

Tierärztliche Hochschule Hannover

**Untersuchungen zu Vorkommen und Verbreitung
von Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus*
(MRSA) und Methicillin-resistenten *Staphylococcus*
pseudintermedius (MRSP) bei Hund und Katze**

INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Grades einer
Doktorin der Veterinärmedizin
- Doctor medicinae veterinariae -
(Dr. med. vet.)

vorgelegt von
Ulrike Barbara Nienhoff (geb. Wolters)
aus Rheine

Hannover 2011

Wissenschaftliche Betreuung:

Univ. Prof. Dr. Ingo Nolte

Klinik für Kleintiere

1. Gutachter:

Univ. Prof. Dr. Ingo Nolte

2. Gutachter:

Univ. Prof. Dr. Manfred Kietzmann

Tag der mündlichen Prüfung:

15.11.2011

Für Hendrik

Ergebnisse dieser Dissertation wurden in international anerkannten Fachzeitschriften mit Gutachtersystem (peer review) zur Veröffentlichung angenommen:

Nienhoff, U., Kadlec, K., Chaberny, I.F., Verspohl, J., Gerlach, G.-F., Schwarz, S., Simon, D., Nolte, I., 2009. Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains between humans and dogs: two case reports. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 64, 660-662

Nienhoff, U., Kadlec, K., Chaberny, I.F., Verspohl, J., Gerlach, G.-F., Schwarz, S., Kreienbrock, L., Simon, D. and Nolte, I., 2011. Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* among dogs admitted to a small animal hospital. *Veterinary Microbiology*. 150, 191-197

Nienhoff, U., Kadlec, K., Chaberny, I.F., Verspohl, J., Gerlach, G.-F., Schwarz, S., Kreienbrock, L., Simon, D. and Nolte, I., 2011. Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* among cats admitted to a veterinary teaching hospital. *Veterinary Microbiology*. in press

Teilergebnisse dieser Dissertation wurden bei Fachkongressen präsentiert:

Nienhoff, U., Chaberny, I.F., Verspohl, J., Simon, D., Nolte, I., 2008. Eingangsscreening von Hunden und Katzen auf methicillinresistente *Staphylococcus aureus* und methicillinresistente *Staphylococcus intermedius* (MRSI). 16. Jahrestagung der FG „Innere Medizin und klinische Labordiagnostik“ der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. (DVG) vom 02.-03.02 in Gießen, Tierärztliche Praxis, 36, A 34, A14.

Nienhoff, U., Chaberny, I.F., Verspohl, J., Gerlach, G.-F., Schwarz, S., Simon, D., Nolte, I., 2009. Auftreten von MRSA-Stämmen bei Haustieren. 37. Seminar Umwelthygiene „MRSA als Zoonoseerreger – aktuelle Entwicklungen“ vom 06.02. in Hannover.

Nienhoff, U., Kadlec, K., Chaberny, I.F., Verspohl, J., Gerlach, G.-F., Schwarz, S., Simon, D., Nolte, I., 2009. Two cases of transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates between humans and dogs. ASM-ESCMID Conference on Methicillin-resistant Staphylococci in Animals: Veterinary and Public Health Implications vom 22.-25.09. in London, Großbritannien, p7A.

Nienhoff, U., Kadlec, K., Chaberny, I.F., Verspohl, J., Gerlach, G.-F., Schwarz, S., Simon, D., Nolte, I., 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Two cases of transmission between humans and dogs. 62. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM) vom 28.-31.03. in Hannover, PRV10, 244.

Nienhoff, U., Kadlec, K., Chaberny, I.F., Verspohl, J., Gerlach, G.-F., Schwarz, S., Simon, D., Nolte, I., 2010. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus* isolates in dogs attending a German veterinary teaching hospital. Abstracts of the Congress of the European College of Veterinary Internal Medicine- Companion Animals (ECVIM-CA) vom 09.-11.09. in Toulouse, Frankreich, Abstract No. 49, 241.

Nienhoff, U., Kadlec, K., Chaberny, I.F., Verspohl, J., Gerlach, G.-F., Schwarz, S., Simon, D., Nolte, I., 2010. Identification and characterisation of methicillin-resistant *Staphylococcus* isolates in dogs attending a German veterinary clinic. Tagungsband des 14th International Symposium on Staphylococci and Staphylococcal Infections (ISSI) vom 06.-09.09. in Bath, Großbritannien.

Inhaltsverzeichnis

Kapitel 1:	Einleitung	11
1	Einleitung	13
2	Die Gattung <i>Staphylococcus</i>	14
2.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	14
2.2	Staphylokokken der Intermediusgruppe.....	15
2.2.1	<i>Staphylococcus intermedius</i>	16
2.2.2	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	16
2.2.3	<i>Staphylococcus delphini</i>	17
2.3	andere Staphylokokken.....	18
3	Methicillinresistenz bei Staphylokokken	18
3.1	Methicillin-resistente <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA).....	20
3.2	Methicillin-resistente <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> (MRSP).....	21
4	Bedeutung methicillin-resistenter Staphylokokken in der Kleintierklinik	22
4.1	Bedeutung von MRSA.....	22
4.2	Bedeutung von MRSP.....	23
5	Nachweisverfahren	24
5.1	Anzucht und Speziesidentifizierung von MRSA/MRSP.....	24
5.2	Nachweis der Methicillinresistenz.....	25
5.2.1	Empfindlichkeitsprüfung.....	26
5.2.2	Detektion des <i>mecA</i> Gens.....	26
5.2.3	Detektion des PBP2A Proteins.....	27
5.3	Typisierung von MRSA/MRSP.....	27
5.3.1	<i>spa</i> -Typisierung.....	28
5.3.2	Multilocus Sequenztypisierung (MLST).....	29
5.3.3	SCC <i>mec</i> -Typisierung.....	29
5.3.4	<i>dru</i> -Typisierung.....	30
5.3.5	Pulsfeld Gelelektrophorese (PFGE).....	31
6	Referenzen	33

Kapitel 2:	Artikel 1: Transmission of methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> strains between humans and dogs: two case reports	51
Kapitel 3:	Artikel 2: Methicillin-resistant <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> among dogs admitted to a small animal hospital	53
Kapitel 4:	Artikel 3: Methicillin-resistant <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> among cats admitted to a veterinary teaching hospital	55
Kapitel 5:	Diskussion	57
	1 Nachweis von MRSA/MRSP in der Kleintierklinik	60
	2 Charakterisierung von MRSA/MRSP	62
	3 Übertragung zwischen Tier und Mensch	64
	4 Risikoanalyse	66
	5 Bekämpfung von MRSA/MRSP in der Kleintierklinik	68
	6 Referenzen	72
Kapitel 6:	Zusammenfassung	81
Kapitel 7:	Summary	87

Abkürzungsverzeichnis

µg	Mikrogramm
bp	Basenpaare
CA	community associated
CC	klonaler Komplex (engl.: clonal complex)
<i>ccr</i>	cassette chromosome recombinase
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
DNA	Desoxyribonucleinic-acid
<i>dru</i>	direct-repeat-unit
EMA	European Medicines Agency
et al.	und andere (lat.: et alii)
HA	healthcare associated
kb	Kilo-Basenpaare
LA	livestock associated
MLST	Multilocus Sequenztypisierung
mg	Milligramm
mm	Millimeter
MRSA	Methicillin-resistente <i>Staphylococcus aureus</i>
MRSP	Methicillin-resistente <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>
MSSA	Methicillin-sensitive <i>Staphylococcus aureus</i>
MSSP	Methicillin-sensitive <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>
o.g.	oben genannt
ORF	offener Leserahmen (engl.: Open Reading Frame)
PBP	Penicillin-bindendes Protein
PCR	Polymerase Kettenreaktion
PFGE	Pulsfeld Gelelektrophorese
PVL	Panton-Valentine-Leukozidin
rDNS	ribosomale Desoxyribonuclein-Säure
RFLP	Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus
SIG	<i>Staphylococcus intermedius</i> -Gruppe
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>

SCC	Staphylococcal Cassette Chromosome
<i>S. delphini</i>	<i>Staphylococcus delphini</i>
<i>S. epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>S. intermedius</i>	<i>Staphylococcus intermedius</i>
<i>spa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> Protein A-Gen
<i>spp.</i>	Spezies (Plural)
<i>S. pseudintermedius</i>	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>
<i>S. schleiferi</i>	<i>Staphylococcus schleiferi</i>
ST	Sequenz-Typ
v.a.	vor allem
z.B.	zum Beispiel
z.T.	Zum Teil

Einleitung

1 Einleitung

Die Zahl an Infektionen durch Antibiotika-resistente Erreger nimmt weltweit zu und ist eine große Herausforderung für die Human- und Veterinärmedizin. In der Veterinärmedizin sind Methicillin-resistente Staphylokokken, und hier insbesondere *Staphylococcus aureus* und Vertreter der *Staphylococcus intermedius*-Gruppe (v.a. *Staphylococcus pseudintermedius*), zunehmend in den Focus gerückt. Viele der als Haustiere gehaltenen Spezies können Träger von Methicillin-resistenten *S. aureus* (MRSA) und/oder *S. pseudintermedius* (MRSP) sein. So finden sich in der Literatur etliche Beispiele für die Kolonisation und auch Infektion der verschiedensten Spezies (WEESE und VAN DUIJKEREN 2010). Im Bereich der Kleintiermedizin konnten MRSA-Isolate außer bei Hund und Katze auch aus Proben von Vogel, Kaninchen, Meerschweinchen und Schildkröte nachgewiesen werden (WALTHER et al. 2008). Epidemiologische Studien bei Kleintieren liegen jedoch nur in sehr begrenztem Umfang vor. Die Prävalenz und die möglichen Risikofaktoren von MRSA und MRSP bei Hund und Katze sind wenig untersucht (WEESE und VAN DUIJKEREN 2010). Von verschiedenen Autoren wird nachdrücklich auf die Notwendigkeit von epidemiologischen Studien zur Ermittlung der Prävalenz von Methicillin-resistenten Staphylokokken im Bereich der Kleintiermedizin hingewiesen (DUQUETTE und NUTALL 2004, STROMMENGER et al. 2006, WALTHER et al. 2006, HANSELMAN et al. 2008, RUSCHER et al. 2009).

Ziel dieser Arbeit war daher die Aufklärung der Bedeutung von MRSA- und/oder MRSP-Kolonisation bei Hund und Katze, sowohl für die Tiergesundheit als auch im Hinblick auf eine Transmission zwischen Mensch und Tier. Zu diesem Zweck wurde einerseits ein Screening durchgeführt, bei dem neben der Beprobung der Patienten auch weitreichende Hintergrundinformationen zum Tier und den Besitzern erhoben wurden. Andererseits wurden die Isolate charakterisiert, um Rückschlüsse auf Übertragungswege ziehen zu können. Über die Ermittlung der Prävalenzen und Risikofaktoren sollten Rückschlüsse auf die Bedeutung von Hund und Katze als Erregerreservoir für den Menschen und die Notwendigkeit und Art von präventiven Maßnahmen im Bereich von Kleintierkliniken gezogen werden. Mithilfe der

Ergebnisse sollten Maßnahmenkataloge erstellt werden, um einen Eintrag und/oder die Verbreitung von MRSA und MRSP im Bereich der Kleintierklinik zu vermeiden bzw. zu erschweren.

2 Die Gattung *Staphylococcus*

Bakterien der Gattung *Staphylococcus* zählt man zur Familie der Staphylococcaceae (SCHLEIFER und BELL 2009). Die Gattung umfasst zurzeit 45 Spezies und 24 Subspezies (www.bacterio.cict.fr) (Stand 24.06.2011). Staphylokokken sind Gram-positive, meist in Haufen gelagerte Kokken. Sie sind unbeweglich, nicht sporenbildend, fakultativ anaerob und bilden Katalase. Staphylokokken produzieren eine große Zahl von virulenzassoziierten Toxinen und Enzymen; zusätzlich sind ihre Fähigkeit zur Adhärenz an Epithelzellen und ihre antiphagozytären Eigenschaften bei ihrem pathogenen Potential von Bedeutung (ROLLE und MAYR 2007). Man unterscheidet zwischen Koagulase-positiven und Koagulase-negativen Staphylokokken. Der bedeutendste Vertreter der Koagulase-positiven Staphylokokken ist *S. aureus* (Abschnitt 2.1), aber auch Staphylokokken der *Staphylococcus intermedius*-Gruppe (Abschnitt 2.2) bilden Koagulase. Vertreter anderer *Staphylococcus* spp. (Abschnitt 2.3) spielen bei definierten Krankheitsprozessen bestimmter Tierarten oder als opportunistische Infektionserreger bei Menschen und Tieren eine Rolle.

