



Entwicklung antimikrobieller Resistenzen bei Nutztieren - was kann die Tierernährung leisten?

Prof. Dr. Jürgen Zentek, Eva-Marina Saliu

Institut für Tierernährung, Freie Universität Berlin

Einleitung

Antibiotikaresistenzen stellen eine der großen Herausforderungen dar, denen sich die Tierhaltung ausgesetzt sieht. Die Resistenz gegenüber antibiotischen Stoffen ist dabei allerdings kein neues Phänomen, da fossile Funde zeigen, dass es bereits lange vor der Entwicklung von Antibiotika zu der Ausbildung von Resistenzen gegen selbige bei Mikroorganismen gekommen ist (Barlow and Hall, 2002; Bhullar et al., 2012; D'Costa et al., 2011; Zhang et al., 2013). Dieses ist insofern interessant, als damit klar wird, dass ihr Auftreten zum Inventar der intestinalen bakteriellen Mikrobiota, der Gesamtheit der im Darm lebenden Bakterien, gehört. Jedoch konnten in der modernen Zeit eine Beschleunigung und eine Erweiterung dieser Resistenzen beobachtet werden (Dierikx et al., 2013; Gniadkowski, 2001, 2008; Perry and Wright, 2014). Die Frage, in welchem Umfang Resistenzen auftreten und welche Faktoren aus der Tierhaltung das Auftreten von Resistenzgenen bzw. deren Verbreitung fördern kann, ist somit sehr relevant und aktuell. Eine wesentliche Fragestellung ist, inwieweit die Futtermittelindustrie die Entstehung von Antibiotikaresistenzen beeinflussen kann. Es gibt zahlreiche wissenschaftliche Quellen, welche die Problematik des Auftretens von resistenten Bakterien darstellen. Daraus leitet sich die Forderung ab, Antibiotika in der Tierhaltung weitgehend zu reduzieren, insbesondere auch, auf die sogenannten Reserveantibiotika möglichst zu verzichten, die für die Behandlung schwerer Infektionen beim Menschen essentiell sind (Tang et al., 2017). Die Entwicklung von Alternativen zu Antibiotika und zur Verbesserung der Tiergesundheit ist eine Forderung, die der Futtermittelindustrie spätestens seit dem Verbot der antibiotischen Leistungsförderer nicht neu ist. Klar ist aber auch, dass in der Tierhaltung stets mit dem Auftreten von bakteriell bedingten Erkrankungen zu rechnen ist, die auch aus Tierschutzgründen eine Anwendung von Antibiotika erfordern. Die Verantwortung zur Reduktion der Resistenzproblematik ist mittlerweile klar formuliert und auch in der

Politik verankert. So wurde in der G-7-Erklärung im Jahr 2015 festgelegt, dass nur ein umfassender „One-health“-Ansatz möglich ist, um die Resistenzproblematik zu reduzieren. Human- und Veterinärmedizin sowie Landwirtschaft sitzen in diesem Zusammenhang im selben Boot.

