



# **Mikrobielle Kreisläufe**

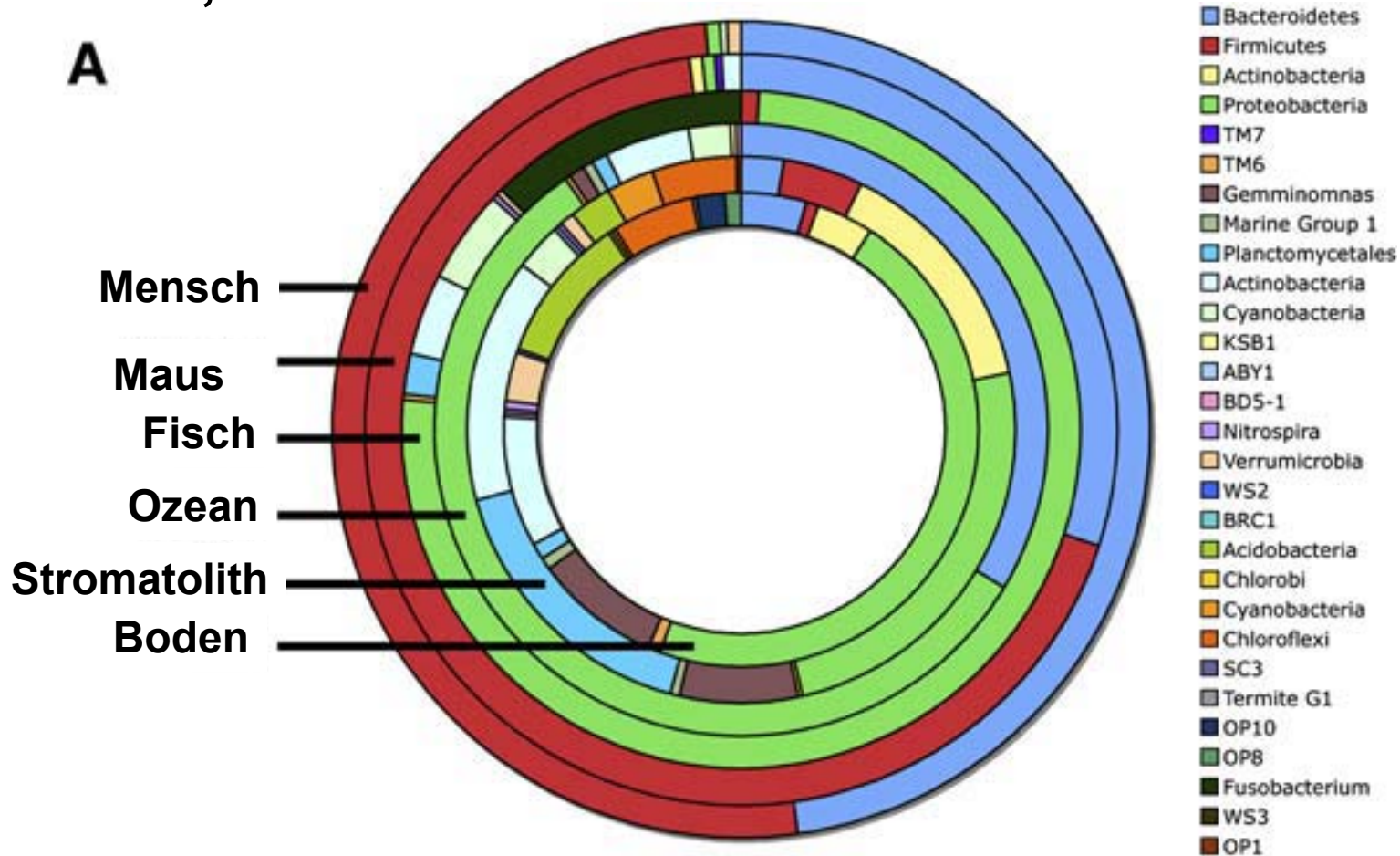
## **Boden, Pflanze, Tier/Mensch**

**M. Krüger**

**Institut für Bakteriologie und  
Mykologie**

# Mikrobielle Diversität im Dickdarm (Mensch, Maus, Fisch) Ozean, Boden

**A**



Ley et al. (2006), Cell 124, 837–848

# Mikroökosystem Boden

**Viren**

**Bakterien**

**Pilze**

**Hefen**

**Protozoen**

**Existenzformen von Bakterien:**  
aktiv, hypometabol, somnolent

Bodenfruchtbarkeit  
unterstützend

verringern

Antibiotika  
Sulfonamide  
Kokzidiostatika  
Schwermetalle

# Lebensraum Boden

**Mikroflora** (Bakterien, Pilze)

**90% Abbauarbeit**

**$n \times 10^6$  Bakterien + 100 m Pilzmyzel/g**

**Mikrofauna** (ca. 400 Protozoenarten, bis  $10^6$ /g)

**Pioniere in Rohböden, fressen**

**Bakterien, Pilze, Pflanzenparasiten**

# **Mikroorganismengemeinschaften**

- **Autochthon (Standortflora)**
- **Allochthon (passagere, temporäre Flora)**
- **Restflora (pathogene Flora)**

# Potentiell oder obligat pathogene Bakterien im Bodenhabitat

## Naturherdinfektionen

Leptospirose  
Borreliose

**Bakterien, die mit  
Ausscheidungen in Boden  
und Grundwasser gelangen**

E. coli  
Salmonellen  
Clostridien

**Mensch/Tier**

```
graph LR; A[Naturherdinfektionen<br/>Leptospirose<br/>Borreliose] --> D[Mensch/Tier]; B[Bakterien, die mit<br/>Ausscheidungen in Boden<br/>und Grundwasser gelangen<br/>E. coli<br/>Salmonellen<br/>Clostridien] --> D;
```

# Schädigungen von M/T durch bodenbürtige Mikroorganismen

## 1. Toxine

### Mikroorganismen

### Produkte

<i>Fusarium spp.</i>	Mykotoxine
<i>Penicillium spp.</i>	Mykotoxine
<i>Aspergillus spp.</i>	Mykotoxine
<i>Bacillus cereus</i>	Enterotoxine
<i>S. aureus</i>	Enterotoxine
<i>C. perfringens</i>	Enterotoxine
<i>Cyanobacterium spp.</i>	Hepatotoxin
<i>C. botulinum</i>	Neurotoxin