2.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) ist als weltweit verbreiteter, fakultativ pathogener Erreger an einer Vielzahl von Krankheitsbildern beteiligt. Als häufigster Erreger nosokomialer (im Krankenhaus erworbener) Infektionen in der Humanmedizin wird *S. aureus* insbesondere bei Wundinfektionen, Pneumonien, Sepsen, Endokarditiden und Katheter-assoziierten Infektionen nachgewiesen (LOWY 1998). Durch mit toxinbildenden *S. aureus* kontaminierte Lebensmittel kann es zu schwerwiegenden

Lebensmittelintoxikationen beim Menschen kommen (ROBERT-KOCH-INSTITUT 2000). Bei Tieren tritt *S. aureus* vor allem im Zusammenhang mit Mastitis, Synovitis, Furunkelbildung, eitriger Dermatitis, Abszessen, Pyämien und Septikämien auf (ROLLE und MAYR 2007).

Aufgrund seiner Anspruchslosigkeit lässt sich *S. aureus* auf vielen gewöhnlichen Nährmedien bei 37°C ohne Schwierigkeiten kultivieren. Man erhält glänzende, konvex gewölbte, weißliche bis gelbliche Kolonien, die häufig von Hämolysezonen umgeben sind. Die labor diagnostische Identifikation des Keims erfolgt in der Regel durch Erregeranzucht mit typischer Koloniemorphologie, Nachweis von Katalase, Koagulase und Clumping Faktor (BURKARDT 1992). *S. aureus* kann in der Umwelt und dort besonders auf Oberflächen überdauern (KÖHLER et al. 2001). Besonders gut haftet er an hydrophoben Oberflächen wie Plastik oder Edelstahl (ROBERT-KOCH-INSTITUT 2000). *S. aureus* wird als Erreger sowohl von Pyodermien, als auch bei der Otitis des Hundes beschrieben (HAUSCHILD und WOJCIK 2007, OLIVERA et al. 2008). Sowohl von Haut und Schleimhäuten gesunder Hunde und Katzen als auch von Hunden und Katzen mit Haut- und Ohrinfektionen konnte *S. aureus* isoliert werden (MORRIS et al. 2006, ABRAHAM et al. 2007, GRIFFETH et al. 2008).

2.2 Staphylokokken der *Staphylococcus intermedius*-Gruppe

Hinsichtlich der engen Verwandtschaft von *S. intermedius* (Abschnitt 2.2.1), *S. pseudintermedius* (Abschnitt 2.2.2) und *S. delphini* (Abschnitt 2.2.3) werden diese drei Spezies als *S. intermedius*-Gruppe (SIG) bezeichnet (SASAKI et al. 2007a). Im Jahr 2005 wurde die Spezies *S. pseudintermedius* neu beschrieben (DEVRIESE et al. 2005). In vielen älteren Publikationen werden *S. intermedius* Isolate erwähnt, bei denen es sich häufig, insbesondere bei Hunden, um *S. pseudintermedius* gehandelt haben wird (SASAKI et al. 2007a, DEVRIESE et al. 2009).

2.2.1 *Staphylococcus intermedius*

Erstmalig beschrieben wurde die Spezies *S. intermedius* im Jahr 1976 von HÁJEK. *S. intermedius* besitzt sowohl biochemische Eigenschaften von *S. aureus* als auch vom koagulasenegativen *Staphylococcus epidermidis* und wurde früher als *Staphylococcus aureus* Biotyp E und F bezeichnet (HÁJEK und MARSALEK 1971, SELBITZ 1992). Die Bakterien sind fakultativ anaerob, die Kolonien wachsen leicht konvex, rund, glatt, glänzend, weiß-grau und unpigmentiert. *S. intermedius* ist Katalase- und Koagulase-positiv. *S. intermedius* ist Bestandteil der natürlichen Hautflora - insbesondere der Analregion - verschiedener Tierarten. So konnte diese Spezies von verschiedenen Vogelarten sowie von Pferd, Katze, Nerz und Ziege isoliert werden (BES et al. 2002). *S. intermedius* wurde als dominierende *Staphylococcus* spp. sowohl von gesunden, als auch von kranken Hunden isoliert (GREENE und LÄMMLER 1993). Diese Bakterien sind nicht nur assoziiert mit Haut- und Ohrinfektionen bei Hunden und Katzen, sondern sind auch eine häufige Ursache für Sekundärinfektionen und postoperative Wundheilungsstörungen (MORRIS et al. 2006).

2.2.2 *Staphylococcus pseudintermedius*

Die Spezies *S. pseudintermedius* wurde 2005 (DEVRIESE et al. 2005) beschrieben. Erstmalig wurde dieser Keim von Hund, Katze, Pferd und Papagei isoliert und aufgrund seiner engen Verwandtschaft zu *S. intermedius* als *S. pseudintermedius* eingeordnet. Obwohl schon frühere Studien (HESELBARTH und SCHWARZ 1995) darauf hindeuteten, dass Hunde andere *S. intermedius*-Subtypen besaßen, konnte erst unter Verwendung von Sequenzanalysen der Gene *tuf*, *sodA* oder *hsp60* bestätigt werden, dass es sich bei SIG-Isolaten um verschiedene Spezies handelt (SASAKI et al. 2007a).

Der Erreger produziert verschiedene Enzyme, beispielsweise Koagulase, Protease, Thermonuclease und Toxine, wie Hämolsine, exfoliative Toxine und Enterotoxine (FITZGERALD und PENADÉS 2008). Bisherige Untersuchungen zur tierartlichen

Verteilung von *S. intermedius* und *S. pseudintermedius* zeigten, dass fragliche Stämme von Hunden nahezu ausschließlich als *S. pseudintermedius* identifiziert wurden (SCHWARZ 2009). In der veterinärmedizinischen Diagnostik identifizierte SIG-Isolate von Hunden sollten als *S. pseudintermedius* angesehen werden, solange geeignete Testverfahren nicht die Zugehörigkeit zu einer anderen verwandten Spezies bestätigen (DEVRIESE et al. 2009).

2.2.3 *Staphylococcus delphini*

Diese Spezies wurde 1988 von VARALDO und Mitarbeitern (VARALDO et al. 1988) beschrieben. *S. delphini* wurde aus Eiter von in Gefangenschaft gehaltenen Delphinen isoliert. Der Erreger konnte ebenfalls bei Pferden, Rindern, Nerzen und Tauben gefunden werden (SASAKI et al. 2007a). Die Kolonien haben einen Durchmesser von fünf bis sieben mm, sind rund glänzend, glatt, leicht konvex und opak bis durchscheinend. Diese Spezies wurde als Katalase- und Koagulase-positiv sowie Clumping Factor-negativ beschrieben (BRÜCKLER et al. 1994). Die Prävalenz und klinische Bedeutung des Erregers ist zurzeit noch unklar, da er möglicherweise häufig aufgrund der phänotypischen Ähnlichkeit mit *S. intermedius* verwechselt wurde (DEVRIESE et al. 2005, BANNOEHR 2007, SASAKI et al. 2007a). In der Studie von SASAKI et al. (2007a) und YOUN et al. (2011) wurde *S. delphini* nicht bei Isolaten von Hunden oder Katzen gefunden, andererseits gehörten alle in einer Studie verwendeten SIG-Isolate von Pferden dieser Spezies an (SASAKI et al. 2007a).

2.3 andere Staphylokokken

Koagulase-negative Staphylokokken, insbesondere *Staphylococcus epidermidis*, spielen beim Menschen eine Rolle als Krankheitserreger (ROGERS et al. 2009). *S. epidermidis* ist fakultativ pathogen und verursacht insbesondere als nosokomialer Erreger schwere Infektionen (ROGERS et al. 2009). In der Veterinärmedizin sind Koagulase-negative Staphylokokken bei Mastitiserkrankungen von Kühen von Bedeutung (LÜTHJE und SCHWARZ 2006, PYÖRÄLÄ und TAPONEN 2009, TAPONEN und PYÖRÄLÄ 2009). Außerdem ist der Koagulase-variable *Staphylococcus hyicus* der ursächliche Erreger des Ferkelrußes (LÄMMLER 1990). Wenige Berichte gibt es von anderen Tierarten wie z.B. Pferden (MOODLEY und GUARDABASSI 2009). In der Kleintiermedizin werden andere Staphylokokken bei Hund oder Katze häufig nachgewiesen. Von den Koagulase-negativen Staphylokokken sind *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus simulans* und *Staphylococcus schleiferi* am häufigsten bei Hunden anzutreffen (IGIMI et al. 1990, MEDELEAU et al. 1990, MAY et al. 2005).

3 Methicillinresistenz bei Staphylokokken

Insbesondere durch ihre Fähigkeit Resistenzen gegen antimikrobielle Wirkstoffe zu erwerben, haben Staphylokokken in den letzten Jahren an Bedeutung stark zugenommen. Die größte Relevanz hat hierbei die Resistenz gegen Methicillin (KWON et al. 2006). Das semisynthetische, penicillinastabile Methicillin gehört zur Gruppe der β -Laktam-Antibiotika und wurde 1960 in den klinischen Gebrauch eingeführt. Später wurde es durch besser verträgliche Isoxazolylpenicilline, wie Oxacillin ersetzt und hat heute keine therapeutische Bedeutung mehr. Oxacillin ist stabiler als Methicillin und wird daher auch als Vertreter für diese Gruppe von Penicillinen für die Empfindlichkeitsprüfung verwendet. Aufgrund dessen, dass der Erreger auf Oxacillin-Empfindlichkeit getestet wird, wird für MRSA häufig auch das Synonym ORSA (Oxacillin-resistente *S. aureus*) verwendet.

Methicillinresistenz bei Staphylokokken beruht auf dem Vorhandensein eines zusätzlichen Penicillin-bindenden Proteins (PBP), nämlich PBP2a, das vom *mecA*-Gen kodiert wird. PBPs sind membrangebundene Enzyme, die an der Bakterienzellwandsynthese beteiligt sind. Sie sind hier für die Vernetzung des Peptidoglycans (Synonym: Murein) zuständig. β -Laktam-Antibiotika unterbrechen die Zellwandsynthese, indem sie kovalent an das katalytisch aktive Zentrum der PBPs binden und somit das Bakterienwachstum hemmen. PBP2a besitzt eine 1000-fach niedrigere Affinität zu allen β -Laktamen und ist dadurch fähig, auch unter β -Laktam-Einfluss die Zellwandsynthese aufrecht zu erhalten (PINHO et al. 2001). Methicillinresistenz umfasst somit Resistenz gegenüber sämtlichen Penicillinen, Cephalosporinen und Carbapenemen. Gemäß Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) sind MRSA und MRSP definiert als *S. aureus* bzw. *S. pseudintermedius*, bei denen das Gen *mecA* und/oder das Protein PBP2a nachgewiesen wurde (CLSI 2010).

Das *mecA*-Gen befindet sich auf einem in das Chromosom integrierten, mobilen genetischen Element, dem Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCC*mec*). SCC Elemente haben ein Set site-spezifischer Rekombinasegene (*ccr*-Genkomplex), integrieren in das Staphylokokken-Genom im Leserahmen *orfX* und weisen terminale inverted und direct repeats auf. Diese scheinen ein genetisches Austauschsystem für Staphylokokken zu sein (ITO et al. 1999, KATAYAMA et al. 2000, ITO et al. 2001, KONDO et al. 2007). Das SCC*mec* Element beinhaltet zusätzlich das Gen *mecA* und dessen Regulatorgene (KATAYAMA et al. 2000). In den sogenannten „junkyard regions“ (J-Regionen) können mobile genetische Elemente integriert sein, wie kleine Plasmide (z.B. pT181 oder pUB110) oder Transposons (z.B. Tn554), die weitere Resistenzgene tragen, z.B. das Tetracyclin-Resistenzgen *tet(K)* auf pT181, das Kanamycin/Neomycin-Resistenzgen *aadD* auf pUB110 oder das Makrolid/Linkosamid/Streptogramin B-Resistenzgen *erm(A)* auf Tn554 (IWG-SCC 2009).

