

Open Access

Berl Münch Tierärztl Wochenschr 126,
137–142 (2013)
DOI 10.2376/0005-9366-126-137

© 2013 Schlütersche
Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG
ISSN 0005-9366

Korrespondenzadresse:
marcus.clauss@tiho-hannover.de

Eingegangen: 01.06.2012
Angenommen: 16.11.2012

Online first: 08.03.2013
[http://vetline.de/zeitschriften/bmtw/
open_access.htm](http://vetline.de/zeitschriften/bmtw/open_access.htm)

Zusammenfassung

Summary

U.S. Copyright Clearance Center
Code Statement:
0005-9366/2013/12603-137 \$ 15.00/0

Institut für Tierhygiene, Tierschutz und Nutztierethologie, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

Abscheidung von „Livestock-associated“ Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (LA-MRSA) aus der Abluft zweier Mastschweineställe mit einem Rieselbettfilter und einer dreistufigen Abluftreinigungsanlage

Reduction of livestock-associated Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (LA-MRSA) in the exhaust air of two piggeries by a bio-trickling filter and a biological three-step air cleaning system

Marcus Clauß, Jochen Schulz, Janin Stratmann-Selke, Maja Decius, Jörg Hartung

„Livestock-associated“ Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (LA-MRSA) kommen regelmäßig in Schweineställen vor und können über die Abluft auch in die Stallumgebung und in benachbarte Wohngebiete und Tierhaltungen gelangen. Gesucht werden daher Verfahren mit denen der Austrag dieser Infektionserreger verhindert oder entscheidend reduziert werden kann. Zur Reduktion von Geruchsstoffen, Gasen und Stäuben aus der Abluft von Tierställen werden bereits verschiedene, kommerziell erhältliche biologische Abluftreinigungssysteme eingesetzt. Über deren Rückhaltevermögen für LA-MRSA ist wenig bekannt. An einem Rieselbettfilter und einer dreistufigen kombinierten Anlage, die jeweils an einem Schweinemaststall installiert waren, wurden die Reduktionseffizienzen für LA-MRSA ermittelt. Im Rohgas der beiden Ställe wurden mittlere Konzentrationen von $2,1 \times 10^2$ KBE/m³ (Rieselbettfilter) und $3,9 \times 10^2$ KBE/m³ (dreistufige kombinierte Anlage) gefunden. Im Reingas waren die Konzentrationen im Mittel etwa eine Zehnerpotenz niedriger. Beide Anlagentypen konnten somit die LA-MRSA-Konzentrationen in der Abluft der Mastschweineställe im Mittel um etwa 90 % reduzieren. Sie können damit einen deutlichen Beitrag zum Schutz der Anwohner vor diesen Keimen leisten. Es können jedoch auch erhebliche Schwankungen der Emissionen auftreten.

Schlüsselwörter: Schweinehaltung, luftgetragene Mikroorganismen, Bioaerosole, biologische Abluftreinigung

„Livestock-associated“ Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (LA-MRSA) are frequently found in the air of piggeries, are emitted into the ambient air of the piggeries and may also drift into residential areas or surrounding animal husbandries. In order to reduce emissions from animal houses such as odour, gases and dust different biological air cleaning systems are commercially available. In this study the retention efficiencies for the culturable LA-MRSA of a bio-trickling filter and a combined three step system, both installed at two different piggeries, were investigated. Raw gas concentrations for LA-MRSA of 2.1×10^2 cfu/m³ (bio-trickling filter) and 3.9×10^2 cfu/m³ (three step system) were found. The clean gas concentrations were in each case approximately one power of ten lower. Both systems were able to reduce the number of investigated bacteria in the air of piggeries on average about 90%. The investigated systems can contribute to protect nearby residents. However, considerable fluctuations of the emissions can occur.

Keywords: pig fattening, airborne micro-organisms, bio-aerosols, biological air cleaning

Einleitung

Die Luft in Schweineställen enthält eine Vielzahl von Mikroorganismen, von denen die Staphylokokken zu einer der dominierenden Bakteriengruppen gehören (Curtis et al., 1975; Platz et al., 1995; Seedorf et al., 1998; Bilic et al., 2000). Besonders Methicillin- und multiresistente Isolate der Spezies *Staphylococcus aureus*, die in den letzten Jahren auch vermehrt in Zusammenhang mit Nutztierhaltungen nachgewiesen werden konnten („Livestock-associated“ Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* [LA-MRSA]) sind aktuell im Fokus der Öffentlichkeit (Voss et al., 2005; Huijsdens et al., 2006; Khanna et al., 2008; van Duijkeren, 2008). Über den Abluftstrom gelangen auch diese Mikroorganismen aus den Ställen in die Umwelt, wo sie durch den Wind auch bis in Wohngebiete verdriftet werden können (Takai et al., 1998; Seedorf et al., 1998; Seedorf und Hartung, 2002). Da Staphylokokken relativ resistent gegen Umwelteinflüsse sind, können sie mehrere Stunden im luftgetragenen Zustand überleben (Müller und Gröning, 1981) und entsprechend weit verfrachtet werden. Teilweise sind hier Entfernungen von mehreren hundert Metern nachgewiesen worden (Seedorf, 2006; Schulz, 2007, van Duijkeren et al., 2008; Friese et al., 2012; Schulz et al., zur Publikation angenommen). Um die Bevölkerung und auch die Betreiber benachbarter Tierhaltungsanlagen vor Kontaminationen und gegebenenfalls Infektionen mit diesem Keim zu schützen, besteht daher ein großes Interesse daran, die Emissionen dieser Bakterien aus Tierhaltungsanlagen zu minimieren.

