

Grundlagenstudie zur Erhebung der Prävalenz von MRSA in Zuchtschweinebeständen vorgelegt

Stellungnahme Nr. 044/2009 des BfR vom 25. März 2009

Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) können insbesondere in Krankenhäusern beim Menschen schwere Gesundheitsbeschwerden mit Todesfolge auslösen. In den vergangenen Jahren wurde das Vorkommen eines bestimmten Typs von MRSA bei Nutztieren beschrieben. Zur Abschätzung der Verbreitung (Prävalenz) von MRSA in Beständen von Zuchtschweinen hat die Europäische Union in allen Mitgliedsstaaten eine Grundlagenstudie durchgeführt. Diese Studie war gekoppelt mit einer Untersuchung zur Prävalenz von Salmonellen in diesen Betrieben. Die Erhebungen wurden zwischen dem 1. Januar und dem 31. Dezember 2008 nach einem von der EU vorgegebenen Studiendesign vorgenommen. Sie erfassten in jedem Mitgliedsstaat mindestens 80 % der Zuchtschweine und wurden vorzugsweise in Betrieben mit mindestens 50 Zuchtschweinen durchgeführt. In jedem Mitgliedsstaat wurden repräsentativ Betriebe für die unterschiedlichen geografischen Gegebenheiten ausgewählt.

Deutschland hat jetzt das Ergebnis seiner Grundlagenstudie zur Erhebung des Vorkommens von MRSA in Zuchtschweinebeständen vorgelegt. Die Probenahme in den Betrieben und die Datenerfassung erfolgten durch die Landesbehörden. Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) koordinierte die Studie, überwachte die Diagnostik, typisierte die Isolate und erstellte den Bericht.

Von 201 Beständen wiesen 84 in den untersuchten Staubproben Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* auf. Die isolierten MRSA gehörten zu 93 % dem bei Nutztieren häufigen Sequenztyp ST398 an. Dies bestätigt die Ergebnisse weiterer vom BfR in Zusammenarbeit mit den Ländern durchgeführter Studien zur Verbreitung von MRSA in der deutschen Schweinepopulation.

1 Probenziehplan

Die Daten zur Berechnung des Probenziehplans für Deutschland stammten aus dem Jahr 2005 (Statistisches Bundesamt). Insgesamt wurden in Deutschland im Mai 2005 2,542 Millionen Zuchtschweine in 33.700 Beständen gehalten. Von diesen Schweinen wurden 309.200 Zuchtschweine in Betrieben mit weniger als 50 Zuchtschweinen pro Betrieb gehalten. Dies sind 12,2 % der Zuchtschweinepopulation. Gemäß der Entscheidung 2008/55/EG wurden für die Studie nur Betriebe mit mehr als 50 Zuchtschweinen ausgewählt.

Insgesamt 13.000 Betriebe hatten mehr als 50 Zuchtschweine. Diese hielten ca. 2,232 Millionen Zuchtschweine. Das sind 87,8 % der Zuchtschweinepopulation.

Für deutsche Betriebe liegen keine statistischen Informationen vor, die es erlauben, Zuchtbetriebe von Erzeugerbetrieben gemäß der Definition der Entscheidung 2008/55/EG zu unterscheiden. Daher wurde für die Erstellung des Stichprobenplans der unter Nr. 2.3.1 im Anhang 1 der Entscheidung 2008/55/EG, Abschnitt A festgelegte Untersuchungsumfang von X+30 % Betrieben zugrunde gelegt.

Tabelle 1 zeigt die Verteilung der zu untersuchenden Bestände auf die Länder. Die Verteilung der Stichprobe auf die Länder erfolgte gemäß dem Anteil der in diesem Land vorhandenen Zuchtschweinebestände mit über 50 Zuchttieren an allen Zuchtschweinebeständen mit über 50 Zuchttieren in Deutschland. In den Ländern Berlin, Bremen, Hamburg und Saarland

ist die Zahl der Zuchtschweinebetriebe, die die Anforderung der Studie erfüllen, so gering, dass sie nicht in die Stichprobe aufgenommen wurden. Der Stichprobenplan wurde vom Friedrich Loeffler-Institut erstellt und von Seiten des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) den Ländern zur Verfügung gestellt. Insgesamt war vorgesehen, zumindest 169 Vermehrerbetriebe und 51 Zuchtbetriebe zu beproben.

Tabelle 1: Probenziehplan für die Länder in Bezug auf die Untersuchung gemäß Entscheidung 2008/55/EG. Der Plan beinhaltet einen Sicherheitszuschlag von 10 %.