Die intestinale Mikrobiota

Die intestinale Mikrobiota ist die komplexe mikrobielle Gemeinschaft im Gastrointestinaltrakt (Magen-Darm-Trakt) von Menschen und von Tieren (Jandhyala et al., 2015). Die Komplexität der Mikrobiota ist extrem hoch. Es handelt sich hier einerseits um kommensale Mikroorganismen, die symbiotisch mit dem Wirtsorganismus zusammenleben, weiterhin auch um fakultativ oder obligat pathogene Keime, die Erkrankungen auslösen. Viele Bakterien haben eine entsprechende genetische Potenz, welche zu einer Ausbildung von Resistenzen gegen Antibiotika führen kann. Nach heutigem Wissensstand, der sich quasi monatlich erweitert, ist die Diversität der intestinalen Mikrobiota extrem hoch. Neben den Bakterien, einschließlich der methanogenen Archaeobakterien, zählen auch Schimmelpilze, Hefen, Protozoen und Viren zur intestinalen Mikrobiota. Forschungen beim Schwein und beim Geflügel haben in den letzten Jahren interessante Erkenntnisse erbracht. So konnte gezeigt werden, dass die Zusammensetzung der Mikrobiota mit der Leistung der Tiere korreliert. Für die praktische Einschätzung der Situation kann vereinfachend gesagt werden, dass im vorderen Gastrointestinaltrakt (Kropf, Magen) überwiegend Gram-positive Bakterien beheimatet sind, hier dominieren die Laktobazillen. Auch das mikrobielle Stoffwechselprofil unterstreicht diese Situation, da Milchsäure dominierend auftritt. Im Dünndarm steigen die Keimzahlen an und es kommt zu einer zunehmenden Dichte von anaeroben (ohne Sauerstoff lebende) Bakterien. Bei Betrachtung der Keimrelationen zeigte sich, dass Laktobazillen, *Escherichia coli*, coliforme Keime und Enterokokken stark vertreten sind. Auch im Dünndarm wird noch sehr viel Milchsäure als mikrobielles Stoffwechselprodukt freigesetzt, allerdings wird im Verlaufe des Dünndarms auch zunehmend Essig- und Propionsäure gebildet. Im Dickdarm liegt die höchste Keimdichte vor, hier dominieren Bakterien, welche ohne Sauerstoff leben können (Anaerobier). Das mikrobielle Stoffwechselprofil ändert sich, die Milchsäure geht zurück und es werden vermehrt andere kurzkettige Fettsäuren gebildet.

Die Mikrobiota wird einerseits durch die Fütterung, die Tierart und das Alter der Tiere beeinflusst. Aber auch Futterzusatzstoffe, zum Beispiel Probiotika, organische Säuren und andere, können die Zusammensetzung der Mikrobiota sehr stark beeinflussen. In eigenen Untersuchungen konnten wir zeigen, dass beispielsweise die Zusammensetzung der Mikrobiota beim Ferkel im frühen Lebensalter durch die Fütterung der Sau beeinflusst wird. Sämtliche Fütterungsmaßnahmen, die zum Einsatz kommen, sollten das Ziel haben, eine gesunde mikrobiologische Gemeinschaft im Darm zu stabilisieren, ihre metabolische Aktivität zu optimieren und dadurch die Gesundheit und Leistungsfähigkeit der Tiere zu fördern (Abbildung 1).

