

Abschlussbericht zum Forschungsprojekt

„Demonstrationsvorhaben zur Sanierung lamRSA-positiver Schweinebestände zum Schutz der Landwirte, Mitarbeiter und Verbraucher“

Mai 2017



Forschungseinrichtung: Fachhochschule Südwestfalen
Fachbereich Agrarwirtschaft
Lübecker Ring 2
59494 Soest
Tel.-Nr.: 02921 / 378 3370
Fax-Nr.: 02921 / 378 3200
boelhauve.marc@fh-swf.de

Projektpartner: Universitätsklinikum Münster (UKM)
Institut für Hygiene
Robert-Koch-Str. 41
48149 Münster
Tel.-Nr.: 0251 / 83 52316
Fax-Nr.: 0251 / 83 55688
Alexander.Mellmann@ukmuenster.de

Klinikum Oldenburg
Institut für Krankenhaushygiene
Rahel-Straus-Straße 10
26133 Oldenburg
Tel.-Nr.: 0441 / 4032690
koeck.robin@klinikum-oldenburg.de

Projektverantwortliche: Prof. Dr. Marc Boelhauve (FH SWF, federführend)
Prof. Dr. Mellmann (UKM, Institut für Hygiene)
PD Dr. Robin Köck (Klinikum Oldenburg, Institut für Krankenhaushygiene)

Autoren:

Hannah Müller (FH SWF)

Marc Boelhauve (FH SWF)

Alexander Mellmann (UKM)

Robin Köck (Klinikum Oldenburg)

Iris Kobusch (FH SWF)

Gefördert durch:

Ministerium für Klimaschutz, Umwelt,
Landwirtschaft, Natur- und Verbraucherschutz
des Landes Nordrhein-Westfalen



Inhaltsverzeichnis

Verzeichnis der Tabellen	III
Verzeichnis der Abbildungen.....	IV
I. Literaturübersicht.....	1
II. Zielsetzung des Projekts	4
III. Material und Methoden	5
1. Rahmenbedingungen der Untersuchungen	5
2. Teilnehmende Betriebe	5
3. Demonstrationsvorhaben zur Dekontamination MRSA-positiver Schweinebetriebe	6
3.1 Auswahl des Versuchsabteils	6
3.2 Reinigung und Desinfektion	7
3.3 Versuchsaufbau	7
3.3.1 Erfassung des MRSA-Status im Versuchsabteil	7
3.3.2 Erfassung des MRSA-Status der neu eingestellten Tiere	10
4. Langzeituntersuchung des MRSA-Status von Mitarbeitern	10
5. Besiedlung von Mastschweinen mit MRSA im Strohhall.....	11
5.1 Auswahl der Versuchsabteile	11
5.2 Reinigung und Desinfektion	12
5.3 Erfassung des MRSA-Status der Tiere und der Umgebung	12
6. Probenahme und mikrobiologische Methoden	12
6.1 Nährmedien.....	13
6.2 Kultivierung von MRSA	14
6.3 Untersuchung der Umgebungsluft auf MRSA	14
6.4 <i>spa</i> -Typisierung der MRSA-Isolate	14
IV. Ergebnisse	15
1. MRSA-Status auf den im Projekt untersuchten schweinehaltenden Betrieben	15
2. Demonstrationsvorhaben zur Dekontamination MRSA-positiver Schweinebetriebe	15
2.1 Vorkommen von MRSA im Versuchsabteil.....	15
2.2 MRSA-Status des Versuchsabteils vor und nach Reinigung und Desinfektion.....	20
2.3 MRSA-Status der neu eingestellten Tiere und der Umgebung im Verlauf der Ferkelaufzucht	21
3. Langzeituntersuchung des MRSA-Status von Mitarbeitern	24
4. Besiedlung von Mastschweinen mit MRSA im Strohhall.....	26
4.1 Untersuchungen zur MRSA-Dynamik nach Reinigung und Desinfektion	26

4.2 Untersuchungen zur MRSA-Dynamik nach Reinigung ohne Desinfektion	30
V. Diskussion.....	35
1. Dekontamination MRSA-positiver Schweinebetriebe und Langzeituntersuchung der Mitarbeiter	35
2. Besiedlung von Mastschweinen mit MRSA im Strohstall.....	36
VI. Zusammenfassung.....	39
VII. Literaturverzeichnis.....	41

Verzeichnis der Tabellen

Tabelle 1: Festgelegte Probenahmeorte im Versuchsabteil	10
Tabelle 2: Probenahmeorte im zweiten Durchgang des Versuches zur Reinigung und Desinfektion mit MRSA-Status und <i>spa</i> -Typ	17
Tabelle 3: <i>spa</i> -Typen der eingestellten Ferkel in den drei verschiedenen Durchgängen	22
Tabelle 4: MRSA-Status der Mitarbeiter nach Stallaufenthalt ohne Tierkontakt	24
Tabelle 5: MRSA-Status der Mitarbeiter nach Stallaufenthalt mit Tierkontakt	25
Tabelle 6: Typisierte MRSA-Isolate der Mitarbeiter mit Zeitabständen zum nächsten Stallaufenthalt.	25
Tabelle 7: Einzeltierverfolgung mit Dokumentation des MRSA-Status über den Zeitraum der Mast in Variante 1 (Reinigung und Desinfektion)	28
Tabelle 8: MRSA-Status der Umgebung, des Strohs und der Luft während der Mastphase in Variante 1	29
Tabelle 9: MRSA-Status der Einzeltiere zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Mast in Variante 2 (Reinigung)	31
Tabelle 10: MRSA-Status der Umgebung, des Strohs und der Luft während der Mastphase in Variante 2	33
Tabelle 11: MRSA-positive Stellen nach Reinigung und Desinfektion des Versuchsabteils	35

Verzeichnis der Abbildungen

Abbildung 1: Übersicht über das Versuchsabteil	6
Abbildung 2: Schematische Darstellung der Probenahmeorte im unteren Teil des Versuchsabteils (unterhalb einer Höhe von ca. 2 m)	8
Abbildung 3: Schematische Darstellung der Probenahmeorte im oberen Teil des Versuchsabteils (ab einer Höhe von ca. 2 m)	9
Abbildung 4: Schematische Darstellung der Versuchsbuchten in den zwei Betriebsgebäuden	11
Abbildung 5: MRSA-Vorkommen in verschiedenen Bereichen des Versuchsabteils	16
Abbildung 6: Darstellung der Verwandtschaftsverhältnisse der verschiedenen nachgewiesenen spa- Typen	17
Abbildung 7: MRSA-Status des Versuchsabteils vor und nach Reinigung und Desinfektion (R&D).....	21
Abbildung 8: Anteil MRSA-positiver Schweine- und Umgebungsproben im Verlauf der Ferkelaufzucht	22
Abbildung 9: MRSA-Status der Luft vor und nach Reinigung und Desinfektion und zu verschiedenen Zeitpunkten in der Ferkelaufzucht	23
Abbildung 10: Besiedlung der Mastschweine im Verlauf der Mast und Vergleich des MRSA-Status des Strohs und der Umgebung (Variante 1: Reinigung und Desinfektion).....	27
Abbildung 11: MRSA-Status der Mastschweine, der Umgebung und des Strohs zu verschiedenen Zeitpunkten der Mast (Variante 2: Reinigung).....	31
Abbildung 12: Dekolonisierungsverlauf der Tiere und der Umgebung in den unterschiedlichen Varianten	34
Abbildung 13: Einzeltierverfolgung bei der Untersuchung des MRSA-Status im Strohstall	37

I. Literaturübersicht

Dass Schweine durch Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) kolonisiert sind, ist seit mehr als zehn Jahren bekannt und wurde erstmals in den Niederlanden und in Frankreich festgestellt [Voss et al. 2005; Armand-Leferve et al. 2005]. Hier wurde auch der Begriff „Livestock-associated“ (la) MRSA für diese epidemiologische Untergruppe von Nutztier-assoziierten MRSA geprägt [Wagenaar et al. 2009]. In einem europaweiten Survey wurde daraufhin das Vorkommen von MRSA in Schweinehaltungen in 24 EU und zwei Nicht-EU Staaten untersucht. Deutschland gehörte dabei zu den Ländern mit den höchsten Nachweisraten. Insgesamt waren 43,5% der 46 untersuchten Zuchtbetriebe (EU-Mittel 14%) und 41,3% der 155 untersuchten Produktionsbetriebe (EU-Mittel 26,9%) betroffen [EFSA 2009].

Bei den bei Schweinen nachgewiesenen MRSA-Isolaten dominierten europaweit solche des mittels Multilokus-Sequenztypisierung (MLST) definierten klonalen Komplexes CC398 (93% aller MRSA-Isolate). Mit MRSA CC398 assoziierte *S. aureus* Protein A-Gen-Sequenztypen (*spa*)-Typen sind t011, t034, t108, t571, t899 und andere [EFSA 2009]. Bei einer der ersten Prävalenzuntersuchung in NRW wurden zwischen April und November 2007 1600 Schweine in 40 schweinehaltende Betriebe in NRW und Niedersachsen mittels eines Nasenabstrichtupfers untersucht [Köck et al. 2009a]. Es zeigte sich eine MRSA-Prävalenz auf Betriebsebene von 70%, also deutlich über der Nachweisrate des EU-weiten „Baseline-Surveys“. Dies kann auf eine sensitivere Untersuchungsmethodik (Nasenabstriche vs. Staubproben) zurückgeführt werden. Eine Typisierung der dabei festgestellten MRSA zeigte die *spa*-Typen t011 (75%, n = 127), t034 (5,3%, n = 9), t108 (0,6%, n = 1), t1451 (3,6%, n = 6) und t2510 (15,4%, n = 26); alle zur klonalen Linien CC398 gehörend [Köck et al. 2009a].

Neben der MRSA-Problematik in Schweinebetrieben erlangte kürzlich bei Rindern der Nachweis von MRSA, welche ein neues Homolog des Methicillinresistenzgens *mecA*, genannt *mecC* (bzw. zunächst auch *mecALGA251*), besaßen besondere Aufmerksamkeit. Die Verbreitung von *mecC* ist vor allem deshalb relevant, da konventionelle PCR-basierte Verfahren zur mikrobiologischen Bestätigung von MRSA, dieses Genhomolog nicht erfassen [EFSA 2013]. Die *mecC*-positiven Isolate gehörten vor allem zur klonalen Linie CC130 [García-Álvarez et al. 2011]. Für Deutschland liegen bislang keine repräsentativen Untersuchungsergebnisse zum Vorkommen von *mecC*-positiven MRSA in Nutztieren vor.

Menschen mit Exposition gegenüber Schweinen (Landwirte, Veterinäre, Schlachthofmitarbeiter) kolonisieren sich sehr oft nasal mit MRSA CC398. In verschiedenen Studien wurde nachgewiesen, dass in Deutschland etwa 80% der Landwirte mit dem Erreger kolonisiert sind [Köck et al. 2014a]. Die Ergebnisse einer Studie zur Dauerhaftigkeit der MRSA-Besiedlung unter Landwirten in der Schweinehaltung in Nordrhein-Westfalen und Niedersachsen zeigen, dass die Mehrzahl (50%) der Landwirte persistent besiedelt sind, d.h.

auch bei längerer Abwesenheit aus dem Tierstall besteht die Kolonisation fort [Köck et al. 2012].

In den meisten Fällen sind die Landwirte durch MRSA CC398 nur nasal besiedelt ohne Symptome einer Infektion zu zeigen. Jedoch kann der Erreger alle typischen MRSA-Infektionen, wie sie auch bei „Krankenhaus-assoziierten“, „humanen“ MRSA-Stämmen vorkommen, auslösen. Hierzu gehören Pneumonien, Wundinfektionen und Sepsis [Köck et al. 2014a]. Dies geschieht primär bei Verletzungen der Hautbarriere (z.B. Schnittverletzung) oder bei medizinischen Eingriffen (Operation, Katheterisierung). Da der Großteil (>80%) aller *S. aureus*-Infektionen des Menschen „endogen“ entsteht [von Eiff et al. 2001], ist deshalb insbesondere der kolonisierte Landwirt infektionsgefährdet. Aus diesem Grund werden in der Humanmedizin präventive Dekolonisierungstherapien (mittels Mupirocin Nasensalbe) angeboten, welche durch antiseptische Dekontaminationstherapien begleitet werden. Diese haben das Ziel peri-interventionell (z.B. vor einer Operation) die Keimlast auf ein Niveau zu senken, dass endogene Infektionen aus dem nasalen Reservoir des Besiedelten unwahrscheinlicher werden [Köck et al. 2014b]. Zahlreiche Studien belegen die infektionspräventive Effektivität dieser Maßnahme (Review in [Köck et al. 2014b]).

Der Einfluss einer durch Kontakt zu Nutztieren bedingten MRSA-Besiedlung auf die Epidemiologie von MRSA in Krankenhäusern bzw. bei Infektionen des Menschen wurde in Deutschland erstmals durch im Rahmen des Präventionsnetzwerks „MRSA-net“ im Münsterland durchgeführte Untersuchungen deutlich. In einer Aufnahmeprävalenzuntersuchung 2006 wurde bei MRSA, die bei Patienten isoliert wurden, eine *spa*-Typisierung durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass insgesamt 17,1% der MRSA-positiven Patienten mit Stämmen besiedelt waren, deren *spa*-Typen auf die klonale Linie CC398 hindeuteten [Köck et al. 2009b].

In einer multi-zentrischen Studie zur Dynamik der klonalen Struktur von MRSA in Deutschland wurde nachgewiesen, dass der Anteil von MRSA CC398 an allen MRSA zwischen 2004 und 2011 signifikant von 0,3% auf 5,4% anstieg ($P < 0,0005$), wobei sehr hohe Anteile von MRSA CC398 vor allem in ländlichen Regionen in Nordwestdeutschland, die auch durch eine hohe Schweine-, Rinder- und Geflügelhaltungsdichte charakterisiert sind, gefunden wurden [Schaumburg et al. 2012]. Im Münsterland wurden im Rahmen des Projektes EurSafety Health-net (www.eursafety.eu) MRSA-Isolate ($n = 14036$) von Patienten aus 39 Krankenhäusern und aus 754 Arztpraxen gesammelt und *spa* typisiert [Köck et al. 2013]. „Nutztier-assoziierte *spa*-Typen“, insbesondere t011 (10%) und t034 (6%) waren hier insgesamt die dritt- und vierthäufigsten MRSA. Im Jahr 2012 machten MRSA CC398 einen Anteil von 29% an allen MRSA-Isolaten aus Screeninguntersuchungen (Nasen-/Rachenabstriche), aber auch einen Anteil von 8-14% in klinischen Untersuchungsmaterialien aus [Köck et al. 2013].

Zur Bedeutung von *mecC*-positiven MRSA für den Menschen ist wenig bekannt. In Dänemark repräsentierten *mecC*-positive MRSA 1,9% der von Menschen gewonnenen MRSA-Isolate in

2010 und 2,8% der Isolate aus 2011 [Petersen et al. 2013]. Bei einem Screening der Datenbanken des Universitätsklinikums Münster (die auch Daten aus den deutsch-niederländischen Kooperationsprojekten EurSafety Health-net und MRSA-net beinhalten) wurden insgesamt 16 MRSA-Isolate identifiziert, in denen *mecC* nachgewiesen wurde. Diese Isolate gehörten überwiegend zum *spa*-Typ t843, aber auch zu den Typen t978, t1535, t1773 und t7189 [Kriegeskorte et al. 2012].

Dies verdeutlicht, dass MRSA CC398 ein wichtiger Erreger von menschlichen (nosokomialen) Infektionen in Krankenhäusern ist; dies betrifft vor allem die Regionen NRWs in denen viele Menschen mit dem Erreger nasal besiedelt sind. Dekolonisierungen von Personen mit Bezug zur Nutztierhaltung sind bislang langfristig erfolglos verlaufen, da sich diese Personen erneut mit MRSA nasal besiedeln ließen, sofern in den Tierställen weiterhin MRSA in der Umgebung bzw. Tier nachweisbar waren [Lozano et al. 2011]. Die Sanierung bzw. Dekontaminierung von Nutztierbetrieben wurden bisher nur unzureichend durchgeführt. So wurde z.B. nur in Teilen eines Betriebes versucht, diesen von MRSA zu dekontaminieren [Pletinckx et al. 2013]. Dabei wurden die involvierten Personen nicht dekolonisiert. In anderen Studien zeigte sich, dass zwar die Personen saniert wurden, die Tiere hingegen weiterhin MRSA-Träger blieben und so zu Re-Besiedelungen führte [Lozano et al. 2011].

Eine weitere Quelle der Re-Besiedlung bzw. kontinuierlichen Auseinandersetzung mit MRSA stellen Vektoren in landwirtschaftlichen Betrieben dar. So können Ratten und auch Mäuse MRSA-Träger sein [van de Giessen et al. 2009]. Vor allem Ratten, deren Revier sich über mehrere Betriebe ausdehnen kann, sind als Vektoren von besonderer Bedeutung. Zudem können auch Fliegen Träger von Staphylokokken [Gupta et al. 2012] bzw. MRSA sein [Rahuma et al. 2005].