# **Schädigungen durch bodenbürtige Mikroorganismen**

## **2. Infektionen (meist immunkomprimierte Patienten)**

**Enterobakterien (Klebsiellen, Serratia,  
Erwinia, Enterobacter u.a.**

***Staphylococcus* spp.**

**Säurefeste Stäbchen (z.B. Mykobakterien)**

**Vibrionen**

**Hefen**

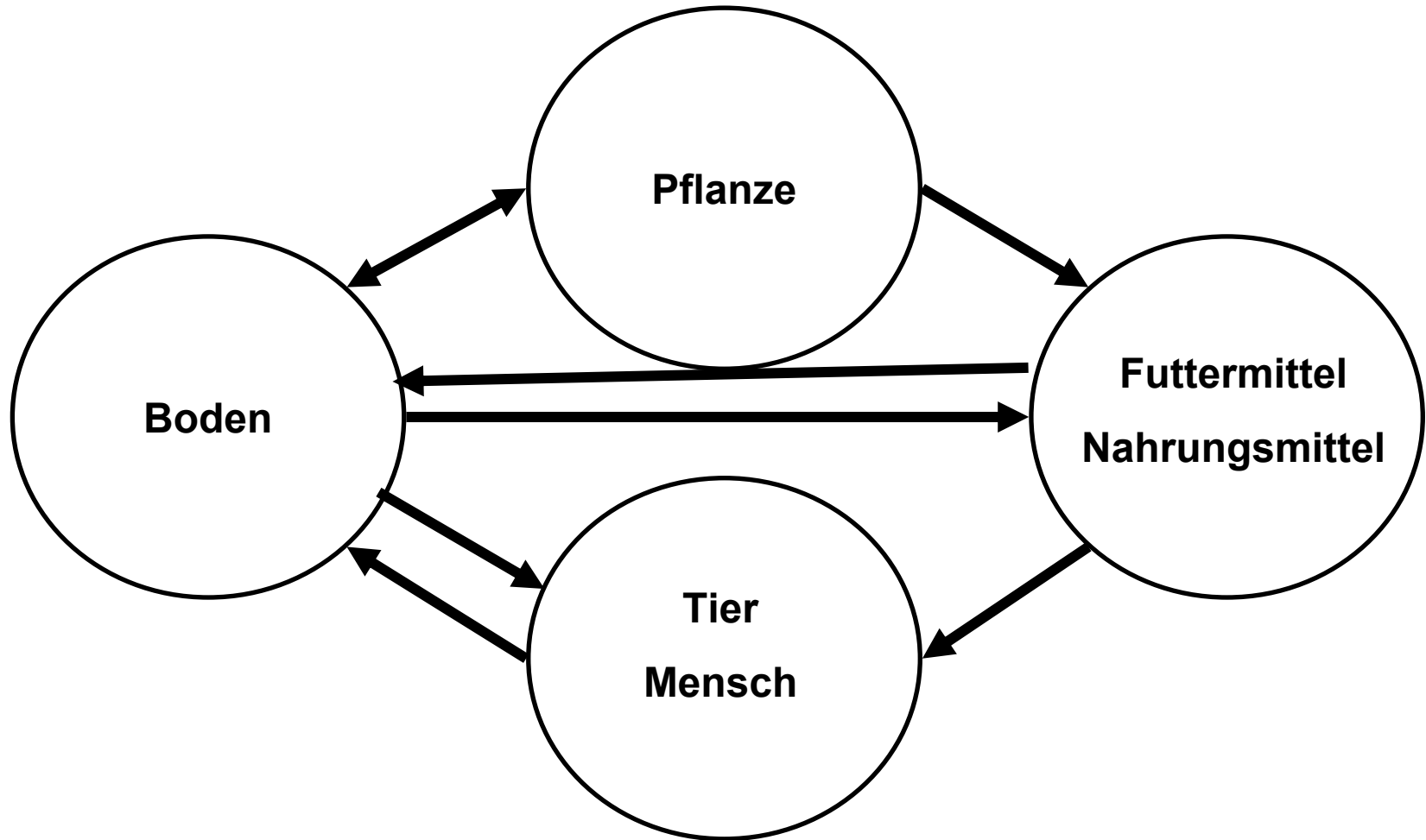
**Pilze**



# **Kontaminationen von pflanzlichen Lebens-/Futtermitteln mit Pathogenen**

- **Epiphytisch**
- **Endophytisch**
- **Bodenbeimengungen im Produkt**
- **Wasser**

# Kreisläufe pathogener Mikroorganismen

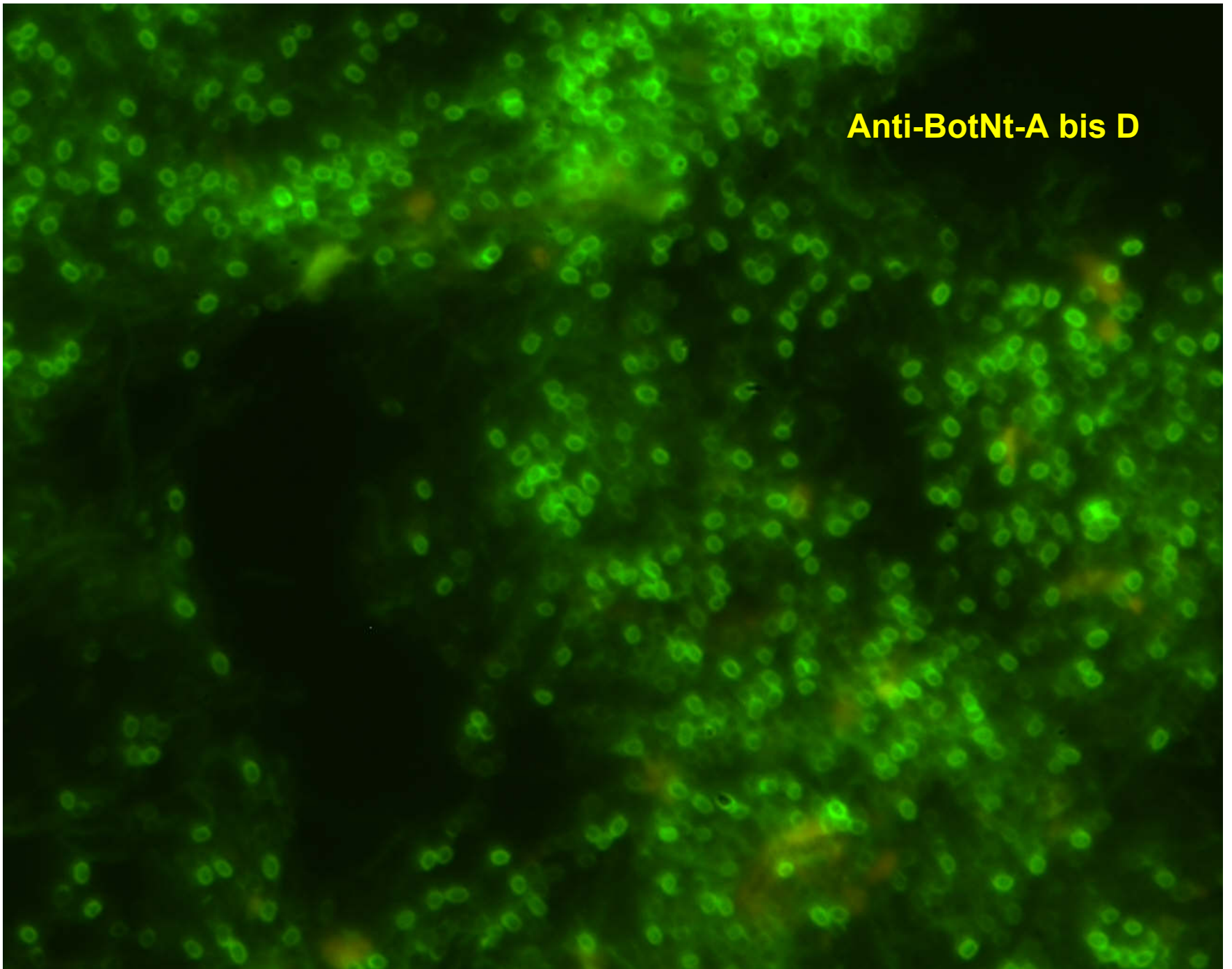


# Kreislauf von *C. botulinum*

# ***Clostridium botulinum***

- **Anaerobier**
- **Sporenbildner**
- **Neurotoxinbildner**
- **Bodenseuchenerreger**