Bundesländer	Anzahl der zu beprobenden Schweinezuchtbetriebe mit +30 % Aufschlag		Sicherheitsaufschlag 10 %	Gesamtanzahl zu beprobender Betriebe mit 10 % Sicherheitsaufschlag
	Anzahl der zu beprobenden Betriebe ohne +30 % Aufschlag	Anzahl der +30 % Betriebe (reine Schweinezuchtbetriebe)		
Baden-Württemberg	28		2	30
	22	6		
Bayern	44		4	48
	34	10		
Brandenburg	4		1	5
	3	1		
Hessen	6		-	6
	5	1		
Mecklenburg-Vorpommern	3		1	4
	2	1		
Niedersachsen	57		5	62
	44	13		
Nordrhein-Westfalen	52		5	57
	40	12		
Rheinland-Pfalz	3		-	3
	2	1		
Sachsen	4		1	5
	3	1		
Sachsen-Anhalt	7		2	9
	5	2		
Schleswig-Holstein	9		-	9
	7	2		
Thüringen	3		1	4
	2	1		
Gesamt	220		22	242
	169	51		

Innerhalb der Länder und durch die Länder erfolgte dann die Aufteilung der Probenzahl auf die Landkreise und die Monate des Jahres 2008.

2 Aufgabenverteilung bei der Vorbereitung und Durchführung der Studie

Im Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) waren die Fachgruppe Epidemiologie und Zoonosen, das Nationale Referenzlabor für Koagulase-positive Staphylokokken einschließlich *Staphylococcus aureus* (NRL-Staph) und das Nationale Referenzlabor für Antibiotikaresistenz (NRL Antibiotikaresistenz) für die Organisation der Studie, die Überwachung der Diagnostik, die Typisierung der Isolate und die Berichterstattung verantwortlich.

Die Probennahme und Datenerfassung erfolgte durch die zuständigen Behörden der Länder.

Die Untersuchung der Primärproben und die Isolierung Methicillin-resistenter *S. aureus* (MRSA) mit den vorgeschriebenen Methoden erfolgten in den von den Ländern benannten amtlichen Untersuchungseinrichtungen. Ein Teil der Untersuchungen erfolgte auch im NRL-Staph am BfR. Eine Liste der beteiligten Untersuchungseinrichtungen der Länder findet sich im Anhang.

Die molekularbiologische Bestätigung sowie die Typisierung der MRSA erfolgten im NRL-Staph und im NRL Antibiotikaresistenz. In den Referenzlaboren erfolgt auch die Lagerung der Isolate entsprechend den Bestimmungen der Entscheidung.

Alle Laboratorien verfügen über die Erfahrung in der Anwendung der erforderlichen Nachweisverfahren, wenden ein Qualitätssicherungssystem an und sind nach ISO/IEC 17025:2005 akkreditiert.

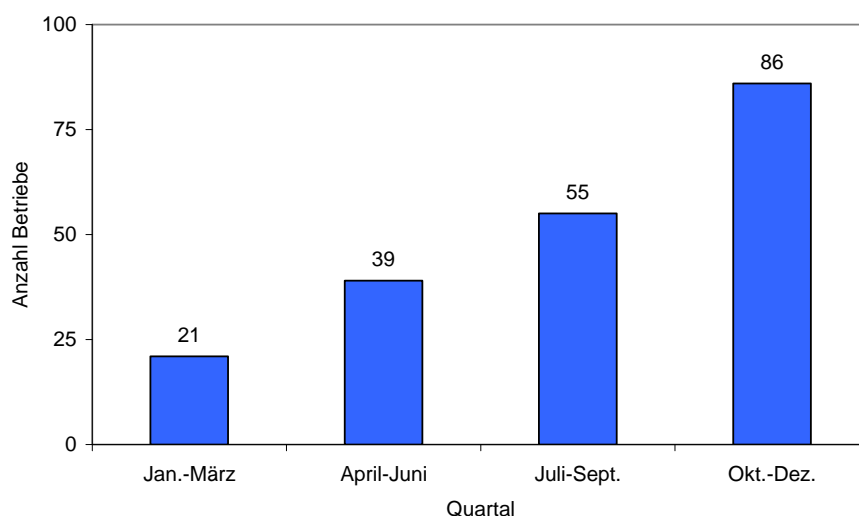
3 Umsetzung der Studie

Die Grundlagenstudie wurde termingerecht in der Zeit vom 01. Januar 2008 bis 31. Dezember 2008 durchgeführt. In den Beständen wurden gemäß den Vorgaben der Entscheidung Staubproben zur Untersuchung auf MRSA genommen. Die vom BfR zur Verfügung gestellten Datenerfassungsbögen wurden von den zuständigen Behörden der Länder an das BfR übermittelt. Die dort enthaltenen Daten wurden in einer Datenbank erfasst.