Um eine sinnvolle MRSA-Dekontamination in schweinehaltenden Betrieben vorzunehmen, wäre es zudem wichtig, die Zeitdauer der Vermehrungsfähigkeit von MRSA in verschiedenen Kompartimenten zu kennen. Die Kompartimente Gülle, Zulüftungen, Tränkwasser, Futterrohre wurden bisher nicht betrachtet bzw. keine Begrenzung der Vermehrungsfähigkeit von Staphylokokken bei üblicher landwirtschaftlicher Lagerung beobachtet [Graham et al. 2009]. Bis jetzt sind keine Einschränkungen von MRSA gegenüber Desinfektionswirkstoffen bekannt. Auch die im Tierstall häufig eingesetzten Desinfektionsmittel auf Peressigsäurebasis oder quartäre Ammoniumverbindungen sind voll wirksam [Campos et al. 2012]. Diese Ergebnisse sind nur (zur Einschränkung) bei gründlich gereinigten Oberflächen zutreffend.

In einer neueren Studie von Schmidthausen et al. (2015) wurde zwar eine MRSA-Eradikation in einem nordrhein-westfälischen Schweinebetrieb beschrieben, diese erfolgte aber durch Stallneubau bzw. -umbau und ist somit nicht praxistauglich für die über 9.000 schweinehaltende Betriebe in NRW. Zudem waren die Tiere nach zwei Tagen wieder MRSA besiedelt, sodass von einer unzureichenden Reinigung, Desinfektion oder Dekolonisation ausgegangen werden muss.

II. Zielsetzung des Projekts

Multiresistente Erreger werden seit vielen Jahren in der Humanmedizin und auch in tierhaltenden Betrieben nachgewiesen und rücken zunehmend in die Betrachtung bei Verbrauchern. In schweine-, wie auch rinder- und geflügelhaltenden Betrieben, ist das Vorkommen multiresistenter Erreger bekannt. So sind bis zu 80-85% der Schweinehalter nasal mit laMRSA besiedelt.

Um dem effektiv entgegenzuwirken, sollte eine MRSA-Dekontamination der Stallungen inklusive aller Gerätschaften erfolgen, damit sich neu einzustallende MRSA-negative Tiere nicht besiedeln lassen. Es sollten Rahmenbedingungen für eine nachhaltige und dauerhaft erfolgreiche Dekolonisation getroffen werden, in dem die Wiederbesiedlungsgefahr der laMRSA-negativen Tiere durch die Umgebung (Tiere, Menschen, Stall) reduziert wird. Dafür sollten sogenannte Hot-Spots identifiziert werden, in denen laMRSA vorrangig anzutreffen ist. In geeigneten Stallabteilen sollten anschließend mittels optimierter Durchführung der Reinigung und Desinfektion äußerst keimarme Umgebungsbedingungen präpariert werden, welche mit Proben aus der Umgebung und der Luft bestätigt werden sollten.

Anpassung des Projektziels auf Basis der Zwischenergebnisse

Es wurde in der ersten Projektlaufzeit kein Betrieb mit MRSA-negativen Aufzuchtieren identifiziert. Daher konnte die Möglichkeit diese negativen Tiere in zuvor MRSA-dekontaminierte Stallungen einzustallen, nicht umgesetzt werden. In diesem Zuge kam ein weiteres Arbeitspaket hinzu, dass die Untersuchung einer Dekolonisation von Mastschweinen in einem Strohstall einschloss. Hier sollte der Einfluss des Strohs als möglicher Dekolonisator bezüglich laMRSA untersucht werden.

Außerhalb der ursprünglichen Projektplanung wurde zusätzlich als dritter Untersuchungspunkt die Exposition von Mitarbeitern bezüglich laMRSA und der möglichen Kolonisation untersucht.

III. Material und Methoden

1. Rahmenbedingungen der Untersuchungen

Die Projektlaufzeit von 15 Monaten umfasste verschiedene Arbeitspakete. Zunächst wurde der MRSA-Status unterschiedlicher schweinehaltender Betriebe ermittelt. Hierfür wurden Tupferproben aus den Nasenvorhöfen der Landwirte und Mitarbeiter, Proben in der Umgebung und Abstriche aus den Rüsseln von Schweinen genommen und mikrobiologisch untersucht. Nach der Identifikation eines geeigneten Betriebes wurde die Stallumgebung auf das MRSA-Vorkommen untersucht und eine Dekontamination mittels Reinigung und Desinfektion nach praxistauglichem Standard durchgeführt. Die in das dekontaminierte Abteil eingestellten Tiere sowie die Stallumgebung wurden bis zur Ausstallung untersucht und der MRSA-Status festgestellt.

Während der Voruntersuchungen ergaben sich zwei weitere interessante Punkte, die innerhalb des Projektzeitraumes näher untersucht wurden. Zum einen wurde der MRSA-Status der Mitarbeiter, die in ständigem Stall- und Tierkontakt standen dokumentiert, zum anderen wurden Masttiere in einem Strohhall bis Mastende begleitet und die Besiedlung mit MRSA überprüft.

Die nachgewiesenen MRSA-Isolate wurden mittels *spa*-Typisierung vertiefend untersucht, um insbesondere bei den Untersuchungen der Mitarbeiter die nachgewiesenen MRSA von anderen, nicht laMRSA differenzieren zu können. Bei den Isolaten aus der Umgebung wurden jeweils repräsentative Isolate unterschiedlicher Lokalisationen ausgewählt, bei den MRSA-Isolaten der Mitarbeiter wurden alle Isolate typisiert.

2. Teilnehmende Betriebe

Die untersuchten Betriebe setzen sich aus bereits bekannten Projektbetrieben der FH Südwestfalen und interessierten Betrieben zusammen. Während der Projektlaufzeit wurden 18 konventionelle Betriebe genauer auf ihren MRSA-Status hin untersucht. Es handelte sich um unterschiedliche Betriebsformen, die den reinen Sauenhalter (1), die Ferkelaufzucht (4) oder die Mast (9) umfassten. Auch Kombinationen aus Sauenhalter/Ferkelaufzucht (1), Ferkelaufzucht/Mast (1) oder offene Systeme (2) waren vertreten.

Der Hauptversuch zur Dekontamination eines MRSA-positiven Schweinebetriebes fand auf einem konventionellen Betrieb mit geschlossenem System statt, auf dem die Ferkel geboren und aufgezogen werden und teilweise bis Mastende verbleiben. Der Betrieb wird von zwei Familien- und vier Fremdarbeitskräften bewirtschaftet und hat 790 Sauen-, 4.200 Ferkelaufzucht- und 1.300 Mastplätze. Die Ferkel werden in einem Zwei-Wochen-Rhythmus geboren und 24 Tage gesäugt. Die durchschnittliche Aufzuchtdauer liegt bei 50 Tagen.

Der im Projekt untersuchte Strohstall ist ein Mastbetrieb mit offenem System, in dem die Schweine auf Stroh gehalten werden. Besonders hierbei sind die freie Lüftung und das hohe Platzangebot mit 1,1-1,2 m² pro Tier. Die Schweine verbleiben ca. 16 Wochen bis Mastende auf dem Betrieb.

3. Demonstrationsvorhaben zur Dekontamination MRSA-positiver Schweinebetriebe

3.1 Auswahl des Versuchsabteils

Der komplette Versuch wurde in einer dreifachen Wiederholung durchgeführt. Für den Hauptversuch wurde ein Abteil in der Ferkelaufzucht ausgewählt. Dies ermöglichte eine gute Versuchsplanung und kalkulierbare Zeitabstände, in denen die Tiere im Versuchsabteil waren. Das Abteil hatte die Maße 16,5 x 8,8 x 2,7 m mit durchgehenden Plastikvollspaltenböden (Abbildung 1). Vom Kontrollgang gingen rechts und links jeweils fünf Buchten ab, in die im Schnitt ca. 40 Tiere mit einem Absetzgewicht von 6-8 kg eingestallt werden. In der Mitte der Bucht befanden sich jeweils Tröge einer Flüssigfütterungsanlage mit Sensor. Die Buchten waren mit acht Tränkenippeln und Beschäftigungsmaterial, das an den Trennwänden angebracht war, ausgestattet.

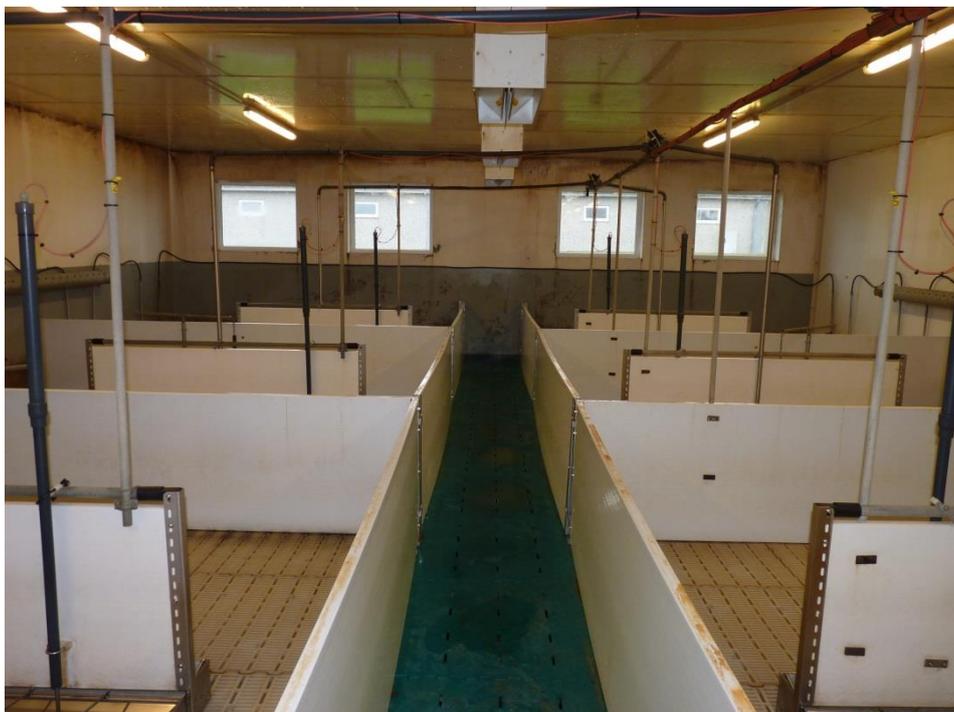


Abbildung 1: Übersicht über das Versuchsabteil

Geheizt wurde das Abteil durch zwei lange Heizungen, die rechts und links hinter den Buchten lagen. Die Zuluft wurde über sieben Schächte geregelt (Schlitzlüftung), die sich über dem Kontrollgang befanden. Die zwei Abluftschächte waren über den ersten beiden Buchten angebracht.

Die Ferkel wurden nach 24 Tagen Säugezeit eingestallt und verblieben dort ca. 50 Tage. Nach Ausstallung der Tiere stand das Abteil 2-5 Tage leer und wurde durch Betriebsmitarbeiter gereinigt und desinfiziert.

3.2 Reinigung und Desinfektion

Nach Ausstallung der Tiere wurde das Versuchsabteil gereinigt und desinfiziert. Diese Arbeitsschritte wurden von den Mitarbeitern des Betriebes nach betriebseigenem Schema durchgeführt und nicht speziell für das Projekt angepasst oder verändert.

Gereinigt wurde von zwei Mitarbeitern, die parallel mit zwei Hochdruckreinigern (HDR) gearbeitet haben. Der grobe Schmutz wurde direkt nach Ausstallung der Tiere entfernt, anschließend wurde mit dem HDR eingeweicht. Nach der Vorreinigung mit dem HDR, wurde das komplette Abteil inklusive Gang, Treibgeräten und Anfütterungsschalen eingeschäumt. Da der Reinigungsschaum (Wirkstoff Natriumhydroxid, Best Farm) von vorne nach hinten im Abteil aufgetragen und anschließend sofort die Reinigung stattfand, bestand keine festgelegte Einwirkzeit. Die Trocknung des Abteils erfolgte über Nacht für ca. 18 Stunden.

Die Desinfektion wurde von einem Mitarbeiter bis zu einer Höhe von ca. 2 m im kompletten Abteil aufgetragen. Die Trocknung der Schaumdesinfektion (Sorgene 5, Wirkstoff Peressigsäure, BASF) erfolgte über ein bis drei Tage.

3.3 Versuchsaufbau

3.3.1 Erfassung des MRSA-Status im Versuchsabteil

Die Probennahme erfolgte im kompletten Versuchsabteil, wobei bestimmte Buchten und Orte ausgewählt wurden, ohne die mit der Reinigung beauftragten Personen darüber zu informieren. Vorab wurden Bereiche benannt, die in für den Landwirt gut und schlecht zu reinigende Stellen eingeteilt wurden. Gut zu reinigende Stellen wurden hierbei als Orte definiert, die bei einer normalen Reinigung und Desinfektion ohne Umstände und offensichtlich zu erreichen sind. Schlecht zu reinigende Stellen umfassten Bereiche, die sich beispielsweise in Zwischenräumen oder unter Gegenständen befanden und nicht ohne weitere Maßnahmen zu erreichen sind. Die folgenden Abbildungen beschreiben das Versuchsabteil und die Probenahmeorte, wobei der untere (Abbildung 2) und obere Teil dargestellt sind.

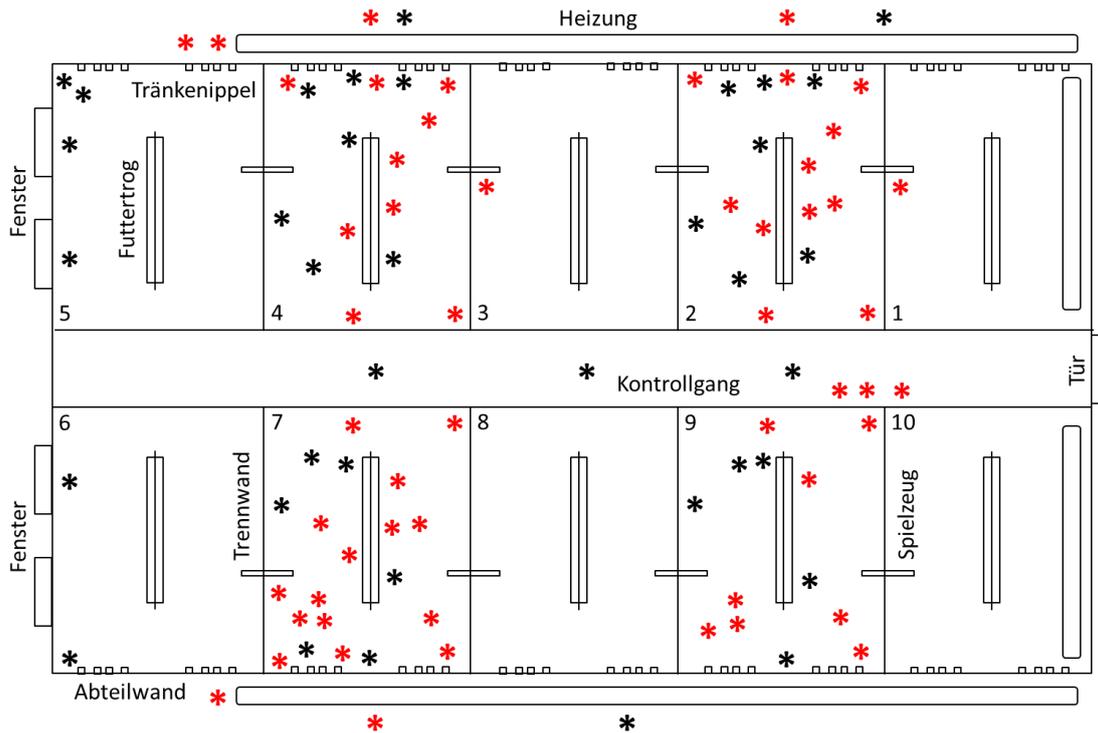


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Probenahmeorte im unteren Teil des Versuchsabteils (unterhalb einer Höhe von ca. 2 m)

Die Proben wurden in verschiedenen Bereichen des Stalls genommen. Die Probenahmeorte sind mit * markiert. Die schwarz hinterlegten * kennzeichnen die gut zu reinigenden Stellen, die rot hinterlegten die schlecht zu reinigenden Stellen.

Der untere Teil des Versuchsabteils umfasste alles unter einer Höhe von 2 m und die meisten Bereiche in Tierhöhe. Der obere Teil des Abteils deckte Bereiche, wie die Hauptleitung der Flüssigfütterung sowie die Zuluft und Abluft des Stalls ab (Abbildung 3).

