

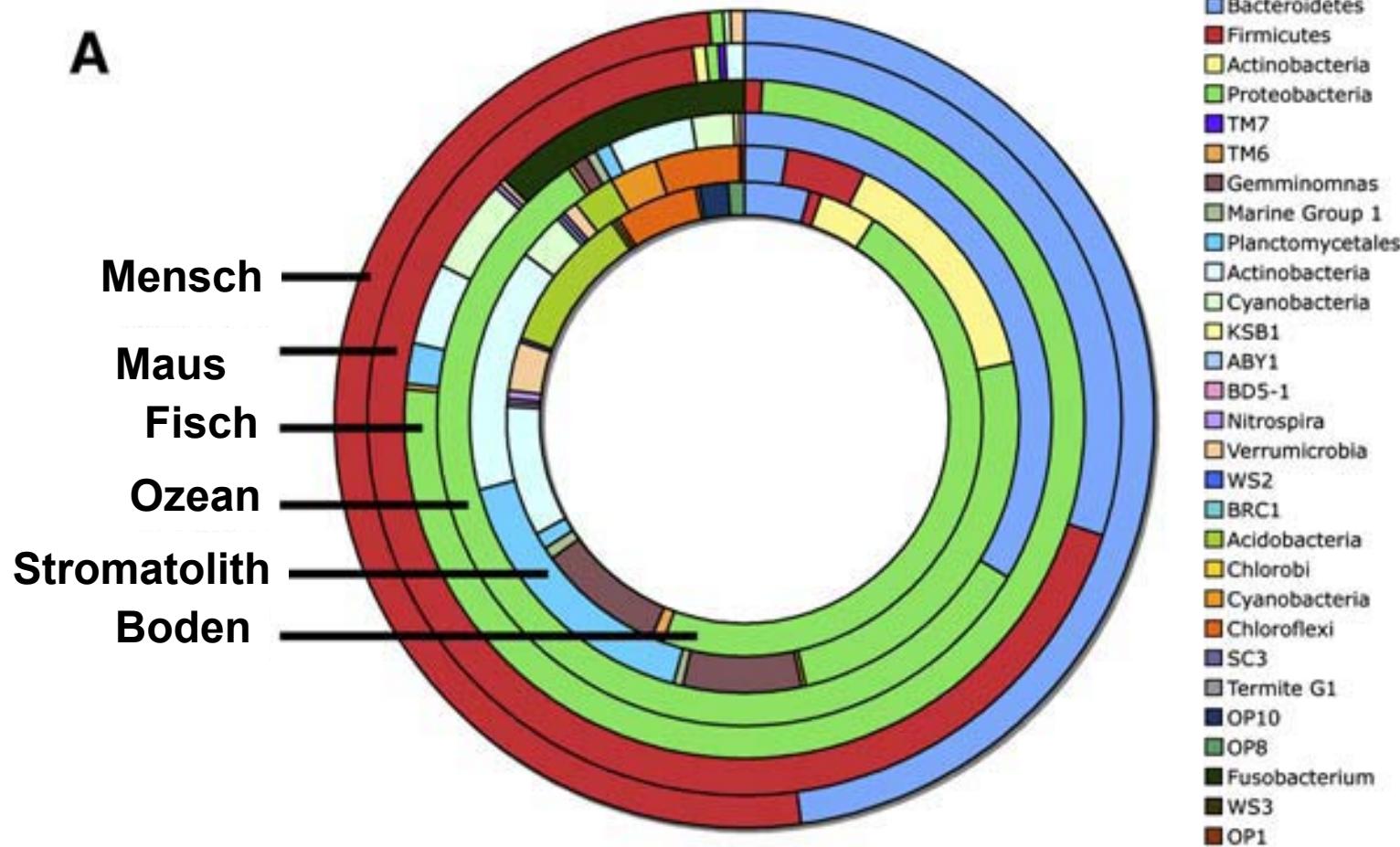


Mikrobielle Kreisläufe Boden, Pflanze, Tier/Mensch

M. Krüger

**Institut für Bakteriologie und
Mykologie**

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



Mikroökosystem Boden

Viren

Bakterien

Pilze

Hefen

Protozoen

Existenzformen von Bakterien:
aktiv, hypometabol, somnolent

Bodenfruchtbarkeit
unterstützend

verringernd

Antibiotika
Sulfonamide
Kokzidiostatika
Schwermetalle

Lebensraum Boden

Mikroflora (Bakterien, Pilze)

90% Abbauarbeit

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

Mikrofauna (ca. 400 Prozozoenarten, 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

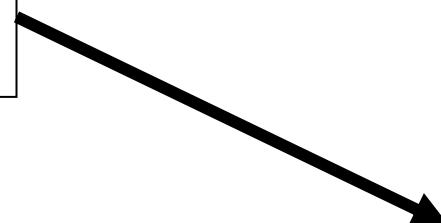
Naturherdinfektionen

Leptospirose
Borreliose

Bakterien, die mit
Ausscheidungen in Boden
und Grundwasser gelangen

E. coli
Salmonellen
Clostridien

Mensch/Tier



Schädigungen von M/T durch bodenbürtige Mikroorganismen 1. Toxine

Mikroorganismen

Fusarium spp.,

Penicillium spp.

Aspergillus spp.

Bacillus cereus

S. aureus

C. perfringens

Cyanobacterium spp.