Im Studienzeitraum wurden 249 Zuchtbestände beprobt. In diesen Beständen wurden 249 gepoolte Staubproben aus je 5 Einzelproben aus verschiedenen Stallabteilungen genommen. Die Daten von 48 Einsendungen mussten von der Auswertung ausgeschlossen werden, da Pflichtangaben in den Erhebungsbögen fehlten oder die Probenahme nicht den Vorgaben der Entscheidung entsprach. Die vorliegende Auswertung bezieht sich somit auf 201 Zuchtbestände. Von diesen 201 Beständen waren 46 der Zuchtebene (Nukleusherden und Jungsauvermehrungsbetriebe) und 155 der Produktionsebene (Ferkelproduktion überwiegend für die Mast) zuzuordnen.

Die Verteilung der Untersuchungen auf die Quartale des Studienjahres ist in Abbildung 1 dargestellt. Mit zunehmender Studiendauer stieg die Anzahl der pro Quartal untersuchten Betriebe an. Der geringe Anteil der im ersten Quartal untersuchten Betriebe ist teilweise auf die sehr späte Spezifikation der erforderlichen Untersuchungen im Hinblick auf MRSA durch die gemeinschaftlichen Verfahren zurückzuführen.

Abbildung 1: Verteilung der ausgewerteten Bestände über den Studienzeitraum (n=201)



Die Verteilung der untersuchten Bestände auf verschiedene Größenklassen zeigt Tabelle 2. Alle ausgewerteten Betriebe verfügten über mindestens 50 Zuchttiere. Insgesamt waren die Zuchtbetriebe geringfügig größer als die Produktionsbetriebe. In beiden Gruppen von Betrieben war die Größenklasse 100 bis 399 Schweine die mit Abstand größte Gruppe der Betriebe (Tabelle 2).

Tabelle 2: Größe der in die Auswertung einbezogenen Bestände nach Nutzungsart

Anzahl der Tiere	Zuchtbetriebe		Erzeugerbetriebe		Gesamt
	n	%	n	%	
50-99	3	6,5	22	14,2	25
100-399	23	50,0	103	66,5	126
400-999	13	28,3	15	9,7	28
>999	7	15,2	15	9,7	22
Gesamt	46	100	155	100	201

3.1 Angewendete Untersuchungsmethoden

Für die Untersuchung der Staubproben auf MRSA wurde in der Entscheidung 2008/55/EG Anhang 1, Teil C Nr. 2.3 eine Methode vorgeschrieben, nach der die Untersuchung erfolgte.

Die Bestätigung der MRSA-verdächtigen Isolate erfolgte anhand der Multiplex-PCR nach Poulsen (Poulsen et al. 2003). Die Typisierung nach dem für das Protein A codierenden *spa*-Gen erfolgte nach der Methode von Shopsin (Shopsin et al. 1999). Die MLST-Typisierung erfolgte anhand der von Enright beschriebenen Methode (Enright et al. 2000).

4 Ergebnisse

Gemäß dem Studienplan werden die Ergebnisse der Prävalenzschätzung getrennt für Zucht- und Produktionsbetriebe dargestellt.

4.1 Prävalenz von Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus*

MRSA wurden in 84 von den 201 untersuchten Betrieben nachgewiesen (41,8 %). Zwischen der Zuchtebene (43,5 %) und der Produktionsebene (41,3 %) gab es nur geringe Unterschiede (Tabelle 3).