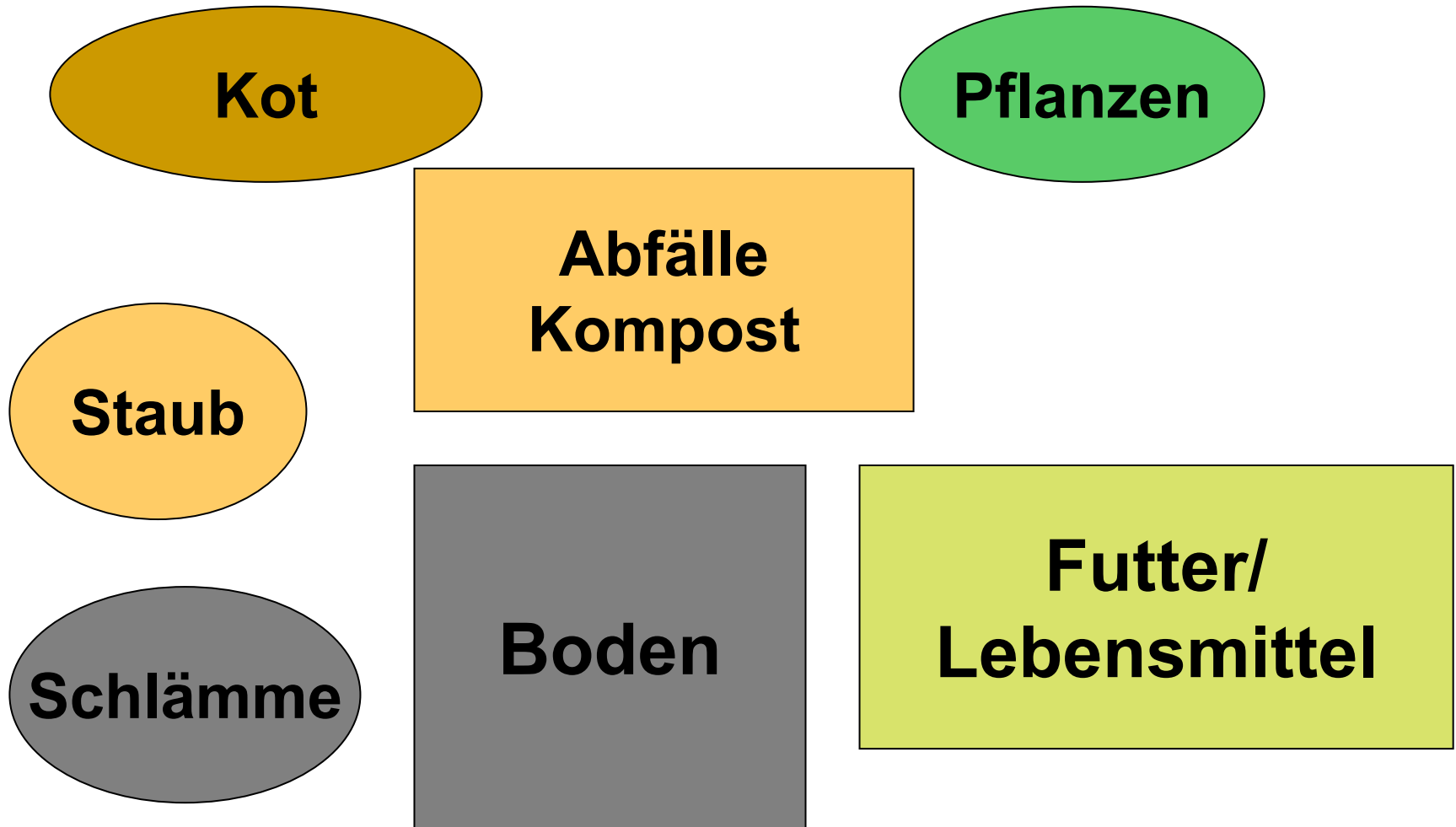
**Anti-BotNt-A bis D**



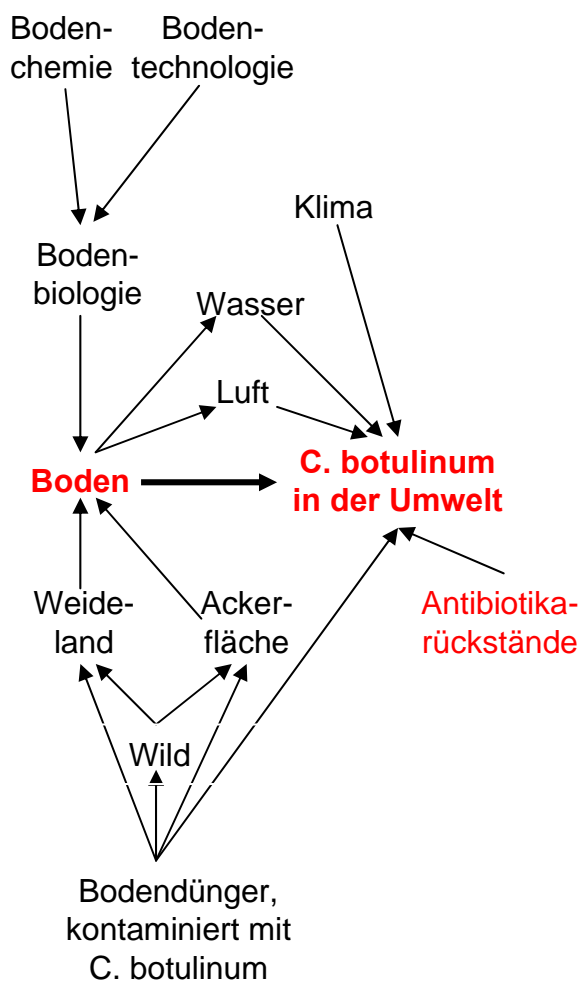
# **Epidemiologie**

- **Weltweit verbreitet**
- **durch Globalisierung keine Regionalität**
- **ubiquitär vorkommend**
- **Darmbewohner**
- **Eintrag in Boden durch Fäkalien**
- **Toxinbildung abhängig von Erregerzahl**
- **7 Toxintypen, Mischformen**

# ***C. botulinum*-haltige Substrate**

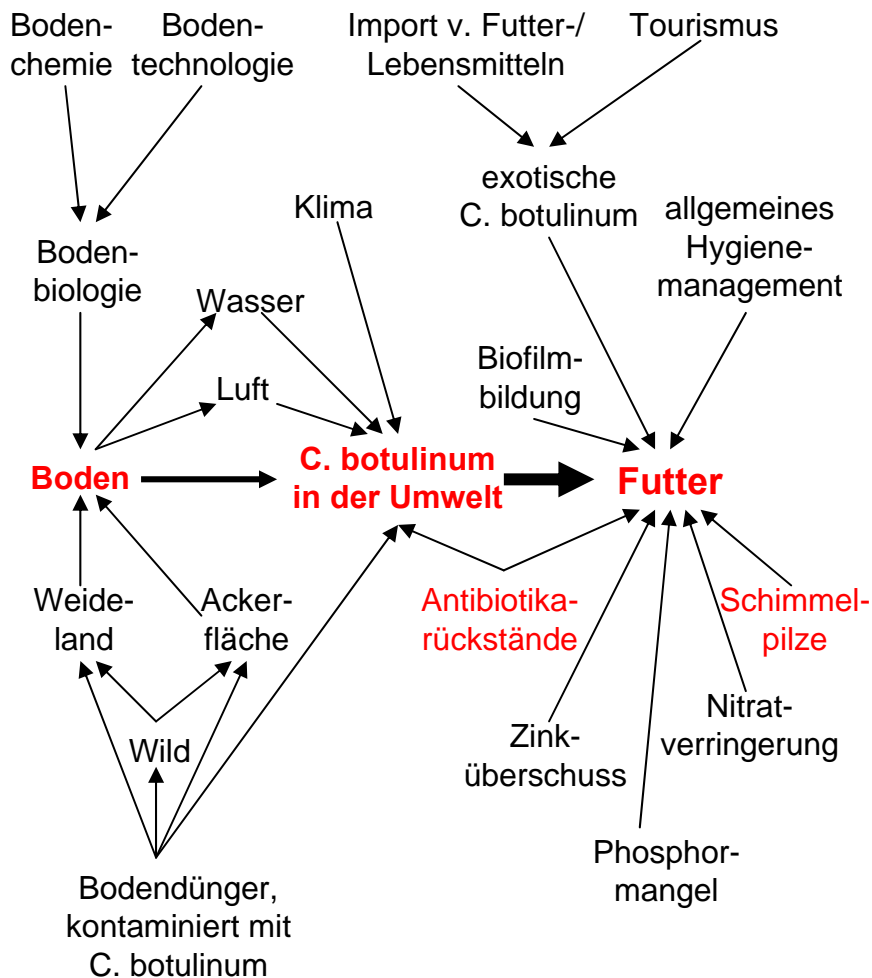


# Epidemiologische Zusammenhänge zwischen Umwelt und *Clostridium botulinum*-Neurotoxinwirkung im Makroorganismus (modifiziert nach Böhnel, 2002)