C. botulinum

Produkte

Mykotoxine

Mykotoxine

Mykotoxine

Enterotoxine

Enterotoxine

Enterotoxine

Hepatotoxin

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

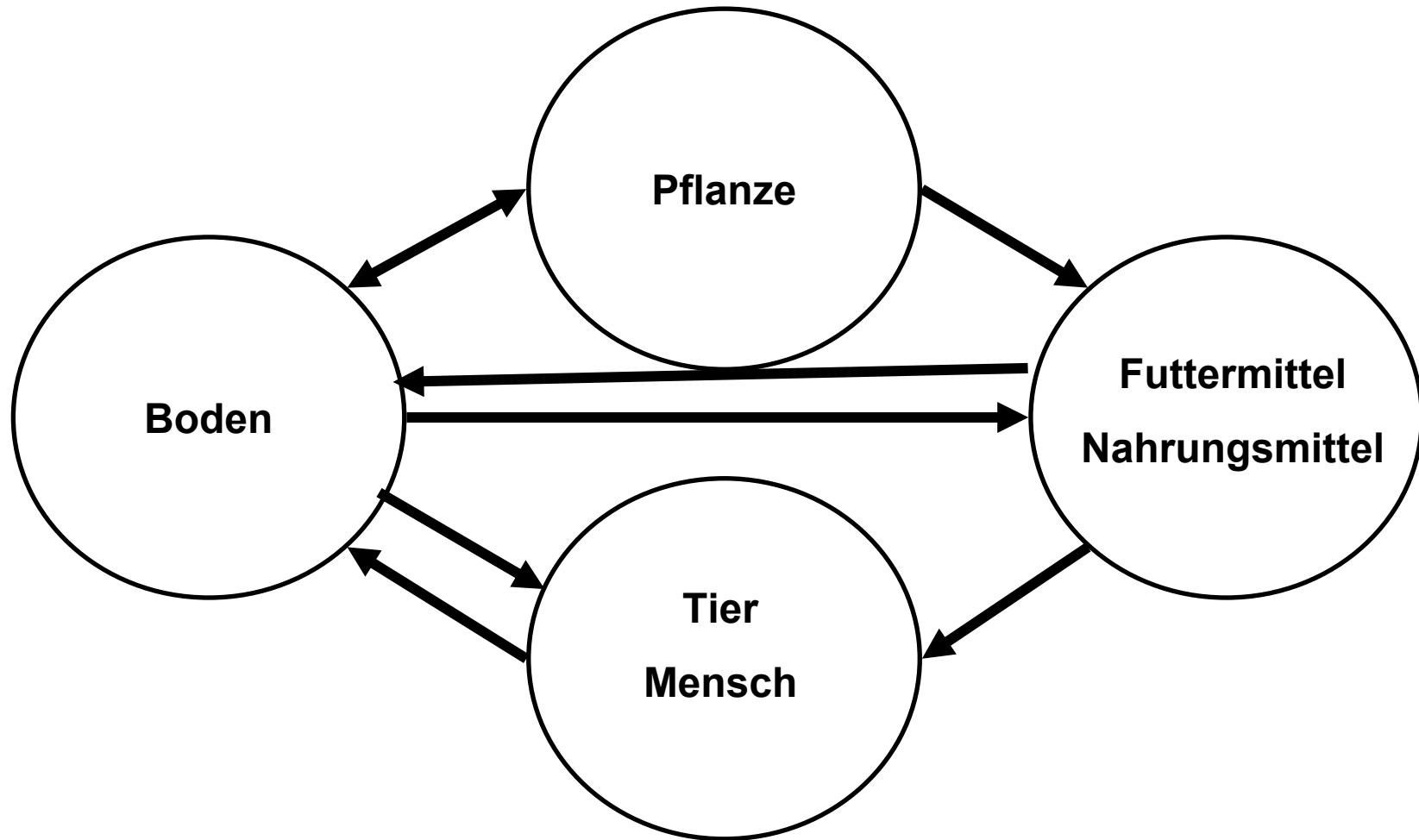
Hefen

Pilze

Kontaminationen von pflanzlichen Lebens-/Futtermitteln mit Pathogenen

- Epiphytisch
- Endophytisch
- Bodenbeimengungen im Produkt
- Wasser

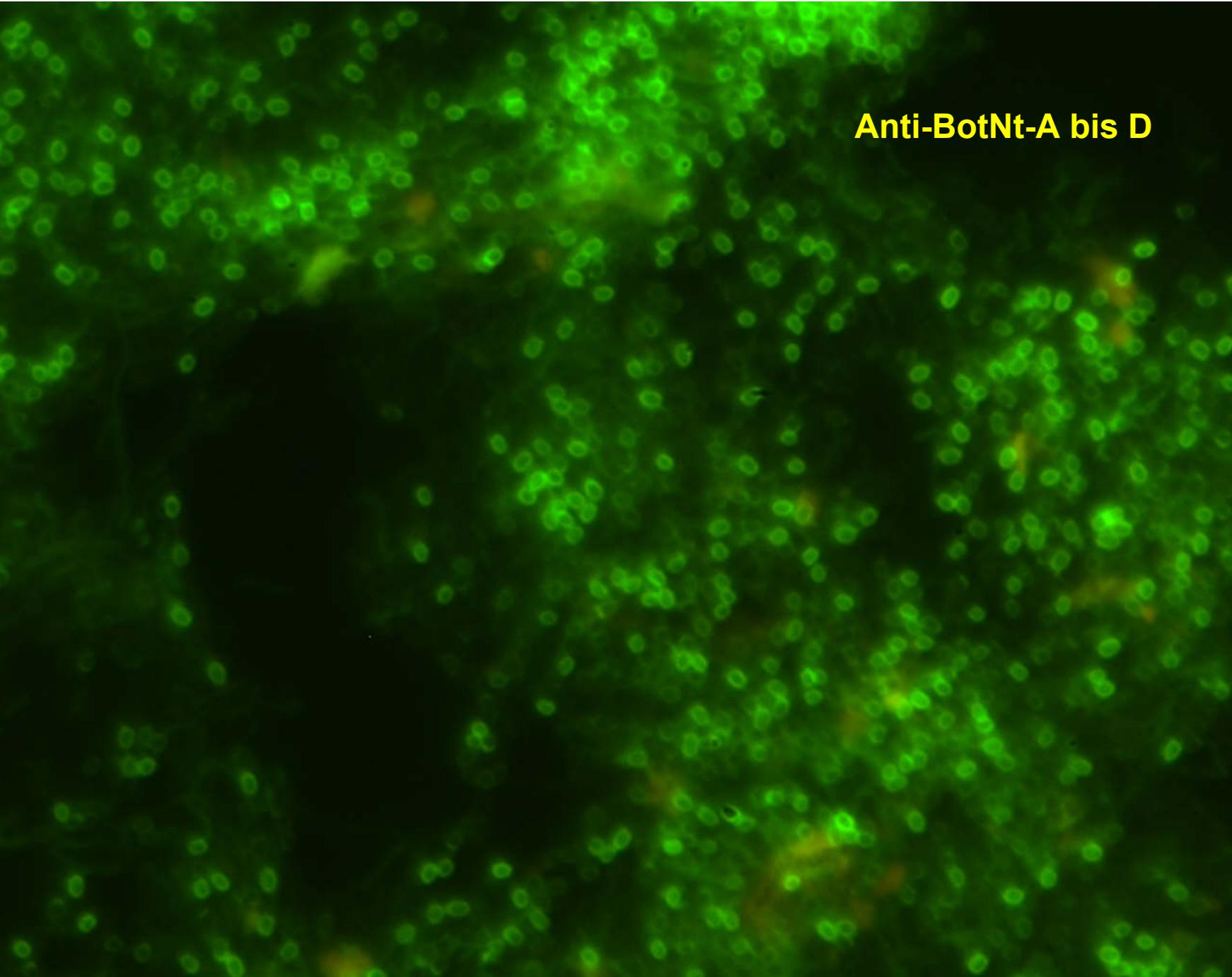
Kreisläufe pathogener Mikroorganismen