Schon länger gibt es kommerziell erhältliche biologische Abluftreinigungssysteme, mit denen Gerüche, Gase wie Ammoniak und Staub aus der Abluft von Ställen weitgehend zurückgehalten werden können. (Licht und Miner, 1978; Nicolai und Lefers, 2006). Diese sind je nach Typ und Auslegung in der Lage, die Konzentrationen dieser Schadstoffe im Abluftstrom eines Tierstalls um bis zu über 90 % zu reduzieren (Martens et al., 2001). Dabei werden hauptsächlich einfache Biofilter, Bio- und Chemowäscher sowie mehrstufige kombinierte Anlagen eingesetzt. Bisherige Untersuchungen zeigten, dass diese Systeme auch die Anzahl von Mikroorganismen in der Luft deutlich reduzieren können (Martens et al., 2001; LUA, 2003; Chmielowiec-Korzeniowska et al., 2007; Tymczyna et al., 2007; Hartung et al., 2011). Über die Wirksamkeit solcher Anlagen zur Reduktion von LA-MRSA in der Abluft ist jedoch kaum etwas bekannt.

Daher wurden die Reduktionseffizienzen eines Rieselbettfilters und einer dreistufigen kombinierten Abluftreinigungsanlage für LA-MRSA aus der Abluft eines Schweinestalls in zwei- bis dreiwöchigem Abstand jeweils über den Zeitraum etwa eines halben Jahres ermittelt.

Material und Methoden

Abluftreinigungsanlagen und Messsysteme

Die Untersuchungen wurden an zwei kommerziell erhältlichen biologischen Abluftreinigungsanlagen für Schweineställe durchgeführt. Bei dem ersten System handelte es sich um eine dreistufige kombinierte Anlage aus physikalischem Wäscher, Chemowäscher und Biofilter, die zweite Anlage war ein Rieselbettreaktor. Beide Systeme wurden auf der Basis des Leitfadens des Land-

kreises Cloppenburg zur Feststellung der Eignung von Abluftreinigungsanlagen in der Tierhaltung zur Anwendung in der Genehmigungspraxis und bei der Überwachung (Hahne et al., 2002) für die Abscheidung von Staub, Ammoniak und Geruch zugelassen.

Das kombinierte dreistufige biologische Abluftreinigungssystem war in einem Schweinemaststall mit 2000 Tierplätzen eingebaut. Der Stall bestand aus 20 Abteilen mit jeweils 100 Tierplätzen in acht Pferchen. Per Unterdruckabsaugung wird die Luft über acht frequenzgeregelte Ventilatoren in einen zentralen Abluftkanal gesaugt. Von hier strömt das Rohgas durch eine erste Filterwand, wo die Schadstoffe durch eine Vorbedüsung physikalisch aus der Luft entfernt werden. Das mit den Schadstoffen angereicherte Washwasser sammelt sich in einem Becken unterhalb der Filterwand. Nach der ersten Stufe strömt die Luft weiter durch eine zweite Filterwand, wo in einer chemischen Stufe durch die geregelte Zugabe von Schwefelsäure zu dem Washwasser Ammoniak entfernt wird. Das Washwasser dieser Stufe sammelt sich in einem weiteren separaten Becken. Danach strömt die Luft durch die dritte Biofilter-Stufe, bestehend aus einer Wand aus gerissenem Wurzelholz, welche Geruchsstoffe zurückhält. Die gereinigte Luft verlässt schließlich als Reingas die Anlage.

Der Rieselbettreaktor war in einem Schweinemaststall mit 1320 Tierplätzen eingebaut. Der Stall bestand aus sechs Abteilen, fünf mit 240 Tierplätzen in 16 Pferchen und eins mit 120 Tierplätzen in acht Pferchen. Per Unterdruckabsaugung wird die Luft über vier frequenzgeregelte Ventilatoren in einen zentralen Abluftkanal gesaugt. Von hier strömt das Rohgas durch die Filterpackung, welche von oben über eine Berieselung feucht gehalten wird. Durch die Berieselung und die geregelte Zugabe von Schwefelsäure zu dem Washwasser werden Staub, Ammoniak und Geruch physikalisch und chemisch entfernt. Das Washwasser sammelt sich mit den ausgewaschenen Schadstoffen in einem zentralen Becken. Nach der Reinigungsstufe folgt ein Tropfenabscheider um kleine Flüssigkeitströpfchen die evtl. durch den Luftstrom mitgerissen wurden zurückzuhalten. Schließlich verlässt die gereinigte Luft als Reingas durch vier vertikale Abluftschächte die Anlage.