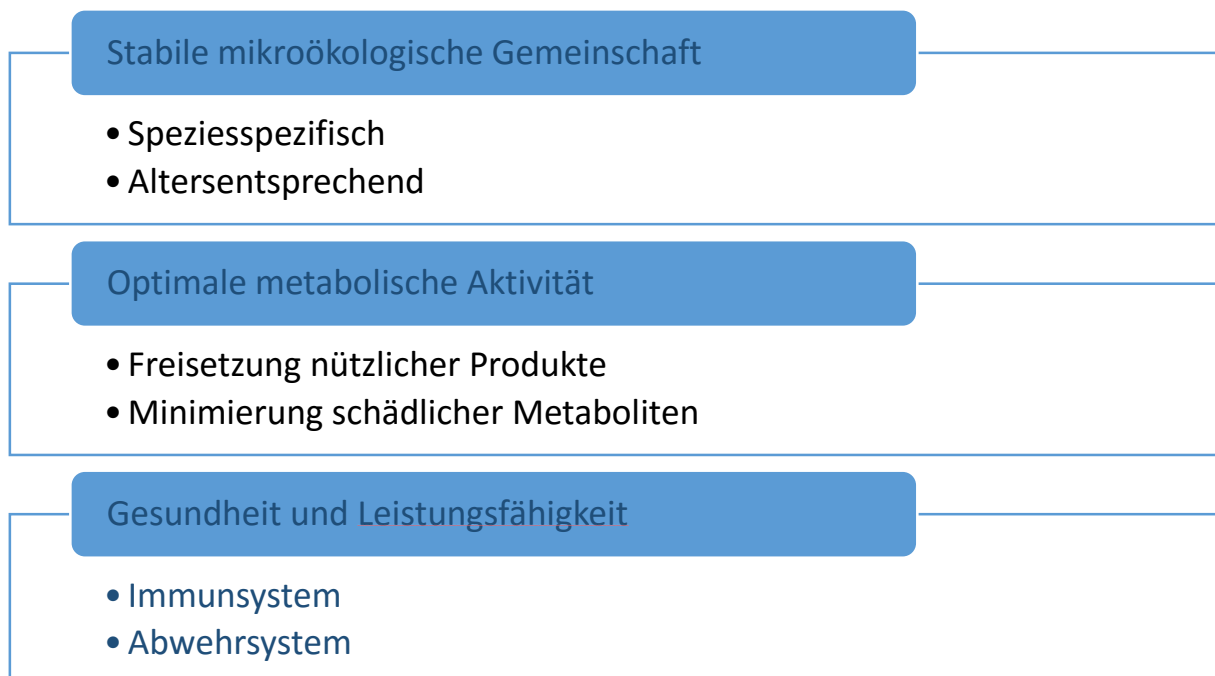


Abbildung 1: Ziele einer gesundheitsunterstützenden Fütterung landwirtschaftlicher Nutztiere mit dem Schwerpunkt der Effekte auf die intestinale Mikrobiota

In diesem Zusammenhang ist darauf hinzuweisen, dass sich die Mikrobiota in enger Kooperation mit dem darmassoziierten Immunsystem entwickelt. Das Ansiedeln von pathogenen Keimen muss nicht zwangsläufig bedeuten, dass es zu Erkrankungen kommt. Dieses ist interessant, da zunehmend Erkenntnisse vorliegen, dass pathogene Keime im Darm nur dann im Sinne einer Krankheitsauslösung wirksam werden, wenn es sich aus einem entsprechenden Umfeld so ergibt. Diese Theorie, wonach es ein

„Pathobiom“, also ein Umfeld für pathogene Bakterien gibt, geht davon aus, dass das Milieu im Verdauungstrakt eine Disposition (Anfälligkeit) für die Entstehung von Erkrankungen bildet.

Resistenzübertragung

Der bakterielle Genpool, der als Inventar das Auftreten von Antibiotikaresistenzen bestimmt, wird als „Resistom“ bezeichnet (Wright, 2007). Entsprechende Gene treten in pathogenen (krankheitserregend) und in nicht pathogenen Bakterien auf. Die Resistenz gegen Antibiotika wird über zahlreiche Mechanismen vermittelt. So können Bakterien intrinsisch (primär) gegen Antibiotika resistent sein (Cox and Wright, 2013). Weiterhin gibt es erworbene Resistenzen, die entweder spontan, zum Beispiel durch Mutation, oder aber durch horizontalen Gentransfer entstehen (Leclercq et al., 2013). Die für Antibiotikaresistenzen wesentlichen Mechanismen sind zum Beispiel Veränderungen im Zellmetabolismus, die Bildung von Enzymen, die Antibiotika spalten oder modifizieren können (zum Beispiel Beta-Laktamasen), Veränderungen der Zielstrukturen, an die das Antibiotikum bindet (zum Beispiel Penicillinbindungsproteine bei MRSA (Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus*)), sowie Veränderungen der Transportbedingungen für Antibiotika über die Zellwand. Insofern ist davon auszugehen, dass eine Vielzahl von Faktoren sehr unterschiedliche Mechanismen im Mikroorganismus ansprechen.

Bedeutung von Faktoren aus der Tierernährung, die das Auftreten von Resistenzen gegenüber Antibiotika begünstigen

In den letzten Jahren hat das Thema der Entwicklung von antimikrobiellen Resistenzen bei Tieren vermehrt Aufmerksamkeit gefunden. Breiten Raum nimmt in diesem Zusammenhang die Diskussion über Kupfer und Zink ein. Zu beiden Spurenelementen hat die EFSA (Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit) kürzlich Stellungnahmen veröffentlicht. Daraus geht hervor, dass eine Reduktion der Kupfer- und Zinkgehalte in Futtermitteln befürwortet wird, nicht nur aufgrund des Umweltschutzes, sondern auch, um dem Auftreten von antibiotikaresistenten Bakterien entgegenzuwirken. In den beiden genannten Arbeiten weist die EFSA darauf hin, dass es bei

