

# Luquasta I

## Untersuchungen zum Keimspektrum **IM STALL** mit **Fokus auf Staphylokokken** bei **Geflügel** und **Schweinen**

*Emissionsbeurteilung in der Nutztierhaltung, online, 05.04.2022*

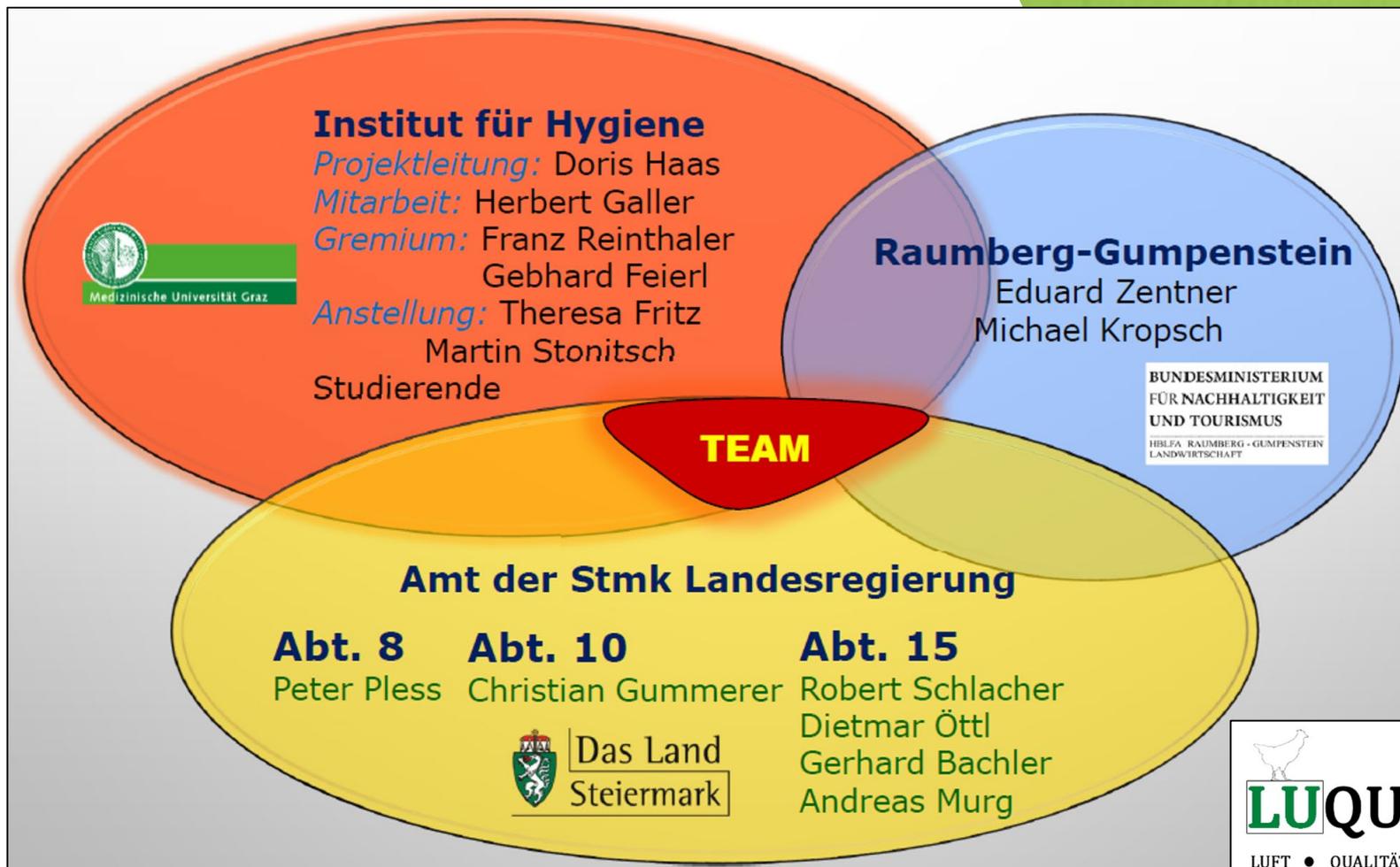
HBLFA Raumberg-Gumpenstein

**Sabine Köck<sup>1</sup>, Tea Mišković<sup>1</sup>, Jakob Kedwani<sup>1</sup>, Thomas Eirisch<sup>1</sup> & Michael Kropsch<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Diplomandinnen und Diplomanden der Med. Univ. Graz, D&F Institut für Hygiene, Mikrobiologie und Umweltmedizin

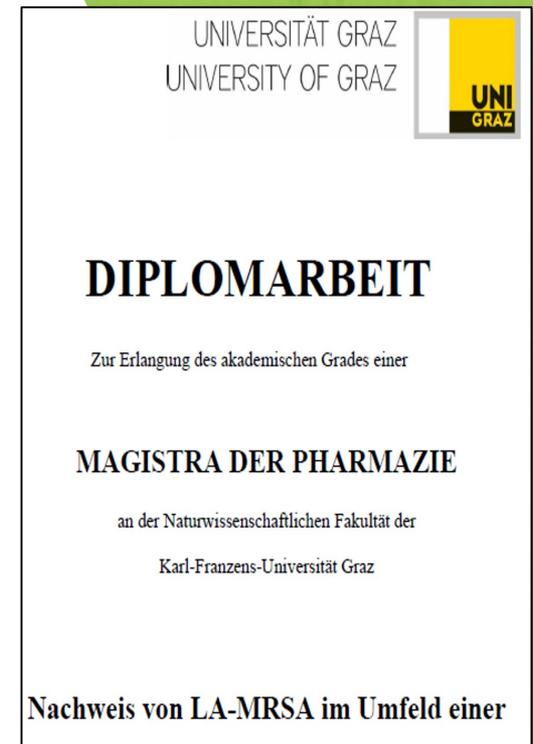
<sup>2</sup> Abteilung Tierhaltungssysteme, Technik und Emissionen, HBLFA für Landwirtschaft Raumberg-Gumpenstein

## Emissions- und Immissionsmessungen von Bioaerosolen



## Luquasta - Diplomarbeiten

- zur(m) Magistra/Magister der Pharmazie
- 18 DA in den Projektjahren 2018 – 2021
- 7 davon in Raumberg-Gumpenstein
- **Sabine Köck - Schwein**
- **Jakob Kedwani - Schwein**
- **Tea Mišković - Geflügel**
- **Thomas Eirisch - Geflügel**
- Qendresa Beqiraj
- Merna Massoud
- Neda Karimi-Aghche



## Staphylococcus aureus - Steckbrief

- gram-positives Bakterium
- vorkommen bei Menschen und Tieren
  - ca. 30 % der Bevölkerung sind besiedelt
- wichtigster bakterieller Infektionserreger
- antibiotika-resistente Variante: **MRSA**
- MRSA: Methicillin-resistenter *S. aureus*
  - bekanntester „multiresistente“ Keim
  - in der Öffentlichkeit
  - in der Forschung mit guter Datenbasis
- drei Sequenztypen: **HA-MRSA, CA-MRSA, LA-MRSA**

## HA-MRSA

- Hospital-associated MRSA
- Reservoir = Mensch
- Risikofaktoren: Krankenhaus- oder Pflegeheimaufenthalte, höheres Alter, lange Antibiotika-Gabe
- Auftreten ab 1961
- Virulenz: wie bei Methicillin-sensiblen *S. aureus*

## CA-MRSA

- Community acquired MRSA
- Reservoir = Mensch
- Risikofaktoren: Reisen, Kontaktsport,  
beengte Räumlichkeiten
- Auftreten ab 1980er Jahre
- Virulenz: hoch, beinahe alle besitzen PVL-Toxin  
(porenbildendes Toxin, beeinträchtigt Abwehr)

## LA-MRSA

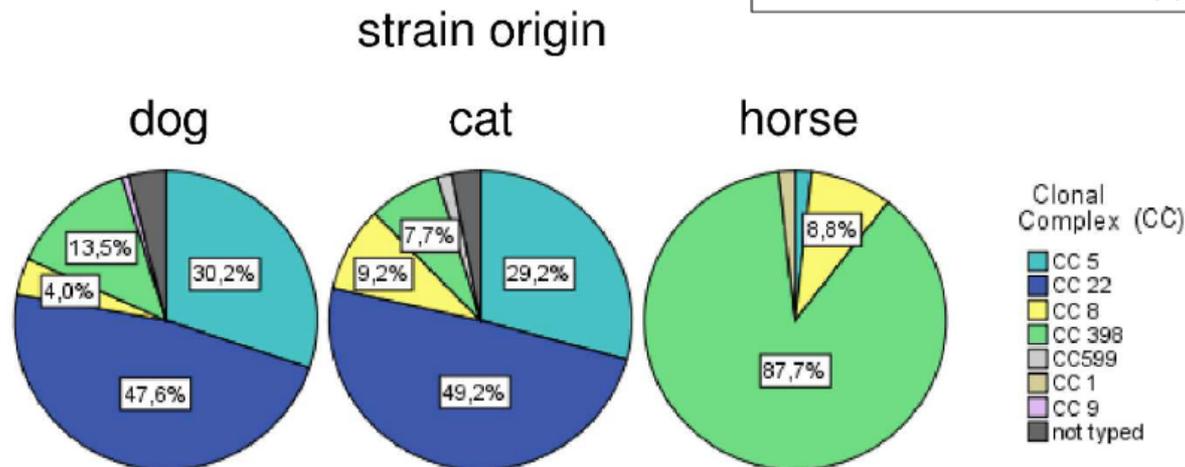
- Livestock-associated MRSA
- Reservoir = Nutztiere (Schweine, zunehmend Haus- und Hobbytiere)
- Risikofaktoren: Kontakt zu besiedelten Tieren
- Auftreten ab 2001
- Virulenz: geringer, im Vergleich zu HA/CA-MRSA

## *S. aureus*/ MRSA-Nachweise aus Wundabstrichen bei Haus-und Hobbytieren

LA-MRSA CC398-  
One World, One Health  
Kolonisation und Infektion bei  
Menschen ohne direkte  
Exposition zu Masttieren  
Dr. Christiane Cuny  
11.04.2016, Berlin

- bundesweite Einsendungen an die FU Berlin
- Daten aus dem Verbundprojekt „MedVet-Staph I“
- aus annähernd 5% (Hunde), 10% (Katzen) bzw. 25% (Pferde) aller Wundabstriche wurden *S. aureus* isoliert, 50% davon MRSA-Isolate  
→ LA-MRSA CC398 bei Pferden (87,7%)

Vinze et al., PLoS ONE, 2014, 9(4)



**Figure 1. Sample origin.** Figure 1 shows the Germany-wide origin of the 5,229 wound swabs from dogs, cats and horses. Areas are shaped in color with regard to the sample frequency. Black dots represent the sample origin with regard to the postal code. The dot size displays the submission frequency of each veterinary practice/clinic.  
doi:10.1371/journal.pone.0085656.g001

## Staphylococcus aureus - Infektionen

- Haut-, Wund-, Knochen- und Weichteilinfektionen
- Lungenentzündung
- Harnwegsinfektionen
- Toxisches Schocksyndrom (Gynäkologie)
- Sepsis (Blutvergiftung)

## Staphylococcus aureus - Übertragung

- Kontaktinfektionen
  - **Hauptübertragungsweg**
  - Mensch-zu-Mensch Kontakt
  - Tier-zu-Mensch Kontakt
  - kontaminierte Oberflächen
- Aerogen/Luft
  - selten, aber möglich
  - Staub
  - Aerosolbildung infizierter Flüssigkeiten  
(Niesen, operative Eingriffe ...)