Die Messungen fanden an der dreistufigen Anlage in zwei- bis dreiwöchigem Rhythmus von April bis August statt. Die Messungen am Rieselbettfilter fanden in zwei- bis dreiwöchigem Rhythmus von Mai bis September statt. Insgesamt wurde jede Anlage an insgesamt zehn Tagen untersucht. Es wurden an jedem Messtag jeweils Luftproben, Wasserproben, Biofilmpollen und Staubproben (nur bei dem Rieselbettfilter) zwischen 10.00 und 12.00 Uhr gesammelt. Im Rohgas und im Reingas wurden parallel dreimal hintereinander jeweils 30 Minuten lang mit Impingern luftgetragene Mikroorganismen gesammelt.

Das Erfassen der luftgetragenen Mikroorganismen erfolgte im Wesentlichen nach der Richtlinie des Vereins Deutscher Ingenieure (VDI) zur Abscheidung luftgetragener Bakterien mit Impingern (VDI 4252). Für die Messungen im Rohgas und im Reingas der beiden Systeme wurden spezielle Messstrecken eingesetzt, um bei den während des normalen Betriebs der Anlagen wechselnden Lüftungsraten eine kontinuierliche isokinetische Probenahme zu gewährleisten. Auf der Rohgasseite der Abluftreinigungsanlagen wurden die Messstrecken in den zentralen Abluftschächten der Ställe jeweils an

einem repräsentativen Messpunkt installiert, bei dem die Abluft aller Abteile möglichst gleich erfasst wird. Als Probenahmesonden dienten gerade Glassonden oder gekrümmte Edelstahlsonden. Auf der Rohgasseite und der Reingasseite wurden bei einer Messung aus Gründen der Vergleichbarkeit jeweils die gleichen Sonden eingesetzt. Für die Messungen auf der Reingasseite wurde auf der 58,5 m² großen Biofilterfläche der dreistufigen Anlage eine beheizbare Probenahmehaube mit 1 m² Grundfläche eingesetzt. Es wurde mit der Haube jeweils für 30 min der linke, mittlere und rechte Bereich der Biofilterfläche beprobt. Die Probenahme selber erfolgte in einer an die Haube angeschlossenen Messstrecke. Die Messung auf der Reingasseite des Rieselbettreaktors wurde direkt in einem mittleren Abluftschacht durchgeführt. Aufgrund des großen Durchmessers des Abluftrohres von 90 cm, wurde die Probenahmesonde im Reingas während jeder Messung in x-y-Richtung verfahren (je 3 min an jeweils 5 Positionen in einer Richtung). Gesammelt wurden die luftgetragenen LA-MRSA mit AGI-30 Impinger (Ace Glass Inc, Vineland, NJ, USA) in jeweils 30 ml PBS (8,0 g NaCl, 0,2 g KCl, 0,2 g KH₂PO₄ und 1,26 g Na₂HPO₄·2H₂O per Liter).

Die Waschwasserproben wurden jeweils mit einem sterilen 50 ml Zentrifugenröhrchen aus ca. 10 cm Wassertiefe ungefähr in der Mitte der Becken entnommen. Zur Beprobung der Biofilme auf den Filterwänden wurden mit einer Biopsiezange (Thomas Gaylor, Leo-med Medizintechnik GmbH & Co. KG, Hannover, D) mehrere Teile definierter Größe aus dem bewachsenen Kunststoffmaterial entnommen. Es wurden jeweils auf den zwei Seiten der Filterwände fünf Stücke mit einer Fläche von je 0,28 cm² ausgestanzt (insgesamt 10 Stück, 2,8 cm²). Da der Biofilm auf den Filtern sehr ungleich verteilt war, wurden statt einer randomisierten Probenahme nur gut bewachsene Bereiche beprobt. Die ausgestanzten Stücke wurden in einem Zentrifugenröhrchen mit 10 ml PBS-Puffer mit 0,1 % Tween 20 gesammelt. Proben des Staubs auf den Wänden des zentralen Abluftkanals wurden direkt mit einem sterilen Wattestäbchen in Zentrifugenröhrchen überführt. Alle Proben wurden bei 4 °C bis zur Auswertung im Labor am nächsten Tag gelagert.

Aufarbeitung der Proben im Labor und Auswertung der Daten

Die Impinger wurden vor und nach der Messung gewogen um den Verlust der Sammelflüssigkeit während der Messungen zu bestimmen und für die Berechnung der Zahl der KBE/m³ zu berücksichtigen. Die Sammelflüssigkeiten aus den drei zeitlich nacheinander durchgeführten Messungen im Rohgas und im Reingas wurden jeweils zusammengeführt, sodass für die weitere Aufarbeitung eine Rohgas- und eine Reingasprobe zur Verfügung standen. Die Wasserproben aus den Becken wurden nicht weiter behandelt. Die Biofilmproben wurden zur Entfernung des Biofilms auf den ausgestanzten Plastikstücken in PBS mit 0,1 % Tween 20 15 min gevortext und 5 min im Ultraschallbad behandelt. Der gesammelte Staub wurde ebenfalls in 10 ml PBS mit 0,1 % Tween 20 gelöst und 15 min gevortext und 5 min im Ultraschallbad behandelt.

