

Bundesprogramm Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft

Epidemiologische Studie zur Entwicklung von MRSA (Methicillin-resistente Staphylococcus aureus) in ökologisch wirtschaftenden Schweinebetrieben

Epidemiological Study on the Occurrence and Distribution of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Organic Pig Herds

FKZ: 08OE182 FKZ: 09OE013

Projektnehmer:

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover Außenstelle für Epidemiologie Bakum Büscheler Straße 9, 49456 Bakum

Tel.: +49 4446 9599-110 Fax: +49 4446 9599-112

E-Mail: thomas.blaha@tiho-bakum.de Internet: http://www.tiho-hannover.de

Autoren:

Blaha, Thomas

Projektnehmer:

Universität Kassel (FB 11)

Fachgebiet Tierernährung und Tiergesundheit Nordbahnhofstraße 1a, 37213 Witzenhausen

Tel.: +49 5542 98-1707 Fax: +49 5542 98-1581

E-Mail: sundrum@wiz.uni-kassel.de Internet: http://www.uni-kassel.de

Autoren:

Sundrum, Albert

Gefördert vom Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft (BÖLN)

Schlussbericht

"Epidemiologische Studie zur Entwicklung von MRSA (Methicillin resistente *Staphylococcus aureus*) in ökologisch wirtschaftenden Schweinebeständen"

Zuwendungsempfänger:

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover,
Außenstelle für Epidemiologie Bakum
und
Universität Kassel, Fachbereich Ökologische Agrarwissenschaften, Fachgebiet
Tierernährung und Tiergesundheit, Witzenhausen

Förderkennzeichen: 28080E182 und 2809OE013

Berichtszeitraum: 01.08.2009 bis 31.07.2011

1. Ziele und Aufgabenstellung des Projekts

Das vorliegende Projekt zur Entwicklung von MRSA in ökologisch wirtschaftenden Schweinebeständen wurde von der Außenstelle für Epidemiologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover und dem Fachgebiet Tierernährung / Tiergesundheit der Universität Kassel gemeinsam durchgeführt.

Ziel des Forschungsvorhabens war es, das Vorkommen von MRSA in ökologisch bewirtschafteten Schweinebeständen im Vergleich zur konventionellen Schweinehaltung zu untersuchen. Der Vergleich mit dem MRSA-Vorkommen bei konventionell gehaltenen Schweinen wurde durch eine zielorientierte Koordination mit dem EH-Verbundvorhaben des BMELV zur MRSA-Problematik in Nutztierbeständen (Teilvorhaben 2808HS019/020/030/029/041) ermöglicht. In dem Projekt sollten insbesondere die Charakteristika, welche die ökologische von der konventionellen Tierhaltung unterscheiden (Strohhaltungssysteme, restriktive Anwendung von antibiotischwirksamen Substanzen und Desinfektionsmitteln, geringere Tierdichte sowie eingeschränkter Tierzukauf) in die Analyse der Ergebnisse einbezogen werden. Darüber hinaus sollte auch der Einfluss regionaler Unterschiede und verschiedener Betriebsstrukturen innerhalb ökologischer Tierhaltungen (geschlossene Systeme, Zukauf von Tieren usw.) sowie Unterschiede im Haltungsund Hygienemanagement berücksichtigt werden, um die Verbreitungsdynamik von MRSA sowie mögliche Risiko- und Resilienzfaktoren identifizieren zu können.

Das Forschungsvorhaben unterstützt die Ziele des Bundesprogramms ökologischer Landbau und nachhaltiger Landwirtschaft bezüglich der Verbesserung des Verbraucherschutzes und der Entwicklung von Strategien zur Lösung von Hygieneproblemen.

1.1 Planung und Ablauf des Projekts

Das Projekt gliedert sich in zwei Phasen: In einer Querschnittsstudie (Phase 1) wurden zunächst 42 ökologisch wirtschaftenden Schweinebestände mittels Staubproben und Nasentupfern untersucht und anhand der Ergebnisse in "MRSA-positive" und "MRSA-negativ definierte" Bestände eingeteilt. In der sich anschließenden Longitudinalstudie (Phase 2) folgte die weiterführende Untersuchung von sechs, aus der Querschnittsstudie als "MRSA-positiv" hervorgegangenen Beständen, in Form wiederholter Beprobungen gekennzeichneter Einzeltiere.

1.2 Wissenschaftlicher Stand, an den angeknüpft wurde

1.2.1 MRSA bei Schweinen

Seit dem ersten Nachweis im Jahre 2005 (VOSS et al.) berichten Autoren weltweit über das Vorkommen von MRSA bei Schweinen (HUIJSDENS et al., 2006; DE NEELING et al., 2007; KHANNA et al., 2007; GUARDABASSI et al., 2007; VAN DUIJKEREN et al., 2008; MEEMKEN et al., 2009; SMITH et al., 2009; WAGENAAR et al., 2009). Dabei handelt es sich überwiegend um livestock-associated (la)-MRSA des Multi Locus Sequence Type ST398. Die meisten Berichte stammen aus den Niederlanden: HUIJSDENS et al. untersuchten im Jahr 2006 zehn zufällig ausgewählte Schweine eines Bestandes, nachdem bei der Ehefrau und bei der Tochter eines Landwirtes MRSA nachgewiesen worden waren. Nach der Entnahme von Nasen-, Rachen- und Perinealtupfern konnten bei acht von zehn Tieren ST398 MRSA mit dem dominierenden spa-Typ t108 nachgewiesen werden- dies deutete auf einen gemeinsamen genetischen Ursprung der Isolate hin. DE NEELING et al. untersuchten 2007 das Vorkommen von MRSA bei gesunden Mastschweinen auf neun niederländischen Schlachthöfen und ermittelten eine unerwartet hohe Prävalenz. Bei 39% aller untersuchten Schlachttiere konnten MRSA nachgewiesen werden, bei 81% der untersuchten Gruppen à zehn Schweine war mindestens ein Tier MRSA-positiv. Alle nachgewiesenen MRSA-Isolate konnten dem Multi Locus Sequence Typ ST398 zugeordnet werden. Die dominierenden spa-Typen waren t011, t108 und t1245. In einer Studie von VAN DUIJKEREN et al. (2008) wurde das Vorkommen von MRSA bei Schweinen verschiedener Produktionsstufen untersucht. Die Autoren ermittelten eine Einzeltierprävalenz von 11% und konnten in sieben von 31 untersuchten Beständen (23%) ST398 MRSA isolieren, die überwiegend die assoziierten spa-Typen t108, t011 und t567 aufwiesen. Bei den MRSA-positiven Beständen handelte es sich um drei Mast- und drei Zuchtbetriebe sowie ein geschlossenes System. In einem zweiten Schritt untersuchten VAN DUIJKEREN et al. (2008) sechs Zuliefererbetriebe der MRSA-positiven Bestände und konnten in fünf von sechs dieser Betriebe ebenfalls MRSA derselben oder nahe verwandter spa-Typen nachweisen. Aus dieser Tatsache schlussfolgern die Autoren eine Übertragung von MRSA innerhalb der Produktionskette. Neben Studien aus Dänemark (GUARDABASSI et al., 2007), Belgien (WILLEMS et al., 2007) und Deutschland (HARLIZIUS, 2008; MEEMKEN et al., 2009; NATHAUS et al., 2010; FRICK, 2010; FISCHER, 2011; MEYER, 2011; BROCKERS, 2011), die das Vorkommen von MRSA bei Schweinen in Europa belegen, wurden auch in Kanada, den USA und China entsprechende Untersuchungen durchgeführt (KHANNA et al., 2007; SMITH et al., 2009; WAGENAAR et al., 2007). KHANNA et al. (2007) untersuchten die MRSA-Prävalenz bei Schweinen und beruflich exponierten Personen in der ost-kanadischen Provinz Ontario: Dabei wurden bei 71 von 285 Tieren und in neun der 20 Bestände MRSA nachgewiesen, was einer Prävalenz von 25% auf Einzeltier- und 45% auf Bestandsebene entspricht. Die Autoren konnten keine signifikanten Prävalenzunterschiede zwischen den verschiedenen Altersstufen feststellen. SMITH et al. (2009), die erstmals das Vorkommen von MRSA in den USA untersuchten, kommen zu einem anderen Ergebnis: Hier sank die MRSA-Prävalenz mit steigendem Alter der Tiere: So waren 100% der neun bis zwölf Wochen alten Schweine, jedoch nur 36% der Endmast-Tiere eines Bestandes MRSA-positiv. Den ersten MRSA-Nachweis in der Haltungsumwelt chinesischer Schweinebestände erbrachten WAGENAAR et al. (2009). So konnten die Autoren in fünf von neun Beständen, die mittels Staubproben untersucht wurden, MRSA isolieren. Bei allen MRSA-Isolaten wurden der seltene spa-Typ t899 des MLST-Typs ST9 nachgewiesen. Anhand dieses Ergebnisses schlussfolgern die Autoren, dass die Klonalität nutztierassoziierter MRSA-Stämme nicht auf den überwiegend nachgewiesenen Sequence Typ ST398 beschränkt bleibt. Über ein bis ins Jahr 2004 rückverfolgbares Vorkommen von MRSA bei Schweinen in Deutschland, berichten MEEMKEN et al. (2010). Dabei wurden 138 asservierte klinische Staphylococcus aureus-Isolate von Sektionsschweinen aus den Jahren 2004 bis 2007 untersucht. Aus jedem Jahr konnten zwischen 30 und 55% der Isolate als MRSA identifiziert und die hierbei nachgewiesenen spa-Typen ausnahmslos dem Multi Locus Sequence Typ ST398 zugeordnet werden. In einer Studie an Sektionsschweinen zum Vorkommen von MRSA in nordwestdeutschen Schweinebeständen, untersuchten MEEMKEN et al. (2008) im Jahre 2007 insgesamt 678 Tiere aus 347 Beständen auf eine nasale Besiedlung mit MRSA. Die Autoren ermittelten eine Einzeltierprävalenz von 13% sowie eine Bestandsprävalenz von 18%. Hierbei konnten alle MRSA-Isolate der klonalen Linie ST398 zugeordnet werden. Im Rahmen aktueller Studien zum Vorkommen und zur Kolonisationsdynamik von MRSA in Mast- und Zuchtschweinebeständen in Nordwest-, Ost- und Süddeutschland konnten vergleichsweise hohe Prävalenzwerte ermittelt werden: Bei der Untersuchung von Mastschweinebeständen in Nordwest- und Ostdeutschland wurden in 39 von 48 Beständen MRSA durch die Entnahme von Umgebungsstaubproben nachgewiesen (BROCKERS, 2011). Dies entspricht einer Bestandsprävalenz von 81%. Die mithilfe von Nasenabstrichen ermittelte Intraherdenprävalenz lag bei 49%. Die Ergebnisse einer Studie zum Vorkommen und zur Kolonisationsdynamik von MRSA in Süddeutschland zeigen einen positiven MRSA-Nachweis mittels Staubproben in 12 von 18 untersuchten Schweinebeständen Produktionsstufen. Entsprechend betrug hier die Prävalenz auf Bestandsebene 67% (FISCHER, 2011). In der Region Nordwestdeutschland untersuchten NATHAUS et al. im Jahre 2010 die Intraherdenprävalenz von MRSA sowie Methicillin-sensiblen Staphylococcus aureus (MSSA) in zwei unabhängig voneinander wirtschaftenden Sauenbeständen. Die Autoren zeigen einen Zusammenhang zwischen dem MRSA-Nachweis bei Ferkeln zum Zeitpunkt der Geburt und dem positiven MRSA-Status der Muttersau auf. Die Ergebnisse einer Studie von MOODLEY et al. (2010) belegen die These der perinatalen Übertragung von MRSA. Nach einer experimentellen vaginalen Kolonisation hochtragender Sauen mit ST398 und ST9 MRSA, konnten die Autoren bei allen neugeborenen Ferkeln ein MRSA-Trägertum nachweisen. Die im Rahmen einer Studie zum Vorkommen und zur Kolonisationsdynamik von MRSA in Zuchtschweinebeständen in Nordwestdeutschland vorgestellten Ergebnisse untermauern diese These. MEYER (2011) untersuchte sechs Ferkelerzeugerbestände in Niedersachsen und Nordrhein-Westfalen. Der Autor stellte dabei eine signifikant höhere Kolonisationsrate bei den neugeborenen Ferkeln derjenigen Sauen fest, bei denen eine Besiedlung mit MRSA um den Zeitpunkt der Geburt nachgewiesen werden konnte.

Aus den bisher vorgestellten Studien geht MRSA vorwiegend als symptomloser Schleimhautbesiedler klinisch gesunder Tiere hervor; jedoch konnten in einigen Fällen la-MRSA auch in Verbindung mit Infektionen beim Schwein isoliert werden (VAN DUIJKEREN et al., 2007; SCHWARZ et al., 2008). In diesem Zusammenhang wurden Hautinfektionen, wie exudative Dermatitis bei Ferkeln (VAN DUIJKEREN et al., 2007) sowie Infektionen des Urogenitaltrakts, des Uterus und des Gesäuges beobachtet (SCHWARZ et al., 2008).

1.2.2 Livestock-associated MRSA (la-MRSA) und die Bedeutung für den Menschen

Im Jahr 2005 identifizierten VOSS et al. in den Niederlanden erstmals den Kontakt zu Schweinen als Risikofaktor für eine Besiedlung mit Methicillin resistenten *Staphylococcus aureus*. Ausgangspunkt war der MRSA-Nachweis bei einem sechs Monate alten Mädchen im Rahmen des Routine-Screenings vor einer geplanten Operation. Auch bei den Eltern, die in der Schweinehaltung tätig waren, konnten daraufhin MRSA desselben spa-Typs (t108) wie beim Kind nachgewiesen werden. Da es weder bei dem Kind selbst, noch bei dessen Eltern und Angehörigen Hinweise auf eine nosokomial erworbene Besiedlung mit MRSA gab, wurden die Schweine des elterlichen Betriebs untersucht: Bei einem Tier wurden MRSA vom spa-Typ t108 isoliert. VOSS et al. (2005) wiesen einige Monate später auch bei einem Landwirt, der aus einer anderen Region stammte und bei dem Sohn eines Tierarztes MRSA nach. Als bei einer Krankenschwester des Krankenhauses, in dem der Junge behandelt worden war, ebenfalls verwandte MRSA-Stämme isoliert werden konnten, schlossen die Autoren auf ein erhöhtes Risiko der MRSA-Kolonisation beim Menschen in Verbindung mit der Schweinehaltung. Die von den Autoren ermittelte Prävalenz bei Personen mit Kontakt zu Schweinen war mit 26% über 760mal höher, als die von

WERTHEIM et al. (2004) ermittelte MRSA-Prävalenz von 0,03% bei der übrigen niederländischen Bevölkerung.

Auch Studien von ARMAND-LEFEVRE et al. (2005) in Frankreich und HUIJSDENS et al. (2006) in den Niederlanden, bestätigen das vermehrte Vorkommen von MRSA bei Schweine haltenden Landwirten und deren Angehörigen im Zusammenhang mit MRSA-positiven Schweinebeständen. In Kanada untersuchten KHANNA et al. (2007) ebenfalls das Vorkommen von MRSA bei Schweinen und beruflich exponierten Personen: Die MRSA-Stämme die bei exponierten Personen nachgewiesen wurden, waren stets identisch mit denen, die bei den Schweinen auf den jeweiligen Höfen isoliert wurden. Zudem stellten KHANNA et al. (2007) einen möglichen Zusammenhang zwischen geringer MRSA-Prävalenz bei den untersuchten Tieren und negativem MRSA-Nachweis beim Stallpersonal her. Auch Studien von WULF et al. (2007) und MEEMKEN et al. (2009) belegen ein gehäuftes Auftreten von MRSA des Multi Locus Sequence Type ST398 bei beruflich exponierten Personen. Bei einem internationalen Tierärztekongress im Jahre 2006 wurde ein signifikanter Zusammenhang zwischen regelmäßigem beruflichen Kontakt zu Schweinen und der Kolonisation mit MRSA des Muti Locus Sequence Type ST398 hergestellt (WULF et al., 2007). VAN LOO et al. (2007) konnten NT-MRSA besonders häufig bei Menschen aus viehdichten Regionen der Niederlande, in denen besonders viele Schweine gehalten werden, nachweisen. Weitere Studien zeigen, dass neben dem Kontakt zu Schweinen, auch der Kontakt zu anderen Nutztieren das Risiko einer Besiedlung mit MRSA bei den betreffenden Personen erhöht (VAN LOO et al., 2007; GRAVELAND et al., 2010). Neben dem Vorkommen als symptomlose Besiedler der Nasenschleimhaut, konnten la-MRSA auch bei teils schwerwiegenden Infektionen isoliert werden. So wurden ST398 MRSA im Zusammenhang mit Wundinfektionen, unter anderem der eines diabetischen Ulcus am Fuß eines Patienten (WULF et al., 2007), mit Endokarditis (SCHIJFFELEN et al., 2010) und mit Sinusitis sowie einer Bakteriämie mit Multi-Organ-Versagen (LEWIS et al., 2008) nachgewiesen. Im Jahr 2007 berichteten VAN LOO et al. erstmals von ST398 MRSA, bei denen der Virulenzfaktor Panton-Valtentine Leukozidin nachgewiesen werden konnte. Dies impliziert die Fähigkeit der la-MRSA, weitere Virulenzfaktoren in Form mobiler genetischer Elemente aufzunehmen und damit die bis dato geringgradige Virulenz deutlich zu steigern.

1.2.3 Ökologische Schweinehaltung in Deutschland

Tierische Produkte aus ökologischer Erzeugung werden in den letzten Jahren von deutschen Verbrauchern zunehmend nachgefragt. Der Wunsch nach artgerechter und naturnaher Haltung der Nutztiere sind dabei wesentliche Motive einer steigenden Anzahl von Käufern, die sich bewusst für ökologisch erzeugte, tierische Produkte entscheiden (WERNER et al., 2008). Ökologisch erzeugtes Schweinfleisch stellt jedoch im Gegensatz zu ökologisch erzeugten Eiern oder Milch, ein Nischenprodukt für eine eher kleine Verbraucherschaft dar (LÖSER u. DEERBERG, 2004; ANONYM, 2010). Laut einem Bericht des statistischen Bundesamtes gab es im Jahr 2010 zweitausend Ökobetriebe mit Schweinehaltung, die insgesamt etwa 152.100 Tiere hielten. Das bedeutet, dass nur knapp ein Prozent aller Schweine in Deutschland ökologisch gehalten werden. Bio-Schweinefleisch ist etwa doppelt so teuer wie konventionell erzeugtes Schweinefleisch (LÖSER u. DEERBERG, 2004). Im Mai 2011 betrug der Erzeugerpreis für ein Kilogramm Bio-Schweinefleisch der Handelsklasse E 2,95 € (AMI, 2011). Das liegt neben einem erhöhtem Arbeitsaufwand, höheren Ferkelpreisen und vergleichsweise geringer Mastleistung, vor allem an erheblich höheren Futterkosten als in der konventionellen Schweineproduktion (SUNDRUM, 2006; ENGELHARDT, 2008). Die Betriebe in der ökologischen Schweinehaltung sind meist kleinstrukturiert. In einer umfangreichen Studie zur ökologischen Schweineproduktion geben LÖSER u. DEERBERG (2004) die durchschnittliche Größe von Mastbeständen mit 125 Mastplätzen an, die untersuchten Ferkelerzeuger hielten im Durchschnitt 18 Sauen. Nur sehr wenige Ferkelerzeuger in Deutschland halten mehr als 100 Sauen. Durch diese kleinen Betriebsstrukturen müssen viele Mäster Ferkel aus mehreren Herkünften beziehen (SUNDRUM, 2004). RAHMANN et al. (2010) sehen die ab 2012 laut EG-Ökoverordnung geforderte 100%-Biofütterung problematisch. Kann der Bedarf an essentiellen Aminosäuren von Schweinen momentan noch über konventionelles Futter gedeckt werden, befürchten die Autoren in naher Zukunft eine "Proteinlücke im ökologischen Landbau". Der Bedarf an den essentiellen Aminosäuren Lysin und Methionin muss dann ausschließlich durch entsprechende Kombinationen einheimischer Eiweißträger oder durch teures Bio-Importfutter gedeckt werden (WEISSMANN, 2008). Die ökologische Schweinefleischerzeugung kann unter den gegebenen Bedingungen bezüglich Produktivität und Muskelfleischanteil nicht zur konventionellen Schweineproduktion in Konkurrenz treten (SUNDRUM, 2006). Daher sollte in der ökologischen Schweinehaltung die Erzeugung von Qualitätsfleisch mit hohem Genusswert für den anspruchsvollen Verbraucher im Vordergrund stehen (LÖSER u. DEERBERG, 2004; SUNDRUM, 2006; WERNER, 2007).

1.2.4 Vorkommen von MRSA in ökologisch wirtschaftenden Schweinebeständen

In der Literatur finden sich bisher kaum Berichte zum Vorkommen von MRSA bei Schweinen aus ökologischer Haltung. Erste Ergebnisse vergleichender Untersuchungen zum Vorkommen in konventionellen und ökologischen Schweinebeständen wurden durch die MRSA-Arbeitsgruppe an der Außenstelle für Epidemiologie der tierärztlichen Hochschule Hannover auf einschlägigen Tagungen vorgestellt (MEEMKEN et al., 2009; BLAHA et al., 2010). Darin ist die MRSA-Besiedlungsrate ökologisch bewirtschafteter Schweine deutlich geringer als die von konventionell gehaltenen Tieren. In den Niederlanden untersuchten WULF et al. (2008) die Besiedlung mit MRSA bei 27 ökologisch und 26 konventionell wirtschaftenden Landwirten. In beiden Gruppen konnten MRSA nachgewiesen werden: Von 26 konventionell wirtschaftenden Landwirten waren 13 MRSA positiv. Eine signifikant niedrigere MRSA-Besiedlungsrate konnte bei den ökologisch wirtschaftenden Landwirten ermittelt werden: Hier waren drei von 27, entsprechend 11%, der untersuchten Landwirte MRSA-positiv.