Kreislauf von *C. botulinum*

Clostridium botulinum

- Anaerobier
- Sporenbildner
- Neurotoxinbildner
- Bodenseuchenerreger

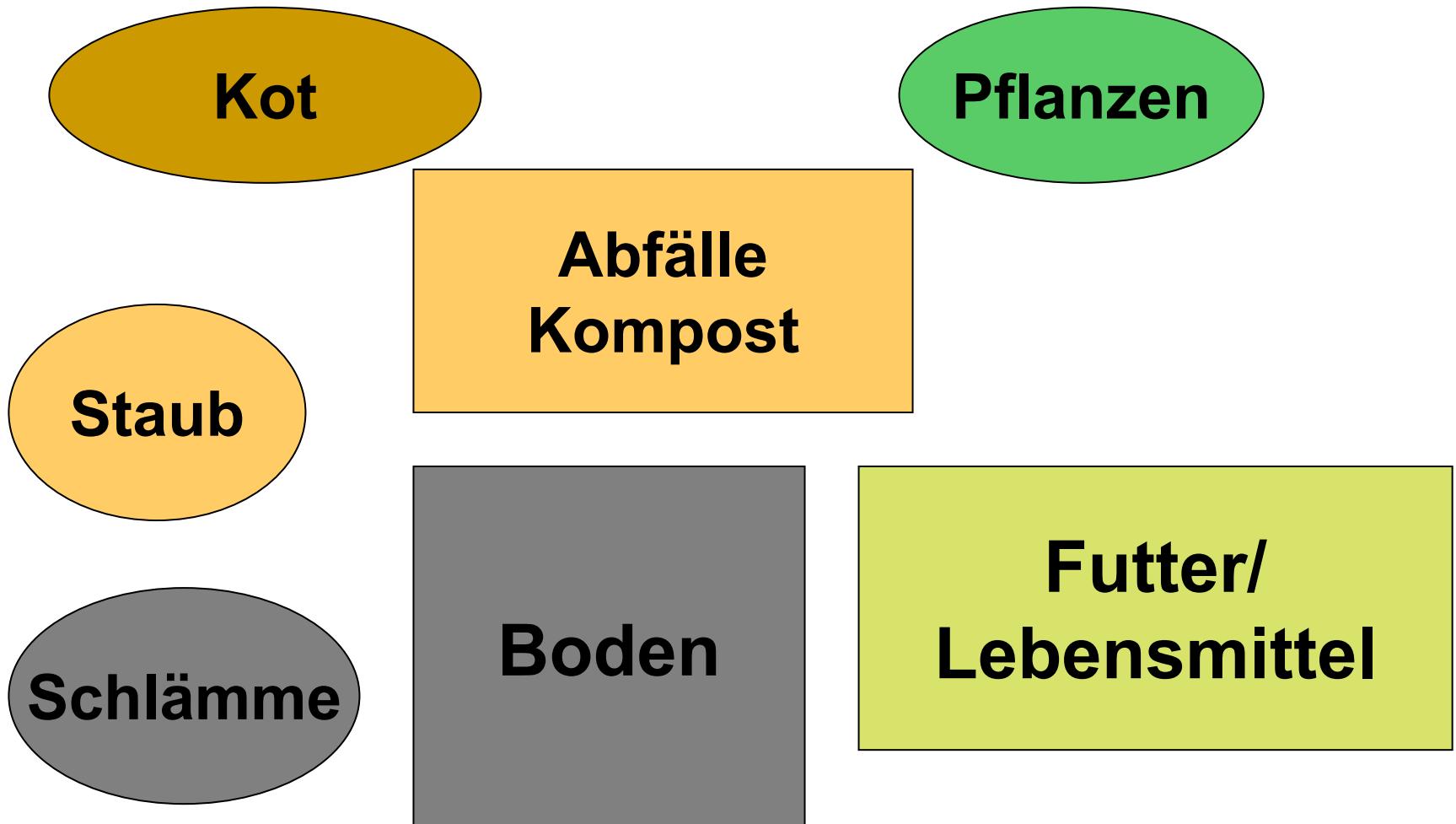


Anti-BotNt-A bis D

Epidemiologie

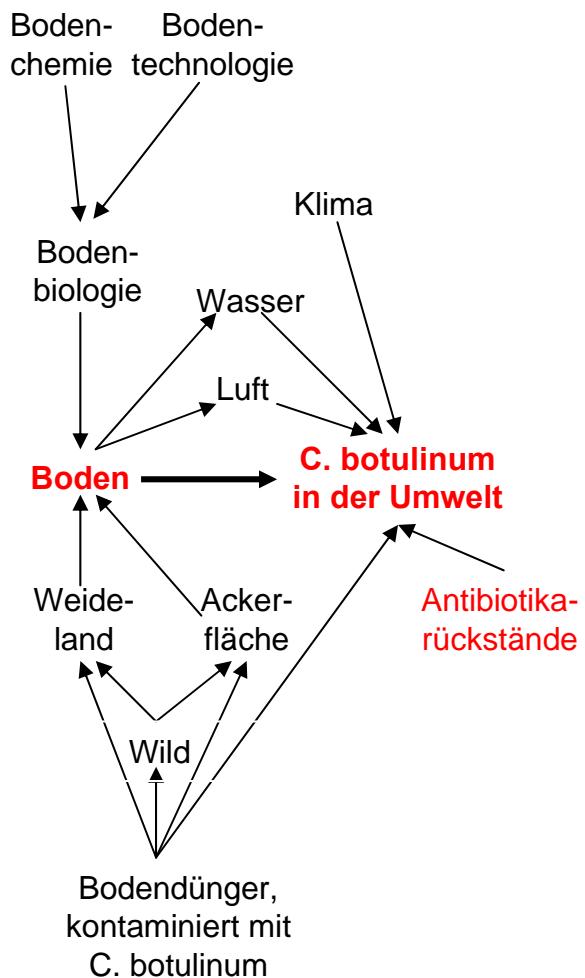
- Weltweit verbreitet
- durch Globalisierung keine Regionalität
- ubiquitär vorkommend
- Darmbewohner
- Eintrag in Boden durch Fäkalien
- Toxinbildung abhängig von Erregerzahl
- 7 Toxintypen, Mischformen