## Problemstellung - Einsprüche

- *„... landw. Betriebe sind Brutstätten multiresistenter Keime (MRSA)“*
- *„... eine Infektion mit MRSA bedeutet eine schwerwiegende Diagnose .... Besiedelung umso höher, je größer der Tierbestand ist ...“*
- *„... Keime gelangen ... in die Umgebung der Stallanlage und stellen ... potentielle Gefährdung unserer Gesundheit dar ...“*
- *„... Gesundheitsgefährdung ... liegt in der begründeten krankmachenden Angst ...“*



# S. Köck & J. Kedwani

## Bioaerosolmessungen in einem Schweinemastabteil über den Zeitraum einer Mastperiode

### Diplomarbeit

Zur Erlangung des akademischen Grades einer Magistra der  
Pharmazie

#### Begutachter:

Ao.Univ.-Prof.Mag.Dr.rer.nat Franz Bucar

#### BetreuerIn:

Priv.-Doz<sup>in</sup>Mag.<sup>a</sup>Dr.<sup>in</sup>rer.nat. Doris Haas  
Mag.rer.nat.Dr.scient.med. Herbert Galler

Diagnostik- und Forschungsinstitut für Hygiene, Mikrobiologie und  
Umweltmedizin  
Neue Stiftingtalstraße 6,8010 Graz

Institut für Pharmazeutische Wissenschaften  
Karl-Franzens-Universität Graz  
Universitätsplatz 4/1, 8010 Graz

Graz 2019

3 Material und Methoden

### 3 Material und Methoden

#### 3.1 Verwendete Nährmedien

##### Nährmedien zur Kultivierung von Bakterien

Aufgrund der geringen Größe von Mikroorganismen, lassen sich die Bakterien nicht direkt analysieren, oder untersuchen, weswegen sie auf Nährmedien gesammelt und bebrütet werden. Man unterscheidet neben flüssigen und festen Nährmedien, zwischen Vollmedien, welche das Wachstum einer Vielzahl von Bakterien erlauben und Selektivmedien, die das Wachstum gewisser Bakterien hemmen oder fördern können. Basismedien geben Auskunft über die Gesamtkeimzahl einer Probe, während Selektivmedien dazu verwendet werden, mögliche Leitkeime zu finden und diese zu isolieren. Nährmedien benötigen neben Wasser und einem pH-Puffer auch eine Energiequelle, eine Kohlenstoffquelle und gewisse Salze, um den Bakterien die nötigen Nährstoffe liefern zu können. (13)

##### Trypton Soja-Agar (TSA)

Für die Auswertung von Bakterien wird als Basismedium der Trypton Soja Agar verwendet, der aufgrund seiner nährstoffreichen Zusammensetzung das Wachstum einer Vielzahl von Bakterien erlaubt. Auf diesem Medium wachsen sowohl aerobe oder anaerobe, als auch anspruchsvolle, beziehungsweise weniger anspruchsvolle Keime. Es besteht im Wesentlichen aus Caseinpepton und Sojamehlpepton und wurde in der vorliegenden Arbeit für die quantitative Auswertung der Gesamtkeimzahl verwendet (Abbildung 3.1). (30)

Zusammensetzung:

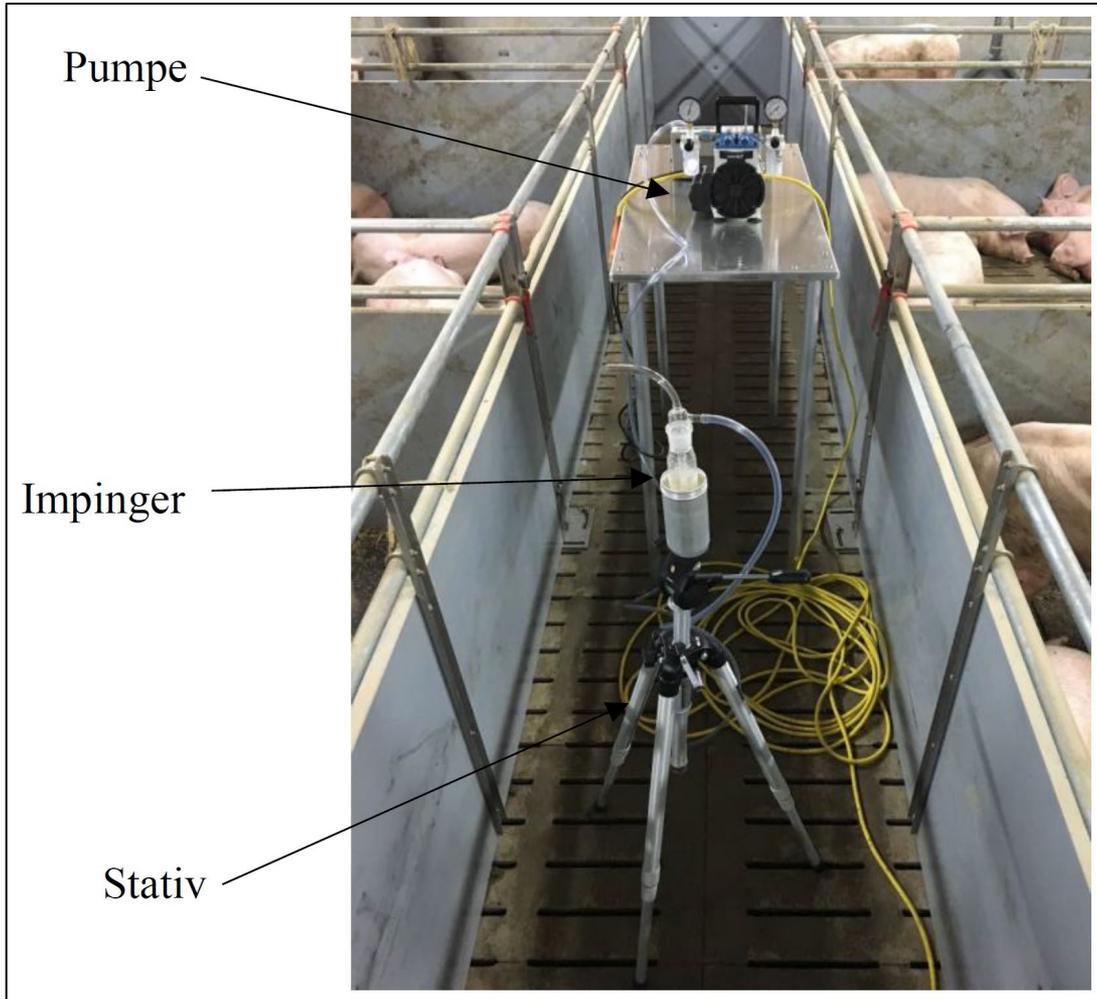
Casein, tryptisch verdaut	15,0 g/l
Sojapepton	5,0 g/l
Natriumchlorid	5,0 g/l
Agar	15,0 g/l
pH-Wert	7,2±0,1

Tabelle 3.1: Inhaltsstoffe TSA-Agar (30)



Abbildung 3.1: TSA-Agar bebrütet (CKöck)

## I. Sammlung (a)



## I. Sammlung (b)

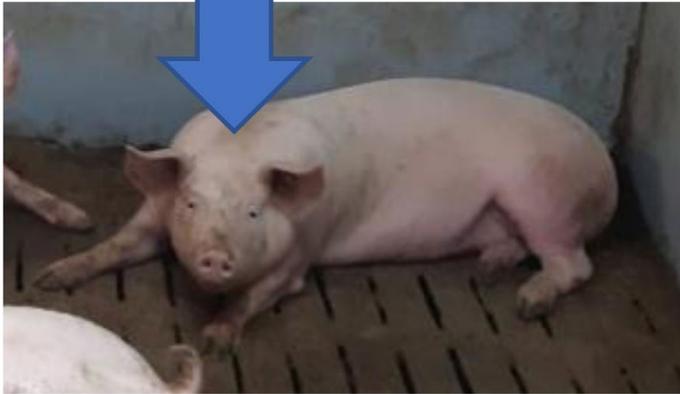


Abbildung 21: Nackenabstrichstelle (©Kedwani)



Abbildung 20: VWR-Transportwap (©Kedwani)

