

Aus dem Institut für Umwelt- und Tierhygiene
sowie Tiermedizin mit Tierklinik
der Universität Hohenheim

**Umwelthygienische Untersuchungen zur Belastung von
ausgewählten landwirtschaftlichen Grünlandflächen mit
Hundekot sowie zur Tenazität ausgewählter bakterieller
Testorganismen bei der Silierung**

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines
Doctor scientiarum agriculturæ (Dr.sc.agr.)

vorgelegt der
Fakultät Agrarwissenschaften
von

Stefanie Schnauffer, geb. Egeler
aus Böblingen

2014

Wissenschaftliche Betreuung: Prof. Dr. Reinhard Böhm, Institut für Umwelt- und Tierhygiene sowie Tiermedizin mit Tierklinik der Universität Stuttgart-Hohenheim

Gutachter: Prof. Dr. Reinhard Böhm, Institut für Umwelt- und Tierhygiene sowie Tiermedizin mit Tierklinik der Universität Stuttgart-Hohenheim

Prof. Dr. Uwe Truyen, Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen der Universität Leipzig

Prof. Dr. Ute Mackenstedt, Institut für Zoologie, Fachgebiet Parasitologie der Universität Stuttgart-Hohenheim

Prof. Dr. Werner Bessei, Institut für Tierhaltung und Tierzucht, Fachgebiet Populationsgenomik bei landwirtschaftlichen Nutztieren der Universität Stuttgart-Hohenheim

Dekanin der Fakultät

Agrarwissenschaften:

Prof. Dr. Martina Brockmeier

1. Prodekan:

Prof. Dr. Markus Rodehutscord

Tag der Verteidigung: 17. April 2014

Für meine drei Liebsten

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	9
2	LITERATUR.....	11
2.1	Der Hund.....	11
2.2	Problematik Hundekot	12
2.3	Landwirtschaftlich genutzte Grünlandflächen	17
2.4	Einfluss der Umwelt auf Bakterien und Parasiten	19
2.5	Antibiotika-resistente Mikroorganismen	22
2.5.1	Beschreibung der in dieser Untersuchung verwendeten Antibiotika	27
2.6	Futtermittelkonservierung	29
2.6.1	Grünfutter	30
2.6.2	Silage	30
2.6.2.1	Geschichte	30
2.6.2.2	Definition	31
2.6.2.3	Silierungsprozess.....	33
2.6.2.4	Milchsäuregärung.....	35
2.6.2.5	Fehlerhafter Silierungsverlauf	37
2.6.3	Heu.....	40
2.7	Mikrobielle Kontamination von Futtermitteln	42
2.8	Darstellung der mikrobiologischen und parasitologischen Parameter, die bei dieser Untersuchung berücksichtigt wurden	47
2.8.1	<i>Clostridium perfringens</i>	47
2.8.2	Enterokokken.....	49
2.8.3	<i>Escherichia coli</i>	51
2.8.4	Salmonellen	52
2.8.5	<i>Cryptosporidium parvum</i>	56
2.8.6	<i>Neospora caninum</i>	59

3	MATERIAL UND METHODEN	62
3.1	Vorbereitung der umwelthygienischen Untersuchungen	62
3.1.1	Der Landkreis Böblingen	62
3.1.2	Abfrage zu den Maßnahmen der Städte und Gemeinden im Landkreis Böblingen zur Eindämmung der Hundekotproblematik	63
3.1.3	Erstellung eines Fragebogens	63
3.1.4	Auswahl der Grünlandflächen	64
3.1.5	Standortbilder der untersuchten Grünflächen	67
3.1.6	Wetterdaten für den Untersuchungszeitraum	69
3.2	Vorbereitung der Resistenztests	72
3.3	Vorbereitung der mikrobiologischen und parasitologischen Untersuchungen von Silage	73
3.3.1	Vorbereitung des Silieguts	73
3.3.2	Herstellung einer Keimsuspension	74
3.3.3	Beimpfen des Silieguts mit verschiedenen bakteriellen Erregern	75
3.3.4	Herstellung eines Keimträgers für Oocysten von <i>Cryptosporidium parvum</i>	77
3.4	Durchführung der umwelthygienischen Untersuchungen	78
3.4.1	Zählung der Hundekothaufen auf landwirtschaftlich genutzten Grünlandflächen ...	78
3.4.2	Mikrobiologische Untersuchung der im Rahmen der Flächenuntersuchungen stichprobenartig gesammelten Hundekotproben	79
3.4.2.1	Quantitativer Nachweis von <i>Clostridium perfringens</i> aus biologischem Material	79
3.4.2.2	Quantitativer Nachweis von Enterokokken aus biologischem Material	80
3.4.2.3	Quantitativer Nachweis zur Ermittlung der "wahrscheinlichsten Keimzahl" (MPN) von <i>Escherichia coli</i> aus biologischem Substrat (Makromethode)	81
3.4.2.4	Qualitativer Nachweis des Vorkommens bzw. der Freiheit von Salmonellen in einer definierten Probenmenge	83
3.4.2.5	Quantitativer Nachweis der Gesamtbakterienzahl aus biologischem Material	85
3.5	Durchführung der Resistenztests	86
3.5.1	Gewinnung der Reinkulturen	86
3.5.1.1	Gewinnung der Reinkulturen von <i>Escherichia coli</i>	86
3.5.1.2	Gewinnung der Reinkulturen von Salmonellen	87
3.5.2	Durchführung des Agar-Diffusionstests	88

3.5.3	Durchführung der Mikrodilution	90
3.6	Durchführung der mikrobiologischen und parasitologischen Untersuchung von Silage.....	93
3.6.1	Quantitativer Nachweis von <i>Clostridium perfringens</i> aus biologischem Material	93
3.6.2	Quantitativer Nachweis von <i>Enterococcus faecalis</i> aus biologischem Material	94
3.6.3	Quantitativer Nachweis von <i>Salmonella</i> Senftenberg aus biologischem Material...	94
3.6.4	Untersuchung der Quarzsandprobe.....	96
3.6.5	Untersuchung des Einflusses der Silagesäuren.....	96
3.6.6	Nachweis von <i>Cryptosporidium parvum</i> anhand der Excystierungsrate	97
4	ERGEBNISSE	100
4.1	Ergebnisse der umwelthygienischen Untersuchungen	100
4.1.1	Ergebnisse der Abfrage der Maßnahmen der Städte und Gemeinden im Landkreis Böblingen zur Eindämmung der Hundekotproblematik	101
4.1.2	Ergebnisse des Fragebogens	102
4.1.3	Ergebnisse der Flächenuntersuchungen.....	106
4.1.4	Flächenuntersuchungen im Frühjahr	107
4.1.5	Flächenuntersuchungen im Sommer	108
4.1.6	Flächenuntersuchungen im Herbst	109
4.1.7	Flächenuntersuchungen im Winter	110
4.1.8	Statistische Auswertung der Ergebnisse der Flächenuntersuchung	115
4.1.9	Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen des stichprobenartig gesammelten Hundekots	117
4.2	Ergebnisse der Resistenztests	119
4.2.1	Ergebnisse der Agar-Diffusionstest	119
4.2.2	Ergebnisse der Mikrodilution.....	120
4.2.3	Gegenüberstellung der Ergebnisse aus Agar-Diffusionstest und Mikrodilution.....	120
4.3	Ergebnisse der mikrobiologischen und parasitologischen Untersuchungen von Silage.....	122
4.3.1	Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen von Silage	122
4.3.1.1	Verlauf des pH-Werts	124
4.3.1.2	Auswirkung der Abpufferung der Silagesäuren mit di-Natriumhydrogenphosphat	125
4.3.2	Ergebnisse der parasitologischen Untersuchungen von Silage.....	126

5	DISKUSSION DER ERGEBNISSE	128
5.1	Diskussion der Ergebnisse der umwelthygienischen Untersuchungen	128
5.1.1	Diskussion des Fragebogens.....	128
5.1.2	Diskussion der Ergebnisse der Flächenuntersuchungen.....	131
5.1.3	Diskussion der Untersuchungsergebnisse des stichprobenartig gesammelten Hundekots	139
5.2	Diskussion der Ergebnisse der Resistenztests	140
5.2.1	Diskussion der quantitativen und qualitativen Untersuchungen auf <i>E. coli</i> bzw. <i>Salmonella</i> spp.....	143
5.2.2	Diskussion und Gegenüberstellung der Ergebnisse der Agar-Diffusionstests und der Mikrodilution	144
5.2.2.1	Diskussion der Ergebnisse für Ampicillin	145
5.2.2.2	Diskussion der Ergebnisse für Cephalothin	146
5.2.2.3	Diskussion der Ergebnisse für Enrofloxacin	146
5.2.2.4	Diskussion der Ergebnisse für Sulfamethoxazol.....	147
5.2.2.5	Diskussion der Ergebnisse für Tetracyclin.....	148
5.3	Diskussion der mikrobiologischen und parasitologischen Ergebnisse von Silage.....	149
5.3.1	Diskussion der Ergebnisse der mikrobiologischen der Untersuchungen von Silage.....	149
5.3.1.1	Diskussion der Ergebnisse von <i>Clostridium perfringens</i>	150
5.3.1.2	Diskussion der Ergebnisse von <i>Enterococcus faecalis</i>	151
5.3.1.3	Diskussion der Ergebnisse von <i>Salmonella</i> Senftenberg.....	152
5.3.1.4	Diskussion der Ergebnisse der Quarzsandprobe	152
5.3.2	Diskussion der Ergebnisse der parasitologischen Untersuchungen von Silage....	153
6	ZUSAMMENFASSUNG	156
7	SUMMARY	158
8	QUELLENVERZEICHNIS	160
9	ANHANG	195

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

- Abb. 1: Geographische Verteilung der untersuchten Grünflächen innerhalb des Landkreises Böblingen, S. 66
- Abb. 2: Standortbild: Siedlungsnah, an typischer Hundeausführstrecke (Quelle: privat), S. 67
- Abb. 3: Standortbild: Siedlungsfern, nicht an typischer Hundeausführstrecke (Quelle: privat), S. 68
- Abb. 4: Standortbild: Waldnah, an typischer Hundeausführstrecke (Quelle: privat), S. 68
- Abb. 5: Grafische Darstellung der Wetterdaten: TMM in °C, S. 71
- Abb. 6: Grafische Darstellung der Wetterdaten: SOS in h, S. 70
- Abb. 7: Grafische Darstellung der Wetterdaten: RSS in mm, S. 71
- Abb. 8: Fertig befüllte Einmachgläser (Quelle: privat), S. 76
- Abb. 9: Typischer Fuchsinglanz von *E. coli*-Kolonien auf ENDO-Agar (Quelle: privat), S. 87
- Abb. 10: Beispiel für Hemmhofbildung im Agar-Diffusionstest (Quelle: privat), S. 89
- Abb. 11: Bebrütete Mikrotiterplatte (Quelle: privat), S. 92
- Abb. 12: Grafische Darstellung der jeweiligen Gesamtanzahl aufgefundenener Hundekothaufen bei den Flächenuntersuchungen, S. 112
- Abb. 13: Grafische Darstellung der Kotbelastung auf 100 m² umgerechnet, S. 113
- Abb. 14: Verteilung des Hundekots in den einzelnen Bereichen der untersuchten Grünflächen, S. 114
- Abb. 15: Darstellung der Varianz der Standorte 1 bis 12 im Frühjahr, S. 116
- Abb. 16: Darstellung der Durchschnittskonzentrationen von *C. perfringens*, *E. faecalis*, *E. coli* und der Gesamtbakterienzahl der stichprobenartig gesammelten Hundekothaufen in den verschiedenen Jahreszeiten, S.118
- Abb. 17: Gegenüberstellung der Resistenzraten von Agar-Diffusionstest (HHD) und Mikrodilution (MHK) der untersuchten *E. coli*-Isolate, S. 121
- Abb. 18: Darstellung der Mittelwerte der Konzentrationsveränderungen von *Clostridium perfringens*, *Enterococcus faecalis* und *Salmonella* Senftenberg ohne Nullprobe, S. 124
- Abb. 19: Darstellung der Excystierungsrate der Oocysten von *C. parvum* während der Silierung, S. 126

- Tab. 1: Infektiosität von bei Hunden vorkommenden parasitären Dauerstadien, S. 15
- Tab. 2: Erläuterung der Wringprobe nach DLG-Sinnenprüfung, S. 32
- Tab. 3: Monatliche Wetterdaten für den Zeitraum der Flächenuntersuchungen, S. 69
- Tab. 4: Auflistung der Resonanz auf die Fragebögen, S. 102
- Tab. 5a: Anzahl der auf den untersuchten Grünflächen aufgefundenen Hundekothaufen im kalendarischen Frühjahr, S. 107
- Tab. 5b: Gewicht der auf den untersuchten Grünflächen aufgefundenen Hundekothaufen im kalendarischen Frühjahr, S. 107
- Tab. 6a: Anzahl der auf den untersuchten Grünflächen aufgefundenen Hundekothaufen im kalendarischen Sommer, S. 108
- Tab. 6b: Gewicht der auf den untersuchten Grünflächen aufgefundenen Hundekothaufen im kalendarischen Sommer, S. 108
- Tab. 7a: Anzahl der auf den untersuchten Grünflächen aufgefundenen Hundekothaufen im kalendarischen Herbst, S. 109
- Tab. 7b: Gewicht der auf den untersuchten Grünflächen aufgefundenen Hundekothaufen im kalendarischen Herbst, S. 109
- Tab. 8a: Anzahl der auf den untersuchten Grünflächen aufgefundenen Hundekothaufen im kalendarischen Winter, S. 110
- Tab. 8b: Gewicht der auf den untersuchten Grünflächen aufgefundenen Hundekothaufen im kalendarischen Winter, S. 110
- Tab. 9: Jahresdurchschnitt der aufgefundenen Hundekothaufen auf den Flächen, S. 111
- Tab. 10: Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen des stichprobenartig gesammelten Hundekots, S. 117
- Tab. 11: Konzentrationsveränderungen der untersuchten Bakterien in der artifiziell kontaminierten Silage, S. 123
- Tab. 12: Ergebnisse der Untersuchungen der Silage mit und ohne di-Natriumhydrogenphosphat, S. 125
- Tab. 13: Ergebnisse der Mikroskopischen Untersuchung mit der Mc Master Zählkammer und Ermittlung der Excystierungsrate für Oocysten von *C. parvum*, S. 127

Abkürzungsverzeichnis

µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
Abb.	Abbildung
AD	Azid-Glucose
AMP	Ampicillin
BPLS	Brillantgrün-Phenolrot-Lactose-Saccharose
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
ca.	Circa
CaCl ₂	Calciumchlorid
CEF	Cephalothin
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
DIN	Deutsches Institut für Normung
DNA	Deoxyribonucleicacid = Desoxyribonukleinsäure
ENR	Enrofloxacin
EU	Europäische Union
EUR	Euro
e. V.	eingetragener Verein
FTG	Fluid-Thioglykollat-Medium (FTG)
g	Gramm
h	Stunden
H ₂ S	Schwefelwasserstoff
KAA	Kanamycin-Äskulin-Azid
KBE	Kolonienbildende Einheit
m	Meter
m ²	Quadratmeter
MHK	minimale Hemmkonzentration
Mio.	Million
mg	Milligramm
MHB	Müller-Hinton-Bouillon
ml	Milliliter
mm	Millimeter

MPN	most probable number (wahrscheinlichste Keimzahl)
NaCl	Natriumchlorid
NaOH	Natriumhydroxyd
o.g.	oben genannt(e)
pH	Wasserstoffionenkonzentration
RKI	Robert Koch Institut
RSS	Summe Niederschlagshöhe
RVS	Rappaport Vassiliadis Medium
sec.	Sekunden
sog.	sogenannt(e)
SOS	Summe der Sonnenscheinstunden
spp.	Subspezies
SUL	Sulfamethoxazol
Tab.	Tabelle
TET	Tetracyclin
TMM	Temperaturmittelwert gemessen zwei Meter über dem Erdboden
TS	Trockensubstanzgehalt
TSB	Trypton-Soja-Bouillon
u. a.	unter anderem
UV	Ultraviolett
v. a.	vor allem
XLD	Xylose-Lysin-Desoxycholat
z. B.	zum Beispiel

1 EINLEITUNG

Seit mehr als 15.000 Jahren stehen Hunde dem Menschen treu zur Seite, sei es als Wächter, Helfer oder Freund. Heutzutage sind Hunde meist als festes Mitglied in die Familie integriert oder avancieren gar zum Partnerersatz (KITCHENHAM, 2006).

Wie weit diese Tierliebe geht, zeigt eine Umfrage des Marktforschungsinstituts TheConsumerView (TCV) in Bremen aus dem Jahre 2009, der zufolge 66,3 % der befragten Hundehalter lieber ihrem neuen Lebenspartner den Laufpass geben würden als ihrem Hund, falls beide sich nicht verstünden. In der Generation 50+ waren es sogar 74,2 % (TCV, 2009).

In Japan hat die Hundehaltung in den vergangenen Jahren einen wahren Boom erlebt. Mittlerweile kommen auf 100 Einwohner bereits 9,7 Hunde und in absehbarer Zeit werden in japanischen Haushalten mehr Hunde als Kinder unter 15 Jahren leben (STEFFEN, 2010).

Im vergleichsweise hundearmen Deutschland mit nur 6,6 Hunden pro 100 Einwohner werden durch die Hundehaltung jährlich rund 5 Milliarden EUR erwirtschaftet (OHR und ZEDDIES, 2006).

Eine Analyse des Industrieverbandes Heimtierbedarf (IVH) e.V. zeigt, dass die Deutschen für Hundefutter im Jahre 2009 über eine Milliarde Euro ausgegeben haben und für weitere Bedarfsartikel immerhin noch 150 Mio. EUR (IVH, 2010).

Durch die Hundesteuer konnten im Jahr 2009 allein in Baden-Württemberg über 31 Mio. EUR eingenommen werden. Allerdings dient lediglich ein kleiner Teil dieses Geldes der Entfernung von Hundekot, von dem täglich deutschlandweit rund 1.500 Tonnen anfallen (ANONYM, 2010a; OHR und ZEDDIES, 2006).

Der vor allem bei Rinderhaltern gefürchtete Parasit *Neospora caninum*, der über Hundekot übertragen wird und im Verdacht steht, Aborte bei Rindern auszulösen schuf die Grundlage dieser Arbeit. Untersuchungen belegen jedoch, dass die Gefahr eines *N. caninum*-bedingten Abortes sehr gering ist. Darüber hinaus hat sich die Arbeit mit dem Parasiten in der Vergangenheit als nicht unproblematisch erwiesen, so dass der Fokus in der vorliegenden Arbeit auf im Hundekot vorkommende bakterielle Erreger sowie den Parasiten *Cryptosporidium parvum* gelegt wurde (SCHARES et al., 2006).

Bereits unter ästhetischen Gesichtspunkten ein Ärgernis kann Hundekot zudem zahlreiche potenzielle Krankheitserreger enthalten, die sowohl für Artgenossen und andere Tiere als auch für den Menschen ein Risiko darstellen können (MEYER und ZENTEK, 2005).

In verschiedenen Untersuchungen wurde deshalb die Problematik Hundekot unter verschiedenen umwelthygienischen Gesichtspunkten betrachtet, die Antibiotika-Resistenzsituation von aus Hundekot stammenden Bakterien untersucht und Versuche zur Tenazität verschiedener Bakterien sowie dem Parasiten *Cryptosporidium parvum* während der Silagebereitung durchgeführt.

Die umwelthygienischen Untersuchungen beschränkten sich auf einen Landkreis mit zentraler Lage in Baden-Württemberg mit relativ ausgeglichenem Verhältnis zwischen städtischen und ländlichen Gebieten.

Begonnen wurde mit einer Abfrage zum Umgang mit der Thematik Hundekot in allen Kommunen des Landkreises.

Das Ausführ-, Abkot- und Fütterungsverhalten wurde mit Hilfe eines an Hundehalter gerichteten Fragebogens ermittelt.

Da momentan lediglich Schätzwerte zur Verschmutzung landwirtschaftlich genutzter Grünlandflächen mit Hundekot existieren, wurde in dieser Arbeit die tatsächliche Belastung einiger ausgewählter Flächen untersucht.

Im Rahmen dieser Flächenuntersuchungen wurde stichprobenartig Hundekot gesammelt und die Anwesenheit bzw. die Konzentrationen einiger Krankheitserreger bestimmt, die in Hundekot enthalten sein können.

Um einen Überblick über die Resistenzsituation von *Escherichia coli* bzw. Salmonellen aus Hundekot gegenüber einiger gängiger Antibiotika zu erhalten wurde Hundekot in Tierheimen im Raum Stuttgart gesammelt und die daraus gewonnenen Isolate mit Hilfe des Agar-Diffusionstests sowie des Mikrodilutionsverfahrens untersucht.

In einem weiteren Versuch wurde Silage im Labormaßstab artifiziell mit typischen, im Hundekot vorkommenden Bakterien sowie dem Parasiten *Cryptosporidium parvum* kontaminiert. Der Einfluss der während der Silierung ablaufenden Prozesse wurde anhand der Tenazität der verwendeten Mikroorganismen über definierte Zeiträume beobachtet.

2 LITERATUR

2.1 Der Hund

Die Evolution des Hundes reicht etwa 50 Millionen Jahre zurück, als die mardergroßen Miaciden, die Vorfahren der heutigen Haushunde, entstanden sind. Die Geschichte der Caniden (Hundeartigen), zu denen neben Hunden auch Füchse, Schakale, Kojoten und Wölfe gehören, lässt sich 30 Millionen Jahre zurückverfolgen. Die ersten Tiere stammten aus Nordamerika, von wo aus sie sich nach Europa, Asien und Afrika hin ausbreiteten.

In Mitteleuropa entstanden die Vorfahren der heute bekannten Caniden vor etwa zwei Millionen Jahren. Mittlerweile zählt die Familie der Caniden zehn Gattungen, die mit rund 40 Arten weltweit verbreitet sind (ROBBIN, 1982; BLOCH, 2004; ZIMEN, 1992).

Vor 100.000 Jahren begann die Selbstdomestikation der Hunde durch Wölfe, die sich, von Essensresten angelockt, menschlichen Siedlungen näherten. Das Zusammenleben brachte auf beiden Seiten Vorteile mit sich: Der Mensch bot dem Hund Futter und Schutz vor der Witterung und der Hund revanchierte sich mit seinen feinen Sinnesorganen, die bei der Jagd oder zum Schutz vor Feinden von Vorteil waren (SCHÖNING, 2008).

Die feinen Sinne der Hunde werden auch heute noch genutzt und ermöglichen den Einsatz als Wach-, Schutz- und Rettungshunde, Blinden- und Therapiehunde, Such- und Spürhunde, Hütehunde, Schlittenhunde und Jagdhunde. Trotz intensiven Forschungen ist es bislang noch nicht gelungen, technische Methoden zu entwickeln, die ebenso effizient arbeiten wie der Hund, so dass er nach wie vor unverzichtbarer Bestandteil unserer Gesellschaft bleibt. Die meisten gemeldeten Hunde haben aber ihren festen Platz als Familienmitglieder (HESSE, 2009).

2.2 Problematik Hundekot

Alle Futterbestandteile, die nicht durch körpereigene oder mikrobielle Prozesse abbaubar sind, werden als Kot über den Enddarm an die Umwelt abgegeben. Der Kot beinhaltet darüber hinaus Sekrete aus den Verdauungsdrüsen, Epithelzellen und Schleim sowie aufgenommene Partikel wie z.B. Haare, die nicht verdaut werden konnten.

Die Häufigkeit und Menge des abgesetzten Kots variiert von Hund zu Hund, da verschiedene Faktoren wie Größe und Rasse des Hundes, Fütterung, Haltungsbedingungen und auch anerzogene Gewohnheiten einwirken.

Futtermischungen, die auf hochverdaulichen Bestandteilen wie Fleisch basieren, führen zu einem selteneren Absetzen von Kot als dies bei einer faserreichen Ernährung der Fall wäre.

Im Normalfall wird etwa ein bis zwei Mal pro Tag Kot abgesetzt.

Die Farbe des Kots wird maßgeblich von der Futterzusammensetzung beeinflusst. Eine ausgewogene Fütterung führt zu dunkelbraunem Kot, während eine vermehrte Fütterung von Knochen oder Milchprodukten den Kot gelblich färbt. Gemüse lässt den Kot dagegen grün, manche Gemüsesorten wie Karotten oder Rote Beete ihn auch rot erscheinen.

Der Geruch des Kots hängt mit der Futterart und der Darmpassagezeit sowie dem Wassergehalt, der üblicherweise zwischen 55 und 75 % liegt, zusammen. Längere Verweildauern im Darm und ein erhöhter Wassergehalt sorgen für zunehmend intensiv, faulig riechenden Kot (MEYER und ZENTEK, 2005).

Als Mitglied der Familie der Carnivoren hat der Hund sehr viel leistungsstärkere Verdauungsenzyme als der Mensch, ist aber nicht in der Lage pflanzliche Nahrung zu verwerten. Aus diesem Grund müssen Obst und Gemüse für Hunde künstlich „vorverdaut“ werden, entweder durch Kochen oder durch vitaminschonenderes Pürieren (BÖHM, 2006).

Der Verdauungstrakt ist von verschiedenen Bakterien bevölkert, die zur Normalflora gehören und die Verdauung z.B. durch enzymatischen Stoffabbau unterstützen. Die Anzahl dieser Bakterien nimmt von 10^5 im Magen bis 10^9 koloniebildenden Einheiten pro Gramm (KBE/g) im Dickdarm kontinuierlich zu und beträgt im Kot über 10^{12} KBE/g. Kommt diese Bakterienflora z.B. durch eine radikale Futterumstellung aus dem Gleichgewicht, ist der Weg für Infektionen geebnet, die sich schlimmstenfalls klinisch manifestieren können (SUTTROP et al., 2004; MEYER und ZENTEK, 2005).

Der pH-Wert innerhalb des Verdauungstrakts schwankt bei Hunden stark. So weist die Magensäure zwischen den Mahlzeiten Werte um sechs auf, während sie, abhängig von Futtermenge und -zusammensetzung, bei den Mahlzeiten rasch absinken kann. Tiefstwerte von zwei bis drei werden meist erst einige Stunden nach der Futteraufnahme erreicht. Im weiteren Verlauf des Verdauungssystems liegt der pH-Wert bei sechs bis sieben, was auch dem Wert des ausgeschiedenen Kots entspricht. Da die Magensäure bei Hunden viel stärker konzentriert ist als bei anderen Wirbeltieren, sind sie in der Lage, Nahrung zu verwerten, die für andere Wirbeltiere schädlich wäre, wie z.B. angegangenes Fleisch. Aus diesem Grund kommen bei erwachsenen Hunden rein bakteriell bedingte Verdauungsstörungen relativ selten vor. Selbst bei Salmonellen bedarf es zur Auslösung einer klinisch manifestierten Enteritis einer Mindestinfektionsdosis von 10^6 , gepaart mit zusätzlichen ernährungs- oder gesundheitsbedingten Faktoren. Infektionen mit *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni* oder *Clostridium difficile* werden noch seltener diagnostiziert. *Clostridium perfringens* gehört zur Normalflora des Hundedarms, vereinzelt kann es aber bei der Aufnahme von enterotoxinbildenden Clostridien-Stämmen zu Durchfällen oder Erbrechen kommen.

Viral bedingte Verdauungsstörungen zeigen in der Regel ausgeprägtere Symptome als bakteriellen Infektionen und kommen hauptsächlich bei jungen Hunden vor. Verursacher sind oft Parvo-, Corona- oder Rotaviren.

Dank verbreiteter Prophylaxe kommen parasitär bedingte Verdauungsstörungen, meist ausgelöst durch Giardien, Kokzidien, Spul-, Haken- und Peitschenwürmer, nur noch selten vor (MEYER und ZENTEK, 2005; ROBBIN, 1982).

Der Trend bei der Hundeernährung geht vermehrt zum sog. Barfen (Bone and Raw Food oder Biologisch Artgerechtes Rohes Futter), also der Fütterung ausschließlich roher Produkte. Die Palette erstreckt sich dabei von Fleisch, Fett, Innereien und Knochen verschiedener Tiere über Milchprodukte, Eier bis hin zu Obst und Gemüse. Im Gegensatz zu anderen Karnivoren ist eine solche Fütterung beim Hund möglich, da er auf Grund seines anpassungsfähigen Verdauungstraktes nicht auf eine rein tierische Ernährung angewiesen ist. Der genaue Anteil der „gebarften“ Hunde lässt sich allerdings nur schwer erfassen, da die Fütterungsform sehr unterschiedlich ausgelegt werden kann (ZORN und STEELE, 2008; MEYER und ZENTEK, 2005).

Da mittlerweile jeder vierte Hund von Allergien betroffen ist, wechseln viele der betroffenen Hundehalter zur Rohfütterung, um ihrem Tier zu helfen. Neben dem Rückgang von Allergien scheinen die meisten Hunde nach der Futterumstellung zudem widerstandsfähiger gegen

Krankheiten zu sein. Ein weiterer positiver Effekt ist die geringere Kotmenge pro Absatz (rund 2/3 weniger als bei der üblichen Trocken- bzw. Dosenfütterung), da bei der Rohfütterung mehr Futterbestandteile verdaut werden können (BIBER, 2006).

Eine hohe Qualität des verfütterten Fleisches ist beim Barfen auf Grund der möglichen Kontamination mit verschiedenen Krankheitserregern, die durch Erhitzen abgetötet werden würden, unumgänglich. Durch die steigende Nachfrage wird zunehmend vermeintlich einwandfreies Fleisch aus den Ostblockstaaten importiert. Dort sind Krankheiten wie die Aujeszki-Krankheit noch nicht ausgerottet und auch der Fleischbeschau unterliegt nicht dem Standard wie hierzulande (ZORN und STEELE, 2008). In einschlägiger Fachliteratur wird deshalb häufig von der Verfütterung jeglicher vom Schwein stammender Produkte, auch in gekochter Form, abgeraten (BÖHM, 2006; SCHÄFER und MESSIKA, 2005). Andererseits gibt es auch Fachbuchautoren, die sogar die Verfütterung von Rinderföten und Rindernachgeburten, Hochrisikomaterial im Hinblick auf *Neospora caninum*, anraten (BIBER, 2006). Bei der Verfütterung roher Eier oder Geflügelfleisch muss die Möglichkeit einer Salmonelleninfektion bedacht werden (MEYER und ZENTEK, 2005).

Verschmutzungen durch Hundekot führen immer wieder zu Auseinandersetzungen zwischen Hundehaltern und Landwirten. In den vergangenen Jahren wurden diese meist hitzigen Diskussionen durch den Parasiten *Neospora caninum* entfacht, der bei Rindern zu Aborten führen kann. Dass diese Gefahr aber als relativ gering einzustufen ist, zeigt eine Risikobewertung des Friedrich-Löffler-Instituts (SCHARES et al., 2006).

Andere Bakterien und Parasiten, die im Hundekot zu finden sind, haben ein weitaus größeres Infektionspotenzial:

Bei einer parasitologischen Untersuchung von 1.281 Hundekotproben wurde *Giardia* sp. und *Isospora* sp. in 2,3 %, *Toxocara canis* in 2,2 %, Ancylostomatidae (Hakenwürmer) in 1,4 %, Taeniidae (Bandwürmer) in 0,8 %, Crenosoma-Larven (Lungenwürmer) in 0,6 % und *Capillaria* sp., *Trichuris vulpis* und Hammondia-ähnliche Oocysten in 0,2 % aller Proben gefunden (EPE et al., 2004).

In anderen Arbeiten konnten erhöhte Konzentrationen verschiedener parasitärer Dauerstadien in Boden- und Sandproben von Parkanlagen, Kinderspielplätzen und Hundeflächen nachgewiesen werden, darunter häufig Oocysten des Hundespulwurms *Toxocara canis*, die auch für den Menschen als Fehlwirt infektiös sind (BAUER, 2006a).

Einige bei Hunden vorkommende Parasiten, die auch andere Tiere und den Menschen infizieren können, sind in Tabelle 1 aufgelistet.

Tab. 1: Infektiosität von bei Hunden vorkommenden parasitären Dauerstadien
(nach BAUER, 2006a)

Parasit	Infektiöses Stadium	Infektiosität für Tiere	Infektiosität für Menschen
<i>Giardia</i>	Zyste	v.a. Artgenossen	wahrscheinlich
<i>Cryptosporidium</i>	Oocyste	v.a. Artgenossen	ja
<i>Neospora caninum</i>	Oocyste	Rind	nein
<i>Sarcocystis</i> spp.	Sporocyste	Wiederkäuer, Schwein, Pferd	ja
<i>Taenia</i> spp.	Ei	artabhängig: Schaf, Ziege Schwein, Kaninchen	nein
<i>Echinococcus granulosus</i>	Ei	Wiederkäuer, Schwein, Pferd, u.a.	ja, häufiger in der Mittelmeerregion
<i>Echinococcus multilocularis</i>	Ei	häufig Zwischenwirte wie Mäuse, seltener Schwein, Hund u.a.	ja, aber selten, schwere Erkrankung mit hoher Letalität
<i>Uncinaria</i>	Larve	Artgenossen	ja, aber selten
<i>Toxocara canis</i>	Ei	viele Säugetierarten	ja, häufig ohne Erkrankung
<i>Trichuris vulpis</i>	Ei	Artgenossen	nein

Als Reaktion auf zum Teil stark mit Hundekot verschmutzte Wiesen haben die Bauernverbände der Länder Hinweistafeln an Äckern und Wiesen aufgestellt, um Hundehalter die Problematik nahe zu bringen (LBV-BW, 2005).

Laut § 51 des baden-württembergischen Naturschutzgesetzes ist das Betreten landwirtschaftlich genutzter Flächen während der Nutzzeit, also der Zeit zwischen Saat bzw. Bestellung und Ernte, bei Grünland der Zeit des Aufwuchses und der Beweidung, ohnehin nur auf Wegen gestattet. Zuwiderhandlungen können mit Geldstrafen bis zu 15.000 EUR geahndet werden (NatSchG, 1995).

Anders als von vielen Hundebesitzern angenommen, wird die Hundesteuer nicht zur Beseitigung des Hundekots verwendet. Lediglich ein kleiner Teil fließt in die Reinigung der Innenstädte, da der Halter selbst verpflichtet ist, den Kot seines Hundes zu entfernen.

Die Anschaffung der von Städten und Gemeinden bereitgestellten Hundekotbeuteln dagegen wird durch die Hundesteuer mitfinanziert.

Die im Jahr 1810 als Steuer für Luxusgüter eingeführte Hundesteuer dient heutzutage neben der Erzielung staatlicher Einnahmen (247,5 Millionen EUR im Jahr 2009) auch dazu, die Anzahl der Hunde im Land zu begrenzen.

Jede Kommune legt die Hundesteuer individuell fest, was zu teils erheblichen Schwankungen führt. Die Kommunen sind jedoch zu keiner Gegenleistung wie etwa der Schaffung von Hundeauslaufzonen in Parks oder Ähnlichem verpflichtet (OHR und ZEDDIES, 2006; KITCHENHAM, 2006).

Viele Städte und Gemeinden haben aber mittlerweile Hundekotentsorgungsstationen aufgestellt, an denen kostenlos Beutel entnommen und die Hinterlassenschaft auch gleich entsorgt werden kann. Immer häufiger finden sich vor allem in größeren Städten innerorts oder in Ortsrandlage spezielle Hundeanlagen, die regelmäßig von der Stadtreinigung gesäubert werden (OHR und ZEDDIES, 2006).

In Berlin, wo die Hundekotproblematik besonders groß ist, hat die Organisation „Stadt und Hund“ (www.stadtundhund.de) in vielen Stadtteilen Maßnahmen zur Eindämmung ergriffen. Neben den zuständigen Ämtern wird die Bevölkerung mit einbezogen, sei es als Initiatoren, Geldgeber oder als freiwillige Tütenspenderpaten.

Nach einer umfassenden Aufklärungskampagne mit Diskussionsrunden wurden Tütenspender aufgestellt, deren Erfolg durch regelmäßiges Erfassen aller Hundekothaufen („Kotkartierung“) auf einzelnen Gehwegabschnitten gemessen werden kann.

Eine weitere Dienstleistung von der Organisation „Stadt und Hund“ ist die quartalsweise Zusendung von Hundekotbeuteln (KROCKAUER, 2009; WÜLLNER und KROCKAUER, 2009; KITCHENHAM, 2006).

Bei der Beseitigung der Kothaufen wird die Berliner Stadtreinigung (BSR) von einem privaten Unternehmen unterstützt, das täglich mit „Hundekotmobilen“ die Schwerpunktbereiche säubert. Um die jährlich anfallenden 912 Tonnen Hundekot entfernen zu lassen, entstehen der BSR Kosten in Höhe von rund 900.000 EUR (HOFF, 2008).

Beim Thema Hundekot scheint die Kreativität der betroffenen Städte und Gemeinden weltweit kaum Grenzen zu kennen, wobei die in Paris oder London fälligen Geldstrafen (183 bzw. bis zu 1.450 EUR) dabei noch die gewöhnlichsten Methoden sind, um dem Kot Herr zu werden.

So bestücken im Stadtgebiet Stuttgart seit kurzem freiwillige Paten „ihre“ Hundetoilette mit von der Stadt bereit gestellten Tüten (HASENMAYER, 2007).

In Dresden als auch in der bayerischen Gemeinde Volkach war die Verwendung von DNA-Tests zur Ermittlung von „Kotsündern“ im Gespräch. Beide Vorhaben scheiterten allerdings an der fehlenden Rechtsgrundlage (BILD, 2006a; BILD, 2009).

Ebenfalls nicht durchsetzen konnte sich das von der Stadt Frankfurt a.M. getestete „Dog Poo Spray“, das Hundekothaufen vereisen und so die Entsorgung erleichtern sollte (BILD, 2006b).

Tel Aviv setzte auf die Belohnungstaktik: Im Rahmen einer Kampagne erhielten Hundebesitzer, die beim Entfernen eines Hundehaufens beobachtet wurden, einen Sack Hundefutter geschenkt.

Im französischen Lyon wurden bunte Plastikkothaufen ausgesetzt, welche die Hundehalter für die Verschmutzungsproblematik sensibilisieren sollten.

Die belgische Stadt Lüttich setzte Hundekotsauger ein, die allerdings wieder aus dem Verkehr gezogen wurden, nachdem einer von ihnen einen Großbrand mit Millionenschaden verursachte.

Im tierlieben San Francisco - rund 240.000 Hunde und Katzen werden dort als Heimtiere gehalten - laufen bereits Pilotversuche mit Anlagen zur Biogasgewinnung aus Hundekot.

Die wohl effektivste Methode im Umgang mit der Hundekotproblematik haben aber wohl die Isländer entwickelt, indem sie die Hundehaltung in ihrer Hauptstadt Reykjavik nach einem Echinokokkose-Ausbruch im Jahre 1924 komplett verboten haben. Seit Mitte der 80er Jahre kann für viel Geld zwar eine Hundehaltungsgenehmigung erworben werden, die Innenstadt von Reykjavik ist aber nach wie vor hundefreie Zone (ANONYM, 2009a).

2.3 Landwirtschaftlich genutzte Grünlandflächen

Die in gemäßigten Breiten bekannte Form des Grünlands ist nicht unter natürlichen Bedingungen entstanden, sondern durch Rodungen und Abbrennen im Zuge der Besiedelung. Somit nimmt Grünland, das ständig gepflegt werden muss, um eine Verbuschung zu vermeiden, eine Mittelstellung zwischen Wald und Ackerland ein. Grünland zeichnet sich im Gegensatz zur Monokultur bei Ackeranbau durch die Vielzahl verschiedener Pflanzenarten aus. Neben den Ober- und Untergräsern sind verschiedene Futterkräuter wie Löwenzahn oder Spitzwegerich und stickstoffbindende Leguminosen, aber auch giftige Pflanzen wie die Herbstzeitlose zu finden. Manche Pflanzen sind sehr eng mit den

vorherrschenden Bedingungen ihres Aufwuchsortes wie Bodenbeschaffenheit oder Nährstoffangebot verbunden und werden deshalb als Zeigerpflanzen bezeichnet. Mit Hilfe solcher Zeigerpflanzen ist es möglich, Rückschlüsse auf die Gegebenheiten der Grünfläche zu ziehen und so eine möglichst standortgerechte Bewirtschaftung zu gewährleisten.

Grünland kann anhand der Pflanzenzusammensetzung mittels Punktesystem bewertet werden (RIEDER, 1983; DIEPENBROCK et al., 2009; HEYLAND, 1996).

Die genaue Definition einer Grünlandfläche erfolgt anhand des Standorts und der Nutzungsart:

Zum absoluten Grünland zählen Flächen, die eine andere Form der Bewirtschaftung auf Grund ihrer Lage (Hanglage, Höhenlage, Überschwemmungsgebiet) nicht zulassen. Solche Flächen sind in Deutschland in maritimen Gegenden, in höheren Lagen, den Mittelgebirgen sowie den Alpen und dem Alpenvorland zu finden. Künstliche Bewässerung wird in trockeneren Gebieten notwendig, da zur Produktion von einem Kilogramm Trockenmasse etwa 500 bis 600 Kilogramm Wasser verbraucht wird (RIEDER, 1983; VOIGTLÄNDER und JACOB, 1987).

Als fakultatives Grünland werden Flächen bezeichnet, die zwar anderweitig nutzbar wären, es aber aus ökonomischen Gründen sinnvoller erscheint, sie als Grünland zu verwenden.

Im Wechselgrünland alternieren mehrjährige Grünlandnutzung und ein- bis zweijährige Ackerbaunutzung. Obwohl auf diese Weise die von den Wiesen zurückgebliebenen Wurzeln den Ackerboden mit Nährstoffen anreichern, so den Bodenzustand verbessern und typische Weideunkräuter eliminiert werden, verliert diese Bewirtschaftungsform zunehmend an Bedeutung (VOIGTLÄNDER und JACOB, 1987).

Anhand ihrer Nutzung werden Wiesen in Futter- und Streuwiesen sowie Weiden mit oder ohne Doppelnutzung (reine Beweidung oder Beweidung mit Mahd) eingeteilt.

Futterwiesen werden nahezu ausschließlich zur Heu- und Silagegewinnung genutzt, während Streuwiesen in der Regel erst sehr spät gemäht werden, um Einstreu zu produzieren (DIEPENBROCK et al., 2009).

Die Mähweidenwirtschaft wurde ursprünglich eingeführt, um die Erträge und die Futterqualität zu verbessern. Auch die Futteraufnahme des folgenden Aufwuchses ist nach der Mahd besser als nach einer Beweidungsphase.

Weitere Formen des Grünlandes sind Almen und Hutungen, die aber kaum noch Verwendung finden (OPITZ V. BOBERFELD, 1994; RIEDER, 1983; VOIGTLÄNDER und JACOB, 1987).

Die hierzulande vorherrschenden feucht-gemäßigten Breiten machen dank der überwiegend guten Eigenschaften der Böden, der regelmäßigen Wasserversorgung und den relativ langen Vegetationsperioden eine hohe landwirtschaftliche Nutzung möglich. Um möglichst hohe Erträge zu erzielen, werden die Flächen oft intensiv mit Hilfe hochtechnisierter Geräte bewirtschaftet. In Deutschland wird rund die Hälfte der Gesamtfläche landwirtschaftlich bearbeitet, weitere 30 % dienen der Forstwirtschaft (MARTIN und SAUERBORN, 2006).

Ein sachgerechtes Bewirtschaften von Grünlandflächen soll in erster Linie der Erhaltung einer geschlossenen und trittfesten Grasnarbe dienen, um hohe Erträge von einwandfreier Qualität zu ermöglichen (DIEPENBROCK et al., 2009).

Methoden der Grünlandbearbeitung sind unter anderem das häufig narbenschädigende Eggen, das Einebnen der Wiesen durch Walzen, das Verteilen der Fladen und als wirkungsvollste Maßnahme die Nachmahd direkt nach dem Weideabtrieb. Durch eine Nachmahd wird der Energie- und Nährstoffgehalt der folgenden Aufwüchse verbessert und der Anteil der Geilstellen (Kotstellen, die bei der Futteraufnahme gemieden werden) verringert.

Neben der landwirtschaftlichen Nutzung spielen Grünflächen zunehmend eine Rolle zu Naherholungszwecken (RIEDER, 1983).

2.4 Einfluss der Umwelt auf Bakterien und Parasiten

Einige Bakterien und Parasiten sind in der Lage, sehr widerstandsfähige Dauerstadien zu bilden. Diese überstehen selbst gründliche Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen und können in der Umwelt auch unter schwierigen Bedingungen lange infektiös bleiben (BAUER, 2006a). Clostridien z.B. bilden als eine der wenigen Bakterien Sporen aus, die im Boden über Jahrzehnte hinweg überlebensfähig sind (SAHL, 2001).

Auch Salmonellen überstehen längere Zeiträume unbeschadet und können sich im Temperaturbereich von vier bis 45 °C in nahezu allen Medien der Umwelt wie Abwasser, Schlamm, Staub oder Erde vermehren (KIEHL, 2004).

Viele Parasiten, so auch *Neospora caninum*, erlangen ihre Infektiosität erst in der Umwelt. Bis zur oralen Aufnahme durch einen Zwischenwirt sind ihre Oocysten dank verschiedener Hüllproteine, Lipide und anderer Substanzen vor Hitze oder Trockenheit geschützt. So können manche *Eimeria*-Arten, deren Oocysten denen von *Neospora caninum* ähneln, in getrocknetem Heu bis zu acht Monate lang infektiös bleiben. Auch die parasitären

Dauerstadien verschiedener Nematoden halten sich bis zu fünf Monate in getrocknetem Heu (BAUER, 2006a).

Die Literatur empfiehlt deshalb das Einsilieren von potenziell larvenhaltigem Gras, da bei der Gärung innerhalb von drei Wochen die meisten parasitären Dauerstadien abgetötet werden (VOIGTLÄNDER und JACOB, 1987). Bandwurmeier dagegen müssen mindestens drei Monate in der Silage gelagert werden, damit sie unschädlich sind. Eine Ausnahme stellen die Eier von *Ascaris suum* dar, die sich nach 78 Tagen noch weiter entwickeln können (GROSS und RIEBE, 1974).

Eine gründliche Reinigung und Desinfektion ist vor allem bei Flächen wie Weiden und Ausläufen ein Problem, obwohl gerade hier der Infektionsdruck besonders hoch ist (BAUER, 2006a).

Parasitäre oder bakterielle Dauerstadien werden meist mit Hitze (60-100 °C) bekämpft.

Für Ausläufe und Weiden ist die Bodendämpfung eine Möglichkeit, die unter günstigen Bedingungen bis in 15 cm Tiefe wirksam ist (WASIAK et al., 2004).

Kälte schadet den meisten Organismen erst ab Temperaturen, die in unseren Breiten unter natürlichen Bedingungen nicht erreicht werden können.

In Ausläufen hat sich das regelmäßige Abtragen und Erneuern der oberen Bodenschichten als recht effektiv erwiesen. Diese Methode ist auf Weiden allerdings nicht anwendbar (BAUER, 2006a).

Eine Reinigung und Desinfektion mit chemischen Stoffen oder die Bestrahlung sind durch unvorhersehbare Auswirkungen auf das Erdreich und die darin lebenden Organismen sowie der schwierigen Dosierung durch abpuffernde Faktoren im Boden kaum praktikabel. (SOMMER et al., 1991). Eine Ausnahme stellt der Einsatz von Löschkalk dar, der bei ausreichender Bakterien- und Parasitenreduzierung trotzdem umweltfreundlich und grasschonend ist (WASIAK et al., 2004).

Der Eintrag von Krankheitserregern auf Weideflächen erfolgt oft bei der Düngung mit Klärschlamm, Fest- und Flüssigmist oder direkt durch die Erregerausscheidung infizierter Tiere. Betrieben mit hohem Tierbesatz kommt dabei eine wichtigere Bedeutung zu, da dort durch den großen Infektionsdruck die Übertragungs- und Ausbreitungsgefahr erhöht ist.

Durch Parameter wie Nutzungsart, Fütterung und Alter kann die tägliche Kot- und Harnmenge sogar innerhalb einer Tierart erheblich schwanken. So wird bei Milchkühen mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von etwa 550 kg mit täglich etwa 50 kg Kot und Harn gerechnet, während bei einem Rind von 150-450 kg Körpergewicht lediglich 20 kg zu

erwarten sind. Ebenso produzieren Muttersauen mit etwa 135 kg Körpergewicht täglich etwa 10,5 kg Kot und Harn, Mastschweine mit 40-90 kg nur rund 4,1 kg.

Das macht auf das gesamte Jahr betrachtet bei Milchkühen über 18 t Kot und Harn, bei Rindern immer noch knapp 7,5 t, bei Muttersauen über 3,5 t und bei Mastschweinen rund 1,5 t.

Bei Rindern wird bei einem täglichen Absatz von durchschnittlich neun Mal Urin und zwölf Mal Kot mit einer Exkrementenabsatzfläche von knapp 0,5 m² für Urin und von 0,05 m² für Kot gerechnet. Die Zersetzung eines Fladens, die meist von Regenwürmern und anderen bodenbewohnenden Tieren durchgeführt wird, dauert normalerweise zwei bis drei Monate, bei entsprechender Witterung auch kürzer (VETTER und STEFFENS, 1986).

Festmist wird vor der Ausbringung in der Regel eine gewisse Zeit abgelagert, wobei Temperaturen zwischen 60 und 70 °C entstehen, die die meisten Krankheitserreger abtöten. Die Entseuchung des Festmists mittels Düngerpackung hat sich in Untersuchungen als effektiv erwiesen (SCHWARTZ, 1990).

Flüssigmist wird dagegen anaerob eingelagert. Die Temperaturerhöhung dabei ist aber zu gering, um eine vollständige Keimabtötung zu erreichen. Untersuchungen haben gezeigt, dass sich Salmonellen bei 8 °C in Rindergülle bis zu 345 Tage halten können, bei 17 °C immerhin noch 188 Tage. Aus diesem Grund gibt es diverse Empfehlungen zum Umgang mit Gülle, wie etwa der ausreichenden Lagerdauer von mindestens einem Monat, der Weidesperrung für eine bestimmte Zeit nach der Ausbringung oder der Ausbringung möglichst nur auf Ackerland.

Bei der Gülleausbringung werden Grünlandpflanzen in der Regel stärker verschmutzt als Ackerkulturen. Das liegt vor allem daran, dass die Grünlandpflanzen den kompletten Boden bedecken und so nur ein kleiner Teil der Gülle direkt in den Boden geht.

Neben der Gefahr der Kontamination mit Krankheitserregern hat die Futterverschmutzung noch weitere Nachteile, wie verminderte Futteraufnahme, verschlechterte Nährstoffwirkung an der Pflanze oder schlechteres Silierverhalten. Außerdem kann eine starke Gülledüngung die Verunkrautung fördern (VETTER und STEFFENS, 1986).

Bei weidebedingten Erkrankungen spielen vor allem parasitäre Infektionen wie Magen-Darm-Rundwürmer, Lungenwürmer, Bandwürmer oder der Leberegel eine bedeutende Rolle. Betroffen sind meist Rinder, hier vor allem Kälber, aber auch Pferde, Schafe, Schweine und Gänse. Parasitäre Infektionen mit o.g. Arten lassen sich gut mit regelmäßigen Weidewechseln in Verbindung mit Wurmkuren vermeiden. Das ist vor allem bei der

Kälberhaltung wichtig, da Kälber bei einer Infektion extrem viele Eier ausscheiden und über das Immunsystem noch nicht ausreichend geschützt sind. Eine gute Möglichkeit ist eine Wechselbeweidung durch Wiederkäuer und Pferde, da die Würmer der Wiederkäuer die Magen-Darm-Passage beim Pferd nicht überleben und umgekehrt die pferdespezifischen Würmer im Verdauungstrakt von Wiederkäuern absterben.

Bakteriell bedingte Weideerkrankungen wie Milz- oder Rauschbrand treten durch konsequente Bekämpfung kaum noch auf (VOIGTLÄNDER und JACOB, 1987; SOMMER et al., 1991)

2.5 Antibiotika-resistente Mikroorganismen

Rund 40 % der in Deutschland in der Humanmedizin verschriebenen Antibiotika werden zu Unrecht eingesetzt, wodurch es bei den zu bekämpfenden Mikroorganismen zu Resistenzbildungen gegenüber den Wirkstoffen kommen kann (ANONYM, 2009b).

Es wird unterschieden in natürliche und erworbene Resistenzen. Von natürlicher Resistenz wird beim Einsatz von Antibiotika mit geringem Wirkungsspektrum gesprochen. Dabei werden alle außerhalb des Wirkungskreises liegenden Bakterienspezies als resistent betrachtet. Erworbene Resistenzen sind solche, die nicht natürlicherweise in Bakterienpopulationen vorkommen. Sie entstehen durch Mutationen im Chromosom oder der Aufnahme zusätzlicher genetischer Informationen durch die auf Plasmiden lokalisierten Resistenzgene.

Eine Ausbildung dieser Resistenzen erfolgt durch Veränderungen des Wirkungsortes bzw. durch Bildung eines strukturell veränderten Bindemoleküls, durch Maßnahmen, die eine Aufnahme des Wirkstoffs in die Bakterienzelle verhindern, durch aktiven Transport des Wirkstoffs aus der Bakterienzelle mittels spezifischer Transporter oder durch enzymatische Detoxikation, wodurch die Bindung des Antibiotikums am Wirkungsort verhindert wird.

Durch zunehmende Resistenzausbildung wird immer häufiger der Einsatz von Reservemedikamenten nötig, also solcher Antibiotika, gegen die bislang noch keine Resistenzen vorliegen.

Durch steigenden Selektionsdruck bei den zu bekämpfenden Mikroorganismen kommt es jedoch unweigerlich zur Ausbildung neuer Resistenzen gegen diese Reserveantibiotika (Beispiel: Vancomycin-resistente Enterokokken), so dass die Behandlung der Infektion zunehmend erschwert wird (SUTTROP et al., 2004).

Schon im Jahr 2001 war jedes dritte in Deutschland verschriebene Antibiotikum ein Reservemedikament, im Jahre 2009 lag der Anteil mit 46,5 % bei bereits knapp der Hälfte (GÜNTHER et al., 2003; SCHRÖDER, 2010).

Resistente Krankheitserreger sind oft Auslöser einer nosokomialen Infektion, die von § 2 des Infektionsschutzgesetzes definiert wird als „eine Infektion mit lokalen oder systemischen Infektionszeichen als Reaktion auf das Vorhandensein von Erregern oder ihrer Toxine, die im zeitlichen Zusammenhang mit einer stationären oder einer ambulanten medizinischen Maßnahme steht, soweit die Infektion nicht bereits vorher bestand“ (IfSG, 2000).

Nosokomiale Infektionen werden ausgelöst durch kontaminierte medizinische Instrumente oder angewandte Medikamente wie Infusions- oder Inhalationslösungen, Pflegepersonal, infizierte Mitpatienten oder auch durch in Großküchen zubereitete Lebensmittel.

Als problematisch erweist sich die hohe Widerstandsfähigkeit der Erreger gegenüber Trockenheit und Wärme, wodurch sie auf unbelebten Gegenständen monatelang infektiös bleiben können.

Bakterielle Erreger nosokomialer Infektionen können Vertreter der Normalflora von Haut, Nasen-Rachen-Raum, Genital- und Perianalbereich oder des Darms sein. Oft lassen sich *S. aureus*, Enterokokken und *E. coli* als Verursacher ausmachen.

Die wichtigsten Infektionswege stellen der direkte Kontakt mit infektiösem Blut, infizierte Mitpatienten und deren Sekrete sowie die Übertragung durch Aerosole und Tröpfcheninfektion bei „Face-to-Face“-Kontakt dar. In die Umwelt gelangen resistente Keime unter anderem mit den Fäkalien von Menschen und Tieren und werden durch Abwasser, Klärschlamm und Gülle großflächig verbreitet.

So vielfältig wie die Erreger selbst sind die Krankheitsbilder: Häufig kommt es zu pneumatischen Störungen, Harnwegsinfekten, postoperativen Wundinfektionen oder Sepsiskämien.

Detaillierte Hygienepläne sollen helfen, nosokomiale Infektionen zu vermeiden und einzudämmen. Sie umfassen unter anderem Personalschulungen, die Isolation infizierter Patienten bzw. Patienten mit unbekanntem Gesundheitsstatus, die Patientenbehandlung, die Kontaminationsvermeidung sowie besondere Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen (SUTTROP et al., 2004; STROH, 2002; RKI, 1999).

Schätzungen zufolge kann in Deutschland jährlich von rund einer halben Million nosokomialer Infektionen ausgegangen werden. Etwa die Hälfte davon ist auf postoperative Wundinfektionen zurückzuführen. Die Deutsche Gesellschaft für Krankenhaushygiene schätzt die Anzahl der daraus resultierenden Todesfälle im Jahre 2006 auf rund 40.000 (GASTMEIER und GEFFERS, 2008).

Als klassischer Erreger nosokomialer Infektionen gilt der Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA). Gefährdet sind vor allem Personen mit geschwächtem Immunsystem, denn bei rund 30 % der Bevölkerung ist MRSA ständig auf der Haut und in der Nase nachweisbar, ohne eine Krankheit zu verursachen (ANONYM, 2009b).

Resistenzen entstehen durch die Fähigkeit zur Bildung von β -Laktamasen und der Veränderung von Penicillinbindungsproteinen (WITTE, 2005).

Die erstmals 1994 beschriebene Variante cMRSA (community MRSA) bereitet neue Sorgen, da diese auch völlig gesunde Personen außerhalb eines Krankenhauses oder einer ähnlichen Pflegeeinrichtung infizieren kann. cMRSA ist zudem in der Lage, das Zytokin Panton-Valentin-Leukozidin (PVL) zu bilden, welches durch die Lyse von Makrophagen zu Gewebnekrosen führt. Bislang kommt cMRSA vor allem in den USA vor. In Europa ist die Fallzahl noch gering (WITTE, 2005; SCHREFF, 2008).

Dank eines ausgereiften Hygienemanagements sind niederländische Krankenhäuser nahezu frei von MRSA. Deutsche Patienten gehören dort generell zur Hochrisikogruppe, welche zunächst isoliert und auf den gefährlichen Erreger hin untersucht werden. Mittlerweile führen auch viele deutsche Städte wie Gelsenkirchen oder Hamburg Patientenscreenings durch, bei denen potenzielle Träger entdeckt und behandelt werden können, um die Ausbreitung von MRSA einzudämmen (ANONYM, 2009b).

Auch in der Veterinärmedizin spielt MRSA eine nicht zu unterschätzende Rolle. Erste Fälle wurden bereits im Jahre 1975 als Mastitisserreger in Rinderherden gemeldet. Bis heute nahm die Zahl der bekannten Fälle stetig zu. Betroffen sind vor allem Pferde und Hunde (WALTHER, 2007).

Ein weiterer typischer Erreger nosokomialer Infektionen sind Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE). Die Resistenz entsteht durch den Austausch eines terminalen D-Alanins, wodurch die Zellwandsynthese, die sonst von dem Glykopeptidantibiotikum Vancomycin gehemmt wird, ungestört bleibt.

Ungefähr Mitte der 90er Jahre kam es zum vermehrten Auftreten von VRE-Infektionen in Krankenhäusern oder ähnlichen Einrichtungen. Ein Grund war der Einsatz des Wachstumsbeschleunigers Avoparcin in der Tiermast. Erst nachdem dieses Antibiotikum im Jahre 1996 verboten wurde, konnte ein Rückgang der VRE-Infektionen vermeldet werden (UKT, 2004).

Resistente *Escherichia coli*-Stämme können vor allem bei älteren Menschen schwere Blutvergiftungen und Harnwegserkrankungen verursachen. Problematisch sind Resistenzen gegen Fluorchinolone und die zunehmende Anzahl an ESBL-Infektionen (extended-spectrum

beta-lactamases). ESBL sind β -Laktamasen, die Resistenzen gegen Cephalosporine mit breitem Wirkungsspektrum verursachen. Zwischen den Jahren 2001 und 2009 hat sich die Rate der stationär erworbenen Infektionen mit ESBL-*E. coli* bereits verzehnfacht (ANONYM, 2010b).

Auch mehrfach- oder multiresistente *E. coli* sind keine Seltenheit mehr. Von multiresistenten Erregern wird bei Resistenzen gegenüber zweier oder mehrerer Antibiotika gesprochen. Bislang ist die Anzahl der multiresistenten *E. coli*-Infektionen aber noch relativ gering. Ausmaße wie es bei MRSA der Fall ist sind aber durchaus denkbar, da sich bereits in den Jahren 1990 bis 2004 die Anzahl Ampicillin-resistenter *E. coli*-Stämme von 30,7 % auf über 50 % erhöht hat (ANONYM, 2006).

Resistente *Salmonella*-Stämme zeichnen sich größten Teils durch chromosomal bedingte Multiresistenzen aus, meist gegen Ampicillin, Chloramphenicol, Streptomycin, Sulfonamide, Tetracycline und vermehrt auch gegen β -Lactam-Antibiotika der zweiten Generation.

Knapp 96 % der getesteten, multiresistenten Stämme verfügen über Integrons. Bei Integrons handelt es sich um Genabschnitte der Bakterien-DNA, die in andere Bakterien eingefügt werden können und dem Erreger zur Resistenzausbreitung dienen (KLEER, 2004).

In deutschen Tierkliniken und Kleintierpraxen kann mit einer Prävalenz nosokomialer Infektionen von 3,5 % gerechnet werden (MÜLLER und SCHLENKER, 2007). Immer öfter sind dabei auch multiresistente Keime zu finden. So auch in einer amerikanischen Untersuchung, bei der aus zwei Hunden, die 48 Stunden gemeinsam in einer Tierklinik verbrachten, *E. coli*-Stämme isoliert werden konnten, die sehr ähnliche Resistenzen gegenüber zwölf Antibiotika aufwiesen (SANCHEZ et al., 2002).

Der Fall eines Krankenpflegers aus Großbritannien, der nach erfolgreich behandelter MRSA-Infektion immer wieder seine Patienten infizierte zeigt, dass sich multiresistente Erreger zoonotisch übertragen lassen. Letztendlich konnte sein ebenfalls MRSA-positiver Hund als Ansteckungsquelle ausgemacht werden (KEKULÉ, 2009).

Dies belegt auch eine Studie aus Dänemark, die Hunde und ihre Halter im Laufe einer antibiotischen Behandlung der Tiere untersuchte und dabei herausfand, dass etwa jeder zweite Hundehalter mit den meist multiresistenten Staphylokokken seines Vierbeiners infiziert war (GUARDABASSI et al., 2004a).

So auch im Falle einer mit MRSA infizierten Frau, deren Zustand sich trotz mehrfacher Antibiotikabehandlungen nicht verbessert hatte. Erst nachdem die Katzen der Frau, die MRSA-positiv getestet waren, auch antibiotisch behandelt wurden, gesundete die Frau.

Der genaue Übertragungsweg zwischen Tier und Mensch ist bislang noch nicht eindeutig geklärt.

Erst durch einen sehr engen Kontakt zwischen Tier und Mensch wird die Übertragung resistenter Erreger möglich. Als wahrscheinlich gilt die Infektion durch Speichel oder Hautkontakt. Hunde und Katzen gelten deshalb wohl bislang als die bedeutsamsten Überträger (GUARDABASSI et al., 2004a; SING, 2008).

Die Übertragung durch Tierbisse ist zumindest für MRSA belegt. Gefährdet sind in diesem Zusammenhang vor allem Jungen zwischen fünf und neun Jahren (Hundebisse) sowie ältere Damen (Katzenbisse) (OEHLER et al., 2009).

Eine Studie von STENSKE und Kollegen aus dem Jahr 2009 belegt, dass das Streicheln eines Hundes ohne anschließendes Händewaschen ein größeres Sicherheitsrisiko darstellt als das Ablecken lassen oder das gemeinsame Schlafen in einem Bett.

Ebenso wie in der Humanmedizin ist auch in der Tiermedizin der zu leichtfertige Umgang mit Antibiotika die Ursache für Multiresistenzen. Als kritisch gilt vor allem die Gabe von Antibiotika, die auch in der Humanmedizin häufig zum Einsatz kommen sowie die unzureichende Datenlage zum genauen Einsatz der Medikamente (GUARDABASSI et al., 2004b).

Die antibiotische Behandlung eines kompletten Tierbestandes muss heikel betrachtet werden. Dabei bekommen auch gesunde Tiere unnötigerweise Antibiotika verabreicht, die Dosierung kann zur zuverlässigen Inaktivierung pathogener Erreger zu gering sein oder das Antibiotikum wird zu lange verabreicht (STROH, 2002).

In einer Studie an einer kanadischen Tierklinik konnte die Abhängigkeit der Gabe eines bestimmten Antibiotikums zu den jeweiligen Resistenzhäufigkeiten eindeutig belegt werden (PRESCOTT et al., 2002).

Da die Übertragung (multi-)resistenter Erreger vom Tier auf den Menschen eindeutig bewiesen ist, führte das Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) in den Jahren 2004 bis 2006 ein umfassendes nationales Resistenzmonitoringprogramm (BfT GermVet) durch, um den aktuellen Empfindlichkeitsstatus bakterieller Erreger gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen zu ermitteln. Aus dieser Untersuchung geht hervor, dass die derzeitige Resistenzlage der in der Veterinärmedizin eingesetzten Antibiotika akzeptabel ist (SCHWARZ et al., 2007).