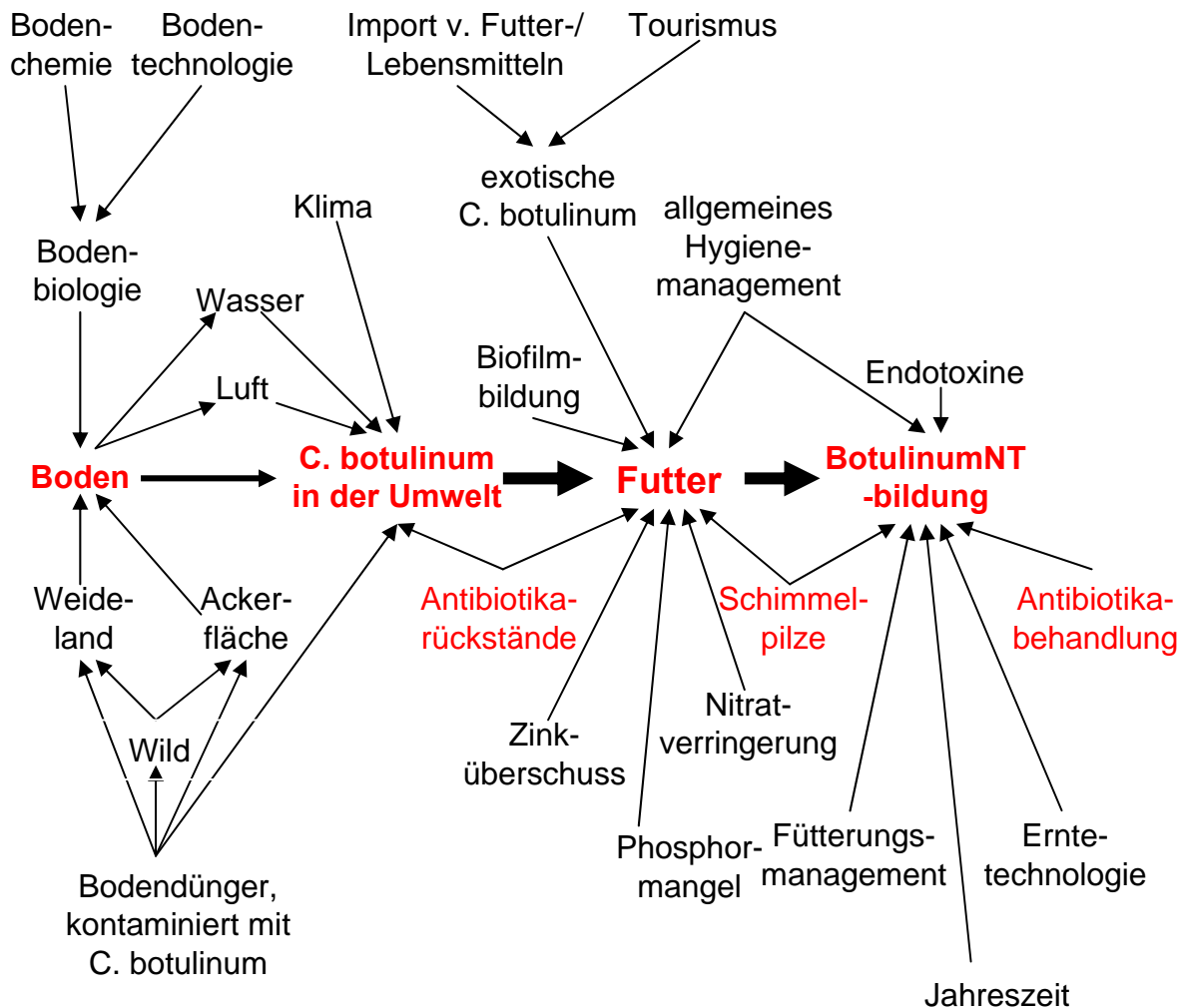




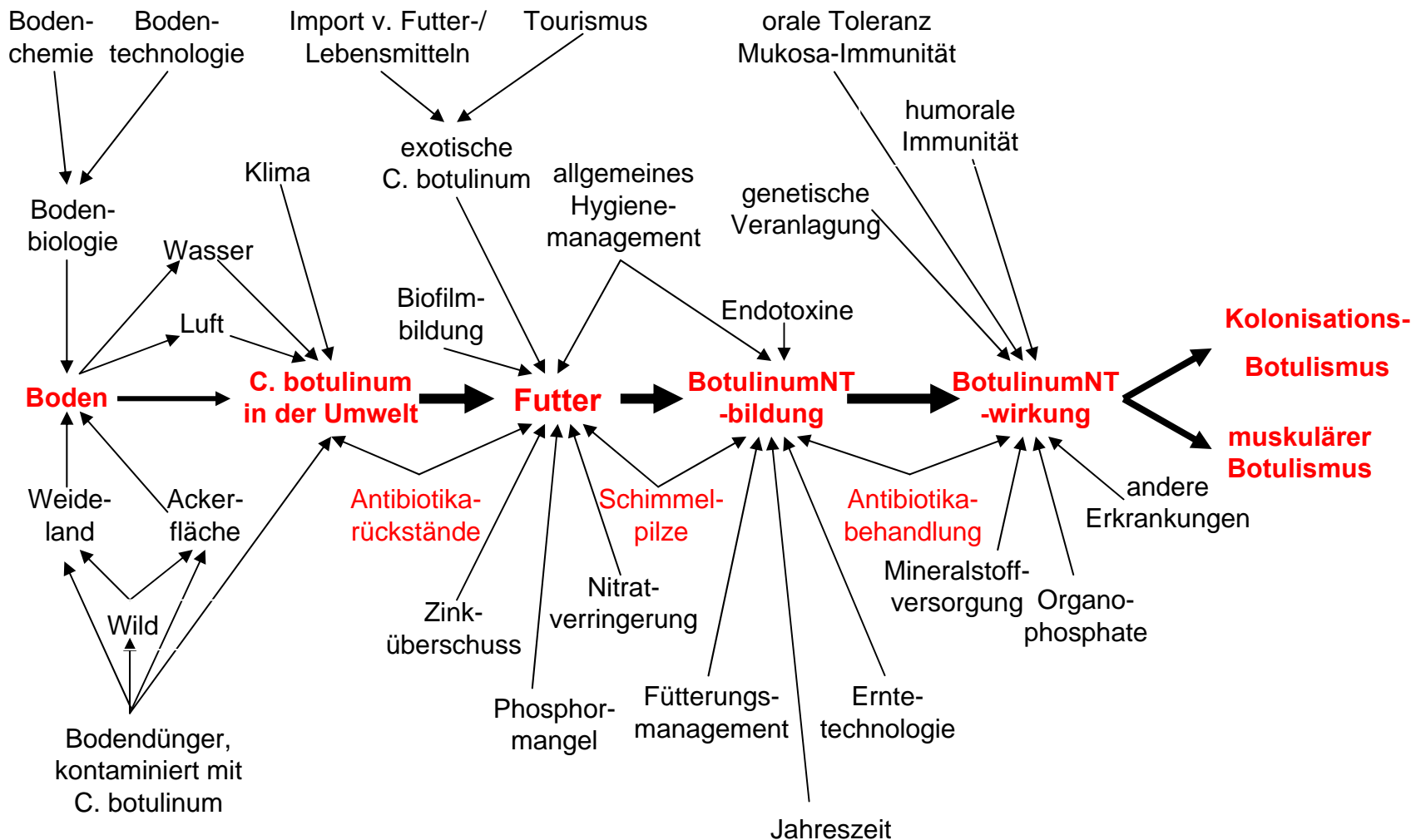
# Epidemiologische Zusammenhänge zwischen Umwelt und *Clostridium botulinum*-Neurotoxinwirkung im Makroorganismus (modifiziert nach Böhnel, 2002)



# Epidemiologische Zusammenhänge zwischen Umwelt und *Clostridium botulinum*-Neurotoxinwirkung im Makroorganismus (modifiziert nach Böhnel, 2002)



# Epidemiologische Zusammenhänge zwischen Umwelt und *Clostridium botulinum*-Neurotoxinwirkung im Makroorganismus (modifiziert nach Böhnel, 2002)



# Erkrankungen durch *C. botulinum*

## Mensch

- Neurointoxikation
- Wundbotulismus
- Säuglingsbotulismus
- Visceraler Botulismus

