

Aus der Klinik für Schweine
in Oberschleißheim
(Vorstand: Univ.-Prof. Dr. Dr. habil. Karl Heinritzi)
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Prävalenz
Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* (MRSA)
in bayerischen Schweinebeständen

Inaugural-Dissertation
Zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Johannes Evangelist Frick
aus Mühlhausen

München 2010

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. J. Braun
Berichterstatter:	Univ.-Prof. Dr. K. Heinritzi
Korreferent:	Univ.-Prof. Dr. R. Straubinger

Tag der Promotion: 13. Februar 2010

Überall Bakterien!

Nee, ich sag' schon! von Bakterien
Hat man früher nischt jewußt.
Da war's Essen noch 'ne Freude
Und det Trinken war 'ne Lust.
Aber seit man die Bazillen
Und dergleichen Zeugs erfund,
Is der Mensch total geliefert,
Alles is jetzt unjesund.

Alexander Moszkowski, 1887

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	V
1 EINLEITUNG	1
2 LITERATURÜBERSICHT	2
2.1 Staphylococcus aureus	2
2.1.1 Gattungsmerkmale	3
2.1.2 Kulturmorphologie	3
2.1.3 Biochemische Differenzierung	3
2.1.4 Zellwandaufbau	4
2.1.5 Virulenzfaktoren	4
2.1.5.1 Protein A	6
2.1.5.2 Panton-Valentine Leukozidin	6
2.2 Methicillin-resistente Staphylococcus aureus (MRSA)	7
2.3 Nachweis von Methicillin-resistenten Staphylococcus aureus (MRSA)	7
2.3.1 Kulturelle Methoden	7
2.3.1.1 Anzucht	7
2.3.1.2 Resistenzbestimmung	8
2.3.2 Molekularbiologische Methoden	8
2.3.2.1 Nachweis des mecA-Gens	8
2.3.2.2 Sequenzierung der SCCmec-Kassette	8
2.3.2.3 spa-Typisierung	9
2.3.2.4 Multi Locus Sequence Typing (MLST)	9
2.3.2.5 Pulsfeldgelelektrophorese (PFGE)	10
2.3.3 Einteilung und Vorkommen von MRSA	10
2.3.4 Vorkommen und Bedeutung von MRSA bei Tieren	10
2.3.5 Verbreitung und Übertragung von MRSA bei Schweinen	11
2.3.6 Verbreitung und Übertragung von MRSA bei Wiederkäuern	12
2.3.7 Verbreitung und Übertragung von MRSA bei Pferden	13
2.3.8 Verbreitung und Übertragung von MRSA bei Haustieren	13
2.3.9 Verbreitung und Übertragung von MRSA bei Geflügel	14
2.4 Vorkommen und Bedeutung von MRSA beim Menschen	15
2.4.1 hospital acquired MRSA (ha-MRSA)	15
2.4.2 community acquired MRSA (ca-MRSA)	16
2.4.3 livestock associated MRSA (la-MRSA)	16
2.4.4 Verbreitung von Methicillin-resistenten Staphylococcus aureus beim Menschen	17
2.4.4.1 Verbreitung von MRSA bei beruflich exponierten Personen	18
2.5 Resistenz von Staphylococcus aureus	20
2.5.1 Allgemeine Resistenzsituation	20
2.5.2 Resistenz von Staphylococcus aureus gegen β -Lactam-Antibiotika	21
2.5.3 Resistenz von <i>Staphylococcus aureus</i> gegen nicht- β -Lactam-Antibiotika	22
2.5.3.1 Aminoglycoside	22
2.5.3.2 Tetracycline	22
2.5.3.3 Makrolide	23
2.5.3.4 Lincosamide	23
2.5.3.5 Polypeptide	24
2.5.3.6 Fenicole	24
2.5.3.7 Sulfonamide	24
2.5.3.8 Chinolone	25
2.5.3.9 Glycopeptide	26

3	MATERIAL UND METHODEN	27
3.1	Probenplan und Probenmaterial	27
3.2	Probenentnahme und Transport	28
3.3	Bakteriologische Untersuchungen	29
3.3.1	Anzucht und Isolierung von <i>Staphylococcus aureus</i>	29
3.3.2	Stammasservierung	29
3.3.3	Biochemische Differenzierung und Empfindlichkeitsprüfung gegenüber humanmedizinisch relevanten Antibiotika	30
3.3.3.1	Durchführung	31
3.3.3.2	Auswertung	31
3.3.4	Empfindlichkeitsprüfung gegenüber veterinärmedizinisch relevanten Antibiotika	31
3.3.4.1	Durchführung	32
3.3.4.2	Auswertung	33
3.4	Molekularbiologische Untersuchungen	33
3.4.1	Nachweis des <i>mecA</i> -Gens von Methicillin-resistenten <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) mittels real time PCR	33
3.4.1.1	Beschreibung der Methode	33
3.4.1.2	Extraktion bakterieller DNA aus <i>Staphylococcus aureus</i>	33
3.4.1.3	Herstellung des MasterMixes	34
3.4.1.4	Referenzmaterial	34
3.4.1.5	Extraktionskontrolle	34
3.4.1.6	Interne PCR-Kontrolle	35
3.4.1.7	Durchführung der PCR	35
3.4.1.8	Auswertung	35
3.4.2	Nachweis des Panton-Valentine Leukozidin Gens (PVL-Gen) durch konventionelle PCR	35
3.4.2.1	Extraktion von DNA	36
3.4.2.2	Herstellung des MasterMixes	36
3.4.2.3	Durchführung der PCR	36
3.4.2.4	Durchführung der Gelelektrophorese	37
3.4.3	<i>spa</i> -Typisierung	37
3.4.3.1	Beschreibung der Methode	37
3.4.3.2	Herstellung des MasterMixes	38
3.4.3.3	Durchführung der PCR	38
3.4.3.4	Aufreinigung und Sequenzierung der Proben	39
3.4.4	MLST Typisierung	39
3.4.4.1	Beschreibung der Methode	39
3.4.4.2	Herstellung des MasterMixes	40
3.4.4.3	Durchführung der PCR	40
3.4.4.4	Aufreinigung und Sequenzierung der Proben	41
3.4.4.5	Auswertung	41
3.5	Statistische Auswertung	41
4	ERGEBNISSE	42
4.1	Auswahl und geographische Verteilung der beprobten Bestände	42
4.2	Bayernweite Bestandsprävalenz von MRSA	44
4.3	Prävalenz von MRSA in unterschiedlichen Regierungsbezirken	44
4.4	Prävalenz von MRSA in unterschiedlichen Betriebsarten	46
4.5	Prävalenz von MRSA bei Tieren aus unterschiedlichen Betriebsarten	47
4.6	Prävalenz von MRSA bei Tieren unterschiedlicher Altersklassen	48

4.7	Prävalenz von MRSA nach Geschlecht der Tiere	49
4.8	Auswertung der Betriebsfragebögen	49
4.8.1	Prävalenz der unterschiedlichen Betriebsgrößen	49
4.8.2	Bestandsergänzung	50
4.8.3	Hygienescore	50
4.8.4	Einfluss eines Quarantänestalles auf den Nachweis von MRSA	51
4.8.5	Belegung der unterschiedlichen Stallbereiche	52
4.8.6	Betriebe mit mehr als einer landwirtschaftlichen Nutztierart	53
4.8.7	Kontakt der Schweine mit anderen Tieren	53
4.9	Einfluss antibiotischer Wirkstoffe	54
4.10	Prävalenz beruflich exponierter Personen	56
4.11	Befragung der MRSA-positiven Landwirte	58
4.12	spa-Typisierung	59
4.13	Weitere MRSA-Nachweise	60
4.14	Vergleich des MRSA-Nachweises zwischen Tonsillen- und Nasentupfern	61
4.15	Multi Locus Sequence Typing (MLST)	62
4.16	Panton-Valentine Leukozidin-Gen	62
4.17	Resistenz gegenüber tiermedizinisch relevanten Antibiotika	63
4.18	Antibiotikaresistenz bei Landwirten	67
4.19	Resistenz gegenüber humanmedizinisch relevanten Antibiotika	69
5	DISKUSSION	71
5.1	Bestandsprävalenz	71
5.2	Prävalenz nach Haltungsform	72
5.3	Prävalenz nach Betriebsgröße	73
5.4	Prävalenz der Tiere innerhalb unterschiedlicher Altersklassen	73
5.5	Unterschiedliche Form der Stallbelegung	75
5.6	Prävalenz beruflich exponierter Personen	75
5.7	spa-Typen	76
5.8	Panton-Valentine Leukozidin Gen	77
5.9	MLST-Typen	77
5.10	Antibiotikaresistenz	78
5.11	Nachweise von MRSA bei Landwirten	80
5.12	Vergleich der MRSA-Nachweise durch Tonsillen- und Nasentupfer	81

6	SCHLUSSFOLGERUNG	83
7	ZUSAMMENFASSUNG	85
8	SUMMARY	87
	LITERATURVERZEICHNIS	89
	TABELLENVERZEICHNIS	103
	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	105
	ANHANG	106
	DANKSAGUNG	130

Abkürzungsverzeichnis

AMC	Amoxicillin-Clavulansäure
AMP	Ampicillin
CEQ	Cefquinom
COL	Colistin
ENR	Enrofloxacin
FLL	Florfenicol
GEN	Gentamicin
NEO	Neomycin
PEN	Penicillin
SPT	Spectinomycin
T/S	Trimethoprim/Sulfamethoxazol
TET	Tetracyclin
TIA	Tiamulin
TILM	Tilmicosin
µl	Mikroliter
µg	Mikrogramm
µg/µl	Mikrogramm/Mikroliter
BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung
DNA	Desoxyribonucleic Acid
MHK	Minimale Hemmkonzentration (µg/ml)
MRSA	Methicillin-resistente <i>Staphylococcus aureus</i>
Odds-Ratio	Chancenverhältnis
PCR	Polymerase Chain Reaction
p-Wert	Irrtumswahrscheinlichkeit
RNA	Ribonucleic Acid
(w/v)	weight per volume

1 Einleitung

MRSA sind in der Humanmedizin seit vielen Jahren als Problemkeime besonders im Krankenhaus- und Pflegebereich bekannt und gefürchtet. Sie können zu Wundinfektionen oder postoperativen Komplikationen mit schwerer Allgemeinerkrankung und verlängerter Aufenthaltsdauer bis hin zu Todesfällen führen.

Doch auch im veterinärmedizinischen Bereich, gehäuft bei stationären Patienten sowohl in Pferde- als auch Kleintierkliniken, wurde über das Auftreten Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* (MRSA) berichtet, die nicht selten zu erheblichen Wund- und Gelenksinfektionen führen können.

Seit einiger Zeit jedoch ist bekannt, dass darüber hinaus bei unterschiedlichen Tierarten MRSA nachgewiesen werden können. Aus diesem Grund wurden in den vergangenen Jahren mehrere Arbeiten zum Auftreten bei verschiedenen landwirtschaftlichen Nutztierarten, insbesondere bei Schweinen, durchgeführt. Durch den Kontakt zum Menschen ist eine Übertragung Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* möglich und bereits nachgewiesen.

Auch wenn bisher nur sehr wenige Fälle beschrieben worden sind, bei denen nutztierassoziierte MRSA zu einer Erkrankung beim Menschen geführt haben, ist eine Risikoabschätzung und die Untersuchung der humanen Kolonisierung für alle betroffenen Berufsgruppen wie Tierärzte, Landwirte oder Mitarbeiter an Schlachthöfen etc. dennoch sinnvoll, um einen möglichen Eintrag resistenter Keime in Krankenhäuser und dadurch eventuell entstehende Gefahren für Patienten und Personal zu minimieren.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Abschätzung der Prävalenz von Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* in bayerischen Schweinebeständen sowie deren Verbreitung bei Landwirten und ihren Familienmitgliedern. Daneben sollen die Isolate typisiert, molekularbiologisch charakterisiert und deren Resistenzspektrum gegenüber humanmedizinisch sowie veterinärmedizinisch verwendeten Antibiotika ermittelt werden. Die erhobenen Befunde und deren Bewertung sollen einen substantiellen Beitrag zur epidemiologischen Risikobewertung der Situation in Bayern sowohl in tierhygienischer als auch humanhygienischer Sicht liefern.

2 Literaturübersicht

2.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus zählt sowohl zu den bedeutendsten human- als auch tierpathogenen *Staphylococcus* spp. (BIBERSTEIN und HIRSH, 1999; HAHN et al., 2001).

Staphylococcus aureus kann auf der Hautoberfläche, in der Maulhöhle, im oberen Respirationstrakt, auf der Vaginal- und Präputialschleimhaut sowie im Darm gesunder Schweine nachgewiesen werden. Bei Infektionen, die durch *Staphylococcus aureus* verursacht werden, handelt es sich in der Regel um Einzeltierkrankungen. Bei Saugferkeln sind Krankheitsbilder wie neonatale Septikämie, die durch subkutane Abszesse oder Nabelentzündungen hervorgerufen werden können, zu beobachten. Bei Sauen kommen - wenn auch nicht sehr häufig - Mastitis und Metritis als Ursache aufsteigender Infektion durch *Staphylococcus aureus* vor (TAYLOR, 2006). KÖHLER und WILLE (1980) gelingt es, *Staphylococcus aureus* aus abortierten Feten und Placenta zu isolieren.

WILLIAMS stellt schon 1963 fest, dass 20% der Bevölkerung dauerhaft und 60% intermittierend mit *Staphylococcus aureus* kolonisiert sind. Nach der Erstbeschreibung von *Staphylococcus aureus* durch den Göttinger Chirurgen Friedrich Julius ROSENBACH (1884) als kausales Agens bei Wundinfektionen bestand aus Mangel an Differenzierungsmöglichkeiten über 50 Jahre lang die Annahme, bei *Staphylococcus aureus* handle es sich um ein obligates Pathogen (WILLIAMS, 1963). Mit der Entwicklung des Plasmakoagulasetestes durch CHAPMAN (1934) gelingt erstmals eine Unterscheidung von pathogenen und nicht-pathogenen *Staphylococcus* spp.. WILLIAMS analysiert 1946 Manifestationsstellen von *Staphylococcus aureus* und kann bei 44% der untersuchten, klinisch gesunden Personen durch Tupferproben nasale Besiedelung sowie in 40% der Fälle eine Besiedelung der Handflächen nachweisen. Auch KLUYTMANS et al. (1997) erachten die vordere Nasenhöhle als ökologische Nische von *S. aureus*. Darüber hinaus ist der Keim sowohl im oberen Respirationstrakt als auch im unteren Urogenitaltrakt sowie gelegentlich im Verdauungstrakt anzutreffen (QUINN et al., 2002). Die Besiedelung von Haut bzw. Schleimhäuten beginnt bereits wenige Tage nach der Geburt. So weisen SIMPSON et al. (1960) am vierten Lebenstag bereits bei 60% und

am zehnten Lebenstag bei 80% der beprobten Säuglinge im Nasenvorhof *Staphylococcus aureus* nach. Die Besiedelung der Haut - vor allem im Bereich des Nabels - geht dabei zeitlich der nasalen Kolonisierung voraus. Somit kann *Staphylococcus aureus* zusammenfassend als Kommensale auf Haut und Schleimhäuten betrachtet werden, wobei die bevorzugte Lokalisation des Keimes beim Menschen die vordere Nasenhöhle darstellt (KLUYTMANS et al., 1997).

2.1.1 Gattungsmerkmale

Bei der zur Familie der Micrococcaceae gehörenden Gattung *Staphylococcus* handelt es sich um grampositive Kugelbakterien mit einem Durchmesser von 0,5 bis 1,5µm. Der Gattungsname „*Staphylococcus*“ entstammt dem griechischen Wort „staphylé“ für Weintraube und weist auf die an eine Weintraube erinnernde haufenförmige Anordnung der Staphylokokken in nach Gram gefärbten Präparaten hin. *Staphylococcus* spp. sind fakultativ anaerob, unbeweglich und bilden keine Dauerformen, gehören aber aufgrund ihrer hohen Tenazität zu den widerstandsfähigsten Keimen innerhalb der nicht sporenbildenden Bakterien (SELBITZ, 2007).

2.1.2 Kulturmorphologie

Staphylococcus aureus wächst in einem weiten Temperaturbereich zwischen 10 und 45°C. Das Temperaturoptimum liegt bei 30 bis 37°C. Er stellt keine großen Ansprüche und wächst auf allen gebräuchlichen nicht-selektiven Nährmedien. Auf Schafblutagar bildet er bei 18 bis 24stündiger Bebrütung mittelgroße, feuchte, weiß bis goldgelb pigmentierte Kolonien mit unterschiedlich ausgeprägter Hämolyse. Eine eindeutige Speziesbestimmung erfordert allerdings eine weitergehende Differenzierung (QUINN et al., 2002; SELBITZ, 2007; BECKER und PETERS, 2009b).

2.1.3 Biochemische Differenzierung

Neben der Kulturmorphologie zeigt eine positive Katalase- und Koagulasetestung mit Kaninchenplasma das Vorliegen von *Staphylococcus aureus* an. Die Abgrenzung von weiteren koagulasepositiven *Staphylococcus* spp. erfolgt durch kommerzielle biochemische Differenzierungspanels (BECKER und PETERS, 2009b).

2.1.4 Zellwandaufbau

Die Zellwand von *Staphylococcus aureus* mit einer Dicke von 15 bis 80nm besitzt ein aus Peptidoglycanmolekülen bestehendes Stützskelett, das sich aus N-Acetylglucosamin und N-Acetylmuraminsäure zusammensetzt und über kurze Peptidketten verknüpft ist. Die Peptidketten bestehen aus den drei Aminosäuren D-Alanin, D-Glutaminsäure und Meso-Diaminopimelinsäure, die zusammen mit der wiederkehrenden Folge von N-Acetylglucosamin und N-Acetylmuraminsäure die Angriffspunkte für Antibiotika darstellen. Außen aufgelagert ist eine dünne Schicht aus Polysacchariden, Teichonsäure und Proteinen (HAHN et al., 2001; KRÜGER und SEIDLER, 2007).

2.1.5 Virulenzfaktoren

Staphylococcus aureus produziert eine Vielzahl von Virulenzfaktoren, die ihn zu einem potenten Krankheitserreger machen. Neben klassischen Wundinfektionen verursacht *Staphylococcus aureus* dabei auch toxinvermittelte Erkrankungen wie das Toxic Shock Syndrome oder teils schwer verlaufende Lebensmittelvergiftungen (HALPIN-DOHNALEK und MARTH, 1989). Nahezu alle Stämme sezernieren Enzyme und Zytotoxine (α -, β -, γ - und δ -Hämolyisin), Nucleasen, Proteasen, Lipasen, Hyaluronidasen sowie Kollagenasen, die dazu dienen, Wirtsgewebe abzubauen, innerhalb von Wunden vorzudringen und Nährstoffe für das bakterielle Wachstum freizusetzen (DINGES et al., 2000). Weitere Virulenzfaktoren dienen der negativen Beeinflussung der Immunabwehr des Wirts. Tabelle 1 gibt einen Überblick über die wichtigsten Virulenzfaktoren von *Staphylococcus aureus*.

Tabelle 1: Virulenzfaktoren von *Staphylococcus aureus* (modifiziert nach FOSTER, 2002)

Virulenzmerkmal	Lokalisation	Angriffspunkt	Wirkung
Protein A	Zellwandassoziiertes Protein	Fc-Stück von Immunglobulin G (IgG)	Hemmung phagozytierender Zellen, Behinderung der Opsonierung
Fibronektin-bindendes Protein	Zellwandassoziiertes Protein	Multiadhäsionsproteine in der extrazellulären Matrix	Ermöglicht Anheftung und Kolonisierung an vielen Orten (z.B. an verletztem Gewebe, Koagula und Thromben)
Kollagen-bindendes Protein	Zellwandassoziiertes Protein	Direkte Bindung an Kollagen	Gewebsbesiedelung

Fibrinogen-bindendes Protein (Clumping Faktor A+B)	Zellwandassoziiertes Protein	Bindung und Aktivierung von Fibrinogen	Aktivierung von Thrombozyten, Aktivierung der Gerinnungskaskade
Koagulase	Oberflächenassoziiertes Exotoxin	Bindet an Prothrombin, bildet Staphylothrombin-Komplexe	Fibrinogenaktivierung Oberflächenanheftung
Elastin-bindendes Protein	Oberflächennahes Exotoxin	Bindet an Bestandteile der extrazellulären Matrix (Elastin)	Beteiligt an Gewebsanheftung
Staphylokinase	Extrazelluläres Protein	Aktivierung der Serin-Protease	Fibrinolyse, erhöht das invasive Potential
α-Toxin	Sekretorisches Protein	Porenbildung in der Membran von Körperzellen, Aktivierung von Zytokinen, Koagulation	Endothelzellschädigung, dermatonekrotische Wirkung, intravasale Koagulation
β-Toxin	Sekretorisches Protein	Sphingomyelinase, zerstört Erythrozyten, Monozyten	Hämolyse, hämorrhagische Organveränderungen sclerale Ödeme
Leukozidin und Y-Toxin (Panton-Valentine-Leukozidin)	Sekretorisches Protein (2 Komponenten)	Stimuliert und zerstört polymorph kernige Leukozyten, zytotoxisch	Dermatonekrose
Exfoliative Toxine	Sekretorische Proteine	Bindung an keratohyaline Granula im Stratum granulosum der Dermis	Exfoliative Dermatitis
Toxisches Schock Syndrom-Toxin 1 und Enterotoxine	Sekretorische Proteine	Superantigene Wirkung, Bindung an MHCII-Rezeptoren, danach starke T-Zell-Aktivierung und Freisetzung von Mediatoren	Immunsuppression, Fieber, toxischer Schock, Emesis, Lebensmittelvergiftungen
DNase	Sekretorisches Protein	Nukleinsäure	Abbau von DNA
Kapsel		Abwehrzellen, Gefäße	Schutz der Bakterienzelle vor Abwehr, Beteiligung an Biofilmen
Katalase	Sekretorisches Protein	Sauerstoffradikale	Hemmung der Wirkung von Sauerstoffradikalen

Die bedeutendsten Virulenzfaktoren von *Staphylococcus aureus* werden im Folgenden näher erläutert.

2.1.5.1 Protein A

Bei Protein A handelt es sich um ein Protein mit einem Molekulargewicht von rund 42000 Da, das kovalent an den Peptidoglycanrest der Zellwand von *Staphylococcus aureus* gebunden ist. Die Bindung des Protein A erfolgt entweder durch direkte Anheftung des Polysaccharid- oder des Tetrapeptid-Anteils an das Peptidoglycan. Es besitzt vier Fc-Bindestellen, die jeweils aus 58 bis 62 Aminosäureresten bestehen. Dadurch wird es dem Protein ermöglicht, an das Fc-Fragment von Immunglobulinen zu binden (SJÖQUIST und HJELM, 1972; GODING, 1978; DEISENHOFER, 1981). Durch die Bindung wirtseigener Antikörper an Protein A verhindert *Staphylococcus aureus* die Erkennung durch Makrophagen und schützt sich somit vor Phagozytose (SELBITZ, 2007). Mittels spa-Typisierung kann die Sequenz eines definierten Genabschnittes, der als polymorphe Region bezeichnet wird, detektiert und die einzelnen *Staphylococcus aureus*-Isolate bestimmten spa-Typen zugeordnet werden. Durch diese Methode kann eine Aussage über die Herkunft der Stämme, epidemiologische Zusammenhänge und Ausbreitung der verschiedenen Stämme getroffen werden (FRENAY et al., 1996).

2.1.5.2 Panton-Valentine Leukozidin

Das Panton-Valentine Leukozidin ist ein porenbildendes Toxin, das von weniger als 5% der *Staphylococcus aureus*-Isolate produziert wird (LINA et al., 1999). Es setzt sich aus zwei Polypeptid-Komponenten (*lukS*-PV und *lukF*-PV) zusammen und weist eine hohe Spezifität für Leukozyten auf. PVL besitzt lytische Aktivität gegen polymorphkernige Zellen, Monozyten und Makrophagen von Menschen und Kaninchen (CRIBIER et al., 1992; KANEKO und KAMIO, 2004). Nachdem beide Komponenten (*lukS* und *lukF*) an die Membran polymorphkerniger Leukozyten gebunden haben, kommt es über Aktivierung eines Calcium-Kanals zum Influx bivalenter Kationen und nach Einlagerung in die Membran zur Porenbildung (STAALI et al., 1998). Die vermehrte Freisetzung von chemotaktischen Faktoren führt über Vasodilatation zum vermehrten Einstrom von Leukozyten in entzündetes Gewebe. Gleichzeitig wird die Produktion von Wasserstoffperoxid gehemmt, woraus schließlich Gewebszerstörung und Zelltod resultieren (PRÉVOST et al., 1995; TOMITA und KAMIO, 1997; GILLET et al., 2002). Im Gegensatz zu den eng verwandten Hämolysinen von *Staphylococcus aureus* ist die hämolytische Wirkung von PV-Leukozidin gering. Häufig ist eine Gewebsnekrose zu beobachten, die vermutlich die Folge des Leukozytenzerfalls ist. Die Autoren stellen einen

Zusammenhang zwischen dem Nachweis von PVL und dem Vorliegen von nekrotisierenden Pneumonien bzw. rezidivierenden Abszessen fest. Einer Studie von WITTE et al. (2007) zufolge, die am Nationalen Referenzzentrum für Staphylokokken durchgeführt wird, kann in Deutschland in den Jahren 2005 bei 1,8% der 2497 sowie, 2006 bei 3,1% (n=71) der untersuchten MRSA das PVL-Gen nachgewiesen werden. Im Gegensatz zu MRSA-Stämmen von Kleintieren und Pferden kann das PVL-Gen bei nutztierassoziierten MRSA im Regelfall nicht gefunden werden (RANKIN et al., 2005; BOOST et al., 2007; DE NEELING et al., 2007; JUHÁSZ-KASZANYITZKY et al., 2007; WITTE et al., 2007; LEWIS et al., 2008; VAN DUIJKEREN et al., 2008).

2.2 Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA)

Bei Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA) handelt es sich um gewöhnliche *Staphylococcus aureus*-Stämme, die eine mobile genetischen Einheit, die *SCCmec*-Kassette mit dem darin enthaltenen *mecA*-Gen aufgenommen und in ihr Genom eingebaut haben. Dadurch erwerben sie Resistenz gegen β -Lactamantibiotika, also Penicilline, Cephalosporine und Carbapeneme (BERGER-BÄCHI, 1999).

2.3 Nachweis von Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA)

2.3.1 Kulturelle Methoden

2.3.1.1 Anzucht

Es besteht die Möglichkeit, Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* genau so wie herkömmliche *Staphylococcus aureus* auf handelsüblichen Nährböden anzuzüchten. Nach 18 bis 24stündiger Bebrütung zeigen sich mittelgroße, feuchte, weiß bis goldgelb pigmentierte Kolonien mit auf Schafblutagar unterschiedlich ausgeprägter Hämolyse, die phänotypisch von non-MRSA-Stämmen nicht zu unterscheiden sind. Zur direkten Anzucht oder zur weiteren kulturellen Differenzierung finden Selektivmedien Verwendung. Durch den Zusatz von Kochsalz, Oxacillin und anderen Antibiotika wird das Wachstum der Begleitflora unterdrückt. Zur Anzüchtung von MRSA stehen Selektivmedien wie chromogene- oder NaCl-Mannitol Agar zur Verfügung. Die Säurebildung aus Mannit wird als Indikator für das Wachstum von *Staphylococcus aureus* angesehen (CHABERNY, 2005). Sofern ein

Wachstum von MRSA-verdächtigen Stämmen vorliegt, müssen diese subkultiviert und weiteren Differenzierungsmethoden unterzogen werden (BECKER und PETERS, 2009a).

2.3.1.2 Resistenzbestimmung

Als Testsubstanz für den Nachweis der Methicillinresistenz findet neben Methicillin und Oxacillin neuerdings immer häufiger Cephoxitin Verwendung. Cephoxitin erhöht die MRSA-Nachweissicherheit bei heterogen-resistenten Stämmen, das heißt, wenn die Methicillinresistenz nur von einer kleinen Zellzahl der im Testansatz enthaltener Stämme exprimiert wird. Sofern der Verdacht auf das Vorliegen Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* besteht, sollte dies durch den molekularbiologischen Nachweis des *mecA*-Gens verifiziert werden (BECKER und PETERS, 2009a).

2.3.2 Molekularbiologische Methoden

2.3.2.1 Nachweis des *mecA*-Gens

Anhand einer real time PCR-Methode kann der Nachweis des Methicillin-Resistenz-Gens (*mecA*-Gen) direkt mit dem Nachweis des für *Staphylococcus aureus* weitestgehend spezifischen *orfX*-Gens in einer PCR-Reaktion verknüpft werden. Beim Vorliegen eines positiven PCR-Nachweises wird damit das Vorhandensein des Methicillin-Resistenzgens und die Spezies „*Staphylococcus aureus*“ bestätigt. (HULETSKY et al., 2004).

2.3.2.2 Sequenzierung der SCC*mec*-Kassette

Eine Möglichkeit der molekularbiologischen Typisierung von MRSA liegt in der Sequenzierung der SCC*mec*-Kassette. Dabei handelt es sich um eine mobile genetische Einheit, die von *Staphylococcus aureus* aufgenommen und ins bakterielle Genom eingebaut wird. Anhand der Einteilung der unterschiedlichen SCC*mec*-Kassetten kann eine Aussage über die Zugehörigkeit in verschiedene MRSA-Gruppen getroffen werden. So werden bei ha-MRSA vornehmlich die SCC*mec* Typen I-III gefunden, wohingegen bei ca-MRSA der SCC*mec* Typ IV und bei la-MRSA SCC*mec* der Gruppen IVa und V am häufigsten vertreten sind (DAUM et al., 2002; VANDESCH et al., 2003; DE NEELING et al., 2007).

2.3.2.3 spa-Typisierung

Die spa-Typisierung ist ein molekularbiologisches Typisierungsverfahren für MRSA-Isolate mit dem Ziel, epidemiologische Zusammenhänge zwischen verschiedenen MRSA-Klonen zu ermitteln (Frenay et al., 1996). Das spa-Gen kodiert für den zellwandständigen Pathogenitätsfaktor Protein A. Das Protein A-Gen beinhaltet am 3'-Ende eine „Repeat-Region“ oder „polymorphe Region Xr“. Durch Amplifikation der „Xr-Region“ mittels PCR und darauf folgender Sequenzierung wird die Bestimmung des spa-Typs ermöglicht. Die Basenabfolge dieser Repeat-Regionen entspricht jeweils einem bestimmten spa-Typ. Da die spa-Typisierung ein schnelles Verfahren ist, um eine Aussage über das Auftreten und Ausbreitung von MRSA-Infektionen treffen zu können, ist sie in der Routinediagnostik bereits sehr weit verbreitet.

2.3.2.4 Multi Locus Sequence Typing (MLST)

Das Multi Locus Sequence Typing (MLST) ist eine von ENRIGHT et al. (2000) entwickelte Methodik, die bei der genomischen Typisierung von Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* verwendet wird. Es handelt sich hierbei um ein Verfahren, bei dem für jedes der zu untersuchenden Isolate sieben einzelne Polymerase-Kettenreaktionen (PCR) durchgeführt werden. Die Gensequenzen von jeweils sieben Housekeeping-Genen (siehe Tabelle 44) mit einer Größe von ungefähr 450-550 Basenpaaren werden mittels PCR amplifiziert und danach sequenziert. Durch den Sequenzabgleich dieser definierten Gene sind Rückschlüsse auf den Verwandtschaftsgrad verschiedener MRSA-Stämme möglich, da die Sequenzen der einzelnen Housekeeping-Gene eine sehr stabile Einheit bilden und sich deshalb für diese Art der Diagnostik eignen. Um einen weltweiten Austausch gewonnener Typisierungsdaten zu ermöglichen, ist eine Internetplattform (www.mlst.net) geschaffen worden. Diese ermöglicht den Austausch der ermittelten molekularen Daten und gewährleistet so die Kontrolle über Verbreitung und Veränderung von MRSA weltweit.

2.3.2.5 Pulsfeldgelelektrophorese (PFGE)

Das Verfahren der Pulsfeldgelelektrophorese ist als „gold standard“ der MRSA-Diagnostik anzusehen. Dabei wird das gesamte Genom von *Staphylococcus aureus* mittels Makrorestriktionsenzymverdauung durch das Enzym *SmaI* in Fragmente geschnitten, die danach mittels Pulsfeldgelelektrophorese entsprechend ihrer Länge bzw. ihres Molekulargewichts aufgetrennt werden. So entsteht für jeden Stamm ein charakteristisches Bandenmuster (genetischer Fingerabdruck). Da es dem Restriktionsenzym *SmaI* nicht gelingt, das Genom nutztierassoziierter MRSA zu schneiden und diese demzufolge nicht durch PFGE typisiert werden können, werden diese auch als NT-MRSA (non typable) bezeichnet. (SCHWARTZ und CANTOR, 1984; BENS et al., 2006)

2.3.3 Einteilung und Vorkommen von MRSA

Die verschiedenen Typen von Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* werden in drei unterschiedliche Gruppen eingeteilt. So unterscheidet man zwischen hospital acquired MRSA (ha-MRSA), community acquired MRSA (ca-MRSA) und einer relativ neuen Gruppe, den „livestock associated MRSA“ (la-MRSA), die bei landwirtschaftlichen Nutztieren allgemein, in erster Linie aber bei Schweinen, vorkommt (BRUMFITT und HAMILTON-MILLER, 1989; LINA et al., 1999; LEE, 2003; LINDE und LEHN, 2006; DE NEELING et al., 2007; MEEMKEN et al., 2008; FRIEDRICH, 2009). Darüber hinaus kann das Vorkommen Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* bei Pferden (HARTMAN et al., 1997; BAPTISTE et al., 2005; O'MAHONY et al., 2005; WEESE et al., 2005a), Hunden, Katzen (BENDER et al., 2005; O'MAHONY et al., 2005; BOOST et al., 2007; WALTHER et al., 2008), Kaninchen, Vögeln, Fledermäusen und auch Reptilien (WALTHER et al., 2008) nachgewiesen werden. Die einzelnen MRSA-Gruppen sind sowohl genetisch als auch anhand ihres klinischen Erscheinungsbildes zu unterscheiden (DAUM et al., 2002; VANDESCH et al., 2003; DE NEELING et al., 2007).

2.3.4 Vorkommen und Bedeutung von MRSA bei Tieren

MRSA-Stämme können bei Tieren aus Infekten des Respirations- und Urogenitaltraktes sowie aus Wundinfektionen vor allem nach operativen Eingriffen isoliert werden (O'MAHONY et al., 2005). Darüber hinaus sind Tiere häufig asymptomatische Träger von MRSA-Stämmen. In den letzten Jahren wird von der

Möglichkeit einer MRSA-Übertragung von Nutz- und Haustieren auf den Menschen berichtet (VAN LOO et al., 2007).

2.3.5 Verbreitung und Übertragung von MRSA bei Schweinen

Den ersten Nachweis über Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* bei Schweinen erbringen VOSS et al. (2005), die im Rahmen eines präoperativen Screenings unerwartet MRSA bei einem Säugling isolieren. Bei der Untersuchung der Eltern, die in der Schweineproduktion tätig sind, sowie den Schweinen des elterlichen Betriebes werden ebenfalls MRSA gefunden, bei denen es sich um dieselben Typen wie beim Kind handelt. Im Verlauf der Studie isolieren die Autoren MRSA bei einem weiteren Schweinehalter, beim Sohn eines im Nutztierbereich tätigen Tierarztes sowie bei einer Krankenschwester des Krankenhauses, in dem der Sohn behandelt wird (VOSS et al., 2005). DE NEELING et al. (2007) und VAN DUIJKEREN et al. (2007) berichten von einem Schweine assoziierten MRSA-Klon, der aus Nasentupfern gesunder Schweine in den Niederlanden isoliert wird und dem MLST (Multi Locus Sequence Typing) Typ ST 398 zugeordnet werden kann.