2.5.1 Beschreibung der in dieser Untersuchung verwendeten Antibiotika

Ampicillin gehört zur Wirkstoffgruppe der Penicilline. Es wirkt als Breitspektrum-Penicillin bakterizid auf verschiedene grampositive und -negative Mikroorganismen. Ampicillin ist nicht wirksam bei β -Laktamase-produzierenden Erregern. Eine Wirkungssteigerung kann durch die Kombination mit β -Laktamase-Inhibitoren erzielt werden (ROLINSON und STEVENS, 1961; SHEEHAN, 1967; HARVEY und HUNTER, 1999; KIRBY und BULGER, 1964; JONES und BARRY, 1987).

In der Veterinärmedizin belegt Ampicillin Platz eins der resistenten bzw. vermindert empfindlichen *E. coli*-Stämme aus dem Urogenitaltrakt, Platz zwei der resistenten bzw. vermindert empfindlichen *E. coli*-Stämme aus dem Respirationstrakt und Platz drei der resistenten bzw. vermindert empfindlichen *E. coli*-Stämme bei enteritischen Erkrankungen.

In der Humanmedizin liegt das Antibiotikum auf dem ersten Platz der resistenten *E. coli*-Stämme. Dabei konnte in den Jahren zwischen 1995 und 2004 ein Resistenzanstieg um 14,9 % (von 35,8 % auf 50,7 %) verzeichnet werden (GERMAP, 2008).

Cephalothin ist ein zur Wirkstoffgruppe der Cephalosporine gehörendes β -Laktamantibiotikum. Seine Wirkung erzielt es durch die Hemmung der Zellwandsynthese oder seine bakterizide Wirkung auf wachsende Keime (PLUMB, 2002).

In der Veterinärmedizin ist Cephalothin auf Platz zwei der resistenten bzw. vermindert empfindlichen *E. coli*-Stämme aus dem Urogenitaltrakt, auf Platz drei der resistenten bzw. vermindert empfindlichen *E. coli*-Stämme aus dem Respirationstrakt und auf Platz vier der resistenten bzw. vermindert empfindlichen *E. coli*-Stämme bei enteritischen Erkrankungen (GERMAP, 2008).

Zur Wirkstoffgruppe der Fluorchinolone gehört das Antibiotikum Enrofloxacin. Es zeigt eine gute Wirksamkeit gegen gramnegative und grampositive Bakterien, ist aber nur schwach wirksam gegen Anaerobier. Seine bakterizide Wirkung wird durch den Eingriff in die stationäre Phase und in die Wachstumsphase der Bakterienreplikation erzielt. Durch den sog. postantibiotischen Effekt wird das Wachstum der Bakterien auch noch nach der Absenkung des Wirkstoffes im Blut unterdrückt. Enrofloxacin wird seit 1983 ausschließlich in der Veterinärmedizin eingesetzt (BERMINGHAM et al., 2000; PLUMB, 1999; GERMAP, 2008).

Sulfamethoxazol ist ein Antibiotikum aus der Wirkstoffgruppe der Sulfonamide. Seine Wirkung entfaltet es durch die Hemmung der intrazellulären Folsäuresynthese.

Eine bakteriostatische Wirkung tritt nach einer Latenzzeit von etwa vier bis sechs Stunden ein (SPOO und RIVIERE, 2001).

In der Veterinärmedizin liegt Sulfamethoxazol auf dem ersten Platz der resistenten bzw. vermindert empfindlichen *E. coli*-Stämme aus dem Respirationstrakt, auf dem zweiten Platz der resistenten bzw. vermindert empfindlichen *E. coli*-Stämme aus dem Urogenitaltrakt und ebenfalls auf den zweiten Platz der resistenten bzw. vermindert empfindlichen *E. coli*-Stämme bei enteritischen Erkrankungen (GERMAP, 2008).

Tetracyclin stammt aus der gleichnamigen Wirkstoffgruppe der Tetracycline. Durch seine bakteriostatische Wirkung, die in höheren Dosen auch bakterizid wirkt, hemmt Tetracyclin die Proteinsynthese. Das Antibiotikum wird gegen grampositive und -negative, aerobe und anaerobe Erreger sowie Leptospiren, Mycoplasmen, Rickettsien, Chlamydien und große Virusarten eingesetzt (PLUMB, 1999; MC EVOY, 1992).

Mit einem Anteil von rund 50 % am Antibiotikagesamtverbrauch in der Veterinärmedizin belegt Tetracyclin mit rund 350 Tonnen pro Jahr den ersten Platz (GERMAP, 2008).

Laut GERMAP (2008) konnten gegen alle oben beschriebenen Antibiotika nach Behandlungen von respiratorischen, urogenitalen und enteritischen Erkrankungen bereits resistente bzw. vermindert empfindliche Stämme von *E. coli* bei Hunden und Katzen isoliert werden.

Bei lebensmittelliefernden Tieren konnten häufig *Salmonella enteritica*-Serovare isoliert werden, die sich gegen die Antibiotika Ampicillin und Tetracyclin, bei Geflügel auch Cephalothin resistent zeigten.

Bei Rindern lag der Anteil der resistenten Salmonellen-Serovare für Tetracyclin bei 37,6 % und für Ampicillin bei 35,9 %. Bei den untersuchten Schweinen reagierten 70 % der Serovare unempfindlich auf Tetracyclin und 63 % auf Ampicillin.

In der Humanmedizin konnten bei *E. coli*, die vor allem Harnwegsinfekte aber auch Wundinfektionen oder Pneumonien verursachen, am häufigsten Resistenzen gegenüber Ampicillin, dicht gefolgt von Tetracyclin, nachgewiesen werden. Die Tendenz ist als weiterhin steigend zu betrachten.

Die beim Menschen isolierten Serovare von *Salmonella enteritidis* reagieren zu etwa 95 % sensibel auf Behandlungen mit Antibiotika. Das Serovar Typhimurium dagegen bildet zunehmend Resistenzen aus, vor allem gegenüber den Antibiotika Streptomycin, Tetracyclin

sowie Amino- und Ureidopenicilline. Sehr häufig handelt es sich dabei um Mehrfachresistenzen gegenüber drei oder mehr Antibiotika.

In den Jahren 1997 bis 2006 kam es bei Stämmen des Serovars Typhimurium zu einem Anstieg der Mehrfachresistenzen von 43 % auf 69 %. Die Resistenzhäufigkeit gegen das Antibiotikum Sulfamethoxazol hat sich in diesem Zeitraum verzehnfacht. Erwähnenswert hierbei ist der mehrfachresistente Stamm Lysotyp DT 104, der sich unempfindlich zeigt gegenüber Tetracyclin, Streptomycin, Chloramphenicol sowie Ampicillin (GERMAP, 2008).

2.6 Futtermittelkonservierung

Die jahreszeitlich bedingte Diskrepanz zwischen Futterangebot und Futterbedarf macht es notwendig, Grünfutter so zu konservieren, dass für die Wintermonate genügend Futtermaterial zur Verfügung steht. Jedoch kann keine Konserve den Nährwertgehalt von frischem Grünfutter wiedergeben, da sich während der Herstellung die Zusammensetzung verändert.

Durch die Futterkonservierung wird der Verderb verhindert, indem die futtereigenen Enzyme zerstört und der aerobe bzw. anaerobe Abbau gestoppt werden. Gängige Verfahren hierfür sind Wasserentzug, Absenkung des pH-Werts, spontane Milchsäurevergärung, Reduktion der Atmung durch Temperaturabsenkung und luftdichte Lagerung. Durch diese Prozesse werden gleichzeitig zahlreiche Krankheitserreger inaktiviert (JEROCH et al., 2008; ZIMMER, 1987).

Zur Silagegewinnung ist eine fortgeschrittene Entwicklung der Pflanze von Vorteil, da sich mit zunehmender Halmmasse die Gäreigenschaften verbessern. Gleichzeitig kann eine höhere Halmmasse aber auch zu Problemen bei der Verdichtung des Silierguts führen.

Im Gegensatz dazu ist es bei der Heuwerbung von Vorteil, früher zu ernten, da der Bröckelverlust der Blätter auf diese Weise geringer ausfällt (OPITZ V. BOBERFELD, 1994).

In Deutschland werden jährlich etwa 50 Millionen m³ Silage, davon allein 15 Millionen m³ Grassilage und rund zehn Millionen m³ Heu produziert (JEROCH et al., 2008).

Da in dieser Arbeit vor allem der Prozess der Silagebereitung von Interesse ist, wird auf dieses Thema im Besonderen eingegangen.

2.6.1 Grünfutter

Grünfutter besteht aus den oberirdischen Futterpflanzenbestandteilen Stängel, Blätter, Blüte und Samen, die ihr Wachstum noch nicht abgeschlossen haben. Masse und Qualität von Grünfutter stehen in direktem Zusammenhang mit der Pflanzenzusammensetzung, Zustand der Pflanzen zum Zeitpunkt der Ernte, Boden, Intensität und Art der Düngung, dem Standort der Wiese sowie der Witterung. Je nach Standort erreicht der tägliche Zuwachs der Pflanzen im Mai/Juni seinen Höhepunkt, der in den hiesigen Breitengraden bei weiteren Schnitten nicht mehr erzielt werden kann (JEROCH et al., 2008).

Anbauflächen für Grünfutter sind meist Grünlandflächen, auf denen vor allem natürliche Pflanzenmischungen zu finden sind oder Ackerflächen, auf denen Reinkulturen oder gezielte Mischkulturen angebaut werden. Beim Ackerfutterbau werden Pflanzen häufig in Reinkultur angebaut, um eine möglichst genaue Aussage über die Zusammensetzung der Inhaltsstoffe zu vereinfachen (OPITZ V. BOBERFELD, 1994).

Als wichtigster Rohfaserlieferant bildet Grünfutter in jeglicher Form die Basis der Nutztierfütterung, wobei die höchste Futteraufnahme bei einem Trockensubstanz (TS)-Gehalt von 16 bis 18 % gegeben ist. Zur Fütterung von Wiederkäuern eignen sich frisches Grünfutter, Silage und Heu am besten, da Wiederkäuer das Futter mit Hilfe von Pansenbakterien im besser verwerten können als andere Tiere (RIEDER, 1983; JEROCH et al., 2008).

2.6.2 Silage

2.6.2.1 Geschichte

Das Konservieren pflanzlicher Nahrungsmittel durch Ansäuerung gehört mit zu den ältesten Erfindungen der Menschheit. Der Gedanke dahinter war stets die Bevorratung für schlechtere Zeiten.

Das Prinzip der Silierung war bereits in prähistorischen Zeiten bekannt, vermutlich zufällig entdeckt bei der Vergärung von Pflanzenaufgüssen oder Obst.

In Europa belegen Funde aus der Bronzezeit die Verwendung von Erdhöhlen zur Einsäuerung krautartiger Gewächse. Doch die heute noch gebräuchliche Art der Sauerkrautherstellung geht auf die alten Chinesen und Tataren zurück.

Die Römer schichteten auf ihren zahlreichen Feldzügen stets Gras am Wegrand auf, das sie gegen die Witterung mit Planen schützten, um stets genügend Futter für ihre Tiere zur Verfügung zu haben. Diese Art der Haltbarmachung geriet nach der Antike allerdings in Vergessenheit, lediglich kleine Bergdörfer in den Alpen konservierten noch Futter für den Winter. Erst Ende des Mittelalters erlebte die Gärfutterbereitung eine Renaissance. Ende des 18. Jahrhunderts war die Futtermittelkonservierung in Sauergruben gängig. Bereits im Jahre 1810 lehrte der Franzose Appert die Grundzüge der Konservierung pflanzlicher und tierischer Produkte. Mitte des 19. Jahrhunderts wurde klar, dass die Vergärung auf dem Prinzip des Abbaus von Zucker zu verschiedenen Säuren basierte, wobei die Milchsäure die größte Rolle spielte. Zum damaligen Zeitpunkt war noch nicht bekannt, dass der Prozess von verschiedenen Mikroorganismen ausgelöst wird. Dies konnte erst Louis Pasteur im Jahre 1857 beweisen.

Die genaueren mikrobiologischen Zusammenhänge wurden erst um das Jahr 1920 beschrieben (GROSS und RIEBE, 1974).

2.6.2.2 Definition

Silage wird von der Literatur als durch anaerobe Milchsäurevergärung konserviertes Grünfutter beschrieben. Der pH-Wert wird bei der Bildung von Milchsäure auf unter vier abgesenkt. Dadurch wird das Wachstum diverser Hefen oder Bakterien gehemmt und Zersetzungsprozesse verhindert.

Durch die Vergärung von Frischfutter können außerdem in den Pflanzen enthaltene Giftstoffe unschädlich gemacht, parasitäre Dauerstadien abgetötet und Bitterstoffe neutralisiert werden (OPITZ VON BOBERFELD, 1994).

Obwohl die in den Pflanzen enthaltenen Zucker möglichst verlustfrei zu Milchsäure vergoren werden sollten, muss dennoch je nach Art der Verarbeitung mit Konservierungseinbußen zwischen sieben und 40 % gerechnet werden.

Für den Prozess der Silierung eignen sind Gras, Mais, Leguminosen, Ackerbohnen oder Rübenblätter.

Eine Mittelstellung zwischen Silage und Heu nimmt die sogenannte Heulage ein, eine auf etwa 45 bis 50 % TS-Gehalt angewerkte Silage (ZIMMER, 1987).

Silage wird anhand eines von der Deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft (DLG) entworfenen Schlüssels zur Sinnesprüfung bewertet. Berücksichtigt werden dabei die Parameter Geruch, Farbe, Gefüge, Feuchte und eventuell pH-Wert sowie die

Laborergebnisse chemischer Untersuchungen. Die Qualität von Silage kann mit diesen Werten in verschiedene Kategorien eingeteilt werden.

In Tab. 2 ist mit der sogenannten Wringprobe beispielhaft eine der Sinnenprüfungen zur Bestimmung des TS-Gehalts von Grassilage dargestellt (DLG, 2004).

Tab. 2: Erläuterung der Wringprobe nach DLG-Sinnenprüfung

Beobachtung	TS-Gehalt
Saft läuft bei leichtem Drehen ab	< 20 %
Saft läuft bei kräftigem Drehen ab	ca. 25 %
Saft tritt bei kräftigem Drehen nur mäßig aus	ca. 35 %
Saft tritt nicht mehr aus	ca. 40 %
Hand bleibt trocken	> 45 %

Die Siliereignung wird über die Vergärbarkeit, die auf der chemischen Zusammensetzung des Futters basiert, definiert. Wichtigster Faktor ist dabei der Zuckeranteil, also der Anteil wasserlöslicher Kohlenhydrate, die von den Milchsäurebakterien umgesetzt werden können. Ebenso entscheidend sind die Pufferkapazität, das heißt die Bestandteile der Silage, die eine puffernde Wirkung auf die Ansäuerung haben wie der Roheiweiß- und Rohaschegehalt sowie der Gehalt an Trockenmasse. Je mehr Trockenmasse sich im Ausgangsmaterial befindet, desto langsamer und weniger weit sinkt der pH-Wert ab, was wiederum das Wachstum von Gärschädlingen begünstigt (JEROCH et al., 2008; GROSS und RIEBE, 1974).

Silagen aus verschiedenen Laucharten, Stoppelrüben, Futterraps oder Markstammkohl können Auswirkungen auf Geruch und Geschmack der Produkte der damit gefütterten Tiere haben. Beeinträchtigungen dieser Art kann Milch über die Luft, die Blutbahn oder den Verdauungstrakt erfahren. Maßnahmen wie das Verfüttern der Silage direkt nach dem Melken, so dass die geschmacks- bzw. geruchsverändernden Substanzen vor dem nächsten Melken abgebaut werden können oder ein stärkeres Anwelken der Silage sollen dem entgegenwirken.

Auswirkungen auf den Keimgehalt der Milch haben verschiedenen Studien zufolge vor allem die Stall-, Fütterungs- und Melkhygiene, da die Milch erst beim oder nach dem Melken kontaminiert wird (GROSS und RIEBE, 1974).

2.6.2.3 Silierungsprozess

Um eine rasche Vergärung zu gewährleisten, ist der optimale Schnitzeitpunkt für Grassilagen zu Beginn des Ähren- bzw. Rispschiebens bei warmem, trockenem Wetter, damit die Zuckergehalte in den Pflanzen möglichst hoch sind.

Nach dem Mähen wird das wasserhaltige Futtermaterial kurz angetrocknet, um die TS-Gehalte zu erlangen, die für einen optimalen Ablauf der Silierung unerlässlich sind. Diese Werte liegen für Grassilagen bei 30-40 % TS-Gehalt, für Klee- bzw. Kleegrassilagen bei etwa 40 % TS-Gehalt und für Maissilagen bei 30-32 % TS-Gehalt.

Ideale Grassilagen bestehen zu 60-70 % aus qualitativ guten Gräsern, zu 15-20 % aus hochwertigen Kräutern und zu 15-20 % aus Leguminosen. Durch Antrocknen des Silierguts läuft die Gärung stärker homofermentativ ab. Clostridien werden durch den höheren osmotischen Druck bei gleichzeitiger Förderung der Milchsäurebakterien gehemmt, der Eiweißabbau bleibt geringer, es fällt kein Sickersaft an und die Futteraufnahme wird verbessert (NUSSBAUM, 2007a+b; ZIMMER, 1987).

Um eventuelle Lufteinschlüsse zu vermeiden wird das möglichst kurz gehäckselte Material zügig luftdicht verschlossen und möglichst stark verdichtet. Je kürzer gehäckselt wird, umso besser lässt sich das Siliergut verdichten.

Anschließend setzt der mikrobielle Teil der Silierung ein. Zunächst wird innerhalb weniger Stunden der enthaltene Restsauerstoff von den Pflanzen unter Wärmebildung veratmet. Im zunehmend anaeroben Milieu tritt der Pflanzenzelltod ein und Zellsaft, der später die Grundlage der mikrobiellen Flora bildet, tritt aus. Eiweiße werden durch noch aktive proteolytische Enzyme zu Aminosäuren abgebaut und eine Umschichtung der Keimflora setzt ein. In den darauf folgenden Tagen wird durch homofermentative Bakterien Milchsäure gebildet und der pH-Wert beginnt sich abzusenken.

In der Hauptgärungsphase findet eine starke Vermehrung der Milchsäurebakterien statt (10^3 - 10^9 KBE/g), die den in den Pflanzen vorhandenen Zucker abbauen und umwandeln.

Dadurch sinkt der pH-Wert in der Silage langsam auf unter vier ab, wodurch das Wachstum aerober sowie fakultativ anaerober Mikroorganismen wie Pilze oder Hefen gehemmt wird (Entkeimung). Geschwindigkeit und Grad der pH-Wert-Absenkung sind unmittelbar an die Menge der umsetzbaren Zucker geknüpft (ZIMMER, 1987).

Wenn nach etwa drei Wochen auf Grund des geringen pH-Werts und dem Mangel an vergärbaren Kohlenhydraten die Milchsäurebildung und damit auch die Hauptgärungsphase abgeschlossen ist, ändert sich das Volumen der Silage kaum noch. Die erste Entnahme der fertigen Silage sollte aber frühestens sechs Wochen nach der Einsilierung erfolgen (JEROCH et al., 2008).

Gelungene Silagen haben einen Gesamtkeim- und Milchsäurebakteriengehalt von etwa 10^8 KBE/g Futter (GROSS und RIEBE, 1974).

Generell lassen sich Leguminosen durch die etwa doppelt so hohe Pufferkapazität sowie ihre geringen Zucker- und hohen Proteinanteile deutlich schlechter silieren als beispielsweise Weidelgräser. Durch vielfältige Fruchtfolgen, der Fähigkeit zur Stickstofffixierung, der Unkrautunterdrückung, der gezielten Eiweißunterstützung in der Milchviehfütterung und nicht zuletzt auf Grund von Flächenprämien erfreuen sich Leguminosen aber wieder zunehmender Beliebtheit. Ihre Silierung kann durch Mischanbau mit leichter silierbaren Gräsern oder der Zugabe von Silierhilfsmitteln unterstützt werden (NUSSBAUM, 2007b).

In Regionen mit unbeständigeren Witterungsverhältnissen wie z.B. Skandinavien geht die Tendenz mehr in Richtung Nasssilage, die standardmäßig mit Silierhilfsmitteln behandelt wird. In den gemäßigten Breitengraden ist die Herstellung von Anweilsilagen üblich, wobei auf die Verwendung von Silierhilfsmitteln möglichst verzichtet werden sollte (OPITZ VON BOBERFELD, 1994).

Silage kann auf unterschiedliche Weise gelagert werden. Eine Form mit möglichst kleiner Anschnittsfläche ist vorzuziehen, um die Eintrittspforte für Luftsauerstoff und Schmutz möglichst klein zu halten.

Hochsilos sind bis zu etwa 15 Meter hohe, zylinderförmige Behälter, in die das Siliergut von oben mit Hilfe von Gebläsen, Greifern oder Förderbändern eingebracht wird. Sie werden gerne für schwer silierbare Futterarten verwendet, da sich das Material durch sein Eigengewicht bereits von alleine verdichtet. Oft können in Hochsilos bessere Gärfutterqualitäten erzielt werden, obwohl Befüllung und Entnahme etwas umständlicher sind.

Mit dem gleichen Prinzip arbeiten die in den Boden eingelassenen Tiefsilos. Der Arbeitsaufwand ist geringer, da sich das Tiefsilo direkt vom Wagen aus befüllen lässt und sich ebenfalls selbst verdichtet. Die Entnahme erfolgt häufig durch Greifanlagen. Von Vorteil sind die absolute Gasdichtheit sowie die konstanten Temperaturen durch die Versenkung ins Erdreich, was einem optimalen Gärverlauf zuträglich ist. Durch den Abschluss nach oben mit einem festen Deckel ist ein Eindringen von Schädlingen nahezu ausgeschlossen.

Durch bestimmte Bedingungen wie bauliche Voraussetzungen, Beschaffenheit von Gelände und Untergrund oder Sicherheitsvorkehrungen liegen die Kosten aber meist deutlich höher als bei einem Hochsilo (GROSS und RIEBE, 1974).

Die ebenerdigen Flach- oder Fahrsilos lassen sich im Gegensatz zu Hochsilos schlechter befüllen, sind dafür aber kostengünstiger. Sie werden oft für leicht vergärbare Rübenblatt- oder Maissilagen verwendet.

Die Bodenfläche wird teilweise befestigt, um einer Verschmutzung vom Untergrund her vorzubeugen. Nachdem das gehäckselte Siliergut durch Festwalzen verdichtet wurde, wird es mit einer besonders reißfesten und luftundurchlässigen Silofolie abgedeckt. Flachsilos haben relativ große Anschnittsflächen, wodurch es nach dem Öffnen der Silage oft zu Nacherwärmungen kommt. Eventuelle Verunreinigungen des Grundwassers durch Austreten des nährstoffreichen Silagesickersafts müssen vermieden werden.

Die noch nicht lange gebräuchlichen Schlauchsilos werden mit einer speziellen Presse gefüllt. Das Schlauchmaterial ist zwar verhältnismäßig teuer. Durch eine kleinere Anschnittsfläche kommt es aber zu geringeren Verlusten.

Werden pro Fütterungseinheit nur kleinere Mengen benötigt, stellen Rundballensilagen eine geeignete Alternative dar. Beschädigungen der Folie machen sie aber anfälliger für Fehlgärungen (OPITZ VON BOBERFELD, 1994; BRIEMLE et al., 1997).

2.6.2.4 Milchsäuregärung

Milchsäurebakterien (Lactobacteriaceae) sind in der Regel unbegeißelte, also unbewegliche, nicht sporenbildende, heterogene Stäbchen.

Der Anteil der sich auf den Pflanzen befindenden Milchsäurebakterien variiert während der Jahreszeiten von 10^2 im Frühjahr bis zu 10^7 KBE/g Frischgut im Herbst.

Je nach TS-Gehalt des Silierguts vermehren sich die Milchsäurebakterien unterschiedlich stark, wodurch es zu Schwankungen des pH-Werts kommt. So sinken Silagen mit einem geringeren TS-Gehalt stärker ab als solche, bei denen der TS-Gehalt höher liegt (OPITZ VON BOBERFELD, 1994).

Die besten Voraussetzungen zur optimalen Vergärung finden Milchsäurebakterien in einem Temperaturbereich zwischen 20 und 40 °C. Das pH-Wert-Minimum liegt meist zwischen 3,0 und 3,6 (GROSS und RIEBE, 1974).

Bei der anaerob ablaufenden Milchsäuregärung werden die wasserlöslichen Kohlenhydrate (WSC), vor allem Glucose, Fructose, Saccharose und Pentosane über Brenztraubensäure (bzw. ihr Anion Pyruvat) in Milchsäure (bzw. ihr Anion Lactat) umgewandelt, die der Energiegewinnung dient.

Die bei der Gärung frei werdende Energie wird zunächst in Adenosintriphosphat (ATP) umgewandelt, das als kurzfristiger Energiespeicher und -überträger fungiert.

Nicotinamidadenindinukleotid (NADH) wird gebildet, das Brenztraubensäure zu Milchsäure reduziert und damit zu oxidiertem NADH (NAD^+), welches in der anschließenden Glycolyse mit zwei Elektronen wieder zu NADH reduziert wird.

Die Nettogleichung der homofermentativen Milchsäuregärung lautet:



(Glucose, ADP und freies Phosphat werden umgewandelt in Milchsäure und ATP)

Diesen Stoffwechselweg beschreiten vor allem die auf den Pflanzenteilen befindlichen Milchsäurebakterien (OPITZ VON BOBERFELD, 1994; GROSS und RIEBE, 1974).

Die 15 bis 20 in Silagen vorkommenden Milchsäurebakterien können unterschieden werden in homofermentive (Gewinn von zwei Molekülen ATP je Molekül WSC; bilden nur Milchsäure) und heterofermentative (Gewinn von einem Molekül ATP je Molekül WSC; bilden neben Milchsäure noch weitere Gärungsendprodukte) Stämme. Unter energetischen Gesichtspunkten muss die homofermentative Milchsäurevergärung angestrebt werden.

Des Weiteren muss die Bifidobacterium-Gärung Erwähnung finden, bei der mit Hilfe des Milchsäurebakteriums *Bifidobacterium bifidum* 2,5 Moleküle ATP pro Molekül WSC gewonnen werden (KAMPHUES et al. 2004; OPITZ VON BOBERFELD, 1994; GROSS und RIEBE, 1974).

Die Milchsäurebakterien teilen sich in der Silage in etwa 58 % homofermentative, 6 % heterofermentative, 13 % Streptokokken und 23 % Leuconostoc-Formen auf (GROSS und RIEBE, 1974).

An der Silierung können drei Säuren beteiligt sein:

- Milchsäure, die in der Silage als natürliches Konservierungsmittel wirkt.
- Essigsäure, die zu einem kleinen Teil bei der Silierung erwünscht ist, da sie Pflanzenzellproteine zerstört; etwa 2,0 bis 3,5 % in der Silage-TS sind ideal.
- Buttersäure, die in der Silage nur bei Fehlgärungen vorkommt.

Optimale Gärqualität zeichnet sich aus durch pH-Werte zwischen 4,0 und 5,0 (für TS-Gehalte zwischen 30 und 45 %), einen möglichst hohen Milchsäureanteil, maximal 0,3 % Buttersäure und unter 3,0 % Essigsäure in der Trockenmasse, einen maximalen Anteil von Ammoniak-Stickstoff (N) am Gesamtstickstoff von 8 % und einer Verdichtung von 220-250 kg TS/m³ (NUSSBAUM, 2007a).

2.6.2.5 Fehlerhafter Silierungsverlauf

Bis zu einem Verhältnis von Milchsäure zu Essigsäure von vier bis fünf zu eins wird von einer gelungenen Silage gesprochen, wobei es im Laufe der Silierung auch zu Fehlgärungen kommen kann.

Bei Fehlgärungen wird unterschieden zwischen Umkippen, bei dem der pH-Wert während der Lagerung wieder ansteigt und es zu einer Erhöhung der Buttersäurekonzentration kommt und Nachgärungen, die durch ungenügende Milchsäurevergärung und durch Hefen ausgelöst werden und mit einem Anstieg der Temperatur einhergehen. Ein Temperaturanstieg in der Silage zu Beginn der Vergärung ist normal, sollte allerdings im Vergleich zur Umgebungstemperatur nicht mehr als 5 °C betragen. Die meisten Fehlgärungen entstehen durch unzureichenden Luftabschluss bzw. Schäden an der Silofolie (OPITZ VON BOBERFELD, 1994; RAHN und WITTHINRICH, 2006).

Silagen, die zum Zeitpunkt der Konservierung zu nass waren, können die Absenkung des pH-Werts auf 4,0 bis 4,5 nicht ausführen, da das zusätzliche Wasser abpuffernd wirkt.

Dadurch werden gärschädigende Bakterien und Pilze nicht inaktiviert, was die Silage letzten Endes durch Fehlgärungen verdirbt.

Wird das Siliergut zu trockenem Zustand verarbeitet, besteht die Gefahr, dass die mindestens erforderliche Dichte von 200 kg TS/m³ nicht erreicht wird. Durch die unzureichende Verdichtung ist der Sauerstoffgehalt innerhalb der Silage durch Lufteinschlüsse zu hoch, so dass ideale Lebensbedingungen für aerobe Hefen geschaffen werden, die den im Siliergut enthaltenen Zucker für das eigene Wachstum nutzen (TITZE und JAKOBS, 2004).

Zu den gärschädigenden Mikroorganismen zählen all diejenigen, die der Milchsäurebildung negativ entgegenwirken. Dazu zählen sowohl aerobe Bazillen der Gattung *Bacillus*, die als Nährstoffkonkurrenten der Milchsäurebakterien agieren, als auch *Micrococci*.

Coliforme Keime werden zwar erst unter Einfluss von Luftsauerstoff aktiv, entziehen den Milchsäurebakterien aber ebenfalls die Nahrungsgrundlage und erwärmen während des Nährstoffabbaus die Silage so stark, dass die Milchsäurebakterien abgetötet werden. Enterobakterien können gemischte Säuregärungen verursachen, was zu einer vermehrten Bildung von Essigsäure und Gasen wie CO₂ und H₂ führen kann (OPITZ VON BOBERFELD, 1994).

In Bezug auf den pH-Wert haben viele Mikroorganismen einen hohen Toleranzbereich. Es gibt Algen, die Werte von über 10,0 vertragen können und Pilze und Hefen, die bei Werten unter 2,0 noch wachsen.

Die meisten Verderbsorganismen agieren aber in den Bereichen um einen neutralen pH-Wert. Dabei sind die Bereiche, in denen Toxin gebildet werden kann, oft deutlich enger gesteckt, als die, in denen noch eine Vermehrung stattfinden kann (JEROCH et al., 2008).

Bei günstigem Gärungsverlauf werden coliforme Keime bereits in der ersten Woche nach der Einsilierung durch die pH-Wert-Absenkung vollständig abgetötet.

Zu den Eiweißzersettern zählen unter anderem Bakterien der Gattungen *Pseudomonas* und *Flavobacterium*, die allerdings nur bei schlechtem Gärverlauf aktiv werden können.

Schimmelpilze können sich nur unter aeroben Bedingungen vermehren. Sie treten meist an Silagerändern auf, an denen die Verdichtung nicht so stark und der Luftabschluss nicht ideal ist. Wichtige Vertreter sind *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* und *Mucor*.

Mit zu den gefährlichsten Gärschädlingen gehören die Hefen, die in der Silage meist ideale Lebensbedingungen finden, da sie unempfindlich auf niedrige pH-Werte reagieren und nur sehr wenig Luftsauerstoff benötigen (GROSS und RIEBE, 1974).

Es gibt zwei Typen von Hefen, die in der Silage vorkommen: Silagehefen vom Typ 1 sind vor allem zu Beginn der Silierung zu finden und nutzen die leicht fermentierbaren Zucker. Silagehefen vom Typ 2 kommen in durchsilerten Silagen vor und stellen dort meist die Gesamtflora der Hefen. Sie bauen neben Zucker auch Milch- und Essigsäure in Anwesenheit von Sauerstoff ab, wodurch der pH-Wert ansteigt und somit der Weg für verschiedene Schimmelpilze geebnet ist. Diese Eigenschaft macht sie zu den wichtigsten Verursachern der aeroben Instabilität innerhalb von Silagen (PRIES und KAYSER, 2005; BEEKER, 2003).

Extreme Vermehrungen von Hefepilzen führen zu Nacherwärmungen, wovon wiederum andere gärschädigende Keime wie coliforme Bakterien profitieren. Diese verwandeln ihrerseits Milchsäure in Buttersäure, was zum Verderb der Silage führt.

Neben den nachteiligen Zusammensetzungen der Säuregehalte sind auch die Ausscheidungen von Pilzen und Hefen für die Tiere, an die eine solche Silage verfüttert wird, toxisch und können zu Leistungsdepressionen und zum Tod führen (OPITZ VON BOBERFELD, 1994).

Im Zusammenhang mit silagefütterungsbedingten Erkrankungen spielt die meldepflichtige Listeriose eine wichtige Rolle. Sie betrifft vor allem Wiederkäuer und dort insbesondere Schafe, kann aber durch kontaminierte Lebensmittel auch den Menschen infizieren. Besonders gefährdet sind Silagen, deren pH-Wert nicht unter 5,0 absinkt. Bei Aufnahme des Erregers *Listeria monocytogenes* durch mit Erde verschmutzter Silage kommt es häufig zu Gehirnentzündungen, die mit zentralnervösen Zuständen einhergehen. Aber auch Aborte,

Septikämien oder Mastitiden treten auf. Aus diesem Grund ist der Einsatz von Silage in der Schaf- und Ziegenfütterung nur wenig verbreitet (OPITZ VON BOBERFELD, 1994; ROLLE und MAYR, 2002; ZIMMER, 1987).

Kurze Erwähnung sollte auch der Botulismus der Rinder finden, der bei der Aufnahme von botulinumtoxinhaltigem Futter zu zentralnervösen Störungen führt. In der Silage spielt Botulismus vor allem eine Rolle, wenn während der Verarbeitung des Silierguts Tierkadaver in die Silage gelangen und in dem Siliergut zersetzt werden, wobei das starke Botulinumtoxin gebildet wird. Gefährdet sind vor allem Silagen mit einem hohen pH-Wert und einer hohen Wasseraktivität (KEHLER, 2010).

Die unter anaeroben Bedingungen agierenden, sporenbildenden Clostridien werden eingeteilt in saccarolytische (eigentliche Buttersäurebazillen) und proteolytische (Fäulniserreger). Sie schaden der Silierung durch die Vergärung der Milchsäure zu Buttersäure.

Beim Melken gelangen die in der Silage enthaltenen Clostridien (vor allem *C. tyrobutyricum* und *C. butyricum*) über die Luft in die Milch und verursachen bei der Käseherstellung den sogenannten Bläh- oder Stinkkäse. Bei der Herstellung bestimmter Hartkäse wie z.B. Emmentaler wurde deshalb die Verwendung von Milch silagegefütterter Kühe verboten (KEULEN, 2005).

Clostridien gelangen vor allem bei der Ernte durch zu knappes Mähen am Boden in das Siliergut. Unterdrücken lässt sich das Wachstum nur durch eine schnelle, vollständige Milchsäurevergärung, die gegebenenfalls mit nitrithaltigen Silierhilfsmitteln bzw. Clostridienhemmern unterstützt werden kann (OPITZ VON BOBERFELD, 1994).

Die Bildung von Buttersäure kann durch geeignete Grünlandpflege, der Ausbringung verdünnter Gülle, einer nicht zu bodennahen Mahd und dem eventuellen Einsatz von Silierhilfsmitteln vermieden werden (NUSSBAUM, 2007a).

Ein hoher Rohaschegehalt (über 80-100 g Rohasche bzw. über 15 g Sand pro kg TM) in der Silage ist ein Hinweis auf eine starke Verschmutzung. Durch diese wird sowohl der Futterwert vermindert als auch die Silierbarkeit verschlechtert. Zudem steigt die Gefahr der Buttersäurebildung durch bodenbewohnende Clostridien, was neben dem typischen, unangenehmen Geruch, der mit einer verminderten Akzeptanz bei der Verfütterung einhergeht, zu erheblichen Verlusten bei den TS-Gehalten und der Energie führt. Untersuchungen des Landwirtschaftlichen Zentrums Baden-Württemberg (LAZBW) zufolge

liegt der Rohaschegehalt in Silagen aus Baden-Württemberg im Schnitt bei knapp 110 g/kg TM (NUSSBAUM, 2007c).

Silierhilfsmittel können lediglich eine unterstützende Funktion einnehmen, jedoch nicht eine schlechte Silage in ein hochwertiges Futtermittel umwandeln. Bei der Anwendung ist genau auf die Dosierung, die Unterstützung des gewünschten Effekts sowie auf eine gleichmäßige Verteilung im Siliergut zu achten.

Es gibt biologische und chemische Silierzusätze. Die biologischen Silierungshelfer sollen die Milchsäurevergärung durch die Zugabe von zuckerreichen Substanzen oder Milchsäurebakterien unterstützen, während chemische Zusätze auf Basis organischer und anorganischer Säuren und Salze arbeiten und so dem Wachstum schädlicher Keime entgegenwirken.

Neuere Silierhilfsmittel kombinieren beide Eigenschaften, wobei die biologischen Komponenten für eine intensive, verlustarme Vergärung sorgen und die chemischen Bestandteile das Wachstum wärmebildender Hefen unterdrücken. Das soll vor allem der aeroben Stabilität zum Zeitpunkt der Entnahme dienen (OPITZ VON BOBERFELD, 1994; NUSSBAUM, 2008).

2.6.3 Heu

Heu ist eine Grünfütterkonserve, deren Anteil an der Trockenmasse mindestens 85 % betragen sollte. Der konservierende Effekt wird ausschließlich über die Trocknung, dem wohl ältesten Konservierungsverfahren, erzielt. Neben der Haltbarmachung dient die Trocknung auch der Eliminierung verschiedener Krankheitserreger, da diese häufig empfindlich auf Austrocknen reagieren. Vor allem darmstämmige Bakterien werden unter UV-Einstrahlung in der Regel schnell abgetötet (OPITZ VON BOBERFELD, 1994; JEROCH et al., 2008).

Bei der Trocknung verdunsten zunächst das Oberflächenwasser und das von den Kapillaren direkt an die Pflanzenoberfläche beförderte Wasser. Danach beginnt die Trocknung der großen Poren und anschließend wird das Zellwasser in den kleinen Kapillaren verdampft. Während dieses Prozesses nimmt die Trocknungsgeschwindigkeit ständig ab.

Begrenzt wird die Trocknung, wenn sich die Sorptionskräfte der pflanzlichen Masse mit den Kräften aus dem Dampfdruckgefälle der Luft im Gleichgewicht befinden.

Die Trocknungsgeschwindigkeit kann durch Maßnahmen wie Quetschen oder Auffasern gesteigert werden (OPITZ VON BOBERFELD, 1994; JEROCH et al., 2008).

Die Trocknung ist abhängig von der relativen Luftfeuchtigkeit, der Temperatur, dem Zeitpunkt des Schnittes, der Art des Mähens und der Bearbeitung des Grünguts während der Trocknung. Älteres Grüngut weist in der Regel schlechtere Trocknungseigenschaften auf als junges, blattreiches (OPITZ VON BOBERFELD, 1994).

Die traditionellste und nach wie vor populärste Methode der Heutrocknung ist die Bodentrocknung direkt auf der gemähten Fläche mit Hilfe der Sonnenenergie. Die Belagmasse auf der Fläche liegt idealerweise zwischen zwei bis drei Kilogramm pro Quadratmeter. Dieses Verfahren ist extrem witterungsabhängig und eignet sich daher nur für Regionen mit Schönwetterperioden von mindestens vier Tagen (JEROCH et al., 2008).

In feuchteren Gebirgsregionen wird oft mit der Belüftungstrocknung gearbeitet. Das Gras wird zunächst auf dem Boden vorgetrocknet und anschließend mit Hilfe von Belüftungssystemen, die mit warmer oder kalter Luft arbeiten, fertig getrocknet.

Eine Variation davon ist die Gerüsttrocknung, bei der das vorgewelkte Grüngut auf Gerüsten (sog. Reutern) oder überdacht ohne Hilfsmittel zu Ende getrocknet wird. Da die Gerüsttrocknung allerdings mit einem relativ hohen Arbeitsaufwand verbunden ist, findet sie heutzutage kaum noch Anwendung.

Eine weitere Methode der wetterunabhängigen Trocknung ist die Heißlufttrocknung, bei der das Grüngut mit Temperaturen zwischen 300 und 900 °C behandelt wird. Bei dieser Trocknungsform kommt es durch das schnelle Verdampfen kaum zu Qualitätseinbußen.

Da dieses Verfahren allerdings sehr aufwendig ist, werden nur hochwertigste Grüngüter dieser Behandlung zugeführt (OPITZ VON BOBERFELD, 1994; HEYLAND, 1996).

Bei Dürrheu, bei dem der Trockenmassegehalt bei rund 80 % liegt, findet nach der Einlagerung das sogenannte Schwitzen, eine Art Gärprozess statt. Ausgelöst wird es durch Mikroben und pflanzeigene Enzyme, die in den feuchteren Stängeln noch zu finden sind.

Bei der Normalgärung, die sich in Temperaturbereichen unter 45 °C abspielt, verbessert sich meistens die Futterakzeptanz durch den Abbau bestimmter Stoffe.

Bei Temperaturen zwischen 45 und 60 °C wird von Übergärung gesprochen, ausgelöst durch Einlagerungsfeuchten von über 16 %. Durch die verstärkte Bildung thermophiler Bakterien kommt es zu größeren Verlusten, vor allem bei leichtlöslichen Stoffen wie Kohlenhydraten und das Heu verfärbt sich bräunlich.

Bei Temperaturen von über 60 °C kommt es schlimmstenfalls zur Überhitzung, bei der, ausgelöst durch chemische Prozesse, in kürzester Zeit Temperaturen von über 200°C und hochentzündliche Gase entstehen können. Beim Kontakt mit Sauerstoff können sich diese Gase entzünden was zur sogenannten Selbstentzündung führt (OPITZ VON BOBERFELD, 1994; JEROCH et al., 2008).

Heu kann genau wie Silage anhand vorgegebener Bewertungskriterien beurteilt werden.

Bei der Sinnesprüfung spielen neben Farbe, Geruch und Struktur auch die Art der Trocknung und der Grad der Verschmutzung eine Rolle.

Heu von hoher Qualität hat Carotingehalte von über 240 ppm, Rohproteingehalte von über 22 %, Sandgehalte unter 1 % und Feuchtwerte von unter 14 % (DLG, 2004; OPITZ VON BOBERFELD, 1994).

2.7 Mikrobielle Kontamination von Futtermitteln

Futtermittel stellen ein wichtiges Glied in der menschlichen Nahrungskette dar, weshalb besonders darauf zu achten ist, dass sie nicht verschmutzt werden.

Etwa 70 % der in Deutschland produzierten Pflanzen gehen in die Tierfütterung, sei es direkt als z.B. Grünfutter oder Futterrüben oder nach der Verarbeitung als Mischfutterkomponente (JEROCH et al., 2008).

Bei gesunden Tieren werden Schadstoffe und Erreger, die mit dem Futter aufgenommen werden, mit Hilfe von Speichel, Magensäure und Verdauungsenzymen unschädlich gemacht. Zum Ausbruch einer Krankheit kommt es in der Regel erst, wenn belastende Faktoren wie zum Beispiel hygienisch schlechte Haltungsbedingungen oder eine geschwächte Immunabwehr involviert sind (TÖPPER, 2006).

Bei Jungtieren bilden zunächst die mit dem Futter aufgenommenen Keime die Darmflora, wodurch sie besonders anfällig für futterbedingte Erkrankungen sind. Auch Pferde reagieren empfindlicher auf Veränderungen im Futter als beispielsweise Wiederkäuer und Schweine (SOMMER et al., 1991; TÖPPER, 2006).

Auf Grund diverser BSE-Fälle und dem Nachweis von Dioxinen in Lebens- und Futtermitteln wurde mit der seit 1. Januar 2006 in der EU gültigen Futtermittelhygieneverordnung (EG) Nr. 1831/2005 eine neue Grundlage zur Sicherung der Qualität von Futtermitteln geschaffen.

Futtermittelhygiene wird darin definiert als die „Maßnahmen und Vorkehrungen, die notwendig sind, um Gefahren zu beherrschen und zu gewährleisten, dass ein Futtermittel unter Berücksichtigung seines Verwendungszwecks für die Verfütterung an Tiere tauglich ist“. Die Verordnung soll alle Produktionsschritte vom Erzeuger bis zum Endverbraucher erfassen und mit Hilfe diverser Behörden überwachen, um so eine möglichst hohe Sicherheit für Futtermittel gewährleisten zu können (EU, 2005; JEROCH et al., 2008).

Unerwünschten Stoffe und ihre Höchstwerte sind in der Futtermittelverordnung vom 7. März 2005 genau geregelt. Kot und Urin fallen unter die verbotenen Stoffe (FuttMV, 2007).

Kontaminationen von Futtermitteln mit Hundekot entstehen entweder durch das direkte Hineinkoten während der Verarbeitung (Antrocknen zur Silierung, Heutrocknung) oder später während der Lagerung. Durch mechanische Prozesse wie dem Heuwenden werden Kotpartikel großräumig im Futter verteilt (BR, 2007).

Pflanzliche Futtermittel haben bereits bei der Ernte einen bestimmten mikrobiellen Besatz, die sogenannte Primärflora. Natürlicherweise kann von einer Besiedelung der Futtermittel mit etwa 10^5 Bakterien und 10^4 Pilzen pro Gramm ausgegangen werden (ULBRICH et al., 2004). Je schlechter die Erntebedingungen sind, desto stärker ist der Keimdruck durch die Primärflora (TÖPPER, 2006).

Durch verschiedene Konservierungsmethoden wird diese Primärflora jedoch abgetötet oder zumindest so unterdrückt, dass keine Vermehrung mehr stattfinden kann.

Während der Weiterverarbeitung kann es auch zu Kontaminationen mit Sekundärflora, also mit Mikroorganismen, die erst nach der Ernte in das Futter gelangen, kommen. Diese können sich bei entsprechenden Lagerbedingungen rasch vermehren und das Futtermittel im schlimmsten Fall komplett verderben. Der Verderb erfolgt in der Regel nicht allein durch das Wachstum der Mikroorganismen, sondern auch durch deren Stoffwechselprodukte und Toxine. Es wird unterschieden in Exotoxine, die vor allem von grampositiven Bakterien (verschiedene Clostridien-Arten, *E. coli*) gebildet und an die Umgebung abgegeben werden und in die von den gramnegativen Bakterien gebildeten Endotoxine, also Lypopolysaccharide, die bei der Bakterienlyse frei werden. Endotoxine können in großen Mengen einen Schock auslösen, während Exotoxine meist zu Erbrechen, Durchfall, Fieber,

Futtermittelverweigerung und Leistungsabfall führen (JEROCH et al., 2008; ULBRICH et al., 2004).

Ideale Bedingungen finden schädliche Mikroorganismen bei Temperaturen von über 10 °C in Futtermitteln mit TS-Gehalten von unter 86 % (zum Teil bereits unter 90 %), bei einer relativen Luftfeuchtigkeit über 85 %, einem Anteil von Pilzen und Hefen von über 70 % sowie einer schlechten oder ungenügenden Konservierung vor der Einlagerung (ULBRICH et al., 2004).

Neuere Studien belegen das Eindringen von humanpathogenen Krankheitserregern über das Wurzelsystem der Pflanzen (TOBI und BÖHM, 2009; SOLOMON et al., 2002; siehe auch 2.8.3). Mögliche andere Pforten in die Pflanzen sind das Abschlussgewebe (Epidermis, Rhizodermis), Verletzungen, Lysierung der Zellwände durch bestimmte Enzyme oder natürliche Öffnungen (Spaltöffnungen). Pflanzenpathogene Erreger nutzen die Stoffwechselprodukte der Pflanzen zur eigenen Vermehrung, was über kurz oder lang zu Wuchsanomalien oder dem Absterben der Wirtspflanze führt. Wie sich zoonotische und humanpathogene Krankheitserreger in den Pflanzen verhalten, ist noch nicht vollständig geklärt (MARTIN und SAUERBORN, 2006).

Neben Bakterien zählen auch verschiedene Schimmelpilze und Hefen zu den Futtermittelverderbern. Schimmelpilze können Mykotoxine bilden, die bei oraler Aufnahme zu großen gesundheitlichen Schäden führen können. Verpilztes Futter muss aber nicht zwangsläufig Mykotoxine enthalten, wohingegen optisch einwandfrei wirkende Futtermittel stark belastet sein können. Es wird unterschieden in Feldpilze, also solche, die zur normalen Primärflora der Pflanzen gehören und in Lagerpilze, die sich erst bei unsachgemäßer Lagerung auf den abgestorbenen Pflanzen entwickeln. Schimmelpilze wirken erst ab bestimmten Konzentrationen toxisch. Zur Sicherheit sollte aber auf die Verfütterung von fragwürdigem oder deutlich verschimmeltem Futter verzichtet werden. Angaben zu genauen Höchstgehalten sind in der Futtermittelverordnung zu finden. Die Übertragungswahrscheinlichkeit von Mykotoxinen in die menschliche Nahrungskette über Lebensmittel tierischer Herkunft ist als sehr gering einzustufen (JEROCH et al., 2008; ULBRICH et al., 2004; FuttMV, 2007).

Der Arbeitskreis Futtermittelmikrobiologie des Verbandes Deutscher Landwirtschaftlichen Untersuchungs- und Forschungsanstalten (VDLUFA) hat ein Schema zur Auswertung mikrobiologischer Untersuchungen von Futtermitteln entwickelt, das mit verschiedenen Indikatorkeimen arbeitet. Auf diese Weise können Futtermittel in Qualitätskategorien

eingeteilt werden, die dem jeweiligen hygienischen Stand entsprechen (JEROCH et al., 2008).

Bei der Haltbarmachung von Futtermitteln werden durch Prozesse wie die der Hitzeeinwirkung die Anzahl der enthaltenen Schadorganismen reduziert und gleichzeitig ihre Fähigkeit zur Toxinbildung gehemmt. Konserviert werden vor allem halbfleuchte Futtermittel, die am anfälligsten sind für mikrobiellen Verderb. Zum Einsatz kommen in der Regel verschiedene Säuren wie z.B. die Propionsäure, die das Wachstum von Schimmelpilzen eindämmt.

Bei Trockenfuttermitteln spielen besonders der Verderb durch Überlagerung, die Umgebungsfeuchte oder defekte Futtersäcke eine Rolle. Häufig sind auch Futterschädlinge wie Futtermilben, Speckkäfer oder Reismehlkäfer Ursache für den Verderb.

Von sterilisiertem Dosenfutter geht in der Regel keine Gefahr aus, da es bei 126 °C Kerntemperatur autoklaviert wurde, was zu einem sicheren Abtöten möglicherweise enthaltener Krankheitserreger führt (SOMMER et al., 1991; MEYER und ZENTEK, 2005).

Störungen des Verdauungstraktes können verschiedene Ursachen haben, äußern sich aber häufig mit Durchfällen. Eine mögliche Ursache ist die Aufnahme von Schadstoffen, seien es solche, die bereits im Futtermittel enthalten waren oder solche, die erst durch Kontaminationen bzw. Verderb in das Futter gelangt sind.

Schadstoffe, die bereits von Beginn an im Futtermittel zu finden sind, sind solche, die natürlicherweise aus einem der Futterbestandteile stammen wie Trypsinhemmstoffe in Eiweiß oder Sojabohnen, blausäurehaltige Glykoside in Leinsamen und Mandelkernen oder thiaminabbauende Substanzen in frischen Süßwasserfischen.

Manche Stoffe wie Blei, Arsen, Fluor oder Kupfer reichern sich mit der Zeit im Gewebe an, da der Körper sie nicht abbauen kann. Sie können aber nur noch selten in Futtermitteln nachgewiesen werden (MEYER und ZENTEK, 2005).

Eine wichtigere Rolle bei der Kontamination von Futtermitteln spielen Bakterien und Parasiten. Sie befinden sich entweder bereits vor der Ernte bzw. Verarbeitung auf oder in dem Futtermittel oder die Kontamination findet erst während der Lagerung statt.

Von größter Wichtigkeit sind in diesem Zusammenhang Bandwurmfinnen, wie die des geränderten Bandwurms *Taenia hydatigena* oder des Hundebandwurms *Echinococcus granulosus*.

Beim Verfüttern von unbehandelten Schlachtabfällen von Schweinen und Wildtieren besteht für Hunde die Gefahr einer Infektion mit Toxoplasmose.

Über importierte Futtermittel können in Deutschland bereits ausgerottete Krankheiten wie z.B. der Milzbrand oder die Aujeszky-Krankheit wieder eingeschleppt werden.

Salmonellen lassen sich häufig auf rohen Innereien aber auch in Tiermehlen nachweisen.

Einige Bakterien wie z.B. *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* oder *Bacillus cereus* verderben die Futtermittel durch die Produktion von Toxinen. Ein besonders starkes Toxin bildet *Clostridium botulinum*, das vor allem in verdorbenen Wurst- und Fleischprodukten zu finden ist (MEYER und ZENTEK, 2005).

MEYER und ZENTEK (2005) empfehlen, tierische Futtermittel vor der Verfütterung auf jeden Fall zu behandeln, sei es durch Einfrieren oder Erhitzen, um eventuell enthaltene Krankheitserreger und Parasitenzwischenstadien sicher abzutöten.

So lassen sich die Zysten von Sarkosporidien, *Toxoplasma gondii* und auch *Neospora caninum* durch Erhitzen bei 65 °C für mindestens zehn Minuten sicher abtöten, während beim Einfrieren für mindestens vier Tage bei -20 °C unter Umständen nicht alle Zysten unschädlich gemacht werden. Durch das Kochen soll zudem die Futterakzeptanz erhöht werden. Präferenzversuche belegen eine höhere Akzeptanz bei gekochtem bzw. gebratenem und zerkleinertem Fleisch im Gegensatz zu großstückigem, rohem Fleisch.

Eine potenzielle Infektionsquelle für Hunde, vor allem mit Salmonellen und Listerien, stellen Kauartikel aus getrockneten Tierteilen dar. Die Verordnung (EU) Nr. 1774/2002 mit Hygienevorschriften für nicht für den menschlichen Verzehr bestimmte tierische Nebenprodukte besagt, dass „Kauspielzeug bei der Herstellung einer Hitzebehandlung unterzogen werden muss, die gewährleistet, dass Krankheitserreger (einschließlich Salmonellen) wirksam abgetötet werden. Nach der Behandlung sind alle erforderlichen Vorkehrungen zu treffen, um eine Kontamination des Erzeugnisses zu vermeiden“ (EU, 2002).

Dennoch konnten im Rahmen einer Untersuchung von SCHLÄGEL aus dem Jahre 2007 in 25 % der untersuchten Kauartikel-Proben verschiedene Salmonellenserovare und sogar multiresistente Salmonellenstämme nachgewiesen werden. Am stärksten belastet waren Schweineohren und Rinderpansen, wobei es gleichgültig war, ob das Produkt verpackt oder offen angeboten wurde.

Der Erdboden liefert mit seinen zahlreichen aeroben und anaeroben Sporenbildnern, Pilzen und psychrotrophen Organismen ebenfalls zahlreiche Infektionsquellen für Futtermittel.

Bei Düngung mit Fest- und Flüssigmist kommen zusätzlich Fäkalbakterien hinzu. Die Kontamination von Futtermitteln mit Erdboden erfolgt in der Regel bei der Ernte. Weitere Kontaminationsquellen für Futtermittel stellen lebende Vektoren wie Insekten, Nager, Wild- und Haustiere dar (SINELL, 2003).

Die Keimbelastung von Futtermitteln kann durch entsprechende Ernte- und Lagerungsbedingungen reduziert werden. Zu beachten sind Ernte- und Lagerhygiene (möglichst geringer Schmutzanteil, geringe Feuchtegehalte), die Kontrolle des Futtermittels vor und während der Einlagerung (Schädlingsbefall, Temperatur) und die Art der Lagerung (kühl und trocken, first-in-first-out-Prinzip, kein Zutritt für Lagerschädlinge wie Mäuse, Insekten oder andere Tiere (Katzen, Hunde, Vögel)) (TÖPPER, 2006).

2.8 Darstellung der mikrobiologischen und parasitologischen Parameter, die bei dieser Untersuchung berücksichtigt wurden

Im folgenden Abschnitt sind die für diese Arbeit relevanten Bakterien und Parasiten beschrieben. Bis auf den Parasiten *Neospora caninum* fanden alle Erreger in den im nächsten Kapitel beschriebenen mikrobiologischen Untersuchungen Anwendung. Alle hier aufgeführten Bakterien sowie *Cryptosporidium parvum* konnten bereits in Hundekot nachgewiesen werden bzw. gehören zur Normalflora im Hundedarm und sind in der Lage sowohl bei Tieren als auch beim Menschen Erkrankungen hervorzurufen. Der parasitäre Erreger *Neospora caninum* wurde in die Untersuchungen dieser Arbeit nicht mit einbezogen, da sich die Gewinnung und Haltung des Parasiten in vorausgegangenen Versuchen als aufwendig gezeigt hat. Da *Neospora caninum* allerdings im Zusammenhang mit Hundekot auf landwirtschaftlich genutzten Grünlandflächen als potenzieller Abortverursacher bei Rindern eine wichtige Rolle spielt, wird er in diesem Abschnitt genauer auf ihn eingegangen.

2.8.1 *Clostridium perfringens*

Clostridium perfringens gehört wie der Milzbranderreger *Bacillus anthracis* oder der Erreger des Botulismus *Clostridium botulinum* zu den sporenbildenden gram-positiven Stäbchen. Als einziger der insgesamt 83 Vertreter der Clostridien ist *C. perfringens* durch seine fehlende Begeißelung bewegungsunfähig. Clostridien sind nahezu ubiquitär verbreitet, kommen aber

am häufigsten im Erdboden und Wasser vor und gehören zur Normalflora des Verdauungstrakts von Tieren und Menschen (KÖHLER, 2001).

Clostridien sind in der Lage, Sporen zu bilden, die, ähnlich den parasitären Dauerstadien, sehr widerstandsfähig gegenüber Umwelteinflüssen sind (SOMMER et al., 1991).

Ideale Wachstumsbedingungen für *C. perfringens* bieten Temperaturen zwischen 43 und 47 °C bei anaerobem Milieu und einem pH-Wert von etwa neun. Anhand serologischer und biochemischer Gesichtspunkte lässt sich *C. perfringens* in die Typen A bis E einteilen, wobei jeder Typ andere Formen des Gasbrandes bzw. der Enterotoxämie bei Menschen und verschiedenen Tieren verursacht (ROLLE und MAYR, 2002; KÖHLER, 2001).

Eine typische, durch *C. perfringens* verursachte Krankheit ist der Gasbrand, der bereits in den Schriften von Hippokrates (460-377 v.Ch.) beschrieben wurde und an dem im Ersten Weltkrieg rund 100.000-150.000 deutsche Soldaten starben.

Unter den Erregern des Gasbrandes bildet *C. perfringens* die meisten Toxine aus. Das stärkste von ihnen ist das α -Toxin, eine Phospholipase C, vom Typ A.

Die Toxinwirkung setzt mit der Sporenauskeimung in der Wunde ein, wodurch Myonekrosen gebildet werden, die die Luftzufuhr in die Wunde unterbinden. Dieser Effekt wird häufig durch Mischinfektionen verstärkt, meist in Kombination mit aeroben Erregern wie Streptokokken oder Staphylokokken was das Krankheitsbild sehr mannigfaltig gestalten kann.

Nach einer Inkubationszeit von fünf bis 48 Stunden entsteht bei nur wenigen äußerlichen Anzeichen ein starker Wundschmerz. Später schwellen die Wundränder an und beim Palpieren ist ein Knistern zu hören, das auf die Gasbildung zurückzuführen ist. Wundbrand schädigt das umliegende Gewebe oft so stark, dass eine Amputation des betroffenen Gliedmaßes nicht mehr möglich ist. Trotz des meist letalen Verlaufs ist eine Gasbrandinfektion in Deutschland nicht meldepflichtig (KÖHLER, 2001).

Kurz nach dem Zweiten Weltkrieg trat im norddeutschen Raum erstmals der durch *C. perfringens* Typ C verursachte Darmbrand (Enteritis necroticans) auf, bei dem es durch Bildung eines Nekrotoxins zu einer starken Entzündung des Jejunums kommt, die unbehandelt in über 50 % der Fälle zum Tode führt (KÖHLER, 2001; FEHLHABER, 2004).

Für *C. perfringens*-bedingte Lebensmittelvergiftungen sind die Typen A₂, C₄ und C₅ verantwortlich zu machen. Infektionen mit dem Typ A₂ kommen zwar am häufigsten vor, nehmen dafür aber den mildesten Verlauf (FEHLHABER, 2004).

Durch den Verzehr von kontaminierten Lebensmitteln, oft warmgehaltenes Rind- und Geflügelfleisch oder Meeresfrüchte, kommt es zur Bildung eines Enterotoxins im Dünndarm. Die daraus resultierende Zerstörung der Darmepithelzellschicht führt zu massiven Flüssigkeits- und Ionenverlusten, die sich durch starke Durchfälle, Bauchschmerzen und Erbrechen äußern. Die Krankheit endet in der Regel nach 24 Stunden selbstlimitierend (KÖHLER, 2001).

Wie bereits unter Punkt 2.6.2.5 „Fehlerhafter Silierungsverlauf“ beschrieben, spielen Clostridien im Zusammenhang mit der Silagegewinnung eine Rolle. Problematisch sind dabei die schwer einzudämmenden, innerbetrieblichen Clostridienkreisläufe, bei denen die Tiere stark clostridienbelastete Silagen zu fressen bekommen, somit clostridienhaltigen Kot ausscheiden, welcher anschließend zur Düngung der Grünflächen verwendet wird, die später wieder das Futter liefern sollen (LEISEN, 2002).

Von Infektionen mit *C. perfringens* sind vor allem Jungtiere betroffen, meist die von Wiederkäuern, Schweinen und Geflügel. Die Krankheit äußert sich in der Regel durch starke Durchfälle, was zum Beispiel bei der durch *C. perfringens* Typ C verursachte nekrotisierende Enteritis der Ferkel in bis zu 100 % der Fälle zum Tod führen kann.

Die Clostridienenterotoxämie tritt vor allem bei Fohlen (Typ B) und Kälbern (Typ B und C) in den ersten Lebenswochen auf (WALDMANN und WENDT, 2001; ROLLE und MAYR, 2002; ULBRICH et al., 2004).

Beim Hund sind auf Grund der starken Verdauungsenzyme verschiedene Faktoren wie Fehlfütterung oder Stress von Nöten, um eine clostridienbedingte Erkrankung auszulösen. Kann sich eine Clostridieninfektion allerdings etablieren, führt das gebildete Enterotoxin bei Hunden oft zu schweren Durchfällen (ROLLE und MAYR, 2002; SCHMIDTKE, 2006).

2.8.2 Enterokokken

Die grampositiven, fakultativ anaeroben, kugelförmigen Enterokokken gehören zur Familie der Milchsäurebakterien. Sie wurden erst in den 80er Jahren von den morphologisch recht ähnlichen Streptokokken abgegrenzt. In der Umwelt sind sie nahezu überall anzutreffen (SELBITZ, 2002; MOELLERING, 1998).

Die Vertreter *Enterococcus faecalis* und *Enterococcus faecium* sind Bestandteil der natürlichen Darmflora von Wirbellosen und Wirbeltieren. In geringen Konzentrationen sind

sie sogar in Mund, Vagina und auf der Haut zu finden (PODBIELSKI und LÜTTICKEN, 2001).

Einige Stämme von *E. faecium* finden Anwendung in der Lebensmittelindustrie als Zusätze in probiotischen Lebensmitteln. Auch in der Human- und Tiermedizin kommen verschiedene Enterokokken-Stämme zum Einsatz (LUKASSOWITZ, 2002).

Die verschiedenen Spezies sind alle mit spezifischen Wirten assoziiert. Beim Menschen sind am häufigsten die bereits erwähnten *E. faecalis* und *E. faecium* zu finden. Zu Infektionen kommt es oft durch kontaminierte Lebensmittel oder Schmierinfektionen (PODBIELSKI und LÜTTICKEN, 2001; SELBITZ, 2002; SIMON, 1999).

Durch die Fähigkeit, eigene Resistenzplasmide mittels konjugativen Transfers auf andere Bakterien (gleich- oder fremdartige) zu übertragen, bilden Enterokokken häufig Resistenzen aus. Aus diesem Grund spielen sie im Hinblick auf nosokomiale Infektionen eine bedeutende Rolle (siehe auch 2.8.2).

Die meisten Infektionen (85-95 %) werden durch *E. faecalis* verursacht; häufig sind immunsupprimierte Personen betroffen. Oft handelt es sich dabei um Harnwegs- oder Wundinfektionen, in wenigen Fällen aber auch um die schwer therapierbare Enterokokken-Endokarditis.

Infektionen mit *E. faecium* sind mit 5-15 % zwar deutlich seltener, aufgrund der höheren Virulenz und den häufigen Antibiotikaresistenzen aber schwieriger zu bekämpfen.

Die Mortalität bei einer Enterokokkeninfektion ist mit 28-58 % sehr hoch, was allerdings auf den meist schlechten Allgemeinzustand der nosokomial infizierten Patienten zurück zu führen ist (PODBIELSKI und LÜTTICKEN, 2001; SIMON, 1999).

Die Bekämpfung der Enterokokken wird neben der Resistenzbildung zusätzlich durch ihre Überlebensfähigkeit unter extremen Bedingungen, wie starken Schwankungen der Temperatur, der Salzkonzentration oder des pH-Wertes, erschwert (PODBIELSKI und LÜTTICKEN, 2001).