2. Material und Methoden

2.1 Auswahl geeigneter Bestände

In Kooperation mit dem Fachgebiet Tierernährung / Tiergesundheit der Universität Kassel wurden 42 ökologisch wirtschaftende Schweinebestände in ganz Deutschland zur Untersuchung ausgewählt. Eine Übersicht zur Lage der untersuchten Bestände gibt Abbildung 1.



Abbildung 1: Lage der Untersuchungsbetriebe in Deutschland

Wie der Abbildung 1 entnommen werden kann, wurden Betriebe aus vielen Regionen Deutschlands in die Untersuchung einbezogen. Allerdings blieben der Süd-Westen und der Nord-Osten weitgehend unberücksichtigt. Hier ist es hier trotz vielfältiger Versuche nicht gelungen, ökologisch wirtschaftende Betriebe für die Beteiligung an der Studie zu gewinnen.

Zur Erhebung betriebsspezifischer Charakteristika wurde ein umfangreicher Fragebogen erarbeitet, der in Anlage 1 aufgeführt ist. Einen Überblick über die Verteilung der untersuchten Bestände auf die einzelnen Bundesländer gibt Tabelle 1.

Tabelle 1: Lage der untersuchten Bestände im Bundesgebiet

Bundesland	Anzahl untersuchter Bestände
Nordrhein-Westfalen	14
Niedersachsen	8
Hessen	7
Bayern	5
Thüringen	2
Baden-Württemberg	1
Brandenburg	1
Rheinland-Pfalz	1
Schleswig-Holstein	1
Mecklenburg-Vorpommern	1
Sachsen	1

2.1.1 Untersuchungsbestände

Mastbestände

Im Rahmen der Studie wurden 18 Mastbestände beprobt, die zwischen 20 und 1200 Tiere halten. Die Mehrzahl bezieht Ferkel von einem Zulieferer. Nur vier der Bestände beziehen Ferkel von mehreren Ferkelerzeugern. Es handelt sich ausnahmslos um Indoor-Haltungen mit Stroheinstreu, überwiegend mit Ausläufen. In drei der untersuchten Bestände stand den Tieren zum Zeitpunkt der Probennahme kein Auslauf zur Verfügung. Von 18 untersuchten Mastbeständen sind acht im Naturland- und vier im Bioland-Verband organisiert. Ein Bestand ist Mitglied im Demeter-Verband. Fünf der Mastbestände gehörten keinem Bioverband an.

Ferkelerzeuger

Es wurden 12 Ferkelerzeuger untersucht, die zwischen 16 und 750 Sauen halten. Sauen und Aufzuchtferkel werden überwiegen in mit Stroh eingestreuten Ställen mit Auslauf gehalten. Drei der untersuchten Bestände sind Outdoor-Betriebe mit Sauenhütten. In drei Beständen werden die

ferkelführenden Sauen in Gruppe gehalten (Gruppensäugen). Sechs der 12 untersuchten Ferkelerzeuger sind Mitglied im Bioland-, vier im Naturland-Verband. Ein Betrieb ist Mitglied des Biopark-Verbandes und drei der untersuchten Ferkelerzeuger gehörten keinem Verband an.

• Geschlossene Systeme

Im Rahmen der Studie wurden 12 geschlossene Systeme mit 16 bis 230 Sauen- und 90 bis 1900 Mastplätzen untersucht. Ein Bestand hält Sauen in Outdoor- Haltung, die übrigen sind Indoor-Haltungen mit Ausläufen. In drei von zwölf Untersuchungsbeständen werden die ferkelführenden Sauen in Gruppe gehalten. Alle untersuchten Bestände sind in einem Bioverband organisiert: Sechs im Bioland-Verband, vier im Naturland-Verband und drei beim Gäa-Verband.

Eine Übersicht über die wichtigsten Eigenschaften der Untersuchungsbestände ist Anlage 2 zu entnehmen.

2.2 Probenentnahme

2.2.1 Querschnittsstudie (Phase 1)

Im Rahmen der Querschnittsstudie wurden von Oktober bis Juni 2010 insgesamt 18 Mastbestände, 12 Ferkelerzeuger und 12 geschlossene Systeme an jeweils zwei Terminen (erster und zweiter Bestandsbesuch, siehe 3.3.1.1 und 3.3.1.2) untersucht.

Das zur Probenentnahme eingesetzte Material ist Tabelle 35 (Anlage 3) zu entnehmen.

2.2.1.1 Erster Bestandsbesuch

• Probenentnahme in 42 Beständen

Zu Beginn des ersten Bestandsbesuchs wurde eine Staubprobe entnommen. Dabei wurde Staub mittels autoklavierten Pinseln auf einer Fläche von 500cm² an fünf verschiedenen Stellen des Stalls gemäß VO 2008/55/EG entnommen und in ein steriles Kotröhrchen überführt. Bei den in Outdoor-Haltung wirtschaftenden Ferkelerzeuger-Beständen wurde der Staub aus dem Innenraum der Sauen-Hütten gewonnen. Nach der Staubprobenentnahme folgte die Entnahme der Nassenabstriche von 10 Tieren, unabhängig von Altersklasse und Geschlecht. Dazu wurde der trockene Tupfer unter Vermeidung von Hautkontakt, auf einer Seite in das Nasenloch bis zu einer Tiefe von 2cm kreisend eingeführt. Zur Entnahme der Staub- und Nasentupferproben wurden Handschuhe getragen. Sowohl die Staubprobe, als auch die Nasentupferproben wurden nach der Entnahme gekühlt gelagert und innerhalb von 72 Stunden untersucht.

Statistische Auswertung des Fragebogens

Nach der Probenentnahme folgte beim ersten Bestandsbesuch das Ausfüllen des Fragebogens durch Befragung des Betriebsleiters. Der in Anlehnung an das EH-Verbundprojekt zur MRSA-Problematik in konventionellen Schweinebeständen erstellte Fragebogen, wurde nach den Richtlinien für den ökologischen Landbau gemäß der Verordnung (EG) Nr.834/2007 überarbeitet (siehe Anlage 1). Die Auswertung der über die Betriebsfragebögen erhobenen Daten erfolgte durch Eingabe ausgewählter Datensätze in Excel .07 und der anschließenden statistischen Berechnung mit Hilfe des Programms SAS .09. Aufgrund der geringen Anzahl MRSA-positiver Bestände wurde ausschließlich der für kleine Stichprobengrößen geeignete Fisher´s Exact Test zur Berechnung verwendet.

2.2.1.2 Zweiter Bestandsbesuch - Erneute Beprobung der MRSA-negativ-definierten Bestände

Um eine dem EH-Verbundprojekt des BMELV vergleichbare Nachweisgrenze der Intraherdenprävalenz von 5%, beziehungsweise eine Sicherheit des MRSA-Nachweises von 95% zu erreichen, wurden die nach dem ersten Bestandsbesuch MRSA-negativ definierten Bestände erneut beprobt. Die dafür notwendige Stichprobengröße wurde anhand der beim ersten Bestandsbesuch eruierten Tierzahlen, mit Hilfe der Formel nach CANON u. ROE (1982) für jeden MRSA-negativ definierten Bestand berechnet. In zwei der MRSA-negativen Bestände (Bestand M 6 und Z 2) erübrigte sich aufgrund der geringen Tierzahlen eine erneute Probennahme. So wurden in 31 Beständen Nasenabstriche von durchschnittlich 55 Tieren unabhängig von Altersklasse und Geschlecht, wie unter 3.3.1.1 beschrieben, entnommen. Da die mikrobiologische Untersuchung der Nasenabstriche in Pools à 5 Tupfern erfolgte, wurde die berechnete Stichprobengröße auf einen Teiler von fünf aufgerundet. In den Tabellen 2 bis 4 ist die Anzahl der beim zweiten Bestandsbesuch entnommen Nasenabstriche für die untersuchten Bestände aufgelistet. Eine erneute Entnahme von Staubproben fand beim zweiten Bestandsbesuch nicht statt.

Tabelle 2: Anzahl der beim zweiten Bestandsbesuch im Rahmen der Querschnittsstudie entnommenen Nasentupfer (Mastbestände)

Bestand	M 1	M2	М 3	M 4	M 5	M 6	M 7	M 8	M 9
Tierzahl	270	ı.	250	340	150	n.u.*	100	1000	80
Anzahl Nasentupfer	55	n.u.*	55	55	50		45	60	40
Bestand	M 10	M 11	M 12	M 13	M 14	M 15	M 16	M 17	M 18
Tierzahl	270	840	700	450	450	400	400	1000	1200
Anzahl Nasentupfer	55	60	60	55	55	55	55	60	60

^{*}Die Bestände, die bereits im Rahmen des ersten Bestandsbesuchs als MRSA-positiv identifiziert worden waren, wurden nicht erneut untersucht.

Tabelle 3: Anzahl der beim zweiten Bestandsbesuch im Rahmen der Querschnittsstudie entnommenen Nasentupfer (Ferkelerzeuger)

Bestand	Z 1	Z 2	Z 3	Z 4	Z 5	Z 6
Tierzahl (Anzahl der Sauen- und Aufzuchtplätze)	143	n.u.*	600	n.u.*	385	650
Anzahl Nasentupfer	50		60		50	60
Bestand	Z 7	Z 8	Z 9	Z 10	Z 11	Z 12
Tierzahl	n.u.*	390	n.u.*	1850	n.u.*	n.u.*
Anzahl Nasentupfer (Anzahl der Sauen- und Aufzuchtplätze)		55		60		

^{*}Die Bestände, die bereits im Rahmen des ersten Bestandsbesuchs als MRSA-positiv identifiziert worden waren, wurden nicht erneut untersucht.

Tabelle 4: Anzahl der beim zweiten Bestandsbesuch im Rahmen der Querschnittsstudie entnommenen Nasentupfer (geschlossenes System)

Bestand	GS 1	GS 2	GS 3	GS 4	GS 5	GS 6
Tierzahl (Anzahl der Sauen- und Mastplätze)	340	140	150	190	580	n.u.*
Anzahl Nasentupfer	55	50	50	50	60	
Bestand	GS 7	GS 8	GS 9	GS 10	GS 11	GS 12
Tierzahl	885	200	210	2130	196	420
Anzahl Nasentupfer (Anzahl der Sauen- und Mastplätze)	60	55	55	60	55	55

^{*}Die Bestände, die bereits im Rahmen des ersten Bestandsbesuchs als MRSA-positiv identifiziert worden waren, wurden nicht erneut untersucht.

2.2.2 Longitudinalstudie (Phase 2)

2.2.2.1 Untersuchungsbestände

Einige Charakteristika der beprobten Bestände bezüglich Haltung, Hygienestatus und Bestandsmanagement werden im Folgenden näher erläutert.

• Bestand 1

Beim Bestand 1 handelt es sich um einen Ferkelerzeuger mit 750 Sauen in Freilandhaltung. Die künstliche Besamung der Sauen erfolgt in einem zeltartigen Gebäude, in dem zeitweise ein Eber zur Brunststimulation fixiert wird. Während der Tragezeit werden die Sauen in festen Gruppen auf der Weide gehalten und von Hand gefüttert. Die Abferkelung erfolgt in Hütten mit Stroh-Einstreu, die nach dem Absetzen der Ferkel umgesetzt werden. Auch hier findet die Fütterung der säugenden Sauen von Hand statt. Alle Sauen werden regelmäßig gegen das Circo-, das PRRS-Virus, gegen Parvovirose und Rotlauf sowie mittels einer stallspezifischen Vakzine gegen Pasteurellen und Bordetellen geimpft. Die Ferkel werden nach einer Säugezeit von 40 Tagen abgesetzt und für die weitere Aufzucht bis zum Verkauf in ca. 1,5km entfernte Stallungen umgestallt. Dabei handelt es sich um mit Stroh eingestreute Laufställe für jeweils 170 Tiere, deren Belegung im Rein-Raus Verfahren erfolgt. An jeden der Laufställe schließt sich ein überdachter, 25m² großer Auslauf mit Betonspaltenboden an. Die Fütterung der Absatzferkel erfolgt durch Trockenfutter-Automaten. Zusätzlich steht Heu als Raufutter zur Verfügung. Bei den Tränken in den Aufzuchtställen handelt es sich um sogenannte "Aqua-Level" Trogtränken, in denen durch ein Schwimmerventil ein bestimmter Wasserspiegel konstant gehalten wird. Die Absatzferkel werden gegen Mykoplasmen sowie gegen das Circo- und das PRRS-Virus geimpft. Einzeltiere, die während der Aufzucht erkranken oder aus anderen Gründen nicht an Mastbetriebe verkauft werden können, werden in sieben der insgesamt 26 Laufställe in 180 Tagen aufgemästet und konventionell vermarktet. Etwa 75% des benötigten Futters wird zugekauft, 25% sind betriebseigen. Kartoffeleiweiß aus konventioneller Herstellung wird als Eiweißergänzungsfuttermittel eingesetzt. Der Betrieb befindet sich auf einem ehemaligen Militärgelände. Sowohl das Areal, in dem die Sauen gehalten werden, als auch der räumlich davon getrennte Bereich, in dem sich die Laufställe für Absatzferkel und Mastschweine befinden, sind von allen Seiten eingezäunt und nur durch abschließbare Tore zu betreten. Der Betrieb wird vom Betriebsleiter und mindestens sieben, bei Zeiten mit erhöhtem Arbeitsaufwand auch mehr Mitarbeitern bewirtschaftet. Ein ständiger Mitarbeiter ist dabei allein für die Betreuung der säugenden Sauen zuständig. Zwei weitere Mitarbeiter betreuen ausschließlich die Aufzucht- und Mastställe.

Bestand 2

Beim Untersuchungsbestand 2 handelt es sich um einen Ferkelerzeugerbetrieb mit 28 Sauen- und 118 Aufzuchtplätzen. Zur Mast von Tieren, die nicht als Absatzferkel verkauft werden, stehen weitere 118 Plätze zur Verfügung, die jedoch nur teilweise genutzt werden. Die Abferkelbuchten sowie die Mastställe befinden sich im vorderen, gedämmten Gebäudeteil, welcher durch einen überdachten Korridor mit einem weiteren, offener gestalteten Teil verbunden ist, in dem sich der Wartebereich, das Deckzentrum sowie die Aufzuchtställe befinden. Das Stallgebäude ist nur durch eine Hygieneschleuse zu betreten, in der für jeden Besucher ständig saubere, bestandseigene Kleidung in Form von Overall und Gummistiefeln bereit liegt. Den Übergang vom Umkleideraum zum Stall bildet ein ca. 20cm tiefes Desinfektionsbecken. Hier befindet sich auch eine Stiefelreinigungsvorrichtung mit fließendem, heißem Wasser. Zur Abferkelung stehen vier Abferkelbuchten mit konventionellen Sauenständen bereit, die mit Sägespänen eingestreut sind. Die Haltung der Sauen im Ständer ist auf ca. 24 Stunden nach dem Abferkeln begrenzt und soll die Saugferkelverluste durch Erdrücken vermindern. Anschließend werden Sauen und Ferkel in die angrenzenden Bewegungs-Abferkelbuchten umgestallt. In jeder dieser mit Stroh eingestreuten Buchten, befindet sich jeweils ein Ferkelnest in Form einer Kunststoff-Hütte mit schrägem Dach. Die Ferkelnester sind vom Gang aus durch Aufklappen des Daches zu öffnen. An jede der neun Bewegungsabferkelbuchten ist ein 3 m² großer, betonierter Auslauf angeschlossen, der zur Hälfte überdacht ist und zu dem Sauen und Ferkel freien Zugang haben. Über einfache Gitter zwischen den Ausläufen ist stets ein direkter Kontakt von Sauen und Ferkeln aus verschiedenen Abteilen möglich. Die Fütterung der ferkelführenden Sauen erfolgt von Hand, Tränken sind in Form von Nippel- und Trogtränken vorhanden. Alle Sauen werden regelmäßig gegen das PRRS-Virus sowie gegen Parvovirose und Rotlauf geimpft. Gegenüber den Bewegungsabferkelbuchten befinden sich 12 weitere Buchten mit betonierten, teilweise überdachten Ausläufen, in denen bei Bedarf jeweils 10 bis 12 Tiere zur Mast untergebracht werden können. Über einen breiten, überdachten Gang schließt sich an den isolierten Gebäudeteil, in dem Abferkel- und Mastbuchten untergebracht sind, ein weiterer Gebäudeteil an. Dieser ist ähnlich einer Scheune mit entsprechender Deckenhöhe luftig und offen gestaltet, hier befinden sich Wartestall und Deckzentrum, eine Eberbucht sowie die Ställe für die Ferkelaufzucht. In diesem Teil des Gebäudes wird auch das Stroh gelagert. Im Wartestall und im Deckzentrum werden die Sauen in Einzelständen über einen Trog von Hand gefüttert. An die Ständer ist ein mit Stroh eingestreuter, innen liegender Auslauf angeschlossen, über den die Sauen Zugang zu einer Hütte haben. Dieser Auslauf hat eine Größe von ca. 25 m² und wird von allen Sauen im Deckzentrum und Wartebereich gemeinsam genutzt. Die Eberbucht mit dem dazugehörigen Auslauf befindet sich zwischen dem Wartestall, beziehungsweise

Deckzentrum und einer Jungsauenbucht. Auf der gegenüberliegenden Seite des scheunenartigen Stallgebäudes befinden sich drei 24 m² große Laufställe zur Ferkelaufzucht mit jeweils 39 Tierplätzen, die jedoch zum Zeitpunkt der Probennahme nicht voll belegt werden. Auch hier steht den Tieren ein teilweise überdachter, je 20 m² großer Auslauf zur Verfügung. Nach einer Säugezeit von 40 Tagen werden die Ferkel hier eingestallt. Die Ferkel werden gegen Mykoplasmen und das Circo-Virus geimpft. Die Fütterung der Aufzuchtferkel erfolgt ad libitum über Trockenfutter-Automaten. Den Tieren stehen Nippeltränken zur Verfügung. Alle Tiere des Bestandes werden mit zugekauftem, 100% ökologisch angebautem Futter ohne konventionelle Bestandteile gefüttert. Als Raufutter steht den Tieren neben dem Stroh auch Heu zur Verfügung. Die Buchten und Gänge werden regelmäßig mit einem Hochdruckreiniger gereinigt und der gesamte Betrieb machte einen sehr gepflegten, gut organisierten Eindruck. Der Schweinebestand ist Teil eines großen Komplexes, in dem neben der ökologischen Schweinehaltung auch die konventionelle Haltung von Rindern und Schweinen betrieben wird. Der hier beschriebene Stall befindet sich jedoch etwas außerhalb und ist nur über eine gesonderte Zufahrtsstraße zu erreichen. Der Betrieb wird von einem leitenden Mitarbeiter sowie von ein bis zwei Auszubildenden bewirtschaftet. Da es sich um bei dem Stall um einen Teil einer öffentlichen Einrichtung handelt, erhalten mehrmals im Jahr auch größere Besuchergruppen Zugang. Über die Ausläufe besteht die Möglichkeit, dass Katzen ins Stallgebäude gelangen.

• Bestand 3

Bei diesem Bestand handelt es sich um einen Ferkelerzeugerbetrieb mit 56 Sauenplätzen, der bis zu 30% seiner Ferkel selbst mästet und den der Betriebsleiter im Haupterwerb bewirtschaftet. Das Stallgebäude, ein ehemaliger Kuhstall, ist in den 70er Jahren erbaut und im Jahr 2000 für die ökologische Schweinehaltung umgebaut worden. Alle Teilbereiche des Stalls sind in diesem Gebäude untergebracht und nur teilweise durch Wände abgetrennt. Im Abferkelstall befinden sich 16 mit Stroh eingestreute Abferkelbuchten ohne Auslauf, in denen die Sauen von der Abferkelung bis zum 20. Tag der Säugezeit in Einzelständen gehalten werden. Anschließend werden je vier ferkelführende Sauen in das benachbarte Stallabteil umgestallt, wo sie bis zum Absetzen der Ferkel am 40. Tag in Gruppe gehalten werden. Die Abferkelabteile sowie der Bereich des Gruppensäugens sind dabei kontinuierlich belegt. Die Entmistung erfolgt teilweise von Hand, teilweise mit Hilfe eines Schleppmist-Schiebers, wie er in der Rinderhaltung zum Einsatz kommt. In Deckzentrum und Wartestall sind Scheuereinrichtungen für die Sauen angebracht. Die Sauen werden regelmäßig gegen Parvovirose und Rotlauf geimpft. Die Fütterung der Sauen im Deckzentrum, Warte- und Abferkelbereich erfolgt über Trockenfutterautomaten mit 100%

ökologisch produzierten Futtermitteln. Diese werden vom Betriebsleiter mittels Schubkarre und Eimer nacheinander von Hand befüllt. Als Tränken stehen Trogtränken zur Verfügung. Nach dem Absetzen werden die Sauen in das Deckzentrum mit angeschlossenem Wartebereich umgetrieben, wo den Tieren ein befestigter Auslauf zur Verfügung steht. Hier werden die Sauen künstlich besamt und stehen zur Brunststimulation mit einem Eber in Kontakt. Die Ferkel werden nach dem Absetzen in einen, durch eine Trennwand untergliederten Laufstall verbracht, der insgesamt Platz für etwa 180 Tiere bietet und mit Stroh eingestreut ist. Die Absatzferkel haben im Aufzuchtstall Zugang zu einem überdachten Auslauf. Alle Ferkel werden gegen Mykoplasmen, das Circo-Virus sowie gegen E. coli geimpft. Die Tiere, die zur Mast im Bestand verbleiben, sind in einem benachbarten Laufstall untergebracht, der analog zum Aufzuchtstall gestaltet ist und ebenfalls über einen Auslauf verfügt. Bei der Fütterung der Absatzferkel und Mastschweine kommen wiederum Trockenfutterautomaten zum Einsatz, die von Hand befüllt werden. Hier wird, zusätzlich zu den ökologischen Futtermitteln konventionell hergestelltes Kartoffeleiweiß eingesetzt. In der Ferkelaufzucht stehen den Tieren, wie in der Mast, Nippeltränken zur Verfügung. Der Stall kann nur über eine Hygieneschleuse betreten werden, in der auch eine Dusche vorhanden ist, die jedoch nicht genutzt wird. Der Betriebsleiter selbst trägt Schutzkleidung in Form von Overall und Stiefeln, wohingegen die Familienangehörigen des Mannes den Stall zuweilen auch ohne Schutzkleidung betreten. Die Reinigung der einzelnen Ställe erfolgt regelmäßig, eine Desinfektion mit Ameisensäure wird nur gelegentlich durchgeführt.