stressinduzierenden Situationen, und als solches kann eine vermehrte Zufuhr von Kupfer oder Zink interpretiert werden, zu einer vermehrten Ausbildung von resistenten Bakterien kommt oder kommen kann. In diesem Zusammenhang ist interessant, dass eine besondere Bedeutung in dem horizontalen Gentransfer gesehen wird. Bakterien können DNA in mobilen genetischen Elementen (zum Beispiel Plasmide) besitzen, welche relativ einfach zwischen verschiedenen Bakterien übertragen werden können (Carattoli, 2013). Es konnte gezeigt werden, dass die Resistenzgene, die das Bakterium vor Schwermetallen schützen, häufig in Assoziation mit Genen vergesellschaftet sind, die eine Resistenz gegenüber Antibiotika vermitteln. Dieses hat umfassende Forschungsarbeiten motiviert, wobei zum Beispiel zum Thema Zink schon in den achtziger Jahren erste Hinweise vorlagen. Hier wurde durch die Applikation hoher Mengen an Zinkoxid im Futter für Schweine ein Anstieg von Antibiotikaresistenzen beobachtet (Jensen, 1987). Obwohl im Allgemeinen davon auszugehen ist, dass die Gabe von Zink und von Kupfer im Rahmen der futtermittelrechtlichen Vorgaben erfolgt, muss man darauf hinweisen, dass es in Europa und auch global betrachtet deutliche Unterschiede gibt. So gibt es Sonderregelungen in europäischen Ländern, die dazu führen, dass beispielsweise Zink für eine limitierte Phase nach dem Absetzen im Ferkelfutter in einer sogenannten pharmakologischen Konzentration appliziert werden kann. Dieses hat unzweifelhaft in vielen Fällen positive Wirkungen auf die Tiergesundheit, wie eine Reduktion des Auftretens von Durchfallerkrankungen. Neuere Untersuchungen konnten zeigen, dass eine erhöhte Zinkaufnahme einerseits einen Einfluss auf die intestinale Mikrobiota hat, dass andererseits aber auch viele weitere Aspekte im Verdauungstrakt beeinflusst werden, so zum Beispiel die Darmzottenstruktur oder auch die Muzinbildung im Verdauungstrakt (Liu et al., 2014a; Liu et al., 2014b). Sehr nachhaltig reagiert die Mikrobiota auf unterschiedliche Zinkaufnahmen, dieses konnte in vielen Studien weltweit gezeigt werden. Interessant ist in diesem Zusammenhang, dass erhöhte Zinkgaben die Anteile von Laktobazillen reduzieren, während die Anteile von Clostridien sowie von Enterobakterien einschließlich von *Escherichia coli* eher ansteigen. Offenbar kommt es unter dem Einfluss hoher Mengen von Zinkoxid zu einer Differenzierung der Enterobakterien. Eine höhere Diversität könnte als Schutzfaktor gegenüber Erkrankungen betrachtet werden, da sich pathogene Stämme weniger gut durchsetzen können. Dieses ist allerdings nicht zu verallgemeinern. So konnte in neueren Untersuchungen gezeigt

werden, dass hohe Mengen an Zinkoxid zu einer vermehrten Salmonellenbelastung bei Schweinen führen können, offenbar durch eine Aktivierung von Signalkaskaden, die die Immunreaktion beim Ferkel negativ beeinflussen. Es gibt zahlreiche Studien, die belegen, dass die sogenannten pharmakologischen Dosierungen von Zinkoxid zu einer Zunahme von Antibiotikaresistenzen führen (beispielhaft dargestellt in Abbildung 2).

