



# **Untersuchungen zur Mikrobiologie, zu Arzneimittelrückständen und multiresistenten Mikroorganismen in Biogasanlagen unter besonderer Berücksichtigung von Hühnertrockenkot als Gärsubstrat**

Gerhard Breves

Physiologisches Institut

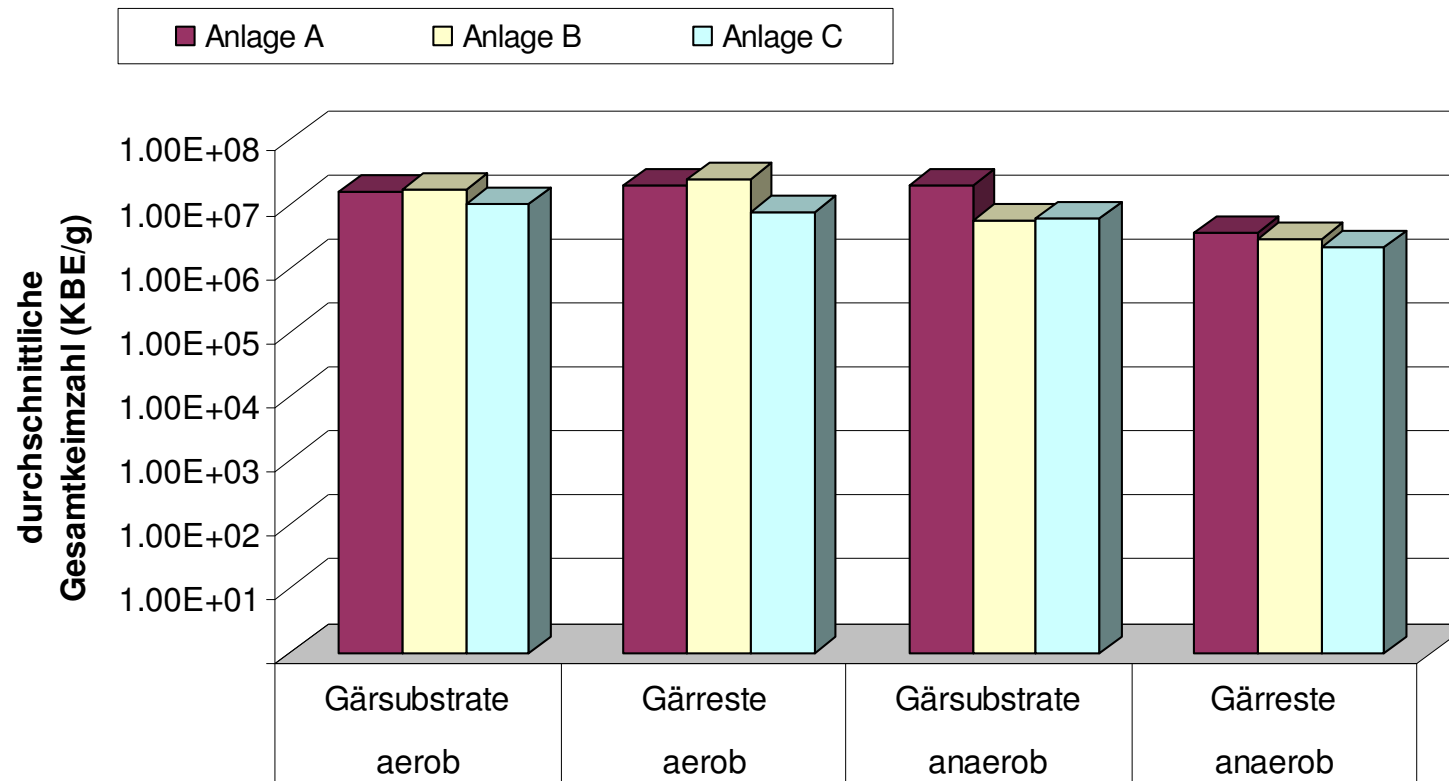
# Gliederung

---



- ▶ **1. Einleitung**
- 2. Studiendesign**
- 3. Gesamtkeimzahlen und Keimspektrum**
- 4. Clostridien-Verteilung in unterschiedlichen Anlagetypen**
- 5. Vorkommen und Toxizität von *Clostridium perfringens***
- 6. Arzneimittelrückstände**

# Gesamtkeimzahlen (aerob/anaerob) in Gärsubstraten und Gärresten



**Kein Nachweis von Salmonellen und EHEC in Gärsubstraten und Gärresten!**



# Gliederung

---



1. Einleitung
- ▶ 2. Studiendesign
3. Gesamtkeimzahlen und Keimspektrum
4. Clostridien-Verteilung in unterschiedlichen Anlagentypen
5. Vorkommen und Toxizität von *Clostridium perfringens*
6. Arzneimittelrückstände

# Untersuchungen zur Mikrobiologie, zu Arzneimittelrückständen und multiresistenten Mikroorganismen in Biogasanlagen unter besonderer Berücksichtigung von Hühnertrockenkot als Gärsubstrat

---



## **Projektnehmer:**

- Physiologisches Institut, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover in Kooperation mit dem RIPAC – Labor (Potsdam-Golm), Institut für Lebensmittelchemie und Lebensmittelbiotechnologie, Institut für angewandte Mikrobiologie (Justus-Liebig-Universität, Gießen)

## **Förderung:**

- Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE), Niedersächsisches Ministerium für Ernährung, Landwirtschaft, Verbraucherschutz und Landesentwicklung,

## **Studiendesign:**

- 10 niedersächsische Biogasanlagen, Auswahl durch 3N, Werlte
- 3 Anlagen aus Ackerbau-, 2 Anlagen aus Milchvieh- und 5 Anlagen Veredelungsregionen
- Beprobung jeder Anlage: Gärsubstrate und Gärreste an vier aufeinanderfolgenden Tagen;
- Nach Entnahme der Proben Kühlung bei + 4 °C

# Übersicht Anlagentyp und Gärsubstrate



| Anlagentyp | Input  |
|------------|--|
| A1         | 100% Mais (Wdh)  |
| A2         | 100% NaWaRo (Wdh)  |
| A3         | Maisilage, Rinder-, Schweinegülle, HTK (Neu)                         |
| B1         | 70% Rindergülle, Futterreste (Wdh)                                   |
| B2         | 30% Rindergülle, Rest Mais (Wdh)                                     |
| C1         | 66% Mais, 6% HTK, 25% Rinder/Schweinegülle, 3% Getreide, Zuckerrüben |
| C2         | 65% Mais, 30% Mastschweinegülle, 5% HTK (Wdh)                        |
| C3         | 65% Mais, Zuckerrübe, 30% Schweinegülle, 5% HTK (Neu)                |
| C4         | Schweinegülle, Rindergülle, Hühnermist (Neu)                         |
| C5         | 1000 t HTK pro Jahr (Neu)  |