• Bestand 4

Bei dem Bestand 4 handelt es sich um einen ökologisch wirtschaftenden Schweinebetrieb, der Teil einer Einrichtung zur Betreuung behinderter Menschen ist. Der Betrieb wird als geschlossenes System bewirtschaftet und verfügt über 42 Sauen- sowie 200 Mastplätze. Seit einem Umbau im Jahr 2000 werden hier Schweine nach den Richtlinien des ökologischen Landbaus gehalten. Der Betrieb besteht aus mehreren Teilgebäuden, in denen jeweils tragende und ferkelführende Sauen sowie Absatzferkel und Mastschweine untergebracht sind. Die Sauen werden zum Abferkeln in geräumige Einzelbuchten umgestallt, in denen sich das Ferkelnest befindet und die jeweils Zugang zu einem etwa 3 m² großen, überdachten Auslauf haben. Nach der Hälfte der Säugezeit werden die ferkelführenden Sauen in Großraumbuchten umgestallt, wo sie bis zum Absetzen der Ferkel in Gruppe gehalten werden. Eine Gruppe besteht aus drei bis vier Sauen und ihren Würfen, die sich jeweils einen überdachten, ca. 12 m² großen und mit Stroh eingestreuten Auslauf teilen und Futtertröge sowie Napftränken gemeinsam nutzen. Sauen und Ferkeln steht Raufutter in Form von Heu oder Silage aus eigener Produktion zur Verfügung. In den Sommermonaten wird zusätzlich

Grünfutter angeboten. Alle Sauen werden regelmäßig gegen Parvovirose und Rotlauf, gegen das PRRS und das Porcine Circovirus-2 sowie durch eine kombinierte Vakzine gegen E. coli und Clostridien immunisiert. Die Abferkelbuchten werden nach jedem Durchgang gereinigt und mit Peressigsäure desinfiziert. Nach einer Säugezeit von 42 Tagen werden die Ferkel in den Aufzuchtstall, der sich in einem separaten Teil eines ca. 200 m entfernten Stallgebäudes befindet, umgestallt. Dieser besteht aus fünf Abteilen, die mit Stroh eingestreut sind und Platz für ca. 20 Tiere bieten. Hier haben die Tiere Zugang zu betonierten, teilweise überdachten und durch Gitter abgetrennten Ausläufen und werden über Trockenfutterautomaten gefüttert. Als Eiweißergänzer wird sowohl in der Ferkelaufzucht, als auch in der Mast Kartoffeleiweiß aus konventioneller Herstellung eingesetzt. Die Tränken sind als Napftränken gestaltet. Die Ferkel werden regelmäßig gegen Mykoplasmen, gegen das Porcine Circo-Virus, gegen Porcine Ileale Adenomatose (PIA) sowie mittels einer stallspezifischen Vakzine gegen Streptokokken geimpft. Wie im Abferkelbereich erfolgt auch in den Auftzuchtställen eine regelmäßige Desinfektion mit Peressigsäure. Die Stallungen für die Mastschweine befinden sich in einem anderen Stallgebäude. Die Abteile des Maststalls sind ähnlich denen des Aufzuchtstalls gestaltet. Auch hier ist für jedes Abteil ein separater betonierter und teilweise überdachter Auslauf vorhanden, über den der Kontakt zwischen Tieren benachbarter Abteile möglich ist. Die Belegdichte dieser Abteile war zum Zeitpunkt meiner Untersuchungen eher gering. Die Fütterung der Mastschweine erfolgt über Trockenfutterautomaten. Als Raufutter dient Heu oder Silage. Ein Teil der Tiere wird in 236 Tagen bis zu einem Gewicht von 220 kg gemästet und als sogenannte XXL-Schweine vermarktet. Neben der hier beschriebenen ökologischen Schweinehaltung werden auf dem Betrieb auch Masthähnchen und Gänse nach den Richtlinien des ökologischen Landbaus gehalten. Eine kleine Mutterkuhherde ist ebenfalls Teil des Betriebes, der von insgesamt vier leitenden Mitarbeitern und 12 Mitarbeitern mit Behinderung bewirtschaftet wird. Die Haltung der Masthähnchen, Gänse und Rinder ist sowohl bezüglich der zuständigen Mitarbeiter, als auch bezüglich der Bestandskleidung von der Schweinehaltung strikt getrennt. Über die Ausläufe haben Katzen Zugang zum Stall. Im Eingangsbereich des Haupt-Stallgebäudes ist eine Hygieneschleuse in Form eines Umkleidraums vorhanden, in dem für Mitarbeiter und Besucher bestandseigene Schutzkleidung zur Verfügung steht. Insgesamt machten sowohl die Stallgebäude, als auch der Umkleide- und Aufenthaltsraum einen sehr gepflegten und gut organisierten Eindruck. Der Stallkomplex mit den Ausläufen für Sauen, Absatzferkel und Mastschweine liegt etwa 500 m von den Werkstätten und Wohngebäuden der Einrichtung entfernt.

Bestand 5

Der Bestand 5 umfasst ca. 250 Mastschweine. Die Schweinemast stellt auf dem Hof nur einen Teilerwerbszweig dar. Alle Schweine werden in einem zusammenhängenden Gebäude gehalten, welches 1941 erbaut wurde und seit 1972 als Schweinestall genutzt wird. Der Betrieb wird seit 1989 nach den Richtlinien des ökologischen Landbaus von dem Betriebsleiter und mehreren Mitarbeitern bewirtschaftet, wobei nur einer der Mitarbeiter für die Betreuung des Schweinebestands zuständig ist. Der Stall ist kontinuierlich belegt: insgesamt 10 Großraumbuchten bieten Platz für je 25 Tiere. Zum Zeitpunkt meiner Untersuchungen war die Belegdichte gering. Jede der Buchten ist mit Stroh eingestreut und verfügt über einen geräumigen, ebenfalls mit Stroh eingestreuten Auslauf, in dem Nippeltränken angebracht sind. Auf der dem Hof zugewandten Seite des Stalls sind die Ausläufe nicht überdacht. Bei regnerischem Wetter stehen große Wasserpfützen im Auslauf. Die Ausläufe auf der anderen Stallseite sind dagegen vollständig überdacht. Das Stallgebäude ist kontinuierlich belegt. Dabei erfolgt die Belegung der Buchten mit Schweinen einer Altersgruppe nach dem Rotationsprinzip: Angelieferte Absatzferkel, die alle aus einer Herkunft stammen, werden im hinteren Teil des Stallgebäudes eingestallt und während der 120tägigen Mastperiode mehrfach in die jeweils benachbarte Bucht umgestallt. Die Endmast erfolgt dann in den Buchten im vorderen Teil des Stalls. Die Fütterung erfolgt in der Vormast über Brei-, in der Endmast über Trockenfutterautomaten. Das Futter stammt zum Teil aus eigener Produktion und wird in der Vormast durch konventionell hergestelltes Kartoffeleiweiß ergänzt. Als Raufutter dient neben dem Stroh Silage aus eigenem Anbau. Die Reinigung der Ställe erfolgt nur gelegentlich. Bevor die Buchten neu belegt werden, werden sie teilweise ausgemistet und neu eingestreut. Im Laufe der Mast werden die Buchten in großen Abständen übergestreut. Es wird weder mit Wasser gereinigt, noch werden Desinfektionsmaßnahmen durchgeführt. Sowohl der Betriebsleiter, als auch der für den Schweinestall zuständige Mitarbeiter tragen bei Arbeiten im Stall keine Schutzkleidung. Auch von Besuchern wird dies nicht erwartet. Katzen sowie der Hund des Betriebsleiters haben sowohl über die Ausläufe als auch durch direkten Zutritt zum Stall Kontakt zu den Schweinen. In dem, dem Schweinestall vor gelagerten Gebäudeteil sind Pferde in Boxenhaltung untergebracht. Das Wohnhaus des Betriebsleiters grenzt an den Pferdestall und liegt von den Ausläufen der Schweine ca. 30 m entfernt. Der Betriebsleiter berichtete bezüglich der Frage nach dem Schädlingsbefall über ein hochgradiges Fliegenproblem im Sommer sowie über ein gehäuftes Vorkommen von Ratten. Zu Impfungen der an ihn gelieferten Absatzferkel sowie über den Ansatz allopathischer Tierarzneimittel im Bestand wurden keine Angaben gemacht.

Bestand 6

Beim Bestand 6 handelt es sich um einen vergleichsweise großen ökologisch bewirtschafteten Mastbestand mit 1000 Mastplätzen. Neben Schweinen aus Kreuzungen konventioneller Rassen, mästet der Betrieb Bunte Bentheimer Schweine- eine heimische Rasse mit hohem intramuskulärem Fettanteil. Der Landwirt vertreibt einen Teil seiner Erzeugnisse über die Direktvermarktung. Die Schweine sind in verschiedenen Stallgebäuden untergebracht: Das Hauptgebäude liegt gegenüber dem Wohnhaus des Betriebsleiters und seiner Familie. Es wurde 2003 nach den Richtlinien der ökologischen Schweinehaltung umgebaut. Bis zu diesem Zeitpunkt wurde hier konventionelle Schweinemast betrieben. Heute besteht der Stall aus Großraumbuchten mit Teilspaltenböden, die zum Zeitpunkt meiner Untersuchungen voll belegt waren. Jede der Buchten bietet Platz für 50 Tiere, verfügt über eine überdachte, eingestreute Liegefläche und einen zur Hälfte überdachten Auslauf mit Tiefstreu. Zwei gegenüberliegende Buchten sind jeweils durch einen Gang getrennt. Hinter dem Hauptgebäude liegt ein 2003 neu errichteter Außenklimastall, in dem die Schweine der Rasse Bunte Bentheimer gehalten werden. In diesem Stall sind insgesamt 24 Buchten für je 10 Tiere vorhanden. Dabei besteht jede Bucht aus einer überdachten, mit Stroh eingestreuten Liegefläche und einem Auslauf mit Betonspaltenboden, der ins Innere des Gebäudes führt. Die Tiere befinden sich also in einem der Außenwelt sehr ähnlichen Klima, ohne direkten Kontakt zur Außenwelt zu haben. Die Fütterung der Tiere erfolgt in beiden Stallgebäuden mittels Breifutterautomaten, über die zu 100% ökologisch hergestelltes Futter ad libitum angeboten wird. Weder in der Vor- noch in der Endmast wird Futter konventioneller Herkunft eingesetzt. Raufutter steht den Tieren in Form von Stroh und Silage aus eigener Produktion zur Verfügung. Die Wasserversorgung erfolgt über Nippeltränken, die jeweils in den Ausläufen angebracht sind. Eine Reinigung und Desinfektion der Ställe wird, zusätzlich zur täglichen Entmistung per Hand, regelmäßig durchgeführt. Der Betriebsleiter berichtet über hohen Befall mit Ratten, zu deren regelmäßiger Bekämpfung eine Firma eingesetzt wird. Katzen haben, unter anderem über die Ausläufe, Zugang zum Stall. Auf dem Betrieb werden auch zwei Hunde gehalten, die jedoch nach Angabe des Landwirtes keinen Kontakt mit den Schweinen haben. Weiterhin werden Pferde gehalten, deren Stall räumlich entfernt von dem der Mastschweine liegt. Zur Bewirtschaftung seines Hofes beschäftigt der Betriebsleiter zwei Mitarbeiter und einen Auszubildenden.

Der Landwirt bezieht Absatzferkel aus vier verschiedenen Herkünften, die anschließend zusammen gehalten werden. Zwei der Herkünfte wurden im Rahmen dieser Studie ebenfalls beprobt: Es handelt sich um den MRSA-negativen Ferkelerzeugerbestand Z 8 sowie den MRSA-positiven Ferkelerzeugerbestand Z 7 (entspricht Bestand 2 der Longitudinalstudie). Bei den im Rahmen der Longitudinalstudie beprobten Tieren dieses Betriebes handelt es sich um 12 Tiere, die

aus dem MSRA-positiven Bestand 2 stammen. Die Absatzferkel aller Herkünfte waren gegen das Porcine Circo-Virus sowie gegen Mykoplasmen geimpft.

2.2.2.2 Probennahme

Die Probennahmen für die Longitudinalstudie (Phase 2) erfolgten von Juli 2010 bis Februar 2011. Das zur Probenentnahme im Rahmen der Longitudinalstudie verwendete Material ist Tabelle 36, Anlage 3, zu entnehmen.

Von 11 aus der Querschnittsstudie als "MRSA-positiv" hervorgegangenen Beständen, wurden zwei Mastbestände (M 3 und M 8), drei Ferkelerzeuger (Z 4, Z 7 und Z 9) und ein geschlossenes System (GS 6) für die weiterführende Beprobung ausgewählt. In jedem Bestand wurde eine festgelegte Tierzahl mittels Ohrmarken gekennzeichnet und im Laufe des Lebens wiederholt auf eine Besiedlung mit MRSA untersucht. Pro Mastbestand wurden 12 Tiere untersucht. In den Ferkelerzeugerbeständen und dem geschlossenen System wurden jeweils 4 Sauen, aus dem Wurf jeder Sau 4 Ferkel sowie ein Eber untersucht. Im geschlossenen System wurden nach dem Absetzen 10 der 16 beprobten Ferkel bei Bedarf mit neuen Ohrmarken gekennzeichnet und als Mastschweine bis zum Ende der Mast weiter beprobt. Zusätzlich zu den Schweinen wurden auch Haustiere (Hunde) stichprobenartig sowie alle auf dem Hof lebenden oder arbeitenden Personen mittels Nassenabstrichen auf MRSA untersucht. Zur Beprobung der Tierumgebung wurde zuerst ein 'Sockentupfer' entnommen. Dabei wurde ein steriler Sockentupfer unter Verwendung von Einweghandschuhen über einen Einweg-Überschuh gezogen. Anschließend wurde der gesamte Stallgang bis zum Ausgangspunkt zurück abgeschritten. Der Sockentupfer wurde "über links" gezogen und in einen sterilen Stomacherbeutel überführt. Anschließend folgte die Entnahme der Staubprobe wie unter 3.1.1 beschrieben. Die Entnahme der Nasentupfer bei den gekennzeichneten Tieren sowie bei Haustieren (Hunden) und Menschen erfolgte ebenfalls nach der unter 3.1.1 beschriebenen Methodik. Zusätzlich zu den Nasen-, wurden bei Sauen auch Vaginaltupfer entnommen. Dazu wurden die Labien der Sau mit der linken Hand gespreizt, der Tupfer mit der rechten Hand in leicht kreisender Bewegung ca. 2cm tief eingeführt und eine Probe von der Vaginalschleimhaut entnommen. Die Nasen- und Vaginaltupfer sowie Sockentupfer und Staubprobe wurden gekühlt gelagert und innerhalb von 72 Stunden untersucht. Die Wahl der Beprobungszeitpunkte erfolgte angelehnt an die Probenentnahme im Rahmen des EH-Verbundvorhabens Vorkommen von **MRSA** konventionell wirtschaftenden Schweinebeständen. In den Tabellen 5 bis 7 sind die Beprobungstermine für die jeweilige Betriebsform aufgeführt.

Tabelle 5: Beprobungsschema Longitudinalstudie, Mastbestand

Beprobungstermin	Mastschwein ¹	Umgebung ³
1. Tag der Anlieferung	X	X
2. Nach 2 Wochen	X	X
3. Nach 6 Wochen	X	X
4. Am Ende der Mast	X	X

¹Nasenabstrich; ³ Staubprobe und Sockentupfer

Tabelle 6: Beprobungsschema Longitudinalstudie, Ferkelerzeuger

Beprobungstermin	Sau ¹	Ferkel ²	Eber ²	Umgebung ³
1. Einstallung Sau in Abferkelstall	X			X
2. Unmittelbar nach der Geburt	X	X		X
3. Beim Absetzen	X	X		X
4. Beim Verlassen des Deckzentrums	X		X	X

¹Nasen- und Vaginalabstrich; ² Nasenabstrich; ³ Staubprobe und Sockentupfer

Tabelle 7: Beprobungsschema Longitudinalstudie, geschlossenes System

Beprobungstermin	Sau ¹	Ferkel / Mastschwein ²	Eber ²	Umgebung ³
1. Einstallung Sau in Abferkelstall	X			X
2. Unmittelbar nach der Geburt	X	X		X
3. Beim Absetzen / Umstallung in Maststall	X	X		X
4. Beim Verlassen des Deckzentrums	X		X	X
5. 2 Wochen nach Umstallung		X		X
6. 6 Wochen nach Umstallung		X		X
7. Am Ende der Mast		X		X

¹Nasen- und Vaginalabstrich; ² Nasenabstrich; ³ Staubprobe und Sockentupfer

2.3 Probenuntersuchung

2.3.1 Kulturelle Untersuchung

Eine detaillierte Übersicht über das Material, dass bei der kulturellen Untersuchung der Nasentupfer- und Umgebungsproben verwendet wurde, ist Anlage 4 zu entnehmen.

Methoden

Die Untersuchung der Staub-, Socken- und Tupferproben erfolgte jeweils nach dem Anreicherungsverfahren. Eine mehrphasige Voranreicherung diente dazu, die Konkurrenzflora zu unterdrücken und steigerte so die Spezifität des Untersuchungsverfahrens.

• Herstellung der Anreicherungsmedien

Für die Herstellung einer phosphatgepufferten Salzlösung wurden 1000ml destilliertes Wasser mit 8g NaCl und 1,56g NaH₂PO₄ gemischt. Die entstandene Lösung wurde mit einmolarer Natronlauge auf einen pH-Wert von 7,0 bis 7,2 eingestellt. Der so behandelten Lösung wurden anschließend 0,5ml Tween 20 zugegeben. Nach gründlicher Vermischung erfolgte das Abfüllen der fertigen Lösung mittels sterilen Filtern und einer 10ml Spritze in sterile Röhrchen.

Bei der Herstellung der Müller-Hinton-Bouillon diente 11 H₂O als Grundsubstanz. Nach dem Abwiegen von 21g MHB-Pulver und 65g NaCl wurden beide Stoffe gründlich mit der Flüssigkeit verrührt und die entstandene Lösung autoklaviert. Anschließend erfolgte das Abfüllen von je 10ml der fertigen Müller-Hinton-Bouillon in sterile Reagenzgläser.

Zur Herstellung der Trypton-Soja-Bouillon wurde 11 H₂O mit 60g Casein-Trypton-Soja verrührt und die so entstandene Lösung im Anschluss autoklaviert. Der autoklavierten Bouillon wurden dann 3,5mg Cefoxitin (Nr. C 4786, 250mg, Fa. Sigma, Taufkirchen) und 75mg Aztreonam (Nr. A 6848, 50 mg, Fa. Sigma, Taufkirchen) zugegeben. Nach gründlicher Durchmischung wurden je 9ml der Bouillon in sterile Reagenzgläser abgefüllt.

• Voranreicherungsverfahren

Als Voranreicherungsmedium diente 6,5%-ige Müller-Hinton-Bouillon. Die Nasen- und Vaginaltupfer wurden in ein Reagenzglas mit 10ml Müller-Hinton-Bouillon überführt. Bei den Untersuchungen im Rahmen der Querschnittsstudie (Phase 1) wurden aus 10 entnommenen

Nasentupfern jeweils zwei Poolproben à fünf Tupfer gebildet und nacheinander fünf Tupfer in ein Reagenzglas überführt. Anschließend erfolgte die Durchmischung des Inhalts mittels Vortexer. Die Untersuchung der im Rahmen des zweiten Bestandsbesuchs entnommenen 50 bis 60 Nasentupfer erfolgte auf die gleiche Weise: Hier wurden zwischen zehn und zwölf Poolproben à fünf Tupfer untersucht. In der anschließenden Longitudinalstudie (Phase 2) erfolgte die Untersuchung der Nasen- und Vaginaltupferproben im Einzelansatz. Hierzu wurde jeweils ein einzelner Tupfer in das Reagenzglas eingesetzt und der Inhalt des Reagenzglases anschließend mittels Vortexer durchmischt.

Bei der Untersuchung des Staubes wurden je 0,1g Staub mittels Analysewaage abgewogen und in einen sterilen 100ml-Ehrlmeierkolben überführt. Der Staub wurde dann mit 10ml PBS-Tween 20-Puffer, 0,01% vermengt und 30 min im Wasserbad (25°C) bei 120rpm geschüttelt. Von der so behandelten Lösung wurden anschließend 1,0ml mittels steriler Glaspipette in 9ml Müller-Hinton-Bouillon überführt.

Für die Anreicherung der Sockentupfer wurden 25ml der 6,5%-igen Müller-Hinton-Bouillon in den, den Sockentupfer enthaltenden Stomacherbeutel gegeben. Die Mischung wurde dann bei hoher Geschwindigkeit 120 Sekunden lang gestomachert.

Die Kultivierung erfolgte unter aerogenen Bedingungen für 24 Stunden bei 37°C im Inkubator. Vom Beginn der Voranreicherung an wurde das Nachweisverfahren durch eine Positiv- und Negativkontrolle ergänzt.