## Rind und andere Tierarten

- Neurointoxikation
- Kolonisationsbotulismus



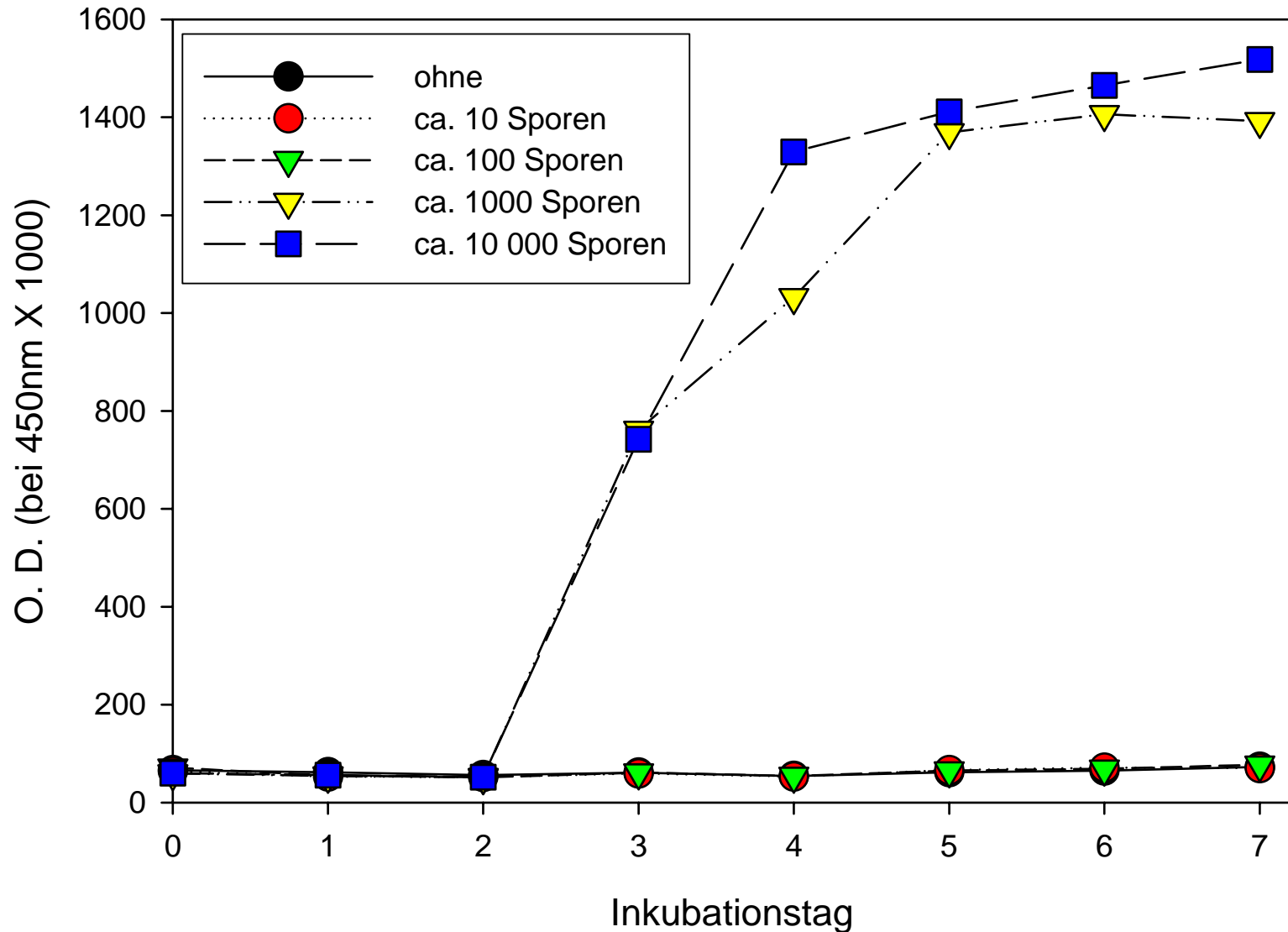






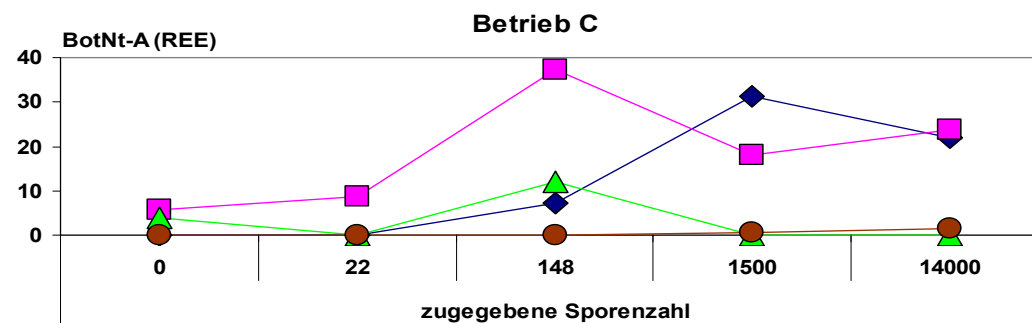
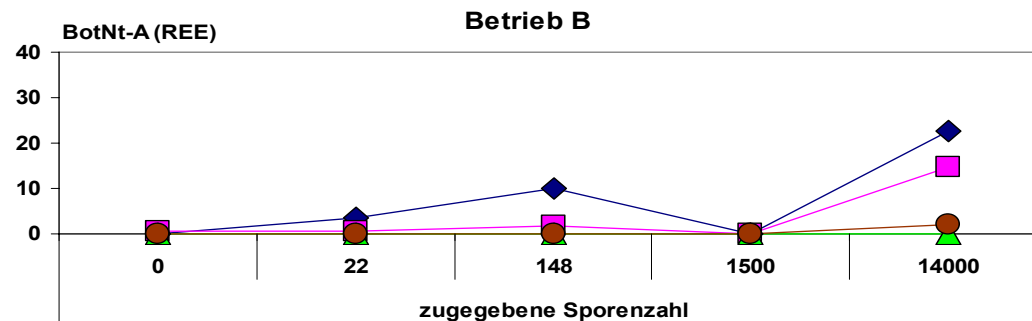
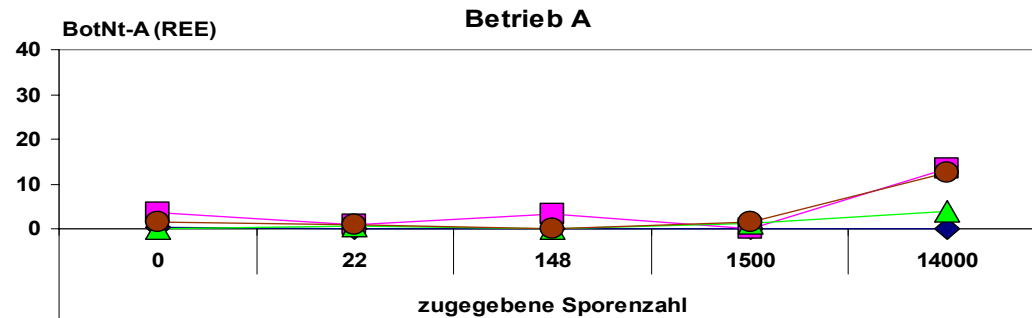
# Einfluß der Sporenzahl auf Toxinbildung

## 10% Rinderkotsuspension in RCM-Medium





# Einfluss der Kotprobe auf die Toxinbildung

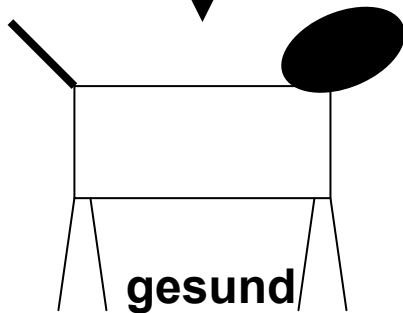


◆ Rinderkot 1 (unerhitzt)      ■ Rinderkot 1 (erhitzt 80°C/10min)  
 ▲ Rinderkot 2 (unerhitzt)      ● Rinderkot 2 (erhitzt 80°C/10min)