Im Zusammenhang mit Mastitiden, Pneumonien, Urogenitalinfektionen, Endokarditiden und Septikämien bei Tieren konnten *E. faecalis*, *E. faecium* und *E. durans* als Verursacher ausgemacht werden (SELBITZ, 2002).

2.8.3 *Escherichia coli*

Das zur Familie der Enterobacteriaceae gehörige, stäbchenförmige Bakterium *Escherichia coli* gehört zur Normalflora des Darms bei Warmblütern. In die Umwelt, in der es monatelang vermehrungsfähig bleiben kann, gelangt es ausschließlich durch fäkale Verunreinigungen, weshalb es auch als Indikatorkeim bei z.B. Wasser- oder Lebensmitteluntersuchungen herangezogen wird.

Die Konzentrationen von *E. coli* im Kot liegen in Bereichen zwischen 10^4 und 10^9 KBE/g (HEESEMANN, 2001; WEIGEL, 1995).

Die im Darm vorkommenden *E. coli*-Isolate lassen sich in die fünf Gruppen A, B1, B2, D und E einordnen. Die meisten Pathogenitätsfaktoren sind in den Gruppen B2 und D zu finden, die damit die Hauptverursacher *E. coli*-stämmiger Infektionen sind.

Die Art, in der sich eine Infektion äußert, hängt maßgeblich von der Abwehrkraft des Immunsystems sowie der Zusammensetzung der Pathogenitätsfaktoren ab. Harnwegs- und Wundinfektionen, schwere Septikämien oder Pneumonien sind häufig.

Eintrittspforten für den Erreger stellen Wunden oder die Harnwege dar, beim Geburtsvorgang auch die Atemwege. Die Übertragung erfolgt durch Schmierinfektionen oder unsaubere Geräte bzw. Hände von medizinischem Personal (HEESEMANN, 2001).

Neben den fakultativ pathogenen Vertretern, die rund 90 % der im Darm angesiedelten *E. coli* ausmachen, finden sich auch die darmpathogenen *E. coli*, die nicht zur Normalflora gehören und meist zusammen mit anderen Erkrankungen des Intestinaltrakts auftreten.

In den Industrieländern Westeuropas, den USA oder Japan spielt das enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC) eine bedeutende Rolle. Dies liegt zum einen daran, dass die EHEC-Prävalenz von kleinen und großen Wiederkäuern, deren Serovar dem des Menschen sehr ähnlich ist, zwischen 18 bis 71,3 % liegt und sie somit zum Hauptreservoir machen.

Hauptinfektionsquelle für EHEC ist in der Regel der direkte Kontakt zu Rindern und deren Kot. Durch die geringe minimale Infektionsdosis von 10-100 Erregern wird die Übertragung mittels unzureichend erhitztem, kontaminiertem Rindfleisch oder Milchprodukten, aber auch Bade- und Trinkwasser, erleichtert (HEESEMANN, 2001).

Typisch für EHEC-Infektionen, die vor allem immungeschwächte und ältere Menschen sowie Kinder betreffen, sind schwere Durchfälle mit kolikartigen Bauchkrämpfen, Fieber und Erbrechen, was in etwa 5-10 % der Fälle in das schwer therapierbare hämolytisch-urämische Syndrom (HUS) übergeht. Das HUS kann Blutgefäße und Nieren so stark schädigen, dass blutige Durchfälle und akutes Nierenversagen schließlich zum Tode führen. Im Jahr 2011 erkrankten in Deutschland auf Grund kontaminierter Sprossen sehr viele

Menschen an einer EHEC-Infektion und HUS. Die HUS-Fallzahl lag mit 877 Personen über das 13fache höher als in den vorangegangenen Jahren. Von anderen EHEC-bedingten Erkrankungen waren in diesem Jahr 4.908 Menschen betroffenen, also rund sechsmal mehr als in den Vorjahren (HEESEMANN, 2001; BÜLTE, 2004; RKI, 2012).

Während der bislang größten gemeldeten EHEC-Epidemie im Jahr 1996 in Japan erkrankten über 9.000 Menschen, 110 starben. Als Auslöser konnten später Sprossen ausgemacht werden, deren Anbaufläche mit kontaminiertem Rinderkot gedüngt war. Die Erregeraufnahme erfolgte über das Wurzelsystem (BÜLTE, 2004).

Weitere pathogene *E. coli* sind die enteropathogenen (EPEC), die enterotoxigenen (ETEC) und die enteroinvasiven (EIEC), die alle vor allem in Ländern mit mangelhaftem Hygienestandard eine Rolle spielen (HEESEMANN, 2001).

Im Jahr 2011 wurden in Baden-Württemberg 396 Fälle von *E. coli*-Enteritis verzeichnet, deutschlandweit waren es rund 8.300 Erkrankte (RKI, 2012).

Bei Tieren führen Infektionen mit pathogenen *E. coli* häufig zu den gefürchteten Jungtierdurchfällen. Davon betroffen sind vor allem Kälber, Saugferkel und Milchlämmer in den ersten drei Lebenswochen. Infektionsquellen sind meist kontaminierte Liegeflächen und Tränken oder das infizierte Muttertier. Schutz bieten nur ausreichende Hygienemaßnahmen bei der Haltung und Schlachtung sowie die Aufnahme von ausreichend Kolostrum, da es derzeit keine Schutzimpfungen gibt. Bei Absetzferkeln können pathogene *E. coli* die Kolienterotoxämie verursachen, die schlimmstenfalls zum Tod führen kann (SOMMER et al., 1991; BÜLTE, 2004; ULBRICH et al., 2004; WALDMANN und WENDT, 2001).

Bei Hunden sind *E. coli*-bedingte enteritische Störungen selten und treten nur in Verbindung mit anderen gastrointestinalen Erkrankungen auf. Gelegentlich sind Welpen von Durchfällen oder sogar gefährlichen Septikämien betroffen (QUINN et al., 1997).

2.8.4 Salmonellen

Genau wie *E. coli* gehören auch die Salmonellen zur Familie der Enterobacteriaceae. Typisch für diese Familie ist eine schnelle Vermehrung bei recht anspruchslosen Bedingungen. So wachsen Salmonellen bei pH-Werten zwischen 3,8 und 9,5, ideal sind 6,5 bis 7,5, ihr Temperaturoptimum liegt zwischen 35 und 37 °C (KLEER, 2004).

Auf Grund der hohen Tenazität und der geringen Wirtsspezifität spielen Salmonellen als Zoonoseerreger eine wichtige Rolle (HEESEMANN, 2001; KIEHL, 2004).

Zur Inaktivierung der Salmonellen werden Temperaturen ab 55 °C nötig, Einfrieren zeigt dagegen keine Wirkung. Saure Medien, Sonnenlicht und die gängigen Desinfektionsmittel führen ebenfalls zum gewünschten Erfolg. Durch langsames Absenken des pH-Werts oder langsames Erhitzen wird die Widerstandsfähigkeit der Salmonellen durch die Ausbildung von Säuretoleranzen oder Heat-Shock-Proteinen eher noch begünstigt (ROLLE und MAYR, 2002; KLEER, 2004).

Anhand des Kaufmann-White-Schemas erfolgt die Einteilung der Salmonellen in mehr als 2.500 Serovare, die sich durch verschiedene Körper- (O) und Geißel- (H) Antigene voneinander unterscheiden lassen, taxonomisch und pathogenetisch aber nicht eigenständig sind. Lediglich zehn bis 20 der Serovare sind für Salmonellosen beim Mensch verantwortlich (KIEHL, 2004; KLEER, 2004).

Die humanpathogenen Vertreter der Salmonellen zählen überwiegend zur Subspezies *Enteritica*, die sich in die typhöse und die enteritische Gruppe unterteilt.

Am weitesten verbreitet sind die Serovare der enteritischen Salmonellen, die innerhalb von sieben Tagen, meist schon fünf bis 72 Stunden nach oraler Aufnahme, beim Menschen Durchfallerkrankungen und teilweise Fieber verursachen. Sie enden in der Regel nach wenigen Tagen von selbst und müssen nicht medikamentös behandelt werden.

Das Serovar *S. typhi* ist rein an den Menschen adaptiert, kommt allerdings fast ausschließlich in Entwicklungsländern vor. Genesene Personen werden oft zu Dauerausscheidern. Auch das Serovar *S. paratyphi* ist in unseren Breitengraden kaum noch anzutreffen. Der Verlauf ist zwar etwas milder als bei *S. typhi*, allerdings können sich auch Tiere damit infizieren (HEESEMAN, 2001; KIEHL, 2004; KLEER, 2004).

Salmonellen werden erst bei der Vermehrung im Dünndarmlumen pathogen. Die Vermehrung findet in den endosomalen Vakuolen der Wirtszellen statt. In der Lamina propria werden die Salmonellen freigesetzt und von Phagozyten aufgenommen. Sind die Phagozyten in der Lage, die Salmonellen abzutöten, kommt es lediglich zu einer Entzündungsreaktion, also der Enterocolitis. Durchfälle entstehen durch Störungen des Flüssigkeits- und Elektrolyttransports im Dünndarm, wodurch mehr Flüssigkeit abgegeben wird, als der Dickdarm resorbieren kann. Typhöse Salmonellen können allerdings nicht von den Phagozyten abgetötet werden, sondern gelangen mit ihrer Hilfe in die Lymphknoten und von dort aus mit dem Blutkreislauf in alle Organe (KLEER, 2004).

Hauptinfektionsquelle für den Menschen sind kontaminierte Lebensmittel, vor allem Eier, Eiprodukte, Geflügel- und Schweinefleisch, vermehrt auch exotisches Obst und Gemüse, in deren Produktionsländern nur unzureichende Hygienestandards vorherrschen. Bei Eiern befinden sich die Salmonellen zumeist auf der Schale und gelangen erst mit dem Aufschlagen in das Eiinnere. Unter entsprechenden Umständen (Schalendefekt, hohe Luftfeuchtigkeit, warme Temperaturen) ist auch eine Diffusion der Salmonellen durch die Eischale möglich (KIEHL, 2004).

Fleisch, hauptsächlich Geflügel, wird meist bei der Schlachtung durch fäkale Verunreinigungen des Schlachtkörpers, der Geräte und des Personals kontaminiert. Außerdem kann durch großen Stress beim Transport und im Schlachthaus die Darmbarriere angegriffen und für den Erreger durchlässig gemacht werden, so dass er sich in der Muskulatur und anderem essbaren Gewebe ansiedeln kann (KLEER, 2004).

Auch eine Übertragung über infizierte Fliegen, die mit ihrem Kot bis zu 10^7 Salmonellen ausscheiden ist möglich (TEPLITSKI, 2006).

Um eine Infektion auszulösen sind die Infektionsdosis, die Virulenz sowie der körperliche Zustand des betroffenen Organismus ausschlaggebend, weshalb bei der Salmonellose auch von einer Faktorenkrankheit gesprochen wird (ROLLE und MAYR, 2002; EIKMEIER und NOLTE, 1995). Bei einem gesunden Erwachsenen ist die Aufnahme von insgesamt etwa 10^4 bis 10^6 KBE/g Salmonellen notwendig, um eine Infektion auszulösen. Es wurde aber auch schon von Fällen berichtet, in denen 50 Salmonellen pro Gramm in Schokoladenriegeln und sogar lediglich eine bis sechs Salmonellen pro Gramm in Cheddar Käse genügt haben, um eine Infektion zu verursachen. Dabei dürfte es sich aber um Einzelfälle handeln, in denen die Salmonellen dank des hohen Fettgehalts der Nahrungsmittel die Magenpassage unbeschadet überstanden haben (KLEER, 2004; KIEHL, 2004).

Salmonellosen gehören in Deutschland laut § 6 bzw. § 7 des Infektionsschutzgesetzes zu den meldepflichtigen Erkrankungen (ROLLE und MAYR, 2002).

Seit einigen Jahren nimmt die Anzahl salmonellenbedingter Infektionen und der daraus resultierenden Todesfälle in Deutschland aber stetig ab. Wurden im Jahr 2005 noch rund 52.000 Erkrankungen gemeldet, konnte die Zahl im Jahr 2011 mit rund 24.500 Personen fast halbiert werden. Rund 45 % dieser Fälle gingen auf *S. enteritidis* zurück. *S. typhimurium* konnte bei etwa 43 % nachgewiesen werden (RKI, 2012).

Es muss allerdings nach wie vor von einer weitaus höheren Dunkelziffer ausgegangen werden, da in vielen Fällen kein Arzt aufgesucht wird. Einer bereits im Jahre 1983 von KRUG

und REHM durchgeführten Berechnung zu Folge lag die Dunkelziffer bei Erkrankungen mit Salmonellen im Jahre 1978 um das etwa 12,4fache höher als die in den Statistiken verankerten Zahlen. Neueren Studien zufolge kann sie sogar bei 90 bis 97 % liegen. Schätzungsweise werden nur zehn bis 20 % aller salmonellenbedingter Erkrankungen gemeldet (KIEHL, 2004).

Enteritische Salmonellen finden sich im Tierreich vor allem bei Geflügel, Rindern und Schweinen und führen häufig zu symptomlosen, chronisch-subklinischen Verläufen.

Das erschwert die Bekämpfung der Salmonellen sehr, weil es trotz regelmäßigen Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen immer wieder zur Neukontamination von Ställen, Weiden und Tränken durch Dauerausscheider kommt (HEESEMANN, 2001; ROLLE und MAYR, 2002).

Bei Jungtieren dagegen können Fieber, starke Durchfälle und verminderte Futteraufnahme zu massiven Verlusten führen (KLEER, 2004).

Die Rindersalmonellose ist nach dem deutschen Tierseuchengesetz anzeigepflichtig (TierSG, 2004). Im Jahr 2011 wurden in Deutschland insgesamt 109 Ausbrüche verzeichnet (FLI, 2012).

Für Geflügelbetriebe, die Junghennen bis zur Legereife halten, besteht Impfpflicht gegen *S. enteritidis* und *S. typhimurium*.

Da es in Deutschland kaum salmonellenfreie Mastschweinebestände gibt, wurde im Jahre 2002 ein deutschlandweites Monitoring eingeführt, in dessen Rahmen die Betriebe in verschiedene Kategorien eingeteilt werden. Fleisch von Tieren aus besonders stark belasteten Beständen ist kennzeichnungspflichtig (KLEER, 2004).

Hunde können als symptomlose Träger über lange Zeiträume Salmonellen ausscheiden, allerdings nur geringe Mengen von etwa 10^2 KBE/g Kot, was bei gesunden Tieren und Menschen nicht im infektiösen Bereich liegt. Salmonelleninfektionen können sich bei Hunden auf Grund der starken Verdauungsenzyme nur in Kombination mit anderen immunsupprimierenden Faktoren etablieren. Zudem ist eine Aufnahme von mindestens 10^6 bis 10^9 KBE/g Salmonellen notwendig.

Häufig sind im Krankheitsfall Durchfälle oder Brechdurchfälle, aber auch akute Sepsen und Enterotoxämien treten auf. Bei trächtigen Hündinnen kann es zu Aborten kommen, Welpen zeigen gelegentlich Lebensschwäche (SCHAFFERT, 1978; ROLLE und MAYR, 2002; EIKMEIER und NOLTE, 1995; HARTMANN, 2006).

Als Infektionsquellen für Hunde kommen kontaminierte Futtermittel wie rohes Fleisch und Innereien oder getrocknetes Kauspielzeug aus Tierkörperteilen in Frage (MEYER und ZENTEK, 2005).

In Deutschland kann mit einer Durchseuchungsrate von zwei bis fünf Prozent der Hunde gerechnet werden. Die Prävalenz verschiedener Untersuchungen schwankt aber zwischen Null und 36 % (QUINN et al., 1997).

2.8.5 *Cryptosporidium parvum*

Der weltweit verbreitete Parasit *Cryptosporidium parvum* gehört, genau wie *Neospora caninum*, zum Stamm der Apicomplexa. Eine enge Verwandtschaft muss aber nach Untersuchungen der ribosomalen RNA angezweifelt werden (JOHNSON et al., 1990).

Durch eine geringe Wirtsspezifität konnten verschiedene Genotypen von *C. parvum* bisher in über 40 Wirbeltierarten nachgewiesen werden (LUCIUS und LOOS-FRANK, 2008; TENTER, 2006). Ihre Oocysten sind mit einer Größe von etwa 5,0 x 4,5 µm die kleinsten vom Stamm der Apicomplexa.

Der einwirtige Zyklus von *C. parvum* beginnt mit der faeco-oralen Aufnahme der Oocysten, die im Dünndarm die Sporozoiten entlassen. Die Sporozoiten siedeln sich an der Oberfläche der Mikrovilli von den Darmepithelzellen an („intrazellulär aber extrazytoplasmatisch“) und bilden in einer inneren Vakuole zwei Schizontengenerationen mit je acht Merozoiten aus (Schizogonie). Die frei gelassenen Merozoiten der ersten Generation können nun ihrerseits wieder neue Darmzelloberflächen befallen und erneut eine Schizogonie auslösen, während die Merozoiten der zweiten Generation in der Phase der Gamogonie zu Mikro- und Makrogameten werden.

Bei der Sporogonie werden durch Verschmelzen von Oocysten- und Sporocystenhülle Oocysten mit je vier Sporozoiten gebildet.

Nun können die dickwandigen Oocysten (80 %) entweder direkt mit dem Kot ausgeschieden werden oder es kommt zu einer Autoinfektion, bei der die Sporozoiten noch im Darm des Wirts von den dünnwandigen Oocysten (20 %) entlassen werden, um den Zyklus mit einer erneuten Schizogonie zu vervollständigen.

Cryptosporidium ist der einzige Vertreter der Kokzidien, dessen Oocysten bereits sporuliert an die Umwelt abgegeben werden und deshalb auch sofort infektiös sind. Die schädigende Wirkung der Kryptosporidien tritt bei der Anheftung an das Darmepithel ein, wodurch der Bürstensaum beschädigt oder sogar komplett verdrängt wird. Es kommt zu

Funktionsstörungen der Darmschleimhaut. Die Darmzotten verkürzen und verkleben, was zu einer Verkleinerung der Darmoberfläche führt. Dadurch kann Futter nur noch schlecht aufgenommen und verwertet werden (MEHLHORN und PIEKARSKI, 2002; LUCIUS und LOOS-FRANK, 2008).

Oocysten, die an die Umwelt abgegeben werden, sind mit einer überaus widerstandsfähigen Wand aus drei Membran- und zwei Chitinschichten ausgestattet.

Bestens geschützt gegenüber Umwelteinflüssen und vielen Chemikalien, können sie bis zu zwei Jahre infektiös bleiben.

In feuchter Umgebung überleben Oocysten bei 4 °C sechs, bei Zimmertemperatur immerhin noch vier Monate. Erst Temperaturen unter -18 °C und über 65 °C töten sie wirksam ab.

Die üblichen Desinfektionsmittel zeigen keine Wirkung. Auf Austrocknung reagieren die Oocysten jedoch empfindlich. So sind nach einstündiger Trocknung bei Zimmertemperatur bereits 80 % der Oocysten abgetötet.

Am effektivsten ist die Desinfektion mittels Dampfstrahl (130 kg/cm³) (LUCIUS und LOOS-FRANK, 2008; TENTER, 2006; BÜLTE, 2004; ROBERTSON et al., 1992).

Ein großes Problem stellt die Kryptosporidiose bei Kälbern dar, die nach wie vor zu massiven Verlusten in Aufzuchtbetrieben führen kann, sei es durch Gewichtsverlust oder eine zum Teil erhebliche Anzahl an Todesfällen. Die Durchseuchungsrate kann bei bis zu 100 % liegen. Die Zahlen schwanken von Betrieb zu Betrieb jedoch meist stark.

Die Anzahl der ausgeschiedenen, infektiösen Stadien ist extrem hoch (mehrere Milliarden Oocysten pro Kilogramm Rinderkot), da die Wahrscheinlichkeit der oralen Aufnahme als eher gering einzustufen ist. Aus diesem Grund reicht bereits die Aufnahme kleiner Mengen Oocysten aus, um eine Infektion auszulösen (TENTER, 2006).

Betroffen sind vor allem Jungtiere in den ersten vier Lebenswochen. Bei älteren Tieren verläuft eine Erkrankung meist milder. Es kommt zu schweren, wässrigen Durchfällen mit typisch gelblich-grüner Farbe, durch die die Kälber täglich bis zu acht Liter Flüssigkeit verlieren können. Klinische Symptome zeigen sich bereits nach vier Tagen und können bis zu 14 Tage andauern. Bei Jungtieren ist eine Aufnahme von zehn bis 100 Oocysten zur Etablierung einer Infektion ausreichend (LUCIUS und LOOS-FRANK, 2008).

Infektionen mit *C. parvum* sind zwar medikamentös behandelbar. Den besten Schutz bietet jedoch die Gabe von ausreichend Kolostrum (drei bis vier Liter in den ersten Lebensstunden), was allerdings bei 50-80 % der Kälber nicht praktiziert wird (KUNZ, 2009).

Außerdem sollte prophylaktisch ein hoher Hygienestandard in den Abkalbe- und Kälberboxen gegeben sein (LUCIUS und LOOS-FRANK, 2008; TENTER, 2006).

In Beständen mit hohen Durchseuchungsraten bei den Kälbern konnten oft die erwachsenen Rinder als symptomlose Dauerausscheider identifiziert werden (SCOTT et al., 1994).

Ein ähnlich bedeutsames Krankheitsgeschehen ist bei Schafen auszumachen. Die Befallsrate schwankt hier zwischen sieben und 43 % (TENTER, 2006).

Bei Schweinen sind ebenfalls vor allem Jungtiere im Alter zwischen fünf und acht Wochen betroffen. Die Oocysten stammen oft vom porcinen Genotyp von *C. parvum*. Sie gehören eventuell sogar einer eigenen Art an (DAUGSCHIES, 2006).

Bei 35 in Ohio und Kentucky untersuchten Fohlen ergab sich eine Befallsrate von 71 %, generell ist der Wert bei Pferden aber geringer (TENTER, 2006; TENTER und DEPLAZES, 2006).

Bei Hunden parasitieren mindestens zwei Arten von Kryptosporidien, *C. parvum* und das erst vor kurzem beschriebene *C. canis* (LINDERGARD et al., 2003).

Betroffen sind Tiere aller Altersstufen, wobei eine Infektion bei erwachsenen, gesunden Tieren symptomlos verläuft, während es bei Welpen und immunschwachen Tieren zu klinischen Erkrankungen kommen kann, häufig in Verbindung mit anderen Erkrankungen wie der Hundestaupe. Bei Untersuchungen konnte der Parasit vor allem im Dünndarm gefunden werden. Dort zerstört er den Saum der Mikrovilli, bei starkem Befall auch die Epithelzellschicht. Zum Ausbruch der Krankheit kommt es etwa zwei bis 14 Tage nach Aufnahme der Oocysten. Die Oocystenausscheidung kann bis zu 80 Tage andauern.

Kryptosporidieninfektionen konnten bei Hunden weltweit nachgewiesen werden.

Die Prävalenz kann bei bis zu 45 % liegen, wobei die Werte allerdings von Land zu Land stark schwanken.

Das Zusammenleben mit einem Hund erhöht die Gefahr einer Infektion mit Kryptosporidien für den Menschen vermutlich nicht und auch Rinder lassen sich mit *C. canis* nur künstlich infizieren (TENTER und DEPLAZES, 2006; LINDSAY und ZAJAC, 2004; CASEMORE et al., 1997).

Auf dem Gebiet der Humanmedizin sind vor allem immunsupprimierte Menschen wie HIV-Patienten gefährdet, da diese besonders anfällig sind und oft die schweren Durchfälle, die mit der Infektion einhergehen, nicht überleben. Laut Statistik ist *C. parvum* in drei Prozent der Todesfälle von HIV-Patienten die direkte Ursache. Bei immunkompetenten Personen dagegen sind die profusen, wässrigen Durchfälle in der Regel selbstlimitierend.

Als Hauptübertragungsweg gilt der direkte Kontakt zu infizierten Menschen und Tieren (BÜLTE, 2004). Die mittlere Infektionsdosis des Menschen liegt bei rund 130 Oocysten, unter bestimmten Voraussetzungen genügen aber auch 30 Oocysten oder weniger (DUPONT et al., 1995; CAREY et al., 2004).

Als Zoonoseerreger spielt der bovine Genotyp von *C. parvum* die größte Rolle. Bei immunsupprimierten und immunkompetenten Personen konnten aber auch schon *C. felis*, *C. canis* und *C. muris* nachgewiesen werden (PEDRAZA-DIAZ et al., 2001).

Als opportunistische Erreger vermehren sich Kryptosporidien durch Autoinfektionen. Erschwerend kommt hinzu, dass die gegen andere Apikomplexa gängigen Medikamente bei *C. parvum* keine Wirkung zeigen. In Europa sind etwa 1,5 % der Bevölkerung Ausscheider der Oocysten, meist Kinder unter sechs Jahren (LUCIUS und LOOS-FRANK, 2008; TENTER und DEPLAZES, 2006).

C. parvum gehört zu den Erregern der sogenannten „Water-Born Diseases“, also zu den Krankheiten, die über das Wasser verbreitet werden. Da infizierte Tiere eine enorme Menge Oocysten ausscheiden, ist die Wahrscheinlichkeit hoch, dass diese auch in Oberflächengewässer und sogar in das Grundwasser gelangen. Eine übliche Trinkwasseraufbereitung durch Filtration und Chlorung überstehen die Oocysten unbeschadet.

Im Jahre 1993 waren bei einer trinkwasserbedingten Epidemie im US-Bundesstaat Milwaukee über 400.000 Menschen erkrankt.

In Deutschland wurden im Jahre 2011 942 Fälle verzeichnet (LUCIUS und LOOS-FRANK, 2008; TENTER und DEPLAZES, 2006; RKI, 2012)

2.8.6 *Neospora caninum*

Der im Jahre 1984 erstmals in Norwegen aufgetauchte, aber erst im Jahre 1988 beschriebene, einzellige Parasit *Neospora caninum* stammt aus der Familie der Isosporidae und hat einen heteroxenen (mehrwirtigen) Vermehrungszyklus. Vor dem Jahr 1988 wurden Erkrankungen mit *N. caninum* fälschlicherweise als Toxoplasmose diagnostiziert, da *N. caninum* sehr nahe mit *Toxoplasma gondii* verwandt ist.

Die mit dem Kot der Endwirte (Hunde oder Kojoten) ausgeschiedenen, rund 10 µm großen Oocysten sporulieren innerhalb von drei Tagen in der Umwelt und sind dort dank ihrer dicken Zellwand lange überlebensfähig. Sporulierte Oocysten enthalten zwei Sporocysten mit jeweils vier Sporozoiten und werden vom Zwischenwirt (z.B. Rinder, Schafe, Ziegen, Pferde,

Füchse oder andere Hunde) oral mit dem Futter oder Trinkwasser aufgenommen. Im Zwischenwirt werden zunächst die in parasitophoren Vakuolen liegenden Tachyzoiten gebildet, die im gesamten Zwischenwirt zu finden sind.

Anschließend bilden sich dickwandige Gewebszysten aus, deren Lage sich auf das Nervengewebe und teilweise die Muskulatur beschränkt. Diese Gewebszysten enthalten etwa 50 bis 200 Bradyzoiten und verbleiben als Dauerstadien im Wirt (LUCIUS und LOOS-FRANK, 2008).

Um den Kreislauf zu schließen, muss der Endwirt zystenhaltiges Fleisch des Zwischenwirts aufnehmen, um dann erneut unsporulierte Oocysten auszuscheiden.

Bei Hunden scheinen die meisten Infektionen durch die horizontale Übertragung, also durch die orale Aufnahme von zystenhaltigem Gewebe, ausgelöst zu werden. Prophylaktisch sollte auf die Verfütterung von rohem Fleisch, Schlacht- und Jagdabfällen verzichtet werden. Die eindeutig bewiesene intrauterine Übertragung spielt bei Hunden eine geringere Rolle als bei Rindern (LUCIUS und LOOS-FRANK, 2008; EIKMEIER und NOLTE, 1995; TENTER und DEPLAZES, 2006; STAUB, 2004).

Konnatal infizierte Welpen zeigen die deutlichsten Symptome, meist in Form von Muskelschwäche oder Lähmungen, wohingegen die Infektion bei ausgewachsenen Hunden in der Regel latent verläuft. Je früher mit einer medikamentösen Behandlung begonnen wird, desto besser sind die Chancen auf eine vollständige Genesung, wobei die Prognose bei langsam voranschreitender Erkrankung deutlich besser ist als bei einem akuten Verlauf.

In Deutschland kann bei Hunden von einer Seroprävalenz von vier bis elf Prozent ausgegangen werden, wobei genaue Zahlen über Oocystenausscheider bislang fehlen (TENTER und DEPLAZES, 2006; STAUB, 2004).

Die Tatsache, dass *N. caninum* nachweislich Aborte bei Rindern verursachen kann, führt häufig zu Konflikten zwischen Landwirten und Hundehaltern, da der Parasit mit dem Hundekot an die Umwelt gelangt und so eine potenzielle Infektionsquelle für Rinder darstellt. Da es derzeit noch keine Heilung für infizierte Rinder gibt, sollten Hunde vorsorglich von Weideflächen, Tränken und Futter sowie Abort- und Nachgeburtsmaterial der Rinder fern gehalten werden.

Mittlerweile gelten Infektionen mit *N. caninum* als häufigste Abortursache weltweit.

Seit dem Auftreten der ersten Fällen im Jahre 1989 sind allein in den USA rund 45 % der Rinderaborte auf eine Infektion mit *N. caninum* zurück zu führen, in Europa schwanken die

Zahlen zwischen zehn und 42 %. In der Schweiz gehört die Neosporose der Rinder zu den überwachten Tierseuchen (TENTER und DEPLAZES, 2006; BAUER, 2006a).

Das Friedrich-Loeffler-Institut (FLI) belegt in verschiedenen Studien, dass die Gefahr einer Übertragung durch Hundekot als sehr gering einzustufen ist. Das liegt zum einen daran, dass die meisten Infektionen mit *N.caninum* diplazentar, also von der Mutterkuh auf ihr Kalb, erfolgen und zum anderen, weil sich der Parasit nur selten in Hundekot finden lässt.

So wurden bei einer Untersuchung von 24.089 Hundekotproben in lediglich sieben (0,03 %) *N. caninum* festgestellt (SCHARES und CONRATHS, 2004; TENTER und DEPLAZES, 2006).

Eine vom FLI erstellte Risikobewertung ergab zudem, dass mindestens 87 Hunde eine Weidesaison lang zwei bis fünf Mal wöchentlich auf ein und derselben Wiesenfläche abkoten müssten, um zumindest ein kleines Risiko für einen einzigen *N. caninum*-bedingten Abort bei Rindern darzustellen. Selbst diese Annahme dürfte aber auf Grund der Arbeit mit dem „Worst-Case“-Szenario noch zu hoch gegriffen sein (SCHARES et al., 2006).

3 MATERIAL UND METHODEN

In diesem Kapitel sind die angewandten Untersuchungsmethoden ausführlich beschrieben und alle verwendeten Materialien aufgeführt.

Diese Untersuchungen sollten zum einen tatsächliche Werte zur Verschmutzungen mit Hundekot auf landwirtschaftlich genutzten Grünflächen, die der Futtergewinnung dienen, liefern.

Zum anderen wurde die Resistenzsituation von aus Hundekot stammenden *Escherichia coli*- und *Salmonella*-Isolaten gegenüber diverser Antibiotika überprüft. Vor dem Hintergrund der Futtermittelhygiene wurden außerdem ausgewählte Erreger in Siliergut eingebracht und ihre Tenazität während der Milieuänderung durch den Silierungsprozess verfolgt.

3.1 Vorbereitung der umwelthygienischen Untersuchungen

Die umwelthygienischen Untersuchungen dienten der Ermittlung der tatsächlichen Belastung landwirtschaftlich genutzter Grünflächen mit Hundekot. Bislang existieren hierfür lediglich Schätzwerte bzw. wurde wie in der Risikobewertung des FLI (SCHARES et al., 2006) das sogenannte „worst-case“-Szenario herangezogen, das vom realen Wert häufig stark abweicht.

Im Rahmen der Flächenuntersuchungen wurde außerdem stichprobenartig Hundekot aufgesammelt und im Labor mikrobiologisch auf die Konzentrationen bzw. die Anwesenheit von *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, Salmonellen und die Gesamtbakterienzahl hin untersucht.

3.1.1 Der Landkreis Böblingen

Die Untersuchungen der landwirtschaftlich genutzten Grünlandflächen fanden ausschließlich im baden-württembergischen Landkreis Böblingen statt.

Geographisch ist der Landkreis Böblingen mit einer Größe von knapp 62.000 ha relativ zentral südlich der Landeshauptstadt Stuttgart in Baden-Württemberg gelegen. Die Verwaltungsverantwortung liegt beim Regierungspräsidium Stuttgart (Land BW, 1978). Von der Gesamtfläche werden mit knapp 47.500 ha rund 77 % land- oder forstwirtschaftlich genutzt, 1252 ha sind als Grünanlagen zur Naherholung ausgewiesen (STALA-BW, 2011).

Landschaftlich geprägt ist der Landkreis Böblingen vor allem durch den Schönbuch im östlichen Teil und das Heckengäu im Westen aber auch durch die Ausläufer des Glemswaldes und des Schwarzwaldes (LRA BB, 2011).

Der seit 1938 existierende Landkreis besteht in seiner heutigen Form seit Mitte der Siebziger Jahre und umfasst insgesamt neun Städte, darunter die große Kreisstadt Böblingen, und 17 Gemeinden, die zum Teil noch in weitere Teilorte untergliedert sind (Land BW, 1978).

Die Einwohnerzahl stieg in den vergangenen 40 Jahren kontinuierlich auf etwa 373.000 an (STALA-BW, 2011).

Im Landkreis Böblingen wurden im Jahr 2009 rund 11.000 Hunde gehalten, also 2,95 Hunde pro 100 Einwohner. Diese Zahl dürfte aber höher liegen, da längst nicht alle Hunde bei den jeweils zuständigen Städten und Gemeinden gemeldet sind.

Die Höhe der Hundesteuer im Landkreis beträgt durchschnittlich 99,60 EUR und schwankt dabei zwischen 72 und 120 EUR (ANONYM, 2009c).

3.1.2 Abfrage zu den Maßnahmen der Städte und Gemeinden im Landkreis Böblingen zur Eindämmung der Hundekotproblematik

Zunächst wurden alle 26 Städte und Gemeinden des Landkreises Böblingen per E-Mail kontaktiert worden. In dieser E-Mail wurde zunächst kurz das Vorhaben der Flächenuntersuchungen erläutert und dann die aktuellen Einwohnerzahlen und die Anzahl der gemeldeten Hunde erfragt.

Von besonderem Interesse waren die typischen Hundeausführstrecken rund um die einzelnen Städte und Gemeinden sowie die eventuellen Maßnahmen im Umgang mit der Hundekotproblematik.

3.1.3 Erstellung eines Fragebogens

Zur Vorbereitung der Flächenuntersuchungen wurde ein an Hundehalter gerichteter Fragebogen erstellt, der einen Überblick über die Ausführ-, Abkot- und Fütterungsgewohnheiten ihrer Hunde liefern sollte.

Die daraus gewonnenen Informationen sollten dem weiteren Verlauf der Arbeit dienlich sein und nach Abschluss der umwelthygienischen und mikrobiologischen Untersuchungen mit den gewonnenen Ergebnissen verglichen werden. Besondere Beachtung wurde dabei dem

Vergleich der Aussagen der Hundehalter gegenüber dem tatsächlichen Grad der Verschmutzung mit Hundekot auf den untersuchten Flächen geschenkt.

Damit der Fragebogen auf die Probanden möglichst ansprechend wirkte, umfasste er lediglich zehn Fragen, von denen die meisten durch Ankreuzen zu beantworten waren.

Auf jedem Fragebogen waren außerdem das Siegel der Universität Hohenheim sowie Kontaktdaten für eventuelle Rückfragen. Ein Fragebogen ist exemplarisch im Anhang auf Seite A 3 zu finden.

Begonnen wurde mit vier allgemein gehaltenen Fragen zu Alter, Rasse und Geschlecht des Hundes sowie zur Altersgruppe des Hundehalters.

Anschließend folgten vier Fragen zum Ausführ- und Abkotverhalten. Dabei war von Interesse, ob die Hunde beim Spaziergang unangeleint laufen dürfen und wie sie sich auf landwirtschaftlich genutzten Grünflächen bewegen. Des Weiteren wurde nach den bevorzugten Abkotstellen der Hunde sowie der Bereitschaft der Halter zum Entfernen des Kots gefragt.

Die beiden abschließenden Fragen bezogen sich auf die Fütterung im Hinblick auf die Infektionsgefahr durch rohes bzw. unzureichend erhitztes Fleisch.

Um in möglichst kurzer Zeit möglichst viele Hundehalter zu erreichen, fiel die Wahl der Umfrageorte auf die Wartezimmer von fünf Tierarztpraxen sowie einem Fachgeschäft für Heimtiere, bei denen die Fragebögen rund drei Monate ausgelegt waren.

3.1.4 Auswahl der Grünlandflächen

Zur Untersuchung der tatsächlichen Belastung landwirtschaftlicher genutzter Grünflächen mit Hundekot wurden innerhalb des Landkreises Böblingen geeignete Flächen ausgewählt und die darauf gefundenen Hundekothaufen gezählt.

Zunächst wurden sechs Kategorien festgelegt, in die Flächen eingeteilt wurden:

1. Siedlungsnah (max. 500 m von Siedlungen entfernt / direkt an Siedlungsgebiete anschließend) **an** typischen Hundeausführstrecken
2. Siedlungsnah (max. 500 m von Siedlungen entfernt / direkt an Siedlungsgebiete anschließend) **nicht an** typischen Hundeausführstrecken
3. Siedlungsfern (mehr als 500 m von Siedlungen entfernt) **an** typischen Hundeausführstrecken

4. Siedlungsfern (mehr als 500 m von Siedlungen entfernt) **nicht an** typischen Hundeausführstrecken
5. Waldnah (Waldlichtung / Waldrand) **an** typischen Hundeausführstrecken
6. Waldnah (Waldlichtung / Waldrand) **nicht an** typischen Hundeausführstrecken

Pro Kategorie wurden jeweils zwei Flächen bestimmt, um eine Vergleichsmöglichkeit zu erhalten, so dass insgesamt zwölf Flächen je vier Mal in einem Jahr untersucht wurden.

Die Auswahl der Flächen erfolgte per Zufall oder anhand der Auskünfte der einzelnen Städte und Gemeinden. Um das Endergebnis nicht zu verfälschen, wurden nicht nur bekanntermaßen besonders stark belastete Flächen berücksichtigt.

Alle ausgewählten Flächen dienten der Grüngutgewinnung zu Fütterungszwecken.

Eine möglichst gleichmäßige Verteilung über den Landkreis war angestrebt. Durch Kenntnisse der örtlichen Gegebenheiten kam es aber zu einer leichten Ballung im südlichen Teil des Landkreises.

Die Verteilung der untersuchten Grünlandflächen innerhalb des Landkreises Böblingen ist der Abbildung 1 zu entnehmen.

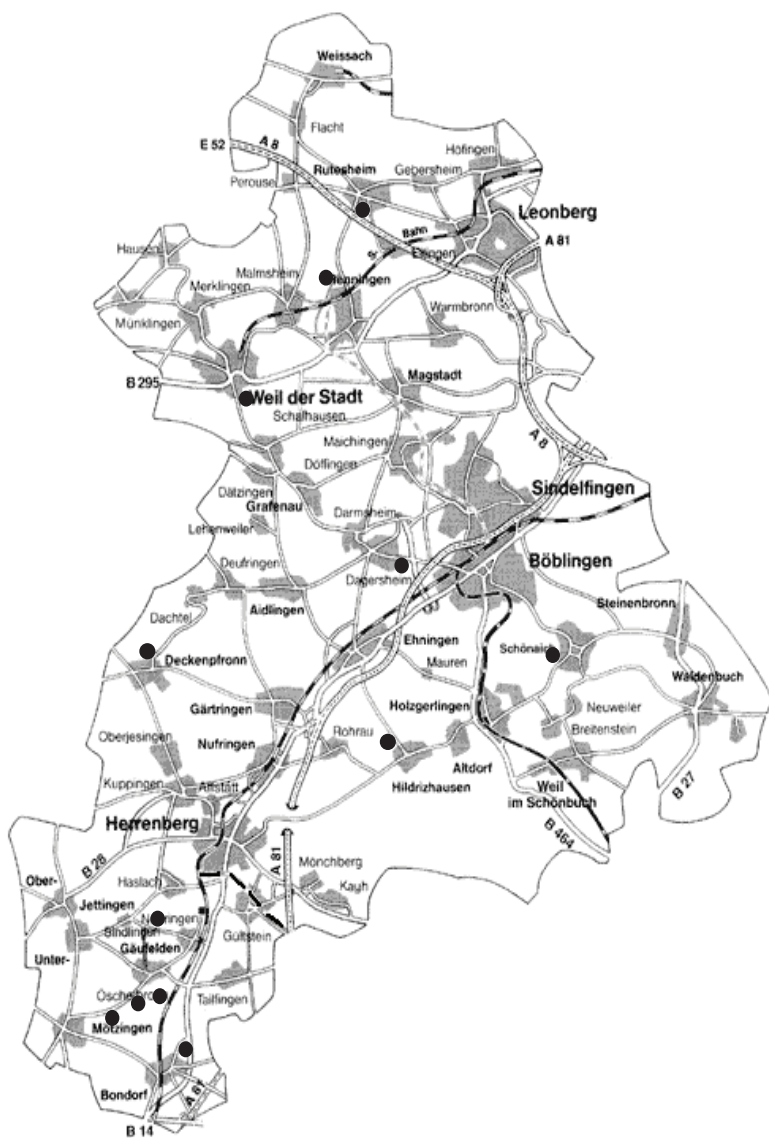


Abb. 1: Geographische Verteilung der untersuchten Grünflächen innerhalb des Landkreises Böblingen

3.1.5 Standortbilder der untersuchten Grünflächen

Nachfolgend sind exemplarisch typische Grünflächen der unterschiedlichen Kategorien wie unter 3.1.4 beschrieben zu sehen.

Auf Abbildung 2 ist eine Fläche zu sehen, die direkt an ein Wohngebiet angrenzt. Eine zukünftige Bebauung der Fläche ist nicht auszuschließen.



Abb. 2: Siedlungsnah, an typischer Hundeausführstrecke

Die nachfolgende Abbildung 3 zeigt eine Grünfläche hinter dem Industriegebiet. Die Fläche liegt mehr als 500 m von der Ortsbebauung entfernt. Günstige Parkmöglichkeiten in der Nähe der Fläche sind nicht vorhanden. Des Weiteren laufen zwei Landesstraßen direkt an der Fläche vorbei, was sich auf die Attraktivität als Ausführstrecke negativ auswirkt



Abb. 3: Siedlungsfern, nicht an typischer Hundeausführstrecke

Die Fläche auf der Abbildung 4 liegt an einem Rundweg durch ein kleines Waldstück, das bequem mit dem PKW zu erreichen ist.



Abb. 4: Waldnah, an typischer Hundeausführstrecke

3.1.6 Wetterdaten für den Untersuchungszeitraum

Die Wetterdaten für den gesamten Untersuchungszeitraum stammen aus den Aufzeichnungen des Deutschen Wetterdienstes. Ausgewählt wurde die dem Versuchsgebiet am nächsten gelegene Wetterstation mit der Kennziffer 10738.

Die Wetterstation liegt geografisch gesehen auf 371 Metern Höhe über Normalnull (ü. NN) bei einem Breitengrad von 48° 41' und einem Längengrad von 09° 13' (DWD, 2010).

In der nachfolgenden Tabelle 3 sind das Mittel der Temperatur in zwei Metern über dem Erdboden (TMM) in Grad Celsius (°C), die Summe der Sonnenscheindauer (SOS) in Stunden (h) und die Summe der Niederschlagshöhe (RSS) in Millimeter (mm) angegeben, da diese Daten für die durchgeführten Untersuchungen am Relevantesten sind.

Tab. 3: Monatliche Wetterdaten für den Zeitraum von 04/2007 bis 04/2010 (DWD, 2010)

Monat	TMM (°C)	SOS (h)	RSS (mm)	Monat	TMM (°C)	SOS (h)	RSS (mm)
04/2010	10	213,4	8,6	09/2008	12,6	123,9	46,5
03/2010	4,8	153,9	29,4	08/2008	17,9	210,2	82,9
02/2010	1,2	60,7	30,0	07/2008	18,6	234,6	69,0
01/2010	-2,1	40,8	28,9	06/2008	17,9	203,0	126,2
12/2009	1,3	60,3	52,8	05/2008	15,6	257,4	58,3
11/2009	7,0	78,5	65,3	04/2008	8,4	116,8	73,3
10/2009	9,0	97,5	55,1	03/2008	5,1	118,5	50,1
09/2009	15,5	177,6	16,1	02/2008	4,0	173,5	18,6
08/2009	19,6	277,0	73,1	01/2008	3,5	84,7	39,2
07/2009	18,8	217,0	126,0	12/2007	0,7	93,4	45,5
06/2009	16,5	226,4	93,3	11/2007	3,4	64,1	74,4
05/2009	15,2	217,3	128,4	10/2007	9,0	136,2	10,1
04/2009	12,2	192,4	35,3	09/2007	12,8	150,0	45,0
03/2009	4,7	88,6	65,5	08/2007	17,6	209,1	49,6
02/2009	0,7	60,1	34,1	07/2007	18,2	219,4	77,6
01/2009	-2,3	119,2	21,2	06/2007	17,9	229,2	163,7
12/2008	0,9	58,2	29,9	05/2007	15,2	217,5	127,3
11/2008	4,8	79,1	24,1	04/2007	13,2	345,7	0,4
10/2008	9,5	117,0	85,8				

TMM: Temperaturmittelwert zwei Meter über dem Erdboden in °C

SOS: Summe Sonnenscheindauer in h

RSS: Summe Niederschlagshöhe in mm

In dem nachfolgenden Schaubild Abbildung 5 sind die Temperaturdaten für den Zeitraum der stattgefundenen Untersuchungen veranschaulicht dargestellt.

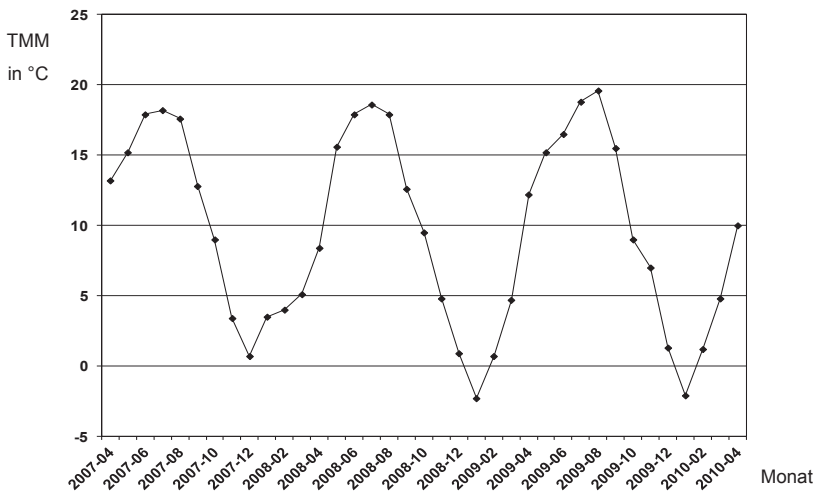


Abb. 5: Darstellung der Wetterdaten: Mittlere Temperaturwerte in °C (DWD, 2010)

Nachfolgendes Schaubild 6 stellt die Anzahl der Sonnenscheinstunden für den Zeitraum der stattgefundenen Untersuchungen dar.

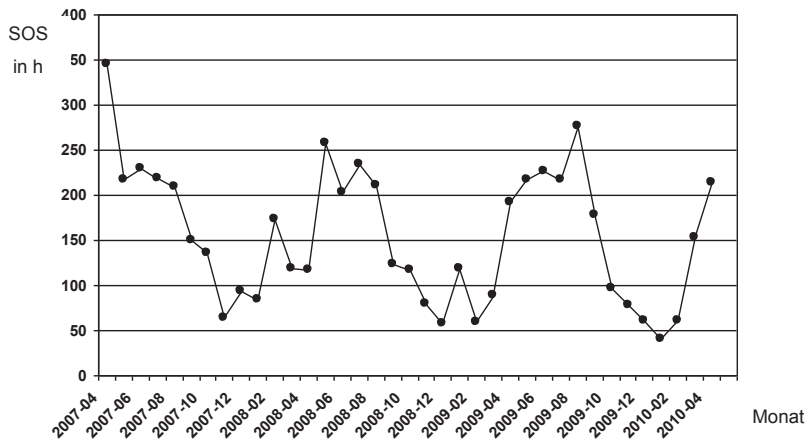


Abb. 6: Grafische Darstellung der Wetterdaten: Summe der Sonnenscheinstunden in h (DWD, 2010)

In Abbildung 7 ist die Niederschlagsmenge für den Zeitraum der stattgefundenen Untersuchungen dargestellt.

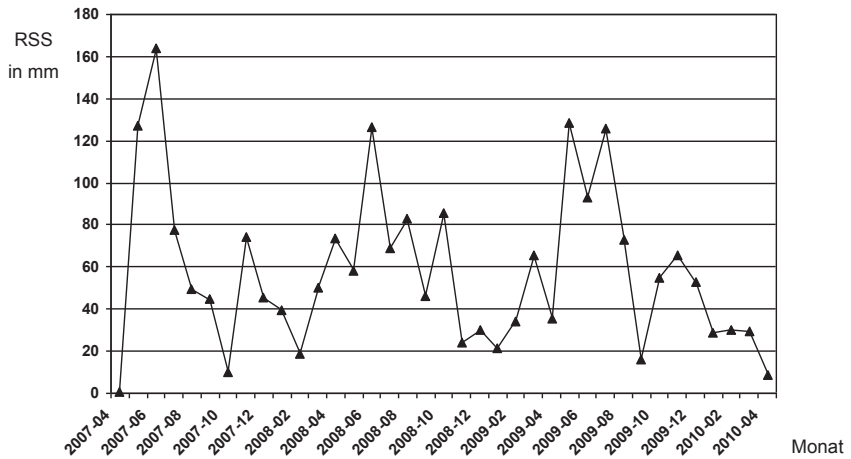


Abb. 7: Grafische Darstellung der Wetterdaten: Niederschlagsmenge in mm (DWD, 2010)

3.2 Vorbereitung der Resistenztests

In diesem Untersuchungsabschnitt sollten aus Hundekot stammende Salmonellen- und *E. coli*-Isolate auf Resistenzen bzw. verminderte Empfindlichkeiten gegen ausgewählte Antibiotika hin überprüft werden. Der Hintergrund ist die durch diverse Studien belegte Übertragung von antibiotikaresistenten bakteriellen Krankheitserregern zwischen Hunden und anderen Tieren sowie dem Menschen (siehe 2.5). Die Ergebnisse sollten einen kleinen Überblick über die aktuelle Resistenzsituation von *E. coli*- und, soweit möglich, auch von Salmonellen-Isolaten aus dem Hundedarm gegenüber einigen in der Veterinärmedizin häufig zur Anwendung kommenden Antibiotika liefern.

Der Hundekot stammte von Tierheimhunden aus dem Raum Stuttgart, bei denen, im Gegensatz zu zufällig gesammeltem Hundekot, eine Krankenakte mit eventuell vorausgegangenen antibiotischen Behandlungen vorhanden war. Der Kot war zu Beginn der Versuche maximal einen Tag alt.

Die zu testenden Antibiotika wurden anhand von GERMAP 2008, einem Bericht über den Antibiotikaverbrauch und die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen in der Human- und Veterinärmedizin in Deutschland ausgewählt (GERMAP, 2008). Die Wahl fiel auf fünf Antibiotika aus verschiedenen Wirkstoffgruppen:

Ampicillin (AMP) aus der Wirkstoffgruppe der Penicilline, aus der Wirkstoffgruppe der Cephalosporine Cephalothin (CEF), der ausschließlich in der Veterinärmedizin eingesetzte Gyrasehemmer Enrofloxacin (ENR), das aus der Wirkstoffgruppe der Sulfonamide stammende Sulfamethoxazol (SUL) und Tetracyclin (TET) aus der gleichnamigen Wirkstoffgruppe.

3.3 Vorbereitung der mikrobiologischen und parasitologischen Untersuchungen von Silage

In den nachfolgend beschriebenen Versuchen wurde die Tenazität der in Hundekot vorkommenden Bakterien *Clostridium perfringens*, *Enterococcus faecalis* und *Salmonella* Senftenberg sowie des Parasiten *Cryptosporidium parvum* während des Silierungsprozesses untersucht. Mit den Ergebnissen dieses Versuchs konnte anschließend eine Aussage über die erregerreduzierende Wirkung der während der Silierung ablaufenden Prozesse sowie die Überlebensfähigkeit der eingebrachten Erreger getroffen werden.

Die verwendeten Mikroorganismen wurden ausgewählt, da sie sowohl bei Hunden und anderen Tieren als auch beim Menschen Erkrankungen hervorrufen können. So erkrankten an einer durch *S. Senftenberg* verursachten Enteritis im ersten Halbjahr 2008 deutschlandweit 58 Menschen (RKI, 2008).

Nähere Informationen zu Krankheiten die im Zusammenhang mit *C. perfringens* und *E. faecalis* sowie dem Parasiten *C. parvum* stehen sind unter den Punkten 2.8.1, 2.8.2 und 2.8.5 zu finden.

3.3.1 Vorbereitung des Silierguts

Die Vorgehensweise der Silageuntersuchung orientierte sich an den Vorgaben des Landwirtschaftlichen Zentrums für Rinderhaltung, Grünlandwirtschaft, Milchwirtschaft, Wild und Fischerei Baden-Württemberg (LAZBW) in Aulendorf, das diesen Versuchsaufbau standardisiert hat.

Zunächst wurden die genauen Zeitpunkte der einzelnen Probenahmen mittels eines Versuchsplans festgelegt. Daraus konnte dann auf die Menge des für den Versuch benötigten Materials geschlossen werden.

Gemäß diesem Versuchsplan wurde bereits wenige Stunden nach dem Einsilieren die Wiederfindungsrate der eingesetzten Mikroorganismen anhand der sogenannten Nullprobe ermittelt. Zu diesem Zeitpunkt hatte noch keine nennenswerte Milieuänderung durch den Silierungsprozess stattgefunden.

Die erste Probenahme fand zwei Wochen nach Versuchsbeginn statt, damit eventuelle Konzentrationsänderungen der Bakterien frühzeitig nachgewiesen werden konnten. In der Silage herrschte nach dieser Zeit bereits ein anaerobes Milieu. Die Milchsäureproduktion hatte eingesetzt und der pH-Wert senkte sich langsam ab.

Die zweite Probe wurde vier Wochen nach der Einsilierung entnommen was in der Praxis dem frühesten Zeitpunkt entspricht an dem eine Silage verfüttert werden kann.

Nach sechs Wochen, dem empfohlenen Zeitpunkt, um Silage erstmals zu verfüttern, wurde zum dritten Mal Probenmaterial untersucht.

Die vierte Probenahme fand nach 90 Tagen statt, was der Standarddauer von Silageversuchen am LAZBW entspricht.

Die fünfte und sechste Probenahme erfolgten sechs bzw. neun Monate nach Versuchsbeginn. Diese Zeitpunkte entsprechen der generellen bzw. der maximalen Lagerdauer von Silage.

Für den in dieser Arbeit durchgeführten Versuch wurden 45 Einmachgläser mit einem Volumen von jeweils 1,5 Liter benötigt. Für jedes Glas waren außerdem ein Deckel, zwei Spannbügel und ein Gummiring zur Abdichtung erforderlich. Die Gläser und Deckel wurden vor Versuchsbeginn sterilisiert.

Zunächst wurde jedes Einmachglas etikettiert, beschriftet und komplett mit Deckel, Spannbügeln und Gummiring gewogen, um das jeweilige Leergewicht zu ermitteln.

Am Morgen der Befüllung der Einmachgläser wurde ein rund ein Ar großes Stück Weidefläche maschinell gemäht und das Gras zum Anwelken gleichmäßig ausgebreitet.

Das Siliergut wurde etwa fünf Stunden unter direkter Sonneneinstrahlung und stündlichem Wenden angewelkt. Nach dieser Zeit war ein TS-Gehalt von etwa 35 % erreicht.

Das angewelkte Siliergut wurde mittels Probenhäcksler auf eine Länge von etwa zwei bis fünf Zentimeter gekürzt, damit sich beim Befüllen der Gläser so wenige Luft einschüsse wie möglich bilden konnten.

Das Siliergut bestand hauptsächlich aus Schwingelgräsern, Wiesenlieschgras, Knautgras, Wiesenrispe, Rotklee, Wiesenlöwenzahn, Hahnenfuß und Spitzwegerich. Das Gras stammte vom ersten Schnitt des Jahres.

3.3.2 Herstellung einer Keimsuspension

Die Bakteriensuspensionen von *Clostridium perfringens*, *Enterococcus faecalis* sowie *Salmonella* Senftenberg stammten aus der institutseigenen Stammsammlung. *C. perfringens* lag im unversporteten Zustand vor.

Mit Hilfe einer sterilen Impföse wurde Bakterienmaterial entnommen und auf jeweils eine Standard-1-Agar-Platte¹² überführt, die dann 24 Stunden lang bei 37 °C bebrütet wurde.

Von den auf den Standard-1-Agar-Platten¹² gewachsenen Reinkulturen wurde eine Kolonie abgenommen, in 50 ml Trypton-Soja-Bouillon (TSB)³¹ überführt und unter Schwenken weitere 24 Stunden lang bei 37 °C bebrütet. TSB³¹ ist ein universelles Nährmedium ohne Inhibitoren oder Indikatoren (OXOID, 2008). Aus dem bebrüteten TSB³¹ wurden je 0,1 ml entnommen, in eine Schottflasche mit 50 ml TSB³¹ überimpft und erneut 24 Stunden bei 37 °C bebrütet. Die Keimkonzentration der Suspensionen lag anschließend zwischen 10^8 und 10^9 KBE/ml.

Da die eingesetzten Bakterienkonzentrationen den natürlichen Konzentrationen in Hundekot entsprechen sollten, musste die Keimsuspension von *C. perfringens* entsprechend in TSB³¹ weiterverdünnt werden.

Die Konzentrationen der Keimsuspensionen betrugen schließlich für *Enterococcus faecalis* $5,9 \times 10^8$ KBE/ml, für *Salmonella* Senftenberg $8,0 \times 10^8$ KBE/ml und für *Clostridium perfringens* $1,6 \times 10^3$ KBE/ml.

Diese Werte entsprachen laut diverser Literaturangaben (SUTTORP et al., 2007; MEYER und ZENITEK, 2005) sowie Erfahrungswerten aus früheren Untersuchungen (EGELER, 2007) etwa den natürlichen Konzentrationen in frisch abgesetztem Hundekot.

3.3.3 Beimpfen des Silierguts mit verschiedenen bakteriellen Erregern

Durch eine Probebefüllung wurde ermittelt, dass jedes Glas 550 g Siliergut fassen konnte.

Nun wurden für jedes zu befüllende Einmachglas 550 g Siliergut abgewogen und mit 20 ml jeder Keimsuspension, also 3×20 ml beimpft. Die Keimsuspensionen sollten dabei die Anwesenheit von Hundekot im Siliergut simulieren. Der Kontrollprobe wurden 60 ml destilliertes Wasser zugegeben.

Die Beimpfung des Silierguts erfolgte in separaten Behältnissen, die hoch genug waren, um das kontaminierte Gras manuell gründlich durchmischen zu können.

Da die drei verwendeten Bakterien *Enterococcus faecalis*, *Salmonella* Senftenberg sowie *Clostridium perfringens* auch in Hundekot gemeinsam vorkommen, wurden alle drei Keimsuspensionen gemischt in die Gläser gegeben.

Das beimpfte Siliergut musste beim Befüllen der Einmachgläser möglichst stark verdichtet werden. Der Druck, der dabei mit der Hand ausgeübt wurde, war aber ausreichend.

Die fertig befüllten und luftdicht verschlossenen Einmachgläser, wie sie in der Abbildung 8 zu sehen sind, wurden für die Dauer des Versuchs bei Raumtemperatur in einem

geschlossenen Schrank gelagert. Laut Aussage des LAZBW in Aulendorf sollte die Temperatur bei der Silagebereitung idealerweise zwischen 20 und 23 °C liegen, Schwankungen von 2-3 °C schaden dem Versuch nicht. Die Lagerung im geschlossenen Schrank sorgte für die notwendige dunkle Umgebung.



Abb. 8: Fertig befüllte Einmachgläser

Im Laufe der Silierung kommt es durch die chemischen Prozesse zu Gewichtsveränderungen. Aus diesem Grund wurden die Einmachgläser über den gesamten Versuchsverlauf hinweg gewogen. Das Wiegen erfolgte zunächst täglich, da es vor allem zu Beginn der Silierung zu stärkeren Gewichtsabnahmen kommt. Die Abstände zwischen den einzelnen Wägungen konnten mit der Zeit vergrößert werden, so dass bereits nach zwei Monaten ein monatlicher Wiegeturnus ausreichend war. Die Wiegeprotokolle sind im Anhang ab Seite A 21 zu finden.

Darüber hinaus wurde der Verlauf des pH-Werts regelmäßig verfolgt. Die einzelnen Werte sind unter 4.3.1.1 aufgeführt.

Neben der Silage wurde zusätzlich ein Einmachglas mit einem Volumen von 1,5 l mit 550 g Quarzsand befüllt. Diese Probe wurde ebenfalls mit allen drei Keimsuspensionen beimpft und unter den gleichen Bedingungen wie die Silageproben gelagert. Die Quarzsandprobe wurde bei der letzten Probenahme nach 36 Wochen mit untersucht, um festzustellen, ob die

Bakterien im Laufe des Versuchs ohnehin abgestorben wären oder ob die Inaktivierung den während der Silierung ablaufenden Prozessen zuzuschreiben war.

Sechs der Kontrollproben, die lediglich mit destilliertem Wasser beimpft waren, wurden drei Monate nach Versuchsbeginn einer Gärssäureanalyse unterzogen, die das LAZBW durchgeführt hat. Die Auswertung mit Hilfe des DLG-Schlüssels zur Grobfutterbewertung Teil B (DLG, 2006) ergab, für die Qualität der Silage aus dem ersten Versuchsdurchgang die Note zwei. Die Silage, die im Rahmen der Untersuchungen mit *Cryptosporidium parvum* hergestellt wurde, konnte sogar die Note 1 erzielen. Die ausführlichen Ergebnisse der Gärssäureanalysen sind im Anhang auf der Seite A 25 in den Tabellen A11 und A12 zu finden.

3.3.4 Herstellung eines Keimträgers für Oocysten von *Cryptosporidium parvum*

In einem weiteren Untersuchungsdurchgang wurden mit den Oocysten des Parasiten *Cryptosporidium parvum* beimpfte Filterkeimträger mit unbehandeltem Siliergut in Einmachgläser gepackt.

Die parasitären Oocysten stellte das Institut für Parasitologie der Veterinärmedizinischen Universität Leipzig freundlicherweise zur Verfügung.

Die Versuchsvorbereitung entsprach dem bereits beschriebenen Verfahren in puncto Vorbereitung des Silierguts, Lagerung der Gläser sowie den Wägungen.

Die Oocystenkonzentration in der Ausgangslösung betrug $5,0 \times 10^7$ Oocysten pro ml. Die Oocysten wurden in 0,9 %-iger NaCl-Lösung¹ verdünnt und aufgeteilt, so dass jeder der benötigten Keimträger mit 1 ml Keimlösung beimpft werden konnte. Die Konzentration nach der Verdünnung lag bei etwa $2,5 \times 10^6$ Oocysten pro ml.

Als Keimträger dienten Cellulose-Nitrat-Filter der Firma Sartorius Stedim Biotech mit einem Durchmesser von 13 mm und einer Porengröße von $3,0 \mu\text{m}$ (Bestell-Nr. 11302-13-N). Die Porengröße war so zu wählen, dass ein hindurch diffundieren der rund $4,5$ bis $5,0 \mu\text{m}$ großen Oocysten ausgeschlossen war. Beimpft wurden die Filter mit Hilfe eines passenden Filtrationsvorsatzes aus Polycarbonat für Einwegspritzen.

1 ml der Oocystenlösung wurde mit einer Einwegspritze aufgezogen. Die Spritze wurde anschließend auf einen Filtrationsvorsatz gesteckt und die Flüssigkeit langsam durch den Filter gepresst. Dieser Vorgang wurde noch einmal mit der in einer Petrischale

aufgefangenen Flüssigkeit wiederholt, um möglichst viele Oocysten auf den Filterkeimträger zu bekommen.

Der beimpfte Filterkeimträger wurde in eine Polycarbonatmembran der Firma Pieper Filter GmbH mit der Porengröße 0,01 µm eingeschweißt, um eine Verteilung der Oocysten in der Silage zu verhindern. Die Polycarbonatmembran war durchlässig für gelöste Stoffe, so dass die Oocysten allen Milieuänderungen durch die während der Silierung ablaufenden Prozesse ausgesetzt waren.

Nachdem die Einmachgläser etwa bis zur Hälfte mit Siliergut gefüllt waren, wurde einer der vorbereiteten Keimträger hinein gelegt, das Glas fertig befüllt und luftdicht verschlossen.

Der Silierungsplan für diesen Versuch sah vor, die Nullprobe am nächsten Morgen nach der Befüllung der Gläser und die erste Probe eine Woche später zu entnehmen. Alle weiteren Probenahmen erfolgten zunächst in zwei-, später in dreiwöchigem Turnus.