# Gliederung

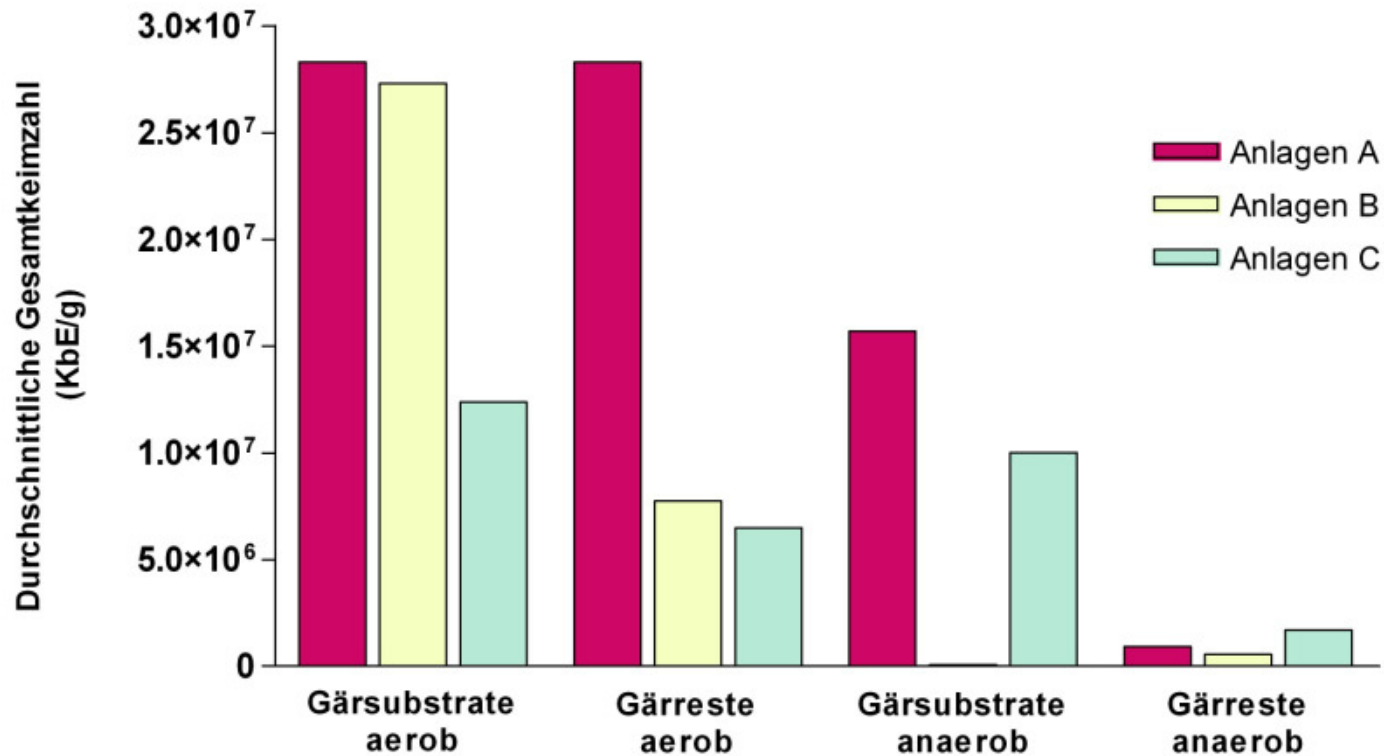
---



1. Einleitung
2. Studiendesign
- ▶ 3. Gesamtkeimzahlen und Keimspektrum
4. Clostridien-Verteilung in unterschiedlichen Anlagetypen
5. Vorkommen und Toxizität von *Clostridium perfringens*
6. Arzneimittelrückstände