Selektivmedien

Als Medium für die selektive Voranreicherung wurde Trypton-Soja-Bouillon mit Zusatz von 75mg/l Aztreonam und 3,5mg/l Cefoxitin genutzt.

Nach Abschluss der Inkubation der MH-Bouillon wurde bei den Tupfer- und Staubproben jeweils 1ml der Probenlösung in ein Reagenzglas mit 9ml Trypton-Soja-Bouillon überführt. Bei der Untersuchung der Sockentupfer wurden nach 24stündiger Inkubation bei 37°C 2,5ml der Probenlösung aus dem Stomacherbeutel in 22,5ml Trypton-Soja-Bouillon gegeben.

Die entstandenen Lösungen wurden jeweils mittels Vortexer vermengt und für 17 Stunden bei 37°C unter aerogenen Bedingungen im Inkubator kultiviert.

Im Anschluss wurde mittels einer abgeflammten Öse Material aus der Selektivanreicherung entnommen, der Inhalt einer Öse auf der Selektivplatte CHROMagar[™] MRSA (Fa. Mast Diagnostika Laboratoriumspräparate GmbH, Reinfeld) ausgestrichen und für 24 Stunden bei 37°C unter aerogenen Bedingungen inkubiert. Das hier verwendete Selektivmedium CHROMagar[™] MRSA (Fa. Mast Diagnostika Laboratoriumspräparate GmbH, Reinfeld) weist laut einer Studie

von MALHORTA-KUMAR et al., 2010 eine hohe Spezifität und Sensitivität auf. MRSA-Kolonien wachsen auf diesem Selektivnährboden als rosa bis malvenfarbene Kolonien und sind durch diese spezifische Färbung leicht zu identifizieren.

Subkultivierung

Zur Subkultivierung wurden jeweils fünf verdächtige Kolonien auf der positiven Selektivplatte markiert und auf Columbia-Schafblut-Agar subkultiviert. Die Subkultivierung erfolgte im Drei-Ösen-Ausstrich. Danach wurde der beimpfte Blutagar bei 37°C für 24 Stunden inkubiert.

2.3.2 Biochemische Bestätigungsreaktionen zur Sicherung der Diagnose

Das für die biochemischen Bestätigungsreaktionen verwendete Material ist der Anlage 5 im Anhang zu entnehmen.

Methode

Die auf dem Blutagar subkultivierten Kulturen, wurden auf die für MRSA typischen Kriterien der Kulturmorphologie untersucht: Sofern es sich um weiß-gelbliche, mittelgroße, glattrandige und undurchsichtige Kolonien mit Doppel-Hämolyse handelte, folgte weitere Diagnostik mittels biochemischer Bestätigungsreaktionen zur Sicherung der Diagnose.

Katalase

Die Katalasereaktion dient der Abgrenzung der Katalase-positiven Staphylokokken von den Katalase-negativen Streptokokken. Dazu wurde auf einem Objektträger ein Tropfen 3%-iger Wasserstoffperoxid-Lösung mit einer Öse bakteriellen Materials der typischen Subkultur vermengt. Im Falle der Anwesenheit des Enzyms Katalase kommt es durch die Umwandlung von Wasserstoffperoxid in Wasser und Sauerstoff sofort zu Schaum- oder Blasenbildung und die Reaktion wird als positiv bewertet. Zeigt sich eine verspätete Reaktion oder bleibt die Schaumoder Blasenbildung aus, wird das Ergebnis als negativ eingestuft.

Oxidase

Der Oxidasetest basiert auf der Umwandlung molekularen Sauerstoffs durch bakterielle Cytochromoxidasen. Dazu wird ein Tropfen Testflüssigkeit auf einen mit Filterpapier bedeckten Objektträger gegeben. Bei Vorhandensein der Cytochromoxidasen kommt es zur Oxidation des Farbstoffs in der Testflüssigkeit und damit zu einem Farbumschlag. *Staphylococcus aureus* sind Oxidase-negativ, es kommt demnach zu keiner sichtbaren Reaktion.

Koagulase

Die Koagulasereaktion dient als wichtiges Merkmal der Abgrenzung der Koagulase-positiven Stämme von *S. aureus* von weiteren, Koagulase-negativen *Staphylococcus*-Arten.

Für den Nachweis der Koagulase wurde lyophilisiertes EDTA-Kaninchenplasma verwendet. Dafür wurden bei jeder Reaktion jeweils 300µl des mit bidestillierten Wasser aufgefüllten Kaninchenplasmas in ein steriles Reaktionsgefäß (Eppendorf-Gefäß) pipettiert. Mittels einer sterilen Öse wurde ein Ausstrich typischer Subkulturen entnommen und mit dem Plasma vermengt. Das Eppendorf-Gefäß wurde dann mit dem Deckel verschlossen, der Inhalt mittels Vortexer vermischt und für 4 Stunden bei 37°C inkubiert. Anschließend wurde das Ergebnis durch mehrmaliges Schwenken des Eppendorf-Gefäßes überprüft: Ein positives Ergebnis ist dabei durch Koagulation des Kaninchenplasmas ersichtlich. Bei negativem Ergebnis wurde die Inkubation 18 Stunden lang im Inkubator bei 37°C fortgesetzt.

2.3.3 Molekularbiologische Diagnostik - Triplex PCR nach POULSEN (2003)

Eine detaillierte Übersicht über das für die molekularbiologische Diagnostik verwendete Material ist in Anlage 5 aufgeführt.

Methode

Die molekularbiologische Diagnostik mittels PCR schließt sich an eine positive phänotypische Beurteilung der subkultivierten Reinkulturen sowie ein positives Ergebnis der biochemischen Bestätigungsreaktionen an. Dafür wurde jeweils eine Ausstrichöse kulturellen Materials entnommen und in ein steriles Reaktionsgefäß mit 1ml Tris-EDTA-Puffer überführt und bis zur Durchführung der PCR kühl gelagert. Die Durchführung der PCR erfolgte nach Arbeitsanweisung der Außenstelle für Epidemiologie in Bakum.

Die verwendete Positivkontrolle enthielt eine ausreichende Anzahl von Kopien der Zielsequenz oberhalb der Nachweisgrenze. Die Negativkontrolle enthielt die gleichen Anteile wie die kontrollierten Proben. Die Template-DNA wurde jedoch durch Zugabe einer gleichen Menge Wasser ersetzt, sodass das verarbeitete Volumen der Negativkontrollen gleich blieb.

Die Diagnose "MRSA" wurde anhand der Nachweise mehrerer Loci mittels des Einsatzes zweier Primer-Paare in einer Multiplex-PCR nach Poulsen gestellt.

Tabelle 8: Verwendete Primer

Target-	Primer-	Duimon Cognongon	Amplikon-
Gen	Bezeichnung	Primer-Sequenzen	Größe (bp)
nuc	nuc PCR1	5`-TCA GCA AAT GCA TCA CAA ACA-3`	255
nac	nuc PCR2	5`-CGT AAA TGC ACT TGC TTC AGG-3`	233
mecA	mec up1	5`-GGG ATC ATA GCG TCA TTA TTC-3`	527
	mec up2	5`-AAC GAT TGT GAC ACG ATA GCC-3`	327

Vorbereitung der PCR

Zu Beginn der Arbeiten wurden die benötigten tiefgefrorenen Materialien aufgetaut. Nur die Polymerase verblieb bis zu ihrem Gebrauch auf Eis. Im nächsten Arbeitsschritt erfolgten die Programmierung des Cyclers sowie die Beschriftung der PCR-Reaktionsgefäße.

Mastermix

Der Mastermix wurde nach dem Pipettierschema errechnet, wobei Negativ- und Positivkontrollen addiert wurden. Ready-Mix und Primer-Mix wurden zusammen mit H_2O bis auf $25\mu l$ aufgefüllt. Anschließend wurden in diesem Arbeitsschritt die einzelnen Bestandteile pipettiert, behutsam vermengt, kurz zentrifugiert und bis zum Gebrauch kühl gelagert.

Die 1:10 verdünnte Proben-DNA sowie das Material der Positiv- und Negativkontrolle wurden in die PCR-Reaktionsgefäße pipettiert und diese anschließend kühl gestellt. Je nach Reaktionsgefäß wurden dann 24µl des Mastermix zugegeben und nach Möglichkeit direkt darauf der PCR-Cycler gestartet.

PCR

Der erste Schritt der PCR dauerte fünf Minuten bei 94°C. Schritt zwei bis vier wurde in 30 Zyklen wiederholt. Für Schritt zwei war die Temperatur im PCR-Cycler dabei auf 94°C für 30 Sekunden, in Schritt drei auf 55°C für 30 Sekunden und in Schritt vier auf 72°C für 45 Sekunden voreingestellt worden. Nach fünf Minuten bei 72°C im Schritt fünf wurde die Lösung in Schritt sechs bei 4°C bis zur Gelelektrophorese gekühlt.

Gelelektrophorese

Zur Auftrennung der entstandenen PCR-Produkte wurde in der Gelektrophorese 1,5% iges Agarosegel verwendet. Vor Durchführung der Elektrophorese wurde der Gelträger aus dem

Kühlschrank genommen und die Elektrophoresekammer mit dem Laufpuffer gefüllt. Als Laufpuffer wurde TAE-Puffer verwendet. Es wurde auf eine vollständige Bedeckung des Gels mit dem Laufpuffer geachtet. Anschließend wurde der Gelträger in korrekter Richtung in die Gelkammer eingesetzt.

1-2 µl des eingesetzten DNA-Markers wurden zusammen mit 8-10 µl des PCR-Produkts in die entsprechenden Wells pipettiert. In die Wells M¹ und M² wurden dann 1,5 µl DNA-Ladder und 8,5 µl LiChrosolv pipettiert. Aus jedem Well wurden anschließend 10 µl in eine Geltasche pipettiert. Danach wurde die Elektrophoresekammer verschlossen und für 60 Minuten eine Spannung von 170 Volt angelegt.

Gelfärbung

Zur Färbung des genetischen Materials im Agarosegel wurde 1%iges Ethidiumbromid verwendet. Die Färbung des Gels erfolgte für 30 Minuten in einer abgedeckten Aluminium-Färbeschale mit TAE-Puffer, destilliertem Wasser und Ethidiumbromid. Anschließend wurde das Gel aus der Färbelösung entnommen und fünf Minuten in destilliertem Wasser gewaschen. Nach dem Waschen wurde das gefärbte Gel in der Mitte einer Fotokammer platziert. Durch Bestrahlung mit UV-Licht wurde das darin enthaltene, ebenfalls gefärbte DNA-Material zur Photoaktivität angeregt. Die entstehenden Leuchtbanden wurden digitalisiert und mit Hilfe des Alpha-Imagers digital ausgewertet.

Das Vorhandensein spezifischer Banden im Bereich von 255bp belegt dabei das Vorhandensein des S.aureus spezifischen Gens nuc und dient zur Artdiagnose. Gleichzeitig auftretende Banden bei 527bp ergeben den Nachweis des mecA Gens und liefern so die molekularbiologische Bestätigung einer Methicillin-Resistenz.

2.3.4 Asservierung der durch die PCR bestätigten MRSA-Isolate

Material

Pasteurpipetten, Glas, 150mm, 612-1701,

VWR International GmbH Deutschland

Cryobank Nr. 291703, 2ml, Mast Diagnostika

Laboratoriumspräparate GmbH, Reinfeld

Methode

Die nach PCR bestätigten MRSA-Isolate wurden erneut auf Columbia-Schafblut-Agar angezüchtet und 24 Stunden bei 37°C inkubiert. Mittels einer sterilen Öse wurde anschließend bakterielles Material abgenommen und in beschriftete Cryobank-Röhrchen homogen suspendiert. Nach

fünfminütiger Inkubation bei Raumtemperatur wurde die in den Röhrchen enthaltene Flüssigkeit mit sterilen Einwegpipetten abgezogen und verworfen. Die Röhrchen wurden dann bei -72°C eingelagert.

2.3.5 Typisierung der MRSA-Stämme

Die Spa-Typisierung sowie die Bestimmung der SCCmec-Typen der MRSA-Isolate erfolgte durch das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) Berlin. Dazu wurden ausgewählte, asservierte Isolate erneut angezüchtet und anschließend an das BfR übersandt. Das Nachweisprinzip beider Methoden ist unter 2.3.2.2 und 2.3.2.4 beschrieben.

3. Ergebnisse

3.1 Ergebnisse der Querschnittsstudie

Ein Schweinebestand wurde als "MRSA-positiv" eingestuft, sobald MRSA bei der Untersuchung der Staubprobe oder in mindestens einer Poolprobe zu je fünf Nasentupfern nachgewiesen und mittels PCR bestätigt worden war. Konnten weder in der Staubprobe, noch in mindestens einer der Poolproben MRSA nachgewiesen werden, wurde der Bestand als "MRSA-negativ definiert" angesehen.

3.1.1 Untersuchung der Staubprobe

Anhand der Untersuchung der Staubproben konnte in fünf von 42 untersuchten Beständen MRSA nachgewiesen werden. Dies entspricht einer Bestandsprävalenz von 12%. Drei der MRSA-positiven Bestände waren Mastbestände, zwei waren Ferkelerzeuger. In den 12 untersuchten Beständen, die im geschlossenen System wirtschafteten, konnten keine MRSA in der Staubprobe nachgewiesen werden.

3.1.2 Untersuchung von 10 Nasentupfern

Zur Untersuchung der 10 Nasenabstriche wurden pro Bestand je zwei Pools zu fünf Tupfern gebildet. Ein Bestand wurde als MRSA-positiv eingestuft, wenn in mindestens einer der beiden Poolproben MRSA nachgewiesen werden konnten. Die Nachweisgrenze für die Intraherdenprävalenz bei der Entnahme von 10 Nasentupfern liegt bei 20%. Anhand dieses Untersuchungsschrittes konnten sechs von 42 untersuchten Beständen als MRSA-positiv identifiziert werden: Zwei Mastbestände, drei Ferkelerzeuger und ein geschlossenes System. Die anhand der Entnahme von 10 Nasenabstrichen ermittelte MRSA-Prävalenz in den untersuchten Beständen betrug 14%.

3.1.3 Untersuchung von 50 bis 60 Nasentupfern

Zur Senkung der nachweisbaren Prävalenzgrenze von 20% auf 5% wurde die Stichprobenzahl, je nach Größe der untersuchten Bestände, auf 50- 60 Nasentupfer erhöht. Dazu wurde die erforderliche Stichprobengröße für jeden der bis dahin MRSA-negativ definierten Bestände anhand der Formel von CANON u. ROE (1982) neu berechnet. Diese Formel legt ein Konfidenzintervall von 95% zu Grunde. Mittels der erhöhten Stichprobenzahl wurden nun 31 der 33 MRSA-negativ definierten Bestände erneut beprobt. Bei der Beprobung dieser 31 Bestände

konnte in zwei Mastbeständen MRSA nachgewiesen werden. Damit stieg die Zahl der als MRSApositiv identifizierten Bestände auf acht von 42. Daraus ergibt sich eine, allein mittels Nasentupfern nachgewiesene Bestandsprävalenz von 19%.

3.1.4 Bestandsprävalenz nach der Entnahme von Staubprobe und Nasentupfern

Anhand der Untersuchung von einer Staubprobe und zehn Nasenabstrichen konnte im Rahmen des ersten Bestandsbesuches in neun von 42 Untersuchungsbetrieben MRSA nachgewiesen werden. Dies entspricht einer Bestandsprävalenz von 21% bei einer nachweisbaren Prävalenzgrenze von 20%. Dabei ergab in zwei der neun Bestände sowohl die Untersuchung der Staubprobe als auch die der 10 Nasentupfer einen positiven MRSA-Nachweis. In drei von fünf Untersuchungsbetrieben war nur die Staubprobe MRSA-positiv. In vier von sechs Untersuchungsbetrieben gelang der MRSA-Nachweis bei negativem Untersuchungsbefund der Staubprobe nur durch die Untersuchung von 10 Nasentupfern. Nach der erneuten Beprobung von 31 der verbliebenen 33 MRSA-negativ definierten Bestände mittels 50 bis 60 Nasenabstrichen im Rahmen des zweiten Bestandsbesuchs wurden in zwei von 31 Beständen MRSA nachgewiesen. Insgesamt wurde in 11 von 42 ökologisch wirtschaftenden Schweinebeständen MRSA nachgewiesen. Dies entspricht einer Bestandsprävalenz von 26%.

Alle MRSA-Isolate aus der Querschnittsstudie wurden isoliert und zur Bestimmung des spa- und des SCCmec-Typs an das BfR in Berlin übersandt. Eine Übersicht über den Nachweis von MRSA im Rahmen der Querschnittsstudie sowie über die spa- und SCCmec-Typen der Isolate gibt Tabelle 9.

Tabelle 9: MRSA-positive Bestände

*Bereits durch die Untersuchung der Staubprobe und / oder der 10 Nasenabstriche als MRSApositiv identifizierte Bestände wurden nicht erneut beprobt.

Bestandstyp (Name)	MRSA-Befund Staubprobe	MRSA-Befund 10 Nasentupfer	MRSA-Befund 50-60 Nasentupfer
Mastbestand (M 2)	+ t011, mecV	+ t034, mecV	Nicht untersucht*
Mastbestand (M 16)	+ t011, mecV	+ t011, mecV	Nicht untersucht*
Mastbestand (M 18)	+ t011, mecV	-	Nicht untersucht*
Ferkelerzeuger (Z 4)	+ t034, mecV	-	Nicht untersucht*
Ferkelerzeuger (Z 7)	+ t011, mecV	-	Nicht untersucht*
Ferkelerzeuger (Z 9)	-	+t011, mecV	Nicht untersucht*
Ferkelerzeuger (Z 11)	-	+t011, mecV	Nicht untersucht*
Ferkelerzeuger (Z 12)	-	+t011, mecV	Nicht untersucht*
geschl. System (GS 6)	-	+t011, mecV	Nicht untersucht*
Mastbestand (M 3)	-	-	+t011, mecV
Mastbestand (M 8)	-	-	+t011, mecV

3.2 Auswertung der Betriebsfragebögen

Zur Ermittlung bestandsspezifischer Charakteristika und deren möglichen Einfluss auf den MRSA-Status der untersuchten Bestände wurden die Betriebsleiter im Rahmen des ersten Bestandsbesuchs mit Hilfe des in Anlage 1 aufgeführten Fragebogens befragt. Die wichtigsten Ergebnisse aus der Analyse der Antworten werden im Folgenden näher erläutert.

3.2.1 Einfluss des Bestandstyps auf das Vorkommen von MRSA

Im Rahmen der Querschnittsstudie wurden Bestände unterschiedlicher Produktionsstufen untersucht. Dabei wurden fünf von 18 Mastbeständen, entsprechend 27,8% sowie fünf von 12 Ferkelerzeugern (41,7%) als MRSA-positiv identifiziert. Unter den 12 untersuchten Beständen, die im geschlossenen System wirtschafteten, konnte ein Bestand als MRSA-positiv identifiziert werden, was einer MRSA-Prävalenz von 8,3% entspricht. Damit wurde in den Ferkelerzeuger-Beständen die höchste, in den im geschlossenen System wirtschaftenden Beständen die geringste MRSA-Prävalenz ermittelt. Die Berechnung des p-Wertes mittels Fisher Exact Test ergab einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Bestandstyp und dem Vorkommen von MRSA (p =

0,019).

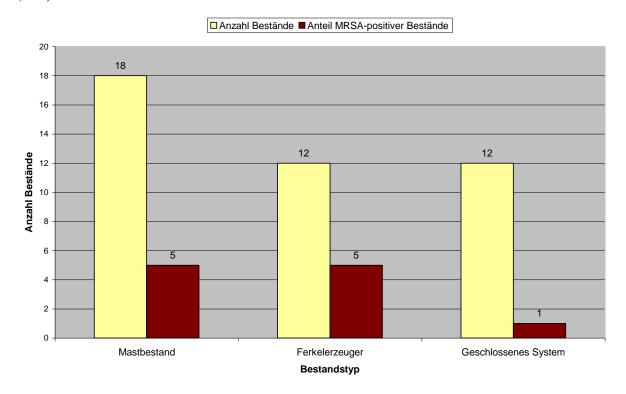


Abbildung 2: Anteil MRSA-positiver Bestände an der Gesamtzahl der untersuchten Bestände in den unterschiedlichen Produktionsstufen

3.2.2 Einfluss der Bestandsgröße auf das Vorkommen von MRSA

In kleinen und mittleren Schweinebeständen konnten deutlich weniger MRSA-Nachweise erbracht werden als in Beständen, die mindestens 1000 Tiere hielten. So war von 10 Beständen mit maximal 200 Tieren nur ein Bestand MRSA-positiv. Dies entspricht einer MRSA-Prävalenz in dieser Gruppe von 9%. Der größten Gruppe der mittelgroßen Bestände, die mehr als 200 jedoch weniger als 1000 Tiere hielten, gehörten 26 der untersuchten Bestände an. Davon wurden sieben als MRSA-positiv identifiziert. Entsprechend beträgt die MRSA-Prävalenz in dieser Gruppe 27%. Ein deutlich höherer Wert der MRSA-Prävalenz konnte in der Gruppe der Bestände ermittelt werden, die mehr als 1000 Tiere hielten. Hier waren drei von fünf untersuchten Beständen, entsprechend 60%, MRSA-positiv.

Die Berechnung des p-Wertes mittels Fisher's Exact Test ergab einen p-Wert von 0,0169. Damit besteht ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Bestandsgröße und dem Vorkommen von MRSA.