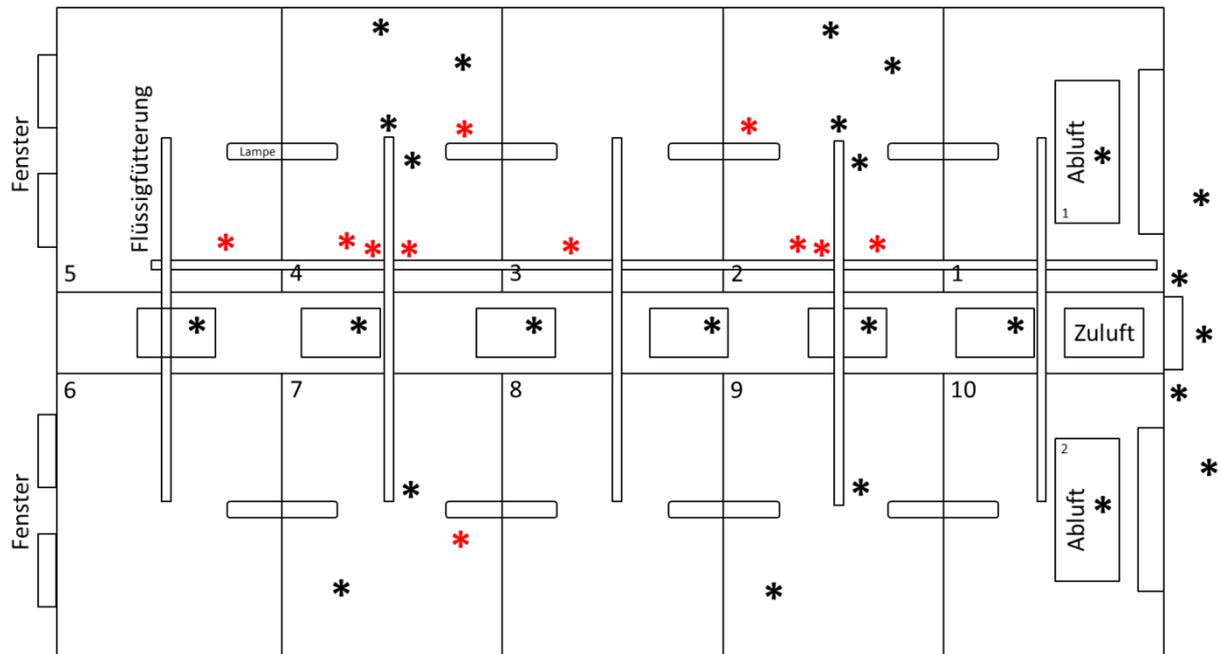


Abbildung 3: Schematische Darstellung der Probenahmeorte im oberen Teil des Versuchsabteils (ab einer Höhe von ca. 2 m)

Der MRSA-Status der Abteilerflächen wurde zunächst im ungereinigten Zustand nach Ausstallung der Ferkel erfasst. Nach der Reinigung und Desinfektion durch die Betriebsmitarbeiter wurden die gleichen Stellen erneut beprobt.

Weiterhin wurde untersucht, ob der tierassoziierte Keim größtenteils in Tierhöhe vorkommt. Die Orte der Probenahme mit der Anzahl der Wiederholungen sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1: Festgelegte Probenahmeorte im Versuchsabteil

Gut zu reinigende Stellen		Schlecht zu reinigende Stellen	
Ort	Anzahl Wiederholungen	Ort	Anzahl Wiederholungen
Boden	4	Hauptleitung Futter	2
Trennwand innen	4	zwischen Spalten	4
Abteilwände (Kunststoff/Beton)	4	Spaltenauflage (große Querstege)	4
Kontrollgang	3	Trogunterseite	4
Fenster	3	Halterung Fütterungsrohr (innen)	3
Heizung (lange Seiten)	3	hinter Futterleitung (Trog)	3
im Trog	4	hinter Wasserleitung	3
auf Tränkenippelleitung	3	Nippelzapfen	3
Abläufe Futter (senkrecht)	2	Trennwand Edelstahlkante	4
Abläufe Futter (waagrecht)	4	Trennwand Unterseite	4
Zuluft innen	6	Öffnung Heizung	3
Abluft innen	2	Heizungslöcher	3
Wand	3	Hinterseite Wasserleitung	3
Decke	4	Spielzeug Rohre unten	3
Seite Eingangstür	2	zwischen Kabeln (Fütterung)	3
Zentralgang Boden	3	Lampen	3
zwischen Spalten und Wand	2	Ventile Fütterung	3
Trennwand über Trog	4	Spaltenelement Außenkante	2
Ecken			
Abteilwände/Fensterwände	3	Spaltenelement unter den Spalten	2
		Spaltenelementauflage	2

Es wurden die Bereiche in Tierhöhe festgelegt, die direkten Kontakt mit den Schweinen haben (grau unterlegt).

3.3.2 Erfassung des MRSA-Status der neu eingestellten Tiere

Neben der Erfassung des MRSA-Status der Umgebung im Versuchsabteil vor und nach Reinigung und Desinfektion, wurden die neu eingestellten Tiere auf ihre MRSA-Besiedlung bzw. den MRSA-Besiedlungsverlauf untersucht. Pro Bucht wurden zwei Tiere mit Transpondern (MS Quick Transponder FDX, Firma MS Schippers) versehen, um eine Einzeltierverfolgung zu ermöglichen. Die Ferkel wurden bei Einstellung, eine Woche danach und nach sieben Wochen (Ausstallung) beprobt.

4. Langzeituntersuchung des MRSA-Status von Mitarbeitern

Während des Versuchszeitraums und außerhalb der Betriebsbesuche des Projektes wurden die Mitarbeiter, die regelmäßig in schweinehaltenden Betrieben unterwegs sind, auf ihren

MRSA-Status untersucht. Es wurden Tupfer der Firma VWR mit Amies-Flüssigkeit als Transportmedium verwendet. Die Beprobung erfolgte mit einem Abstrich der Nasenvorhöfe beider Nasenlöcher direkt vor dem Stallbesuch. Die Probe nach Stallbesuch wurde direkt danach oder höchstens nach einer Stunde genommen. Die Tupfer wurden anschließend zusammen im Labor bearbeitet und durch eine Anreicherung auf MRSA überprüft.

5. Besiedlung von Mastschweinen mit MRSA im Strohhall

5.1 Auswahl der Versuchsabteile

Der Versuch fand auf einem konventionellen Betrieb mit offenem System statt. Der Schweinebetrieb verfügte über zwei Mastställe mit Stroheinstreu. Die Ställe waren mit jeweils sieben Buchten ausgestattet, in denen durchschnittlich 60-72 Tiere eingestallt wurden. In beiden Buchten waren vorne Schalentränken und eine Breifütterungsanlagen angebracht. Die Zuluft erfolgte über große Fenster, die sich jeweils oberhalb des Kontrollgangs an einer Seite des kompletten Abteils erstreckten. Zudem konnten in Bucht B Tore geöffnet werden, die den Schweinen eine zusätzliche Frischluftversorgung ermöglichten (vgl. Abbildung 4). Beide Abteile hatten einen Betonboden ohne Spalten und Abteilwände teils aus Beton bzw. Holz. Die Einstreu bestand aus einem Strohballen, der in die Mitte aufgestellt und von den Schweinen verteilt wurde. Je nach Bedarf wurde alle ein bis zwei Wochen Stroh nachgelegt.

Es wurden zwei verschiedene Reinigungsvarianten untersucht. Während in Variante 1 eine Reinigung und Desinfektion stattfand, wurde in Variante 2 lediglich gereinigt.

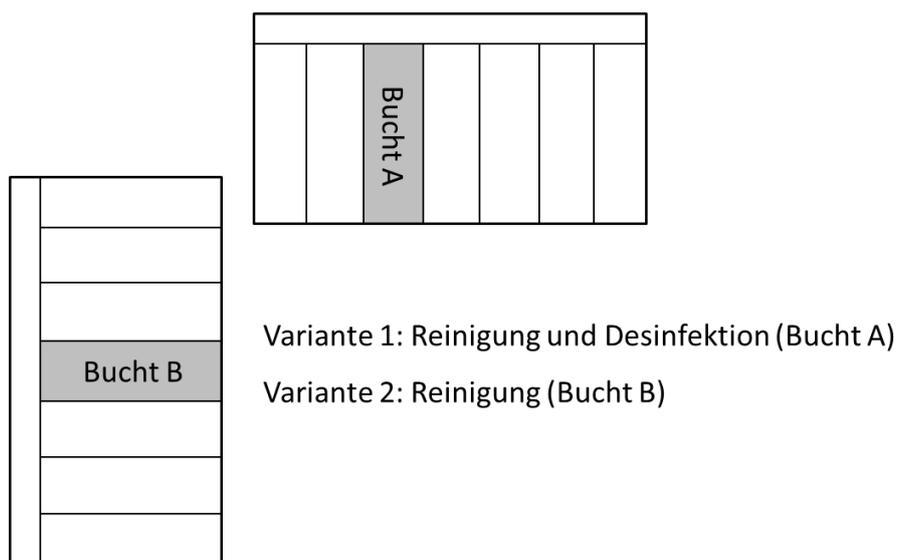


Abbildung 4: Schematische Darstellung der Versuchsbuchten in den zwei Betriebsgebäuden

Der Stall mit Bucht A und der Reinigungsvariante 1 hatte eine Größe von 42 x 15 m und vollbelegt eine Tieranzahl von 504 Schweinen. Die Versuchsbucht hatte die Maße 13,6 x 5,9

m und bot damit ein Platzangebot von 1,1 m² pro Schwein bei 72 Tieren. Das Gebäude mit Bucht B umfasste 35 x 17 m mit einer Belegung von maximal 455 Tieren. Versuchsbucht B hatte eine Größe von 14,5 x 4,9 m, in der während des Versuchs 60 Tiere eingestallt waren (1,2 m²/Tier).

5.2 Reinigung und Desinfektion

In Versuchsbucht B (Variante 2: Reinigung) wurde nach Ausstallung der Mastschweine mit dem Hochdruckreiniger eingeweicht. Die Fressplätze sowie die Wände wurden von einem Mitarbeiter mit einem Hochdruckreiniger gereinigt, wobei kein Reinigungsmittel verwendet wurde. Anschließend wurde der Stall entmistet und besenrein hinterlassen.

Demgegenüber fand in Versuchsbucht A eine Reinigung und Desinfektion statt. Hierfür wurde die Bucht ebenfalls eingeweicht und zusätzlich mit Schaumreiniger gereinigt (alkalischer Einweichschaum, Best Farm). Die anschließende Desinfektion, mit einer Trocknungsdauer über mehrere Tage, fand mit Venno vet 1 super (Menno Chemie) statt.

5.3 Erfassung des MRSA-Status der Tiere und der Umgebung

Für diesen Versuch wurden die Tiere beider Versuchsbuchten direkt vom Transporter, vor dem ersten Stallkontakt, beprobt. Die Ferkel wurden individuell mit einem Transponder versehen (MS Quick Transponder FDX, Firma MS Schippers), um eine Einzeltierverfolgung zu gewährleisten. Der MRSA-Status aller Transpondertiere wurde bei Einstellung, eine, fünf, zehn und 16 Wochen danach durch Nasentupferabstriche erfasst.

Neben den Tieren wurde die Umgebung zu denselben Zeitpunkten auf eine Kontamination mit MRSA untersucht. Diese Proben umfassten die Trennwände rund um die Bucht in Tierhöhe, verschiedene Orte am Buchtenboden, Rohre über den Trennwänden und die Futterautomaten. Des Weiteren wurde das Stroh und die Luft beprobt.

6. Probenahme und mikrobiologische Methoden

Für die Untersuchung des MRSA-Status der Tiere und der Umgebung wurden Tupferproben genommen, die anschließend mikrobiologisch im Labor untersucht wurden. Die Tupfer der Firma VWR enthielten als Transportmedium Amies-Flüssigkeit. Die Proben wurden bei den Tieren jeweils aus beiden Nasenlöchern entnommen. Dazu wurden die Tupfer bereits im Vorhinein in das Nährmedium überführt, um besser in die Nasenvorhöfe zu gelangen. Der Abstrich wurde in drehenden Bewegungen ohne Berührung der Rüsselaußenseite genommen. Die Mastschweine wurden mit einer Fangschlinge fixiert und beprobt.

Die Umgebung wurde mit den gleichen Tupfern beprobt. Abhängig von der Stelle wurden definierte Flächen oder Strecken untersucht. Für die definierten Flächen wurden Schablonen

(VWR) mit einem Flächeninhalt von 20 cm² verwendet. In Bereichen, wie beispielsweise hinter Leitungen oder unterhalb von Trennwänden, wurden Strecken von 10 cm ausgewählt. Die Strohproben wurden zerkleinert und in einer 1:10-Verdünnung im Stomacher 400 Circulator (Seward) vermengt. Anschließend wurden 500 µl in das erste flüssige Selektionsmedium überführt.

Die Anzucht von MRSA im Labor erfolgte über zwei flüssige Nährmedien und anschließende Ausbringung auf einem chromogenen Selektivagar.

6.1 Nährmedien

Müller Hinton Bouillon (MHB + 6,5 % NaCl 9 ml)

Für die erste Anzucht wurden die Tupfer in ein Selektivnährmedium zur Anzucht von Staphylokokken der Firma Media Products, Niederlande überführt.

Zusammensetzung (pro Liter destilliertes Wasser):

Säurehydrolysat von Casein	17,5 g
Rindfleischextrakt	3,0 g
Stärke	1,5 g

Trypton Soja Bouillon + Cefoxitin/Aztreonam (TSB + C/AZ 5ml)

Medium zur Anreicherung und Kultivierung nicht anspruchsvoller, aerober Mikroorganismen (Media Products, Niederlande). Der Zusatz der Antibiotika Cefoxitin und Aztreonam ermöglicht eine weitere Selektion auf MRSA.

Zusammensetzung (pro Liter destilliertes Wasser):

Trypton (pankreatisch abgebautes Casein)	17,0 g
Soyton (peptisch abgebautes Sojabohnenmehl)	3,0 g
Glucose	2,5 g
Natriumchlorid	5,0 g
Dikaliumhydrogenphosphat	2,5 g
Aztreonam	20 mg
Cefoxitin	3,5 mg

chromID MRSA SMART Agar (MRSM)

Der MRSM-Agar der Firma Biomérieux ist ein chromogenes Medium zum Screening auf MRSA. Der Agar besteht aus einer reichen Nährstoffgrundlage mit verschiedenen Peptonen. Er enthält chromogene Substrate und eine Antibiotika-Mischung zur Förderung des Wachstums von MRSA und zum direkten Nachweis der Enzymaktivität. Gramnegative

Bakterien, nicht zur Gattung *Staphylococcus* gehörenden Bakterien, Hefen und Schimmelpilze werden durch die Selektivmischung gehemmt. Nach der Inkubation unter aeroben Bedingungen bilden MRSA-Stämme rosafarbene bis rote Kolonien.

Zusammensetzung (pro Liter destilliertes Wasser):

Tierische und pflanzliche Peptone (Schwein oder Rind)	20,1 g
Trübungsmittel	2,0 g
Tris	0,8 g
Agar	13,0 g
Chromogene Mischung	0,25 g
Selektivmischung	40 ml

6.2 Kultivierung von MRSA

Die Anreicherung der im Stall gezogenen Proben erfolgte über zwei flüssige und ein festes Selektivnährmedium. Die Tupfer wurden in die MHB + 6,5 % NaCl überführt und diese Gefäße gevortext. Nach der Inkubation für 18 ± 2 h bei 36°C wurden 500 μl aus der MHB + 6,5 % NaCl in die TSB + C/AZ überführt (erneute Inkubation bei 36°C , 18 ± 2 h). Anschließend wurden die Proberöhrchen gevortext und jeweils 10 μl der Zellsuspension auf eine MRSM-Nährplatte pipettiert und ausplattiert. Die Platten wurden nach Inkubation bei 37°C über Nacht ausgewertet.

6.3 Untersuchung der Umgebungsluft auf MRSA

Zur Untersuchung der Stallluft auf MRSA wurde der MicroBio MB2 Luftkeimsammler der Firma Laborshop 24 verwendet. In den Luftkeimsammler wurde eine MRSM-Agarplatte eingespannt und über einen Zeitraum von einer Minute 100 l Luft durch das Gerät gezogen. Die auf dem Nährmedium gesammelten Mikroorganismen wurden nach Anleitung inkubiert und die Kolonienbildenden Einheiten (KbE) am nächsten Tag ausgezählt.

6.4 spa-Typisierung der MRSA-Isolate

Zur *spa*-Typisierung der nachgewiesenen MRSA-Isolate wurde zunächst die DNA der MRSA-Reinkulturen mittels Chelex-Extraktion (Biorad) gewonnen und diese dann bis zur weiteren Verwendung gekühlt gelagert. Für die Amplifikation und anschließende Sequenzierung wurde ein bereits veröffentlichtes Protokoll (Mellmann et al. 2006) angewandt. Die *spa*-Typen wurden mit der Ridom StaphType Software Version 2 (Ridom GmbH) aus den DNA-Sequenzen bestimmt und deren Verwandtschaft mit dem BURP-Algorithmus (Mellmann et al. 2007) untersucht.

IV. Ergebnisse

1. MRSA-Status auf den im Projekt untersuchten schweinehaltenden Betrieben

Im Projektzeitraum wurden 18 konventionelle, schweinehaltende Betriebe auf ihren MRSA-Status untersucht. Pro Betrieb wurden durchschnittlich 20 Proben genommen, die die Umgebung und die eingestellten Tiere unterschiedlicher Altersgruppen umfassten. Von den ca. 360 Proben waren 252 MRSA-positiv. Insgesamt waren vier Betriebe zu 100% positiv, wohingegen die anderen teils negativ und teils positiv waren. Kein Betrieb war rein negativ. Der MRSA-Status lag bei den im Projekt teilnehmenden Betrieben bei 100%. Es war zudem in allen Haltungsabschnitten MRSA nachweisbar.

2. Demonstrationsvorhaben zur Dekontamination MRSA-positiver Schweinebetriebe

2.1 Vorkommen von MRSA im Versuchsabteil

Zur Klärung des Vorkommens von MRSA im Versuchsabteil vor Reinigung und Desinfektion wurden zunächst die Bereiche verglichen, in denen die eingestellten Tiere in direktem Kontakt mit der Umgebung stehen und denen außerhalb der Tierhöhe. Es wurde in allen Bereichen des Versuchsabteils MRSA in den Umgebungsproben nachgewiesen. Die Ergebnisse zeigen, dass Bereiche in Tierhöhe mit 80% ein höheres MRSA-Vorkommen gegenüber den anderen Bereichen im Stall haben (vgl. Abbildung 5). Mit 64% sind die Orte außerhalb des direkten Tierkontakts tendenziell weniger belastet.