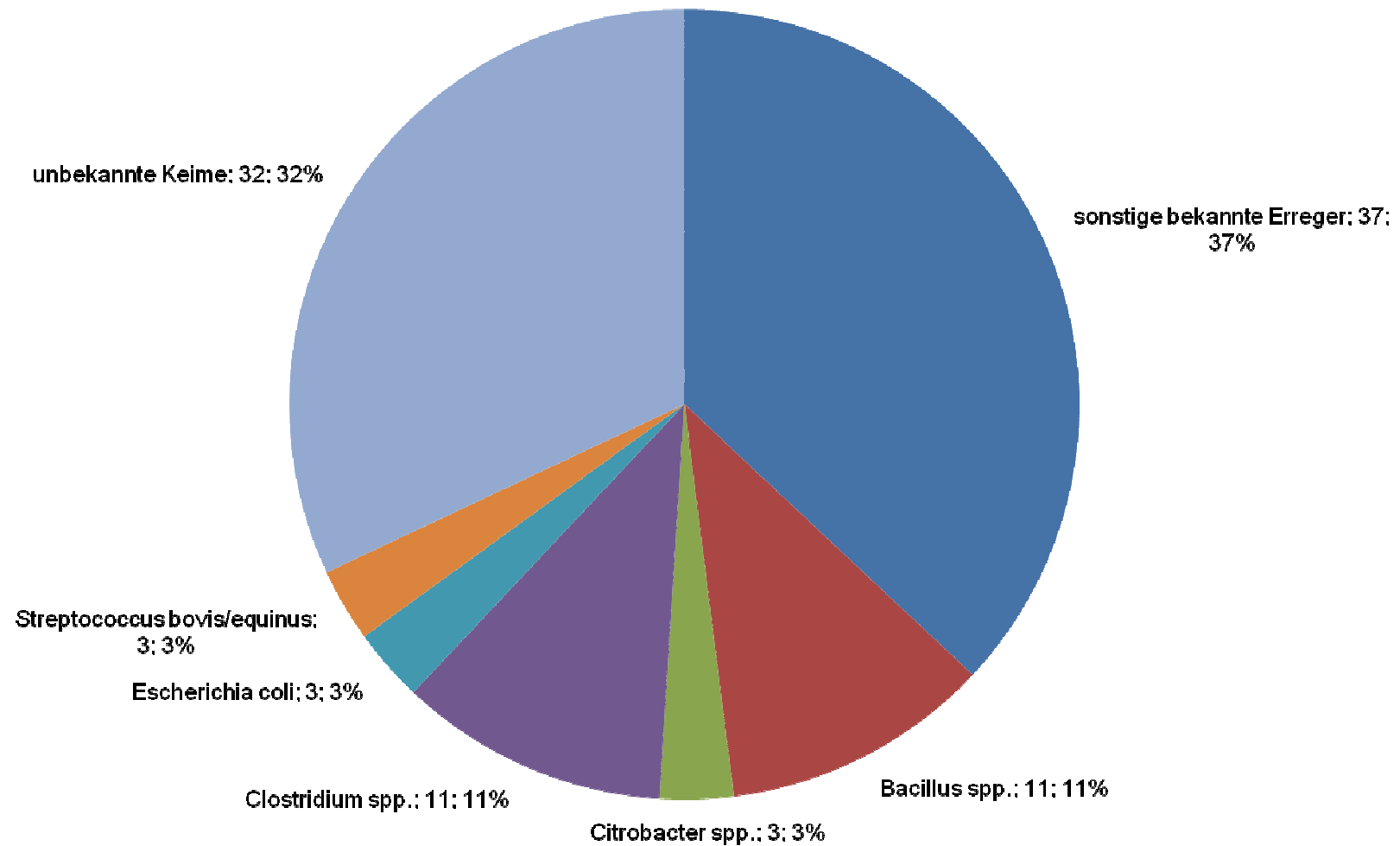


# Gesamtkeimzahlen (aerob/anaerob) in Gärsubstraten und Gärresten



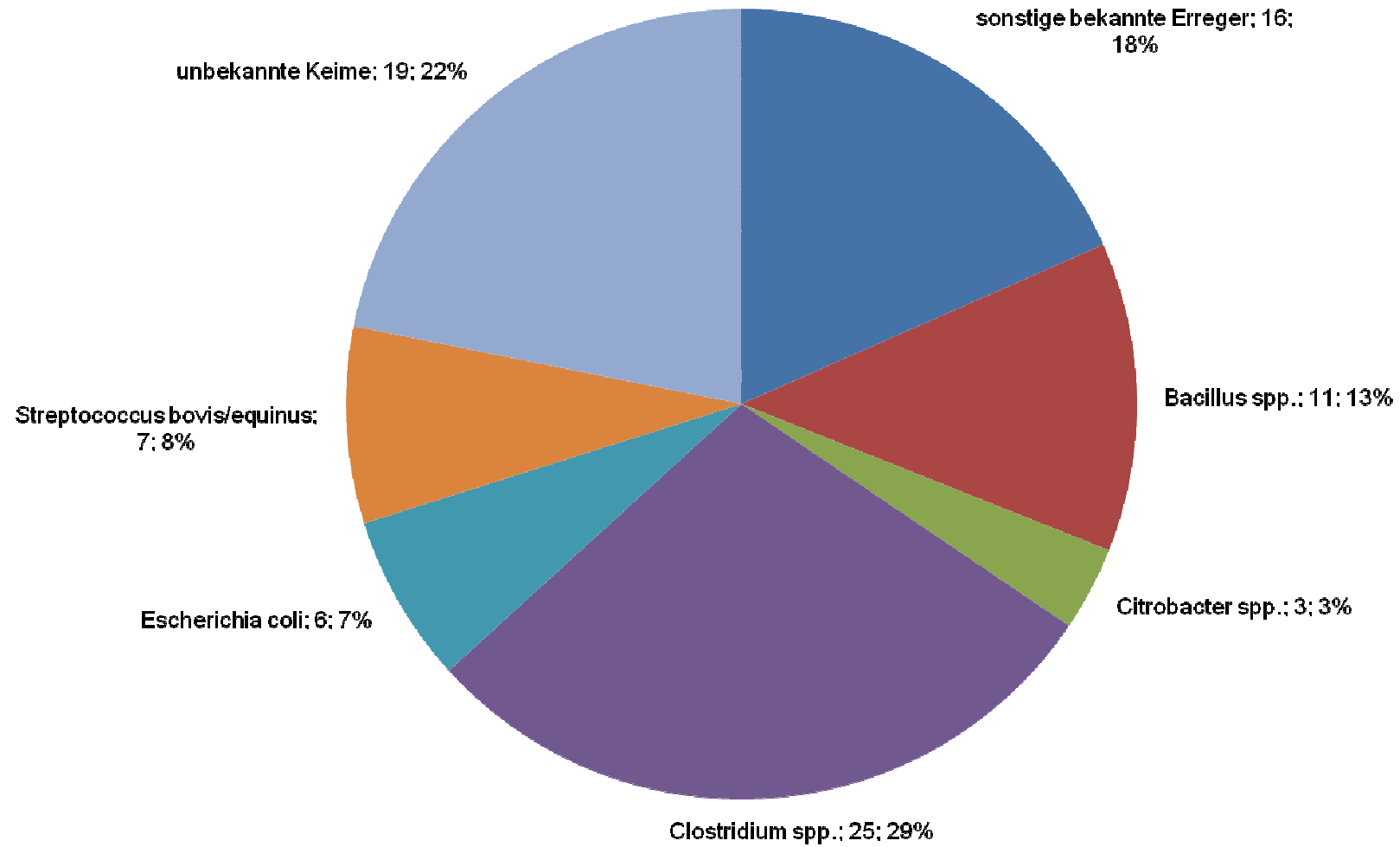
# Keimspektrum Anlagentyp A - Ackerbau

Gärsubstrate  
inkl. unbekannte Keime



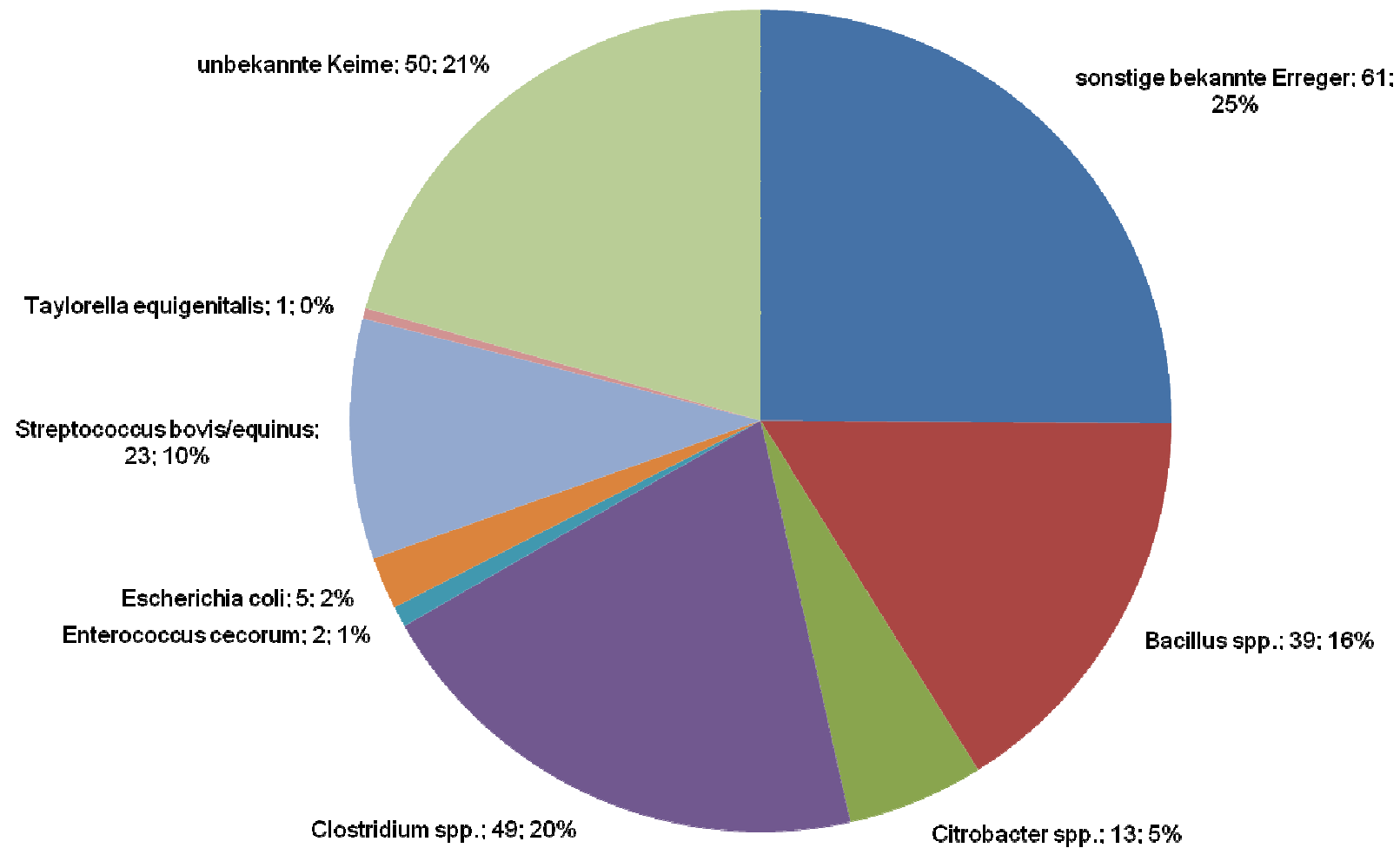
# Keimspektrum Anlagentyp A - Ackerbau

Gärreste  
inkl. unbekannte Keime



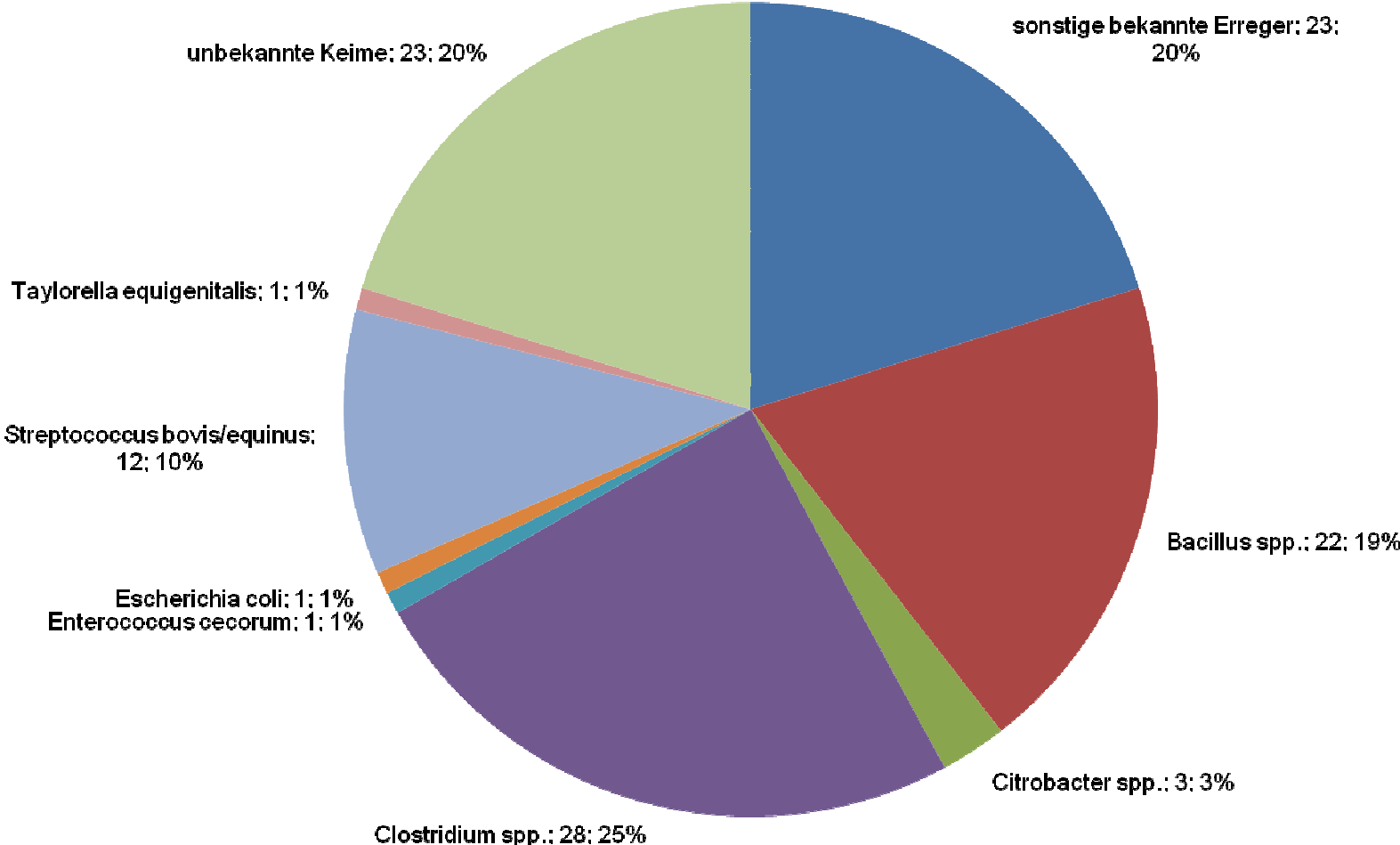
# Keimspektrum Anlagentyp B - Rindergülle