3.1 Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA)

MRSA-Isolate sind weltweit verbreitet und stellen ein enormes Problem im Bereich der Humanmedizin dar (KLEVENS et al. 2007). Sie besitzen eine große Bedeutung als Verursacher von nosokomialen Infektionen. Als Ursachen sind zum einen die Selektion der Erreger unter Antibiotikatherapie zu nennen, zum anderen die Verbreitung durch kolonisierte/infizierte Patienten und die Verbreitung bzw. Übertragung durch medizinisches Personal (ROBERT KOCH-INSTITUT 2009). In den letzten Jahren werden Infektionen und Besiedlungen mit MRSA vermehrt auch bei Patienten beobachtet, die keinen Kontakt zu medizinischen Einrichtungen haben. Diese MRSA-Stämme werden im Gegensatz zu diesen healthcare-associated MRSA (HA-MRSA) als community-associated MRSA (CA-MRSA) bezeichnet (CASEY et al. 2007, MONECKE et al. 2011). Im Gegensatz zu HA-MRSA besitzen CA-MRSA häufig einen zusätzlichen Virulenzfaktor, das Panton-Valentine-Leukozidin (PVL) (LINA et al. 1999, DIEP et al. 2004). Die Präsenz von PVL ist nicht auf MRSA-Stämme beschränkt, sondern wird auch häufig bei Methicillin-sensiblen *S. aureus* (MSSA) beobachtet. Das PVL besteht aus zwei Peptiden, die von den Genen *lukF* und *lukS* kodiert werden. Diese Gene werden gemeinsam exprimiert. PVL wirkt als porenbildendes Toxin, welches Makrophagen und neutrophile Granulozyten zerstört. PVL-positive *S. aureus* sind Erreger von Furunkulose, kutanen Abszessen, schweren nekrotischen Hautinfektionen, Osteomyelitis und nekrotisch haemorrhagischer Pneumonie (LINA et al. 1999).

DEVRIESE et al. (1975) berichteten erstmalig vom Vorkommen von MRSA als Mastitiserreger in belgischen Rinderherden. In den letzten Jahren nimmt die Zahl an Veröffentlichungen zu Kolonisationen und Infektionen bei Tieren durch MRSA rasant zu. Von vielen Haus- und Nutztierarten konnte MRSA isoliert werden, so von Pferden (HARTMANN et al. 1997, WEESE et al. 2004), Schweinen (VOSS et al. 2005), Hühnern (LEE 2003), Kaninchen und Meerschweinchen (WALTHER 2008). Aber auch Wildtiere und Exoten, wie Vögel, Fledermäuse und Schildkröten konnten als Träger identifiziert werden (WALTHER 2008). Insbesondere bei Nutztieren wird eine andere Art MRSA isoliert, welche als livestock-associated MRSA (LA-MRSA)

bezeichnet wird (MONECKE et al. 2011). Diese LA-MRSA gehören einem eigenen klonalen Komplex (CC), nämlich CC398 an (MONECKE et al. 2011). CC398-MRSA werden häufig von gesunden Tieren isoliert (MEEMKEN et al. 2008, KÖCK et al. 2009). Personen die beruflich exponiert sind, sind ebenfalls häufiger Träger von CC398-MRSA (MEEMKEN et al. 2008). Bei der ersten Beschreibung dieses MRSA-Klons wurde der Erreger als ursächlich für die Mastitis einer jungen Mutter identifiziert, die mit ihrem Mann eine Schweinemastanlage betrieb (HUIJSDENS et al. 2006). Später folgten weitere Beschreibungen von klinischen Infektionen beim Menschen (EKKELENKAMP et al. 2006, WITTE et al. 2007) und beim Tier (SCHWARZ et al. 2008, FEßLER et al. 2010a,b; POMBA et al. 2010). Vor der routinierten Identifizierung des CC398 von MRSA-Isolaten (Abschnitt 5.3.2) wurden solche CC398-MRSA häufig als nicht-typisierbare MRSA (VOSS et al. 2005) bezeichnet, da sie aufgrund eines Restriktionsmodifikationssystems nicht mit dem Restriktionsenzym *Sma*I verdaut werden können (Abschnitt 5.3.5).

Im Bereich der Kleintiermedizin gibt es Berichte über MRSA bei Hunden und Katzen (BOAG et al. 2004, DUQUETTE und NUTALL 2004, BAPTISTE et al. 2005, RICH and ROBERTS 2006, WEESE und VAN DUIJKEREN 2010). RANKIN et al. (2005) konnten erstmalig das Vorhandensein von PVL-Toxingenen bei MRSA-Isolaten von Hunden, Katzen, Kaninchen und einem Papagei zeigen. Ein erster nachgewiesener Fall einer Transmission zwischen Mensch und Hund wurde 2005 (VAN DUIJKEREN et al. 2005) beschrieben.

3.2 Methicillin-resistente *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP)

Deutlich weniger Informationen als zu MRSA gibt es zu MRSP. Wie auch das Wirtsspektrum von *S. pseudintermedius* zeigt, sind MRSP insbesondere beim Kleintier und hier bei Hunden und Katzen von Bedeutung. Infektionen (VAN HOOVELS et al. 2006, STEGMANN et al. 2010) oder auch die Kolonisation (PAUL et al. 2011) von Menschen wurden berichtet, sind aber selten und betreffen hauptsächlich exponierte Personen. In 8,9% aller deutschen Haushalte werden Hunde gehalten und laut Hochrechnungen leben ca. 9.638.000 Deutsche mit

mindestens einem Hund zusammen, d.h. dass etwa 15% der deutschen Bevölkerung als exponiert zu betrachten sind (www.kirasoftware.com/Hunde_Leben.php, Stand 22.05.2011). Katzen werden in Deutschland sogar in noch mehr Haushalten gehalten (<http://de.statista.com/statistik/daten/studie/156836/umfrage/anzahl-der-haushalte-mit-haustieren-in-deutschland-2010/>, Stand 11.07.2011). Zusätzlich können Personen, die beruflichen Kontakt zu Kleintieren haben, wie Tierärzte, Tierpfleger u.ä., Träger von MRSP sein und haben ein höheres Risiko, dass sich der Erreger bei ihnen ansiedelt. Insgesamt ist wenig über die Verbreitung von MRSP bekannt. Sicher ist, dass in den letzten Jahren der Nachweis von MRSP in Diagnostiklabors deutlich zugenommen hat. Das erhöhte Vorkommen wird insbesondere in Europa und Nordamerika (USA und Kanada) beschrieben (WEESE und VAN DUIJKEREN 2010). Im Gegensatz zu MRSA-Isolaten zeigen MRSP-Isolate fast immer auch eine Resistenz gegenüber einer Vielzahl von anderen Antibiotika-Klassen, sehr häufig sogar gegen alle in der Veterinärmedizin eingesetzten Wirkstoffe (PERRETEN et al. 2010). Diese ausgeprägte Multiresistenz führt dazu, dass im Falle einer klinisch manifesten Infektion keine Behandlung möglich ist. Diese Multiresistenz ist nicht nur bei MRSP-Isolaten von Hunden, sondern auch bei MRSP-Isolaten von Katzen beschrieben worden (KADLEC et al. 2010b)

4 Bedeutung Methicillin-resistenter Staphylokokken in der Kleintierklinik

4.1 Bedeutung von MRSA

Bei MRSA handelt es sich um resistente Infektionserreger, die leicht zu übertragen sind und in der Umgebung eine hohe Tenazität aufweisen. Sie besitzen somit ein großes Potenzial nosokomiale Infektionen hervorzurufen. Dieses gilt auch für veterinärmedizinische Einrichtungen wie Kleintierkliniken (WEESE et al. 2006). Seit einigen Jahren ist ein häufigeres Auftreten von nosokomialen Infektionen mit MRSA in Tierkliniken zu beobachten (WEESE et al. 2007, WALTHER et al. 2009). Nasal kolonisiertes Personal ist eine wesentliche Quelle für die kontinuierliche Verbreitung

von MRSA. Daneben können fast alle im täglichen Gebrauch eingesetzten veterinärmedizinischen Gerätschaften, wie z.B. Schermaschinen, Fadenmesser und Fixierschlingen als Vehikel für die Verbreitung von MRSA dienen (WALTHER et al. 2005). BAPTISTE et al. (2005) belegten mit ihrer Studie, dass MRSA-Isolate zwischen Hunden und Personal innerhalb von Kliniken übertragen werden können, ohne dass die ursprüngliche Infektionsquelle bestimmt werden konnte. MRSA kann bei einer geringen Anzahl klinisch gesunder Haustiere festgestellt werden (WEESE und VAN DUIJKEREN 2010). Es gibt bislang jedoch kaum Studien, die sich mit potenziellen Risikofaktoren für MRSA-Infektionen bei Haustieren befassen. Allein FAIRES et al. (2008) konnten in ihren Untersuchungen einen Hinweis auf die Gabe von Antibiotika, insbesondere Fluorochinolonen, als potenziellen Risikofaktor für eine MRSA-Infektion bei Hunden und Katzen feststellen.

Sowohl nosokomiale Infektionen bei Hunden, als auch postoperative Wundheilungsstörungen, insbesondere verursacht durch MRSA, werden von verschiedenen Autoren beschrieben (GORTEL et al. 1999, MC LEAN und NESS 2008, WALTHER 2008). Aufgrund der massiven Zunahme resistenter Stämme wird eine effektive Behandlung schwerwiegender Staphylokokken-Infektionen zunehmend komplizierter (HIRAMATSU et al. 1997).

4.2 Bedeutung von MRSP

In den letzten Jahren haben MRSP in Kleintierkliniken aufgrund der Einschränkungen bei der Therapie von Haut- und postoperativen Infektionen eine größere Bedeutung bekommen. MRSP kolonisiert gesunde Tiere (HANSELMAN et al. 2008) und zu einem geringen Prozentsatz auch Menschen, die mit kolonisierten Tieren in Kontakt stehen (SASAKI et al. 2007b). Die Prävalenz von MRSP beim Hund schwankt je nach Population, kolonisierten oder erkrankten Tieren und Ort der Studie zwischen 1,5-2% (VENGUST et al. 2006, HANSELMAN et al. 2007, GRIFFETH et al. 2008) und bis zu 30% in einer Klinik in Japan (SASAKI et al. 2007b). Die Prävalenz bei Katzen betrug in einer Studie bei Katzen mit Hautinfektionen 4% (ABRAHAM et al. 2007).

Die Verfasser einer Multicenterstudie stellten fest, dass MRSP als ein nosokomialer Infektionserreger in tierärztlichen Kliniken einzustufen ist, analog zu HA-MRSA in der Humanmedizin (PERRETEN et al. 2010). Im Gegensatz zu HA-MRSA sind MRSP-Isolate jedoch resistent gegenüber den meisten Klassen von Wirkstoffen, die in der Kleintierklinik angewendet werden. Da die Verbreitung dieser multiresistenten Staphylokokken alarmierend ist, hat die European Medicines Agency (EMA) eine Stellungnahme zu dieser Problematik verfasst (EMA 2011).

5 Nachweisverfahren

5.1 Anzucht und Speziesidentifizierung von MRSA/MRSP

Zur kulturellen Untersuchung des Materials wird dieses entweder direkt auf einem Selektivnährmedium ausgestrichen oder zuvor über Nacht in einer Nährbouillon angereichert, um dann erst auf einem Selektivmedium kultiviert zu werden. Die Gesamtdauer des Untersuchungsverfahrens wird durch die Voranreicherung zwar verzögert, die Sensitivität des Nachweises wird jedoch erhöht. Selektivmedien enthalten verschiedene Substanzen, die ein Wachstum der Begleitflora unterdrücken sollen, ein Indikatorsystem, das *S. aureus* von anderen Erregern unterscheidbar macht, ein oder mehrere Antibiotika, die Methicillin-resistente Erreger selektieren sollen und gegebenenfalls Substanzen zur Förderung der Expression von *mecA*. Sogenannte chromogene Medien verwenden weitere Indikatorsysteme, z.B. Nachweis von Alpha-Glucosidase oder Phosphatase, um *S. aureus* von der Begleitflora abzugrenzen (KNIEHL 2006). Häufig verwendete Medien sind der MRSA ID[®] (bioMérieux, Nürtingen) oder der Oxoid Chromogene MRSA Selektivnährboden (Oxoid, Wesel).

Für die phänotypische Typisierung von Staphylokokken stehen verschiedene kommerzielle Testsysteme zur Verfügung. Sowohl einfache, manuelle, als auch automatisierte Systeme nutzen Schlüsselcharakteristika wie z.B. Fermentation, Enzymexpression und Empfindlichkeit gegenüber antimikrobiellen Substanzen für die

Einordnung des Erregers. Der hier verwendete ID 32 Staph (bioMérieux, Nürtingen) ist ein standardisiertes System zur Identifizierung von *Staphylococcus* spp. und verwandter Gattungen/Spezies anhand von 26 miniaturisierten biochemischen Reaktionen und einer spezifischen Datenbasis. Die Ablesung und Interpretation kann sowohl automatisiert oder manuell erfolgen.