## I. Sammlung (c)

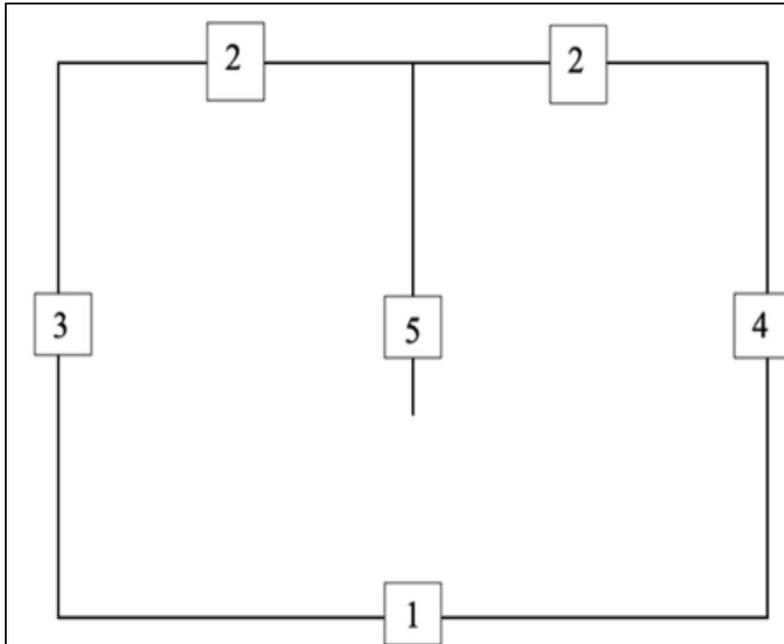


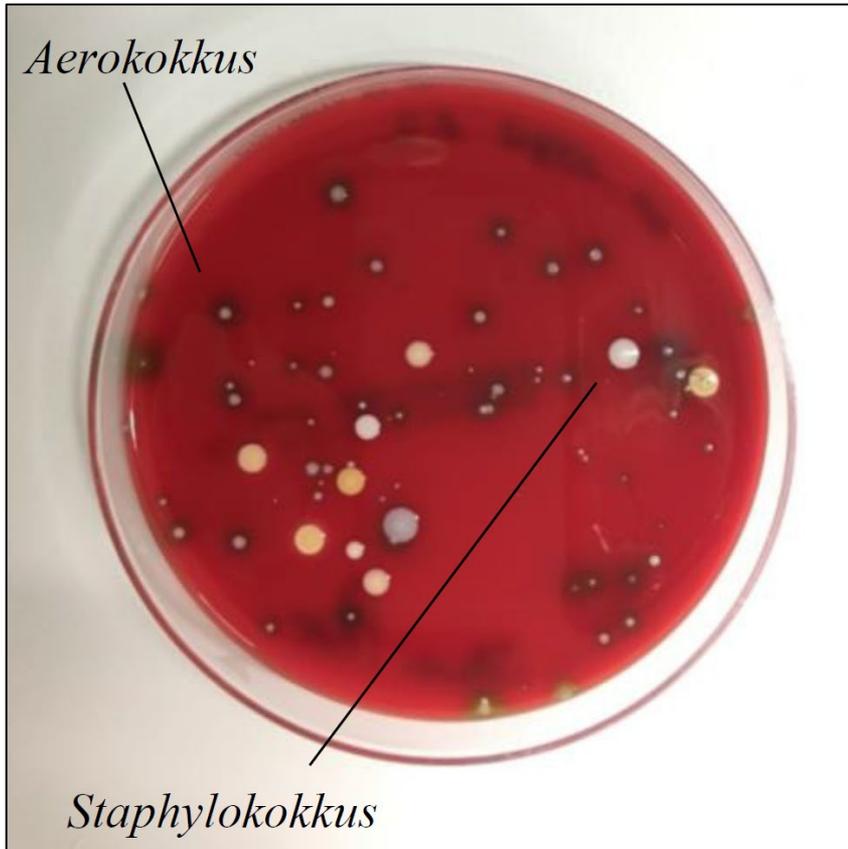
Abbildung 22: schematische Darstellung über die Reihenfolge der Probenahmen 1-5 (©Kedwani)



Abbildung 23: Buchten im Tierstall (©Kedwani)