DE NEELING et al. (2007) untersuchen 540 Schweine an insgesamt neun Schlachthöfen in den Niederlanden und stellen eine MRSA-Einzeltier-Prävalenz von 39%, sowie eine Herden-Prävalenz von 81% fest. Die Autoren isolieren MRSA der spa-Typen t011, t108 und t1254, die alle dem MLST-Typ 398 zugeordnet werden können. ST-Typ 398 wird auch von LEWIS et al. (2008) isoliert, allerdings kann in 46% der Schweine der spa-Typ t034 gefunden werden. KHANNA et al. (2008) stellen in ihrer Studie eine Prävalenz von 24,9% der Tiere sowie eine Herdenprävalenz von 45% in den USA fest. Im Gegensatz dazu ergeben sich einer Studie von MEEMKEN et al. (2008) zufolge in Niedersachsen und Nordrhein-Westfalen wesentlich geringere Einzeltier- (13%) sowie Herden-Prävalenzen (18%). Innerhalb der Herde können sie mehr negative als positive Tiere finden, von denen alle Isolate ausschließlich dem MLST-Typ 398 zugeordnet werden können.

Die Autorengruppe um VAN DUIJKEREN gelangt zu vergleichbaren Ergebnissen. Sie eruieren eine Einzeltier-Prävalenz für MRSA von 11% und eine Herden-Prävalenz von 23% (VAN DUIJKEREN et al., 2008). Die untersuchten Tiere zeigen keine klinischen Symptome, die auf eine Infektion mit *Staphylococcus aureus* schließen lassen. Dennoch sind auch Erkrankungsfälle durch MRSA bekannt. VAN DUIJKEREN et al. (2007) beschreiben den ersten Fall von klinischen Symptomen in

Form einer exsudativen Epidermitis bei Ferkeln, verursacht durch MRSA. Gefahrenpotential im Hinblick auf die Einschleppung von MRSA in einen Bestand sehen ARMAND-LEFEVRE et al. (2005) sowie VAN DUIJKEREN et al. (2007) im Zukauf von infizierten Jungsauen.

Auch in der Haltungsumwelt von Schweinen muss mit dem Vorkommen von MRSA gerechnet werden. CHAPIN et al. (2005) führen eine Luftmessung in einem leeren Schweinestall durch und finden 137 Isolate, von denen 32% als koagulase-negative Staphylokokken identifiziert werden können. Die Stämme zeigen Resistenz gegenüber den antibiotischen Wirkstoffen, mit denen die Tiere zuletzt behandelt worden sind. GIBBS et al. (2006) sowie GREEN et al. (2006) untersuchen die aerogene Übertragung multiresistenter Bakterien in schweinedichten Regionen und können die untersuchten Erreger noch in einer Entfernung von bis zu 150 Metern in Windrichtung nachweisen. Dabei stellen *Staphylococcus aureus* mit 76% den größten Anteil der detektierten Keime dar. Die Autoren sehen in der hohen Konzentration multiresistenter Agentien in der Umgebung sowie Stallungen eine potentielle Gesundheitsgefährdung der exponierten Personen und raten eine Mindestentfernung von 200 Metern zwischen Schweinestallungen und Wohngebieten an (GIBBS et al., 2006; GREEN et al., 2006). Mittels Staubproben untersuchen MUCH et al. (2009) die Verbreitung von MRSA in Zuchtbetrieben in Österreich und stellen eine Prävalenz von 10,3% fest.

2.3.6 Verbreitung und Übertragung von MRSA bei Wiederkäuern

Die erste Beschreibung des Vorkommens von MRSA bei Tieren überhaupt erfolgt 1972 durch DEVRIESE et al., die über eine MRSA-bedingte Mastitis bei Milchkühen aus Belgien berichten. LEE (2003) untersucht das Vorkommen von MRSA bei lebensmittelliefernden Tieren in Korea und findet MRSA-Isolate in Milchproben, wovon die Mehrzahl der Proben von Kühen mit Mastitis stammt. Von HENDRIKSEN et al. (2008) wird das Resistenzverhalten von *S. aureus*-Isolaten bei Rindern in verschiedenen europäischen Ländern untersucht und ein Vorkommen von MRSA in Spanien und Frankreich festgestellt. JUHÁSZ-KASZANYITZKY et al. (2007) untersuchen 595 Milchproben von subklinischen Mastitiden in einer ungarischen Milchviehanlage und isolieren in 375 Fällen *S. aureus*, von denen 26 Isolate als MRSA identifiziert wurden. Darüber hinaus werden Mitarbeiter der Anlage mittels Tonsillentupfern beprobt. Bei einem der Probanden wird der spa-Typ 127, der auch

bei den beprobten Rindern isoliert werden kann, nachgewiesen, was auf eine direkte Übertragung zwischen Menschen und Rinder schließen lässt. Panton-Valentine Leukozidin wird in keinem der Isolate gefunden.

2.3.7 Verbreitung und Übertragung von MRSA bei Pferden

WEESE et al. (2005a) untersuchen über einen Zeitraum von zwei Jahren Nasentupfer von 922 Pferden und 194 Mitarbeitern aus Tierkliniken sowie Zuchtbetrieben und weisen bei 79 Pferden sowie 27 Personen MRSA in den Nasenhöhlen nach. Die Autoren beobachten bei 16% der Pferde sowie 4% der untersuchten Personen klinische Symptome und ordnen 96% der equinen sowie 93% der humanen Isolate dem spa-Typ 7 zu. Das PVL-Gen wird in keinem der Isolate nachgewiesen. Die Forschergruppe um BAPTISTE untersucht 105 Nasen-, Perineal- sowie Hauttupfer von Pferden und findet Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* in elf Fällen. Von den positiven Tieren leiden drei an MRSA-assoziierten Erkrankungen, wie Pleuropneumonie, chronischer septischer Arthritis bzw. chronischer Dermatitis (BAPTISTE et al., 2005). HARTMAN et al. (1997) berichten über den Nachweis von MRSA aus der postoperativ infizierten Wunde eines Pferdes. Den ersten klinischen Fall einer MRSA-bedingten Erkrankung eines Menschen im Zusammenhang mit Pferden schildern WEESE et al. (2005a) bei einer Person mit direktem Kontakt zu infizierten Pferden, was auf eine unmittelbare Übertragung schließen lässt. O'MAHONY et al. (2005) isolieren einen MRSA-Stamm, der sowohl bei Pferden in Tierkliniken als auch bei deren Betreuern nachgewiesen werden kann, aber keinem bekannten Humanstamm entspricht.

2.3.8 Verbreitung und Übertragung von MRSA bei Haustieren

In einer Studie von BOOST et al. (2007) liegt die Besiedelungsrate von Hundebesitzern mit *Staphylococcus aureus* bei einem Anteil von 23,6%, von denen 0,54% Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* zuzuordnen sind. Bei Hunden hingegen wird eine Besiedelungsrate von 8,8% für *Staphylococcus aureus* und 0,72% für MRSA ermittelt. Die Autoren zeigen auf, dass bei Hunden und ihren jeweiligen Besitzern sowohl ha-MRSA als auch ca-MRSA, von denen einige als PVL-Gen tragende Stämme identifiziert werden, nachgewiesen werden können. Sie stellen ein erhöhtes Risiko für MRSA-Besiedelung bei im Gesundheitsdienst tätigen Personen und deren Hunden fest. VAN DUIJKEREN et al. (2004a) isolieren einen

MRSA-Stamm, der starke Homologie zu humanen Stämmen aufweist, aus der Fistel in der Flanke eines Hundes. Erstmals beschreiben VITALE et al. (2006) eine direkte Übertragung von MRSA einer Katze, die drei Monate zuvor in einer Tierklinik antibiotisch behandelt wurde, auf deren Besitzer. Dass es sich hierbei nicht um einen Einzelfall handelt, belegen SING et al. (2008), die bei der Untersuchung eines tiefen, rezidivierenden Abszesses einer Patientin eine Infektion mit MRSA als Ursache ermitteln. Der PVL-positive Stamm des spa-Typs 131 mit SCCmec Typ IV wird auch beim Ehemann und den Kindern der Familie sowie einer im Haushalt lebenden Katze nachgewiesen. Erst nachdem die Katze saniert ist gelingt auch die vollständige Ausheilung der Patientin. BENDER et al. (2005) finden MRSA bei einer Katze mit einem rezidivierenden Abszess an der Gliedmaße, bei dem es sich um denselben MRSA-Stamm handelt, wie er auch in Krankenhäusern in Minnesota vorkommt. O'MAHONY et al. (2005) erbringen den MRSA-Nachweis bei Hund, Katze, Kaninchen und Seehund. Eines der bei Kleintieren gefundenen Isolate entspricht dem am häufigsten vorkommenden MRSA-Stamm in irischen Krankenhäusern. Mittels Pulsfeldgelelektrophorese wird in dieser Studie bewiesen, dass eine direkte Übertragung von MRSA zwischen tierbetreuenden Personen und den Tieren selbst stattfinden kann, da sich die untersuchten Stämme bei Menschen und Tieren nicht voneinander unterscheiden lassen. Tierartübergreifend wird das Vorkommen von MRSA auch in einzelnen Fällen bei Meerschweinchen, einer Schildkröte, einer Fledermaus sowie einem Papagei beschrieben (WALTHER et al., 2008). Das Vorkommen des PVL-Gens bei MRSA von Hunden, einer Katze, einem Kaninchen sowie einem Afrikanischer Graupapagei wird erstmals 2005 festgestellt (RANKIN et al., 2005).

2.3.9 Verbreitung und Übertragung von MRSA bei Geflügel

Den ersten Nachweis Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* bei klinisch gesunden Broilern erbringen NEMATİ et al. (2008) aus Kloaken- und Nasenhöhlenabstrichen. Sie finden die spa Typen t011 und t567, die dem MLST-Typ 398 zugeordnet werden und gehen von einer hohen Prävalenz von MRSA bei Geflügel in Belgien aus. LEE (2003) untersucht das Vorkommen von MRSA in Fleisch, Kot, Futter, Gelenksflüssigkeit und der Trachea von Geflügel und isoliert 53 Stämme von *S. aureus*. Davon werden drei Isolate aus eitrigen Bereichen im Geflügelfleisch bzw. aus Gelenken von Tieren mit Arthritis als MRSA identifiziert. Von

PERSOONS et al. (2009) werden Legehennen und Masthähnchen verschiedener Betriebe mittels Nasenhöhlen- und Kloakenabstrich untersucht. Die Autoren isolieren MRSA, die alle dem MLST-Typ 398 zugeordnet werden können, allerdings nur auf zwei von 14 Hähnchen-Betrieben. In den positiven Herden variiert die Besiedelung der Tiere von 20% bis 100%. Sie schließen, im Gegensatz zu NEMATI et al. (2008), insgesamt auf eine geringe Prävalenz von MRSA bei Geflügel.

2.4 Vorkommen und Bedeutung von MRSA beim Menschen

2.4.1 hospital acquired MRSA (ha-MRSA)

Das Vorkommen von Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus*-Stämmen beim Menschen ist bereits seit 1961 bekannt (BRUMFITT und HAMILTON-MILLER, 1989). Doch seit zwei Jahrzehnten ist ein beachtlicher Anstieg an MRSA-bedingten, nosokomialen Infektionen in Krankenhäusern zu verzeichnen (KIPP et al., 2004). Genetisch können ha-MRSA von anderen MRSA unterschieden werden. Vor allem ältere Menschen können sich während einer stationären Behandlung oder beim Aufenthalt auf Intensivstationen in Krankenhäusern mit MRSA infizieren (FRIEDRICH, 2009). Häufig werden bei ha-MRSA-Patienten Erkrankungen wie Pneumonie, Bakteriämie, Diabetes mellitus, chronische Nierenerkrankungen, Karzinome und Osteomyelitis sowie in der Tiefe sitzende Gewebsentzündungen nachgewiesen (HADDADIN et al., 2002; HUANG et al., 2006). Besondere Risikofaktoren für eine Infektion mit ha-MRSA sind chronische Pflegebedürftigkeit, wiederholte Antibiotikatherapie, Venen- und Blasenkatheter, Dialysepflicht, chronische Haut- und Weichteilinfektionen sowie Übertragung aufgrund mangelnder Hygiene des Krankenhauspersonals (FRIEDRICH, 2009). Um den MRSA-Eintrag und Neuinfektionen von Patienten in Krankenhäuser so gering wie möglich zu halten, wird 2005 in Deutschland das Projekt „EUREGIO MRSA-net Twente/Münsterland“ ins Leben gerufen (<http://www.mrsa-net.org/>), das sich die Erfassung und Reduktion von MRSA zur Aufgabe gemacht hat (FRIEDRICH et al., 2006). Ende 2008 wurde die Landesarbeitsgemeinschaft Multiresistenter Erreger (LARE) in Bayern gegründet (http://www.lgl.bayern.de/gesundheit/doc/konsensusstatement_mre_20081203.pdf), die sich unter anderem mit speziellen Fragestellungen im Umgang mit multiresistenten Erregern beschäftigt und diese interdisziplinär bearbeitet. Die verschiedenen Arbeitsgruppen befassen sich mit Internetauftritt, Basisinformationen

zum Hygienemanagement, Planung und Durchführung entsprechenden Informationsveranstaltungen sowie der Entwicklung von Qualitätssiegeln zum Management antibiotikaresistenter Erreger in Kliniken, Heimen und Arztpraxen.

2.4.2 community acquired MRSA (ca-MRSA)

Ein neues weltweites, von MRSA ausgehendes Risiko ist die ansteigende Verbreitung von MRSA unter Personen, die keinen Kontakt zu medizinischen Einrichtungen haben und bei denen keine Risikofaktoren festgestellt werden können. Zu den betroffenen Gruppen gehören häufig Kleinkinder, Kinder und junge Erwachsene ohne Grunderkrankungen (LINDE und LEHN, 2006). Zum anderen werden MRSA unabhängig von Krankenhäusern und Pflegeheimen auch in der Bevölkerung als symptomlose Besiedler nachgewiesen (www.mrsa-net.org). Ca-MRSA unterscheiden sich sowohl auf klonaler Ebene als auch im Bild der klinischen Erkrankungen von ha-MRSA (WANNET et al., 2005; LINDE und LEHN, 2008).

Im Gegensatz zu ha-MRSA weisen ca-MRSA ein engeres Resistenzspektrum auf, sind aber dennoch für eine Vielzahl von Haut- und Weichteilinfektionen verantwortlich. NAIMI et al. (2001) sowie LINDE und LEHN (2006) beschreiben Erkrankungen wie Hautinfektionen, Abszesse, Cellulitis und oberflächliche Hauterkrankungen wie Impetigo. Darüber hinaus kann eine Beteiligung von ca-MRSA an Otitis media und externa, Infektionen des oberen und unteren Respirationstrakts, Bursitis, Osteomyelitis sowie Bakteriämien nachgewiesen werden. Das von manchen ca-MRSA-Stämmen produzierte Panton-Valentine Leukozidin ermöglicht es dem Erreger, auch in tiefere Gewebeschichten vorzudringen. Die Produktion von PVL ist gehäuft mit nekrotisierenden oberflächlichen Läsionen, nekrotisierender Pneumonie, Furunkeln sowie mit Abszessen in der Haut und im Unterhautgewebe verbunden (LINA et al., 1999; YAMASAKI et al., 2005). Wie eine Studie von HUIJSDENS et al. (2006a) belegt, ist die Übertragung von PVL-positiven ca-MRSA außerhalb von Kranken- und Pflegeeinrichtungen möglich. In den Niederlanden weisen WANNET et al. (2005) einen Anstieg von PVL-positiven MRSA von 5% im Jahr 2000 auf 15% im Jahr 2002 nach.

2.4.3 livestock associated MRSA (la-MRSA)

La-MRSA, die ihr Reservoir in landwirtschaftlichen Nutztieren, besonders im Schwein haben, können auch auf den Menschen übertragen werden. Nicht jede Besiedelung

mit MRSA führt beim Menschen jedoch zwangsläufig zur Erkrankung, wie eine Studie von MEEMKEN et al. (2008) belegt, die zwar bei 23% der untersuchten Menschen eine nasale Besiedlung mit dem MLST-Typ 398 nachweisen, jedoch keine daraus resultierende Erkrankung feststellen können. Berichte über klinische Erkrankungen des Menschen durch Ia-MRSA sind überaus selten. So berichten HUIJSDENS et al. (2006b) über den Nachweis einer MRSA-assoziierten Mastitis einer Landwirtin. Von WELINDER-OLSSON et al. (2008) werden zwei Fälle, bei denen Panton-Valentine Leukozidin-positive (PVL) MRSA des spa-Typs t034 einen Abszess in der Schulter sowie eine Wundinfektion verursachen, beschrieben. Beide Patienten geben an, keinen Kontakt zu Tieren gehabt zu haben.

2.4.4 Verbreitung von Methicillin-resistenten Staphylococcus aureus beim Menschen

Um mehr Aufschluss über die Verbreitung von MRSA in Europa zu erhalten, führen TIEMERSMA et al. (2004) eine Studie durch, in der insgesamt 495 Krankenhäuser in 26 Ländern untersucht werden. Demgemäß liegt die Prävalenz im nördlichen Europa mit <1% wesentlich niedriger als im westlichen sowie im südlichen Europa (>40%). Eine genaue Verteilung von MRSA in europäischen Krankenhäusern ist in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2: Prozentuale Verteilung von MRSA in Krankenhäusern in Europa (modifiziert nach TIEMERSMA et al., 2004)

Land	Berichte über MRSA in % 1999	Berichte über MRSA in % 2002
Belgien	22,1	27,2
Bulgarien	35,1	37,7
Dänemark	0,3	1,0
Deutschland	9,4	19,2
Finnland	1,5	0,8
Griechenland	37,0	48,6
Irland	39,4	45,0
Island	0,0	0,0
Italien	35,2	40,0
Luxemburg	15,0	18,3
Malta	34,7	42,5
Niederlande	0,4	1,0
Österreich	7,0	7,6
Portugal	39,7	38,9
Schweden	1,1	0,7
Slovenien	22,3	14,7
Spanien	28,4	23,5
Tschechische Republik	4,5	6,2
Vereinigtes Königreich	30,5	44,5

In einer Studie von KRESKEN et al. (2006) zeigt sich bei den in Deutschland untersuchten humanmedizinischen Isolaten von 2001 auf 2004 ein Anstieg Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* um 1,9%-Punkte auf insgesamt 22,6%.

2.4.4.1 Verbreitung von MRSA bei beruflich exponierten Personen

Doch nicht nur in Krankenhäusern, sondern zunehmend auch bei Menschen, die berufsbedingt mit Nutztieren zu tun haben, wird über das Vorkommen von MRSA berichtet. VAN LOO et al. (2007) finden 2003 in den Niederlanden einen MRSA-Stamm, der durch Pulsfeldgelelektrophorese, die für die Identifizierung humaner MRSA-Isolate genutzt wird, nicht typisiert werden kann und vermehrt bei Menschen mit Kontakt zu Schweinen auftritt. Zudem stellen die Autoren einen Zusammenhang zwischen dem Auftreten dieses Stammes und der geographischen Häufung von

Schweinezuchtbetrieben fest. Die Autoren liefern durch diese Untersuchung den Hinweis auf eine Übertragung von Schweinen auf den Menschen sowie von Mensch zu Mensch. Die Wahrscheinlichkeit der MRSA-Kolonisierung eines Schweinehaltenden Landwirtes ist ihren Untersuchungen zufolge um mehr als das 760-fache höher als die der durchschnittlichen niederländischen Bevölkerung. In den Niederlanden ist dieser Stamm laut VAN LOO et al. (2007) für mehr als 20% der beim Menschen vorkommenden Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* verantwortlich. ARMAND-LEFEVRE et al. (2005) untersuchen die nasale Besiedelung mit *Staphylococcus aureus* von Landwirten in Frankreich und finden bei 57% der Landwirte analoge Stämme zu denen bei Schweinen nachgewiesenen. Die Isolate können den MLST-Typen 398, 9 und 433 zugeordnet werden. Da keiner dieser MLST-Typen aus Personen der Kontrollgruppe isoliert werden kann, schließen die Autoren auf einen hohen bakteriellen Austausch zwischen Landwirten und Schweinen. Inwieweit das Auftreten von MRSA an berufsbedingte Exposition geknüpft ist, untersuchen WULF et al. (2007) im Rahmen eines internationalen veterinärmedizinischen Kongresses. Hierbei können 34 (12,5%) der beprobten Teilnehmer aus neun Ländern als Träger Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* identifiziert werden. Von den Teilnehmern werden 31 spa-Typen, die dem MLST-Typ 398 zuzuordnen sind, isoliert. Auch MEEMKEN et al. (2008) untersuchen die Verbreitung von MRSA bei exponierten Tierärzten und landwirtschaftlichem Personal und stellen bei Personen eine Gesamtprävalenz von 23% fest. Dabei liegen Personen mit Kontakt zu lebenden Schweinen mit 38% über dem Gesamtdurchschnitt der untersuchten Berufszweige. Klinische Symptome können bei keiner der beprobten Personen diagnostiziert werden. KHANNA et al. (2008) stellen eine Korrelation zwischen MRSA-positiven Betrieben und den zugehörigen Landwirten fest und können 59,2% der Isolate dem spa-Typ t034 zuordnen. SPRINGER et al. (2009) verzeichnen in den letzten Jahren eine Zunahme von MRSA des Sequenztyps 398 bei Nutztieren in Österreich und stellen einen Zusammenhang zwischen Besiedelung und dem Auftreten von Infektionen bei den Tierhaltern her. Allerdings können die Autoren unter den 21 seit 2006 gefundenen Humanisolaten nur bei einem geringen Teil gleichzeitig bestehende MRSA-assoziierte Krankheitssymptome feststellen. LEWIS et al. (2008) sehen in Schweinen eine Quelle für MRSA in Dänemark und stellen fest, dass bei beruflich exponierten Personen ein erhöhtes Risiko einer MRSA-Besiedelung besteht. HANSELMAN et al. (2006)

untersuchen die Verbreitung von MRSA bei tierärztlichem Fachpersonal und stellen eine höhere Prävalenz bei Personen, die in der Großtierpraxis (15,6%) arbeiten gegenüber Personen, die mit Kleintieren arbeiten (4,4%) fest. Dabei zeigt sich, dass CMRSA-5 (ST 8), auch bekannt als USA500, ein bei Menschen und Pferden in Kanada häufig nachgewiesener MRSA Stamm (WEESE et al., 2005a; WEESE et al., 2005b), vermehrt bei Personen, die in der Großtierpraxis tätig sind, vorkommt. Bei Personen aus dem Kleintierbereich ist CMRSA-2 (ST 5), ein ca-MRSA Stamm, der in Kanada bei Hunden, Katzen und Menschen in tierärztlichen Einrichtungen sowie in der Bevölkerung weit verbreitet ist, am häufigsten zu isolieren (WEESE et al., 2006). AUBRY-DAMON et al. (2004) weisen bei Schweine haltenden Landwirten im Vergleich zu anderen Berufsgruppen sowohl signifikant häufiger *Staphylococcus aureus* aus dem Nasen-Rachenraum als auch vermehrte Antibiotikaresistenzen bei bakteriellen Kommensalen nach.

2.5 Resistenz von *Staphylococcus aureus*

2.5.1 Allgemeine Resistenzsituation

Während 1941 weltweit noch nahezu alle Stämme von *Staphylococcus aureus* sensibel gegenüber Penicillin G waren, ist das Bakterium bereits 1944 in der Lage, mittels β -Lactamasen Penicillin zu inaktivieren (LYON und SKURRAY, 1987). Ende der 50-er Jahre reagiert die pharmazeutische Industrie auf die zunehmenden Resistenzen gegen das natürliche Penicillin mit der Herstellung eines halbsynthetischen Derivates, dem Methicillin. Jedoch bereitet schon in den 80-er Jahren die Behandlung von MRSA-Stämmen massive Probleme und Fluorquinolone, in erster Linie Ciprofloxacin, werden verstärkt zur Therapie eingesetzt (LYON und SKURRAY, 1987; NEU, 1992). Seit Ende der 70-er Jahre wird auch vermehrt Vancomycin als Mittel der Wahl gegen MRSA-Infektionen eingesetzt, was 1996 zur Isolation der ersten Vancomycin-intermediären MRSA führte (HIRAMATSU et al., 1997; SIERADZKI et al., 1999; SMITH et al., 1999). Als eine der ersten berichten TENOVER et al. (2004) aus dem Jahr 2002 über Vancomycin-resistente *S. aureus*. Im humanmedizinischen Bereich werden deutschlandweit jährlich etwa zwischen 250 und 300t antibiotisch wirksame Substanzen eingesetzt. Dennoch liegt Deutschland im europäischen Vergleich im unteren Drittel des Verbrauchs im ambulanten Bereich. Amoxicillin ist die am häufigsten verordnete Substanz, wobei der Anteil von

Oralcephalosporinen und Fluorquinolonen um 30% gestiegen ist (KERN und SCHRÖDER, 2008).

In der Tiermedizin ist beim Verbrauch antibiotischer Wirkstoffe in den Jahren 2003 bis 2005 ein Anstieg von 8,3% auf 784,4t zu verzeichnen, wovon allein der Anteil an oral verabreichtem Tetracyclin rund 50% beträgt. Damit sind Tetracycline die meist verwendeten Wirkstoffe in der Tiermedizin. Mit einem Anteil von 25,4% stehen β -Lactam-Antibiotika an zweiter Stelle der in den Jahren 2003 bis 2005 in der Veterinärmedizin eingesetzten Medikamente (SCHNEIDEREIT, 2008).

2.5.2 Resistenz von *Staphylococcus aureus* gegen β -Lactam-Antibiotika

Grundsätzlich können zwei Resistenzmechanismen von *Staphylococcus aureus* gegen β -Lactam-Antibiotika unterschieden werden. Zum einen können durch Penicillinase, die in mehr als 80% aller klinischen Staphylokokkenisolate nachgewiesen wird, Penicilline, Aminopenicilline und Ureidopenicilline inaktiviert werden. Methicillin, Oxacillin sowie Cephalosporine und Carbapeneme werden hingegen den Penicillinase-festen Penicillinen zugeordnet und durch das Enzym weitestgehend nicht beeinträchtigt (GEISS et al., 2004). Ein weiterer Mechanismus der β -Lactam-Resistenz beruht daher auf der Herstellung neuer penicillinbindender Proteine (PBP) (HARTMAN und TOMASZ, 1984). Das bei MRSA vorhandene *mec*-Gen codiert für die Synthese von PBP2a und wird von der Bakterienzelle über eine mobile genetische Einheit, die *SCCmec*-Genkassette (Staphylococcal cassette chromosome) aufgenommen und ins Chromosom integriert.

Penicillinbindende Proteine sind Transpeptidasen, die für die Quervernetzung der Peptidoglykanstruktur der bakteriellen Zellwand zuständig sind. β -Lactam-Antibiotika binden mit hoher Affinität an die PBPs der bakteriellen Membran und stören auf diesem Wege die Mureinsynthese (BERGER-BÄCHI, 1999). Durch diese β -Lactam-Antibiotika wird in MRSA jedoch die Bildung von PBP2a induziert, das seinerseits nur eine sehr geringe Affinität zu Antibiotika dieser Stoffgruppe aufweist (HIRAMATSU et al., 2002). Aufgrund der Tatsache, dass dadurch keine klinisch relevanten Antibiotika-Konzentrationen gebunden werden können, kann der Aufbau der bakteriellen Zellwand weiterhin unbeeinträchtigt stattfinden (ZHANG et al., 2001).

2.5.3 Resistenz von *Staphylococcus aureus* gegen nicht- β -Lactam-Antibiotika

2.5.3.1 Aminoglycoside

Aminoglycoside, zu denen Vertreter wie Gentamicin, Streptomycin, Kanamycin, Neomycin, Apramycin und Spectinomycin zählen, sind bakterizid wirksame Substanzen, die an der 30S-Untereinheit der bakteriellen Ribosomen binden und dort zu einer fehlerhaften Proteinsynthese führen. Dabei wird die Proteinsynthese nicht blockiert, sondern lediglich umgeleitet, was zur Entstehung so genannter „Nonsense-Proteine“ führt (KROKER et al., 2002; STAHLMANN und LODE, 2004). Bei porcinen *Staphylococcus aureus*-Isolaten kann im Vergleich zu Rindern generell eine höhere Resistenz gegenüber Aminoglycosiden beobachtet werden (PREIKSCHAT et al., 2008). DE NEELING et al. (2007) untersuchen die *Staphylococcus aureus*-Resistenz bei Schweinen gegenüber Aminoglycosiden und weisen bei 36% der MRSA-Isolate Kreuzresistenzen zwischen Kanamycin und Gentamicin nach. Darüber hinaus besteht bei allen bis auf ein Isolat Kreuzresistenz gegenüber Tobramycin.

2.5.3.2 Tetracycline

Tetracycline zählen zu den bakteriostatisch wirkenden Antibiotika, die über aktive Transportsysteme in die Bakterienzelle gelangen. Intrazellulär binden sie an die 30S-Untereinheiten der bakteriellen Ribosomen und hemmen dort die Bindung der Aminoacyl-t-RNA an der ribosomalen Akzeptorstelle. Die Folge ist eine Hemmung der Proteinsynthese (KROKER et al., 2002). Die von PREIKSCHAT et al. (2008) in Bayern untersuchten porcinen Isolate von *Staphylococcus aureus* weisen eine Resistenz von 20% gegenüber Doxycyclin auf. DE NEELING et al. (2007) untersuchen 44 MRSA-Isolate von Schweinen und stellen fest, dass die getesteten Isolate intermediär bis resistent gegen Doxycyclin sowie in 100% der Fälle resistent gegen Tetracyclin sind. LEWIS et al. (2008) berichten ebenfalls über hohe Tetracyclinresistenz in den von ihnen untersuchten Humanisolaten von beruflich exponierten Personen. Beide Autoren erachten den vermehrten Einsatz von Tetracyclinen in der Schweinemast als mögliche Ursache.

2.5.3.3 Makrolide

Der Ansatzpunkt der antimikrobiellen Wirkung der Makrolide ist die 50S-Untereinheit der bakteriellen Ribosomen. Durch kovalente Bindung an Proteine des Peptidyltransferase-Zentrums wird die Proteinsynthese während der Elongationsphase behindert. Durch diese Bindung wird die Translokation der Peptidyl-t-RNA von der Akzeptorstelle zur Donorstelle gestört, was zu einer Arretierung der Proteinsynthese führt (STAHLMANN und LODE, 2004). Bei Staphylokokken kann eine bereits während der Therapie mit Erythromycin einsetzende Resistenzentwicklung beobachtet werden (KROKER, 2006). Auch der Einsatz von Makroliden nimmt von 2003 bis 2005 zu und beträgt 6,7% des Gesamtverbrauchs an Antibiotika. Dabei wird festgestellt, dass 13% der porcinen Stämme von *Staphylococcus aureus* und *Staphylococcus hyicus*, die bei Infektionen des Urogenitaltraktes und bei Metritis-Mastitis-Agalaktie isoliert werden, Resistenz gegen Erythromycin aufweisen (SCHWARZ, 2008).

2.5.3.4 Lincosamide

Lincosamide binden an die 50S-Untereinheiten der Ribosomen und blockieren die Reaktion zwischen Aminoacyl-t-RNA und dem Peptidyltransferase-Zentrum, was zur Störung der Proteinsynthese und der daraus resultierenden bakteriostatischen Wirkung führt. Lincosamide und Makrolide teilen sich in ihrem Wirkmechanismus dieselbe Bindungsstelle im Bakterium, weshalb es bei diesen beiden Stoffgruppen zu einer funktionellen Interferenz kommen kann. Häufig kann bei Lincomycin-resistenten Stämmen auch eine Erythromycinresistenz festgestellt werden, was im Umkehrschluss aber nicht zwingend bedeutet, dass bei Erythromycin-resistenten Stämmen auch eine Lincosamidresistenz vorliegt (STAHLMANN und LODE, 2004). DE NEELING et al. (2007) weisen bei 23% der untersuchten Isolate aus Schweinen Kreuzresistenzen zwischen Erythromycin und Clindamycin nach. Über signifikant höhere Clindamycin-Resistenz von NT-MRSA gegenüber anderen MRSA-Stämmen aus der Kontrollgruppe berichten auch VAN LOO et al. (2007).

2.5.3.5 Polypeptide

Zu dieser Stoffgruppe zählen antibiotische Wirkstoffe wie Colistin oder Polymyxin B, die mit bakteriellen Phospholipidkomponenten in der Cytoplasmamembran reagieren. Diese Störung der Membranfunktion ermöglicht ihnen ein bakterizides Wirkspektrum in erster Linie gegenüber *Pseudomonas aeruginosa* sowie Enterobacteriaceae. Aufgrund ihrer Nephro- und Neurotoxizität werden sie in der Humanmedizin jedoch bevorzugt lokal und nicht systemisch angewendet (STAHLMANN und LODE, 2004). In der Tiermedizin finden Colistin und Polymyxin bei *E. coli*- und Salmonellenbedingten Darmerkrankungen als Lokalantibiotika Verwendung (KROKER, 2006).

2.5.3.6 Fenicole

Zur Gruppe der Fenicole gehören Chloramphenicol und Florfenicol. Ersteres zeigt einen bakteriostatischen Wirkmechanismus durch Bindung an die 50 S-Untereinheit der bakteriellen Ribosomen und daraus resultierender Blockade der Proteinbiosynthese. Jedoch wird die Anwendung beim Menschen aufgrund schwerwiegender Nebenwirkungen limitiert. Dennoch wird es bei Infektionen des Auges oder des Zentralnervensystems beim Menschen und nicht lebensmittelliefernden Tieren noch eingesetzt. Der Einsatz von Chloramphenicol ist beim lebensmittelliefernden Tier verboten. Stattdessen wird seitdem in der Tiermedizin die Substanz Florfenicol angewendet. In erster Linie kommt es aufgrund R-Plasmid-vermittelter Bildung von Chloramphenicol-modifizierenden Enzymen zur Resistenzentwicklung. Häufig handelt es sich dabei auch um Mehrfachresistenzen gegen Tetracycline, Aminoglykosidantibiotika und Ampicillin (STAHLMANN und LODE, 2004). Im Rahmen einer bayernweiten Studie können bei Schweine- und Rinder-Isolaten ebenfalls Resistenzen gegen Florfenicol beobachtet werden, wenn auch nicht in dem Umfang wie sie bei Tetracyclinen vorliegen. Florfenicol-Resistenzen sind mit einem prozentualen Anteil von 5% im Vergleich zu anderen Stoffgruppen im unteren Bereich anzusiedeln (PREIKSCHAT et al., 2008).

2.5.3.7 Sulfonamide

Durch den massenhaften Einsatz dieser Gruppe von Chemotherapeutika kommt es bereits kurz nach ihrer Einführung in die antimikrobielle Therapie 1935 zur Resistenzentwicklung. Deshalb steht seit 1965 die kombinierte Anwendung mit Trimethoprim im Vordergrund. Der synergistische Wirkeffekt beider Substanzen wird auch als Sequenzialeffekt bezeichnet. Dabei wird die bakterielle Folsäuresynthese

an zwei nacheinander stattfindenden Synthesevorgängen gehemmt. In der Konsequenz wird die Neubildung von DNA und RNA verhindert. Während der Wirktyp der Sulfonamide allein nur bakteriostatisch ist, wird durch die Kombination mit Trimethoprim ein additiver Effekt erreicht, der neben einer verringerten MHK auch eine bakterizide Wirkung auf empfindliche Erreger bewirkt. Das Wirkspektrum umfasst unter anderem Staphylokokken, Pneumokokken, Yersinien, *E.coli*, Salmonellen und weitere Enterobacteriaceae. Darüber hinaus erfassen Sulfonamide auch verschiedene Protozoenarten wie *Toxoplasma gondii* oder Kokzidien. Da der Wirkmechanismus der Sulfonamide in einer kompetitiven Verdrängung der p-Aminobenzoessäure (PABA) resultiert, reagieren resistente Keime mit der exzessiven Bildung von PABA oder der Synthese von Isoenzymen mit verringerter Affinität zu Sulfonamiden (STAHLMANN und LODE, 2004; KROKER, 2006). In der Tiermedizin entfällt auf Sulfonamide inklusive Trimethoprim ein Anteil von 12,4% am Gesamtantibiotikaverbrauch. Sulfamethoxazol und Trimethoprim/Sulfamethoxazol liegen mit einem Resistenzanteil von 4% gegenüber *Staphylococcus aureus* sowie *Staphylococcus hyicus*, die bei Erkrankungen des Metritis-Mastitis-Agalaktie-Komplexes sowie Infektionen des Urogenitaltraktes von Schweinen gefunden werden, im unteren Bereich der Gesamtresistenzen (SCHNEIDEREIT 2008; SCHWARZ, 2008).