**Clostridien-  
eintrag**

```
graph TD; A([Clostridien-eintrag]) --> B[Eubiose MDF]; A --> C[Dysbiose MDF]; B --> D[gesund]; C --> E[krank];
```

**Eubiose MDF**



**Dysbiose MDF**

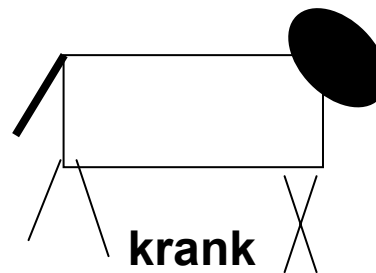


Foto: B. Neufeld







# ***C. botulinum*-Kreislauf im Betrieb SA (Botulismus- unverdächtig)**

**Kot**

**Mist**

**Boden**

**Futtermittel**

# ***C. botulinum* – Nachweis bei unverdächtigen Kühen, Bestand SA**

Tierzahl	IgG		Kot			
	AB	CD	A	B	C	D
60 Kühe	6 10,0	8 13,3	-	1 1,7	3 5,0	2 3,3
10 Färsen	1 10,0	2 20,0	-	-	-	-

# Nachweis von *C. botulinum* in Gülle und Mist, Bestand SA

Probe	Clostridien/g	Anreicherung BoNt			
		A	B	C	D
Gülle Rind	10 <sup>3</sup>	-	-	-	-
Gülle Schwein	10 <sup>4</sup>	-	-	-	-
Mist Krankenstall	10 <sup>0</sup>	-	-	-	-
Mist Trockensteher	10 <sup>3</sup>	-	-	-	-
Mist Frischabkalber	10 <sup>3</sup>	-	-	-	-
Mist Jungrinder	10 <sup>3</sup>	-	-	-	-
Mist Kälberstall	10 <sup>0</sup>	-	-	-	-
Mistlager Feld (1)	10 <sup>4</sup>	-	+	-	+
Mistlager Feld (2)	10 <sup>4</sup>	-	-	-	-
Mistlager Feld (3)	10 <sup>4</sup>	-	-	-	-

# **Clostridiengehalt/g Boden ausgewählter Felder über 6 Monate verteilt (DRCM), Betrieb SA**

	<b>26.04.2005</b>	<b>31.05.2005</b>	<b>11.07.2005</b>	<b>16.08.2005</b>	<b>27.10.2005</b>
<b>1</b>	<b><math>10^5</math></b>	<b><math>10^6</math></b>	<b><math>10^4</math></b>	<b><math>10^4</math></b>	<b><math>10^4</math></b>
<b>2</b>	<b><math>10^4</math></b>	<b><math>10^4</math></b>	<b><math>10^4</math></b>	<b><math>10^5</math></b>	<b><math>10^5</math></b>
<b>3</b>	<b><math>10^4</math></b>	<b><math>10^4</math></b>	<b><math>10^3</math></b>	<b><math>10^5</math></b>	<b><math>10^5</math></b>
<b>4</b>	<b><math>10^4</math></b>	<b><math>10^5</math></b>	<b><math>10^5</math></b>	<b><math>10^4</math></b>	<b><math>10^4</math></b>
<b>5</b>	<b><math>10^3</math></b>	<b><math>10^5</math></b>	<b><math>10^4</math></b>	<b><math>10^4</math></b>	<b><math>10^4</math></b>



# ***C. botulinum*-Nachweis im Boden ausgewählter Felder über 6 Monate verteilt (DRCM), Betrieb SA**

	26.04.05				31.05.05				11.07.05				16.08.05				27.10.05				Pos. <i>C.b.</i>
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	in %
1	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+	20
2	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
3	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	25
4	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10
5	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
%	20				5				10				15				15				

# Clostridiengehalt in Bodenproben nach Düngung mit Schweingülle, Betrieb SA

Proben	Düngung Gülemenge /ha	Clostridien/ g Boden	Anreicherung BotNT			
			A	B	C	D
Düngung (Schweingülle)	-	10 <sup>6</sup> /ml	-	-	-	-
Mai (unbehandelter Boden)	-	10 <sup>5</sup>	-	-	-	-
Mai (7d nach Düngung)	50 m3	10 <sup>5</sup>	-	-	-	-
	100m3	10 <sup>4</sup>	-	-	+	-
Juni	50 m3	10 <sup>6</sup>	-	-	-	-
	100 m3	10 <sup>5</sup>	+	-	-	-
Juli	50 m3	10 <sup>5</sup>	+	+	-	-
	100 m3	10 <sup>5</sup>	-	-	-	-
Oktober (nach Maisernte)	50 m3	10 <sup>6</sup>	-	-	-	-
	100 m3	10 <sup>6</sup>	-	-	-	-

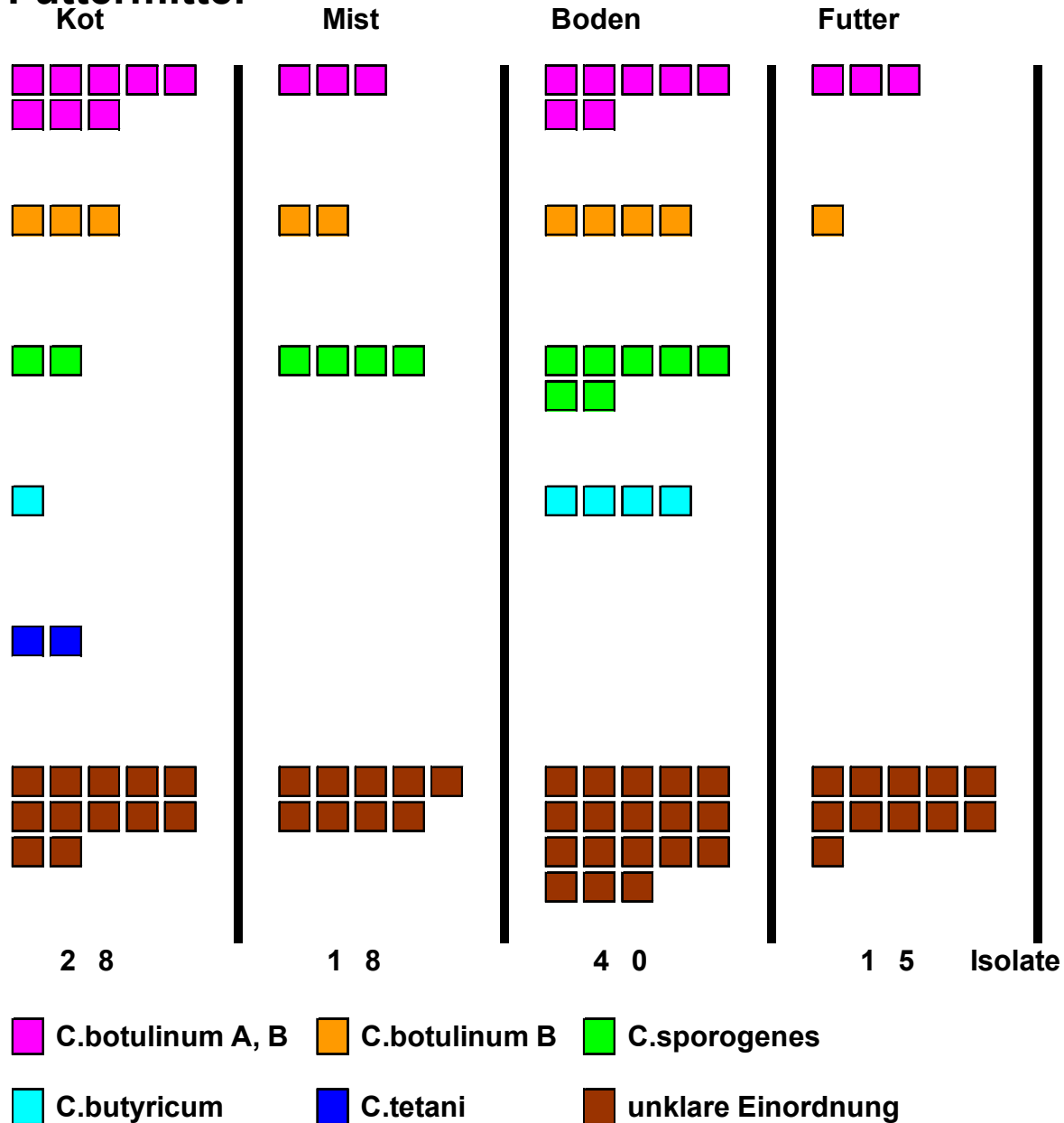
# Clostridiengehalt in verwendeten Futtermitteln, Betrieb SA