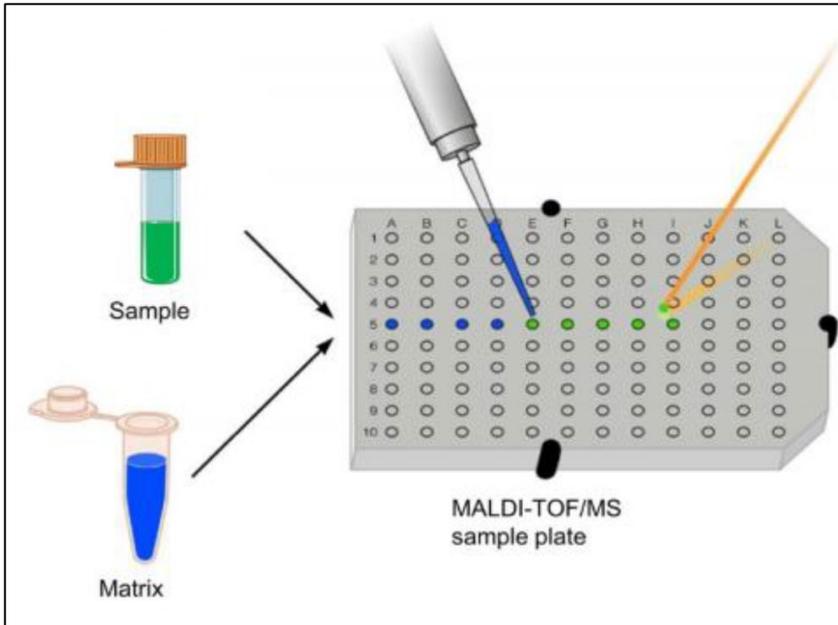


## II. Kultivierung

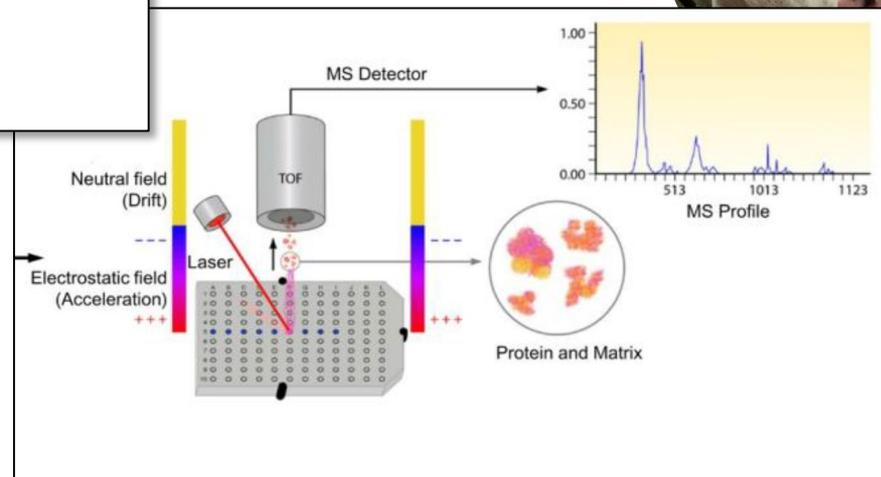


**Abbildung 3.2:** COL-Agar bebrütet (©Köck)

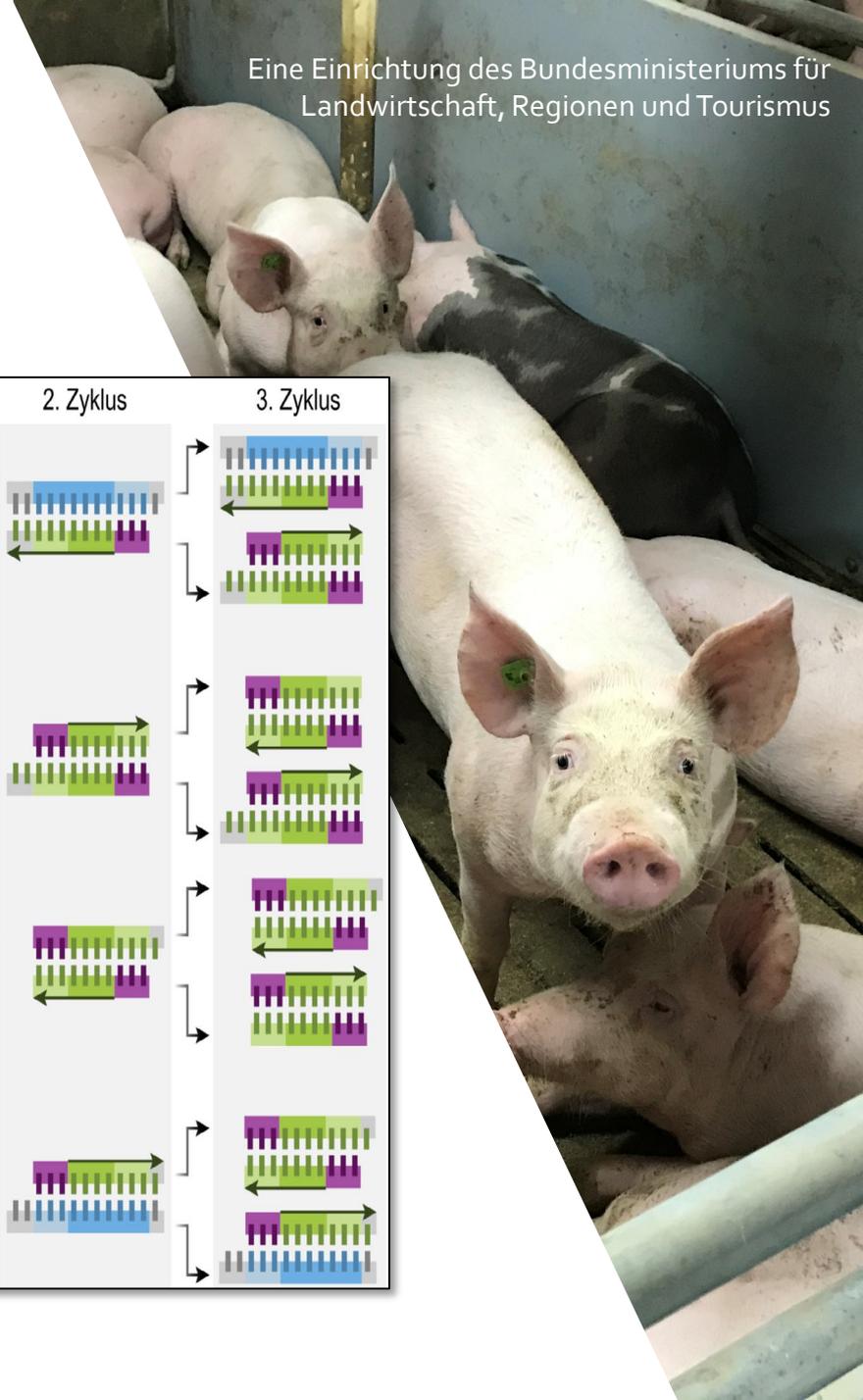
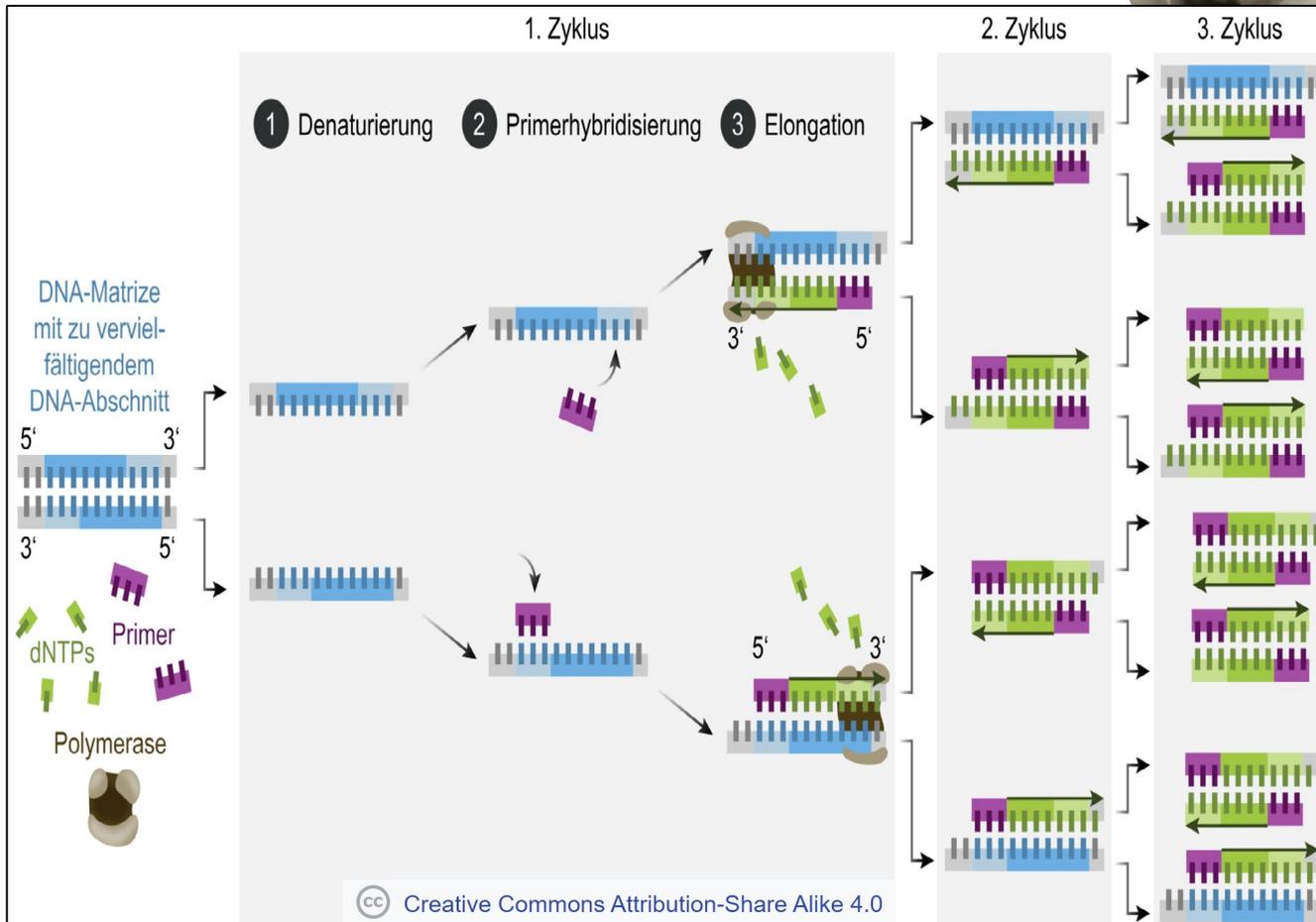
## III. Identifizierung



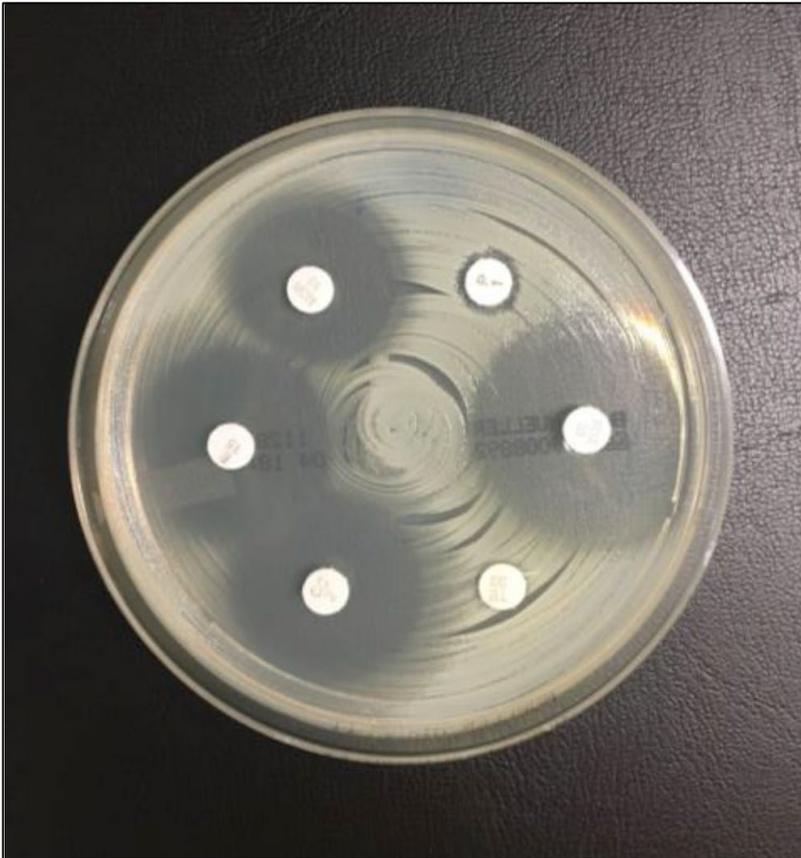
[www.creative-proteomics.com/technology/maldi-tof-mass-spectrometry.htm](http://www.creative-proteomics.com/technology/maldi-tof-mass-spectrometry.htm)



## IV. *spa*-Typisierung



## V. Antibiotika-Resistenz



**Abbildung 3.12:** Müller Hinton-Agar bebrütet  
(©Köck)

### Verwendete Antibiotika

- Penicillin (P)
- Cefoxitin (FOX)
- Tetracyclin (TE)
- Clindamycin (CC)
- Erythromycin (E)
- Norfloxacin (NOR)
- Mupirocin (GM)
- Linezolid (LZD)
- Rifampicin (RA)
- Fusidinsäure (FA)
- Sulfamethoxazol und Trimetoprim (SXD)
- Gentamicin (GM)

## S. Köck: Untersuchungsumfang

- November 2018 – März 2019
- 10 Erhebungen in 2 Mastperioden
- Beprobung
  - je 3 Tiere (136 Tiere/Abteil)  
in 2018 & 2019
  - Luftkeimmessungen
  - 1. Orientierungsarbeit



## S. Köck: Ergebnis - Luft

Bakteriengattungen und -arten	1. Messserie	2. Messserie
<b><i>Staphylococcus</i></b>		
<i>Staphylococcus arlettae</i>	1	1
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	1	-
<i>Staphylococcus cohnii</i>	2	-
<i>Staphylococcus cohnii</i> ssp. <i>cohnii</i>	12	11
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	1
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	3
<i>Staphylococcus hyicus</i>	1	-
<i>Staphylococcus pasteurii</i>	30	15
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	4	3
<i>Staphylococcus warneri</i>	4	3
<b><i>Streptococcus</i></b>		
<i>Streptococcus mitis</i> / <i>Streptococcus oralis</i>	4	-
<i>Streptococcus parasanguinis</i>	1	-
<i>Streptococcus salivarius</i> ssp. <i>thermophilus</i>	1	-
<i>Streptococcus vestibularis</i>	1	-
<b><i>Aerococcus</i></b>		
<i>Aerococcus viridans</i>	30	19

kein MRSA



## S. Köck: Ergebnis - Tiere

- 6 Tiere (aus 2 Messserien) ausgewählt
- *S. aureus* bei
  - 1 Tier aus 1. Messserie (S4)
  - 3 Tieren aus 2. Messserie (S1, S2, S3)
- Schweine 2, 3, 4
  - MSSA
  - **Methicillin sensitiver *S. aureus***
- Schwein 1
  - MRSA
  - **Methicilin resistenter *S. aureus***



## S. Köck: Ergebnis - Antibiogramm

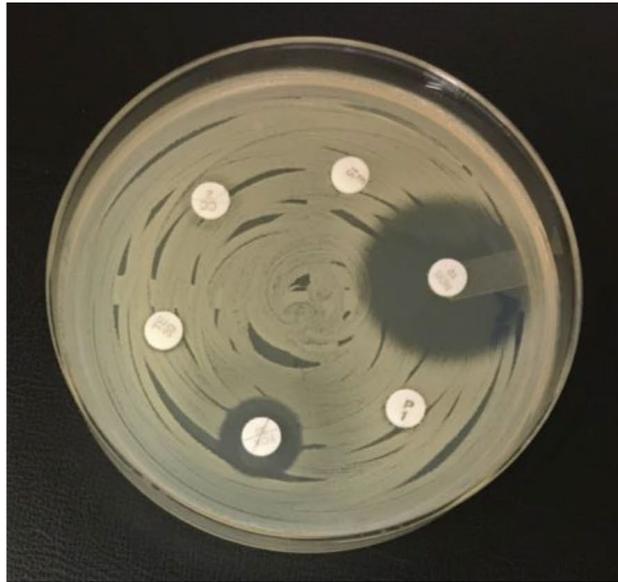


Abbildung 4.9: Antibiogramm MRSA (©Köck)