Zur Speziesverifizierung von *S. pseudintermedius* veröffentlichten BANNOEHR et al. (2009) einen Test, der die Unterscheidung von eng verwandten Vertretern der SIG und anderen wichtigen *Staphylococcus* spp. erlaubt. Dieser Nachweis erfolgt mittels Polymerase-Kettenreaktion und Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP) und nutzt die Präsenz einer Erkennungssequenz bei *S. pseudintermedius*. Restriktionsendonukleasen sind Enzyme, die in der Lage sind, spezifische Basenabfolgen in der DNA zu erkennen, und die DNA in oder neben dieser Erkennungssequenz zu schneiden. Größe und Anzahl der Fragmente lassen sich hierbei durch das gewählte Restriktionsenzym und entsprechend der Anzahl und Lokalisation der vorhandenen Erkennungssequenzen beeinflussen. Das von BANNOEHR et al. (2009) beschriebene Verfahren basiert auf dem *Mbol*-Verdaumuster des 320-bp großen PCR-Amplifikates eines internen Fragments des Gens *pta* (Phosphat-Acetyltransferase). Hierbei werden zwei verschiedene Fragmente von 213 bp und 107 bp generiert, die nur bei *S. pseudintermedius* vorkommen, da bei anderen SIG-Spezies und anderen Staphylokokken wie *S. aureus* an dieser Stelle keine *Mbol* Restriktionsstelle liegt.

5.2 Nachweis der Methicillinresistenz

Anders als bei anderen Resistenzen gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen wird Methicillinresistenz nicht allein anhand der in-vitro Unempfindlichkeit gegenüber Methicillin bzw. Oxacillin definiert. Zusätzlich zur Unempfindlichkeit (Abschnitt 5.2.1) ist die Präsenz des Gens *mecA* (Abschnitt 5.2.2) oder des entsprechenden Proteins PBP2a (Abschnitt 5.2.3) erforderlich. Diese Vorgabe, das Ergebnis der Oxacillin-Unempfindlichkeit mit einem zusätzlichen Test (Screening-Test, Agglutinationstest für PBP2a, PCR für *mecA*) abzusichern, findet sich im Dokument M31-A3 des

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (CLSI 2008) und auch in der Empfehlung des Robert Koch-Institutes (ROBERT KOCH-INSTITUT 2003).

5.2.1 Empfindlichkeitsprüfung

Grundsätzlich stehen zur Empfindlichkeitsprüfung bakterieller Erreger verschiedene Verfahren zur Verfügung. Am gebräuchlichsten sind der Agardiffusionstest und das Bouillon-Mikrodilutionsverfahren. Beide Verfahren sind im CLSI Dokument M31-A3 (CLSI 2008) beschrieben. Um phänotypisch auf die Präsenz des *mecA*-Gens zu schließen, wird in der Routinediagnostik häufig die Empfindlichkeit gegenüber Cefoxitin getestet; für MRSP ist die Verwendung von Cefoxitin jedoch nicht geeignet (BEMIS et al. 2009). Mit Oxacillin und den angegebenen Grenzwerten von einem Hemmhofdurchmesser von ≤ 17 mm um ein 1 μ g Oxacillin-Plättchen bei der Agardiffusion oder $\geq 0,5$ mg/L bei Dilutionsverfahren lassen sich *mecA*-tragende Isolate gut detektieren (BEMIS et al. 2009). Die Interpretationskriterien dürfen auch nur dann verwendet werden, wenn eine Testung gemäß CLSI-Vorgaben erfolgt. So wird z.B. bei der Testung auf Oxacillin-Empfindlichkeit nach CLSI-Vorgaben dem Medium 2 % (w/v) Kochsalz zugesetzt und das Ergebnis erst nach 24 Stunden abgelesen (CLSI 2008).

5.2.2 Detektion des *mecA* Gens

Der Nachweis der Methicillinresistenz über den genotypischen Nachweis des *mecA*-Gens mittels PCR (MURAKAMI et al. 1991) gilt heutzutage als Goldstandard. Hierbei wird mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) ein 533 bp langes Amplifikat von *mecA* erstellt und anschließend mittels Agarose Gelelektrophorese aufgetrennt und in der Folge detektiert. Aufgrund von DNA-Sequenzhomologien der *mecA*-Gene verschiedener Methicillin-resistenter *Staphylococcus* spp. kann es beim Direktnachweis z.B. aus Mischkulturen oder Nasentupferabstrichen zu falsch positiven Ergebnissen kommen, wenn das *mecA*-Gen als einziger genetischer Marker für MRSA herangezogen wird. Daher ist eine zusätzliche Speziesabsicherung

zwingend erforderlich. Bei dem Ansatz in einer Reaktion MRSA nachzuweisen, wurde der spezifische Übergangsbereich zwischen dem Methicillin-Resistenzgen und dem *S. aureus* Chromosom detektiert, um positive Reaktionen anderer Methicillin-resistenter Staphylokokkenspezies auszuschließen (CUNY und WITTE 2005). Verschiedene Testkits werden inzwischen kommerziell angeboten. Eine *mecA* PCR eignet sich, bei vorheriger Speziesverifikation, auch zum Nachweis des *mecA*-Gens bei allen anderen Methicillin-resistenten Staphylokokken, wie z.B. *S. pseudintermedius*.

5.2.3 Detektion des PBP2a Proteins

Zur Detektion der Methicillinresistenz bietet sich zudem ein immunologisches Verfahren an, bei dem mit monoklonalen Antikörpern gegen PBP2a beladene Latexpartikel in einem kommerziell erhältlichen Agglutinationstest angewendet werden. Der Nachweis von PBP2a als Marker für das Vorliegen einer Methicillinresistenz hat für *S. aureus* (VAN GRIETHUYSEN et al., 1999; VAN LEUWEN et al., 1999; YAMAZUMI et al., 2001b) in verschiedenen Studien erfolgreich abgeschnitten und wird daher vom CLSI empfohlen. Das gleiche Verfahren kann auch bei *S. pseudintermedius* angewandt werden. Kommerziell erhältlich ist meist ein Test, der auch gleichzeitig *S. aureus* detektiert und somit darauf ausgerichtet ist, MRSA in einem Arbeitsschritt nachzuweisen.

5.3 Typisierung von MRSA/MRSP

Typisierungsverfahren sind notwendig für die Aufklärung evolutionärer Zusammenhänge und die eindeutige Zuordnung der Isolate zu klonalen Komplexen und klonalen Linien. Sie lassen sich in phänotypische und genotypische Methoden unterteilen. Die phänotypischen Techniken detektieren Merkmale, welche von den Erregern exprimiert werden, mit den genotypischen Verfahren werden hingegen chromosomale Merkmale analysiert. Eine Typisierungsmethode wird hinsichtlich ihrer Diskriminierungsfähigkeit und Reproduzierbarkeit beurteilt. Diskriminierungsfähigkeit

bedeutet, zwischen nicht verwandten Isolaten differenzieren zu können. Bei wiederholter Anwendung der Methode am gleichen Isolat identische Ergebnisse zu erhalten, bezeichnet die Reproduzierbarkeit. Die etabliertesten Verfahren *spa*-Typisierung (Abschnitt 5.3.1), MLST (Abschnitt 5.3.2), *SCCmec*-Typisierung (5.3.3), *dru*-Typisierung (Abschnitt 5.3.4) und PFGE (Abschnitt 5.3.5) werden im Folgenden beschrieben.

5.3.1 *spa*-Typisierung

Die *spa*-Typisierung wurde erstmalig 1996 (FRENAY et al. 1996) beschrieben, dient als Typisierungsmethode für *S. aureus* und ist damit auch für MRSA geeignet. Sie ist die Sequenzanalyse des hochvariablen Bereiches (X-Region) innerhalb des Gens für das *S. aureus* Protein A (*spa*). Dieser Bereich enthält kurze, wiederkehrende Sequenzabschnitte (repeats), welche jeweils 21-27 Basenpaare umfassen. Die Variabilität der Region X beruht auf Duplikation, Deletionen und Punktmutationen. Stabile Regionen, wie die Fc-Region und der C-Terminus, die die X-Region begrenzen, lassen diese Abschnitte mit entsprechenden Primern zuverlässig amplifizieren (OLIVEIRA 2001). Die Auswertung erfolgt durch visuellen oder automatisierten Abgleich der Sequenzen. Über eine internetbasierte Plattform (<http://www.spaServer.ridom.de>) ist es möglich, Ergebnisse einzuordnen und auch eine einheitliche Nomenklatur für neu aufgetretene *spa*-Typen zu vergeben. Bisher wurden 471 verschiedene repeats identifiziert, die mit r01 bis r471 bezeichnet werden, und 8775 verschiedene *spa*-Typen, die mit t001 bis t8775 benannt sind (Stand 15.06.2011).

MOODLEY et al. (2009) identifizierten ein *spa*-Gen bei *S. pseudintermedius* und entwickelten ein speziesspezifisches *spa*-Typisierungs-Protokoll für *S. pseudintermedius*, welches auf den gleichen Prinzipien der *spa*-Typisierung von *S. aureus* basiert.

5.3.2 Multilocus Sequenztypisierung (MLST)

Die Multilocus Sequenztypisierung (MLST) ist ein Verfahren, welches auf der direkten Sequenzierung von mehreren Genabschnitten basiert. Um eine hohe Diskriminierungsfähigkeit zu erzielen, werden Gene ausgewählt, die hochkonserviert sind und dennoch ausreichende Variabilität aufweisen. Es werden hierzu interne Bereiche von sogenannten Haushaltsgenen (housekeeping genes) untersucht, deren Produkte für elementare Stoffwechselfvorgänge im Bakterium verantwortlich sind. Erstmals wurde die Methode für *Neisseria meningitidis* vorgestellt (MAIDEN et al. 1998). Für *S. aureus* wird die Analyse folgender sieben Loci angewandt: *arcC*, *aroE*, *glpF*, *gmk*, *pta*, *tpi* und *yqiL* (ENRIGHT et al. 2000). Für *S. pseudintermedius* wird die Analyse von fünf Loci angewandt: 16S rDNS, *tuf*, *cpn60*, *pta* und *agrD* (BANNOEHR et al. 2007). Die Sequenzen der Haushaltsgenfragmente sind phylogenetisch aussagekräftig und erlauben die sichere Zuordnung von Isolaten zu sog. Sequenztypen (ST). Die Vergabe von Allelnummern und die Zuordnung zu Sequenztypen erfolgt über Onlinedatenbanken. Für die STs von *S. aureus* und auch für zahlreiche andere Bakterienspezies steht die Datenbank (<http://www.mlst.net>) zur Verfügung. Bei einer sequenzbasierten Typisierung können Daten leicht ausgetauscht und verglichen werden.

5.3.3 SCCmec-Typisierung

Die SCCmec-Typisierung wird sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin zur Klassifizierung von Stämmen bei der epidemiologischen Aufarbeitung von MRSA und MRSP angewendet. Bei der Typisierung der unter 3 beschriebenen SCCmec Elemente wurden vornehmlich die von OLIVEIRA und LENCASTRE (2002) und OKUMA et al. (2002) entwickelten PCR-Ansätze verwendet. Beide Ansätze erfassen nur die bis zu ihrer Etablierung beschriebenen SCCmec I bis SCCmec IV, werden aber nach wie vor angewandt. Weitere PCR-Ansätze von ITO et al. (2004) erfassen einen weiteren Typ, SCCmec V. Im Jahr 2007 entwickelten KONDO et al. weitere Multiplex PCRs zur SCCmec Typisierung

und entwickelten ein schnelles Identifizierungssystem für *mec*, *ccr* und größere Unterschiede in sog. „junkyard regions“. Für die danach beschriebenen *SCCmec* Typen II-III, VII-241 (DESCLOUX et al. 2008) und VII (ZHANG et al. 2009) sind ebenfalls PCRs beschrieben, die in MRSP (PERRETEN et al. 2009) Verwendung fanden.

Bisher wurden acht verschiedene *SCCmec*-Typen bei MRSA beschrieben (IWG-SCC 2009). Die Typen kommen in MRSA unterschiedlicher klonaler Linien vor, wobei *SCCmec* Typ IV am weitesten verbreitet ist (MONECKE et al. 2011). In LA-MRSA werden die *SCCmec* Typen IV und V beobachtet (MONECKE et al. 2011).

Bis dato wurden bei MRSP drei *SCCmec* Typen vollständig sequenziert (*SCCmec* II-III, *SCCmec* V, und *SCCmec* VII-241) (DESCLOUX et al. 2008; BLACK et al. 2009). In einer europäisch-amerikanischen Multicenterstudie (PERRETEN et al. 2010) wurde die Typisierungsmethode von KONDO et al. (2007) für die Identifikation von *SCCmec* Elementen bei MRSP angepasst.