3.4 Durchführung der umwelthygienischen Untersuchungen

3.4.1 Zählung der Hundekothaufen auf landwirtschaftlich genutzten Grünlandflächen

Für die Untersuchung geeignete Wiesen, wie sie unter Punkt 3.1.4 beschrieben wurden, sind vom Wegrand aus in verschieden große Abschnitte unterteilt worden.

Es wurde wie folgt unterschieden:

- a) vom Wegrand bis 0,5 m in die Wiese hinein,
- b) 0,6 bis 2,0 m,
- c) 2,1 bis 5,0 m und
- d) 5,1 bis 10,0 m vom Wegrand entfernt.

Die ausgewählten Flächen wurden jeweils auf ihrer gesamten Länge (siehe Tab. A1 im Anhang, Seite A 4) untersucht. Da die Flächen allerdings unterschiedlich lang waren (von 80 m bis 200 m), wurden die Ergebnisse zur Vereinheitlichung später noch auf 100 m² umgerechnet. Auf eine Untersuchung der gesamten Breite der Fläche wurde verzichtet, da weiter vom Wegrand entfernt nur noch vereinzelt mit Hundekot zu rechnen war.

Zur besseren Einschätzung der Verschmutzung der untersuchten Flächen mit Hundekot, wurden die Kothaufen optisch in die Gewichtsklassen „Klein“, „Mittel“ und „Groß“ eingeteilt. Die Einteilung richtete sich nach Erfahrungswerten aus einer vorausgegangenen Arbeit von EGELER (2007). Hundekothaufen der Kategorie „Klein“ hatten ein geschätztes Gewicht von bis zu 130 g, „Mittel“-große Haufen lagen zwischen 131 und 200 g und „Große“ Kothaufen wogen über 200 g. Zur Ermittlung der Kotgesamtmenge wurden jeweils Mittelwerte herangezogen, die für kleine Kothaufen bei 65 g, für mittelgroße Kothaufen bei 160 g und für große Kothaufen bei 250 g lagen.

Die Ergebnisse der Flächenuntersuchungen wurden mit Unterstützung des Fachgebiets für Bioinformatik der Universität Hohenheim ausgewertet.

3.4.2 Mikrobiologische Untersuchung der im Rahmen der Flächenuntersuchungen stichprobenartig gesammelten Hundekotproben

3.4.2.1 Quantitativer Nachweis von *Clostridium perfringens* aus biologischem Material

Nachfolgend ist schrittweise die Methode zum quantitativen Nachweis von *C. perfringens* aus Hundekot beschrieben.

Anreicherung

In 180 ml 0,9 %-ige NaCl-Lösung¹ wurden 20 g Kot eingewogen und unter Schütteln gelöst.

Verdünnungsreihe

Aus der Probenlösung wurde 1 ml entnommen und in 9 ml 0,9 %-ige NaCl-Lösung¹ pipettiert. Die Verdünnungsreihe wurde bis zur Stufe 10^{-6} hergestellt. Aus jeder Verdünnungsstufe wurden 3 x 1 ml in je 9 ml Fluid-Thioglykollat-Medium (FTG)² überimpft. Die Reagenzröhrchen wurden für 20 Minuten in ein 75 °C warmes Wasserbad gestellt, um die Begleitflora zu hemmen und anschließend unter anaeroben Bedingungen, die mit Hilfe von Anaerocult® A³, einer Reagenzmischung zur Erzeugung eines anaeroben Milieus durch chemische Bindung von Sauerstoff (MERCK, 2010b), geschaffen wurden, bei 37 °C für 24 Stunden inkubiert.

FTG² ist ein nicht selektives Anreicherungsmedium, das dem Nachweis verschiedener aerober und anaerober Mikroorganismen aus biologischem Material dient. Die Rotfärbung entsteht durch den Sauerstoffindikator Resazurin. Beim Bebrüten in anaerober Umgebung entfärbt sich das Medium durch Sauerstoffverbrauch (MERCK, 2010a).

Gewinnung der Reinkulturen

Mittels Impfösen wurden alle Verdünnungsstufen, bei denen nach der Inkubationszeit eine deutliche Gasbildung zu sehen war, auf Blut-Glucose-Agar (aus Columbia-Blut-Agar⁴, 5 % Schafsblut⁵ und 2 % Glucose) ausgestrichen und erneut bei 37 °C für 24 Stunden in anaerobem Milieu bebrütet.

Morphologische Identifikation

Vor der Auswertung des Wachstums der Clostridien auf dem Blut-Glucose-Agar wurden die Platten zunächst für einige Stunden einer aeroben Umgebung ausgesetzt, in der sich die Kolonien grünlich verfärbten.

Typische Kolonien waren anhand der Doppelzonenhämolyse, die sie auf Blut-Glucose-Agar zeigen, sowie der beschriebenen Verfärbung eindeutig zu identifizieren.

Auswertung der Ergebnisse

Zunächst wurden die drei höchsten Verdünnungsstufen ermittelt, in denen noch Bakterienwachstum nachgewiesen werden konnte. Dabei sollten in der geringsten Verdünnungsstufe alle drei Agarplatten einer Stufe positiv und in der höchsten Verdünnungsstufe eine oder mehrere Agarplatten negativ sein. Anhand der so gewonnenen Zahlenkombinationen konnten die Bakterienkonzentrationen mit Hilfe der DE MAN-Tabelle (1983) in koloniebildenden Einheiten pro Gramm (KBE/g) Probenmaterial angegeben werden.

3.4.2.2 Quantitativer Nachweis von Enterokokken aus biologischem Material

Nachfolgend ist schrittweise die Methode zum quantitativen Nachweis von *Enterococcus faecalis* aus Hundekot beschrieben.

Anreicherung

In 180 ml 0,9 %-iger NaCl-Lösung¹ wurden 20 g Kot eingewogen und unter Schütteln gelöst.

Verdünnungsreihe

Aus der Probenlösung wurde 1 ml entnommen und in 9 ml 0,9 %-ige NaCl-Lösung¹ pipettiert. Die Verdünnungsreihe wurde bis zur Stufe 10⁻⁸ hergestellt. Aus jeder Verdünnungsstufe sind 3 x 1 ml in je 9 ml Azid-Glucose-Bouillon (AD)⁷ überimpft und anschließend bei 37 °C für 48 Stunden inkubiert worden.

Bei AD⁷ handelt es sich um ein selektives Anreicherungsmedium, welches gleichzeitig die gramnegative Begleitflora hemmt (MERCK, 2010c).

Gewinnung der Reinkulturen

Mittels Impfösen wurden alle Verdünnungsstufen, bei denen nach dem Vortexen eine deutliche Trübung erkennbar war, auf Kanamycin-Äskulin-Azid-Agar (KAA)⁸ ausgestrichen und erneut bei 37 °C 48 Stunden lang bebrütet.

Mit KAA-Agar⁸ werden die Keime isoliert, differenziert und ihre Keimzahl bestimmt. Die Begleitflora wird durch Kanamycin und Azid gehemmt (MERCK, 2010d; WEIGEL, 1995).

Morphologische Identifikation

Die kleinen, glänzenden Kolonien der Enterokokken waren durch die Hydrolyse von Glucosidäskulin in Glucose und Äskuletin auf KAA-Agar⁸ schwarz gefärbt.

Durch die entstandenen Eisen(III)-Ionen erscheint auch der Agar rund um die Kolonien schwarz (MERCK, 2010d).

Auswertung der Ergebnisse

Zunächst wurden die drei höchsten Verdünnungsstufen ermittelt, bei denen noch Bakterienwachstum nachgewiesen werden konnte. Dabei sollten in der geringsten Verdünnungsstufe alle drei Agarplatten einer Stufe positiv und in der höchsten Verdünnungsstufe eine oder mehrere Agarplatten negativ sein. Anhand der so gewonnenen Zahlenkombinationen konnten die Bakterienkonzentrationen mit Hilfe der DE MAN-Tabelle (1983) in koloniebildenden Einheiten pro Gramm (KBE/g) Probenmaterial angegeben werden.

3.4.2.3 Quantitativer Nachweis zur Ermittlung der "wahrscheinlichsten Keimzahl" (MPN) von *Escherichia coli* aus biologischem Substrat (Makromethode)

Nachfolgend ist schrittweise die Methode zum quantitativen Nachweis von *E. coli* aus Hundekot beschrieben.

Für den Nachweis und die Zählung anderer coliformer Bakterien ist diese Methode nicht geeignet (Environment Agency, 2006).

Anreicherung

In 180 ml 0,9 %-ige NaCl-Lösung¹ wurden 20 g Kot eingewogen und unter Schütteln gelöst.

Verdünnungsreihe

Aus der Probenlösung wurde 1 ml entnommen und in 9 ml 0,9 %-ige NaCl-Lösung¹ pipettiert. Die Verdünnungsreihe wurde bis zur Stufe 10^{-8} hergestellt.

Aus jeder Verdünnungsstufe wurden 3 x 1 ml in je 9 ml Fluorocult® Laurylsulfat-Bouillon²⁰ überimpft und anschließend bei 43 °C für 48 Stunden inkubiert.

Falls es zu einem Wachstum coliformer Keime im Fluorocult® Laurylsulfat-Bouillon²⁰ kommt, leuchtet das Nährmedium unter UV-Licht bei 366 nm hellblau. Die Begleitflora wird von Laurylsulfat gehemmt (MERCK, 2010h).

Jedes Reagenzröhrchen mit Fluorocult® Laurylsulfat-Bouillon²⁰ enthielt ein DURHAM-Gärröhrchen, mit dessen Hilfe die Gasbildung nachgewiesen werden konnte.

Ablesen des biochemischen Verhaltens

Bei den untersuchten Bakterien handelte es sich erst eindeutig um *E. coli*, wenn sich in den DURHAM-Gärröhrchen Gas gebildet hatte, Fluoreszenz unter einer UV-Lampe bei 366 nm sichtbar war und nach der Zugabe des KOVACS-Indolreagenz²² die Bildung von Indol nachgewiesen wurde.

Gasbildung:

Bei der Vergärung von Lactose zu Säure bildet *E. coli* die Gase Wasserstoff und Kohlenstoff, die sich im DURHAM-Gärröhrchen sammeln und es bei entsprechender Menge an die Oberfläche aufsteigen lassen. Da jedoch alle coliformen Bakterien Gase bilden, ist dies alleine noch kein eindeutiger Nachweis von *E. coli*.

Fluoreszenz:

Zunächst wurde jedem Reagenzröhrchen 0,5 ml NaOH²¹ zugegeben, um das bei der Lactosevergärung entstandene saure Milieu abzupuffern. Die Untersuchung fand unter UV-Licht bei einer Wellenlänge von 366 nm statt.

Die Fluoreszenz entsteht durch das Enzym β -D-Glucuronidase, welches das Enzym 4-Methylumbelliferyl- β -D-Glucuronid (MUG) in Glucuronsäure und in das fluoreszierende 4-Methylumbelliferon spaltet (MERCK, 2010h).

Indolreaktion:

Jedem Reagenzröhrchen wurden etwa 0,3 ml KOVACS-Indolreagenz²² hinzupipettiert. Bei positiven Proben bildete sich unmittelbar darauf ein roter Ring an der Flüssigkeitsoberfläche. Bei negativen Proben blieb das Indolreagenz farblos.

Bei der Spaltung von Tryptophan wird neben Brenztraubensäure und Ammoniak auch Indol frei, welches mit dem im Reagenz enthaltenen 4-Dimethylaminobenzalhyd einen roten Farbstoff bildet.

Da auch Tryptophan mit 4-Dimethylaminbenzaldehyd eine Farbreaktion ergibt, wird das Indol durch Butanol abgetrennt (MERCK, 2010i).

Auswertung der Ergebnisse

Zunächst wurden die drei höchsten Verdünnungsstufen ermittelt, in denen noch Bakterienwachstum nachgewiesen werden konnte. Dabei sollten in der geringsten Verdünnungsstufe alle drei Reagenzröhrchen einer Stufe positiv und in der höchsten Verdünnungsstufe eines oder mehr Reagenzröhrchen negativ sein. Anhand der so gewonnenen Zahlenkombinationen konnten die Bakterienkonzentrationen mit Hilfe der DE MAN-Tabelle (1983) in koloniebildenden Einheiten pro Gramm (KBE/g) Probenmaterial angegeben werden.

3.4.2.4 Qualitativer Nachweis des Vorkommens bzw. der Freiheit von Salmonellen in einer definierten Probenmenge

Das nachfolgend beschriebene Verfahren lehnt sich an die Vorgaben des Anhangs 2 der Bioabfallverordnung (BioAbfV) an (BioAbfV, 1998).

Voranreicherung

20 g Probenmaterial wurden in 180 ml Peptonlösung⁹, einem nicht selektiven Auffrischungs- und Anreicherungsmedium für subletal vorgeschädigte Salmonellen (MERCK, 2010e), über Nacht bei 37 °C geschwenkt inkubiert.

Anreicherung

0,1 ml der Voranreicherung wurde in doppeltem Ansatz in jeweils 9 ml RAPPAPORT-VASSILIADIS (RVS)-Medium¹⁰ gegeben und 24 Stunden lang bei 43 °C und 37 °C inkubiert. RVS-Medium ist ein selektives Anreicherungsmedium für alle Salmonellen außer *Salmonella typhi* und *S. paratyphi*. Die Selektivität erfolgt durch eine hochkonzentrierte Magnesiumchlorverbindung, dem Färbemittel Malachitgrün und einer pH-Wert-Absenkung auf 5,5. Darüber hinaus wird das Wachstum intestinaler Bakterien gehemmt (MERCK, 2010f).

Gewinnung der Reinkulturen

Mittels Impfösen wurden die Proben auf Brillantgrün-Phenolrot-Laktose-Saccharose-Agar (BPLS)¹¹- und Xylose-Lysin-Desoxycholat-Agar (XLD)²³ überführt und weitere 24 Stunden lang bei 37 °C bebrütet

BPLS¹¹ ist ein Selektivagar zur Salmonellenisolierung. Der Farbumschlag des pH-Indikators von Phenolrot nach Gelb erfolgt durch die Begleitflora. Die reichhaltige Nährgrundlage fördert das Wachstum der Salmonellen während Brillantgrün die grampositive Begleitflora unterdrückt (MERCK, 2010g).

Bei XLD handelt es sich um keinen Selektivagar. Der Farbumschlag des pH-Indikators Phenolrot nach Gelb wird nur von der Begleitflora durch die Fermentation von Xylose, Laktose und Saccharose verursacht. Die grampositive Begleitflora wird durch Citrat und Desoxycholat gehemmt (MERCK, 2010j).

Morphologische Identifikation

Die Salmonellenkolonien wachsen auf BPLS-Agar¹¹ rosafarben, da sie, im Gegensatz zur Begleitflora in der Probe, nicht in der Lage sind, Lactose und Saccharose abzubauen.

Aus demselben Grund wachsen Salmonellen auf XLD-Agar²³ in der gleichen Farbe, die der Nährboden hat, also rot. Das charakteristische schwarze Zentrum kommt durch die von Thiosulfat und Eisen(III)-Salz verursachte Ausfällung von Eisensulfid zu Stande (MERCK, 2010g + j).

Morphologisch verdächtige Kolonien von beiden Nährböden wurden mit Hilfe einer Impföse auf Standard-1-Agar¹² gebracht und bei 37 °C für 24 Stunden bebrütet.

Für die Identifikation mittels Objektträgeragglutination wurde etwas Material der Reinkultur auf einem Objektträger zunächst mit Polyvalent I^{13a} aus dem Testkit¹³ vermischt. Kam es zu einer Ausflockung (Agglutination) war der positive Nachweis des Vorhandenseins von Salmonellen erbracht. Diese Vorgehensweise wurde mit weiteren Testseren durchgeführt, bis die passende Anti O-Gruppe gefunden wurde.

Positive Proben wurden durch das Landesgesundheitsamt Baden-Württemberg weiter untersucht.

Auswertung der Ergebnisse

Die Ergebnisse wurden als positiver oder negativer Nachweis von *Salmonella* spp. in 20 g Probenmaterial angegeben.

3.4.2.5 Quantitativer Nachweis der Gesamtbakterienzahl aus biologischem Material

Mit nachfolgend schrittweise beschriebener Methode ist der quantitative Nachweis der Gesamtbakterienzahl aus Hundekot möglich.

Anreicherung

In 180 ml 0,9 %-ige NaCl-Lösung¹ wurden 20 g Kot eingewogen und unter Schütteln gelöst.

Verdünnungsreihe

Aus der Probenlösung wurde 1 ml entnommen und in 9 ml 0,9 %-iger NaCl-Lösung¹ pipettiert. Die Verdünnungsreihe wurde bis zur Stufe 10^{-8} hergestellt.

Zur Bestimmung der Gesamtbakterienzahl wurden pro Probe die drei höchsten Verdünnungsstufen ausgewählt. Pro Verdünnungsstufe wurden zwei Standard-1-Agar-Platten¹² mit jeweils 0,1 ml der Probenlösung beimpft. Die Probenlösung wurde dann mit Hilfe eines Drigalski-Spatels gleichmäßig auf den Platten verteilt und für 48 Stunden lang bei 37 °C bebrütet.

Auswertung der Ergebnisse

Für die Auswertung wurde die Verdünnungsstufe herangezogen, bei der auf den beiden parallel angesetzten Agarplatten die Anzahl der Kolonien jeweils zwischen 20 und 200 lag. Beide Platten wurden separat ausgezählt, die Ergebnisse addiert und anschließend durch zwei geteilt. Die Gesamtbakterienzahl der Probe in koloniebildenden Einheiten pro Gramm (KBE/g) ergab sich durch Multiplikation dieses Ergebnisses mit der ausgezählten Verdünnungsstufe.

3.5 Durchführung der Resistenztests

Damit eine Aussage über das Resistenzverhalten ausgewählter *Escherichia coli*- und Salmonellen-Isolate getroffen werden konnte, mussten die Bakterien zunächst in Reinform aus dem Kot gewonnen werden.

Im Anschluss wurden die Isolate mittels Agar-Diffusionstest untersucht, bei dem die Antibiotika in Form getränkter Plättchen verwendet wurden. Bei dem folgenden etwas aufwendigeren Mikrodilutionsverfahren, kam pulverförmiges, gelöstes Antibiotika zum Einsatz.

3.5.1 Gewinnung der Reinkulturen

Zunächst mussten aus den gesammelten Kotproben Reinkulturen möglichst verschiedene *E. coli*- und, falls nachweisbar, Salmonellen-Stämme, isoliert werden. Diese wurden später auf das Vorhandensein von Resistenzen hin überprüft.

3.5.1.1 Gewinnung der Reinkulturen von *Escherichia coli*

Parallel zu nachfolgend beschriebener Vorgehensweise, die der Gewinnung der Reinkulturen der *E. coli*-Stämme diente, wurde der quantitative Nachweis wie unter Punkt 3.4.2.3 beschrieben, durchgeführt.

Anreicherung

In 180 ml 0,9 %-iger NaCl-Lösung¹ wurden 20 g Kot eingewogen und unter Schütteln gelöst.

Verdünnungsreihe

Aus der Probenlösung wurde 1 ml entnommen und in 9 ml 0,9 %-ige NaCl-Lösung¹ pipettiert. Die Verdünnungsreihe wurde bis zur Stufe 10^{-8} hergestellt.

Aus den Verdünnungsstufen 10^{-2} bis 10^{-5} wurden jeweils 0,1 ml entnommen, auf eine ENDO-Agarplatte²⁴ pipettiert und mit einem Drigalski-Spatel gleichmäßig verteilt. Die Platten wurden anschließend bei 37 °C für 24 Stunden inkubiert.

ENDO-Agar²⁴ unterdrückt das Wachstum gram-positiver Bakterien durch Natriumsulfit und Fuchsin. *E. coli* und andere Coliforme bauen unter der Bildung von Aldehyden und Säure Laktose durch ab. Diese Aldehyde setzen Fuchsin frei, welches alle Kolonien rot färbt. Die Reaktion ist bei *E. coli* so stark, dass Fuchsin ausfällt und ein typisch grünlich-metallischer Fuchsinglanz entsteht, wie es in der Abbildung 9 zu sehen ist (MERCK, 2010k).

Gewinnung der Reinkulturen

Mittels Impfösen wurden Kolonien, die den typischen Fuchsinglanz aufwiesen (Abb. 9) von den ENDO-Agarplatten²⁴ abgenommen und mittels Dreißenausstrichs auf Standard-1-Agarplatten¹² überführt. Die Inkubation erfolgte erneut bei 37 °C für 24 Stunden.

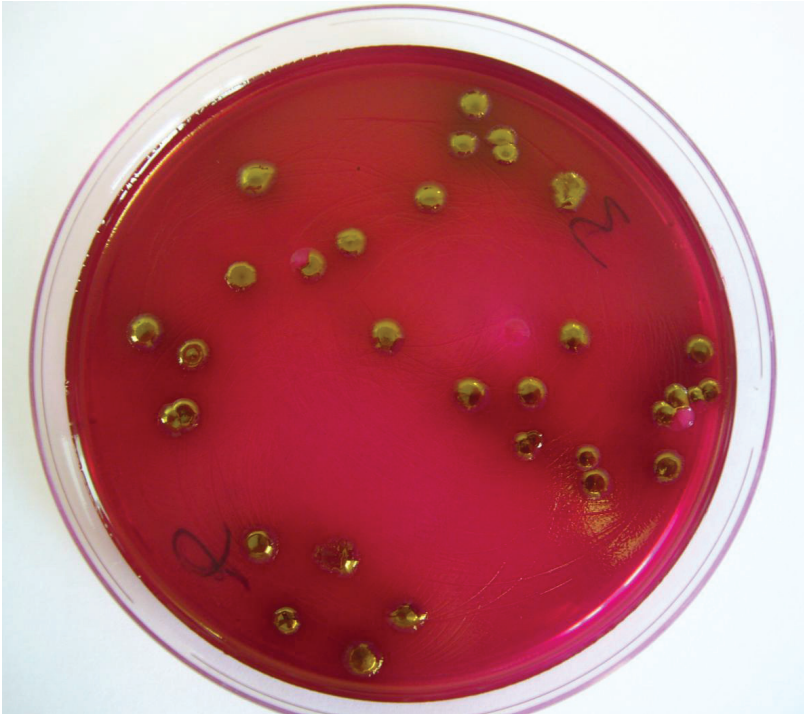


Abb. 9: Typischer Fuchsinglanz von *E. coli*-Kolonien auf ENDO-Agar²⁴

3.5.1.2 Gewinnung der Reinkulturen von Salmonellen

Die Gewinnung der Reinkulturen von Salmonellen wurde wie unter Punkt 3.4.2.4 beschrieben durchgeführt. Für den Versuch wurden ausschließlich Kolonien verwendet, die nach der Objektträgeragglutination eindeutig als *Salmonella* spp. identifiziert werden konnten.

3.5.2 Durchführung des Agar-Diffusionstests

Nachfolgend ist die schrittweise Durchführung der Agar-Diffusionstests nach der Gewinnung der Reinkulturen beschrieben. In diesem Versuch wurden die Testplättchen der Antibiotika Ampicillin AM-10²⁵, Cephalothin CF-30²⁶, Enrofloxacin ENR²⁷, Sulfamethoxazol SMZ²⁸ und Tetracyclin TE-30²⁹ verwendet.

Herstellung der Bakteriensuspension

Von den Reinkulturen auf den Standard-1-Agar-Platten wurden mit einer sterilen Impflohe einzelne Kolonien abgenommen und in ein Reagenzröhrchen mit 9 ml 0,9 %-iger NaCl-Lösung¹ überführt. Die dabei entstehende Trübung sollte in etwa einem McFarland Standard³⁰ von 0,5 entsprechen.

Beimpfen der Agarplatten

Aus den beimpften Reagenzröhrchen wurden etwa 2-3 ml auf eine Standard-1-Agarplatte¹² pipettiert. Die Flüssigkeit wurde durch behutsames Schwenken auf der gesamten Platte verteilt. Überschüssiges Material wurde gründlich mittels Pipette wieder abgenommen.

Aufbringen der Antibiotikatestplättchen

Mit Hilfe einer Stempelvorrichtung der Firma Becton Dickinson (BD) wurden die Antibiotikatestplättchen²⁵⁻²⁹ auf die beimpften Platten gebracht und anschließend bei 37 °C für 24 Stunden bebrütet.

Auswertung des Antibiotogramms

Nach der Inkubationszeit wurde die Resistenz, bzw. verminderte Empfindlichkeit, der untersuchten Stämme durch Ausmessung der Hemmhofgröße bestimmt (Abb. 10). Gemessen wurde der Durchmesser des gesamten Hemmhofes.

Die Werte für AM-10²⁵, CF-30²⁶, ENR²⁷, SMZ²⁸ und TE-30²⁹ hat das Deutsche Institut für Normung (DIN) in Zusammenarbeit mit der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie, der Paul-Ehrlich-Gesellschaft sowie dem Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) erarbeitet und veröffentlicht. Die Werte sind sowohl für *E. coli* als auch für *Salmonella spp.* gültig (DIN, 1991 und 1998; CLSI, 2009).

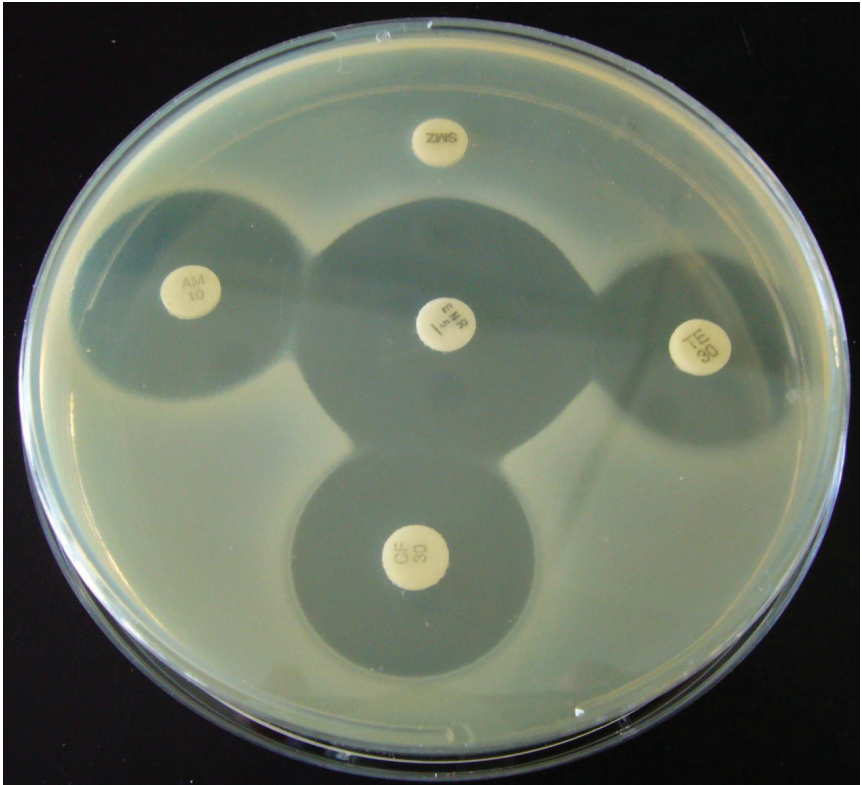


Abb. 10: Beispiel für Hemmhofbildung im Agar-Diffusionstest

3.5.3 Durchführung der Mikrodilution

Das nachfolgend beschriebene Verfahren richtet sich nach der DIN-Norm 58940, Teil 8 „Mikrodilution“ (DIN, 1991). Es wurden die gleichen Antibiotika verwendet, wie bereits im unter Punkt 3.5.2 beschriebenen Agar-Diffusionstest. Die Antibiotika Ampicillin³³, Cephalothin³⁴, Enrofloxacin³⁵, Sulfamethoxazol³⁶ und Tetracyclin³⁷ lagen in Pulverform vor.

Herstellung der Keimsuspension

Von den auf den Standard-1-Agar-Platten¹² gewachsenen Reinkulturen wurde eine Kolonie abgenommen und in 50 ml Trypton-Soja-Bouillon (TSB)³¹ unter Schwenken 24 Stunden lang bei 37 °C bebrütet. Aus den bebrüteten Schottflaschen wurden je 0,1 ml entnommen, in eine Schottflasche mit 50 ml TSB³¹ überimpft und erneut 24 Stunden bei 37 °C bebrütet.

Die Keimkonzentration lag anschließend zwischen 10^8 und 10^9 KBE/ml.

Für die Keimsuspension wurden aus den frischen zweiten Passagen der Proben nun jeweils 50 µl entnommen und in ein Reagenzröhrchen mit 10 ml Müller-Hinton-Bouillon³² (MHB) pipettiert. Die Suspension hatte eine Keimkonzentration von rund $5,0 \times 10^5$ KBE/ml.

Herstellung der Antibiotika-Verdünnungsreihe

Von den verwendeten Antibiotika³³⁻³⁷ wurden zunächst frische Stammlösungen hergestellt, deren Konzentrationen jeweils 2000 µg/ml betrugen. Da nur wenige Antibiotika eine Aktivität von 100 % vorweisen, wurde entsprechend der Herstellerangaben angepasst. Die ermittelten Mengen wurden zunächst in ein Falconröhrchen eingewogen und dann je nach Antibiotikum in 10 ml eines geeigneten Lösungsmittels gelöst. Entsprechende Angaben sind direkt vom Hersteller zu beziehen.

Um die Gebrauchslösung für die Verdünnungsreihe zu erhalten, wurden von der fertigen Stammlösung 2 ml in 13,62 ml Müller-Hinton-Bouillon³² gegeben, so dass die Antibiotikakonzentration in der Gebrauchslösung 256 µg/ml betrug.

Von den jeweiligen Gebrauchslösungen ausgehend wurden die Antibiotika-Verdünnungsreihen mit zwölf Verdünnungsstufen angesetzt.

Von der Ausgangskonzentration wurden nun in drei Reagenzröhrchen, die mit 2 ml, 3 ml und 7 ml Müller-Hinton-Bouillon³² gefüllt waren, entsprechend 2 ml, 1 ml und 1 ml Antibiotikallösung pipettiert, so dass sich die Antibiotikakonzentration von Röhrchen zu Röhrchen halbierte.

Das Antibiotikum wurde auf diese Weise, jeweils ausgehend von der letzten Stufe der vorherigen Reihe, noch weitere drei Mal verdünnt, so dass letztendlich zwölf Verdünnungsstufen zwischen 128 µg/ml und 0,0625 µg/ml zur Verfügung standen.

Beimpfen der Mikrotiterplatten

Von der Keimsuspension und den verschiedenen Antibiotika-Verdünnungsstufen wurden je 50 µl in einem Verhältnis von 1:1 in den Wells der Mikrotiterplatte⁴⁰ mit abgerundetem Boden vermischt, wodurch sich die Konzentrationen der Antibiotika noch einmal halbierten. Die Antibiotikakonzentration im ersten Well lag damit bei 64 µg/ml.

Nach 24 Stunden bei 37 °C konnte das Ergebnis abgelesen werden.

Auswertung der Antibiotika-Verdünnungsreihe

Nach dem Bebrüten war in einigen der Wells eine Trübung bzw. eine Ablagerung festzustellen (Abb. 11), die von den Bakterien, die sich vermehrt haben, herrührte. In Wells, in denen die enthaltene Lösung klar geblieben war, fand kein Bakterienwachstum statt, da es vom enthaltenen Antibiotikum gehemmt werden konnte. Die Mikrotiterplatten⁴⁰ wurden auf einen dunklen Untergrund gestellt und von oben abgelesen, da bei einer Betrachtung von unten durch das abgelagerte Inokulum ein falsches Ergebnis entstehen könnte.

Als minimale Hemmkonzentration (MHK) gilt die letzte Verdünnungsstufe, in der die Lösung noch klar geblieben ist. In allen höheren Verdünnungsstufen ist durch das Bakterienwachstum eine Trübungen zu sehen.

Die Richtwerte für Ampicillin, Sulfamethoxazol (in Kombination mit Trimethoprim im Verhältnis 1:19) und Tetracyclin sind der DIN Norm 58940 Teil 8 (DIN, 1991) zu entnehmen. Die Werte für Cephalothin und Enrofloxacin stammen aus der Literatur (ORDEN et al., 1999; GANDOLF et al., 2005).

Alle Werte gelten sowohl für *E. coli* als auch für *Salmonella* spp.. Die Angabe der MHK erfolgt in µg/ml.

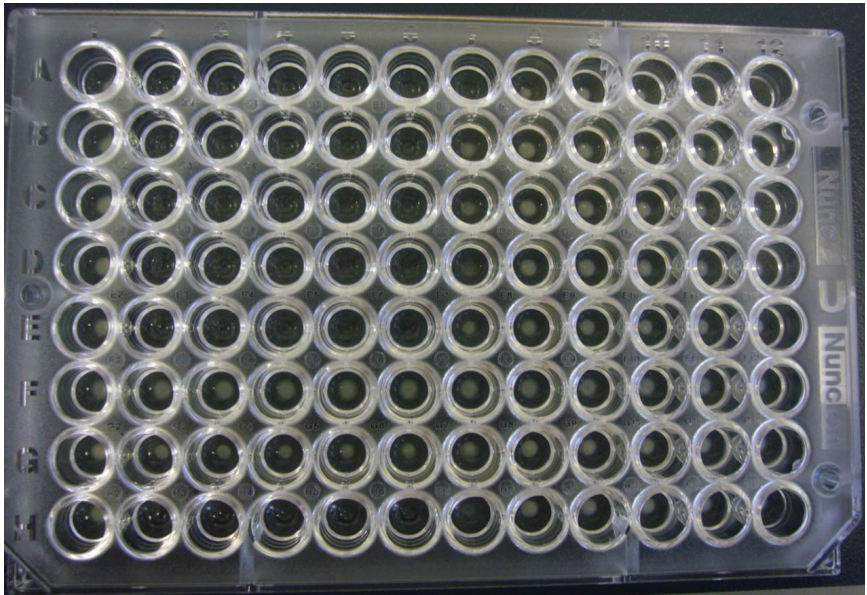


Abb. 11: Bebrütete Mikrotiterplatte

3.6 Durchführung der mikrobiologischen und parasitologischen Untersuchung von Silage

Im folgenden Abschnitt sind die Methoden zur Rückgewinnung sowie zum Nachweis der in die Silage eingebrachten bakteriellen Erreger sowie *Cryptosporidium parvum* ausführlich beschrieben.

Dieser Versuch, sowohl mit den bakteriellen Erregern als auch mit dem Parasiten, sollte die Anwesenheit von Hundekot im Siliergut simulieren und den Einfluss der Silierungsprozesse (vor allem der Absenkung des pH-Werts) auf die eingebrachten Mikroorganismen spiegeln.

3.6.1 Quantitativer Nachweis von *Clostridium perfringens* aus biologischem Material

Nachfolgend ist schrittweise die Methode zum quantitativen Nachweis von *C. perfringens* aus der artifiziell beimpften Silage beschrieben.

Rückgewinnung

50 g Probenmaterial wurden mit 450 ml 0,9 %-iger NaCl-Lösung¹ in eine stabile Plastiktüte gegeben und anschließend mit Hilfe eines Laborhomogenisators⁹ bearbeitet. Dabei wurden eventuell im Probenmaterial enthaltene Bakterien mittels „paddeln“ innerhalb von 120 sec. bei mittlerer Geschwindigkeit in die 0,9 %-ige NaCl-Lösung¹ überführt.

Verdünnungsreihe

Aus der Probenlösung wurde 1 ml entnommen und in 9 ml 0,9 %-ige NaCl-Lösung¹ pipettiert. Die Verdünnungsreihe wurde bis zur Stufe 10^{-6} hergestellt. Aus jeder Verdünnungsstufe wurden 3 x 1 ml in je 9 ml FTG² überimpft und anschließend unter anaeroben Bedingungen bei 37 °C für 24 Stunden inkubiert.

Die Vorgehensweisen zur Gewinnung der Reinkulturen, zur morphologischen Identifikation der Kolonien und zur Auswertung der Ergebnisse sind ausführlich unter Punkt 3.4.2.1 beschrieben.

3.6.2 Quantitativer Nachweis von *Enterococcus faecalis* aus biologischem Material

Nachfolgend ist schrittweise die Methode zum quantitativen Nachweis von *E. faecalis* aus der artifiziell beimpften Silage beschrieben.

Rückgewinnung

50 g Probenmaterial wurden mit 450 ml 0,9 %-iger NaCl-Lösung¹ in eine stabile Plastiktüte gegeben und anschließend mit Hilfe eines Laborhomogenisators⁶ bearbeitet. Dabei wurden eventuell im Probenmaterial enthaltene Bakterien mittels „paddeln“ innerhalb von 120 sec. bei mittlerer Geschwindigkeit in die 0,9 %-ige NaCl-Lösung¹ überführt.

Die Vorgehensweisen zur Herstellung der Verdünnungsreihe, zur Gewinnung der Reinkulturen, zur morphologischen Identifikation der Kolonien und zur Auswertung der Ergebnisse sind ausführlich unter Punkt 3.4.2.2 beschrieben.

3.6.3 Quantitativer Nachweis von *Salmonella* Senftenberg aus biologischem Material

Nachfolgend ist schrittweise die Methode zum quantitativen Nachweis von *S. Senftenberg* aus der artifiziell beimpften Silage beschrieben.

Rückgewinnung

50 g Probenmaterial wurden mit 450 ml 0,9 %-iger NaCl-Lösung¹ in eine stabile Plastiktüte gegeben und anschließend mit Hilfe eines Laborhomogenisators⁶ bearbeitet. Dabei wurden eventuell im Probenmaterial enthaltene Bakterien mittels „paddeln“ innerhalb von 120 sec. bei mittlerer Geschwindigkeit in die 0,9 %-ige NaCl-Lösung¹ überführt.

Verdünnungsreihe und Voranreicherung

Aus der Probenlösung wurde 1 ml entnommen und in 9 ml 0,9 %-ige NaCl-Lösung¹ pipettiert. Die Verdünnungsreihe wurde bis zur Stufe 10^{-6} hergestellt. Aus jeder Verdünnungsstufe sind 3 x 1 ml in je 9 ml Peptonlösung⁹ überimpft und anschließend bei 37 °C für 24 Stunden inkubiert worden.

Anreicherung

Aus jeden Röhrchen der Voranreicherung wurde 1:1 0,1 ml in 9 ml RVS¹⁰ gegeben und 24 Stunden lang bei 43 °C inkubiert.

Gewinnung der Reinkulturen

Mittels Impfösen wurden alle Proben auf BPLS¹¹ überführt und weitere 24 Stunden bei 37 °C bebrütet.

Auf eine parallele Wachstumsuntersuchung mit Xylose-Lysin-Desoxycholat (XLD)²³-Agar konnte jedoch verzichtet werden, da *S. Senftenberg* H₂S-negativ verwendet wurde, das keinen Schwefelwasserstoff bildet und es somit auch zu keiner Ausfällung schwarzen Eisensulfids aus Thiosulfat und Eisen(III)-Salz kommen kann. Ein Erkennen von *S. Senftenberg* wäre dadurch auf diesem Nährboden erschwert.

Morphologische Identifikation

Die Salmonellenkolonien wachsen auf BPLS-Agar¹¹ rosafarben, da sie, im Gegensatz zur Begleitflora in der Probe, nicht in der Lage sind, Lactose und Saccharose abzubauen.

Zur Absicherung des Ergebnisses wurden stichprobenartig morphologisch verdächtige Kolonien mit Hilfe einer Impföse auf Standard-1-Agar¹² gebracht, bei 37 °C für 24 Stunden bebrütet und anschließend mittels Objektträgeragglutination identifiziert (Beschreibung siehe 3.4.2.4).

Auswertung der Ergebnisse

Zunächst wurden die drei höchsten Verdünnungsstufen ermittelt, bei denen noch Bakterienwachstum nachgewiesen werden konnte. Dabei sollten in der geringsten Verdünnungsstufe alle drei Agarplatten einer Stufe positiv und in der höchsten Verdünnungsstufe eine oder mehrere Agarplatten negativ sein. Anhand der so gewonnenen Zahlenkombinationen konnten die Bakterienkonzentrationen mit Hilfe der DE MAN-Tabelle (1983) in koloniebildenden Einheiten pro Gramm (KBE/g) Probenmaterial angegeben werden.

3.6.4 Untersuchung der Quarzsandprobe

Nachfolgend ist schrittweise die Methode zum quantitativen Nachweis von *Clostridium perfringens*, *Enterococcus faecalis* und *Salmonella* Senftenberg aus dem artifiziell beimpften Quarzsand beschrieben.

Rückgewinnung

In 200 ml 0,01 molare CaCl_2 ¹⁴ wurden 20 g kontaminierter Quarzsand gegeben und für 24 Stunden bei 4 °C in einen Kühlraum gestellt.

Der gesamte Inhalt der Schottflasche wurde in eine stabile Plastiktüte gegeben und anschließend mit Hilfe eines Laborhomogenisators⁶ bearbeitet.

Dabei wurden eventuell im Probenmaterial enthaltene Bakterien mittels „paddeln“ innerhalb von 120 sec. bei mittlerer Geschwindigkeit in die 0,01 molare CaCl_2 ¹⁴ überführt.

Verdünnungsreihe

Aus der Probenlösung wurde 1 ml entnommen und in 9 ml 0,9 %-ige NaCl- Lösung¹ pipettiert. Die Verdünnungsreihe wurde bis zur Stufe 10^{-5} hergestellt.

Die weitere Untersuchung zum Nachweis der eingebrachten Bakterien *Clostridium perfringens*, *Enterococcus faecalis* und *Salmonella* Senftenberg erfolgte wie unter den Punkten 3.4.2.1, 3.4.2.2 und 3.6.3 beschrieben.

3.6.5 Untersuchung des Einflusses der Silagesäuren

Mit dieser Untersuchung sollte getestet werden, ob die Zugabe einer säureabpuffernden Substanz, in diesem Fall di-Natriumhydrogenphosphat (Na_2HPO_4)⁴¹, zu der für die Rückgewinnung verwendeten NaCl-Lösung¹ (siehe 3.6.1, 3.6.2 und 3.6.3) Einfluss auf die Bakterienkonzentrationen hat. Der Puffer sollte die Einwirkung der Silagesäuren auf die Bakterien direkt nach der Probenentnahme hemmen.

Um die Wirksamkeit des Puffers Na_2HPO_4 ⁴¹ zu überprüfen wurde für den Versuch bereits fertiger Silage mit einem pH-Wert von 4,3 verwendet.

Den Nachweis der abpuffernden Wirkung brachte ein Test mit Indikatorpapier, wobei der pH-Wert der NaCl-Lösung¹ mit Na_2HPO_4 ⁴¹ bei etwa 7-8 lag.

Verwendet wurden für diese Untersuchung ebenfalls *Enterococcus faecalis* und *Salmonella* Senftenberg. Auf eine Untersuchung mit *Clostridium perfringens* wurde verzichtet, da sich dieses auf Grund seines unversporteten Zustandes in vorausgegangenen Untersuchungen als empfindlich gezeigt hatte.

Die ersten Proben wurden direkt nach dem Vermengen von Silage und Keimsuspension in NaCl^1 , bzw. $\text{NaCl}^1 + \text{Na}_2\text{HPO}_4^{41}$ überführt und wenige Stunden später untersucht.

Die zweite Probenahme fand nach einer Woche statt.

Die Untersuchung zum Nachweis der eingebrachten Bakterien *Enterococcus faecalis* und *Salmonella* Senftenberg erfolgte quantitativ wie unter den Punkten 3.4.2.2 und 3.6.3 beschrieben.

3.6.6 Nachweis von *Cryptosporidium parvum* anhand der Excystierungsrate

Nachfolgend ist das schrittweise Vorgehen zur Rückgewinnung der Oocysten von *C. parvum* von einem Filterkeimträger sowie die Zählung der Oocysten mittels McMaster Zählkammer und die Bestimmung der Excystierungsrate beschrieben. Die Vorgehensweise wurde vom Institut für Parasitologie der Universität Leipzig vorgeschlagen. Da die dortigen Wissenschaftler auf eine langjährige Erfahrung bei der Arbeit mit *Cryptosporidium parvum* zurückblicken können wurde die vorgeschlagene Methode in dieser Arbeit 1:1 übernommen.

Excystierungsfähige Oocysten geben unter bestimmten Voraussetzungen ihre Sporozoit an die Umwelt ab. Die Freisetzung wird durch das im Darm herrschende Milieu von 37 °C sowie der Anwesenheit typischer Gallensalze initiiert. In diesem Versuch wurden diese Bedingungen künstlich durch einen Brutraum und der Zugabe des Gallensalzes Natriumtaurocholat geschaffen

Die Excystierungsrate, also die Anzahl der Oocysten, die in der Lage sind, Sporozoit zu entlassen, gibt allerdings nur die Vitalität der Oocysten wieder nicht aber deren Infektiosität. Die freigesetzten Sporozoit sind zwar Voraussetzung für eine Infektion, eine Korrelation zwischen Excystierungsrate und Infektiosität muss auf Grund diverser Versuche jedoch in Frage gestellt werden (NAJDROWSKI, 2006).

Eine Aussage über die Infektiosität kann nur mit Hilfe von Tierversuchen gemacht werden, auf die in dieser Arbeit aber verzichtet wurde.

Rückgewinnung der Oocysten von dem Keimträger

Der Keimträger wurde mit Hilfe einer sterilen Pinzette aus dem mit Silage gefüllten Einmachglas heraus geholt. Die Polycarbonatmembran wurde an allen Seiten aufgeschnitten, um an den als Keimträger verwendeten Filter zu kommen.

Keimträger und Membran wurden gemeinsam in eine 200 ml fassende Schottflasche gegeben, die 10 ml NaCl¹ und bodenbedeckend Glasperlen¹⁷ mit einem Durchmesser von etwa 2 mm enthielt. Die Flaschen mit den Keimträgern wurden für etwa eine Stunde im Kühlraum bei 4°C auf einen Rüttler gestellt, um die Oocysten vom Keimträger und eventuell auch von der Polycarbonatmembran zu lösen.

Konzentration der Oocysten

Die mit den Oocysten versetzte NaCl-Lösung¹ wurde aus den Schottflaschen in Falconröhrchen überführt. Die Röhrchen wurden auf 10 ml austariert und bei 2.500 x g und 20 °C für 10 Minuten zentrifugiert.

Zählung der Oocysten mit der McMaster Zählkammer

Das NaCl¹ in den Falconröhrchen wurde bis auf 1 ml abgesaugt, ohne das Pellet zu verletzen, und anschließend gevortext.

Von dieser Lösung wurden 100 µl entnommen, mit 900 µl Zinkchloridlösung¹⁶ in ein Eppendorfgefäß gegeben und durch mehrmaliges Schwenken (nicht vortexen oder schütteln) vermischt. Der Einsatz des Flotationsverfahrens mit Zinkchloridlösung¹⁶ ist in der Parasitologie eine gängige Methode zur Zählung von Oocysten. Durch die gegenüber den Oocysten größere Dichte der Lösung flotieren die Oocysten an die Oberfläche und können dann ausgezählt werden (BAUER, 2006b).

Je 500 µl der Oocysten-Zinkchlorid¹⁶-Mischung wurde in zwei Kammern einer McMaster Zählkammer¹⁸ gegeben. Um eine Bildung von Luftblasen zu vermeiden wurden die Kammern gegebenenfalls mit Zinkchloridlösung¹⁶ aufgefüllt.

Nachdem das Deckplättchen mit dem Zählnetz aufgelegt war, wurde die Kammer für etwa fünf bis zehn Minuten stehen gelassen, damit die Oocysten an die Oberfläche flotieren konnten.

Bei 40facher Vergrößerung wurden anschließend unter dem Lichtmikroskop alle Oocysten in den jeweils zehn Zählfelder der beiden Kammern ausgezählt.

Berechnung der Eizahl für die McMaster Zählkammer

Anhand der nachfolgenden, vom Institut für Parasitologie der Universität Leipzig vorgegebenen Formel kann die Anzahl der in der Probe enthaltenen Oocysten pro Milliliter angegeben werden:

$$n \times SGM$$

$$\text{Vol. O} \times \text{Vol. F} \times \text{AF}$$

n: Anzahl der Oocysten aus Feld 1+Feld 2

SGM: angesetzte Suspensionsgesamtmenge (hier 1 ml)

Vol. O: Volumen der Oocystenlösung in Gesamtsuspension (hier 100 µl)

Vol. F: Füllmenge pro Feld (hier 500 µl)

AF: Anzahl der ausgezählten Felder (hier 2)

Excystierung

Zu der verbliebenen Oocystenlösung im Falconröhrchen wurde im Verhältnis 1:1 0,8 %-ige Natriumtaurocholatlösung¹⁵ hinzugegeben. Die Röhrchen wurden unter Schwenken für drei bis vier Stunden bei 37 °C inkubiert.

Die Kombination aus Gallensalz, Temperatur und Schwenken simulierte die Darmflora in vitro.

Auswertung der Excystierung

Die Oocystenlösung wurde bei 2000 x g und 20 °C für zehn Minuten zentrifugiert.

Die Flüssigkeit wurde auf 0,5 ml abgesaugt und gevortext. 10-20 µl wurden auf einen Objektträger pipettiert und mit einem Deckglas abgedeckt. Die Auswertung erfolgte unter dem Lichtmikroskop bei 1000facher Vergrößerung mit Immersionsöl¹⁹.

Es wurden 100 Oocysten pro Probe gezählt, sowohl excystierte als auch nicht excystierte, um den prozentualen Anteil der excystierten Oocysten zu bestimmen.

4 ERGEBNISSE

Dieses Kapitel stellt die in den Untersuchungen erzielter Ergebnisse dar.

Anhand der vorliegenden Resultate der umwelthygienischen Untersuchungen konnte eine Aussage über den Hygienezustand landwirtschaftlich genutzter Grünflächen im Untersuchungsgebiet hinsichtlich ihrer Verschmutzung mit Hundekot getroffen werden. Mit den Ergebnissen, vor allem der der Flächenuntersuchungen, konnte in dieser Form, abgesehen von wenigen abweichenden Werten, gerechnet werden.

Die bei der Überprüfung zur aktuellen Resistenzsituation von *E. coli*-Isolaten aus dem Darmtrakt von Tierheimhunden im Raum Stuttgart gewonnenen Werte boten einen guten Überblick. Da nur ein Salmonellen-Isolat untersucht werden konnte, war eine Aussage zur Resistenzsituation von Salmonellen aus dem Hundedarm nicht möglich.

Die zur Tenazitätsuntersuchung durchgeführten Silageversuche verliefen planmäßig und lieferten ebenfalls erwartungsgemäße Ergebnisse.

4.1 Ergebnisse der umwelthygienischen Untersuchungen

Die Ergebnisse der umwelthygienischen Untersuchungen setzen sich aus verschiedenen Versuchsteilen zusammen.

Zunächst wurden die Aussagen der 26 angeschriebenen Kommunen des Landkreises Böblingen zu ihrem Umgang mit der Thematik Hundekot ausgewertet. Die Antworten entsprachen den Erwartungen insofern, dass sich die meisten Städte und Gemeinden bereits mit der Problematik von Verschmutzungen durch Hundekot mehr oder weniger intensiv auseinandergesetzt hatten.

Der an Hundehalter ausgegebene Fragebogen stieß auf eine erfreulicherweise unerwartet hohe Resonanz. Die Antworten erlaubten einen guten Einblick in den Alltag der Hundehalter bezüglich der Ausfuhr-, Abkot- und Fütterungsgewohnheiten.

Den größten Teil der umwelthygienischen Untersuchungen machten die Flächenuntersuchungen mit der Zählung der aufgefundenen Hundekothaufen aus. Wie bereits erwähnt, deckten sich die Ergebnisse weitgehend mit den gestellten Erwartungen.

Die Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen des im Laufe der Flächenuntersuchungen gesammelten Hundekots zeigten keine Auffälligkeiten und deckten sich mit Ergebnissen aus früheren Untersuchungen (EGELER, 2007).

4.1.1 Ergebnisse der Abfrage der Maßnahmen der Städte und Gemeinden im Landkreis Böblingen zur Eindämmung der Hundekotproblematik

Die Resonanz der angeschriebenen Städte und Gemeinden war mit zunächst 19 Antworten auf 26 Anfragen bereits gut. Die Städte und Gemeinden, die nicht geantwortet hatten, wurden erneut angeschrieben, so dass letztendlich die Aussagen von 25 Städten und Gemeinden Berücksichtigung finden konnten. Lediglich eine Gemeinde reagierte auch auf die dritte Anfrage nicht.

Die Hundekotproblematik ist fast überall ein Thema, der mal mehr, mal weniger Aufmerksamkeit geschenkt wird. Nur vier (16 %) der angeschriebenen Städte und Gemeinden gaben an, mit Verschmutzungen durch Hundekot kaum Probleme zu haben.

Zwölf (48 %) der 25 Städte und Gemeinden haben bereits Hundekotentsorgungsstationen errichtet bzw. planen konkret die Aufstellung. In den meisten Orten wurde die Einführung solcher Systeme von der Bevölkerung positiv angenommen. Dennoch beklagen sich einige Verwaltungen über Zweckentfremdung z. B. durch die Entsorgung von Hausmüll oder Vandalismus.

Zwei (8 %) Gemeinden verzichten aus Angst vor Zweckentfremdung, Vandalismus und der unhygienischen Entsorgung bewusst auf das Aufstellen von Hundekotentsorgungsstationen. Eine (4 %) Gemeinde hat seit Aufstellung von Beutelspendern Probleme mit gefüllten Hundekotbeuteln, die achtlos weggeworfen werden.

Neun (36 %) Städte und Gemeinden gaben an, die Hundehalter regelmäßig in den jeweiligen Mitteilungsblättern auf deren Kotentsorgungspflicht und/oder über die hygienische Problematik durch Hundekot hinzuweisen. Diese Zahl dürfte aber höher liegen, da die Information auf diesem Wege, da kostengünstig, üblich geworden ist. Zwei (8 %) Verwaltungen gaben an, ergänzende Informationsbroschüren mit dem jährlichen Hundesteuerbescheid zu verschicken.

In drei (12 %) Städten und Gemeinden wurden nur Beutelspender, teilweise in Kombination mit Mülleimern an stark durch Hunde frequentierten Wegen aufgestellt. Zwei (8 %) weitere Verwaltungen stellten lediglich Mülleimer an einschlägigen Strecken auf.

In fünf (20 %) Rathäusern werden Hundekotbeutel kostenlos oder gegen Gebühr angeboten, was in den meisten Fällen auch sehr gut von der Bevölkerung angenommen wird.

Der Landesbauernverband (LBV) des Landkreises Böblingen bietet Hinweistafeln zum Kauf an, was aber laut eigener Aussage nur zögerlich von den Landwirten angenommen wird, da die Schilder zum Teil beschädigt werden und nur selten den erwünschten Erfolg erzielen.

Das Hauptproblem sieht der LBV vor allem in der mangelnden Bereitschaft der Hundehalter, den Kot einzusammeln. Als nachteilig erweist sich laut LBV aber auch die zu geringe Anzahl geeigneter Behältnisse, in denen die gefüllten Hundekotbeutel entsorgt werden können.

Die Umfrage ergab, dass die beiden größten Städte des Landkreises Böblingen, Böblingen und Sindelfingen, mit 2,1 bzw. 2,0 Hunden pro 100 Einwohner die geringsten Hundedichten aufweisen. Der Durchschnitt im Landkreis liegt bei 3,0 Hunden pro 100 Einwohner.

Mit 4,3 Hunden pro 100 Einwohner werden in der Gemeinde Weissach die meisten Hunde gehalten.

4.1.2 Ergebnisse des Fragebogens

Die Resonanz auf die Umfrage lag bei 390 ausgefüllten von 570 verteilten Fragebögen.

Da acht der Fragebögen für je zwei Hunde ausgefüllt wurden, konnten schließlich 398 Antworten ausgewertet werden, was einem Anteil von 69,8 % entsprach. Die genaue Definition der Orte ist im Anhang auf der Seite A 4 in Form der Tabelle A1 zu finden.

Tab. 4: Auflistung der Resonanz auf die Fragebögen

Ort	bereitgestellte Fragebögen	übrig gebliebene Fragebögen	in Box eingeworfen	davon gültig ausgefüllt	verschwunden
1	70	43	17	17	0
2	100	46	54	54	0
3	100	29	68	68	3
4	100	3	81	81	16
5	100	0	89	89	11
6	100	12	81	81	7

Nachfolgend sind die gestellten Fragen mit den entsprechenden Antwortmöglichkeiten und -häufigkeiten aufgeführt.

Trotz angegebener Kontaktdaten kamen keine Rückfragen seitens der Hundehalter.

Bei den Fragen 1.), 7.), 9.) und 10.) bestand die Möglichkeit eigene Antworten zu geben.

Diese sind nachfolgend mit aufgeführt.

Die Angabe der Ergebnisse erfolgte prozentual. Der Wert in der Klammer entspricht der Anzahl der Antworten bezogen auf die Gesamtanzahl der Antworten von 398.

1.) Alter der Hunde:

Zwischen 2 Monaten und 17 Jahren

2.) Welcher Rasse gehört Ihr Hund an?

1. Mittelfgroß 44,2 % (176/398)
2. Groß 29,1 % (116/398)
3. Klein 26,1 % (104/398)

3.) Welches Geschlecht hat Ihr Hund?

1. Weiblich 51,3 % (204/398)
2. Männlich 48,5 % (193/398)

4.) Welcher Altersgruppe gehören Sie an?

1. 41-60 Jahre 46,0 % (183/398)
2. 25-40 Jahre 25,6 % (102/398)
3. älter als 60 Jahre 16,3 % (65/398)
4. unter 25 Jahre 12,1 % (48/398)

5.) Lassen Sie ihren Hund beim „Gassi gehen“ in der Regel frei laufen?

1. Ja 79,9 % (318/398)
2. Nein 19,4 % (79/398)

6.) Luft Ihr Hund dabei weiter als 2 Meter in Wiesen, cker oder Streuobstwiesen hinein?

1. Nein 29,1 % (116/398)
2. bis 5 Meter 24,6 % (98/398)
3. weiter als 10 Meter 23,1 % (92/398)
4. 5 bis 10 Meter 19,6 % (78/398)

7.) Wo kotet ihr Hund bevorzugt ab?

1. am Randstreifen einer Wiese/ eines Ackers 70,9 % (282/398)
2. auf Wiesen mit kurzem Gras 27,4 % (109/398)
3. im hohen Gras 15,1 % (60/398)
4. an Sträuchern/Hecken 13,8 % (55/398)
5. Sonstiges: Wald/Waldwegränder, eigener Garten, Straßengraben, Hundetoilette, mitten in Ackerflächen 10,6 % (42/398)
6. auf befestigten Wegen 5,0 % (20/398)

8.) Entfernen sie den Kot ihres Hundes?

1. Gelegentlich 39,2 % (156/398)
2. Regelmäßig 37,4 % (149/398)
3. Nie 22,6 % (90/398)

9.) Was bekommt ihr Hund wie oft zu fressen? (Mehrfachnennungen möglich)

1. Trockenfutter 89,2 % (355/398)
 - a. Täglich 82,7 % (329/398)
 - b. 1x pro Woche 1,3 % (5/398)
 - c. Seltener 0,8 % (3/398)
 - d. 1-2 x im Monat 0,5 % (2/398)
2. Dosenfutter 48,5 % (193/398)
 - a. Täglich 32,4 % (129/398)
 - b. 1x pro Woche 6,0 % (24/398)
 - c. Seltener 4,5 % (18/398)
 - d. 1-2 x im Monat 2,5 % (10/398)
3. Sonstiges 26,4 % (105/398)

(Hundewurst, Reis, Schinken, Salami, Essensreste, gekochtes Fleisch, Hack, Hirse, Nudeln, Obst, Gemüse, Kauartikel, Vitamine, Pansen, Ochsenziemer, getrocknete Haut/Sehnen, Fisch, Käse, Hundekekse, getrocknete Innereien, Zahnpflegeknochen, Tiefkühl-Fleisch (Rind), Brot, Kartoffeln, Haferbrei, Blättermagen, Schweineohren, Eigelb)

-
- a. Täglich 5,8 % (23/398)
 - b. 1x pro Woche 4,5 % (18/398)
 - c. 1-2 x im Monat 1,3 % (5/398)
 - d. Seltener 0,8 % (3/398)
4. Knochen 20,9 % (83/398)
- a. 1-2 x im Monat 7,0 % (28/398)
 - b. Seltener 6,8 % (27/398)
 - c. 1x pro Woche 4,0 % (16/398)
 - d. Täglich 1,8 % (7/398)
5. Rohes Frischfleisch/Hackfleisch 12,6 % (50/398)
- a. Seltener 4,8 % (19/398)
 - b. Täglich 3,8 % (15/398)
 - c. 1-2 x im Monat 2,3 % (9/398)
 - d. 1x pro Woche 1,3 % (5/398)

10.) Von welchen Tieren stammt dieses Fleisch/ die Knochen?

- 1. Rind 45,2 % (180/398)
- 2. Geflügel 36,0 % (143/398)
- 3. Schwein 19,8 % (79/398)
- 4. Wild 14,6 % (58/398)
- 5. Sonstiges 8,3 % (33/398) (Pferd, Lamm, Fisch)

4.1.3 Ergebnisse der Flächenuntersuchungen

Die nachfolgenden Tabellen 5a, 6a, 7a und 8a zeigen die Anzahl der auf den untersuchten Grünflächen aufgefundenen Hundekothaufen in den Untersuchungszeiträumen Frühjahr, Sommer, Herbst und Winter.

In den Tabellen 5b, 6b, 7b und 8b ist jeweils das geschätzte Gewicht des aufgefundenen Kots in Gramm sowie das Kotgesamtwgewicht der Fläche zusätzlich in Kilogramm angegeben. Zur Berechnung wurde die Anzahl der jeweils aufgefundenen Hundekothaufen mit den Mittelwerten der Gewichtsklassen „Groß“, „Mittel“ und „Klein“ multipliziert.

Die Untersuchungen der landwirtschaftlich genutzten Grünflächen waren zu jeder Jahreszeit stark wetterabhängig.

Im Frühjahr verzögerten sich durch einen langen Winter oder anhaltende Regenfälle die Untersuchungen zum Teil bis fast in den Sommer hinein. Durch den späten aber intensiven Vegetationsbeginn musste auf Grund des Betretungsverbots für Grünflächen in der Zeit des Aufwuchses (§ 37 des Naturschutzgesetzes) (NatSchG, 1995) mit den Untersuchungen mitunter bis nach der ersten Mahd gewartet werden.

Die Untersuchungen im Sommer fanden in der Regel zwischen der ersten und der zweiten Mahd statt. Die besten Sichtungsergebnisse waren kurz nach der ersten Mahd gewährleistet. Im Herbst lag der Untersuchungszeitraum zwischen der letzten Mahd des Jahres und dem ersten Schneefall.

Die Flächen wurden im Winter in der schneefreien Zeit untersucht. Das Abschreiten schneebedeckter Flächen hätte zu Ergebnisverzerrungen geführt, da nur die Hundekothaufen, die auf dem Schnee abgelegt wurden, erfasst worden wären, nicht aber die älteren unter der Schneedecke.

Das Gesamtergebnis ist in der Abbildung 12 dargestellt.

Die Definitionen der Standorte sowie ein Beispiel für einen ausgefüllten Wiesenablaufplan sind im Anhang auf den Seiten A 4 und A 5 zu finden.