MRSA-Nachweis

Von den gepoolten Impinger-Sammelflüssigkeiten, den Waschwasserproben und den Biofilm-Eluaten wurden jeweils zwei in Vorversuchen als geeignet ermittelte Verdünnungsstufen (10⁰, 10⁻¹) im Dreifachansatz ausplattiert. Die Proben wurden auf MRSA Chromagar (MAST Diagnostica GmbH, Reinfeld, D), jeweils 48 h bei 37 °C bebrütet. Gezählt und für die Auswertung herangezogen wurden nur die nach Herstellerangaben eindeutig identifizierbaren Kolonien auf dem Nährboden. Maximal fünf der auf dem Chromagar gewachsenen LA-MRSA-verdächtigen Kolonien wurden auf Katalase-, Staphylase- (Oxoid Deutschland GmbH, Wesel, D) und Koagulase (BBL™ Plasma, Rabbit with EDTA, Becton, Dickinson and Company, Sparks, USA) untersucht. Die Bestätigung der LA-MRSA-Isolate erfolgte bei jeweils einer der fünf Kolonien durch den Nachweis eines *S. aureus* spezifischen Amplifikates und der Detektion des *mecA*-Gens durch die PCR (Poulsen et al., 2003). Die Amplifikation der beiden Zielsequenzen erfolgte getrennt in 25 µl Einzelansätzen in einem Mastercycler® gradient (Eppendorf, Hamburg, D). Dazu wurde DNA aus den Isolaten nach Angabe des Herstellers mit dem DNeasy® Blood & Tissue Kit (Quiagen, Hilden, D) isoliert und aufgereinigt. 1 µl dieser DNA wurde dann mit 2,5 µl 10-fach Puffer, 0,5 µl dNTP-Mix, 0,5 µl Primer 1 (ca. 50 pmol/µl), 0,5 µl Primer 2 (ca. 50 pmol/µl), 0,25 µl Taq Polymerase und 19,75 µl H₂O aus einem zuvor hergestellten Mastermix gemischt. Die Biochemikalien stammten bis auf die Primer aus einem Taq all inclusive Kit (peqlab, Erlangen, D). Die Primer wurden von Invitrogen (Darmstadt, D) bezogen. 24 µl eines Mastermixes plus 1 µl H₂O wurden stets als negative Kontrolle bei der Amplifikation mitgeführt. Als Positivkontrolle wurde ein aus einem Tierstall isolierter und biochemisch und molekularbiologisch bestätigter LA-MRSA eingesetzt. Die Amplifikation erfolgte nach 5 min initialer Denaturierung bei 94 °C über 30 Zyklen (Denaturierung, 30 s bei 94 °C, Annealing, 30 s bei 55 °C, Elongation, 5 min bei 72 °C) und der finalen Elongation, 5 min bei 72 °C und abschließend herunterkühlen und halten bei 4 °C.

Die Auftrennung der amplifizierten PCR-Produkte erfolgte in 1,5%igen Agarosegelen (PeqGold Universal Agarose, peqlab, Erlangen, D). Die Gele wurden anschließend mit Ethidiumbromid gefärbt und in einem UVsolo TS-Transilluminator (Biometra, Göttingen, D) abfotografiert. Trat bei einem Isolat eine Bande von 527 bp (*mecA*-Amplifikat) und eine Bande von 255 bp (*nuc*-Amplifikat) auf, galt MRSA als bestätigt, wenn weiterhin keine unspezifischen Amplifikate auftraten und keine Reaktion in der negativen Kontrolle festgestellt werden konnte. Von den MRSA bestätigten Isolaten wurden nach der Methode von Zhang et al. (2005) die *SCCmec*-Typen bestimmt. Überwiegend wurde *SCCmec* Typ V identifiziert und bei den weiteren untersuchten Isolaten handelte es sich um den *SCCmec* Typ IV. Das Auftreten dieser beiden Typen mit einem Übergewicht von Typ V scheint charakteristisch für LA-MRSA vom Sequenztyp (ST) 398 (Monecke et al., 2011).

Die Zahl der gefundenen koloniebildenden Einheiten (KBE) wurde für die Luftproben auf m³, für die Wasserproben auf ml, für die Staubproben auf g und für die Biofilmproben auf cm² bezogen. Zur Überprüfung ob sich die Keimkonzentrationen auf der Rohgasseite und auf der Reingasseite unterscheiden wurde ein t-Test für abhängige Stichproben durchgeführt (n = 10).

