 Verlustrate	…….. %
G-3 Mastdurchgänge pro Jahr	……..

H Hygiene und Reinigung

H-1 Welche Hygienemaßnahmen werden vor Betreten des Stalles durchgeführt? (Mehrfachnennungen möglich)	☐keine ☐Umkleiden / Schutzkleidung ☐Handschuhe ☐Handreinigung ☐Handdesinfektion ☐Stiefelreinigung ☐Stiefeldesinfektion ☐Stiefel werden NUR für diesen Stall benutzt und daher nicht jedes Mal gereinigt
H-2 Wie ist der Zutritt zu den Ställen geregelt?	☐es gibt keine Hygieneschleuse ☐es gibt EINE Hygieneschleuse für alle Ställe ☐jeder Stall hat seine eigene Hygieneschleuse
H-3 Welche sonstigen Schutzvorkehrungen haben Sie? (Mehrfachnennungen möglich)	☐keine ☐Umzäunung der Anlage ☐abschließbare Türen ☐Ladezone schwarz/weiß-Bereich ☐Andere:……
H-4 Welche der folgenden Gegenstände benutzen Sie für mehrere Ställe ohne vorherige Desinfektion? (Mehrfachnennungen möglich)	☐Waage ☐Futterwagen ☐Ferkelwaagen ☐Reinigungsequipment ☐Treibbretter ☐Schlinge ☐Spritzpistolen ☐Kennzeichnungsstifte ☐Werkzeug ☐Ohrmarkenzange ☐Sonstige…… ☐trifft nicht zu ☐jeder Stall hat sein eigenes Material

	Reinigung	Desinfektion
H-5 Wann erfolgen Reinigung und Desinfektion der ***Abteile***?	☐nach jedem Ausstallen ☐seltener als nach jedem Ausstallen ☐nie ☐n.b.	☐ nach jedem Ausstallen ☐ seltener als nach jedem Ausstallen ☐nie ☐n.b.

	Reinigung	Desinfektion
H-6 Wann erfolgt die Reinigung und Desinfektion der ***Treibwege*** außerhalb der Abteile?	☐wöchentlich ☐monatlich ☐nach jedem Ausstallen ☐seltener ☐nie ☐n.b.	☐wöchentlich ☐monatlich ☐nach jedem Ausstallen ☐seltener ☐nie ☐n.b.

		Reinigung	Desinfektion	Weder noch	Trifft nicht zu
H-7 Was schließt die Reinigung und Desinfektion der Abteile ein? (Mehrfachnennungen möglich)	Boden	☐	☐	☐	☐
	Boxenabtrennungen	☐	☐	☐	☐
	Wände in Tierhöhe	☐	☐	☐	☐
	Wände bis zur Decke	☐	☐	☐	☐
	Decke	☐	☐	☐	☐
	Lüftungsschächte	☐	☐	☐	☐
	Windschutznetze	☐	☐	☐	☐
	Tränken	☐	☐	☐	☐
	Futtertröge / -automaten	☐	☐	☐	☐

H-8 Womit reinigen Sie die Ställe? (Mehrfachnennungen möglich)	☐Mistgabel, Besen o.ä. ☐Frontlader ☐Hochdruckreiniger ☐Wasserschlauch ☐Sonstiges……

H-9 Wie lange lassen Sie das Reinigungsmittel einwirken?	☐ < 1h ☐ n.b. ☐ 1-4h ☐ k.A. ☐ > 4h ☐ es wird kein Reinigungsmittel verwendet
H-10 Lassen Sie die Flächen nach der Reinigung trocknen?	☐ Ja ☐ n.b. ☐ trifft nicht zu ☐ Nein ☐ k.A.
H-11 Wie lange lassen Sie das Desinfektionsmittel einwirken?	☐ < 1h ☐ n.b. ☐ 1-4h ☐ k.A. ☐ > 4h ☐ es wird kein Desinfektionsmittel verwendet
H-12 Welche Desinfektionswirkstoffe benutzen Sie? (Mehrfachnennungen möglich)	☐ Säuren ☐ n.b. ☐ Aldehyde ☐ k.A. ☐ Sauerstoffabspalter ☐ Alkohole ☐ trifft nicht zu ☐ Chlor und Chlorabspalter ☐ Laugen ☐ Phenole ☐ quaternäre Ammoniumverbindungen ☐ Andere, nämlich:……

H-13 Welche Schädlinge bekämpfen Sie und womit? 1 = Gift, 2 = Fallen, 3 = biologisch (Güllefliegen o.ä.)	Schadnager	Fliegen	Sonstige

H-14 Wo wird die Gülle/der Mist gelagert? (Mehrfachnennungen möglich)	☐ innen ☐ außen ☐ auf betonierter Platte ☐ in Behälterlagune ☐ unbefestigter Boden auf dem Hof ☐ Feld
H-15 Wann wird die Gülle abgefahren?	☐ nach der Ausstallung ☐ während der Haltung