2.5.3.8 Chinolone

Zur Gruppe der Chinolone, die auch als „Gyrasehemmer“ bezeichnet werden, werden Wirkstoffe wie Rifampicin, Enrofloxacin und Marbofloxacin gezählt. Der Angriffspunkt dieser Substanzen ist das bakterielle Enzym Topoisomerase II, das die Aufspaltung von Zucker-Phosphat-Bindungen beider DNA-Stränge und eine daran angeschlossene Wiederverknüpfung und Verdrillung der jetzt in Schleifen gelegten DNA bewirkt. Durch dieses „supercoiling“ wird es den Bakterien möglich, DNA schnell zu replizieren und zu synthetisieren (STAHLMANN und LODE, 2004; KROKER, 2006). Der Verbrauch an Fluorchinolonen in der Tiermedizin liegt mit einer jährlichen Menge von 3,7t deutlich unter den 25t die jährlich im ambulanten Bereich der Humanmedizin eingesetzt werden (KERN und SCHRÖDER, 2008). Bei humanmedizinischen MRSA-Isolaten kann im Zeitraum 2002-2006 ein kontinuierlicher Anstieg an Ciporfloxacin-Resistenz verzeichnet werden (WITTE, 2008).

2.5.3.9 Glycopeptide

Vancomycin und Teicoplanin finden als Reserveantibiotika gegen Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* sowie gegen multiresistente Enterokokken-Stämme in der Humanmedizin Verwendung. Sie binden an die D-Alanyl-D-Alanin-Gruppen von Zellwandproteinen, blockieren die Quervernetzung zum Peptidoglycangerüst und hemmen somit den Zellwandaufbau grampositiver Keime. Der Einsatz von Avoparcin, ebenfalls ein Glykopeptid, fand bis 1996 als Leistungsförderer in der Tiermast Verwendung, ist seitdem in der EU aber verboten (STAHLMANN und LODE, 2004).

HIRAMATSU et al. (1997) berichten über den ersten MRSA mit reduzierter Empfindlichkeit gegen Vancomycin aus infiziertem Wundmaterial. Die bei Schweinen vorkommenden MRSA weisen keine Resistenz gegen Vancomycin oder Teicoplanin auf (LEE, 2003; DE NEELING et al., 2007; BfR, 2009).

3 Material und Methoden

3.1 Probenplan und Probenmaterial

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde das Vorkommen von MRSA bei Schweinen unterschiedlicher Altersklassen und Nutzungsrichtungen aus 60 landwirtschaftlichen Betrieben in Bayern untersucht. Bei der Beprobung wurde auf eine homogene Verteilung der Betriebe auf alle sieben bayerischen Regierungsbezirke und auf ein ausgewogenes Verhältnis der verschiedenen Produktionsstufen (Ferkelerzeugung, Mast, geschlossene Betriebssysteme) geachtet. Aus jedem Betrieb wurden die Nasentupfer von zehn Schweinen untersucht. In Ferkelerzeugungsbetrieben wurden jeweils fünf Sauen und Ferkel des entsprechenden Wurfes beprobt. Die zehn Tupferproben in Mastbeständen wurden über Tiere verschiedener Altersklassen und unterschiedliche Stallabteile im Betrieb verteilt, um eine möglichst repräsentative Probenauswahl innerhalb der Population zu erreichen. In geschlossenen Betriebssystemen wurden entweder Sauen und deren Ferkel oder die Mastschweine in unterschiedlichen Altersstufen beprobt. Die ausgewählten Tiere wiesen in keinem Fall klinische Symptomatik auf, die auf eine Infektion oder Erkrankung mit *Staphylococcus aureus* hätten schließen lassen.

In den ersten zwei der 60 zu untersuchenden Bestände wurden im Rahmen von Voruntersuchungen mehr als zehn Tiere beprobt, um die Prävalenz Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* einschätzen und die Probennahme der folgenden Betriebe festlegen zu können. So wurden im ersten Betrieb zehn Sauen und 25 Ferkel sowie zehn Sauen und zehn Ferkeln im zweiten Betrieb beprobt. In einem Fall wurde aufgrund massiver Abwehrbewegungen einer zu beprobenden laktierenden Sau aus Tierschutzgründen auf die Probennahme verzichtet. So beschränkte sich die Beprobung auf eines ihrer Ferkel sowie weiterer vier Sauen des Bestandes mit dazugehörigen Ferkeln.

Neben Nasentupfern wurden von 58 Ferkeln zusätzlich Tonsillentupfer gezogen, um diese beiden Nachweismethoden miteinander zu vergleichen. Zur Beurteilung der Haltungsumwelt und zur Eruiierung von Reservoiren und Übertragungsmöglichkeiten wurden neben Beißketten auch Rachentupfer von Hunden und Katzen überprüft. Für jeden der untersuchten Betriebe wurde zusammen mit dem Betriebsinhaber ein Betriebsfragebogen nach Anlage 1 ausgefüllt, bei dem insbesondere

Haltungsbedingungen, Hygienemaßnahmen, das Auftreten von Erkrankungen bei Einzeltieren sowie Bestandsprobleme der entsprechenden Altersgruppen erfasst wurden. Darüber hinaus beinhaltete die Befragung den Medikamenteneinsatz, die zur Einzeltierbehandlung oder zur metaphylaktischen Medikation bestimmter Altersgruppe verwendet wurden. Zielsetzung der Befragung war es, eventuell bestehende Zusammenhänge zwischen dem Auftreten Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* im Bestand und betriebstechnischen sowie tierhygienischen Abläufen zu erfassen und auszuwerten.

Die Tierbesitzer und deren Familienangehörige wurden gebeten, ihren MRSA-Status ebenfalls überprüfen zu lassen. Die Beprobung erfolgte freiwillig durch die Selbstentnahme eines Nasentupfers. Jeder Studienteilnehmer gab eine Einverständniserklärung nach Anlage 2 ab und erhielt ein Merkblatt (siehe Anlage 3). Alle positiv beprobten Teilnehmer wurden durch humanmedizinisches Fachpersonal des LGL ausführlich bezüglich MRSA-Infektionen beraten. Zusätzlich wurden diese Personen anhand eines Fragebogens (siehe Anlage 4) zum Vorliegen potentiell MRSA-bedingter Erkrankungen befragt.

3.2 Probenentnahme und Transport

Zur Probengewinnung bei Sauen und Mastschweinen wurden diese mittels Oberkieferschlinge (Fa. Schippers, Kerken) fixiert und je Tier ein steriler Tupfer (108C.USE single plastic swab, Fa. Copan, Brescia, Italien) nacheinander in beide Nasenöffnungen eingeführt. Ferkel sowie kleinere Tiere bis zu einem Gewicht von ca. 20 Kilogramm wurden zur Beprobung von einer zweiten Person gehalten. Die Tupferentnahme aus dem Nasenvorhof erfolgte auch bei diesen Tieren in gleicher Art und Weise. Zum Nachweis der MRSA-Besiedelung bei Landwirten wurden Abstriche aus dem Nasenvorhof durchgeführt. Die Tupfer wurden unmittelbar nach Entnahme in Transportmedium nach Amies verbracht, auf 8°C gekühlt ins Labor transportiert und dort unverzüglich weiterbearbeitet.

3.3 Bakteriologische Untersuchungen

Die in der vorliegenden Studie verwendeten Reagenzien sind in Anlage 5 aufgeführt.

3.3.1 Anzucht und Isolierung von *Staphylococcus aureus*

Die Tupfer wurden im Direktausstrich auf Brilliance MRSA-Agar (Fa. Oxoid, Wesel) angezüchtet und anschließend in MRSA-Ident-Bouillon (Fa. heipha, Eppelheim) verbracht.

Die beimpften Agarplatten sowie die MRSA-Ident-Bouillon wurden für 20-24 Stunden bei 37°C unter aeroben Bedingungen inkubiert. Bei MRSA-typischem Wachstum (blaugraue Kolonien mit einem Durchmesser von ca. 2mm) wurden diese Kolonien auf Blutagar subkultiviert und 18-24 Stunden bei 37°C aerob bebrütet. Im Falle des für *Staphylococcus aureus* speziesspezifischen Wachstumsverhaltens (weiß bis gelb pigmentierte, mittelgroße, feuchte Kolonien mit biphasischer Hämolysezone) wurde das Vorliegen des *mec*-Gens mittels real time-PCR wie unter 3.4.1 beschrieben durchgeführt. Bewachsene MRSA-Bouillon wurde ungeachtet des für MRSA-typischen blauen Farbumschlags in jedem Fall nach 18-24stündiger aerober Bebrütung bei 37°C auf Brilliance-MRSA-Agar subkultiviert und dieser wie oben beschrieben bebrütet und ausgewertet.

3.3.2 Stammasservierung

Die als MRSA-positiv getesteten Bakterienstämme wurden auf Schafblutagar angezüchtet und über Nacht bei 37°C bebrütet. Mit sterilen Wattetupfern (Fa. Biomerieux, Nürtingen) wurde reichlich Bakterienmaterial abgenommen und in Cryobank-Röhrchen (Fa. Mast Diagnostica Laboratoriums-Präparate GmbH, Reinfeld) homogen suspendiert. Nach fünfminütiger Inkubation bei Raumtemperatur wurde die enthaltene Flüssigkeit mit sterilen Einwegpipetten (Fa. Biomerieux, Nürtingen) abgezogen und verworfen. Die Röhrchen wurden anschließend bei -80°C eingelagert.

3.3.3 Biochemische Differenzierung und Empfindlichkeitsprüfung gegenüber humanmedizinisch relevanten Antibiotika

Die biochemische Differenzierung der das *mecA*-Gen tragenden Isolate wurde kombiniert mit ihrer Empfindlichkeitsprüfung gegenüber humanmedizinisch relevanten Antibiotika mittels BD PhoenixTM-System (Fa. Becton Dickinson, Heidelberg) unter Verwendung des Combo-Panels PMIC/ID-60 (Fa. Becton Dickinson, Heidelberg) durchgeführt. Die in diesem Panel enthaltenen Antibiotika und Chemotherapeutika sind in Tabelle 3 aufgeführt. Die Empfindlichkeitsprüfung erfolgte als Bestimmung der MHK (minimale Hemmkonzentration), also der Wirkstoffkonzentration in µg/ml, bei der kein Bakterienwachstum mehr nachzuweisen ist.

Tabelle 3: Liste der überprüften humanmedizinisch relevanten Antibiotika bzw. Chemotherapeutika

Antibiotikum	Abkürzung	Getestete Konzentrationsstufen (µg/ml)
Cefoxitin	FOX	2-8
Daptomycin	DAP	1-4
Erythromycin	E	0,25-4
Fosfomycin	FF	16-64
Fusidinsäure	FA	2-16
Gentamicin	GM	0,5-8
Kanamycin	K	4-16
Levofloxacin	LVX	0,5-4
Lincomycin	L	1-8
Linezolid	LZD	0,5-4
Moxalactam	MOX	2-16
Oxacillin	OX	0,25-2
Penicillin	P	0,125-0,5
Pristinamycin	PR	0,25-2
Rifampin	RA	0,5-16
Teicoplanin	TEC	1-32
Tetracyclin	TE	0,5-8
Tobramycin	NN	1-4
Trimetoprim/ Sulfamethoxacol	SXT	2/38-8/152
Vancomycin	VA	1-32

3.3.3.1 Durchführung

Die Testdurchführung erfolgte entsprechend der Vorgaben des Herstellers. Die Combo-Panels PMIC/ID-60 (Fa. Becton Dickinson, Heidelberg) wurden mit der jeweiligen Probennummer versehen und auf die Inokulationsstation gelegt. Die BD PhoenixTM-ID Broth-Röhrchen sowie die BD PhoenixTM-AST-Röhrchen wurden in die dafür vorgesehenen Vertiefungen gestellt. Von einer über Nacht bebrüteten Reinkultur des zu testenden Stammes wurden so viele Kolonien mit sterilem Wattetupfer (Fa. Biomerieux, Nürtingen) in BD PhoenixTM-ID Broth 4,5ml (Fa. Becton Dickinson, Heidelberg) suspendiert, bis eine dem McFarland Standard von 0,5 entsprechende Keimdichte erreicht war. Die Überprüfung erfolgte mittels PhoenixSpec Nephelometer (Fa. Becton Dickinson, Heidelberg). Von dieser Bakteriensuspension wurden 25µl in BD PhoenixTM-AST (Fa. Becton Dickinson, Heidelberg) überpipettiert, die zuvor mit einem Tropfen BD PhoenixTM-AST Indicator Solution (Fa. Becton Dickinson, Heidelberg) versetzt worden war. Beide Suspensionen wurden in die jeweils vorgesehenen Teile des Combo-Panels eingebracht und das fertig beschickte Panel in das System eingegeben.

3.3.3.2 Auswertung

Das Gerät testete vollautomatisch über einen Zeitraum von 12 Stunden in regelmäßigen Abständen den Fortgang der biochemischen Umsetzungen sowie das Wachstum des enthaltenen Keimes in den verschiedenen Antibiotikallösungen. Nach Beendigung des Tests wurden die gewonnenen Daten gespeichert, vom System entsprechend seiner internen Datenbank und des programmierten Regelwerks geprüft, ausgewertet und als Befundbericht ausgedruckt.

3.3.4 Empfindlichkeitsprüfung gegenüber veterinärmedizinisch relevanten Antibiotika

Die Empfindlichkeitsprüfung gegenüber veterinärmedizinisch relevanten Antibiotika erfolgte im Mikrodilutionsverfahren mittels des MICRONAUT-Systems (Fa. Genzyme-Virotech, Rüsselsheim) unter Verwendung der Mikrotiterplatte MICRONAUT-S Großtiere (Bestellnr. M/E1-792-100). Die Belegung dieser Mikrotiterplatte entspricht den Empfehlungen des Arbeitskreises „Antibiotikaresistenz“ der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (Empfindlichkeitsprüfung von Bakterien gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen, Vorschläge zur Belegung der Mikrotiterplatten (Layout) in der Routinediagnostik der DVG-Arbeitsgruppe

„Antibiotikaresistenz“, Deutsches Tierärzteblatt 3/2004, 253-254). Die überprüften Antibiotika und Chemotherapeutika sind in Tabelle 4 aufgeführt.

Tabelle 4: Liste der überprüften veterinärmedizinisch relevanten Antibiotika bzw. Chemotherapeutika

Antibiotikum	Abkürzung	Getestete Konzentrationsstufen (µg/ml)
Amoxicillin/Clavulansäure	AMC	2/1-32/16
Ampicillin	AMP	0,125-32
Apramycin	APR	8-32
Cefquinom	CEQ	1-8
Ceftiofur	CET	1-8
Cephalothin	CTN	4-32
Clindamycin	CLI	0,25-4
Colistin	COL	0,5-4
Enrofloxacin	ENR	0,063-2
Erythromycin	ERY	0,125-8
Florfenicol	FLL	1-8
Gentamycin	GEN	2-16
Neomycin	NEO	8-32
Penicillin G	PEN	0,063-16
Spectinomycin	SPT	8-128
Tetracyclin	TET	1-16
Tiamulin	TIA	4-32
Tilmicosin	TILM	4-32
Trimethoprim/ Sulfamethoxazol	T/S	0,25/4,8-4/76

3.3.4.1 Durchführung

Die Testdurchführung erfolgte entsprechend der Vorgaben des Herstellers. Der zu überprüfende Bakterienstamm wurde auf Schafblutagar über Nacht bei 37°C reingezüchtet. Mit einem sterilen Wattetupfer (Fa. Biomerieux, Nürtingen) wurde der Stamm in 5ml steriler physiologischer Kochsalzlösung bis zu einer dem McFarland Standard 0,5 entsprechender Dichten suspendiert. Von dieser Bakteriensuspension wurden 100µl in 11ml Mueller-Hinton II Bouillon (Fa. BectonDickinson, Heidelberg) überpipettiert und gut homogenisiert.

Mittels des MICRONAUT Sprint-Roboters (Fa. Genzyme-Virotech, Rüsselsheim) wurde jede Vertiefung der Mikrotiterplatte automatisch mit 100µl

Bakteriensuspension befüllt und mit einer unperforierten Folie (Fa. Genzyme-Virotech, Rüsselsheim) versiegelt.

3.3.4.2 Auswertung

Nach einer Inkubationszeit von 18-24 Stunden bei 37°C wurde die MHK visuell sowie mittels photometrischer Messung mit dem MICRONAUT Skan (Fa. Genzyme-Virotech, Rüsselsheim) bestimmt. Die Interpretation und Ergebnisausgabe erfolgte mittels der MICRONAUT Software. Bei schwachem oder fehlendem Wachstum der mitgeführten Wachstumskontrolle wurde die Testung des Stammes wiederholt.

Bei jedem Testansatz wurde der Stamm *Staphylococcus aureus* (DSM 2569) als Kontrollstamm mitgeführt. Der gesamte Testansatz wurde nur gewertet, wenn die MHK-Werte des Kontrollstamms den Vorgaben des Herstellers entsprachen.

3.4 Molekularbiologische Untersuchungen

3.4.1 Nachweis des mecA-Gens von Methicillin-resistenten Staphylococcus aureus (MRSA) mittels real time PCR

3.4.1.1 Beschreibung der Methode

Mit dieser real time PCR-Methode wird der Nachweis des Methicillin-Resistenzgens (*mec*-Gen) direkt mit dem Nachweis des *orfX*-Gens von *Staphylococcus aureus* in einer PCR-Reaktion verknüpft. Jeder positive PCR-Nachweis bestätigte somit das Vorhandensein des Methicillin-Resistenzgens und die Spezies „*Staphylococcus aureus*“ (HULETSKY et al., 2004).

3.4.1.2 Extraktion bakterieller DNA aus Staphylococcus aureus

Die bakterielle DNA wurde nach QSA O 0989-1 des Bayerischen Landesamtes für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit extrahiert. Dazu wurden mit sterilen, mit 1xPBS (Fa. Fluka, Neu-Ulm) angefeuchteten Tupfern von der Agaroberfläche einer frischen Reinkultur des zu überprüfenden Stammes vier bis fünf Bakterienkolonien abgenommen und in 200µl 1xPBS-Puffer suspendiert. Die Bakteriensuspension wurde im Anschluss bei Raumtemperatur über 5 min bei 7.500rpm in einer Tischzentrifuge (Centrifuge 5417R, Fa. Eppendorf AG, Hamburg) zentrifugiert. Der Überstand wurde entfernt und das Bakterienpellet in 200µl 1xPBS unter Zugabe von 10µl Lysostaphin (Fa. Sigma, München) resuspendiert und in einem Thermoblock mit Schüttelvorrichtung (Thermomixer comfort, Fa. Eppendorf AG, Hamburg) für 15 min

bei 37°C und 450rpm inkubiert. Anschließend wurden 300µl Lysepuffer (Fa. BAG Health Care GmbH, Lich) zugegeben und weitere 15 Minuten im Thermoblock bei 98°C und 450rpm inkubiert. Nach 2 minütigem Zentrifugieren bei 12.000rpm unter Raumtemperatur wurde der DNA-haltige Überstand bis zur weiteren Verwendung bei -20°C gelagert. Dieser DNA-Extrakt wurde in allen nachfolgend beschriebenen PCR-Reaktionen verwendet.

3.4.1.3 Herstellung des MasterMixes

Der MasterMix wurde in Biopure Reaktionsgefäßen (Fa. Eppendorf AG, Hamburg) hergestellt. Die in Tabelle 5 dargestellten Angaben gelten für einen 20µl-Ansatz.

Tabelle 5: Zusammensetzung des MasterMixes für den Nachweis des *mecA*-Gens in *Staphylococcus aureus* (Mengenangaben für einen 20µl-Ansatz)

Komponenten	Konzentration Gebrauchs- lösung	Konzentration im PCR- Ansatz	Einheit	Volumen
H ₂ O PCR grade				5,45µl
FastStartDNA MasterI ^{plus} -Mix	5x	1x	Konzentriert	4µl
MRSA-Pre-Mix	sieheTabelle 38			1,95µl
IC-Pre-Mix	siehe Tabelle 40			2,6µl
Außerhalb des MasterMix Raumes Zugabe von IC (ntb2)-Plasmid-DNA (30 Kopien/Ansatz)				1µl
Gesamt				15µl

3.4.1.4 Referenzmaterial

Als Positiv-Kontrolle wurde der ATCC-Stamm 49775 (MRSA) eingesetzt, dessen DNA zuvor mittels High Pure PCR Template Preparation Kit (Fa. Roche, Mannheim) nach Anleitung des Herstellers extrahiert und in Aliquots zu je 20µl bei -20°C gelagert wurde. Die positive Kontroll-DNA wurde wie eine Probe in die PCR eingesetzt.

3.4.1.5 Extraktionskontrolle

Die Extraktionskontrolle (Aufarbeitungsleerwert) diente zur Detektion von Kreuzkontaminationen während der DNA-Extraktion und wurde in jeder Extraktion an letzter Position mitgeführt. Anstatt eines DNA-Extrakts wurde bei der Extraktionskontrolle Wasser (PCR-grade) in entsprechender Menge eingesetzt und als negative Extraktionskontrolle wie eine Probe in die PCR eingesetzt.

3.4.1.6 Interne PCR-Kontrolle

Als Interne PCR-Kontrolle wurden 30 Kopien des Plasmids IPC-ntb2 in eine PCR Reaktion eingesetzt (ANDERSON et al. 2009 eingereicht). Das Plasmid wurde von Frau Dr. Huber (LGL, Oberschleißheim) zur Verfügung gestellt.

3.4.1.7 Durchführung der PCR

Die benötigte Anzahl von LightCycler (LC) Capillaries (Fa. Roche, Mannheim) wurde in ein dafür vorgesehenes LC1-Probenkarusell gesetzt und mit jeweils 15µl MasterMix sowie 5µl DNA befüllt. Bei jedem Lauf wurden eine Positivkontrolle (ATCC-Stamm 49775), eine Negativkontrolle sowie eine Extraktionskontrolle bzw. H₂O für die MasterMix-Kontrolle mitgeführt. Danach wurden alle Proben in der dazu gehörenden LC Zentrifuge zentrifugiert und die PCR im LightCycler 2.0 (Fa. Roche, Mannheim) gemäß dem in Tabelle 6 dargestellten Temperatur-Zeit-Programm gefahren.

Tabelle 6: Temperatur-Zeit-Programm für die real time-PCR zum Nachweis des mecA-Gens in *Staphylococcus aureus* im LightCycler

PCR-Schritt	Temperatur in °C	Zeit in min:sec
Hold	95°C	10:00
Denaturierung	95°C	00:00
Annealing 35x	60°C	00:10
Extension	72°C	00:15
Cooling	40°C	00:30

3.4.1.8 Auswertung

Die Auswertung erfolgte mittels der LightCycler real time PCR Software. Die Amplifikation des MRSA-spezifischen Genfragments wurde im Kanal F1 (530nm), die Interne Kontrolle im Kanal F2/backF1 (640/back530 nm) analysiert. Jeder positive CT (Cycle Treshhold)-Wert einer Probe wurde auf das Vorhandensein einer eindeutigen PCR-Kurve hin überprüft, um falsch-positive bzw. falsch-negative Ergebnisse auszuschließen.

3.4.2 Nachweis des Panton-Valentine Leukozidin Gens (PVL-Gen) durch konventionelle PCR

Beschreibung der Methode

Diese Prüfmethode beschreibt ein molekularbiologisches Analyseverfahren zum qualitativen Nachweis des Panton-Valentine-Leukozidin Gens, einem wichtigen

Pathogenitätsfaktor von community aquired Methicillin-resistent *Staphylococcus aureus* (ca-MRSA) mittels konventioneller PCR nach LINA et al. (1999). Alle MRSA-Isolate wurden auf das Vorhandensein von Panton-Valentine Leukozidin-Gen (PVL-Gen) untersucht.

Ein DNA-Fragment von 410bp des im ca-MRSA Genom vorkommenden Zytotoxin-Gens Panton-Valentine Leukozidin wurde mit den Primern *lukS/F-forward* und *lukS/F-reverse* (siehe Tabelle 42) amplifiziert. Das PCR-Produkt wurde mittels Agarosegelelektrophorese und Ethidiumbromid-Färbung nachgewiesen.

3.4.2.1 Extraktion von DNA

Für die Reaktion wurden die vorhandenen DNA-Extrakte (siehe 3.4.1) verwendet.

3.4.2.2 Herstellung des MasterMixes

Der MasterMix wurde in Biopure Reaktionsgefäßen (Fa. Eppendorf AG, Hamburg) hergestellt. Die in Tabelle 7 dargestellten Angaben gelten für einen 50µl-Ansatz.

Tabelle 7: Zusammensetzung des MasterMixes für den Nachweis des Panton-Valentine Leukozidin Gens in *Staphylococcus aureus* (Mengenangaben für einen 50µl-Ansatz)

Komponente	Konzentration Gebrauchs- lösung	Konzentration im PCR-Ansatz	Einheit	Volumen
10x Puffer mit 15mM MgCl ₂	10x	1x	Konz.	5µl
Primer <i>lukS/F-fw</i>	10	0,5	µM	2,5µl
Primer <i>lukS/F-re</i>	10	0,5	µM	2,5µl
dNTP-Mix	2,5 pro dNTP	0,05 pro dNTP	mM	1µl
HotStarTaqPolymerase	5U/µl	1U/Ansatz		0,2µl
H ₂ O PCR grade				36,3µl
Volumen MasterMix				47,5µl
Zugabe von Proben-DNA, Extraktions-, MasterMix-, Positiv-Kontrolle				2,5µl
Gesamt				50µl

3.4.2.3 Durchführung der PCR

Jeweils 47,5µl des MasterMixes wurden in PCR-Stripes (Fa. Biozym, Hessisch Oldendorf) vorgelegt. Hiernach erfolgte die Zugabe von jeweils 2,5µl der zu untersuchenden Proben-DNA, Referenz-DNA, Extraktionskontrolle bzw. H₂O (MasterMix-Kontrolle).

Die PCR wurde in einem Thermocycler (Mastercycler gradient, Fa. Eppendorf AG, Hamburg) gemäß dem in Tabelle 8 beschriebenen Temperatur-Zeit-Programm durchgeführt.

Tabelle 8: Temperatur-Zeit-Programm für die PCR zum Nachweis des Panton-Valentine Leukozidin Gens in *Staphylococcus aureus*

Programm-Eigenschaften	Temperatur in °C	Zeit in min:sec
Taq-Aktivierung	94°C	15:00
Denaturierung	94°C	00:30
Annealing 35x	52°C	00:30
Extension	72°C	01:00
Extension	72°C	07:00
Cooling	4°C	Hold

3.4.2.4 Durchführung der Gelelektrophorese

Für die Gelelektrophorese wurde ein 2%iges (w/v) Agarosegel (peqGold Universal Agarosepulver, Fa. PeqLab, Erlangen) in 1xTBE-Puffer (10xTBE-Puffer mit dest. Wasser 1:10 verdünnt, Fa. AppliChem, Darmstadt) hergestellt. Es wurde in eine Gelelektrophoresekammer eingelegt und vollständig mit 1xTBE Puffer bedeckt. 15µl PCR-Reaktionslösung wurden mit 2µl Bromphenolblaupuffer gemischt und 12µl dieser Mischung wurden in eine Tasche des Agarosegels pipettiert. Die erste und die letzte Geltasche wurde mit je 12µl Molekulargewichtsstandard pUC Mix Marker 8 (0,5µg/µl, Fa. Fermentas, St. Leon-Rot) beladen. Die Auftrennung erfolgte für 40min bei 100V.

Für die Färbung mit Ethidiumbromid wurde das Gel vollständig in ein Färbebad aus 600ml Aqua dest. mit 35µl Ethidiumbromid (10mg/ml, Fa. Merck, Darmstadt) für 30 min vollständig eingetaucht. Das Gel wurde anschließend unter UV-Licht mit einem Geldokumentationssystem fotografiert.

3.4.3 spa-Typisierung

3.4.3.1 Beschreibung der Methode

Die spa-Typisierung ist ein von FRENAY et al. (1996) erstmals beschriebenes molekulares Typisierungsverfahren für Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus*. Ziel der Methode ist es, epidemiologische Zusammenhänge zwischen verschiedenen MRSA-Klonen zu ermitteln. Das spa-Gen kodiert für einen zellwandständigen

Pathogenitätsfaktor von *Staphylococcus aureus*, das Protein A, das am 3'-Ende eine „Repeat-Region“ oder „polymorphe Region Xr“ aufweist. Diese „Xr-Region“ wird mittels PCR amplifiziert und das Amplifikat anschließend sequenziert. Die Xr-Region ist eine genetisch sehr stabile Einheit, in der es häufiger zu Punktmutationen als zu Rekombinationsereignissen kommt. Jede dieser Repeat-Regionen entspricht einem bestimmten spa-Typ. Die Zuordnung erfolgte dabei durch Auswertung der Repeat-Sequenzen anhand der Anzahl sowie Folge der verschiedenen Repeats mittels einer speziellen Software (Ridom StaphType®, Fa. Ridom GmbH, Würzburg). Die Eingabe des auf diese Weise ermittelten spa-Typs in eine weltweite Datenbank (<http://www.spaserver.ridom.de>) ermöglicht per elektronischem Datenaustausch den Vergleich mit anderen MRSA-Isolaten oder Laborergebnissen.

3.4.3.2 Herstellung des MasterMixes

Der MasterMix wurde gemäß Tabelle 9 in Biopure Reaktionsgefäßen (Fa. Eppendorf AG, Hamburg) hergestellt.

Tabelle 9: Zusammensetzung des MasterMixes für die Amplifikation des spa-Gens in *Staphylococcus aureus* (Mengenangaben für einen 50µl-Ansatz)

Komponente	Konzentration Gebrauchs- lösung	Konzentration im PCR-Ansatz	Einheit	Volumen
10x Puffer mit 15mM MgCl ₂	10x	1x	Konz.	5µl
Primer 1113-fw	10	0,5	µM	2µl
Primer 1514-re	10	0,5	µM	2µl
dNTP-Mix	2,5 pro dNTP	0,05 pro dNTP	mM	1µl
HotStarTaqPolymerase	5U/µl	1U/Ansatz		0,25µl
H ₂ O PCR grade				38,75µl
Volumen MasterMix				49µl
Zugabe von Proben-DNA, Extraktions-, MasterMix-, Positiv-Kontrolle				1µl
Gesamt				50µl

3.4.3.3 Durchführung der PCR

Der MasterMix wurde in soft stripes 0,2ml (Fa. Biozym, Hessisch Oldendorf) vorgelegt, diese nach Zugabe von DNA bzw. Kontrollen verschlossen und die PCR in einem ThermoCycler (Mastercycler gradient, Fa. Eppendorf AG, Hamburg) gemäß dem in Tabelle 10 dargestellten Programm gefahren. Die Überprüfung der

Amplifikation erfolgte mittels Gelelektrophorese und Ethidiumbromidfärbung gemäß der unter Punkt 3.4.2.4 dargestellten Methode.

Tabelle 10: Temperatur-Zeit-Programm für die PCR zur Amplifikation des spa-Gens von *Staphylococcus aureus*

Programm-Eigenschaften	Temperatur in °C	Zeit in min:sec
Taq-Aktivierung	95°C	5:00
Melting	94°C	00:30
Annealing 35x	64°C	00:30
Extension	72°C	00:30
Extension	72°C	10:00
Cooling	4°C	Hold

3.4.3.4 Aufreinigung und Sequenzierung der Proben

Nachdem mittels Gelelektrophorese eine ausreichende Amplifikatmenge nachgewiesen wurde, konnte das PCR-Produkt mittels QIAquick PCR Purification Kit (Fa. Qiagen, Hilden) nach Angaben des Herstellers aufgereinigt und zur Sequenzierung an die Fa. eurofins mwg operon in Martinsried (www.eurofinsdna.com) übersandt werden. Anhand der Ridom Staph Type Software (Fa. Ridom GmbH, Würzburg) wurden die ermittelten Repeats ausgelesen, identifiziert und dokumentiert.

3.4.4 MLST Typisierung

3.4.4.1 Beschreibung der Methode

Das Multi Locus Sequence Typing (MLST) ist ein molekularbiologisches Verfahren, das bei der Zuordnung einzelner Gensequenzen zu Allel-Varianten sowie zur eindeutigen Klassifizierung bakterieller Isolate Verwendung findet. Für jedes der zu untersuchenden Isolate werden die Sequenzen von jeweils sieben Housekeeping-Genen verglichen. Durch den Vergleich der Sequenzen dieser definierten Gene sind Rückschlüsse auf den Grad der Verwandtschaft verschiedener MRSA Stämme möglich. Auf diese Weise entstand eine globale Datenbank, die den Austausch der ermittelten molekularen Typisierungsdaten über das Internet ermöglicht.

3.4.4.2 Herstellung des MasterMixes

Der MasterMix wurde wie in

Tabelle 11 beschrieben in Biopure Reaktionsgefäßen (Fa. Eppendorf AG, Hamburg) hergestellt.

Tabelle 11: Mengenangaben für einen 50µl-Ansatz zur PCR für das MLST

Komponente	Konzentration Gebrauchs- lösungen	Konzentration im PCR-Ansatz	Menge für 50µl-Ansatz
10x Puffer inc. 15mM MgCl ₂	10x	1x	5,0µl
dNTP Mix	10mM	0,2mM	1,0µl
fw-Primer	10µM	0,5µM	2,5µl
rev-Primer	10µM	0,5µM	2,5µl
HotStarTaqPolymerase		1U	0,2µl
H ₂ O PCR grade			38,8µl
Volumen MasterMix			49µl
Zugabe von Proben-DNA, Extraktions-, Mastermix-, Positiv- Kontrolle			1µl
Gesamt			50µl

3.4.4.3 Durchführung der PCR

Der MasterMix wurde in soft stripes 0,2ml (Fa. Biozym, Hessisch Oldendorf) vorgelegt, diese nach Zugabe von DNA bzw. Kontrollen verschlossen und die PCR in einem ThermoCycler (Mastercycler gradient, Fa. Eppendorf AG, Hamburg) gemäß dem in Tabelle 12 dargestellten Programm gefahren. Für eine vollständige Typisierung der sieben Housekeeping-Gene war es nötig, den beschriebenen Ablauf mit jedem der in Tabelle 44 aufgelisteten Primerpaare durchzuführen.

Tabelle 12: Temperatur-Zeit-Programm zur Durchführung der MLST-PCR-Reaktionen

Programm-Eigenschaften	Temperatur in °C	Zeit in min:sec
Taq-Aktivierung	95°C	05:00
Melting	95°C	01:00
Annealing 30x	55°C	01:00
Extension	72°C	01:00
Extension	72°C	05:00
Cooling	4°C	Hold

3.4.4.4 *Aufreinigung und Sequenzierung der Proben*

Die Aufreinigung und Sequenzierung der Amplifikate erfolgte wie unter Punkt 3.4.3.4 beschrieben.

3.4.4.5 *Auswertung*

Die gewonnenen Sequenzierungsdaten wurden mit den Allelen der entsprechenden sieben Houskeeping Gene in der MLST-Datenbank (www.mlst.net) abgeglichen. Je nach enthaltenem Allel der untersuchten Probe wurde eine Nummer vergeben. Die Aneinanderreihung dieser sieben Nummern ergibt einen Zahlencode der für einen bestimmten Sequenz Typ (ST) steht.

3.5 *Statistische Auswertung*

Die Auswertung der von Tieren und Landwirten erhobenen Daten erfolgte mittels Microsoft Office Excel 2003. Für die Berechnung der regionale Unterschiede und der Prävalenz beruflich exponierter Personen wurden die Daten in das SPSS 16.0 Programm übertragen. Eine genaue Auflistung der bei den untersuchten Faktoren angewandten Testverfahren ist Tabelle 13 zu entnehmen.