Ergebnisse

Abbildung 1 zeigt die Konzentrationen von kultivierbaren LA-MRSA im Rohgas und Reingas der dreistufigen Anlage (n = 10) und des Rieselbettfilters. In der Abluft beider Mastschweineeställe waren LA-MRSA nachweisbar. Die gemessenen Konzentrationen im Rohgas des größeren Stalles mit 2000 Tierplätzen (dreistufige Anlage) waren deutlich höher als in dem kleineren Stall mit 1320 Tierplätzen (Rieselbettfilter). Im Reingas beider Anlagen waren die LA-MRSA-Konzentrationen signifikant niedriger (p < 0,05) als im Rohgas. Es wurden während des Zeitraums der Messungen mittlere Reduktionen von etwas mehr als 90 % erreicht, allerdings waren bei beiden Anlagen erhebliche Schwankungen und einzelne Ausreißer zu beobachten.

Tabelle 1 zeigt die durchschnittlichen Konzentrationen und Standardabweichungen von MRSA im Roh- und Reingas im Waschwasser der Auffangbecken und im Biofilm auf den Filterflächen der beiden Anlagen. Im Rohgas des größeren Stalles wurden etwa doppelt so viele LA-MRSA gefunden als im Rohgas des kleineren Stalles. In den Waschwässern lagen die Keimzahlen zwischen 1,0 x 10⁰ KBE/ml (dreistufige Anlage) und 5,0 x 10¹ KBE/ml (Rieselbettreaktor). In den Biofilmen auf der Filterpackungsfläche des Rieselbettreaktors waren mit unserer Methodik kaum LA-MRSA nachweisbar. Die LA-MRSA-Konzentrationen in den Biofilmen von den Filterwänden der dreistufigen Anlage lagen mit bis zu 2,3 x 10¹ KBE/m² deutlich höher. Im Rieselbettreaktor wurden zusätzlich noch die Konzentrationen von LA-MRSA im Staub gemessen. Diese lagen bei 1,2 x 10³ KBE/g. Insgesamt waren die gefundenen LA-MRSA Konzentrationen relativ niedrig und lagen häufig an der unteren Nachweisgrenze der hier eingesetzten Verfahren.

Diskussion

In der Luft der zentralen Abluftkanäle beider Ställe (Rohgas), im Waschwasser und in den Biofilmen der untersuchten Abluftreinigungsanlagen sowie im Reingas hinter den Anlagen konnten mit Kultivierungsmethoden MRSA nachgewiesen werden. Insgesamt wurden 30-mal *mec* Typ V und viermal *mec* Typ IVd bestimmt. Hier kann davon ausgegangen werden, dass es sich um LA-MRSA handelt (Monecke et al., 2011). Acht Isolate waren nicht typisierbar. Das Rückhaltevermögen für LA-MRSA sowohl der Rieselbettfilter als auch der dreistufigen Abluftreinigungsanlage lag im Mittel bei etwas über 90 %. Die Konzentrationen im Reingas beider Reinigungssysteme waren somit signifikant niedriger als im Rohgas und bewegten sich deutlich unter 100 KBE/m³. Allerdings wurde eine erhebliche Schwankungsbreite samt einiger Ausreißer bei der Reduktionsleistung beobachtet. Die hier im Rohgas angetroffenen Konzentrationen luftgetragener kultivierbarer LA-MRSA (80–680 KBE/m³, Median 160 KBE/m³ (Rieselbettfilter) und 0–1600 KBE/m³, Median 220 KBE/m³ (dreistufige Anlage) liegen in einer ähnlichen Größenordnung, wie sie auch z. B. von Schulz et al. (zur Publikation angenommen) in der Luft von Schweineeställen mit Impingement als Sammelmethode und anschließender Kultivierung gefunden wurden (6–3619 KBE/m³, Median 151 KBE/m³). Auch eine mit vergleichbarer Probenah-

memethodik durchgeführte Studie des Landesumweltamts Nordrhein-Westfalen an zwei horizontalen Biofiltern zur Rückhaltung von *Staphylococcus aureus* ergab ähnliche Ergebnisse (LUA, 2003). Dabei wurden im Rohgas 2,1 x 10³ KBE/m³ bzw. 7,1 x 10³ KBE/m³ gefunden. Im Reingas waren allerdings bei beiden Anlagen keine *S. aureus* mehr nachweisbar. Auf LA-MRSA wurde