I Daten zur untersuchten Herde

		Gruppe A (jüngste Tiere)	Gruppe B (älteste Tiere)
I-1	Wie bezeichnen Sie den untersuchten Stall?	……..……	……..……
I-2	Wann wurde das Stallgebäude erbaut?	……..……	……..……
I-3	Wie viele vorgesehene Tierplätze gibt es insgesamt im untersuchten Stall[1]?	……..…Plätze	……..……Plätze
I-4	Wie viele vorgesehene Tierplätze gibt es insgesamt im Abteil?	……...Plätze	……...Plätze
I-5	Wie viele Buchten gibt es im Abteil?	……...Buchten	……...…Buchten
I-6	Wie viele Tiere sind aktuell im Abteil?	……Tiere	……Tiere
I-7	Ø Gewicht der untersuchten Tiergruppe	……kg ☐unterschiedlich	……kg ☐unterschiedlich
I-8	Datum der Einstallung	……/……/…… ☐unterschiedlich	……/……/…… ☐unterschiedlich
I-9	Ø Gewicht bei Einstallung	……kg ☐unterschiedlich	……kg ☐unterschiedlich
I-10	Wurde die untersuchte Tiergruppe seit Einstallung zur Mast antibiotisch behandelt? wenn nein, weiter bei Frage I-18	☐Ja, alle ☐Ja, Einzeltiere (Anzahl:……..) ☐ Nein ☐n.b. ☐k.A.	☐Ja, alle ☐Ja, Einzeltiere (Anzahl:……..) ☐ Nein ☐n.b. ☐k.A.

Wenn ja, I-11 welches Arzneimittel?	1)…… 2)…… 3)……	1)…… 2)…… 3)……
I-12 wie viele Tiere?	Zu 1)…… Zu 2)…… Zu 3)……	Zu 1)…… Zu 2)…… Zu 3)……
I-13 an wie vielen Tagen?	zu 1)…… zu 2)…… zu 3)……	zu 1)…… zu 2)…… zu 3)……
I-14 welche Diagnose? A = Atmung, D = Darm H = Haut, Gelenke, ZNS, Kümmern	zu 1)…… zu 2)…… zu 3)……	zu 1)…… zu 2)…… zu 3)……
I-15 welche Dosierung pro Tier?	zu 1)……..…mg/kg zu 2)……..…mg/kg zu 3)……..…mg/kg	zu 1)……..……..…mg/kg zu 2)……..……..…mg/kg zu 3)……..……..…mg/kg
I-16 Wie wurden die Medikamente verabreicht? L = lokal, O = oral, P = parenteral (Spritze)	zu 1)…… zu 2)…… zu 3)……	zu 1)…… zu 2)…… zu 3)……
I-17 Haben Ihre Tiere Auslauf bzw. leben sie in Freilandhaltung?	☐Sommer ☐Winter ☐ganzjähriger Auslauf ☐Freilandhaltung ☐kein	☐Sommer ☐Winter ☐ganzjähriger Auslauf ☐Freilandhaltung ☐kein
Wenn nein, weiter bei Frage I-25		
I-18 Ist der Boden komplett befestigt?	☐Ja ☐n.b. ☐Nein ☐k.A.	☐Ja ☐n.b. ☐Nein ☐k.A.

I-19	Hat die Auslauffläche eine komplette Überdachung?	☐Ja ☐n.b. ☐Nein ☐k.A.	☐Ja ☐n.b. ☐Nein ☐k.A.
I-20	Wird die Auslauffläche von verschiedenen Tiergruppen (Sauen/Mastschweine) gleichzeitig benutzt?	☐Ja ☐n.b. ☐Nein ☐k.A.	☐Ja ☐n.b. ☐Nein ☐k.A.
I-21	Woher kommt das Tränkwasser in der Außenanlage?	☐öffentliche Wasserversorgung ☐Brunnen mit Trinkwasserqualität ☐Brunnen ohne Untersuchung (Viehbrunnen) ☐kein extra Wasser ☐n.b.	☐öffentliche Wasserversorgung ☐Brunnen mit Trinkwasserqualität ☐Brunnen ohne Untersuchung (Viehbrunnen) ☐kein extra Wasser ☐n.b.
I-22	Haben die Tiere ansonsten noch Zugang zu Wasser (z. B. Bach/Teich)?	☐Ja ☐n.b. ☐Nein	☐Ja ☐n.b. ☐Nein
I-23	Gibt es eine Suhle, Pfützen oder sumpfiges Gelände im Auslauf?	☐Ja (immer oder zeitweise) ☐Nein (nie) ☐n.b.	☐Ja (immer oder zeitweise) ☐Nein (nie) ☐n.b.
I-24	Welche Bodenart gibt es im Stall der untersuchten Herde? (Mehrfachnennungen möglich)	☐Vollspaltenboden ☐Teilspaltenboden ☐Vollsp. mit iertem Schlitzanteil ☐Boden plan befestigt ☐Tiefstreu/ Tretmistverfahren ☐Sonstige ☐n.b.	☐Vollspaltenboden ☐Teilspaltenboden ☐Vollsp. mit reduziertem Schlitzanteil ☐Boden plan befestigt ☐Tiefstreu/ Tretmistverfahren ☐Sonstige ☐n.b.
I-25	Aus welchem Material besteht der Boden? (Mehrfachnennungen möglich)	☐Erdboden ☐Beton ☐Kunststoff ☐Metall ☐n.b.	☐Erdboden ☐Beton ☐Kunststoff ☐Metall ☐n.b.