Tabelle 13: Statistische Berechnungsverfahren untersuchter Einflussfaktoren

Testverfahren	untersuchte Faktoren
Chi²-Test:	Prävalenz von MRSA in unterschiedlichen Betriebsarten Prävalenz von MRSA bei Tieren in unterschiedlichen Betriebsarten Prävalenz von MRSA bei Tieren unterschiedlicher Altersklassen Prävalenz der unterschiedlichen Betriebsgrößen Hygienescore
Fisher exact Test:	Einfluss antibiotischer Wirkstoffe in verschiedenen Altersklassen
4-Felder Tafel:	Vergleich des MRSA-Nachweises zwischen Tonsillen- und Nasentupfer Kontakt der Schweine mit anderen Tieren Prävalenz von MRSA nach Geschlecht der Tiere Einfluss eines Quarantänestalles auf den Nachweis von MRSA Bestandsergänzung der einzelnen Betriebe Betriebe mit mehr als einer landwirtschaftlichen Nutztierart
logistische Regression	Prävalenz von MRSA in unterschiedlichen Regierungsbezirken Prävalenz beruflich exponierter Personen

4 Ergebnisse

Die kulturell als MRSA-verdächtig beurteilten Isolate wurden nach der Reinkultur mittels PCR auf das Vorliegen des *mecA*- und des *orfX*-Gens untersucht. Ein Stamm war als MRSA anzusehen, wenn ein positiver Nachweis beider Gene mittels PCR vorlag.

4.1 *Auswahl und geographische Verteilung der beprobten Bestände*

Die Probennahme erfolgte im Zeitraum von Juli bis Dezember 2008 in insgesamt 60 landwirtschaftlichen Betrieben, die auf alle sieben bayerischen Regierungsbezirke verteilt waren. 41,7% der Betriebe waren Ferkelerzeuger, 31,7% Mäster, 26,7% geschlossene Systeme (siehe Abbildung 1). In einem der Betriebe wurden Ferkel vom Absetzalter in der vierten Lebenswoche bis zum Verkauf in die Mast aufgezogen. Da die Haltung der Tiere nicht von den Bedingungen in Mastbetrieben abwich und die Tiere ausschließlich zu Mastzwecken genutzt werden, wurde dieser Betrieb zu den Mastbetrieben gezählt.

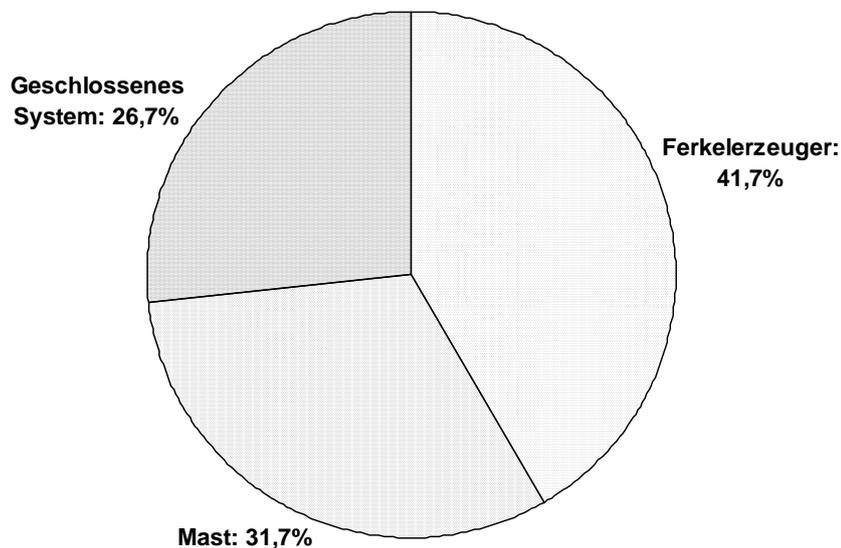


Abbildung 1: Anteil der einzelnen Produktionsarten an den insgesamt 60 beprobten Betrieben

36,7% der untersuchten Betriebe lagen in Ober- oder Niederbayern, 45% in Franken und der Oberpfalz und 18,3% in Schwaben. Eine Übersicht über die geographische Verteilung ist in Tabelle 14 und Abbildung 2 dargestellt.

Tabelle 14: Darstellung der untersuchten Betriebe nach Regierungsbezirk und Produktionsstufe

Regierungsbezirk	Ferkelerzeugung	Mast	Geschlossenes System	Betriebe gesamt
Oberbayern	6	2	4	12
Niederbayern	4	2	4	10
Oberpfalz	3	1	2	6
Oberfranken	3	1	3	7
Mittelfranken	2	3	2	7
Unterfranken	4	3	0	7
Schwaben	3	7	1	11
Gesamt	25	19	16	60

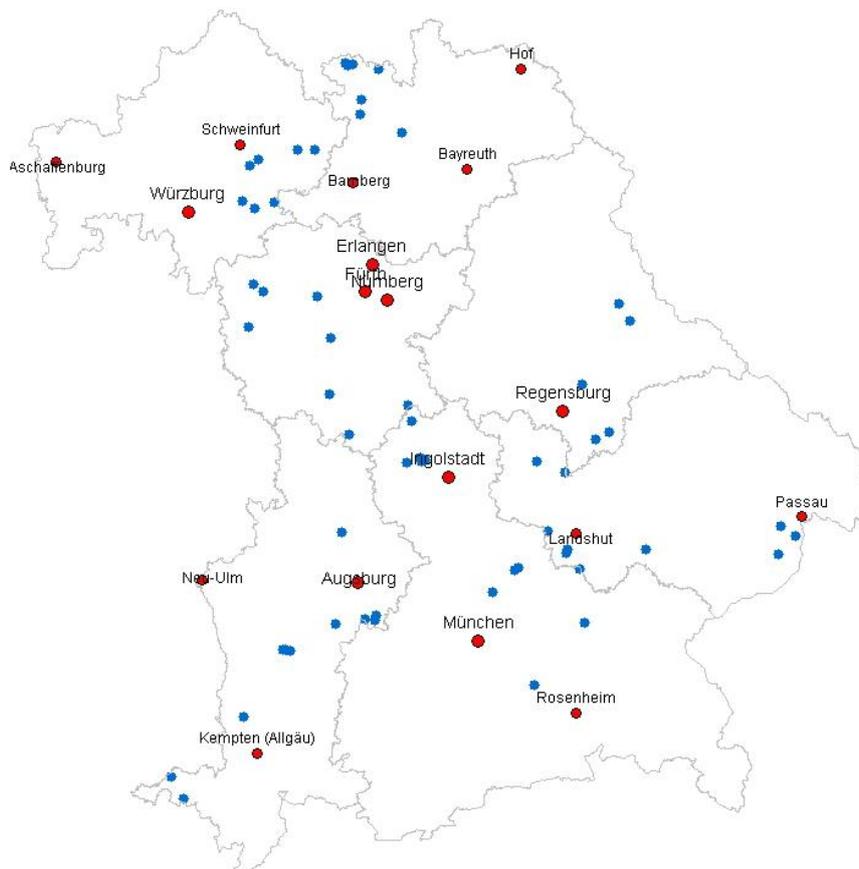


Abbildung 2: Verteilung der beprobten Betriebe über alle bayerischen Regierungsbezirke

4.2 Bayernweite Bestandsprävalenz von MRSA

Ein Betrieb wurde als „MRSA-positiv“ gewertet, sofern bei mindestens einem der beprobten Tiere MRSA im Nasenabstrich enthalten waren. In 27 der 60 beprobten Betriebe konnte auf diese Weise ein positiver MRSA-Nachweis erbracht werden, was einer Bestandsprävalenz von 45% entspricht.

4.3 Prävalenz von MRSA in unterschiedlichen Regierungsbezirken

Um eventuelle regional unterschiedliche Prävalenzen von MRSA bei Schweinen ermitteln zu können, wurden die MRSA-positiven Betriebe, wie in Tabelle 15 abgebildet, getrennt nach den jeweiligen Regierungsbezirken betrachtet und zur Veranschaulichung in Abbildung 3 dargestellt. Abbildung 4 zeigt die einzelnen MRSA-positiven (blau) und -negativen (grün) Betriebe auf einer dafür erstellten Übersichtskarte.

Tabelle 15: Darstellung der MRSA-positiven Betriebe nach Regierungsbezirk und Produktionsstufe

Regierungsbezirk	Ferkel- erzeugung	Mast	Geschlossenes System	Betriebe gesamt
Oberbayern	1	1	1	3
Niederbayern	2	2	3	7
Oberpfalz	0	0	1	1
Oberfranken	1	0	0	1
Mittelfranken	0	1	2	3
Unterfranken	0	1	0	1
Schwaben	3	7	1	11
Gesamt	7	12	8	27

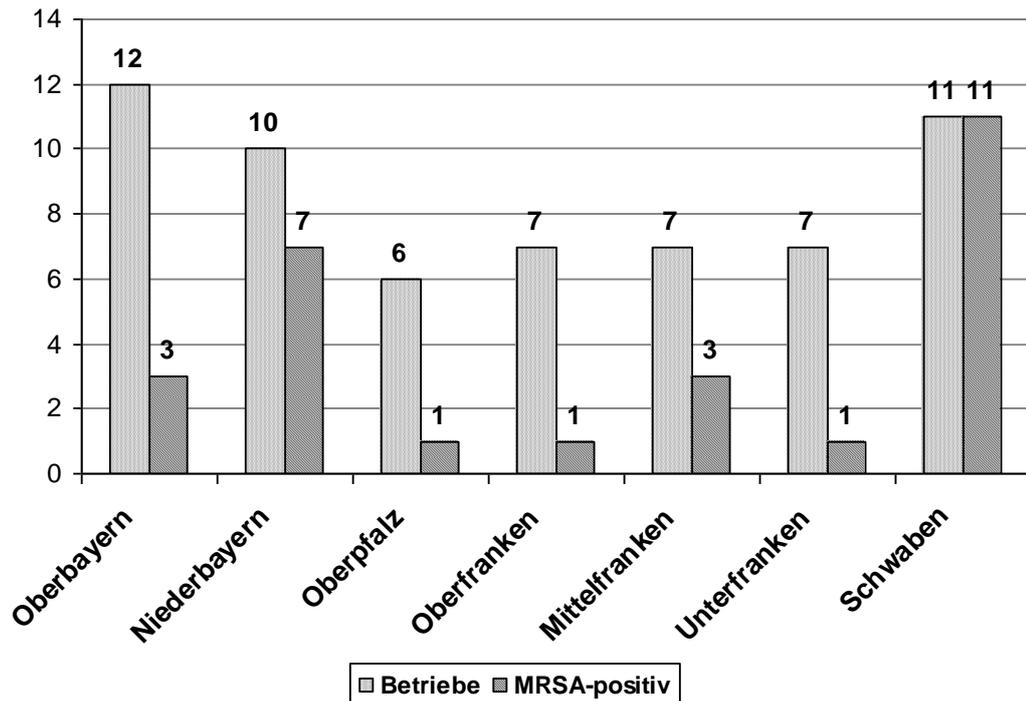


Abbildung 3: Anzahl beprobter und MRSA-positiver Betriebe nach Regierungsbezirk

Dabei zeigt sich der höchste Anteil an positiven Beständen in Schwaben mit einer Prävalenz von 100% der Betriebe. In Niederbayern konnten in 70% der Betriebe MRSA nachgewiesen werden. Statistisch ergeben sich für Niederbayern im Vergleich zum Regierungsbezirk Unterfranken, in dem sehr geringe Nachweiszahlen erbracht werden konnten, eine Odds-Ratio von 14 ($p=0,039$) sowie für die untersuchten Betriebe in Schwaben eine Odds-Ratio von 60 ($p=0,007$).

Oberbayern und Mittelfranken liegen mit einer Prävalenz von 25% (Oberbayern) bzw. 42,9% (Mittelfranken) im Mittelfeld. Die geringste Prävalenz für MRSA in Schweinebeständen zeigte sich in der Oberpfalz (16,7%) sowie in Ober- und Unterfranken (je 14,3%).

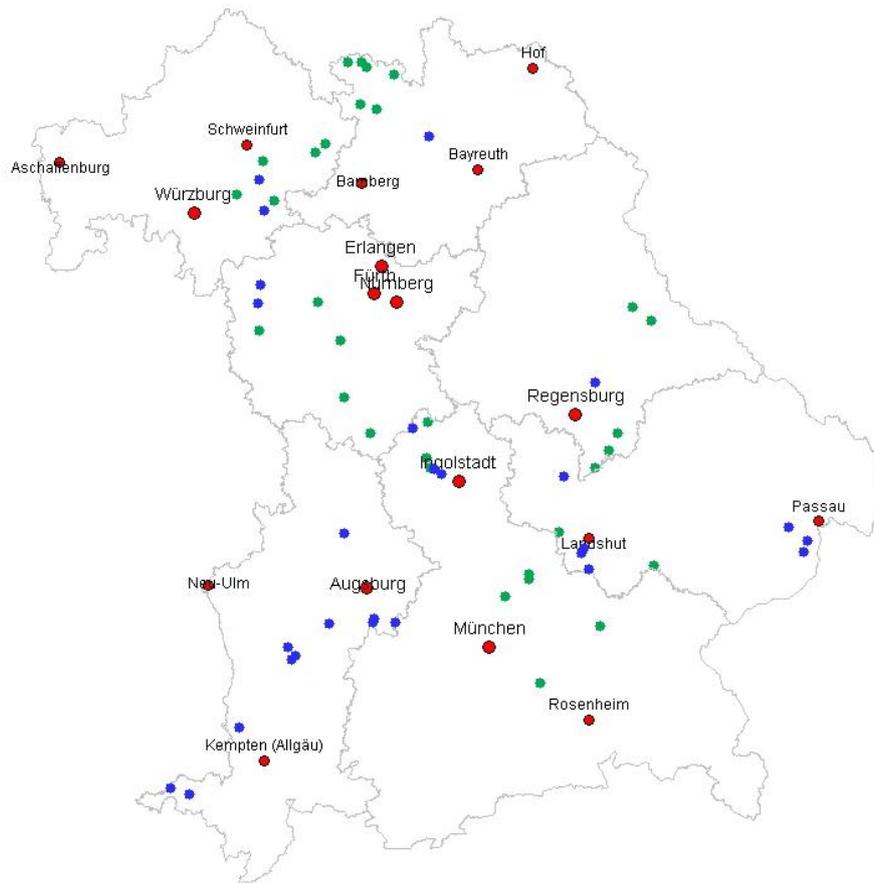


Abbildung 4: Verteilung MRSA-positiver (blau) und MRSA-negativer Betriebe (grün) über alle bayerischen Regierungsbezirke

4.4 Prävalenz von MRSA in unterschiedlichen Betriebsarten

Bei Betrachtung der MRSA-Prävalenz nach Betriebsart zeigte sich, dass die Verbreitung von MRSA in der Ferkelerzeugung mit 28% am geringsten ist. In den Mastbetrieben sowie den geschlossenen Systemen liegt die Prävalenz mit 63,2% bzw. 50% deutlich höher. In Abbildung 5 ist die Anzahl der beprobten und MRSA-positiven Betriebe getrennt nach Betriebsart verdeutlicht.

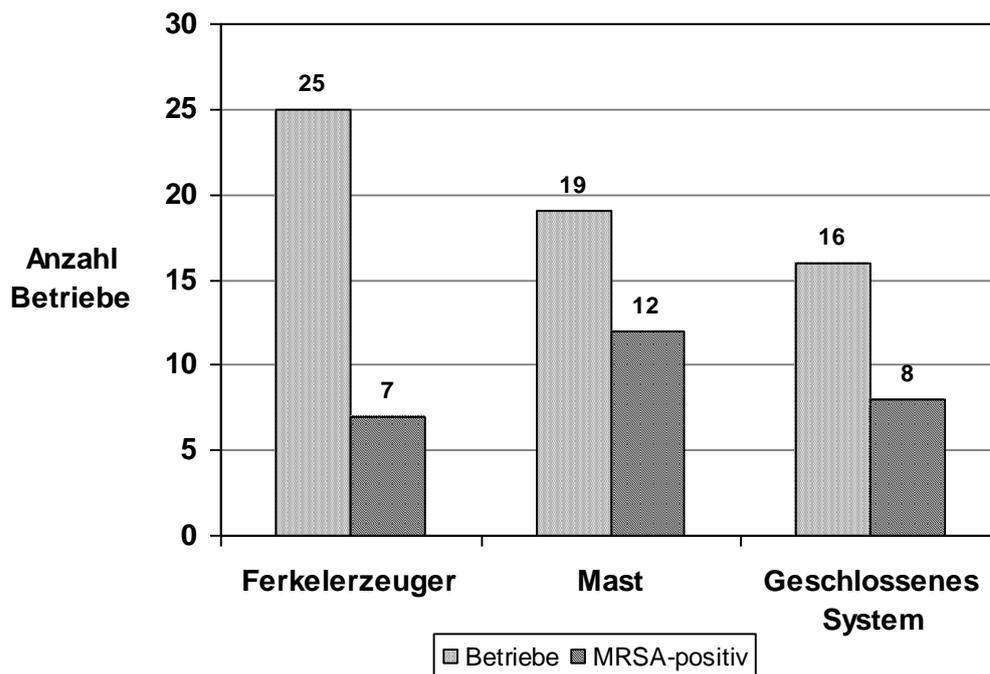


Abbildung 5: Anzahl beprobter und MRSA-positiver Betriebe nach Betriebsart

4.5 Prävalenz von MRSA bei Tieren aus unterschiedlichen Betriebsarten

Die MRSA-Besiedelung bei Tieren in Mastbetrieben lag mit 41% deutlich über der Prävalenz von Tieren in geschlossenen Systemen mit 32,3% und der Prävalenz bei Tieren in Ferkelerzeugungsbetrieben mit 28,8%. Tabelle 16 zeigt die Verteilung MRSA-positiver sowie MRSA-negativer Tiere in den einzelnen Betriebsarten.

Die MRSA-Prävalenz ist laut der statistischen Berechnung signifikant ($p=0,02$) von der Betriebsart abhängig. Um dieses Ergebnis genauer zu betrachten, wurden die unterschiedlichen Betriebsstufen miteinander verglichen. Dabei zeigten sich signifikante Unterschiede ($p=0,006$) hinsichtlich des MRSA-Nachweises zwischen Ferkelerzeugungs- und Mastbetrieben. Jedoch konnten weder zwischen Ferkelerzeugungsbetrieben und geschlossenen Systemen ($p=0,44$) noch zwischen Mastbetrieben und geschlossenen Systemen ($p=0,095$) Signifikanzen festgestellt werden.

Tabelle 16: Anzahl der MRSA-positiven und MRSA-negativen Tiere in den jeweiligen Betriebsarten und deren prozentuale Verteilung

Betriebsart	Anzahl MRSA-positiver Tiere	Anzahl MRSA-negativer Tiere	Anzahl Tiere gesamt	MRSA-positiv Tiere in %
Ferkelerzeugung	82	203	285	28,8
Mast	77	111	188	41,0
geschlossenes System	52	109	161	32,3
Gesamt	211	423	634	33,3

4.6 Prävalenz von MRSA bei Tieren unterschiedlicher Altersklassen

Insgesamt wurden 634 Nasentupfer von Sauen, Ferkeln und Mastschweinen auf das Vorhandensein von MRSA untersucht. Als Sauen sind alle ausgewachsene, weibliche Muttertiere anzusehen. Als Ferkel gelten Tiere von der ersten bis zur zwölften Lebenswoche. Als Mastschweine definiert wurden Tiere älter als 12 Wochen, die bis zur Schlachtung im Betrieb verbleiben.

Gemäß Tabelle 17 ist die Verbreitung von MRSA bei Sauen mit 23,9% am geringsten, während die MRSA-Prävalenz bei Ferkeln mit 37,6% um 13,7 Prozentpunkte höher liegt. Mastschweine liegen mit einer Prävalenz von 35,7% deutlich über den Sauen, erreichen jedoch nicht die Prävalenz der Ferkelgruppe. Die höhere MRSA-Besiedelung bei Ferkeln im Vergleich zu Sauen ist statistisch signifikant ($p=0,048$). Keine signifikanten Unterschiede im Bezug auf den MRSA-Nachweis sind zwischen Sauen und Mastschweinen ($p=0,058$) sowie zwischen Ferkeln und Mastschweinen ($p=0,781$) erkennbar.

Tabelle 17: Anzahl untersuchter und positiver Nasentupfer je Altersklasse

	Nasentupfer	MRSA-positiv	Prävalenz (%)
Sauen	159	38	23,9
Ferkel	181	68	37,6
Mastschweine	294	105	35,7
Gesamt	634	211	33,3

4.7 Prävalenz von MRSA nach Geschlecht der Tiere

Bei der Probennahme in den einzelnen Beständen wurde neben dem Alter auch das Geschlecht der jeweiligen Tiere, wie in

Tabelle 18 aufgeführt, erfasst. Zwischen MRSA-positiven männlichen und weiblichen Tieren im Ferkel- und Mastschweinebereich sind keine statistisch signifikanten Unterschiede ($p=0,299$) zu erkennen.

Tabelle 18: Geschlecht der beprobten sowie MRSA-positiven und MRSA-negativen Tiere

	MRSA-positiv	MRSA-negativ	Gesamt
Ferkel und Mastschweine Männlich	76	118	194
Ferkel und Mastschweine Weiblich	97	184	281
Gesamt	173	302	475

4.8 Auswertung der Betriebsfragebögen

Zusammen mit dem Landwirt jedes untersuchten Betriebes wurde im Zuge der Beprobung ein Betriebsfragebogen (siehe Anhang) erhoben. Ziel der Befragung war es, Zusammenhänge zwischen dem Vorkommen von MRSA und den jeweiligen Strukturen, berufliche Tätigkeiten der Landwirte sowie des Hygienemanagements auf den Betrieben zu ermitteln und mögliche Abhängigkeiten des MRSA-Status von Landwirten darzustellen.

4.8.1 Prävalenz der unterschiedlichen Betriebsgrößen

Die Betriebsgröße wurde an der Zahl der gehaltenen Tiere gemessen. Der kleinste Betrieb umfasste 80 Tiere, der größte 4204. Alle untersuchten Betriebe wurden in drei Klassen eingeteilt: Kleinere Betriebe mit bis zu 500 Tieren, mittlere Betriebe mit 501-1000 Tieren und Großbetriebe, die mehr als 1000 Tiere halten (siehe Tabelle 19). Dabei erwiesen sich 31,8% der kleinen Betriebe, aber nur 25% der mittleren Betriebe als MRSA-positiv. Großbetriebe mit mehr als 1000 Tieren sind mit 72,7% statistisch signifikant ($p=0,0041$) häufiger MRSA-positiv als kleinere und mittlere Betriebe.

Tabelle 19: MRSA-Nachweis in Abhängigkeit der Betriebsgröße

Betriebsgröße	MRSA-positiv	MRSA-negativ	Gesamt
1-500 Tiere	7	15	22
501-1000 Tiere	4	12	16
> 1000 Tiere	16	6	22
Gesamt	27	33	60

4.8.2 Bestandsergänzung

Unter diesem Punkt wurde der Zusammenhang zwischen dem Zukauf von Elterntieren, insbesondere Jungsaunen und Ebern, in Ferkelerzeugungs- und geschlossenen Betrieben und dem MRSA-Status untersucht. In insgesamt 24 der 41 untersuchten Betrieben gaben die Landwirte an, den Bedarf an Jungsaunen über Eigenremontierung zu decken, wohingegen in 17 Betrieben Jungtiere zur Zucht zugekauft wurden. Es ergab sich hinsichtlich des MRSA-Nachweises im Bestand kein signifikanter ($p=0,14$) Unterschied zwischen Eigenremontierungsbetrieben und Betrieben, die zur Zucht benötigte Tiere zukaufen. Einen Überblick über die einzelnen Betriebsformen und deren Bestandsergänzung ist Tabelle 20 zu entnehmen.

Tabelle 20: Übersicht über die Bestandsergänzung der beprobten Ferkelerzeugungsbetriebe und geschlossenen Systeme

Bestandsergänzung	MRSA-positiver Bestand	MRSA-negativer Bestand	Gesamtzahl der Betriebe
Eigenremontierung	8	16	24
Zukauf	7	10	17
Gesamt	15	26	41

4.8.3 Hygienescore

Für jeden der 60 untersuchten Betriebe wurde ein Hygienescore erstellt. Dabei wurden die Kriterien gemäß Tabelle 21 mit einem Punktesystem bewertet, bei dem für jedes erfüllte Kriterium ein Punkt vergeben und alle erreichten Punkte am Schluss addiert wurden.

Tabelle 21: Kriterien und Punktwerte des Hygienescores

	1-3 Personen	Mehr als 3 Personen
Personenverkehr mit Tierbestand	1	0
	ja	Nein
Tragen betriebseigener Kleidung	1	0
	ja	nein
Kontakt der Schweine zu anderen Tierarten	0	1
	ja	nein
Vorhandensein einer Hygieneschleuse	1	0
	ja	nein
Durchführung der Schadnagerbekämpfung	1	0

Bei der Auswertung der hier gewonnenen Daten konnte gezeigt werden, dass bezüglich des Tragens betriebseigener Kleidung ($p=0,41$), des Vorhandenseins von Hygieneschleusen ($p=0,16$) und der Schadnagerbekämpfung ($p=0,24$) keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich eines MRSA-Nachweises im Bestand zu erkennen sind.

In 23 der 27 positiven Betriebe gaben die Betriebsleiter einen Personenzugang von einer bis drei Personen an, wohingegen lediglich in vier MRSA-positiven Betrieben mehr als drei Personen Zugang und Kontakt zu den Schweinen hatten. Es zeigte sich hierbei, dass kein Unterschied bezüglich des Personenverkehrs zwischen bis zu drei und mehr als drei Personen zu erkennen war. Jedoch machte sich ein, wenn auch nicht signifikanter, Unterschied ($p=0,06$) in Betrieben, in denen mehr als vier Mitarbeiter mit der Versorgung der Tiere beschäftigt waren, bemerkbar.

4.8.4 Einfluss eines Quarantänestalles auf den Nachweis von MRSA

Für einen bestehenden Quarantänestall wurden keine Punkte vergeben, da dieses Kriterium nur von Ferkelerzeugungsbetrieben und geschlossenen Systemen, nicht aber von Mästern erfüllt werden konnte. Der Einfluss eines Quarantänestalles auf den MRSA-Nachweis bei Tieren des entsprechenden Betriebes (siehe Tabelle 22) wurde für die genannten Betriebsformen dennoch separat berechnet. Hierbei konnte zwischen dem Vorhandensein eines Quarantänestalles und dem Nachweis von MRSA im Tierbestand kein signifikanter Zusammenhang ($p=0,131$) hergestellt werden.

Tabelle 22: Vorhandensein von Quarantäneställen in MRSA-positiven und MRSA-negativen Betrieben

Quarantänestall	MRSA-positive Betriebe	MRSA-negative Betriebe	Gesamt
Ja	13	17	30
Nein	2	9	11
Gesamt	15	26	41

4.8.5 Belegung der unterschiedlichen Stallbereiche

Der Einfluss einer kontinuierlichen bzw. Rein-Raus Belegung auf den Nachweis von MRSA bei Ferkeln im Aufzuchtstall und bei Mastschweinen wurde mit statistischen Verfahren überprüft. Dabei wurden lediglich die Betriebe berücksichtigt, die ein striktes Rein-Raus Verfahren oder eine kontinuierliche Belegung betreiben. Betriebe, die aufgrund ihrer Größe oder den baulichen Gegebenheiten beide Methoden der Stallbelegung betreiben, wurden von der Auswertung ausgenommen. Zwischen der Belegungsform und dem Nachweis von MRSA im Ferkelbereich ergaben sich nicht signifikante Werte ($p=0,804$), wohingegen im Mastschweinebereich eine Signifikanz zu erkennen war. So war in Betrieben mit kontinuierlicher Belegung ein signifikant geringerer ($p=0,014$) Nachweis von MRSA zu verzeichnen. Einen Überblick über die unterschiedlichen Belegungsformen geben Tabelle 23 und Tabelle 24.

Tabelle 23: Belegungsformen der Betriebe im Ferkelbereich

Belegung	MRSA-positive Betriebe	MRSA-negative Betriebe	Gesamt
kontinuierlich	7	13	20
Rein-Raus	7	11	18
Gesamt	14	24	38

Tabelle 24: Belegungsformen der Betriebe im Mastschweinebereich

Belegung	MRSA-positive Betriebe	MRSA-negative Betriebe	Gesamt
kontinuierlich	5	12	17
Rein-Raus	14	6	20
Gesamt	19	18	37

4.8.6 Betriebe mit mehr als einer landwirtschaftlichen Nutztierart

Da eine MRSA-Übertragung von anderen Tierarten, wie Rindern, Pferden oder Geflügel auf Schweine nicht ausgeschlossen werden kann, wurde auch diese Frage im Betriebsfragebogen bearbeitet. In insgesamt 15 Betrieben, von denen vier Mast- und zwei Ferkelaufzuchtbetriebe als MRSA-positiv eingestuft werden konnten, wurden neben Schweinen auch Rinder als weitere Nutztiere gehalten (siehe Tabelle 25).

Tabelle 25: MRSA-Status reiner Schweine- und Mischbetriebe

	MRSA-positiv	MRSA-negativ	Gesamt
Reine Schweinebetriebe	21	24	45
Mischbetrieb Rinder	6	9	15
gesamt	27	33	60

Bei der Auswertung der erfassten Daten zeigte sich kein signifikanter ($p=0,65$) Unterschied hinsichtlich des Nachweises Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* bei reinen Schweinehaltungsbetrieben gegenüber der Haltung von Schweinen in Betrieben mit mehr als einer landwirtschaftlichen Nutztierart.

4.8.7 Kontakt der Schweine mit anderen Tieren

Um die Möglichkeit einer wechselseitigen Übertragung von MRSA zwischen verschiedenen Tierarten, insbesondere von Hunden, Katzen, den oben aufgeführten Nutztieren und Schweinen genauer zu untersuchen, wurde der Zugang dieser Tierarten zu Stallungen und ein dadurch möglicher Kontakt zu den Schweinen erfragt. Eine Übersicht über den Kontakt der Schweine zu anderen Tierarten in einzelnen Betrieben ist in Tabelle 26 dargestellt.

Tabelle 26: Vergleich des MRSA-Status zwischen Betrieben mit und ohne Kontakt der Schweine zu anderen Tierarten

	MRSA-positiv	MRSA-negativ	Gesamt
Kein Kontakt zu anderen Tierarten	17	19	36
Kontakt zu anderen Tierarten	10	14	24
Gesamt	27	33	60

Bei der statistischen Berechnung konnte kein signifikanter Zusammenhang ($p=0,67$) einer MRSA-Besiedelung der Schweine bei bestehendem Kontakt zu anderen Tierarten hergestellt werden.

4.9 Einfluss antibiotischer Wirkstoffe

Die Landwirte wurden gebeten, Angaben zur medikamentösen Anwendung antibiotischer Wirkstoffe bei Einzeltieren sowie bei metaphylaktischen Maßnahmen in den unterschiedlichen Altersklassen zu machen. In acht der beprobten Betriebe gaben die Landwirte an, ein bzw. zwei Präparate zu verwenden. Die größte Gruppe mit insgesamt 15 Betrieben wendeten, den Angaben der Landwirte zufolge, drei unterschiedliche Antibiotika an. Elf unterschiedliche Wirkstoffe sind die größte Anzahl an verschiedenen Antibiotika, die in einem, in diesem Fall geschlossenen Betrieb, verwendet worden sind. Lediglich in drei Betrieben gab der jeweilige Betriebsleiter an, keine antibiotischen Präparate zu verwenden. Generell zeigte sich bei der statistischen Berechnung, dass kein signifikanter ($p=0,67$) Zusammenhang zwischen dem Einsatz von Antibiotika und einem MRSA-Nachweis im Betrieb zu erkennen ist. Beim Vergleich von Betrieben, die bis zu vier Präparate, und jenen, die mehr als vier Präparate einsetzen, konnte ebenfalls kein signifikanter ($p=0,084$) Unterschied im Hinblick auf den Nachweis von MRSA beobachtet werden. Um diese Fragestellung weiter zu untersuchen, wurde der Antibiotika-Einsatz getrennt nach Betriebsarten betrachtet.

In Ferkelerzeugungsbetrieben zeigte sich, dass hinsichtlich des Einsatzes von bis zu vier und mehr als vier verschiedenen Antibiotika kein signifikanter ($p=0,33$) Zusammenhang mit einem positiven MRSA-Nachweis zu erkennen ist (siehe Tabelle 27).

Tabelle 27: Einsatz von Antibiotika in Ferkelerzeugungsbetrieben

	MRSA-positive Betriebe	MRSA-negative Betriebe	Gesamt
Einsatz von bis zu 4 Antibiotika	2	9	11
Einsatz von mehr als 4 Antibiotika	5	9	14
Gesamt	7	18	25

In den 19 Mastbetrieben war im Bezug auf den Antibiotikaeinsatz von bis zu vier und mehr als vier verschiedenen antibiotischen Wirkstoffen ebenfalls keine signifikante ($p=0,227$) Korrelation nachweisbar (siehe Tabelle 28).

Tabelle 28: Einsatz von Antibiotika in Mastbetrieben

	MRSA-positive Betriebe	MRSA-negative Betriebe	Gesamt
Einsatz von bis zu 4 Antibiotika	9	7	16
Einsatz von mehr als 4 Antibiotika	3	0	3
Gesamt	12	7	19

Jedoch ergab sich bei der Auswertung dieser Faktoren in geschlossenen Systemen, in denen bis zu vier bzw. mehr als vier Antibiotika zur Therapie der Tiere verwendet wurden, ein signifikanter ($p=0,020$) Zusammenhang zwischen vermehrtem Antibiotika-Einsatz und dem Nachweis Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* (siehe Tabelle 29).

Tabelle 29: Einsatz von Antibiotika in Geschlossenen Systemen

	MRSA-positive Betriebe	MRSA-negative Betriebe	Gesamt
Einsatz von bis zu 4 Antibiotika	1	6	7
Einsatz von mehr als 4 Antibiotika	7	2	9
Gesamt	8	8	16

4.10 Prävalenz beruflich exponierter Personen

Da nutztierassoziierte Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus*, wie eingangs beschrieben, auch bei beruflich exponierten Personengruppen, wie zum Beispiel Landwirten, nachgewiesen werden konnten, wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit die Verbreitung von MRSA unter den bayerischen Landwirten genauer untersucht. An der den Landwirten angebotenen Beprobung mittels Nasentupfern nahmen insgesamt 116 Personen aus 57 beprobten Betrieben teil, bei denen es sich zum einen um die jeweiligen Landwirte der betreffenden Betriebe selbst sowie deren Familienmitglieder handelte. Ein Landwirt eines MRSA-positiven Ferkelerzeugungsbetriebes sowie jeweils ein weiterer Landwirt eines MRSA-negativen Ferkelerzeugungs- und eines ebenfalls MRSA-negativen geschlossenen Betriebes nahmen nicht an der Beprobung teil.

Dabei konnten insgesamt 34 MRSA-positive Personen ermittelt werden. Die Prävalenz innerhalb der untersuchten Personengruppe beträgt 29,3%. Die 34 positiven Landwirte gehörten zu 22 Betrieben, so dass die Prävalenz positiver Betriebe bezogen auf die MRSA-Trägerschaft des Landwirts oder seiner Familienangehörigen und der 57 beprobten Betriebe mit 38,6% angegeben werden kann. In zwei MRSA-negativ getesteten Betrieben (ein Ferkelerzeugungs- sowie ein Mastbetrieb) war jeweils ein MRSA-positiver Landwirt zu finden. Demgegenüber konnten bei neun Landwirten in vier Mastbetrieben trotz positivem Nachweis von MRSA bei den Schweinen keine Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* isoliert werden. Eine Darstellung der untersuchten und als MRSA-positiv getesteten Landwirte, abhängig von den jeweiligen Betriebsarten, zeigt Abbildung 6.