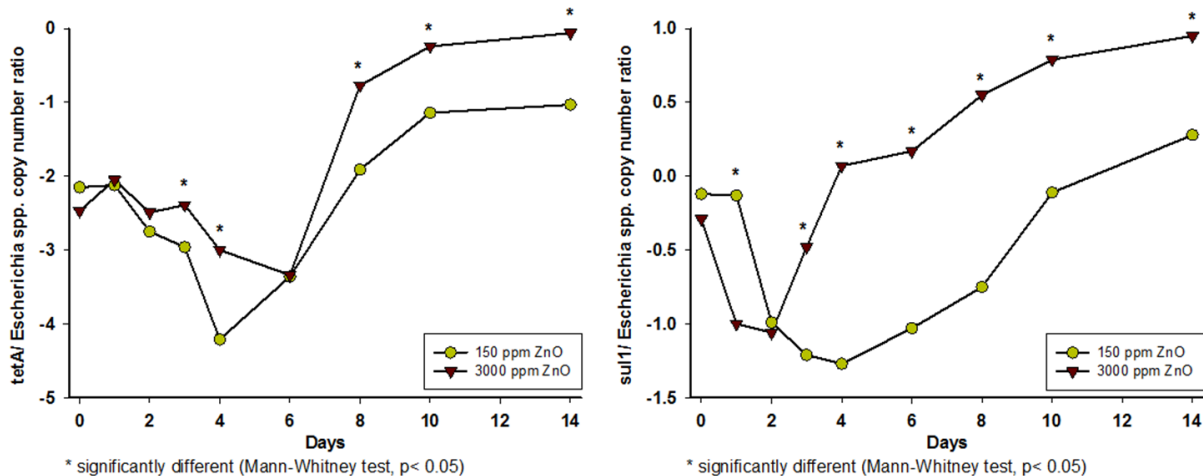


Abbildung 2: Zeitlicher Verlauf der Expression von *tetA* (Tetrazyklinresistenz) und *sul1* (Sulfonamidresistenz) bei intestinalen *Escherichia coli* bei moderater oder hoher Zinkgabe an Absetzferkel (nach Vahjen 2015)

Dieses tritt relativ schnell nach dem Absetzen auf und beeinflusst ein breites Spektrum antimikrobieller Wirkmechanismen. Insofern ist davon auszugehen, dass am Beispiel von Zink und Kupfer tatsächlich Stressfaktoren von Bedeutung sind, die einen nachhaltigen Einfluss auf das Entstehen von Resistenzgenen im Intestinaltrakt nehmen.

Handlungsoptionen

Relativ eindeutig zeigt sich, dass eine übermäßige Versorgung mit den Spurenelementen Kupfer und Zink bei unseren Haustieren das Auftreten von Antibiotikaresistenzen verstärkt (Vahjen et al., 2015). Andererseits ist aber auch klar zu sagen, dass es nicht möglich ist, Antibiotikaresistenzgene aus dem Organismus zu

eliminieren, da sie ganz offensichtlich zu einem normalen genetischen Inventar der Bakterien gehören. Allerdings ist ganz klar, dass die Vermeidung von Stressfaktoren, also auch die unnötige oder unselektive Behandlung mit Antibiotika, das Auftreten von Resistenzfaktoren verringert. In der Literatur wird einiges dargestellt, was für die Reduktion der Resistenzproblematik aufschlussreich ist. So konnte bei Broilern gezeigt werden, dass die kompetitive Exklusion zu einer Reduktion der Ausscheidung von ESBL-bildenden *Escherichia coli* Keimen führt (Ceccarelli et al., 2017; Nuotio et al., 2013). Auch beim Schwein konnte nachgewiesen werden, dass es Antagonisten zwischen bestimmten Bakterienarten und dem Auftreten resistenter Keime in Jungtieren gibt (Stanton and Humphrey, 2011). Es ist allerdings noch ein weiter Weg zu gehen, da umfassende Prüfungen von Konzepten zur Reduktion der Resistenzproblematik fehlen. Momentan kann man aus Sicht der Tierernährung sagen, dass eine bedarfsdeckende Nährstoffversorgung unter Vermeidung von überschreitenden Gehalten potenzieller Stressfaktoren das Auftreten von Resistenzen reduzieren könnte. Es sollte insbesondere auch versucht werden, das Auftreten von Darm-erkrankungen durch ungünstige Futterkomponenten und Qualitäten zu reduzieren. In der Zukunft dürfte die Bedeutung alternativer Prophylaxemaßnahmen ansteigen. So ist davon auszugehen, dass neu entwickelte Futterzusatzstoffe, zum Beispiel phyto gene Substanzen, komplexe Probiotika oder Probiotika mit bestimmten Eigenschaften in Kombination mit Präbiotika eine wirksame Alternative darstellen. Auch Verbesserungen der Futterhygiene, die sorgfältige Auswahl der Futterkomponenten, insbesondere für Jungtiere, sowie eine bessere Schulung von Landwirten dürfte für die erfolgreiche Reduktion der Resistenzproblematik von entscheidender Bedeutung sein.