I-26	Welche Lüftung ist vorhanden? (Mehrfachnennungen möglich)	Art: ☐Überdruck ☐n.b. ☐Unterdruck ☐k.A. Zuluft: ☐Kanäle ☐n.b. ☐Rieseldecke ☐k.A. ☐Anderes Abluft: ☐Unterflur ☐Überflur ☐Fenster+Türen	Art: ☐Überdruck ☐n.b. ☐Unterdruck ☐k.A. Zuluft: ☐Kanäle ☐n.b. ☐Rieseldecke ☐k.A. ☐Anderes Abluft: ☐Unterflur ☐Überflur ☐Fenster+Türen
I-27	Welche Heizung ist vorhanden? (Mehrfachnennungen möglich)	☐keine Zuführung: ☐Schläuche ☐Kanäle ☐Rieseldecke Heizungstyp: ☐Wärmeaustauscher ☐Wärmelampe ☐Plattenheizung ☐Deltarohre ☐Deckel ☐Gaskanone ☐Stroh ☐Andere, ……	☐keine Zuführung: ☐Schläuche ☐Kanäle ☐Rieseldecke Heizungstyp: ☐Wärmeaustauscher ☐Wärmelampe ☐Plattenheizung ☐Deltarohre ☐Deckel ☐Gaskanone ☐Stroh ☐Andere, ……..
I-28	Gibt es weitere wichtige Informationen zu Ihrem Betrieb bzw. zu Ihren Tieren?	…… …… …… ……	

b) Fragebogen Masthähnchen

A Allgemeine Angaben zum Betrieb

A-5	Region	☐Nordwest ☐Ost ☐Mitte ☐Süd
A-6	Haltungsart	☐konventionell ☐ökologisch
A-7	Wie viele Masthähnchen werden in Ihrem Betrieb (an diesem Betriebsstandort) gehalten?	…….…Hühner
A-8	Welche Rassen halten Sie?	☐Cobb ☐Ross ☐Andere
A-9	Wie viele Ställe[1] für Masthähnchen gibt es in Ihrem Betrieb?	…….……Ställe
A-10	Wie viele Herden[2] gibt es in diesen Ställen insgesamt?	……...……...Herden

A-11 Welche und wie viele der folgenden Tierarten halten Sie außerdem auf diesem Betrieb?
(wenn keine, dann „0“ eintragen)

A-12 Haben diese Tiere Kontakt zu den Hühnern?

Tierart	Anzahl Tiere	Kontakt		
		Ja	Nein	n.b.
Geflügel		☐	☐	☐
Schweine		☐	☐	☐
Rinder		☐	☐	☐
Schafe		☐	☐	☐
Ziegen		☐	☐	☐
Pferde		☐	☐	☐
Hunde		☐	☐	☐
Katzen		☐	☐	☐

[1] Ein „**Stall“** ist eine abgeschlossene räumliche Einheit in einem Stallgebäude. Dabei kann es sich um einen separaten Raum oder mehrere Räume mit gemeinsamem Luftraum handeln. Ein „Stall“ befindet sich ggf. mit weiteren, räumlich voneinander getrennten Ställen in einem Stallgebäude. Entscheidend dafür, ob mehrere Stallräume in einem Stallgebäude als ein „Stall“ zu bezeichnen sind, ist eine gemeinsame Lüftung.

[2] Eine **„Herde“** ist definiert als sämtliche Tiere einer Altersgruppe, die im selben System und im selben Stallraum oder Auslauf gehalten werden. Die „Herde“ kann mehrere Abteile umfassen.

A-13 Welche Personen betreuen die Tiere? (Mehrfachnennungen möglich)	☐Sie ☐n.b. ☐Familienangehörige ☐k.A. ☐Fachkräfte ☐angelernte Kräfte ☐Azubis
A-14 Welche Personen haben Zutritt zum Bestand?	☐Betriebspersonal einschließlich Tierarzt, Berater ☐Familienmitglieder ☐weitere Personen nach Absprache ☐n.b.
A-15 Haben betreuende Personen privaten Kontakt zu anderen Tieren?	☐Ja, zu Nutztieren ☐n.b. ☐Ja, nicht zu Nutztieren ☐k.A. ☐Nein
A-16 Nimmt Ihr Betrieb am QS-System teil?	☐Ja ☐n.b. ☐Nein ☐k.A. ☐Anderes:……..

B Ackerbau

B-10 Betreiben Sie Ackerbau? Wenn nein - > weiter bei Teil C	☐Ja ☐n.b. ☐Nein ☐k.A.
Wenn ja, B-11 Wie viel ha landwirtschaftliche Nutzfläche haben Sie? Acker + Weide	…….. ha
B-12 Bauen Sie Lauch an?	☐Ja ☐Nein ☐n.b. ☐k.A.
B-13 Bauen Sie Weißkohl an?	☐Ja ☐Nein ☐n.b. ☐k.A.