4.1.4 Flächenuntersuchungen im Frühjahr

Tab. 5a: Anzahl der auf den untersuchten Grünflächen aufgefundenen Hundekothaufen im kalendarischen Frühjahr

Standort	0,0-0,5 m	0,6-2,0 m	2,1-5,0 m	5,1-10,0 m	Gesamt	klein	mittel	groß
Siedlungsnah an HAS								
1) Standort 1	15	44	23	11	93	39	36	18
2) Standort 2	9	56	32	5	102	36	52	14
Siedlungsnah nicht an HAS								
1) Standort 3	6	8	2	0	16	5	9	2
2) Standort 4	3	3	0	0	6	0	6	0
Siedlungsfern an HAS								
1) Standort 5	2	0	0	1	3	0	2	1
2) Standort 6	0	2	2	0	4	3	1	0
Siedlungsfern nicht an HAS								
1) Standort 7	0	1	0	2	3	0	2	1
2) Standort 8	0	0	2	0	2	1	1	0
Waldnah an HAS								
1) Standort 9	4	2	0	0	6	2	4	0
2) Standort 10	6	8	3	0	17	6	9	2
Waldnah nicht an HAS								
1) Standort 11	0	2	0	0	2	1	1	0
2) Standort 12	0	0	0	0	0	0	0	0

HAS: Hundeausführstrecke

Tab. 5b: Gewicht der auf den untersuchten Grünflächen aufgefundenen Hundekothaufen im kalendarischen Frühjahr

Standort	Klein 65 g (g)	Mittel 160 g (g)	Groß 250 g (g)	Gesamt (g)	Gesamt (kg)
Standort 1	2535	5760	4500	12795	12,80
Standort 2	2340	8320	3500	14160	14,16
Standort 3	325	1440	500	2265	2,27
Standort 4	0	960	0	960	0,96
Standort 5	0	320	250	570	0,57
Standort 6	195	160	0	355	0,36
Standort 7	0	320	250	570	0,57
Standort 8	65	160	0	225	0,23
Standort 9	130	640	0	770	0,77
Standort 10	390	1440	500	2330	2,33
Standort 11	65	160	0	225	0,23
Standort 12	0	0	0	0	0

4.1.5 Flächenuntersuchungen im Sommer

Tab. 6a: Anzahl der auf den untersuchten Grünflächen aufgefundenen Hundekothaufen im kalendarischen Sommer

Standort	0,0-0,5 m	0,6-2,0 m	2,1-5,0 m	5,1-10,0 m	Gesamt	klein	mittel	groß
Siedlungsnah an HAS								
1) Standort 1	13	17	9	6	45	11	28	6
2) Standort 2	19	36	56	12	123	42	64	17
Siedlungsnah nicht an HAS								
1) Standort 3	6	11	9	7	33	10	12	11
2) Standort 4	3	9	15	4	31	16	11	4
Siedlungsfern an HAS								
1) Standort 5	0	0	1	0	1	1	0	0
2) Standort 6	4	8	0	2	14	4	8	2
Siedlungsfern nicht an HAS								
1) Standort 7	3	5	2	0	10	7	0	3
2) Standort 8	0	2	3	1	6	0	5	1
Waldnah an HAS								
1) Standort 9	0	0	0	0	0	0	0	0
2) Standort 10	4	6	11	9	30	8	11	11
Waldnah nicht an HAS								
1) Standort 11	0	1	0	0	1	1	0	0
2) Standort 12	0	2	2	0	4	1	3	0

HAS: Hundausführstrecke

Tab. 6b: Gewicht der auf den untersuchten Grünflächen aufgefundenen Hundekothaufen im kalendarischen Sommer

Standort	Klein 65 g (g)	Mittel 160 g (g)	Groß 250 g (g)	Gesamt (g)	Gesamt (kg)
Standort 1	750	4480	1500	6730	6,73
Standort 2	2730	10240	4250	17220	17,22
Standort 3	650	1920	2750	5320	5,32
Standort 4	1040	1760	1000	3800	3,80
Standort 5	65	0	0	65	0,07
Standort 6	260	1280	500	2040	2,04
Standort 7	455	0	750	1205	1,21
Standort 8	0	800	250	1050	1,05
Standort 9	0	0	0	0	0
Standort 10	520	1760	2750	5030	5,03
Standort 11	65	0	0	65	0,07
Standort 12	65	480	0	545	0,55

4.1.6 Flächenuntersuchungen im Herbst

Tab. 7a: Anzahl der auf den untersuchten Grünflächen aufgefundenen Hundekothaufen im kalendarischen Herbst

Standort	0,0-0,5 m	0,6-2,0 m	2,1-5,0 m	5,1-10,0 m	Gesamt	klein	mittel	groß
Siedlungsnah an HAS								
1) Standort 1	8	10	6	3	27	13	9	5
2) Standort 2	6	50	37	9	102	26	62	14
Siedlungsnah nicht an HAS								
1) Standort 3	3	16	9	5	33	12	14	7
2) Standort 4	5	9	12	8	34	15	13	6
Siedlungsfern an HAS								
1) Standort 5	0	0	0	0	0	0	0	0
2) Standort 6	3	2	0	1	6	3	3	0
Siedlungsfern nicht an HAS								
1) Standort 7	0	0	1	0	1	0	0	1
2) Standort 8	0	0	0	0	0	0	0	0
Waldnah an HAS								
1) Standort 9	0	0	0	0	0	0	0	0
2) Standort 10	5	8	2	1	16	5	9	2
Waldnah nicht an HAS								
1) Standort 11	1	0	1	0	2	1	1	0
2) Standort 12	2	0	0	0	2	1	0	1

HAS: Hundeausführstrecke

Tab. 7b: Gewicht der auf den untersuchten Grünflächen aufgefundenen Hundekothaufen im kalendarischen Herbst

Standort	Klein 65 g	Mittel 160 g	Groß 250 g	Gesamt	Gesamt (kg)
Standort 1	845	1440	1250	3535	3,54
Standort 2	1690	9920	3500	15110	15,11
Standort 3	780	2240	1750	4770	4,77
Standort 4	975	2080	1500	4555	4,56
Standort 5	0	0	0	0	0
Standort 6	195	480	0	675	0,68
Standort 7	0	0	250	250	0,25
Standort 8	0	0	0	0	0
Standort 9	0	0	0	0	0
Standort 10	325	1440	500	2265	2,27
Standort 11	65	160	0	225	0,23
Standort 12	65	0	250	315	0,32

4.1.7 Flächenuntersuchungen im Winter

Tab. 8a: Anzahl der auf den untersuchten Grünflächen aufgefundenen Hundekothaufen im kalendarischen Winter

Standort	0,0-0,5 m	0,6-2,0 m	2,1-5,0 m	5,1-10,0 m	Gesamt	klein	mittel	groß
Siedlungsnah an HAS								
1) Standort 1	9	12	6	4	31	16	9	6
2) Standort 2	3	65	31	15	114	34	55	25
Siedlungsnah nicht an HAS								
1) Standort 3	4	20	4	4	32	18	13	1
2) Standort 4	3	14	7	3	27	10	14	3
Siedlungsfern an HAS								
1) Standort 5	0	6	6	13	25	13	8	4
2) Standort 6	0	0	3	1	4	2	1	1
Siedlungsfern nicht an HAS								
1) Standort 7	1	2	0	1	4	1	1	2
2) Standort 8	0	1	2	0	3	1	2	0
Waldnah an HAS								
1) Standort 9	0	2	0	5	7	6	1	0
2) Standort 10	5	2	4	0	11	4	4	3
Waldnah nicht an HAS								
1) Standort 11	1	2	0	1	4	3	1	0
2) Standort 12	2	5	1	0	8	3	5	0

HAS: Hundeausführstrecke

Tab. 8b: Anzahl der auf den untersuchten Grünflächen aufgefundenen Hundekothaufen im kalendarischen Winter

Standort	Klein 65 g (g)	Mittel 160 g (g)	Groß 250 g (g)	Gesamt (g)	Gesamt (kg)
Standort 1	1040	1440	1500	3980	3,98
Standort 2	2210	8800	6250	17260	17,26
Standort 3	1170	2080	250	3500	3,50
Standort 4	650	2240	750	3640	3,64
Standort 5	845	1280	1000	3125	3,13
Standort 6	130	160	250	540	0,54
Standort 7	65	160	500	725	0,73
Standort 8	65	320	0	385	0,39
Standort 9	390	160	0	550	0,55
Standort 10	260	640	750	1650	1,65
Standort 11	195	160	0	355	0,36
Standort 12	195	800	0	995	1,00

Bei den in den Tabellen angegebenen Werten zum Kotgewicht handelte es sich um Schätzwerte, die mittels Erfahrung aus früheren Untersuchungen getroffen wurden. Auf eine exakte Wägung aller auf den Flächen aufgefundener Hundekothaufen wurden aus praktikablen Gründen verzichtet.

In der nachfolgenden Tabelle 9 sind die Jahresdurchschnittswerte der auf den Flächen aufgefundenen Hundekothaufen auf den jeweils untersuchten Flächenbereichen angegeben.

Tab 9: Jahresdurchschnitt der aufgefundenen Hundekothaufen auf den Flächen

Standort	Größe des untersuchten Bereichs (m²)	Jahresdurchschnitt aufgefundener Hundekot (Stück)	Standort	Größe des untersuchten Bereichs (m²)	Jahresdurchschnitt aufgefundener Hundekot (Stück)
1	1800	49	7	800	4,5
2	1000	110,25	8	1600	2,75
3	1300	28,5	9	900	3,25
4	1200	24,5	10	1100	18,5
5	2000	2,25	11	1300	2,25
6	1200	7	12	1000	3,5

Nachfolgende Abbildung 12 veranschaulicht die Ergebnisse der Flächenuntersuchungen. Aus der Untersuchung geht nicht hervor, dass zu einer bestimmten Jahreszeit deutlich mehr Kot zu finden ist, als zu einer anderen. Die Werte lassen erkennen, dass die Flächen das ganze Jahr über einer etwa gleichbleibenden Kotbelastung ausgesetzt sind. In der Untersuchung gab es nur wenige stark abweichende Werte.

Insgesamt kann die Aussage getroffen werden, dass siedlungsnahen Flächen stärker belastet sind als siedlungsfernen. Liegen solche Flächen allerdings nicht an typischen Hundeausführstrecken (Flächen 3 und 4) sind sie etwas weniger belastet, als die Flächen die in Siedlungsnähe an typischen Hundeausführstrecken (Flächen 1 und 2) liegen.

Die Belastungen der Flächen 5-9, 11 und 12 sind als gering einzustufen. Als auffällig kann noch die Fläche am Standort 10 gesehen werden, die waldnah an einer typischen, gut frequentierten Hundeausführstrecke liegt.

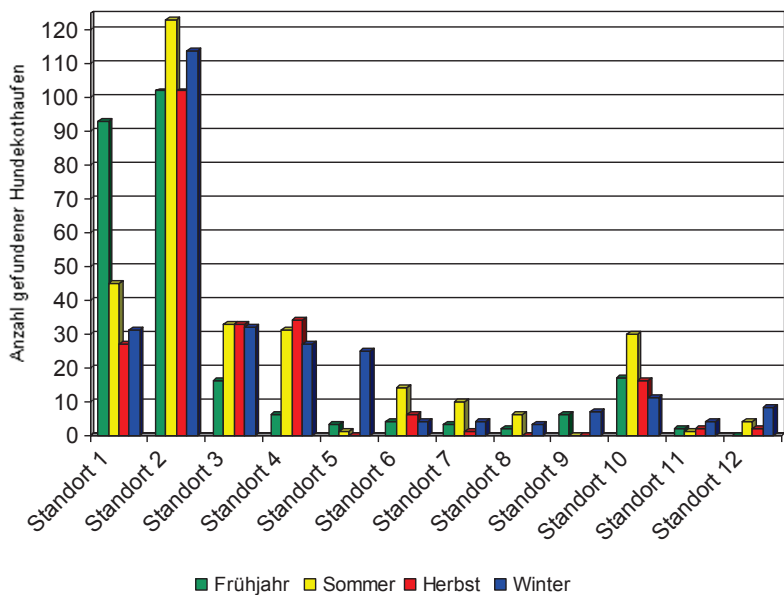


Abb. 12: Grafische Darstellung der jeweiligen Gesamtanzahl aufgefunderener Hundekothaufen bei den Flächenuntersuchungen

Um die unterschiedlich großen Flächen miteinander vergleichen zu können wurde die jeweiligen Kotbelastungen auf 100 m² umgerechnet.

Das Ergebnis ist in nachfolgendem Schaubild 13 dargestellt.

Generell kann die Aussage getroffen werden, dass Wiesen einer Kategorie ähnlich stark belastet sind, vor allem solche, die nicht an typischen Hundeausführstrecken oder in Waldnähe liegen.

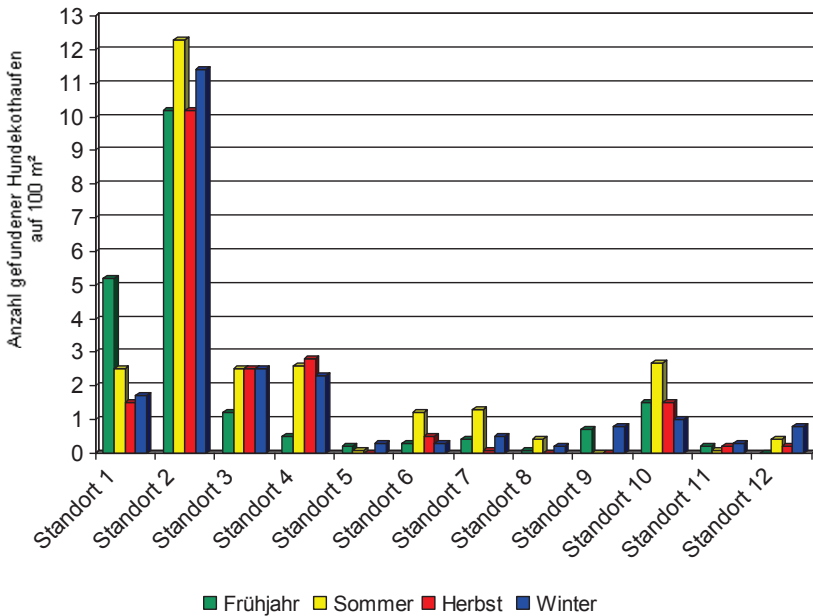


Abb. 13: Grafische Darstellung der Kotbelastung auf 100 m² umgerechnet

In der nachfolgenden Abbildung 14 ist die Kotverteilung auf den untersuchten Flächen dargestellt. Die Ergebnisse aller Flächen wurden nach Jahreszeit zusammengefasst.

Deutlich zu erkennen ist, dass der meiste Kot in dem Bereich zwischen 0,5 und 5 Metern vom Wegrand entfernt aufzufinden war.

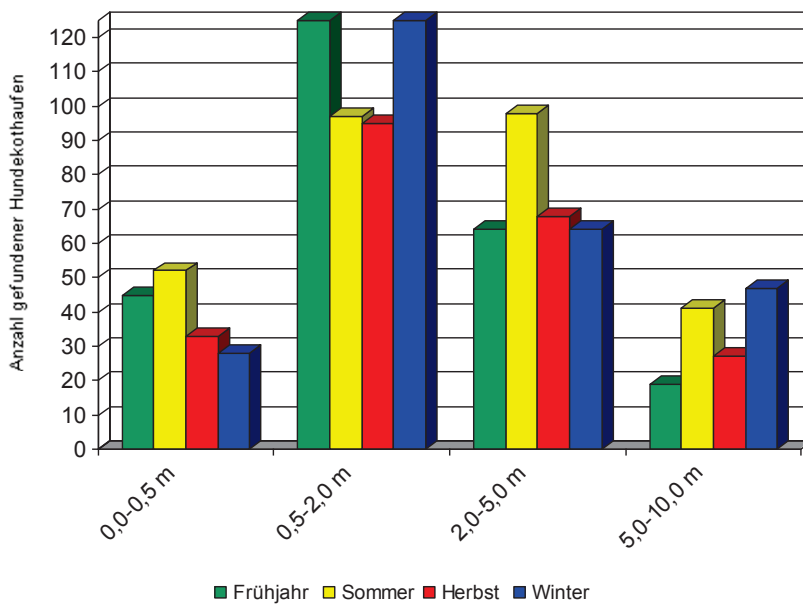


Abb. 14: Verteilung des Hundekots in den einzelnen Bereichen der untersuchten Grünflächen

4.1.8 Statistische Auswertung der Ergebnisse der Flächenuntersuchung

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit Hilfe von Version 9.2. des PC-Programmes SAS der Firma SAS Institute Inc., Cary, North Carolina (USA).

Die nachfolgende Darstellung (Abb. 15) zeigt die Varianz der Ergebnisse aller Standorte im Frühjahr. Da die Ergebnisse für die übrigen Jahreszeiten ähnlich ausfallen, wurde das Schaubild für das Frühjahr exemplarisch ausgewählt. Die übrigen Schaubilder sind im Anhang (S. A 6f) zu finden.

Vor allem bei den stärker belasteten Flächen kam es zu signifikanten Unterschieden, sowohl innerhalb der Flächengruppe (also an/nicht an typischen Hundeausführstrecken Siedlungsnah/Siedlungsfern, Waldnah/Waldfern) als auch innerhalb der vom Wegrand entfernten Abschnitte.

Die Anzahl der Hundekothaufen in den jeweiligen Distanzen zum Wegrand sind als Kreuz dargestellt (y1), das Gesamtgewicht der Haufen in diesem Bereich mit einem Punkt (y2).

Die Werte von Standort 1 variieren im Frühjahr am stärksten, die Abweichungen vom Mittelwert sowohl bei der Anzahl der aufgefundenen Kothaufen als auch bei ihrem Gesamtgewicht sind in den anderen Jahreszeiten deutlich geringer. Im Frühjahr konnten auf dieser Fläche zwei- bis dreimal so viele Kothaufen gefunden werden, als in den übrigen Jahreszeiten.

Die stärksten Abweichungen vom Mittelwert konnten bei der Fläche am Standort 2 ausgemacht werden, welche die am stärksten belastete Fläche der Untersuchung war.

Die Fläche unterschied sich trotz gleicher Kategorie (Siedlungsnah an typischer Hundeausführstrecke) zu allen Jahreszeiten in allen Abständen vom Wegrand entfernt signifikant von der Fläche Nummer 1.

Bei den übrigen Flächen waren ebenfalls signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Abständen vom Wegrand zu verzeichnen. Aber in keinem anderen Fall waren die Unterschiede so ausgeprägt, wie bei den Flächen 1 und 2.

Auf der Fläche 12 konnte im Frühjahr kein Kot gefunden werden, also ist auch hier keine Varianz möglich. Ebenso verhält es sich bei der Fläche 9 im Sommer sowie bei den Flächen 5, 8 und 9 im Herbst.

Die Standorte 3 und 4, 5 und 6, 7 und 8 und 9 und 10 gehören jeweils derselben Wiesen-kategorie an und auch die Ergebnisse sind ähnlich, wie es das nachfolgende Schaubild verdeutlicht.

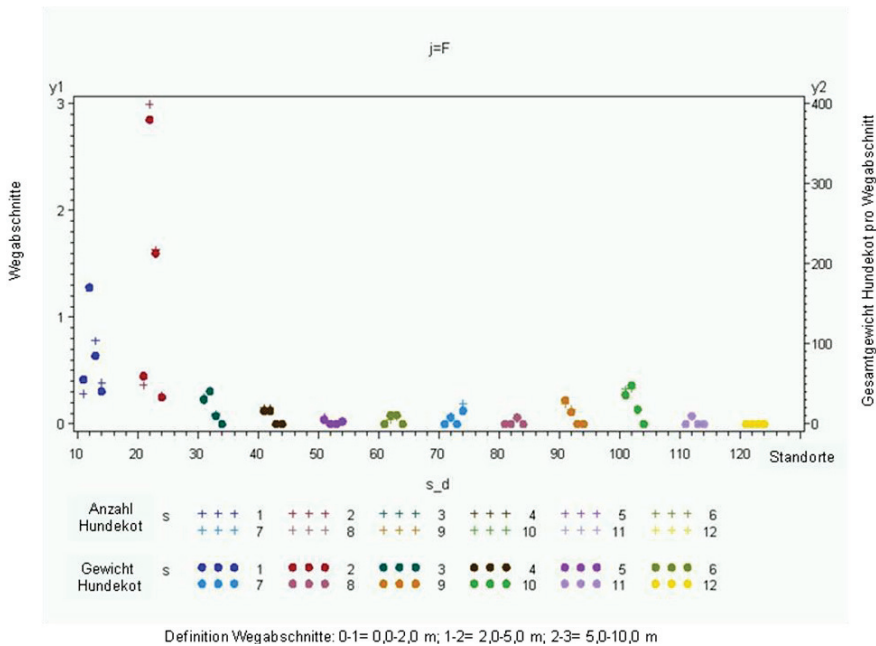


Abb. 15: Darstellung der Varianz der Standorte 1 bis 12 im Frühjahr
(Varianz umso größer je weiter Werte auseinanderliegen. Keine Varianz bei Standort 12, da hier im Frühjahr kein Kot gefunden werden konnte)

4.1.9 Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen des stichprobenartig gesammelten Hundekots

In der nachfolgenden Tabelle 10 sind die Durchschnittskonzentrationen von *Clostridium perfringens*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* und der Gesamtbakterienzahl sowie die Präsenz von *Salmonella* aufgeführt. Die Bakterien stammten aus den im Rahmen der Flächenuntersuchungen gesammelten Hundekothaufen. Zur Untersuchung wurden möglichst frische Hundekothaufen der Gewichtsklassen „mittel“ (131-200 g) oder „groß“ (>200 g) herangezogen. Zu jeder Jahreszeit wurden zehn Hundekothaufen untersucht.

Die ausführlichen Ergebnisse sind in der Tabelle A2 im Anhang zu finden.

Tab 10: Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen des stichprobenartig gesammelten Hundekots (jeweils Durchschnittswerte aus zehn Hundekothaufen)

	<i>Clostridium perfringens</i> (MPN) (KBE/g)	<i>Enterococcus faecalis</i> (MPN) (KBE/g)	<i>Escherichia coli</i> (MPN) (KBE/g)	<i>Salmonella</i> (qualitativ)	Gesamt- bakterienzahl (KBE/g)
Frühjahr	$5,2 \times 10^7$	$1,4 \times 10^7$	$4,0 \times 10^7$	/	$8,6 \times 10^8$
Sommer	$8,3 \times 10^6$	$1,3 \times 10^8$	$4,7 \times 10^8$	/	$7,7 \times 10^8$
Herbst	$3,5 \times 10^6$	$1,3 \times 10^8$	$1,7 \times 10^7$	/	$2,5 \times 10^8$
Winter	$2,6 \times 10^7$	$1,1 \times 10^8$	$5,5 \times 10^7$	/	$9,1 \times 10^8$

Aus der Abbildung 16 gehen die durchschnittlichen Konzentrationen, wie in Tabelle 10 dargestellt, der untersuchten Bakterien hervor. Die Grafik zeigt, dass die Konzentrationen der untersuchten Bakterien sowie die Gesamtbakterienzahl (GBZ) jahreszeitenunabhängig stabil bleiben.

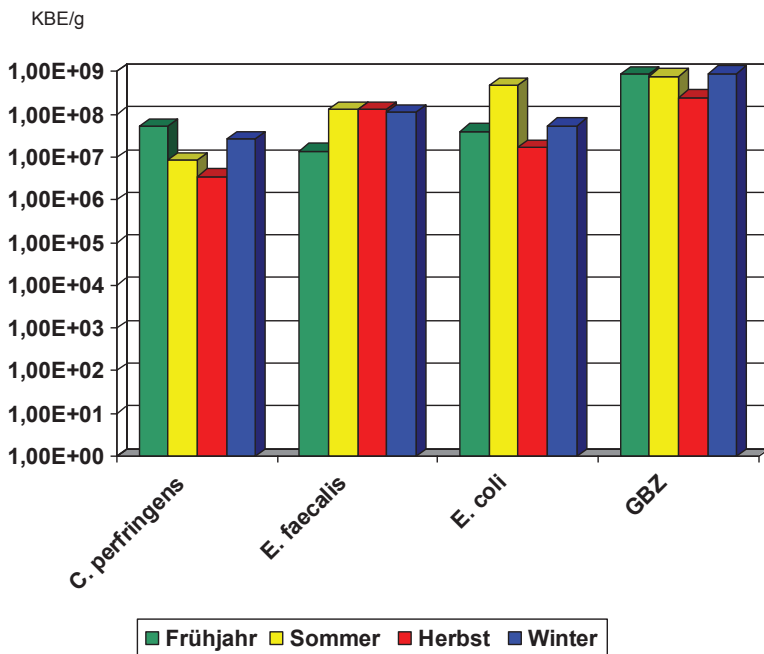


Abb. 16: Darstellung der Durchschnittskonzentrationen von *C. perfringens*, *E. faecalis*, *E. coli* und der Gesamtbakterienzahl der stichprobenartig gesammelten Hundekothaufen in den verschiedenen Jahreszeiten

4.2 Ergebnisse der Resistenztests

Die für die Überprüfung der Resistenzsituation von *Escherichia coli* und Salmonellen aus Hundekot verwendeten Proben 1-10, 11-22, 23-37 und 38-47 stammten jeweils aus denselben Tierheimen im Raum Stuttgart, bei der Probe 48 handelte es sich um einen Hund aus privater Haltung.

Parallel zur Gewinnung der Reinkulturen, wie unter den Punkten 3.5.1.1 und 3.4.2.4 beschrieben, wurden die Hundekotproben auf ihre jeweiligen Konzentrationen von *E. coli* und das Vorhandensein von Salmonellen hin überprüft.

Die Konzentrationen von *E. coli* lagen in Bereichen zwischen 10^2 und 10^8 KBE/g und deckten sich damit mit den Ergebnissen aus einer vorhergehenden Arbeit von EGELER (2007).

In einer Probe konnten qualitativ Salmonellen vom Typ *S. Mbandaka* nachgewiesen werden.

Die ausführlichen Ergebnisse sind der Tabelle A3 im Anhang, S. A 10 zu entnehmen.

Die Ergebnisse der Resistenzuntersuchung der *E. coli*-Isolate deckten sich hinsichtlich ihrer Resistenzraten gegen die Antibiotika Ampicillin, Enrofloxacin Sulfamethoxazol und Tetracyclin weitgehend mit den Resultaten aus anderen Arbeiten. Für das Antibiotikum Cephalothin wurden abweichende Werte ermittelt.

Das einzige Salmonellen-Isolat dieser Untersuchung zeigte gegenüber den Antibiotika Ampicillin, Cephalothin, Enrofloxacin und Tetracyclin eine gute bis sehr gute Empfindlichkeit. Gegenüber Sulfamethoxazol war das Isolat sowohl im Agar-Diffusionstest als auch bei der Mikrodilution resistent.

4.2.1 Ergebnisse der Agar-Diffusionstest

Die vollständigen Ergebnisse der Agar-Diffusionstests der ausgewählten *E. coli*- und *Salmonella*-Isolate sind im Anhang in den Tabellen A4 und A5 zu finden.

Von den Hemmhofdurchmessern (in mm), die in der linken Tabellenhälfte zu finden sind, konnte mittels der vom Deutschen Institut für Normung (DIN) in Zusammenarbeit mit der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie, der Paul-Ehrlich-Gesellschaft sowie dem Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) erarbeiteten Werte auf das Resistenzverhalten des jeweiligen Isolats geschlossen werden (DIN, 1991 und 1998; CLSI, 2009).

Die meisten Isolate, sowohl *E. coli*- als auch *S. Mbandaka*, reagierten sehr empfindlich auf das Antibiotikum Enrofloxacin (Resistenzrate *E. coli* 12,5 %) und oft auch auf Tetracyclin (Resistenzrate *E. coli* 25,0 %). Eine gute Wirksamkeit war in den meisten Fällen bei den Antibiotika Ampicillin (Resistenzrate *E. coli* 31,3 %) und Cephalothin (Resistenzrate *E. coli* 37,5 %) festzustellen. Nur wenige der untersuchten Isolate reagierten empfindlich auf eine Behandlung mit Sulfamethoxazol (Resistenzrate *E. coli* 90,9 %).

4.2.2 Ergebnisse der Mikrodilution

Von jeder Hundekotprobe wurde von der auf ENDO-Agar²⁴ gewachsenen Reinkultur ein *E. coli*-Isolat ausgewählt und mittels Mikrodilution auf den MHK-Wert hin untersucht. Auf dieselbe Weise wurde mit dem *S. Mbandaka*-Isolat verfahren, wobei jeweils eine Reinkultur von der XLD²³- und eine Reinkultur von der BPLS¹¹-Agarplatte untersucht wurden. Das Resistenzverhalten wurde anhand der Werte des Deutschen Instituts für Normung (DIN) in Zusammenarbeit mit der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie, der Paul-Ehrlich-Gesellschaft sowie des Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ermittelt (DIN, 1991 und 1998; CLSI, 2009).

Ähnlich wie bereits bei der Untersuchung der *E. coli*-Isolate mittels Agar-Diffusionstest zeigte das Antibiotikum Enrofloxacin mit einer Resistenzrate von nur 14,6 % die beste Wirksamkeit. Die Antibiotika Tetracyclin und Ampicillin zeigten sich dagegen mit Resistenzraten von 27,1 bzw. 33,3 % nur mäßig wirksam gegenüber den getesteten Isolaten. Bei Cephalothin kam es im Vergleich zum Agar-Diffusionstest (Resistenzrate 37,5 %) mit einer Resistenzrate von 64,6 % zum deutlichsten Unterschied.

Sulfamethoxazol zeigte bei keinem der untersuchten Isolate, weder bei *E. coli* noch bei Salmonellen Wirksamkeit.

Die ausführlichen Ergebnisse sind in den Tabellen A6 und A7 im Anhang zu finden.

4.2.3 Gegenüberstellung der Ergebnisse aus Agar-Diffusionstest und Mikrodilution

In der im Anhang zu findenden Tabelle A8 wurden die Ergebnisse der Agar-Diffusionstests und der Mikrodilution gegenübergestellt.

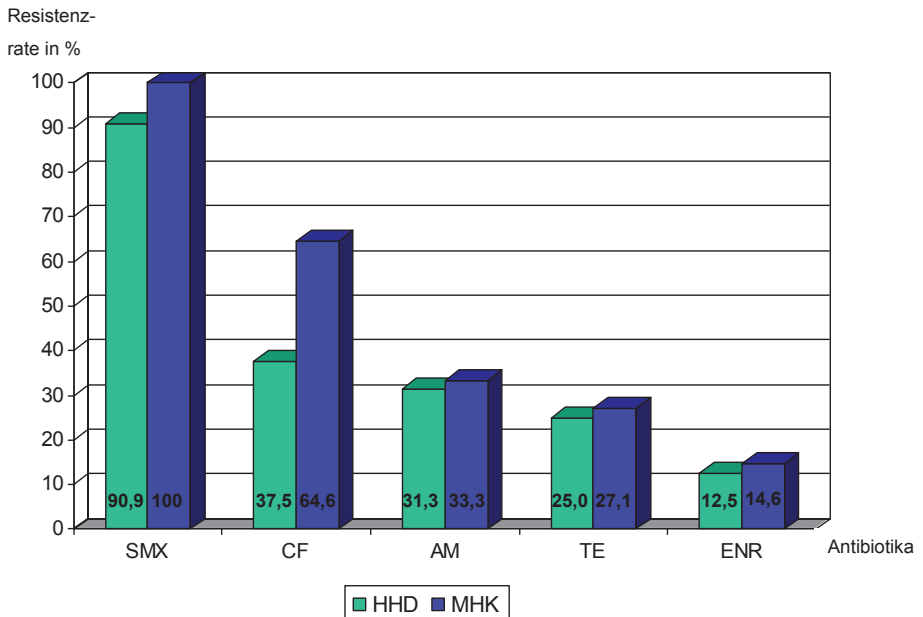
Beide Untersuchungsmethoden lieferten bei den untersuchten Isolaten in der Regel übereinstimmende Ergebnisse.

Bei einigen Proben wurde im Agar-Diffusionstest ein intermediärer Wert ermittelt werden, der aber nach der Mikrodilution als negativ eingestuft werden konnte. In der Regel handelte es sich dabei um Messungenauigkeiten bei der Bestimmung des Hemmhofs.

In drei Fällen weichen die Ergebnisse auch nach einer Wiederholung der Untersuchung vollkommen von einander ab. Das betrifft für das Antibiotikum Cephalothin die Proben 3 und 35 und für das Antibiotikum Ampicillin die Probe 47.

Die Bewertung des Resistenzverhaltens richtet sich nach den Werten des Deutschen Instituts für Normung (DIN) in Zusammenarbeit mit der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie, der Paul-Ehrlich-Gesellschaft sowie des Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (DIN, 1991 und 1998; CLSI, 2009).

Nach Auswertung der Ergebnisse von Agar-Diffusionstest und Mikrodilution der *E. coli*-Isolate, wurden die Resistenzraten der hier verwendeten Antibiotika prozentual in der nachfolgenden Abbildung 17 dargestellt.



SMX: Sulfamethoxazol / CF: Cephalothin / AM: Ampicillin / TE: Tetracyclin / ENR: Enrofloxacin

Abb. 17: Gegenüberstellung der Resistenzraten von Agar-Diffusionstest (HHD) und Mikrodilution (MHK) (in Prozent) der untersuchten *E. coli*-Isolate

4.3 Ergebnisse der mikrobiologischen und parasitologischen Untersuchungen von Silage

Mit den Ergebnissen aus diesen Untersuchungen sollte eine Aussage über das Verhalten der bakteriellen Erreger *Clostridium perfringens*, *Enterococcus faecalis* und *Salmonella* Senftenberg sowie den Parasiten *Cryptosporidium parvum* hinsichtlich ihrer Tenazität bzw. Vitalität im Laufe der Silierung getroffen werden.

Der Hintergrund dieses Versuchs war der Gedanke, ob bestimmte Bakterien bzw. Parasiten, die durch eine Verschmutzung mit Hundekot in Grüngut gelangen, den Silierungsprozess überstehen können und ob sie zum Zeitpunkt der Verfütterung auf Grund ihrer Konzentrationen für die damit gefütterten Tiere noch eine Infektionsrisiko darstellen.

4.3.1 Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen von Silage

Elf (25,6 %) der Silageproben mussten im Laufe des Versuchs auf Grund von Schimmelbildung verworfen werden.

Die als Kontrollprobe mitgeführte Quarzsandprobe wurde bei der letzten Probenahme nach 36 Wochen mit untersucht.

Die Konzentration von *C. perfringens* war bereits bei der ersten Probenahme nach zwei Wochen auf 10^1 KBE/g gesunken, blieb im Versuchsverlauf aber konstant und lag erst bei der letzten Probenahme unterhalb der Nachweisgrenze von $<0,30 \times 10^1$ KBE/g. Der Wert bei der dritten Probenahme lag um eine Zehnerpotenz höher als die übrigen Werte. In der Quarzsandprobe war *C. perfringens* nach 36 Wochen nicht mehr nachweisbar.

E. faecalis war bei der vierten Probenahme nach zwölf Wochen noch in Konzentrationen von fast 10^5 KBE/g nachweisbar und sank erst ab der fünften Probenahme nach 24 Wochen deutlich ab. Im Quarzsand fiel die Konzentration um lediglich zwei Zehnerpotenzen von 10^8 auf 10^6 KBE/g.

S. Senftenberg konnte bereits ab der zweiten Probenahme nicht mehr wiedergefunden werden und war auch bei der Untersuchung der Quarzsandprobe unterhalb der Nachweisgrenze.

Tab. 11: Konzentrationsveränderungen der untersuchten Bakterien in der artifiziell kontaminierten Silage

Untersuchte Bakterien Zeitpunkt der Probenahme	<i>Clostridium perfringens</i> (MPN) (KBE/g)	<i>Enterococcus faecalis</i> (MPN) (KBE/g)	<i>Salmonella</i> Senftenberg (MPN) (KBE/g)
Ausgangskonzentration	$1,6 \times 10^3$	$5,9 \times 10^8$	$8,0 \times 10^8$
Nullprobe (wenige Stunden nach Einsilierung)	$4,3 \times 10^3$	24×10^6	24×10^6
1. Probenahme (nach 2 Wochen)	1.1 $4,3 \times 10^1$ 1.2 $4,3 \times 10^1$ 1.3 $0,74 \times 10^1$	1.1 24×10^5 1.2 24×10^5 1.3 $9,3 \times 10^4$	1.1 24×10^5 1.2 46×10^5 1.3 $2,3 \times 10^5$
Ø	$3,1 \times 10^1$	$16,3 \times 10^5$	$24,1 \times 10^5$
2. Probenahme (nach 4 Wochen)	2.1 $9,3 \times 10^1$ 2.2 $1,5 \times 10^1$ 2.3 $0,36 \times 10^1$	2.1 $4,3 \times 10^6$ 2.2 $9,3 \times 10^6$ 2.3 24×10^5	2.1 $<0,30 \times 10^1$ 2.2 $<0,30 \times 10^1$ 2.3 $<0,30 \times 10^1$
Ø	$3,72 \times 10^1$	$5,3 \times 10^6$	$<0,30 \times 10^1$
3. Probenahme (nach 6 Wochen)	3.1 46×10^1 3.2 $0,74 \times 10^1$ 3.3 $4,3 \times 10^1$	3.1 $3,6 \times 10^4$ 3.2 $1,5 \times 10^4$ 3.3 $1,5 \times 10^4$	3.1 $<0,30 \times 10^1$ 3.2 $<0,30 \times 10^1$ 3.3 $<0,30 \times 10^1$
Ø	$17,0 \times 10^1$	$2,2 \times 10^4$	$<0,30 \times 10^1$
4. Probenahme (nach 12 Wochen)	4.1 $4,3 \times 10^1$ 4.2 $4,3 \times 10^1$ 4.3 $0,36 \times 10^1$	4.1 24×10^4 4.2 $0,74 \times 10^4$ 4.3 $0,36 \times 10^1$	4.1 $<0,30 \times 10^1$ 4.2 $<0,30 \times 10^1$ 4.3 $<0,30 \times 10^1$
Ø	$3,0 \times 10^1$	$8,3 \times 10^4$	$<0,30 \times 10^1$
5. Probenahme (nach 24 Wochen)	5.1 $0,92 \times 10^1$ 5.2 $9,3 \times 10^1$ 5.3 $1,5 \times 10^1$	5.1 $2,3 \times 10^1$ 5.2 $0,92 \times 10^1$ 5.3 $2,1 \times 10^1$	5.1 $<0,30 \times 10^1$ 5.2 $<0,30 \times 10^1$ 5.3 $<0,30 \times 10^1$
Ø	$3,9 \times 10^1$	$1,8 \times 10^1$	$<0,30 \times 10^1$
6. Probenahme (nach 36 Wochen)	6.1 $<0,30 \times 10^1$ 6.2 $<0,30 \times 10^1$ 6.3 $<0,30 \times 10^1$	6.1 $<0,30 \times 10^1$ 6.2 $<0,30 \times 10^1$ 6.3 $<0,30 \times 10^1$	6.1 $<0,30 \times 10^1$ 6.2 $<0,30 \times 10^1$ 6.3 $<0,30 \times 10^1$
Ø	$<0,30 \times 10^1$	$<0,30 \times 10^1$	$<0,30 \times 10^1$
Quarzsandprobe	$<0,30 \times 10^1$ KBE/g	$4,6 \times 10^6$ KBE/g	$<0,30 \times 10^1$ KBE/g

Die Abbildung 18 stellt die Tenazität der untersuchten Bakterien *Clostridium perfringens*, *Enterococcus faecalis* und *Salmonella* Senftenberg grafisch dar.

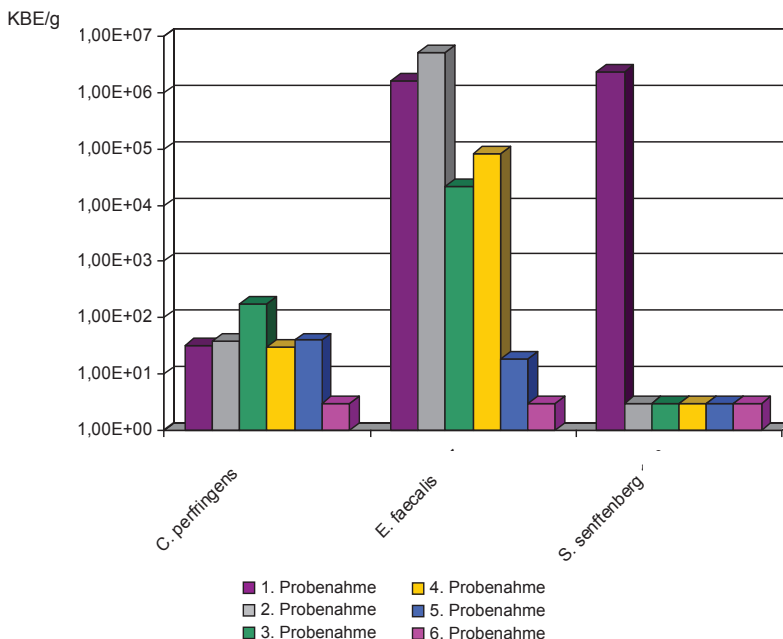


Abb. 18: Darstellung der Mittelwerte der Konzentrationsveränderungen von *C. perfringens*, *E. faecalis* und *S. Senftenberg* ohne Nullprobe

4.3.1.1 Verlauf des pH-Werts

Die Entwicklung des pH-Wertes wurde während der Untersuchungen regelmäßig kontrolliert, da die ausreichende Absenkung des pH-Werts maßgeblich für einen erfolgreichen Silierungsverlauf verantwortlich ist.

Der pH-Wert des Silierguts betrug am Tag der Einsilierung 6,02 und wurde im Laufe des Versuchs drei weitere Male ermittelt. Zwei Wochen nach Versuchsbeginn war er bereits auf 4,87 abgefallen, nach zwölf Wochen betrug er 4,99 und kurz vor Ende des Versuchs lag er bei 4,67.

Die Werte zeigen, dass der pH-Wert nach der anfänglichen raschen Absenkung relativ stabil geblieben ist, was auf einen guten Verlauf der Silierung hinweist.

Auch bei der mit den *Cryptosporidium parvum*-Keimträgern bestückten Silage fiel der pH-Wert im Versuchsverlauf kontinuierlich von anfänglich 5,25 über 4,19 nach fünf Wochen auf schließlich 4,00 nach 10 Wochen ab.

4.3.1.2 Auswirkung der Abpufferung der Silagesäuren mit di-Natriumhydrogenphosphat

Mit diesem Untersuchungsschritt sollte überprüft werden, welche Auswirkung die Zugabe der säureabpuffernden Substanz di-Natriumhydrogenphosphat⁴¹ direkt bei der Entnahme der Silageprobe auf die zu untersuchenden Bakterienkonzentrationen hat.

Bereits bei der ersten Probenahme wenige Stunden nach dem Vermischen der Keimsuspension mit der Silage konnten von ursprünglich $6,5 \times 10^8$ KBE/ml *E. faecalis*, bzw. $1,1 \times 10^9$ KBE/ml *S. Senftenberg* sowohl in NaCl^1 als auch in $\text{NaCl}^1 + \text{Na}_2\text{HPO}_4^{41}$ nur 10^5 KBE/ml wieder gefunden werden.

Nach einer Woche in der Silage waren die eingesetzten Bakterien nahezu nicht mehr nachweisbar.

Die in Tabelle 12 dargestellten Ergebnisse zeigen damit, dass der Einsatz einer säureabpuffernden Substanz keine Wirkung auf die Konzentration der Bakterien in der Silage hatte.

Tab. 12: Ergebnisse der Untersuchung der Silage mit und ohne di-Natriumhydrogenphosphat

Untersuchte Bakterien Zeitpunkt der Probenahme	<i>Enterococcus faecalis</i> (MPN) (KBE/g)		<i>Salmonella</i> Senftenberg (MPN) (KBE/g)	
	ohne	mit	ohne	mit
1. Probenahme (wenige Stunden nach Beimpfung)	1: 24×10^5	1+: 24×10^5	1: $9,3 \times 10^5$	1+: 24×10^5
	2: $9,3 \times 10^5$	2+: 24×10^5	2: 15×10^5	2+: $4,3 \times 10^5$
	3: 24×10^5	3+: 24×10^5	3: $9,3 \times 10^5$	3+: $9,3 \times 10^5$
2. Probenahme (nach 1 Woche)	1: $0,36 \times 10^1$	1+: $0,36 \times 10^1$	1: $<0,30 \times 10^1$	1+: $<0,30 \times 10^1$
	2: $0,36 \times 10^1$	2+: $<0,30 \times 10^1$	2: $<0,30 \times 10^1$	2+: $<0,30 \times 10^1$
	3: $1,5 \times 10^1$	3+: $2,1 \times 10^1$	3: $<0,30 \times 10^1$	3+: $<0,30 \times 10^1$

4.3.2 Ergebnisse der parasitologischen Untersuchungen von Silage

Von den 18 für den Versuch befüllten Gläser war bei dreien (16,7%) (R1, R2 und R4) Schimmelbildung feststellbar.

Die Flüssigkeit, die bei der Filtration zur Bestückung der Keimträger angefallen war, wurde nach dem Herstellen der Keimträger auf die Anzahl der darin befindlichen Oocysten untersucht. Aus der unerwartet hohen Konzentration von $2,5 \times 10^5$ Oocysten/ml in der abgeschwemmten Flüssigkeit ließ sich schlussfolgern, dass sich von den ursprünglich $5,0 \times 10^7$ Oocysten/ml nur rund 200 Oocysten auf jedem Keimträger befanden. Da aber laut Aussage des Instituts für Parasitologie der Universität Leipzig zur Auswertung bereits 100 Oocysten ausreichend sind, war die wiedergefundene Anzahl der Oocysten in jedem Fall ausreichend, um eine Aussage über die Veränderung der Excystierungsrate und somit über die Vitalität der Oocysten treffen zu können.

Aus Abbildung 19 geht hervor, dass die Excystierungsrate der Oocysten von *C. parvum* im Laufe der Zeit konstant abnahm. Bei der Untersuchung nach sieben Wochen kam es zu einem geringfügigen Anstieg der Excystierungsrate. In der folgenden Untersuchung drei Wochen später fiel die Kurve aber wieder deutlich ab.

In der Tabelle 13 sind die Werte zur Ermittlung der Excystierungsrate aufgeführt.

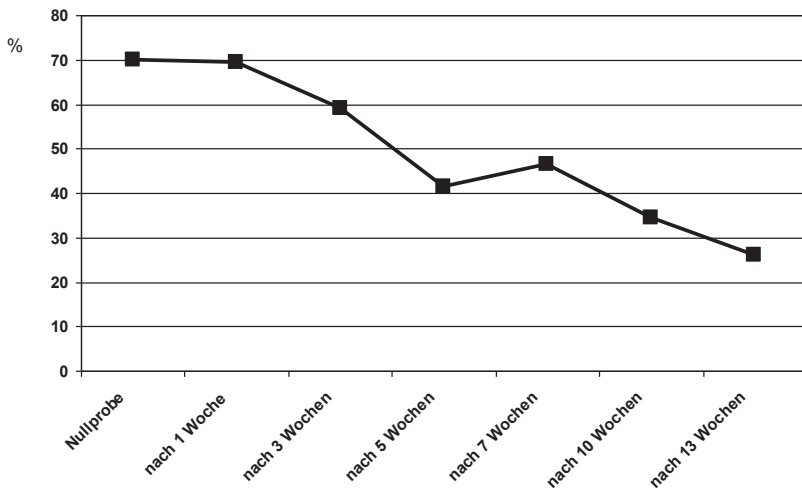


Abb. 19: Darstellung der Excystierungsrate der Oocysten von *C. parvum* während der Silierung

Tab. 13: Ergebnisse der Mikroskopischen Untersuchung mit der Mc Master Zählkammer und Ermittlung der Excystierungsrate für Oocysten von *C. parvum*

Probe	Zeitpunkt der Probenahme ab Befüllen der Gläser	Eizahl pro ml vor Excystierung (Mikroskopisch)	Excystierungsrate (von 100)
1.1 1.2 Ø	Wenige Stunden (Nullprobe)	/	71 % 69 % 70 %
2.1 2.2 Ø	1 Woche	2270 8110 5190	69 % 70 % 69,5 %
3.1 3.2 Ø	3 Wochen	57000 7890 32445	59 % 59 % 59 %
4.1 4.2 Ø	5 Wochen	8290 6900 7595	53 % 30 % 41,5 %
5.1 5.2 Ø	7 Wochen	3230 5430 4330	44 % 49 % 46,5 %
6.1 6.2 Ø	10 Wochen	2430 1710 2070	34 % 35 % 34,5 %
7.1 7.2 Ø	13 Wochen	7700 6230 6965	26 % 26 % 26 %
Weitere Ergebnisse (R=Reservegläser)			
R2 (Schimmelbildung)	3 Wochen	2680	55%
R1	13 Wochen	1980	/
R3	13 Wochen	7310	31 %
R4	13 Wochen	2150	/

5 DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Die in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen sollen eine Aussage über das von Hundekot ausgehende potenzielle Risiko für die Umwelt als auch für die Gesundheit von Mensch und Tier ermöglichen.

Die Versuche waren so ausgelegt, dass neben der Erfassung der umwelthygienischen Bedeutung von Hundekot auf landwirtschaftlich genutzten Grünflächen die füttermittelhygienische Relevanz mikrobiologisch ermittelt und darüber hinaus die Gefahr der Verbreitung resistenter Bakterienstämme durch Hundekot betrachtet wurde.

5.1 Diskussion der Ergebnisse der umwelthygienischen Untersuchungen

Sowohl im Internet als auch in den Printmedien sind zahlreiche Beschwerden über Verschmutzungen mit Hundekot, vor allem in Stadtgebieten aber auch in Außenbereichen zu finden. Untersuchungen zur Ermittlung der tatsächlichen Belastung von landwirtschaftlich genutzten Flächen mit Hundekot fanden in diesem Umfang bislang aber nicht statt.

5.1.1 Diskussion des Fragebogens

Der Fragebogen lieferte Informationen von Hundehaltern zu den Ausführ- und Abkotgewohnheiten sowie der Fütterungspraxis ihrer Tiere, die soweit möglich, mit dem Zustand auf den untersuchten Flächen verglichen wurden.

Die nach der Auswertung gewonnenen Erkenntnisse lassen sich hinsichtlich der Angaben zu den Abkotgewohnheiten der Hunde sowie dem Willen der Hundehalter den Hundekot zu entfernen nicht auf die Ergebnisse der Flächenuntersuchungen übertragen.

So gaben z. B. die meisten Hundehalter an, ihr Tier würde nicht weiter als zwei Meter in eine Wiese bzw. einen Acker hineinlaufen. Durchschnittlich wurde der Kot aber am häufigsten im Bereich bis zu fünf Metern vom Wegrand entfernt gefunden.

Das Heranziehen von Vergleichsdaten hinsichtlich des Abkot- und Ausführverhaltens war mangels adäquater Studien nicht möglich.

Die Ergebnisse unter 4.1.2 zeigen im Hinblick auf die Fütterung, dass mit einer fütterungs-assoziierten Infektion nur selten zu rechnen sein dürfte, da die meisten Hunde mit Dosen-

und Trockenfutter ernährt wurden. Von solchen Futtermitteln geht bei entsprechender Verarbeitung keine Gefahr aus (MEYER und ZENTEK, 2005).

329 der 398 Hunde aus dieser Untersuchung bekommen jeden Tag Trockenfutter zu fressen. Diese Praxis hat sich in den letzten Jahren durch verschiedene Vorfälle mit BSE durchgesetzt. Daneben ist die Fütterung mit Trockenfuttermitteln für den Hundehalter bequem und unkompliziert, da die Zusammensetzung eine komplette Nährstoffversorgung gewährleistet (MEYER und ZENTEK, 2005).

Die Fütterung mit rohem Fleisch ist dagegen kritischer zu sehen. Allerdings wurden nur 50 der nahezu 400 Hunde der Umfrage mit rohem Frischfleisch bzw. Hackfleisch gefüttert, wobei der Trend durch das zunehmend populärer werdende „Barfen“, also der ausschließlichen Fütterung roher Produkte, als steigend zu betrachten ist. Da hierzulande die Fleischkontrollen jedoch sehr gründlich sind, stellt hauptsächlich aus dem Ausland importiertes Fleisch, vor allem vom Schwein, ein Risiko für enteritische Erkrankungen dar (ZORN und STEELE, 2008).

Lediglich sieben Hunde aus der Befragung bekommen täglich Knochen zu fressen. Das liegt vermutlich daran, dass die Fütterung von Knochen mit einer Verletzungsgefahr des Verdauungstrakts durch Knochensplitter verbunden ist. Außerdem kann es zu Verstopfungen, hartem Kot und Darmverschluss kommen. Heutzutage werden zur Zahnpflege vermehrt Kauartikel wie Pansenstreifen oder Schweineohren verwendet, in denen sich aber immer wieder Salmonellen finden lassen (KRALL, 1960; MEYER und ZENTEK, 2005).

Generell muss bedacht werden, dass nur wenige Hunde überhaupt krankheitsverursachende Bakterien oder Parasiten ausscheiden (MEYER und ZENTEK, 2005; ROBBIN, 1982). Um bei anderen Tieren oder dem Menschen eine Infektion zu verursachen, müsste die Erregerausscheidung in so großen Mengen erfolgen, dass bei einer oralen Aufnahme die minimale Infektionsdosis erreicht wird. Bei vielen Krankheitserregern sind das größere Mengen, bei manchen Parasiten oder EHEC genügen aber bereits einige wenige Erreger. Anfällig für Infektionen sind vor allem Tiere und Menschen mit einer geschwächten Immunabwehr, Kranke und Alte (HEESEMAN, 2001; BÜLTE, 2004).

Hundekot ist auf Flächen mit kurzem Bewuchs meist gut zu sehen, zumindest dann, wenn in unmittelbarer Nähe z.B. Fallobst oder bodennah wachsendes Gemüse aufgenommen wird. Da die darmstämmigen Erreger häufig durch Austrocknung, aerobe Umgebung oder starkes Erhitzen abgetötet oder zumindest dezimiert werden, sinkt die Gefahr einer Infektion durch

einen zeitversetzten Verzehr, gründliches Waschen oder Kochen kontinuierlich ab (ROLLE und MAYR, 2002; EIKMEIER und NOLTE, 1995).

Vor diesem Hintergrund erscheint es unwahrscheinlich, dass sich einer der Hunde aus der vorliegenden Untersuchung mit *Neospora caninum* oder einem weiteren der hier relevanten Krankheitserreger über die Fütterung infiziert bzw. andere Tiere oder Menschen infizieren kann.

In Rahmen der vom Friedrich-Löffler-Institut (FLI) erstellten Risikobewertung zu *Neospora caninum*-bedingten Aborten bei Rindern wurde ebenfalls eine Umfrage durchgeführt, die allerdings lediglich auf die Ernährung der Hunde abzielte. Von den insgesamt 124 Hunden erhielten im Monat vor der Umfrage nur zehn rohes Rindergewebe zu fressen, darunter waren 4 Gebrauchshunde (Jagd-, Hof-, Wach- und Zuchthunde). Da angenommen werden kann, dass nicht jedes verfütterte Risikomaterial auch tatsächlich infektiös ist, ist das Risiko einer fütterungsbedingten Ansteckung relativ gering (SCHARES et al., 2006).

STAUB (2004) erstellte im Rahmen ihrer Untersuchungen zur Seroprävalenz von *Neospora caninum* bei Hunden ebenfalls einen an Hundehalter gerichteten Fragebogen. Mit dessen Hilfe konnte die Korrelation der abgefragten Faktoren mit der Häufigkeit der Seroprävalenz von *N. caninum* verglichen werden. Dabei wurden unter anderem auch die Fütterungsgewohnheiten erfragt.

Mit 273 beantworteten Fragebögen war die Anzahl der auswertbaren Antworten etwas geringer als in dieser Untersuchung, die Fragebögen waren allerdings auch umfangreicher. Die Resonanz war mit 86,67 % ebenfalls sehr gut.

Der Anteil der Hündinnen war auch in der Arbeit von STAUB (2004) geringfügig höher als der der Rüden. Die Altersspanne (zwei Monate bis 15 Jahre) der untersuchten Hunde war nahezu identisch mit der vorliegenden Arbeit (zwei Monate bis 17 Jahre). Die Daten zur Fütterung decken sich ebenfalls weitgehend. Der Anteil der Hunde, die mit rohem Fleisch gefüttert werden, ist allerdings in der vorliegenden Arbeit höher.

Die Ergebnisse von STAUB (2004) zeigen, dass die vermehrte Verfütterung von Rindfleisch einen Risikofaktor für eine Infektion mit *N. caninum* darstellen könnte. Ebenso waren in der Untersuchung mehr Hündinnen als Rüden und mehr große als kleine Hunde seropositiv auf *N. caninum* getestet worden. Ein signifikanter Unterschied bestand lediglich im Bezug auf das Alter der Tiere: So war die Seroprävalenz bei Hunden, die älter als drei Jahre waren signifikant höher, als bei jüngeren Tieren.

5.1.2 Diskussion der Ergebnisse der Flächenuntersuchungen

Die tatsächliche Kotbelastung im Stadtgebiet wurde bereits von dem Berliner Projekt „Stadt und Hund“ (siehe auch 2.2) mittels der sogenannten Kotkartierung ermittelt, bei der die Anzahl der Hundekothaufen pro Wegabschnitt erfasst wird.

Die Kotkartierungen werden vor und während laufender Projekte gegen Hundekotverschmutzungen durchgeführt und beschränken sich auf definierte Gehwegabschnitte. Durch diese Langzeituntersuchungen kann auf den Erfolg der Projekte geschlossen werden (KROCKAUER, 2009).

Gleichermaßen führte das Berliner Reuterquartier im Bezirk Neukölln die Aktion „Gemeinsam gegen Hundekot“, ein Folgeprojekt des 2007 gestarteten "Reuterkiez piccobello", durch. Auf der Homepage www.reuter-quartier.de ist die „Hundekot-Belastungskarte Reuterkiez“ zu finden, die von der Firma Umweltconsulting Dr. Hoffmann erstellt wurde. Aus den aufgefundenen Hundekothaufen wurde der Quotient „Haufen pro Grundstück“ erstellt. Aus der Karte geht allerdings lediglich der Belastungsgrad („schwach“, „mäßig“, „stark“, „sehr stark“ und „extrem belastet“) hervor, nicht jedoch die Anzahl der Hundekothaufen, die diesen Kategorien zu Grunde liegen (HOFFMANN und WONGLORZ, 2008).

Das Friedrich-Löffler-Institut (FLI) gab in einer Risikobewertung zum Thema *Neospora caninum* die notwendige Kotabsatzhäufigkeit an, bei der zumindest ein geringes Risiko für einen *N. caninum*-bedingten Abort bei Rindern besteht (siehe auch 2.8.6). Das Ergebnis ist als „Worst Case“-Szenario dargestellt und beruht auf Schätzwerten und Hochrechnungen, nicht aber auf der realen IST-Situation (SCHARES et al., 2006).

Die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit kamen zu dem Ergebnis, dass Flächen, die näher an Siedlungen und an typischen Hundeausführstrecken lagen, zum Teil deutlich stärker mit Hundekot belastet waren als Flächen, die etwas abgeschiedener waren. Auch Wiesen im oder am Wald waren weniger belastet, unabhängig davon, ob sie an typischen Hundeausführstrecken lagen oder nicht.

Anhand der Aussagen der Städte und Gemeinden des Untersuchungsgebiets und ähnlichen Ergebnissen, die bereits eine vorausgegangene, weniger umfangreiche Untersuchung von EGELER (2007) lieferte, waren die Resultate der Flächenuntersuchungen so zu erwarten.

Im untersuchten Bereich der Flächen 1 und 2, die ortsnahe an typischen Hundeausführstrecken lagen, waren im Jahresdurchschnitt 49 bzw. 110,25 Hundekothaufen zu finden.

Dieser deutliche Unterschied zwischen den Jahresdurchschnittswerten, trotz des selben Wiesentyps, lässt sich damit erklären, dass die Fläche 1 zwar siedlungsnah, aber in keiner besonders reizvollen Umgebung zum Spazieren gehen lag, so dass sie vermutlich vor allem bei schlechtem Wetter (Regen, Wind, geringe Temperaturen), wie es zum Untersuchungszeitpunkt teilweise der Fall war, stärker frequentiert ist. Durch eine unmittelbar angrenzende Jugendbegegnungsstätte besteht auf dieser Fläche zudem ein gesteigertes Verletzungsrisiko des Hundes durch weggeworfene Flaschen, Feuerzeuge, Zigaretten oder diverse Verpackungen.

Die Fläche am Standort 2, die unmittelbar an eine Wohnsiedlung grenzte, war dagegen bei jeder Untersuchung von Spaziergängern mit und ohne Hund stark frequentiert. Auf dieser Fläche konnten zu jeder Jahreszeit über 100 Kothaufen gefunden werden. Der direkt an der Fläche befindlichen Hundekotentsorgungsstation mit Beutelspender wurde dabei offensichtlich kaum Beachtung geschenkt. Der Ort lag mit 2,6 Hunden pro 100 Einwohner eher im unteren Bereich der durchschnittlichen Anzahl gehaltener Hunde im Landkreis Böblingen (ANONYM, 2009c).

Auf ortsnahen Flächen, die nicht an typischen Hundeausführstrecken lagen, war im Vergleich zu den Standorten 1 und 2 eine Abnahme der Anzahl aufgefundenen Hundekothaufen zu verzeichnen. So konnten auf der Fläche 3 im Untersuchungsjahr durchschnittlich 28,5 Hundekothaufen und auf der Fläche 4 24,5 Kothaufen gefunden werden.

Auffallend war bei beiden Flächen, dass im Frühjahr deutlich weniger Kot gezählt werden konnte als in den übrigen Jahreszeiten. So wurden auf der Fläche 3 im Frühjahr mit 16 nur etwa halb so viele Kothaufen gefunden als im Sommer, Herbst und Winter. Bei der Fläche 4 entsprach der Wert sogar nur einem Fünftel der Anzahl der übrigen Jahreszeiten. Vermutlich trug das um den Untersuchungszeitpunkt herrschende regnerische Wetter im Frühjahr zu diesem Ergebnis bei.

Der Jahresdurchschnitt auf den ortsfernen und an typischen Hundeausführstrecken gelegenen Flächen 5 und 6 betrug 2,25 und 7 Hundekothaufen. Ein davon stark abweichender Wert konnte im Winter bei der Fläche 5 mit 25 Hundekothaufen gefunden werden. Die meisten der Kothaufen wurden dabei im Bereich von 5,0 bis 10,0 Metern gefunden. Durch den jahreszeitlich bedingten kurzen Bewuchs der Fläche sowie den zum Untersuchungszeitpunkt herrschenden Bodenfrost lud die Fläche zum Spielen oder auch quer darüber hinweg Laufen ein. Durch die im Vergleich zum einfachen Spaziergang

vermehrte Bewegung wird beim Spielen der Drang zum Abkoten verstärkt (BAUMGARTNER, 2005).

Auf den ortsfernen Flächen 7 und 8, die nicht an typischen Hundeausführstrecken lagen, betrug die durchschnittliche Anzahl der aufgefundenen Hundekothaufen 4,5 und 2,75. Beide Flächen waren mit dem PKW ungünstig zu erreichen. Fläche 7 lag an einer vielbefahrenen Bundesstraße und Fläche 8 in einem eher unzugänglichen Gebiet mit unbefestigten Feldwegen, so dass die Anzahl der dort gefundenen Hundekothaufen den Erwartungen stets entsprach.

Auf der Fläche 9 konnten durchschnittlich 3,25 Hundekothaufen gefunden werden und auf Fläche 10 waren es 18,5. Beide Flächen waren walddah an typischen Hundeausführstrecken in Form viel frequentierter Rundwege lokalisiert. Es standen jeweils günstige Parkmöglichkeiten zur Verfügung.

Bei den Flächen 11 und 12, die beide walddah und nicht an typischen Hundeausführstrecken lagen, konnten über das Untersuchungsjahr hindurch durchschnittlich 2,25 und 3,5 Hundekothaufen gefunden werden. Diese vergleichsweise geringe Menge ist auf die verkehrs- und wegetechnisch ungünstige Lage der Flächen zurückzuführen.

Die Untersuchung der siedlungsnahen Flächen hat gezeigt, dass die Kotbelastung in der Regel ab 5,0, oft auch schon ab 2,0 Metern vom Wegrand entfernt abnimmt. Aus Erfahrungen und Beobachtungen geht hervor, dass viele Hundehalter ihre Tiere nicht bereits in unmittelbarer Siedlungsnähe von der Leine lassen, da dort oft noch mehr Menschen und Fahrzeuge unterwegs sind. Hinzu kommt, dass der Laufdrang der Tiere oft zu Beginn des Spaziergangs besonders hoch ist und sie häufig Geruchsspuren anderer Hunde verfolgen, die zuvor auf dieser Strecke unterwegs waren. Der Kot wird möglicherweise deshalb nah am Wegrand abgesetzt. Kettenreaktionsartig werden weitere Hunde von den Gerüchen angelockt, so dass es für den Hund keinen Anreiz gibt, um sich weiter vom Wegrand zu entfernen.

Ein weiterer wichtiger Faktor ist das Wetter. An kalten oder regnerischen Tagen fallen die zum Abkoten notwendigen Spaziergänge bei vielen Hundehaltern kürzer aus, so dass der meiste Kot unwillkürlich siedlungsnah abgesetzt wird. Somit kann während regnerischer oder besonders kalter Phasen auf siedlungsnahen Flächen mit mehr Hundekot gerechnet werden, was durch die Untersuchungsergebnisse auch untermauert wird.

Die Hundekothaufen lagen vor allem auf stark belasteten Flächen häufig eng beieinander. Die Verteilung legt die Vermutung nahe, dass auf diese Weise, ähnlich dem Markieren mit Urin, der Kotgeruch anderer Hunde überdeckt werden soll.

Auf siedlungsfernen und waldnahen Flächen, unabhängig davon, ob sie an oder nicht an typischen Hundeausführstrecken gelegen waren, konnte der meiste Hundekot dagegen im Bereich zwischen 5,0 und 10,0 Meter und noch weiter (der allerdings nicht mehr erfasst wurde) vom Wegrand entfernt gefunden werden.

Auf siedlungsfernen Flächen konnte dagegen vor allem in Zeiten geringer Bewuchshöhe auf zwei an Hundeausführstrecken gelegenen Flächen (5 und 9) die höchste Kotbelastung im Bereich von 5,0 bis 10,0 Metern festgestellt werden. Die Auswertung des Fragebogens belegt, dass viele Hundehalter ihre Hunde unangeleint laufen lassen, was den Hunden einen großen Bewegungsradius einräumt. Doch selbst an der Leine geführte Hunde haben dank Flexi- und Schleppleinen Aktionsräume von vielen Metern. Der Vorteil bei leinengeführten gegenüber freilaufenden Hunden ist die Möglichkeit des Einholens, falls auf Zuruf keine Reaktion erfolgen sollte.

Die Auswertung der Ergebnisse weist einige Werte auf, die deutlich von den Übrigen abweichen. Solche Ausreißerwerte können diverse Ursachen haben: Maßgebend sind der Untersuchungszeitpunkt und die Wetterbedingungen vor und am Untersuchungstag. So kann davon ausgegangen werden, dass während einer regnerischen Phase auf siedlungsfernen Flächen, die mit dem PKW nur schlecht erreichbar sind, nur wenige Kothaufen aufzufinden sein werden. Wird dieselbe Fläche bei gutem Wetter an einem Wochenende im Sommer erneut untersucht, ist die Anzahl der aufgefundenen Hundekothaufen womöglich deutlich höher. Durch die Mehrfachuntersuchungen der Flächen war die Ermittlung eines Durchschnittswertes möglich, bei dem einzelne Ausreißerwerte nur geringen Einfluss auf das Endergebnis haben.