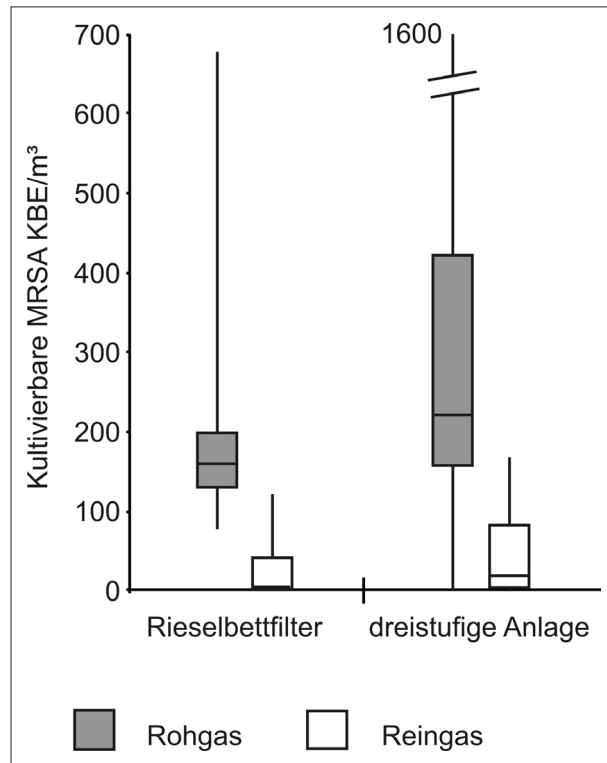


ABBILDUNG 1: Konzentrationen von kultivierbaren LA-MRSA im Rohgas und Reingas eines Rieselbettfilters und einer dreistufigen biologischen Abluftreinigungsanlage an zwei Mastschweineeställen (n = 10).

TABELLE 1: Durchschnittliche Konzentrationen und Standardabweichungen von LA-MRSA im Rohgas und Reingas, in den Biofilmen auf den Filtermaterialien und im Waschwasser eines Rieselbettfilters und einer dreistufigen Abluftreinigungsanlage (n = 10)

Probenahmeort	Bezugsgröße	Rieselbettfilter	Dreistufige Abluftreinigungsanlage
Rohgas	KBE/m ³	2,1 x 10 ² (± 1,7 x 10 ²)	3,9 x 10 ² (± 4,8 x 10 ²)
Reingas		3,2 x 10 ¹ (± 4,9 x 10 ¹)	4,0 x 10 ¹ (± 5,3 x 10 ¹)
Biofilm Filterwand 1	KBE/cm ²	2,0 x 10 ⁰ (± 2,0 x 10 ⁰)	1,0 x 10 ¹ (± 7,0 x 10 ⁰)
Biofilm Filterwand 2			2,3 x 10 ¹ (± 3,6 x 10 ¹)
Wasser Becken 1	KBE/ml	5,0 x 10 ¹ (± 2,9 x 10 ¹)	4,0 x 10 ⁰ (± 3,0 x 10 ⁰)
Wasser Becken 2			1,0 x 10 ⁰ (± 0)
Staub	KBE/g	1,2 x 10 ³ (± 1,1 x 10 ³)	nicht untersucht

bei diesen eher stichprobenartigen Erhebungen jedoch nicht untersucht. Andere vergleichbare Untersuchungen zur LA-MRSA-Abscheidung liegen derzeit unseres Wissens nicht vor.

In unseren Untersuchungen wurden an einigen Tagen, trotz relativ hoher Rohgaskonzentrationen, im Reingas keine LA-MRSA gefunden, dagegen waren an anderen Tagen die Konzentrationen in Rohgas und Reingas annähernd gleich. An keinem Messtag wurden jedoch höhere Konzentrationen an LA-MRSA im Reingas als im Rohgas gefunden. Die beobachteten Keimzahlschwankungen könnten sowohl durch verfahrenstechnische Parameter (z. B. Lüftungsraten, Berieselung), als auch durch die an den jeweiligen Messtagen herrschenden klimatischen Bedingungen hervorgerufen worden sein. Allerdings ist zu berücksichtigen, dass sich bei den ermittelten relativ geringen Konzentrationen, die sich mehrfach im Bereich der unteren Nachweisgrenze (z. B. beim Impingement 40 KBE/m³) der eingesetzten Verfahren bewegten, geringe Schwankungen überdeutlich darstellen können. Daher können hier allein schon aufgrund der Datenlage diesbezüglich keine gesicherten Zusammenhänge hergestellt werden.

Die Befunde weisen jedoch eindeutig darauf hin, dass die geprüften Abluftreinigungsanlagen den Austrag von LA-MRSA deutlich mindern können. Obwohl eine Reduktion von 90 % einer Keimart bei den üblichen hohen Keimausträgen aus Nutztierställen von mehreren Millionen Keimen pro m³ Abluft nicht geeignet ist, von einer entscheidenden Verminderung zu sprechen, so dürfte bei den hier gezeigten geringen Emissionen an LA-MRSA-Keimen, die noch die Anlage hinter den Filtern verlassen, doch von einer erheblichen Entlastung für die Umgebung und Umgebungsluft ausgegangen werden. Eine generelle Verminderung der Emissionen ist unter dem Aspekt einer potenziellen Anreicherung auch von geringen LA-MRSA Konzentrationen in der Stallumgebung relevant. So wurden von Schulz et al. (zur Publikation angenommen) LA-MRSA an Mast Schweineställen ohne Abluftreinigung in der Luft noch in 150 m, im Boden dagegen sogar noch in 300 m Entfernung von den Stallgebäuden gefunden.