	Lauch	Weißkohl

B-14 Wenn ja (Lauch und/oder Weißkohl), welche Bodenart haben Sie bei Lauch und Weißkohl?	☐humoser Sand ☐schwach humoser Sand ☐Sand ☐lehmiger Sand ☐Sand-Lehm ☐sandiger Lehm ☐Lehm ☐schluffiger Lehm ☐lehmiger Ton ☐Ton ☐andere ☐n.b.	☐humoser Sand ☐schwach humoser Sand ☐Sand ☐lehmiger Sand ☐Sand-Lehm ☐sandiger Lehm ☐Lehm ☐schluffiger Lehm ☐lehmiger Ton ☐Ton ☐andere ☐n.b.
B-15 Wenn ja, welchen pH-Wert haben die Flächen mit Lauch & Weißkohl? (eine Nachkommastelle)	Lauch	Weißkohl
	……	……
B-16 Bringen Sie Gülle/Jauche/Mist auf die Ackerflächen aus? wenn unterschiedlich, bei Lauch & Weißkohl	☐Ja ☐Nein ☐n.b. ☐k.A.	
B-17 Bringen Sie Gülle auf die Grünlandflächen aus?	☐Ja ☐Nein ☐n.b. ☐k.A.	
B-18 Bauen Sie Getreide an? Wenn ja, wird Stroh von mit Gülle gedüngten Feldern in der eigenen Tierhaltung eingesetzt?	☐Ja ☐Nein ☐n.b. ☐k.A. ☐Ja ☐Nein ☐n.b. ☐k.A.	

C. Antibiotikaverbrauch

C-2 Wie werden die Bestandsdaten (Leistungsdaten, Mortalität, Futterverbrauch…) erfasst? (Mehrfachnennungen möglich)	☐Betriebssoftware ☐Excel-Tabellen ☐Papier ☐Anders: …….. ☐n.b.

D Geographische Aspekte

Gibt es in der näheren Umgebung (Radius ca. 1 km)	ja	nein	n.b.
schweinehaltende Betriebe	☐	☐	☐
rinderhaltende Betriebe	☐	☐	☐
geflügelhaltende Betriebe	☐	☐	☐
Haltungen von Schafen, Ziegen, Pferden	☐	☐	☐
Wild- und Zootierhaltungen	☐	☐	☐
Gewässer mit Wasservögeln	☐	☐	☐
Kläranlagen	☐	☐	☐
Schlachtbetriebe	☐	☐	☐
Verarbeitungsbetriebe	☐	☐	☐
Tierkörperbeseitigungsanlagen	☐	☐	☐
Mülldeponien, Kompostierungsanlagen	☐	☐	☐
Biogasanlagen	☐	☐	☐
Landwirtschaftliche Anbaufläche	☐	☐	☐
Wald	☐	☐	☐
Krankenhaus	☐	☐	☐

E Organisation der Ställe

E-10 Wie lange dauert die Mastperiode?	……Tage
E-11 Wird immer die gesamte Herde ausgestallt? E-12 ***Wenn nein***, wo verbleiben Restbestände?	☐Ja ☐n.b. ☐Nein ☐k.A. ☐bleiben bei Neueinstallung von Küken im Stall ☐werden bei einer anderen Tiergruppe untergebracht ☐werden in einen gesonderten Stall verbracht ☐bei Neueinstallung sind nie Restbestände vorhanden
E-13 Woher stammen die Masthühner?	☐keine Tierzukäufe im Mastbereich (weiter bei E-7) ☐Zukäufe von ***einer*** Herkunft (weiter bei E-7) ☐Zukäufe von ***mehreren*** Herkünften ☐n.b. ☐k.A.
E-14 Wenn mehrere Herkünfte: Sind Hühner ***unterschiedlicher Herkunft*** in einem Stall[1] untergebracht?	☐Ja ☐n.b. ☐Nein ☐k.A. ☐nicht zutreffend
E-15 Wenn mehrere Herkünfte: Sind Hühner ***unterschiedlicher Herkunft*** in einer Herde[2] untergebracht?	☐Ja ☐n.b. ☐Nein ☐k.A. ☐nicht zutreffend
E-16 Wie vermarkten Sie die Hühner? (Mehrfachnennungen möglich)	☐ Direktvermarktung ☐ Erzeugergemeinschaft ☐ Großabnehmer ☐ andere Vermarktung

F Fütterungsmerkmale eines Stalls

F-7 Herkunft des Futters	☐Betriebseigenes ☐beides ☐Zukaufsfutter ☐n.b.	
F-8 Führen Sie eine Phasenfütterung mit ein- oder mehreren Futterwechseln während eines Durchgangs durch?	☐ Ja ☐n.b. ☐ Nein ☐k.A.	
F-9 Wenn ja: Wie viele Phasen unterscheiden Sie im Lauf eines Durchgangs?	…… (Anzahl)	☐n.b. ☐k.A.

F-10 Herkunft des Tränkwassers	☐öffentliche Wasserversorgung ☐Brunnen mit Trinkwasserqualität ☐Brunnen ohne Untersuchung (Viehbrunnen) ☐n.b.
F-11 Erhält das Tränkwasser einen Säure-zusatz?	☐Ja ☐Nein ☐n.b.

