

RHEINISCHE FRIEDRICH-WILHELMS-UNIVERSITÄT BONN

Masterarbeit im Rahmen des Masterstudiengangs Tierwissenschaften

„Fohlengesundheit in Abhängigkeit von Mykotoxingehalten in Futtermitteln und Stallumwelt“

Friederike Wittland

Zielsetzung:

Offensichtlich staubfreies Stroh, gut riechendes Heu und goldgelber Hafer lassen die Qualität von Futtermitteln auf den ersten Blick gut erscheinen. Dennoch machen Fohlen einen müden und erschöpften Eindruck, neigen zu Koliken oder bekommen schnell Durchfall. Diese Krankheitssymptome können durch Mykotoxine verursacht werden. Mykotoxine werden unter den heutigen klimatischen Bedingungen zunehmend zum Problem. Im Gegensatz zu anderen Nutztieren sind die Auswirkungen von Mykotoxinen auf die Gesundheit von Pferden, insbesondere von Fohlen, noch sehr wenig untersucht.

Ziel dieser Arbeit war es herauszufinden, in wie weit eine Mykotoxin-Belastung von Futter und Stallumwelt vorliegt, die die Gesundheit eines neugeborenen Fohlens beeinflussen können. Dabei spielten nicht nur die Mykotoxin-Belastung von Futter, Einstreu, Stutenmilch und Staub, sondern auch die Bildung und Verbreitung von resistenten Bakterien wie Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* (MRSA), die sich möglicherweise am Tier oder in der Stallumwelt befinden können und das Hygienemanagement des Betriebes eine Rolle. An einer kleinen Stichprobe wurden Einflussfaktoren auf die Fohlengesundheit für Folgestudien eingegrenzt.

Material und Methoden:

An der Studie haben fünf Betriebe mit insgesamt sieben Zuchtstuten inklusive Fohlen teilgenommen. Das Experiment bestand dabei aus einem praktischen Teil, der Probenentnahme, und aus einem schriftlichen Teil, der mit Hilfe von Fragebögen erfasst wurde.

Die genommenen Futter-, Einstreu-, Milch- und Staubproben wurden im Hinblick auf Mykotoxine untersucht, die Tupferproben am Pferd auf resistente Bakterien, wie ESBL (Extended-Spectrum-Betalaktamase)-Bildner und MRSA. Zusätzlich zu den Sammelproben

des Staubes wurden Tupferproben von Gitterstäben und Trog genommen, um sie ebenfalls auf ESBL-Bildner und MRSA zu testen. Durch diese Unterteilung konnten Umweltaspekte und die Auswirkungen der Futtermittelaufnahme als Ursachen für mögliche Probleme bei der Fohlengesundheit betrachtet werden. Zusätzlich zu den Mykotoxin-Untersuchungen erfolgte eine sensorische Beurteilung des Heues, um die hygienische Qualität beurteilen zu können. Für jeden Betrieb wurden einzelne Punktzahlen für vier verschiedene Kategorien vergeben, addiert und in Güteklassen eingestuft.

Es wurden mittels Fragebögen Details zur Gesundheit der Stuten und Fohlen, sowie zum Management des Betriebes abgefragt. Mit Hilfe eines weiteren Formulars konnten Eindrücke und Einschätzungen eines Experten zur Gesundheit und zum Management dokumentiert werden.

Der Nachweis der Mykotoxine erfolgte mittels LC/MS/MS durch die Lufa.itl GmbH in Kiel mit der dortigen Hausmethode. Die Tupferproben der Stuten und Fohlen von Nüster, After, Rücken sowie die beiden Proben von Gitterstäben und Futtertrog wurden auf CHROMagar™ im mikrobiologischen Labor des Instituts für Tierwissenschaften (Bonn) ausgestrichen und nach 24 Stunden Inkubation bei 37 °C optisch bewertet. Dabei wurde in verdächtige bzw. unverdächtige Proben unterschieden, eine weitere Spezifizierung steht noch aus.

Ergebnisse:

Das Raufutter aller Betriebe blieb hinsichtlich der Mykotoxine Aflatoxin B₁, Deoxynivalenol und Ochratoxin A ohne Befund. Es gab allerdings Unterschiede in den Aspekten Aussehen, Farbe, Geruch und Verunreinigung (Tabelle 1).