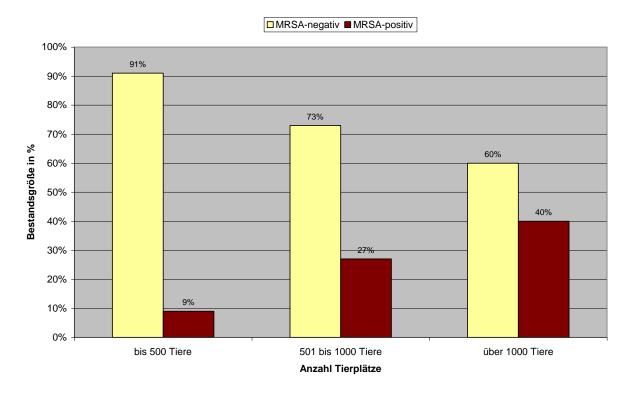


Abbildung 3: MRSA-Status in Abhängigkeit von der Bestandsgröße

Tabelle 10: MRSA-Status der untersuchten Bestände

Bestandsgröße	Anteil MRSA- positiver Bestände (n/N)	Anteil MRSA- negativer Bestände (n/N)	Gesamtzahl der Bestände
1 bis 200 Tiere	9% (1/11)	91% (10/11)	11
201 bis 1000 Tiere	27% (7/26)	73% (19/26)	26
> 1000 Tiere	60% (3/6)	40% (2/6)	6
Gesamt	11	31	42

3.2.3 Einfluss der Belegdichte auf das Vorkommen von MRSA

Mit Hilfe des Fragebogens erfolgte die Einteilung Bestände bezüglich der Belegdichte in drei Gruppen. In 17 der untersuchten Bestände lag eine geringe Belegdichte, in 23 Beständen eine mittlere und in 2 Beständen eine hohe Belegdichte vor. Vier der Bestände mit geringer Belegdichte waren MRSA-positiv. In der größten Gruppe, den Beständen mit mittlerer Belegdichte, waren sechs MRSA-positive Bestände vertreten. Von zwei Untersuchungsbeständen mit hoher Belegdichte erwies sich einer als MRSA-positiv. Der mittels Fisher's Exact Test errechnete p-Wert beträgt 0,11. Somit konnte kein statistischer Zusammenhang zwischen dem MRSA-Status und der Belegdichte ermittelt werden.

Tabelle 11: MRSA-Status der untersuchten Bestände, eingeteilt nach Belegdichte

Belegdichte	Anteil MRSA- positiver Bestände (n/N)	Anteil MRSA- negativer Bestände (n/N)	Gesamtzahl der Bestände
gering	24% (4/17)	76% (13/17)	17
mittel	26% (6/23)	74% (17/23)	23
hoch	50% (1/2)	50% (1/2)	2
Gesamt	11	31	42

3.2.4 Einfluss des Vorhandenseins eines Auslaufs auf den MRSA-Status

In 38 von 42 untersuchten Beständen war ein Auslauf vorhanden. In 10 dieser Bestände konnte MRSA nachgewiesen werden, 28 waren MRSA-negativ. In den verbleibenden vier Beständen stand den Tieren kein Auslauf zur Verfügung: Davon war ein Bestand MRSA-positiv. Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen dem MRSA-Status von Schweinehaltungen mit und Schweinehaltungen ohne Auslauf ermittelt werden. Der mittels Fisher's Exact Test ermittelte p-Wert beträgt 0,44.

Tabelle 12: Vorhandensein eines Auslaufs in den untersuchten Beständen

Auslauf	Anteil MRSA- positiver Bestände (n/N)	Anteil MRSA- negativer Bestände (n/N)	Gesamtzahl der Bestände
Vorhanden	26% (10/38)	74% (28/38)	38
Nicht vorhanden	25% (1/4)	75% (3/4)	4
Gesamt	11	31	42

3.2.5 Einfluss der Herkunft des Futters auf den MRSA-Status

Die Mehrzahl der befragten Landwirte gab an, dem Futter richtlinienkonform bis zu 5% konventionell hergestellte Futterbestandteile zuzusetzen, um den Proteinbedarf der Tiere in ausreichendem Maße zu decken. In 10 von 42 untersuchten Beständen wurde ausschließlich Futter aus ökologischem Anbau ohne konventionelle Bestandteile verwendet. Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen einer Fütterung mit rein ökologischen Futtermitteln oder der Fütterung von Futtermitteln mit konventionell hergestellten Bestandteilen konnte nicht festgestellt werden (p = 0.30).

Tabelle 13: MRSA-Status der untersuchten Bestände in Abhängigkeit von der Herkunft des Futters

Herkunft des Futters	Anteil MRSA- positiver Bestände (n/N)	Anteil MRSA- negativer Bestände (n/N)	Gesamtzahl der Bestände
100% ökologische Fütterung	20% (2/10)	80% (8/10)	10
Konventionelle Futterbestandteile	28% (9/32)	72% (23/32)	32
Gesamt	11	31	42

3.2.6 Einfluss der durchgeführten Hygienemaßnahmen auf den MRSA-Status

3.2.6.1 Reinigung der Buchten, Rampen und Treibwege

Bei der Befragung der Betriebsleiter nach Durchführung und Häufigkeit der Reinigung der Buchten, Rampen und Treibwege, gaben 30 der befragten Landwirte an, die Buchten, Rampen und Treibwege regelmäßig zu reinigen. Zwölf der befragten Personen gaben an, dies nur gelegentlich zu tun. In keinem der untersuchten Bestände wurde bei der Frage nach der Reinigung des Stalls "nie" angegeben. In der Mehrzahl der MRSA-positiven Bestände wird eine regelmäßige Reinigung durchgeführt. Es konnte jedoch kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen einer regelmäßigen oder nur gelegentlichen Reinigung und dem MRSA-Status ermittelt werden (p = 0.22).

Tabelle 14: MRSA-Status der untersuchten Bestände in Abhängigkeit von der Häufigkeit der Reinigung

Häufigkeit der Reinigung	Anteil MRSA- positiver Bestände (n/N)	Anteil MRSA- negativer Bestände (n/N)	Gesamtzahl der Bestände
Regelmäßig	30% (9/30)	70% (21/30)	30
Gelegentlich	17% (2/12)	83% (10/12)	12
Gesamt	11	31	42

3.2.6.2 Art der Reinigung

Bei der Frage nach der Art der durchgeführten Reinigung wurden sehr unterschiedliche Angaben gemacht. So wurde die Reinigung der Buchten, Rampen und Treibwege nach der Entfernung der vielfach vorhandenen Stroheinstreu bei der Mehrzahl der Betriebe mit einem Hochdruckreiniger durchgeführt: In 23 Beständen wurde dabei kaltes Wasser verwendet, in sieben Beständen wurde heißes Wasser genutzt. Einer der befragten Landwirte gab an, die Buchten nach der Entfernung von Mist und Einstreu mithilfe eines herkömmlichen Wasserschlauchs zu reinigen. In 11 von 42 untersuchten Beständen wurden die Buchten lediglich ausgemistet und ohne die Verwendung von Wasser gereinigt. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem MRSA-Status und der Art der durchgeführten Reinigung konnte nicht ermittelt werden. Der mittels Fisher's Exact Test ermittelte p-Wert beträgt 0,07. Die Reinigungsart mit dem höchsten Anteil MRSA-negativer Bestände ist die Reinigung durch Hochdruckreiniger mit heißem Wasser. Unter diesen Beständen sind deutliche weniger MRSA-positive Bestände vertreten, als bei denen die nur mit kaltem Wasser oder ganz ohne Wasser reinigten.

Tabelle 15: Unterschiedliche Reinigungsarten in den untersuchten Beständen

Art der Reinigung	Anteil MRSA-positiver Bestände (n/N)	Anteil MRSA-negativer Bestände (n/N)	Gesamtzahl der Bestände
Hochdruckreiniger (heiß)	14% (1/7)	86% (6/7)	7
Hochdruckreiniger (kalt)	30% (7/23)	70% (16/23)	23
Wasserschlauch	0 (0/1)	100% (1/1)	1
Besenrein	27% (3/11)	73% (8/11)	11
Gesamt	11	31	42

3.2.6.3 Durchführung von Desinfektionsmaßnahmen

Wie schon bei Häufigkeit und Art der Reinigung, wurden auch in Bezug auf die Durchführung von Desinfektionsmaßnahmen sehr unterschiedliche Angaben gemacht. Unter den 15 Beständen, in denen regelmäßig Desinfektionsmaßnahmen durchgeführt wurden, waren drei MRSA-positive Bestände. Hierbei handelt es sich um einen Ferkelerzeuger- und zwei Mastbestände mit jeweils über 1000 Tieren. Von 13 Beständen, die nur gelegentlich Desinfektionsmaßnahmen durchführten, waren vier MRSA-positiv: darunter zwei Ferkelerzeuger, ein Mastbestand sowie ein geschlossenes System. In 14 Untersuchungsbeständen wurden keine Desinfektionsmaßnahmen durchgeführt: In vier dieser Bestände (zwei Ferkelerzeuger und zwei Mastbestände) wurden MRSA nachgewiesen. Es konnte kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der Durchführung von Desinfektionsmaßnahmen und dem Vorkommen von MRSA ermittelt werden (p = 0,08).

Tabelle 16: Durchführung von Desinfektionsmaßnahmen in den untersuchten Beständen

Desinfektion	Anteil MRSA- positiver Bestände (n/N)	Anteil MRSA- negativer Bestände (n/N)	Gesamtzahl der Bestände
regelmäßig	20% (3/15)	80% (12/15)	15
gelegentlich	31% (4/13)	69% (9/13)	13
nie	29% (4/14)	71% (10/14)	14
Gesamt	11	31	42

3.2.6.4 Nutzung von Schutzkleidung

Die Mehrheit der befragten Betriebsleiter gab an, beim Betreten des Bestandes regelmäßig Schutzkleidung in Form von Overall und separatem Schuhwerk zu verwenden. Das Tragen von Schutzkleidung scheint keinen Einfluss auf den MRSA-Status zu nehmen: So konnten von 32 Beständen, die nur mit Schutzkleidung betreten wurden, 10 als MRSA-positiv identifiziert werden. Unter den 10 Beständen, die ohne stallspezifische Kleidung betreten werden, war ein Bestand MRSA-positiv. Der ermittelte p-Wert beträgt 0,15.

Tabelle 17: Nutzung von Schutzkleidung in den untersuchten Beständen

Regelmäßiges Tragen von Schutzkleidung im Bestand	Anteil MRSA- positiver Bestände (n/N)	Anteil MRSA- negativer Bestände (n/N)	Gesamtzahl der Bestände
Ja	31% (10/32)	69% (22/33)	32
Nein	10% (1/10)	90% (9/10)	10
Gesamt	11	31	42

3.2.7 Kontakt zwischen Schweinen und Haustieren (Hunde / Katzen)

Die Frage, ob Hunde und / oder Katzen Zugang zum Schweinestall hätten, bejahte die Mehrheit der befragten Betriebsleiter: In 36 von 42 untersuchten Beständen hatten Hunde und Katzen Zugang zu den Gebäuden, in denen die Schweine gehalten wurden. Eine zusätzliche Möglichkeit des Kontakts zwischen Hund oder Katze boten die vielfach vorhandenen Ausläufe. Auf den MRSA-Status scheint der Kontakt der Schweine zu Hunden und / oder Katzen keinen Einfluss zu haben: Der mittels Fisher's Exact Test errechnete p-Wert beträgt 0,50.

Tabelle 18: Kontakt der Schweine in den MRSA-positiven und MRSA-negativen Beständen zu Hunden und Katzen

Haustier haben Zugang zum Stall	Anteil MRSA- positiver Bestände (n/N)	Anteil MRSA- negativer Bestände (n/N)	Gesamtzahl der Bestände
Ja	25% (9/36)	75% (27/36)	36
Nein	33% (2/6)	67% (4/6)	6
Gesamt	11	31	42

3.2.8 Haltung anderer Tierarten

Bei 26 der 42 untersuchten Bestände handelte es sich um Betriebe mit reiner Schweinehaltung. Die übrigen 16 waren Mischbetriebe, in denen neben Schweinen mindestens eine weitere Nutztierart gehalten wurde. Auf den MRSA-Status der Bestände scheint die Haltung anderer Nutztierarten, zusätzlich zur Schweinehaltung, keinen Einfluss zu nehmen. So waren acht von 26 Beständen aus reiner Schweinehaltung MRSA-positiv. In drei von 16 Beständen aus Mischbetrieben wurde ebenfalls MRSA nachgewiesen.

Tabelle 19: Haltung anderer Tierarten

Haltung anderer Tierarten auf dem Betrieb	Anteil MRSA- positiver Bestände (n/N)	Anteil MRSA- negativer Bestände (n/N)	Gesamtzahl der Bestände
reine Schweinehaltung	31% (8/26)	69% (18/26)	26
Mischbetrieb	19% (3/16)	81% (13/16)	16
Gesamt	11	31	42

3.2.8 Einsatz von Antibiotika

In 18 der untersuchten Bestände wurden zur Behandlung von Einzeltieren im laufenden Durchgang Antibiotika eingesetzt. Davon wurden sechs als MRSA-positiv und 12 als MRSA-negativ identifiziert. Die übrigen 24 befragten Landwirte gaben an, im laufenden Durchgang bis zum Zeitpunkt der Probennahme keine Antibiotika eingesetzt zu haben. In fünf dieser Bestände wurde MRSA nachgewiesen, 19 waren MRSA-negativ.

Tabelle 20: Einsatz von Antibiotika (Gruppen- und Einzelbehandlungen) in Abhängigkeit vom MRSA-Status

Einsatz von Antibiotika bis zum Zeitpunkt der Probennahme	Anteil MRSA- positiver Bestände (n/N)	Anteil MRSA- negativer Bestände (n/N)	Gesamtzahl der Bestände
Ja	33% (6/18)	67% (12/18)	18
Nein	21% (5/24)	79% (19/24)	24
Gesamt	11	31	42

3.3 Ergebnisse der Longitudinalstudie

Für die Beprobung im Rahmen der Longitudinalstudie wurden sechs, aus der Querschnittsstudie als MRSA-positiv hervorgegangene Untersuchungsbetriebe ausgewählt.

Einige der dabei nachgewiesenen MRSA-Isolate wurden zur Bestimmung des spa-Typs und zur Sequenzierung der SCCmec-Kassette an das Bundesinstitut für Risikobewertung in Berlin übersandt. Einen Überblick über Lage, Bestandstyp und -größe der in Phase 2 untersuchten Bestände gibt Tabelle 21.

Tabelle 21: Bestandstyp und Bestandsgröße der Untersuchungsbestände der Longitudinalstudie

Bestand Nummer	Name	Bestandstyp	Tierplätze	Bundesland
1	Z 4	Ferkelerzeuger	750 SP	Niedersachsen
2	Z 7	Ferkelerzeuger	28 SP, 118 MP	NRW
3	Z 9	Ferkelerzeuger	56 SP	Hessen
4	GS 1	Geschlossenes System	42 SP, 220 MP	Hessen
5	M 8	Mastbestand	1000 MP	NRW
6	M 2	Mastbestand	200 MP	NRW

Die Ergebnisse der Probennahmen im Rahmen der Longitudinalstudie werden im Folgenden tabellarisch dargestellt. MRSA-postive Befunde sind dabei durch ein "+" gekennzeichnet, MRSA-negative Befunde durch ein "-". Die Ergebnisse der spa- und SCCmec-Typisierung durch das BfR in Berlin sind ebenfalls in den Tabellen aufgeführt. Aus Kostengründen wurden nur die epidemiologisch wichtigsten MRSA-Isolate wurden zur spa- und SCCmec-Typisierung ausgewählt.

Tabelle 22: MRSA-Befunde innerhalb der Longitudinalstudie für den Bestand 1

Beprobungstermin		Einstallung Abferkelstall	Direkt nach der Geburt (max. 24 h)	Beim Absetzen	Verlassen des Deckzentrums
Stau	bprobe	-	-	-	-
Sockentupfer		-	-	-	+/ t011, mecV
	Nase	-	-	-	-
	Vaginal	-	-	-	-
Sau 1	Ferkel 1		-	-	
Sau 1	Ferkel 2		-	-	
	Ferkel 3		-	-	
	Ferkel 4		-	-	
Sau 2	Nasse	-	-	-	-
	Vaginal	-	-	-	-
	Ferkel 1		-	-	
	Ferkel 2		-	-	
	Ferkel 3		-	+/ t034, mecV	
	Ferkel 4		-	-	
	Nase	-	-	-	-
	Vaginal	-	-	-	-
Sau 3	Ferkel 1		-	-	
Suu S	Ferkel 2		-	-	
	Ferkel 3		-	-	
	Ferkel 4		-	-	
	Nase	-	-	-	-
Sau 4	Vaginal	-	-	-	-
	Ferkel 1		-	-	
	Ferkel 2		-	-	
	Ferkel 3		-	-	
	Ferkel 4		-	-	
Eber	Nase				-

Tabelle 23: MRSA-Befunde innerhalb der Longitudinalstudie für den Bestand 2

Beprobungstermin		Einstallung Abferkelstall	Direkt nach der Geburt (max. 24 h)	Beim Absetzen	Verlassen des Deckzentrums
Staubprobe		-	-	-	-
Socke	ntupfer	-	-	-	-
	Nase	-	-	-	-
	Vaginal	-	-	-	-
Sau 1	Ferkel 1		-	-	
Sau 1	Ferkel 2		-	-	
	Ferkel 3		-	-	
	Ferkel 4		-	-	
	Nasse	-	-	-	-
	Vaginal	-	-	-	-
Sau 2	Ferkel 1		-	-	
Sau 2	Ferkel 2		-	-	
	Ferkel 3		-	-	
	Ferkel 4		-	-	
	Nase	-	-	-	-
	Vaginal	-	-	-	-
Sau 3	Ferkel 1		-	-	
Suu o	Ferkel 2		-	-	
	Ferkel 3		-	-	
	Ferkel 4		-	-	
	Nase	-	-	-	-
Sau 4	Vaginal	-	-	-	-
	Ferkel 1		-	-	
	Ferkel 2		-	-	
	Ferkel 3		-	-	
	Ferkel 4		-	-	
Eber	Nase				-

Tabelle 24: MRSA-Befunde innerhalb der Longitudinalstudie für den Bestand 3

Beprobungstermin		Einstallung Abferkelstall	Direkt nach der Geburt (max. 24 h)	Beim Absetzen	Verlassen des Deckzentrums
Staubprobe		+ / t011 , mecV	+	+	+
Socke	ntupfer	+ / t011, mecV	+	-	+
	Nase	+ / t011 , mecV	+	+ / t011 , mecV	-
	Vaginal	+	+	-	+
Sau 1	Ferkel 1		+	+ / t011 , mecV	
Sau 1	Ferkel 2		+	-	
	Ferkel 3		+	-	
	Ferkel 4		+	-	
	Nasse	+	+	-	+
	Vaginal	+	-	+	+
Sau 2	Ferkel 1		+	+	
Sau 2	Ferkel 2		+	-	
	Ferkel 3		+	+	
	Ferkel 4		+	+	
	Nase	+	+	-	+
	Vaginal	+	+	+	+
Sau 3	Ferkel 1		+	-	
Suu e	Ferkel 2		+	-	
	Ferkel 3		+	-	
	Ferkel 4		+	-	
	Nase	-	+	+ / t011 , mecV	-
	Vaginal	-	+	+	+
Sau 4	Ferkel 1		+	-	
	Ferkel 2		-	+ / t011 , mecV	
	Ferkel 3		+	+ / t011 , mecV	
	Ferkel 4		+	-	
Eber	Nase				-

Bei der Untersuchung des Nasenabstriches des Hofhundes wurde MRSA nachgewiesen. Der Hund hat jedoch laut Angabe des Betriebsleiters keinen Zugang zu den Stallungen. Auch die Untersuchung von Nasenabstrichen des Betriebsleiters sowie dessen Vater, der sich ebenfalls regelmäßig im Stall aufhält, ergab einen positiven MRSA-Nachweis.

Bei einer telefonischen Befragung berichtete der Betriebsleiter über eine Anfang des Jahres 2009 durchgeführte Bestandssanierung mit Jungsauen aus konventioneller Herkunft aufgrund eines Bestandsproblems mit Brachyspira hyodysenteriae. Dazu befähigte ihn eine Ausnahmegenehmigung. Seitdem bezieht der Landwirt jährlich etwa vier bis fünf Jungsauen zur Remontierung seines Bestandes aus derselben konventionellen Herkunft. Als ein weiteres Problem der Tiergesundheit führte der Mann häufig auftretenden Durchfall bei Absatzferkeln an.