5.3.4 *dru*-Typisierung

Zwischen dem *mecA*-Gen und dem Insertionselement IS431 befindet sich die *dru*-Region. Sie besteht aus konservierten Bereichen und einer variablen Region. Diese besteht aus meist 40 bp großen direkten Sequenzwiederholungen (*dru repeats*), die sich in Anzahl und Feinstruktur voneinander unterscheiden. Aus der Abfolge der *dru repeats* ergibt sich der *dru*-Typ. Ähnlich wie bei der *spa*-Typisierung gibt es auch für die *dru*-Typisierung eine online verfügbare und allgemein zugängliche Datenbank (<http://www.dru-typing.org/>). Diese Webseite erlaubt die Eingabe von ermittelten *dru repeats* (dr) und identifiziert diese, soweit sie schon in der Datenbank hinterlegt sind. Spezifische Kombinationen von repeats können ebenfalls mit der Datenbank abgeglichen werden. Sofern sie in der Datenbank hinterlegt sind, wird der daraus resultierende *dru* Typ (dt) identifiziert. Neue *dru repeats* und/oder *dru* Typen werden online eingereicht, um bestätigt und in die Datenbank aufgenommen zu werden. Derzeit sind in dieser Datenbank 72 verschiedene *dru repeats* und 318 *dru*-Typen gelistet. Obwohl bei einer geringen Anzahl von MRSA-Isolaten fehlend oder nur

partiell vorhanden, ist diese Region sehr konstant und unabhängig vom chromosomalen SCC*mec* Typ (RYFELL et al. 1991).

Einige Studien haben die *dru*-Sequenz für die epidemiologische Analyse von MRSA verwendet (NISHI et al. 1995, NAHVI et al. 2001, WITTE et al. 2001, FEßLER 2010a, 2011). Da es sich um einen Bereich innerhalb des SCC*mec* Elementes handelt, kann dieses Verfahren analog für MRSP oder auch für andere *mecA*-tragende Staphylokokken eingesetzt werden (KADLEC et al. 2010a).

5.3.5 Pulsfeld Gelelektrophorese (PFGE)

Der Begriff Pulsfeld Gelelektrophorese (PFGE) wird im Rahmen der Typisierung von Staphylokokken für die gesamte Makrorestriktionsanalyse verwendet. Diese Analyse umfasst eine schonende Isolierung der Gesamt-DNA die am Ende in Agaroseblöckchen vorliegt, den Verdau dieser Blöckchen mit selten schneidenden Restriktionsendonukleasen in 10-800 kb große Fragmente und das Auftrennen und Sichtbarmachen dieser Restriktionsfragmente. Diese Auftrennung ist die eigentliche PFGE. Sie erfolgt auf einem Agarosegel in einem elektrischen Feld, dessen Ausrichtung sich periodisch ändert, also pulsiert. Verschiedene Parameter wie Spannung, Pulszeit, Agarosekonzentration und Puffer sind darüber hinaus für die Auftrennung von Bedeutung. Im Vergleich zur herkömmlichen Gelelektrophorese ist die Laufzeit um ein Vielfaches erhöht (TENOVER 1995). Die DNA-Fragmente hinterlassen ein typisches Bandenmuster im Gel. Vergleicht man die Bandenmuster unterschiedlicher Isolate, lassen sich Aussagen über Ähnlichkeiten treffen. Isolate mit weniger als drei unterschiedlichen Banden werden als gleich angesehen (TENOVER 1995).

Als Restriktionsenzyme für MRSA erwiesen sich *Sma*I (ENDOW 1977) und *Apa*I (KADLEC et al. 2009) als geeignet; für MRSP gibt *Apa*I ein aussagekräftiges Bandenmuster (PERRETEN et al. 2010). Im Vergleich zu anderen Typisierungsverfahren besitzt die PFGE die beste Diskriminierungsfähigkeit (NADA et al. 1996, SCHWARZ et al. 2003) und ist heute immer noch Goldstandard für die Typisierung von MRSA. Die PFGE ist insbesondere geeignet, bei zeitlich und

räumlich begrenzten Ausbrüchen die Verwandtschaft der am Infektionsgeschehen beteiligten Stämme zu bestimmen.

6 Referenzen

Abraham, J., Morris, D., Griffeth, G., Shofer, F., Rankin, S., 2007. Surveillance of healthy cats and cats with inflammatory skin disease for colonization of the skin by methicillin-resistant coagulase-positive staphylococci and *Staphylococcus schleiferi* ssp. *schleiferi*. *Vet. Dermatol.* 18, 252-259.

Amtsberg, K., Stäcker, W., Müller - Peddinghaus, R., Kirpal, G., 1979. Beitrag zur Ätiologie und Diagnostik von Harnwegsinfektionen beim Hund. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 92, 358-364.

Bannoehr, J., Ben Zakour, N.L., Waller, A.S., Guardabassi, L., Thoday, K.L., van den Broek, A.H., Fitzgerald, J.R., 2007. Population genetic structure of the staphylococcus intermedius group: Insights into *agr* diversification and the emergence of methicillin-resistant strains. *J. Bacteriol.* 189, 8685-8692.

Bannoehr, J., Franco, A., Iurescia, M., Battisti, A., Fitzgerald, J.R., 2009. Molecular Diagnostic Identification of *Staphylococcus pseudintermedius*. *J. Clin. Microbiol.* 47, 469-471.

Baptiste, K.E., Williams, K., Williams, N.J., Wattret, A., Clegg, P.D., Dawson, S., Corkill, J.E., O'Neill, T., Hart, C.A., 2005. Methicillin-Resistant staphylococci in companion animals. *Emerg. Infect. Dis.* 11, 1942-1944.

Bemis, D.A., Jones R.D., Frank, L.A., Kania, S.A., 2009. Evaluation of susceptibility test breakpoints used to predict *mecA*-mediated resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs. *J. Vet. Diagn. Invest.* 21, 53-58.

Bes, M.L., SLIM, S., Becharina, F., Meugnier, H., Vandenesch, F., Etienne, J., Freney, J., 2002. Population diversity of *Staphylococcus intermedius* isolates from

various host species: typing by 16S-23S intergenic ribosomal DNA spacer polymorphism analysis. *J. Clin. Microbiol.* 40, 2275–2277.

Black, C.C., Solyman, S. M., Eberlein, L. C., Bemis, D.A., Woron, A.M., Kania, S.A., 2009. Identification of a predominant multilocus sequence type, pulsed-field gel electrophoresis cluster, and novel staphylococcal chromosomal cassette in clinical isolates of *mecA*-containing, methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *Vet. Microbiol.* 139, 333-338.

Boag, A., Loeffler, A., Lloyd, D.H., 2004 Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from companion animals. *Vet. Record.* 154, 411.

Brückler, J., Schwarz, S., Untermann, F., 1994. Staphylokokken-Infektionen und Enterotoxine. Band II/I. In: Blobel, H., und Th. Schließer, Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren, 2. Auflage. Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart.

Burkhardt, F. 1992. Mikrobiologische Diagnostik. Georg Thieme-Verlag, Stuttgart.

Casey, A.L., Lambert, P.A., Elliott, T. S., 2007. Staphylococci. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 29 (Suppl. 3), 23-32.

Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008, Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; approved standard M31-A3, CLSI, Wayne, PA, USA.

Clinical and Laboratory Standards Institute. 2010. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twentieth informational supplement. CLSI document M100-S20. CLSI, Wayne, PA, USA.

Cuny, C., Witte W., 2005. PCR for the identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains using a single primer pair specific for

SCC*mec* elements and the neighbouring chromosome-borne *orfX*. Clin. Microbiol. Infect. 11, 834-837.

Descloux, S., Rossano, A., Perreten, V., 2008. Characterization of new staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) and topoisomerase genes in fluoroquinolone- and methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. J. Clin. Microbiol. 46, 1818-1823.

Devriese, L.A., Hommez, J., 1975. Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in dairy herds. Res. Vet. Sci. 19, 23-27.

Devriese, L.A., Vancanneyt, M., Baele, M., Vaneechoutte, M., De Graef, E., Sanauwaert, C., Cleenwerck, I., Dawyndt, P., Swings, J., Decostere, A., Haesebroeck, F., 2005. *Staphylococcus pseudintermedius* sp. nov., a coagulase-positive species from animals. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 55, 1569-1573.

Devriese, L.A., Hermans, K., Baele, M., Haesebrouck, F., 2009. *Staphylococcus pseudintermedius* versus *Staphylococcus intermedius*. Vet. Microbiol. 133, 206-207.

Diep, B.A., Sensabaugh, G.F., Somboona, N.S., Carleton, H.A., Perdreau-Remington F., 2004. Widespread skin and soft-tissue infections due to two methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains harboring the genes for Panton-Valentine leucocidin. J. Clin. Microbiol. 42, 2080-2084.

Duquette, R.A., Nuttall, T.J., 2004. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in dogs and cats: an emerging problem? J. Small Anim. Pract. 45, 591-597.

Ekkelenkamp, M.B., Sekkat, M., Carpaij, N., Troelstra, A., Bonten, M.J.M., 2006. Endocarditis due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* originating from pigs. Ned. Tijdschr. Geneesk. 150, 2442-244.

EMA. 2011. Reflection paper on methicillin-resistant *S. pseudintermedius*. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/09/WC500097080.pdf .

Endow, S.A., Roberts, R.J., 1977. Two restriction-like enzymes from *Xanthomonas malvacearum*. J. Mol. Biol. 112, 521-529.

Enright, M.C., Day, N.D., Davies, C.E., Peacock, S.J., Spratt, B.G., 2000. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol. 38, 1008–1015.

Faires, M., 2008. Evaluation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and characterization of *Staphylococcus pseudintermedius* in dogs and cats. MSc Thesis, University of Guelph, Guelph, Canada.

Fessler, A.T., Scott, C., Kadlec, K., Ehricht, R., Monecke, S., Schwarz, S., 2010a. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from cases of bovine mastitis. J. Antimicrob. Chemother. 65, 619-25.

Feßler, A.T., Billerbeck, C., Kadlec, K., Schwarz, S., 2010b. Identification and characterization of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci from bovine mastitis. J. Antimicrob. Chemother. 65, 1576-1582.

Feßler, A.T., Kadlec, K., Hassel, M., Hauschild, T., Eidam, C., Ehricht, R., Monecke, S., Schwarz, S., 2011. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from food and food products of poultry origin in Germany. Appl. Environ. Microbiol., Jul 1. [Epub ahead of print].

Fitzgerald, J.R., Penades, R.J., 2008. Staphylococci of Animals. Edited by: Lindsay, J.A, Department of Cellular and Molecular Medicine, St George`s, University of London, UK.

Frenay, H.M.E, Bunschoten, A.E., Schouls, L.M., Van Leuwen, W.J., Vandenbrouck-Grauls, C.M.J.E., Verhoef, J., Mooi, F.R., 1996. Molecular typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on the basis of protein A gene polymorphism. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 15, 60-66.

Gortel, K., Campbell, K.L., Kakoma, I., Whittam, T., Schaeffer, D.J., Weisiger, R.M., 1999. Methicillin resistance among staphylococci isolated from dogs. Am. J. Vet. Res. 60, 1526-1530.

Greene, R.T., Lämmler, C., 1993. *Staphylococcus Intermedius*: Current Knowledge on a Pathogen of Veterinary Importance. J. Vet. Med. Serie B, 40, 206–214.

Griffeth, G.C., Morris, D.O., Abraham, J.L., Shofer, F.S., Rankin, S.C., 2008. Screening for skin carriage of methicillin-resistant coagulase-positive staphylococci and *Staphylococcus schleiferi* in dogs with healthy and inflamed skin. Vet. Dermatol. 19, 142-149.

Hájek, V., Marsalek, E., 1971. The differentiation of pathogenic staphylococci and a suggestion for their taxonomic classification. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 217, 176-182.

Hájek, V., 1976. *Staphylococcus intermedius*, a new species isolated from animals. Int. J. Syst. Bacteriol. 26, 401–408.

Hanselman, B.A., Kuth, S., Weese, J.S., 2008. Methicillin-resistant staphylococcal colonisation in dogs entering a veterinary teaching hospital. Vet. Microbiol. 126, 277-281.

Hartmann, F.A., Trostle, S.S., Klohnen, A.A., 1997. Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from a postoperative wound infection in a horse. J. Am. Vet. Med. Assoc. 211, 590-592.

Hauschild, T., Wojcik, A., 2007. Species distribution and properties of staphylococci from canine dermatitis. Res. Vet. Sci , 82, 1-6.

Hesselbarth, J., Schwarz, S., 1995. Comparative ribotyping of *Staphylococcus intermedius* from dogs, pigeons, horses and mink. Vet. Microbiol. 45, 11-17.