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



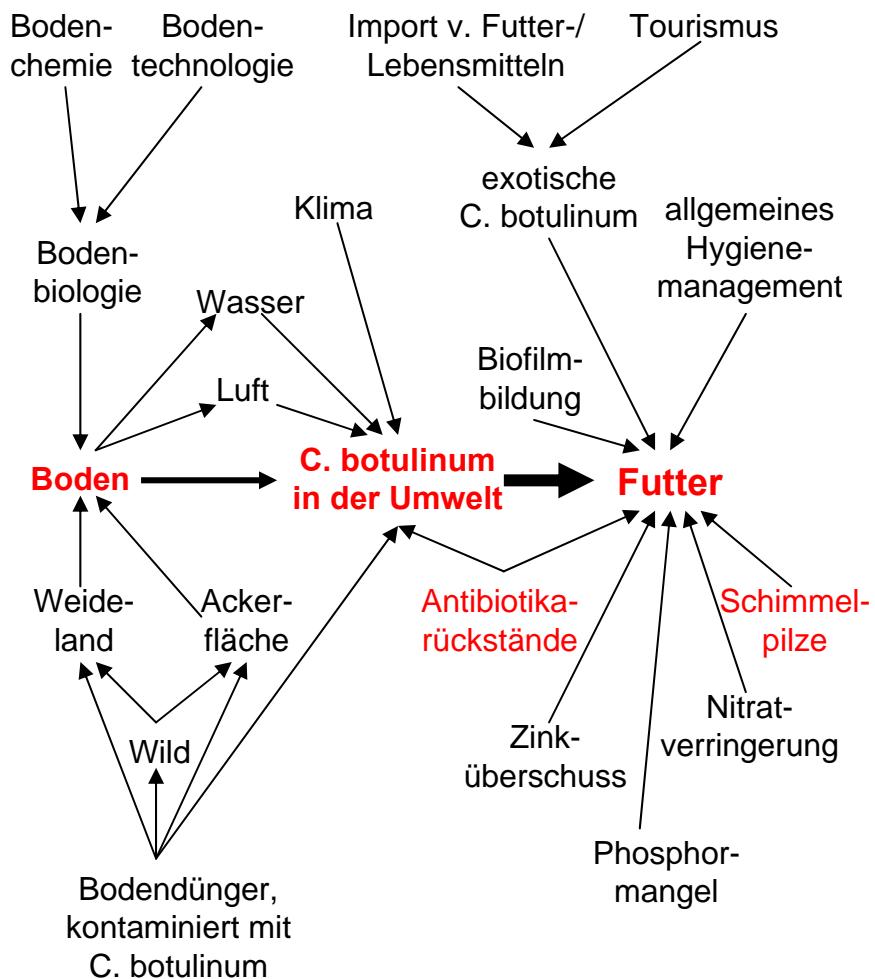
Epidemiologische Zusammenhänge zwischen Umwelt und *Clostridium botulinum*-Neurotoxinwirkung im Makroorganismus

(modifiziert nach Böhnel, 2002)



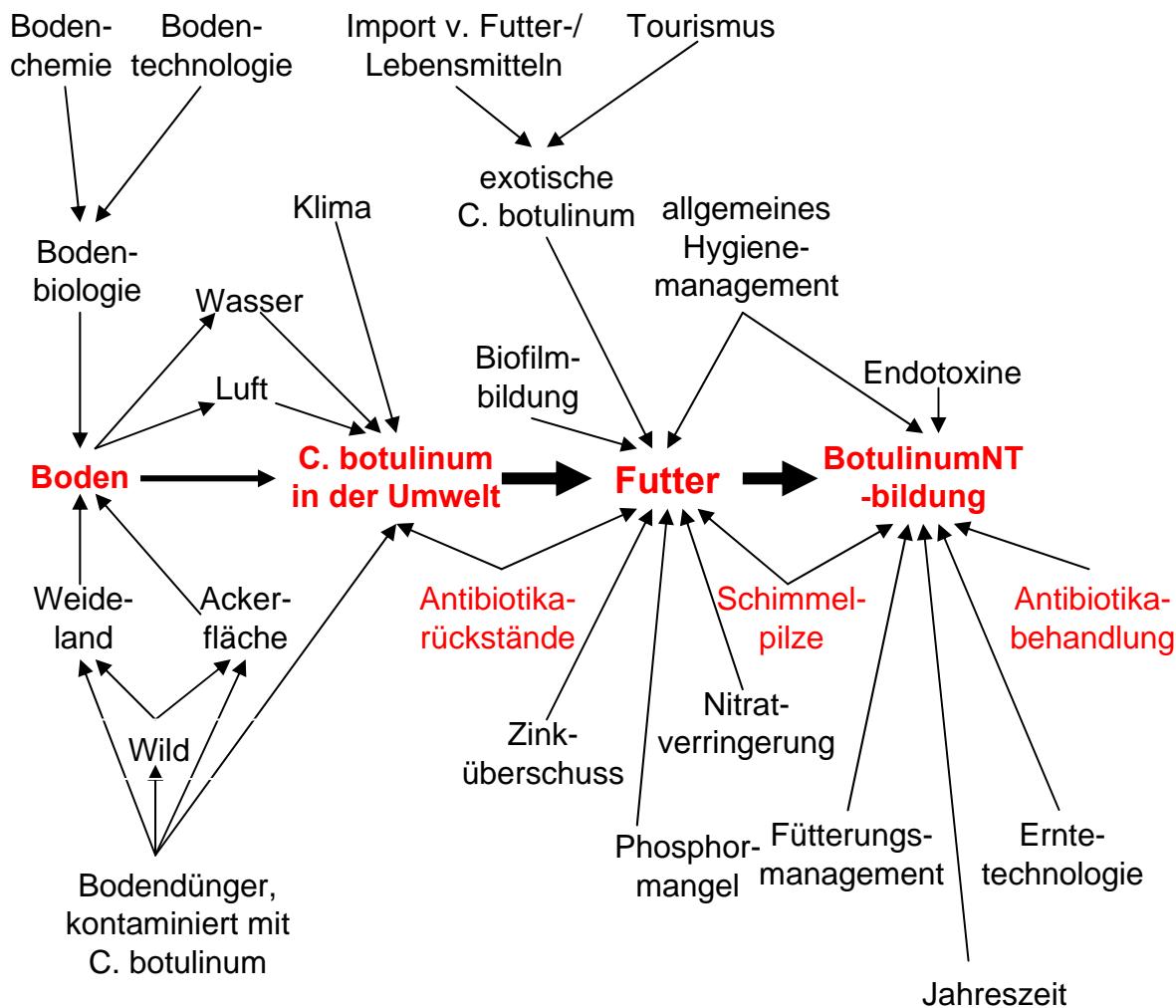
Epidemiologische Zusammenhänge zwischen Umwelt und *Clostridium botulinum*-Neurotoxinwirkung im Makroorganismus

(modifiziert nach Böhnel, 2002)