G Leistung

Durchschnittliche Mastleistung pro Mastdurchgang in den letzten 12 Monaten:	
G-4 Tageszunahme	……..g/Tag
G-5 Verlustrate	…….. %
G-6 Mastdurchgänge pro Jahr	……..

H Hygiene und Reinigung

H-16 Welche Hy-gienemaßnahmen werden vor Betreten des Stalles durch-geführt? (Mehrfachnennungen möglich)	☐keine ☐Umkleiden / Schutzkleidung ☐Handschuhe ☐Handreinigung ☐Handdesinfektion ☐Stiefelreinigung ☐Stiefeldesinfektion ☐Stiefel werden NUR für diesen Stall benutzt und daher nicht jedes Mal gereinigt
H-17 Wie ist der Zutritt zu den Ställen geregelt?	☐es gibt keine Hygieneschleuse ☐es gibt EINE Hygieneschleuse für alle Ställe ☐jeder Stall hat seine eigene Hygieneschleuse
H-18 Welche sonstigen Schutzvorkehrungen haben Sie? (Mehr-fachnennungen möglich)	☐keine ☐Umzäunung der Anlage ☐abschließbare Türen ☐Ladezone schwarz/weiß-Bereich ☐Andere:…….
H-19 Ist ein getrennter Krankenstall/-abteil vorhanden?	☐Ja, wird als solcher ausschließlich genutzt ☐Ja, wird auch für andere Zwecke genutzt ☐Nein

H-20	Welche der folgenden Gegenstände benutzen Sie für mehrere Ställe ohne vorherige Desinfektion? (Mehrfachnennungen möglich)	☐Waage ☐Futterwaagen ☐Reinigungsequipment ☐Kennzeichnungsstifte ☐Werkzeug ☐Sonstige…… ☐ trifft nicht zu ☐jeder Stall hat sein eigenes Material

		Reinigung	Desinfektion
H-21	Wann erfolgen Reinigung und Desinfektion der ***Ställe***?	☐täglich ☐wöchentlich ☐nach jedem Ausstallen ☐seltener als nach jedem Ausstallen ☐nie ☐n.b.	☐nach jedem Ausstallen ☐seltener als nach jedem Ausstallen ☐nie ☐n.b.

		Reinigung	Desinfektion	Weder noch	Trifft nicht zu
H-22	Was schließt die Reinigung und Desinfektion der Ställe[1] ein? (Mehrfachnennungen möglich)				
	Boden	☐	☐	☐	☐
	Wände	☐	☐	☐	☐
	Decke	☐	☐	☐	☐
	Lüftungsschächte	☐	☐	☐	☐
	Tränken	☐	☐	☐	☐
	Futtertröge / -automaten	☐	☐	☐	☐

H-23	Womit reinigen Sie die Ställe? (Mehrfachnennungen möglich)	☐Mistgabel, Besen o.ä. ☐Frontlader ☐Hochdruckreiniger ☐Wasserschlauch ☐Sonstiges……
H-24	Wie lange lassen Sie das Reinigungsmittel einwirken?	☐ < 1h ☐n.b. ☐1-4h ☐k.A. ☐ > 4h ☐es wird kein Reinigungsmittel verwendet
H-25	Lassen Sie die Flächen nach der Reinigung trocknen?	☐Ja ☐n.b. ☐trifft nicht zu ☐Nein ☐k.A.

H-26	Wie lange lassen Sie das Desinfektionsmittel einwirken?	☐ < 1h ☐ n.b. ☐ 1-4h ☐ k.A. ☐ > 4h ☐ es wird kein Desinfektionsmittel verwendet
H-27	Welche Desinfektionswirkstoffe benutzen Sie? (Mehrfachnennungen möglich)	☐ Säuren ☐ n.b. ☐ Aldehyde ☐ k.A. ☐ Sauerstoffabspalter ☐ Alkohole ☐ trifft nicht zu ☐ Chlor und Chlorabspalter ☐ Laugen ☐ Phenole ☐ quaerternäre Ammoniumverbindungen ☐ Andere, nämlich:……
H-28	Welche Schädlinge bekämpfen Sie und womit? 1 = Gift, 2 = Fallen, 3 = biologisch (Güllefliegen o.ä.)	Schadnager / Fliegen / Sonstige ( ) / ( ) / ( )
H-29	Wo wird die Gülle/der Mist gelagert? (Mehrfachnennungen möglich)	☐ innen ☐ außen ☐ auf betonierter Platte ☐ in Behälterlagune ☐ unbefestigter Boden auf dem Hof ☐ Feld
H-30	Wann wird der Mist abgefahren?	☐ nach der Ausstallung ☐ während der Haltung

I Daten zur untersuchten Herde

		Gruppe A (jüngste Tiere)	Gruppe B (älteste Tiere)
I-29	Wie bezeichnen Sie den untersuchten Stall?	……..……	……..……
I-30	Wann wurde das Stallgebäude erbaut?	……..……	……..……
I-31	Wie viele Herden[2] gibt es im untersuchten Stall? momentan	……..…Herden	……..……Herden
I-32	Wie viele Tiere gibt es insgesamt im Stall[1]? momentan	……Tiere	……..……Tiere