Hiramatsu, K., Hanaki, H., Ino, T., Yabuta, K., Oguri, T., Tenover, F.C., 1997. Methicillinresistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. J. Antimicrob. Chemother. 40, 135-136.

<http://de.statista.com/statistik/daten/studie/156836/umfrage/anzahl-der-haushalte-mit-haustieren-in-deutschland-2010/> (Stand 11.07.2011)

Huijsdens, X.W., Van Dijke, B., Spalburg, E., van Santen-Verheuevel, M.G., Heck, M.E., Pluister, G.N., et al., 2006. Community-acquired MRSA and pig-farming. Ann Clin. Microbiol. Antimicrob. 5:26. doi: 10.1186/1476-0711-5-26.

Igimi, S., Takahashi, E., Mitsuoka, T., 1990. *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans* subsp. nov., isolated from external auditory meatus of dogs with external ear otitis. Int. J. Syst. Bacteriol. 40, 409–411.

Ito, T., Katayama, Y., Hiramatsu, K., 1999. Cloning and nucleotide sequence determination of the entire *mec* DNA of pre-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* N315. Antimicrob. Agents Chemother. 43, 1449-1458.

Ito, T., Katayama, Y., Asada, K., Mori, N., Tsutsumimoto, K., Tiensasitorn, C., Hiramatsu, K., 2001. Structural comparison of three types of staphylococcal cassette chromosome *mec* integrated in the chromosome in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob. Agents Chemother. 45, 1323-1336.

Ito, T., Ma, X.X., Takeuchi, F., Okuma, K., Yuzawa, H., Hiramatsu, K., 2004. Novel type V staphylococcal cassette chromosome *mec* driven by a novel cassette chromosome recombinase, *ccrC*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48, 2637-2651.

International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements (IWG-SCC), 2009. Classification of staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*): guidelines for reporting novel SCC*mec* elements. *Antimicrob. Agents Chemother.* 53, 4961-4967.

Kadlec, K., Matic, N., Weese, J.S., Schwarz, S., 2010a. Distribution of *dru* types among methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from dogs and cats. Tagungsband des 14th International Symposium on Staphylococci and Staphylococcal Infections (ISSSI), 06.-09.09. in Bath, UK.

Kadlec, K., Schwarz, S., Perreten, V., Grönlund Andersson, U., Finn, M., Greko, C., Moodley, A., Kania, S.A., Frank, L.A., Bemis, D.A., Franco, A., Iurescia, M., Battisti, A., Duim, B., Wagenaar, J.A., van Duijkeren, E., Weese, J.S., Fitzgerald, J.R., Rossano, A., Guardabassi, L., 2010b. Molecular analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* of feline origin from different European countries and North America. *J. Antimicrob. Chemother.* 65, 1826-1828.

Katayama, Y., Ito, T., Hiramatsu, K., 2000. A new class of genetic element, staphylococcus cassette chromosome *mec*, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44, 1549-1555.

Klevens, R.M., Morrison, M.A., Nadle, J., Petit, S., Greshman, K., Ray, S., Harrison, L.H., Lynfield, R., Dumyati, G., Townes, J.M., Craig, A.S., Zell, E.R., Fosheim, G.E., McDougal, L.K., Carey, R.B., Fridkin, S.K., Investigators, A.B.C.s.A.M., 2007. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. *JAMA.* 298, 1763-1771.

Kniehl, E., 2006. Nachweis Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* (MRSA) im Routinelabor. Chemother. J. 15, 152-161.

Köck, R., Harlizius, J., Bressan, N., Laerberg, R., Wieler, L.H., Witte, W., Deurenberg, R.H., Voss, A., Becker, K., 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. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 28, 1375-1382.

Köhler, W. et al. (Hrsg), 2001. Medizinische Mikrobiologie, 8. Aufl. Urban und Fischer Verlag, München.

Kondo, Y., Ito, T., Ma, X.X., Watanabe, S., Kreiswirth, B.N., Etienne, J., Hiramatsu, K., 2007. Combination of multiplex PCRs for SCCmec type assignment: Rapid identification system for mec, ccr, and major differences in junkyard regions. Antimicrob. Agents Chemother. 51, 264-274.

Kwon, N., Park, K., Jung, W., Youn, H., Lee, Y., Kim, S., Bae, W., Lim, J., Kim, J., Kim, J., Hong, S., Park, Y., 2006. Characteristics of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from chicken meat and hospitalized dogs in Korea and their epidemiological relatedness. Vet. Microbiol. 117, 304-312.

Laemmler, C., 1990. *Staphylococcus hyicus*, the cause of exudative epidermitis of swine. Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. 103, 60-63.

Lee, J.H., 2003. Methicillin (Oxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from major food animals and their potential transmission to humans. Appl. Environ. Microbiol. 69, 6489-6494.

Lina, G., Piemont, Y., Godail-Gamot, F., Bes, M., Peter, M.O., Gauduchon, V., Vandenesch, F., Etienne J., 1999. Involvement of Pantone-Valentine leukocidin-

producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. Clin. Infect. Dis. 29. 1128-1132.

Lowy, F.D., 1998. *Staphylococcus aureus* infections. N. Engl. J. Med. 339, 520-532.

Lüthje, P., Schwarz, S., 2006. Antimicrobial resistance of coagulase-negative staphylococci from bovine subclinical mastitis with particular reference to macrolide-lincosamide resistance phenotypes and genotypes. J. Antimicrob. Chemother. 57, 966-969.

Maiden, M.C., Bygraves, J.A., Feil, E., Morelli, G., Russell, J.E., Urwin, R., Zhang, Q., Zhou, J., Zurth, K., Caugant, D.A., Feavers, I.M., Achtman, M., Spratt, B.G., 1998. Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 95, 3140-3145.

May, E.R., Hnilica, K.A., Frank, L.A., Jones, R.D., Bemis, D.A., 2005. Isolation of *Staphylococcus schleiferi* from healthy dogs and dogs with otitis, pyoderma, or both. J. Am. Vet. Med. Assoc. 227, 928-931.

McLean, C.L., Ness, M.G., 2008. Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a veterinary orthopaedic referral hospital: Staff nasal colonisation and incidence of clinical cases. J. Small Anim. Pract. 49, 170-177.

Medleau, L., Long, R.E., Brown, J., Miller, W.H., 1986. Frequency and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus* species isolated from canine pyodermas. Am. J. Vet. Res. 47, 229-231.

Meemken, D., Cuny, C., Witte, W., Eichler, U., Staudt, R., Blaha, T., 2008. Occurrence of MRSA in pigs and humans involved in pig production – Preliminary results of a study in Northwest of Germany. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 115, 132-139.

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., Ehricht, R., 2011. A field guide to pandemic, epidemic and sporadic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. PLoS ONE. 6: e17936.

Moodley, A., Guardabassi, L., 2009. Clonal spread of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci among horses, personnel and environmental sites at equine facilities. Vet. Microbiol. 137, 397-401.

Morris, D.O., Rook, K.A., Shofer, F.S., Rankin, S.C., 2006. Screening of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, and *Staphylococcus schleiferi* isolates obtained from small companion animals for antimicrobial resistance: A retrospective review of 749 isolates (2003-04). Vet. Dermatol. 17, 332-337.

Murakami, K., Minamide, W., Wada, K., Nakamura, E., Teraoka, H., Watanabe, S., 1991. Identification of methicillin resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction. J. Clin. Microbiol. 29, 2240-2244.

Nada, T., Ichiyama, S., Osada, Y., Ohta, M., Shimokata, K., Kato, N., Nakashima, N., 1996. Comparison of DNA fingerprinting by PFGE and PCR-RFLP of the coagulase gene to distinguish MRSA isolates. J. Hosp. Infect. 32, 305-317.

Nahvi, M.D., Fitzgibbon, J.E., John, J.F., Dubin, D.T. 2001. Sequence analysis of *dru* regions from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococcal isolates. Microb. Drug Resist. 7, 1-12.

Nishi, J., Miyanohara, H., Nakajima, T., Kitajima, I., Yoshinaga, M., Maruyama, I., Miyata, K. 1995. Molecular typing of the methicillin resistance determinant (*mec*) of clinical strains of *Staphylococcus* based on *mec* hypervariable region length polymorphisms. J. Lab. Clin. Med. 126, 29-35.

Oliveira, D.C., Crisostomo, I., Santos-Sanches, I., Major, P., Alves, C.R., Aires-de-Sousa, M., Thege, M.K., de Lencastre, H., 2001. Comparison of DNA sequencing of the Protein A gene polymorphic region with other molecular typing techniques for typing two epidemiologically diverse collections of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol. 39, 574-580.

Oliveira, D.C., de Lencastre, H., 2002. Multiplex PCR strategy for rapid identification of structural types and variants of the mec element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob. Agents Chemother. 46, 2155-2161.

Oliveira, L.C., Leite, C.A., Brillhante, R.S., Carvalho, C.B., 2008. Comparative study of the microbial profile from bilateral canine otitis externa. Can. Vet. J. 49, 785-788.

Okuma, K., Iwakawa, K., Turnidge, J.D., Grubb, W.B., Bell, J.M., O'Brien, F.G., Coombs, G.W., Pearman, J.W., Tenover, F.C., Kapi, M., Tiensasitorn, C., Ito, T., Hiramatsu, K., 2002. Dissemination of new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in the community. J. Clin. Microbiol. 40, 4289-4294.

Paul, N.C., Moodley, A., Ghibaud, G., Guardabassi, L., 2011. Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in small animal veterinarians: indirect evidence of zoonotic transmission. zoonoses and public health. doi: 10.1111/j.1863-2378.2011.01398.

Perreten, V., Kadlec, K., Schwarz, S., Grönlund Andersson, U., Finn, M., Greko, C., Moodley, A., Kania, S.A., Frank, L.A., Bemis, D.A., Franco, A., Lurescia, M., Battisti, A., Duim, B., Wagenaar, J.A., van Duijkeren, E., Weese, J.S., Fitzgerald, J.R., Rossano, A., Guardabassi, L., 2010. Clonal spread of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in Europe and North America: an international multicentre study. J. Antimicrob. Chemother. 65, 1145-1154.

Pinho, M. G., de Lencastre, H., Tomasz, A., 2001. An acquired and a native penicillinbinding protein cooperate in building the cell wall of drug-resistant staphylococci. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 98, 10886-10891.

Pomba, C., Baptista, F.M., Couto, N., Loução, F., Hasman, H., 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC398 isolates with indistinguishable Apal restriction patterns in colonized and infected pigs and humans. J. Antimicrob. Chemother. 65, 2479-2481.

Pyörälä, S., Taponen, S., 2009. Coagulase-negative staphylococci-emerging mastitis pathogens. Vet. Microbiol. 134, 3-8.

Rankin, S., Roberts, S., O'Shea, K., Maloney, D., Lorenzo, M., Benson, C.E., 2005. Pantón–Valentine leukocidin (PVL) toxin positive MRSA strains isolated from companion animals. Vet. Microbiol. 108, 145-148.

Rich, M., Roberts, L., 2006. MRSA in companion animals. Vet. Rec. 159, 535-536.

Robert Koch-Institut, 2000. Erkrankungen durch *Staphylokokkus aureus* unter Berücksichtigung der MRSA. Epidemiol. Bulletin. 62-65.

Robert Koch-Institut, 2003. Hinweis zur Labordiagnostik der MRSA: Sensitivität des Agardiffusionstest für Oxacillin wird durch Cefoxitin-Testblättchen erhöht. Epidemiol. Bulletin. 391.

Robert Koch-Institut, 2007. Staphylokokken Erkrankungen, insbesondere Infektionen durch MRSA. Ratgeber Infektionskrankheiten - Merkblätter für Ärzte.

Robert Koch-Institut, 2009. Ratgeber Infektionskrankheiten. http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber__Mbl__Staphylokokken__MRSA.html.

Rogers, K.L., Fey, P.D., Rupp, M.E., 2009. Coagulase-negative staphylococcal infections. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 23, 73-98.

Rolle, M., Mayr, A., 2007. *Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre*, Herausgeber Anton Mayr, Ferdinand Enke Verlag Stuttgart. 8. Auflage.

Ruscher, C., Luebke-Becker, A., Wleklinski, C.G., Şoba, A., Wieler, L.H., Walther, B., 2009. Prevalence of Methicillin resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from clinical samples of companion animals and equidae. *Vet. Microbiol.* 136, 197-201.