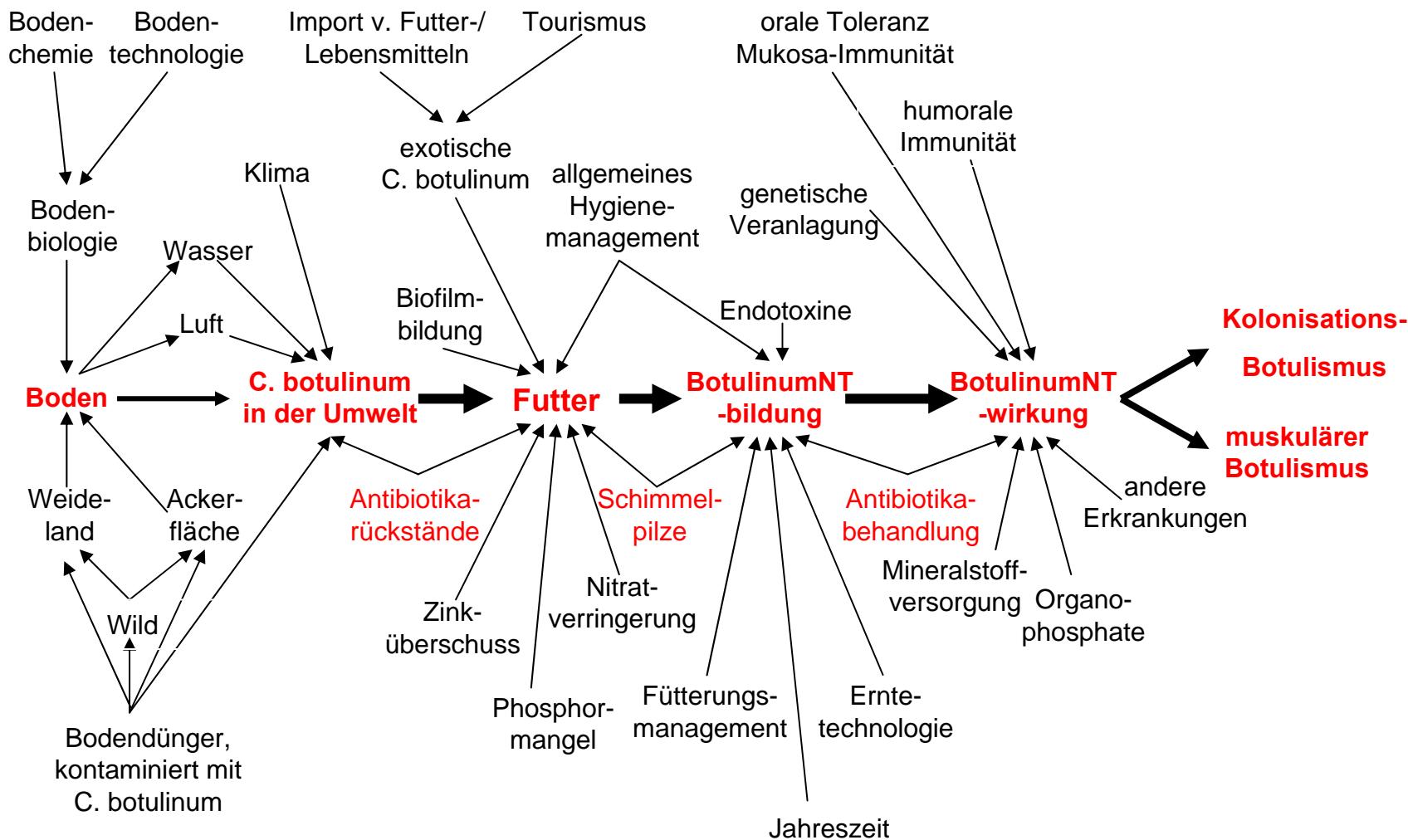


Epidemiologische Zusammenhänge zwischen Umwelt und *Clostridium botulinum*-Neurotoxinwirkung im Makroorganismus

(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

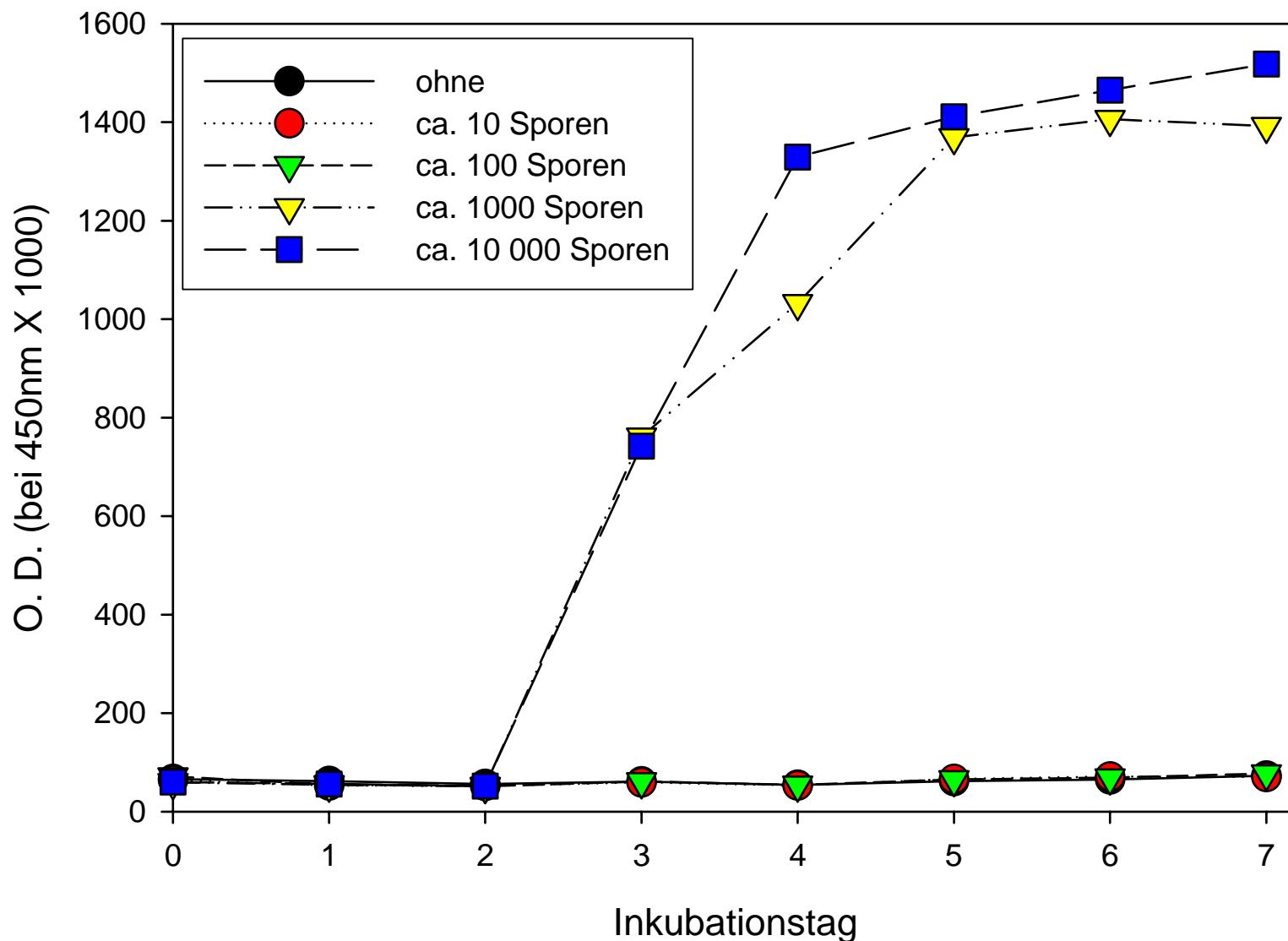
- Neurointoxikation
- Kolonisationsbotulismus