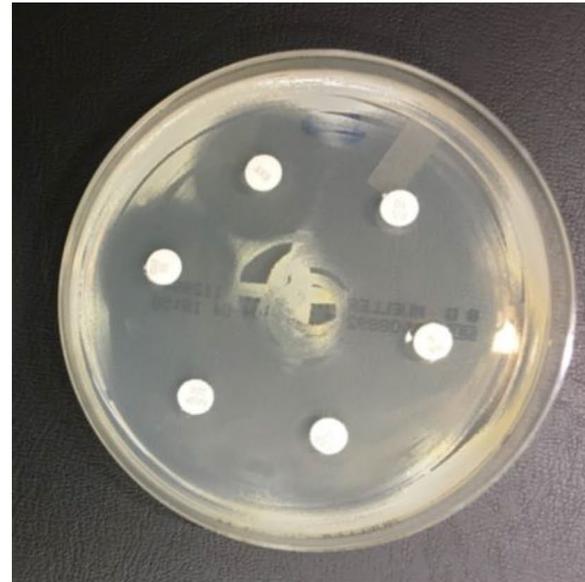


Abbildung 4.10: Antibiogramm Reserveantibiotika MRSA (©Köck)

- Antibiogramm MRSA / Schwein 1
- zahlreiche Resistenzen, aber
- empfindlich auf „Reserveantibiotika“

## J. Kedwani: Untersuchungsumfang

- März – Juni 2020
- 4 Erhebungen in Mastperiode
- vor Einstellung & in
- Mastwoche 2, 12, 14
- Beprobung
  - Wände von 1 von 6 Buchten und Gang
  - 30 Tiere (selbe 5 je Bucht, 136 Tiere je Abteil)
  - Luftkeimmessungen
- coronabedingt waren Erhebungen über gesamte Mastdauer nicht möglich



## J. Kedwani: Ergebnis - Buchtenwände

Nährmedien		MRSA	MAN	CNA	SAIDE
Bucht 1	Probe 1	k. W.	<i>S. equorum</i>	k. W.	k. W.
	Probe 2	k. W.	k. W.	k. W.	k. W.
	Probe 3	k. W.	k. W.	<i>Enterococcus faecium</i>	k. W.
	Probe 4	k. W.	<i>S. equorum</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Micrococcus luteus</i>
	Probe 5	k. W.	k. W.	<i>Micrococcus luteus</i>	k. W.
Gang	Probe 6	k. W.	k. W.	k. W.	k. W.
	Probe 7	k. W.	k. W.	k. W.	k. W.
	Probe 8	k. W.	k. W.	k. W.	k. W.

Tabelle 30: Wandabstriche vor Einstallung

Nährmedien		MRSA	MAN	CNA	SAIDE
Bucht 1	Probe 1	k. W.	k. W.	<i>Bacillus subtilis</i>	k. W.
	Probe 2	k. W.	k. W.	<i>Bacillus subtilis</i>	k. W.
	Probe 3	k. W.	k. W.	<i>Staphylococcus sciuri</i>	k. W.
	Probe 4	k. W.	k. W.	<i>Staphylococcus similans</i>	k. W.
	Probe 5	k. W.	k. W.	<i>Staphylococcus pasturi</i>	k. W.
Gang	Probe 6	k. W.	k. W.	<i>Bacillus subtilis</i>	k. W.
	Probe 7	k. W.	k. W.	<i>Bacillus subtilis</i>	k. W.
	Probe 8	k. W.	k. W.	<i>Bacillus subtilis</i>	k. W.