Tabelle 3: Nachweise von MRSA in Zuchtbetrieben und Erzeugerbetrieben nach Betriebstyp

Betriebstyp	MRSA bestätigt		Betriebe
	n	%	n
Zuchtbetriebe			
➤ Jungsauenvermehrter	16	45,7	35
➤ Nukleusherden	4	36,4	11
Gesamt Zuchtbetriebe	20	43,5	46
Erzeugerbetriebe			
➤ mit eigener Mast	27	44,1	59
➤ mit Verkauf von Läuferschweinen	24	44,4	54
➤ mit Verkauf von Absatzferkeln	14	33,3	42
Gesamt Erzeugerbetriebe	64	41,3	155
Alle Betriebe	84	41,8	201

Beziehungen zwischen Studienquartal und den Untersuchungsergebnissen

Insgesamt zeigten sich bei der Untersuchung auf MRSA in den unterschiedlichen Studienquartalen keine klaren Unterschiede (Abbildung 2). In den Monaten April bis Juni (2. Quartal) war der Anteil MRSA-positiver Bestände etwas geringer als in den anderen drei Quartalen. Es zeigte sich im Verlauf der Studie aber kein klarer Trend nach oben oder unten. Der Vergleich der Ergebnisse nach Studienquartalen wird durch die ungleichmäßige Verteilung der untersuchten Bestände über die Quartale beeinträchtigt.

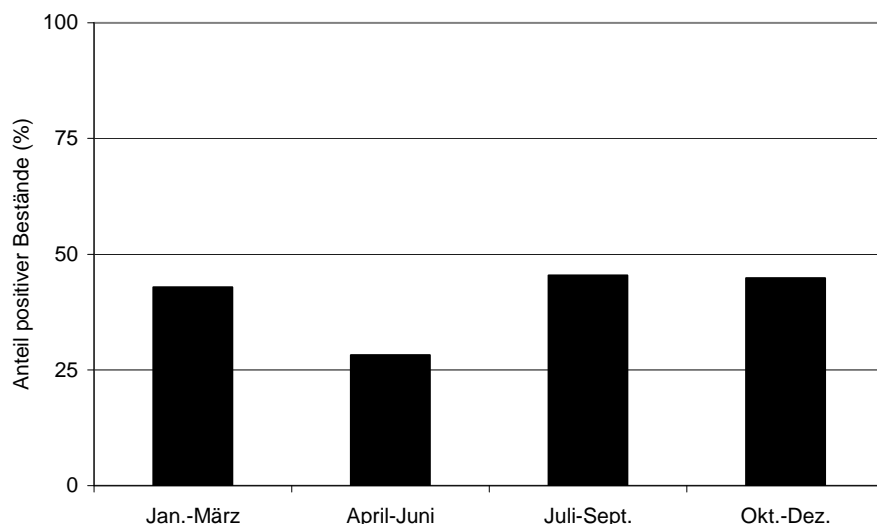
Beziehung zwischen Betriebsgröße und Untersuchungsergebnis

In den Beständen mit weniger als 100 Sauen wurden weniger häufig MRSA nachgewiesen, während sich bei den drei größeren Betriebsgruppen keine eindeutige Tendenz zeigte. Tabelle 4 zeigt die Beziehung zwischen Betriebsgröße und Untersuchungsergebnis getrennt für die Zucht- und Erzeugerbetriebe.

Tabelle 4: Nachweis von MRSA in Zucht- und Erzeugerbetrieben unterschiedlicher Größe

Anzahl Zuchtschweine im Betrieb	Zuchtbetriebe			Erzeugerbetrieb		
	Anzahl Bestände	MRSA n	MRSA (%)	Anzahl Bestände	MRSA n	MRSA (%)
50-99	3	0	0	22	4	18,2
100-399	23	13	56,5	103	45	43,7
400-999	13	6	46,2	15	5	33,3
>999	7	1	14,3	15	10	66,7
Gesamt	46	20	43,5	155	64	41,3

Abbildung 2: Anteil positiver Bestände für MRSA nach Untersuchungsquartalen



4.2 Typisierung der MRSA

Die 84 isolierten MRSA-Isolate gehörten 10 verschiedenen *spa*-Typen an (Tabelle 5). Die meisten gehörten zu den *spa*-Typen t011 (66,7 %) und t034 (14,3 %) sowie t108 (6,0 %). Diese *spa*-Typen werden in der Literatur dem MLST-Typ ST398 zugeordnet. Auch die meisten der weiteren identifizierten *spa*-Typen sind diesem MLST-Typ zuzuordnen. Die Zugehörigkeit der *spa*-Typen zu den entsprechenden MLST-Typen konnte anhand der MLST-Typisierung mindestens je eines der Isolate eines *spa*-Typs bestätigt werden.

