

# Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis .....	V
<b>1 Einleitung .....</b>	<b>1</b>
<b>2 Literaturübersicht .....</b>	<b>2</b>
<b>2.1 Antibiotika .....</b>	<b>2</b>
2.1.1 Klassifikation von Antibiotika .....	2
2.1.2 Fluorchinolone .....	4
2.1.3 Cephalosporine der dritten und vierten Generation .....	5
<b>2.2 Antimikrobielle Resistenz .....</b>	<b>6</b>
2.2.1 Grenzwerte zur Detektion antimikrobieller Resistenz .....	7
2.2.2 Erwerb und Transfer von Resistenzgenen .....	7
2.2.3 Entwicklung der Resistenzproblematik .....	11
<b>2.3 Persistenz von antimikrobiellen Resistenzen .....</b>	<b>14</b>
2.3.1 Persistenz von Resistenzdeterminanten auf zellulärer Ebene .....	14
2.3.2 Persistenz von antimikrobiellen Resistenzen in einer Tierhaltung .....	15
<b>2.4 <i>Escherichia coli</i> .....</b>	<b>18</b>
2.4.1 Vorkommen und Typisierung von <i>E. coli</i> -Stämmen .....	19
2.4.2 <i>E. coli</i> als Donor- und Akzeptorstamm von Resistenzdeterminanten .....	20
2.4.3 <i>E. coli</i> als Indikatorkeim für die Resistenzsituation in einer Population .....	20
<b>2.5 Fluorchinolon-Resistenz .....</b>	<b>21</b>
2.5.1 Resistenzmechanismen gegenüber Fluorchinolonen .....	21
2.5.2 Epidemiologie und Einflussfaktoren .....	23
<b>2.6 Cephalosporin-Resistenz .....</b>	<b>25</b>
2.6.1 Resistenzmechanismen gegenüber Cephalosporinen .....	25
2.6.2 Epidemiologie und Einflussfaktoren .....	26
<b>2.7 Bedeutung und Ziel dieser Studie .....</b>	<b>28</b>
<b>3 Material und Methodik .....</b>	<b>30</b>
<b>3.1 Gewinnung der Sammelkotproben .....</b>	<b>30</b>
3.1.1 Vorversuch .....	30
3.1.2 Hauptversuch .....	30
3.1.3 Kokzidentestung .....	31
<b>3.2 Fragebogen .....</b>	<b>32</b>
<b>3.3 Kotprobenbearbeitung .....</b>	<b>32</b>
3.3.1 Vorversuch .....	32
3.3.2 Hauptversuch .....	33
3.3.3 Schimmelbildung auf den Primärplatten .....	36
3.3.4 Ausplattieren der Rückstellproben .....	37
<b>3.4 Kulturverarbeitung und Stammisolation .....</b>	<b>37</b>
3.4.1 Inkubation .....	37
3.4.2 Anlegen von Dauerkulturen: Kryopräservation .....	37
3.4.3 Herstellung von Hitzelysaten .....	39

<b>3.5</b>	<b>Stammidentifizierung mittels MALDI-TOF MS Analyse .....</b>	<b>39</b>
<b>3.6</b>	<b>PCR-Nachweise .....</b>	<b>40</b>
3.6.1	Endpunkt-PCR-Analysen .....	41
3.6.2	<i>Real-Time</i> -PCR-Analyse .....	48
<b>3.7</b>	<b>Agarose-Gelelektrophorese .....</b>	<b>49</b>
3.7.1	Gelelektrophoretische Auftrennung von PCR-Amplifikaten.....	49
3.7.2	Gelelektrophoretische Auftrennung von Plasmid-DNA.....	50
3.7.3	Analyse von Gelelektrophoresen .....	51
<b>3.8</b>	<b>Phänotypische Resistenz-Testung mittels Bouillon- Mikrodilutionsmethode .....</b>	<b>52</b>
3.8.1	Suszeptibilitätstestung mit MICRONAUT-S Großtier Platte.....	52
3.8.2	Cefquinom-Suszeptibilitätstestung.....	53
3.8.3	Interpretation der Werte der minimalen Hemmkonzentrationen.....	55
<b>3.9</b>	<b>DNA-Präparation.....</b>	<b>57</b>
3.9.1	Präparation von Plasmid-DNA .....	57
3.9.2	Präparation von genomischer DNA .....	57
<b>3.10</b>	<b>DNA-Sequenzierung .....</b>	<b>58</b>
3.10.1	Sequenzierung von PCR-Amplifikaten .....	58
3.10.2	Vollgenomsequenzierung ausgewählter Stämme .....	58
<b>4</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>61</b>
<b>4.1</b>	<b>Auswahl und Charakterisierung von Betrieben für die Studienteilnahme.....</b>	<b>61</b>
<b>4.2</b>	<b>Betriebsmanagement der für den Hauptversuch ausgewählten Betriebe .....</b>	<b>67</b>
4.2.1	Beprobungsschema Betrieb B1.....	67
4.2.2	Beprobungsschema Betrieb B2.....	69
4.2.3	Beprobungsschema Betrieb K1.....	76
4.2.4	Beprobungsschema Betrieb K2.....	78
<b>4.3</b>	<b>Kokzidienstatus.....</b>	<b>83</b>
<b>4.4</b>	<b>Shigatoxin-Detektion .....</b>	<b>83</b>
<b>4.5</b>	<b>Quantitative Analyse des Wachstums von Gammaproteobakterien auf Selektivplatten mit Enrofloxacin, Ceftiofur oder Cefquinom .....</b>	<b>83</b>
4.5.1	Ausplattieren von Rückstellproben zur Überprüfung der Reproduzierbarkeit der Methode.....	85
4.5.2	Vergleich der Quotientenwerte der GE4-, GF- und GQ-Platten pro Altersstufe und Betrieb.....	86
4.5.3	Vergleich der Quotientenwerte pro Selektivplattenart zwischen den Altersstufen und Betrieben.....	89
4.5.4	Betriebsspezifischer Vergleich der Quotientenwerte pro Selektivplatte zwischen Mast- bzw. Absetzerdurchgängen .....	90
4.5.5	Betriebsspezifischer Vergleich der Quotientenwerte zwischen den Selektivplatten pro Mast- bzw. Absetzerdurchgang .....	95