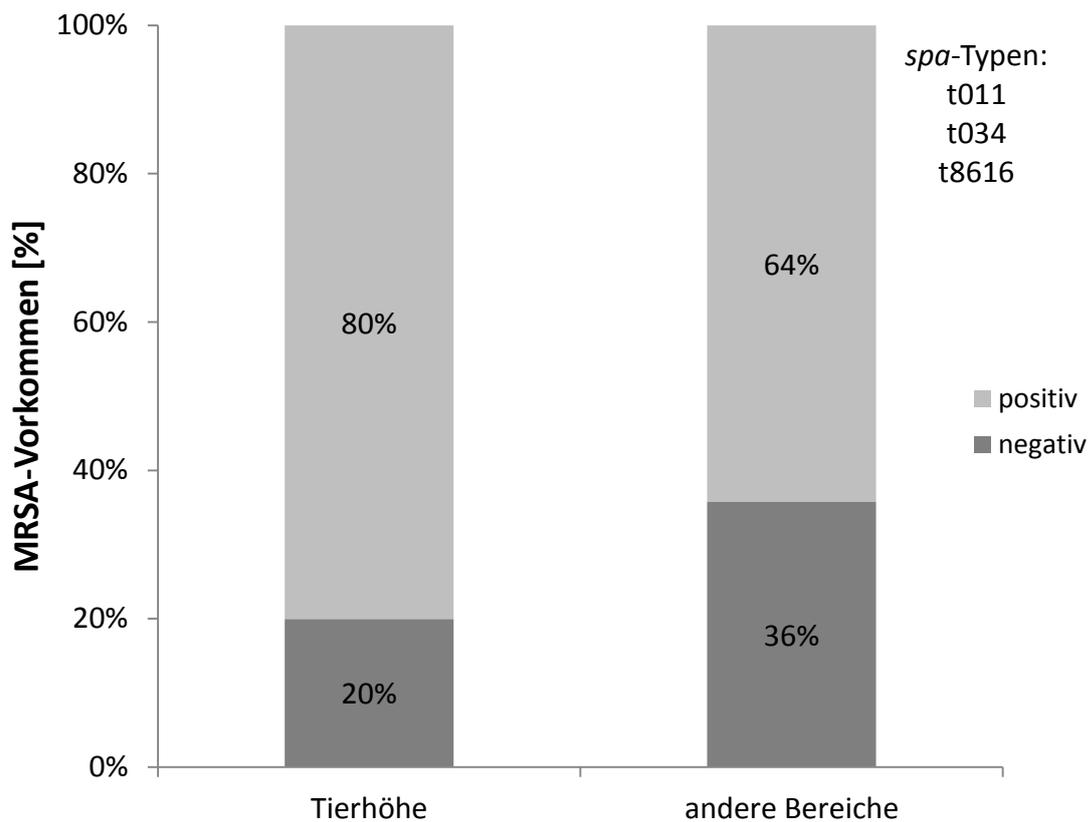


Abbildung 5: MRSA-Vorkommen in verschiedenen Bereichen des Versuchsabteils

Nur 20% der Proben in Tierhöhe waren MRSA-negativ, wie beispielsweise die Oberfläche der Tränkenippelleitung, wobei dies von Durchgang zu Durchgang unterschiedlich war. Bereiche mit Staubablagerungen waren oft MRSA-positiv, während Orte weit außerhalb der Tierhöhe, wie die Wände oder die Decke, öfter MRSA-negativ waren. Im Abteil waren die *spa*-Typen t011, t034 und t8616 zu finden. Diese *spa*-Typen gruppieren wie alle anderen *spa*-Typen, die im Rahmen des Projekts bei den insgesamt 637 durchgeführten *spa*-Typisierungen nachgewiesen wurden, alle mittels BURP-Algorithmus zusammen und sind dem CC398 zuzuordnen (Abbildung 6).

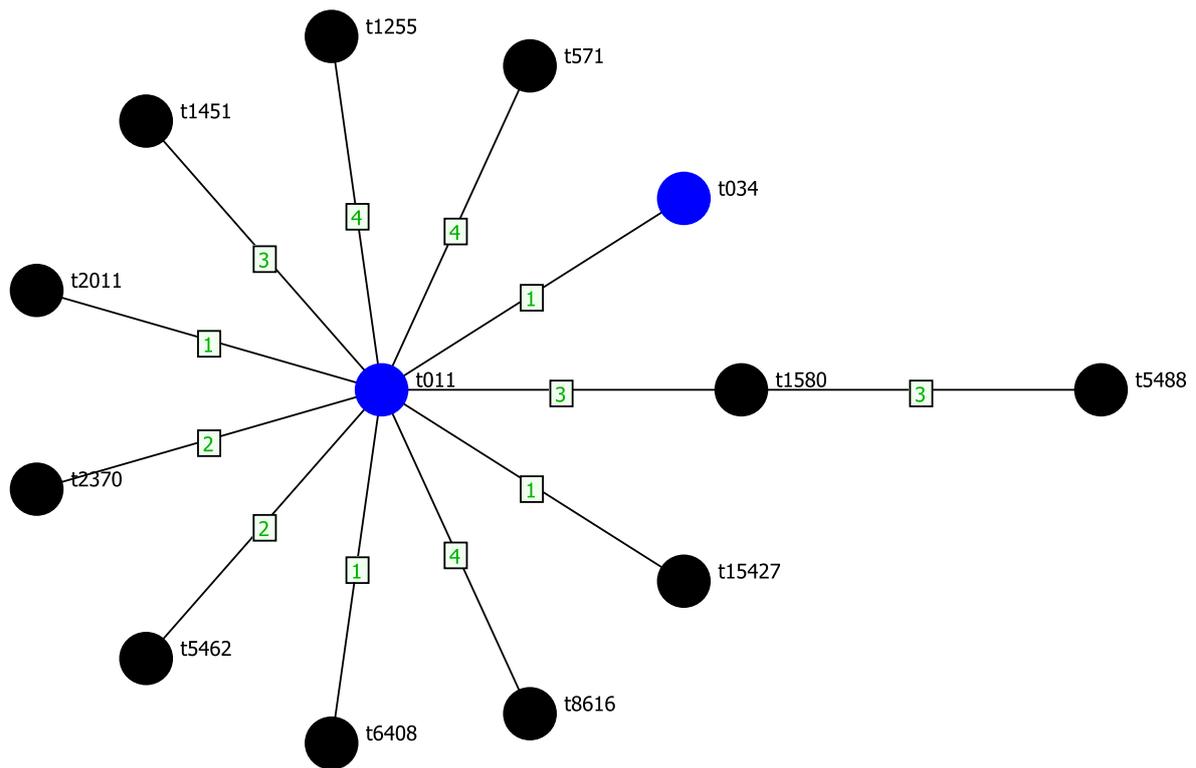


Abbildung 6: Darstellung der Verwandtschaftsverhältnisse der verschiedenen nachgewiesenen *spa*-Typen

Jeder Punkt entspricht einem *spa*-Typen und ist entsprechend gekennzeichnet; die Zahl auf den Verbindungslinien zwischen zwei *spa*-Typen gibt an, wie viele Evolutionsschritte erforderlich sind, um von einem *spa*-Typen zum anderen zu evolvieren. Alle *spa*-Typen, die sich in maximal vier Evolutionsschritten voneinander unterscheiden, werden in einer Gruppe zusammengefasst. Der *spa*-Typ t011 ist aufgrund der meisten nah-verwandten anderen *spa*-Typen als Ursprung zentral lokalisiert.

Im zweiten Durchgang des Versuchs waren vor Reinigung und Desinfektion 85% der Bereiche in Tierhöhe MRSA-positiv. Außerhalb der Tierhöhe konnte in 72% der Bereiche MRSA nachgewiesen werden (vgl. Tabelle 2). Die *spa*-Typen wurden an ausgewählten Orten bestimmt.

Tabelle 2: Probenahmeorte im zweiten Durchgang des Versuches zur Reinigung und Desinfektion mit MRSA-Status und *spa*-Typ (Bereiche in Tierhöhe sind grau unterlegt; nb = nicht bestimmt)

Ort	MRSA	<i>spa</i> -Typ
Boden (Spalten)	positiv	t034
Boden (Spalten)	positiv	nb
Boden (Spalten)	positiv	nb
Boden (Spalten)	positiv	nb
Trennwand innen	positiv	t034
Trennwand innen	positiv	nb
Trennwand innen	positiv	nb
Abteilwände	positiv	t034
Abteilwände	positiv	nb
Abteilwände	positiv	nb
im Trog	positiv	nb

im Trog	positiv	nb
im Trog	positiv	t034
im Trog	positiv	nb
auf Tränkenippelleitung	positiv	t034
zwischen Spalten und Wand	positiv	nb
zwischen Spalten und Wand	positiv	t034
Trennwand über Trog	positiv	nb
Trennwand über Trog	positiv	nb
Trennwand über Trog	positiv	t034
Trennwand über Trog	positiv	nb
Ecken Abteilwände/Fensterwände	positiv	nb
Ecken Abteilwände/Fensterwände	positiv	nb
Ecken Abteilwände/Fensterwände	positiv	nb
zwischen Spalten	positiv	nb
zwischen Spalten	positiv	t034
zwischen Spalten	positiv	nb
zwischen Spalten	positiv	nb
Trogunterseite	positiv	t034
Trogunterseite	positiv	nb
Trogunterseite	positiv	nb
Halterung Fütterungsrohr (innen)	positiv	nb
Halterung Fütterungsrohr (innen)	positiv	t034
Halterung Fütterungsrohr (innen)	positiv	nb
hinter Futterleitung (Trog)	positiv	nb
hinter Futterleitung (Trog)	positiv	t034
hinter Wasserleitung	positiv	nb
hinter Wasserleitung	positiv	nb
hinter Wasserleitung	positiv	t034
Nippelzapfen	positiv	nb
Nippelzapfen	positiv	t034
Trennwand Edelstahlkante	positiv	nb
Trennwand Edelstahlkante	positiv	t034
Trennwand Edelstahlkante	positiv	nb
Trennwand Edelstahlkante	positiv	nb
Trennwand Unterseite	positiv	nb
Trennwand Unterseite	positiv	t034
Trennwand Unterseite	positiv	nb
Spielzeugrohre unten	positiv	nb
Spielzeugrohre unten	positiv	t034
Trennwand innen	negativ	-
Abteilwände	negativ	-
auf Tränkenippelleitung	negativ	-
auf Tränkenippelleitung	negativ	-
Trogunterseite	negativ	-
hinter Futterleitung (Trog)	negativ	-
Nippelzapfen	negativ	-
Trennwand Unterseite	negativ	-

Spielzeugrohre unten	negativ	-
Kontrollgang	positiv	nb
Kontrollgang	positiv	t034
Kontrollgang	positiv	nb
Fenster rechts außen	positiv	t034
Fenster mittig rechts	positiv	nb
Heizung (lange Seiten)	positiv	nb
Heizung (lange Seiten)	positiv	t034
Heizung (lange Seiten)	positiv	nb
Abläufe Futter (senkrecht)	positiv	t034
Abläufe Futter	positiv	nb
Abläufe Futter	positiv	nb
Abläufe Futter	positiv	nb
Abläufe Futter	positiv	t034
Zuluft innen	positiv	nb
Zuluft innen	positiv	t034
Zuluft innen	positiv	nb
Abluft innen	positiv	nb
Abluft innen	positiv	nb
Wand	positiv	nb
Wand	positiv	t034
Wand	positiv	nb
Seite Eingangstür	positiv	t034
Seite Eingangstür	positiv	nb
Zentralgang Boden	positiv	t034
Hauptleitung Futter	positiv	t034
Spaltenauflage (große Querstege)	positiv	nb
Spaltenauflage (große Querstege)	positiv	t034
Öffnung Heizung	positiv	nb
Öffnung Heizung	positiv	t034
Öffnung Heizung	positiv	nb
Heizungslöcher	positiv	nb
Heizungslöcher	positiv	nb
Heizungslöcher	positiv	nb
Hinterseite Wasserleitung	positiv	t034
Hinterseite Wasserleitung	positiv	nb
Hinterseite Wasserleitung	positiv	nb
zwischen Kabeln (Fütterung)	positiv	nb
zwischen Kabeln (Fütterung)	positiv	t034
zwischen Kabeln (Fütterung)	positiv	nb
Lampen	positiv	nb
Lampen	positiv	t034
Lampen	positiv	nb
Ventile Fütterung	positiv	nb
Ventile Fütterung	positiv	t034
Spaltenelement Außenkante	positiv	t034

Spaltenelement unter den Spalten	positiv	nb
Spaltenauflage	positiv	nb
Fenster mittig links	negativ	-
Abläufe Futter (senkrecht)	negativ	-
Zuluft innen	negativ	-
Zuluft innen	negativ	-
Zuluft innen	negativ	-
Decke	negativ	-
Zentralgang Boden	negativ	-
Zentralgang Boden	negativ	-
Hauptleitung Futter	negativ	-
Spaltenauflage (große Querstege)	negativ	-
Spaltenauflage (große Querstege)	negativ	-
Ventile Fütterung	negativ	-
Spaltenelement Außenkante	negativ	-
Spaltenelement unter den Spalten	negativ	-
Spaltenauflage	negativ	-

Es wurde der *spa*-Typ t034 nachgewiesen. Innerhalb des Versuchsbetriebes waren ebenfalls die *spa*-Typen t011 und t8616 zu finden.

2.2 MRSA-Status des Versuchsabteils vor und nach Reinigung und Desinfektion

Nach der Ausstallung der Tiere aus dem Versuchsabteil wurden die Proben vor Reinigung und Desinfektion genommen. Hierbei wurde zwischen den gut und schlecht zu reinigenden Stellen unterschieden. Bei den gut zu reinigenden Stellen waren vor der Reinigung und Desinfektion 74% der Umgebungsproben MRSA-positiv. Die schlecht zu reinigenden Stellen waren mit 69% ähnlich stark mit MRSA kontaminiert (Abbildung 7).

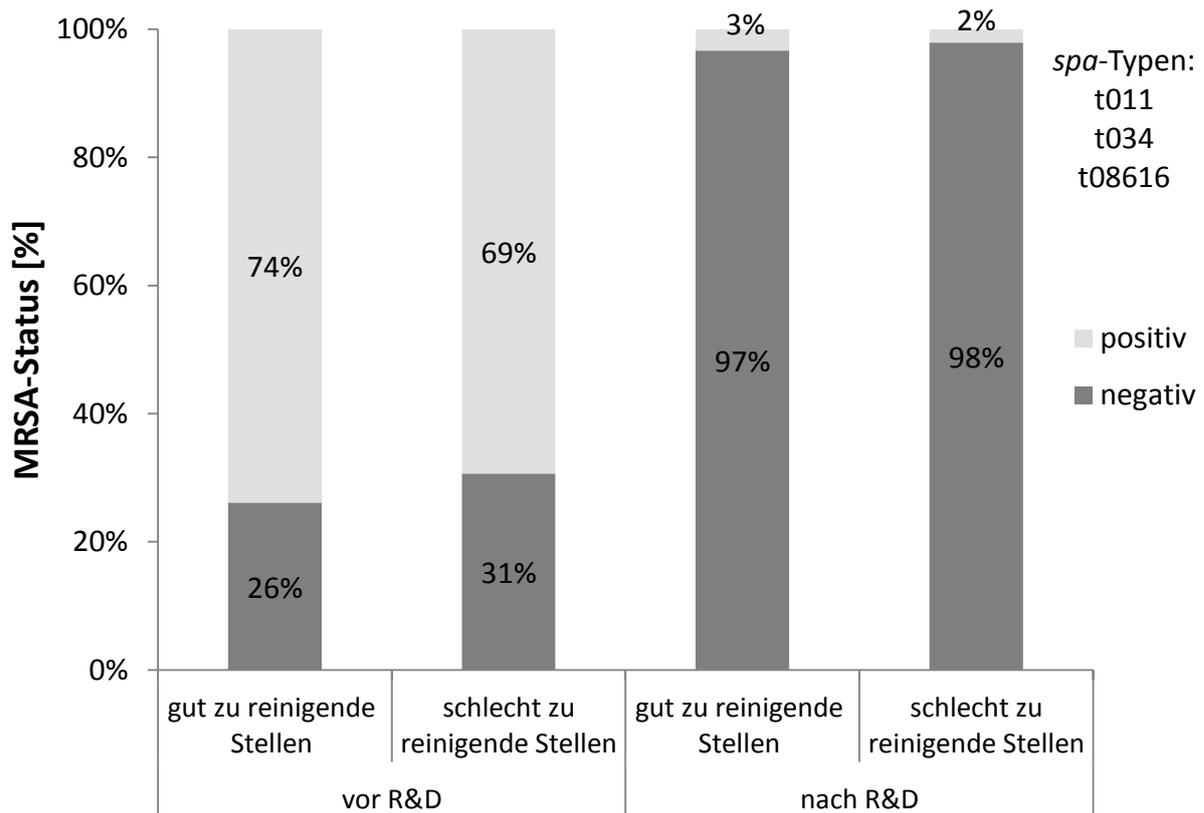


Abbildung 7: MRSA-Status des Versuchsabteils vor und nach Reinigung und Desinfektion (R&D)

Nach der Reinigung und Desinfektion waren 97% der gut zu reinigenden Stellen MRSA-negativ. Lediglich in 3% der Bereiche wurde noch MRSA nachgewiesen. Diese umfassten Stellen, wie die Tränkenippelleitung, die Ecken der Abteilwände oder den Zentralgang vor dem Versuchsabteil. Der Zentralgang wurde als potenzielle Quelle zur Wiedereintragung von MRSA untersucht. Ähnliche Ergebnisse wurden bei den schlecht zu reinigenden Stellen erzielt. Hier waren 98% der Bereiche MRSA-negativ und 2% positiv. Zu den Stellen zählten Bereiche hinter der Wasserleitung, zwischen den Spalten und auf dem Ventil der Fütterung. Durch die betriebsübliche Reinigung und Desinfektion konnte MRSA fast vollständig aus dem Versuchsabteil eliminiert werden.