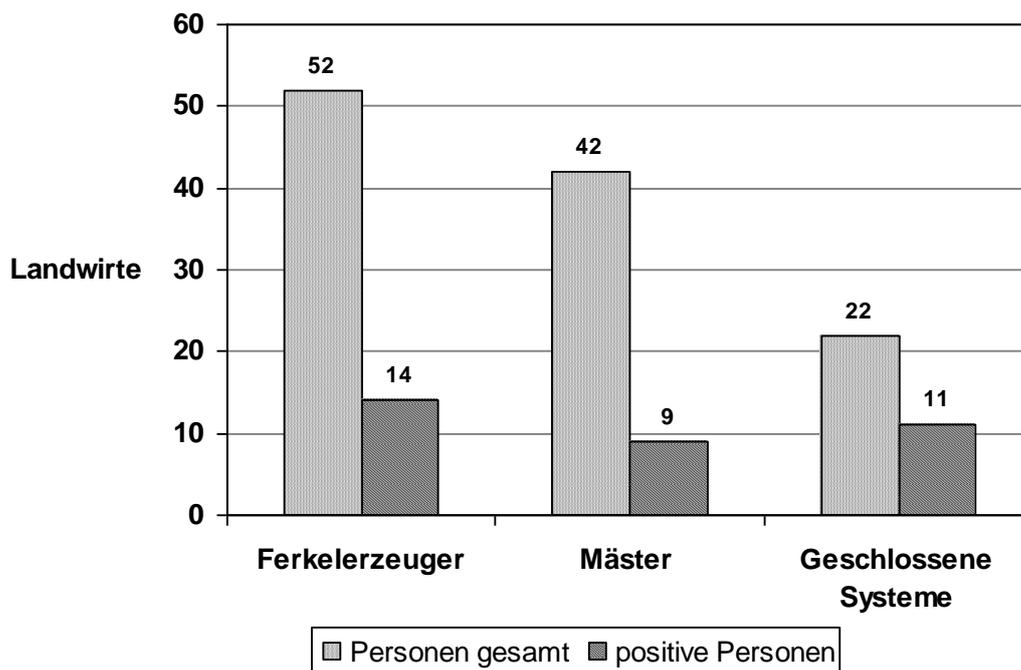


Abbildung 6: Untersuchte und MRSA-positive Personen getrennt nach jeweiligen Betriebsarten

Somit errechnet sich für Landwirte in Ferkelerzeugungsbetrieben hinsichtlich der Besiedelung mit MRSA eine Prävalenz von 26,9%. Schweinemäster liegen mit 21,4% um rund fünf Prozentpunkte unter den Ferkelerzeugern. Die höchsten Nachweisraten wurden bei dieser Untersuchung bei Landwirten in geschlossenen Betriebssystemen erbracht. Hierbei lag die MRSA-Prävalenz bei 50%.

Die positiv getesteten Personen wurden von Humanmedizinern des Bayerischen Landesamtes für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit telefonisch über den Befund in Kenntnis gesetzt und bezüglich der MRSA-Problematik beraten sowie über das Vorliegen MRSA-assoziiierter Erkrankungen und potentieller Risikofaktoren befragt. Bei 33 der 34 MRSA-positiven Personen wurde lediglich eine asymptomatische Trägerschaft festgestellt. Nur ein Landwirt beschrieb eitrige Effloreszenzen der Kopfhaut. Ihm wurde angeraten, seinen Hausarzt zu konsultieren. Die Häufigkeit des Auftretens von MRSA-assoziierten Erkrankungen liegt in der durchgeführten Studie bei 0,9%.

Bei der statistischen Berechnung verschiedener Einflussfaktoren, wie Nachweis von MRSA im Betrieb, Geschlecht der beprobten Personen, Landwirte oder Familienangehöriger sowie Betriebsform zeigten sich teils recht deutliche Unterschiede. So lag die Odds-Ratio für einen positiven Nachweis bei Landwirten

von positiven Betrieben bei 104 ($p < 0,001$). Das heißt, dass eine 104-fach höhere Chance des MRSA-Nachweises bei Landwirten besteht, wenn auch bei den Schweinen im Betrieb MRSA nachgewiesen werden können. Weiter lag die MRSA-Nachweis-Chance bei männlichen Landwirten gegenüber weiblichen Personen mit Tierkontakt bei 6,6 ($p = 0,01$). Für den Faktor „Ferkelerzeugungsbetrieb“ im Vergleich zu „Mastbetrieb“ konnte eine Odds-Ratio von 11,6 ($p = 0,008$) errechnet werden.

4.11 Befragung der MRSA-positiven Landwirte

Von den insgesamt 34 als MRSA-positiv diagnostizierten Landwirten und Familienangehörigen wurden 32 dieser Personen nach Vorliegen des Ergebnisses telefonisch nach dem in Anlage 4 dargestellten Erfassungsbogen befragt. Zwei der 34 Personen wollten dazu keine Angaben machen. Einer der beprobten und MRSA-positiven Landwirte gab an, an eitrigen Effloreszenzen der behaarten Kopfhaut zu leiden. Ihm wurde das Aufsuchen eines Hausarztes zur weiteren Abklärung empfohlen. Acht der 34 Personen (24%) berichteten über einen Krankenhausaufenthalt innerhalb der vergangenen sechs Monate, von denen bei vier Patienten Operationen vorgenommen wurden, die ohne Wundheilungsstörungen verlaufen sind. Bei weiteren zwei Personen sind während des Krankenhausaufenthaltes keine operativen Eingriffe durchgeführt worden. Dennoch konnten bei einer der befragten Personen Wundheilungsstörungen eruiert werden, die nach einer Blinddarmoperation aufgetreten waren. Bei einer weiteren Person kam es infolge eines Verkehrsunfalles ebenfalls zu Wundheilungsstörungen, woraufhin eine Wundausschabung vorgenommen wurde. In einem anderen Fall wurde von einer ambulanten Operation berichtet, die ohne jegliche Komplikationen bezüglich der Wundheilung verlaufen ist. Bei den Patienten mit postoperativen Wundheilungsstörungen wurde zum damaligen Zeitpunkt nicht geklärt, ob eine Infektion mit Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* vorlag, um welche MRSA-Typen es sich handelte und ob diese durch die von Schweinen übertragenen Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* hervorgerufen wurden.

4.12 spa-Typisierung

Im Rahmen der Untersuchungen wurden 245 MRSA-Stämme von 211 Schweinen und 34 Landwirten aus Nasentupfern sowie weitere 39 Stämme aus Tonsillentupfern von Schweinen, Rachentupfern von Hunden und Katzen und Oberflächentupfern von Beißketten isoliert. Diese Stämme wurden alle mittels spa-Typisierung charakterisiert, um eine Aussage über eine mögliche Verwandtschaft der einzelnen Stämme und das Vorkommen bei Tieren oder den betreuenden Personen treffen zu können. In Tabelle 30 sind alle ermittelten spa-Typen und deren Zusammenhänge durch Auflistung ihrer jeweiligen codierten Basenabfolge (Repeats) aufgelistet. Für jeden Basenabschnitt (z.Bsp. GATTCGTAATCG=08) wurde eine bestimmte Zahl festgelegt, die die exakte Basenabfolge wiedergibt. Jedem folgenden Basenabschnitt wurde bei der Auswertung ebenfalls eine entsprechende Zahl zugeteilt. Anhand dieser verschiedenen Zahlenreihen (08-16-02-.....) wurde es ermöglicht, Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* entsprechenden spa-Typen zuzuordnen. Die grau hinterlegten Zahlen in Tabelle 30 demonstrieren die genetischen Zusammenhänge zwischen den einzelnen spa-Typen.

Tabelle 30: Zuordnung der Isolate zu verschiedenen spa-Typen und deren Repeats

spa-Typ	Repeats
t011	08-16-02-25-34-24-25
t034	08-16-02-25-02-25-34-24-25
t0127	07-23-21-16-34-33-13
t1255	08-16-...-34-24-25
t1985	08-16-02-25-34-...-..
t2330	08-16-02-25-34-24-25-25
t2346	08-16-02-25-34-24-24-25
t3423	08-16-02-25-34-24-..

Am häufigsten konnten mit einem Anteil von 96,7% die spa-Typen t011 und t034 nachgewiesen werden (siehe Tabelle 31). Andere spa-Typen, wie t2346 (n=4), t1985 (n=1), t0127 (n=1) und t1255 (n=1) stellten mit 3,3% einen vergleichsweise geringen Anteil der detektierten spa-Typen dar.

Tabelle 31: Vorkommen einzelner spa-Typen bei Schweinen und deren prozentuale Verteilung

spa-Typ	Absolute Häufigkeit	Vorkommen in %
t011	183	86,73
t034	21	9,95
t0127	1	0,47
t1255	1	0,47
t1985	1	0,47
t2346	4	1,90
Gesamt	211	100

Ein ähnliches Bild bot sich auch bei der spa-Typisierung der von Landwirten gewonnenen 34 Isolate. Hierbei stellten t011 und t034 mit insgesamt 97% den größten Anteil dar. Lediglich ein Stamm eines Landwirtes konnte dem spa-Typ t3423 zugeordnet werden. Tabelle 32 zeigt das Vorkommen einzelner spa-Typen bei Landwirten und deren prozentuale Verteilung.

Tabelle 32: Vorkommen einzelner spa-Typen bei Landwirten und deren prozentuale Verteilung

spa-Typ	Häufigkeit	Vorkommen in %
t011	30	88,2
t034	3	8,8
t3423	1	2,9
Gesamt	34	100

4.13 Weitere MRSA-Nachweise

Neben klinisch gesunden Schweinen und Landwirten, die mittels Nasentupfer untersucht wurden, sind bei den ersten in der Studie untersuchten 58 Ferkeln sowohl Nasen- als auch Tonsillentupfer genommen worden, um zu bewerten, welche Probenart sich zum einen aus praktischer und zum anderen aus bakteriologischer Sicht besser eignet, um MRSA am lebenden Tier nachzuweisen.

Des Weiteren wurden die den Höfen zugehörigen Hunde und Katzen mittels Rachentupfer beprobt, um eine eventuelle MRSA-Besiedlung der Tiere und eine mögliche Übertragung auf Menschen oder andere Tiere zu überprüfen. Weiter wurden Beißketten in den Schweinebuchten durch Oberflächenabstriche beprobt und auf das Vorhandensein von MRSA untersucht.

Dabei konnten auch hier Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* nachgewiesen werden. Bei zweien der drei untersuchten Hunde sowie einer Katze konnten dieselben MRSA-Stämme (spa Typ t011) wie bei den Schweinen im Bestand gefunden werden. Ein Hund mit dem spa-Typ t2330 war trotz eines MRSA-negativen Schweinebestandes und negativer Landwirte positiv getestet worden. Einen Überblick über weitere Tupferproben und deren Ergebnisse gibt Tabelle 33.

Tabelle 33: Weitere MRSA-Nachweise mit Ergebnissen der spa-Typisierung

Probenmaterial	Anzahl Beprobungen	MRSA-positiv	MRSA-positiv in %	spa-Typen
Rachentupfer				
Hunde	7	3	42,9	2 x t011 1 x t2330
Katzen	5	1	20,0	1 x t011
Oberflächentupfer				
Beißketten	9	4	44,4	4 x t011
Tonsillentupfer				
Ferkel	58	31	53,4	25 x t011 6 x t034

4.14 Vergleich des MRSA-Nachweises zwischen Tonsillen- und Nasentupfern

Um herauszufinden, welche Methode sich für den Nachweis Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* besser eignet und praktikablere Lösungen bietet, wurden die Ferkel in den ersten Betrieben anhand von Tonsillen- und Nasentupfer beprobt. Dabei stellte sich heraus, dass bei 91,4% der 58 mittels Tonsillen- und Nasentupfer durchgeführten Beprobungen eine Übereinstimmung zu erzielen war und die Ergebnisse beider Tupferproben identisch waren. In lediglich 5,2% der Fälle waren trotz negativer Nasentupfernachweise positive Tonsillentupferproben erzielt worden. Im umgekehrten Fall konnten bei 3,4% trotz negativer Tonsillentupferproben positive MRSA-Nachweise durch Nasenschleimhautabstriche erbracht werden. Eine Darstellung über die entnommenen Proben und deren Ergebnis zeigt Tabelle 34.

Tabelle 34: Darstellung der Unterschiede zwischen Ergebnissen der Beprobung aus Tonsillen- und Nasentupfern

	Nasentupfer positiv	Nasentupfer negativ	Gesamt
Tonsillentupfer positiv	28	3	31
Tonsillentupfer negativ	2	25	27
Gesamt	30	28	58

4.15 Multi Locus Sequence Typing (MLST)

Aus jedem der 27 MRSA-positiven Tierbestände wurde mindestens ein MRSA-Isolat der weiteren molekularbiologischen Typisierung durch das MLST-Verfahren unterzogen. Insgesamt ergab sich so eine Auswahl von 28 Isolaten des spa-Typs t011 aus 26 Betrieben, 23 Isolaten des spa-Typs t034 aus sechs Betrieben sowie 9 weitere nicht-t011 oder nicht-t034 Isolate aus sieben beprobten Betrieben. In der Probenaufzählung enthalten waren jeweils zwei t011, zwei t034 Stämme sowie ein t3423 Stamm von Landwirten, um auch hiervon genauere Aussagen über den genomischen Verwandtheitsgrad der gewonnenen Stämme treffen zu können.

Zusätzlich wurden alle acht spa-Typen aus Nasentupfern von Schweinen und Landwirten, die weder dem spa-Typ t011 noch t034 entsprachen, ebenfalls MLST-typisiert. Insgesamt wurden 63 MRSA-Isolate der MLST-Typisierung unterzogen, von denen 62 Isolate dem Sequenztyp ST 398 zugeordnet werden konnten. Jedoch ergab sich bei einem Saugferkel, bei dem mittels Nasentupfer der spa Typ t127 nachgewiesen wurde die Zugehörigkeit zum Sequenztyp ST 1.

4.16 Panton-Valentine Leukozydin-Gen

Sämtliche aus Schweinen und Landwirten isolierten MRSA-Stämme wurden mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) auf das Vorhandensein des Panton-Valentine Leukozydin-Gens (*lukS* und *lukF*) untersucht. Das PVL-Gen war bei keinem der Stämme vorhanden.

4.17 Resistenz gegenüber tiermedizinisch relevanten Antibiotika

Um Erkenntnisse über die aktuelle Resistenzlage gegenüber den in der Veterinärmedizin verwendeten antibiotischen Wirkstoffen zu erhalten, wurden die aus Schweinebeständen isolierten MRSA-Stämme einer Resistenztestung anhand der minimalen Hemmkonzentration (MHK) unterzogen. In Tabelle 35 sind die Ergebnisse der Antibiotika-Testung mittels minimaler Hemmkonzentration (MHK) in absoluten Zahlen und prozentualen Angaben dargestellt.

Die verschiedenen Wirkstoffgruppen wurden in zwei Klassen unterteilt. Wirkstoffe, die ausschließlich in der Einzeltierbehandlung Verwendung finden wurden getrennt von Wirkstoffen betrachtet, die in erster Linie oral verabreicht und im Falle einer metaphylaktischen Behandlung an alle Tiere der entsprechenden Altersgruppe verfüttert werden. Da nicht alle antibiotischen Wirkstoffe der Resistenztestung bei lebensmittelliefernden Tieren zugelassen sind, wurden die in der Schweinehaltung relevanten Antibiotika getrennt nach Fütterungs- und Injektionspräparaten ausgewertet (siehe Abbildung 7 und Abbildung 8).

Bei allen getesteten MRSA-Stämmen konnte Resistenz gegen Penicillin und Ampicillin nachgewiesen werden. Ebenfalls sehr hohe Resistenzraten wurden bei dem zur Stoffgruppe der Polypeptide zählenden Colistin mit 99,5% und dem Aminoglycosid Spectinomycin mit 99,1% verzeichnet. Die Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* wiesen in 95,5% der Fälle Resistenz gegen das in der Tiermedizin häufig als Fütterungsmedikament eingesetzte Tetracyclin auf. Clindamycin wird zwar bei lebensmittelliefernden Tieren nicht eingesetzt, dennoch konnten bei 53,6% der getesteten Stämme Resistenzen beobachtet werden. Da zwischen Clindamycin und Erythromycin häufig Kreuzresistenzen vorliegen, konnten auch gegen Erythromycin bei 57,3% der überprüften MRSA Resistenzen verzeichnet werden. 49 der 211 untersuchten Stämme (23,2%) zeigten resistentes Wachstum bei der Empfindlichkeitstestung mit Florfenicol.

Bei der Stoffgruppe der Chinolone wurde die von Schweinen gewonnenen MRSA auf Verhalten gegenüber dem Wirkstoff Enrofloxacin getestet und 3,3% der untersuchten Isolate als resistente Stämme identifiziert. Des Weiteren war bei 57,3% der Isolate Resistenz gegen Tilmicosin sowie in 13,7% der Fälle Trimethoprim/Sulfamethoxacol-Resistenz zu beobachten. 15,2% der von Schweinen isolierten Stämme zeigten Resistenz gegen die Wirksubstanz Amoxicillin-Clavulansäure.

Unter den Aminoglycosiden konnten teils recht unterschiedliche Resistenzwerte beobachtet werden. So lag die Resistenz gegen Spectinomycin bei 99,1%, wohingegen nur 31,8% der Stämme Gentamicin-Resistenz aufwiesen. Die Resistenz gegen Apramycin und Neomycin lag bei 16,1% bzw. 1,9% der 211 Isolate.

Die geringsten Resistenzraten wurden bei Tiamulin (5,2%), einem Pleuromutilinderivat, sowie den Cephalosporinen Cefquinom (1,9%), Ceftiofur (3,8%) und Cephalotin (1,4%) verzeichnet.

Tabelle 35: Übersicht der MRSA-Resistenzen gegenüber veterinärmedizinisch relevanten Antibiotika in absoluten und Prozentzahlen

	AMC	CEQ	ENR	ERY	FLL	FLLR	FLLS	GEN	NEO	PEN	SPT
S	179	195	197	23	55	55	162	125	200	0	0
I	0	12	7	67	107	107	43	19	7	0	2
R	32	4	7	121	49	49	6	67	4	211	209
% S	84,8	92,4	93,4	10,9	26,1	26,1	76,8	59,2	94,8	0,0	0,0
% I	0,0	5,7	3,3	31,8	50,7	50,7	20,4	9,0	3,3	0,0	0,9
% R	15,2	1,9	3,3	57,3	23,2	23,2	2,8	31,8	1,9	100,0	99,1

	AMP	COL	T/S	T/SH	T/SS	TET	TIA	TILM	TIR	TIS
S	0	1	182	182	134	5	200	73	73	90
I	0	0	0	0	0	4	0	17	17	0
R	211	210	29	29	77	202	11	121	121	121
% S	0,0	0,5	86,3	86,3	63,5	2,4	94,8	34,6	34,6	42,7
% I	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,9	0,0	8,1	8,1	0,0
% R	100,0	99,5	13,7	13,7	36,5	95,7	5,2	57,3	57,3	57,3

AMC=Amoxicillin-Clavulansäure, CEQ=Cefquinom, ENR=Enrofloxacin, FLL=Florfenicol, GEN=Gentamicin, NEO=Neomycin, PEN=Penicillin; SPT=Spectinomycin, AMP=Ampicillin, COL=Colistin, T/S=Trimethoprim/Sulfamethoxazol, TET=Tetracyclin, TIA=Tiamulin, TILM=Tilmicosin

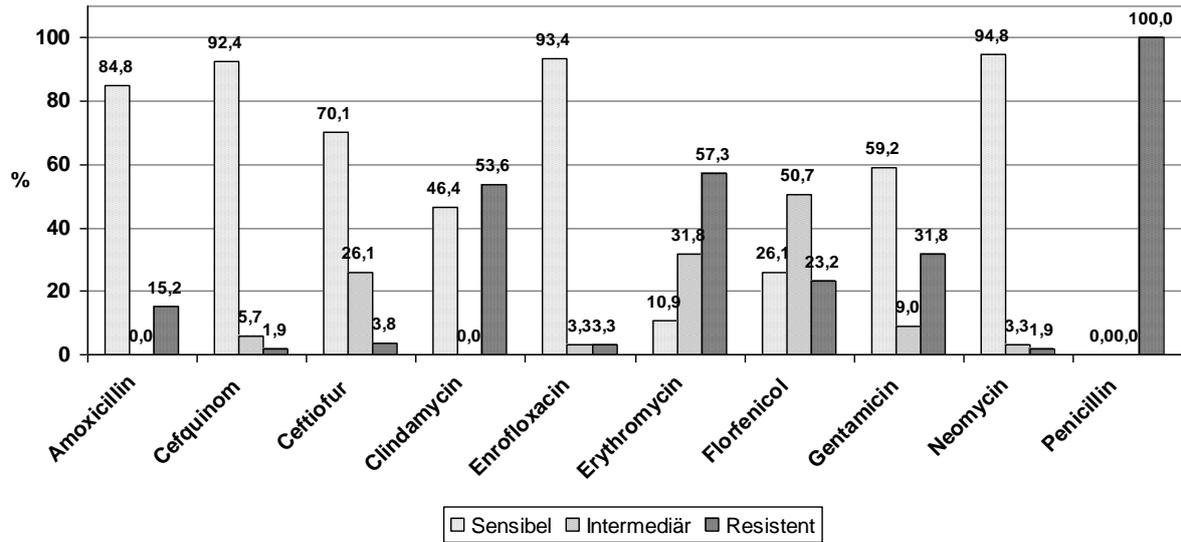


Abbildung 7: Antibiotikaresistenzen porciner MRSA gegenüber veterinärmedizinisch relevanten antibiotischen Wirkstoffen aus Injektionspräparaten

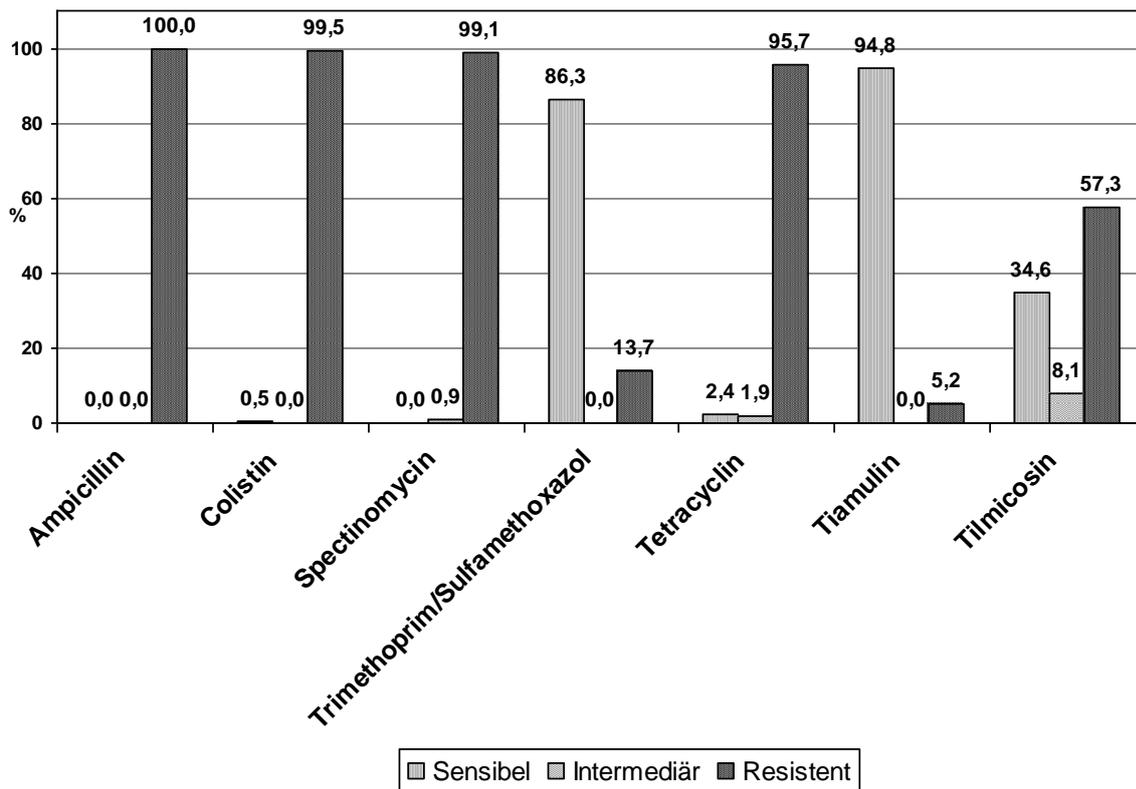


Abbildung 8: Antibiotikaresistenzen porciner MRSA gegenüber veterinärmedizinisch relevanten antibiotischen Wirkstoffen aus Fütterungspräparaten

4.18 Antibiotikaresistenz bei Landwirten

Die von Landwirten isolierten 34 MRSA-Stämme wurden ebenfalls gegen die in der Nutztiermedizin gängigen antibiotischen Wirkstoffen getestet. Für Ampicillin und Colistin konnten in 100% der Fälle Resistenzen nachgewiesen werden. Die Häufigkeit einer Tetracyclinresistenz lag bei 91,2% der untersuchten Isolate. Die Werte für Clindamycin- und Erythromycinresistenz sind mit 52,9% und 58,8% vergleichbar zu den getesteten Stämmen bei den Schweinen, wohingegen die Resistenz der MRSA gegen Enrofloxacin bei den Personen mit 5,9% etwas über den bei Schweinen erbrachten Nachweisen lag. Bei der Resistenztestung gegen den Wirkstoff Florfenicol konnten sowohl bei den Landwirten mit 20,6% als auch bei den Schweinen mit 23,2% vergleichbare Zahlen eruiert werden.

Auch bei den Aminoglycosiden konnten teils vergleichbare Resistenzzahlen beobachtet werden. So lag die Spectinomycinresistenz bei 100%, wohingegen bei den Landwirten im Vergleich zu den Schweinen mit 14,7% um die Hälfte geringere Gentamicin-Resistenzen nachgewiesen werden konnten. Bei den 34 von Menschen isolierten Stämmen zeigten sich mit 5,9% ebenfalls geringe Resistenzen gegen Apramycin. Gegen die Wirkstoffe Cefquinom, Ceftiofur, Cephalotin und Neomycin konnten keine resistenten Stämme gefunden werden.

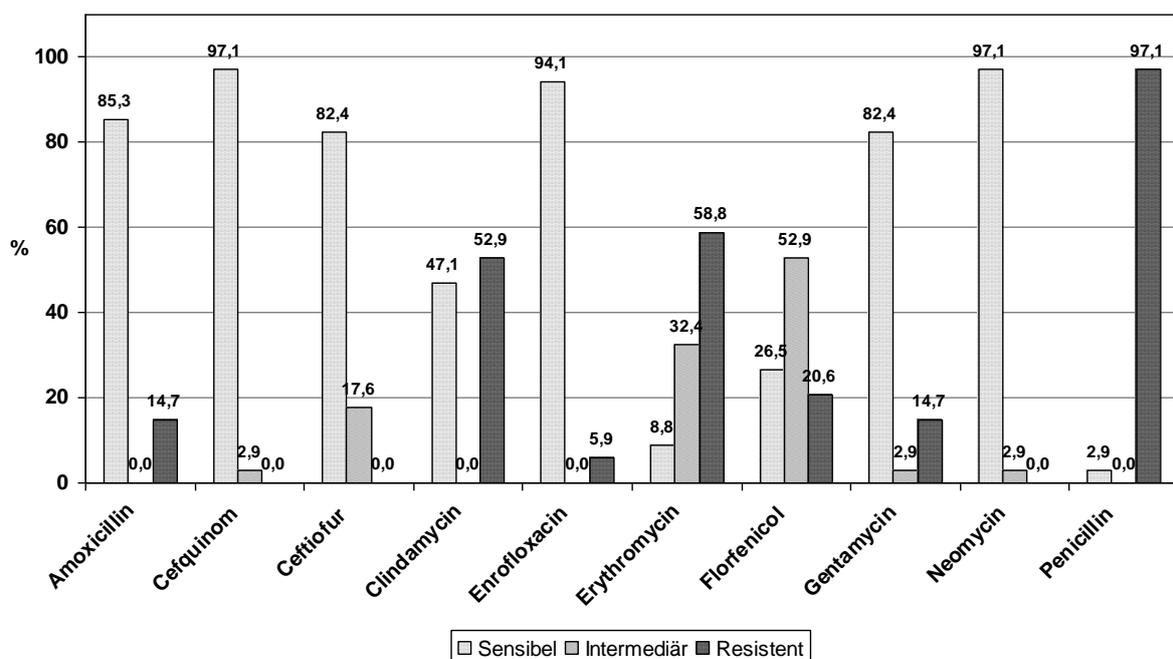


Abbildung 9: Antibiotikaresistenzen humaner MRSA gegenüber veterinärmedizinisch relevanten antibiotischen Wirkstoffen aus Injektionspräparaten

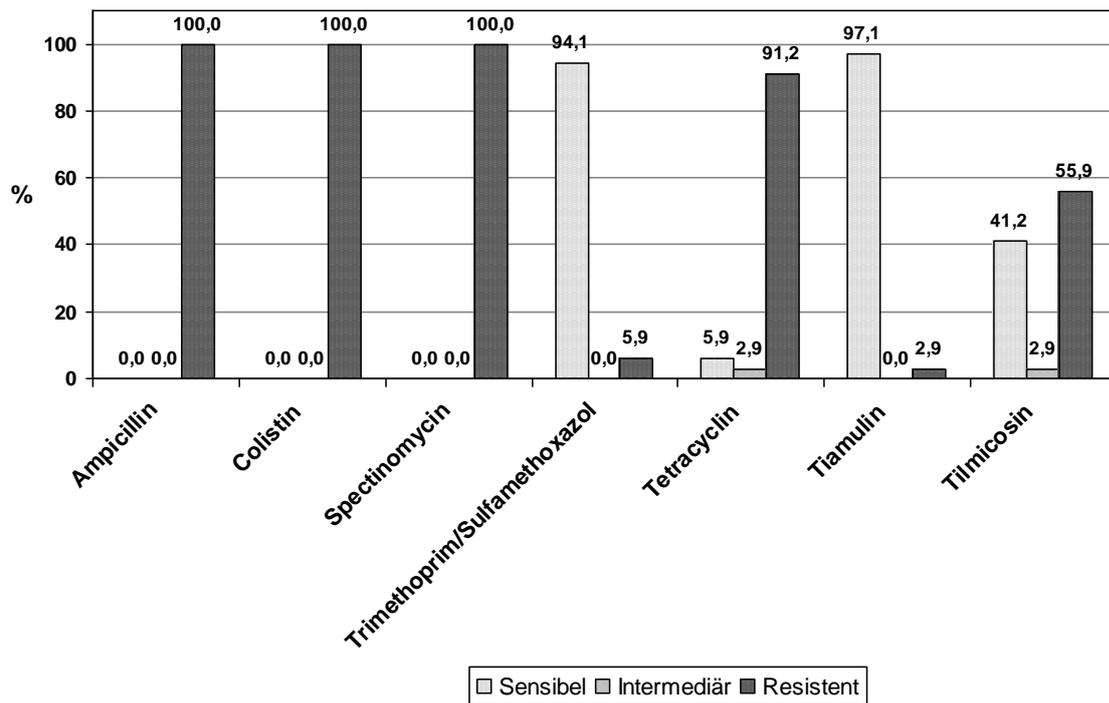


Abbildung 10: Antibiotikaresistenzen humaner MRSA gegenüber veterinärmedizinisch relevanten antibiotischen Wirkstoffen aus Fütterungspräparaten

4.19 Resistenz gegenüber humanmedizinisch relevanten Antibiotika

In der unten stehenden Abbildung 11 sind die Ergebnisse der Resistenztestung von Schweinen isolierten Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* gegenüber humanmedizinisch relevanten Antibiotika dargestellt. Daraus wird ersichtlich, dass bei allen 211 getesteten Stämmen Resistenz gegen Oxacillin, Penicillin G, Moxalactam und Cefoxitin vorliegt. Lediglich 2,8% der MRSA zeigten intermediäres Wachstum bei der Testung mit Levofloxacin, jedoch konnten hierbei keine resistenten Stämme gefunden werden. Das Ergebnis der Empfindlichkeitstestung gegen Daptomycin ergab, dass auch gegen diesen Wirkstoff keine Resistenzen der überprüften porcinen MRSA vorliegen.

Keiner der Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus*, die von Schweinen gewonnen wurden, wies Resistenz gegenüber den in der Humanmedizin als Reserveantibiotika verwendeten Wirkstoffe Rifampin, Teicoplanin und Vancomycin auf.

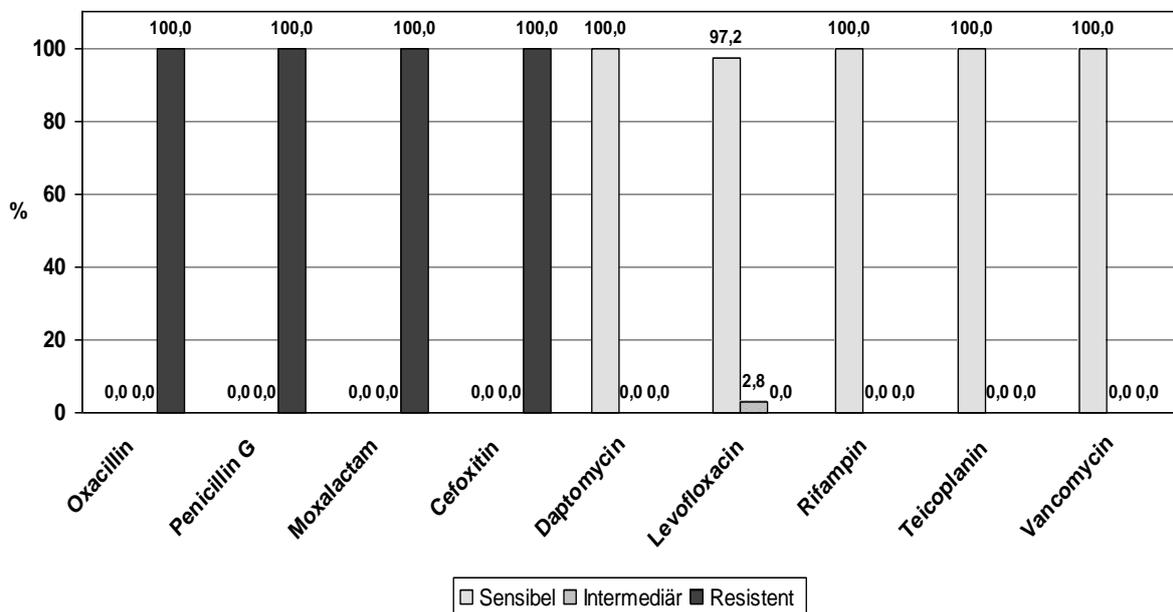


Abbildung 11: Antibiotikaresistenzen porciner MRSA gegenüber humanmedizinisch relevanten antibiotischen Wirkstoffen

Nahezu identische Ergebnisse ergaben sich bei den getesteten MRSA aus humanem Probenmaterial, die in Abbildung 12 dargestellt sind. Analog zu den porcinen Isolaten sind auch in diesem Fall alle Stämme resistent gegen Oxacillin, Penicillin, Moxalactam und Cefoxitin. Bei dem Chinolon Levofloxacin konnten, wenn auch etwas höhere, aber dennoch vergleichbare Werte festgestellt werden. Hierbei zeigten 5,9% der Stämme intermediäres Wachstum. Entsprechend der Ergebnisse der Testung der porcinen Isolate wiesen auch alle der von Landwirten gewonnen Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* Sensibilität für Daptomycin und die Reserveantibiotika Rifampin, Teicoplanin und Vancomycin auf.