Tabelle 25: MRSA-Befunde innerhalb der Longitudinalstudie für den Bestand 4, Teil 1

Beprobungstermin		Einstallung Abferkelstall	Direkt nach der Geburt (max 24 h)	Beim Absetzen	Verlassen des Deckzentrums
Staubprobe		-	-	-	-
Sockentu	ıpfer	+/ t011, mecIVa	-	-	+ / t034, mecV
	Nase	-	-	-	-
	Vaginal	-	-	-	-
Sau 1	Ferkel 1		-	-	
Sau I	Ferkel 2		-	-	
	Ferkel 3		-	-	
	Ferkel 4		-	-	
	Nasse	-	-	-	-
	Vaginal	-	-	-	-
Sau 2	Ferkel 1		-	-	
Sau 2	Ferkel 2		-	-	
	Ferkel 3		-	-	
	Ferkel 4		-	-	
	Nase	-	-	-	-
	Vaginal	-	-	-	-
Sau 3	Ferkel 1		-	-	
	Ferkel 2		-	-	
	Ferkel 3		-	-	
	Ferkel 4		-	-	
	Nase	-	-	-	-
Sau 4	Vaginal	-	-	-	-
	Ferkel 1		-	-	
	Ferkel 2		-	-	
	Ferkel 3		-	-	
	Ferkel 4		-	-	
Eber	Nase				-

Tabelle 26: MRSA-Befunde innerhalb der Longitudinalstudie für den Bestand 4, Teil 2

Beprobungstermin	2 Wochen nach Umstallung	6 Wochen nach Umstallung	Am Ende der Mast
Staubprobe	-	-	-
Sockentupfer	-	-	-
Schwein 1	-	-	-
Schwein 2	-	-	-
Schwein 3	-	-	-
Schwein 4	-	-	-
Schwein 5	-	-	-
Schwein 6	-	-	-
Schwein 7	-	-	-
Schwein 8	-	-	-
Schwein 9	-	-	-
Schwein 10	-	-	-

Tabelle 27: MRSA-Befunde innerhalb der Longitudinalstudie für den Bestand 5:

Beprobungstermin	Beim Einstallen	Nach 2 Wochen	Nach 6 Wochen	Am Ende der Mast
Staubprobe	-	-	-	-
Sockentupfer	+ / t011 , mecV	-	-	-
Schwein 1	-	-	-	-
Schwein 2	-	-	-	-
Schwein 3	+/ t011, mecV	-	-	-
Schwein 4	-	-	+ / t1430, n.t.*	-
Schwein 5	-	-	verendet	
Schwein 6	-	-	-	-
Schwein 7	-	-	-	-
Schwein 8	-	-	-	-
Schwein 9	-	-	-	-
Schwein 10	-	-	-	-
Schwein 11	-	-	-	-
Schwein 12	-	-	-	-

^{*}n.t.= nicht typisierbar

Tabelle 28: Ergebnisse der Longitudinalstudie für den Bestand 6

Beprobungstermin	Beim Einstallen	Nach 2 Wochen	Nach 6 Wochen	Am Ende der Mast
Staubprobe	-	-	-	-
Sockentupfer	-	-	-	-
Schwein 1	-	-	-	-
Schwein 2	-	-	-	-
Schwein 3	-	-	-	-
Schwein 4	-	-	-	-
Schwein 5	-	-	-	-
Schwein 6	-	-	-	-
Schwein 7	-	-	-	-
Schwein 8	-	-	-	-
Schwein 9	-	-	-	-
Schwein 10	-	-	-	-
Schwein 11	-	-	-	-
Schwein 12	-	-	-	-

3.3.1 Ergebnisse der Probennahme bei Haustieren

Die Beprobung der Haustiere beschränkte sich, sofern vorhanden, auf Haus- und Hofhunde. Die Nasenabstriche wurden dabei auf die gleiche Weise entnommen wie bei den untersuchten Schweinen.

Bestand 1

Zum Beprobungstermin "Beim Absetzen" wurden zwei Hofhunde beprobt, die sich innerhalb eines abgegrenzten Areals auf einem Teil des Geländes frei bewegen können, jedoch keinen direkten Kontakt zu den Tieren haben. Die Hunde werden vom Landwirt als Wachhunde gehalten und verlassen das Gelände in der Regel nicht. Beide Nasenabstriche waren MRSA-negativ.

Bestand 3

Laut Angabe des Betriebsleiters hat der Hund keinen Zugang zu den Stallungen. Eine Kontaktaufnahme zwischen Hund und Schweinen über den Auslauf ist jedoch möglich. Bei der Untersuchung des Nasenabstriches des Hundes wurden MRSA nachgewiesen

Bestand 5

Beim Beprobungstermin "sechs Wochen nach Einstallung" wurde der Hofhund mittels Nasentupfern beprobt. Der Hund kann sich im Haus und auf dem Hof frei bewegen. Er hat nur selten Zugang zum Stall, ein Kontakt zwischen Schweinen und Hund ist jedoch über die Ausläufe jederzeit möglich. Der Nasenabstrich des Hundes war MRSA-negativ.

3.3.2 Ergebnisse der Probennahme bei beruflich exponierten Personen und deren Angehörigen

• Bestand 1

Fünf der Mitarbeiter des Betriebes wurden mittels Nasenabstrichen untersucht. Davon waren vier Personen MRSA-negativ. Im Nasenabstrich eines Mitarbeiters konnten MRSA vom spaTyp t034 mit dem SCCmec-Element vom Typ V nachgewiesen werden. Bei der anschließenden telefonischen Befragung des Mannes konnten folgende Informationen gewonnen werden: Es handelt sich um einen 25 Jahre alten Mann, der seit mehreren Jahren in dem Betreib tätig und mit der Versorgung der Absatzferkel sowie der Mastschweine betraut ist. Vor seiner Einstellung im Betrieb absolvierte er eine Lehre zum Tierwirt in einem konventionellen Schweinebestand. Auch danach hatte und hat er sporadischen Kontakt zu Schweinen aus konventioneller Haltung im Betrieb seines Onkels. Ein Bezug des jungen Mannes zu medizinischen Einrichtungen, etwa durch einen Krankheitsfall im Familien- oder Freundeskreis, beziehungsweise durch pflegebedürftige Angehörige, konnte nicht hergestellt werden.

Bestand 2

Bei der Untersuchung der Nasenabstriche des Betriebsleiters sowie eines Auszubildenden konnten keine MRSA nachgewiesen werden.

Bestand 3

Sowohl aus dem Nasenabstrich des Betriebsleiters als auch aus dem seines Vaters konnten MRSA isoliert werden. Bei beiden MRSA- Isolaten wurde der spa-Typ t011 mit dem SCCmec-Element V nachgewiesen. Beide arbeiten täglich im Stall und stehen in direktem Kontakt zu den Schweinen.

• Bestand 4

Weder beim Betriebsleiter noch bei zwei geistig beeinträchtigten Mitarbeitern wurden eine MRSA in den Nasenabstrichen nachgewiesen.

Bestand 5

Weder im Nasenabstrich des Betriebsleiters, der sich nicht täglich im Stall aufhält, noch im Nasenabstrich seines Mitarbeiters konnten MRSA nachgewiesen werden.

Bestand 6

Bei der Untersuchung der Nasenabstriche des Betriebsleiters und seiner Frau sowie des seit kurzem auf dem Betrieb tätigen Auszubildenden wurden keine MRSA nachgewiesen. Der Nasenabstrich eines langjährigen Mitarbeiters, der vor allem mit Arbeiten im Außenklimastall betraut ist, war MRSA-positiv. Die Typisierung des Isolats ergab MRSA mit dem spa-, bzw. SCCmec-Typ t034, mecV. Die Befragung dieses Mitarbeiters, der schätzungsweise 58 Jahre alt ist, ergab, dass sein Bruder konventionelle Schweinehaltung betreibt und der Mann in regelmäßigem Kontakt zu seinem Bruder sowie dessen Tieren steht. Der Mann besucht regelmäßig eine Angehörige in einem nahegelegenen Krankenhaus.

3.4. Spa- und SCCmec- Typen ausgewählter MRSA-Isolate aus Querschnittsund Longitudinalstudie

Bei der Typisierung ausgewählter MRSA-Isolate wurden überwiegend die spa-Typen t011 und t034 nachgewiesen (siehe Abbildung 3). Beide spa-Typen sind dem Nutztier-assoziierten MLST-Typ 398 und somit dem epidemiologischen Komplex der livestock-associated (la)MRSA zuzuordnen.

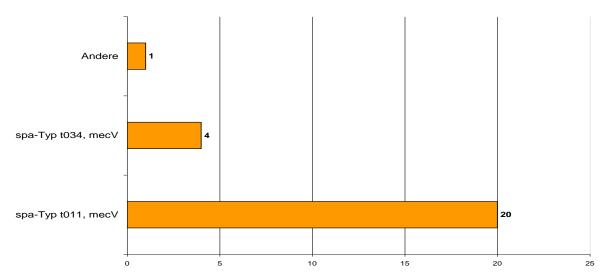


Abbildung 4: Verteilung der nachgewiesenen spa-Typen (Querschnitts- und Longitudinalstudie

Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse

Die dargestellten Ergebnisse zeigen im Vergleich mit den Ergebnissen des EH-Verbundprojekts des BMELV zum Vorkommen von MRSA in konventionell wirtschaftenden Schweinebeständen (BROCKERS, 2011; FISCHER, 2011; MEYER, 2011), eine deutlich geringere MRSA-Prävalenz in ökologisch bewirtschafteten Schweinebeständen. Die im Rahmen der Untersuchungen zum EH-Verbundprojekt identifizierten Risikofaktoren für das Vorkommen von MRSA, wie große Bestände mit hoher Belegdichte sowie ein intensiver Tierverkehr bei wechselnden Lieferbeziehungen (BROCKERS, 2011), unterscheiden sich grundlegend von denen in der ökologischen Schweinehaltung: Kleinere Betriebsstrukturen sowie eine geringe Belegdichte scheinen sich genauso begrenzend auf die Ausbreitung von MRSA auszuwirken wie ein eingeschränkter Tierverkehr bei meist festen Lieferbeziehungen. Die Haltung von Schweinen im geschlossenen System, wie sie in der ökologischen Schweinehaltung besonders häufig praktiziert wird, trägt weiterhin zur Vermeidung eines MRSA-Eintrages bei. Der Eintrag von MRSA durch den Zukauf von Tieren, Jungsauen oder Ferkeln ist als der größte Risikofaktor für die Ausbreitung von MRSA in der ökologischen Schweinehaltung anzusehen. Der MRSA-Status zugekaufter Tiere sollte daher regelmäßig mittels Nasenabstrichen untersucht werden. Die Einstallung von MRSAnegativen Schweinen in einen MRSA-negativen Bestand ist laut den Ergebnissen des EH-Verbundvorhabens des BMELV (BROCKERS, 2011; FISCHER, 2011; MEYER, 2011) daher die effektivste Strategie zur Eindämmung der Ausbreitung von MRSA. Der Steigerung der Bestandshygiene (regelmäßige Reinigung und Desinfektion) sowie einer effizienten Schadnagerbekämpfung sollte, nicht nur zur Bekämpfung von MRSA, ein hoher Stellenwert zukommen. Hat ein Eintrag stattgefunden, ist es jedoch möglich, dass eine geringe Belegdichte zu einem "Auslaufen" der Erregerausbreitung führen kann. Dies belegen die Untersuchungen im Rahmen der Longitudinalstudie in den Beständen 2 und 4. Ein Zusammenhang zwischen dem Einsatz von Antibiotika und dem Vorkommen von MRSA konnte in dieser Studie nicht belegt werden. Zwar erhöht der Einsatz von Antibiotika den Selektionsdruck auf die konkurrierende Keimflora und kann so die Ausbreitung vorhandener MRSA begünstigen (MEYER, 2011); jedoch ist nicht belegt, dass ein Antibiotika-Einsatz in jedem Fall eine Neubildung von MRSA verursacht. Die Bestimmung der spa- und SCCmec-Typen der Isolate ergab ein ähnliches Verteilungsmuster wie in der konventionellen Schweinehaltung (BUNTENKÖTTER 2011, persönliche Mitteilung). Ein gemeinsamer genetischer Ursprung der MRSA in konventionell und ökologisch wirtschaftenden Beständen gilt daher als wahrscheinlich.

Bezüglich des Probennahmeverfahrens hat sich die Kombination aus 10 Nasentupfern und Umgebungsproben als effektive und günstige Screening-Methode erwiesen. Durch die Erhöhung der Stichprobengröße von 10 auf 50 bis 60 Nasentupferproben und die damit verbundene Senkung der nachweisbaren Prävalenzgrenze von 20% auf 5% wurden nur zwei weitere Beständen als MRSA-positiv identifiziert. Für die Feststellung des MRSA-Status der Tierumgebung hat die Untersuchung von Sockentupferproben (Abschreiten des Stallgangs mit "Sockentupfern") eine höhere Aussagekraft als die Untersuchung von Staubproben entnommen mittels "einpinseln des Staubs". Dies wird durch die Ergebnisse des EH-Verbundvorhabens bestätigt (BROCKERS, 2011).

4. Zusammenfassung

Im Vergleich mit den Ergebnissen des EH-Verbundvorhabens des BMELV zur MRSA-Problematik in Nutztierbeständen, konnte in dieser deutschlandweiten Studie ein deutlich geringeres Vorkommen von MRSA in den ökologisch wirtschaftenden Beständen, sowohl in Staub- und Sockentupferproben als auch in Nasenabstrichen, festgestellt werden. Wie die Bestimmung der spa- und SCCmec-Typen der MRSA-Isolate zeigt, handelt es sich um den gleichen MRSA-Klon, der in der konventionellen Schweinehaltung zirkuliert. Bei der Ausbreitung von MRSA handelt es sich um ein multifaktorielles Geschehen. Der Prävalenzunterschied zwischen konventioneller und ökologischer Schweinehaltung ist wahrscheinlich durch mehrere Faktoren begründet. Die größte Bedeutung kommt dabei vermutlich dem vergleichsweise geringen Tierverkehr und der bevorzugten Betriebsform des geschlossenen Systems in der ökologischen Landwirtschaft zu. Dadurch findet ein geringerer Eintrag von MRSA in ökologische Schweinehaltung statt. Über den Tierzukauf eingetragene MRSA können sich zudem schlechter ausbreiten.

5. Überblick über Soll- und Ist-Zustand des Projekts

5.1 Geplante Arbeitsschritte für die Gesamtlaufzeit des Projekts vom 1.08.2009 bis 31.07.2011 (SOLL)

- Erstellung des Fragebogens (Soll 3. und 4. Quartal 2009)
- Auswahl der Betriebe (Soll 3. und 4. Quartal 2009)
- Erfassung der relevanten Betriebsdaten (Soll 4. Quartal 2009 und 1. Quartal 2010)
- Probennahmen in den Betrieben, Phase 1 (Soll 4. Quartal 2009 bis 2. Quartal 2010)
- Probennahmen ausgewählter Tiere in den Betrieben, Phase 2 (Soll 2. bis 4. Quartal 2010)
- Mikrobiologische Untersuchung der Tupferproben (Soll 1. bis 4. Quartal 2010)
- Typisierung der MRSA (Soll 4. Quartal 2010 bis 1. Quartal 2011)
- Erarbeitung von Strategien (Soll 1. und 2. Quartal 2011)
- Auswertung und Erstellung des Schlussberichts (Soll 2. und 3. Quartal 2011)

5.2 Durchgeführte Arbeitschritte und erreichte Ziele (IST)

In Anlehnung an das EH-Verbundprojekt zur MRSA-Problematik in konventionellen_Betrieben einerseits und an die Bestimmungen der Verordnungen (EG) Nr.834/2007 und (EG) Nr. 889/2008 andererseits, wurde zu Beginn der Arbeiten am Projekt ein Fragebogen erarbeitet. Das Ausfüllen des Fragebogens erfolgte zusammen mit den Betriebsleitern der untersuchten Betriebe. Die auf diese Weise gewonnenen Daten wurden mithilfe der Eingabe ausgewählter Datensätze in Excel .07 und der anschließenden Berechnung mit Hilfe des Programms SAS .09 statistisch ausgewertet.

Um die Landwirte auf das Projekt und die Möglichkeit der Teilnahme aufmerksam zu machen, wurde ein Info-Artikel für die Verbandszeitschrift des Bioland-Verbandes verfasst. Der Artikel wurde in der Ausgabe 10/2009 der Bioland-Verbandszeitschrift veröffentlicht. Insgesamt konnten 42 Betriebe in 11 Bundesländern für die Mitarbeit am Projekt gewonnen werden.

Abweichend vom Arbeitsplan, wurden die Staubproben nicht mittels trockenen Tupfern entnommen, sondern durch Einfegen des Staubs in Kotröhrchen mittels autoklavierten Pinseln, analog zur Vorgehensweise im EH-Verbundvorhaben des BMELV zur MRSA-Problematik in Nutztierbeständen. Es wurden zudem nach Änderung der Projektbeschreibung in Abstimmung mit der BLE und in Anlehnung an das EH-Verbundvorhaben zur MRSA-Problematik in Nutztierbeständen, nicht nur Staub-, sondern auch Nasentupferproben entnommen: Die

Nasentupferproben wurden von 10 Tieren aller Altersstufen eines Bestandes entnommen und zur mikrobiologischen Untersuchung zu je 2 Poolproben à 5 Tupfer zusammengefasst. Im Ergebnis waren 9 Bestände MRSA positiv und 33 Bestände MRSA negativ-definiert. Durch die Entnahme von 10 Nasentupfern lag die Nachweisgrenze für die Intraherdenprävalenz von MRSA, unter Berücksichtigung ermittelten durchschnittlichen Tierzahl pro Bestand, bei ca. 20%. Um eine dem EH-Verbundprojekt vergleichbare Nachweisgrenze der Intraherdenprävalenz beziehungsweise eine Sicherheit des MRSA-Nachweises von 95%, zu erreichen, wurde die Anzahl der entnommenen Nasentupfer pro Bestand auf durchschnittlich 55 Nasentupfer erhöht. Dazu war es nötig, 33 von 42 Beständen erneut anzufahren. Bedingt durch diesen zusätzlichen Beprobungsschritt waren die Probennahmen im Rahmen der Phase 1 (Querschnittsstudie) erst im dritten Quartal 2010 abgeschlossen werden. Nach Abschluss aller drei Beprobungsschritte konnten 11 von 42 Untersuchungsbeständen als MRSA-positiv identifiziert werden. Alle MRSA-positiven Isolate wurden mittels PCR bestätigt und zur Bestimmung des spa-Typs an das BfR in Berlin übersandt.

Im Anschluss an die Querschnittsstudie wurden von 11 MRSA-positiven Beständen sechs für die Beprobung im Rahmen der Longitudinalstudie (Phase 2) ausgewählt. Das Schema der Probenentnahmen in der Phase 2 orientierte sich eng an dem des EH-Verbundvorhabens des BMELV zur MRSA-Problematik in konventionell wirtschaftenden Schweinebeständen, um auch hier eine optimale Vergleichbarkeit der Ergebnisse gewährleisten zu können. Um die damit verbundenen umfangreichen Probennahmen an mehreren Terminen realisierten zu können, wurde die Zahl der ursprünglich vorgesehenen Beprobung von 12 MRSA-positiven Beständen, beziehungsweise 11, die als MRSA-positiv identifiziert worden waren, auf sechs reduziert. Die Probennahmen zur Phase 2 (Longitudinalstudie) wurden im ersten Quartal 2011 abgeschlossen. Ausgewählte MRSA-Isolate wurden wie in Phase 1 zur spa-Typisierung an das BfR in Berlin übersandt. Die Arbeiten im Projekt sind abgeschlossen.

5.3 Weiterführende Fragestellungen

Der Schwerpunkt weiterführender Studien sollte in der Untersuchung des Eintragsweges von MRSA in ökologisch wirtschaftende Schweinebestände liegen. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie geben Hinweis darauf, dass der Zukauf von Jungsauen eine mögliche Eintragsquelle für MRSA darstellt. Der MRSA-Status von zugekauften Jungsauen sollte daher als neueinzuführender Parameter für den MRSA-Status eines Bestandes in weiterführenden Studien untersucht werden. In diesem Zusammenhang sollten auch die Lieferbeziehungen zwischen MRSA-positiven und MRSA-negativen Beständen eingehender untersucht und weiter verfolgt werden. Relevante und

scheinbar relevante Einflussfaktoren, wie der Einsatz von Antibiotika und Desinfektionsmitteln, die Belegdichte sowie die Anzahl von Ferkelzulieferern in Mastbeständen und die Anzahl der Umstallungen und das damit verbundene Mischen von Tieren in einem Abteil sollten gezielt bearbeitet werden. Zwar konnte bei der Mehrheit der in dieser Studie untersuchten Einflussfaktoren kein signifikanter Zusammenhang mit dem MRSA-Status der Untersuchungsbestände hergestellt werden. Die Ergebnisse des EH-Verbundvorhabens zum MRSA-Vorkommen in konventionell wirtschaftenden Schweinebeständen zeigen jedoch signifikante Zusammenhänge zwischen den genannten Einflussfaktoren und dem MRSA-Status der dort untersuchten Bestände auf.

6. Literaturverzeichnis

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

Clonal comparison of Staphylococcus aureus Isolates from healthy pig farmers, human controls, and pigs.

Emerg Infect Dis 11,711-714.

BLAHA T., M. OSTMEIER, B. BROCKERS, L. MEYER, S. FISCHER, U. HEINE, R. TEGELER u. D. MEEMKEN (2010):

Occurrence of MRSA in conventional and organic pig herds as well as in wild boars in Germany.

in: Proceedings of the 21st IPVS Congress, Vancouver, Canada, 18.-21. Juli 2010: 118.

BROCKERS B. (2011):

Untersuchung zum Vorkommen und zur Kolonisationsdynamik von Methicillin-resistenten Staphylococcus aureus (MRSA) bei Schweinen in Mastbeständen in Nordwestdeutschland und Ostdeutschland.

Hannover, tierärztl. Hochsch., Diss.

CARSTENSEN L., M. VAARST, A. ROEPSTORFF (2002):

Helminth infections in Danish organic swine herds.

Veterinary Parasitology 106: 253-264.

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

High prevalence of methicillin resistant Staphylococcus aureus in pigs.

Vet Microbiol 122, 366-372.

ENGELHARDT, H. (2008):

Markt für Ökoschweine.

Zentrale Markt- und Preisberichtsstelle GmbH, Bonn.

FISCHER S. (2011):

Untersuchungen zur Intraherdenprävalenz von Methicillin-resistenten Staphylococcus aureus (MRSA) in Schweinebeständen in Süddeutschland.

Hannover, tierärztl. Hochsch., Diss.

FRICK, J.E. (2010):

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

München, LMU, Fachber. Veterinärmed., Diss.

GRAVELAND, H., J. A. WAGENAAR, H. HEESTERBEEK, D. MEVIUS, E. VAN DUIJKEREN u. D. HEEDERIK (2010):

Methicillin resistant Staphylococcus aureus ST398 in veal calf farming: human MRSA carriage related with animal antimicrobial usage and farm hygiene. PLoS One 5, e10990.