2.3 MRSA-Status der neu eingestellten Tiere und der Umgebung im Verlauf der Ferkelaufzucht

Nach der Reinigung und Desinfektion des Versuchsabteils wurde in allen drei Durchgängen der MRSA-Status der Schweine untersucht, die neu eingestallt wurden. Die insgesamt 60 Tiere in allen Durchgängen wurden am Tag der Einstellung, eine Woche danach und am Ende der Ferkelaufzucht mittels Nasentupfern beprobt. Bereits 72% der Ferkel kamen MRSA-positiv aus der Abferkelung und wurden in das Versuchsabteil eingestallt. Die Typisierung

konnte größtenteils den *spa*-Typ t034 nachweisen, es waren jedoch auch die Typen t011 und t5462 vertreten (Tabelle 3).

Tabelle 3: *spa*-Typen der eingestellten Ferkel in den drei verschiedenen Durchgängen

Durchgang	I (n = 7)	II (n = 7)	III (n = 9)
<i>spa</i> -Typ	t034 (5)	t034 (7)	t034 (8)
	t011 (2)		t5462 (1)

Eine Woche danach waren alle Schweine mit MRSA besiedelt. Dieser Zustand änderte sich zur nächsten Beprobung nicht (vgl. Abbildung 8).

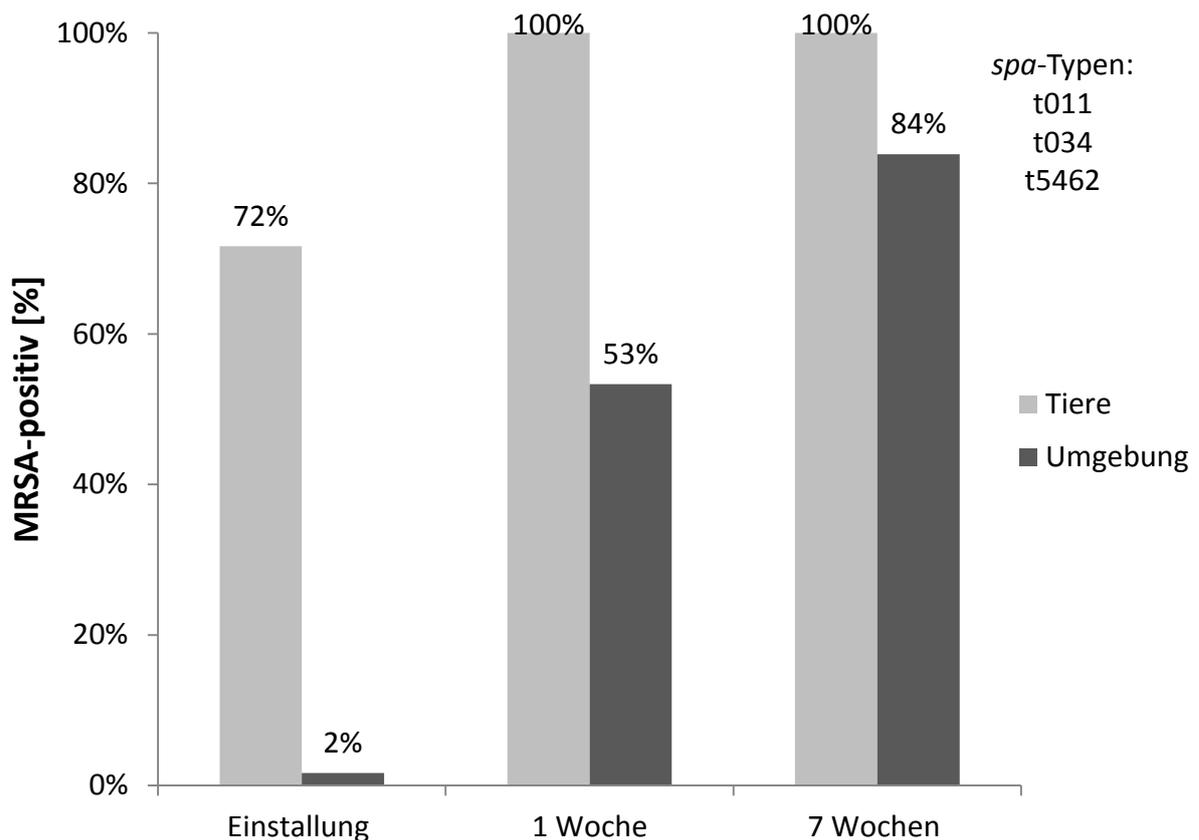


Abbildung 8: Anteil MRSA-positiver Schweine- und Umgebungsproben im Verlauf der Ferkelaufzucht

Im gesamten Abteil waren in den drei verschiedenen Durchgängen durchschnittlich 2% der Umgebungsproben vor Einstallung der Tiere MRSA-positiv. Während der Ferkelaufzucht wurden Stichproben von festen Orten aus der Umgebung genommen, die auch im

Hauptversuch untersucht wurden. Der positive MRSA-Status veränderte sich im Verlauf der Ferkelaufzucht mit einem Anstieg auf 53% nach einer Woche. Zu diesem Zeitpunkt waren Bereiche, wie der Spaltenboden, die Trennwand und die Abluft positiv. Bei Ausstallung konnte in 84% der Umgebungsproben MRSA nachgewiesen werden, wobei Orte, wie die Zuluft, meist negativ waren.

Neben den Ferkeln und der Umgebung wurde die Luft auf ihre Kontamination mit MRSA untersucht. Die Proben wurden jeweils vor und nach Reinigung und Desinfektion und während der Ferkelaufzucht parallel zu den Tierbeprobungen genommen. Obwohl vor der Reinigung des Abteils ein Großteil der Umgebungsproben positiv war, wurde in der Luft kein MRSA nachgewiesen. Dies änderte sich nach Reinigung und Desinfektion nicht, wohingegen 30 Minuten nach Einstellung der Tiere bereits 7 KbE/100l Luft nachweisbar waren (Abbildung 9). Im Verlauf der Ferkelaufzucht stiegen die Werte von 30 KbE auf 73 KbE/100l.

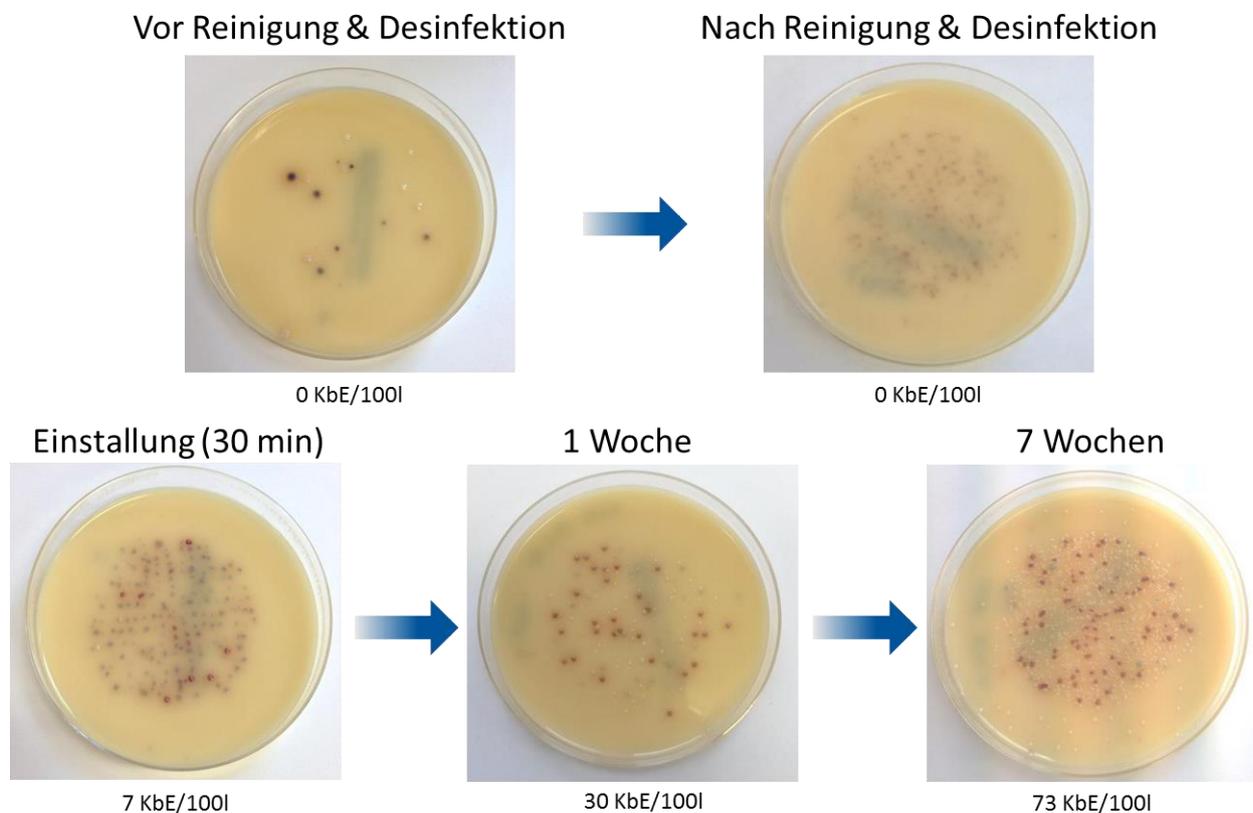


Abbildung 9: MRSA-Status der Luft vor und nach Reinigung und Desinfektion und zu verschiedenen Zeitpunkten in der Ferkelaufzucht

In allen drei Durchgängen vor und nach Reinigung und Desinfektion und zu verschiedenen Zeitpunkten in der Ferkelaufzucht waren die Verläufe der Kontamination mit MRSA in der Luft ähnlich. Sofort nach Einstellung konnte MRSA nachgewiesen werden, in Woche 7 waren die Werte am höchsten.

3. Langzeituntersuchung des MRSA-Status von Mitarbeitern

Während der ersten Stallbesuche des Projekts, zur Auswahl der Betriebe für die Versuche, wurden die Mitarbeiter direkt vor und direkt nach Stallbesuch (max. 60 Minuten nach Verlassen) auf MRSA beprobt. Es fiel auf, dass der Untersuchungsbefund bzgl. MRSA vor Stallbesuch negativ war, in den meisten Fällen nach dem Stallbesuch jedoch als positiv detektiert wurde. Vor dem nächsten Einsatz im Stall änderte sich dies wieder und die Mitarbeiter waren vor Stallzutritt immer MRSA-negativ.

Insgesamt wurden über einen Zeitraum von 13 Monaten 225 Proben vor und nach Stallbesuch gezogen, um die Auswirkungen regelmäßiger Exposition auf den MRSA-Status zu untersuchen. Im Folgenden wurden drei Mitarbeiter exemplarisch ausgewählt und die Stallbesuche mit der Häufigkeit negativer und positiver Befunde aufgelistet. Zusätzlich wurde unterschieden, ob der betreffende Mitarbeiter während seines Stallaufenthaltes Tierkontakt hatte oder nicht.

Insgesamt hatte Mitarbeiter A 72 Stallaufenthalte, von denen 26 ohne Tierkontakt waren. Dies waren beispielsweise Arbeiten, wie die Probenahme im unbelegten Stall. Davon war der MRSA-Status in 25 Fällen negativ, eine Probe war nach Stallbesuch ohne Tierkontakt positiv (vgl. Tabelle 4). Vor Stallzutritt war diese Person bis auf eine Ausnahme stets MRSA-negativ.

Tabelle 4: MRSA-Status der Mitarbeiter nach Stallaufenthalt ohne Tierkontakt

Mitarbeiter	Stallaufenthalte (Anzahl Proben) insgesamt	davon ohne Tierkontakt	wie häufig davon negativ	wie häufig positiv	positiv [%]
A	72	26	25	1	4
B	43	14	12	2	14
C	37	9	8	1	11

Ähnlich verhielt es sich bei den Mitarbeitern B und C. Hier waren zwei bzw. eine Probe nach Stallaufenthalt ohne direkten Tierkontakt positiv. Die Häufigkeit innerhalb der Beprobung der drei Mitarbeiter für einen MRSA-positiven Befund ohne Tierkontakt lag bei 4-14%. In Tabelle 5 sind die Stallbesuche dargestellt, bei denen die Mitarbeiter Tierkontakt hatten. Häufige Tätigkeiten waren hierbei das Wiegen von Schweinen oder die Probenahme bei den Tieren. Von den 72 Stallbesuchen des Mitarbeiters A waren 46 mit Tierkontakt. Insgesamt waren 74% der Befunde danach positiv.

Tabelle 5: MRSA-Status der Mitarbeiter nach Stallaufenthalt mit Tierkontakt

Mitarbeiter	Stallaufenthalte (Anzahl Proben)	davon mit Tierkontakt	wie häufig davon negativ	wie häufig positiv	positiv [%]
A	72	46	12	34	74
B	43	29	5	24	83
C	37	28	8	20	71

Die Mitarbeiter B und C hatten 29 bzw. 28 Stallaufenthalte mit Tierkontakt. Hier lag der positive MRSA-Status bei 83 bzw. 71%. Innerhalb des Beprobungszeitraumes der Mitarbeiter änderte sich kein MRSA-Befund zu einem dauerhaft positiven. Die Zeitabstände zwischen den Beprobungen nach Stallbesuch und vor dem nächsten Stalleintritt waren unterschiedlich, lagen jedoch im geringsten Zeitintervall bei ca. 12 Stunden. Das Ergebnis war auch in diesem kurzen Abstand negativ, abgesehen von einem Befund, der sich jedoch bei der nächsten Beprobung wieder in einen negativen änderte.

Die MRSA-Isolate der Mitarbeiter wurden typisiert. Die Zeitabstände zwischen den Stallaufenthalten sowie die dazugehörigen *spa*-Typen sind in Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6: Typisierte MRSA-Isolate der Mitarbeiter mit Zeitabständen zum nächsten Stallaufenthalt (nb = nicht bestimmt; * = positiver Befund vor Stallaufenthalt; ** = positiver Befund vor Stallaufenthalt, aber bereits ohne vorherige Beprobung auf einem Betrieb gewesen)

Mitarbeiter A		Mitarbeiter B		Mitarbeiter C	
Tage bis zum nächsten Stallaufenthalt	<i>spa</i> -Typ	Tage bis zum nächsten Stallaufenthalt	<i>spa</i> -Typ	Tage bis zum nächsten Stallaufenthalt	<i>spa</i> -Typ
	t011		t011		t011
14	t2011	2	t011	14	t011
7	t011	39	t011	84	nb
7	t011	3	t5488	15	t034
0	t011	4	t011	33	t034
3	t011	1	t011	7	t034
4	t034	63	t2011	30	t034
1	t011	1	nb	12	t011
48	t011	33	t011	23	t011
16	nb	15	t011	13	t011
39	t034	21	t034	8	t011
1	t034	1	t034	1	t034
2	t034	11	t034	6	t034
6	t011	3	t034	29	t034
21	t034	12**	t011	5	t034
1*	t034	8	t034	14	t034

26**	t011/t034		13 t011	2 t034
	8 t034	0**	t034	26 t034
	13 t011		8 t011	7 t034
	8 t034	0**	t011	13 t011
0**	t011		7 t034	21 t034
	7 t034	6**	t034	
	6 t034		15 t011	
	1 t034	0**	t011	
	14 t571		13 t011	
0**	t011		21 t6408	
	5 t034			
	8 t034			
	2 t034			
	7 t034			
	5 t034			
	2 t034			
21**	t034			
	14 t034			
	33 t034			

Die *spa*-Typen variierten zwischen den Beprobungen. Am häufigsten waren die Typen t011 und t034 vertreten. In einigen Fällen wurde vor der Beprobung bereits ein anderer Betrieb besucht. Hier wurde die vorherige Beprobung ausgelassen und es bestand im Vorhinein ein positiver Befund. Nur bei einer Beprobung konnte nach einem Tag noch MRSA nachgewiesen werden (grau unterlegt). Nach Abschluss der Untersuchungen waren alle Mitarbeiter auch nach regelmäßiger Exposition MRSA-negativ.

4. Besiedlung von Mastschweinen mit MRSA im Strohstall

4.1 Untersuchungen zur MRSA-Dynamik nach Reinigung und Desinfektion

Zur Untersuchung der Besiedlung von Mastschweinen mit MRSA in einem Strohstall wurden zwei verschiedene Varianten getestet. Die Tiere für die späteren Untersuchungen mit einem Anfangsmastgewicht von ca. 25 kg wurden direkt im Transporter beprobt und tierindividuell markiert, um eine Einzeltierverfolgung zu ermöglichen. Die Auswahl der Tiere erfolgte zufällig.