Die Angaben zur Kotbelastung der landwirtschaftlich genutzten Flächen werden in dieser Arbeit überwiegend mit der Anzahl der aufgefundenen Hundekothaufen und nicht mit dem Kotgewicht gemacht. Das liegt vor allem daran, dass anhand des Kotgewichts keine Aussage über ein Infektionsrisiko getroffen werden kann. Das Kotgesamtgewicht auf einer Fläche kann durch wenige große Haufen oder auch durch viele kleine und mittelgroße Haufen, also auch viel mehr verschiedene Hunde, zustande kommen. Die Anzahl der Kothaufen, die in der Regel von vielen verschiedenen Hunden stammen, ist dagegen unter seuchenhygienischen Gesichtspunkten relevanter. Generell besteht auf stärker mit Hundekot

belasteten Flächen ein höheres Risiko einer Infektion mit tier- oder humanpathogenen Krankheitserregern als auf geringer belasteten Flächen.

Um die Ergebnisse aber mit weiteren Faktoren vergleichen zu können, durch die Kot auf Grünflächen gelangen kann, wurde die Kotbelastung der Flächen in Kilogramm ermittelt (siehe Tab. 5b, 6b, 7b und 8b).

Die am stärksten belastete Fläche 2 war auf 1000 m² über das Jahr gerechnet im Bereich bis 10,0 Meter vom Wegrand entfernt mit durchschnittlich 16,2 kg Kot bzw. 110,25 Hundekothaufen belastet. Verglichen mit den gesetzlich zulässigen Mengen an Fest- und Flüssigmist, die als Düngemittel auf landwirtschaftlich genutzte Grünflächen ausgebracht werden dürfen, erscheinen die ermittelten Mengen an Hundekot sehr gering. Die Ausbringungsmengen liegen für Festmist in Abhängigkeit von Tierart, TS-Gehalt und Nährstoffgehalt zwischen zehn und 30 t/ha und Jahr, bei Rindergülle bei zehn bis 20 m³/ha pro Ausbringung und bei Jauche zwischen 15 und 35 m³/ha pro Ausbringung (ELSAESSER und THUMM, 2011).

Die Ausbringung von Fest- und Flüssigmist auf landwirtschaftlich genutzte Grünflächen ist durch die Düngemittel-Verordnung geregelt und von zahlreichen Faktoren, wie der Zusammensetzung, dem Nährstoffgehalt, dem TS-Gehalt, dem Ausbringungsort, der Jahreszeit, der Ausbringungstechnik, der Herkunft oder der Tierart abhängig (DüMV, 2008). Durch diese Regelungen gelangt der Fest- oder Flüssigmistdünger im Gegensatz zu Hundekot kontrolliert und stets vor Beginn des Aufwuchses auf die Flächen.

Die jeweilige Gesamtfläche der untersuchten Flächen wurde zwar nicht genau ermittelt, war aber in jedem Fall mindestens genau so groß, wie der untersuchte Bereich, in der Regel noch größer.

Die Untersuchungen haben gezeigt, dass vor allem bei stark verschmutzten Flächen nicht von einer gleichmäßigen Hundekotverteilung ausgegangen werden kann und die Belastung zum Wieseninneren hin in der Regel abnimmt. Dagegen ist bei der Fest- und Flüssigmistdüngung die Verteilung auf der gesamten Fläche gleichmäßig und auch bei der Beweidung durch z. B. Schafe ist der Kot gleichmäßiger auf der Gesamtfläche verteilt.

Neben der Düngung mit Fest- und Flüssigmist müssen weitere Möglichkeiten der Kotbelastung futtermittelliefernder Grünflächen bedacht werden:

Das Untersuchungsgebiet gehört zu Teilen zur Kulturlandschaft Heckengäu, in der traditionell zur Offenhaltung der zahlreichen unter Naturschutz stehenden Extensivflächen Schafe eingesetzt werden. Die durchschnittliche Schafherde in Baden-Württemberg müsste

der Berechnung nach um die 85 Tiere stark sein. Hauptberufliche Schäfer sollten allerdings mindestens 500 Muttertiere mit Nachzucht halten, um wirtschaftlich rentabel zu agieren. Bei einer täglichen Kotmenge von rund 1 kg pro Tier fallen so große Mengen an Kot an (MLR BW, 2012, DITTRICH, 2007). Da Schafe aber vor allem auf Extensivflächen eingesetzt werden, ist die Gefahr einer Übertragung von Krankheitserregern auf andere Nutztiere eher unwahrscheinlich.

Bei den Wanderungen passieren oder überqueren die Tiere allerdings auch Flächen die der Futtermittelgewinnung dienen. Die dabei abgesetzte Kotmenge dürfte auf Grund des nur kurzen Aufenthalts auf der Fläche jedoch vergleichsweise gering sein, wodurch der Infektionsdruck niedrig einzustufen ist. Diese Vermutung sollte aber noch durch weitere Studien belegt werden.

Die Beweidung von Flächen, auf denen Grüngut zu Fütterungszwecken gewonnen wird, ist durch die badischen und württembergischen Weidegesetze aus den Jahren 1873 und 1884 geregelt. Sofern der Eigentümer einer Beweidung nicht widerspricht, dürfen von den Wanderschäfern alle Flächen als Herbst- und Winterweide genutzt werden. Zweck dieser Regelung ist die Ausnützung des Futters, das im normalen Landbau nicht mehr verwendet wird. Dabei gilt aber, dass die Feldbestellung Vorrang vor der Weidenutzung hat (ANONYM, 1873; ANONYM, 1884).

Durch die Beweidung der Flächen im Herbst und Winter ist die Wahrscheinlichkeit einer Infektion anderer Tiere oder des Mensch über den Schafkot als gering anzusehen, da in dem mehrmonatigen Zeitraum bis zur Ernte des nächsten Aufwuchses der Kot in der Regel vergeht (EGELER, 2007).

Da die Wanderschäferei generell in Deutschland heutzutage nur noch eine untergeordnete Rolle spielt und die Beweidung von Schafen in der Regel auf Flächen stattfindet, auf denen keine Futtermittel gewonnen werden, sollte dem von Schafkot ausgehenden Infektionsrisiko, daher nur eine geringe Bedeutung beigemessen werden (MLR BW, 2012).

Im Gegensatz zu Schafen beweiden Pferde und Rinder in der Regel fest eingezäunte Flächen. Umzäunte Flächen dürften, auch nach Annahme des FLI, kaum mit Hundekot verschmutzt sein (SCHARES et al., 2006).

Solche Flächen werden in der Regel ausschließlich als Weideflächen genutzt und dienen nicht der Futtermittelgewinnung. Bei der Futteraufnahme auf der Weide werden Geistellen von den Tieren gemieden, so dass das Risiko einer Infektion durch Krankheitserreger aus Rinder-, Pferde- oder Hundekot nahezu auszuschließen ist (RIEDER, 1983).

Weitere Faktoren, durch die Kot auf landwirtschaftlich genutzte Grünlandflächen, vor allem in Waldnähe, gelangen kann, sind Wildtiere. Relevant sind dabei vor allem Füchse und Wildschweine, da ihre Zahlen in den vergangenen Jahren stark zugenommen haben. (LAZBW, 2012).

Die hohen Bestandszahlen der Wildschweine resultieren vermutlich direkt aus dem starken Anstieg des Maisanbaus, der neben der Verwendung als Futtermittel zunehmend für die Biogasgewinnung genutzt wird (FROMMHERZ, 2012).

Füchse spielen als Überträger diverser Krankheitserreger eine nicht zu vernachlässigende Rolle. Vor allen hinsichtlich des Fuchsbandwurms *Echinococcus multilocularis*, der auch auf Menschen und andere Tiere übertragen werden kann, stellen sie gerade im Untersuchungsgebiet ein Risiko dar (LIESENFELD und IGNATIUS, 2008; ECKERT, 2001).

Auf besonders stark belasteten Flächen, die in der Regel von vielen verschiedenen Hunden frequentiert werden, besteht die Gefahr, dass mit dem Kot abgesetzte pathogene Erreger von einem Hund auf den anderen übertragen werden. Die Aufnahme kann direkt durch Kotfressen erfolgen oder durch Kotpartikel, die beim Schnüffeln an der Nase hängen bleiben und abgeleckt werden (JOST, 2009).

Auch für Kinder, die siedlungsnahen Flächen wie den bereits beschriebenen Standort 2, gerne als Spiel- und Bolzplatz benutzen, besteht das Risiko einer oralen Infektion über die Hände durch an Bällen oder anderem Spielzeug anhaftenden Kot (BAUER, 2006a; PFEIFFER, 1983).

Grüngut, das der Futtergewinnung dient, kann in der Regel erst nach der Mahd mit Krankheitserregern aus Hundekot kontaminiert werden. Während der Flächenuntersuchungen war auffallend, dass Hunde gerne an oder auf erhabenen Stellen abkoten wie z. B. einem höheren Grasbüschel oder einem größeren Stein. Dies trifft auch auf durch Regen zusammengesacktes Grüngut zu, das während der Trocknungsphase für die Heu- oder Silagebereitung nass wurde und deshalb bis zum Erreichen des gewünschten Trocknungsgrades auf den Flächen belassen werden muss. Hier ist es zweifelsohne Aufgabe der Hundehalter, ihren Hund von eindeutig zur Futtergewinnung dienendem Grüngut fernzuhalten bzw. den Kot unverzüglich gründlich zu entfernen.

Um die durch Hundekot verursachte Problematik einzudämmen stehen sowohl im Stadtgebiet als auch auf landwirtschaftlich genutzten Flächen zahlreiche Möglichkeiten zur Verfügung. Über die Praktikabilität und Umsetzbarkeit haben die zuständige Kommune bzw. der betroffene Landwirt zu entscheiden.

Einen Mangel an Aufklärungsaktionen hinsichtlich dieses Themas ist nicht zu beklagen, wie zahlreiche Internetforen sowie Medienbeiträge beweisen. In der Regel fehlt es aber entweder an der Umsetzung seitens der Kommunen, z. B. beim Aufstellen von Hundekotentsorgungsstationen oder der Uneinsichtigkeit und Bequemlichkeit mancher Hundehalter, die sich nicht selten durch das Bezahlen der Hundesteuer von der Entfernungspflicht des Hundekots entbunden sehen oder die das Fehlen von Beutelspendern und geeigneten Entsorgungsbehältnissen bemängeln.

Für Kommunen gut geeignet und relativ kostengünstig umsetzbar ist eine Kombination aus Hundekotentsorgungsbeuteln und der Aufstellung von Mülleimern an entsprechenden Stellen.

Die Hundekotentsorgungsbeutel sollten idealerweise direkt von den Kommunen an die Hundehalter abgegeben werden, entweder postalisch mit dem jährlichen Hundesteuerbescheid oder in der jeweiligen Verwaltungsstelle. Auf diese Weise würde der Missbrauch und die Verschmutzung durch aus den Beutelspendern gerissenen Tüten verhindert werden. Bei Anmeldung eines Hundes könnte die erste Rolle der Hundekotentsorgungsbeutel gratis abgegeben, die weiteren könnten dann zum günstigen Sammelbestellungspreis bei der jeweiligen Stadt- oder Gemeindeverwaltung von den Hundehaltern erworben werden.

Die Standorte der Müllbehälter sind möglichst so zu wählen, dass der gefüllte Kotbeutel nicht allzu lange mitgetragen werden muss.

Dieser Vorschlag ist bereits während der Erstellung dieser Arbeit von einer Gemeinde im Untersuchungsgebiet erfolgreich umgesetzt worden.

Zusätzlich könnten sich gelegentliche Kontrollen durch die verantwortlichen Ordnungsämter an stark frequentierten Wegen als effektiv zeigen. Eine sofortige Bußgeldverhängung vor Ort spricht sich vor allem in kleineren Kommunen schnell herum und hat einen abschreckenden Effekt. Solche Kontrollen sind auf Grund mangelnden Personals in vielen Städten und Gemeinden allerdings nur schwer umsetzbar. Auch die Verhängung von Bußgeldern wird nur selten praktiziert, meist bleibt es bei mündlichen Ermahnungen.

Die Praxis, auf landwirtschaftlichen Grünflächen einen Randstreifen der Wiese abzumähen, um das Abkoten auf diesen Bereich zu beschränken, dürfte sich, wie es die vorliegenden Untersuchungsergebnisse zeigen, in den meisten Fällen nicht bewähren, da Hunde unangeleint weiter in eine Grünfläche hineinlaufen als auf den etwa 1,0 - 1,5 Meter breiten

abgemähten Streifen, vor allem dann, wenn die Unterschiede der Bewuchshöhe zwischen Randstreifen und Auswuchsfläche noch zu gering sind.

Einen breiteren Streifen am Wiesenrand abzumähen kann nicht die Lösung sein, da dieses Vorgehen für die Landwirte mit einem erheblichen Mehraufwand durch die regelmäßig notwendige Mahd sowie Ernteeinbußen verbunden ist.

Eine bessere Möglichkeit könnte das Einzäunen der Fläche im Zeitraum zwischen Aufwuchs und Ernte darstellen. Selbst wenn der Zaun nicht bis zum Boden reicht, animiert er Hundehalter eher dazu, ihren Hund zurück zu rufen, falls er sich auf der eingezäunten Fläche bewegt. Ergänzend kann ein Elektrozaun gewählt werden oder Hinweistafeln zur Problematik der Verschmutzungen durch Hundekot.

5.1.3 Diskussion der Untersuchungsergebnisse des stichprobenartig gesammelten Hundekots

Die in der vorliegenden Arbeit ermittelten Durchschnittswerte der untersuchten Bakterien *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* sowie der Gesamtbakterienzahl decken sich mit den Werten aus der Arbeit von EGELER (2007) sowie Werten aus der Literatur (SUTTROP et al., 2004; MEYER und ZENTEK, 2005).

Es muss bedacht werden, dass die in dieser Arbeit untersuchten Kotproben mit hoher Wahrscheinlichkeit alle von verschiedenen Hunden stammten. Die Ausgangskonzentrationen der einzelnen Bakterien können somit bei jedem Hund in Abhängigkeit von Fütterung, Haltung und individuellem bakteriellem Besatz schwanken (MEYER und ZENTEK, 2005). Das könnte eine mögliche Erklärung für stark von den Mittelwerten abweichende Werte sein. In einer vorausgegangenen Arbeit (EGELER, 2007) wurde Hundekot über einen längeren Zeitraum der Witterung mit direkter Sonnenbestrahlung, Regen und Dauerfrost ausgesetzt. Die Konzentrationen der damals untersuchten Bakterien (u. a. *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, Enterokokken, Salmonellen und die Gesamtbakterienzahl) verringerten sich selbst unter diesen Bedingungen um maximal zwei Zehnerpotenzen. Diese Ergebnisse zeigen, dass unterschiedliche Witterungsbedingungen zum Zeitpunkt der Probenahme bei der Erklärung stärkerer Konzentrationsabweichungen nur wenig Relevanz besitzen.

Die hier untersuchten Kotproben erschienen zum Zeitpunkt der Probenahme durchweg frisch abgesetzt, so dass mögliche wetterbedingte Einflüsse ohnehin keine gravierenden Auswirkungen auf die Bakterienkonzentrationen haben konnten.

Auffällig war, dass die geringsten Konzentrationen für *C. perfringens*, *E. coli* und die Gesamtbakterienzahl im Herbst gemessen werden konnten. Da es sich aber hierbei um maximal eine Zehnerpotenz handelte, darf von einem Zufall ausgegangen werden, der das Gesamtergebnis nicht beeinflusste.

5.2 Diskussion der Ergebnisse der Resistenztests

Da laut dem Antibiotika-Resistenzatlas GERMAP 2008 (GERMAP, 2008) die Anzahl resistenter Keime stetig steigt und in naher Zukunft nicht mit vielen neuen antibiotischen Wirkstoffen zu rechnen ist, muss die Resistenzlage und -entwicklung laufend beobachtet werden, sowohl in der Veterinär- als auch in der Humanmedizin (LUNKE, 2004).

Eine Studie aus dem Jahre 2007 (GROBBEL et al.) bezeichnet die derzeitige Resistenzlage bei Pferden und Kleintieren noch als relativ gut. Der Anteil resistenter *E. coli* von 28 Isolaten aus dem Respirationstrakt von Hunden und Katzen lag bei dieser Studie für Ampicillin bei 39 %, für Cephalothin bei 21 %, für Enrofloxacin bei 7 %, für Sulfamethoxazol bei 43 % und für Tetracyclin bei 14 %. Diese Werte lagen im Vergleich zu der vorliegenden Studie nur für Ampicillin über, für Cephalothin und Sulfamethoxazol sogar deutlich unter den ermittelten Resistenzraten. Eine mögliche Erklärung für dieses Resultat könnte in der geringen Probenzahl sowie den verschiedenen Herkunftsorten (Respirationstrakt und Darmtrakt) der Isolate begründet sein.

Ein aussagekräftiger Vergleich mit anderen Arbeiten im Bezug auf die Empfindlichkeit von Salmonellen gegenüber den untersuchten Antibiotika ist kaum möglich, da in dieser Arbeit nur ein Salmonellen-Isolat untersucht werden konnte. Dieses Isolat reagierte auf die Behandlungen mit den eingesetzten Antibiotika, bis auf den Wirkstoff Sulfamethoxazol, stets mit einer guten bis sehr guten Empfindlichkeit.

In einer Untersuchung von LUNKE (2004) zeigten sich von 22 untersuchten Salmonellen-Isolaten aus Rindern, Schweinen, einem Schaf und verschiedenen Lebensmittelproben knapp 30 % resistent gegenüber einer Behandlung mit Ampicillin und etwa 25 % gegenüber Tetracyclin.

Auch in der GERMAP-Studie (STEINACKER, 2008) wurden die meisten Resistenzen bei Salmonellen-Isolaten von lebensmittelliefernden Tieren gegenüber den Antibiotika Ampicillin und Tetracyclin nachgewiesen, bei Geflügel zusätzlich Cephalothin.

Die Übertragung antibiotikaresistenter Bakterien zwischen Menschen und Tieren wurde bereits in vielen Untersuchungen belegt. Der Hauptübertragungsweg stellt dabei der direkte Kontakt zwischen Tier und Mensch dar.

Belege der Übertragung resistenter Salmonellen über Lebensmittel wie Geflügelfleisch, Eier, Schweine- und Rindfleisch existieren bereits, obwohl der Bereich der Resistenzübertragung durch Lebensmittel noch als unzureichend erforscht gilt. Von ausreichend erhitztem Fleisch dagegen ist keine Gefahr zu erwarten (WEESE, 2008; LUNKE, 2004; KEKULÉ, 2009; GUARDABASSI et al., 2004a+b; SING, 2008; STENSKE et al., 2009; STROH, 2002; EFSA, 2008).

Eine Forschergruppe konnte bei ihren Untersuchungen in Tierställen zahlreiche resistente Keime unter anderem aus Tierkot isolieren und schlussfolgerte daraus, dass dem Verbreitungsweg mit Fäkalien in Form von Dünger eine größere Bedeutung beigemessen werden sollte (ANONYM, 2012). Im Vergleich dazu ist die Übertragung resistenter Erreger über Hundekot als unwahrscheinlich anzusehen.

In der Arbeit von DE GRAEF und Kollegen (2004) wurden Hunde aus Privathaltung und Hunde aus Zuchtzwingern auf die Resistenzsituation der fäkalen Indikatorkeime *Escherichia coli* und *Enterococcus faecalis* hin untersucht. Das Ergebnis zeigte, dass bei Hunden aus Zuchtzwingern mehr resistente und auch multiresistente Bakterien zu finden waren, als bei Tieren aus Privathaltungen. Die Resistenzen bezogen sich dabei neben Trimethoprim auch auf Ampicillin und Sulfamethoxazol.

Eine Studie von SANNES und Kollegen aus dem Jahre 2004 zeigt aber, dass eine Übertragung resistenter Keime vom Menschen auf den Hund wahrscheinlicher ist als umgekehrt und dass Hunde ein geringeres Reservoir resistenter Keime darstellen, als bislang vermutet.

Die in der Untersuchung von GERMAP (WIELER, 2008) ermittelten Werte resistenter enteritischer *E. coli*-Isolate von Hunden waren mit unter 20 % gegenüber Ampicillin, Tetracyclin und Sulfamethoxazol und nur 3 % gegenüber Enrofloxacin verglichen mit der vorliegenden Arbeit zwar geringer, entsprachen aber in etwa den Ergebnissen. Die Ergebnisse von Sulfamethoxazol wichen in dieser Arbeit mit Resistenzraten zwischen 90 bis 100 % am stärksten von den Werten der GERMAP-Studie (WIELER, 2008) ab.

Der Wert für Enrofloxacin war in der GERMAP mit nur 3 % resistenter Isolate zwar sehr gering, aber auch in der vorliegenden Arbeit war Enrofloxacin das Antibiotikum mit der besten Wirksamkeit.

Erklärungen für diese Abweichungen könnten zum einen die höhere Probenanzahl bei GERMAP liefern und zum anderen die Anwendung von zwei Untersuchungsmethoden in dieser Arbeit, die in Kombination möglicherweise mehr resistente Erreger nachweisen konnten als andere Untersuchungen, in denen nur mit einer Nachweismethode gearbeitet wurde.

Ein Vergleich der Ergebnisse mit der GERMAP-Studie war für aus Hunden gewonnene enteritische Salmonellen-Isolate mangels fehlender Daten nicht möglich.

Bei landwirtschaftlichen Nutztieren konnten in der Studie GERMAP die höchsten Resistenzraten enteritischer *E. coli* von Kälbern gegenüber den Antibiotika Ampicillin (72,1 %) und Tetracyclin (67,1 %) festgestellt werden. Die beste Wirksamkeit zeigte Enrofloxacin mit einer Resistenzrate von 27,5 %. Die Werte für enteritische *E. coli* von Schweinen waren ähnlich (STEINACKER, 2008).

Für enteritische Salmonellen bei Kälber waren die Resistenzraten mit 35,9 % gegenüber Ampicillin, 37,6 % gegenüber Tetracyclin und nur 11 % gegenüber einer Behandlung mit Sulfamethoxazol im Vergleich deutlich besser und auch bei Schweinen lagen die Werte geringfügig unter denen der *E. coli*-Isolate.

Für die Humanmedizin wurden in der GERMAP-Studie für enteritische *E. coli* Resistenzraten gegen die Antibiotika Ampicillin, Tetracyclin und Cotrimoxazol (Kombipräperat aus Sulfamethoxazol und Trimethoprim) von maximal 15 % ermittelt, also deutlich bessere Werte als für Nutztiere und geringfügig besser als für Hunde (TIETZE, 2008).

Eine Erklärung hierfür könnte sein, dass es in der Tierhaltung nach wie vor üblich ist, im Krankheitsfall ganze Bestände antibiotisch zu behandeln, also auch gesunde Tiere. Kommen noch eine unsachgemäße Verabreichung (zu geringe Dosierung) oder der vorzeitiger Abbruch der Behandlung hinzu, steigt die Gefahr der Ausbildung resistenter Bakterien an.

Die in diesem Untersuchungsabschnitt gewonnenen Ergebnisse zeigen, dass in Hundekot *E. coli* gefunden werden können, die sich gegenüber einer antibiotischen Behandlung resistent zeigen. Das lässt den Schluss zu, dass eine Übertragung resistenter *E. coli* und möglicherweise auch Salmonellen auf andere Tiere und den Menschen über den Hundekot durchaus in Betracht gezogen werden kann.

Dieses Resultat ist vor allem für Tetracyclin relevant, da es sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin häufig eingesetzt wird und das Risiko der Übertragung resistenter Bakterien von Haustieren auf den Menschen auch schon in anderen Studien Erwähnung fand (GERMAP, 2008; COSTA et al., 2007).

Seit dem Jahr 2011 ist die Pharmaindustrie dazu verpflichtet, unter anderem die Abgabemengen antibiotikahaltiger Arzneimittel an Tierärzte zu dokumentieren. Der Anteil, der Reserveantibiotika liegt dabei unter 0,5 % (BVL, 2012).

5.2.1 Diskussion der quantitativen und qualitativen Untersuchungen auf *E. coli* bzw. *Salmonella* spp.

Vor der eigentlichen Untersuchung auf resistente *Escherichia coli*- und Salmonellen-Isolate aus Hundekot wurde der aus verschiedenen Tierheimen stammende Kot quantitativ bzw. qualitativ auf die Konzentration bzw. das Vorhandensein von *E. coli* und *Salmonella* spp. hin untersucht.

Die Konzentrationen der *E. coli* entsprachen den Werten des stichprobenartig gesammelten Hundekots von den untersuchten Grünlandflächen, der Arbeit von EGELER (2007) sowie verschiedenen Literaturangaben (HEESEMAN, 2001; WEIGEL, 1995; SUTTORP et al., 2004; MEYER und ZENTEK, 2005) und zeigten keine auffälligen Abweichungen.

Bei den Proben 11 – 22 aus Tierheim 2 war der Durchschnitt der Werte von *E. coli* etwas geringer als bei den übrigen Tierheimen (siehe Tabelle A3, Anhang S. A10). Eine mögliche Erklärung dafür könnte die im Vergleich mit den anderen Tierheimen der Untersuchung vermehrte antibiotische Behandlung der Tiere sein, wodurch die Anzahl der Darmbakterien reduziert wurde (JERNBERG et al., 2010). Fünf der untersuchten Hunde aus diesem Tierheim wurden innerhalb der letzten drei Monate vor der Probenahme antibiotisch behandelt, so dass bei diesen eventuell noch keine vollständige Sanierung der Darmflora stattgefunden hat.

In einer Probe aus diesem Tierheim konnten qualitativ Salmonellen vom Typ Anti O7 nachgewiesen werden, die als *S. Mbandaka* identifiziert wurden. Der Hund, von dem die Probe stammte, bekam zwei Monate vor der Probenahme Antibiotika verabreicht und reagierte deshalb eventuell empfindlicher auf möglicherweise kontaminierte Futtermittel

(z. B. Kauspielzeug, bei dem häufig Salmonellen festgestellt werden können) (MEYER und ZENTEK, 2005).

S. Mbandaka konnte im Jahre 2010 bei 129 Personen mit enteritischen Erkrankungen in Österreich nachgewiesen werden. Nachforschungen ergaben, dass der Erreger über kontaminiertes Futter in einen Legehennenbetrieb eingeschleppt wurde und über unzureichend erhitze Eier in die Nahrungskette gelangen konnte (AGES, 2010).

5.2.2 Diskussion und Gegenüberstellung der Ergebnisse der Agar-Diffusionstests und der Mikrodilution

Der wesentliche Unterschied zwischen den beiden angewandten Methoden besteht darin, dass der Agar-Diffusionstest bei geringem Aufwand eine schnelle Aussage über das Resistenzverhalten eines bestimmten Erregers treffen kann, was in der Praxis für eine erfolgreiche Behandlung von Vorteil ist. Nachteilig sind allerdings die zum Teil nicht eindeutig ausmessbaren Hemmhöfe durch verschwommen erscheinende Ränder. Auch Mischkulturen oder Kontaminationen auf der Platte verfälschen das Resultat, sind aber im Gegensatz zur Mikrodilution in der Regel optisch gut zu erkennen (HÜBNER et al., 2007).

Die bei der Mikrodilution ermittelten MHK-Werte dagegen können wissenschaftlich verwertet werden z.B. bei Langzeituntersuchungen, die auf die Resistenzentwicklung verschiedener Erreger abzielen (GÖZALAN, 2004). Der Versuch ist ebenfalls ohne großen Aufwand bei geringen Kosten im Routinelabor durchführbar und es sind bereits vorgefertigte Testkits erhältlich (HÜBNER et al., 2007).

Obwohl die Mikrodilution ebenfalls innerhalb kurzer Zeit ein aussagekräftiges Ergebnis liefert, muss auch hier mit Ergebnisverfälschung gerechnet werden. Eine wichtige Rolle spielt dabei das Ablesen der Ergebnisse, das visuell erfolgt und bei unklaren Ergebnissen dem subjektiven Empfinden der jeweiligen Person unterliegt. Das Ablesen mit Hilfe eines Photometers ist zwar möglich, liefert aber unter Umständen ebenfalls kein eindeutiges Ergebnis. Weitere Fehlerquellen können Verunreinigungen in der Probe sein, Mischkulturen, die das Ergebnis verfälschen und in den kleinen Wells der Mikrotiterplatten nicht erkannt werden können sowie sich unter Laborbedingungen verändernde Isolate (HÜBNER et al., 2007).

Bei der MHK-Bestimmung wurde in dieser Untersuchung jeweils eine Positiv-Kontrolle mitgeführt, anhand derer positive von negativen Ergebnissen einfacher unterschieden

werden konnten. Bei nicht eindeutigen Ergebnissen wurde stets der Wert der nächst höhere Konzentrationsstufe herangezogen, also die Stufe, die im Falle einer Behandlung sicher wirksam gewesen wäre.

HÜBNER et al. (2007) haben zwei Methoden beschrieben, die eine weiterentwickelte Kombination aus Agar-Diffusionstest und Mikrodilution darstellen, die sogenannte Mikroagargussmethode und die Mikroagardilutionsmethode. Bei beiden Methoden entfällt die Unsicherheit möglicher Mischkulturen, da diese durch den Einsatz von Agar sichtbar wären. Auch ist die Möglichkeit der Standardisierbarkeit sowie der zumindest teilweisen Automatisierung der Methoden von Vorteil. Da aber die Durchführung zeitintensiv ist und sich der Agar in den Vertiefungen der Mikrotiterplatte häufig wölbt, bieten auch diese beiden Systeme Fehlerquellen, die es noch zu eliminieren gilt.

Vor jeder antibiotischen Behandlung sollte, sofern möglich, eine Abklärung der Resistenzsituation des jeweils zu behandelnden Erregers mittels Antibiotogramm durchgeführt werden. Auf diese Weise beginnt die Behandlung zwar verzögert, ist aber effektiver, da direkt mit dem passenden Wirkstoff behandelt wird. Neben der Eindämmung von Resistenzneubildungen würden auf diese Weise auch eventuell notwendige belastende und kostenintensive Folgebehandlungen entfallen.

Zudem sind, im Vergleich zu dem hohen Nutzen, der Einsatz und die Kosten gerade bei der Durchführung eines Agar-Diffusionstest als gering einzustufen.

5.2.2.1 Diskussion der Ergebnisse für Ampicillin

Ampicillin wird in der Praxis vor allem zur Behandlung von Infektionen des Respirations- oder Harntraktes eingesetzt (ROLINSON und GEDDES, 2007; MAESEN und DAVIES, 1979), weshalb der prozentuale Anteil resistenter *E. coli*- Isolate von enteritischen Erkrankungen geringer zu erwarten gewesen wäre, als die in dieser Arbeit ermittelten Werte von 31,3 % im Agar-Diffusionstest und 33,3 % bei der Mikrodilution.

Im Vergleich zu dieser Untersuchung waren die Anteile ampicillinresistenter *E. coli*- Isolate enteritischen Ursprungs von Hunden und Katzen bei GERMAP (GERMAP, 2008) mit 14 % und einer Arbeit von COSTA et al. (2007) mit nur 7,7 % deutlich geringer.

Ähnliche Werte wie in dieser Arbeit liefert eine Arbeit von NAM et al. (2010), in der der Anteil resistenter *E. coli* aus dem Hundedarm zwischen 32,9 und 47,1 % betrug sowie eine weitere Untersuchung, bei der 26 % der *E. coli*- Isolate aus Hundekot resistent reagierten (PEDERSEN et al., 2007).

Einen hohen Anteil ampicillinresistenter *E. coli*-Isolate aus der veterinärmedizinischen Diagnostik sowie Lebensmitteln tierischer Herkunft konnte LUNKE in ihrer Untersuchung von 2004 nachweisen. Knapp 40 % der 152 getesteten Isolate zeigten sich dabei resistent. Ebenso eine Arbeit von KLUGE und UNGEMACH (1999), bei der 62 % aller 1318 untersuchten *E. coli* isoliert aus Hundeblood als resistent eingestuft werden konnten. Für *Salmonella* spp. lag der Wert bei 36 % von 36 untersuchten Isolaten.

Dass Ampicillin trotz seiner relativ hoher Resistenzraten nach wie vor oft Mittel der Wahl ist, erklären sich KLUGE und UNGEMACH (1999) mit dem breiten Wirkspektrum bei geringer Toxizität und dem geringen Preis.

5.2.2.2 Diskussion der Ergebnisse für Cephalothin

In einer Studie von PEDERSEN et al. (2007) lag der Anteil cephalothinresistenter *E. coli*-Isolate aus Hundekot mit 4,2 % von insgesamt 449 Isolaten weit unter den hier ermittelten Werten von 37,5 % (HHD) bzw. 64,6 % (MHK).

Andere Untersuchungen kamen zu dem Ergebnis, dass den ebenfalls aus der Gruppe der Cephalosporine stammenden Cefalozin, Cefoxitin und Cefacetril eine bessere Wirksamkeit zugeschrieben werden kann als Cephalothin (KNOTHE und LAUER, 1974; WERNER et al., 1977; BIANCHI und FRONGILLO, 1980).

Cephalothin scheint somit weniger gut geeignet, um bei Infektionen mit darmstämmigen *E. coli* eingesetzt zu werden.

In einer Studie von BEUTLICH (2011) wurden 55 *Salmonella* Saintpaul-Isolate von Truthühner bzw. ihren Produkten untersucht, die bei der MHK-Bestimmung zu 75 % unempfindlich auf eine Behandlung mit Cephalothin reagierten.

5.2.2.3 Diskussion der Ergebnisse für Enrofloxacin

In dieser Arbeit zeigte das Antibiotikum Enrofloxacin die beste Wirksamkeit gegenüber den untersuchten *E. coli*-Isolaten mit Resistenzraten von lediglich 12,5 % im Agar-Diffusionstest und 14,6 % in der Mikrodilution. Die Wirksamkeit gegenüber dem getesteten *Salmonella*-Isolat war ebenfalls sehr gut.

Das liegt vermutlich daran, dass Enrofloxacin seit 1983 ausschließlich in der Veterinärmedizin eingesetzt wird und sich Resistenzen nur sehr langsam entwickeln (PLUMB, 1999). Damit fällt die Möglichkeit der Resistenzübertragung zwischen Tier und Mensch weg. Ein weiterer Vorteil dieses Antibiotikums sind die geringen MHK-Werte, bei denen es bereits wirksam ist.

Auch in den Untersuchungen für GERMAP 2008 (GERMAP, 2008) schnitt Enrofloxacin bei der Überprüfung der Resistenzsituation von *E. coli*-Isolaten bei enteritischen Erkrankungen von Hunden und Katzen mit der besten Wirksamkeit ab.

In einer dänischen Untersuchung (PEDERSEN et al., 2007) zeigte sich keines der insgesamt 449 *E. coli*-Isolate aus Hundekot gegenüber einer Behandlung mit Enrofloxacin resistent.

Allerdings sollten Hunde auf Grund möglicher schwerer Schädigungen der Knorpel in der Wachstumsphase (12 bis 18 Monate, je nach Rasse) nicht mit Enrofloxacin behandelt werden. Dasselbe gilt für trächtige Tiere und solche mit ausgeprägter Niereninsuffizienz (KROKER, 2003; PLUMB, 1999).

5.2.2.4 Diskussion der Ergebnisse für Sulfamethoxazol

Gegenüber dem Antibiotikum Sulfamethoxazol war der Anteil resistenter *E. coli*-Isolate mit 90,9 % (HHD) bzw. 100% (MHK) in dieser Untersuchung am höchsten.

Eine Erklärung für dieses Ergebnis könnte die Tatsache sein, dass Sulfamethoxazol nur noch selten alleine, sondern nahezu immer in Kombination mit Trimethoprim eingesetzt wird. Die Resistenzentwicklung ist bei dem kombinierten Produkt deutlich verlangsamt (PLUMB, 1999). Nichtsdestotrotz hat sich die Resistenzrate von *Salmonella* Thyphimurium in den Jahren von 1998 bis 2008 in der Humanmedizin mehr als verdreifacht (TIETZE, 2008).

Vorrausgegangene Untersuchungen belegen die gehäuft auftretenden Resistenzen von *E. coli*-Stämmen bei Hunden. Auch die Studie von PEDERSEN et al. (2007) konnte von insgesamt 449 untersuchten *E. coli*-Isolaten 27,6 % als resistent bewerten.

Bei Antibiotika mit bekanntermaßen hohen Resistenzraten, ist zur Abklärung der Resistenzsituation die Durchführung eines Antibiotogramms vor der Behandlung angeraten (KROKER, 2003).

5.2.2.5 Diskussion der Ergebnisse für Tetracyclin

Im Agar-Diffusionstest reagierten 25,0 % der untersuchten *E. coli*-Isolate unempfindlich auf die Behandlung mit Tetracyclin und 27,1 % bei der Mikrodilution.

Trotz der geringen Anzahl der in dieser Arbeit untersuchten Isolate sind die Werte für Tetracyclin mit anderen Studien vergleichbar, obwohl nicht alle Untersuchungen mit Isolaten aus Hundekot gearbeitet haben (COSTA et al., 2007; GÖZALAN, 2004; LUNKE, 2004; GERMAP, 2008).

In einer koreanischen Studie (NAM et al., 2010), in der 628 *E. coli*-Isolate von Hunden auf ihre Resistenzsituation hin überprüft wurden, zeigten sich über 50 % der Isolate resistent gegenüber Tetracyclin.

In der Untersuchung von GERMAP (2008) zeigte der Wirkstoff mit 18 % bei 100 untersuchten Isolaten die höchste Rate resistenter *E. coli* bei enteritischen Erkrankungen bei Hunden, während Tetracyclin in der vorliegenden Untersuchung hinter Enrofloxacin auf Platz zwei der wirksamsten Antibiotika rangiert.

Geringfügig geringere Resistenzwerte als in dieser Arbeit wurden in einer Untersuchung von PEDERSEN et al. (2007) ermittelt. Die Resistenzrate der insgesamt 449 untersuchten *E. coli*-Isolate aus klinischem Untersuchungsmaterial von Hunden lag aber immer noch bei 19,9 %.

Eine Erklärung für den meist hohen Anteil resistenter Keime könnte die Tatsache sein, dass Tetracyclin mit über 50 % des Gesamtantibiotikaverbrauchs in der Veterinärmedizin in Deutschland am häufigsten zum Einsatz kommt, dieses Antibiotikum im Tier kaum abgebaut und somit fast vollständig wieder ausgeschieden wird (GÖZALAN, 2004; GERMAP, 2008; STROH, 2002).

Auf Grund der hohen Resistenzraten sowie des starken Einsatzes dieses Antibiotikums in der Human- und Tiermedizin dürfen Haustiere (Hunde und Katzen) als mögliche Reservoirs für Resistenzgene gegenüber Tetracyclin nicht außer Acht gelassen werden (GERMAP, 2008; COSTA et al., 2007).

5.3 Diskussion der mikrobiologischen und parasitologischen Ergebnisse von Silage

Die artifizielle Beimpfung von Silage im Labormaßstab mit *Clostridium perfringens*, *Enterococcus faecalis* und *Salmonella* Senftenberg sowie dem Parasiten *Cryptosporidium parvum* simulierte Hundekot, der unmittelbar vor der Verarbeitung der Silage in das angetrocknete Grüngut gelangt ist. Die Ergebnisse sollen eine Beurteilung der Fähigkeit der bei der Silierung ablaufenden Prozesse hinsichtlich der Inaktivierung potenzieller Krankheitserreger aus Hundekot erlauben.

5.3.1 Diskussion der Ergebnisse der mikrobiologischen der Untersuchungen von Silage

Die in Tabelle 11 dargestellten Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung der artifiziiell mit *Clostridium perfringens*, *Enterococcus faecalis* und *Salmonella* Senftenberg kontaminierten Silage zeigen, dass die Bakterien nicht lange genug unter den in der Silage vorherrschenden Bedingungen überlebten, um zum Zeitpunkt der Verfütterung (in der Regel etwa sechs Wochen nach der Einsilierung) noch eine Infektionsquelle darzustellen.

Die Abtötung der Bakterien ist vor allem auf die Bildung der Milchsäure und der damit verbundenen Absenkung des pH-Wertes sowie auf das anaerobe Milieu zurückzuführen (ZIMMER, 1987).

Vor diesem Hintergrund ist anzunehmen, dass diese Bakterien auch in Hundekot den Silierungsprozess nicht lange überleben können. Auf Grundlage dieser Untersuchungen stellen *Clostridium perfringens*, *Enterococcus faecalis* und *Salmonella* Senftenberg somit nur ein geringes Infektionsrisiko bei Verschmutzungen von Silage mit Hundekot dar.

Bereits in der Nullprobe der Silage, die nur wenige Stunden nach der Einsilierung untersucht wurde, waren die Anfangskonzentrationen von *Enterococcus faecalis* und *Salmonella* Senftenberg um jeweils zwei Zehnerpotenzen abgesunken. Für diese Konzentrationsminderung kann allerdings der Durchmischungseffekt ursächlich sein und noch nicht der Einfluss der Silierungsprozesse.

Generell kann davon ausgegangen werden, dass die Gefahr einer Übertragung von Krankheitserregern durch Hundekot auf andere Tiere oder den Menschen als gering einzustufen ist, da die meisten dieser Erreger den Silierungsprozess nicht überstehen.

Und auch die Heubereitung dürfte die meisten Erreger durch den Austrocknungseffekt wirkungsvoll abtöten (JEROCH et al., 2008; OPITZ VON BOBERFELD; 1994, ZIMMER, 1987; GROSS und RIEBE, 1974).

5.3.1.1 Diskussion der Ergebnisse von *Clostridium perfringens*

Die Konzentration von *Clostridium perfringens* war bereits bei der ersten Probenahme zwei Wochen nach der Einsilierung stark abgesunken. Ein Nachweis geringer Konzentrationen von 10^1 KBE/g war aber bis auf die letzte Probenahme über den gesamten Zeitraum des Versuchs möglich. Da zur Auslösung einer *C. perfringens*-bedingten Infektion aber höhere Konzentrationen nötig wären, würde die Keimzahl von $3,7 \times 10^1$ KBE/g zum Zeitpunkt der frühestmöglichen Verfütterung vier Wochen nach der Einsilierung in dieser Untersuchung keine Gefahr darstellen (KÖHLER, 2001).

Wie aus Tabelle 11 ersichtlich ist, war die Konzentration bei der dritten Probenahme um eine Zehnerpotenz höher als bei den übrigen Probenahmen. Das könnte allerdings mit dem Entnahmeort des Probenmaterials zusammenhängen. Falls die Silage bei Versuchsbeginn nicht gründlich genug durchmischt wurde, könnten sich die Clostridien, wie alle anderen Bakterien auch, an manchen Stellen stärker konzentriert finden als an anderen.

Die Clostridien lagen in der Keimsuspension, mit der das Siliergut beimpft wurde im vegetativen, also unversporteten Zustand vor. Darum ist es wahrscheinlich, dass durch das in der Silage vorherrschende Milieu die Versporung verhindert und die bestehenden Clostridien abgetötet wurden. Für weitere Untersuchungen ist deshalb die Verwendung versporter Clostridienstadien zu empfehlen.

Clostridien, die bei der Silagebereitung Fehlgärungen verursachen, gelangen in der Regel mit kontaminierter Erde vermutlich bereits versport in das Siliergut hinein und sind deshalb lange überlebensfähig.

Untersuchungen mit dem Mausmodell haben gezeigt, dass bei Mäusen mit einer gesunden Darmflora 10^5 KBE/g *Clostridium botulinum* vom Typ A nicht ausreichend waren, um eine Infektion hervorzurufen (WELLS et al., 1982).

Generell sind Tiere mit einer gesunden Darmflora weniger gefährdet, als Tiere aus Beständen mit schlechten hygienischen Aufstellungs- und Fütterungsbedingungen sowie mangelhaftem Gesundheitszustand (KRÜGER, 2010).

5.3.1.2 Diskussion der Ergebnisse von *Enterococcus faecalis*

Am längsten in der artifiziell kontaminierten Silage nachweisbar war *Enterococcus faecalis*, welches erst nach 24 Wochen, dem Ende der generellen Einlagerungszeit, auf Werte von 10^1 KBE/g reduziert war. Zum frühestmöglichen Verfütterungszeitpunkt, also vier Wochen nach der Einsilierung, betrug die Konzentration von *E. faecalis* noch 10^6 KBE/g, was durchaus in Bereichen liegt, die unter Umständen eine Infektion hervorrufen können (MEYER und ZENTEK, 2005).

Diese hohen Konzentrationen hängen möglicherweise damit zusammen, dass einzelne Enterokokkenspezies zur Primärflora von Pflanzen gehören und dort bereits vor der Verarbeitung des Silierguts in Konzentrationen zwischen 10^3 und 10^5 KBE/g vorliegen können. In diesem Zusammenhang konnten *E. faecalis* sowie *E. faecium* auf Futterpflanzen identifiziert werden (MARCINAKOVA et al., 2005; CAI, 1999, LANGSTON et al., 1960).

Des Weiteren sind Enterokokken extrem widerstandsfähig gegenüber Umwelteinflüssen oder pH-Wert-Änderungen. Da sie zu den Milchsäurebakterien gehören ist anzunehmen, dass ihr Wachstum beim Prozess der Silierung nicht beeinträchtigt wurde (SELBITZ, 2002; PODBIELSKI und LÜTTICKEN, 2001).

In einer Studie von CAI (1999) wurde Silage artifiziell mit 10^5 KBE/g Enterokokken beimpft, um den Einfluss der Bakterien auf die Fermentation zu untersuchen. Die Ergebnisse zeigen, dass die milchsäureproduzierenden Enterokokken den Silierungsprozess nicht negativ beeinflussten, das Resultat aber auch nicht verbesserten.

Eine Arbeit von MASIELLO (2010) belegt, dass die Anzahl von Enterokokken in den ersten drei Wochen während der Silierung ansteigt, wenn enterokokkenhaltige Silierhilfsmittel zugeführt werden. Die Enterokokkenkonzentration im unbehandelten Siliergut betrug anfänglich 10^6 KBE/g TM, war jedoch nach drei Wochen auf 10^1 KBE/g TM abgesunken. In den Silagen, die artifiziell mit Enterokokken beimpft wurden, stieg der Wert in einem Fall zunächst auf 10^8 KBE/g TM an und pendelte sich dann auf 10^7 KBE/g TM ein während bei dem zweiten Silierhilfsmittel ein Anstieg von nur einer Zehnerpotenz auf 10^7 KBE/g TM und ein langsamer Abfall auf 10^4 KBE/g TM nach drei Wochen zu verzeichnen war. Diese Werte sind durchaus mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit zu vergleichen.

5.3.1.3 Diskussion der Ergebnisse von *Salmonella* Senftenberg

Salmonellen vermehren sich in einem breiten pH-Wertebereich und können bei langsam absinkendem pH-Wert, wie es während der Silierung der Fall ist, sogar Säuretoleranzen ausbilden (KLEER, 2004). Dennoch konnten Salmonellen bereits im zweiten Untersuchungsdurchgang nach vier Wochen nicht mehr nachgewiesen werden. Dieses Ergebnis deckt sich mit den beiden nachfolgend beschriebenen Untersuchungen, in denen Salmonellen allerdings bereits fertiger Silage zugesetzt wurden:

In einer mexikanischen Studie wurde Schweinekot in Silage verbracht und der Gehalt enteritischer Bakterien nach elf Tagen untersucht. Dabei waren weder Salmonellen noch andere enteritische Bakterien nachweisbar (RAMIREZ et al., 2005).

Zum selben Ergebnis kam eine Untersuchung, in der Maissilage auf seine Eignung als Einstreumaterial in der Hähnchenmast hin überprüft wurde. Die Maissilage mit einem pH-Wert von 3,9 wurde mit Salmonellen beimpft und bebrütet. Nach 24 Stunden waren keine Salmonellen mehr nachzuweisen (MAISBANK.DE, 2007).

In zügig fermentierten Silagen stellen Salmonellen als potenzielle Infektionsquelle in der Regel keine Gefahr dar, sollten aber nicht gänzlich ausgeschlossen werden. Vor allem Jungtiere oder Tiere unter Stress (z.B. durch Geburt) können bereits auf geringe Infektionsdosen reagieren (DIAZ und TRUJILLO, 2007).

Der wahrscheinlichere Weg der Salmonellenaufnahme mit Silage wäre, wenn kranke oder symptomlose Tiere den salmonellenhaltigen Kot so absetzen, dass er beim Fressen von anderen Tieren aufgenommen wird. Das wäre aber nur dann möglich, wenn die geöffnete Silage kurz vor der Verfütterung kontaminiert würde.

5.3.1.4 Diskussion der Ergebnisse der Quarzsandprobe

In der Quarzsandprobe hat sich die Konzentration von *Enterococcus faecalis* nur um zwei Zehnerpotenzen von 10^8 auf 10^6 KBE/g verringert während nach der gleichen Zeit in Silage praktisch keine Enterokokken mehr nachgewiesen werden konnten. Dieses Ergebnis lässt darauf schließen, dass die Reduktion von *E. faecalis* in der Silage auf die während der Silierung ablaufenden Prozesse zurückgeführt werden kann.

Salmonella Senftenberg und *Clostridium perfringens* dagegen waren in der Quarzsandprobe, die neun Monate nach Versuchsbeginn untersucht wurde, nicht mehr nachweisbar. Das legt vor allem bei *S. Senftenberg*, mit einer Anfangskonzentration von 10^8 KBE/g den Verdacht

nahe, dass es den Bakterien nicht möglich war, den Zeitraum von rund neun Monaten in diesem Milieu zu überleben.

Möglicherweise hätten Clostridien im versporteten Zustand diesen Zeitraum überstanden.

5.3.2 Diskussion der Ergebnisse der parasitologischen Untersuchungen von Silage

Das Schlüsselproblem dieser Untersuchung bestand aus der geringen Anzahl der Oocysten (siehe auch 4.3.2.), die bei der Herstellung der Keimträger auf den Cellulose-Filtern haften geblieben sind. Da sich der Oocystengehalt durch die Verdünnung der Oocysten-Ausgangslösung allerdings nur um eine Zehnerpotenz von $5,0 \times 10^7$ auf $2,5 \times 10^6$ Oocysten in der Lösung verringerte, ist die Ursache des Problems durch andere Faktoren als die Verdünnung bedingt. Eine mögliche Erklärung könnte die Beschaffenheit der Oocystenwand sein. Die dicke Hülle macht die Oocyste zwar sehr widerstandsfähig gegenüber Umwelteinflüssen (FAYER, 1997). Vermutlich wird die harte, glatte Wand aber beim Befeuchten nicht so stark klebrig, wie es bei Bakterien oder Viren der Fall wäre.

Die meisten Oocysten entwichen dem Filtrationsvorsatz wahrscheinlich über undichte Stellen. Für weitere Untersuchungen ist deshalb vor allem auf die Bestückung der Keimträger mit den Oocysten ein Augenmerk zu legen. Die Schwankungen der Oocystenzahl im Versuchsverlauf dürften damit zu erklären sein, dass manche Filtriervorsätze dichter waren als andere und somit mehr Oocysten auf den Keimträgern wieder gefunden werden konnten.

Auf eine Dichtigkeitsprüfung der fertigen Keimträger, wie sie beispielsweise WAGNER-WIENING (1998) durchgeführt hat, wurde verzichtet, da das Material der Polycarbonatmembran eine Porengröße von nur $0,01 \mu\text{m}$ hatte und die Membran außerdem verschweißt wurde, so dass ein Entweichen der etwa $5,0 \times 4,5 \mu\text{m}$ großen Oocysten kaum möglich schien.

Vor dem Hintergrund einer mündlichen Aussage des Instituts für Parasitologie der Universität Leipzig, laut der lediglich 100 Oocysten notwendig sind, um die Excystierungsrate zu bestimmen, war die Wiederfindungsrate der auf den Filtern verbliebenen Oocysten dennoch akzeptabel und die Ergebnisse dieser Untersuchung durchaus verwertbar.

Der prozentuale Anteil der excystierten Oocysten nahm im Laufe der Untersuchung kontinuierlich von anfangs 70 % auf 26 % bei Versuchsende nach 13 Wochen ab.

Da für die Auslösung einer Infektion bereits einige wenige Oocysten ausreichend sein können, darf hier nicht von der Abnahme der Infektiosität sondern lediglich von der Abnahme des Infektionsdrucks gesprochen werden (NAJDROWSKI, 2006).

Bei Werten um 30 %, wie sie zu Ende der Untersuchung vorlagen, ist mit einem relativ geringen Infektionsdruck zu rechnen. Nichtsdestotrotz muss nach wie vor von gleich bleibender Infektiosität ausgegangen werden, da in dieser Untersuchung lediglich die Vitalität nicht aber die Infektiosität der Oocysten ermittelt wurde (NAJDROWSKI, 2006).

DINKEL (1994) wies in ihrer Arbeit nach, dass eine Vorbehandlung mit Säure die Excystierungsrate vor allem bei Oocysten, die älter als fünf Monate sind, verdoppeln kann. Da die in dieser Arbeit verwendeten Oocysten zu Versuchsbeginn allerdings nur wenige Wochen alt waren, wurde auf eine solche Vorbehandlung verzichtet. Zudem darf bei dem zunehmend sauren Milieu in der Silage von einer ähnlichen Wirkung ausgegangen werden.

Bei der Silageuntersuchung nach sieben Wochen war die Excystierungsrate kurzzeitig wieder etwas höher, fiel aber in den folgenden Untersuchungen wieder konstant ab. Ursächlich könnte der erwähnte Einfluss der Silagesäuren sein. Nach fünf Wochen war ein pH-Wert von 4,2 erreicht, wodurch die Oocystenwände so angegriffen gewesen sein konnten, dass den Sporozoiten die Excystierung leichter fiel.

Eine andere Erklärung für diesen Anstieg könnte sein, dass die Oocysten etwas länger in dem Excystierungsmedium waren, wodurch eine stärkere Stimulation zur Excystierung erfolgt sein könnte.

Wie in einer Untersuchung von MERRY et al. (1997) beschrieben, änderte sich die Anzahl der in der Silage wiedergefundenen Oocysten um maximal eine Zehnerpotenz. Die Vitalität, ermittelt anhand der Excystierungsrate, sank dagegen in der Arbeit von MERRY et al. (1997) schneller und stärker ab. So fiel die anfängliche Vitalität von etwa 85 % bereits nach zwei Wochen auf rund 50 % ab. In den hier durchgeführten Untersuchungen sank der Wert nach drei Wochen dagegen nur um rund 10 % (Ausgangsexcystierungsrate 70 %) ab.

Da die Prävalenz von *C. parvum* bei Hunden bei bis zu 45 % (in Deutschland etwa 20 %) liegen kann, zur Etablierung einer Infektion bereits wenige Oocysten genügen und die Oocysten sehr widerstandsfähig gegenüber Umwelteinflüssen sind, ist ein Infektionsrisiko ausgehend von mit Hundekot verschmutzter Silage durchaus realistisch. Das Risiko einer Infektion mit dem an Hunde adaptierten *C. canis* dagegen ist für Rinder gering, da bislang

nur die künstliche Infektion gelang (TENTER und DEPLAZES, 2006; LUCIUS und LOOS-FRANK, 2008; CASEMORE et al., 1997).

Durch den Umgang mit kontaminierter Silage sind aber auch Menschen gefährdet, sich mit *C. parvum* zu infizieren.

Von Heu ist dagegen keine Gefahr zu erwarten, da die Oocysten durch Austrocknung in kurzer Zeit abgetötet werden (DUPONT et al., 1995; CAREY et al., 2004; LUCIUS und LOOS-FRANK, 2008; CASEMORE et al., 1997).

Verschiedene ältere Untersuchungen haben gezeigt, dass erwachsene, gesunde Hunde in der Regel keine Oocysten ausscheiden. In einer neueren Studie aus Australien wurden allerdings in 21 von 107 (19,6 %) untersuchten Kotproben aus einem Park *Cryptosporidium*-Oocysten nachgewiesen. Auch in einer Kleintierklinik in Spanien, konnten in sechs von 81 Kotproben *C. parvum* Oocysten gefunden werden (CASEMORE et al, 1997; POHJOLA, 1984; CAUSAPE et al., 1996).

Neuere molekularbiologische Untersuchungen legen eine Zugehörigkeit der Kryptosporidien zur Familie der Gregarien und nicht zu den Kokzidien nahe (NAJDROWSKI, 2006). Auf dieser Grundlage dürfen von den hier gewonnenen Resultaten kaum Rückschlüsse auf das Verhalten von *Neospora caninum* bei der Silierung geschlossen werden, da der Verwandtschaftsgrad zu gering ist.

Der durchgeführte Versuch zeigt, dass die Vitalitätsbestimmung von *C. parvum* während der Silierung mit Hilfe eines Keimträgers durchführbar ist, aber noch einiger Optimierung bedarf. Hauptaugenmerk muss dabei auf die Beimpfung des Keimträgers gerichtet werden.

Um eine bessere Vergleichbarkeit zu gewährleisten, sollten die gemeinsam untersuchten Proben leicht zeitversetzt in das Excystierungsmedium überführt werden, da die Auswertung der einzelnen Proben aufwendig ist.

Neben der Anzahl der excystierten bzw. nicht excystierten Oocysten sollte außerdem die Sporozoitenzahl ermittelt werden. Dabei ist zu bedenken, dass die Sporozoiten nach einer gewissen Zeit vom Excystierungsmedium lysiert werden.

Auch sollte die Entwicklung der Vitalität der eingebrachten Oocysten mittels parallel zum Versuch im Kühlschrank gelagerter Oocysten regelmäßig bestimmt werden (MEYER, 2002).

6 ZUSAMMENFASSUNG

Stefanie Schnauffer, geb. Egeler

Umwelthygienische Untersuchungen zur Belastung von landwirtschaftlich genutzten Grünlandflächen mit Hundekot sowie zur Tenazität ausgewählter bakterieller und parasitärer Erreger während der Silierung

Institut für Umwelt- und Tierhygiene sowie Tiermedizin mit Tierklinik der Universität Hohenheim

194 Seiten, 13 Tabellen, 19 Abbildungen, 237 Quellenangaben, Anhang mit 27 Seiten
15 Tabellen und 3 Abbildungen

Schlüsselwörter: Hundekot, Grünflächen, Antibiotikaresistenz, Tenazität, Silage.

Umwelthygienische Untersuchungen

Ziel dieser Untersuchung war es, Werte zur Belastung landwirtschaftlich genutzter Grünlandflächen mit Hundekot zu gewinnen, um eine Aussage zur Sicherheit der auf diesen Flächen gewonnenen Futtermittel hinsichtlich einer möglichen Infektion durch mit Hundekot vorkommenden Krankheitserregern treffen zu können.

Im Rahmen der Ermittlung zur tatsächlichen Anzahl von Hundekot auf solchen Flächen wurde zunächst eine Abfrage bei allen Kommunen des Untersuchungsgebiets zum Umgang mit der Hundekotthematik durchgeführt. Eine anschließende Umfrage mittels eines an Hundehalter gerichteten Fragebogens lieferte einen Überblick zu den Ausführ-, Abkot- und Fütterungsgewohnheiten.

Die Auswertung der zwölf ausgewählten Flächen ergab, dass vor allem Flächen, die nah an Siedlungsgebieten und an für Spaziergänger attraktiven Strecken gelegen sind, im Mittel mit 346 g/a am stärksten mit Hundekot belastet waren. Mit zunehmender Distanz zu Wohnsiedlungen sank die Flächenbelastung rasch ab. Flächen in Waldnähe waren eher gering belastet. Im Untersuchungsjahr betrug die durchschnittliche Hundekotbelastung der ausgewählten Flächen im Mittel 242 g/a.

Im Vergleich mit anderen Faktoren, die zu fäkalen Kontaminationen auf solchen Flächen führen (wie z. B. Festmistdüngung oder Weideschäferei), ist die Wahrscheinlichkeit einer durch Hundekot assoziierten Infektion anderer Tiere oder des Menschen eher gering.

Die Konzentrationen von *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, Enterokokken, Salmonellen sowie die Gesamtbakterienzahl der im Rahmen dieser Flächenuntersuchungen gesammelten Hundekothaufen entsprachen anderen Studien und waren unauffällig. Salmonellen konnten in keiner Probe nachgewiesen werden.

Untersuchung des Resistenzverhaltens von *E. coli*- und Salmonellen-Isolaten aus Hundekot

Dieser Versuch sollte einen Überblick über die derzeitige Resistenzsituation von *Escherichia coli* - und Salmonellen-Isolaten aus Hundekot liefern, um die Einschätzung eines möglichen Übertragungsrisiko dieser resistenten Erreger auf den Menschen und andere Tiere zu ermöglichen. 48 *E. coli*-Isolate und ein Salmonellen-Isolat wurden auf ihre Empfindlichkeit gegenüber den Antibiotika Ampicillin, Cephalothin, Enrofloxacin, Sulfamethoxazol und Tetracyclin sowohl mittels Agar-Diffusionstest als auch mit dem Mikrodilutionsverfahren getestet.

Die beste Empfindlichkeit bestand gegenüber Enrofloxacin mit einer Resistenzrate von durchschnittlich 13,55 %. Tetracyclin wies eine Resistenzrate von 26,05 % auf gefolgt von Ampicillin (32,3 %) und Cephalothin (51,05 %). Auf Sulfamethoxazol reagierten im Agar-Diffusionstest 90,9 % und bei der Mikrodilution alle untersuchten Isolate resistent. Das Salmonellen-Isolat zeigte sich gegenüber einer Behandlung mit Sulfamethoxazol ebenfalls resistent, reagierte aber auf die anderen verwendeten Antibiotika sowohl im Agar-Diffusionstest als auch bei der Mikrodilution gut bis sehr gut.

Untersuchungen zur Tenazität in Silage

Zur Ermittlung der Wirkung des bei der Silierung entstehenden Milieus auf die Lebensfähigkeit von in Hundekot möglichen Krankheitserregern, wurde Silage im Labormaßstab artifiziell mit *Clostridium perfringens*, *Enterococcus faecalis* und *Salmonella* Senftenberg sowie dem Parasiten *Cryptosporidium parvum* kontaminiert.

Zum Zeitpunkt, ab dem Silage üblicherweise verfüttert wird, konnten sowohl *C. perfringens* als auch *S. Senftenberg* nicht mehr nachgewiesen werden. Die Konzentration von *E. faecalis* lag mit $2,2 \times 10^4$ KBE/g unterhalb einer üblicherweise infektiösen Dosis.

Die für *Cryptosporidium parvum* untersuchte Excystierungsrate, anhand derer eine Aussage über die Vitalität getroffen werden kann, war im Versuchsverlauf von 70 % in der Nullprobe auf 26 % nach 13 Wochen abgesunken. Der Infektionsdruck, der von solch einer belasteten Silage ausgeht, ist als gering einzustufen.

7 SUMMARY

Stefanie Schnauffer, neé Egeler

Environmental hygiene study on the contamination of agriculturally utilised greenland with dog droppings and microbiological examinations on the tenacity of selected bacterial and parasitical germs during ensilage.

Institute for Environmental and Animal Hygiene and Veterinary Medicine with Animal Clinic of the University of Hohenheim

194 pages, 13 tables, 19 figures, 237 references, appendices (27 pages, 15 tables and 3 figures)

Keywords: dog droppings, greenland, antibiotic resistance, tenacity, silage

Environmental hygiene study

The aim of this study was to obtain meaningful data on the contamination of agriculturally utilised greenland with dog droppings. This data enabled to determine the likelihood of a germ infection caused by dog droppings and therefore make a statement on the safety of the feed cultivated on this greenland.

As part of this study all councils in the examined area were interviewed to gather information on how they deal with dog droppings. Afterwards a survey targeted at dog owners provided insight on the walking-, feeding- and defecating-habits of dogs in the area.

The results of the twelve meadows examined showed, that mainly meadows close to residential areas and attractive walkways were polluted the most with dog droppings with a mean of 346 g/a. The further away the examined meadows were from residential areas the less dog droppings could be found. Meadows close to forests were only polluted to a low degree. In the year of the examination the mean of the average dog dropping contamination on the selected meadows was 242 g/a.

Compared to other potential causes of faecal pollution on such greenland (e.g. manuring or sheep farming) the probability of an infection of other animals or humans caused by dog dropping is rather small.

The concentrations of *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, enterococci, salmonella and the total number of bacteria identified in this examination were also determined in this study and did corresponded to other studies. No salmonella were detected in any of the samples.

Examination of the resistance behaviour of *E. coli*- and Salmonella-isolates from dog droppings

This experiment was intended to give an overview of the current situation of antibiotic resistances of *E. coli*- and Salmonella-isolates from dog droppings to formulate a statement on the transmission risk of those resistant germs to other animals and humans. 48 *E. coli*-isolates and one Salmonella-isolate were examined for their sensitivity to the antibiotics ampicillin, cephalothin, enrofloxacin, sulfamethoxazole and tetracycline applying the agar diffusion test as well as the microdilution test.

Enrofloxacin turned out to be the most effective of the antibiotics tested in this study against the *E. coli*-isolates with an average resistance rate of 13.55 % while tetracycline had a resistance rate of 26.05 %, followed by ampicillin (32.3 %) and cephalothin (51.05 %).

Applying the agar diffusion test 90.9 % of the examined isolates showed a resistance to sulfamethoxazole with all of the isolates being resistant in the microdilution test.

The Salmonella isolate was resistant to treatment with sulfamethoxazole, but showed very high susceptibility to the other antibiotics used in the agar diffusion test and in the microdilution test.

Examinations of the tenacity during the ensiling process

To determine the effect of the ensiling process on the tenacity of germs in dog droppings silage was artificially contaminated with *Clostridium perfringens*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella* Senftenberg and the parasite *Cryptosporidium parvum* in a laboratory setting.