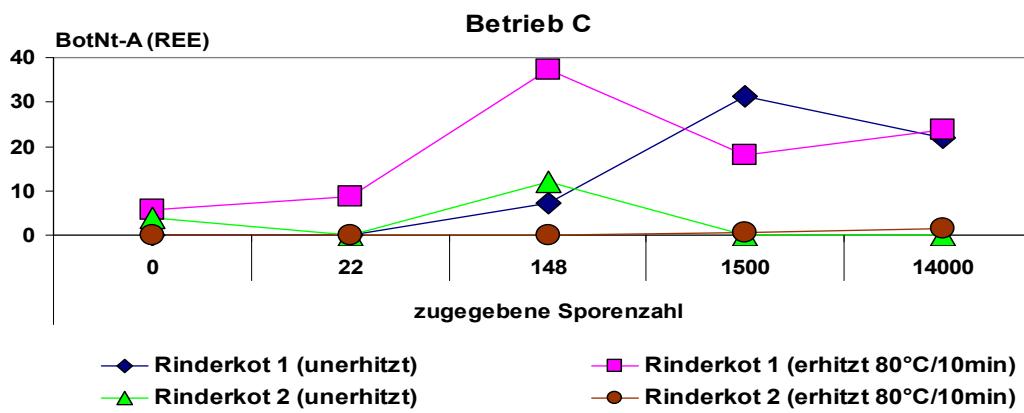
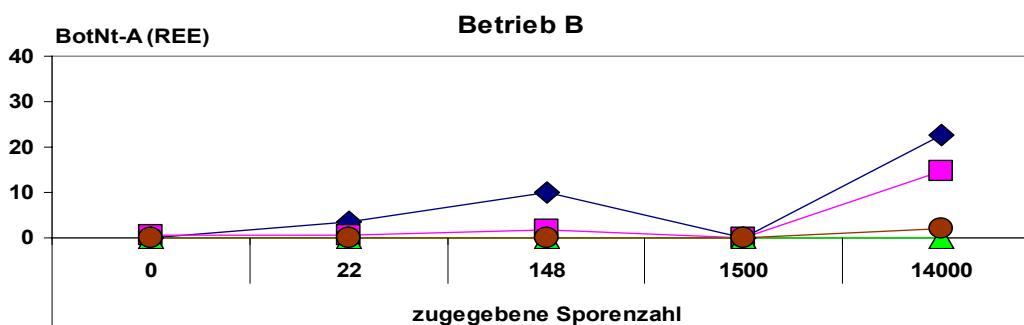
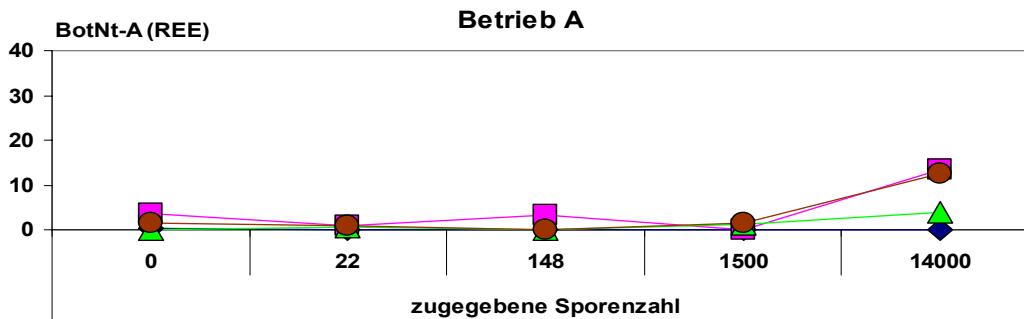




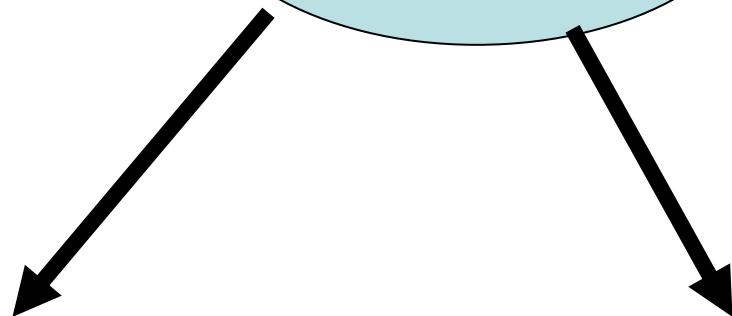
Einfluß der Sporenzahl auf Toxinbildung 10% Rinderkotsuspension in RCM-Medium



Einfluss der Kotprobe auf die Toxinbildung

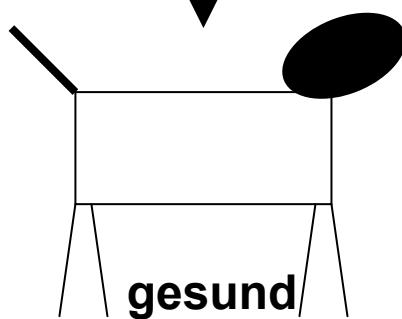


**Clostridien-
eintrag**

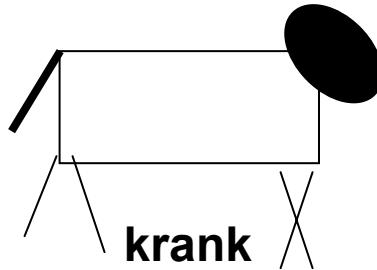


Eubiose MDF

Dysbiose MDF



gesund



krank

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	10^3	-	-	-	-
Gülle Schwein	10^4	-	-	-	-
Mist Krankenstall	10^0	-	-	-	-
Mist Trockensteher	10^3	-	-	-	-
Mist Frischabkalber	10^3	-	-	-	-
Mist Jungrinder	10^3	-	-	-	-
Mist Kälberstall	10^0	-	-	-	-
Mistlager Feld (1)	10^4	-	+	-	+
Mistlager Feld (2)	10^4	-	-	-	-
Mistlager Feld (3)	10^4	-	-	-	-