Futtermittel	Anreicherung BotNT				Clostridien /g DRCM	Lactobacillus spp.	Hefen
	A	B	C	D			
GPS Gras 10.07.05	-	-	-	-	$10^2$	$< 10^3$	$< 10^3$
Maissilage Frisch	-	-	-	-	$10^2$	$< 10^3$	$< 10^3$
Luzernesilage Frisch	-	-	-	-	$10^2$	$1,1 \times 10^5$	$< 10^3$
Silage aus gehäckselttem Mais	-	-	-	-	$10^0$	$4 \times 10^4$	$1 \times 10^3$
Sojaschrot	-	-	-	-	$10^0$	$< 10^3$	$< 10^3$
Rapsschrot	-	-	-	-	$10^0$	$< 10^3$	$< 10^3$
Biertreber siliert	-	-	-	-	$10^2$	$7 \times 10^5$	$1,3 \times 10^4$
Biertreber frisch	-	-	-	-	$10^0$	$5 \times 10^5$	$1,8 \times 10^4$
Rübenpressschnitzel	-	-	-	-	$10^2$	$5 \times 10^6$	$1,3 \times 10^4$

## Keimdynamik in TMR im 18 h-Verlauf

TMR laktierende Tiere	Temp. (°C) Entnahme	Anreicherung BotNT				Clostridien/g DRCM	Lactobacillus spp.	Hefen
		A	B	C	D			
TMR 5 Uhr 30	xx	-	-	-	-	10 <sup>4</sup>	7x10 <sup>6</sup>	<10 <sup>3</sup>
TMR 9 Uhr	xx	-	-	-	-	10 <sup>3</sup>	1,4x10 <sup>7</sup>	2,7x10 <sup>5</sup>
TMR Haufen 11 Uhr	18	(+)	-	-	-	10 <sup>5</sup>	6x10 <sup>6</sup>	5x10 <sup>5</sup>
TMR Futtert. 11 Uhr	xx	-	-	-	-	10 <sup>4</sup>	2x10 <sup>4</sup>	4x10 <sup>3</sup>
TMR Haufen 13 Uhr	23	-	-	-	-	10 <sup>5</sup>	1,5x10 <sup>7</sup>	1x10 <sup>5</sup>
TMR Futtert. 13 Uhr	xx	-	-	-	-	10 <sup>4</sup>	8x10 <sup>5</sup>	1,8x10 <sup>4</sup>
TMR Haufen 15 Uhr	23	-	-	-	-	10 <sup>5</sup>	4,7x10 <sup>6</sup>	4x10 <sup>4</sup>
TMR Futtert. 15 Uhr	xx	-	-	-	-	10 <sup>4</sup>	2,4x10 <sup>6</sup>	6x10 <sup>3</sup>
TMR Haufen 18 Uhr	25	-	-	-	-	10 <sup>4</sup>	8x10 <sup>6</sup>	Schimmel pilz
TMR Futtert. 18 Uhr	xx	-	-	-	-	10 <sup>4</sup>	Überschwärmt (Clostridium sp.)	5x10 <sup>3</sup>

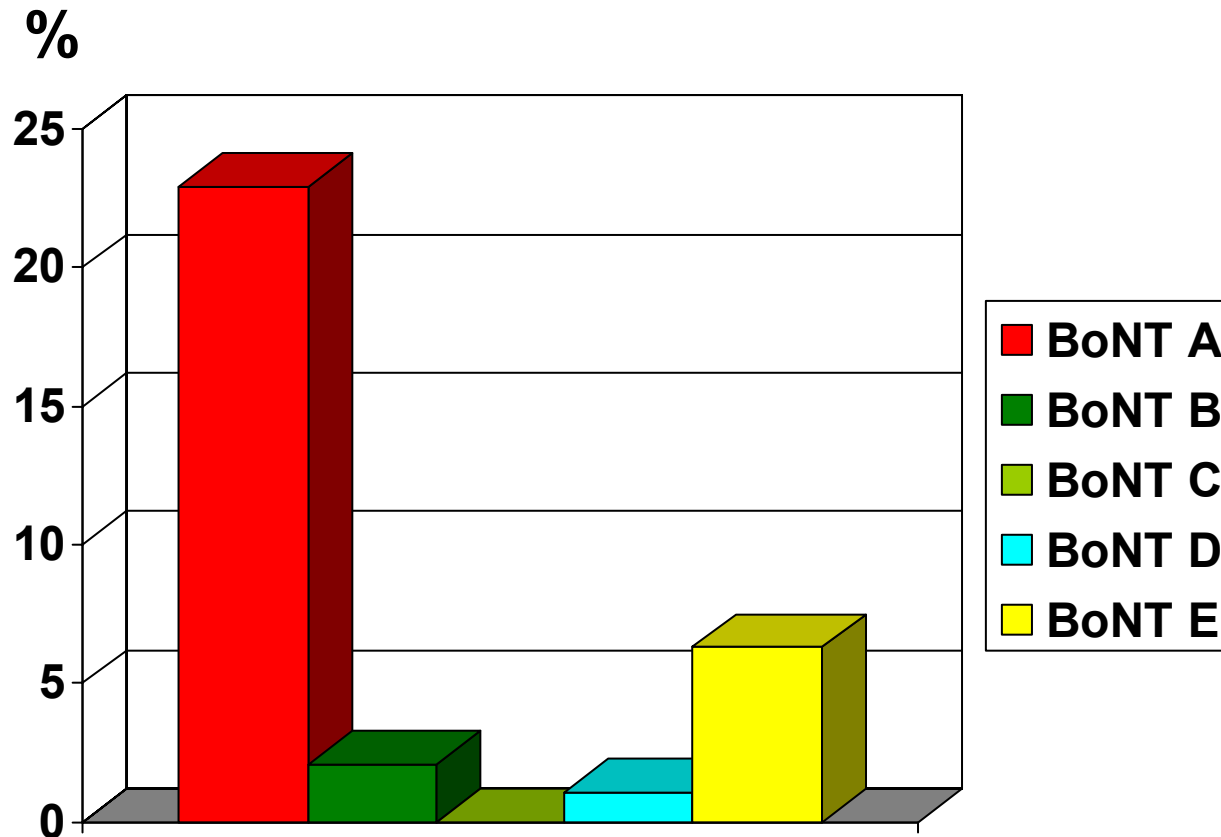
# Nachweis ausgewählter *Clostridium* spp. im Kreislauf Kot (Rind) – Gülle/Mist – Boden – Futtermittel



***C. botulinum* - Nachweis in Kotproben aus Rinderbeständen  
verschiedener Grösse (gesunde Bestände)**

<b>Probenzahl (pro Eins.)</b>	<b>Proben / Bestände</b>	<b>pos / ges. (%)</b>	<b>Toxintyp</b>
<b>≤ 10</b>	<b>57 / 11</b>	<b>3 / 57 (5,3)</b>	<b>2xB, 1xD</b>
<b>&gt; 10 - 30</b>	<b>145 / 8</b>	<b>10 / 145 (6,9)</b>	<b>4xA, 5xB, 1xD</b>
<b>&gt; 30</b>	<b>158 / 3</b>	<b>8 / 158 (5,1)</b>	<b>3xA, 1xB, 3xC, 1xD</b>

# ***C. bot.*-Nachweis in Tonsillen\* von Schlachtrinder**



**n = 96**

**\* mit Ultra Turrax zerkleinert**

# Schlußfolgerungen

- ***C. botulinum* kommt in klinisch unauffälligen Rinderbeständen Sachsens und weiterer Bundesländer vor.**
- **Über Gülle und Mist wird *C. botulinum* in den Boden eingebracht und kann von hier über Futtermittel wieder in die Bestände gelangen.**



# Schlußfolgerungen

- Im Kot und im Boden wurde *C. botulinum* mit der größten Häufigkeit nachgewiesen.
- Rinder bilden protektive Antikörper gegen den Erreger und seine Neurotoxine.