Fazit und Ausblick

In der Abluft (Rohgas) beider untersuchter Mastschweineställe sowie im Reingas nach Durchlaufen der biologischen Abluftreinigungssysteme konnten kultivierbare LA-MRSA nachgewiesen werden. Beide Systeme waren hier jedoch in der Lage die Konzentration von LA-MRSA in der Luft im Mittel um über 90 % zu reduzieren, was einen entsprechend geringeren Austrag dieser Kontaminanten aus den Tierhaltungsanlagen in die Umwelt bedeutet. Somit können diese Systeme einen Beitrag zum Schutz von Anwohnern und Nachbarbetrieben leisten. Es wurden jedoch auch deutliche Schwankungen beim Emissionsverhalten der Anlagen beobachtet, die vermutlich auf Betriebszustände im Stall und/oder verfahrenstechnische Parameter zurückgeführt werden können. Die insgesamt gefundenen Emissionen an LA-MRSA waren relativ niedrig und bewegten sich mehrfach im Bereich der Nachweisgrenze der eingesetzten Sammelmethode. Verdünnungseffekte und Absterben tragen weiter zur Abnahme der Bakterien in der Stallumgebung bei. Der Einsatz von Sammelmethode

mit niedrigeren Nachweisgrenzen durch die Beprobung größerer Luftmengen, wie z. B. einem Zyklon-Sammler, können dabei helfen die Emissionen an LA-MRSA aus Ställen und deren Ausbreitung in der Stallumgebung noch besser einschätzen zu können. Zukünftig sollte untersucht werden, ob es auch mit Abluftreinigung zu einer Akkumulation von LA-MRSA im Boden kommt.

Danksagung

Diese Arbeit wurde finanziert durch das Deutsche Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) durch die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE), Projekt Nr. 2807UM003. Wir danken ebenfalls unseren Projektpartnern Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft DLG e. V., Groß-Umstadt, Fachhochschule Osnabrück, Johann Heinrich von Thünen-Institut, Braunschweig, Landwirtschaftskammer Niedersachsen – LUFA Nord-West, Oldenburg, und TÜV Nord Umweltschutz GmbH & Co. KG, Hannover für die gute Zusammenarbeit.

Conflict of interest: Es bestehen oder bestanden keine geschützten, finanziellen, beruflichen oder anderen persönlichen Interessen an einem Produkt, Service und/oder einer Firma, welche die in diesem Manuskript dargestellten Inhalte oder Meinungen beeinflussen könnten.

Literatur

- Bilic V, Habrun B, Barac I, Humski A (2000):** Distribution of airborne bacteria in swine housing facilities and their immediate environment. *Arh Hig Rada Toksikol* 51: 199–205.
- Chmielowiec-Korzeniowska A, Tymczynska L, Skórska C, Sitkowska J, Cholewa G, Dutkiewicz J (2007):** Efficacy of a novel biofilter in hatchery sanitation: I. Removal of airborne bacteria, dust and endotoxin. *Ann Agric Environ Med* 14: 141–150.
- Curtis SE, Drummond JG, Grunloh DJ, Lynch PB, Jensen AH (1975):** Relative and qualitative aspects of aerial bacteria and dust in swine houses. *J Anim Sci* 41: 1512–1520.
- Friese A, Schulz J, Hoehle L, Fetsch A, Tenhagen BA, Hartung J, Roesler U (2012):** Occurrence of MRSA in air and housing environment of pig barns. *Vet Microbiol* 158: 129–135.
- Hahne J, Schirz S, Schumacher W (2002):** Leitfaden des Landkreises Cloppenburg zur Feststellung der Eignung von Abluftreinigungsanlagen in der Tierhaltung zur Anwendung in der Genehmigungspraxis und bei der Überwachung. Landkreis Cloppenburg, Cloppenburg.
- Hartung J, Stratmann-Selke J, Clauß M (2011):** Efficiency of a bioscrubber/biofilter combination to reduce air pollutants from exhaust air of a piggery – Techniques, efficiency, costs. Proceedings of the Biennial Conference of the Australian Society for Engineering in Agriculture (SEAg), Surfers Paradise, Queensland, Australia, 2011, 226–236.
- Huijsdens XW, van Dijke BJ, Spalburg E, van Santen-Verheuevel MG, Heck M, Pluister GN, Voss A, Wannet WJB, de Neeling AJ (2006):** Community-acquired MRSA and pig-farming. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 5: 26.
- Khanna T, Friendship R, Deweya C, Weese JS (2008):** Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* colonization in pigs and pig farmers. *Vet Microbiol* 128: 298–303.