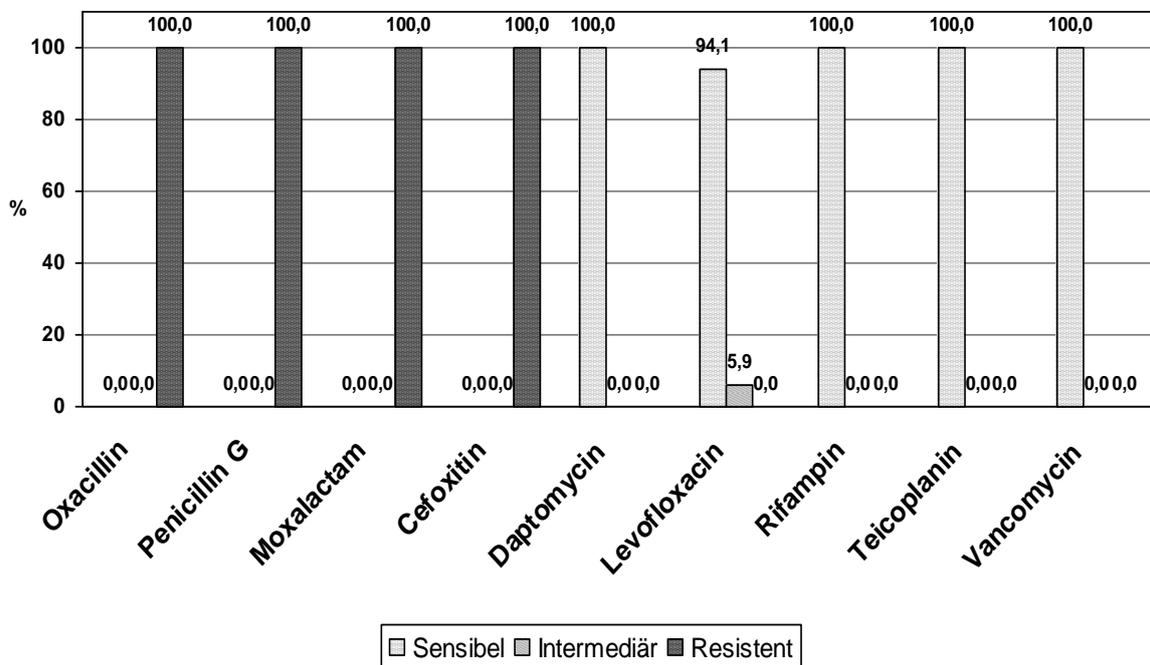


Abbildung 12: Antibiotikaresistenzen humaner MRSA gegenüber humanmedizinisch relevanten antibiotischen Wirkstoffen

5 Diskussion

5.1 Bestandsprävalenz

Die vorliegende Studie ergibt eine Bestandsprävalenz Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus*-Stämme in bayerischen Schweinebeständen von 45%. Zu analogen Ergebnissen gelangen auch KHANNA et al. (2008) im Rahmen einer vergleichbar angelegten Prävalenzstudie in Kanada. Im Gegensatz dazu eruiert die Arbeitsgruppe um MEEMKEN im selben Jahr bei einer entsprechenden Untersuchung im Raum Niedersachsen und Nordrhein-Westfalen eine deutlich niedrigere Herdenprävalenz von 18% (MEEMKEN et al., 2008). Auch VAN DUIJKEREN et al. (2008) ermitteln hierzu in den Niederlanden eine dem entsprechende Prävalenz von 23%. Zu differierenden Ergebnissen gelangen hingegen KÖCK et al. (2009), die in ihren Untersuchungen im holländisch-deutschen Grenzgebiet eine Bestandsprävalenz von 70% angeben. Im regionalen Vergleich ist Bayern somit bezüglich der Bestandsprävalenz von MRSA mit 45% im Mittelfeld der zitierten Studien anzusiedeln.

Bayernweit stellen sich im Bezug auf die einzelnen Regierungsbezirke teils recht deutliche Prävalenzunterschiede dar. So zeigt sich, dass Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* in lediglich 14,3% der Betriebe in Ober- und Unterfranken sowie in 16,7% der Betriebe in der Oberpfalz gefunden werden können. In Oberbayern und Mittelfranken liegen die Werte mit 25% und 42% im mittleren Bereich, der als MRSA-positiv detektierten Schweinebestände. Die höchsten Nachweise können im Gegensatz dazu mit einer Verteilung von 70% in Niederbayern sowie 100% in Schwaben ermittelt werden. Die enorm hohe Prävalenz in Niederbayern und Schwaben erklärt sich aufgrund der Tatsache, dass beide Regionen zu den Gebieten mit der höchsten Schweinedichte sowie den größeren Betriebsstrukturen in Bayern gehören, wie dem interaktiven Kartenverzeichnis des Statistischen Landesamtes Bayern zu entnehmen ist (<http://www.statistik.bayern.de/daten/intermaktiv/archiv/home.asp>). Dadurch ist eine flächendeckende Verbreitung von MRSA in der Schweinepopulation leichter gewährleistet als in Landstrichen mit weniger Schweinen und kleineren Betrieben. Wie bereits unter 5.3 erwähnt, weisen große Betriebe mit mehr als 1000 Tieren signifikant häufiger einen positiven MRSA-Status auf, als kleine und mittlere Betriebe.

Speziell die hohe Prävalenzrate im Regierungsbezirk Schwaben kann zudem möglicherweise auch auf die Zusammenarbeit einiger beprobter Betriebe zurückzuführen sein. Zwischen jeweils zwei mal zwei sowie einmal vier der untersuchten Betriebe besteht regelmäßiger Tierverkehr. Es kann daher nicht ausgeschlossen werden, dass die MRSA-Prävalenz in schwäbischen Schweinebetrieben zu hoch eingeschätzt wurde. Darüber hinaus legen diese Daten aber in Übereinstimmung mit VAN DUIJKEREN et al. (2007) die Schlussfolgerung nahe, dass der Zukauf MRSA-positiver Ferkel mit dem Nachweis Methicillin-resistenter *S. aureus*-Stämme im Mastbetrieb korreliert. In diesem Zusammenhang sehen sowohl ARMAND-LEFEVRE et al. (2005) als auch VAN DUIJKEREN et al. (2007) und SMITH et al. (2009) ein Risiko im Zukauf von positiven Jungsauen im Hinblick auf die Einschleppung von MRSA in einen Bestand.

Die geringe MRSA-Prävalenz von 14,6% in Unterfranken wird durch ein bayernweites Resistenzmonitoring bestätigt. Darin berichten PREIKSCHAT et al. (2008) über die geringste Anzahl MRSA-verdächtiger Stämme sowohl in Krankenhäusern der regionalen Versorgungsstufe als auch im veterinärmedizinischen Bereich in Unterfranken und bestätigen damit die Tendenzen, die in den Ergebnissen der eigenen Studie erkennbar sind.

5.2 Prävalenz nach Haltungsform

In der eigenen Studie werden bayernweit MRSA-Prävalenzraten von 63,2% im Mastbereich sowie 50% für Ferkelproduzenten mit angeschlossener Mast (geschlossene Systeme) ermittelt. Zu vergleichsweise ähnlichen Raten gelangen KÖCK et al. (2009) in Untersuchungen mit 64% positiven geschlossenen Systemen beziehungsweise 50% positiven Mastbetrieben.

Demgegenüber eruiert das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) 2009 in sieben deutschen Bundesländern im Rahmen einer Studie zur Verbreitung und Resistenz von MRSA 57,5% in reinen Endmastbetrieben sowie 28,6% in geschlossenen Systemen, wobei in der Studie des BfR der MRSA-Nachweis aus Stallstaub geführt wurde (BfR, 2009). Einer Studie von VAN DUIJKEREN et al. (2008) zufolge ergeben sich Prävalenzraten im Endmastbereich von 27,3% sowie im Bezug auf geschlossene Betriebe von 16,7%.

Als mögliche Ursache für die teils sehr unterschiedlichen Angaben könnte die abweichende Anzahl an beprobten Betrieben pro Betriebsform angesehen werden.

In den zitierten Untersuchungen inklusive der eigenen reicht diese von sechs bis 181. Zudem scheint auch die Anzahl beprobter Tiere pro Betrieb eine wesentliche Rolle zu spielen. Auch diese weicht in den unterschiedlichen Studien stark voneinander ab. Während in der eigenen Studie übereinstimmend mit VAN DUIJKEREN et al. (2008) eine Probenzahl von jeweils zehn Tieren pro Betrieb gewählt wurde, weisen andere Untersuchungen 40 (KÖCK et al., 2009) bzw. nur etwa zwei Tiere pro Betrieb auf (MEEMKEN et al., 2008). Laut MEEMKEN et al. (2008) steigt jedoch die Anzahl positiver Herden proportional zur Anzahl getesteter Tiere an. So stellen in deren Untersuchung 7% der positiv getesteten Herden ein positives Tier, wohingegen 50% der positiven Herden vier positive Tiere beinhalten.

5.3 Prävalenz nach Betriebsgröße

In der vorliegenden Arbeit ist ab einer Anzahl von 1000 Tieren im Bestand mit einem signifikant höheren Nachweis von MRSA im Betrieb zu rechnen (72,7% positive Betriebe, $p=0,0041$). Zu dem Ergebnis, dass MRSA in Großbetrieben ab 1000 Tieren mit höherer Wahrscheinlichkeit nachgewiesen werden können als in kleinen (1-499) und mittleren (500-999) Betrieben, kommt auch das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR). Die Autoren weisen in 62,5% der untersuchten Groß- und 57,8% der mittleren Betriebe MRSA bei den Schweinen nach. Als mögliche Ursache hierfür könnte die höhere Tierdichte in Großbetrieben angesehen werden. Aber auch der weitverbreitete Einsatz standardmäßiger antibiotischer Medikation, der in Herden mit großen Tierzahlen die Tiergesundheit gewährleisten soll, kann zur Selektion Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* führen (DE NEELING et al., 2007; VAN DUIJKEREN et al., 2007; VAN DUIJKEREN et al., 2008).

5.4 Prävalenz der Tiere innerhalb unterschiedlicher Altersklassen

In der eigenen Untersuchung erweist sich die Verbreitung von MRSA im Bezug auf die unterschiedlichen Altersklassen der Tiere bei den Sauen mit 23,9% als am geringsten. Die ermittelte Prävalenz in der Altersgruppe der beprobten Ferkel hingegen liegt mit 37,6% um den Faktor 1,6 höher, während im Bereich der Mastschweine eine tendenziell geringere Quote von 35,6% eruiert wurde. Die Ergebnisse im Mastbereich kongruieren mit den Zahlen einer Studie von DE NEELING et al. (2007), der zufolge die Einzeltierprävalenz von MRSA bei

Mastschweinen 39% beträgt. Ein denkbarer Erklärungsansatz für den altersabhängigen Abfall der Prävalenzraten in der eigenen Studie von Ferkeln und Mastschweinen zu Sauen ist, dass Tiere mit zunehmendem Alter und reiferem Immunsystem die MRSA-Trägerschaft verlieren können. Das Maß der möglichen Reinfektion hängt dann von der Häufigkeit enger Tier zu Tier-Kontakte ab. Während ab dem Zeitpunkt des Absetzens von der Muttersau Ferkel und später auch Mastschweine in Buchten mit teils großen Stückzahlen gehalten werden, beschränkt sich der intensive Tierkontakt in der Sauenhaltung häufig auf kleinere Sauengruppen. Zudem verbringen Sauen einen beträchtlichen Teil der Zeit in Kastenständen (Abferkelabteile, Deckzentrum) und haben dadurch lediglich Kontakt zu wenigen anderen Tieren der Gruppe. Dies ist auch laut MEEMKEN et al. (2008) der Grund dafür, dass in einem positiven Bestand nicht automatisch alle Tiere Träger von MRSA sind, da zur Übertragung ein sehr enger Tierkontakt nötig ist. Ein weiterer möglicher Grund für die vergleichsweise geringe Prävalenz der Sauen, könnte die Tatsache sein, dass Sauen weniger häufig antibiotisch behandelt werden als Ferkel oder Mastschweine. Falls Behandlungen nötig sind, beschränken sich diese im Regelfall auf einzelne Tiere. Dadurch fehlen Selektionsverfahren, die die Vermehrung und Persistenz von MRSA durch Beeinträchtigung der Normalflora begünstigen.

SMITH et al. (2009) ermitteln im Rahmen einer Studie in Iowa und Illinois eine Prävalenz von MRSA bei Sauen von 36% sowie in der Altersklasse der neun bis zwölf Wochen alten Mastläufer 100% positive Tiere. Auch die von MEEMKEN et al. (2008) durchgeführte Studie in Nordrhein-Westfalen und Niedersachsen spiegelt die Verteilung von MRSA in unterschiedlichen Altersgruppen wieder. Laut ihren Angaben ist bei acht bis 25 kg schweren Ferkeln mit 14% die höchste MRSA-Prävalenz zu verzeichnen, wohingegen bei Sauen in dieser Studie keine MRSA gefunden werden können. Zu einem abweichenden Ergebnis gelangen KHANNA et al. (2008), die in den drei verschiedenen Altersgruppen Ferkel, Mastschweine und Sauen keine altersabhängigen Unterschiede bezüglich der Einzeltierprävalenz analysieren können.

5.5 Unterschiedliche Form der Stallbelegung

Die Ergebnisse zeigen, dass in Mastbetrieben mit kontinuierlicher Belegung signifikant weniger ($p=0,014$) häufig positive MRSA-Nachweise bei den Tieren erbracht werden konnten, obwohl weder die Möglichkeit einer gründlichen Reinigung noch einer sachgemäßen Desinfektion besteht. Ein denkbarer Grund für diese Aussage könnte mit der Betriebsgröße und nur sekundär mit der Belegungsform zusammenhängen, da in Betrieben mit größerer Tierzahl in aller Regel nach dem Rein-Raus-Prinzip belegt wird und in Großbetrieben ab 1000 Tieren signifikant höhere MRSA-Nachweise bei den beprobten Tieren erbracht werden.

5.6 Prävalenz beruflich exponierter Personen

Die Verbreitung Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* unter Landwirten und deren Familienmitgliedern der untersuchten bayerischen Betriebe beläuft sich in der vorliegenden Studie auf 29,3%. Vergleichbare Zahlen ermitteln auch MEEMKEN et al. (2008), die eine MRSA-Prävalenz von 38% bei Personen mit Kontakt zu lebenden Schweinen feststellen. KHANNA et al. (2008) eruiert in einer kanadischen Studie hingegen eine Prävalenz von nur 20% der untersuchten Landwirte.

Demzufolge liegen die Nachweishäufigkeiten sowohl in Bayern als auch in Nordrhein-Westfalen und Niedersachsen jeweils unter den von SMITH et al. (2009) eruierten Ergebnissen von 45% der Mitarbeiter mit Kontakt zu Schweinen im mittleren Westen der USA. In allen genannten Studien inklusive der eigenen wurden übereinstimmend Nasenabstriche als Probenmaterialien sowie entsprechende molekularbiologische Nachweisverfahren verwendet. Jedoch erklären sich die zum Teil recht unterschiedlichen Ergebnisse der Prävalenzraten möglicherweise aus abweichenden Betriebsgrößen und Haltungsformen der beprobten Bestände. Während beispielsweise in der eigenen Untersuchung eine Verteilung der Beprobung auf kleine, mittlere und große Betriebe erfolgte, wurden in anderen Studien sowohl kleinere Probenzahlen (25 Landwirte) herangezogen als auch weniger Betriebe insgesamt (20 Betriebe) analysiert (KHANNA et al., 2008), was die vergleichsweise geringere Prävalenzrate erklären könnte. Demgegenüber beproben SMITH et al. (2009) in ihrer Studie stichprobenartig zwei große Schweineproduktionssysteme, denen neun Betriebe mit insgesamt 87.000 Tieren angehören. Die enorme Tierdichte kann hier ein möglicher Grund für die vergleichsweise hohe Prävalenz von 45% unter

den betreuenden Arbeitern sein. Zusätzlich sprechen auch die mit der eigenen Untersuchung vergleichbaren Ergebnisse der nord-west-deutschen Studie von MEEMKEN et al. (2008) dafür, dass ähnliche Betriebsgrößen und Haltungssysteme eine vergleichbare Häufigkeit des MRSA-Trägerstatus der Landwirte bedingen.

5.7 spa-Typen

Der überwiegende Anteil der in der nationalen und internationalen Literatur beschriebenen spa-Typen sowohl bei Schweinen als auch bei Landwirten und deren Familienmitgliedern sind den Typen t011 und t034 zuzuordnen, was mit den gewonnenen Daten in dieser Studie übereinstimmt (DE NEELING et al., 2007; LEWIS et al., 2008; KHANNA et al., 2008; VAN DUIJKEREN et al., 2008; KÖCK et al., 2009; SMITH et al., 2009). Die Ergebnisse der eigenen Untersuchung ergeben in 96,7% der von Schweinen gewonnenen MRSA-Isolate diese beiden spa-Typen. Spa-Typ t011 kann 86,7% der Fälle zugeordnet werden, die verbleibenden 10% werden von spa-Typ t034 bestimmt. Zu ähnlichen Ergebnissen kommen KHANNA et al. (2007), die 59,2% der isolierten MRSA von Schweinen als spa-Typ t034 identifizieren. Mehr als 75% der detektierten MRSA werden von VAN BELKUM et al. (2008) t034 sowie dem eng verwandten t108 zugeordnet. VAN DUIJKEREN et al. (2007) isolieren in den Niederlanden t034 sowie die eng verwandten Typen t567 und t108 und stellen fest, dass in einzelnen Herden immer dieselben spa-Typen zu finden sind. In der vom BfR durchgeführten Studie bilden t011 und t034 mit 66,7% respektive 23,4% den Hauptanteil der isolierten spa-Typen (BfR, 2009). In holländisch-deutschen Grenzregionen isolieren KÖCK et al. (2009) zusätzlich zu den spa-Typen t011 und t034 auch t108, t1451 sowie t2510.

Auch bei der spa-Typisierung der von Landwirten stammenden Isolate ist in der eigenen Untersuchung die Mehrheit mit 88,2% dem spa-Typ t011 und mit 8,8% dem spa-Typ t034 zuzuordnen. Lediglich ein Stamm (t3423) gehört nicht diesen beiden spa-Typen an. In der Mehrzahl der Fälle waren die Landwirte mit denselben MRSA, wie sie auch bei den Schweinen zu finden waren, besiedelt. Dies entspricht den Ergebnissen von DENIS et al. (2009), in deren Studie die von belgischen Landwirten isolierten MRSA in 45 von 48 Fällen dem spa-Typ t011 zugeordnet werden können. Im Gegensatz dazu können LEWIS et al. (2008) von 31 humanen Isolaten in 29 Fällen t034 sowie jeweils einen t108 und einen t1793, die beide als eine Variante von t034 anzusehen sind, identifizieren.

5.8 Panton-Valentine Leukozidin Gen

Weder bei den von Schweinen noch bei den von Landwirten isolierten Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* kann das Panton-Valentine Leukozidin Gen nachgewiesen werden, was mit den Ergebnissen anderer Autoren übereinstimmt (RANKIN et al., 2005; HUIJSDENS et al., 2006; BOOST et al., 2007; DE NEELING et al., 2007; JUHÁSZ-KASZANYITZKY et al., 2007; VAN DUIJKEREN et al., 2007; WITTE et al., 2007; LEWIS et al., 2008; VAN DUIJKEREN et al., 2008). Im Gegensatz dazu stellen BOOST et al. (2007) das Vorkommen von ca-MRSA-Stämmen fest, die Panton-Valentine Leukozidin produzieren und zwischen Hunden und ihren Besitzern übertragen werden. Der fehlende Nachweis des PVL-Gens bei Schweinen und Landwirten weist auf die vergleichsweise geringere Virulenz der isolierten MRSA-Stämme im Gegensatz zu ca-MRSA hin.

5.9 MLST-Typen

Die 63 Isolate von Schweinen und Landwirten, die dem Multi Locus Sequence Typing unterzogen wurden, konnten bis auf ein Isolat dem ST 398 zugeordnet werden. Somit sind diese Stämme in dieselbe klonale Linie einzuordnen, die bereits in Arbeiten von HUIJSDENS et al. (2006), MEEMKEN et al. (2008), VAN BELKUM et al. (2008), KÖCK et al. (2009) und SMITH et al. (2009) sowie vom BfR (2009) beschrieben wurde. Bei einer Probe, die von einem Ferkel isoliert und dem spa Typ 127 zugeordnet wurde, konnte der Sequenztyp ST 1 ermittelt werden. Dieser Sequenztyp wird den ca-MRSA zugeordnet und vor allem beim Menschen nachgewiesen. Die Landwirtin dieses Betriebes, bei der selbst ein Stamm des spa-Typs t011 nachgewiesen wurde, arbeitete vor ihrer Tätigkeit auf dem Hof als Kinderkrankenschwester. Da pro Nasenabstrich nur ein Stamm weiter differenziert wurde, ist eine Co-Besiedlung der Landwirtin mit humanen und porcinen Stämmen nicht auszuschließen. Demzufolge kann der Nachweis eines humanen ca-MRSA-Stamm bei einem Schwein als die Übertragung vom Menschen auf das Schwein interpretiert werden.

Übereinstimmend mit den genannten Autoren gelangt die vorliegende Arbeit zu dem Schluss, dass MLST neben der spa-Typisierung eine geeignete Methode zum Vergleich verschiedener Stämme sowie der Bestimmung sowohl ihrer phylogenetischen als auch epidemiologischen Verwandtschaft darstellt. Hinzu kommt

die Tatsache, dass die Übereinstimmung der Stämme zwischen Landwirten und Schweinen auf eine wechselseitige Übertragung schließen lässt, was auch mit den Ergebnissen von ARMAND-LEFEVRE et al. (2005) sowie KHANNA et al. (2008) und KÖCK et al. (2009) kongruiert. Im Gegensatz zur spa-Typisierung ist das MLST-Verfahren jedoch mit erheblichem Mehraufwand an Material und Laborarbeit sowie höheren Kosten verbunden. So wird für die spa-Typisierung lediglich ein PCR-Lauf durchgeführt, wohingegen sieben PCR-Läufe für die MLST-Typisierung notwendig sind. Die Produkte der sieben PCR-Läufe werden anschließend aufgereinigt und zur Sequenzierung versandt. Für die Bestimmung des Sequenztyps mittels MLST ist es notwendig, vollständige Ergebnisse aller sieben Haushaltsgene zu erhalten, da ansonsten keine Aussage über die Zuordnung getroffen werden kann. Zudem kann bei der Auswertung der spa-Sequenzierungsdaten eine Software verwendet werden, durch die dieser Arbeitsschritt deutlich vereinfacht und schneller zu bewerkstelligen ist.

5.10 Antibiotikaresistenz

Als Indikatorsubstanz für die Empfindlichkeit der zu testenden MRSA sind Oxacillin und Cefoxitin heranzuziehen, da diese Substanzen als sensitiver gelten (BECKER und PETERS, 2009a). Sobald bei einem Stamm also eine Oxacillin- bzw. Cefoxitin-Resistenz vorliegt, sind alle β -Lactam-Antibiotika und Cephalosporine sowie in der Humanmedizin verwendete Carbapeneme als resistent anzusehen (BECKER und PETERS, 2009a). Dies trifft auch im Falle für die gestesteten Substanzen Cefquinom und Ceftiofur zu, für die lediglich 1,9% und 3,8% resistente Stämme ermittelt werden konnten. Diese Substanzen sind beim Vorliegen von MRSA als unwirksam einzustufen.

In Untersuchungen von SMITH et al. (2009) erweisen sich, wie auch die eigenen Befunde belegen, alle isolierten MRSA als resistent gegenüber Oxacillin.

Des Weiteren ergeben die Ergebnisse der eigenen Studie im Bezug auf das Resistenzverhalten gegenüber Tetracyclin eine Prävalenz von 95,7%. Dem entsprechen auch DE NEELING et al. (2007) und KÖCK et al. (2009), die jeweils in 100% der isolierten MRSA Resistenzen gegen Tetracyclin ermitteln sowie das BfR mit einer Resistenzrate von 98,9% der Isolate in deutschen Mastbeständen (BfR, 2009). VAN DUIJKEREN et al. (2007) schreiben in diesem Zusammenhang dem

verbreiteten Einsatz von β -Lactamantibiotika sowie von Tetracyclinen die größte Verantwortung für die Selektion Methicillin-resistenter *S. aureus* zu.

Im Gegensatz zur Situation bei Tetracyclin ergeben sich im Hinblick auf die Auswertung der Resistenzdaten für Gentamicin erhebliche Differenzen. Während in der eigenen Studie in 31,8% der Fälle sowie bei DE NEELING et al. (2007) in 36% der Fälle Resistenzen gegenüber dem Aminoglykosid Gentamicin vorliegen, ermittelt das BfR nur eine Prävalenz von 12% der Isolate. SMITH et al. (2009) zufolge liegen im Gegensatz dazu keinerlei Hinweise auf Resistenzen gegenüber Gentamicin vor. Dies kann in diesem Fall auf den abweichenden Einsatz von antibiotischen Wirkstoffen in den USA zurückzuführen sein.

Bei der Empfindlichkeitstestung gegen die in der Humanmedizin verwendeten Reserveantibiotika Teicoplanin und Vancomycin entsprechen die von DE NEELING et al. (2007), SMITH et al. (2009) sowie dem BfR (2009) erbrachten Daten denen der vorliegenden Studie. Übereinstimmend kann bei keinem der überprüften Stämme Resistenz gegen eine dieser beiden Substanzen festgestellt werden, was im Hinblick auf diese Antibiotika eine günstige Resistenzlage der von Schweinen isolierten MRSA zeigt.

Als Risikofaktor für die Selektion Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* in Schweineherden sehen DE NEELING et al. (2007), VAN DUIJKEREN et al. (2007), VAN DUIJKEREN et al. (2008) sowie SMITH et al. (2009) den routinemäßigen Einsatz antimikrobieller Substanzen in der Schweineproduktion.

Das BfR eruiert für Clindamycin und Erythromycin Resistenzen von je 65%, wohingegen SMITH et al. (2009) eine Prävalenz von 87% für Clindamycinresistenz sowie 20% für Resistenz gegen Erythromycin ermitteln. Analoge Resultate zur Kreuzresistenz gegen Clindamycin und Erythromycin liefert neben der eigene Studie, in der die für Bayern ermittelten Resistenzwerte bei 53,6% für Clindamycin bzw. 57,3% für Erythromycin liegen, auch die Arbeit von KÖCK et al. (2009), in deren Studie 52% der detektierten MRSA-Stämme Resistenzen gegen Erythromycin und Clindamycin aufweisen.

5.11 Nachweise von MRSA bei Landwirten

In der eigenen Studie sind 29,3% der beprobten Landwirte MRSA-positiv. In lediglich 0,9% der Fälle, also bei einem von 34 Landwirten, der von eitrigen Effloreszenzen der Kopfhaut berichtet, kann eine Erkrankung bei einem MRSA-Träger ermittelt werden. Eine Überprüfung, ob die eitrige Follikulitis der Kopfhaut durch MRSA verursacht wurde, erfolgte nicht. Alle anderen positiv getesteten Personen stellten sich als symptomlose Träger dar. Über einen vermehrten Nachweis von *Staphylococcus aureus* bei Landwirten aus der Schweinehaltung gegenüber Personen, die keinen Kontakt zu Schweinen haben, berichten auch AUBRY-DAMON et al. (2004) sowie ARMAND-LEFEVRE et al. (2005). AUBRY-DAMON et al. (2004) sehen drei mögliche Ursachen für den vermehrten Nachweis resistenter Keime bei schweinehaltenden Landwirten. Zum einen setzen sich Landwirte durch den Kontakt zu den Tieren mit Antibiotika-resistenten Keimen der Schweine auseinander, die dann auch auf den Menschen selbst übertragen werden können. Zum anderen sind Landwirte laut den Autoren durch antibiotische Substanzen, die an ihre Tiere verabreicht werden, selbst einem höheren Kontakt mit Antibiotika ausgesetzt. Aus Sicht der Autoren ist die vermehrte Einnahme von antimikrobiell wirksamen Substanzen im Fall einer Erkrankung der Landwirte die dritte, wenn auch eher unwahrscheinliche Ursache für den gehäuften Nachweis resistenter Keime bei diesen Personengruppen. SMITH et al. (2009) sehen in erster Linie im Kontakt mit einer Vielzahl von Schweinen den größten Risikofaktor für ein MRSA-Trägertum bei den betreuenden Personen. Sie ermitteln für Betriebe mit mehr als 5.000 Tieren eine 100%ige Prävalenz für MRSA unter den Landwirten. Nicht nur die MRSA-Übertragung von Schweinen auf Landwirte sondern auch die Mensch zu Schwein Übertragung ist eine mögliche Art der Übertragung von MRSA, wenn auch der erste Weg als eher wahrscheinlich anzusehen und vielfach beschrieben ist. Die Verteilung unter den Landwirten der eigenen Untersuchung ergibt 26,9% positive Ferkelerzeuger, 21,4% positive Mäster sowie 50% positive Landwirte in geschlossenen Systemen. Vergleichbar eruiieren auch SMITH et al. (2009) in geschlossenen Betrieben eine Prävalenz von 45% unter den betreuenden Personen. Eine mögliche Erklärung für das gehäufte Auftreten Methicillin-resistenter *S. aureus*-Stämme im Bereich der geschlossenen Systeme könnte einerseits in der geringeren Teilnehmerzahl von 22 Personen an der durchgeführten Beprobung zu suchen sein. Andererseits stellt der intensivere Kontakt der Landwirte zu den Tieren eine höhere

Exposition dar. So arbeiten die Landwirte in dieser Betriebsform sowohl mit Ferkeln und Sauen als auch mit Mastschweinen, wodurch sich möglicherweise die Wahrscheinlichkeit einer Übertragung von MRSA aller Altersklassen auf die tierbetreuenden Personen erhöht. MRSA können darüber hinaus auch bei anderen beruflich exponierten Personengruppen, die sowohl mit lebenden Tieren als auch geschlachteten Tierkörpern arbeiten, wie zum Beispiel Tierärzten und Metzgern, nachgewiesen werden (WULF et al., 2008; ANDREOLLOTTI et al., 2009)

5.12 Vergleich der MRSA-Nachweise durch Tonsillen- und Nasentupfer

Beim Vergleich dieser beiden Nachweismethoden stellte sich heraus, dass bei 91,4% der 58 mittels Tonsillen- und Nasentupfer durchgeführten Beprobungen eine Übereinstimmung zu erzielen war und die Ergebnisse beider Methoden identisch waren. In lediglich 5,2% der Fälle waren trotz negativer Nasentupfernachweise positive Tonsillentupferproben erzielt worden. Im umgekehrten Fall konnten bei 3,4% trotz negativer Tonsillentupferproben positive MRSA-Nachweise durch Nasenschleimhautabstriche erbracht werden. Hieraus geht hervor, dass es hinsichtlich einer Untersuchung auf MRSA keine signifikanten Unterschiede mit sich bringt, ob Tonsillen- oder Nasentupfer zum Nachweis entnommen werden.

Obwohl die Entnahme von Nasentupfern in der Literatur die gängigste Methode zur Evaluierung des MRSA-Status darstellt, wurden Ferkel in den ersten Betrieben sowohl mittels Tonsillen- als auch Nasentupfern beprobt, um zu überprüfen, welche der beiden Methoden für den Nachweis Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* besser geeignet ist und zuverlässigere Resultate liefert (DE NEELING et al., 2007; KHANNA et al., 2008; MEEMKEN et al., 2008; VAN DUIJKEREN et al., 2008; KÖCK et al., 2009; SMITH et al., 2009).

Es stellte sich heraus, dass die Probenentnahme aus dem Nasenvorhof gegenüber dem Tonsillenabstrich klare Vorteile im Bezug auf die Praktikabilität der Methode mit sich bringt. Die Tiere können durch einen Helfer entweder auf dem Arm oder mittels Oberkieferschlinge fixiert werden und sind durch die schnelle Entnahme deutlich geringerem Stress ausgesetzt als bei einem Tonsillenabstrich, der nur durch einen eingesetzten Maulkeil durchgeführt werden kann. Des Weiteren ist die Entnahme von Nasentupfern wesentlich präziser durchführbar, da durch Abwehrbewegungen der Tiere und damit verbundener Berührung der Maulschleimhaut die Aussagekraft des

Tonsillenabstriches in Frage gestellt werden muss. Außerdem ist die Beprobung mittels Nasentupfern bei Tieren im Mittel- und Endmastbereich sowie bei Sauen oder Ebern mit erheblich geringeren Risiken für den Probennehmer und das beprobte Tier verbunden. Zusammenfassend stellt die Möglichkeit der Untersuchung auf das Vorhandensein von MRSA mittels Nasentupfern eine vergleichsweise einfache, effiziente und zugleich etablierte Methode dar.

6 Schlussfolgerung

Die Ergebnisse der Studie zeigen, dass Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* mit einer Prävalenz von 45% auch in bayerischen Schweinebeständen recht häufig verbreitet sind, wobei bei keinem der mittels Nasentupfer beprobten Tiere Anzeichen auf Erkrankungen durch MRSA vorlagen.

Anhand der durchgeführten Untersuchungen bei Landwirten wird der Verdacht bestätigt, dass es nicht selten zu einer MRSA-Übertragung zwischen Schweinen und beruflich exponierten Personengruppen kommen kann. In lediglich 0,9% der Fälle kann bei MRSA-positiv getesteten Landwirten ein Zusammenhang zwischen MRSA-Trägertum und einer klinischen Symptomatik vermutet werden. Mittels molekularbiologischer Typisierungsmethoden konnten die von Schweinen und Landwirten isolierten MRSA in deutlich überwiegender Anzahl den spa-Typen t011 und t034 zugeordnet werden. Die MLST Typisierung ergab eine klonale Zuordnung der Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* zum Sequenz Typ 398 sowie in einem Fall zu ST 1. Hinsichtlich der Antibiotikaresistenz kann bei allen Stämmen Resistenz gegenüber Oxacillin, Penicillin und Cefoxitin sowie deutlich ausgeprägte Resistenzen gegenüber den Wirkstoffen Tetracyclin, Colistin, Clindamycin und Erythromycin eruiert werden. Dennoch kann bei den gesammelten Isolaten im Vergleich zu hospital acquired und community acquired MRSA durch das Fehlen des Panton-Valentine Leukozidin-Gens von einer geringeren Virulenz mit günstigerer Resistenzlage ausgegangen werden, da keine Resistenzen gegen Teicoplanin und Vancomycin beobachtet werden können.

Trotz der recht starken Verbreitung Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* bei Schweinen, scheinen diese im Nutztierbereich im Normalfall keinen negativen Einfluss auf die Gesundheit der Tiere zu nehmen. Die Studie belegt zudem, dass nicht selten eine Übertragung von MRSA zwischen Schweinen und Landwirten stattfindet, das daraus resultierende Keimträgertum aber im Regelfall ohne klinische Symptomatik bei den kolonisierten Personen verläuft.

Im Gegensatz dazu können MRSA in Kranken- und Pflegeeinrichtungen zu erheblichen Problemen führen, die mit einer deutlichen gesundheitlichen Beeinträchtigung der Patienten einhergehen können. Um einen MRSA-Eintrag in Krankenhäuser und das Risiko, dort selbst an einer MRSA-Infektion zu erkranken, so gering wie möglich zu halten, ist es beruflich exponierten Personen vor planbaren

Operationen oder Klinikaufenthalten anzuraten, den Hausarzt oder das Klinikum rechtzeitig über die potentielle Exposition zu informieren und ein präoperatives MRSA-Screening in Betracht zu ziehen.

7 Zusammenfassung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde die Prävalenz Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* in bayerischen Schweinebeständen sowie deren Verbreitung unter den Landwirten der jeweiligen Betriebe untersucht. Unter den 60 beprobten Betrieben, die sich über alle sieben bayerischen Regierungsbezirke verteilten, waren 25 Ferkelerzeuger, 19 Mäster und 16 geschlossene Systeme. In den insgesamt 60 Herden wurden 634 Schweine verschiedener Altersklassen mittels Nasenschleimhautabstrich sowohl bakteriologisch als auch molekularbiologisch auf das Vorhandensein von MRSA untersucht. Dabei konnten bei 211 Schweinen aus 27 Betrieben positive MRSA-Nachweise aus Nasentupfern erbracht werden, was einer Betriebsprävalenz von 45% entspricht.

Die Betriebsprävalenz in Ferkelerzeugungsbetrieben ergab 28% und lag damit deutlich unter Mastbetrieben und geschlossenen Systemen, von denen in 50% bzw. 63,2% der Betriebe MRSA-positive Schweine gefunden werden konnten.

Hinsichtlich der regionalen Verteilung ergaben sich zwischen den schweinedichten Regionen Schwaben und Niederbayern in denen 100% bzw. 70% der Betriebe als MRSA-positiv einzustufen waren und den anderen fünf Regierungsbezirken, in denen zwischen 14,3% und 42,9% MRSA-positive Betriebe gefunden werden konnten, teils deutliche Unterschiede.

Mit einer prozentualen Verteilung von 23,9% lag die Prävalenz bei Sauen am niedrigsten. Die Altersgruppe der untersuchten Mastschweine lag mit 35,6% etwas unter den beprobten Ferkeln, von denen 37,6% als MRSA-positiv identifiziert werden konnten. Keines der untersuchten Tiere zeigte klinische Symptome, die auf ein Erkrankung durch MRSA hätten schließen lassen.

Von den 116 Landwirten, die an der Studie teilgenommen haben, konnte in 34 Fällen ebenfalls ein positiver MRSA-Nachweis im Nasenabstrich erbracht werden, woraus sich eine Prävalenz von 29,3% errechnet. Lediglich ein Landwirt gab an, an Follikulitis der Kopfhaare zu leiden. Bei den anderen 33 beprobten Personen konnten keine gesundheitlichen Beeinträchtigungen oder mit MRSA in Verbindung stehende Krankheitssymptome eruiert werden.