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

	26.04.2005	31.05.2005	11.07.2005	16.08.2005	27.10.2005
1	10^5	10^6	10^4	10^4	10^4
2	10^4	10^4	10^4	10^5	10^5
3	10^4	10^4	10^3	10^5	10^5
4	10^4	10^5	10^5	10^4	10^4
5	10^3	10^5	10^4	10^4	10^4

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

Clostridiengehalt in verwendeten Futtermitteln, Betrieb SA

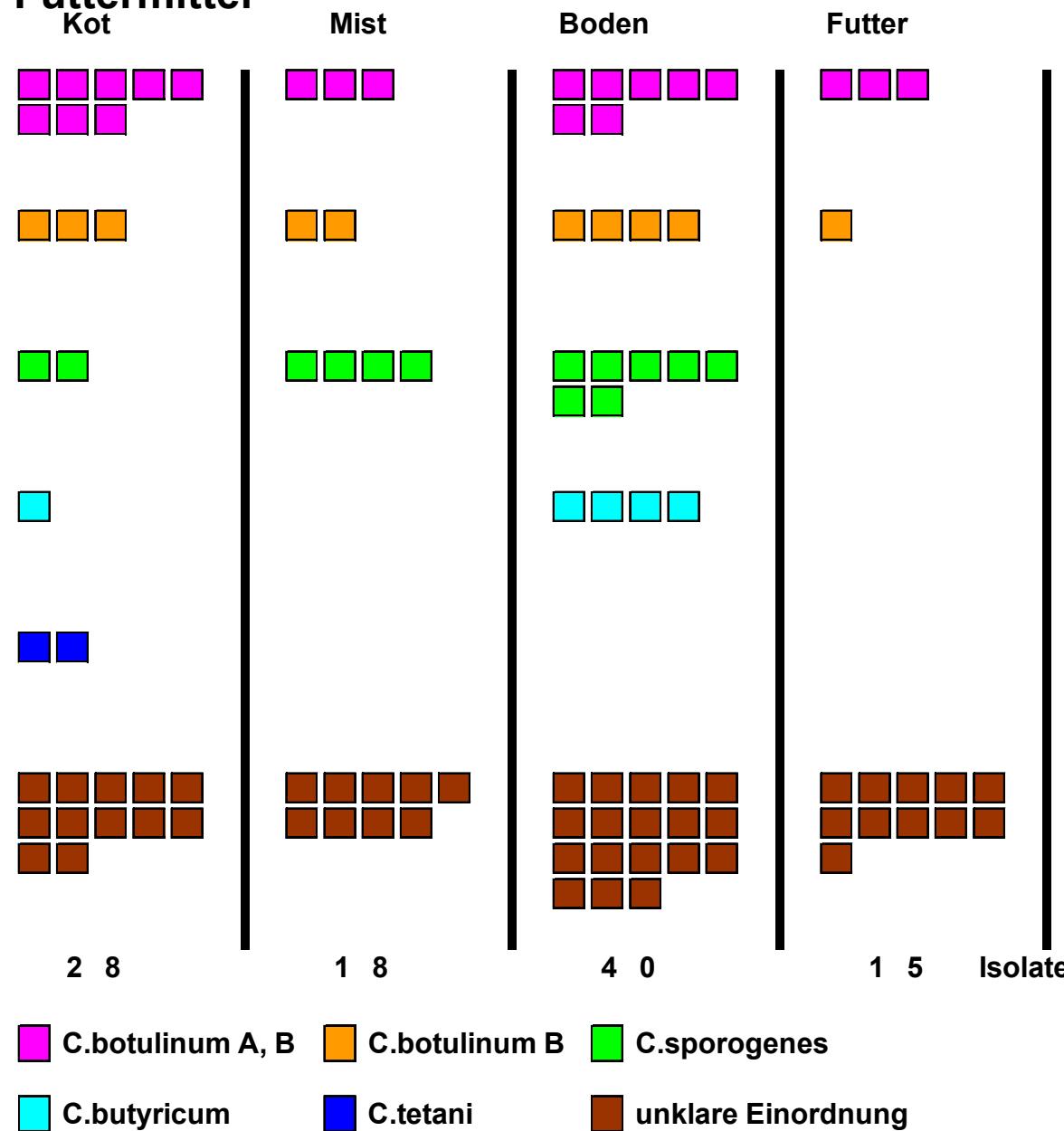
Futtermittel	Anreicherung BotNT				Clostridien /g DRCM	Lactobacillus spp.	Hefen
	A	B	C	D			
GPS Gras 10.07.05	-	-	-	-	10^2	$< 10^3$	$< 10^3$
Maissilage Frisch	-	-	-	-	10^2	$< 10^3$	$< 10^3$
Luzernesilage Frisch	-	-	-	-	10^2	$1,1 \times 10^5$	$< 10^3$
Silage aus gehäckseltem Mais	-	-	-	-	10^0	4×10^4	1×10^3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

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	-	-	-	-	10^4	7×10^6	$< 10^3$
TMR 9 Uhr	xx	-	-	-	-	10^3	$1,4 \times 10^7$	$2,7 \times 10^5$
TMR Haufen 11 Uhr	18	(+)	-	-	-	10^5	6×10^6	5×10^5
TMR Futtert. 11 Uhr	xx	-	-	-	-	10^4	2×10^4	4×10^3
TMR Haufen 13 Uhr	23	-	-	-	-	10^5	$1,5 \times 10^7$	1×10^5
TMR Futtert. 13 Uhr	xx	-	-	-	-	10^4	8×10^5	$1,8 \times 10^4$
TMR Haufen 15 Uhr	23	-	-	-	-	10^5	$4,7 \times 10^6$	4×10^4
TMR Futtert. 15 Uhr	xx	-	-	-	-	10^4	$2,4 \times 10^6$	6×10^3
TMR Haufen 18 Uhr	25	-	-	-	-	10^4	8×10^6	Schimmel pilz
TMR Futtert. 18 Uhr	xx	-	-	-	-	10^4	Überschwärmt (Clostridium sp.)	5×10^3