I-33 Wie viele Tiere umfasst die untersuchte Herde[2]? momentan	……Tiere	……..…...……Tiere
I-34 Alter der untersuchten Tiergruppe	……....Tage	……....…Tage
I-35 Ø Gewicht der unter-suchten Tiere	…….....g	…….……....…g
I-36 Datum der Einstallung	…..……/……..…/……..…	…..……/……..…/……..…
I-37 Alter bei Einstallung	……Tage	……..……Tage
I-38 Datum der Ausstallung	…..……/……..…/……..…	…..……/……..…/……..…
I-39 Wurde die untersuchte Herde antibiotisch behandelt? wenn nein, weiter bei Frage I-16	☐Ja, alle ☐Ja, Einzeltiere (Anzahl:……..) ☐Ja ☐n.b. ☐Nein ☐k.A.	☐Ja, alle ☐Ja, Einzeltiere (Anzahl:……..) ☐Ja ☐n.b. ☐Nein ☐k.A.
Wenn ja, I-40 welches Arzneimittel?	1)…… 2)…… 3)……	1)…… 2)…… 3)……
I-41 wie viele Tiere?	Zu 1)…… Zu 2)…… Zu 3)……	Zu 1)…… Zu 2)…… Zu 3)……
I-42 an wie vielen Tagen?	zu 1)…… zu 2)…… zu 3)……	zu 1)…… zu 2)…… zu 3)……
I-43 welche Diagnose? A = Atmung, D = Darm H = Haut,	zu 1)…… zu 2)…… zu 3)……	zu 1)…… zu 2)…… zu 3)……

I-44	welche Dosierung pro Tier?	zu 1)……..…mg/kg zu 2)……..…mg/kg zu 3)……..…mg/kg	zu 1)……..…mg/kg zu 2)……..…mg/kg zu 3)……..…mg/kg
I-45	Wie wurden die Medikamente verabreicht? L = lokal, O = oral, P = parenteral (Spritze)	zu 1)…… zu 2)…… zu 3)……	zu 1)…… zu 2)…… zu 3)……
I-46	Haben Ihre Tiere Auslauf bzw. leben sie in Freilandhaltung?	☐Sommer ☐Winter ☐ganzjähriger Auslauf ☐Freilandhaltung ☐kein	☐Sommer ☐Winter ☐ganzjähriger Auslauf ☐Freilandhaltung ☐kein
Wenn nein, weiter bei Frage I-24			
I-47	Ist der Boden komplett befestigt?	☐Ja ☐n.b. ☐Nein ☐k.A.	☐Ja ☐n.b. ☐Nein ☐k.A.
I-48	Hat die Auslauffläche eine komplette Überdachung?	☐Ja ☐n.b. ☐Nein ☐k.A.	☐Ja ☐n.b. ☐Nein ☐k.A.
I-49	Wird die Auslauffläche von verschiedenen Herden[2] gleichzeitig benutzt?	☐Ja ☐n.b. ☐Nein ☐k.A.	☐Ja ☐n.b. ☐Nein ☐k.A.
I-50	Woher kommt das Tränkwasser in der Außenanlage?	☐öffentliche Wasserversorgung ☐Brunnen mit Trinkwasserqualität ☐Brunnen ohne Untersuchung (Viehbrunnen) ☐kein extra Wasser ☐n.b.	☐öffentliche Wasserversorgung ☐Brunnen mit Trinkwasserqualität ☐Brunnen ohne Untersuchung (Viehbrunnen) ☐kein extra Wasser ☐n.b.
I-51	Haben die Tiere ansonsten noch Zugang zu Wasser (z. B. Bach/Teich)?	☐Ja ☐n.b. ☐Nein	☐Ja ☐n.b. ☐Nein

I-52 Welchen Stalltyp verwenden Sie in der untersuchten Herde?	☐ Bodenhaltung ☐ Bodenhaltung mit Außenklimabereich ☐ Bodenhaltung mit Auslauf ☐ n.b. ☐ k.A.	☐ Bodenhaltung ☐ Bodenhaltung mit Außenklimabereich ☐ Bodenhaltung mit Auslauf ☐ n.b. ☐ k.A.
I-53 Welche Bodenart gibt es im Stall der untersuchten Herde? (Mehrfachnennungen möglich)	☐ Boden plan befestigt ☐ Tiefstreuverfahren ☐ Erdboden ☐ Sonstige ☐ n.b.	☐ Boden plan befestigt ☐ Tiefstreuverfahren ☐ Erdboden ☐ Sonstige ☐ n.b.
I-54 Welche Lüftung ist vorhanden? (Mehrfachnennungen möglich)	Art ☐ Überdruck ☐ n.b. ☐ Unterdruck ☐ k.A. Zuluft ☐ Klappen ☐ n.b. ☐ Rieseldecke ☐ k.A. ☐ Anderes ☐ Fenster+Türen	Art ☐ Überdruck ☐ n.b. ☐ Unterdruck ☐ k.A. Zuluft ☐ Klappen ☐ n.b. ☐ Rieseldecke ☐ k.A. ☐ Anderes ☐ Fenster+Türen
I-55 Welche Heizung ist vorhanden? (Mehrfachnennungen möglich)	☐ keine ☐ n.b. ☐ k.A. ☐ Wärmetauscher ☐ Wärmelampe ☐ Plattenheizung ☐ Deltarohre ☐ Deckel ☐ Gaskanone ☐ Stroh ☐ Andere, ……	☐ keine ☐ n.b. ☐ k.A. ☐ Wärmetauscher ☐ Wärmelampe ☐ Plattenheizung ☐ Deltarohre ☐ Deckel ☐ Gaskanone ☐ Stroh ☐ Andere, ……
I-56 Welche Beleuchtungsart haben Sie?	☐ Natürlich ☐ Künstlich ☐ Beides ☐ n.b.	☐ Natürlich ☐ Künstlich ☐ Beides ☐ n.b.