<b>4.6</b>	<b>Qualitative Analyse der Cephalosporin- / Fluorchinolon-resistenten <i>E. coli</i>-Stämme</b>	<b>97</b>
4.6.1	Anzahl isolierter Cephalosporin- / Fluorchinolon-resistenter <i>E. coli</i> -Stämme	100
4.6.2	MLVA-Profile der Cephalosporin- / Fluorchinolon-resistenten <i>E. coli</i> -Stämme	101
4.6.3	Gruppierung der Cephalosporin- / Fluorchinolon-resistenten <i>E. coli</i> -Stämme basierend auf ihren MLVA-Profilen	103
4.6.4	Antibiotikaresistenz-Profile der Cephalosporin- / Fluorchinolon-resistenten <i>E. coli</i> -Stämme	109
4.6.5	Genetischer Hintergrund der Resistenzen gegenüber Fluorchinolonen sowie Cephalosporinen der dritten und vierten Generation	129
4.6.6	Gel-basierte Plasmid-Profile der Cephalosporin- / Fluorchinolon-resistenten <i>E. coli</i> -Stämme	132
<b>4.7</b>	<b>Analyse der Vollgenomsequenzen</b>	<b>133</b>
4.7.1	Diversität der sequenzierten Stämme	134
4.7.2	Vorkommen von Antibiotikaresistenz-vermittelnden Determinanten	142
4.7.3	Plasmidsequenzen	149
4.7.4	Persistenz der Cephalosporin- und Fluorchinolon-Resistenz	154
<b>5</b>	<b>Diskussion</b>	<b>169</b>
<b>5.1</b>	<b>Dynamik des Vorkommens der Enrofloxacin-, Ceftiofur- und Cefquinom-Resistenzprävalenz über den Beprobungszeitraum</b>	<b>169</b>
5.1.1	Methodische Aspekte der quantitativen Ergebnisse	171
5.1.2	Quantitative Daten vor dem Hintergrund antibiotischer Interventionen auf den Betrieben	173
<b>5.2</b>	<b>Diversität der Cephalosporin- bzw. Fluorchinolon-Resistenz-kodierenden Elemente</b>	<b>180</b>
<b>5.3</b>	<b>Genetischer Hintergrund der Resistenzen gegenüber Fluorchinolonen sowie Cephalosporinen der dritten und vierten Generation</b>	<b>183</b>
<b>5.4</b>	<b>Persistenz der Cephalosporin- / Fluorchinolon-Resistenz</b>	<b>185</b>
5.4.1	Ko-Selektion und Kreuz-Resistenz	188
5.4.2	Persistenz resistenzdeterminierender genetischer Elemente	190
5.4.3	Eigenschaften persistenter Stämme	193
<b>5.5</b>	<b>Schlussfolgerung</b>	<b>199</b>
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>201</b>
<b>7</b>	<b>Summary</b>	<b>203</b>
<b>8</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>205</b>
<b>9</b>	<b>Anhang</b>	<b>229</b>
<b>9.1</b>	<b>Übersicht über verwendete Verbrauchsmaterialien, Geräte, Softwareprogramme, Chemikalien, Oligonukleotide und Standards</b>	<b>229</b>
9.1.1	Verwendete Puffer und Lösungen	234
9.1.2	Verwendete Oligonukleotid- <i>primer</i> sowie Standard- und Marker- <i>E. coli</i> -Stämme	236

<b>9.2 Fragebögen .....</b>	<b>242</b>
9.2.1 Absetzerferkel-Fragebogen.....	242
9.2.2 Läufer Schwein / <i>flatdeck</i> -Fragebogen .....	246
9.2.3 Mast Schwein-Fragebogen.....	249
<b>9.3 RNA-Banden in Plasmidgelen .....</b>	<b>252</b>
<b>Abbildungsverzeichnis.....</b>	<b>254</b>
<b>Tabellenverzeichnis.....</b>	<b>258</b>
<b>Danksagung.....</b>	<b>260</b>