# **Erregernachweis bei erkrankten Tieren**









## ***C. botulinum*-Nachweis bei erkrankten Kühen**

Untersuchtes Substrat	Tier-Nr. (Labor)	<i>C. botulinum</i> -Erregernachweis Typ E	<i>C. botulinum</i> -Erregernachweis Typ B	<i>C. botulinum</i> -Erregernachweis Typ ABE
Pansen	1	+	0	++++
Pansen	2	0	0	++++ (A)
Pansen	3	0	0	+++ (A)
Pansen	4	0	0	++++ (A)
Pansen	5	0	0	+++ (A)
Pansen	6	+/-	0	++++ (A)
Pansen	7	0	0	+++ (A)
Pansen	8	0	0	0
Pansen	9	0	0	++++ (A)
Pansen	10	0	0	++++ (A)
Pansen	11	0	0	+++ (A)
Pansen	12	+	0	++++
Pansen	13	+/-	0	+++ (A)
Pansen	14	+/-	0	++++ (A)
Pansen	15	+/-	0	+++ (A)

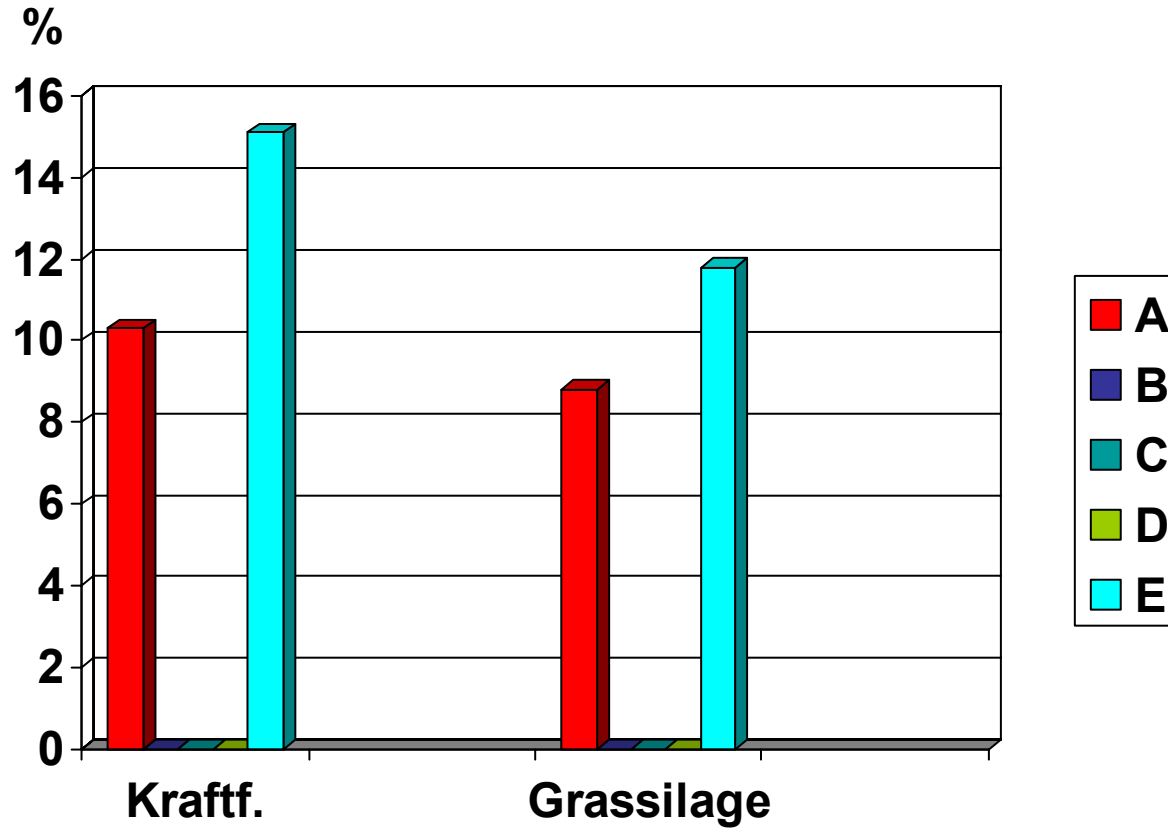
Untersuchtes Substrat	Tier-Nr. (Labor)	<i>C. botulinum</i> -Erregernachweis Typ E	<i>C. botulinum</i> -Erregernachweis Typ B	<i>C. botulinum</i> -Erregernachweis Typ ABE bzw. A
Caecum	1	++	0	+++
Caecum	2	+/-	0	+++ (A)
Caecum	3	0	0	+++ (A)
Caecum	4	+	0	+++
Caecum	5	+	0	+++
Caecum	6	+	0	+++
Caecum	7	+	0	+++
Caecum	8	+	0	+++
Caecum	9	++	0	+++
Caecum	10	++	0	+++
Caecum	11	+	0	+++
Caecum	12	++	0	+++
Caecum	13	+/-	0	+++ (A)
Caecum	14	++	0	+++
Caecum	15	+	0	+++

# ***C. botulinum*-Nachweis in Stuhlproben von Landwirten aus erkrankten Beständen**

Untersuchtes Substrat	Proben-nummer	<i>C. botulinum</i> -Erregernachweis Typ E	<i>C. botulinum</i> -Erregernachweis Typ B	<i>C. botulinum</i> -Erregernachweis Typ ABE
Stuhl	1	0	0	+++ (A)
Stuhl	2	++	0	0
Stuhl	3	+++++	0	+
Stuhl	4	0	0	+++++ (A)
Stuhl	5	+++	0	+++
Stuhl	6	+/-	0	+++++ (A)
Stuhl	7	0	0	0



# ***Clostridium botulinum*-Gehalt in Futtermitteln (Problembestände)**



Kraftfutter: n=126

Grassilage: n=34

***C. botulinum* – Nachweis in Rinderkotproben aus Rinderbeständen mit Biogasanlage (erkrankte Bestände)**

Bestand	Nr.	Tierzahl	pos./ n (%)	Toxintyp	Gärsub.
Bh	21	22	6 / 22 <b>(27,2)</b>	<b>2xCD; 1xC; 1 x D; 2 x B</b>	Rd.-, Schw.-G. Silagen
Ghm	22	20	7 / 20 <b>(35,0)</b>	<b>3xC; 4xD; 2xB</b>	Rd.-G. Silagen

# ***C. botulinum*- Nachweis in Gülle, Fermenterinhalt , Gärresten (erkrankte Bestände)**

Substr.	n	BoNT A	BoNT B	BoNT C	BoNT D
Gülle	R / 11	1 x pos 9.1%		5 x pos 45,5%	2 x pos 18,2%
	S / 2			2 x pos 100%	
Ferm.- Inhalt	5	1 x pos 20,0%			1 x pos 20,0%
Gärrest	26	2 x pos 7,7%		3 x pos 11,5%	6 x pos 23, 1%



**Schwimmdecke auf Gärrestlakune**

# Schlußfolgerungen

- An Kolonisationsbotulismus erkrankte Tiere scheiden mehr *C. botulinum*-Erreger aus, die in die Umwelt (Staub) und in den Boden gelangen.
- Menschen und Tiere können über Staub, Tierkontakt, Lebensmittel Sporen aufnehmen.



# Schlußfolgerungen

- Bei ausreichender Sporenzahl und Dysbiose des MDT können *C. botulinum*- Keime kolonisieren und Toxin bilden.
- Es entsteht das Erkrankungsbild des Kolonisationsbotulismus.