Die spa-Typisierung zeigte, dass die beiden meistvertretenen spa-Typen t011 und t034 mit einem Vorkommen von 96,7% deutlich überwiegen. Lediglich 3,3% der von Schweinen isolierten MRSA konnten anderen spa-Typen zugeordnet werden. Analog

konnten die bei Landwirten isolierten MRSA in 97% der Fälle den spa-Typen t011 und t034 zugeordnet werden. Bei den mittels MLST typisierten Stämmen wurde bei lediglich einem Isolat ST 1 nachgewiesen. Alle anderen Stämme konnten dem ST 398 zugeordnet werden. Weiter konnte das Panton-Valentine Leukozidin-Gen bei keinem der untersuchten MRSA-positiven Stämme nachgewiesen werden.

Hinsichtlich der Resistenztestung zeigten sich neben Oxacillin, Penicillin und Cefoxitin hohe Resistenzraten gegen Tetracyclin, Colistin sowie gegen Clindamycin und Erythromycin.

8 Summary

Within the scope of this present study, the prevalence of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Bavarian swine farms and amongst the swine farmers themselves were examined. Sixty farms were included in this study: 25 farrowing, 19 finishing and 16 growing-finishing farms. These farms represented all seven Bavarian administrative districts. Nasal swabs from approximately 634 pigs of varying ages were assessed by bacteriological and molecular methods for MRSA. Results from these tests showed that 211 pigs from 27 farms tested positive for MRSA which corresponded to a farm prevalence of 45%.

A prevalence of 28 % was observed in the farrowing farms, which was considerably lower than that of the finishing and growing-finishing farms. 50% and 63.2 % of the pigs from these two production systems respectively were found to be positive for MRSA.

In regards to the regional presence of MRSA, some distinctive differences were observed in the swine dense regions of Schwaben and Lower Bavaria and the other five administrative districts, whereby 100% and 70% of the farms from Schwaben and Lower Bavaria respectively were identified as MRSA positive. In the other five districts, between 14.3% and 42% of the farms were MRSA positive.

The lowest prevalence identified in this study, 23.9%, was found in sows. The prevalence of the finishing pigs was 35.6 % which was lower than the prevalence of the piglets. 37.6 % of the piglets were identified as MRSA positive. None of the animals examined displayed clinical symptoms which were indicative of an MRSA related disease.

From the 116 swine farmers who participated in the study, 34 had nasal swabs which tested positive for MRSA and this resulted in a prevalence of 29.3%. Only one farmer admitted to having a scalp folliculitis. The results of the other 33 examined persons showed no adverse health effects or clinical symptoms related to MRSA.

The spa- typing demonstrated that the most represented spa-types, t011 and t034, occurred with 96.7 percent. Merely 3.3% of the MRSA swine isolates could be attributed to other spa-types. Analogous to this finding, spa-types t011 and t034 could be assigned to 97% of the MRSA isolates from the swine farmers. In the strains that were typed by Multi Locus Sequence Typing (MLST), ST 398 was identified in all but one case (ST 1). Furthermore, the Panton-Valentine Leukozidin gene could not

be identified in any of the positive MRSA strains. Concerning the resistance testing, high resistance rates were determined for Oxacillin, Penicillin, Cefoxitin, including Tetracyclin, Colistin, Clindamycin and Erythromycin.

Literaturverzeichnis

ANDREOLETTI O., H. BUDKA, S. BUNCIC, P. COLIN, J.D COLLINS, A. DE KOEIJER, J. GRIFFIN, A. HAVELAAR, J. HOPE, G. KLEIN, H. KRUSE, S. MAGNINO, A. MARTÍNEZ LÓPEZ, J. MCLAUCHLIN, C. NGUYEN-THE, K. NOECKLER, B. NOERRUNG, M. PRIETO MARADONA, T. ROBERTS, I. VÅGSHOLM und E.L VANOPDENBOSCH (2009):

Assessment of the Public Health significance of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in animals and foods
Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards
The EFSA Journal 993:1-73

ARMAND-LEFEVRE L., R. RUIMY und A. ANDREMONT (2005):

Clonal comparison of *Staphylococcus aureus* Isolates from healthy pig farmers, human controls, and pigs
Emerg Infect Dis 11 (5):711-714

AUBRY-DAMON H., K. GRENET, P. SALL-NDIAYE, D. CHE, E. CORDEIRO, M-E. BOUGNOUX, E. RIGAUD, Y. LE STRAT, V. LEMANISSIER, L. ARMAND-LEFÈVRE, D. DELZESCAUX, J-C. DESENCLOS, M. LIÉNARD und A. ANDREMONT (2004):

Antimicrobial resistance in commensal flora of pig farmers
Emerg Infect Dis 11 (5):873-879

BAPTISTE KE, K. WILLIAMS, N.J. WILLAMS, A. WATTRET, P.D. CLEGG, S. DAWSON, J.E. CORKILL, T. O'NEILL UND C.A.HART (2005):

Methicillin-resistant staphylococci in companion animals
Emerg Infect Dis 11(12):1942-1944

BECKER K. und G. PETERS (2009a):

Resistenzen bei Staphylokokken (PRSA, MRSA, VISA, VRSA),
In: B. Neumeister, H.K. Geiss, R.W. Braun, P. Kimming (Hrsg.)
Mikrobiologische Diagnostik Bakteriologie-Mykologie-Virologie-Parasitologie
Thieme Verlag KG, Stuttgart 2. Auflage:276-280

BECKER K. und G. PETERS (2009b):

„Staphylococcaceae“, Micrococcaceae und Dermacoccaceae,
In: B. Neumeister, H.K. Geiss, R.W. Braun, P. Kimming (Hrsg.)
Mikrobiologische Diagnostik Bakteriologie-Mykologie-Virologie-Parasitologie
Thieme Verlag KG, Stuttgart 2. Auflage:333-334

BENDER J.B., S.M.F. TORRES, S.M. GILBERT, K.E. OLSEN und K.H. LEDELL (2005):

Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from a non-healing abscess in a cat
Vet Rec 157(13):388-389

BENS C.C.P.M., A. VOSS und C.H.W. KLAASSEN (2006):

Presence of a novel DNA methylation enzyme in Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates associated with pig farming leads to uninterpretable results in standard Pulsed-Field Gel Electrophoresis analysis
J Clin Microbiol 44(5):1875-1876

BERGER-BÄCHI B. (1999):

Genetic basis of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*
Cell Mol Life Sci 56:764-770

BfR (2009):

Untersuchung zur Bestimmung der Prävalenz und Resistenz gegen antimikrobielle Substanzen von Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Mastschweinebeständen ausgewählter (Bundes)länder
Vorläufiger Abschlussbericht, Stand Juli 2009
Persönliche Mitteilung

BIBERSTEIN E.L. und D.C. HIRSH (1999):

Staphylococci
In: D.C Hirsh., Y.C. Zee (Hrsg.):
Veterinary Microbiology :
Blackwell Science 1999:115-119

BOOST M.V., M.M. O'DONOGHUE und K.H.G. SIU (2007):

Characterisation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from dogs and their owners
Clin Microbiol Infect 13: 731-733

BRUMFITT W. und J. HAMILTON-MILLER (1989):

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*
N Engl J Med 320:1188-1196

CHABERNY I.F. (2005):

Übersicht über die aktuellen MRSA-Screening-Methoden in deutschen Universitätskliniken
Der Mikrobiologe – Mitteilung des Berufsverbandes der Ärzte für Mikrobiologie und Infektionsepidemiologie e.V. 15. Jahrgang, Heft 5:173-174

CHAPIN A., A. RULE, K. GIBSON, T. BUCKLEY und K. SCHWAB (2005):

Airborne multidrug-resistant bacteria isolated from a concentrated swine feeding operation
Environ Health Perspect 113(2):137-142

CHAPMAN G.H., C. BERENS, A. PETERS und L. CURCIO (1934):

Coagulase and hemolysin tests as measures of the pathogenicity of *Staphylococci*
J. Bacteriol 28:343-363

CRIBIER B., G. PRÉVOST, P. COUPPIE, V. FINCK-BARBANÇON, E. GROSSHANS und Y. PIÉMONT (1992):

Staphylococcus aureus leukocidin: a new virulence factor in cutaneous infections? An epidemiological and experimental study
Dermatology 185(3):175-180

DAUM R.S., T. ITO, K. HIRAMATSU, F. HUSSAIN, K. MONGKOLRATTANOTHAI, M. JAMKLANG und S. BOYLE-VAVRA (2002):

A novel Methicillin-resistance cassette in community-acquired Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates of diverse genetic backgrounds
J Infect Dis 186:1344–1347

DEISENHOFER J. (1981):

Crystallographic refinement and atomic models of a human Fc fragment and its complex with fragment B of protein A from *Staphylococcus aureus* at 2.9- and 2.8-Å resolution
Biochemistry 20(9):2361–2370

DE NEELING A.J, M.J.M. VAN DEN BROEK, E.C. SPALBURG, M.G. VAN SANTEN-VERHEUVEL, W.D.C. DAM-DEISZ, H.C. BOSHUIZEN, A.W. VAN DE GIESSEN, E. VAN DUIJKEREN und X.W. HUIJSDENS (2007):

High prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in pigs
Vet Microbiol 122:366-372

DENIS O., C. SUETENS, M. HALLIN, B. CATRY, I. RAMBOER, M. DISPAS, G. WILLEMS, B. GORDTS, P. BUTAYE und M.J. STRUELENS (2009):

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST 398 in swine farm personnel, Belgium
Emerg Infect Dis DOI:10.3201/eid 1507.080652

DEVRIESE L.A., L.R. VANDAMME und L. FAMEREE (1972):

Methicillin (cloxacillin)-resistant *S. aureus* isolated from bovine mastitis
Zentralbl Veterinärmed B 19(7):598-605.

DINGES M., P.M. ORWIN und P.M. SCHLIEVERT (2000):

Exotoxins of *Staphylococcus aureus*
Clin Microbiol Reviews 13(1):16-34

ENRIGHT M.C., N.P.J. DAY, C.E. DAVIES, S.J. PEACOCK und B.G. SPRATT (2000):

Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*
J Clin Microbiol 38(3):1008-1015

FOSTER T.J. (2002):

Staphylococcus aureus
In: M. Sussman. Molecular Medical Microbiology
Academic Press:839-888

FRIEDRICH A.W., I. DANIELS-HAARDT, A.K. SONNTAG, F. VERHOEVEN, L. GEMERT-PIJNEN, A. MELLMANN und R. HENDRIX (2006):

EUREGIO MRSA-net Twente/Münsterland
Westfälisches Ärzteblatt 9:51-52

FRIEDRICH A. (2009):

Vernetzter Kampf gegen MRSA

<http://www.pharmazeutische-zeitung.de/index.php?id=29463>

FRÉNAY H.M.E, A.E. BUNSCHOTEN, L.M. SCHOULS, W.J. VAN LEEUWEN, C.M.J.E. VANDENBROUCKE-GRAULS, J. VERHOEF und F.R. MOOI (1996):

Molecular typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on the basis of protein A gene polymorphism
Eur J Clin Microbiol Infect Dis 15:60-64

GEISS H.K., D. MACK und H. SEIFERT (2004):

Identifizierung von speziellen Resistenzmechanismen und Interpretation von Ergebnissen der Antibiotika-Empfindlichkeitstestung bei grampositiven und gramnegativen Erregern
Chemother J 13:1-16

SCHWARZ S. (2008):

Infektionen des Urogenitaltraktes/Metritis-Mastitis-Agalaktie

In: GERMAP 2008 – Antibiotika-Resistenz und –Verbrauch

Antiinfectives Intelligence

Gesellschaft für klinisch-mikrobiologische Forschung und Kommunikation mbH, Rheinbach:97-98

GIBBS S.G., C. F. GREEN, P.M. TARWATER, L. C. MOTA, K. D. MENA und P. V. SCARPINO (2006):

Isolation of antibiotic-resistant bacteria from the air plume downwind of a swine confined or concentrated animal feeding operation
Environ Health Perspect 114(7):1032–1037

GILLET Y., B. ISSARTEL, P. VANHEMS, J-C. FOURNET, G. LINA, M. BES, F. VANDENESCH, Y. PIÉMONT, N. BROUSSE, D. FLORET und J. ETIENNE (2002):

Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying gene for Panton-Valentine leukocidin and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patients

The Lancet 359(9308):753-759

GODING J.W. (1978):

Use of staphylococcal protein A as an immunological reagent

J Immunol Methods 20:241-53

GREEN C.F., S.G. GIBBS, P.M. TARWATER, L.C. MOTA und P.V. SCARPINO (2006):

Bacterial plume emanating from the air surrounding swine confinement operations

J Occup Environ Hyg 3:9–15

HADDADIN A.S., S.A FAPPIANO und P.A. LIPSETT (2002):

Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the intensive care unit
Postgrad Med J 78:385-392

HAHN H., K. MIKSITS und S. GATERMANN (2001):

Staphylokokken
In: Hahn F., D. Falke, S.H.E. Kaufmann, U. Ullmann (Eds.)
Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie
Enke Verlag, Stuttgart:199-211

HALPIN-DOHNALEK, M.I. und E.H. MARTH (1989):

Staphylococcus aureus: production of extracellular compounds and behavior
in foods: a review
J Food Prot 52(4):267-282

HANSELMAN B.A., S.A. KRUTH, J. ROUSSEAU, D.E. LOW, B.M. WILLEY, A. MCGEER und J.S. WEESE (2006):

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in veterinary
personnel
Emerg Infect Dis 12(12):1933-1938

HARTMAN B.J. und A. TOMASZ (1984):

Low-affinity penicillin-binding protein associated with beta-lactam resistance in
Staphylococcus aureus
J Bacteriol 158(2):513-516

HARTMAN F.A., S.S. TROSTLE und A.A. KLOHNEN (1997):

Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from a postoperative
wound infection in a horse
J Am Vet Med Assoc 211(5):590-592

HENDRIKSEN R.S., D.J. MEVIUS, A. SCHROETER, C. TEALE, D. MEUNIER, P. BUTAYE, A. FRANCO, A. UTINANE, A. AMADO, M. MORENO, C. GREKO, K. STÄRK, C. BERGHOLD, A-L. MYLLYNIEMI, D. WASYL, M. SUNDE und F.M. AARESTRUP (2008):

Prevalence of antimicrobial resistance among bacterial pathogens isolated
from cattle in different European countries: 2002-2004
Acta Vet Scand 50:28

HIRAMATSU K., H. HANAKI, T. INO, K. YABUTA, T. OGURI UND F.C. TENOVER (1997):

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced
vancomycin susceptibility
J Antimicrob Chemother 40:135-136

HIRAMATSU K., Y. KATAYAMA, H. YUZAWA und T. ITO (2002):

Molecular genetics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*
Int J Med Microbiol 292:67-74

HUANG H., N.M. FLYNN, J.H. KING, C. MONCHAUD, M. MORITA und S.H. COHEN (2006):

Comparison of community-associated Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and hospital-associated MRSA infections in Sacramento, California
J Clin Microbiol 44(7):2423-2427

HUIJSDENS X.W., M.G. VAN SANTEN-VERHEUVEL, E. SPALBURG, M.E.O.C. HECK, G.N. PLUISTER, B.A. EIJKELKAMP, A.J. DE NEELING, AND W.J.B. WANNET (2006a):

Multiple cases of familial transmission of community-acquired Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*
J Clin Microbiol 44(8):2994-2996

HUIJSDENS X.W., B. J. VAN DIJKE, E. SPALBURG, M. G. VAN SANTEN-VERHEUVEL, M. EOC HECK, G. N. PLUISTER, A. VOSS, W. JB. WANNET und A. J. DE NEELING (2006b):

Community-acquired MRSA and pig-farming
Ann Clin Microbiol Antimicrob 5:26

HULETSKY A., R. GIROUX, V. ROSSBACH, M. GAGNON, M. VAILLANCOURT, M. BERNIER, F. GAGNON, K. TRUCHON, M. BASTIEN, F.J. PICARD, A. VAN BELKUM, M. OUELLETTE, P.H. ROY und M.G. BERGERON (2004):

New Real-Time PCR assay for rapid detection of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* directly from specimens containing a mixture of *Staphylococci*
J Clin Microbiol 42(5):1875-1884

JUHÁSZ-KASZANYITZKY É., J. SZILÁRD, P. SOMOGYI, A.DÁN, L. VAN DER GRAAF-VAN BLOOIS, E. VAN DUIJKEREN und J. A. WAGENAART (2007):

MRSA transmission between cows and humans
Emerg Infect Dis 13(4):630-632

KANEKO J. und Y. KAMIO (2004):

Bacterial two-component and hetero-heptameric pore-forming cytolytic toxins: structures, pore-forming mechanism, and organization of the genes
Biosci Biotechnol Biochem 68(5):981-1003

KERN W.V. und H. SCHRÖDER (2008):

Infektionen des Urogenitaltraktes/Metritis-Mastitis-Agalaktie
In: GERMAP 2008 – Antibiotika-Resistenz und –Verbrauch
Antibiotikaverbrauch in der Humanmedizin
Gesellschaft für klinisch-mikrobiologische Forschung und Kommunikation mbH, Rheinbach:11-16

KHANNA T., R. FRIENDSHIP, C. DEWEY und J.S. WEESE (2008):

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in pigs and pig farmers
Vet Microbiol 128:298-303

KIPP F., A.W FRIEDRICH, K.BECKER UND C. VON EIFF (2004):

Bedrohliche Zunahme Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* Stämme:
Strategien zur Kontrolle und Prävention in Deutschland
Dtsch Ärztebl 101:A 2045–2050

KLUYTMANS J., A. VAN BELKUM und H. VERBRUGH (1997):

Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying
mechanisms, and associated risks.
Clin Mikrobiol Rev 10:505-520

**KÖCK R., J. HARLIZIUS, N. BRESSAN, R. LAERBERG, L.H. WIELER, W. WITTE,
R.H. DEURENBERG, A. VOSS, K. BECKER und A.W. FRIEDRICH (2009):**

Prevalence and molecular characteristics of methicillin-resistant
Staphylococcus aureus (MRSA) among pigs on german farms and import of
livestock-related MRSA into hospitals
Eur J Clin Microbiol Infect Dis DOI 10.1007/s10096-009-0795-4

KÖHLER B. und WILLE H. (1980):

Bakteriologische Untersuchungen bei abortierten Schweinefeten unter
besonderer Berücksichtigung der ätiologischen Bedeutung von
Staphylococcus aureus
Mh. Vet.-Med. 35:506-510

**KRESKEN M., D. HAFNER, F.-J. SCHMITZ und T.A. WICHELHAUS FÜR DIE
STUDIENGRUPPE (2006):**

Resistenzsituation bei klinisch wichtigen Infektionserregern gegenüber
Antibiotika in Deutschland und im mitteleuropäischen Raum
Bericht über die Ergebnisse einer multizentrischen Studie der
Arbeitsgemeinschaft Empfindlichkeitsprüfung & Resistenz der Paul-Ehrlich-
Gesellschaft für Chemotherapie e.V. aus dem Jahre 2004
Antiinfectives Intelligence, Rheinbach

KROKER R., R. SCHERKL und F.R. UNGEMACH (2002):

Chemotherapie bakterieller Infektionen
In: H.-H. Frey, W. Löscher
Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin
Enke Verlag, Stuttgart 2. Auflage, 353-393

KROKER R. (2006):

Pharmaka zur Behandlung und Verhütung bakterieller Infektionen
In: W. Löscher, F.R. Ungemach, R.Kroker (Hrsg.)
Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren
Parey Verlag, Stuttgart 7. Auflage:234-278

KRÜGER M. und T. SEIDLER (2007):

Allgemeine Bakteriologie
In: M. Rolle, A. Mayr (Hrsg.)
Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre
Enke Verlag, Stuttgart 8. Auflage:344-392

LEE J.H. (2003):

Methicillin (oxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from major food animals and their potential transmission to humans
Appl Environ Microbiol 69(11):6489-6494

LEWIS H.C., K. MØLBAK, C. REESE, F.M. AARESTRUP, M. SELCHAU, M. SØRUM und R.L. SKOV (2008):

Pigs as Source of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC398 infections in humans, Denmark
Emerg Infect Dis 14(9):1383–1389

LINA G., Y. PIÉMONT, F. GODAIL-GAMOT, M. BES, M. PETER, V. GAUDUCHON, F. VANDENESCH und J. ETIENNE (1999):

Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia
Clin Inf Dis 29:1128–1132

LINDE H-J. und N. LEHN (2006):

β -Lactam-Resistenz „trifft“ Virulenz Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus*
Pharm. Unserer Zeit 5:422-425

LINDE H-J. und N. LEHN (2008):

Community-associated MRSA: Klinik, Therapie, Hygiene
Krankenhaushygiene up2date 3:29-44

LYON B.R. und R. SKURRAY (1987):

Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus*: Genetic basis
Microbiol Rev:88-134

MEEMKEN D., C. CUNY, W. WITTE, U. EICHLER, R. STAUDT und T. BLAHA (2008):

Occurrence of MRSA in pigs and in humans involved in pig production-preliminary results of a study in the northwest of Germany
Dtsch Tierärztl Wochenschr 115(4):132-139

MUCH P., U. ORENDI, G. HÖGER, A. STÖGER, W. RUPPITSCH, B. SPRINGER und F. ALLERBERGER (2009):

Swine MRSA ST 398 in Austria
International Meeting of Emerging Diseases and Surveillance 2009, Vienna

NAIMI T.S., K.H. LEDELL, D.J. BOXRUD, A.V. GROOM, C.D. STEWARD, S.K. JOHNSON, J.M. BESSER, C. O'BOYLE, R.N. DANILA, J.E. CHEEK, M.T. OSTERHOLM, K.A. MOORE und K.E. SMITH (2001):

Epidemiology and clonality of community-acquired Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Minnesota, 1996–1998
Clin Infect Dis 33:990–996

NEMATI M., K. HERMANS, U. LIPINSKA, O. DENIS, A. DEPLANO, M. STUELENS, L.A. DEVRIESE, F. PASMANS und F. HAESBROUCK (2008):

Antimicrobial Resistance of old and recent *Staphylococcus aureus* isolates from poultry: first detection of livestock-associated methicillin-resistant strain ST 398

Antimicrob Agents Chemother 52(10):3817–3819

NEU H.C. (1992):

The crisis in antibiotic resistance

Science 257(5073):1064-1073

O'MAHONY R., Y. ABBOTT, F.C. LEONARD, B.K. MARKEY, P.J. QUINN, P.J. POLLOCK, S. FANNING und A.S. ROSSNEY (2005):

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from animals and veterinary personnel in Ireland

Vet Microbiol 109:285-296

PERSOONS D., S. VAN HOOREBEKE, K. HERMANS, P. BUTAYE, A. DE KRUIF, F. HAESBROUCK und J. DEWULF (2009):

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in poultry

Emerg Inf Dis 15(3):452-453

PREIKSCHAT P., C. HÖLZEL, J. BAUER, S. HÖRMANSDORFER, G. MÖLLE, P. KÄMPF und I. BAUER-UNKAUF (2008):

Bayernweite Dokumentation von Antibiotikaresistenzen

FKZ: UGV04040802067

LGL-Projektnummer: 04-26

Abschlussbericht Teil 2: Staphylokokken:6-28

PREVOST G., B. CRIBIER, P. COUPPIE, P. PETIAU, G. SUPERSAC, V. FINCK-BARBANCON, H. MONTEIL und Y. PIEMONT (1995):

Panton-Valentine leucocidin and gamma-hemolysin from *Staphylococcus aureus* ATCC 49775 are encoded by distinct genetic loci and have different biological activities

Infect Immun 63(10):4121-4129

QUINN P.J., B.K. MARKEY, M.E. CARTER, W.J. DANNELLY und F.C. LEONARD (2002):

Section II Pathogenic Bacteria:Staphylococcus species

In: Quinn P.J., B.K. Markey, M.E. Carter, W.J. Dannelly, F.C. Leonard (Hrsg.)

Veterinary Microbiology and Microbial Disease,

Blackwell Science:43-48

RANKIN S., S. ROBERTS; K. O'SHEA, D. MALONEY, M. LORENZO und C. E. BENSON (2005):

Panton valentine leukocidin (PVL) toxin positive MRSA strains isolated from companion animals

Vet Microbiol 108:145-148

ROSENBACH F.J. (1884):

Mikroorganismen bei den Wundinfektionskrankheiten des Menschen
J.F. Bergman, Wiesbaden:1-122

SCHNEIDEREIT (2008):

Antibiotikaverbrauch in der Veterinärmedizin
In: GERMAP 2008 – Antibiotika-Resistenz und –Verbrauch
Antibiotikaverbrauch in der Veterinärmedizin
Gesellschaft für klinisch-mikrobiologische Forschung und Kommunikation
mbH, Rheinbach:25-28

SCHWARTZ D.C. und C.R. CANTOR (1984):

Separation of yeast chromosome-sized DNAs by pulsed field gradient gel electrophoresis
Cell 37(1):67-75

SCHWARZ (2008):

Infektionen des Urogenitaltraktes/Metritis-Mastitis-Agalaktie
Staphylococcus aureus/Staphylococcus hyicus
In: GERMAP 2008 – Antibiotika-Resistenz und –Verbrauch
Antibiotikaresistenz in der Veterinärmedizin-Lebensmittel liefernde Tiere
Gesellschaft für klinisch-mikrobiologische Forschung und Kommunikation
mbH, Rheinbach:97-98

SELBITZ H.-J. (2007):

Bakterielle Krankheiten der Tiere
In: M. Rolle, A. Mayr (Hrsg.)
Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre
Enke Verlag, Stuttgart 8.Auflage:481-558

SIERADZKI K., R.B. ROBERTS, S.W. HABER und A. TOMASZ (1999):

The development of Vancomycin resistance in a patient with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection
N Engl J Med 340:517-523

SIMPSON K., R.C. TOZER und W.A. GILLESPIE (1960):

Prevention of staphylococcal sepsis in a maternity hospital by means of hexachlorophane
Br Med J 1:315-317

SING A., C. TUSCHAK und S. HÖRMANSDORFER (2008):

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a family and its pet cat
N Engl J Med 385:1200-1201

SJÖQUIST J., B.M.H. HJELM (1972):

Protein A isolated from *Staphylococcus aureus* after digestion with lysostaphin
Eur J Biochem 29(3):572-578

SMITH T.L., M.L. PEARSON, K.R. WILCOX, C. CRUZ, M.V. LANCASTER, B. ROBINSON-DUNN, F. C. TENOVER, M.J. ZERVOS, J.D. BAND, E. WHITE und W.R. JARVIS (1999):

Emergence of Vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*
N Engl J Med 340:493-501

SMITH T.C, M.J. MALE, A.L. HARPER, J.S. KROEGER, G.P. TINKLER, E.D. MORITZ, A.W. CAPUANO, L.A. HERWALDT und D.J. DIEKEMA (2009):

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Strain ST398 is present in Midwestern U.S. swine and swine Workers
PLoS One 4(1):e4258

SPRINGER B., U. ORENDI, P. MUCH, G. HÖGER, W. RUPPITSCH, K. KRZIWANEK, S. METZ-GERCEK und H. MITTERMAYER (2009):

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a new zoonotic agent?
Wien Klin Wochenschr 121(3-4):86-90

STAALI L., H. MONTEIL und D.A. COLIN (1998):

The Staphylococcal pore-forming leukotoxins open Ca²⁺ channels in the membrane of human polymorphonuclear neutrophils
J Membr Biol 162(3):209-216

STAHLMANN R. und H. LODE (2004):

Entwicklung, Grundbegriffe und Grundlagen der antiinfektiven Chemotherapie
In: Aktories, Förstermann, Hofmann und Starke (Hrsg.)
Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie
Urban und Fischer Verlag, München, 9. Auflage:784-846

TAYLOR D.J. (2006):

Miscellaneous Bacterial Infections
In: B.E. Straw (Edt.) Diseases of Swine
Blackwell Publishing:817-846

TENOVER F.C., L.M. WEIGEL, P.C. APPELBAUM, L.K. MCDOUGAL, J. CHAITRAM, S. MCALLISTER, N. CLARK, G. KILLGORE, C.M. O'HARA, L. JEVITT, J.B. PATEL und B. BOZDOGAN (2004):

Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolate from a patient in Pennsylvania
Antimicrob Agents and Chemother 48(1):275-280

TIEMERSMA E.W., S.L.A.M. BRONZWEAR, O. LYYTIKÄINEN, J.E. DEGENER, P. SCHRIJNEMAKERS, N. BRUINSMA, J. MONEN, W. WITTE und H. GRUNDMANN (2004):

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe, 1999-2002
Emerg Infect Dis (10):1627-1634

TOMITA T. und Y. KAMIO (1997):

Molecular biology of the pore-forming cytolysins from *Staphylococcus aureus*, alpha- and gamma-hemolysins and leukocidin
Biosci Biotechnol Biochem 61(4):565-572

VAN BELKUM A., D.C. MELLES, J.K. PEETERS, W.B. VAN LEEUWEN, E. VAN DUIJKEREN, X.W. HUIJSDENS, E. SPALBURG, A.J. DE NEELING, H.A. VERBRUGH und ON BEHALF OF THE DUTCH WORKING PARTY ON SURVEILLANCE RESEARCH OF MRSA (SOM) (2008):

Methicillin-resistant and -susceptible *Staphylococcus aureus* Sequence Type 398 in Pigs and Humans

Emerg Infect Dis 14(3):479–483

VANDESCH F., T. NAIMI, M.C. ENRIGHT, G. LINA, G.R. NIMMO, H. HEFFERNAN, N. LIASSINE, M. BES, T. GREENLAND, M.-E. REVERDY und J. ETIENNE (2003):

Community-acquired Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine Leukocidin Genes: worldwide emergence

Emerg Infect Dis 9:978-984

VAN DUIJKEREN E., A.T.A. BOX, M.E.O.C. HECK, W.J.B. WANNET und A.C. FLUIT (2004a):

Methicillin-resistant staphylococci isolated from animals

Vet Microbiol(103):91-97

VAN DUIJKEREN E., M.J.H.M. WOLFHAGEN, A.T.A. BOX, M.E.O.C. HECK, W.J.B. WANNET, und A.C. FLUIT (2004b):

Human-to-Dog Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

Emerg Infect Dis (10):2235-2237

VAN DUIJKEREN E., M.D. JANSEN, S.C. FLEMMING, H. DE NEELING, J.A. WAGENAAR, A.H.W. SCHOORMANS, A. VAN NES und A.C. FLUIT (2007):

Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in pigs with exudative epidermitis

Emerg Infect Dis 13(9):1408-1410

VAN DUIJKEREN E., R. IKAWATY, M.J. BROEKHUIZEN-STINS, M.D. JANSEN; E.C. SPALBURG, A.J. DE NEELING, J.G. ALLAART, A. VAN NES, J.A. WAGENAAR und A.C. FLUIT (2008):

Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains between different kinds of pig farms

Vet Microbiol 126(4):383-389

VAN LOO I., X. HUIJSDENS, E. TIEMERSMA und A. DE NEELING (2007):

Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* of animal origin in humans

Emerg Infect Dis 13(12):1834-1839

VITALE C.B., T.L. GROSS und J.S. WEESE (2006):

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in cat and owner

Emerg Infect Dis 12(12):1998-1999

VOSS A., F. LOEFFEN, J. BAKKER, C. KLAASSEN und M. WULF (2005):

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farming

Emerg Infect Dis 11(12):1965-1966

WALTHER B., L.H. WIELER, A.W. FRIEDRICH, A-M. HANNSSEN, B. KOHN, L. BRUNNBERG und A. LÜBKE-BECKER (2008):

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from small and exotic animals at a university hospital during routine microbiological examinations
Vet Microbiol 127:171-178

WANNET W.J.B., E. SPALBERG, M.E.O.C. HECK, G.N. PLUISTER, E. TIEMERSMA, R.J.L. WILLEMS, X.W. HUIJSDENS, A.J. DE NEELING und J. ETIENNE (2005):

Emergence of virulent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains carrying Panton-Valentine Leucocidin gens in the Netherlands
J Clin Microbiol 43(7):3341-3345

WEESE J.S., M. ARCHAMBAULT, B.M. WILLEY, H. DICK, P. HEARN, B.N. KREISWIRTH und B. SAID-SALIM, A. McGEER, Y. LIKHOSHVAY, J.F. PRESCOTT und D.E. LOW (2005a):

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horse and horse personnel 2000-2002
Emerg Infect Dis 11(3):430-435

WEESE J.S., J. ROUSSEAU, J.L. TRAUB-DARGATZ, B.M. WILLEY, A.J. MCGEER und D.E. LOW (2005b):

Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses and humans who work with horses
J Am Vet Med Assoc 226(4):580-583

WEESE J.S., H. DICK, B.M. WILLEY, A. MCGEER, B.N. KREISWIRTH, B. INNIS und D.E. LOW (2006):

Suspected transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between domestic pets and humans in veterinary clinics and in the household
Vet Microbiol 115(1-3):148-155

WELINDER-OLSSON C., K. FLÖREN-JOHANNSON, L. LARRSON, S. ÖBERG, L. KARLSONN und C. AHRÉN (2008):

Infection with Panton-Valentine-Leucocidin-Positive Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* t034
Emerg Infect Dis 14(8):1271-1272

WILLIAMS, R.E.O. (1963):

Healthy carriage of *Staphylococcus aureus*: its prevalence and importance
Bacteriol Rev 27:56-71

WITTE W., B. STROMMINGER, C. CUNY, D. HEUCK und U. NUBEL (2007):

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the Panton-Valentine leucocidin gene in Germany in 2005 and 2006
J Antimicrob Chemother 66:1258-1263

WITTE W. (2008):

Staphylococcus spp.