I-57	Von wann bis wann ist das Licht an?	Von …....…. bis …....…. Uhr Von …....…. bis …....…. Uhr Von …....…. bis …....…. Uhr ☐ n.b.	Von …....…. bis …....…. Uhr Von …....…. bis …....…. Uhr Von …....…. bis …....…. Uhr ☐ n.b.
I-58	Welches Einstreumaterial wird verwendet?	☐ Stroh ☐ Hobelspäne ☐ Hackschnitzel ☐ Sägespäne ☐ Sand ☐ Sonstiges …… ☐ Gar nichts ☐ n.b. ☐ k.A.	☐ Stroh ☐ Hobelspäne ☐ Hackschnitzel ☐ Sägespäne ☐ Sand ☐ Sonstiges …… ☐ Gar nichts ☐ n.b. ☐ k.A.
I-59	Wie hoch wurde zu Beginn eingestreut? Bitte geben Sie die Einstreuhöhe in cm an.	……cm ☐ n.b. ☐ k.A.	……cm ☐ n.b. ☐ k.A.
I-60	Wird das Scharrmaterial im Scharrraum nachgestreut?	☐ Ja ☐ n.b. ☐ Nein ☐ k.A.	☐ Ja ☐ n.b. ☐ Nein ☐ k.A.
I-61	Wenn ja: Wie häufig?	☐ Alle …… Tage ☐ Bei Bedarf ☐ n.b. ☐ k.A.	☐ Alle …… Tage ☐ Bei Bedarf ☐ n.b. ☐ k.A.
Gibt es weitere wichtige Informationen zu Ihrem Betrieb bzw. zu Ihren Tieren?		…… …… …… ……	

c) Einverständniserklärung

Forschungsverbund RESET: ESBL and (fluoro)quinolone resistance in *Enterobacteriaceae*

Forschungsinformation und Einwilligungserklärung

Sehr geehrte(r) Landwirt(in),

wir möchten Sie um Ihre Einwilligung zur Teilnahme an einem Forschungsvorhaben bitten. Hierzu erhalten Sie im Folgenden Informationen zum Ablauf des Forschungsvorhabens:

Der Forschungsverbund RESET beschäftigt sich mit der Erforschung von Resistenzen gegen Antibiotika in einer Gruppe von Bakterien, den Enterobakterien. Resistente Bakterien in Tieren können den Menschen über das Lebensmittel erreichen. Um einen Beitrag zum gesundheitlichen Verbraucherschutz zu leisten, werden im Forschungsverbund die Bakterien betrachtet, die gegen die besonders wichtigen Beta-Laktam-Antibiotika und Fluorchinolone resistent sind.

Der RESET- Verbund beinhaltet verschiedene sich ergänzende Studien zu Faktoren, die mit der Verbreitung neu entstehender Resistenzeigenschaften in Enterobakterien aus Mensch, Tier und Umwelt verbunden sind. Das Ziel dieses Forschungsverbundes ist die

Bewertung des Einflusses der verschiedenen Bakterien, deren Herkunft und der Übertragungswege auf Menschen.

Dazu möchten wir in Ihrem Betrieb Kot- und Staubproben nehmen, welche dann auf resistente Bakterien untersucht werden. Außerdem möchten wir gemeinsam mit Ihnen einen Fragebogen zum Betriebsmanagement und zu tierspezifischen Fragen ausfüllen.

Die Teilnahme an dieser wissenschaftlichen Untersuchung ist freiwillig. Sie können jederzeit ohne Angaben von Gründen die Teilnahme beenden, ohne dass Ihnen daraus Nachteile entstehen.

Sämtliche personen- bzw. betriebsbezogenen Daten werden vertraulich behandelt. Ihre Daten werden in pseudonymisierter Form (d.h. Ihr Name wir durch eine Kenn-Nummer ersetzt) elektronisch gespeichert und ausgewertet. Zugang zu Ihren Daten haben nur die Mitarbeiter der Studie. Diese Personen sind zur Verschwiegenheit verpflichtet. Die Daten sind vor fremdem Zugriff geschützt. Studienergebnisse werden ausschließlich ohne Bezug zu Ihrer Person veröffentlicht.