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

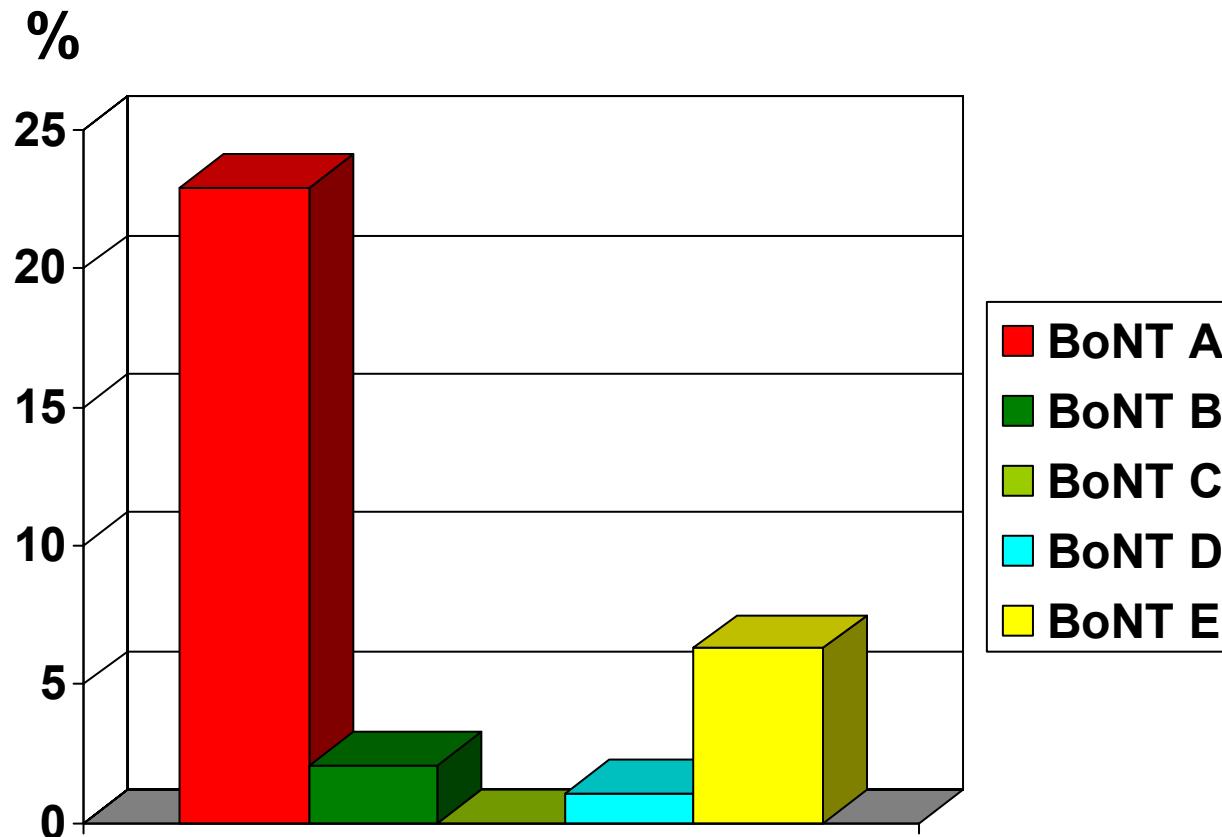
Boden – Futtermittel



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

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

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**

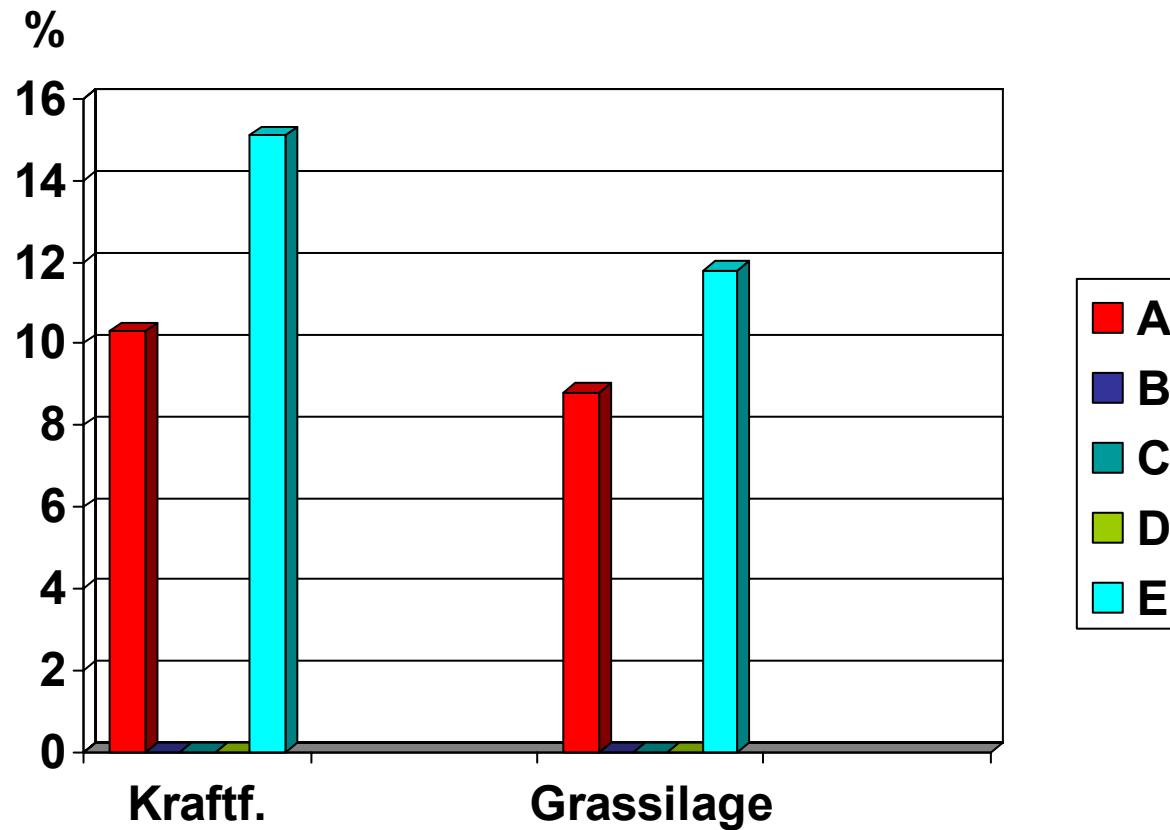
Untersuchtes Substrat	Tier-Nr. (Labor)	<i>C. botulinum</i> -ErregerNachweis Typ E	<i>C. botulinum</i> -ErregerNachweis Typ B	<i>C. botulinum</i> -ErregerNachweis Typ ABE
Pansen	1	+	0	++++
Pansen	2	0	0	++++ (A)
Pansen	3	0	0	+++ (A)
Pansen	4	0	0	++++ (A)
Pansen	5	0	0	+++ (A)
Pansen	6	+/-	0	++++ (A)
Pansen	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> -Erreger nachweis Typ E	<i>C. botulinum</i> -Erreger nachweis Typ B	<i>C. botulinum</i> -Erreger nachweis 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.	Tierzah l	pos./ n (%)	Toxintyp	Gärsub.
Bh	21	22	6 / 22 (27,2)	2xCD; 1xC; 1 x D; 2 x B	Rd.-, Schw.-G. Silagen
Ghm	22	20	7 / 20 (35,0)	3xC; 4xD; 2xB	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.