Tabelle 1: Bewertung der Heuqualität der Betriebe.

Betrieb	Gesamtpunktzahl	Güteklasse	Bewertung
A	16	1	Sehr gut bis gut
B	5	3	Mäßig
C	11	2	Befriedigend
D	13	2	Befriedigend
E	14	2	Befriedigend

Neben den Raufutter-Proben blieben auch alle Milch-Proben hinsichtlich der Mykotoxine (Aflatoxin M₁, Deoxynivalenol und Ochratoxin A) ohne Befunde. Alle weiteren Mykotoxin-Ergebnisse von Kraftfutter, Einstreu und Staub sind Tabelle zwei zu entnehmen.

Tabelle 2: Mykotoxingehalte von Kraftfutter, Einstreu und Staub.

Betrieb	Aflatoxin B ₁ (µg/kg)	DON (mg/kg)	Ochratoxin A (µg/kg)
Kraftfutter			
A	< 0,300	0,160	< 0,200
B	< 0,300	0,260	0,235
C	< 0,300	< 0,050	< 0,200
D	< 0,300	0,190	< 0,200
E	< 0,300	0,130	0,540
Einstreu			
A	< 0,300	< 0,050	< 0,600 ^{m)}
B	< 0,300	0,060	< 0,400 ^{m)}
C	< 0,300	< 0,050	< 0,400 ^{m)}
D	< 0,300	4,390	< 0,600 ^{m)}
E	< 0,300	< 0,050	< 0,600 ^{m)}
Staub			
A	< 1,000	0,100	14,40
B	< 1,000	0,360	1,780
C	< 1,000	< 0,050	1,760
D	< 1,000	< 0,050	< 0,200
E	< 1,000	< 0,050	1,520

m) Die Nachweis-, bzw. Bestimmungsgrenze musste erhöht werden, da Matrixeffekte bzw. Substanzüberlagerungen eine Quantifizierung erschweren.

<) Der betreffende Stoff ist bei nebenstehender Bestimmungsgrenze nicht quantifizierbar.

Sowohl die Gitterstäbe als auch die Futtertröge in den Boxen wurden im Hinblick auf ESBL und MRSA untersucht. 100 % der untersuchten Gitterstäbe wurden als ESBL verdächtig eingestuft, bei den ESBL verdächtigen Trögen waren es 80 %. Während 60 % der Gitterstäbe MRSA verdächtig waren, betrug die Prozentzahl bei den Trögen 40 %.

In Tabelle drei sind die Ergebnisse der ESBL- und MRSA-Untersuchungen an After, Nüster und Rücken der Stuten und Fohlen zu sehen, eingeteilt nach verdächtig (+) und unverdächtig (-).

Tabelle 3: Verdächtige (+) und unverdächtige (-) ESBL- und MRSA-Proben an den Tieren (S=Stute; F=Fohlen; Ai=Aimee; Li=Liane; Fa=Farrameh; Ad=Adonia; Ca=Carla Columna; Dr=Dresdendoll; Fl=Fleur).

Betrieb	Stute/Fohlen	After		Nüster		Rücken	
		ESBL	MRSA	ESBL	MRSA	ESBL	MRSA
A	S-Ai	+	+	+	-	+	+
	F-Ai	+	-	-	-	+	-
B	S-Li	-	+	+	+	-	+
	F-Li	+	+	-	+	-	+
C	S-Fa	+	+	-	-	+	+
	F-Fa	-	-	+	-	-	-
D	S-Ad	-	-	+	+	-	-
	F-Ad	+	-	-	-	-	-
	S-Ca	-	+	+	-	-	+
	F-Ca	-	+	+	-	+	-
	S-Dr	-	-	-	-	+	-
	F-Dr	-	-	+	+	-	+
E	S-Fl	-	-	-	+	-	+

Einige Zusammenhänge zwischen Futter, resistenten Keimen, Gesundheitsstatus und Stallmanagement sind in Tabelle vier zu sehen. Hierbei wurden p-Werte mit einer Signifikanz (< 0,05) oder einer Tendenz (< 0,10) berücksichtigt. Mit Hilfe des Korrelationskoeffizienten r wurden die Stärke und Richtung der Zusammenhänge dargestellt (1 = stark positiv, -1 = stark negativ).