Mit Ihrer Unterschrift übertragen Sie das Eigentum der pseudonymisierten Probe an das Institut für Biometrie, Epidemiologie und Informationsverarbeitung der Tierärztlichen Hochschule Hannover. Das Institut kann Ihre Probe zu Forschungszwecken auch an Dritte in pseudonymisierter Form weitergeben.

Sollten Sie weitere Fragen bezüglich der Studie haben, wenden Sie sich bitte an die Studienkoordinatorin Johanna Hering, Tierärztliche Hochschule Hannover, Tel.: 0511 953 7959.

Einwilligungserklärung:

Ich erkläre hiermit meine Teilnahme an dem oben genannten Forschungsvorhaben. Ich wurde darauf hingewiesen, dass meine Teilnahme an der Studie freiwillig ist und dass ich das Recht habe, diese jederzeit ohne Angabe von Gründen zu beenden, ohne dass mir dadurch Nachteile entstehen. Hiermit erkläre ich mich zudem damit einverstanden, dass die in meinem Betrieb gewonnenen Proben für Forschungszwecke verwendet werden dürfen und trete das Eigentum daraus gewonnener Isolate an das Institut für Biometrie, Epidemiologie und Informationsverarbeitung der Tierärztlichen Hochschule Hannover ab.

Sonstige Vereinbarungen:

Verantwortliche Organisation:

Institut für Biometrie, Epidemiologie und Informationsverarbeitung

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

Bünteweg 2, 30559 Hannover

Hannover,

(Prof. Dr. L. Kreienbrock)

Institutsdirektor

Hannover, ……..

(Johanna Hering)

Vertretungsberechtigter

Einwilligender Name und Anschrift:

_____ ……..

Ort/Datum (Unterschrift)

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Beta-Laktam-Antibiotika 4

Abbildung 2: Fehlklassifikation bei Prävalenzschätzung 55

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zusammenhang zwischen Produktion und Einführung bestimmter Antibiotika und dem Auftreten von resistenten Bakterien (SCHWARZ u. CHASLUS-DANCLA 2001) 8

Tabelle 2: Zusammenhang von Therapiehäufigkeit und Antibiotikaresistenzen bei verschiedenen Tierarten (in Anlehnung an: http://www.bfr.bund.de/cm/343/zusammenhang-von-therapiehaeufigkeit-und-antibiotikaresistenzen.pdf) 10

Abkürzungsverzeichnis

BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung
BMBF	Bundesministerium für Bildung und Forschung
CREC	Cefotaxim-resistente *E. coli*
DART	Deutsche Antibiotika-Resistenzstrategie
E. coli	*Escherichia coli*
ESBL	extended spectrum beta-lactamases; Beta- Laktamasen mit erweitertem Spektrum
K. pneumoniae	*Klebsiella pneumoniae*
MRSA	Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus*
RESET	Forschungsverbund „ESBL and fluoroquinolone resistance in *Entero-bacteriaceae*“
RKI	Robert -Koch-Institut
S. aureus	*Staphylococcus aureus*
ssp.	Subspezies

Danksagung

Ich möchte mich ganz herzlich bei Herrn Prof. Dr. Lothar Kreienbrock für die sehr gute Betreuung dieser Arbeit bedanken. Auch Herrn Prof. Dr. Manfred Kietzmann und Herrn Prof. Dr. Stefan Schwarz möchte ich für die Begutachtung der Dissertation danken.

Ein weiterer großer Dank geht an Frau Dr. Roswitha Merle, die mich als Projektleiterin stets unterstützt und gefördert hat.

Besonders bedanken möchte ich mich bei den Reset-Mitarbeiterinnen Katja Hille und Dr. Christiane von Münchhausen für die konstruktiven Diskussionen und die allgemeine Unterstützung bei der Projektarbeit. Für die Erstellung der Datenbank und die Beratung danke ich Bettina Schneider und Maria Hartmann ganz herzlich. Des Weiteren danke ich ganz besonders Frau Dr. Cornelia Frömke für die Hilfe bei der statistischen Auswertung der riesigen Datenmenge.

Ich bedanke mich bei allen Mitarbeitern des Institutes für Biometrie, Epidemiologie und Informationsverarbeitung für die kollegiale und lustige Zeit.

Ein großes Dankeschön geht an alle Mitarbeiter des Reset-Verbundes für die gute und interessante Zusammenarbeit. Bei Dr. Anika Friese, Maja Thieck, Henriette Laube und Christina von Salviati von der Freien Universität Berlin bedanke ich mich für die Laboranalysen meiner Proben. Außerdem möchte ich allen teilnehmenden Landwirten und Tierärzten danken, die meine Probennahme bestmöglich unterstützt haben.

Ein ganz besonderer Dank geht an meine Familie, vor allem an meine Eltern Doris Hering und Dr. Jürgen Hering, die mich bei meiner Promotion besonders unterstützt haben und

an meinem Freund Sebastian Woydt für die moralische Unterstützung in der letzten Phase der Promotion.

Zuletzt möchte ich auch Galina und Hugo, Percy und Lilly sowie Neila danken, da sie immer für mich da waren und mein Leben sehr bereichern!