Bei der ersten Variante fand vor der Einstellung der Schweine eine Reinigung mit nachfolgender Desinfektion statt. Es wurden 63 der 72 Tiere aus der Bucht beprobt. Zu Beginn der Mast waren alle tierindividuell markierten Tiere MRSA-positiv. Neben den Beprobungen der Schweine wurde der MRSA-Status des Strohs und der Umgebung untersucht, welcher in beiden Fällen zu Beginn negativ war (Abbildung 10). Eine und fünf

Wochen nach Einstellung waren sowohl die Tiere, als auch acht von neun bzw. sechs von neun Umgebungsproben sowie das Stroh MRSA-positiv.

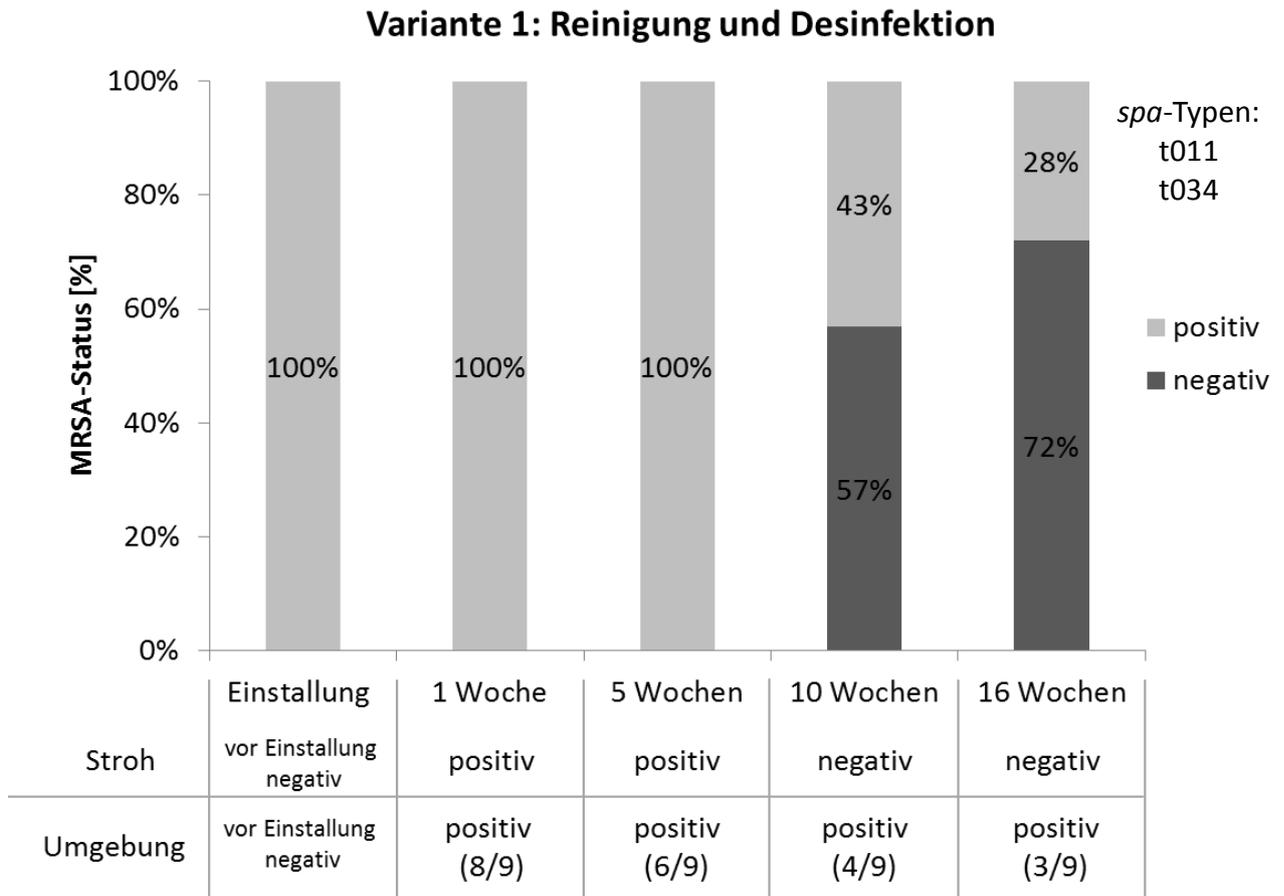


Abbildung 10: Besiedlung der Mastschweine im Verlauf der Mast und Vergleich des MRSA-Status des Strohs und der Umgebung (Variante 1: Reinigung und Desinfektion)

Ab Woche 10 nach EInstellung änderte sich der MRSA-Status der Tiere, bei denen nun 57% negativ waren. Auch im Stroh war kein MRSA mehr nachweisbar, von den Umgebungsproben waren 4 von 9 positiv. Bei Ausstallung nach 16 Wochen waren insgesamt 72% der Tiere negativ und 28% positiv.

In Tabelle 7 ist die Verfolgung der Einzeltiere über den kompletten Verlauf der Mast dargestellt. Zu Beginn waren 63 Tiere in der Untersuchung, wovon zwei bis Mastende ausgeschieden sind. Von diesen Tieren behielten sieben einen dauerhaft positiven Status. Insgesamt waren 19 Schweine in Woche 10 noch positiv, wurden aber bei Mastende negativ getestet, wohingegen 25 Tiere diesen Status schon in der Untersuchung zum Zeitpunkt der 10. Woche erreichten. Auffällig waren die Befunde von 10 Schweinen, die in der letzten Beprobung vor Mastende negativ getestet wurden, nach 16 Wochen bei Ausstallung jedoch wieder positiv waren. Hier fand eine erneute Besiedlung mit MRSA statt.

Tabelle 7: Einzeltierverfolgung mit Dokumentation des MRSA-Status über den Zeitraum der Mast in Variante 1 (Reinigung und Desinfektion)

Tiernummer	Einstellung	MRSA-Status			
		1 Woche	5 Wochen	10 Wochen	16 Wochen
603	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv
607	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv
615	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv
627	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv
653	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv
693	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv
697	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv
606	positiv	positiv	positiv	negativ	positiv
635	positiv	positiv	positiv	negativ	positiv
639	positiv	positiv	positiv	negativ	positiv
646	positiv	positiv	positiv	negativ	positiv
647	positiv	positiv	positiv	negativ	positiv
659	positiv	positiv	positiv	negativ	positiv
677	positiv	positiv	positiv	negativ	positiv
682	positiv	positiv	positiv	negativ	positiv
683	positiv	positiv	positiv	negativ	positiv
691	positiv	positiv	positiv	negativ	positiv
628	positiv	positiv	positiv		
644	positiv	positiv			
604	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ
612	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ
616	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ
620	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ
621	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ
622	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ
625	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ
642	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ
645	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ
655	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ
657	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ
663	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ
664	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ
665	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ
674	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ
679	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ
680	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ
696	positiv		positiv	positiv	negativ
698	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ
602	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
605	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
613	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
614	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
618	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ

619	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
638	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
640	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
643	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
648	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
649	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
651	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
658	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
672	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
673	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
675	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
676	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
678	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
681	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
685	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
687	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
689	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
690	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
694	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
699	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ

Es wurde zudem die Umgebung, das Stroh und die Luft beprobt. Vor Einstallung wurden insgesamt 20 Umgebungsproben genommen, die Bereiche wie die Trennwand, den Boden oder den Zentralgang sowie zwei Strohproben umfassten. Von diesen 20 Proben wurden neun ausgewählt und in Tabelle 8 (vor Einstallung) aufgeführt. Für den weiteren Verlauf wurden diese neun Orte fortlaufend beprobt, um den MRSA-Status zu überprüfen. Alle Proben waren vor Einstallung MRSA-negativ. Bei Einstallung wurde nur die Stallluft untersucht, die ca. 15 Minuten nach Tierkontakt 9 bzw. 10 KbE/100l enthielt. Nach einer Woche war ein Großteil der Umgebungsproben, inklusives des Strohs positiv und die Anzahl von MRSA in der Luft stieg auf 39 bzw. 46 KbE/100l.

Tabelle 8: MRSA-Status der Umgebung, des Strohs und der Luft während der Mastphase in Variante 1

Umgebung	MRSA-Status					
	vor Einstallung	Einstallung	1 Woche	5 Wochen	10 Wochen	16 Wochen
Trennwand (Zentralgang; rechts)	negativ		positiv	negativ	positiv	positiv
Trennwand (Zentralgang; links)	negativ		positiv	positiv	negativ	positiv
Trennwand (rechts)	negativ		positiv	positiv	positiv	negativ
Trennwand (links)	negativ		positiv	positiv	negativ	negativ
Trennwand (hinten)	negativ		positiv	positiv	negativ	negativ
Boden (vorne)	negativ		negativ	positiv	negativ	negativ
Boden (mittig)	negativ		positiv	negativ	negativ	negativ
Rohr über Trennwand	negativ		positiv	negativ	positiv	negativ
Futterautomat	negativ		positiv	positiv	positiv	positiv

Stroh	negativ		positiv	positiv	negativ	negativ
Luft (vorne)	negativ	9 KbE/100l	39 KbE/100l	2 KbE/100l	negativ	1 KbE/100l
Luft (hinten)	negativ	10 KbE/100l	46 KbE/100l	negativ	negativ	negativ

In Woche 5 begann die Tendenz eines Rückgangs von MRSA, was vor allem in der Stallluft zu erkennen war, die nur noch 2 KbE/100l enthielt bzw. in einer Probe negativ war. Dies stützen die Umgebungsproben, von denen am Ende der Mast nur noch drei MRSA-positiv waren.

4.2 Untersuchungen zur MRSA-Dynamik nach Reinigung ohne Desinfektion

Die zweite Variante erfolgte lediglich mit einer Reinigung des Stalls durch den Landwirt. Auch hier waren die Schweine zu Beginn positiv, was sich nach Woche 1 nicht veränderte (vgl. Abbildung 11). Die Umgebung und das Stroh waren solange negativ, wie keine Tiere eingestallt waren. Im Vergleich zu Variante 1 waren die Tiere in Variante 2 bereits in Woche 5 zum Teil negativ (29%). Ab Woche 10 bis Ausstallung war das Stroh in allen Proben MRSA-negativ und in der Umgebung nur noch in einer von neun Proben MRSA nachweisbar.

Variante 2: Reinigung

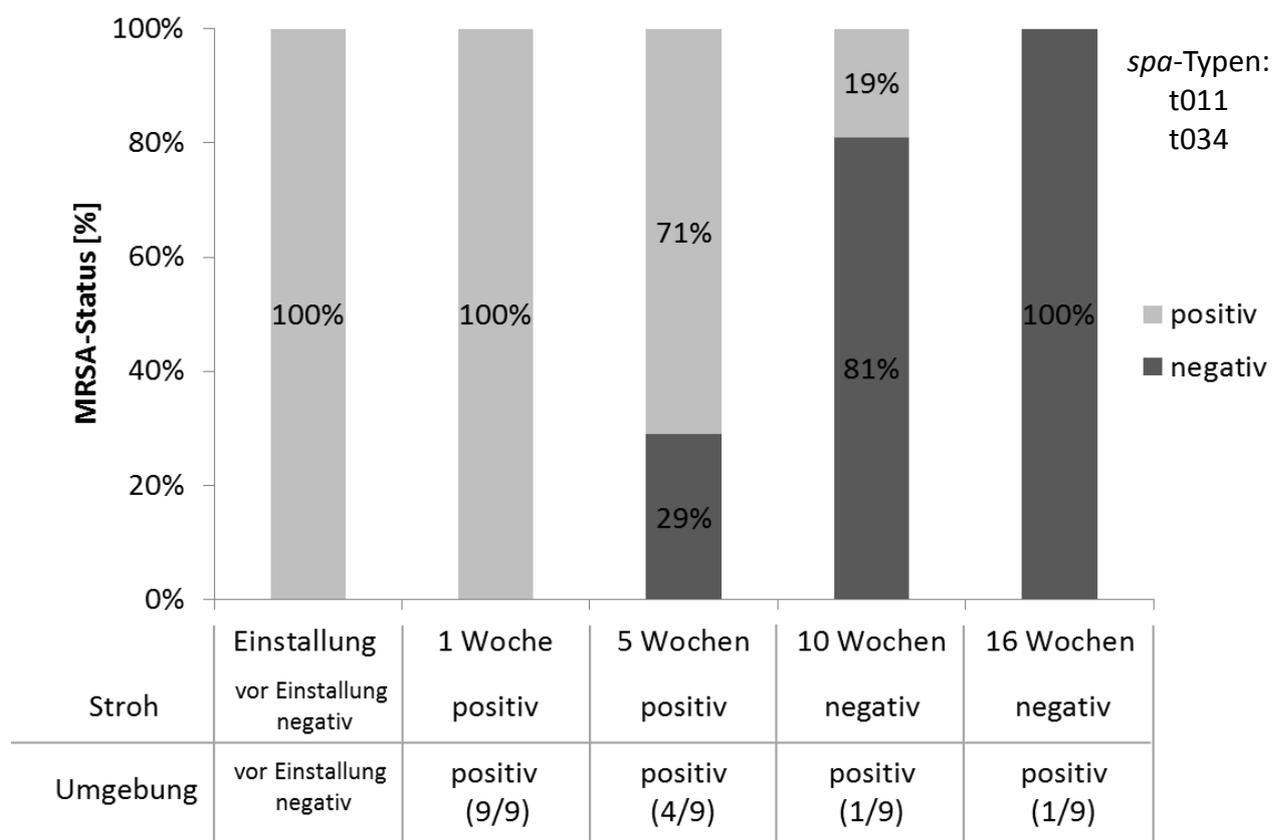


Abbildung 11: MRSA-Status der Mastschweine, der Umgebung und des Strohs zu verschiedenen Zeitpunkten der Mast (Variante 2: Reinigung)

Der MRSA-Status der Schweine änderte sich ab Woche 5 stetig und lag in Woche 10 bei 81% negativen Tieren. Zur Ausstallung nach 16 Wochen war die komplette Bucht MRSA-negativ. In der Einzeltierverfolgung wurden 58 Tiere zu Beginn und 59 Tiere in Woche 1 positiv getestet. Anders als in Variante 1 traten die Schweine bereits nach fünf Wochen in den Prozess der Dekolonisierung ein. Zu diesem Zeitpunkt waren 17 Schweine MRSA-negativ. Nach zehn Wochen erhöhte sich die Anzahl auf 48 Tiere, wobei fünf der zuletzt 17 negativen Tiere ihren Status wieder geändert hatten und MRSA-positiv waren (vgl. Tabelle 9).

Tabelle 9: MRSA-Status der Einzeltiere zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Mast in Variante 2 (Reinigung)

Tiernummer	MRSA-Status				
	Einstellung	1 Woche	5 Wochen	10 Wochen	16 Wochen
328	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ
346	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ
347	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ
381	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ
387	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ

397	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ
303	positiv	positiv	negativ	positiv	negativ
309	positiv	positiv	negativ	positiv	negativ
335	positiv	positiv	negativ	positiv	negativ
352	positiv	positiv	negativ	positiv	negativ
368	positiv	positiv	negativ	positiv	negativ
302	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
304	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
306	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
307	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
310	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
319	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
322	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
324	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
327	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
330	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
333	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
336	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
340	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
343	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
345	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
348	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
349	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
353	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
355	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
359	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
360	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
361	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
362	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
369	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
371	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
375	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
380	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
382	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
384	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
385	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
395	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
396	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
400	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ
331		positiv	positiv	negativ	negativ
388	positiv	positiv	positiv	negativ	
393	positiv	positiv	positiv	negativ	
311	positiv	positiv	negativ	negativ	negativ
314	positiv	positiv	negativ	negativ	negativ
318	positiv	positiv	negativ	negativ	negativ
344	positiv	positiv	negativ	negativ	negativ
351	positiv	positiv	negativ	negativ	negativ

366	positiv	positiv	negativ	negativ	negativ
367	positiv	positiv	negativ	negativ	negativ
376	positiv	positiv	negativ	negativ	negativ
377	positiv	positiv	negativ	negativ	negativ
378	positiv	positiv	negativ	negativ	negativ
390	positiv	positiv	negativ	negativ	negativ
399	positiv	positiv	negativ	negativ	negativ

Zu Mastende nach 16 Wochen waren zwei Tiere bereits verkauft, die anderen 57 Schweine zeigten einen negativen MRSA-Status. Dazu zählten auch die fünf Tiere, deren Status nach 10 Wochen zunächst wieder positiv war.

Die Umgebung, das Stroh und die Luft wurden nach gleichem Schema, wie in Variante 1 beprobt. Hier waren alle 20 Umgebungsproben einschließlich der exemplarisch in Tabelle 10 aufgeführten und weiterverfolgten Proben MRSA-negativ.

Tabelle 10: MRSA-Status der Umgebung, des Strohs und der Luft während der Mastphase in Variante 2

Umgebung	MRSA-Status					
	vor Einnistung	Einnistung	1 Woche	5 Wochen	10 Wochen	16 Wochen
Trennwand (Zentralgang)	negativ		positiv	negativ	negativ	negativ
Trennwand (rechts)	negativ		positiv	negativ	negativ	negativ
Trennwand (links)	negativ		positiv	negativ	negativ	negativ
Trennwand (hinten)	negativ		positiv	positiv	negativ	negativ
Boden (vorne)	negativ		positiv	negativ	negativ	positiv
Boden (mittig)	negativ		positiv	positiv	negativ	negativ
Rohr über Trennwand (rechts)	negativ		positiv	positiv	negativ	negativ
Rohr über Trennwand (links)	negativ		positiv	positiv	negativ	negativ
Futterautomat	negativ		positiv	negativ	positiv	negativ
Stroh	negativ		positiv	positiv	negativ	negativ
Luft (vorne)	negativ	12 KbE/100l	41 KbE/100l	3 KbE/100l	negativ	negativ
Luft (hinten)	negativ	19 KbE/100l	43 KbE/100l	1 KbE/100l	negativ	negativ

Im Verlauf der Mast wurden alle bis auf eine Umgebungsprobe negativ. Bei den Luftproben waren bei Einnistung 12 bzw. 19 KbE/100l nachweisbar. Die Zahl erhöhte sich nach einer Woche auf 41 bzw 43 KbE/100l und die Umgebung wurde positiv getestet. In Woche 5 nahmen diese Zahlen mit 3 bzw. 1 KbE/100l deutlich ab und gegen Mastende war kein MRSA mehr in der Luft nachweisbar.