Tabelle 5: Nachweis unterschiedlicher *spa*-Typen von MRSA in Zucht- und Erzeugerbetrieben

	Zuchtbetriebe		Erzeugerbetriebe		Gesamt	
	n	%	n	%	n	%
t007	.		2	3,1	2	2,4
t011	15	75,0	41	64,1	56	66,7
t034	3	15,0	9	14,1	12	14,3
t108	1	5,0	4	6,3	5	6,0
t1250	.		1	1,6	1	1,2
t1430	.		1	1,6	1	1,2
t1451	.		2	3,1	2	2,4
t2510	1	5,0	1	1,6	2	2,4
t3992	.		2	3,1	2	2,4
t5487	.		1	1,6	1	1,2
Gesamt	20	100	64	100	84	100

Zwei Isolate waren dem *spa* Typ t007 zuzuordnen, der dem MLST-Typ ST39 zugeordnet wird. Ein Isolat wurde dem *spa*-Typ t1430 zugeordnet. Mit diesem ist der MLST-Typ ST9 verbunden. Die zwei Isolate vom *spa*-Typ t3992 sowie ein Isolat des *spa*-Typs t5487 waren dem MLST-Typ ST97 zuzuordnen. Damit gehörten insgesamt 6 der 84 Isolate (7,1 %) nicht dem MLST-Typ ST398 an.

5 Referenzen

- Enright, M. C., N. P. Day, C. E. Davies et al. 2000. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 38(3):1008-1015.
- Poulsen, A. B., R. Skov, und L. V. Pallesen. 2003. Detection of methicillin resistance in coagulase-negative staphylococci and in staphylococci directly from simulated blood cultures using the EVIGENE MRSA Detection Kit. *J Antimicrob. Chemother.* 51(2):419-421.
- Shopsin, B., M. Gomez, S. O. Montgomery et al. 1999. Evaluation of protein A gene polymorphic region DNA sequencing for typing of *Staphylococcus aureus* strains. *J Clin Microbiol* 37(11):3556-3563.

Anhang

Laboratorien, die an der Untersuchung auf MRSA beteiligt waren

- | | | |
|----|-----------------------------|--|
| 1 | Bayern | Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit
Eggenreuther Weg 43
91058 Erlangen |
| 2 | Bayern | Bayrisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit
- Dienststelle Oberschleißheim
Veterinärstr. 2
85764 Oberschleißheim |
| 3 | Berlin | Nationales Referenzlabor für Koagulase-positive Staphylokokken
einschließlich <i>Staphylokokkus aureus</i>
Bundesinstitut für Risikobewertung
Diedersdorfer Weg 1
12277 Berlin |
| 4 | Brandenburg | Landeslabor Brandenburg
Gerhard-Neumann-Str. 2/3
15236 Frankfurt (Oder) |
| 5 | Hessen | Hessisches Landeslabor
Schubertstr. 60
35392 Gießen |
| 6 | Hessen | Hessisches Landeslabor - Standort Kassel
Druseltalstr. 67
34131 Kassel |
| 7 | Mecklenburg -
Vorpommern | Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und
Fischerei
Thierfelder Str. 18
18059 Rostock |
| 8 | Niedersachsen | Niedersächsisches Landesamt für Verbraucherschutz und
Lebensmittelsicherheit, LAVES
Philosophenweg 38
26121 Oldenburg |
| 9 | Niedersachsen | Niedersächsisches Veterinärinstitut Hannover
Eintrachtweg 17
30173 Hannover |
| 10 | Nordrhein -
Westfalen | Chemisches- und Veterinäruntersuchungsamt Ostwestfalen-Lippe
Westerfelderstrasse 1
32758 Detmold |
| 11 | Nordrhein -
Westfalen | Staatliches Veterinäruntersuchungsamt
Deutscher Ring 100
47798 Krefeld |
| 12 | Nordrhein -
Westfalen | Staatliches Veterinäruntersuchungsamt
Taubeneiche 10-12
59821 Arnsberg |
| 13 | Nordrhein -
Westfalen | Chemisches Landes- und Staatliches Veterinäruntersuchungsamt
Joseph- König Str. 40
48147 Münster |
| 14 | Sachsen | Landesuntersuchungsanstalt für das Gesundheits- und Veterinär-
wesen Sachsen - Standort Dresden |

- 15 Sachsen-
Anhalt
Jägerstr. 8 /10
1099 Dresden
Landesamt für Verbraucherschutz Sachsen-Anhalt - Fachbereich
4 Veterinärmedizin
Haferbreiter Weg 132-135
39576 Stendal
- 16 Thüringen
Thüringer Landesamt für Lebensmittelsicherheit und Verbraucher-
schutz
Tennstedter Str. 8/9
99947 Bad Langensalza