GUARDABASSI L., M. STEGGER, u. R. SKOV (2007):

Retrospective detection of methicillin resistant and susceptible Staphylococcus aureus ST398 in Danish slaughter pigs.

Vet Microbiol. 6,384 – 386.

HARLIZIUS J., R. KÖCK, C. LAMBRECHT, T. SCHULZE-HORSEL, M.G. HENDRIX, A.W. FRIEDRICH u. J. WINKELMANN (2008)

Prevalence of MRSA in pig-production units in North-Rhine Westphalia, Germany. in: Proceedings of the 20th IPVS Congress, Durban, RSA, 22.-25. Juni 2008: 16.

HUIJSDENS X.W., B.J. VAN DIJKE, E. SPALBURG, M.G. VAN SANTEN-VERHEUVEL, M.E. HECK, G.N. PLUISTER, A. VOSS, W.J. WANNET u. A.J. DE NEELLING (2006) Community-acquired MRSA and pig-farming.

Ann. Clin. Microb. Antimicrob. 5: 26.

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.

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

Pigs as a source of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* C398 infections in humans, Denmark.

Emerg. Infect. Dis. 14: 1383-1389.

LÖSER, R. (2006):

Ökoschweine im Visier.

Tagungsband – 5. Internationale Öko-Schweinetagung, Seddin 2006, 24-25.

LÖSER, R. und F. DEERBERG (2004):

Ökologische Schweineproduktion: Struktur, Entwicklung, Probleme, politischer Handlungsbedarf. Bericht der Geschäftsstelle Bundesprogramm Ökologischer Landbau, Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE), Bonn.

Projektnummer: 02OE175.

MEEMKEN, D., C. CUNY, W. WITTE, U. EICHLER, R. STAUDT u. 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 Tierarztl Wochenschr 115, 132-139.

MEEMKEN D., u. T. BLAHA (2009a)

Untersuchungen zum Vorkommen von Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA) bei Haus- und Wildschweinen.

Dtsch. Tierärztl. Wochenschr. 116: 297-301.

MEEMKEN D., T. BLAHA, R. TEGELER, B.-A. TENHAGEN, B. GUERRA, J.A. HAMMERL, S. HERTWIG, A. KÄSBOHRER, B. APPEL u. A. FETSCH (2009b)

Livestock associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (LaMRSA) isolated from lesions and pigs at necropsy in Northwest Germany between 2004 and 2007.

Zoo. Pub. Health. p10.1111/j.1863-2378.2009.01313.x (epub ahead of print).

MEEMKEN, D., T. BLAHA, R. TEGELER, B.A. TENHAGEN, B.GUERRA, J.A. HAMMERL, A. KAESBOHRER, B. APPEL u. A. FETSCH (2010):

Livestock associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus (LaMRSA) isolated from lesions of pigs at necropsy in northwest Germany between 2004 and 2007. Zoo Pub Health 57, 143-48.

MEYER L. (2011):

Untersuchung zum Vorkommen und zur Kolonisationsdynamik von Methicillin-resistenten Staphylococcus aureus (MRSA) bei Schweinen in Zuchtbeständen in Nordwestdeutschland. Hannover, tierärztl. Hochsch., Diss.

MOODLEY, A., F. LATRONICO u. L.GUARDABASSI (2010):

Experimental colonization of pigs with methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA): insights into the colonization and transmission of livestock-associated MRSA.

J Epidem and Infect12, 1-7.

NATHAUS, R., T. BLAHA, R. TEGELER, D. MEEMKEN (2010):

Intra-Herdenprävalenz und Kolonisationsdynamik von Methicillin-resistenten Staphylococcus aureus in zwei Schweinezuchtbeständen.

Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift 5/6,221 – 228.

RAHMANN, G., K. BARTH, R. KOOPMANN, F. WEIßMANN (2010):

Die ökologische Tierhaltung braucht noch wissenschaftliche Unterstützung. ForschungsReport 2/2010, 26-29.

SCHAACK D (2011):

Bio-Schweinepreise weiter angezogen.

http://www.ami-informiert.de/ami-maerkte/ami-weitere-maerkte/ami-maerkte-meldungen/article/bio-schweinepreise-weiter-angezogen.html

SCHIJFFELEN, M.J., C. H. EDWIN BOEL, J. A. G. VAN STRIJP u. A. D. C. FLUIT (2010):

Whole genome analysis of a livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 isolate from a case of human endocarditis. BMC Genomics 11, 376.

SCHWARZ, S., K. KADLEC, u. B. STROMMENGER (2008):

Methicillin-resistant Staphylococcus aureus and Staphylococcus pseudintermedius detected in the BfT-GermVet monitoring pro-gramme 2004-2006 in Germany. J Antimicrob. Chemother. 61(2):282-285.

SMITH T.C., M.J. MALE, A.L. HARPER, J.S. KROEGER, G.P. TINKLER, E.D.

MORITZ, A.W. CAPUANO, L.A. HERWALDT u. D.J. DIEKEMA (2009):

Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) Strain ST398 Is Present in Midwestern U.S. Swine and Swine Workers.

PloS ONE Nr. 4 (1): e4258

(DOI:10.1371/journal.pone.0004258).

SUNDRUM, A., M. Ebke (2004):

Problems and challenges with the certification of organic pigs.

in: Hovi, M., A. Sundrum & S. Padel (eds.), Proceedings of the 2nd SAFO-Workshop, University Kassel, Germany, 193-198.

SUNDRUM, A. (2004):

Schlussbericht BÖL, Projekt 03 OE 672: Statusbericht zum Stand der Tiergesundheit in der Ökologischen Tierhaltung- Schlussfolgerungen und Handlungsoptionen für die Agrarpolitik, Universität Kassel, Fachbereich ökologische Agrarwissenschaften, Fachgebiet Tiergesundheit / Tierernährung, Witzenhausen, 29-47.

SUNDRUM, A. (2006):

Ökoschweine im Visier.

Tagungsband, 5. Internationale Öko-Schweinetagung, Seddiner 2006, 83-90.

STATISTISCHES BUNDESAMT (2008):

Betriebe mit ökologischem Landbau, Agrarstrukturerhebung 2007.

Wiesbaden 2008.

VAARST, M., A. ROEPSTORFF, A. FEENSTRA, P. HOGEDAL, A. LARSEN, H.B. LAURIDSEN and J. HERMANSEN (2000): Annial health and welfare aspects of organic pig production.

Proceedings from the 13th International IFOAM Scientific Conference, Basel, 373.

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 u. A. C. FLUIT (2008):

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

Vet Microbiol 126, 383-389.

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

Emergence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus of animal origin in humans. Emerg Infect Dis 13,1834-1839.

VERMEER, H.M., H. ALTENA, M. BESTMAN, L. ELLINGER, I. CRANEN, H.A.M. SPOOLER and T. BAARSS (2000):

Monitoring organic pig farms in the Netherlands.

Proc. from the 51th annual meeting of the European Association of Animal Production, Hague, 156-161.

VON BORELL, E., F.J. BOCKISCH, W. BÜSCHER, S. HOY, J. KRIETER, C. MÜLLER, N. PARVIZI, T. RICHTER, A. RUDOVSKY, A. SUNDRUM and H. VAN DE WEGHE (2001): Critical control points for an-farm-assessment of pig housing. Livest. Prod. Sci. 72, 177-184.

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

Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in pig farming.

Emerg Infect Dis 11,1965-1966.

WAGENAAR, J. A., H. YUE, J. PRITCHARD, M. BROEKHUIZEN-STINS, X. HUIJSDENS, D. J. MEVIUS, T. BOSCH u. E. VAN DUIJKEREN (2009):

Unexpected sequence types in livestock associated methicillin-resistant

Staphylococcus aureus (MRSA): MRSA ST9 and a single locus variant of ST9 in pig farming in China.

Vet Microbiol 139, 405-409.

WEIßMANN, F. (2008):

Resortforschung für die Ökologische Schweinefleischproduktion.

Institut für Ökologischen Landbau, Westerau 2008, 31-37.

WERNER C., K. DIETZE und A. SUNDRUM (2008):

Umsetzung eines Tiergesundheitsplanes auf ökologisch wirtschaftenden Ferkelerzeugerbetrieben in Deutschland.

Landbauforschung – vTI agriculture and forestry research 58(4): 271-281.

WERTHEIM, H. F., D. C. MELLES, M. C. VOS, W. VAN LEEUWEN, A. VAN

BELKUM, H. A. VERBRUGH u. J. L. NOUWEN (2005):

The role of nasal carriage in Staphylococcus aureus infections. Lancet Infect Dis 5, 751-762.

WILLEMS G., M. DISPAS, O. DENIS, M. HALLIN, C. SUETENS, B. GORDTS, M. STRUELENS u. P. BUTAYE (2007a)

Characterisation of MRSA from pigs in Belgium

in: Proceedings of the 2nd symposium on antimicrobial resistance in animals and the environment, Tours, France, 17.-19. Dezember 2007: 18Literaturverzeichnis 159.

WILLEMS G., M. DISPAS, O. DENIS, M. HALLIN, C. SUETENS, B. GORDTS, M. STRUELENS u. P. BUTAYE (2007b)

Prevalence of MRSA in pigs in Belgium

in: Proceedings of the 2nd symposium on antimicrobial resistance in animals. and the environment, Tours, France, 17.-19. Dezember 2007: 19.

WULF, M. A. VAN NES, A. EIKELENBOOM-BOSKAMP, C. KLAASSEN, A. VOSS (2008): Difference in carriage of MRSA in organic and regular pig farmers. Proceedings of the 20th IPVS Congress, Durban, South Africa, 162.

7. Veröffentlichung zum Projekt

 Veröffentlichung im Rahmen der Wissenschaftstagung ökologischer Landbau 2011 in Gießen

Vergleichende Querschnittsuntersuchungen zum Vorkommen von MRSA (Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus*) in ökologisch wirtschaftenden und konventionell wirtschaftenden Schweinebeständen in Deutschland

Ulrike Heine¹, Hendrik Sommer², Diana Meemken¹, Christina Werner², Albert Sundrum², Thomas Blaha¹

Keywords: MRSA, Schwein, ökologische Haltungssysteme

Occurrence of MRSA in organic pig herds in comparison to conventional pig herds

Occurrence of MRSA was assessed on 42 organic and 88 conventional pig herds in different regions of Germany by taking dust samples and nasal swabs. The number of nasal swabs was adapted to the herd size so that a MRSA-prevalence of 5% could be detected. All samples were selectively enriched and cultured on MRSA-selective chromagar. All cultured isolates were confirmed by PCR. In addition, the spa-types were identified. The results of this cross-sectional study showed that 11 of the 42 (26%) examined organic pig herds were MRSA-positive, whereas 92% of the conventional pig herds were identified as MRSA-positive. In both husbandry systems, similar spa-types (t011, t034) were identified, which are associated with the MRSA ST398. To find out the specific risk-factors for the occurrence of MRSA in pig herds questionnaires were used in both husbandry systems and will be evaluated in the second part of this ongoing study.

Einleitung und Zielsetzung

Methicillin-resistente Staphylococcus aureus-Stämme (MRSA) sind seit den 60er Jahren als Erreger nosokomialer Infektionen, als sogenannte "Krankenhaus-Keime" (hospitalacquired, haMRSA) bekannt. Mittlerweile treten auch zunehmend Infektionen beim Menschen außerhalb des Krankenhauses (community-aquired, caMRSA) auf. Beim Tier wurden vor allem MRSA-Typen des Menschen als Infektionserreger in Kleintier- und Pferdekliniken nachgewiesen. Seit einigen Jahren wird über die Verbreitung eines spezifischen MRSA-Typs, des Multilocus Sequence Typing (MLST) Typs MRSA ST398, in Nutztierbeständen berichtet (Voss et al., 2005; van Duijkeren 2008). Hierbei handelt es sich um den sogenannten livestock-associated MRSA (laMRSA), der als meist symptomloser Besiedler des Nasen-Rachenraums bei Schweinen, aber auch bei Rindern und Nutzgeflügel nachgewiesen wurde. Bisher liegen nur wenige Erkenntnisse zur Epidemiologie von laMRSA vor, so dass die Ableitung gezielter Präventivmaßnahmen im Sinne des Verbraucherschutzes nur eingeschränkt möglich ist. Aktuelle Studien in Deutschland deuten sowohl auf einen hohen Verbreitungsgrad in der Schweinepopulation konventioneller Betriebe, als auch auf eine gehäufte Nachweisrate bei Menschen mit direktem Kontakt zu Schweinen hin (Meemken et al., 2008). Dies unterstreicht die zoonotische Komponente von laMRSA ST398 innerhalb des MRSA-Komplexes. Über den

¹ Außenstelle für Epidemiologie, Tierärztlich Hochschule Hannover, Büscheler Str. 9, D - 49456 Bakum, Deutschland, thomas.blaha@tiho-hannover.de

² Universität Kassel, Fachgebiet Tierernährung / Tiergesundheit, Nordbahnhofstr. 1a, D - 37213 Witzenhausen, sundrum@uni-kassel.de

Verbreitungsgrad von MRSA in Tierbeständen der ökologischen Landwirtschaft ist bislang wenig bekannt. Daher war es Ziel dieses Forschungsvorhabens, gefördert durch das Bundesprogramm ökologischer Landbau (BÖL) des BMELV, in Koordination mit dem EH-Verbundvorhaben zur MRSA-Problematik in konventionellen Nutztierbeständen der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) des BMELV, das Vorkommen von MRSA in ökologisch bewirtschafteten Schweinebeständen im Vergleich zur konventionellen Schweinehaltung zu untersuchen.

Methoden

Zwischen Juni 2009 und August 2010 wurden 42 ökologisch wirtschaftende und 88 Schweinebestände konventionell wirtschaftende unterschiedlicher (Ferkelerzeuger und Mastbestände) im gesamten Bundesgebiet auf das Vorkommen von MRSA untersucht. In beiden Haltungssystemen wurden pro Bestand an fünf Lokalisationen (á 500cm²) Staubproben durch Einfegen mit autoklavierten Pinseln entnommen. Um eine Abschätzung der Intra-Herdenprävalenz von bis zu 5% mit einer 95%igen Sicherheit vornehmen zu können, wurden in den konventionellen Beständen Nasenabstriche von 60 Schweinen aller Altersklassen entnommen. Die ökologisch wirtschaftenden Beständen wurden in einem ersten Schritt zunächst mit Nasenabstrichen pro Bestand beprobt. Dies ermöglichte eine Schätzung der MRSA-Intraherdenprävalenz von ca. 20% mit einer 90%igen Sicherheit. In einem zweiten Schritt wurden die zuvor als MRSA-negativ identifizierten Bestände erneut anhand einer der Bestandsgröße entsprechenden Stichprobe (im ieweiligen Durchschnitt Nasenabstriche) untersucht. Dies ließ ebenfalls eine Abschätzung der Intraherdenprävalenz von 5% mit 95%iger Sicherheit zu. Durch den zweiten Schritt wurde die Vergleichbarkeit der Ergebnisse in den zwei unterschiedlichen Haltungssystemen sichergestellt. Die Staubproben und die Nasenabstriche (in Poolproben á 5 Nasentupfer) wurden analog der EU-Baseline Studie zum "Vorkommen von MRSA in konventionellen Zuchtschweinebeständen (Entscheidung 2008/55/EG)" mittels Anreicherungsverfahrens untersucht. Anschließend erfolgten Speziesdifferenzierungen und eine molekularbiologische Bestätigung der kulturell identifizierten MRSA-Isolate an der Außenstelle für Epidemiologie. Weiterhin wurde vom BfR in Berlin die molekularbiologische Subtypisierung aller MRSA-Isolate (spa-Typen) mittels PCR vorgenommen.

Ergebnisse

Von den 42 untersuchten ökologisch wirtschaftenden Schweinebeständen waren 26% (11/42) MRSA-positiv (d.h. mind. eine MRSA-positive Probe). Unter den 11 MRSA-positiven ökologisch wirtschaftenden Beständen befanden sich zwei Bestände, die erst im zweiten Schritt mit einer höheren Stichprobe von bis zu 55 Nasenabstrichen als MRSA-positiv erkannt werden konnten. Damit lag die Intraherdenprävalenz in diesen Beständen unter 20%.

Von den untersuchten konventionellen Beständen konnten 78% (69/88) anhand der Staubprobenuntersuchungen und 92% (24/26) der Bestände anhand der 60 Nasenabstriche als MRSA-positiv identifiziert werden. In Tabelle 1 werden die Untersuchungsergebnisse der Staubproben und der Nasenabstriche für ökologisch und konventionell wirtschaftende Schweinebestände vergleichend dargestellt.

Tabelle 1: Vergleich des Vorkommens von MRSA in konventionellen und ökologisch wirtschaftenden Schweinebeständen bei unterschiedlichen Probenarten und Stichprobengrößen

Probenart (Anzahl Proben pro	Anteil MRSA-positiv (Anzahl positiver Bestände/Anzahl untersuchter Bestände)				
Bestand)	Konventionell wirtschaftende Bestände	Ökologisch wirtschaftende Bestände			
Staubprobe	78%	12%			
(5)	(69/88)	(5/42)			
Nasenabstrich (10)	nicht untersucht	21% (9/42)			
Nasenabstrich	92%	26%			
(55-60)	(24/26)	(11/42)			

Bei der anschließenden Subtypisierung aller MRSA-Isolate aus beiden Haltungssystemen wurden jeweils die gleichen spa-Typen (t011 und t034) identifiziert, welche mit dem MLST Typ ST398 assoziiert sind.

Diskussion

In ökologisch wirtschaftenden Schweinebeständen ist das Vorkommen von MRSA sowohl im Stallstaub als auch in Nasenabstrichen erheblich geringer als in konventionell wirtschaftenden Schweinebeständen. Die nachgewiesene hohe MRSA-Prävalenz in konventionell wirtschaftenden Schweinebeständen deutschen. kann vergleichbaren niederländischen Studien bestätigt werden (de Neeling et al., 2007). Als aussagekräftigste Untersuchungsmethode stellt sich die Entnahme von 55 bis 60 Nasentupfern dar. Die Wahl einer Stichprobengröße von 10 Nasenabstrichen, welche bezüglich Arbeitsaufwand und Untersuchungskosten weitaus geringer ist, bietet jedoch bereits die Möglichkeit einer groben Abschätzung des MRSA-Status schweinehaltenden meisten Fällen eine Beständen. da den MRSA-Intraherdenprävalenz von über 20% ermittelt wurde.

Die Ursachenforschung für das geringere Vorkommen von MRSA in ökologisch wirtschaftenden Schweinebeständen muss so vielschichtig angelegt werden, wie die Aspekte, die die ökologische von der konventionellen Schweinehaltung unterscheiden: Die geringere Besatzdichte, der eingeschränkte Tierverkehr zwischen ökologisch wirtschaftenden und konventionell wirtschaftenden Beständen, der restriktive Antibiotika-Einsatz und abweichende Haltungsformen (Einstreu, Auslauf) Einflussfaktoren in Betracht gezogen werden. Da in den ökologisch wirtschaftenden die gleichen spa-Typen wie in den konventionell wirtschaftenden Bestände nachgewiesen wurden, ist davon auszugehen, dass es sich bei beiden um ein und das selbe Phänomen eines sich in der Nutztierpopulation beständig ausbreitenden MRSA-Klons handelt, den IaMRSA ST398.

Schlussfolgerungen

Im Vergleich mit den Ergebnissen des EH-Verbundvorhabens des BMELV zur MRSA-Problematik in Nutztierbeständen, konnte in der deutschlandweiten Querschnittsstudie des BÖL ein deutlich geringeres Vorkommen von MRSA in den ökologisch wirtschaftenden Beständen, sowohl im Staub als auch in Nasenabstrichen, festgestellt werden. Es gilt nun, anhand der noch auszuwertenden Fragebögen und den anschließenden Longitudinalstudien, den möglichen Ursachen für diesen Unterschied nachzugehen.

Danksagung

Die Förderung des Vorhabens erfolgt aus Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) über das Bundesprogramm ökologischer Landbau (BÖL). Die Förderung des vergleichend dargestellten EH-Verbundvorhabens zur MRSA-Problematik in Nutztierbeständen erfolgte aus Mitteln des Entscheidungshilfebedarfs (EH) der Bundesanstalt für Lebensmittelsicherheit und Ernährung (BLE) des BMELV.

Literatur

Voss A, Loeffen F, Bakker J, Klaassen C, Wulf, M (2005): Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in pig farming. Emerg Infect Dis 11: 1965–1966

Van Duijkeren, E.; Ikawaty, R; Broekhuizen-Stins, MJ; Jansen, MD; Spalburg, EC; De Neeling, AJ; Allart, JG; Van Nes, A; Wagenaar, JA; Fluit, AC (2008): Transmission of Methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains between different kinds of pig farms. Vet Microbiol 126 (4): 383-389

Meemken, D.; Cuny, C.; Witte, W.; Eichler, U.; Staudt, R.; Blaha, T. (2008): Zum Vorkommen von MRSA bei Schweinen und bei Menschen mit beruflicher Exposition zum Schwein - Erste Ergebnisse einer Studie in Nordwestdeutschland. p. 132-139. In: Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 115, 4.

De Neeling, A; van den Broeck, M; Spalburg, E; van Sautenverheuvel, M; Dam-Deisz, W; Boshuizen, H; van Giessen, A.; van Juijkeren, E; Huijsdens, X (2007): High prevalence of Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in pigs. Vet Microbiol 122: 366-372

Online-Dokumente

EC (2001): Europäisches Regieren – ein Weissbuch. http://europa.eu.int/eur lex/lex/LexUriServ/site/de/com/2001/com2001_0428de01.pdf, (Abruf 19.06.2006).