Die zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse zeigt den deutlichen Unterschied im Dekolonisierungsverlauf der Tiere und der Umgebung bei den unterschiedlichen Reinigungsvarianten (Abbildung 12).

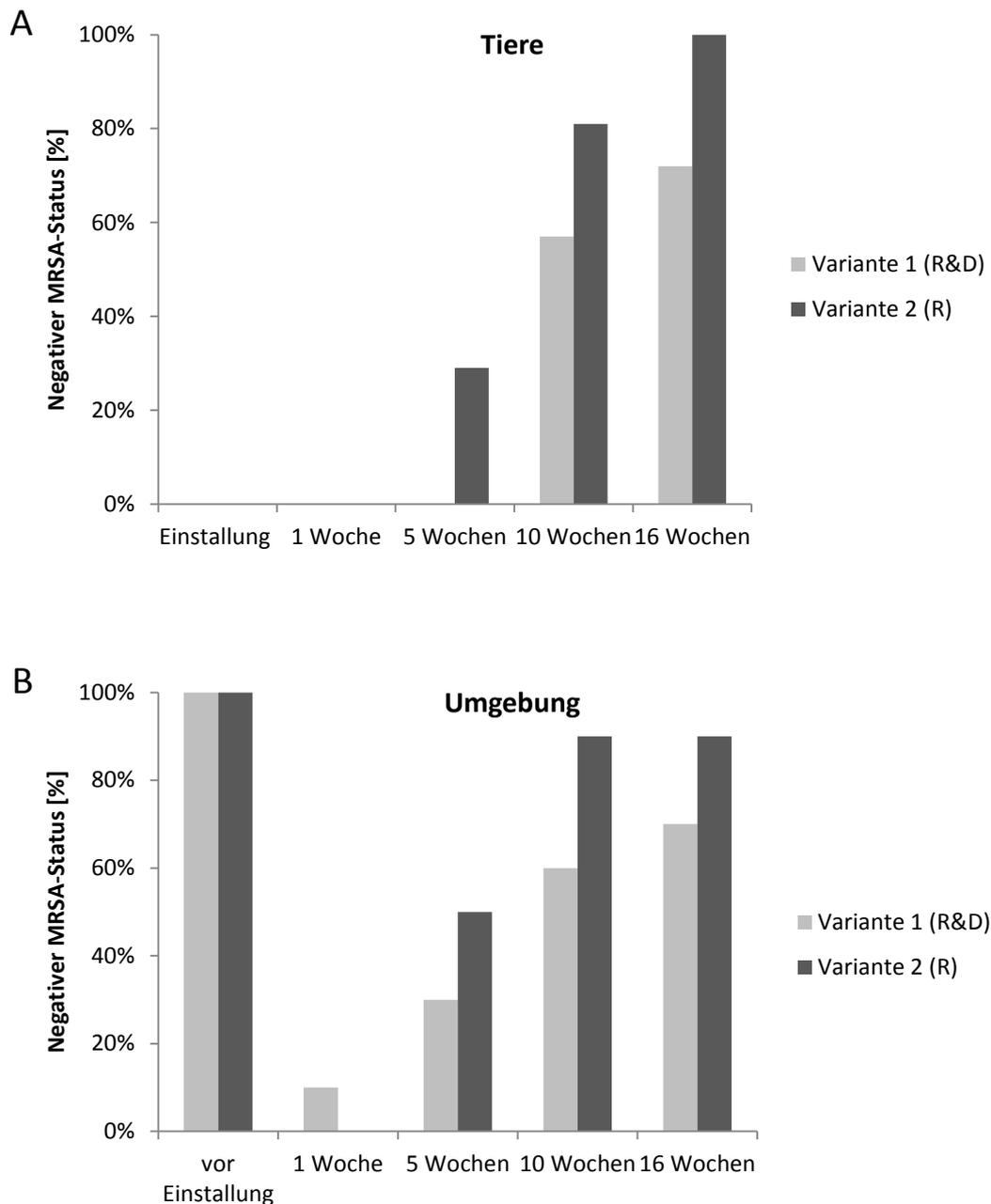


Abbildung 12: Dekolonisierungsverlauf der Tiere und der Umgebung in den unterschiedlichen Varianten

Nach der Reinigung und anschließenden Desinfektion der Versuchsbucht, starteten die Tiere in Variante 1 deutlich später und langsamer in den Prozess der Dekolonisierung (A). In Variante 2 war bereits nach fünf Wochen ein Teil der Tiere MRSA-negativ, was sich bis Mastende zur vollständigen Dekolonisierung fortsetzte. Ähnlich verhielt es sich bei den Umgebungsproben, die vor Einstellung negativ waren (B). Zwar waren in Variante 1 bereits nach einer Woche Tendenzen eines MRSA-Rückgangs zu erkennen, diese entwickelten sich im Laufe der Mast in Variante 2 jedoch stärker, sodass ab Woche 10 90% der Proben negativ waren. Auch in der Umgebung war die Dekolonisierung zu Mastende in Variante 2 weiter fortgeschritten und ab Woche 5 deutlicher nachweisbar.

V. Diskussion

1. Dekontamination MRSA-positiver Schweinebetriebe und Langzeituntersuchung der Mitarbeiter

Bisher war es unbekannt, in welchem Ausmaß die Verbreitung von MRSA im Schweinestall ausgeprägt ist, dies ist vor allem in Hinsicht auf die optimale Reinigung und Desinfektion ein wichtiger Faktor. Als tierassoziiertes Keim, der den Nasen-Rachenraum besiedelt, könnte vermutet werden, dass MRSA größtenteils in Bereichen zu finden ist, die in direktem Kontakt mit den Tieren stehen. Demgegenüber ist MRSA ein Keim, der im Stall und auch in der Umgebung von Stallungen häufig in der Luft gefunden wurde [Bos et al. 2014, Schmithausen et al. 2015]. Daher ist ein Rückzugsort in alle Ecken des Abteils und eine damit aufwändige und schwierige Dekontamination denkbar. Die Ergebnisse stützen die These, dass vor allem in Tierhöhe über 80% der Proben MRSA-positiv waren. Die Schweine berühren mit ihren Rüsseln die Oberflächen und sorgen für eine Verbreitung. In den Bereichen außerhalb der Tierhöhe waren 64% der Proben positiv und der Wert im Vergleich leicht niedriger. Dies zeigt, dass die Stellen auch außerhalb des Tierbereichs durch die Luft kontaminiert werden und MRSA im kompletten Stall zu finden ist.

Im Hauptversuch sollte gezeigt werden, dass es möglich ist eine MRSA-freie Stallung in zuvor kontaminierter Umgebung zu schaffen. In allen drei durchgeführten Durchgängen wurden über 750 Proben genommen und der MRSA-Status des Versuchsabteils untersucht. Die MRSA-positiven Stellen konnten auf bis zu 2% gesenkt werden. Zu den noch positiven Bereichen zählten beispielweise die Zuluft, die Tränkenippelleitung oder das Ventil der Fütterung (vgl. Tabelle 11).

Tabelle 11: MRSA-positive Stellen nach Reinigung und Desinfektion des Versuchsabteils

Durchgang	Gut zu reinigende Stellen	Schlecht zu reinigende Stellen
I	Zuluft innen Zentralgang Boden Zentralgang Boden	-
II	auf Tränkenippelleitung	zwischen Spalten Hinterseite Wasserleitung
III	auf Tränkenippelleitung Ecken Abteilwände/Fensterwände	Hinterseite Wasserleitung Ventile Fütterung

Die betriebseigene Reinigung und Desinfektion wurde, wie auf dem Betrieb üblich, durchgeführt. Beim dritten Durchgang war ein neuer Mitarbeiter verantwortlich und das Abteil war visuell noch verschmutzt. Jedoch waren auch hier nur vier Proben positiv und durch eine leicht angepasste Reinigung und Desinfektion sind die in der Tabelle aufgeführten Stellen ohne weiteres von MRSA freizubekommen. Die Probenorte schlossen zudem äußerst

schlecht zu reinigende Bereiche, wie eine geöffnete Trennwand oder Stellen zwischen den Kabeln der Fütterung ein.

Besonders wichtig war es hier, die Dekontamination in einem praxistauglichen Rahmen durchzuführen, um den Transfer in die Landwirtschaft zu gewährleisten. Die Ergebnisse zeigen, dass dies möglich ist.

Auffällig war, dass sobald neue Tiere in das Abteil eingestallt wurden, sich der MRSA-Status der Umgebung und zuvor negativer Tiere innerhalb von Tagen änderte. Dies unterstreicht die Rolle der Tiere als MRSA-Reservoir und eines der Hauptprobleme in der Verbreitung von laMRSA [Bangerter et al. 2016] und es ist eher unwahrscheinlich, dass die Neubesiedlung von den wenigen positiven Stellen im Stall ausgeht. Die Ergebnisse aus den gesammelten Luftproben verdeutlichen den erhöhten Anteil an MRSA in der Luft bei der Einstellung positiver Tiere. Neben dem direkten Tierkontakt könnten sich die negativen Tiere bei ständiger Exposition mit der Luft dauerhaft besiedeln.

Dies unterstützen die Ergebnisse aus der Langzeitbeprobung der Mitarbeiter, die nach Stallbesuch positiv waren und Luftkontakt hatten. Besonders in Verbindung mit Tierkontakt war ein Großteil der Befunde nach Stallaufenthalt positiv. Im unbelegten Stall hingegen war die Prävalenz deutlich geringer. Auffällig war, dass in den 13 Monaten des Untersuchungszeitraums keine dauerhafte Besiedlung mit MRSA stattfand. Hier könnte der Mechanismus der mukoziliären Clearance der Nasenschleimhaut von ca. 3-13 mm pro Minute Richtung Nasen-Rachenraum eine Rolle spielen [Bachert 1998]. Der mechanische Abtransport des Zelldetritus erfolgt innerhalb von Stunden und könnte die negativen Befunde vor dem nächsten Stallbesuch erklären. Entscheidend scheint jedoch die Dauer der Exposition zu sein. Zwar kann der kurzfristige Aufenthalt mit Tierkontakt zu einem positiven MRSA-Status führen, dieser ändert sich aber meist innerhalb von Stunden [van Cleef et al. 2011]. Demgegenüber ist die Persistenz bei dauerhaftem Kontakt deutlich höher und auch nach längeren Zeiten außerhalb des Stalls besteht die Besiedlung [Köck et al. 2012]. Jedoch ist die erforderliche Expositionsdauer, die für eine dauerhafte Besiedlung benötigt wird, bisher unbekannt.

2. Besiedlung von Mastschweinen mit MRSA im Strohstall

Der Betrieb, in dem die Besiedlung von Mastschweinen mit MRSA untersucht wurde, war innerhalb der interessierten Landwirte der einzige, der die Schweine auf Stroh hält. Neben der freien Lüftung durch große Fenster und teilweise offene Tore, steht den Masttieren ein im Vergleich zu anderen konventionellen Betrieben höheres Platzangebot zur Verfügung. Bei den ersten Untersuchungen wurden für die Klärung des MRSA-Status des Betriebes vereinzelt Proben genommen. Dort fiel auf, dass die Endmasttiere größtenteils MRSA-negativ waren, ähnlich verhielt es sich mit der Umgebung. Weiterführende Untersuchungen in unterschiedlichen Haltungsabschnitten der Tiere zeigten gleiche Tendenzen.

Bei der Versuchsplanung sollten zwei verschiedene Varianten getestet werden. Zum einen die nur grobe Reinigung nach Ausstallung der Schweine, welche standardmäßig durchgeführt wird, zum anderen die gründliche Reinigung und Desinfektion zur starken Keimreduktion, welche für die moderne Tierhaltung empfohlen wird [Lage et al. 2010].

Die Masttiere in den unterschiedlichen Versuchsbuchten hatten für den Versuch gleiche Voraussetzungen. Beide Partien stammten aus den Niederlanden und wurden direkt auf dem Transporter MRSA-positiv getestet und in eine MRSA-negative Bucht eingestallt. Innerhalb der ersten Woche hat sich der MRSA-Status der beiden Gruppen nicht verändert. Auch die Umgebungs- und Strohproben waren positiv. Ab Woche 5 sind in beiden Gruppen unterschiedliche Tendenzen zu erkennen. Während die Gruppe mit Variante 1 (Reinigung und Desinfektion) weiterhin rein positiv ist, ist Variante 2 (Reinigung) bereits zu 29 % negativ. Dies etabliert sich in Woche 10, wo 81 % der Tiere MRSA-negativ sind während der Umschwung in Variante 1 erst in dieser Woche mit 57 % startet. Die Ergebnisse in Woche 16 bei Ausstallung zeigen, dass in Variante 1 alle Tiere MRSA-negativ aus der Mast kommen, wohingegen es bei Variante 2 nur 72 % sind.

Beim Vergleich beider Gruppen fällt auf, dass Variante 1 deutlich langsamer in den Prozess eintritt, der anscheinend zu einer Dekolonisation von MRSA führt. Variante 2 hingegen ist deutlich schneller und die Tiere sind nach 16 Wochen Mast frei von MRSA. Auffallend war, dass bei beiden Gruppen eine MRSA-Freiheit eines Tieres nicht unbedingt ein endgültiger Status sein musste. In Abbildung 13 sind Einzeltierverfolgungen dargestellt, die dies zeigen. Es scheint, dass erst mit Mastende ein stabiler Zustand bzgl. MRSA-Besiedlung eintritt.

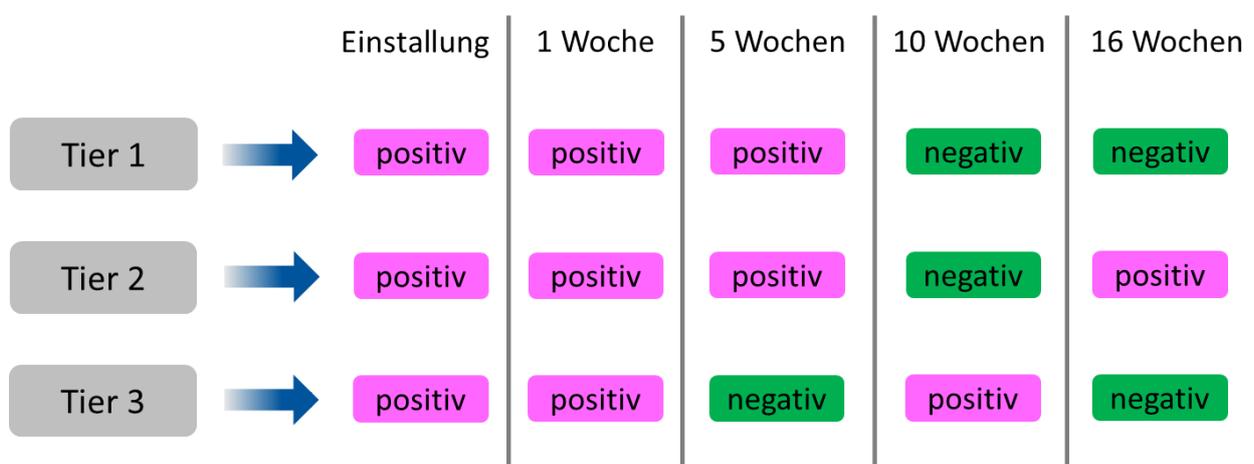


Abbildung 13: Einzeltierverfolgung bei der Untersuchung des MRSA-Status im Strohstall

Bei Tier 2 wurde in den ersten Wochen MRSA nachgewiesen. In Woche 10 war der Befund jedoch wieder positiv und änderte sich erneut zum Zeitpunkt der Ausstallung. Tier 3 änderte seinen Status zweimal zu negativ und war zwischendrin positiv. Wie in Bangerter et. al (2016) beschrieben, lassen auch diese Ergebnisse auf einen äußerst dynamischen Prozess der Besiedlung mit MRSA schließen. Daneben kann aber zumindest bei den Tieren 2 und 3 die Nachweistechnik eine Ursache für die unterschiedlichen Ergebnisse sein, da hier möglicherweise Untersuchungen im Bereich der Nachweisgrenze erfolgten.