- Licht LA, Miner R (1978):** A scrubber to reduce livestock confinement building odors. *Trans Am Soc Agric Eng* 22: 1152–1156.
- LUA (Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen) (2003):** Technische Maßnahmen zur Emissionsminderung in der Intensivtierhaltung – Untersuchungen an Biofiltern und Kombinationsanlagen. Fachberichte LUA NRW 3/2003. http://www.lanuv.nrw.de/veroeffentlichungen/fachberichte/fach_2003_03/fb3_s01_10.pdf, 2012.05.08.
- Martens W, Martinec M, Zapirain R, Stark M, Hartung E, Palmgren U (2001):** Reduction potential of microbial, odour and ammonia emissions from a pig facility by biofilters. *Int J Hyg Environ Health* 203: 335–345.
- Monecke S, Coombs G, Shore A C, Coleman D C, Akpaka P, Borg M, Chow H, Ip M, Jatzwauk L, Jonas D, Kadlec K, Kearns A, Laurent F, O'Brien F G, Pearson J, Ruppelt A, Schwarz S, Scicluna E, Slickers P, Tan H L, Weber S, Ehrlich R (2011):** A fieldguide to pandemic, epidemic and sporadic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *PLoS ONE* 6(4): e17936. doi:10.1371/journal.pone.0017936.
- Müller W, Gröning K (1981):** Die Tenazität von Bakterien im luftgetragenen Zustand. II. Mitteilung, Experimentelle Untersuchung zur Bestimmung der Absterbekonstante beta für Kokken. *Zbl Bakt Hyg I Abt Orig B* 173: 180–187.
- Nicolai RE, Lefers RM (2006):** Biofilters used to reduce emissions from livestock housing – a literature review. Workshop on Agricultural Air Quality. Washington DC, USA.
- Platz S, Scherer M, Unshelm J (1995):** Untersuchungen zur Belastung von Mastschweinen sowie der Umgebung von Mastschweinställen durch atembaren Feinstaub, stallspezifische Bakterien und Ammoniak. *Zentralbl Hyg Umweltmed* 196: 399–415.
- Poulsen AB, Skov R, Pallesen LV (2003):** Detection of methicillin resistance in coagulase-negative staphylococci directly from simulated blood cultures using the EVIGENE MRSA Detection Kit. *J Antimicrob Chemother* 51: 419–421.
- Schulz J (2007):** Zur Charakterisierung der Ausbreitungsentfernung von Bioaerosolen aus Masthühnerställen. Dissertation an der Universität Bielefeld, <http://pub.uni-bielefeld.de/publication/2303645>, 09.05.2012.
- Schulz J, Friese A, Klees S, Tenhagen BA, Fetsch A, Rösler U, Hartung J (2012):** LA-MRSA contamination of air and soil surfaces in the vicinity of pig barns: A longitudinal study. *Appl Environ Microbiol* (doi: 10.1128/AEM.00550-12).
- Seedorf J, Hartung J, Schroeder M, Linkert KH, Phillips VR, Holden MR, Sneath RW, Short JL, White RP, Pedersen S, Takai H, Johnsen JO, Metz JHM, Groot Koerkamp PWG, Uenk GH, Wathes CM (1998):** Concentrations and emissions of airborne endotoxins and microorganisms. In: *Livestock buildings in Northern Europe*. *J Agric Engin Res* 70: 97–109.
- Seedorf J, Hartung J (2002):** Stäube und Mikroorganismen in der Tierhaltung. *KTBL Schrift, Darmstadt*.
- Seedorf J (2006):** Bioaerosole in und aus der Tierhaltung – umwelthygienische Bedeutung und Messbarkeit. *KTBL-Schrift* 449: 115–137.
- Takai H, Pedersen S, Johnsen JO, Metz JHM, Groot Koerkamp PWG, Uenk GH, Phillips VR, Holden MR, Sneath RW, Short JL, White RP, Hartung J, Seedorf J, Schroeder M, Linkert KH, Wathes CM (1998):** Concentrations and emissions of airborne dust in livestock buildings in northern Europe. *J Agric Engin Res* 70: 59–77.
- Tymczynna L, Chmielowiec-Korzeniowska A, Drabik A (2007):** The effectiveness of various biofiltration substrates in removing bacteria, endotoxins, and dust from ventilation system exhaust from a chicken hatchery. *Poultry Sci* 86: 2095–2100.
- van Duijkeren E, Ikawaty R, Broekhuizen-Stins MJ, Jansen MD, Spalburg EC, de Neeling AJ, Allaart JG, van Nes A, Wagenaar JA, Fluit AC (2008):** Transmission of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains between different kinds of pig farms. *Vet Microbiol* 126: 383–389.
- VDI 4252 Blatt 3 (2008):** Erfassen luftgetragener Mikroorganismen und Viren in der Außenluft – Aktive Probenahme von Bioaerosolen – Abscheidung von luftgetragenen Bakterien mit Impingern nach dem Prinzip der kritischen Düse. Beuth Verlags GmbH, Berlin.
- Voss A, Loeffen F, Bakker J, Klaassen C, Wulf M (2005):** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farming. *Emerg Infect Dis* 11: 1965–1966.
- Zhang K, McClure JA, Elsayed S, Louie T, Conly JM (2005):** Novel multiplex PCR assay for characterization and concomitant subtyping of staphylococcal cassette chromosome mec types I to V in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 43: 5026–5033.

Korrespondenzadresse:

Dr. Marcus Clauß
 Institut für Tierhygiene, Tierschutz und Nutztierethologie
 Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
 Bünteweg 17p
 30173 Hannover
 marcus.clauss@tiho-hannover.de