inkl. unbekannte Keime



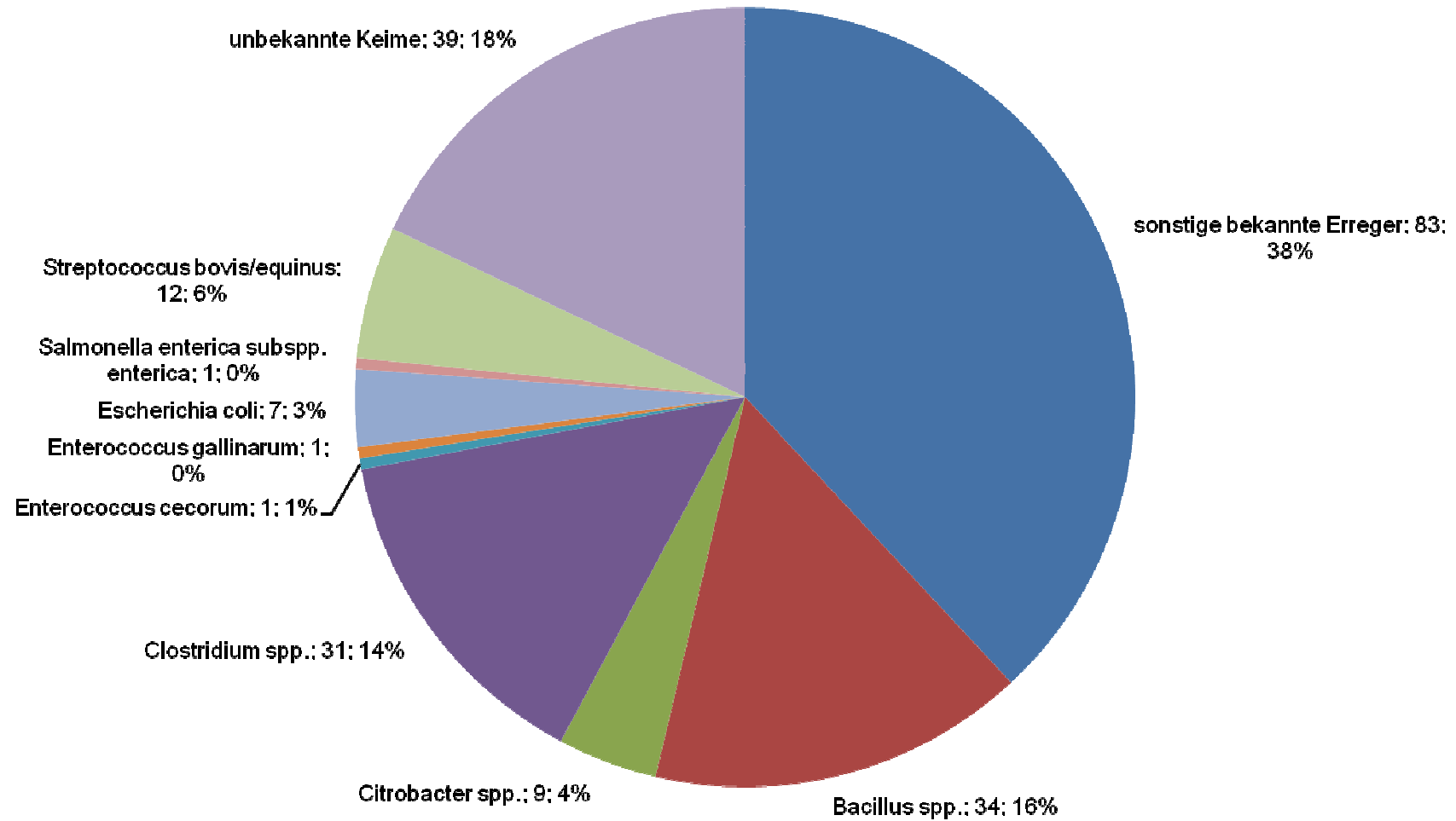
# Keimspektrum Anlagentyp B - Rindergülle

Gärreste  
inkl. unbekannte Keime



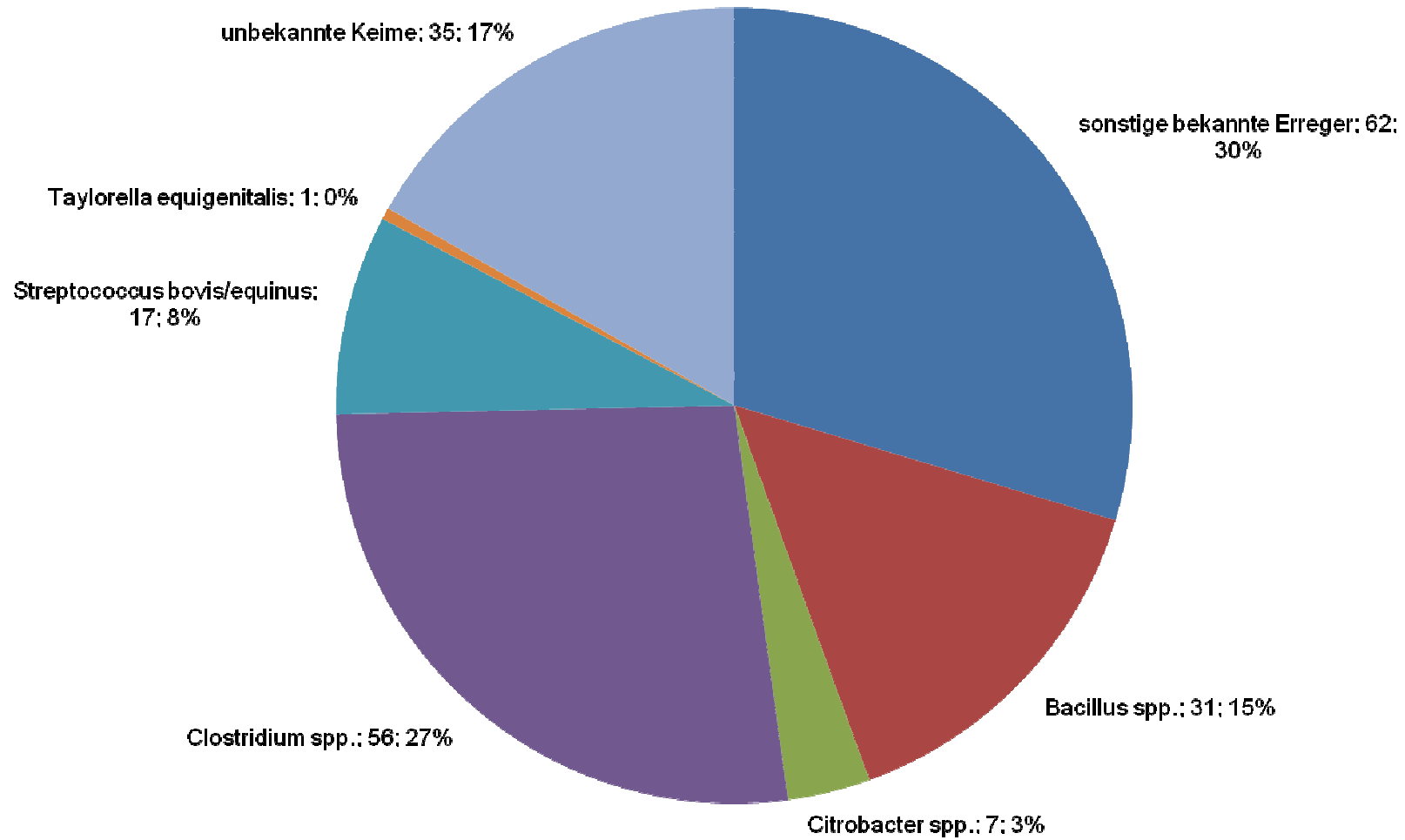
# Keimspektrum Anlagentyp C - Hühnertrockenkot