Anlage 1: Fragebogen

MRSA-Ökoprojekt

\		d - = 14 -							
Verbands	zugenorig	Keit:							
Bestands	Bestandstyp: Ferkelerzeuger Ferkelaufzucht Mastbestand								
			aus eigener Aufz aus nur einer He						
			aus nur einer He aus mehreren (trennte Haltung)				
			aus mehreren (
Gesamtka	apazität:								
<u>Tierhaltu</u>	ng:								
Aufstallung		Deckzentrum	Wartestall	Abferkelstall	Ferkelaufzucht	Mast			
Baujahr der S	ställe								
Inbetriebnahn	ne (Jahr)								
Anzahl der St	älle								
Tierplätze/Sta	ıll								
Tiere/Bucht									
Belegdichte (gering/mittel/hoch)		□g □m □h	□g □m □h	□g □m □h	□g □m □h	□g □m □h			
Kontinuierliche Belegung?		☐ ja ☐nein	☐ ja ☐nein	☐ ja ☐nein	☐ ja ☐nein	☐ ja ☐ nein			
	Abteil	☐ ja ☐nein	☐ ja ☐nein	☐ ja ☐nein	☐ ja ☐nein	☐ ja ☐ nein			
Rein-Raus?	Stall	☐ ja ☐ nein	☐ ja ☐ nein	☐ ja ☐nein	☐ ja ☐ nein	☐ ja ☐ nein			
	Bestand	☐ ja ☐ nein	☐ ja ☐ nein	☐ ja ☐ nein	☐ ja ☐ nein	☐ ja ☐ nein			
Auslauf (Größe, Bodenbescha	uffenheit)								
Böden		Deckzentrum	Wartestall	Abferkelstall	Ferkelaufzucht	Mast			
Bis 50% Spal	tenboden	□ ja □ nein	☐ ja ☐nein	☐ ja ☐ nein	☐ ja ☐ nein	☐ ja ☐nein			
Planbefestigt									
Zustand (gut/mäßig/schlech		\square g \square m \square s	\Box g \Box m \Box s	\Box g \Box m \Box s	\Box g \Box m \Box s	\Box g \Box m \Box s			
Sauberkeit (gut/mäßig/schlecht)		\square g \square m \square s	\square g \square m \square s	\Box g \Box m \Box s	\Box g \Box m \Box s	\Box g \Box m \Box s			
Material									
Kot- und Harr Liegebereich getrennt?		□ ja □ nein	□ ja □ nein	□ ja □ nein	□ ja □ nein	□ ja □nein			
Einstreu		Deckzentrum	Wartestall	Abferkelstall	Ferkelaufzucht	Mast			

		0 "					
		Sonstiges					
Herkun	ıft (eig	en/fremd)	☐ eigen ☐ fremd	☐ eigen ☐ fremd	eigen fremd	eigen fremd	eigen fremd
Lageru	ng		\square innen \square außen				
Gülle/I	Mist/J	auche	Deckzentrum	Wartestall	Abferkelstall	Ferkelaufzucht	Mast
Logoru		innen					
Lageru		außen					
Lager-		betonierte Platt					
stätten		Behälter- Lagune					
Entlee-		nach der Ausstallung					
rung		während der Haltung					
Fütter		riaiturig	Deckzentrum	Wartestall	Abferkelstall	Ferkelaufzucht	Mast
rationie	ert/ad l	ibitum	☐ rat. ☐ ad lib.				
Trogfüt	tterunç	9	☐ trocken ☐ flüssig	trocken flüssig	trocken flüssig	trocken flüssig	trocken flüssig
Automa	atenfü	tterung	☐ trocken ☐ flüssig				
Fütteru	ing 10	0% ökologisch?	☐ ja ☐ nein				
Herkun	ıft des	Futters?	☐ hofeigen ☐ fremd	hofeigen fremd hofeigen fremd		hofeigen fremd	hofeigen fremd
		Stroh					
Raufut	tor	Heu					
Naurut	ıcı	Silage					
		Grünfutter					
Herkun	ıft des	Raufutters?					
Wasse	rvers	orgung	Deckzentrum	Wartestall	Abferkelstall	Ferkelaufzucht	Mast
Stadtw	asser/	Brunnen	Stadt Brunnen	Stadt Brunnen	Stadt Brunnen	Stadt Brunnen	Stadt Brunnen
Unters		gsergebnisse: nde?					
		Nippeltränken					
Art der Tränke		Napftränken					
		Trog					
Reinig	ung		Deckzentrum	Wartestall	Abferkelstall	Ferkelaufzucht	Mast
Buchte (regelmäl		Iten gentlich/nie)	rglm gel nie	rglm gel nie	rglm gel nie	□ rglm □ gel □ nie	rgIm gel nie
Rampe	en/Trei	bwege	□rgIm □gel □nie	□rgIm □ gel □ nie	□rgIm □ gel □ nie	□rglm □ gel □ nie	□ rgIm □ gel □ nie
Wände	e/Deck	en	rglm gel nie	rglm gel nie	□rglm □ gel □ nie	□rglm □ gel □ nie	☐rglm ☐ gel ☐ nie
		druckreiniger oder kalt?)					
Wie?	,	serschlauch					

	Besenrein										
Einwei	ichen?	□ja	nein	□ja [nein	□ja	nein	□ja	a 🗌 nein	□ ja	nein
	gt Reinigungsnebel in		nein		nein	□ja	nein	ja		□ja	nein
	luft anderer Abteile? en Sauen vor			<u> </u>		<u></u>		,			
Umsta	allung schen/geduscht?										
	fektion	De	ckzentrum	Wa	artestall	А	bferkelstall	F	erkelaufzucht		Mast
Durch	führung	rglm	rglm gel nie rglm gel		gel nie	rglm	gel 🗆 nie	☐ rg	ylm gel nie	rglr	m gel nie
Abtroc	knung nach Reinigun	□j	a 🗌 nein	□ja	nein		ja 🗌 nein]ja □ nein		ja 🗌 nein
Einwir	kzeit										
Mittel	(Wirkstoffe)										
Schäd	llingsbefall	De	eckzentrum	Wa	artestall	А	bferkelstall	F	erkelaufzucht		Mast
	n/Mäuse g/mittel/hoch)	□д	□m □h	□g □]m □h	□g	□m □h	□g	ı □m □h	□д	□m □h
Fliege	n		g 🗆 m 🗆	□g □]m □h	□g	□m □h	□g	ı □m □h	□g	□m □h
Ektopa	arasitenbefall (Milben)		g 🗆 m 🗆	□g □]m □h	□g	□m □h	□g	∣ □m □h	□д	□m □h
Bekän	npfung	☐ rglm	☐ gel ☐ nie	☐ rglm ☐	gel \square nie	rglm	gel 🗆 nie	□rg	ylm gel nie	rglr	m gel nie
Hygie	ne										
Wer h	at Zutritt?	Betriebsleiter			Mitar	beiter			Angehörige		
Wie of	t? (am Tag)	□ 1x □ 2x □ mehr			□ 1x □	2x 🗌	mehr		☐ 1x ☐ 2x ☐	mehr	
Kontal	kt zu anderen Tieren?	□ja	nein		□ja	nein	1]ja □ nein		
Wenn	ja, welche?										
	m Stall konsequent zkleidung genutzt?	□ja	nein								
	enstall/Kadaververwal Quarantänestallanden	□ja	nein	Desinfe	ektion vor e	inzelne	n Ställen?		□ ja □ nein		
Sonsti Schutz	ge zvorkehrungen?	_	zäunung der efeldesinfektio	ŭ	□ab	schließ	bare Türen		Stiefelreinig	gung	
Arbeits (zw. S	sablauf vorhanden?	□ja	nein								
	(Reihenfolge 1-5)	-	entrum	Wartesta	 all	Abferl	kelstall	Ferk	xelaufzucht	Mast	
Konta	kt Schwein/Schwein	De	ckzentrum	Wa	artestall	А	bferkelstall	F	erkelaufzucht		Mast
	erschiedenen Ställen	□ja	nein		nein	□ja	nein	já		□ja	nein
	erschiedenen Abteilen		nein		nein	□ ja	nein	□ ja		□ja	nein
	akt Schwein/andere			ј 🗀 ја		— ja		ەر ب		□ Ja	
		Rin	dor	Gefli	i a a l		Pferde	Г	Schafe/Ziege		
Betriel	e Tiere auf dem b?		ninchen	Hund				_	_) []	
		∟ĸar	inchen	Hund	i(e)	∟r	Katze(n)		sonstige	Π	
Kontal	kt zu	Wild?		□ja [nein			Vög	el?	□ja	nein
	Hunde und / oder n Zugang zu den	De	ckzentrum	Wa	artestall	А	bferkelstall	F	erkelaufzucht		Mast
Ställer		☐ ja	nein	□ja [nein	□ja	nein	□ja	a 🗆 nein	□ja	nein
Liege	n im Umkreis										
andere	e Tierbestände	☐ ja	nein								

`	reis von ca. 1	Schv	_	Freiland Mast					_
km) Ring			_	Geflügel	Pfer		☐ Schafe/Ziegen		sonstige
andere Einricht einem Umkreis	tungen in von ca. 1 km			☐ Schlachthof		_	peitungsbetrieb	∐Müllde	<u> </u>
		Klära	nlage	Krankenhaus	∟ Alte	nheim	Ackerflächen		Biogas
Behandlun	igen/impru	ingen			Art			Zei	tpunkt
	Sau								
Impfungen	Ferkel								
	Mastschwein								
Antiparasitäre	Behandlunge	n							
Umgang mit K (Separate Halt Euthanasie)	tung, Umgrup	pierung,							
Bestandsdate	en								
Mortalität (Jah	resdurchschn	itt)							
Mastdauer, Ma	astleistung								
Ferkel/ Sau un	nd Jahr								
Säugezeit in T	agen								
Ferkelsterblich	nkeit in%								
Wirkstoff			Abk.	Wirkstoff		Abk.	Wirkstoff		Abk.
Ampicillin			AMP	Erythromycin		ERY	Spiramycin		SPI
Amoxicillin			AMX	Florfenicol		FLO	Sulfonamide		SUL
Apramycin		APR	Flumequin		FMQ	Tetracycline (inkl. CTC,OTC		TET	
Cefquinon		CEQ	Gentamicin		GEN	Tilmicosin		TIL	
Ceftiofur			CEF	Kanamycin		KAN	Tylosin		TYL
Colistin			COL	Lincomycin		LIN	Tiamulin	TIA	
Enrofloxacin			ENR	Neomycin		NEO	Trimetoprim		TRI
Andere Fluorch	ninolone		FLU	Spektinomycin		SPC	Trimetoprim-Sulfo	namide	TSX

Anlage 2: Übersicht über die wichtigsten Eigenschaften der Untersuchungsbestände

Tabelle 29: Untersuchungsbetriebe Mast, Betriebe 1 bis 9

	M 1	M2	М 3	M 4	M 5	M 6	M 7	M 8	М 9
Bioverb and	Natur-land	Bioland	Natur-land	EU- ÖkoVO	Bioland	EU- ÖkoVO	Demet.	Bioland	Bioland
Mastplät ze	270	350	250	340	150	20	100	1000	80
Anzahl Ferkelzu lieferer	1	1	1	2	1	1	1	4	1
Outdoor / Indoor	Indoor	Indoor	Indoor	Indoor	Indoor	Indoor	Indoor	Indoor	Indoor
Auslauf Ja / Nein	Ja	Ja	Ja	Nein	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja

Tabelle 30: Untersuchungsbetriebe Mast, Betriebe 10 bis 18

	M 10	M 11	M 12	M 13	M 14	M 15	M 16	M 17	M 18
Bioverband	Natur- land	Natur- land	EU- ÖkoVO	Natur- land	Natur- land	Natur- land	Natur- land	EU- ÖkoVO	EU- ÖkoVO
Mastplätze	270	840	700	450	450	400	400	1000	1200
Anzahl Ferkelzulieferer	1	1	1	3	3	1	1	1	1
Outdoor Indoor	Indoor	Indoor	Indoor	Indoor	Indoor	Indoor	Indoor	Indoor	Indoor
Auslauf Ja Nein	Ja	Ja	Nein	Ja	Ja	Nein	Ja	Ja	Ja

Tabelle 31: Untersuchungsbetriebe Ferkelerzeuger / Zucht, Betriebe 1 bis 6

	Z 1	Z 2	Z 3	Z 4	Z 5	Z 6
Bioverband	Bioland	Bioland	Bioland	Biopark	Bioland	Naturland
Sauenplätze	25	16	300	750	65	170
Aufzuchtplätze	40	40	300	2800	320	480
Indoor / Outdoor	Indoor	Indoor	Outdoor	Outdoor	Indoor / Outdoor	Indoor
Auslauf Ja / Nein	Ja	Ja	-	-	Ja	Ja
Gruppensäugen Ja / Nein	Nein	Ja	Nein	Nein	Nein	Nein

Tabelle 32: Untersuchungsbetriebe Ferkelerzeuger / Zucht, Betriebe 7 bis 12

	Z 7	Z 8	Z 9	Z 10	Z 11	Z 12
Bioverband	Bioland, Naturland	Bioland	Naturland	EU- ÖkoVO	Naturland	EU-ÖkoVO
Sauenplätze	28	90	56	350	200	27
Aufzuchtplätze	118	300	180	1500	800	90
Indoor /Outdoor	Indoor	Indoor	Indoor	Outdoor	Indoor	Indoor
Auslauf Ja / Nein	Ja	Ja	Nein	-	Ja	Ja
Gruppensäugen Ja / Nein	Nein	Ja	Nein	Nein	Ja	Nein

Tabelle 33: Untersuchungsbetriebe geschlossenes System, Betriebe 1 bis 6

	GS 1	GS 2	GS 3	GS 4	GS 5	GS 6
Bioverband	Naturland	Bioland	Bioland	Bioland	Bioland, Naturland	Bioland
Sauenplätze	50	50	30	40	80	40
Mastplätze	290	90	120	150	500	200
Indoor / Outdoor	Indoor	Outdoor	Indoor	Indoor	Indoor	Indoor
Auslauf Ja / Nein	Ja	-	Nur Wartestall	Ja	Ja	Ja
Gruppensäugen Ja / Nein	Ja	Ja	Nein	Nein	Nein	Ja

Tabelle 34: Untersuchungsbetriebe geschlossenes System, Betriebe 7 bis 12

	GS 7	GS 8	GS 9	GS 10	GS 11	GS 12
Bioverband	Gäa	Naturland	Bioland	Naturland	Gäa	Gäa
Sauenplätze	85	100	30	230	16	40
Mastplätze	800	100	180	1900	180	380
Indoor / Outdoor	Indoor	Indoor	Indoor	Indoor	Indoor	Indoor
Auslauf Ja / Nein	Ja	Ja	Ja	Nein	Ja	Ja
Gruppensäugen Ja / Nein	Nein	Nein	Nein	Nein	Nein	Nein

Anlage 3: Bei der Probennahme verwendetes Material (Querschnitts- und Longitudinalstudie)

Tabelle 35: Material Querschnittsstudie (Phase 1)

Material	Hersteller
Staubpinsel	GO/ON Lasurpinsel, 9682205, Handelsgesellschaft für Baustoffe GmbH &
Statophiser	Co. KG, Lohne
Staubröhrchen	Universalprobengefäß mit Löffel, PP 12ml, braun, steril, Nr. 080026004
Statoromenen	nerbe plus GmbH, Winsen-Luhe
Nasentupfer	Amies Agar Gel Oxoid Transport Swabs, REF.: TS0001A, Compan Italia
rvasentupiei	S.p.A. I-25125 Bresica
Latex-Handschuhe	NOBA Verbandmittel Danz GmbH u. Co. KG, Wetter
Überziehstiefel	PE Stiefelüberzug, HELE GmbH; Heilbronn

Tabelle 36: Material Longitudinalstudie (Phase 2)

Material	Hersteller					
Ohrmarken	Primaflex Ohrmarken (Größe 0), 006-002, Caisley International GmbH					
Ollimarken	Bochold					
Ohrmarkenzange	Primaflex Ohrmarkenzange 006-056, Caisley International GmbH					
Ollimarkenzange	Bochold					
Sockentupfer	PP-16-Schuhschutz, weiß, aus PP-Fließstoff; Höhe: 16cm, Größe: 38					
Sockentupier	0104805, finnimport GmbH, Hamburg					
Transportbeutel	Stomacher lab system, BA 6041/CLR closure bags, Seward Ltd., Wes					
Transportocuter	Sussex					
Staubpinsel	GO/ON Lasurpinsel, 9682205, Handelsgesellschaft für Baustoffe GmbH					
Statophiser	& co. KG, Lohne					
Staubröhrchen	Universalprobengefäß mit Löffel, PP 12ml, braun, steril, Nr					
Stationenen	080026004, nerbe plus GmbH, Winsen-Luhe					
Nasentupfer	Amies Agar Gel Oxoid Transport Swabs, REF.: TS0001A, Compar					
reasentuprer	Italia S.p.A. I-25125 Bresica					
Latex-Handschuhe	NOBA Verbandmittel Danz GmbH u. Co. KG, Wetter					
Überziehstiefel	PE Stiefelüberzug, HELE GmbH; Heilbronn					

Anlage 4: Material zur kulturellen und biochemischen Untersuchung der Nasentupfer- und Umgebungsproben

• Kulturelle Untersuchung

Geräte

Analysewaage BP 610, Fa. Sartorius, Göttingen

Brutschrank Modell BM 800, +36°C, Memmert, Schwabach Einkanalpipette Eppendorf Reference autoclavable, Eppendorf

AG, Hamburg

Laborkühlschrank FKS 3600, +6°C, Fa. Liebherr

Magnetrührer mit Heizung IKAMAG RCT, Staufen

Pipettenspitzen Ultratip 686295, greiner bio-one, Frickenhausen

Reaktionsgefäße Rotilabo EA84.1, Carl Roth GmbH & Co. KG,

Karlsruhe

Rondoflame, Fa. Tecnomara/ INTEGRA

Biosciences GmbH, Fernwald

Schüttler Vortexer, VWR International, Darmstadt

VF2, Janke & Kunkel IKA-Labortechnik, Staufen

Chemikalien

Aqua dest. Eigene Herstellung

Aztreonam Nr. A 6848, 50 mg, Fa. Sigma, Taufkirchen

Bacillol AF Bode Chemie, Hamburg

Bromphenolblau-Natriumsalz Nr. 1.11746, Fa. Merck, Darmstadt

Cefoxitin C 4786, 250mg, Fa. Sigma, Taufkirchen

Cryobank Nr. 291703, 2ml, Mast Diagnostika

Laboratoriumspräparate GmbH, Reinfeld

Desinfektionsmittel FL-des GA forte, Desintec/ AGRAVIS Raiffeisen

NaCl Nr. 1.06404, Fa. Merck, Darmstadt

TE-Puffer Eigene Herstellung

Tween 20 P 1379, Fa. Sigma, Taufkirchen

Nährmedien

CHROMagar MRSA Fertigplatte Nr. 201402, Fa. Mast Diagnostika

Laboratoriumspräparate GmbH, Reinfeld

Columbia Blutagar Fa. Oxoid, Wesel

Müller-Hinton-Bouillon-Pulver Nr.cm0405 B, Fa. Oxoid, Wesel

Trypton-Soja-Bouillon (CASO) Nr. 1.05459, Fa. Merck, Darmstadt

Transporttupfer in Amies Agar Gel Nr. TS 0001 A, steril, Fa. Oxoid, Wesel

• Biochemische Bestätigungsreaktionen

Reagenzien

Katalase H_2O_2 aus eigener Herstellung

Oxidase Reagent REF 55635, Fa. bioMérieux,

Nürtingen

Koagulase Microbiology Bactident Coagulase, Fa. Merck,

Darmstadt

Anlage 5: Material für die molekularbiologische Diagnostik

Geräte

Elektrophorese-Kammer und Trafo Sub Cell Modell 96, Bio-Rad Laboratories

GmbH, München

Fotokammer mit UV-Licht Model Light Cabinet, Biotec-Fischer GmbH,

Reiskirchen

Gefrierschrank Modell HFU 486 Basic, -72°C, Kendro,

Langenselbold

Thermocycler Mastercycler ep Gradient S, Eppendorf AG,

Hamburg

Thermomixer Thermomixer comfort, Eppendorf AG, Hamburg

Zentrifuge Modell 5424, Eppendorf AG, Hamburg

Chemikalien

Agarose Macro-Abgarose AG-0400/b, ABgene Thermo

Scientific, Hamburg

AG, Münster

DNA Ladder Nr. 11062590001, DNA-Molekular Weight

Marker VI, 0.15 - 2.1kbp, Fa. Roche Diagnostica,

Mannheim

EDTA Titriplex III, Nr. 1.08418, Fa. Merck, Darmstadt

Ethidiumbromid Nr. 1.11608.0030, 1%-ige Lösung, Fa. Merck,

Darmstadt

Gelladepuffer Eigene Herstellung

Glycerin Nr. 1.04094, Fa. Merck, Darmstadt

LiChrosolv-Wasser Nr. 1.15333, Fa. Merck, Darmstadt

Lysispuffer Eigene Herstellung

N Acetyl-L-Cystin A 7250, Fa. Sigma, Taufkirchen

Proteinase K P 2308, Fa. Sigma, Taufkirchen

TAE-Puffer Nr. 1.06023, 10-fach pH 8,3, Fa. Merck,

Darmstadt

PCR-Primer

mecA up1 und mecA up2 Meabion International AG, Planneg-Marinsried

Primer-Sequenzen: 5`-GGG ATC ATA GCG TCA TTA TTC-3`

5`-AAC GAT TGT GAC ACG ATA GCC-3`

Amplikongröße: 527 bp

nuc PCR1 und nuc PCR2 Mebabion Inernational AG, Planneg-Martinsried

Primer-Sequenzen: 5`-TCA GCA AAT GCA TCA CAA ACA-3`

5`-CGT AAA TGC ACT TGC TTC AGG-3`

Amplikongröße: 255 bp

Verwendete Software

Alpha Imager Biotec-Fischer GmbH, Reiskirchen