Tabelle 31: Wandabstriche nach Ausstallung



## J. Kedwani: Ergebnis - Luft

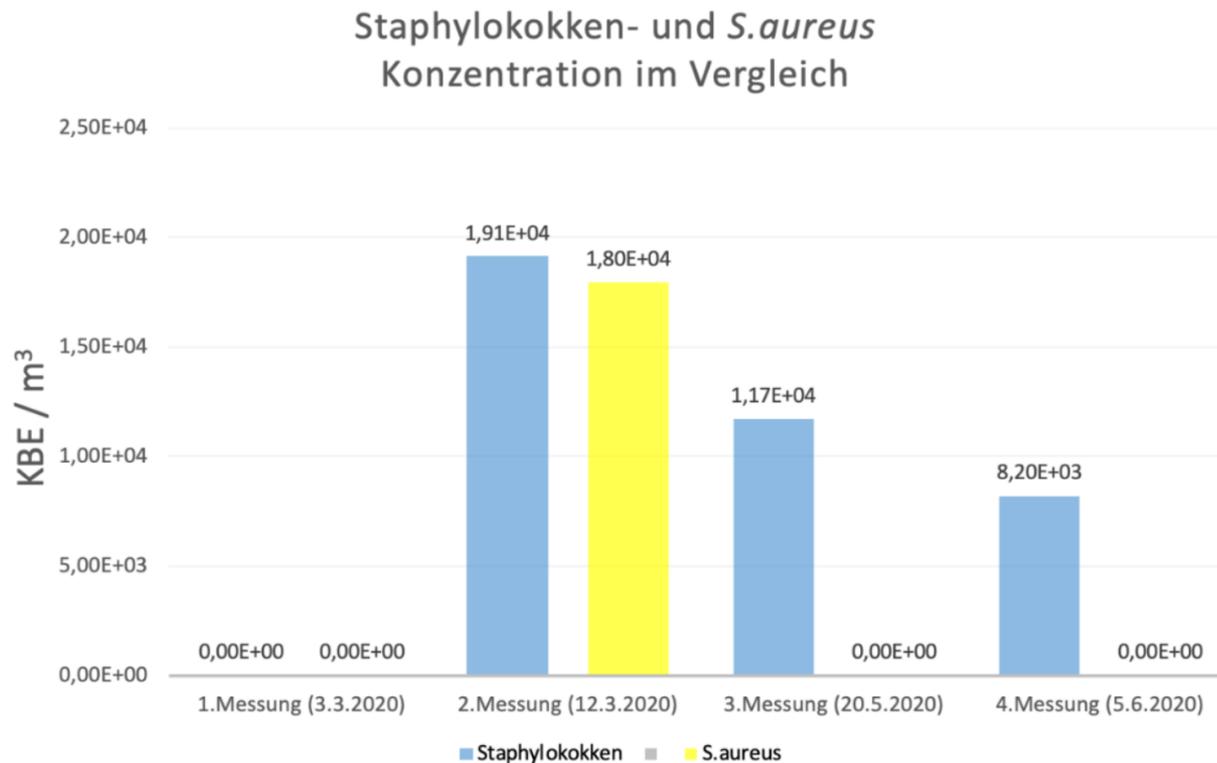


Abbildung 41: Staphylokokken und *S. aureus* im Vergleich der vier Messungen

## J. Kedwani: Ergebnis - Tiere

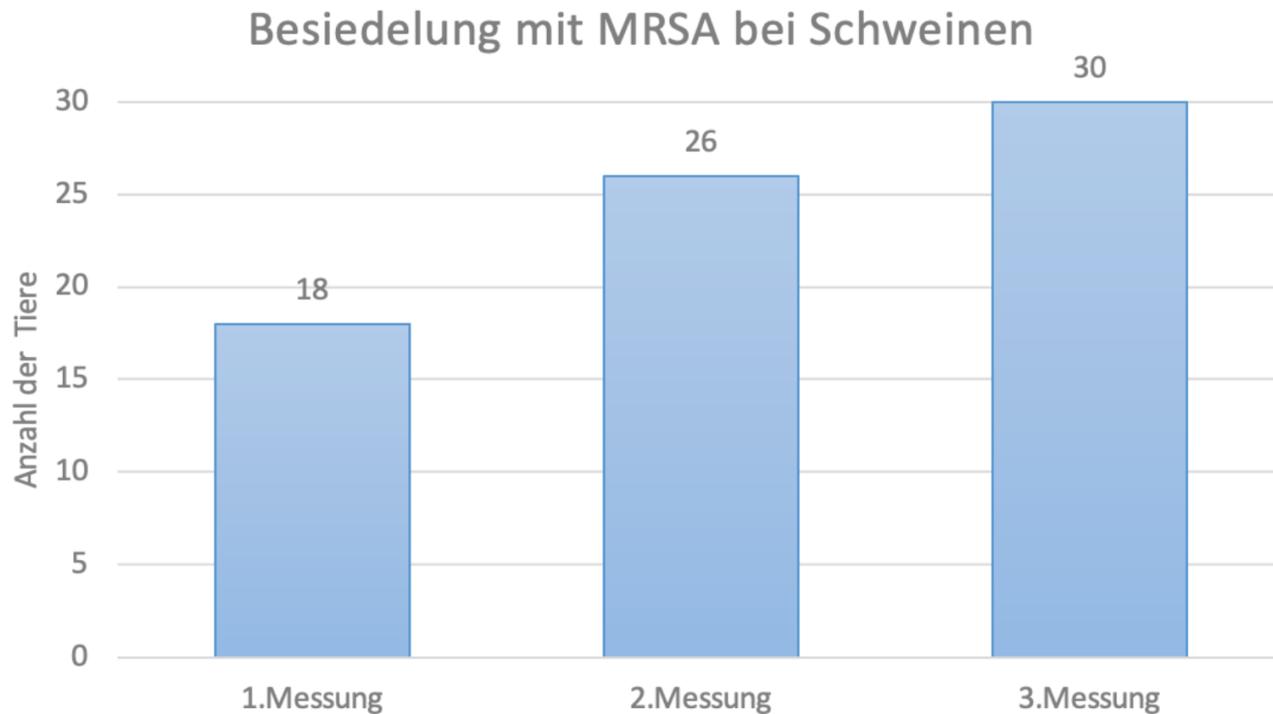


Abbildung 42: Besiedelung mit MRSA bei Schweinen



## J. Kedwani: Ergebnis - Antibiotogramm

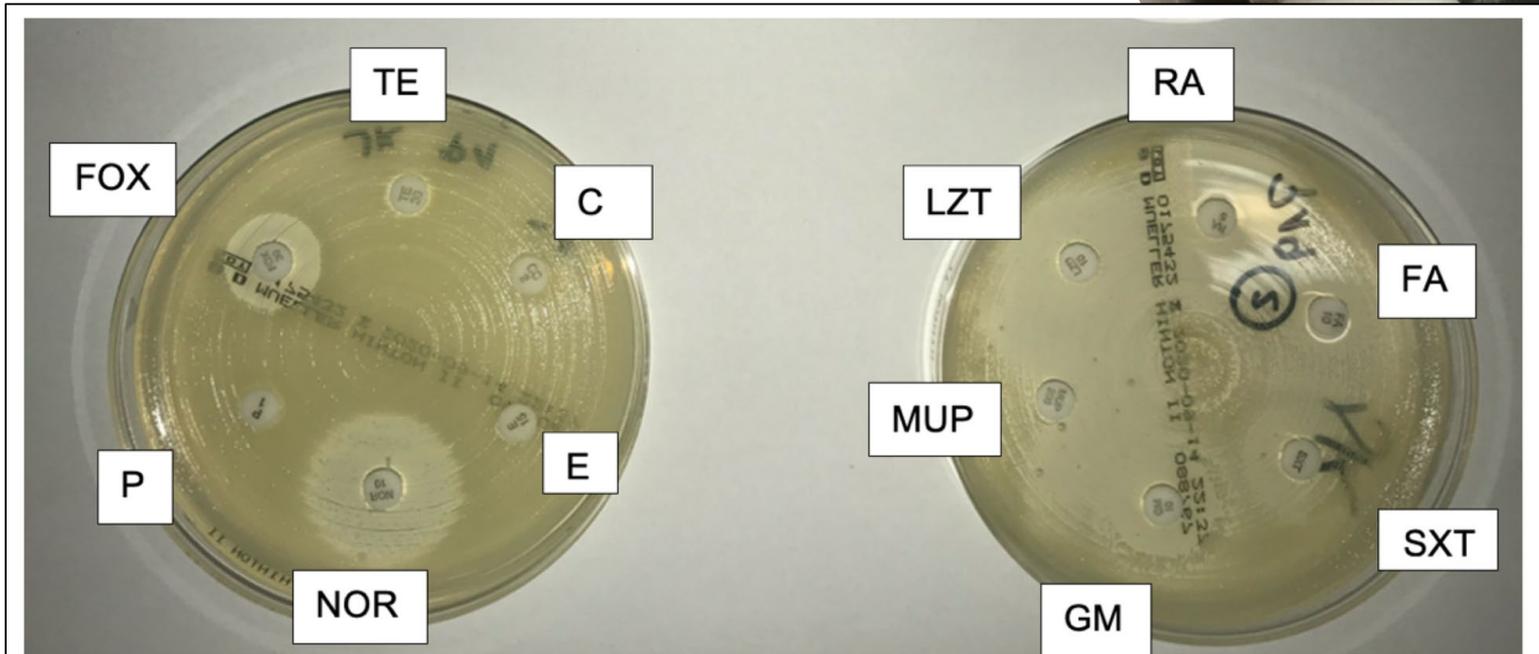


Abbildung 44: Antibiotogramm der getesteten Stämme (©Kedwani)

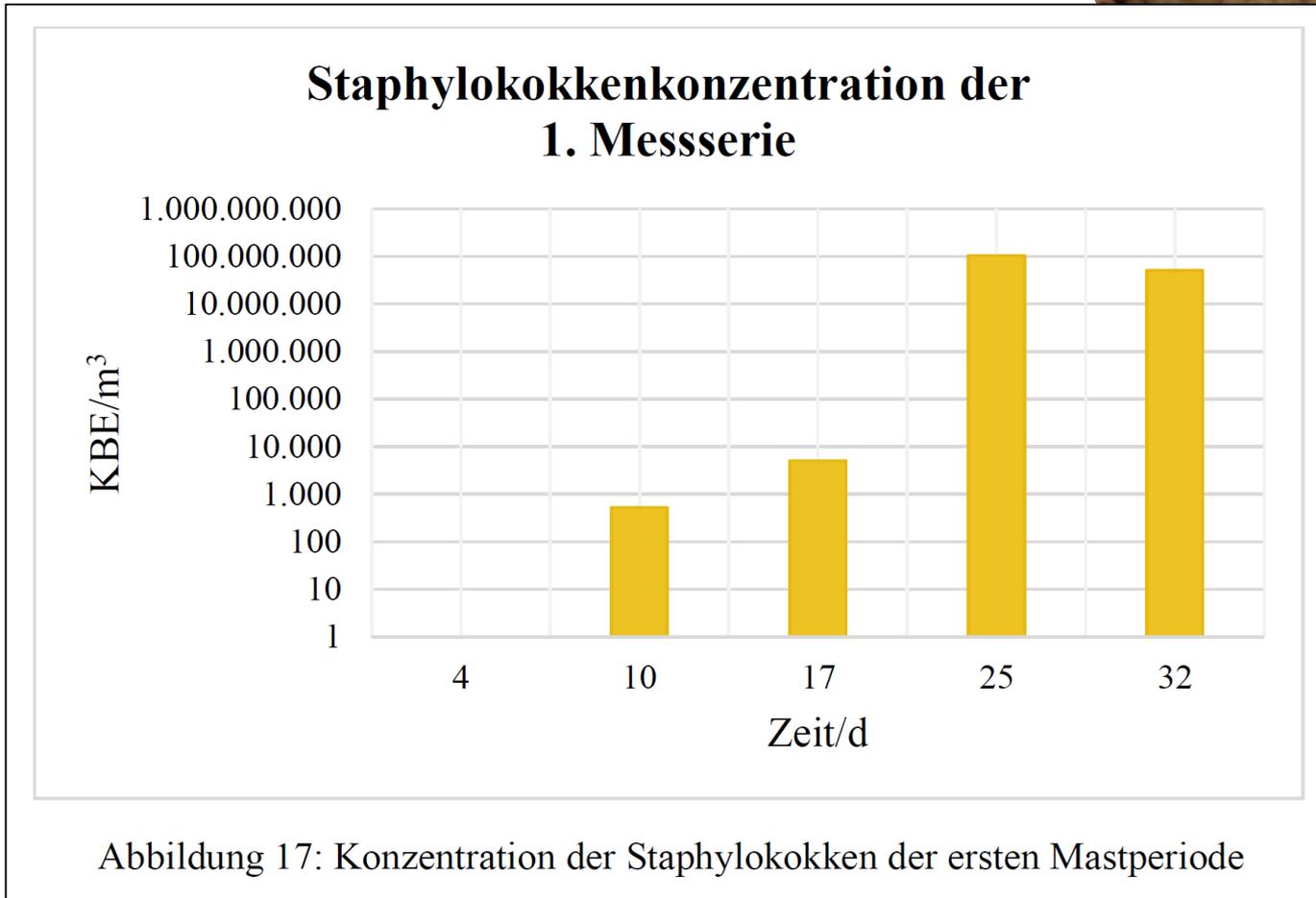
- 1 MRSA aus der Luft, 30 MRSA von Tieren
- 5 exemplarisch *spa*-typisiert: **LA-MRSA**