Der Effekt der Änderung des MRSA-Status der Tiere in diesem Versuch ist wahrscheinlich auf den positiv unterstützenden Faktor der Stroheinstreu zurückzuführen. Das Stroh in den beiden Buchten wies eine durchschnittliche Gesamtkeimzahl von $5,8 \times 10^6$ KbE/g auf. Die coliformen Keime lagen bei 450.000 KbE/g Einstreu. Diese Bakterien unterschiedlichster Arten könnten in Konkurrenz mit MRSA treten und diese verdrängen. Der Effekt von kompetitiven Bakterien ist seit 1973 bekannt und wurde von Nurmi und Rantala beschrieben. Der genaue Mechanismus ist unbekannt, es wird jedoch vermutet, dass die Verdrängung auf der Konkurrenz um Nährstoffe basiert [Caly et al. 2015]. Das Mikrobiom im Stroh und bakterielle Gemeinschaften leben in komplexen Organisationen. Sie variieren in ihrer Zusammensetzung und werden durch die jeweilige Umgebung beeinflusst [Stubbendieck et al. 2016]. Die Einflüsse auf die Besiedlung der Mastschweine mit MRSA kann also nicht genau geklärt werden, da zu viele Faktoren eine Rolle spielen. Interessant wären zukünftige Mikrobiom-Analysen, die einen Überblick über die bakterielle Zusammensetzung im Stroh geben und weiterführende Untersuchungen im Labor, inwieweit diese einen verdrängenden Effekt auf MRSA ausüben.

Neben der mikrobiellen Besiedlung des Strohs scheint die betriebliche Keimflora ebenfalls eine Bedeutung zu haben. Während diese in Variante 2 durch eine einfache Reinigung ohne Reinigungsmittel aufrechterhalten wurde, wurde sie in Variante 1 durch die Reinigung und Desinfektion eliminiert. Besonders die Desinfektion dient der Reduzierung und Inaktivierung von Bakterien, wobei eine Reduktion der Keimzahl um 3-5 Logarithmenstufen möglich ist [Selbitz et al. 2015]. In dieser Bucht hatten die Mastschweine einen deutlichen verzögerten Start in die Dekolonisation und brauchten für die Dekolonisation länger. Zudem scheint der Dekolonisationsprozess zum Zeitpunkt der Ausstellung nicht abgeschlossen. Möglicherweise bieten die Stroheinstreu und Keimflora des Betriebes einen optimalen kompetitiven Bakterienpool, der gegen MRSA wirken und diesen verdrängen kann.

In weiteren Untersuchungen sollte geklärt werden, ob die Ergebnisse bei einem Tausch der Versuchsbuchten reproduzierbar sind. Möglicherweise spielen auch die leicht baulichen Unterschiede der Versuchsbuchten eine Rolle. Des Weiteren sollten weitere Schweinehaltende Betriebe mit Strohhaltung in die Untersuchungen einbezogen werden, um diese Untersuchungsergebnisse zu bestätigen.

VI. Zusammenfassung

Der Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) ist eine Variante des Bakteriums *Staphylococcus aureus* und kommt meist symptomlos im Nasen-Rachenraum vor. Der landwirtschaftlich-assoziierte MRSA (laMRSA) ist vorwiegend in schweinehaltenden Betrieben zu finden, wobei 80-85% der Schweinehalter nasal mit laMRSA besiedelt sind. Kommt es zu Verletzungen und zu einem Eindringen von MRSA in den Körper, können schlecht verheilende Wundverläufe und eine begrenzte Antibiotikaauswahl die Therapie erschweren. Die zunehmende Verbreitung im landwirtschaftlichen und mittlerweile auch gesellschaftlichen Bereich erfordert die Suche nach Möglichkeiten zur Dekontamination der schweinehaltenden Betriebe.

Untersuchungen in konventionellen schweinehaltenden Betrieben sollten durch die Analyse von Probepunkten im direkten wie indirekten Tierbereich klären, wo und wann sich MRSA nachweisen lässt. Des Weiteren sollten basierend auf diesen Befunden die technischen und personellen Möglichkeiten ausgelotet werden, wie eine MRSA-Dekontamination praxistauglich umzusetzen wäre. Langfristiges Ziel ist die Reduktion von MRSA in den Tierbeständen und den assoziierten Personen.

Der Hauptversuch fand auf einem konventionellen Betrieb mit offenem System in der Ferkelaufzucht statt. Das Versuchsabteil war mit durchschnittlich 400 Absetzferkeln belegt, die ca. 50 Tage in der Ferkelaufzucht verbrachten. Die Probennahme erfolgte in drei Wiederholungen, in denen über 750 Proben genommen wurden. Es wurde jeweils nach Ausstallung der Tiere vor und nach Reinigung und Desinfektion beprobt. Das Vorkommen von MRSA konnte im kompletten Abteil bestätigt werden, Bereiche in Tierhöhe waren besonders stark kontaminiert. Für die Beprobung vor und nach Reinigung und Desinfektion wurden die Probenorte in gut und schlecht zu reinigende Stellen eingeteilt. Schlecht zu reinigende Bereiche sollten Stellen abdecken, die z.B. hinter Leitungen oder unter Trögen liegen und nicht ohne weiteres erreichbar sind. Vor der Reinigung und Desinfektion waren 74% der gut und 69% der schlecht zu reinigenden Stellen MRSA-positiv. Dies konnte nach Reinigung und Desinfektion auf 3 bzw. 2% reduziert werden. Die daraufhin eingestellten Tiere gingen zu 72% positiv in die Ferkelaufzucht. Nach sieben Wochen waren die Ferkel zu 100% und die Umgebung zu 84% wieder MRSA-positiv. Eine Dekontamination nach praxistauglichem Standard ist möglich, jedoch müssen die Tiere als Hauptreservoir für MRSA zuerst dekolonisiert werden.

Erstmals wurde in Hinblick auf eine mögliche Dekolonisierung der Tiere durch kompetitive Bakterien, der MRSA-Status von Mastschweinen in einem Strohstall untersucht. Es gab zwei Varianten, bei denen die Bucht gereinigt und desinfiziert (Variante 1) und nur gereinigt (Variante 2) wurde. Alle Tiere gingen MRSA-positiv in die Mast. Nach 16 Wochen waren 72% der Tiere in Variante 1 und 100% der Tiere in Variante 2 dekolonisiert von MRSA. Der positive Effekt auf den MRSA-Status könnte auf die Stroheinstreu zurückzuführen sein, wodurch kompetitive Bakterien mit den MRSA-Bakterien konkurrieren. Die Maßnahme in Variante 2 könnte zudem die zusätzlich unterstützende betriebseigene Keimflora

aufrechterhalten haben, wodurch diese Gruppe schneller in den Dekolonisationsprozess gestartet sein könnte.

Eine Langzeituntersuchung über den MRSA-Status von Mitarbeitern der Fachhochschule Südwestfalen erfolgte über einen Zeitraum von 13 Monaten mit über 225 Proben vor und direkt nach Stallbesuch auf schweinehaltenden Betrieben. Nach Stallbesuch ohne Tierkontakt war der MRSA-Status der Mitarbeiter zu durchschnittlich 10% positiv, wohingegen der Wert bei Stallbesuch mit Tierkontakt bei über 76% lag. Eine dauerhafte Besiedlung mit MRSA trotz häufiger Exposition wurde nicht detektiert.

Die Schaffung MRSA-freier Stallung durch eine optimierte Reinigung und Desinfektion ist möglich. Die Tiere als MRSA-Hauptreservoir kontaminieren die Umgebung jedoch wieder, wodurch zunächst eine Strategie zur Dekontamination der Tiere geschaffen werden muss. Kompetitive Bakterien oder eine Stroheinstreu könnten diesen Effekt induzieren und unterstützend bei einer dauerhaften Elimination von MRSA aus Tierställen wirken.

VII. Literaturverzeichnis

- Armand-Lefevre, L., Ruimy, R., & Andremont, A. (2005). Clonal comparison of *Staphylococcus* from healthy pig farmers, human controls, and pigs. *Emerging Infectious Diseases*, *11*(5), 711–714. <https://doi.org/10.3201/eid1105.040866>
- Bachert, C. Die Wirkung von Benzalkoniumchlorid auf das Flimmerepithel der Schleimhaut. *HNO*. 1998 Februar (46):90-2
- Bangerter, P. D., Sidler, X., Perreten, V., & Overesch, G. (2016). Longitudinal study on the colonisation and transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farms. *Veterinary Microbiology*, *183*, 125–134. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.12.007>
- Bos, M. E. H., Verstappen, K. M., van Cleef, B. a G. L., Dohmen, W., Dorado-García, A., Graveland, H., ... Heederik, D. J. J. (2014). Transmission through air as a possible route of exposure for MRSA. *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology*, (October), 1–7. <https://doi.org/10.1038/jes.2014.85>
- Caly, D. L., D’Inca, R., Auclair, E., & Drider, D. (2015). Alternatives to antibiotics to prevent necrotic enteritis in broiler chickens: A microbiologist’s perspective. *Frontiers in Microbiology*, *6*(DEC), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01336>
- Campos, G. B., Souza, S. G., Lobão, T. N., Da Silva, D. C. C., Sousa, D. S., Oliveira, P. S., ... Marques, L. M. (2012). Isolation, molecular characteristics and disinfection of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from ICU units in Brazil. *New Microbiologica*, *35*(2), 183–190.
- European Food Safety Authority. (2009). Analysis of the baseline survey on the prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in holdings with breeding pigs, in the EU, 2008 - Part A: MRSA prevalence estimates. *EFSA Journal*, *7*(11), 1376. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1376>
- EFSA - European Food Safety Authority. (2013). The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in Antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans , animals and food in the European Union in 2011. *EFSA Journal*, *11*(5), 1–359. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2013.3196>. Available
- García-Álvarez, L., Holden, M. T. G., Lindsay, H., Webb, C. R., Brown, D. F. J., Curran, M. D., ... Holmes, M. A. (2011). Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: A descriptive study. *The Lancet Infectious Diseases*, *11*(8), 595–603. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(11\)70126-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(11)70126-8)
- Graham, J. P., Evans, S. L., Price, L. B., & Silbergeld, E. K. (2009). Fate of antimicrobial-resistant enterococci and staphylococci and resistance determinants in stored poultry litter. *Environmental Research*, *109*(6), 682–689. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2009.05.005>
- Gupta, A. K., Nayduch, D., Verma, P., Shah, B., Ghate, H. V., Patole, M. S., & Shouche, Y. S. (2012). Phylogenetic characterization of bacteria in the gut of house flies (*Musca domestica* L.). *FEMS Microbiology Ecology*, *79*(3), 581–593. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01248.x>

- Köck, R., Brakensiek, L., Mellmann, A., Kipp, F., Henderikx, M., Harmsen, D., ... Friedrich, A. W. (2009). Cross-border comparison of the admission prevalence and clonal structure of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Hospital Infection*, *71*(4), 320–326. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2008.12.001>
- Köck, R., Harlizius, J., Bressan, N., Laerberg, R., Wieler, L. H., Witte, W., ... Friedrich, A. W. (2009). Prevalence and molecular characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among pigs on German farms and import of livestock-related MRSA into hospitals. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, *28*(11), 1375–1382. <https://doi.org/10.1007/s10096-009-0795-4>
- Köck, R., Ballhausen, B., Bischoff, M., Cuny, C., Eckmanns, T., Fetsch, A., ... Becker, K. (2014). The impact of zoonotic MRSA colonization and infection in Germany. *Berl.Münch.Tierärztl.Wochenschr.*, *127*(9/10), 384–398. <https://doi.org/10.2376/0005-9366-127-384>
- Köck, R., Becker, K., Cookson, B., Harbarth, S., Kluytmans, J., Mielke, M., ... Skov, R. L. (2014). Systematic literature analysis and review of targeted preventive measures to limit healthcare-associated infections by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Euro Surveillance*, *19*, 23–49. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES2014.19.37.20902>
- Köck, R., Loth, B., Köksal, M., Schulte-Wülwer, J., Harlizius, J., & Friedrich, A. W. (2012). Persistence of nasal colonization with livestock-associated methicillin-resistant staphylococcus aureus in pig farmers after holidays from pig exposure. *Applied and Environmental Microbiology*, *78*(11), 4046–4047. <https://doi.org/10.1128/AEM.00212-12>
- Köck, R., Schaumburg, F., Mellmann, A., Köksal, M., Jurke, A., Becker, K., & Friedrich, A. W. (2013). Livestock-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) as Causes of Human Infection and Colonization in Germany. *PLoS ONE*, *8*(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055040>
- Kriegeskorte, A., Ballhausen, B., Idelevich, E. A., Köck, R., Friedrich, A. W., Karch, H., ... Becker, K. (2012). Human MRSA isolates with novel genetic homolog, Germany. *Emerging Infectious Diseases*. <https://doi.org/10.3201/eid1806.110910>
- Lage, A. BECKERT, I., NIEMANN, F. (2010): Hygienetechnik und Managementhinweise zur Reinigung und Desinfektion von Stallanlagen, DLG-Merkblatt 364, DLG e.V. Fachzentrum Land- und Ernährungswirtschaft, Frankfurt/ Main
- Lozano, C., Aspiroz, C., Lasarte, J. J., Gómez-Sanz, E., Zarazaga, M., & Torres, C. (2011). Dynamic of nasal colonization by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 and ST1 after mupirocin treatment in a family in close contact with pigs. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, *34*(1). <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2010.06.006>
- Mellmann, A., Friedrich, A. W., Rosenkötter, N., Rothgänger, J., Karch, H., Reintjes, R., & Harmsen, D. (2006). Automated DNA sequence-based early warning system for the detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* outbreaks. *PLoS Med*, *3*(3), e33. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0030033>

- Mellmann, A., Weniger, T., Berssenbrügge, C., Rothgänger, J., Sammeth, M., Stoye, J., & Harmsen, D. (2007). Based Upon Repeat Pattern (BURP): an algorithm to characterize the long-term evolution of *Staphylococcus aureus* populations based on spa polymorphisms. *BMC Microbiology*, 7(1), 98. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-7-98>
- Petersen, A., Stegger, M., Heltberg, O., Christensen, J., Zeuthen, A., Knudsen, L. K., ... Larsen, A. R. (2013). Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying the novel mecC gene in Denmark corroborates a zoonotic reservoir with transmission to humans. *Clinical Microbiology and Infection*, 19(1). <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12036>
- Pletinckx, L. J., Dewulf, J., De Bleecker, Y., Rasschaert, G., Goddeeris, B. M., & De Man, I. (2013). Effect of a disinfection strategy on the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC398 prevalence of sows, their piglets and the barn environment. *Journal of Applied Microbiology*, 114(6), 1634–1641. <https://doi.org/10.1111/jam.12201>
- Rahuma, N., Ghenghesh, K. S., Ben Aissa, R., & Elamaari, a. (2005). Carriage by the housefly (*Musca domestica*) of multiple-antibiotic-resistant bacteria that are potentially pathogenic to humans, in hospital and other urban environments in Misurata, Libya. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 99(8), 795–802. <https://doi.org/10.1179/136485905X65134>
- Rantala, M., & Nurmi, E. (1973). Prevention of the growth of *Salmonella infantis* in chicks by the flora of the alimentary tract of chickens. *Br Poult Sci*, 14(6), 627–630. <https://doi.org/10.1080/00071667308416073>
- Schaumburg, F., Köck, R., Mellmann, A., Richter, L., Hasenberg, F., Kriegeskorte, A., ... Zöllner, B. (2012). Population dynamics among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in Germany during a 6-year period. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(10), 3186–3192. <https://doi.org/10.1128/JCM.01174-12>
- Schmithausen, R. M., Kellner, S. R., Schulze-Geisthoevel, S. V., Hack, S., Engelhart, S., Bodenstein, I., ... Bekeredian-Ding, I. (2015). Eradication of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and of enterobacteriaceae expressing extended-spectrum beta-lactamases on a model pig farm. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(21), 7633–7643. <https://doi.org/10.1128/AEM.01713-15>
- Selbitz, H., Truyen, U., Valentin-Weigand, P., Alber, G., Amtsberg, G., Bauer, J., Bauerfeind, R., Beer, M., Ewers, C., Groschup, M. H., Haas, L., König, M., Moos, M., Osterrieder, N., Pfeffer, M., Rösler, U., Schwaiger, K., Straubinger, R. K., Thiel, H., Verspohl, J., & Wieler, L. H. (2015): Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre 10., aktualisierte Auflage. Enke Verlag. S. 27
- Stubbendieck, R. M., Vargas-Bautista, C., & Straight, P. D. (2016). Bacterial communities: Interactions to scale. *Frontiers in Microbiology*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01234>
- van Cleef, B. A., Graveland, H., Haenen, A. P., van de Giessen, A. W., Heederik, D., Wagenaar, J. A., & Kluytmans, J. A. (2011). Persistence of livestock-associated MRSA after short term occupational exposure to pigs and veal calves. *J Clin Microbiol*, (1098–660X (Electronic)). <https://doi.org/10.1128/JCM.00493-10>

- van de Giessen, A. W., van Santen-Verheuevel, M. G., Hengeveld, P. D., Bosch, T., Broens, E. M., & Reusken, C. B. E. M. (2009). Occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in rats living on pig farms. *Preventive Veterinary Medicine*, *91*(2–4), 270–273.
<https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2009.05.016>
- von Eiff, C., Becker, K., Machka, K., Stammer, H., & Peters, G. (2001). Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. Study Group. *The New England Journal of Medicine*, *344*(1), 11–6. <https://doi.org/10.1056/NEJM200101043440102>
- Voss, A., Loeffen, F., Bakker, J., Klaassen, C., & Wulf, M. (2005). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Pig Farming. *Emerging Infectious Diseases*, *11*(12), 1965–1966.
<https://doi.org/10.3201/eid1112.050428>
- Wagenaar, J. A., Yue, H., Pritchard, J., Broekhuizen-Stins, M., Huijsdens, X., Mevius, D. J., ... Van Duijkeren, E. (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. *Veterinary Microbiology*, *139*(3–4), 405–409.
<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.06.014>