Gärsubstrate  
inkl. unbekannte Keime



# Keimspektrum Anlagentyp C - Hühnertrockenkot

Gärreste  
inkl. unbekannte Keime



# Gliederung

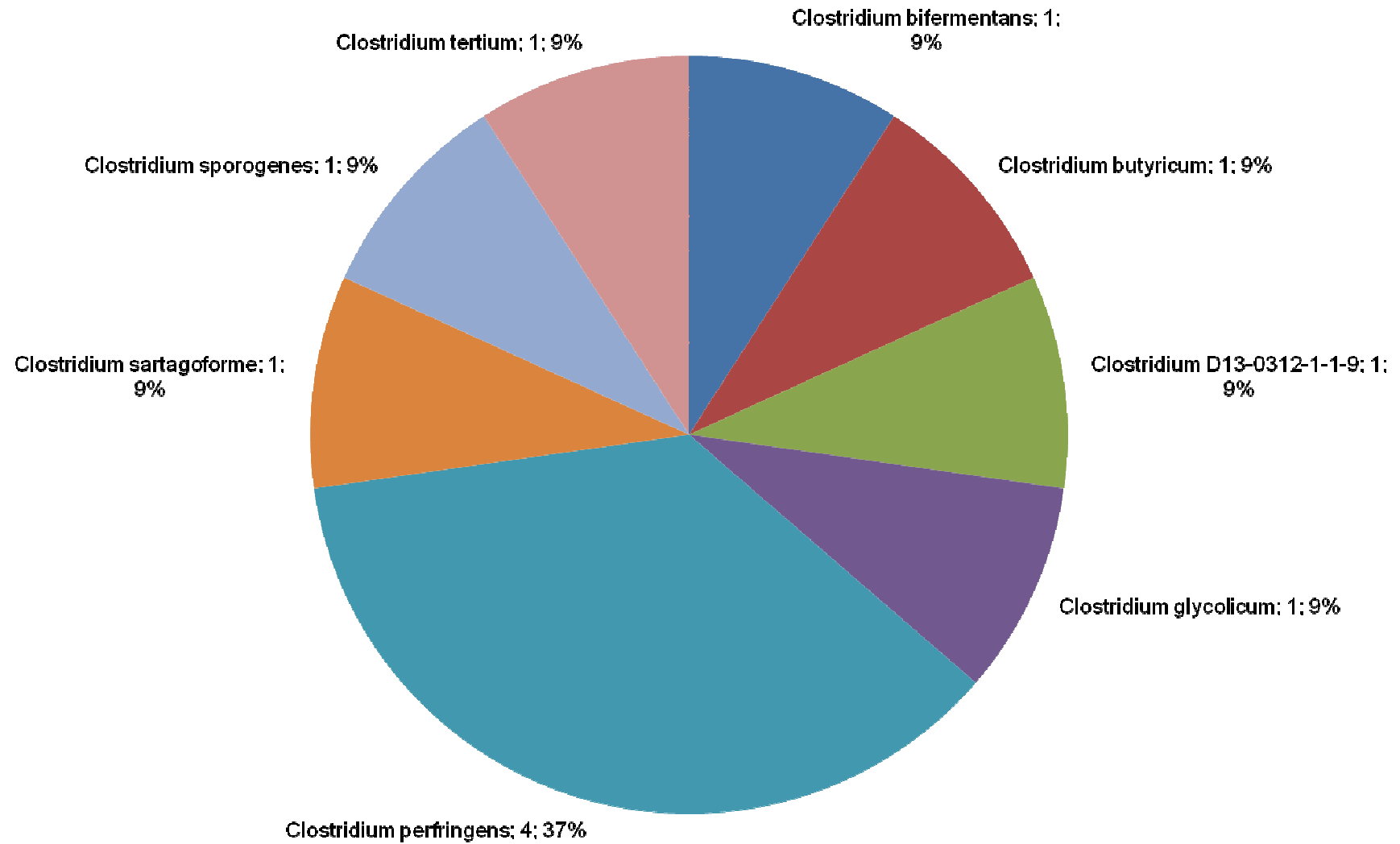
---



1. Einleitung
2. Studiendesign
3. Gesamtkeimzahlen und Keimspektrum
- ▶ 4. Clostridien-Verteilung in unterschiedlichen Anlagetypen
5. Vorkommen und Toxizität von *Clostridium perfringens*
6. Arzneimittelrückstände