At the point in time where silage normally is used as feed *C. perfringens* and *S. Senftenberg* were no longer detectable. The concentration of *E. faecalis* was found to be up to 10^4 CBU/g below the infectious dose.

The excystation rate of *Cryptosporidium parvum* decreased during ensiling from 70 % in the first sample to 26 % after 13 weeks. This data only gives information on the vitality of the oocysts, but not on their infectivity. The infectious pressure from silages like this is to rate low.

8 QUELLENVERZEICHNIS

AGES (Österreichischen Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH) (2010): Salmonellen: Ein Ausbruch geklärt, Erhebungen in weiterem Ausbruch laufen. Pressearchiv 2010 auf der Homepage der Österreichischen Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH (AGES). URL: <http://www.ages.at/ages/presse/presse-archiv/2010/salmonellen-ein-ausbruch-geklaert-erhebungen-in-weiterem-ausbruch-laufen/>. Stand Juli 2010.

ANONYM (1873)

Ausübung und Ablösung der Weiderechte auf landwirtschaftlichen Grundstücken, sowie über die Ablösung der Waldweide-, Waldgräserei- und Waldstreu-Rechte. Württembergisches Gesetz vom 26. März 1873 (RegBl. S. 63), zuletzt geändert durch Gesetz vom 10. Februar 1976 (GBI. S. 99).

ANONYM (1884):

Die gemeinen Schafweiden betreffend. Badisches Gesetz vom 17. April 1884 (GVBl. S. 128), geändert durch Gesetz vom 24. September 1934 (GVBl. S. 299).

ANONYM (2006):

Wichtige Erreger in Klinik und Praxis (13): *Escherichia coli*. Zeitschrift für Chemotherapie, Vol. 27 (1), 3, ISSN 0722/5067.

ANONYM (2009a):

Internetauftritt des österreichischen Rundfunksenders ORF.

URL: http://www.orf.at/060418-98620/97648txt_story.html.

ANONYM (2009b):

Internetauftritt der EUREGIO MRSA-net in den Niederlanden. URL: <http://www.mrsa-net.nl>.

ANONYM (2009c):

Persönliche Informationen der einzelnen Städte und Gemeinden des Landkreises Böblingen.

ANONYM (2010a):

Sonstige Steuern und steuerähnliche Einnahmen der Gemeinden/Gv. im Jahr 2009. Tabelle des Statistischen Bundesamtes Wiesbaden. URL: www.destatis.de. Stand: Juli 2010.

ANONYM (2010b):

Nosokomiale Infektionen: "Dramatische Zunahme" multiresistenter Gram-negativer Erreger. Nachrichten im Bereich Medizin vom 25.06.2010 auf www.aerzteblatt.de. URL:

http://www.aerzteblatt.de/nachrichten/41749/Nosokomiale_Infektionen_Dramatische_Zunahme_multiresistenter_Gram-negativer_Erreger.htm. Stand: September 2010.

ANONYM (2012):

Tierstall und Gemüsfeld - wo resistente Keime lauern. Aktuelle Ergebnisse der Gesundheitsforschung. Newsletter 59 / Oktober 2012, Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF), Referat Gesundheitsforschung, Berlin URL: www.bmbf.de.

BAUER, C. (2006a):

Parasitenstadien als umwelthygienisches Problem. S. 105-118. In BOCH, J., SUPPERER, R. und SCHNIEDER, T. (Hrsg.): Veterinärmedizinische Parasitologie. 6. vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage, Parey-Verlag Stuttgart. ISBN: 3830441355.

BAUER, C. (2006b):

Untersuchungsmethoden. S. 84-104. In BOCH, J., SUPPERER, R. und SCHNIEDER, T. (Hrsg.): Veterinärmedizinische Parasitologie. 6. vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage, Parey-Verlag Stuttgart. ISBN: 3830441355.

BAUMGARTNER, W. (2005):

Klinische Propädeutik der inneren Krankheiten und Hautkrankheiten der Haus- und Heimtiere. 6., komplett überarbeitete und erweiterte Auflage, Parey-Verlag Stuttgart. ISBN: 3830441568.

BEEKER, W. (2003):

Untersuchung zur Problematik der Nacherwärmung von Maissilage, Erntejahr 2002. Diplomarbeit, Fachgebiet Pflanzenbau/Tierernährung Abteilung Soest im Fachbereich Agrarwirtschaft an der Fachhochschule Südwestfalen.

BERMINGHAM, E.C., PAPICH, M.G. und VIVRETTE, S.L. (2000):

Pharmacokinetics of enrofloxacin administered intravenously and orally to foals. American Journal of Veterinary Research, Vol. 61, (6), 706-709.

BEUTLICH, J. (2011):

Molekulare Charakterisierung der multiplen Antibiotikaresistenz in deutschen und europäischen *Salmonella enteritica* Isolat. Dissertation aus dem Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie der Freien Universität Berlin.

BIANCHI, P. und FRONGILLO, R.F. (1980):

A comparison of the activity in vitro of different cephalosporins: cephalothin, cephradine, cephacetrile, cefaclor, cefuroxime and cefotaxime. Bollettino dell'Istituto Sieroterapico Milanese, Vol. 58, (6), 488-495.

BIBER, V. (2006):

Allergien beim Hund. Franckh - Kosmos Verlags - GmbH & Co KG, Stuttgart. ISBN: 3440101355.

BILD (2006a):

Sch... am Stiel Die echt coole Hundehaufen-Lösung. BILD-Zeitung Bundesausgabe, 10.September 2006.

BILD (2006b):

Bürgermeister will DNA-Probe von allen Hunden ...damit er endlich weiß, von wem die Haufen sind. BILD-Zeitung vom 06. Mai 2006.

BILD (2009):

Bürgermeister will DNA-Probe von allen Hunden. BILD-Bundesausgabe, 30.01.2009.

BioAbfV (Bioabfallverordnung) (1998):

Verordnung über die Verwertung von Bioabfällen auf landwirtschaftlich, forstwirtschaftlich und gärtnerisch genutzten Böden (Bioabfallverordnung-BioAbfV). Bundesgesetzblatt Teil I, G 5702, Nr. 65, ausgegeben in Bonn am 28. September 1998, 2955-2981.

BLOCH, G. (2004):

Der Wolf im Hundepelz: Hundeerziehung aus unterschiedlichen Perspektiven. Franckh - Kosmos Verlags - GmbH & Co KG, Stuttgart. ISBN: 978-3-440-10145-2.

BOCH, J., SUPPERER, R. und SCHNIEDER, T. (2006):

Veterinärmedizinische Parasitologie. 6., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage, Parey-Verlag Stuttgart. ISBN: 3830441355.

BÖHM, S. (2006):

Rohfütterung für Hunde. Frischfütterung - leicht gemacht. Cadmos-Verlag, Schwarzenbek. ISBN: 3861277425.

BR (2007):

Homepage des bayerischen Fernsehens. URL: http://www.br-online.de/umwelt_gesundheit/unserland/landwirtschaft_forst/landw_verbraucher/neospora.shtm.

BRIEMLE, G., ELSÄSSER, M., JILG, T., MÜLLER, W. und NUSSBAUM, H.-J. (1997): Nachhaltige Grünlandbewirtschaftung in Baden-Württemberg. S. 109-118. In: LINCKH, G., SPRICH, H., FLAIG, H. und MOHR, H.: Nachhaltige Land- und Forstwirtschaft: Voraussetzungen, Möglichkeiten, Maßnahmen (Veröffentlichungen der Akademie für Technikfolgenabschätzung in Baden-Württemberg). 1. Auflage, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg. ISBN: 3642643973.

BÜLTE, M. (2004):

Enterovirulente *Escherichia coli* (EVEC). S. 33-36. Parasitäre Infektionen. S.56. In SINELL, H.-J. (Hrsg.): Einführung in die Lebensmittelhygiene. 4., neu bearbeitete Auflage, Parey-Verlag Stuttgart. ISBN: 3830440952.

BVL (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit) (2012):

Erstmals Zahlen über die Antibiotika-Abgabe in der Tiermedizin erfasst. Pressemitteilung vom 11.09.2012. Pressestelle des Bundesamtes für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, Mauerstraße 39-42, 10117 Berlin. URL:

http://www.bvl.bund.de/DE/08_PresseInfothek/01_FuerJournalisten/01_Presse_und_Hintergrundinformationen/05_Tierarzneimittel/2012/2012_abgabemengenregister/2012_09_11_pi_abgabemengenregister.html?nn=2080446. Stand 2012.

CAI, Y. (1999):

Identification and Characterization of *Enterococcus* Species Isolated from Forage Crops and their Influence on Silage Fermentation. Journal of Dairy Science, Vol. 82, (11), 2466-2471.

CAREY, C.M., LEE, H. und TREVORS, J.T. (2004):

Biology, persistence and detection of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* oocysts. Water Research, Vol. 38 (4), 818-862.

CASEMORE, D.P., WRIGHT, S.E. und COOP, R.L. (1997):

Cryptosporidiosis - Human and Animal Epidemiology. S.65-92. In FAYER, R.: Cryptosporidium and Cryptosporidiosis. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA. ISBN: 0849376955.

CAUSAPE, A.C., QUILEZ, J., SANCHEZ-ACEDO, C. und DEL CACHO, E. (1996):

Prevalence of intestinal parasites, including *Cryptosporidium parvum*, in dogs in Zaragoza city, Spain. Veterinary Parasitology, Vol. 67, (3-4), 161-167.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (2009):

Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard - 10th Edition. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute)-recommended methods for disk susceptibility testing, criteria for quality control testing, and updated tables for interpretive zone diameters. Vol. 29, (1), M02-A10.

CONRATHS, F.-J. (2006):

Grundlagen der Epidemiologie und Parasitenbekämpfung. S. 74-83. In BOCH, J., SUPPERER, R. und SCHNIEDER, T. (Hrsg.): Veterinärmedizinische Parasitologie. 6. vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage, Parey-Verlag Stuttgart. ISBN: 3830441355.

COSTA, D., POETA, P., SANEZ, Y., COELHO, A.C., MATOS, M., VINUE, L.,

RODRIGUES, J. und TORRES, C. (2008):

Prevalence of antimicrobial resistance and resistance genes in faecal *Escherichia coli* isolates recovered from healthy pets. Veterinary Microbiology, Vol. 127, (1-2), 97-105.

DAUGSCHIES, A. (2006):

Parasitosen des Schweines. S. 359-368. In BOCH, J., SUPPERER, R. und SCHNIEDER, T. (Hrsg.): Veterinärmedizinische Parasitologie. 6., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage, Parey-Verlag Stuttgart. ISBN: 3830441355.

DE GRAEF, E., DECOSTERE, A., DEVRIESE, L.A. und HAESEBROUCK, F. (2004):

Antibiotic Resistance among Fecal Indicator Bacteria from Healthy Individually Owned and Kennel Dogs. Microbial Drug Resistance, Vol. 10, (1), 65-69.

DE MAN, J.C. (1983):

MPN Tables, Corrected. European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology, 1983, No. (17), 301-305.

DIAZ, D. und TRUJILLO, J. (2007):

Disease risks posed by poorly fermented silages. Western Dairy News, Vol. 7, No. (7), W117-W118.

DIEPENBROCK, W., ELLMER, F. und LÉON, J. (2009):

Ackerbau, Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung: Grundwissen Bachelor. 2. Auflage, UTB-Verlag GmbH, Stuttgart. ISBN: 3825226298.

DIN (1991):

Medizinische Mikrobiologie und Immunologie. Normen und weitere Unterlagen. DIN-Taschenbuch 222, 2. Auflage. Deutsches Institut für Normung (DIN), Beuth Verlag GmbH Berlin-Köln. ISBN: 3410126899.

DIN (1998):

Medizinische Mikrobiologie: Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung von mikrobiellen Krankheitserregern gegen Chemotherapeutika; Teil 3: Agar-Diffusionstest; Beiblatt 1 zu DIN 58940-3: Angaben für die Bewertung der Hemmhofdurchmesser. Deutsches Institut für Normung e.V. (DIN), Beuth Verlag GmbH Berlin.

DINKEL, A. (1994):

Cryptosporidium parvum im Trinkwasser. Eignung der PCR zum Sporozoitennachweis nach Chlorung und Ozonung. Diplomarbeit am Institut für Zoologie, Fachgebiet Parasitologie der Universität Hohenheim.

DITTRICH, L. (2007):

Zootierhaltung - Tiere in menschlicher Obhut: Grundlagen. 9., korrigierte Auflage, Verlag: Deutsch (Harri), Frankfurt a.M.. ISBN3817118139.

DLG (Deutsche Landwirtschaftsgesellschaft) (2004):

Grobfutterbewertung - Teil A - DLG Schlüssel zur Bewertung von Grünfutter, Silage und Heu mit Hilfe der Sinnesprüfung. Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft e.V., DLG-Ausschuss für Futterkonservierung, 2004. Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft e.V, Eschborner Landstraße 122, D-60789 Frankfurt a.M. URL:

<http://statictypo3.dlg.org/fileadmin/downloads/fachinfos/futtermittel/grobfutterbewertung.pdf>

DLG (Deutsche Landwirtschaftsgesellschaft) (2006):

Grobfutterbewertung - Teil B - DLG Schlüssel zur Beurteilung der Gärqualität von Grünfuttersilagen auf Basis der chemischen Untersuchung. Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft e.V., DLG-Ausschuss für Futterkonservierung. Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft e.V, Eschborner Landstraße 122, D-60789 Frankfurt a.M. URL:

http://statictypo3.dlg.org/fileadmin/downloads/fachinfos/futtermittel/grobfutterbewertung_B.pdf.

DüMV (Düngemittelverordnung) (2008):

Verordnung über das Inverkehrbringen von Düngemitteln, Bodenhilfsstoffen, Kultursubstraten und Pflanzenhilfsmitteln (Düngemittelverordnung - DüMV) vom 16.12.2008, Bundesgesetzblatt Teil I, S. 2524.

DUPONT, H.L., CHAPPELL, C.L., STERLING, C.R., OKHUYSEN, P.C., ROSE, J.B. und JAKUBOWSKI, W. (1995):

The infectivity of *Cryptosporidium parvum* in healthy volunteers. New England Journal of Medicine, Vol. 332, (13), 855-859.

DWD (Deutscher Wetterdienst) (2010):

Ausgabe der Klimadaten: Monatswerte. Homepage des Deutschen Wetterdienstes Offenbach. URL: www.dwd.de, Stand 2010.

ECKERT, J. (2001):

Helminthen. In: Medizinische Mikrobiologie. S.568-632. KAYSER, F.H., BIENZ, K.A., ECKERT, J. und ZINKERNAGEL, R.M. 10. komplett überarb. Aufl. Thieme-Verlag Stuttgart. ISBN: 3-13-444810-6.

EFSA (European Food Safety Authority) (2008):

Foodborne antimicrobial resistance as a biological hazard. Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards. The EFSA Journal, (2008) 765, 1-87. Question number: EFSA-Q-2007-089.

EGELER, S. (2007):

Mikrobiologische und umwelthygienische Untersuchungen zu ausgewählten bakteriellen Erregern im Hundekot. Diplomarbeit am Institut für Umwelt- und Tierhygiene der Universität Hohenheim.

EIKMEIER, H. und NOLTE, I. (1995):

Therapie innerer Krankheiten der Haustiere für Praxis und Studium. 4., neu bearbeitete und erweiterte Auflage, unter Mitarbeit von Christian Bauer, Enke Verlag Stuttgart. ISBN: 3432811349.

ELSAESSER, M. und THUMM, U. (2011):

Ausbringungsmenge auf Grünland. Richtwerte auf der Homepage des Landwirtschaftliches Zentrum für Rinderhaltung, Grünlandwirtschaft, Milchwirtschaft, Wild und Fischerei Baden-Württemberg (LAZBW) in Aulendorf und des Instituts für Pflanzenbau und Grünlandlehre der Universität Hohenheim. URL: www.gruenland-online.de. Pfad: „Düngung“ – „Einsatz von Wirtschaftsdüngern“ – „Ausbringungsmengen“.

Environment Agency (2006):

The Microbiology of Drinking Water (2009)- Part 4 -Methods for the isolation and enumeration of coliform bacteria and *Escherichia coli* (including *E. coli* 0157:H7). Environment Agency. URL: <http://www.environment-agency.gov.uk/static/documents/Research/MoDWP4-223MAYh.pdf>. Stand: Januar 2006. Environment Agency Head Office, Rio House, Waterside Drive, Aztec West, Almondsbury, Bristol BS32 4UD.

EPE, C., COATI, N. und SCHNIEDER, T. (2004):

Results of parasitological examinations of faecal samples from horses, ruminants, pigs, dogs, cats, hedgehogs and rabbits between 1998 and 2002. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift, Vol. 111, (6), 243-247.

EU (2002):

Verordnung (EG) Nr. 1774/2002 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 3. Oktober 2002 mit Hygienevorschriften für nicht für den menschlichen Verzehr bestimmte tierische Nebenprodukte. Amtsblatt der Europäischen Union L 273.

EU (2005):

Verordnung (EG) Nr. 183/2005 des europäischen Parlaments und des Rates vom 12. Januar 2005 mit Vorschriften für die Futtermittelhygiene. Amtsblatt der Europäischen Union L 35.

FAYER, R. (1997):

Cryptosporidium and *Cryptosporidiosis*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
ISBN: 0849376955.

FEHLHABER, K. (2004):

Clostridium perfringens-Lebensmittelvergiftung. S. 75-76. In SINELL, H.-J. (Hrsg): Einführung in die Lebensmittelhygiene. 4., neu bearbeitete Auflage, Parey-Verlag Stuttgart. ISBN: 3830440952.

FLI (Friedrich-Loeffler-Institut) (2012):

Tiergesundheitsjahresbericht 2011. 12. Jahrgang, Herausgeber: Friedrich-Loeffler-Institut, Greifswald-Insel Riems. Druck: Druckhaus Panzig, Greifswald. ISSN 1867-9374.

FROMMHERZ, J. (2012):

Schwarzkittel bleibt Problemschwein. Artikel aus dem Internetauftritt des Schwarzwälder Boten vom 18.07.2012.

FuttmV (Futtermittelverordnung) (2007):

Futtermittelverordnung in der Fassung der Bekanntmachung vom 24. Mai 2007 (Bundesgesetzblatt Teil I, S. 770), die zuletzt durch Artikel 2 der Verordnung vom 16. Juli 2012 (Bundesgesetzblatt Teil I, S. 1535) geändert worden ist.

GANDOLF, A.R., PAPICH, M.G., BRINGARDNER, A.B. und ATKINSON, M.W. (2005):

Pharmacokinetics after intravenous, subcutaneous, and oral administration of enrofloxacin to alpacas. American Journal of Veterinary Research, Vol. 66, (5), 767-771.

GASTMEIER, P. und GEFFERS, P. (2008):

Nosokomiale Infektionen in Deutschland. Wie viele gibt es wirklich? Deutsche medizinische Wochenschrift, Vol. 133, (21), 1111-1115.

GERMAP (2008):

GERMAP 2008 Antibiotika-Resistenz und -Verbrauch. Bericht über den Antibiotikaverbrauch und die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen in der Human- und Veterinärmedizin in Deutschland. 1. Auflage, herausgegeben vom Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, Berlin, der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V., Rheinbach und der Infektiologie Freiburg der Medizinischen Universitätsklinik Freiburg, Verlag Antiinfectives Intelligenc Gesellschaft für klinisch-mikrobiologische Forschung und Kommunikation mbH, Rheinbach. ISBN 978-3-00-025097-2.

GÖZALAN, F. (2004):

Untersuchungen zur Vorkommen antibiotikaresistenter Isolate von *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* und *Staphylococcus aureus* aus Kommunal- und Schlachthofabwasser. Dissertation am Institut für Umwelt- und Tierhygiene der Universität Hohenheim.

GROBBEL, M., LÜBKE-BECKER, A., ALESIK, E., SCHWARZ, S., WALLMANN, J., WERCKENTHIN, C. und WIELER, L.H. (2007):

Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* from swine, horses, dogs and cats as determined in the BfT-GermVet monitoring program 2004-2006. Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift, Vol. 120, (9-10), 391-401.

GROSS, F. und RIEBE, K. (1974):

Gärfutter. Betriebswirtschaft, Erzeugung, Verfütterung. Ulmer Verlag, Stuttgart. ISBN: 9783800143214.

GUARDABASSI, L., LOEBER, M.E. und JACOBSON, A. (2004a):

Transmission of multiple antimicrobial-resistant *Staphylococcus intermedius* between dogs affected by deep pyoderma and their owners. Veterinary Microbiology, Vol. 98, (1), 23-27.

GUARDABASSI, L., SCHWARZ, S. und LLOYD, D.H. (2004b):

Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, Vol. 54, (2), 321-332.

GÜNTHER, J., KERN, W.V., NINK, K., SCHRÖDER, H. und DE WITH, K. (2003):

Solange sie noch wirken...- Analysen und Kommentare zum Antibiotikaverbrauch in Deutschland. Herausgeber: Wissenschaftliches Institut der AOK in Bonn und Klinikum der Universität Freiburg. ISBN 3-922093-30-2.

HAHN, H., KAUFMANN, S.H.E, SCHULZ, T.F. und SUERBAUM, S. (2008):

Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie. 6., komplett überarb. Aufl. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. ISBN: 3540463593.

HARVEY, R.G. und HUNTER, P.A. (1999):

The properties and use of penicillins in the veterinary field, with special reference to skin infections in dogs and cats. Veterinary Dermatology, Vol.10, (3), 177-186.

HASENMAYER, V. (2007):

Weg mit den Häufle: Paten für die Hundetoiletten. Stuttgarter Zeitung, Nr. 239 vom 16.10.2007, Stuttgarter Zeitung Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart.

HEESEMANN, J. (2001):

Die Familie der Enterobacteriaceae. S. 288-289; S. 303-310. In KÖHLER, W., EGGERS, H.-J., FLEISCHER, B., MARRE, R., PFISTER, H. und PULVERER, G.: Medizinische Mikrobiologie. 8. Auflage, Urban & Fischer Verlag München-Jena. ISBN: 3-437-41640-5.

HESSE, A. (2009):

Internetauftritt www.hunde-ratgeber.com.

URL: <http://www.hunde-ratgeber.com/hund-als-nutztier.php>.

<http://www.hunde-ratgeber.com/hund-als-familienmitglied.php>.

HEYLAND, K.-U. (1996):

Spezieller Pflanzenbau. 7. Auflage, Ulmer Verlag, Stuttgart. ISBN: 3800110806.

HOFF, B.-I. (2008):

Kleine Anfrage des Abgeordneten Mirco Dragowski (FDP) vom 09. September 2008 (Eingang beim Abgeordnetenhaus am 10. September 2008) und Antwort Lösungsstrategien für das Hundekotproblem in Berlin. Drucksache 16/12524 des Abgeordnetenhauses, Kulturbuch-Verlag GmbH, Berlin-Buckow.

HOFFMANN, C. und WONGLORZ, H. (2008):

Hundekot-Belastungskarte Reuterkiez Berlin-Neukölln. Auf der Homepage des Reuterquartiers, http://www.reuterquartier.de/uploads/media/071008_Hundekot_Belastungskarte_Reuterkiez_Zaehlung_07-08-13.pdf. Umweltconsulting Dr. Hoffmann, Berlin.

HÜBNER, N.-O., SCIERMOCH, K. und KRAMER, A. (2007):

Vergleich von Methoden zur Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration und Schlussfolgerungen zur Weiterentwicklung der Methoden. GMS Krankenhaushygiene Interdisziplinär 2007, Vol. 2, (2), ISSN 1863-5245.

IfSG (Infektionsschutzgesetz) (2000):

Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen (Infektionsschutzgesetz-IfSG). Infektionsschutzgesetz vom 20. Juli 2000 (Bundesgesetzblatt Teil I, S. 1045), zuletzt geändert durch Artikel 2a des Gesetzes vom 17. Juli 2009 (Bundesgesetzblatt Teil I, S.2091).

IVH (Industrieverbandes Heimtierbedarf) (2010):

Der Deutsche Heimtiermarkt. Struktur & Umsatzdaten. Analyse des Industrieverbandes Heimtierbedarf (IVH) e.V. Kontakt: Industrieverband Heimtierbedarf (IVH) e. V., Emanuel-Leutze-Str. 1 b, 40547 Düsseldorf. URL:

http://www.ivh-online.de/fileadmin/user_upload/Heimtiermarkt_A4_2009.pdf.

JERNBERG, C., LÖFMARK, S., EDLUND, C. und JANSSON, J.K. (2010):

Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. *Microbiology*, Vol. 156, (11), 3216-3223.

JEROCH, H., DROCHNER, W. und SIMON O. (2008):

Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere. 2. Auflage, Ulmer Verlag, Stuttgart. ISBN: 3825281809.

JOHNSON, A.M., FIELKE, R., LUMB, R. und BAVERSTOCK, P.R. (1990):

Phylogenetic relationships of *Cryptosporidium* determined by ribosomal RNA sequence comparison. *International Journal of Parasitology*, Vol. 20, (2), 141-147.

JONES, R.N. und BARRY, A.L. (1987):

Optimal dilution susceptibility testing conditions recommendations for MIC interpretation and quality control guidelines for the ampicillin-sulbactam combination. *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 25, (10), 1920-1925.

JOST, B. (2009):

Igitt! Mein Hund hat Kot gefressen. Ratgeber Folge 2: Was hat nur mein Hund – und was ist dagegen zu tun? *Zeit für Tiere*, 02/2009, 27.

KAMPHUES, J., KOENEN, M. und KIENZLE, E. (2004):

Supplemente zu Vorlesungen und Übungen in der Tierernährung. 10., vollständig überarbeitete und ergänzte Auflage, M. & H. Schaper Verlag, Leine. ISBN 978-3794402052.

KAYSER, F.H., BIENZ, K.A., ECKERT, J. und ZINKERNAGEL, R.M. (2001):

Medizinische Mikrobiologie. 10. komplett überarb. Aufl. Thieme-Verlag Stuttgart. ISBN: 3-13-444810-6.

KEHLER, W. (2010):

Botulismus des Rindes: Problematik in den 90-er Jahren. Nutztierpraxis Rind: Chronischer Botulismus, Botulinumtoxikosen bei Mensch und Tier - Chronischer Botulismus in Milchviehherden? Was ist dran? Summary der Tierärzte-Tagung vom 30. September bis 01. Oktober 2010, 1. Auflage, Heft 2010-004, S. 103-122. Bezugsquelle: Agrar- und Veterinär-Akademie (AVA), Ernst-Günther Hellwig, Dorfstraße 5, 48612 Horstmar-Leer (Herausgeber und Redaktion), Tel: (02551) 7878, Fax: (02551) 83 43 00, E-Mail: info@ava1.de, Web: www.ava1.de.

KEKULÉ, A. (2009):

Berlins Gifthaufen. Unsere besten Freunde? Hunde tragen tückische Keime in sich, die gefährlichsten davon hat er den Menschen zu verdanken. Berliner Tagesspiegel vom 24.06.2009, Verlag Der Tagesspiegel GmbH, Berlin.

KEULEN, A. (2005):

Clostridien verursachen Blähkäse. Landwirtschaftliche Zeitung Rheinland, Ausg. 49/2005.

KIEHL, W. (2004):

Salmonella Enteritidis, *Salmonella* Thyphimurium/Salmonellose. S.234-237. In SUTTORP, N., MIELKE, M., KIEHL, W. und STÜCK, B.: Infektionskrankheiten verstehen, erkennen, behandeln. Georg Thieme Verlag, Stuttgart. ISBN: 3131316918.

KIRBY, W.M. und BULGER, R.J. (1964):

The new penicillins and cephalosporins. Annual Review of Medicine, Vol. 15, 393-412.

KITCHENHAM, K. (2006):

Hundehaltung in der Stadt. 1. Auflage, Müller Rüschlikon Verlag, Stuttgart. ISBN: 3275015605.

KLEER, J. (2004):

Lebensmittelhygienische Grundlagen. S.7-18. *Salmonella*. S.19-32. In SINELL, H.-J. (Hrsg): Einführung in die Lebensmittelhygiene. 4., neu bearbeitete Auflage, Parey-Verlag Stuttgart. ISBN: 3830440952.

KLUGE, K. und UNGEMACH, F.R. (1999):

Untersuchung der Pharmakokinetik von Ampicillin nach oraler Applikation bei Hunden. Tierärztliche Praxis, 27 (K): 150-154.

KNOTHE, H. und LAUER, B. (1974):

The microbiologic activity of cephalothin, cephalixin, cephacetrile, cephadrine, cephalolin and cephamandol. Advanced Clinical Pharmacology, (8), 80-88.

KÖHLER, W., EGGERS, H.-J., FLEISCHER, B., MARRE, R., PFISTER, H. und

PULVERER, G. (2001):

Medizinische Mikrobiologie. 8. Auflage, Urban & Fischer Verlag München-Jena. ISBN: 3-437-41640-5.

KÖHLER, W. (2001):

Sporenbildende gram-positive Bakterien (Bacillus, Clostridium), Milzbrand, Tetanus, Gasbrand, pseudomembranöse Colitis, Botulismus. S.391-405. In KÖHLER, W., EGGERS, H.-J., FLEISCHER, B., MARRE, R., PFISTER, H. und PULVERER, G.: Medizinische Mikrobiologie. 8. Auflage, Urban & Fischer Verlag München-Jena. ISBN: 3-437-41640-5.

KRALL, P. (1960):

Der gesunde und der kranke Hund. 8. völlig neu bearbeitete Auflage von G. Müller und R. Reinhardt: Der kranke Hund. Parey-Verlag, Hamburg - Berlin.

KROCKAUER, M. (2009):

Hundepolitik in Berlin. Beitrag über das Projekt „Stadt und Hund“, Berlin. URL: <http://www.stadthunde.com/berlin/specials/projekt-stadt-und-hund.html>. Stand 2009.

KROKER, R. (2003):

Pharmaka zur Behandlung und Verhütung bakterieller Infektionen. S. 208-247. In LÖSCHER, W., UNGEMACH, F.R. und KROKER, R.: Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren, 6. Auflage, Parey-Verlag Berlin. ISBN: 3826334507.

KRUG, W. und REHM, N. (1983):

Nutzen-Kosten-Analyse der Salmonellenbekämpfung. Schriftenreihe des Bundesministeriums für Jugend, Familie und Gesundheit. Band 131. Kohlhammer-Verlag Stuttgart.

KRÜGER, M. (2010):

Clostridium botulinum in Tierbeständen aus mikrobiologischer Sicht. Nutztierpraxis Rind: Chronischer Botulismus, Botulinumtoxikosen bei Mensch und Tier - Chronischer Botulismus in Milchviehherden? Was ist dran? Summary der Tierärzte-Tagung vom 30. September bis 01. Oktober 2010, 1. Auflage, Heft 2010-004, S. 24-27. Bezugsquelle: Agrar- und Veterinär-Akademie (AVA), Ernst-Günther Hellwig, Dorfstraße 5, 48612 Horstmar-Leer (Herausgeber und Redaktion), Tel: (02551) 7878, Fax: (02551) 83 43 00, E-Mail: info@ava1.de, Web: www.ava1.de.

KUNZ, H. (2009):

Biestmilchmanagement neu überdacht. Nutztierpraxis aktuell (30), 56-59.

Land BW (Baden-Württemberg) (1978):

Das Land Baden-Württemberg - Amtliche Beschreibung nach Kreisen und Gemeinden (in acht Bänden). Hrsg. Landesarchivdirektion Baden-Württemberg; Band III: Regierungsbezirk Stuttgart-Regionalverband Mittlerer Neckar, Stuttgart, Verlag W. Kohlhammer, Stuttgart. ISBN 3-17-004758-2.

LAZBW (2012):

Die Jagdstrecken des Jagdjahres 2011/2012. Landwirtschaftliches Zentrum für Rinderhaltung, Grünlandwirtschaft, Milchwirtschaft, Wild und Fischerei Baden Württemberg. Mitteilung der Wildforschungsstelle Aulendorf Nr. 1/2012.

LRA BB (Landratsamt Böblingen) (2011):

Internetauftritt des Landratsamtes Böblingen und der angeschlossenen Stabsstelle für naturschutzorientierte Regionalentwicklung und Tourismus.

URL: www.lrabb.de Stand 2011; URL: <http://www.schoenbuch-heckengau.de/>, Stand 2011.

LANGSTON, C.W., GUTIERREZ, J. und BOUMA, C. (1960):

Motile Enterococci (*Streptococcus faecium* var. *mobilis* var. n) isolated from Grass Silage. Journal of Bacteriology, Vol. 80, (5), 714–718.

LBV-BW (Landesbauernverband in Baden-Württemberg) (2005):
Aktion gegen Hundekotverschmutzung von Wiesen und Feldern. Beitrag auf der Homepage
des Landesbauernverbandes in Baden-Württemberg. URL:
<http://www.lbv-bw.de/Aktion-gegen-Hundekotverschmutzung-von-Wiesen-und-Feldern,TUFSSz1odW5kZWtdCZBSUQ9MjA3NjExJk1JRD01NTcxMA.html?UID=7A93A64D93F5EEBA94EA278B7FFB850DD443A534CD33462085>.

LEISEN, E. (2002):

Einfluss von Futterqualität und Hygienebedingungen auf die Clostridienbelastung in der Milch von Öko-Betrieben in Nordwestdeutschland. Poster in: Freyer, Bernhard (Hrsg.) Ökologischer Landbau der Zukunft. Beiträge zur 7. Wissenschaftstagung zum Ökologischen Landbau, Institut für ökologischen Landbau, Universität für Bodenkultur, Wien, S. 627-628. Bezugsquelle: Institut für Ökologischen Landbau, Universität für Bodenkultur Wien, Gregor Mendel Straße 33, A-1180 Wien, Fax: +43 (0)1 47654-3792.

LIESENFELD, R. und IGNATIUS, O. (2008):

Cestoden. S. 677-683. In: HAHN, H., KAUFMANN, S.H.E, SCHULZ, T.F. und SUERBAUM, S. (2008): Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie. 6., komplett überarb. Aufl. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. ISBN: 3540463593.

LINCKH, G., SPRICH, H., FLAIG, H. und MOHR, H. (1997):

Nachhaltige Land- und Forstwirtschaft: Voraussetzungen, Möglichkeiten, Maßnahmen (Veröffentlichungen der Akademie für Technikfolgenabschätzung in Baden-Württemberg). 1. Auflage, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg. ISBN 3540610901.

LINDERGARD, G., NYDAM, D.V., WADE, S.E., SCHAAF, S.L. und MOHAMMED, H.O. (2003):

A novel multiplex polymerase chain reaction approach for detection of four human infective *Cryptosporidium* isolates: *Cryptosporidium parvum*, types H and C, *Cryptosporidium canis* and *Cryptosporidium felis* in fecal and soil samples. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, Vol. 15, (3), 262-267.

LINDSAY, D.S. und ZAJAC, A.M. (2004):

Cryptosporidium Infections in cats and dogs. Compendium, Vol. 26, (11), 864-874.

LÖSCHER, W., UNGEMACH, F.R. und KROKER, R. (2003):

Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren, 6. Auflage, Parey-Verlag Berlin.

ISBN: 3826334507.

LUCIUS, R. und LOOS-FRANK, B. (2008):

Biologie von Parasiten. 2. Auflage, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.

ISBN: 978-3-540-37707-8.

LUKASSOWITZ, I. (2002):

Helfer mit Haken- Enterokokken haben neben positiven auch einige negative Eigenschaften.

Pressemitteilung 14/2002 des Bundesinstitutes für Risikobewertung (BfR) vom 05. Juni 2002. URL:

http://www.bfr.bund.de/de/presseinformation/2002/14/helfer_mit_haken____enterokokken_haben_neben_positiven_auch_einige_negative_eigenschaften-1056.html.

Stand August 2008.

LUNKE, C. (2004):

Antibiotikaresistenzen bei Bakterien tierischer Herkunft. Inaugural-Dissertation aus dem Institut für Umweltmedizin und Krankenhaushygiene der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg i. Br..

MAESEN, F. und DAVIES, B. (1979):

A clinical comparison of Ampicillin, Ampicillin Esters (Bacampicillin and Pivampicillin) and Amoxycillin in acute exacerbations of chronic bronchitis. *Infection*, Vol. 7, (5), 483-486.

MAISBANK.DE (2007):

Stalleinstreu – Ein sauberes Fußbett für gesunde Tiere. Beitrag auf der Homepage von www.maisbank.de. URL: <http://www.maisbank.de/index/info/pdf/Stalleinstreu.pdf>.

MARCINAKOVA, M., SIMONOVA, M., STROMPFOVA, V. und LAUKOVA, A. (2005):

Occurence of structural Enterocin Genes among Silage Enterococci. *The Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, Vol. 49, (4), 387-391.

MARTIN, K. und SAUERBORN, J. (2006):

Agrarökologie. 1. Auflage, Ulmer Verlag, Stuttgart. ISBN: 978-3825227937.

MASIELLO, S. N. (2010):

Implications of the Ability of *Enterococcus* spp. to survive the Ensiling Process and bovine gastrointestinal tract on the risk of bovine mastitis. Master-Thesis auf dem Fachgebiet Dairy Science des Virginia Polytechnic Institute and State University.

MC EVOY, G.K. (1992):

AHFS Drug Information 1992. American Society of Hospital Pharmacists Inc., Bethesda (USA). S. 2363 ff. ISBN 1-879907-07-0.

MEHLHORN, H. und PIEKARSKI, G. (2002):

Grundriss der Parasitenkunde. 6. überarbeitete und erweiterte Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg. ISBN: 3-8274-1158-0.

MERCK (2010a):

Technische Informationen zu Thioglycollate-Bouillon (FTG) (Merck-Produkt-Nr. 108190). Merck Microbiology Manual 12th Edition, 469. Merck KgaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt, Deutschland.

MERCK (2010b):

Technische Informationen zu Anaerocult A® (Merck-Produkt-Nr. 113829). Merck KgaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt, Deutschland. URL:

http://www.merckmillipore.com/chemicals/anaerocult-a/MDA_CHEM-113829/german/p_Q_Cb.s1LLdoAAEWVOEFVhTI?attachments=TI. Stand: November 2010.

MERCK (2010c):

Technische Informationen zu Azid-Glucose-Bouillon (AD) (Merck-Produkt-Nr. 101590). Merck Microbiology Manual 12th Edition, 1. Merck KgaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt, Deutschland.

MERCK (2010d):

Technische Informationen zu Kanamycin-Äskulin-Azid-Agar (KAA) (Merck-Produkt-Nr. 105222). Merck Microbiology Manual 12th Edition, 306. Merck KgaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt, Deutschland.

MERCK (2010e):

Technische Informationen zu Peptonwasser (Merck-Produkt-Nr. 107228). Merck Microbiology Manual 12th Edition, 218. Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt, Deutschland.

MERCK (2010f):

Technische Informationen zu RAPPAPORT-VASSILIADIS-Bouillon (RVS) (Merck-Produkt-Nr. 107700). Merck Microbiology Manual 12th Edition, 1-2. Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt, Deutschland.

MERCK (2010g):

Technische Informationen zu Brillantgrün-Phenolrot-Laktose-Saccharose-Agar (BPLS) (Merck-Produkt-Nr. 107237). Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt, Deutschland. URL:

[http://www.merckmillipore.com/chemicals/bpls-agar/MDA_CHEM-](http://www.merckmillipore.com/chemicals/bpls-agar/MDA_CHEM-107237/german/p_m2ab.s1LR1kAAAEWQ.EFvhtI?attachments=TI)

107237/german/p_m2ab.s1LR1kAAAEWQ.EFvhtI?attachments=TI. Stand: Oktober 2010.

MERCK (2010h):

Technische Informationen zu Fluorocult® Laurylsulfat-Bouillon (Merck-Produkt-Nr. 112588). Merck Microbiology Manual 12th Edition, 289. Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt, Deutschland.

MERCK (2010i):

Technische Informationen zu KOVACS-Indolreagenz (Merck-Produkt-Nr. 109293). Merck Microbiology Manual 12th Edition, 312. Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt, Deutschland.

MERCK (2010j):

Technische Informationen zu Xylose-Lysin-Desoxycholat-Agar (XLD) (Merck-Produkt-Nr. 105287). Merck Microbiology Manual 12th Edition, 512-513. Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt, Deutschland.

MERCK (2010k):

Technische Informationen zu ENDO-Agar (Merck-Produkt-Nr. 104044). Merck Microbiology Manual 12th Edition, 278-279. Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt, Deutschland.

MERRY, R.J., MAEDSLEY, J.L., BROOKS, A.E. und DAVIES, D.R. (1997):

Viability of *Cryptosporidium parvum* during ensilage of perennial ryegrass. Journal of Applied Microbiology, Vol. 82, (1), 115-120.

MEYER, A. (2002):

Hygienisch-mikrobiologische Untersuchungen an drei Güllebehandlungsanlagen unter Berücksichtigung von *Cryptosporidium spp.* Inaugural-Dissertation aus dem Institut für Tier- und Umwelthygiene der Freien Universität Berlin.

MEYER, H. und ZENTEK, J. (2005):

Ernährung des Hundes, Grundlagen- Fütterung- Diätik. 5., neu bearbeitete und erweiterte Auflage, Parey Verlag in MVS Medizinverlage Stuttgart GmbH & Co. KG, Stuttgart. ISBN: 3830441517.

MLR BW (Ministerium für Ländlichen Raum und Verbraucherschutz Baden-Württemberg) (2012):

Schafhaltung in Baden-Württemberg Ein Nachhaltigkeitsprojekt des Landes Baden-Württemberg zur Weiterentwicklung der Schafhaltung. Leitfaden des Ministeriums für Ländlichen Raum und Verbraucherschutz Baden-Württemberg, Stuttgart.

Drucknummer: 16-2012-26.

MOELLERING, R.C. (1998):

Vancomycin-Resistant Enterococci. Clinical Infectious Diseases, Vol. 26, (5), 1196-1199.

MÜLLER, W. und SCHLENKER, G. (2007):

Kompodium der Tierhygiene: Gesundheitsschutz, Verbraucherschutz, Umweltschutz, Tierschutz. 3. Auflage, Lehmanns Media Berlin. ISBN: 978-3-86541-225-6.

NAJDROWSKI, M. (2006):

Etablierung eines In-vitro-Infektionsmodells zur Vitalitätsbeurteilung von *Cryptosporidium parvum*-Oocysten. Inaugural-Dissertation am Institut für Parasitologie der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig und dem Institut für Parasitologie und Zoologie der Veterinärmedizinischen Universität Wien.

NAM, H.M., LEE, H.S., BYUN, J.W., YOON, S.S., JUNG, S.C., JOO, Y.S. und LIM, S.K. (2010):

Prevalence of antimicrobial resistance in fecal *Escherichia coli* isolates from stray pet dogs and hospitalized pet dogs in Korea. Microbial Drug Resistance, Vol. 16, (1), 75-9.

NatSchG (Naturschutzgesetz BW) (1995):

Gesetz zum Schutz der Natur, zur Pflege der Landschaft und über die Erholungsvorsorge in der freien Landschaft (Naturschutzgesetz-NatSchG), in der Fassung der Bekanntmachung vom 29. März 1995, GBl. S. 385, zuletzt geändert am 17.3.2005, GBl. S. 206.

NUSSBAUM, H.-J. (2007a):

Qualität der Grassilage – wie können wir Futterwert und Konservierungserfolg nachhaltig verbessern? Präsentation zum Futtertag am 28. März 2007 in Nossen. URL:

http://www.smul.sachsen.de/lfulg/download/Futtertag_07_Nussbaum_Kurzfassung.pdf.

Stand Dezember 2007.

NUSSBAUM, H.-J. (2007b):

Klee und Klee gras erfolgreich silieren. Landinfo (3/2008), 8-12. Hrsg.: Landesanstalt für Entwicklung der Landwirtschaft und der Ländlichen Räume mit Landesstelle für Landwirtschaftliche Marktkunde (LEL) Baden-Württemberg und Ministerium für Ernährung und Ländlichen Raum.

NUSSBAUM, H.-J. (2007c)

Dreck macht nicht fett – Verschmutzungen bei Grassilage. Bildungs- und Wissenszentrum Aulendorf- Viehhaltung, Grünlandwirtschaft, Wild, Fischerei - Staatliche Lehr- und Versuchsanstalt für Viehhaltung und Grünlandwirtschaft LVVG auf der Homepage des Landwirtschaftlichen Zentrums Baden-Württembergs.

https://www.landwirtschaft-bw.info/servlet/PB/show/1203154/LAZBW32_Verschmutzung%20bei%20Grassilagen.pdf. Stand Februar 2010.

NUSSBAUM, H.-J., (2008):

Was Kombi - Siliermittel leisten. Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart, BWagrar (16), 16-18.

OEHLER, R., VELEZ, A.P., MIZRACHI, M., LAMARCHE, J. und GOMPF, S. (2009):

Bite-related and septic syndromes caused by cats and dogs. The Lancet Infectious Diseases, Vol. 9, (7), 439-47.

OHR, R. und ZEDDIES, G. (2006):

Studie zur ökonomischen Gesamtbetrachtung der Hundehaltung in Deutschland.

Lehrstuhl für Volkswirtschaftslehre der Georg-August-Universität Göttingen.

OPITZ VON BOBERFELD, W. (1994):

Grünlandlehre: biologische und ökologische Grundlagen. Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart.

ISBN: 3825217701.

ORDEN, J.A., RUIZ-SANTA-QUITERIA, J.A., GARCIA, S., CID, D. und DE LA FUENTE, R. (1999):

In vitro activities of cephalosporins and quinolones against *Escherichia coli* strains isolated from diarrheic dairy calves. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Vol. 43, (3), 510-513.

OXOID (2008):

Produktinformationen zu Tryptone Soya Broth (TSB) (Casein soya bean digest medium), Artikel-Nr. CM0129, Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, United Kingdom. URL:

http://www.oxoid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM0129&c=UK&lang=EN.

Stand: September 2009.

PEDERSEN, K., PEDERSEN, K., JENSEN, H., FINSTER, K., JENSEN, V.F. und HEUER, O.E. (2007):

Occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from diagnostic samples from dogs. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, Vol. 60, (4), 775-781.

PEDRAZA-DIAZ, S., AMAR, C., IVERSEN, M., STANLEY, P.J. und McLAUCHLIN, J. (2001): Unusual *Cryptosporidium* species recovered from human faeces: first description of *Cryptosporidium* „dog type“ from patients in England. Journal of Medical Microbiology, Vol. 50, (3), 293-296.

PFEIFFER, H. (1983):

Zur Kontamination von öffentlichen Grünanlagen und Kinderspielsand in Wien mit Dauerstadien humanpathogener Parasiten von Hund und Katze. Aus dem Institut für Parasitologie und Allgemeine Zoologie der Veterinärmedizinischen Universität Wien. Mitteilung der Österreichischen Gesellschaft für Tropenmedizin und Parasitologie, Vol. 5 (1983), 83-87.

PLUMB, D.C. (1999):

Veterinary Drug Handbook. S. 276-279, S. 680-683, S. 693-695. 3. Edition, Iowa State University Press, USA, S. 853 ff. ISBN: 978-0813823539.

PLUMB, D.C. (2002):

Veterinary Drug Handbook. S. 135. 4. Edition, Iowa State University Press, USA. ISBN: 978-0813824420.

PODBIELSKI, A. und LÜTTICKEN, R. (2001):

Die Familie der Streptococcaceae. S. 260-276. In KÖHLER, W., EGGERS, H.-J., FLEISCHER, B., MARRE, R., PFISTER, H. und PULVERER, G.: Medizinische Mikrobiologie. 8. Auflage, Urban & Fischer Verlag München-Jena. ISBN: 3-437-41640-5.

POHJOLA, S. (1984):

Survey of Cryptosporidiosis in Feces of Normal Healthy Dogs. Nordisk Veterinær Medicin., Vol. 36, (5-6), 189-90.

PRESCOTT, J.F., HANNA, B., REID-SMITH, R. und DROST, K. (2002):

Antimicrobial drug use and resistance in dogs. Canadian Veterinary Journal, Vol. 43, (2), 107-116.

PRIES, M. und KAYSER, T. (2005):

Nacherwärmungen bei Grassilagen vermeiden. Informationsdienst der Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen. URL:

<http://www.landwirtschaftskammer.de/landwirtschaft/tierproduktion/rinderhaltung/fuetterung/nacherwaermung-grassilage.htm>. Stand Oktober 2007.

QUINN, P.J., DONNELLY, W.J.C., CARTER, M.E., MARKEY, B.K.J., TORGERSON, P.R. und BREATHNACH, R.M.S. (1997):

Microbial and Parasitic Diseases of the Dog and Cat. W. B. Saunders Company Ltd, London, Philadelphia, Toronto, Sydney, Tokyo. ISBN: 978-0702019852.

RAHN, S. und WITTHINRICH, J. (2006):

Die „Fieberkurve“ kennen. Optimales Silagemanagement sichert Qualität. AGRAVIS aktuell, Ausgabe 02-2006, 16-17.

RAMIREZ, G., MARTINEZ, R., HERRADORA, M., CASTREJON, F. und GALVAN, E. (2005): Isolation of Salmonella spp. from liquid and solid excreta prior to following ensilage in ten swine farms located in central Mexico. Bioresource Technology, Vol. 96, (5), 587-595.

RIEDER, J. (1983):

Dauergrünland. BLV-Verlagsgesellschaft mbH, München. ISBN: 3-405-12737-8.

RKI (Robert-Koch-Institut) (1999):

Empfehlungen zur Prävention und Kontrolle von Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus*-Stämmen (MRSA) in Krankenhäusern und anderen medizinischen Einrichtungen. Mitteilung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention am Robert-Koch-Institut. Bundesgesundheitsblatt-Gesundheitsforschung-Gesundheitsschutz, Vol. 12, (42), 954-958, Springer-Verlag Heidelberg.

RKI (Robert-Koch-Institut) (2008):

Bundesweite Häufung von Erkrankungen durch S. Senftenberg. Epidemiologisches Bulletin des Robert-Koch-Instituts, (26), 207-209.

RKI (Robert-Koch-Institut) (2012):

Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2011.

Robert-Koch-Institut, Berlin 2012.

ROBBIN, I. (1982):

Hunde. Was-ist-was-Reihe, Band 11, Tessloff-Verlag, Hamburg. ISBN: 9783788602512.

ROBERTSON, L.J., CAMPELL, A.T. und SMITH, H.V. (1992):

Survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts under various environmental pressures.

Applied and Environmental Microbiology, Vol. 58, (11), 3494-500.

ROLINSON, G.N. und STEVENS, S. (1961):

Microbiological studies on a new broad-spectrum penicillin, "Penbritin". British Medical Journal, Vol. 2, (5246), 191-196.

ROLINSON, G.N. und GEDDES, A.M. (2007):

The 50th anniversary of the discovery of 6-aminopenicillanic acid (6-APA). International Journal of Antimicrobial Agents, Vol. 29, (1), 3-8.

ROLLE, M. und MAYR, A. (2002):

Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. 7., völlig neu bearbeitete Auflage, Enke Verlag Stuttgart. ISBN: 978-3432846866.

SAHL, H.-G. (2001):

Aufbau und Morphologie der Bakterienzelle. S.156-171. In KÖHLER, W., EGGERS, H.-J., FLEISCHER, B., MARRE, R., PFISTER, H. und PULVERER, G.: Medizinische Mikrobiologie. 8. Auflage, Urban & Fischer Verlag München-Jena. ISBN: 3-437-41640-5.

SANCHEZ, S., McCRACKIN STEVENSON, M.A., HUDSON, C.R., MAIER, M., BUFFINGTON, T., DAM, Q. und MAURER, J.J. (2002):

Characterization of multidrug-resistant *Escherichia coli* isolates associated with nosocomial infections in dogs. Journal of Clinical Microbiology, Vol. 40, (10), 3586-95.

SANNES, M.R., KUSKOWSKI, M.A. und JOHNSON, J.R. (2004):

Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* strains isolated from urine of women with cystitis or pyelonephritis and feces of dogs and healthy humans. Journal of the American Veterinary Medical Association, Vol. 225, (3), 368-373.

SCHAFFERT, R. (1978):

Die umwelthygienische Bedeutung des Hundekots im Lebensraum einer Großstadt. Agrarwissenschaftliche Dissertation, Fachgebiet Tierhygiene der Universität Hohenheim.

SCHÄFER, S. und MESSIKA, B. (2005):

B.A.R.F. Artgerechte Rohernährung für Hunde. Ein praktischer Ratgeber. Kynos-Verlag Nerdlen/Daun. ISBN: 3938071117.

SCHARES, G. und CONRATHS, F.J. (2004):

Detection of *Neospora caninum* oocysts at naturally infected dogs. International Journal for Parasitology, Vol. 35, (14), 1525-1537.

SCHARES, G., TACKMANN, K., ZILLER, M. und CONRATHS, F.J. (2006):

Rinderaborte durch *Neospora caninum* - Welche Gefahren gehen von Hundekot auf Weiden aus? Risikobewertung des Friedrich-Loeffler-Instituts, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit, Institut für Epidemiologie, Seestrasse 55, 16868 Wusterhausen, Wusterhausen.

SCHLÄGEL, E. (2007):

Hygienische Beschaffenheit von Kauspielzeug. Beitrag des Niedersächsischen Landesamtes für Lebensmittelsicherheit und Verbraucherschutz (LAVES) auf der 1. Jahrestagung der Institute des LAVES vom 08.05. bis 09.05.2007 in Braunschweig. Download auf URL: http://www.laves.niedersachsen.de/portal/live.php?navigation_id=20076&article_id=73408&psmand=23. Stand November 2008.

SCHMIDTKE, H.-O. (2006):

Darmerkrankungen. S. 705-749. In: SUTER, P.F. und KOHN, B. (Hrsg.), begründet von NIEMAND, H.G.: Praktikum der Hundeklinik. 10., komplett überarbeitete und erweiterte Auflage, Parey-Verlag bei Medizinverlage Stuttgart (MVS). ISBN: 978-3830441410.

SCHÖNING, B. (2008):

Hundeverhalten. Franckh-Kosmos Verlag, Stuttgart. ISBN: 3440111814.

SCHREFF, A.M. (2008):

cMRSA bei Bewohnern und Personal von Altenpflegeheimen. Artikel auf der Internetseite des Bayrischen Landesamtes für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit.

http://www.lgl.bayern.de/gesundheit/hygiene/gemeinschaftseinrichtungen/cmrsa_altenpflegeheime.htm. Stand September 2009.

SCHRÖDER, H. (2010):

Reserveantibiotika nur im Ausnahmefall verschreiben. Pressemitteilung des wissenschaftlichen Instituts der AOK vom 15.09.2010.

URL: http://www.wido.de/uploads/media/PM_antibiotika_20100915_WIdO.pdf

Stand Dezember 2010.

SCHWARTZ, A. (1990):

Bakteriologische Untersuchungen zur Überprüfung der Düngerpackung gemäß Anlage A-BAVG auf ihre seuchenhygienische Wirksamkeit unter heutigen Haltungs- und Fütterungsbedingungen. Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades beim Fachgebiet Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen.

SCHWARZ, S., ALESIK, E., GROBBEL, M., LÜBKE-BECKER, A., WALLMANN, J., WERCKENTHIEN, C. und WIELER, L.H. (2007):

Das BfT-GermVet Monitoringprogramm - Ziele und Grundlagen. Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift, (120), 9-10 und 357-362.

SCOTT, C.A., SMITH, H.V. und GIBBS, H.A. (1994):

Excretion of *Cryptosporidium parvum* oocysts by a herd of beef suckler cows. Veterinary Record, Vol. 134, (7), 172-172.

SELBITZ, H.-J. (2002):

Bakterielle Krankheiten der Tiere. In ROLLE, M. und MAYR, A.: Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. 7., völlig neu bearbeitete Auflage, Enke Verlag Stuttgart. ISBN: 978-3432846866.

SHEEHAN, J.C. (1967):

The chemistry of synthetic and semisynthetic penicillins. Annals of the New York Academy of Sciences, Vol. 145, (2), 216-223.

SIMON, A. (1999):

Vancomycin- resistente Enterokokken (VRE). Zentrum für Kinderheilkunde der Universität Bonn, Hygienerundbrief No. 1/1999.

SINELL, H.-J. (2004):

Einführung in die Lebensmittelhygiene. 4., neu bearbeitete Auflage, Parey-Verlag Stuttgart. ISBN: 3830440952.

SING, A. (2008):

Methillicin-resistent *Staphylococcus aureus* in a family and its pet cat. New England Journal of Medicine, Vol. 358, (11), 1200-1201.

SOLOMON, E.B., SIMA, Y. und MATTHEWS, K.R. (2002):

Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 from contaminated Manure and Irrigation Water to Lettuce Plant Tissue and its Subsequent Internalization. Applied and Environmental Microbiology. Vol. 68, (1), 397-400.

SOMMER, H., GREUEL, E. und MÜLLER, W. (1991):

Hygiene der Rinder- und Schweineproduktion. 2., neu bearbeitete Auflage, Ulmer Verlag Stuttgart. ISBN: 3825205142.

SPOO, J.W. und RIVIERE, J.E. (2001):

Sulfonamides. Veterinary Pharmacology and Therapeutics. Iowa State University Press, Ames (USA), (8), 796-817.

STALA-BW (2011):

Statistisches Landesamt Baden-Württemberg, URL: <http://www.statistik-bw.de>. Stand 2011.

STAUB, M. (2004):

Untersuchungen zur Prävalenz und Epidemiologie von *Neospora*- Infektionen bei Hunden in Rheinland-Pfalz (Kreis Mayen - Koblenz). Inaugural- Dissertation am Institut für Parasitologie und am Institut für Biometrie, Epidemiologie und Informationsverarbeitung der Tierärztlichen Hochschule Hannover und am Institut für Medizinische Parasitologie der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn.

STEFFEN, S. (2010):

Japanische Hunde stehen auf Klassik. Tageszeitung „Gäubote“ vom 03.07.2010, Theodor Körner KG Druckerei und Verlag, Horber Str. 42, 71083 Herrenberg.

STEINACKER, U. (2008):

Antibiotikaresistenz in der Veterinärmedizin - Lebensmittel liefernde Tiere. 5.1 Rind (Kalb/Jungrind/Milchrind) und 5.2 Schwein (Ferkel / Laufer / Mastschwein / Zuchtschwein), 5.1.3 und 5.2.2 Enteritis, *Salmonella enterica* subspezies *enterica* und *Escherichia coli*. In GERMAP (2008): GERMAP 2008 Antibiotika-Resistenz und -Verbrauch. Bericht über den Antibiotikaverbrauch und die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen in der Human- und Veterinärmedizin in Deutschland. 1. Auflage, herausgegeben vom Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, Berlin, der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V., Rheinbach und der Infektiologie Freiburg der Medizinischen Universitätsklinik Freiburg, Verlag Antiinfectives Intelligenc Gesellschaft für klinisch-mikrobiologische Forschung und Kommunikation mbH, Rheinbach.

ISBN 978-3-00-025097-2.

STENSKE, K., BEMIS, D., GILLESPIE, B. D'SOUZA, D., OLIVER, S., DRAUGHON, F, MATTESON, F. und BARTGES, J. (2009):

Comparison of clonal relatedness and antimicrobial susceptibility of fecal *Escherichia coli* from healthy dogs and their owners. Journal of the American Veterinary Medical Association, Vol. 235, (6), 754-754.

STROH, K. (2002):

Antibiotika und Antibiotika-Resistenzen in Lebensmitteln und Umwelt. Veröffentlichung des Bayrischen Landesamtes für Umwelt, Referat 12 - Infozentrum UmweltWissen. Stand Juli 2002. URL: http://www.lfu.bayern.de/umweltwissen/doc/uw_7_antibiotika.pdf.

SUTER, P.F. und KOHN, B. (2006):

Praktikum der Hundeklinik. Begründet von NIEMAND, H.G.: 10., komplett überarbeitete und erweiterte Auflage, Parey-Verlag bei Medizinverlage Stuttgart (MVS).

ISBN: 978-3830441410.

HARTMANN, K. (2006):

Salmonellose. S. 204-205. In: SUTER, P.F. und KOHN, B. (Hrsg.), begründet von NIEMAND, H.G.: Praktikum der Hundeklinik. 10., komplett überarbeitete und erweiterte Auflage, Parey-Verlag bei Medizinverlage Stuttgart (MVS). ISBN: 978-3830441410.

SUTTROP, N., MIELKE, M., KIEHL, W. und STÜCK, B. (2004):

Infektionskrankheiten verstehen, erkennen, behandeln. 1. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart. ISBN: 3131316918.

TCV (TheConsumerView) (2009):

Umfrage belegt: Lebenspartner gibt es nur im Doppelpack mit ihrem Vierbeiner.

Studie des Marktforschungsinstituts TheConsumerView, Bremen.

URL: <http://www.presseportal.de/meldung/1106562>. Stand: Februar 2010.

TENTER, A. und DEPLAZES, P. (2006):

Protozoeninfektionen von Hund und Katze. S. 409-443. In BOCH, J., SUPPERER, R. und SCHNIEDER, T. (Hrsg.): Veterinärmedizinische Parasitologie. 6., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage, Parey-Verlag Stuttgart. ISBN: 3830441355.

TENTER, A. (2006):

Protozoeninfektionen der Wiederkäuer. S. 119-165. In BOCH, J., SUPPERER, R. und SCHNIEDER, T. (Hrsg.): Veterinärmedizinische Parasitologie. 6., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage, Parey-Verlag Stuttgart. ISBN: 3830441355.

TEPLITSKI, M. (2006):

E. coli and Salmonella on animal farms: sources, survival and management. Fact sheet SL-239 Soil and Water Science Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.

URL: <http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/SS/SS45800.pdf>.

TierSG (Tierseuchengesetz) (2004):

Tierseuchengesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 22. Juni 2004 (Bundesgesetzblatt Teil I, S. 1260; 3588), zuletzt geändert durch Artikel 3 des Gesetzes vom 21. Dezember 2006 (Bundesgesetzblatt Teil I, S. 3294).

TIETZE, E. (2008):

Antibiotikaresistenz in der Humanmedizin. 4.2 Gastrointestinale Infektionen, 4.2.3 und 4.2.6 *Salmonella enterica* subspezies *enterica* und *Escherichia coli*. In GERMAP (2008): GERMAP 2008 Antibiotika-Resistenz und -Verbrauch. Bericht über den Antibiotikaverbrauch und die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen in der Human- und Veterinärmedizin in Deutschland. 1. Auflage, herausgegeben vom Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, Berlin, der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V., Rheinbach und der Infektiologie Freiburg der Medizinischen Universitätsklinik Freiburg, Verlag Antiinfectives Intelligenc Gesellschaft für klinisch-mikrobiologische Forschung und Kommunikation mbH, Rheinbach. ISBN 978-3-00-025097-2.

TITZE, A. und JAKOBS, M. (2004):

Silagequalität in ökologisch wirtschaftenden Futterbaubetrieben Mecklenburg-Vorpommerns. Mitteilungen der Landesforschungsanstalt für Landwirtschaft und Fischerei Mecklenburg-Vorpommern, Beiträge zum ökologischen Landbau in Mecklenburg- Vorpommern Pflanzenbau, Tierhaltung, Betriebswirtschaft. Heft 33, 32-36, ISSN 1618-7938.

TOBI, D. und BÖHM, R. (2009):

Uptake of *Salmonella enterica* in Monocotyledonous and Dictyledonous model plants. Proceedings of the 14th International Congress of the International Society for Animal Hygiene (ISAH), Vechta, Germany, 19th to 23rd July 2009. Conference paper: Sustainable animal husbandry: prevention is better than cure, Vol. 2, 679-681, ISBN 978-80-7399-801-1.

TÖPPER, A. (2006):

Futtermittelgetreide und mikrobiologische Einschätzung. Merkblatt des Ministeriums für ländlichen Raum Baden-Württemberg, aus dem Referat 3.2 Futtermitteluntersuchung und -bewertung des Landwirtschaftlichen Technologiezentrums (LTZ)(früher Staatliche Landwirtschaftliche Untersuchungs- und Forschungsanstalt (LUFÄ)) Augustenberg. URL: https://www.landwirtschaft-bw.info/servlet/PB/show/1197302/ltz_Futtermittelgetreide%20und%20mikrobiologische%20Einsch%C3%A4tzung.pdf. Stand: 2006.

UKT (Universitätsklinikum Tübingen) (2004):

Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE). Newsletter des Instituts für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene am Universitätsklinikums der Eberhard-Karls-Universität Tübingen, Ausgabe 4/2004.

URL:https://www.medizin.uni-tuebingen.de/uktmedia/EINRICHTUNGEN/Institute/Institut+fuer+Medizinische+Mikrobiologie+und+Hygiene/PDF_Archiv/Newsletter/newsletter0404.pdf.

ULBRICH, M., HOFFMANN, M. und DROCHNER, W. (2004):

Fütterung und Tiergesundheit. UTB Verlag, Stuttgart. ISBN: 3825282848.

VETTER, H. und STEFFENS, G. (1986):

Wirtschaftseigene Düngung. Umweltschonend – Bodenpflegend – Wirtschaftlich. DLG-Verlags GmbH Frankfurt a.M.. ISBN: 3769004043.

VOIGTLÄNDER, G. und JACOB, H. (1987):

Grünlandwirtschaft und Futterbau. Ulmer Verlag, Stuttgart. ISBN: 3800130718.

WAGNER-WIENING, C. (1998):

Epidemiologische und methodische Untersuchungen zu Kryptosporidien und Giardien. Dissertation aus dem Landesgesundheitsamt Baden-Württemberg und dem Institut für Parasitologie der Universität Hohenheim.