Ryffel, C., Bucher, R., Kayser, F.H., Berger-Bächi, B., 1991. The *Staphylococcus aureus mec* determinant comprises an unusual cluster of direct repeats and codes for a gene product similar to the *Escherichia coli* sn-glycerophosphoryl diester phosphodiesterase. *J. Bacteriol.* 173, 7416-7422.

Sasaki, T., Kikuchi, Y., Tansaka, N., Takahashi, S., Hiramatsu, K., 2007 (a). Reclassification of phenotypically identified *Staphylococcus intermedius* strains. *J. Clin. Microbiol.* 45, 2770-2778.

Sasaki, T., Kikuchi, K., Tanaka, Y., Takahashi, N., Kamata, S., Hiramatsu, K., 2007 (b). Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in a veterinary teaching hospital. *J. Clin. Microbiol.* 45, 1118-1125.

Schleifer, K.H., Bell, J.A., 2009. Family VIII. *Staphylococcaceae* fam. nov. *In*: P. de Vos, Garrity, G.M., Jones, D., Krieg, N.R., LUDWIG, W., RAINEY, F.A., Schleifer, K.H., Whitman, W.B. (eds): *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, second edition, vol. 3 (The *Firmicutes*), Springer, Dordrecht, Heidelberg, London, New York, 392.

Schwarz, S., Blickwede, M., Kehrenberg, C., Brenner Michael, G., 2003. Phänotypische und genotypische Verfahren zur Typisierung veterinärmedizinisch relevanter bakterieller Erreger im Rahmen infektionsepidemiologischer Fragestellungen, dargestellt am Beispiel von Bakterien der Genera *Staphylococcus*, *Salmonella* und *Pasteurella*. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 116, 401-416.

Schwarz, S., Kadlec, K., Strommenger, B., 2008. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* detected in the BfT-GermVet monitoring programme 2004-2006 in Germany. J. Antimicrob. Chemother. 61, 282-285.

Schwarz, S., 2009. Zur Resistenzlage bakterieller Erreger aus Hautinfektionen bei Hund und Katze gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen. Fachpraxis. 55, 12-16.

Selbitz, H.J., 1992. Lehrbuch der veterinärmedizinischen Bakteriologie. Gustav Fischer Verlag, Jena – Stuttgart.

Stegmann, R., Burnens, A., Maranta, C.A., Perreten, V., 2010. Human infection associated with methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* ST71. J. Antimicrob. Chemother. 65, 2047–2048.

Strommenger, B., Kehrenberg, C., Kettlitz, C., Cuny, C., Verspohl, J., Witte, W., Schwarz, S., 2006. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from pet animals and their relationship to human isolates. J. Antimicrob. Chemother. 57, 461-465.

Taponen, S., Pyhälä, S., 2009. Coagulase-negative staphylococci as cause of bovine mastitis –not so different from *Staphylococcus aureus*? Vet. Microbiol. 134, 29-36.

Tenover, F.C., Arbeit, R.D., Goering, R.V., Mickelsen, P.A., Murray, B.E., Persing, D.H., Swaminathan, B., 1995. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J. Clin. Microbiol.* 33, 2233-2239.

van Duijkeren, E., Wolfhagen, M.J., Heck, M.E., Wannet, W.J., 2005. Transmission of a Panton-Valentine leucocidin-positive, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain between humans and a dog. *J. Clin. Microbiol.* 43, 6209-6211.

van Griethuysen, A., Pouw, M., van Leeuwen, N., Heck, M., Willemse, P., Buiting, A., Kluytmans, J., 1999. Rapid slide latex agglutination test for detection of Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Microbiol.* 37, 2789-2792.

Van Hoovels, L., Vankeerberghen, A., Boel, A., Van Vaerenberg, K., De Beenhouwer, H., 2006. First case of *S. pseudintermedius* infection in a human. *J. Clin. Microbiol.* 44, 4609-4612.

van Leeuwen, W.B., van Pelt, C., Luijendijk, A., Verbrugh, H.A., Goessens, W.H., 1999. Rapid detection of Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* isolates by the MRSA-screen latex agglutination test. *J. Clin. Microbiol.* 37, 3029-3030.

Varaldo, P.E., Kilpper-Bälz, R., Biavasco, F., Satta, G., Schleifer, K.H., 1988. *Staphylococcus delphini* sp. nov., a coagulase-positive species isolated from dolphins. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 38, 436-439.

Vengust, M., Anderson, M.E., Rousseau, J., Weese, J.S., 2006. Methicillin-resistant staphylococci colonization in clinical normal dogs and horses in the community. *Lett. Appl. Microbiol.* 43, 602-606.

Voss, A., F. Loeffen, J. Bakker, M. Wulf, Klaassen C., 2005. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farming. *Emerg. Infect. Dis.* 11, 965-966.

Walther, B., Wieler, L.H., Kohn, B., Brunenberg, L., Lübke-Becker, A., 2005. Monitoring methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in a small animal hospital. Poster. DGHM Tagung Göttingen.

Walther, B., Wieler, L.H., Friedrich, A.W., Hanssen, A.M., Kohn, B., Brunenberg, L., Luebke-Becker, A., 2008. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from small and exotic animals at a university hospital during routine microbiological examinations. *Vet. Microbiol.* 127, 171-178.

Walther, B., Friedrich, A.W., Brunnenberg, L., Wieler, L.H., Luebke-Becker, A., 2006. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in veterinary medicine: a “New Emerging Pathogen”? *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* 119, 222-232.

Walther, B., Wieler, L.H., Friedrich, A.W., Kohn, B., Brunenberg, L., Luebke-Becker, A., 2009. *Staphylococcus aureus* and MRSA colonization rates among personnel and dogs in a small animal hospital: association with nosocomial infections. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.*, 122, 178-185.

Weese, J.S., 2004. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses and horse personnel. *Vet. Clin. North. Am. Equine. Pract.* 20, 601-613.

Weese, J.S., Dick, H., Willey, B.M., McGeer, A., Kreiswirth, B.N., Innis, B., Low, D.E., 2006. Suspected transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between domestic pets and humans in veterinary clinics and in the household. *Vet. Microbiol.* 115, 148-155.

Weese, J.S., Faires, M., Rousseau, J., Bersenas, A.M., Mathews K.A., 2007. Cluster of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in a small animal intensive care unit. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 231, 1361-1364.

Weese, J.S., van Duijkeren, E., 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. *Vet. Microbiol.* 140, 418-29.

Witte, W., Werner, G., Cuny, C., 2001. Subtyping of MRSA isolates belonging to a widely disseminated clonal group by polymorphism of the *dru* sequences in *mec*-associated DNA. *Int. J. Med. Microbiol.* 291, 57–62.

Witte, W., Strommenger, B., Stanek, C., Cuny, C., 2007. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in humans and animals, Central Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 13, 255-258.

Yamazumi, T., Marshall, S.A., Wilke, W.W., Diekema, D.J., Pfaller, M.A., Jones, R.N., 2001. Comparison of the Vitek gram-positive susceptibility 106 card and the MRSA-Screen latex agglutination test for determining oxacillin resistance in clinical bloodstream isolates of *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Microbiol.* 39, 53-56.

Youn, J.H., Yoon, J.W., Koo, H.C., Lim, S.K., Park, Y.H., 2011. Prevalence and antimicrogram of *Staphylococcus intermedius* group isolates from veterinary staff, companion animals, and the environment in veterinary hospitals in Korea. *J. Vet. Diagn. Invest.* 23, 268-274.

Zhang, K., McClure, J.A., Elsayed, S., Louie, T., Conly, J.M., 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.

Zhang, K., McClure, J.A., Elsayed, S., Conly, J.M., 2009. Novel staphylococcal cassette chromosome *mec* type, tentatively designated type VIII, harboring class A *mec* and type 4 *ccr* gene complexes in a Canadian epidemic strain of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 53, 531-540.

Kapitel 2: Artikel 1**Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains between humans and dogs: two case reports**

Ulrike Nienhoff¹, Kristina Kadlec², Iris F. Chaberny³, Jutta Verspohl⁴, Gerald-F. Gerlach⁴, Stefan Schwarz², Daniela Simon¹ and Ingo Nolte¹

¹Small Animal Clinic, University of Veterinary Medicine Hannover, Hannover, Germany;

²Institute of Farm Animal Genetics, Friedrich-Loeffler-Institut (FLI), Neustadt-Mariensee, Germany;

³Institute of Medical Microbiology and Hospital Epidemiology, Hannover Medical School, Hannover, Germany;

⁴Institute for Microbiology and Infectious Diseases, University of Veterinary Medicine Hannover, Hannover, Germany

Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2009. 64, 660-662.

Kapitel 3: Artikel 2**Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*
among dogs admitted to a small animal hospital**

Ulrike Nienhoff¹, Kristina Kadlec², Iris F. Chaberny³, Jutta Verspohl⁴, Gerald-F. Gerlach^{4,5}, Stefan Schwarz², Lothar Kreienbrock⁶, Daniela Simon¹ and Ingo Nolte¹

¹Small Animal Clinic, University of Veterinary Medicine Hannover, Hannover, Germany;

²Institute of Farm Animal Genetics, Friedrich-Loeffler-Institut (FLI), Neustadt-Mariensee, Germany;

³Institute of Medical Microbiology and Hospital Epidemiology, Hannover Medical School, Hannover, Germany;

⁴Institute for Microbiology and Infectious Diseases, University of Veterinary Medicine Hannover, Hannover, Germany;

⁵ current address: IVD GmbH, Hannover, Germany;

⁶ Institute for Biometry, Epidemiology and Information Processing, University of Veterinary Medicine Hannover, Hannover, Germany

Veterinary Microbiology. 2011. 150, 191-197.

Kapitel 4: Artikel 3**Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*
among cats admitted to a veterinary teaching hospital**

Ulrike Nienhoff¹, Kristina Kadlec², Iris F. Chaberny³, Jutta Verspohl⁴, Gerald-F. Gerlach^{4,5}, Stefan Schwarz², Lothar Kreienbrock⁶, Daniela Simon¹ and Ingo Nolte¹

¹Small Animal Clinic, University of Veterinary Medicine Hannover, Hannover, Germany;

²Institute of Farm Animal Genetics, Friedrich-Loeffler-Institut (FLI), Neustadt-Mariensee, Germany;

³Institute of Medical Microbiology and Hospital Epidemiology, Hannover Medical School, Hannover, Germany;

⁴Institute for Microbiology and Infectious Diseases, University of Veterinary Medicine Hannover, Hannover, Germany;

⁵ current address: IVD GmbH, Hannover, Germany;

⁶ Institute for Biometry, Epidemiology and Information Processing, University of Veterinary Medicine Hannover, Hannover, Germany

Veterinary Microbiology. 2011. 153, 414-416.

Diskussion

5 Diskussion

Seit Jahren nimmt das Problem multiresistenter bakterieller Erreger im Bereich der Humanmedizin zu. Auch in der Veterinärmedizin ist sowohl im Bereich der Nutztierpraxis als auch im Bereich der Kleintiere und Pferde eine Zunahme von Resistenzen und Multiresistenzen bei verschiedenen Erregern zu beobachten.

Der Nachweis und die Kultivierung Methicillin-resistenter Staphylokokken in der Kleintierklinik erfordert insbesondere die Wahl der richtigen Proben, des passenden Zeitpunktes und auch eine Speziesbestimmung. In der Veterinärmedizin werden Methicillin-resistente Staphylokokken, bei Hunden und Katzen insbesondere MRSA und MRSP, zunehmend gefunden. Über ihre Bedeutung ist derzeit jedoch wenig bekannt, da verlässliche Daten bezüglich der Prävalenz nur in unzureichendem Maße vorliegen.

Infektionen mit Methicillin-resistenten Staphylokokken stellen eine therapeutische Herausforderung dar, da die entsprechenden Erreger neben der *mecA*-vermittelten β -Laktamresistenz häufig auch Resistenzen gegenüber einer Vielzahl anderer antimikrobieller Wirkstoffe aufweisen. Kenntnisse über Risikopatienten und Übertragungswege sind Voraussetzung für die Erarbeitung wirksamer Maßnahmen zur Reduktion des Erregereintrags und der Erregerverbreitung in Kleintierkliniken und damit zur Vermeidung nosokomialer Infektionen.

Ziele dieser Arbeit waren, einerseits die Häufigkeit der Besiedlung von Hunden und Katzen mit MRSA und MRSP, andererseits aber auch die Übertragung von MRSA zwischen Mensch und Hund zu untersuchen.