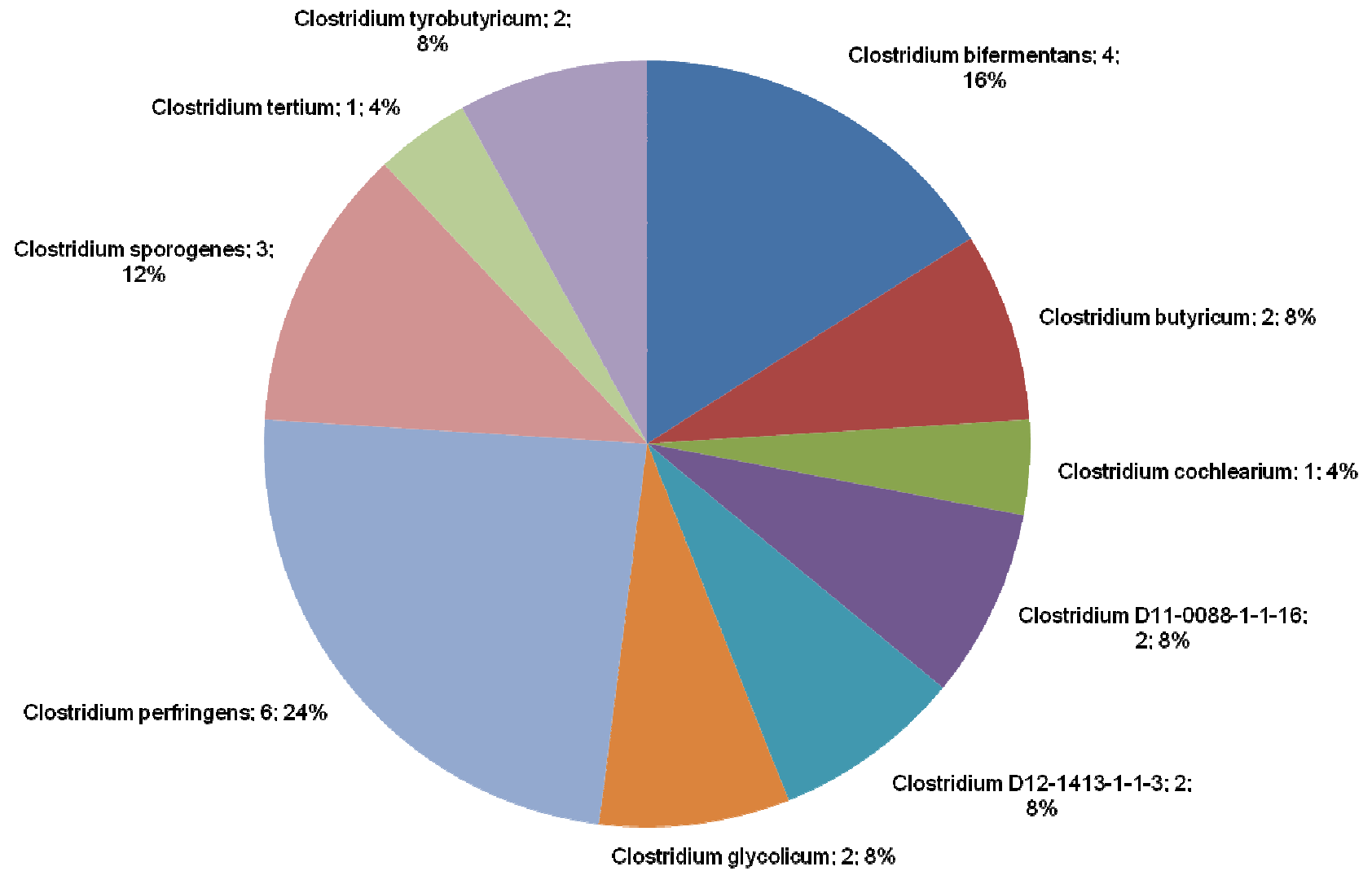


## Clostridienspektrum Anlagentyp A - Ackerbau Gärsubstrate



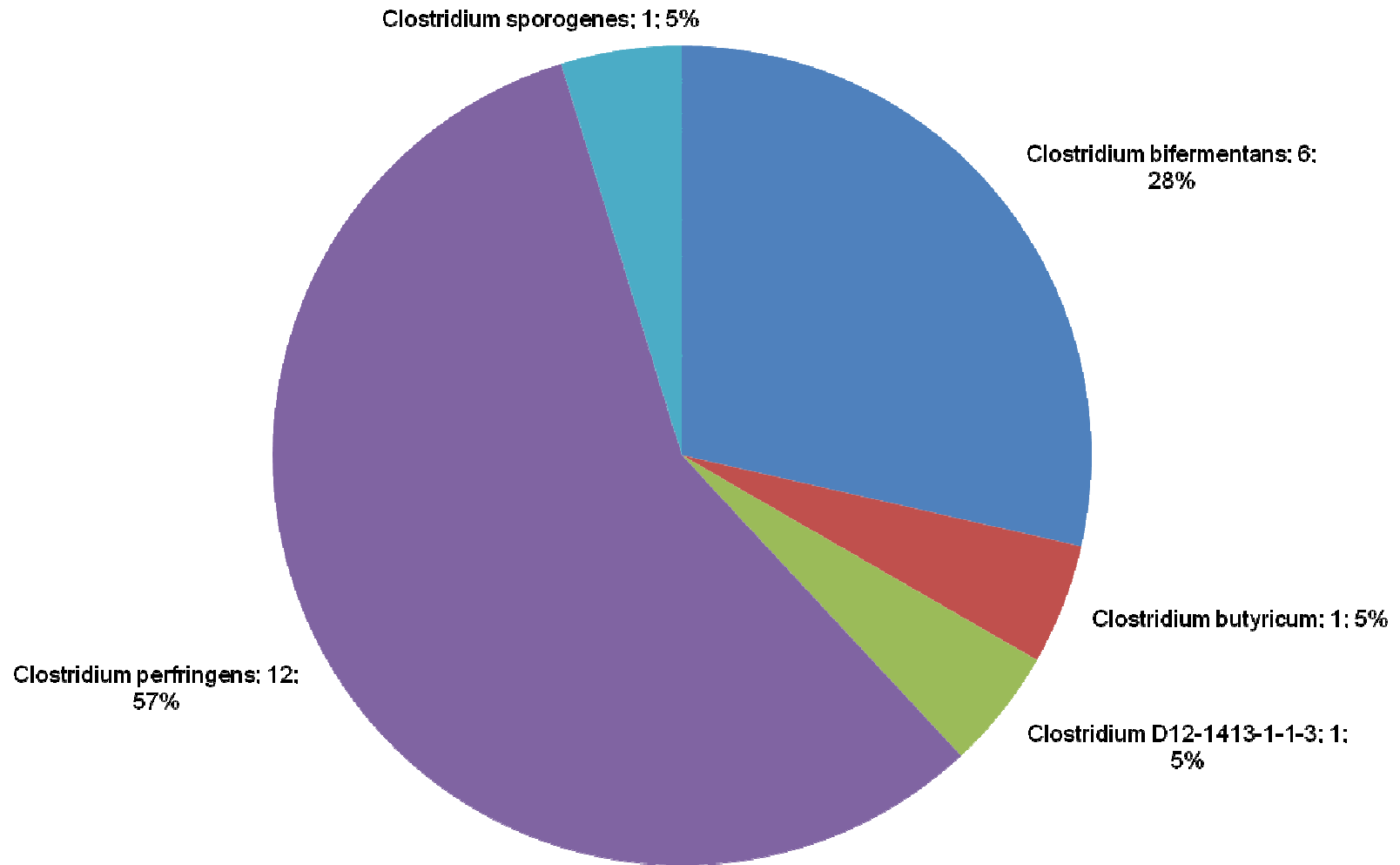
# Clostridienspektrum Anlagentyp A - Ackerbau

## Gärreste



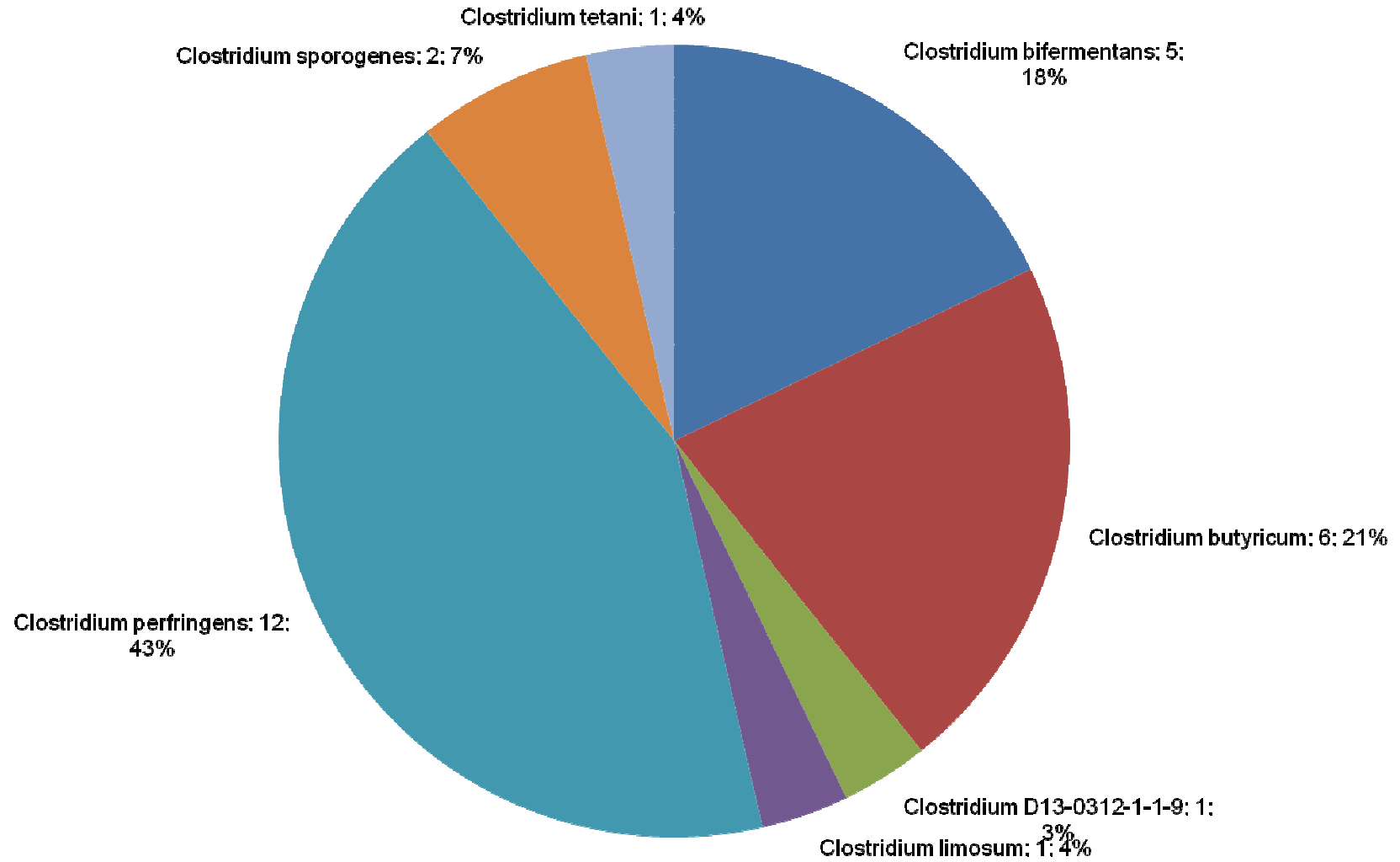
# Clostridienspektrum Anlagentyp B - Rindergülle