## T. Mišković: Untersuchungsumfang

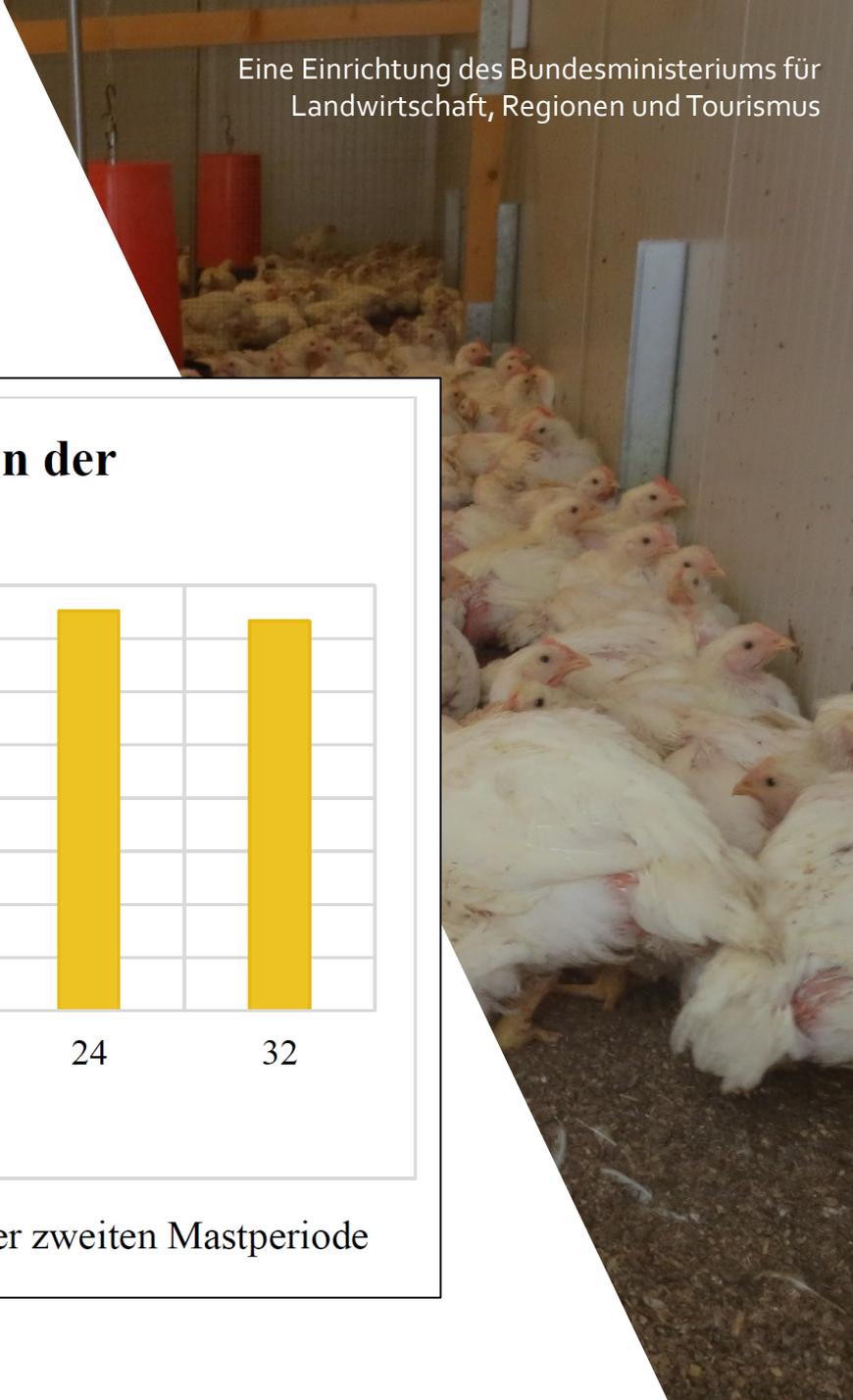
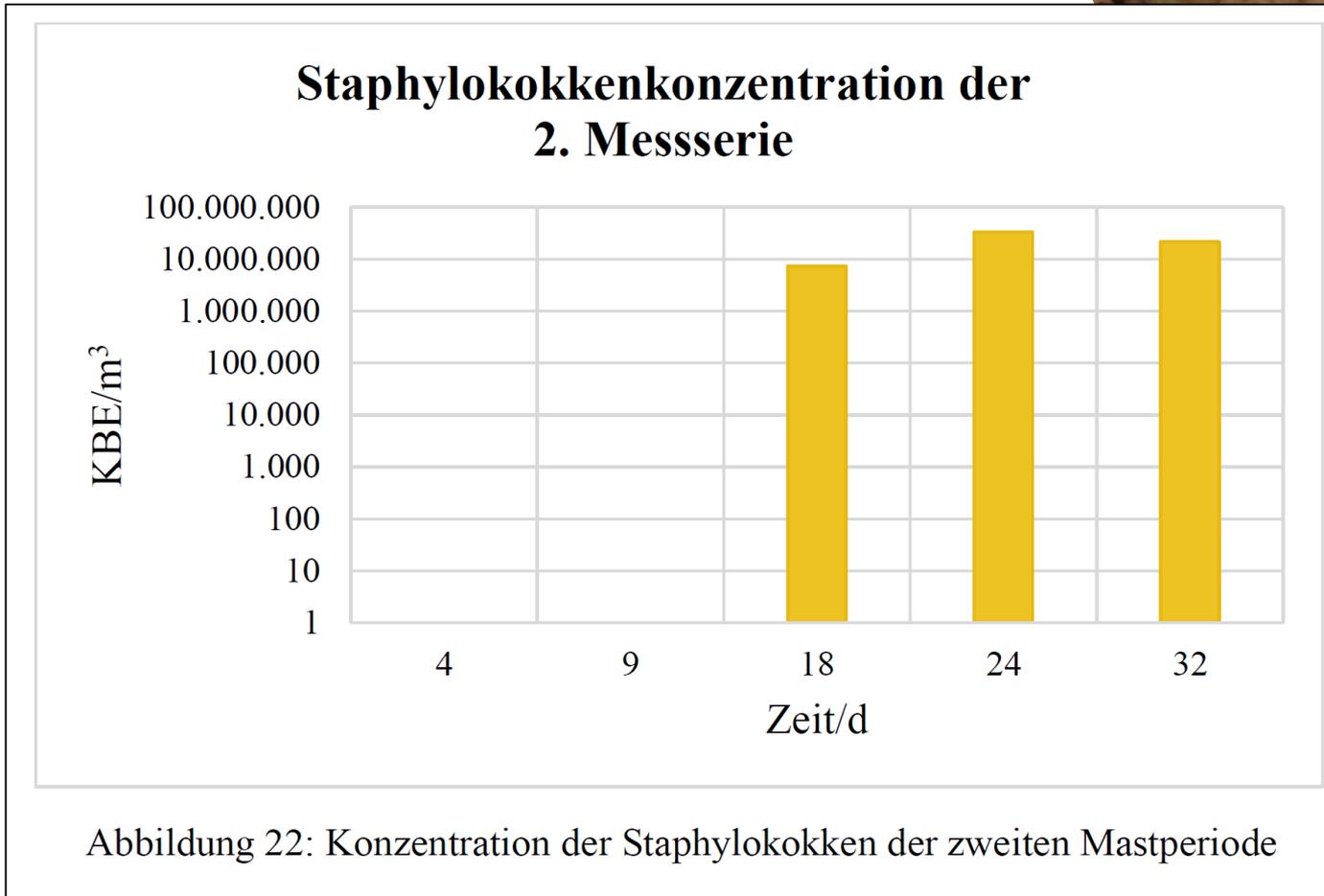
- Nov/Dez 2018 & Feb/März 2019
- 10 Erhebungen in 2 Mastperioden
- wöchentlich während Mastverlauf
- Beprobung
  - Luftkeimmessungen (420 Tiere im Abteil)
  - 1. Orientierungsarbeit



## T. Mišković: Ergebnis Luft (a)



## T. Mišković: Ergebnis Luft (b)



## T. Mišković: Ergebnis Luft (c)

Tabelle 8: Identifizierte Bakteriengattungen und deren Häufigkeit in beiden Messserien

Bakteriengattungen und -arten (n=162)	1. Messserie	2. Messserie
<b><i>Staphylococcus</i></b>		
<i>S. arlettae</i>	2	5
<i>S. aureus</i>	1	-
<i>S. capitis</i>	-	1
<i>S. lugdunensis</i>	1	-
<i>S. saprophyticus</i>	9	13
<i>S. sciuri</i>	-	3
<i>S. warneri</i>	-	1
<i>S. xylosus</i>	20	3
<b><i>Enterococcus</i></b>		
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	5	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	6	-
<i>Enterococcus faecium</i>	12	1
<i>Enterococcus gallinarum</i>	-	1
<i>Enterococcus hirae</i>	21	13
<b><i>Aerococcus</i></b>		
<i>Aerococcus viridans</i>	2	5
<b>(Lacto-)Bacillus</b>		
<i>Bacillus altitudinis/pumilus</i>	3	-
<i>Bacillus megaterium</i>	3	-
<i>Lactobacillus salivarius</i>	2	-

Anmerkung: Auszug aus Tabelle 8



## T. Mišković: Ergebnis Antibiogramm

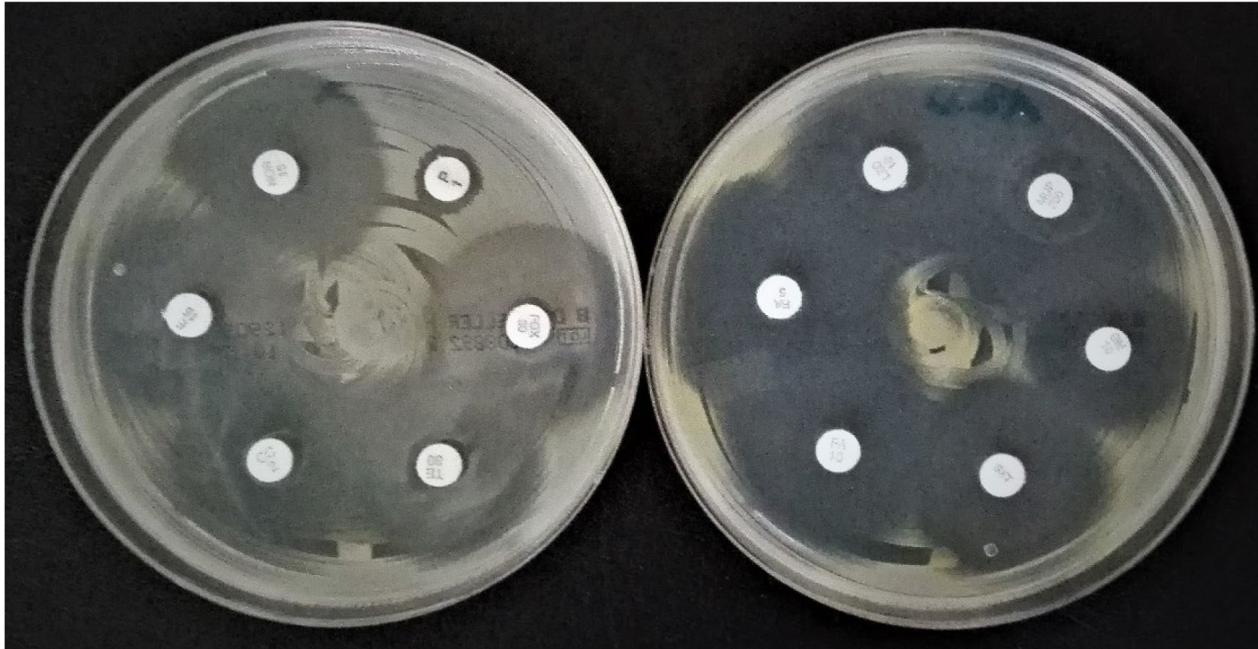


Abbildung 26: Antibiogramm der untersuchten *S. aureus*-Kolonie (Quelle: eigen)

- MSSA – Methicilin sensibler *S. aureus*
- als humamer MSSA identifiziert (*spa*-Typing)