Tabelle 4: Zusammenhänge zwischen Mykotoxinen, Hygienemaßnahmen und Resistenzen.

Kategorie A	Kategorie B	p-Wert	r
DON Stroh	Stroh trocken gelagert	0,002	-0,935
Nutztierhaltung	R-&D-Maßnahmen	< 0,0001	-1
ESBL/MRSA Rücken (Stuten)	ESBL/MRSA After (Stuten)	0,062	0,730
ESBL After (Fohlen)	ESBL Nüster (Fohlen)	< 0,0001	-1
MRSA Rücken (Fohlen)	MRSA Nüster (Fohlen)	< 0,0001	1
MRSA Nüster	OCHA Kraftfutter	0,068	0,720
ESBL Trog	OCHA Kraftfutter	0,046	-0,764

Um die einzelnen Betriebe mit ihren Stuten und Fohlen untereinander vergleichen zu können, wurde eine Bewertung durchgeführt. Es erfolgte eine Einteilung in die Kategorien Umwelt und Tier mit jeweils acht ausgewählten Unterpunkten. Im Anschluss wurden alle vergebenen Punktzahlen der jeweiligen Betriebe addiert. Das Gesamtergebnis ist Abbildung eins zu entnehmen.

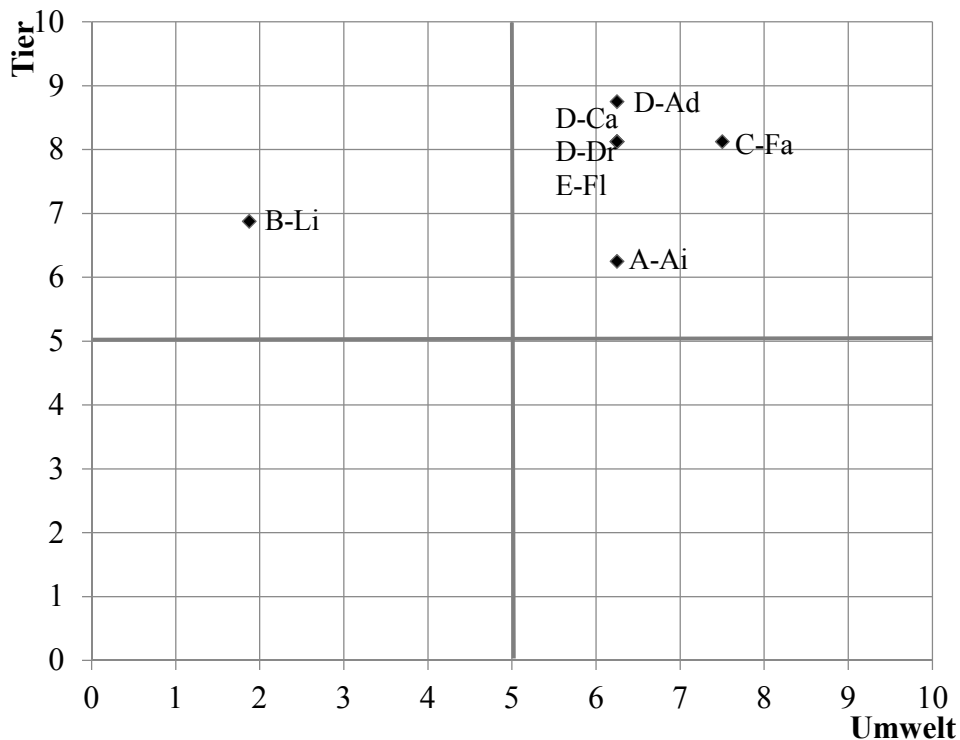


Abbildung 1: Die Betriebe (A-E) mit den Stuten (Ai=Aimee; Li=Liane; Fa=Farrameh; Ad=Adonia; Ca=Carla Columna; Dr=Dresdendoll; Fl=Fleur) im Vergleich und den vergebenen Punktzahlen für die Kategorien "Umwelt" (x-Achse) und "Tier" (y-Achse).