## Gärsubstrate

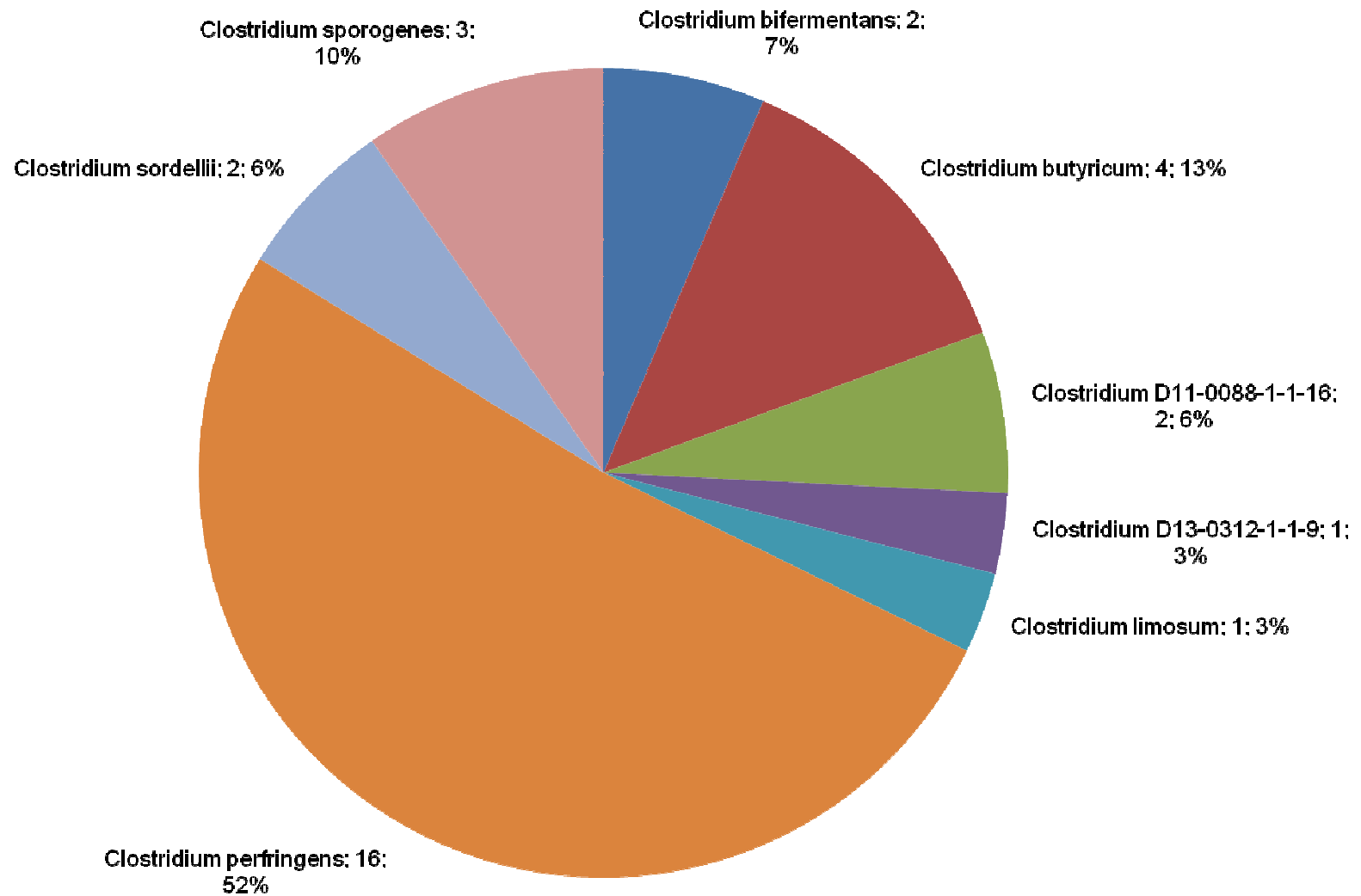


# Clostridienspektrum Anlagentyp B - Rindergülle

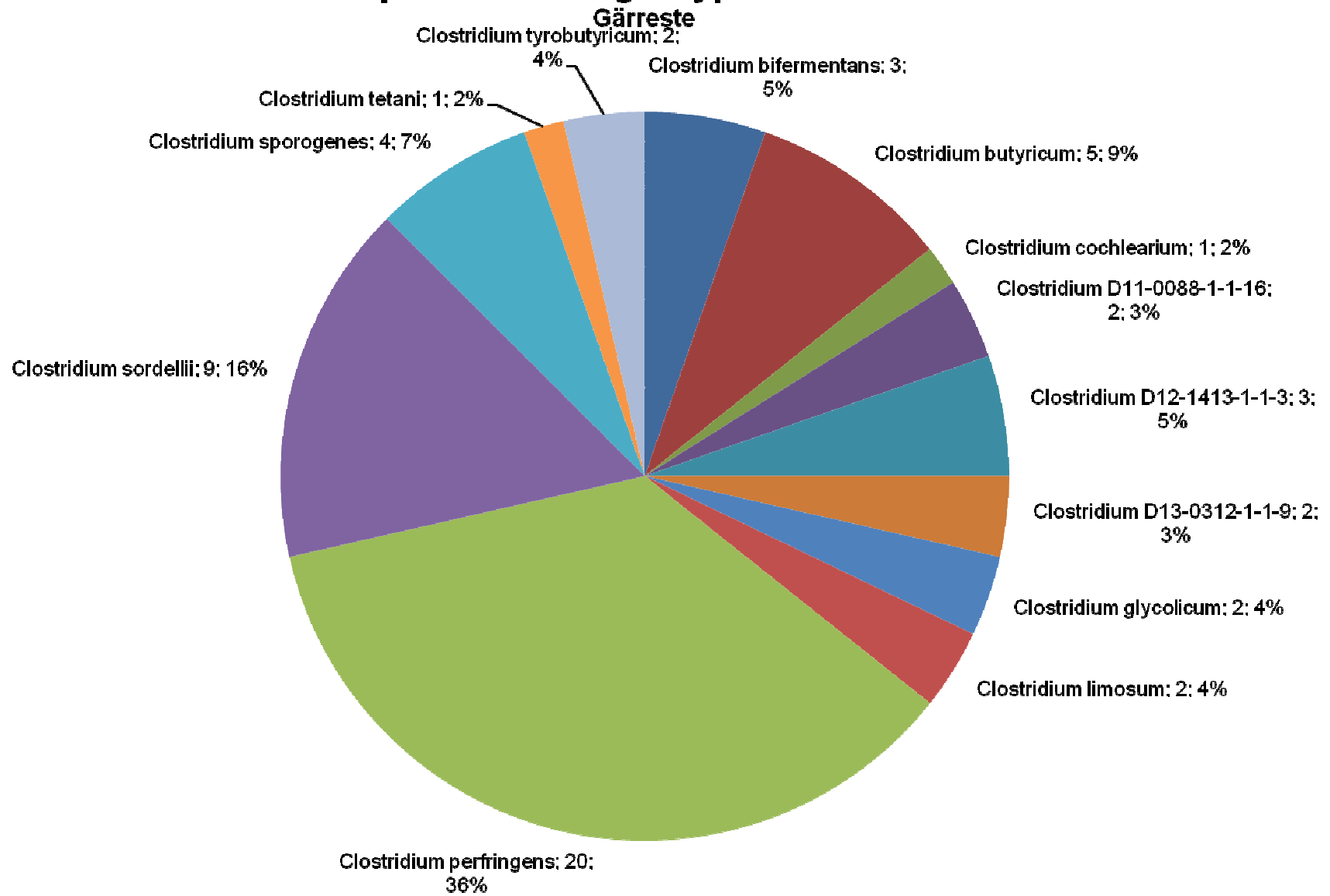
## Gärreste



# Clostridienspektrum Anlagentyp C - Hühnertrockenkot Gärsubstrate



# Clostridienspektrum Anlagentyp C - Hühnertrockenkot



# Gliederung

---



- 1. Einleitung**
- 2. Studiendesign**
- 3. Gesamtkeimzahlen und Keimspektrum**
- 4. Clostridien-Verteilung in unterschiedlichen Anlagentypen**
- ▶ 5. Vorkommen und Toxizität von *Clostridium perfringens***
- 6. Arzneimittelrückstände**