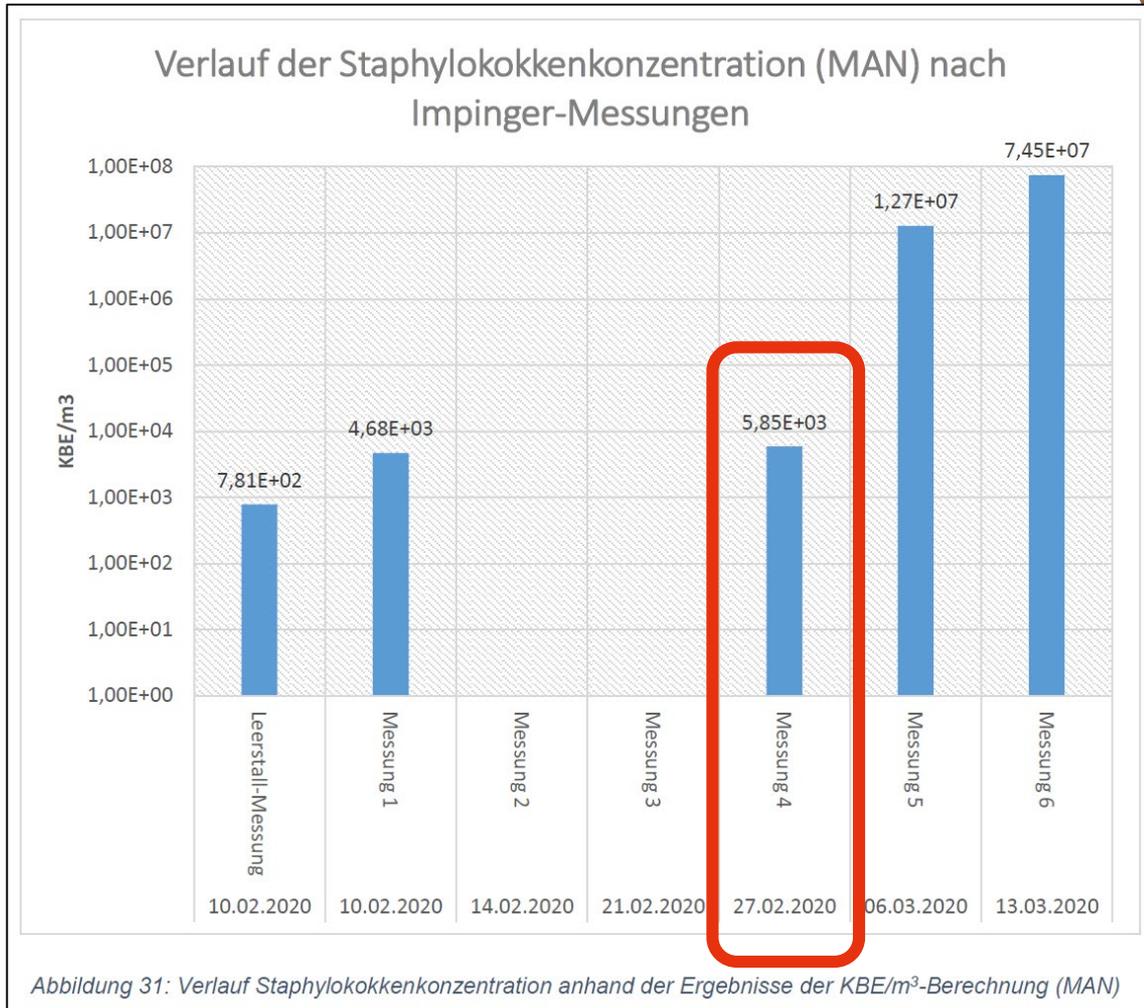


## T. Eirisch: Untersuchungsumfang

- Februar - März 2020
- 6 Erhebungen während 1 Mastperiode
- vor Einstellung der Tiere &
- wöchentlich während Mastverlauf
- Beprobung
  - Luftkeimmessungen (420 Tiere im Abteil)
  - Nackenabstriche (20 Tieren/Erhebungstag)
- weitere 6 Erhebungen fielen coronabedingt aus



## T. Eirisch: Ergebnis – Luft (a)



## T. Eirisch: Ergebnis – Luft (b)

Nährmedium	identifizierte Isolate	Ergebnis
MAN	6 von 6	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
MAN	8 von 8	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> 0
MAN	1 von 1	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
MAN		kein Wachstum
CNA	6 von 35	<i>Staphylococcus aureus</i>
CNA	4 von 14	<i>Staphylococcus hominis</i>
CNA	1 von 2	<i>Staphylococcus hominis</i>
CNA	1 von 1	<i>Micrococcus luteus</i>
CNA		kein Wachstum
CNA		kein Wachstum
SL	29 von 29	intestinale Enterokokken (GAA)
SL	23 von 23	intestinale Enterokokken (GAA)
SL	4 von 4	intestinale Enterokokken (GAA)
SL	3 von 3	intestinale Enterokokken (GAA)
SL		kein Wachstum
SL		kein Wachstum
MC		kein Wachstum
MC		kein Wachstum
SAIDE		kein Wachstum
SAIDE		kein Wachstum
MRSA		kein Wachstum
MRSA		kein Wachstum

Tabelle 21: Qualitative Ergebnisse: Impinger-Messung 4 vom 27.02.2020

?



## T. Eirisch: Ergebnis - Tiere

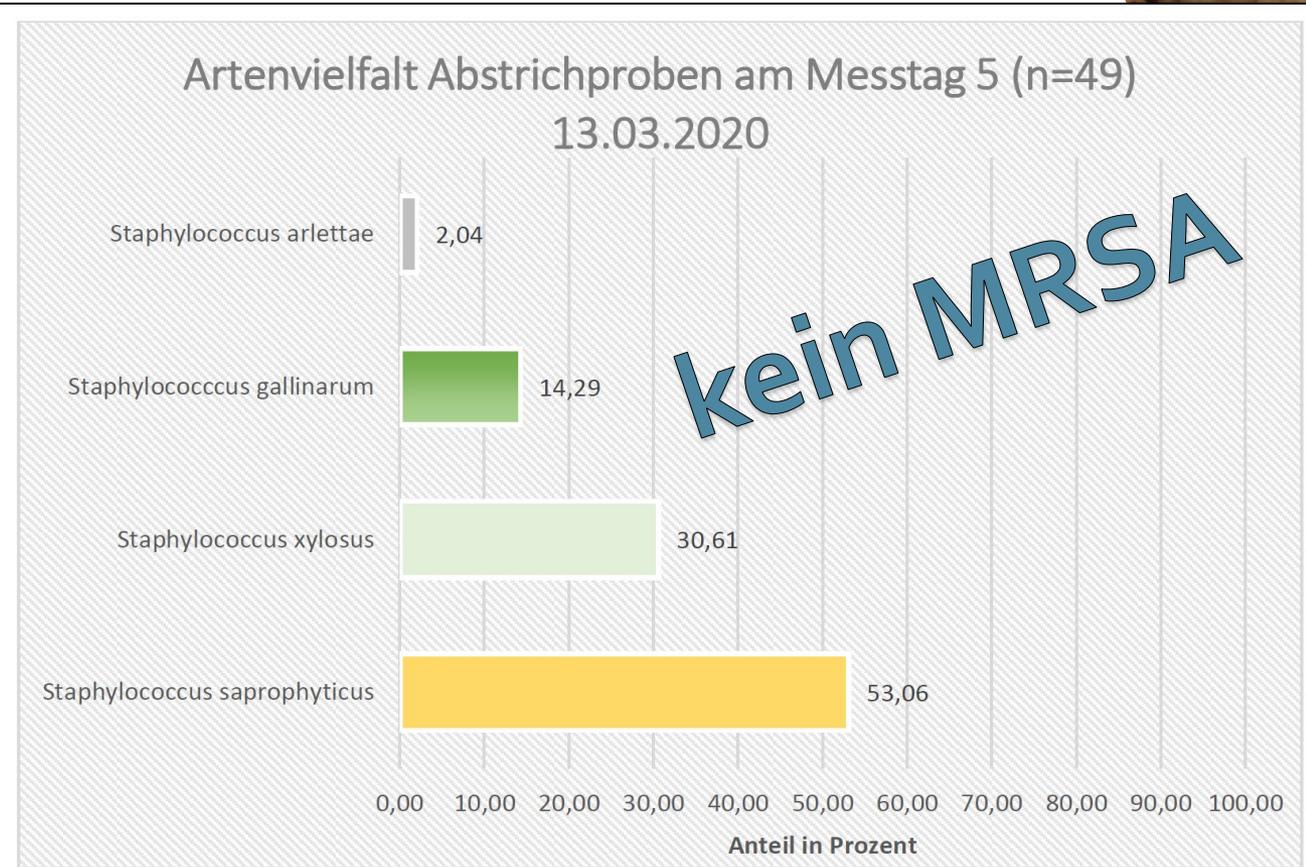


Abbildung 40: Prozentuelle Artenvielfalt Abstrichproben am Messtag 5 vom 13.03.2020

## T. Eirisch: Ergebnis - Antibiogramm

Probe		P	FOX	TE	CC	E	NOR	MUP	LZD	RA	FA	SXT	GM
<i>S.aureus</i>	S>	26	22	22	22	21	17	30	21	26	24	17	18
	R<	26	22	19	19	18	17	18	21	23	24	14	18
1A		9	26	26	26	28	28	38	30	30	30	32	22
1B		9	26	26	24	24	26	40	24	30	28	26	20

Tabelle 24: Antibiogramm und Grenzwerte nach EUCAST v10 [23]

- *S. aureus* aus Luftkeimsammlung
- nur gegen Penicillin (P) resistent
- Cefoxitin (FOX) stellvertretend für Methicillin
- *S. aureus* auf Cefoxitin sensibel
- MSSA liegt vor: Methicillin sensibler Keim

## Fazit - Schweine

- Untersuchungsumfang:
  - 14 Luftkeimsammlungen
  - 16 Wandabstriche  
(vor Ein- & nach Ausstallung)
  - Abstriche von 36 Tieren, zT mehrmalig  
(Nasenhöhlen & Nacken)
- Ergebnisse:
  - 1 LA-MRSA in Luftkeimsammlung
  - 0 LA-MRSA bei Wandabstrichen
  - 31 Tiere LA-MRSA Träger



## Fazit - Geflügel

- Untersuchungsumfang:
  - 17 Luftkeimsammlungen
  - 6x Abstrichnahme bei je 20 Tieren
- Ergebnisse:
  - 0 LA-MRSA in Luftkeimsammlung
  - 0 Tiere LA-MRSA Träger



## Zusammenfassung

- kein Untersuchungsergebnis ist absolut
- Resultat in mehreren Untersuchungen bestätigt: untermauert die Evidenz
- Diplomarbeiten Luquasta HBLFA:
  - bei **Mastgeflügel kein Hinweis** auf **LA-MRSA** (weder Luft noch Tiere)
  - bei **Mastschweinen selten LA-MRSA**  
Nachweis **in der Luft** (1 von 14 Proben),  
jedoch **Tiere häufig Träger** von **LA-MRSA**
- Hauptübertragungsweg = **Kontaktinfektion**
- Tierkontakt: 138fache Risiko, als Umfeld (RKI, 2016)