Fragen und Antworten aus der anschließenden Diskussion

Frage 1: Wie sehen Sie die Wettbewerbsfähigkeit unserer Schweineproduktion gegenüber USA mit deutlich geringeren Produktionsauflagen und einem höheren Einsatz von Antibiotika auf den asiatischen Märkten?

Antwort: Auf den asiatischen Märkten hat sich hier viel bewegt. Gerade die junge Konsumenten-Generation in China und Vietnam, die ja teilweise in Europa ausgebildet wird, legt Wert auf eine Schweinefleischproduktion unter möglichst

geringem Einsatz von Antibiotika. Das spricht für das europäische Schweinefleisch.

Frage 2: Wie sollen die Schweine vermarktet werden, die Antibiotika bekommen haben, wenn unsere Verbraucher dieses Fleisch nicht mehr verzehren möchten? Das kann ja nicht alles für die Petfood-Industrie verwendet werden.

Antwort: Der Tierschutz darf natürlich nicht unter dem Wunsch des Verbrauchers nach Schweinefleisch, das ohne Einsatz von Antibiotika produziert worden ist, leiden. Kranke Tiere müssen auch weiterhin behandelt werden. Nach der Wartezeit sind die Schlachtkörper frei von Antibiotika und dürfen vermarktet werden. Diese Thematik sollte von der Presse nicht übertrieben werden.

Frage 3: Gibt es Hinweise auf andere Co-Mechanismen bezüglich Antibiotika-Resistenzen außer Zink und Kupfer?

Antwort: Mir ist eine Studie in Bezug auf organische Säuren und hemmende Auswirkungen auf AB-Resistenzen bekannt, ansonsten ist hier nur sehr wenig bekannt. Eine eindeutige Antwort ist bisher nicht möglich. Die Forschung wird hier zukünftig mehr Informationen zur Verfügung stellen.

Frage 4: Sie erwähnten, dass sich Stress auf die Darmbakterien mit einer Zunahme von AB-Resistenzen auswirkt. Stellt eine Futterumstellung bereits einen solchen Stress dar?

Antwort: Das kann ich mir gut vorstellen, allerdings fehlen auch hier noch Daten.

Frage 5: Hat die verwendete Spurenelementverbindung bei Kupfer und Zink einen Einfluss auf die AB-Resistenzen (organisch vs. anorganisch)?

Antwort: Hierzu kann man derzeit keine eindeutige Antwort geben. Hauptsächlich entscheidend ist aber die Menge des Produktes.

Frage 6: Auf der Grünen Woche wurde von NGOs Bio-Fleisch als „gesünder“ und als weniger mit Antibiotika belastet vorgestellt. Ist Bio-Fleisch tatsächlich weniger belastet? Sind Bio-Schweine weniger AB-resistent?

Antwort: Sie haben in Schweinefleisch keine AB-Rückstände nach Einhaltung der Wartezeit, auch in konventionellem Fleisch nicht. Mir ist auch keine Studie bekannt, die bei Bio-Schweinen geringere AB-Resistenzen ausweist.

Literatur

Barlow, M., Hall, B.G., 2002. Phylogenetic analysis shows that the OXA beta-lactamase genes have been on plasmids for millions of years. *J. Mol. Evol.* 55, 314-321.

Bhullar, K., Waglechner, N., Pawlowski, A., Koteva, K., Banks, E.D., Johnston, M.D., Barton, H.A., Wright, G.D., 2012. Antibiotic Resistance Is Prevalent in an Isolated Cave Microbiome. *PLoS One* 7, e34953.

Carattoli, A., 2013. Plasmids and the spread of resistance. *Int. J. Med. Microbiol.* 303, 298-304.