# Vorkommen und Toxizität von *Clostridium perfringens* in Gärsubstraten und Gärresten



| Anlagen-Typ                    | Proben/Material | Positive Proben | Cl. perfringens positiv in % | Zahl der Isolate <sup>1)</sup> | Multiplex PCR Majorletale Toxine |          |          |            |         |         | α-Toxin Nagler-Einheiten (NE) |         |        |
|--------------------------------|-----------------|-----------------|------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|----------|----------|------------|---------|---------|-------------------------------|---------|--------|
|                                |                 |                 |                              |                                | α-Toxin                          | β1-Toxin | β2-Toxin | NetB-Toxin | ε-Toxin | ι-Toxin | ≤4 NE                         | 8-16 NE | ≥32 NE |
| A <sub>1</sub> -A <sub>3</sub> | Substrate       | 9               | 75                           | 8                              | 8                                | 0        | 0        | 0          | 0       | 0       | 4                             | 1       | 3      |
|                                | Gärreste        | 10              | 83                           | 8                              | 8                                | 0        | 1        | 1          | 0       | 0       | 3                             | 3       | 2      |
| B <sub>1</sub> -B <sub>2</sub> | Substrate       | 8               | 100                          | 8                              | 8                                | 0        | 0        | 0          | 0       | 0       | 4                             | 2       | 2      |
|                                | Gärreste        | 8               | 100                          | 7                              | 7                                | 0        | 0        | 0          | 0       | 0       | 3                             | 2       | 2      |
| C <sub>1</sub> -C <sub>5</sub> | Substrate       | 15              | 80                           | 15                             | 15                               | 0        | 3        | 3          | 0       | 0       | 11                            | 4       | -      |
|                                | Gärreste        | 20              | 100                          | 20                             | 20                               | 0        | 4        | 1          | 0       | 0       | 11                            | 8       | 1      |
| Σ                              | Substrate       | 32              | 83                           | 31                             | 31                               | 0        | 3        | 3          | 0       | 0       | 19                            | 7       | 5      |
|                                | Gärreste        | 38              | 88                           | 35                             | 35                               | 0        | 5        | 2          | 0       | 0       | 17                            | 13      | 5      |



# Untersuchung auf Neurotoxin-bildende Stämme von *Clostridium botulinum*

---



**In keiner der insgesamt 80 Proben konnten  
Neurotoxin-bildende Stämme von  
*Clostridium botulinum* nachgewiesen werden.**

# Gliederung

---



- 1. Einleitung**
- 2. Studiendesign**
- 3. Gesamtkeimzahlen und Keimspektrum**
- 4. Clostridien-Verteilung in unterschiedlichen Anlagetypen**
- 5. Vorkommen und Toxizität von *Clostridium perfringens***
- ▶ 6. Arzneimittelrückstände**

# Sulfonamide (Analytik: Prof. Hamscher/Dr. Spielmeyer, Institut für Lebensmittelchemie und Lebensmittelbiotechnologie, JLU Gießen)



| Nr.  | Betrieb   | Sulfadiazin |      | Sulfamethazin |      |
|------|-----------|-------------|------|---------------|------|
|      |           | Substrat    | Rest | Substrat      | Rest |
| 1.1  | Ackerbau  | ●           | ●    | ●             | ●    |
| 1.2  |           | ●           | ●    | ●             | ●    |
| 2.1  | Ackerbau  | ●           | ●    | ●             | ●    |
| 2.2  |           | ●           | ●    | ●             | ●    |
| 3.1  | Ackerbau  | ●           | ●    | ●             | ●    |
| 3.2  |           | ●           | ●    | ●             | ●    |
| 4.1  | Milchvieh | ●           | ●    | ●             | ●    |
| 4.2  |           | ●           | ●    | ●             | ●    |
| 5.1  | Milchvieh | ●           | ●    | ●             | ●    |
| 5.2  |           | ●           | ●    | ●             | ●    |
| 6.1  | HTK       | ●           | ●    | ●             | ●    |
| 6.2  |           | ●           | ●    | ●             | ●    |
| 7.1  | HTK       | ●           | ●    | ●             | ●    |
| 7.2  |           | ●           | ●    | ●             | ●    |
| 8.1  | HTK       | ●           | ●    | ●             | ●    |
| 8.2  |           | ●           | ●    | ●             | ●    |
| 9.1  | HTK       | ●           | ●    | ●             | ●    |
| 9.2  |           | ●           | ●    | ●             | ●    |
| 10.1 | HTK       | ●           | ●    | ●             | ●    |
| 10.2 |           | ●           | ●    | ●             | ●    |

|   |                                   |
|---|-----------------------------------|
| ● | Analyse positiv                   |
| ● | Werte unter der Bestimmungsgrenze |
| ● | Werte unter der Nachweisgrenze    |

**WEITERE SULFONAMIDE,  
(Werte unter der Nachweisgrenze):**  
 Sulfachloropyridazin  
 Sulfadimethoxin  
 Sulfaguanidin  
 Sulfamerazin  
 Sulfamethoxyridazin  
 Sulfapyridin  
 Sulfathiazol

# Tetracycline (Analytik: Prof. Hamscher/Dr. Spielmeyer, Institut für Lebensmittelchemie und Lebensmittelbiotechnologie, JLU Gießen)



| Nr.  | Betrieb   | Chlortetracyclin |      | Doxycyclin |      | Oxytetracyclin |      | Tetracyclin |      |
|------|-----------|------------------|------|------------|------|----------------|------|-------------|------|
|      |           | Substrat         | Rest | Substrat   | Rest | Substrat       | Rest | Substrat    | Rest |
| 1.1  | Ackerbau  | ●                | ●    | ●          | ●    | ●              | ●    | ●           | ●    |
| 1.2  |           | ●                | ●    | ●          | ●    | ●              | ●    | ●           | ●    |
| 2.1  | Ackerbau  | ●                | ●    | ●          | ●    | ●              | ●    | ●           | ●    |
| 2.2  |           | ●                | ●    | ●          | ●    | ●              | ●    | ●           | ●    |
| 3.1  | Ackerbau  | ●                | ●    | ●          | ●    | ●              | ●    | ●           | ●    |
| 3.2  |           | ●                | ●    | ●          | ●    | ●              | ●    | ●           | ●    |
| 4.1  | Milchvieh | ●                | ●    | ●          | ●    | ●              | ●    | ●           | ●    |
| 4.2  |           | ●                | ●    | ●          | ●    | ●              | ●    | ●           | ●    |
| 5.1  | Milchvieh | ●                | ●    | ●          | ●    | ●              | ●    | ●           | ●    |
| 5.2  |           | ●                | ●    | ●          | ●    | ●              | ●    | ●           | ●    |
| 6.1  | HTK       | ●                | ●    | ●          | ●    | ●              | ●    | ●           | ●    |
| 6.2  |           | ●                | ●    | ●          | ●    | ●              | ●    | ●           | ●    |
| 7.1  | HTK       | ●                | ●    | ●          | ●    | ●              | ●    | ●           | ●    |
| 7.2  |           | ●                | ●    | ●          | ●    | ●              | ●    | ●           | ●    |
| 8.1  | HTK       | ●                | ●    | ●          | ●    | ●              | ●    | ●           | ●    |
| 8.2  |           | ●                | ●    | ●          | ●    | ●              | ●    | ●           | ●    |
| 9.1  | HTK       | ●                | ●    | ●          | ●    | ●              | ●    | ●           | ●    |
| 9.2  |           | ●                | ●    | ●          | ●    | ●              | ●    | ●           | ●    |
| 10.1 | HTK       | ●                | ●    | ●          | ●    | ●              | ●    | ●           | ●    |
| 10.2 |           | ●                | ●    | ●          | ●    | ●              | ●    | ●           | ●    |

|   |                                   |
|---|-----------------------------------|
| ● | Analyse positiv                   |
| ● | Werte unter der Bestimmungsgrenze |
| ● | Werte unter der Nachweisgrenze    |

# Zusammenfassung

---



- ▶ Hohe Diversität der mikrobiellen Population in Gärsubstraten und-resten
- ▶ Kein systematischer Nachweis von Tier- bzw. Humanpathogenen Keimen
- ▶ Kein Nachweis von Neurotoxin-bildendem Clostridium botulinum
- ▶ Sporadischer Nachweis von Doxycyclin und Tetracyclin in Anlagen mit HTK



## **Danksagung**

- ▶ **Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE),  
Niedersächsisches Ministerium für Ernährung,  
Landwirtschaft, Verbraucherschutz und  
Landesentwicklung**
- ▶ **den Betreibern der an der Studie beteiligten Anlagen**
- ▶ **Kompetenzzentrum Niedersachsen – Netzwerk  
Nachwachsende Rohstoffe e.V. - 3N**
- ▶ **...und Ihnen für Ihre Aufmerksamkeit**