WALDMANN, K.-H. und WENDT, M. (2001):

Lehrbuch der Schweinekrankheiten. Begründet von Hans Plonait und Klaus Bickhardt, 3. Auflage, Parey-Verlag, Stuttgart. ISBN: 978-3830440123.

WALTHER, B. (2007):

Molekulare Epidemiologie Methicillin-resistenter *S. aureus* (MRSA) in der Veterinärmedizin. Inaugural-Dissertation am Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen und der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere des Fachbereichs Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin.

WASIAK, K., BÖHM, R. und PHILIPP, W. (2004):

Untersuchungen praxisrelevanter thermischer Verfahren zur Bodendesinfektion am Beispiel ausgewählter Mikroorganismen. Abschlussbericht aus dem Institut für Umwelt- und Tierhygiene, Universität Hohenheim für die Geschäftsstelle Bundesprogramm Ökologischer Landbau in der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) (Hrsg.), Bonn, FKZ: 020E150. URL: <http://orgprints.org/14886/1/14886-02OE150-uni-hohenheim-boehm-2004-bodendesinfektion.pdf> oder <http://forschung.oekolandbau.de> mit der BL-Bericht-ID 14886. Stand Mai 2010.

WEESE, J. S. (2008):

Antimicrobial resistance in companion animals. *Animal Health Research Reviews*, Vol. 9, (2), 169-176.

WEIGEL, T. (1995):

Untersuchungen des Infiltrationsverhaltens von Mikroorganismen in Böden mittels Gruben- und Laborversuchen sowie eines selbst entwickelten Prototyps zur Probenahme ohne Sekundärkontamination. Agrarwissenschaftliche Dissertation, Institut für Umwelt- und Tierhygiene der Universität Hohenheim.

WELLS, C. L., SUGIYAMA, H. und BLAND, S. E. (1982):

Resistance of Mice with Limited Intestinal Flora to Enteric Colonization by *Clostridium botulinum*. *Journal of Infectious Diseases*, Vol. 146, (6), 791-796.

WERNER, H., FIRSCHING, R. und KRASEMANN, C. (1977):

In-vitro-Empfindlichkeit von Bacteroidaceae gegen Cefoxitin und Cephalothin. *Infections*, Vol. 5, (1), 13-16.

WIELER, L. H. (2008):

Antibiotikaresistenz in der Veterinärmedizin - nicht Lebensmittel liefernde Tiere. 6.1 Hund/Katze, 6.1.3 Enteritis, Escherichia coli. In GERMAP (2008): GERMAP 2008 Antibiotika-Resistenz und -Verbrauch. Bericht über den Antibiotikaverbrauch und die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen in der Human- und Veterinärmedizin in Deutschland. 1. Auflage, herausgegeben vom Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, Berlin, der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V., Rheinbach und der Infektiologie Freiburg der Medizinischen Universitätsklinik Freiburg, Verlag Antiinfectives Intelligenc Gesellschaft für klinisch-mikrobiologische Forschung und Kommunikation mbH, Rheinbach. ISBN 978-3-00-025097-2.

WITTE, W. (2005):

cMRSA: Heteroresistenzphänotyp erfordert besondere diagnostische Aufmerksamkeit. Epidemiologisches Bulletin des Robert-Koch-Instituts, (50), 466-467.

WÜLLNER, C. und KROCKAUER, M. (2009):

Homepage des Projektbüros stadt&hund GmbH, Berlin. www.stadtundhund.de, Stand: 2009.

ZAHLER-RINDER, M. (2006):

Protozoeninfektionen der Einhufer. S. 293-302. In: In BOCH, J., SUPPERER, R. und SCHNIEDER, T. (Hrsg.): Veterinärmedizinische Parasitologie. 6., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage, Parey-Verlag Stuttgart. ISBN: 3830441355.

ZIMEN, E. (1992):

Der Hund: Abstammung - Verhalten - Mensch und Hund. Goldmann-Verlag, München. ISBN: 3442123976.

ZIMMER, E. (1987):

Futterwerbung und Futterkonservierung. S. 387-430. In VOIGTLÄNDER, G. und JACOB, H. (1987): Grünlandwirtschaft und Futterbau. Ulmer Verlag, Stuttgart. ISBN: 3800130718.

ZORN, N. und STEELE, D. (2008):

Barfen: Spleen oder ernsthafte alternative Fütterungsform? VETimpulse, 17. Jg., (12), 2-3.

9 ANHANG

INHALTSVERZEICHNIS

1	FRAGEBOGEN.....	A 3
2	DEFINITION DER STANDORTE DER UNTERSUCHTEN GRÜNFLÄCHEN....	A 4
3	BEISPIEL FÜR AUSGEFÜLLTEN WIESENABLAUFPLAN	A 5
4	SCHAUBILDER SAS	A 6
5	ERGEBNISTABELLEN.....	A 8
5.1	Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen	A 8
5.2	Ergebnisse der Untersuchungen zum Resistenzverhalten von <i>E. coli</i> und Salmonellen.....	A 10
6	WIEGEPROTOKOLLE.....	A 21
7	GÄRSÄUREANALYSEN	A 25
8	HERSTELLERNACHWEIS	A 26

Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

- Tab. A1: Bezeichnung, Lage und Länge der untersuchten Grünflächen (S. A4)
- Tab. A2: Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen des stichprobenartig gesammelten Hundekots (S. A8/A9)
- Tab. A3: Konzentrationen bzw. Vorhandensein von *E. coli* und *Salmonella* nach quantitativer bzw. qualitativer Bestimmung (S. A10)
- Tab. A4: Auswertung der Agar-Diffusionstests der *E. coli*-Isolate (S. A11-A14)
- Tab. A5: Auswertung der Agar-Diffusionstests der *Salmonella*-Isolate (S. A15)
- Tab. A6: Untersuchung der *E. coli*-Isolate mittels Mikrodilutionsverfahren (S. A16/A17)
- Tab. A7: Untersuchung der *Salmonella*-Isolate mittels Mikrodilutionsverfahren (S. A18)
- Tab. A8: Vergleich der Ergebnisse von Agar-Diffusionstest und Mikrodilution (S. A19/A20)
- Tab. A9-1 bis A9-3: Wiegeprotokoll Silageversuch 1, Teil 1-3 (S. A21-A23)
- Tab. A10-1 und A10-2: Wiegeprotokoll Silageversuch 2, (*Cryptosporidium parvum*) Teil 1 und 2 (S. A24)
- Tab. A11: Ergebnisse der vom LAZBW Aulendorf durchgeführten Gärsäureanalyse der Grassilage 1 (S. A25)
- Tab. A12: Ergebnisse der vom LAZBW Aulendorf durchgeführten Gärsäureanalyse der Grassilage 2 (*C. parvum*) (S. A25)
- Abb. A1: Darstellung der Varianz der Standorte 1 bis 12 im Sommer (S. A6)
- Abb. A2: Darstellung der Varianz der Standorte 1 bis 12 im Herbst (S. A6)
- Abb. A3: Darstellung der Varianz der Standorte 1 bis 12 im Winter (S. A7)

1 FRAGEBOGEN



Fragebogen

Liebe Hundehalter,
zur Bearbeitung meiner Doktorarbeit an der Universität Hohenheim, in der es um das Überlebensverhalten verschiedener im Hundekot vorkommender Bakterien in der Umwelt geht, bitte ich Sie um die Beantwortung der nachfolgenden Fragen. Ihre Antworten werden selbstverständlich anonym verwertet.

- 1.) Wie alt ist ihr Hund (Jahre)?
- 2.) Welcher Rasse gehört Ihr Hund an?
Klein ☐ Mittelgroß ☐ Groß ☐
- 3.) Welches Geschlecht hat Ihr Hund?
Männlich ☐ Weiblich ☐
- 4.) Welcher Altersgruppe gehören Sie an?
Unter 25 ☐ 25-40 ☐ 41-60 ☐ älter als 60 ☐
- 5.) Lassen Sie ihren Hund beim „Gassi gehen“ in der Regel frei laufen?
Ja ☐ Nein ☐
- 6.) Läuft Ihr Hund dabei weiter als 2 Meter in Wiesen, Äcker oder Streuobstwiesen hinein?
Nein ☐ bis 5 Meter ☐ 5 bis 10 Meter ☐ weiter als 10 Meter ☐
- 7.) Wo kotet ihr Hund bevorzugt ab?
☐ am Randstreifen einer Wiese/ eines Ackers
☐ auf Wiesen mit kurzem Gras
☐ im hohen Gras
☐ an Sträuchern/Hecken
☐ auf befestigten Wegen
☐ Sonstiges
- 8.) Entfernen sie den Kot ihres Hundes?
Ja, regelmäßig ☐ gelegentlich ☐ nie ☐
- 9.) Was bekommt ihr Hund wie oft zu fressen? (Mehrfachnennungen möglich)

☐ Dosenfutter	täglich ☐	1x pro Woche ☐	1-2 x im Monat ☐	seltener ☐
☐ Trockenfutter	täglich ☐	1x pro Woche ☐	1-2 x im Monat ☐	seltener ☐
☐ Knochen	täglich ☐	1x pro Woche ☐	1-2 x im Monat ☐	seltener ☐
☐ rohes Frischfleisch/Hackfleisch	täglich ☐	1x pro Woche ☐	1-2 x im Monat ☐	seltener ☐
☐ Sonstiges	täglich ☐	1x pro Woche ☐	1-2 x im Monat ☐	seltener ☐
- 10.) Von welchen Tieren stammt dieses Fleisch/ die Knochen?
Rind ☐ Schwein ☐ Geflügel ☐ Wild ☐ Sonstiges ☐

Herzlichen Dank für Ihre wertvolle Unterstützung!!!

Für eventuelle Rückfragen stehe ich Ihnen gerne zur Verfügung.
steffi.eqeler@freenet.de

2 DEFINITION DER STANDORTE DER UNTERSUCHTEN GRÜNFLÄCHEN

Tab. A1: Bezeichnung, Lage und Länge der untersuchten Grünflächen

Standort	Lage im Landkreis Böblingen	Länge (m)
1	Bondorf: Nähe Jugendhaus	180
2	Rutesheim: Nähe Schulzentrum	100
3	Dagersheim: Nähe Autobahnzubringer	130
4	Hildrizhausen, Rtg Autobahn/Ehnigen	120
5	Gäufelden- Öschelbronn: Obstanlage Richtung Bondorf	200
6	Weil der Stadt: Ortsausgang Richtung Schafhausen	120
7	Renningen: Nähe Industriegebiet	80
8	Deckenpfronn Schafweg	160
9	Bondorf: Jettinger Weg	90
10	Gäufelden-Nebbringen: zwischen Sportanlage und Grillhütte	110
11	Bondorf: Waldrand Richtung Öschelbronn	130
12	Schönaich West	100

3 BEISPIEL FÜR AUSGEFÜLLTEN WIESENABLAUFPLAN

Wiesentyp:	Ortsnah an typischer Hundeausführstrecke			
Standort:	Bondorf, Jugendhaus			
Meter	0,0-0,5 m vom Wegrand	0,51-2,0 m vom Wegrand	2,01-5,0 m vom Wegrand	5,01-10,0 m vom Wegrand
200				
195				
190	*m	*g		
185				
180	*k		*k	
175	*m		*g	
170				
165				
160		*g		
155		*m		
150			*k	*m
145	*k			
140	*k	*m		
135				

k: Klein (Gewichtsklasse bis 130 g)

m: Mittel (Gewichtsklasse 131-200 g)

g: Groß (Gewichtsklasse 201 g und mehr)

4 SCHAUBILDER SAS

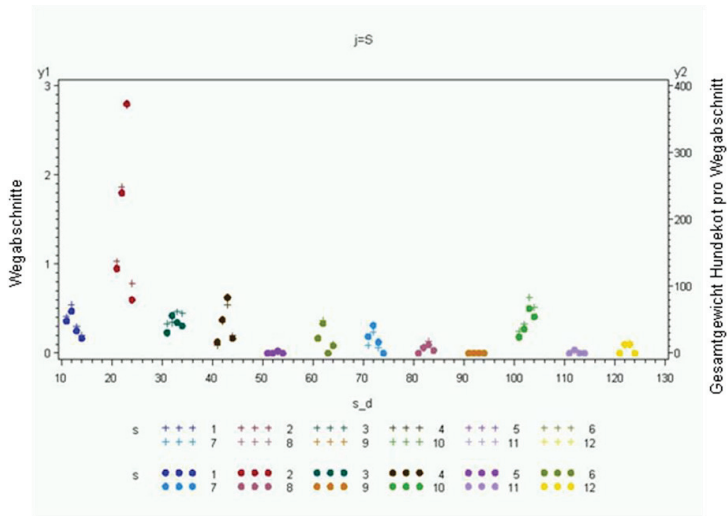


Abb. A1: Darstellung der Varianz der Standorte 1 bis 12 im Sommer

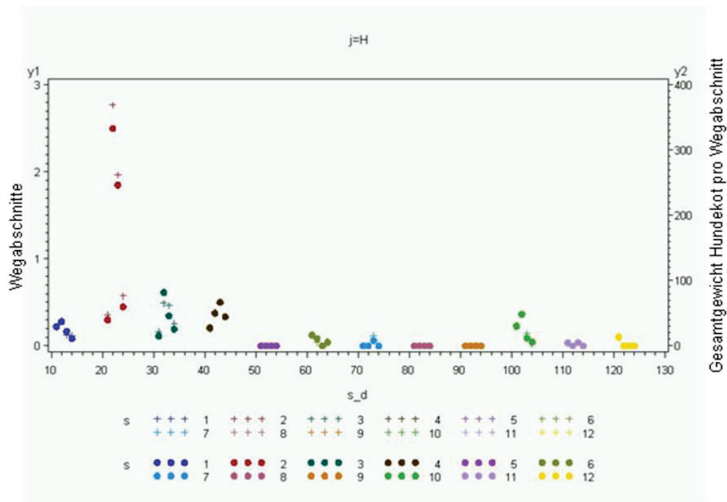
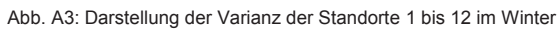


Abb. A2: Darstellung der Varianz der Standorte 1 bis 12 im Herbst



5 ERGEBNISTABELLEN

5.1 Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen

Tab. A2: Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen des stichprobenartig gesammelten Hundekots

	<i>Clostridium perfringens</i> (MPN) (KBE/g)	<i>Enterococcus faecalis</i> (MPN) (KBE/g)	<i>Escherichia coli</i> (MPN) (KBE/g)	<i>Salmonella</i> (qualitativ)	Gesamt- bakterienzahl (KBE/g)
1. Probe- nahme (Winter)	1. $2,3 \times 10^5$	1. 46×10^7	1. 46×10^6	1. negativ	1. $1,53 \times 10^9$
	2. $0,92 \times 10^5$	2. $4,3 \times 10^6$	2. 46×10^7	2. negativ	2. $1,2 \times 10^9$
	3. 24×10^7	3. $2,3 \times 10^5$	3. 15×10^2	3. negativ	3. $3,3 \times 10^7$
	4. 24×10^2	4. $2,3 \times 10^7$	4. $4,3 \times 10^2$	4. negativ	4. $1,1 \times 10^8$
	5. 15×10^6	5. 24×10^5	5. $4,3 \times 10^2$	5. negativ	5. $9,8 \times 10^8$
	6. 15×10^2	6. 46×10^7	6. 24×10^5	6. negativ	6. $7,7 \times 10^8$
	7. $0,92 \times 10^5$	7. 24×10^6	7. $9,3 \times 10^5$	7. negativ	7. $3,9 \times 10^8$
	8. 24×10^3	8. $9,3 \times 10^5$	8. 46×10^2	8. negativ	8. $2,2 \times 10^9$
	9. $9,3 \times 10^5$	9. $4,3 \times 10^7$	9. 46×10^6	9. negativ	9. $1,5 \times 10^9$
	10. $4,3 \times 10^6$	10. $4,3 \times 10^7$	10. 46×10^3	10. negativ	10. $1,6 \times 10^9$
Ø	$2,6 \times 10^7$	$1,1 \times 10^8$	$5,5 \times 10^7$	/	$9,1 \times 10^8$
2. Probe- nahme (Frühjahr)	1. $2,3 \times 10^4$	1. $4,3 \times 10^4$	1. 24×10^5	1. negativ	1. $1,5 \times 10^6$
	2. 46×10^6	2. 21×10^5	2. 24×10^5	2. negativ	2. $4,4 \times 10^9$
	3. 24×10^5	3. 110×10^6	3. 110×10^6	3. negativ	3. $9,0 \times 10^8$
	4. $9,3 \times 10^6$	4. 24×10^6	4. 24×10^7	4. negativ	4. $3,3 \times 10^9$
	5. $2,3 \times 10^4$	5. $0,74 \times 10^4$	5. 46×10^1	5. negativ	5. $3,8 \times 10^5$
	6. $9,3 \times 10^2$	6. 24×10^5	6. $9,3 \times 10^2$	6. negativ	6. $4,0 \times 10^6$
	7. 46×10^7	7. $9,3 \times 10^5$	7. 24×10^2	7. negativ	7. $2,5 \times 10^5$
	8. $<0,30 \times 10^1$	8. 24×10^2	8. $0,62 \times 10^1$	8. negativ	8. $1,1 \times 10^5$
	9. 24×10^5	9. $2,0 \times 10^4$	9. 46×10^4	9. negativ	9. $4,7 \times 10^6$
	10. $2,3 \times 10^4$	10. $9,3 \times 10^1$	10. 46×10^6	10. negativ	10. $2,7 \times 10^7$
Ø	$5,2 \times 10^7$	$1,4 \times 10^7$	$4,0 \times 10^7$	/	$8,6 \times 10^8$

Fortsetzung von Tab. A2: Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen des
stichprobenartig gesammelten Hundekots

	<i>Clostridium perfringens</i> (MPN) (KBE/g)	<i>Enterococcus faecalis</i> (MPN) (KBE/g)	<i>Escherichia coli</i> (MPN) (KBE/g)	<i>Salmonella</i> (qualitativ)	Gesamt- bakterienzahl (KBE/g)
3. Probe- nahme (Sommer)	1. 24×10^3 2. 15×10^5 3. 110×10^5 4. $2,3 \times 10^1$ 5. 46×10^6 6. 46×10^3 7. $2,1 \times 10^3$ 8. 24×10^4 9. 24×10^1 10. 24×10^6	1. 24×10^4 2. 21×10^5 3. $9,3 \times 10^5$ 4. 24×10^6 5. 46×10^6 6. $9,3 \times 10^7$ 7. 24×10^3 8. 110×10^7 9. $3,8 \times 10^3$ 10. 24×10^4	1. 24×10^6 2. 110×10^7 3. $1,5 \times 10^4$ 4. 24×10^5 5. 24×10^8 6. $7,5 \times 10^7$ 7. 24×10^3 8. 110×10^7 9. 46×10^4 10. 24×10^4	1. negativ 2. negativ 3. negativ 4. negativ 5. negativ 6. negativ 7. negativ 8. negativ 9. negativ 10. negativ	1. $6,2 \times 10^7$ 2. $1,25 \times 10^9$ 3. $8,8 \times 10^6$ 4. $9,5 \times 10^8$ 5. $7,4 \times 10^8$ 6. $1,53 \times 10^8$ 7. $4,5 \times 10^4$ 8. $4,5 \times 10^9$ 9. $1,43 \times 10^6$ 10. $1,13 \times 10^7$
Ø	$8,3 \times 10^6$	$1,3 \times 10^8$	$4,7 \times 10^8$	/	$7,7 \times 10^8$
4. Probe- nahme (Herbst)	1. $0,36 \times 10^3$ 2. 24×10^6 3. 110×10^5 4. $9,3 \times 10^4$ 5. $9,3 \times 10^4$ 6. $0,92 \times 10^3$ 7. 24×10^1 8. 24×10^3 9. $2,3 \times 10^3$ 10. $2,3 \times 10^3$	1. $9,3 \times 10^2$ 2. $9,3 \times 10^5$ 3. 110×10^7 4. $9,3 \times 10^6$ 5. 24×10^5 6. 24×10^6 7. 15×10^7 8. 46×10^2 9. $9,3 \times 10^2$ 10. $0,36 \times 10^5$	1. $4,3 \times 10^2$ 2. 46×10^6 3. 110×10^6 4. 110×10^2 5. 46×10^5 6. 46×10^5 7. 46×10^3 8. $9,3 \times 10^2$ 9. 24×10^2 10. 46×10^1	1. negativ 2. negativ 3. negativ 4. negativ 5. negativ 6. negativ 7. negativ 8. negativ 9. negativ 10. negativ	1. $3,4 \times 10^5$ 2. $7,5 \times 10^7$ 3. $9,9 \times 10^8$ 4. $5,6 \times 10^6$ 5. $4,0 \times 10^8$ 6. $1,2 \times 10^7$ 7. $1,4 \times 10^8$ 8. $2,6 \times 10^6$ 9. $4,0 \times 10^7$ 10. $8,5 \times 10^8$
Ø	$3,5 \times 10^6$	$1,3 \times 10^8$	$1,7 \times 10^7$	/	$2,5 \times 10^8$

5.2 Ergebnisse der Untersuchungen zum Resistenzverhalten von *E. coli* und Salmonellen

Tab. A3: Konzentrationen bzw. Vorhandensein von *E. coli* und *Salmonella* nach quantitativer bzw. qualitativer Bestimmung

Probe	<i>E.coli</i> (KBE/g)	<i>Salmonella</i>	Probe	<i>E.coli</i> (KBE/g)	<i>Salmonella</i>
1	24×10^8	negativ	25	$4,3 \times 10^5$	negativ
2	46×10^4	negativ	26	$9,3 \times 10^7$	negativ
3	$9,3 \times 10^7$	negativ	27	15×10^6	negativ
4	$9,3 \times 10^8$	negativ	28	$9,3 \times 10^6$	negativ
5	24×10^7	negativ	29	$9,3 \times 10^7$	negativ
6	$4,3 \times 10^8$	negativ	30	$3,8 \times 10^7$	negativ
7	$4,3 \times 10^7$	negativ	31	$9,3 \times 10^5$	negativ
8	24×10^6	negativ	32	$9,3 \times 10^7$	negativ
9	$4,3 \times 10^6$	negativ	33	15×10^6	negativ
10	110×10^8	negativ	34	15×10^6	negativ
11	$2,3 \times 10^5$	negativ	35	$9,3 \times 10^7$	negativ
12	46×10^3	negativ	36	$9,3 \times 10^7$	negativ
13	$4,3 \times 10^5$	negativ	37	$4,3 \times 10^8$	negativ
14	$2,3 \times 10^5$	negativ	38	24×10^8	negativ
15	$4,3 \times 10^5$	negativ	39	$2,3 \times 10^7$	negativ
16	46×10^7	negativ	40	$4,3 \times 10^6$	negativ
17	$4,3 \times 10^5$	negativ	41	$4,3 \times 10^6$	negativ
18	$4,3 \times 10^7$	negativ	42	24×10^6	negativ
19	$4,3 \times 10^5$	negativ	43	24×10^2	negativ
20	$2,3 \times 10^5$	negativ	44	$4,3 \times 10^3$	negativ
21	$9,3 \times 10^5$	<i>S. Mbandaka</i>	45	$2,3 \times 10^7$	negativ
22	24×10^5	negativ	46	$9,3 \times 10^5$	negativ
23	$9,3 \times 10^6$	negativ	47	15×10^7	negativ
24	$2,3 \times 10^5$	negativ	48	$2,3 \times 10^7$	negativ

Tab. A4: Auswertung der Agar-Diffusionstests der *E. coli*-Isolate

Probe	Hemmhofdurchmesser (mm)					Resistenzverhalten				
	AM-10	CF-30	ENR	SMX	TE-30	AM-10	CF-30	ENR	SMX	TE-30
1.1	10	12	34	9	25	-	-	+++	-	+++
1.2	7	18	30	10	25	-	+++	+++	-	+++
1.3	8	15	30	7	26	-	++	+++	-	+++
2.1	18	15	31	n.m.	21	++	++	+++	--	++
2.2	n.m.	n.m.	24	n.m.	23	--	--	+++	--	+++
3.1	19	17	32	9	23	++	++	+++	-	+++
3.2	18	19	30	n.m.	22	++	+++	+++	--	+++
4.1	19	16	31	n.m.	23	++	++	+++	--	+++
4.2	17	14	31	n.m.	23	++	-	+++	--	+++
5.1	17	14	32	n.m.	23	++	-	+++	--	+++
5.2	n.m.	16	30	n.m.	n.m.	--	++	+++	--	--
6.1	19	15	34	11	22	++	++	+++	++	+++
6.2	n.m.	12	30	n.m.	n.m.	--	-	+++	--	--
6.3	20	15	33	n.m.	24	++	++	+++	--	+++
7.1	19	12	32	n.m.	22	++	-	+++	--	+++
7.2	18	17	32	n.m.	22	++	++	+++	--	+++
7.3	18	17	32	n.m.	22	++	++	+++	--	+++
8.1	18	10	31	n.m.	24	++	-	+++	--	+++
8.2	18	14	32	n.m.	24	++	-	+++	--	+++
9.1	n.m.	19	32	10	11	--	+++	+++	-	-
9.2	n.m.	16	31	n.m.	9	--	++	+++	--	-
10.1	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	8	--	--	--	--	-
10.2	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	9	--	--	--	--	-
10.3	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	8	--	--	--	--	-
11.1	18	16	33	10	22	++	++	+++	-	+++

Probe	Hemmhofdurchmesser (mm)					Resistenzverhalten				
	AM-10	CF-30	ENR	SMX	TE-30	AM-10	CF-30	ENR	SMX	TE-30
11.2	20	18	31	13	26	++	+++	+++	++	+++
12.1	n.m.	n.m.	17	n.m.	27	--	--	-	--	+++
12.2	16	17	29	n.m.	24	++	++	+++	--	+++
13.1	10	16	31	9	10	-	++	+++	-	-
13.2	18	17	31	9	19	++	++	+++	-	++
14.1	20	16	12	n.m.	9	++	++	-	--	-
14.2	18	17	32	n.m.	20	++	++	+++	--	++
15.1	18	16	31	n.m.	26	++	++	+++	--	+++
15.2	21	17	34	n.m.	24	++	++	+++	--	+++
16.1	19	16	10	n.m.	8	++	++	-	--	-
16.2	19	16	34	10	23	++	++	+++	-	+++
17.1	16	17	32	16	23	++	++	+++	+++	+++
17.2	16	17	32	16	23	++	++	+++	+++	+++
17.3	17	17	31	15	23	++	++	+++	++	+++
18.1	19	16	31	n.m.	25	++	++	+++	--	+++
18.2	17	16	30	n.m.	21	++	++	+++	--	++
18.3	n.m.	14	29	n.m.	9	--	-	+++	--	-
19.1	16	14	28	8	23	++	-	+++	-	+++
19.2	19	15	31	n.m.	25	++	++	+++	--	+++
19.3	19	16	32	n.m.	23	++	++	+++	--	+++
20.1	19	16	32	n.m.	20	++	++	+++	--	++
20.2	20	17	33	n.m.	24	++	++	+++	--	+++
21.1	18	16	31	n.m.	24	++	++	+++	--	+++
21.2	18	17	29	9	24	++	++	+++	-	+++
22.1	n.m.	16	32	n.m.	26	--	++	+++	--	+++
22.2	n.m.	16	32	n.m.	26	--	++	+++	--	+++
22.3	n.m.	16	34	n.m.	26	--	++	+++	--	+++
23.2	23	17	31	n.m.	22	++	++	+++	--	+++
24.1	29	15	32	n.m.	24	+++	++	+++	--	+++
24.2	17	14	32	n.m.	24	++	-	+++	--	+++

	Hemmhofdurchmesser (mm)					Resistenzverhalten				
Probe	AM-10	CF-30	ENR	SMX	TE-30	AM-10	CF-30	ENR	SMX	TE-30
25.1	23	20	33	n.m.	11	+++	+++	+++	--	-
25.2	19	16	35	n.m.	21	++	++	+++	--	++
26.1	n.m.	14	12	n.m.	n.m.	--	-	-	--	--
26.2	n.m.	14	12	n.m.	n.m.	--	-	-	--	--
27.1	18	17	36	n.m.	25	++	++	+++	--	+++
27.2	20	18	35	n.m.	25	++	+++	+++	--	+++
28.1	17	14	31	n.m.	24	++	-	+++	--	+++
28.2	22	22	30	n.m.	25	+++	+++	+++	--	+++
29.1	n.m.	16	30	n.m.	24	--	++	+++	--	+++
29.2	19	16	30	n.m.	23	++	++	+++	--	+++
30.1	17	16	30	n.m.	23	++	++	+++	--	+++
30.2	18	15	31	n.m.	22	++	++	+++	--	+++
31.1	19	15	31	n.m.	24	++	++	+++	--	+++
31.2	22	22	31	n.m.	24	+++	+++	+++	--	+++
32.1	n.m.	13	n.m.	n.m.	n.m.	--	-	--	--	--
32.2	19	17	24	n.m.	23	++	++	+++	--	+++
33.1	n.m.	13	n.m.	n.m.	n.m.	--	-	--	--	--
33.2	n.m.	13	n.m.	n.m.	n.m.	--	-	--	--	--
34.1	22	20	35	n.m.	27	+++	+++	+++	--	+++
34.2	21	16	34	n.m.	26	++	++	+++	--	+++
35.1	19	18	31	n.m.	25	++	+++	+++	--	+++
35.2	21	19	30	8	9	++	+++	+++	-	-
36.1	17	17	29	n.m.	22	++	++	+++	--	+++
36.2	18	18	31	8	24	++	+++	+++	-	+++
37.1	17	15	30	11	25	++	++	+++	++	+++
37.2	17	15	30	11	24	++	++	+++	++	+++
38.1	18	15	32	n.m.	24	++	++	+++	--	+++
38.2	19	16	34	n.m.	25	++	++	+++	--	+++
38.3	20	17	31	11	26	++	++	+++	++	+++

Probe	Hemmhofdurchmesser (mm)					Resistenzverhalten				
	AM-10	CF-30	Probe	AM-10	CF-30	Probe	AM-10	CF-30	Probe	AM-10
39.1	18	17	33	n.m.	27	++	++	+++	--	+++
39.2	18	16	31	n.m.	26	++	++	+++	--	+++
40.1	22	17	36	n.m.	27	+++	++	+++	--	+++
40.2	22	18	37	n.m.	30	+++	+++	+++	--	+++
41.1	22	19	34	n.m.	26	+++	+++	+++	--	+++
41.2	21	18	33	n.m.	27	++	+++	+++	--	+++
42.1	20	18	32	n.m.	29	++	+++	+++	--	+++
42.2	19	18	32	n.m.	25	++	+++	+++	--	+++
43.1	19	20	32	13	26	++	+++	+++	++	+++
44.1	19	19	32	n.m.	25	++	+++	+++	--	+++
45.1	18	18	33	n.m.	24	++	+++	+++	--	+++
45.2	18	18	35	n.m.	28	++	+++	+++	--	+++
46.2	n.m.	n.m.	25	n.m.	14	--	--	+++	--	-
47.1	10	n.m.	30	n.m.	27	-	--	+++	--	+++
47.2	n.m.	n.m.	30	n.m.	26	--	--	+++	--	+++
48.1	20	n.m.	33	n.m.	24	++	--	+++	--	+++
48.2	20	19	31	n.m.	27	++	+++	+++	--	+++

n.m.: es war kein Hemmhof um das Antibiotikatestplättchen herum messbar

+++ : Sensibel gegen das getestete Antibiotikum

++ : Intermediäre Empfindlichkeit gegen das getestete Antibiotikum

-/- : verminderte Empfindlichkeit bzw. Resistenz gegen das getestete Antibiotikum.

Bei „-“ war noch ein kleiner Hemmhof auszumessen.

Bei „-/-“ konnte kein Hemmhof um das Antibiotikatestplättchen festgestellt werden.

Tab. A5: Auswertung der Agar-Diffusionstests der *Salmonella*-Isolate

Probe	Hemmhofdurchmesser (mm)					Resistenzverhalten				
	AM-10	CF-30	ENR	SMX	TE-30	AM-10	CF-30	ENR	SMX	TE-30
SB 21	26	24	31	n.m.	23	+++	+++	+++	--	+++
SX 21	21	24	31	n.m.	23	++	+++	+++	--	+++

n.m.: es war kein Hemmhof um das Antibiotikatestplättchen herum messbar

+++ : Sensibel gegen das getestete Antibiotikum

++ : Intermediäre Empfindlichkeit gegen das getestete Antibiotikum

-/- : verminderte Empfindlichkeit bzw. Resistenz gegen das getestete Antibiotikum.

Bei „-“ war noch ein kleiner Hemmhof auszumessen.

Bei „-/-“ konnte kein Hemmhof um das Antibiotikatestplättchen festgestellt werden

Tab. A6: Untersuchung der *E. coli*-Isolate mittels Mikrodilutionsverfahren

Probe	MHK (µg/ml)					Resistenzverhalten				
	AM	CF	ENR	SMX	TE	AM	CF	ENR	SMX	TE
1	n.m.	n.m.	0,25	n.m.	2	-	-	++	-	++
2	n.m.	n.m.	0,25	n.m.	2	-	-	++	-	++
3	1	32	0,0625	n.m.	0,5	+++	-	+++	-	+++
4	2	16	0,03125	n.m.	0,5	+++	++	+++	-	+++
5	n.m.	n.m.	0,03125	n.m.	n.m.	-	-	+++	-	-
6	n.m.	n.m.	0,03125	n.m.	n.m.	-	-	+++	-	-
7	4	32	0,03125	n.m.	1	++	-	+++	-	+++
8	4	32	0,03125	n.m.	1	++	-	+++	-	+++
9	n.m.	n.m.	0,0625	n.m.	n.m.	-	-	+++	-	-
10	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	-	-	-	-	-
11	32	16	0,125	n.m.	4	-	++	++	-	++
12	n.m.	n.m.	8	n.m.	0,25	-	-	-	-	+++
13	n.m.	32	0,03125	n.m.	n.m.	-	-	+++	-	-
14	2	16	8	n.m.	n.m.	+++	++	-	-	-
15	8	n.m.	0,0625	n.m.	16	++	-	+++	-	-
16	2	16	8	n.m.	n.m.	+++	++	-	-	-
17	4	n.m.	0,03125	n.m.	2	++	-	+++	-	++
18	n.m.	n.m.	0,0625	n.m.	n.m.	-	-	+++	-	-
19	2	32	0,03125	n.m.	1	+++	-	+++	-	+++
20	4	16	0,03125	n.m.	1	++	++	+++	-	+++
21	8	8	0,03125	n.m.	1	++	+++	+++	-	+++
22	n.m.	n.m.	0,03125	n.m.	1	-	-	+++	-	+++
23	2	32	0,03125	n.m.	1	+++	-	+++	-	+++
24	n.m.	n.m.	0,03125	n.m.	1	-	-	+++	-	+++

Probe	MHK (µg/ml)					Resistenzverhalten				
	AM	CF	ENR	SMX	TE	AM	CF	ENR	SMX	TE
25	0,5	16	0,03125	n.m.	n.m.	+++	++	+++	-	-
26	n.m.	n.m.	8	n.m.	n.m.	-	-	-	-	-
27	2	32	0,03125	n.m.	2	+++	-	+++	-	++
28	2	n.m.	0,03125	n.m.	1	+++	-	+++	-	+++
29	2	32	0,03125	n.m.	1	+++	-	+++	-	+++
30	1	32	0,03125	n.m.	1	+++	-	+++	-	+++
31	1	32	0,125	n.m.	1	+++	-	++	-	+++
32	n.m.	n.m.	32	n.m.	n.m.	-	-	-	-	-
33	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	n.m.	-	-	-	-	-
34	1	4	0,03125	2	0,5	+++	+++	+++	+++	+++
35	1	32	0,03125	n.m.	1	+++	-	+++	-	+++
36	0,5	16	0,03125	n.m.	2	+++	++	+++	-	++
37	1	32	0,03125	n.m.	0,5	+++	-	+++	-	+++
38	2	32	0,03125	n.m.	1	+++	-	+++	-	+++
39	2	16	0,03125	n.m.	1	+++	++	+++	-	+++
40	2	16	0,03125	n.m.	0,5	+++	++	+++	-	+++
41	1	16	0,125	n.m.	1	+++	++	++	-	+++
42	1	8	0,03125	n.m.	0,25	+++	+++	+++	-	+++
43	1	16	0,0625	n.m.	1	+++	++	+++	-	+++
44	1	8	0,03125	n.m.	1	+++	+++	+++	-	+++
45	1	16	0,03125	n.m.	1	+++	++	+++	-	+++
46	n.m.	n.m.	0,25	n.m.	32	-	-	++	-	-
47	1	n.m.	0,03125	n.m.	0,5	+++	-	+++	-	+++
48	1	16	0,03125	n.m.	1	+++	++	+++	-	+++

n.m.: es war kein Hemmhof um das Antibiotikatesplättchen herum messbar

+++ : Sensibel gegen das getestete Antibiotikum

++ : Intermediäre Empfindlichkeit gegen das getestete Antibiotikum

- : verminderte Empfindlichkeit bzw. Resistenz gegen das getestete Antibiotikum.

Tab. A7: Untersuchung der *Salmonella*-Isolate mittels Mikrodilutionsverfahren

Probe	MHK ($\mu\text{g/ml}$)					Resistenzverhalten				
	AM-10	CF-30	ENR	SMX	TE-30	AM-10	CF-30	ENR	SMX	TE-30
SB 21	1	4	0,03125	n.m.	0,5	+++	++	+++	--	+++
SX 21	0,5	2	0,03125	n.m.	0,5	+++	+++	+++	--	+++

n.m.: es war kein Hemmhof um das Antibiotikatestplättchen herum messbar

+++ : Sensibel gegen das getestete Antibiotikum

++ : Intermediäre Empfindlichkeit gegen das getestete Antibiotikum

- : verminderte Empfindlichkeit bzw. Resistenz gegen das getestete Antibiotikum.

Tab. A8: Vergleich der Ergebnisse von Agar-Diffusionstest und Mikrodilution

Probe	Agar-Diffusionstest					Mikrodilution				
	AM-10	CF-30	ENR	SMX	TE-30	AM-10	CF-30	ENR	SMX	TE-30
1.1	-	-	+++	-	+++	-	-	++	-	++
2.2	--	--	+++	--	+++	-	-	++	-	++
3.2	++	+++	+++	--	+++	+++	-	+++	-	+++
4.2	++	-	+++	--	+++	+++	++	+++	-	+++
5.2	--	++	+++	--	--	-	-	+++	-	-
6.2	--	-	+++	--	--	-	-	+++	-	-
7.1	++	-	+++	--	+++	++	-	+++	-	+++
8.1	++	-	+++	--	+++	++	-	+++	-	+++
9.2	--	+++	+++	--	-	-	-	+++	-	-
10.1	--	--	--	--	-	-	-	-	-	-
11.1	++	++	+++	-	+++	-	++	++	-	++
12.1	--	--	-	--	+++	-	-	-	-	+++
13.1	-	++	+++	-	-	-	-	+++	-	-
14.2	++	++	+++	--	++	+++	++	-	-	-
15.1	++	++	+++	--	+++	++	-	+++	-	-
16.1	++	++	-	--	-	+++	++	-	-	-
17.2	++	++	+++	+++	+++	++	-	+++	-	++
18.3	--	-	+++	--	-	-	-	+++	-	-
19.1	++	-	+++	-	+++	+++	-	+++	-	+++
20.2	++	++	+++	--	+++	++	++	+++	-	+++
21.1	++	++	+++	--	+++	++	+++	+++	-	+++
22.1	--	++	+++	--	+++	-	-	+++	-	+++
23.2	++	++	+++	--	+++	+++	-	+++	-	+++
24.2	++	-	+++	--	+++	-	-	+++	-	+++
25.1	+++	+++	+++	--	-	+++	++	+++	-	-
26.1	--	-	-	--	--	-	-	-	-	-
27.1	++	++	+++	--	+++	+++	-	+++	-	++
28.1	++	-	+++	--	+++	+++	-	+++	-	+++
29.2	++	++	+++	--	+++	+++	-	+++	-	+++
30.1	++	++	+++	--	+++	+++	-	+++	-	+++
31.1	++	++	+++	--	+++	+++	-	++	-	+++

	Agar-Diffusionstest					Mikrodilution				
Probe	AM-10	CF-30	ENR	SMX	TE-30	AM-10	CF-30	ENR	SMX	TE-30
32.1	--	-	--	--	--	-	-	-	-	-
33.1	--	-	--	--	--	-	-	-	-	-
34.2	++	++	+++	--	+++	+++	+++	+++	+++	+++
35.1	++	+++	+++	--	+++	+++	-	+++	-	+++
36.1	++	++	+++	--	+++	+++	++	+++	-	++
37.1	++	++	+++	++	+++	+++	-	+++	-	+++
38.1	++	++	+++	--	+++	+++	-	+++	-	+++
39.1	++	++	+++	--	+++	+++	++	+++	-	+++
40.1	+++	++	+++	--	+++	+++	++	+++	-	+++
41.1	+++	+++	+++	--	+++	+++	++	++	-	+++
42.1	++	+++	+++	--	+++	+++	+++	+++	-	+++
43.1	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	-	+++
44.1	++	+++	+++	--	+++	+++	+++	+++	-	+++
45.1	++	+++	+++	--	+++	+++	++	+++	-	+++
46.2	--	--	+++	--	-	-	-	++	-	-
47.1	--	--	+++	--	+++	+++	-	+++	-	+++
48.1	++	--	+++	--	+++	+++	++	+++	-	+++
Salmonellenisolat										
SB 21	+++	+++	+++	--	+++	+++	++	+++	-	+++
SX 21	++	+++	+++	--	+++	+++	+++	+++	-	+++

+++ : Sensibel gegen das getestete Antibiotikum

++ : Intermediäre Empfindlichkeit gegen das getestete Antibiotikum

- : verminderte Empfindlichkeit bzw. Resistenz gegen das getestete Antibiotikum.

6 WIEGEPROTOKOLLE

Tab. A9-1: Wiegeprotokoll Silageversuch 1, Teil 1

Glas/Datum	TARA	Do 26.06.2008	Fr 27.06.2008	Mo 30.06.2008	Di 01.07.2008	Mi 02.07.2008	Do 03.07.2008
1.1	843,23	1438,37	1435,85	1433,64	1433,44	1433,08	1432,60
1.2	811,43	1402,16	1400,08	1398,01	1397,79	1397,53	1397,14
1.3	690,13	1283,77	1282,72	1280,83	1280,58	1280,34	1280,20
K 1.1	823,92	1371,00	1370,22	1366,56	1366,13	1365,34	1365,36
K 1.2	817,54	1364,06	1363,05	1358,97	1358,21	1357,04	1356,76
K 1.3	810,67	1359,77	1359,20	1356,28	1355,85	1355,10	1355,12
2.1	739,87	1336,38	1334,16	1331,98	1331,77	1331,53	1331,25
2.2	733,15	1338,88	1336,59	1334,30	1334,08	133,86	1333,65
2.3	868,72	1478,42	1476,08	1474,00	1473,83	1473,54	1473,20
K 2.1	741,94	1290,98	1290,32	1287,16	1286,77	1286,04	1286,07
K 2.2	775,23	1325,46	1324,58	1320,89	1320,34	1319,80	1319,33
K 2.3	776,11	1326,40	1325,58	1322,44	1321,98	1321,52	1321,21
3.1	743,89	1337,06	1335,91	1334,12	1333,89	1333,66	1333,37
3.2	928,98	1503,96	1502,00	1499,75	1499,57	1499,38	1499,14
3.3	687,07	1312,21	1310,82	1308,66	1308,43	1308,22	1307,95
K 3.1	739,16	1287,78	1287,32	1283,87	1283,42	1282,99	1282,66
K 3.2	823,17	1368,96	1366,96	1358,38	1356,84	1354,91	1353,94
K 3.3	758,00	1306,02	1305,36	1301,94	1301,45	1300,69	1300,68
4.1	755,60	1352,92	1351,22	1349,25	1349,06	1348,82	1348,62
4.2	765,84	1369,23	1367,25	1365,33	1365,13	1364,92	1364,65
4.3	717,43	1317,90	1315,99	1314,02	1313,81	1313,22	1313,25
K 4.1	733,79	1283,37	1282,93	1281,78	1281,65	1281,44	1281,24
K 4.2	767,86	1319,27	1318,76	1317,40	1317,22	1316,60	1316,73
K 4.3	783,77	1327,93	1326,26	1316,19	1314,40	1312,22	1310,99
5.1	834,41	1442,27	1439,38	1437,09	1436,85	1436,58	1436,23
5.2	808,36	1405,61	1402,07	1393,81	1392,49	1390,65	1389,60
5.3	766,23	1364,29	1363,01	1360,85	1360,63	1360,39	1360,19
K 5.1	795,21	1345,19	1343,29	1335,12	1333,73	1331,99	1331,10
K 5.2	769,95	1318,03	1317,21	1314,17	1313,72	1313,27	1312,87
K 5.3	902,86	1447,04	1446,38	1443,46	1443,04	1442,66	1442,34
6.1	806,68	1422,22	1420,68	1418,70	1418,54	1418,30	1417,95
6.2	731,01	1343,16	1342,28	1340,07	1339,82	1339,14	1339,04
6.3	715,89	1319,86	1317,65	1315,52	1315,33	1315,06	1314,69
K 6.1	730,07	1285,74	1285,30	1283,96	1283,86	1283,20	1283,29
K 6.2	751,58	1302,93	1302,43	1300,95	1300,72	1300,06	1300,14
K 6.3	896,00	1442,25	1441,57	1438,66	1438,16	1437,71	1437,31
R1	737,85	1326,30	1325,08	1323,12	1322,96	1322,74	1322,45
R2	733,34	1328,68	1326,44	1322,45	1321,68	1320,48	1320,16
R3	687,06	1294,74	1292,41	1290,21	1289,99	1289,33	1289,31
R4	774,00	1377,45	1376,14	1373,19	1372,88	1372,56	1372,21
R5	782,00	1360,96	1359,06	1356,75	1356,43	1355,76	1355,79
RK1	xx	1244,36	1225,27	1219,93	1218,96	1218,01	1217,26
RK2	xx	1262,48	1243,66	1239,98	1239,55	1238,81	1238,75

	Beginn der
	: Schimmelbildung
	: weiteres Verschimmeln bis zum Verwurf der Probe
	: Probe fällt aus weiterer Wägung

Tab. A9-2: Wiegeprotokoll Silageversuch 1, Teil 2

Glas/Datum	Fr 04.07.2008	Mo 07.07.2008	Mi 09.07.2008	Fr 11.07.2008	Mo 14.07.2008	Mo 21.07.2008	Mo 28.07.2008
1.1	1431,99	1430,52	1429,67	1428,93	1427,92	Probenahme	n.n.
1.2	1396,69	1395,49	1394,74	1394,05	1393,11	Probenahme	n.n.
1.3	1279,87	1279,47	1279,19	1279,00	1278,62	Probenahme	n.n.
K 1.1	1365,04	1364,36	1363,91	1363,51	1362,93	1361,83	pH-Wert
K 1.2	1356,13	1355,01	1354,47	1354,03	1353,46	1352,51	1351,71
K 1.3	1354,80	1354,17	1353,80	1353,42	1352,87	1351,83	1351,07
2.1	1330,90	1300,00	1329,41	1328,85	1328,07	1326,71	Probenahme
2.2	1333,37	1332,83	1332,40	1332,01	1331,44	1330,25	Probenahme
2.3	1472,78	1471,65	1470,94	1470,31	1469,41	1468,01	Probenahme
K 2.1	1285,78	1285,18	1284,79	1284,46	1283,87	1282,90	1282,17
K 2.2	1318,85	1317,97	1317,46	1317,02	1316,43	1315,22	1314,34
K 2.3	1320,88	1320,25	1319,90	1319,52	1319,05	1318,03	1317,33
3.1	1333,10	1332,51	1332,10	1331,73	1331,21	1330,20	1329,55
3.2	1498,85	1498,05	1497,51	1497,01	1496,15	1494,81	1494,08
3.3	1307,67	1306,92	1306,43	1305,94	1305,18	1303,82	1303,00
K 3.1	1282,36	1281,70	1281,25	1280,86	1280,28	1279,15	1278,46
K 3.2	1352,64	1349,89	1348,25	1346,62	1344,16	Schimmel	n.n.
K 3.3	1300,31	1299,67	1299,26	1298,87	1298,26	1297,20	1296,45
4.1	1348,33	1347,66	1347,19	1346,73	1346,03	1344,74	1343,95
4.2	1364,35	1363,63	1363,18	1362,68	1361,94	1360,66	1359,90
4.3	1312,85	1311,81	1311,17	1310,54	1309,68	1308,41	1307,87
K 4.1	1281,07	1280,70	1280,39	1280,05	1279,53	1278,04	1276,60
K 4.2	1316,44	1315,86	1315,50	1315,15	1314,56	1313,59	1312,91
K 4.3	1309,43	1306,02	1303,81	1301,51	1298,22	Schimmel	n.n.
5.1	1435,79	1434,71	1434,03	1433,41	1432,56	1431,51	1430,85
5.2	1388,03	1384,18	1381,89	1379,74	1376,57	Schimmel	n.n.
5.3	1359,97	1359,55	1359,25	1358,97	1358,51	1357,64	1357,02
K 5.1	1329,94	1327,31	1325,68	1324,07	1321,58	Schimmel	n.n.
K 5.2	1312,56	1311,85	1311,45	1311,07	1310,57	1309,52	1308,77
K 5.3	1442,04	1441,41	1441,01	1440,67	1440,14	1439,10	1438,43
6.1	1417,51	1416,38	1415,65	1414,94	1414,90	1412,44	1411,81
6.2	1338,43	1336,93	1336,04	1335,23	1334,17	1333,12	1332,81
6.3	1314,22	1312,97	1312,27	1311,54	1310,54	1309,20	1308,85
K 6.1	1283,14	1282,46	1282,10	1281,75	1281,25	1280,21	1279,59
K 6.2	1299,87	1299,25	1298,86	1298,49	1297,86	1296,79	1296,05
K 6.3	1436,97	1436,27	1435,87	1435,45	1434,94	1433,87	1433,07
R1	1322,13	1321,37	1320,83	1320,32	1319,50	1318,23	1317,50
R2	1319,59	1318,69	1318,08	1317,70	1317,03	1315,17	Schimmel
R3	1288,79	1287,48	1286,63	1285,89	1284,86	1283,47	1283,09
R4	1371,83	1370,83	1370,16	1369,53	1368,59	1367,33	1366,57
R5	1355,41	1354,56	1353,94	1353,36	1352,45	1350,99	1350,18
RK1	1216,61	1215,57	1215,13	1214,80	1214,29	1213,54	Schimmel
RK2	1238,47	1237,80	1237,38	1236,95	1236,42	1235,32	1234,63

Tab. A9-3: Wiegeprotokoll Silageversuch 1, Teil 3

Glas/Datum	Mo 11.08.2008	Mo 22.09.2008	Mo 03.11.2008	Mo 15.12.2008	Mo 12.01.2009	Mo 16.02.2009	Mo 09.03.2009
1.1	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
1.2	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
1.3	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
K 1.1	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
K 1.2	1350,44	Schimmel	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
K 1.3	1349,99	1348,91	Gärsäurebestimmung	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
2.1	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
2.2	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
2.3	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
K 2.1	1281,16	1280,18	Gärsäurebestimmung	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
K 2.2	1312,84	Schimmel	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
K 2.3	pH-Wert	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
3.1	1328,81	Probenahme	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
3.2	1493,67	Probenahme	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
3.3	1302,24	Probenahme	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
K 3.1	1277,53	1276,39	1276,43	1276,29	1276,11	1276,15	1276,18
K 3.2	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
K 3.3	1295,55	1294,97	1294,77	1294,55	1294,26	1294,23	1294,20
4.1	1343,03	1342,20	Probenahme	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
4.2	1359,18	1358,55	Probenahme	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
4.3	1306,77	1304,79	Probenahme	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
K 4.1	1274,51	1272,34	Gärsäurebestimmung	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
K 4.2	1311,86	1310,73	1310,94	1310,78	1310,49	pH-Wert	n.n.
K 4.3	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
5.1	1429,77	1427,98	1427,81	1427,43	Probenahme	n.n.	n.n.
5.2	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
5.3	1356,03	1355,07	1355,31	1355,12	Probenahme	n.n.	n.n.
K 5.1	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
K 5.2	1307,48	1306,01	1306,12	1305,88	pH-Wert	n.n.	n.n.
K 5.3	1437,39	1436,31	1436,57	1436,42	1436,19	1436,18	1436,24
6.1	1411,17	1409,34	1408,92	1408,46	1408,31	1407,92	Probenahme
6.2	1332,17	1330,55	1330,44	1330,06	1329,95	1329,64	Probenahme
6.3	1308,30	1306,82	1306,65	1306,34	1306,13	1305,87	Probenahme
K 6.1	1278,61	1277,36	1277,55	1277,40	1277,15	1277,06	pH-Wert
K 6.2	1294,96	1293,87	1293,98	1293,74	1293,48	1293,25	1293,21
K 6.3	1431,72	1429,84	Schimmel	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
R1	1316,92	1316,20	1316,39	1316,20	1316,06	1316,00	1315,90
R2	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
R3	1282,35	1280,65	1280,34	1279,92	für 5.2	n.n.	n.n.
R4	1365,25	1362,76	Schimmel	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
R5	1349,24	1347,13	Schimmel	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
RK1	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
RK2	1233,74	1232,90	1233,05	1232,85	1232,56	1232,51	1232,43

Tab. A10-1: Wiegeprotokoll Silageversuch 2, (*Cryptosporidium parvum*) Teil 1

	TARA	Di, 25.05.2010	Mi, 26.05.2010	Do, 27.05.2010	Fr, 28.05.2010	Mo 31.05.2010	Mi 02.06.2010	Mo 07.06.2010
1.1	719,7	13,63,2	1364,2	Probenahme	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
1.2	904,9	1575,2	1575,0	Probenahme	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
2.1	746,3	1417,0	1417,6	1417,0	1416,3	1415,4	Probenahme	n.n.
2.2	711,7	1350,4	1350,0	1349,6	1348,6	1347,6	Probenahme	n.n.
3.1	696,2	1333,2	1335,2	1334,8	1334,0	1333,4	1333,0	1332,2
3.2	763,3	1398,2	1400,8	1400,4	1399,3	1398,6	1398,0	1396,8
4.1	826,5	1429,8	1429,4	1429,0	1428,1	1427,2	1426,8	1425,8
4.2	762,5	1394,6	1393,2	1393,6	1392,7	1392,0	1391,6	1391,0
5.1	753,9	1439,4	1438,2	1437,6	1436,7	1435,8	1435,4	1434,4
5.2	796,5	1432,4	1429,0	1428,8	1427,6	1425,6	1424,2	1422,0
6.1	811,3	1536,4	1539,6	1539,2	1538,1	1537,2	1536,8	1535,8
6.2	759,1	1449,4	1451,0	1540,4	1449,3	1448,4	1448,0	1447,0
7.1	805,0	1449,8	1451,0	1450,8	1450,0	1449,4	1448,8	1448,0
7.2	741,3	1359,0	1358,0	1358,8	1358,1	1357,0	1356,0	1354,4
R1	898,6	1503,4	1503,2	1502,6	1501,7	1501,2	1500,8	1500,0
R2	758,9	1310,6	1309,4	1308,4	1307,0	1300,8	1297,8	1293,8
R3	807,4	1447,2	1446,8	1446,4	1445,2	1444,0	1443,2	1441,2
R4	800,4	1486,0	1485,0	1484,6	1483,9	1483,4	1482,8	1482,0

Tab. A10-2: Wiegeprotokoll Silageversuch 2, (*Cryptosporidium parvum*) Teil 2

	Mi 09.06.2010	Mo 14.06.2010	Mo 21.06.2010	Mo 28.06.2010	Mo 05.07.2010	Mo 12.07.2010	Mo 02.08.2010	Mo 23.08.2010
1.1	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
1.2	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
2.1	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
2.2	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
3.1	1331,8	1331,4	Probenahme	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
3.2	1396,6	1396,2	Probenahme	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
4.1	1425,8	1425,4	1425,4	Probenahme	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
4.2	1390,6	1390,2	1390,2	Probenahme	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
5.1	1434,0	1433,8	1433,6	1433,0	1433,4	1432,8	Probenahme	n.n.
5.2	1421,6	1421,0	1421,0	1420,8	1420,4	1420,2	Probenahme	n.n.
6.1	1535,4	1535,2	1535,2	1534,8	1534,8	1534,4	1534,2	Probenahme
6.2	1446,8	1446,6	1446,4	1446,2	1446,9	1445,6	1445,4	Probenahme
7.1	1447,6	1447,4	1447,0	1446,8	1446,4	1446,2	1446,2	1446,0
7.2	1354,0	1353,6	1353,0	1352,4	1352,4	1351,8	1351,6	1351,2
R1	1499,8	1499,6	1499,2	1499,0	1499,0	1498,6	1498,4	1498,2
R2	1293,0	Schimmelbildung	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
R3	1440,0	1439,6	1439,2	1438,6	1438,4	1438,0	1437,8	1437,2
R4	1481,6	1481,2	1481,2	1480,6	1480,8	1480,2	1480,0	1479,8

: Beginn der Schimmelbildung

: Probe fällt aus weiterer Wägung

7 GÄRSÄUREANALYSEN

Tab. A11: Ergebnisse der vom LAZBW Aulendorf durchgeführten Gärsäureanalyse der
Grassilage 1

Labor-Nr.	Probenmenge (g)	pH-Wert	Saccharose % i. FM	Glucose % i. FM	Fructose % i. FM	Milchsäure % i. FM	Ameisensäure % i. FM	Essigsäure % i. FM	1,2-Propan-diol % i. FM	Propionsäure % i. FM	Ethanol % i. FM	n-Buttersäure % i. FM
1	50	5,18	0,26	0,25	1,21	0,58	0,00	0,05	0,00	0,15	0,59	0,52
2	50	5,14	0,22	0,23	1,12	0,55	0,00	0,05	0,00	0,14	0,54	0,50
3	50	5,07	0,22	0,21	1,20	0,55	0,00	0,06	0,00	0,13	0,55	0,48
4	50	5,05	0,21	0,22	1,21	0,55	0,00	0,06	0,00	0,13	0,54	0,47
5	50	5,31	0,47	0,40	1,39	0,56	0,00	0,09	0,00	0,03	1,14	0,13
6	50	5,33	0,67	0,40	1,43	0,62	0,00	0,10	0,00	0,03	1,11	0,13

Tab. A12: Ergebnisse der vom LAZBW Aulendorf durchgeführten Gärsäureanalyse der
Grassilage 2 (*C. parvum*)

Labor-Nr.	Probenmenge (g)	pH-Wert	Saccharose % i. FM	Glucose % i. FM	Fructose % i. FM	Milchsäure % i. FM	Ameisensäure % i. FM	Essigsäure % i. FM	1,2-Propan-diol % i. FM	Propionsäure % i. FM	Ethanol % i. FM	n-Buttersäure % i. FM
1.1	50	4,61	0,18	1,00	2,49	2,12	0,00	0,30	0,00	0,04	0,24	0,00
1.2	50	4,60	0,19	0,85	2,39	1,98	0,00	0,26	0,00	0,02	0,19	0,00
2.1	50	4,51	0,07	0,45	1,35	1,31	0,00	0,14	0,00	0,01	0,19	0,03
2.2	50	4,60	0,04	0,39	1,12	1,38	0,00	0,15	0,00	0,01	0,19	0,01
3.1	50	4,59	0,10	0,47	1,73	1,55	0,00	0,12	0,00	0,00	0,16	0,01
3.2	50	4,57	0,14	0,41	1,81	1,62	0,00	0,11	0,00	0,00	0,13	0,02

8 HERSTELLERNACHWEIS

¹Merck, D-64271 Darmstadt; Art.-Nr. 1.06400

²Merck, D-64271 Darmstadt; Art.-Nr. 1.08190

³Merck, D-64271 Darmstadt; Art.-Nr. 1.13829

⁴Merck, D-64271 Darmstadt; Art.-Nr. 1.10455

⁵Oxoid, GB-Hampshire; Art.-Nr. SR 0051C

⁶Interscience, F-78860 Saint Nom la Bretèche, Art.-Nr. 022230

⁷Merck, D-64271 Darmstadt; Art.-Nr. 1.01590

⁸Merck, D-64271 Darmstadt; Art.-Nr. 1.07228

⁹Merck, D-64271 Darmstadt; Art.-Nr. 1.07700

¹⁰Merck, D-64271 Darmstadt; Art.-Nr. 1.07237

¹¹Merck, D-64271 Darmstadt; Art.-Nr. 1.07881

¹³DADE Behring Vertriebs GmbH & Co, D-65835;

^{13a}Polyvalent I Art.-Nr. ORTM

^{13a}Anti O2 Art.-Nr. ORNA

^{13a}Anti O4,5 Art.-Nr. ORNB

^{13a}Anti O7 Art.-Nr. ORNF

¹⁴Merck, D-64271 Darmstadt; Art.-Nr. 1.02083

¹⁵Sigma-Aldrich Chemie GmbH, D-89552 Steinheim; Art.-Nr. T-0750

¹⁶Merck, D-64271 Darmstadt; Art.-Nr. 1.16763

¹⁷Merck, D-64271 Darmstadt; Art.-Nr. 1.04014

¹⁸Paul Marienfeld GmbH & Co. KG, D-97922 Lauda-Königshofen; Art.-Nr. 0611141

¹⁹Merck, D-64271 Darmstadt; Art.-Nr. 1.04699

²⁰Merck, D-64271 Darmstadt; Art.-Nr. 1.12588

²¹Merck, D-64271 Darmstadt; Art.-Nr. 1.09137

²²Merck, D-64271 Darmstadt; Art.-Nr. 1.09293

²³Merck, D-64271 Darmstadt; Art.-Nr. 1.05287

²⁴Merck, D-64271 Darmstadt; Art.-Nr. 1.04044

²⁵Becton Dickinson GmbH, D-69126 Heidelberg; Art.-Nr. 254727

²⁶Becton Dickinson GmbH, D-69126 Heidelberg; Art.-Nr. 254704

²⁷Oxoid, GB-Hampshire; Art.-Nr. CT 0639B

²⁸Becton Dickinson GmbH, D-69126 Heidelberg; Art.-Nr. 254709

²⁹Becton Dickinson GmbH, D-69126 Heidelberg; Art.-Nr. 254728

³⁰bioMeriëux, F-69280 Marcy l'Etoile; Art.-Nr. 70900

³¹Oxoid, GB-Hampshire; Art.-Nr. CM0129

³²Oxoid, GB-Hampshire; Art.-Nr. CM0405

³³Sigma-Aldrich Chemie GmbH, D-89552 Steinheim; Art.-Nr. A-9393

³⁴Sigma-Aldrich Chemie GmbH, D-89552 Steinheim; Art.-Nr. C-4520

³⁵Sigma-Aldrich Chemie GmbH, D-89552 Steinheim; Art.-Nr. 17849

³⁶Sigma-Aldrich Chemie GmbH, D-89552 Steinheim; Art.-Nr. S-7507

³⁷Sigma-Aldrich Chemie GmbH, D-89552 Steinheim; Art.-Nr. T-3258

³⁸VWR, F-94126 Fontenay-sous-Bois, Art.-Nr. 20821.330

³⁹Merck, D-64271 Darmstadt; Art.-Nr. 6462.1000

⁴⁰Nunc AIS, DK-4000 Roskilde, Art.-Nr. 163320

⁴¹Merck, D-64271 Darmstadt; Art.-Nr. 1.06586

Danksagung

Herrn Prof. Dr. R. Böhm, Institut für Umwelt- und Tierhygiene der Universität Hohenheim, der diese Arbeit überhaupt erst möglich gemacht und mich stets unterstützt hat,

Herrn Dr. W. Philipp, Institut für Umwelt- und Tierhygiene der Universität Hohenheim für seine hervorragende Betreuung und den vielen guten Ideen,

Frau Beate Filohn und Frau Petra Veit für die uneingeschränkt großartige Hilfe bei der Arbeit im Labor,

Herrn Funk und seinen Kollegen vom Meiereihof der Universität Hohenheim für die Bereitstellung und Bearbeitung der Wiesenflächen,

Herrn Dr. H.-J. Nussbaum vom Bildung- und Wissenszentrum in Aulendorf und seinen Kollegen im Labor für die Unterstützung der Silageuntersuchungen,

Herrn Prof. Dr. A. Dauschies sowie Frau Manja Etzold, Institut für Parasitologie der Universität Leipzig, für die Möglichkeit der Arbeit mit *Cryptosporidium parvum* und die freundliche Betreuung während und auch noch lange nach meinem Besuch,

den Tierarztpraxen Dr. Breitling, Gärtringen, Dr. Geiger, Plieningen, Dr. Katz, Herrenberg, Dres. Rupp und Schube, Herrenberg, Dr. Straub, Bondorf sowie der „Fressnapf“-Filiale Oberjettingen für die tatkräftige Unterstützung der Umfrage,

allen Mitarbeitern der Tierheime Böblingen, Stuttgart-Botnang, Tübingen und Filderstadt-Bonlanden,

meinen lieben Eltern, die einfach immer für mich da sind,

und natürlich Jörg, der alle Höhen und Tiefen mit mir meistert.

In diesem perfekten Umfeld konnte die Arbeit ja nur gelingen!

Vielen Dank!

Eidesstattliche Versicherung

Hiermit erkläre ich, dass die vorliegende Dissertation von mir selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Hilfsmittel angefertigt wurde.

Ich erkläre, dass die wörtlichen oder dem Sinne nach anderen Veröffentlichungen entnommenen Stellen von mir kenntlich gemacht wurden.

Gäufelden, den 23. August 2014

gez.

Stefanie Schnauffer, geb. Egeler