Ceccarelli, D., van Essen-Zandbergen, A., Smid, B., Veldman, K.T., Boender, G.J., Fischer, E.A., Mevius, D.J., van der Goot, J.A., 2017. Competitive exclusion reduces transmission and excretion of extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* in broilers. *Appl. Environ. Microbiol.*

Cox, G., Wright, G.D., 2013. Intrinsic antibiotic resistance: mechanisms, origins, challenges and solutions. *Int. J. Med. Microbiol.* 303, 287-292.

D'Costa, V.M., King, C.E., Kalan, L., Morar, M., Sung, W.W.L., Schwarz, C., Froese, D., Zazula, G., Calmels, F., Debruyne, R., Golding, G.B., Poinar, H.N., Wright, G.D., 2011. Antibiotic resistance is ancient. *Nature* 477, 457-461.

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

Gniadkowski, M., 2001. Evolution and epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) and ESBL-producing microorganisms. *Clin. Microbiol. Infect.* 7, 597-608.

Gniadkowski, M., 2008. Evolution of extended-spectrum beta-lactamases by mutation. *Clin. Microbiol. Infect.* 14 Suppl 1, 11-32.

Jandhyala, S.M., Talukdar, R., Subramanyam, C., Vuyyuru, H., Sasikala, M., Nageshwar Reddy, D., 2015. Role of the normal gut microbiota. *World J. Gastroenterol.* 21, 8787-8803.

Jensen, B.B., 1987. Intestinal microflora, zinc oxide. and coli enteritis in pigs. *Landbonyt* 41, 5-10.

Leclercq, R., Canton, R., Brown, D.F., Giske, C.G., Heisig, P., MacGowan, A.P., Mouton, J.W., Nordmann, P., Rodloff, A.C., Rossolini, G.M., Soussy, C.J., Steinbakk, M., Winstanley, T.G., Kahlmeter, G., 2013. EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. *Clin. Microbiol. Infect.* 19, 141-160.

Liu, P., Pieper, R., Rieger, J., Vahjen, W., Davin, R., Plendl, J., Meyer, W., Zentek, J., 2014a. Effect of dietary zinc oxide on morphological characteristics, mucin composition and gene expression in the colon of weaned piglets. PLoS One 9, e91091.

Liu, P., Pieper, R., Tedin, L., Martin, L., Meyer, W., Rieger, J., Plendl, J., Vahjen, W., Zentek, J., 2014b. Effect of dietary zinc oxide on jejunal morphological and immunological characteristics in weaned piglets. J. Anim. Sci. 92, 5009-5018.

Nuotio, L., Schneitz, C., Nilsson, O., 2013. Effect of competitive exclusion in reducing the occurrence of *Escherichia coli* producing extended-spectrum beta-lactamases in the ceca of broiler chicks. Poult. Sci. 92, 250-254.

Perry, J.A., Wright, G.D., 2014. Forces shaping the antibiotic resistome. Bioessays 36, 1179-1184.

Stanton, T.B., Humphrey, S.B., 2011. Persistence of antibiotic resistance: evaluation of a probiotic approach using antibiotic-sensitive *Megasphaera elsdenii* strains to prevent colonization of swine by antibiotic-resistant strains. Appl. Environ. Microbiol. 77, 7158-7166.

Tang, K.L., Caffrey, N.P., Nóbrega, D.B., Cork, S.C., Ronksley, P.E., Barkema, H.W., Polachek, A.J., Ganshorn, H., Sharma, N., Kellner, J.D., Ghali, W.A., 2017. Restricting the use of antibiotics in food-producing animals and its associations with antibiotic resistance in food-producing animals and human beings: a systematic review and meta-analysis. The Lancet Planetary Health 1, e316-e327.

Vahjen, W., Pietruszynska, D., Starke, I.C., Zentek, J., 2015. High dietary zinc supplementation increases the occurrence of tetracycline and sulfonamide resistance genes in the intestine of weaned pigs. Gut Pathog. 7, 23.

Wright, G.D., 2007. The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity. Nature Reviews Microbiology 5, 175-186.

Zhang, D.C., Brouchkov, A., Griva, G., Schinner, F., Margesin, R., 2013. Isolation and characterization of bacteria from ancient siberian permafrost sediment. Biology 2, 85-106.