Diskussion:

Für Pferde existieren derzeit keine Grenzwerte für Mykotoxine in Futter und Einstreu, deswegen müssen Grenzwerte für andere Spezies zur Hilfe genommen werden. In der Einstreu lag der höchste gemessene DON Wert bei 4,39 mg/kg (Betrieb D), im Kraftfutter bei 0,26 mg/kg (Betrieb B). Werden diese Werte mit dem Richtwert für Getreide und Getreideerzeugnisse außer Maisnebenprodukte der Europäischen Union (2006/576/EG) verglichen (8 mg/kg), so sind die Einstreu- und Kraftfutterproben als unbedenklich einzustufen.

Hinsichtlich der Lagerung von Raufutter und Einstreu lassen sich Zusammenhänge zu deren Mykotoxingehalten feststellen. In allen Betrieben wurden sowohl Heu als auch Stroh trocken in einer komplett bzw. überwiegend geschlossenen Halle gelagert. Das führte dazu, dass das Stroh weder mit Aflatoxin B₁ noch mit Ochratoxin A belastet war, da diese Mykotoxine nur während der Lagerung gebildet werden können.

In der Stutenmilch wurden keine Mykotoxine gefunden. Mykotoxine können nur dann in die Milch laktierender Tiere gelangen, wenn diese die Blut-Milch-Schranke passieren können.

Ein sogenannter Carry-over erfolgt ausschließlich bei dem Mykotoxin Aflatoxin B₁ in bedeutsamen Umfang. Da in keinen der Futter-, Einstreu- und Stallstaubproben Aflatoxin B₁ nachgewiesen werden konnte, war auch die Milch der Stuten frei von Aflatoxin M₁. Daher kann ein Gesundheitsrisiko für das Fohlen durch Mykotoxine über die Stutenmilch bei der vorliegenden Futterqualität weitgehend ausgeschlossen werden.

Mit Hilfe der Fragebögen konnten Hygienemanagementmaßnahmen der einzelnen Betriebe festgehalten werden. Auffallend war eine negative Korrelation zwischen der Kategorie „Nutztierhaltung“ und der Durchführung von Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen. Bei der geringen Stichprobe ist dieses Ergebnis natürlich nicht zu überschätzen, jedoch liefert diese Studie damit einen Hinweis, dass Nutztierhalter eventuell die Verschleppung von Krankheiten bei Pferden anders einschätzen, als reine Pferdehalter und damit auch anders handeln. Diese Vermutung müsste mit Hilfe einer größeren Stichprobe weiter untersucht werden.

Obwohl in der Pferdehaltung im Verhältnis zu anderen Nutztieren seltener Antibiotika eingesetzt werden, sind trotzdem resistente Keime relativ häufig zu finden. Eine mögliche Erklärung ergibt sich durch den gefundenen Zusammenhang zwischen Mykotoxinen und resistenten Keimen, der in dem gemeinsamen Ursprung liegt. Mykotoxine werden von verschiedenen Schimmelpilzarten produziert. Antibiotika, gegen die multiresistente Keime wie der *S. aureus* Resistenzen bilden können, werden ebenfalls zu 80 Prozent von Schimmelpilzen gebildet.

Sowohl Ochratoxin A als auch Penicillin können von dem Schimmelpilz *P. chrysogenum* produziert werden. In dieser Studie konnte eine relativ stark positive Korrelation zwischen dem Auftreten von MRSA (Nüster) und Ochratoxin A im Kraftfutter festgestellt werden. Im Gegensatz dazu war der Zusammenhang zwischen dem Auftreten von ESBL-Bildnern (Trog) und Ochratoxin A im Kraftfutter relativ stark negativ. Sowohl *S. aureus* als auch ESBL produzierende Bakterien sind in der Lage, Penicillin durch die Bildung von Penicillinase unwirksam zu machen. Da sowohl die Nüstern des Pferdes als auch der Futtertrog regelmäßig mit dem Kraftfutter in Verbindung kommen, könnte es einen Zusammenhang zwischen dem Auftreten von resistenten Keimen und Ochratoxin A geben. Denkbar sind ein zeitgleiches Auftreten von MRSA und Ochratoxin A, aber auch ein konkurrenzbedingtes entgegengesetztes Vorkommen von ESBL-Bildnern und Ochratoxin A. Um diese Indizien für einen Zusammenhang jedoch weiter belegen zu können, sind weitere Studien nötig.