In: GERMAP 2008 – Antibiotika-Resistenz und –Verbrauch

Antibiotikaverbrauch in der Humanmedizin

Gesellschaft für klinisch-mikrobiologische Forschung und Kommunikation mbH, Rheinbach:35-40

WULF M.W.H., M. SØRUM, A. VAN NES, R. SKOV, W.J.G. MELCHERS, C.H.W. KLAASSEN und A. VOSS (2007):

Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among veterinarians: an international study

Clin Microbial Infect 14(1):29-34

YAMASAKI O., J. KANEKO, S. MORIZANE, H. AKIYAMA, J. ARATA, S. NARITA, J. CHIBA, Y. KAMIO und K. IWATSUKI (2005):

The association between *Staphylococcus aureus* strains carrying Panton-Valentine Leukocidin genes and the development of deep-seated follicular infection

Clin Infect Dis 40:381–385

ZHANG H.Z., C.J. HACKBARTH, K.M. CHANSKY und H.F. CHAMBERS (2001):

A proteolytic transmembrane signal pathway and resistance to β -lactams in *Staphylococci*

Science 291(5510):1962-1965

Tabellenverzeichnis

TABELLE 1: VIRULENZFAKTOREN VON <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> (MODIFIZIERT NACH FOSTER 2002)	4
TABELLE 2: PROZENTUALE VERTEILUNG VON MRSA IN KRANKENHÄUSERN IN EUROPA (MODIFIZIERT NACH TIEMERSMA ET AL., 2004).....	18
TABELLE 3: LISTE DER ÜBERPRÜFTEN HUMANMEDIZINISCH RELEVANTEN ANTIBIOTIKA BZW. CHEMOTHERAPEUTIKA.....	30
TABELLE 4: LISTE DER ÜBERPRÜFTEN VETERINÄRMEDIZINISCH RELEVANTEN ANTIBIOTIKA BZW. CHEMOTHERAPEUTIKA.....	32
TABELLE 5: ZUSAMMENSETZUNG DES MASTERMIXES FÜR DEN NACHWEIS DES <i>MECA</i> -GENS IN <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> (MENGENANGABEN FÜR EINEN 20 μ L-ANSATZ)	34
TABELLE 6: TEMPERATUR-ZEIT-PROGRAMM FÜR DIE REAL TIME-PCR ZUM NACHWEIS DES <i>MECA</i> -GENS IN <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> IM LIGHTCYCLER	35
TABELLE 7: ZUSAMMENSETZUNG DES MASTERMIXES FÜR DEN NACHWEIS DES PANTON-VALENTINE LEUKOZIDIN GENS IN <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> (MENGENANGABEN FÜR EINEN 50 μ L-ANSATZ)	36
TABELLE 8: TEMPERATUR-ZEIT-PROGRAMM FÜR DIE PCR ZUM NACHWEIS DES PANTON-VALENTINE LEUKOZIDIN GENS IN <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i>	37
TABELLE 9: ZUSAMMENSETZUNG DES MASTERMIXES FÜR DIE AMPLIFIKATION DES SPA-GENS IN <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> (MENGENANGABEN FÜR EINEN 50 μ L-ANSATZ) .	38
TABELLE 10: TEMPERATUR-ZEIT-PROGRAMM FÜR DIE PCR ZUR AMPLIFIKATION DES SPA-GENS VON <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i>	39
TABELLE 11: MENGENANGABEN FÜR EINEN 50 μ L-ANSATZ ZUR PCR FÜR DAS MLST	40
TABELLE 12: TEMPERATUR-ZEIT-PROGRAMM ZUR DURCHFÜHRUNG DER MLST-PCR-REAKTIONEN.....	40
TABELLE 13: STATISTISCHE BERECHNUNGSVERFAHREN UNTERSUCHTER EINFLUSSFAKTOREN.....	41
TABELLE 14: DARSTELLUNG DER UNTERSUCHTEN BETRIEBE NACH REGIERUNGSBEZIRK UND PRODUKTIONSSTUFE.....	43
TABELLE 15: DARSTELLUNG DER MRSA-POSITIVEN BETRIEBE NACH REGIERUNGSBEZIRK UND PRODUKTIONSSTUFE	44
TABELLE 16: ANZAHL DER MRSA-POSITIVEN UND MRSA-NEGATIVEN TIERE IN DEN JEWEILIGEN BETRIEBSARTEN UND DEREN PROZENTUALE VERTEILUNG	48
TABELLE 17: ANZAHL UNTERSUCHTER UND POSITIVER NASENTUPFER JE ALTERSKLASSE	48
TABELLE 18: GESCHLECHT DER BEPROBTEN SOWIE MRSA-POSITIVEN UND MRSA-NEGATIVEN TIERE.....	49
TABELLE 19: MRSA-NACHWEIS IN ABHÄNGIGKEIT DER BETRIEBSGRÖÖE	50
TABELLE 20: ÜBERSICHT ÜBER DIE BESTANDSERGÄNZUNG DER BEPROBTEN FERKELERZEUGUNGS-BETRIEBE UND GESCHLOSSENEN SYSTEME.....	50
TABELLE 21: KRITERIEN UND PUNKTWERTE DES HYGIENESCORES	51

TABELLE 22: VORHANDENSEIN VON QUARANTÄNESTÄLLEN IN MRSA-POSITIVEN UND MRSA-NEGATIVEN BETRIEBEN.....	52
TABELLE 23: BELEGUNGSFORMEN DER BETRIEBE IM FERKELBEREICH.....	52
TABELLE 24: BELEGUNGSFORMEN DER BETRIEBE IM MASTSCHWEINEBEREICH	52
TABELLE 25: MRSA-STATUS REINER SCHWEINE- UND MISCHBETRIEBE	53
TABELLE 26: VERGLEICH DES MRSA-STATUS ZWISCHEN BETRIEBEN MIT UND OHNE KONTAKT DER SCHWEINE ZU ANDEREN TIERARTEN.....	54
TABELLE 27: EINSATZ VON ANTIBIOTIKA IN FERKELERZEUGUNGSBETRIEBEN	55
TABELLE 28: EINSATZ VON ANTIBIOTIKA IN MASTBETRIEBEN	55
TABELLE 29: EINSATZ VON ANTIBIOTIKA IN GESCHLOSSENEN SYSTEMEN	55
TABELLE 30: ZUORDNUNG DER ISOLATE ZU VERSCHIEDENEN SPA-TYPEN UND DEREN REPEATS	59
TABELLE 31: VORKOMMEN EINZELNER SPA-TYPEN BEI SCHWEINEN UND DEREN PROZENTUALE VERTEILUNG	60
TABELLE 32: VORKOMMEN EINZELNER SPA-TYPEN BEI LANDWIRTEN UND DEREN PROZENTUALE VERTEILUNG	60
TABELLE 33: WEITERE MRSA-NACHWEISE MIT ERGEBNISSEN DER SPA-TYPISIERUNG.....	61
TABELLE 34: DARSTELLUNG DER UNTERSCHIEDE ZWISCHEN ERGEBNISSEN DER BEPROBUNG AUS TONSILLEN- UND NASENTUPFERN.....	62
TABELLE 35: ÜBERSICHT DER MRSA-RESISTENZEN GEGENÜBER VETERINÄRMEDIZINISCH RELEVANTEN ANTIBIOTIKA IN ABSOLUTEN UND PROZENTZAHLEN	65
TABELLE 36: MRSA-PRIMER	125
TABELLE 37: MRSA-SONDE	125
TABELLE 38: MRSA-PRIMER/SONDEN PRE-MIX NACH HULETZKY ET AL. (2004).....	125
TABELLE 39: PRIMER UND SONDEN DER INTERNEN KONTROLLE	126
TABELLE 40: IPC-PRIMER/SONDEN PRE-MIX	126
TABELLE 41: MASTERMIX ZUR MRSA-PCR.....	126
TABELLE 42: PRIMER FÜR PVL-GEN PCR.....	127
TABELLE 43: PRIMER FÜR SPA-PCR	127
TABELLE 44: PRIMERPAARE FÜR DAS MLST UND IHRE SEQUENZEN	128

Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1: ANTEIL DER EINZELNEN PRODUKTIONSARTEN AN DEN INSGESAMT 60 BEPROBTEN BETRIEBEN	42
ABBILDUNG 2: VERTEILUNG DER BEPROBTEN BETRIEBE ÜBER ALLE BAYERISCHEN REGIERUNGSBEZIRKE	43
ABBILDUNG 3: ANZAHL BEPROBTER UND MRSA-POSITIVER BETRIEBE NACH REGIERUNGSBEZIRK.....	45
ABBILDUNG 4: VERTEILUNG MRSA-POSITIVER (BLAU) UND MRSA-NEGATIVER BETRIEBE (GRÜN) ÜBER ALLE BAYERISCHEN REGIERUNGSBEZIRKE	46
ABBILDUNG 5: ANZAHL BEPROBTER UND MRSA-POSITIVER BETRIEBE NACH BETRIEBSART	47
ABBILDUNG 6: UNTERSUCHTE UND MRSA-POSITIVE PERSONEN GETRENNT NACH JEWEILIGEN BETRIEBSARTEN.....	57
ABBILDUNG 7: ANTIBIOTIKARESISTENZEN PORCINER MRSA GEGENÜBER VETERINÄRMEDIZINISCH RELEVANTEN ANTIBIOTISCHEN WIRKSTOFFEN AUS INJEKTIONSPRÄPARATEN	66
ABBILDUNG 8: ANTIBIOTIKARESISTENZEN PORCINER MRSA GEGENÜBER VETERINÄRMEDIZINISCH RELEVANTEN ANTIBIOTISCHEN WIRKSTOFFEN AUS FÜTTERUNGSPRÄPARATEN.....	66
ABBILDUNG 9: ANTIBIOTIKARESISTENZEN HUMANER MRSA GEGENÜBER VETERINÄRMEDIZINISCH RELEVANTEN ANTIBIOTISCHEN WIRKSTOFFEN AUS INJEKTIONSPRÄPARATEN	67
ABBILDUNG 10: ANTIBIOTIKARESISTENZEN HUMANER MRSA GEGENÜBER VETERINÄRMEDIZINISCH RELEVANTEN ANTIBIOTISCHEN WIRKSTOFFEN AUS FÜTTERUNGSPRÄPARATEN.....	68
ABBILDUNG 11: ANTIBIOTIKARESISTENZEN PORCINER MRSA GEGENÜBER HUMANMEDIZINISCH RELEVANTEN ANTIBIOTISCHEN WIRKSTOFFEN	69
ABBILDUNG 12: ANTIBIOTIKARESISTENZEN HUMANER MRSA GEGENÜBER HUMANMEDIZINISCH RELEVANTEN ANTIBIOTISCHEN WIRKSTOFFEN	70

Anhang

Anlage 1: Betriebsfragebogen

Checkliste MRSA

Landwirt: _____

Hoftierarzt: _____

Datum: _____

Betriebsdaten:

Betriebsart: Ferkelerzeuger Mast
 Zucht geschlossener Betrieb

Betriebsgröße:	Stallplätze:	Anzahl Tiere:
Muttersauen:	_____	_____
Eber:	_____	_____
Aufzuchtferkel:	_____	_____
Mastplätze:	_____	_____

Bestandsergänzung:

Ausschließlich Eigennachzucht

Zukauf Genetik: _____

Quarantäne: nein ja wie lange _____
 separater Stall Eingliederungsstall

Mischbetrieb: nein ja
 Rinder Geflügel Pferde

Kontakt anderer Tierarten mit Schweinen: nein ja

Wenn ja: Hund Katze Rinder Geflügel Pferde

- Boden: Vollspaltenboden
 Teilspaltenboden
 Stroh
- Material: Kunststoff
 Dreikant
 Gussrosten
 Wärmeplatte
 Beton
 Stroh
- Spielmaterial: Stroh Ketten Bälle sonstiges
- Belegung: kontinuierlich
 Rein-Raus
- Stabile Gruppe: ja nein
- Sortierbucht: ja nein
- Krankenabteil: ja nein

Mastschweine

- Art der Aufstallung: Vollspaltenboden
 Teilspaltenboden
 Stroh
- Reinigung: nein ja
- Desinfektion: nein ja
- Stall steht vor Neueinstellung leer: nein ja wie lange:_____
- Spielmaterial: Stroh Ketten Bälle sonstiges
- Belegung: kontinuierlich Rein-Raus
- Stabile Gruppe: ja nein
- Sortierbucht: ja nein
- Krankenabteil: ja nein

Alttiere**Deckbereich:**

- Art der Aufstallung: Kastenstände dauernd fest
 Kastenstände mit Freilauf
 Gruppenhaltung
- Reinigung: nein ja
- Desinfektion: nein ja
- Stall steht vor Neueinstellung leer: nein ja wie lange:_____

Wartebereich:

- Aufenthaltsdauer: _____Tage
- Anzahl Plätze: _____
- Art der Aufstallung: Kastenstände dauernd fest
 Kastenstände mit Freilauf
 Gruppenhaltung
- Reinigung: nein ja
- Desinfektion: nein ja
- Stall steht vor Neueinstellung leer: nein ja wie lange:_____

Abferkelbereich:

- Anzahl Plätze: _____
- Art der Aufstallung: Kastenstände andere Aufstallung
- Ferkelnest: mit Deckel ohne Deckel
 mit Wärmelampe ohne Wärmelampe
 mit Wärmeplatte ohne Wärmeplatte
- Temperatur Abteil: _____ °C Temperatur Nest: _____ °C
- Reinigung: nein ja
- Desinfektion: nein ja
- Stall steht vor Neueinstellung leer: nein ja wie lange:_____

Einzeltiere FerkelVorkommen von Krankheiten: selten mäßig häufigWelcher Art: _____

_____Therapie: _____
_____Einsatz von Antibiotika nein jaWelcher: _____

Über welchen Zeitraum: _____Tage _____Wochen

Einsatz mehrerer Antibiotika während Krankheitsverlauf: nein jaWelche: _____

Therapieerfolg im

Anfangsstadium: Sehr gut gut befriedigend schlecht

Therapieerfolg im

fortgeschr. Stadium: Sehr gut gut befriedigend schlecht

Bestand FerkelStandardmedikationen: nein jaEingesetzte Medikamente: _____

_____Vorkommen von Krankheiten: selten mäßig häufigWelcher Art: _____

_____Therapie: _____
_____Einsatz von Antibiotika nein jaWelche: _____

Über welchen Zeitraum: _____Tage _____Wochen

Einsatz mehrerer Antibiotika während Krankheitsverlauf: nein jaWelche: _____

Therapieerfolg im

Anfangsstadium: Sehr gut gut befriedigend schlecht

Therapieerfolg im

fortgeschr. Stadium: Sehr gut gut befriedigend schlechtImpfungen: _____

Einzeltiere MastschweineVorkommen von Krankheiten: selten mäßig häufigWelcher Art: _____

_____Therapie: _____
_____Einsatz von Antibiotika nein jaWelche: _____

Über welchen Zeitraum: _____Tage _____Wochen

Einsatz mehrerer Antibiotika während Krankheitsverlauf: nein jaWelche: _____

Therapieerfolg im

Anfangsstadium: Sehr gut gut befriedigend schlecht

Therapieerfolg im

fortgeschr. Stadium: Sehr gut gut befriedigend schlecht

Bestand MastschweineStandardmedikationen: nein jaEingesetzte Medikamente: _____

_____Vorkommen von Krankheiten: selten mäßig häufigWelcher Art: _____

_____Therapie: _____
_____Einsatz von Antibiotika nein jaWelche: _____

Über welchen Zeitraum: _____Tage _____Wochen

Einsatz mehrerer Antibiotika während Krankheitsverlauf: nein jaWelche: _____

Therapieerfolg im

Anfangsstadium: Sehr gut gut befriedigend schlecht

Therapieerfolg im

fortgeschr. Stadium: Sehr gut gut befriedigend schlechtImpfungen: _____

Einzeltiere AlttiereVorkommen von Krankheiten: selten mäßig häufig

Welcher Art:

Therapie:

Einsatz von Antibiotika nein ja

Welche:

Über welchen Zeitraum: _____Tage _____Wochen

Einsatz mehrerer Antibiotika während Krankheitsverlauf: nein ja

Welche:

Therapieerfolg im

Anfangsstadium: Sehr gut gut befriedigend schlecht

Therapieerfolg im

fortgeschr. Stadium: Sehr gut gut befriedigend schlecht

Bestand AlttiereStandardmedikationen: nein jaEingesetzte Medikamente: _____

_____Vorkommen von Krankheiten: selten mäßig häufigWelcher Art: _____

_____Therapie: _____
_____Einsatz von Antibiotika nein jaWelche: _____

Über welchen Zeitraum: _____Tage _____Wochen

Einsatz mehrerer Antibiotika während Krankheitsverlauf: nein jaWelche: _____

Therapieerfolg im

Anfangsstadium: Sehr gut gut befriedigend schlecht

Therapieerfolg im

fortgeschr. Stadium: Sehr gut gut befriedigend schlechtImpfungen: _____

Anlage 2: Einverständiserklärung beprobten Personen

Probennummer _____

Nachname _____ Vorname _____

Wohnhaft in _____

 Landwirt/-in Familienmitglied mit Tierkontakt im Betrieb Familienmitglied mit Tierkontakt ohne Betrieb

Wann sind Sie geboren

Tag

Monat

Jahr

--	--	--	--	--	--

Geschlecht: weiblich männlich**Einverständiserklärung**

Hiermit erkläre ich mich mit der Probennahme im Rahmen der MRSA-Studie einverstanden und stimme einer anonymen Auswertung meiner Daten zu wissenschaftlichen Zwecken zu.

Die Proben werden im Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL), Oberschleißheim untersucht.

Ich möchte über das Untersuchungsergebnis vom Landesamt telefonisch unterrichtet werden.

 ja nein

wenn ja, Telefonnummer: _____

Ort, Datum_____
Unterschrift

Die Probennahme wird durch einen Mitarbeiter der Klinik für Schweine der LMU in Oberschleißheim durchgeführt und im Labor des LGL bearbeitet.

Das Ergebnis wird Ihnen von Mitarbeitern des Landesamtes mitgeteilt, die Ihnen, sofern Sie es wünschen, bei Fragen zum Thema MRSA zur Verfügung stehen.

Bei Mitteilung des Laborergebnisses werden Sie von einem Mitarbeiter des LGL mit einem Fragebogen über die eventuellen Zusammenhänge zum Thema MRSA befragt.

Die Befragung liegt nicht im Verantwortungsbereich der Schweineklinik.

Anlage 3: Handout für Landwirte

Was ist MRSA?

Das Kürzel „MRSA“ steht für „Methicillin resistente *Staphylococcus aureus*“ und bezeichnet *Staphylococcus* (S.) *aureus* mit der spezifischen Eigenschaft Methicillin-Resistenz. *Staphylococcus aureus* ist ein weit verbreitetes Bakterium, das Haut und Schleimhäute von Mensch und Tier besiedelt. In der Regel wird die Besiedlung nicht bemerkt. Da *Staphylococcus aureus* auf der Haut vorkommt, ist er auch häufig an Entzündungen von Haut und Schleimhäuten beteiligt. Bestimmte Stämme von *Staphylococcus aureus* stehen mit so genannten „Krankenhauserkrankungen“ in Zusammenhang. Diese Stämme werden auch als Hospitalismuskulturen bezeichnet. Sie können Wundinfektionen, Entzündungen der Atemwege sowie Blutvergiftungen (Septikämien) auslösen.

Die Methicillin-resistente Variante von *Staphylococcus aureus* ist gegen viele Antibiotika unempfindlich, v.a. gegen Penicilline und Cephalosporine. Diese Antibiotika können im Falle einer Infektion dann nicht mehr wirken. Dies ist insbesondere deshalb eine Herausforderung für behandelnde Mediziner, weil diese Antibiotika bisher die Standardbehandlung gegen diese Erregergruppe darstellten.

Können Tiere MRSA tragen?

In den letzten Jahren wurden vermehrt MRSA bei Tieren beschrieben. Dabei gibt es Berichte über Infektionen bei Hunden, Katzen und Pferden, während eines Aufenthalts in Tierkliniken und Tierarztpraxen. Sie litten insbesondere unter Wundinfektionen. Zum anderen wurde bei gesunden Nutztieren, vor allem beim Schwein, ein bestimmter MRSA-Typ nachgewiesen, der sich innerhalb der Tierbestände auszubreiten scheint. Als Erreger von Entzündungen der Milchdrüse (Mastitis), vor allem beim Rind, ist *Staphylococcus aureus* hingegen seit langem bekannt. Bei diesen Erkrankungen wurden bisher jedoch selten Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* nachgewiesen.

Wie kann sich der Mensch mit Methicillin-resistenten S. aureus (MRSA) infizieren?

Die häufigste Quelle von MRSA-Infektionen sind Krankenhäuser, insbesondere die Intensivstationen. Das Krankenhauspersonal unternimmt große Anstrengungen, um solche Infektionen zu verhindern oder frühzeitig zu erkennen. Ein besonderes Risiko, sich mit MRSA zu infizieren, besteht bei chronischen Erkrankungen, einem geschwächten Immunsystem und der Einnahme von Antibiotika, insbesondere wenn diese unsachgemäß erfolgt. Der unmittelbare Kontakt mit MRSA-tragenden Personen und der indirekte Kontakt über gemeinsam genutzte Gegenstände, zum Beispiel Handtücher, oder mangelnde Hygiene, sind die Hauptübertragungswege für MRSA.

Kann sich der Mensch durch den Kontakt mit Tieren infizieren?

Der Kontakt mit besiedelten Tieren kann zu einer Besiedlung des Menschen mit MRSA führen. Am häufigsten wurde dies bisher beim direkten Kontakt mit Schweinen und Kälbern beschrieben. Da aber bei fast allen Haustierarten über Besiedlungen und Infektionen berichtet wird, kann unter Umständen von jeder dieser Tierarten eine MRSA-Besiedlung des Menschen ausgehen. Personen, die aufgrund ihres Berufes (Landwirte, Tierärzte,...) häufig Kontakt mit Schweinen haben, haben auch ein höheres Besiedlungsrisiko. Erkrankungsfälle mit Haut- und Wundinfektionen oder Atemwegserkrankungen mit vom Tier stammenden MRSA wurden bisher nur selten beobachtet. Über den genauen Übertragungsweg vom Tier zum Menschen ist wenig bekannt. Haustiere wie Hunde und Katzen sind einem erhöhten Besiedlungsrisiko ausgesetzt, wenn sie in Tierkliniken behandelt werden müssen. Hier wirken dieselben Faktoren wie beim Menschen in Krankenhäusern: Wo viele Tiere mit unterschiedlichen Erkrankungen zusammentreffen, ist der Infektionsdruck hoch. Keime, die gegen häufig eingesetzte Antibiotika unempfindlich sind, sind gegenüber empfindlichen Keimen im Vorteil und können somit weitere Tiere besiedeln und gegebenenfalls krank machen.

Können Verbraucher MRSA auf der Haut bemerken?

Nein, denn eine Besiedlung führt in der Regel zu keinerlei gesundheitlichen Beeinträchtigungen. *Staphylococcus aureus* gehört zur normalen Keimflora der Haut. Die Besiedlung mit MRSA kann nur durch eine Laboruntersuchung festgestellt werden. Dies erfolgt mit Hilfe eines Abstrichs der Nasenschleimhaut.

Was müssen Verbraucher tun, wenn ihre Haut mit MRSA besiedelt ist?

Die Besiedlung bedeutet nicht automatisch eine Erkrankung. Viele Menschen werden nur vorübergehend von MRSA besiedelt, ohne dass sie es bemerken. Die Besiedlung erhöht allerdings die Wahrscheinlichkeit, an einer entzündlichen Infektion durch MRSA zu erkranken. Welche Maßnahmen im konkreten Fall zu ergreifen sind, sollten Verbraucher am besten mit dem Hausarzt oder den lokalen Gesundheitsämtern besprechen.

Was kann jeder Tierhalter selbst tun, um sich gegen Methicillin-resistente *S. aureus* zu schützen?

Für den Schutz gegen eine Besiedlung durch MRSA gelten die üblichen Hygieneempfehlungen für den Umgang mit Tieren. Nach dem Kontakt mit Tieren sollten die Hände gründlich mit Wasser und Seife gewaschen werden. Zudem sollte man vermeiden, Tiere mit dem Mund zu berühren.

Anlage 4: Befragung der untersuchten MRSA-positiven Personen

Gesundheit Tierhalter/Personen mit Tierkontakt/Familienmitglieder:

Aus der Einverständniserklärung:

Wohnhaft in

- Landwirt/-in Familienmitglied mit Tierkontakt im Betrieb
 Familienmitglied ohne Tierkontakt im Betrieb

Betrieb:

Betriebsnummer:

Person:

Probenummer:

Wann sind Sie geboren

Tag Monat Jahr

--

Geschlecht:

weiblich männlich

MRSA-Nachweis positiv:

nein ja

Wenn MRSA-Nachweis positiv,

telefonische Beratung am: Tag Monat Jahr

Die folgenden Angaben beziehen sich auf das letzte halbe Jahr

Hauterkrankungen:

- oberflächliche eitrige Hauterkrankung: nein ja weiß nicht
 Tiefe eitrige Hauterkrankung: nein ja weiß nicht
 Chronische Wunden: nein ja weiß nicht
 „offenes Bein“: nein ja weiß nicht

Atemwegserkrankung:

chronische Bronchitis:

(d.h. Husten nachts ohne Erkältung u mit morgendlichem Auswurf an den meisten Tagen, min. 3 Monate im Jahr in 2 aufeinander folgenden Jahren)

nein ja weiß nicht

chronische Nasennebenhöhlenentzündung:

nein ja weiß nicht

chronischer Schnupfen:

nein ja weiß nicht

wenn 1-7, ja, sind diese aktuell vorhanden?

Fragennummer/n (1-7) angeben:

weitere Erkrankungen: (etc. innerhalb der letzten 6 Monate)

Krankenhausaufenthalt (>24 h) nein ja weiß nicht

operative Eingriffe: nein ja weiß nicht

wenn ja,

Probleme bei Wundheilung/Infektionen: nein ja weiß nicht

Sonstiges:

Unfälle/Verletzungen die beim Arzt behandelt wurden:

nein ja weiß nicht

wenn ja, Probleme bei Wundheilung/Infektionen:

nein ja weiß nicht

Sonstiges:

Zuckerkrankheit (Diabetes mellitus)

mit Insulinbehandlung: nein ja weiß nicht

Zuckerkrankheit (Diabetes mellitus)

ohne Insulinbehandlung: nein ja weiß nicht

Nierenerkrankung: nein ja weiß nicht

Krebserkrankung, bösartiger Tumor (einschließlich Blutkrebs):

nein ja weiß nicht

Chemotherapeutika:

nein ja weiß nicht

Bestrahlung:

nein ja weiß nicht

Antibiotika:

nein ja weiß nicht

Cortikosteroide:

nein ja weiß nicht

Hat/Hatte eine andere Person des Haushalts innerhalb der letzten 6 Monate
regelmäßig Kontakt zu Personen in einem Senioren-/Pflegeheim/Krankenhaus
(Arbeit im Pflegebereich, Krankenschwester,.....)

nein ja weiß nicht

War eine andere Person des Haushalts innerhalb der letzten 6 Monate in einem
Alten-/Senioren-/Pflegeheim (>24 h) untergebracht

nein ja weiß nicht

Wurde eine Person des Haushalts innerhalb der letzten 6 Monate durch einen
ambulanten Pflegedienst versorgt

nein ja weiß nicht

Kontakt zu einem MRSA-Träger nein ja weiß nicht

Beratung:

wenn Frage 9 bejaht: Hausarzt zum Beratungsgespräch aufzusuchen und MRSA-Nachweis anzugeben, ggfs. Rücksprache des Hausarztes mit Arzt LGL?

ja entfällt

anderenfalls Rat MRSA-Nachweis anzugeben bei Arztbesuchen und Krankenhausbesuchen.

ja entfällt

Wünscht Anruf vom LGL nachdem die molekularbiologische Zuordnung des nachgewiesenen MRSA Stammes erfolgt ist. nein ja

Anmerkungen:

Anlage 5: verwendete Reagenzien

Alle in der Arbeit verwendeten Primer und Sonden wurden von der Fa. Tib MolBiol, Berlin bezogen.

Anlage 5.1 MRSA

Anlage 5.1.1 MRSA-Primer

Stammlösung (mit 0,2xTE-Puffer): 100µM

Tabelle 36: MRSA-Primer

mecii574	5'-GTC AAA AAT CAT GAA CCT CAT TAC TTA TG-3'
meciii519	5'-ATT TCA TAT ATG TAA TTC CTC CAC ATC TC-3'
meciv511	5'-CAA ATA TTATCT CGT AAT TTA CCT TGT TC-3'
mecv492	5'-CTC TGC TTT ATA TTA TAA AAT TAC GGC TG-3'
mecvii512	Dr. Dreier, persönliche Mitteilung
mecv-N1	Dr. Dreier, persönliche Mitteilung
Xsau325	5'-GGA TCA AAC GGC CTG CAC A-3'

Anlage 5.1.2 MRSA-Sonde

Tabelle 37: MRSA-Sonde

Xsau-TM-S	FAM-ACC TCT TAC AAC GCA GTA ACT ACG CAC TAT-BHQ1
------------------	--

Anlage 5.1.3 MRSA-Primer/Sonden Pre-Mix

Tabelle 38: MRSA-Primer/Sonden Pre-Mix nach Huletzky et al. (2004)

Primer Mix	Konzentration Gebrauchs- lösungen	Konzentration im PCR-Ansatz (µM)	Volumen
mecii574-fw	20mM	0,250µM	0,25 µl
meciii519-fw	20mM	0,250µM	0,25 µl
meciv511-fw	20mM	0,250µM	0,25 µl
mecv492-fw	20mM	0,250µM	0,25 µl
mecvii 512-fw	20mM	0,250µM	0,25 µl
mecv-N1-fw	20mM	0,250µM	0,25 µl
Xsau325-re	20mM	0,250µM	0,25 µl
Xsau-TM-Sonde (FAM)	20mM	0,250µM	0,20 µl
Gesamt			1,95 µl

Anlage 5.2: Primer und Sonden der Internen Kontrolle

Tabelle 39: Primer und Sonden der Internen Kontrolle

ntb-AW-fw-2	5'-ACC ACA ATG CCA GAG TGA CAA-3'
ntb-AW-re-2	5'-TAC CTG GTC TCC AGC TTT CAG TT-3'
ntb-AW-Sonde	5'-DYXL-CAC GCG CAT GAA GTT AGG GGA CCA-BBQ

→Primer: Stammlösung (mit 0,2xTE-Puffer): jeweils 100µM

Gebrauchslösung (mit Wasser): jeweils 10µM

→Sonde: Stammlösung (mit 0,2xTE-Puffer): jeweils 100µM

Gebrauchslösung (mit Wasser): jeweils 5µM

Anlage 5.3: Herstellung des IPC-Primer/Sonden Pre-Mix

Tabelle 40: IPC-Primer/Sonden Pre-Mix

Primer Mix	Konzentration Gebrauchs- lösungen	Konzentration im PCR-Ansatz (µM)	Volumen
ntb-AW-fw-2	10	0,500	1 µl
ntb-AW-re-2	10	0,500	1 µl
ntb-AW-Sonde	5	0,150	0,6 µl
Gesamt			2,6 µl

Anlage 5.4: MasterMix

Tabelle 41: MasterMix zur MRSA-PCR

Komponente	Konzentration Gebrauchs- lösung	Konzentration im PCR- Ansatz	Einheit	Volumen
H₂O PCR grade				5,45 µl
FastStartDNA MasterI^{plus}- Mix	5x	1x	Konzentriert	4 µl
MRSA-Pre-Mix	Siehe Tabelle 38			1,95 µl
IC-Pre-Mix	Siehe Tabelle 40			2,6 µl
Außerhalb des MasterMix-Raumes Zugabe von IC(ntb2)-Plasmid-DNA (30 Kopien/Ansatz)				

FastStartDNA MasterI^{plus}-Mix (Fa. Roche, Mannheim)

mecvii 512

mecv-N1 von Dr. Jens Dreier, persönliche Mitteilung
(Institut für Laboratoriums- und Transfusionsmedizin
Herz- und Diabeteszentrum Nordrhein-Westfalen
Universitätsklinik der Ruhr-Universität Bochum
Georgstrasse 11, D-32545 Bad Oeynhausen, Germany)

Anlage 5.5: PVL-Nachweis**Anlage 5.5.1 Primer: jeweils 10µM Gebrauchslösung****Tabelle 42: Primer für PVL-Gen PCR**

<i>lukS-lukF-fw</i>	5'- AAA TGT CTG GAC ATG ATC -3'
<i>lukS-lukF-rev</i>	5'- TTG GAT AGC AAA AGC AAT GC -3'

Anlage 5.6: Gelelektrophorese

Blaupuffer

50 mg Bromphenolblau (Fa. Roth, Karlsruhe)

25 ml Glycerin (Fa. Roth, Karlsruhe)

25 ml Aqua dest.

Anlage 5.7: spa-PCR**Anlage 5.7.1.: Primer für spa-PCR****Tabelle 43: Primer für spa-PCR**

<i>spa-1113 fw</i>	5'- TAA AGA CGA TCC TTC GGT GAG C -3'
<i>spa-1514 rev</i>	5'- CAG CAG TAG TGC CGT TTG CTT -3'

Anlage 5.8: Multi Locus Sequence Typing (MLST)

Tabelle 44: Primerpaare für das MLST und ihre Sequenzen

Bezeichnung	Primerpaar mit Sequenzen
1 arcC (Carbamate kinase)	arcC-Up: TTGATTCACCAGCGCGCGTATTGTC arcC-Dn: AGGTATCTGCTTCAATCAGCG
2 aroE (Shikimate dehydrogenase)	aroE-Up: ATCGGAAATCCTATTTACATTC aroE-Dn: GGTGTTGTATTAATAACGATATC
3 glpF (Glycerol kinase)	glpF-Up: CTAGGAACTGCAATCTTAATCC glpF-Dn: TGGTAAAATCGCATGTCCAATTC
4 gmK (Guanylate kinase)	gmK-UP: ATCGTTTTATCGGGACCATC gmK-Dn: TCATTAAC TACAACGTAATCGTA
5 pta (Phosphate acetyltransferase)	pta-Up: GTTAAAATCGTATTACCTGAAGG pta-Dn: GACCCTTTTGTGAAAAGCTTAA
6 tpi (Triphosphate isomerase)	tpi-Up: TCGTTCATTCTGAACGTCGTGAA tpi-Dn: TTTGCACCTTCTAACAATTGTAC
7 yqiL (Acetyl coenzyme A acetyltransferase)	yqiL-Up: CAGCATACAGGACACCTATTGGC yqiL-Dn: CGTTGAGGAATCGATACTGGAAC

Anlage 5.9: Verwendete Nährmedien

Anlage 5.9.1: Anzucht und Kultivierung

Anlage 5.9.1.1 MRSA-Ident-Bouillon (Fa. heipha, Dr. Müller GmbH, Eppelheim)

Pepton	20g
Mannit	10g
Phosphat	2,5g
Natriumchlorid	5g
Lithiumchlorid	5g
Anilinblau	0,2g
Selektivsupplement	
pH	7,3±0,2

Anlage 5.9.1.2 Oxoid Brilliance MRSA Agar (Fa. Oxoid Deutschland GmbH, Wesel)

Angaben in gm/litre	
Peptone mix	25,0g
Salt mix	25,0g

Agar	15,0g
Kaolin	13,0g
Chromogenic mix	2,0g
Antibiotic cocktail	4,0ml
pH	7,3±0,2

Anlage 5.9.1.3 Blut Nährmedium

Blut Agar Basis (CM 55, Fa. Oxoid, Deutschland GmbH, Wesel)

Schafblut (SR 0051E, Fa. Oxoid, Deutschland GmbH, Wesel)

Basismedium

Zusammensetzung (g/l)

Fleischextrakt „Lab Lemco“	10,0g
Pepton	4,0g
Natriumchlorid	5,0g
Agar	15,0g
Schafblut	50,0g
pH	7,3±0,2

Anlage 5.10: Antibiogramm BD Phoenix TM

Anlage 5.10.1: Kochsalz

NaCl 0,9% (Fa. AppliChem, Darmstadt)

Anlage 5.10.2: Mueller-Hinton II Bouillon

Mueller-Hinton Bouillon (212322, Fa. Becton Dickinson, Heidelberg)

Zusammensetzung (g/l)

Rindfleischextrakt	3,0g
Säurehydrolysat von Casein	17,5g
Stärke	1,5g
pH	7,4±0,2

Danksagung

Ich möchte mich sehr herzlich bei Herrn Prof. Dr. Dr. K. Heinritzi für die Bereitstellung dieses aktuellen Themas sowie die Unterstützung während Planung und Durchführung der Arbeit und die schnelle Korrektur bedanken.

Dem Bayerischen Staatsministerium für Gesundheit und Umwelt danke ich für die Bereitstellung der finanziellen Mittel zur Durchführung dieses Projektes.

Mein aufrichtiger und herzlicher Dank gilt Herrn Dr. Stefan Hörmansdorfer vom Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, für die allzeit freundliche und zuverlässige Betreuung dieser Arbeit. Ich danke Ihnen für die vielen Wochenenden, die Sie für diese Arbeit opfern mussten und hoffe, dass Sie nun endlich wieder etwas Zeit finden, ihre (spannenderen) Krimis lesen zu können. Es hat Spaß gemacht, mit Ihnen zusammen zu arbeiten. –Danke-!

Allen Mitarbeitern der Klinik für Schweine der LMU München, besonders Dr. Andreas Palzer und Dr. Susanne Zöls, die für alle Fragen und Schwierigkeiten stets ein offenes Ohr hatten und mit konstruktiven Vorschlägen zur Lösung beitrugen, danke ich sehr herzlich.

Bei Frau Prof. Höller, Frau Prof. Herr, Herrn Dr. Bischoff aus dem Sachgebiet Hygiene des LGL Oberschleißheim bedanke ich mich für die Zusammenarbeit und die Durchführung der telefonischen Befragung und Information der beprobten Landwirte.

Bei Frau Dr. Regina Konrad und Herrn Dr. Christian Tuschak, die mir bei den durchgeführten Typisierungsverfahren zur Seite standen, möchte ich mich für die Einführung in die große Welt der Molekularbiologie bedanken.

Bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Ludwig Fembacher für die Mithilfe bei der statistischen Auswertung der Datenberge.

Ein herzlicher Dank gilt Jasmin Fräßdorf, für die Hilfe bei allen labortechnischen Fragen sowie die Bearbeitung und Auswertung der Proben. Ohne Dich würd ich wahrscheinlich heute noch pipettieren.

Den Landwirten sowie deren Familien einen herzlichen Dank für die Teilnahme an diesem Projekt.

Meiner Familie sowie allen Omas und Tanten danke ich für die finanzielle Hilfestellung und Unterstützung sowohl während des Studiums als auch während der Promotionszeit.