1 Nachweis von MRSA/MRSP in der Kleintierklinik

In dieser Studie wurde ein Screening auf Methicillin-resistente Staphylokokken durchgeführt, um Trägertiere zu identifizieren, die mit entsprechenden Erregern kolonisiert sind und diese im Rahmen einer Untersuchung bzw. eines Klinikaufenthalts in die betreffende Klinik eintragen können. Die Probennahme wurde dementsprechend bereits im Wartebereich der Klinik durchgeführt, bevor die Tiere den Untersuchungs- und Behandlungsbereich der Klinik betraten. Insgesamt wurden im Rahmen der Studie 814 Hunde und 131 Katzen beprobt.

Die gefundene MSSA-Rate von 4,5% bei den Hunden ist vergleichbar mit der ermittelten Prävalenz aus einer anderen Studie (SASAKI et al. 2007). Die in der vorliegenden Studie ermittelte MRSA-Nachweisrate von 0,4% bei Hunden liegt deutlich niedriger als in anderen Studien. Hierbei ist jedoch zu bedenken, dass sich alle Vergleichsstudien in ihrem Studiendesign mehr oder minder deutlich voneinander unterscheiden, was zumindest teilweise die unterschiedlichen Auffindungsraten erklären kann. Obwohl es keine direkt vergleichbaren Studien gibt, sprechen BAPTISTE et al. 2005, WEESE 2005, LEFEBRE et al. 2006 und VENGUST et al. 2006 von niedrigen Prävalenzen. Die Studie von WALTHER (2007) zeigt eine höhere Auffindungsrate von 1,7%. Allerdings wurden hier die Hunde innerhalb der ersten 36 h nach Eintritt in die Klinik beprobt. Somit könnte die höhere Zahl gefundener Isolate auch durch Kontamination in der Klinik zu erklären sein, zumal die Charakterisierung der Isolate in der Studie auf eine mögliche lokale Verbreitung schließen lässt. Mögliche Unterschiede in der Nachweishäufigkeit von MRSA in verschiedenen Studien könnten auch durch die Wahl unterschiedlicher Entnahmelokalisationen von Tupferproben (z.B. Nase/Rachen und Perineum versus Nase) begründet sein. Des Weiteren finden sich enorme Unterschiede bei der kulturellen Anzucht der Erreger. Es wird teilweise mit, teilweise ohne Voranreicherung gearbeitet, und unterschiedlichste Nährböden werden zur Kultivierung verwendet. In den hier vorliegenden Studien wurde mit einer Voranreicherung gearbeitet, um die Sensitivität des Nachweises zu erhöhen. Zudem können divergierende Nachweisraten, wie auch im humanmedizinischen Bereich

(CHABERNY et al. 2005), sowohl durch zeitliche als auch durch regionale Unterschiede begründet sein.

Die hier vorliegenden Untersuchungen zeigen, dass das Auftreten von MRSA beim Kleintier selten ist, wie auch andere Studien beschreiben (BAPTISTE et al. 2005, LEFEBVRE et al. 2006, VENGUST et al. 2006, GRIFFETH et al. 2008, HANSELMAN et al. 2008). Aufgrund der großen Bedeutung des Erregers für die Humanmedizin besteht jedoch weiterer Forschungsbedarf hinsichtlich Vorkommen, Epidemiologie und Risikofaktoren von MRSA bei Haustieren. Wie auch in anderen Studien (BAPTISTE et al. 2005, O'MAHONEY et al. 2005, MALIK et al. 2006, MOODLEY et al. 2006, STROMMENDER et al. 2006, WEESE et al. 2006) vermutet, ist auch hier der Ursprung der Kolonisation der Haustiere im humanen Bereich zu suchen. Dies bedeutet im Umkehrschluss, dass sowohl der Humanmediziner das Haustier in seine Überlegungen im Umgang mit MRSA-Patienten einbeziehen muss, als auch der Veterinärmediziner beim Nachweis von MRSA bei Haustieren die Besitzer über Übertragungswege und Risiken aufklären sollte.

Insgesamt lässt sich aus den vorhandenen Studien ableiten, dass MRSA-kolonisierte Tiere zu einem geringen Teil in der Population vorkommen und somit derzeit kein großes Erregerreservoir darstellen. Vielleicht auch da *S. aureus* nicht der dominant vorkommende Kommensale bei Hund und Katze ist (WEESE und VAN DUIJKEREN 2010). Die in dieser Studie verwendete Stichprobengröße ist einerseits noch zu gering, um die wahre Prävalenz zu ermitteln bzw. eine genaue Prävalenzschätzung vornehmen zu können, zum anderen waren die beprobten Tiere hinsichtlich der Region, aus der sie stammen und aufgrund der Tatsache, dass Tiere, die in der Klinik einer Hochschule vorgestellt werden, häufig vorbehandelt sind, vorselektiert.

S. pseudintermedius ist die am häufigsten isolierte Staphylokokkenspezies bei Hund und Katze und wird sowohl von Haut und Schleimhäuten gesunder Tiere, als auch von Tieren mit Pyodermien, Otitiden und postchirurgischen Wundheilungsstörungen isoliert (MORRIS et al. 2006, ABRAHAM et al. 2007, GRIFFETH et al. 2008). Dieses konnte auch in der vorliegenden Studie bestätigt werden, wobei es Unterschiede in der Auffindungsrate zwischen Hunden (85,5%) und Katzen (13,0 %) gab. Die niedrigere Nachweishäufigkeit bei Katzen liegt aber in der Größenordnung, wie sie

auch in einer anderen Studien gefunden wurde (ABRAHAM et al. 2007). Seit der Erstbeschreibung von *S. pseudintermedius* durch DEVRIESE et al. (2005) kommt es in der Routinediagnostik immer wieder zu Verwechslungen mit *S. intermedius*. Basierend auf der Empfehlung von DEVRIESE et al. (2009), die mit phänotypischen Verfahren in der Routinediagnostik als *S. intermedius* identifizierten Isolate von Hunden als *S. pseudintermedius* anzusprechen, lassen sich auch ältere Studien mit neueren vergleichen, obwohl auf den ersten Blick von unterschiedlichen Erregern gesprochen wird.

Die Rate der gefundenen MRSP-Träger liegt im Vergleich zu anderen Studien (HANSELMAN et al. 2008, RUSCHER et al. 2009) höher, allerdings sind diese Studien wiederum aufgrund des unterschiedlichen Studiendesigns (Abschnitt 4) nicht direkt vergleichbar. Wie auch bei MRSA kann aufgrund der Ergebnisse der verschiedenen Studien aber davon ausgegangen werden, dass die Prävalenz von MRSP bei Haustieren zeitlichen und regionalen Schwankungen unterliegt.

2 Charakterisierung von MRSA und MRSP

Um Transferwege wie die in Kapitel 2 beschriebenen aufzudecken ist es wichtig, die gefundenen Isolate eingehend zu charakterisieren. Für die vorliegenden Fallberichte wurden hierzu die *spa*-Typisierung, die Multilocus-Sequenz-Typisierung (MLST), die Pulsfeld Gelelektrophorese (PFGE), die *SCCmec*-Typisierung und die Bestimmung der antimikrobiellen Empfindlichkeitsprofile durchgeführt. Zur Aufklärung der Epidemiologie unterschiedlicher Genotypen bei Haustieren sind die o.g. Typisierungsmethoden zurzeit unverzichtbar. Eine solch intensive Analyse von MRSA-Isolaten bietet für derartige Studien eine gute und sichere Basis, ist aber für die Routinediagnostik zu aufwendig und kostenintensiv. Allerdings sollte bei gehäuftem Auftreten von MRSA-Infektionen in Tierkliniken, bei denen ein epidemiologischer Zusammenhang wahrscheinlich ist oder vermutet wird, eine Typisierung der Isolate mit den beschriebenen Verfahren, analog zur Vorgehensweise in der Humanmedizin (siehe §6 Abs. 3 IfSG), erfolgen.

Die verwendete diagnostische Kaskade für MRSP mit kultureller Anzucht auch unter Verwendung von Selektivnährböden, Untersuchung des Resistenzverhaltens gegenüber Oxacillin mittels Agardiffusionsverfahren, dem nachfolgenden *mecA*-Nachweis, der *pta*-RFLP, der molekularen Typisierung (SCC*mec*-Typisierung, PFGE, teilweise *dru*-Typisierung) und der Empfindlichkeitsprüfung gegenüber anderen antimikrobiellen Substanzen mittels Bouillon-Mikrodilution ist für diese epidemiologische Studie notwendig, um ausführliche Informationen über die gefundenen Isolate zu erhalten und Verwandtschaftsbeziehungen aufzudecken. Auch für MRSP stehen die sequenzbasierten Methoden MLST und *spa*-Typisierung zur Verfügung (PERRETEN et al. 2010), von denen die *spa*-Typisierung bei den Isolaten von Katzen Verwendung fand. Die im Kapitel 4 verwendete *dru*-Typisierung kann für die epidemiologische Analyse von MRSA verwendet werden (NISHI et al. 1995, NAHVI et al. 2001, WITTE et al. 2001, FEßLER et al. 2010a, 2011). Es konnte gezeigt werden, dass sich MRSP Isolate mit dieser Methode typisieren lassen und die *dru*-Typisierung auch für MRSP eine gute Alternative zu anderen Charakterisierungen darstellt (KADLEC et al. 2010). Zusammen mit dem *spa*-Typ erhöht sich der diskriminatorische Index zusätzlich. Im Gegensatz zu den wenigen MRSP-Isolaten von Katzen, wiesen die MRSP-Isolate von Hunden unterschiedliche Charakteristika auf. Wie auch in anderen Studien (SASAKI et al. 2007, NORSTRÖM et al. 2009) beschrieben, weisen die untersuchten *S. pseudintermedius* Isolate besonders in der Pulsfeld-Gelelektrophorese eine große Diversität auf, woraus sich schlussfolgern lässt, dass es sich bei den Isolaten nicht um einen vielleicht mit der Klinik zusammenhängenden Stamm handelt, sondern um diverse Linien, deren Ursprung im Rahmen dieser Studie nicht weiter eruiert wurde.

Die Bestimmung der Empfindlichkeit gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen dient zum einen der Auswahl eines geeigneten Wirkstoffes zur Therapie bei einer Infektion und kann zum anderen auch zur Charakterisierung der Erreger genutzt werden. Im Gegensatz zu MRSA zeigen MRSP sehr häufig Resistenzen gegenüber allen für die Therapie verwendbaren Wirkstoffen. Bei den MRSA ST398 Isolaten in Kapitel 2 wurde zusätzlich zur β -Laktam-Resistenz auch Resistenz gegenüber dem Makrolid Erythromycin, dem Lincosamid Clindamycin und Tetracyclin festgestellt; diese

erworbenen Resistenzeigenschaften kommen bei MRSA ST398 sehr häufig vor (FEßLER et al. 2010, 2011). Bei dem anderen MRSA-Isolat wurde Resistenz gegenüber Erythromycin, Clindamycin und dem Fluorchinolon Enrofloxacin nachgewiesen, auch dieses Resistenzmuster wird bei solchen MRSA ST225-Isolaten wie im Fall 2 beschrieben häufig nachgewiesen. MRSP Isolate hingegen weisen sehr häufig wie auch in Kapitel 3 und 4 beschrieben, einen deutlich erweiterten Resistenzphänotyp auf (PERRETEN et al. 2010, RUSCHER 2010). Insbesondere diese in der Kleintierklinik häufig identifizierten multiresistenten MRSP-Isolate bereiten Probleme bei der Behandlung mit Infektionen, die sie verursachen (WETTSTEIN et al. 2008, PERRETEN et al. 2010).

3 Übertragung zwischen Tier und Mensch

Die Fallberichte in Kapitel 2 zeigen die Bedeutung des familiären Umfeldes für die Übertragung von MRSA zwischen Mensch und Haustier. Durch den engen Kontakt zwischen Haustier und Mensch ist eine Übertragung möglich. Dabei ist sowohl ein Transfer von humanadaptierten Stämmen (MLST-Typ ST225 in Fallbericht 2), als auch von tieradaptierten Stämmen (MLST-Typ ST398 im Fallbericht 1), auf Mensch und Haustier möglich. Die Übertragung von MRSA zwischen Mensch und Haustier wurde bereits von verschiedenen Autoren beschrieben (MANIAN 2003, VAN DUIJKEREN et al. 2004, VAN DUIJKEREN et al. 2005, CEFAL et al. 2006).

Der im Fallbericht 1 isolierte MRSA Stamm t034 gehört zur klonalen Linie ST398 (WITTE et al. 2007). Insbesondere bei Nutztieren wird diese andere Art MRSA isoliert, welche als livestock-associated MRSA (LA-MRSA) bezeichnet wird (MONECKE et al. 2011). WITTE et al. (2007) berichteten über die Isolierung eines MRSA ST398-Stammes mit den gleichen Charakteristika aus der Wundinfektion eines Hundes und nasalen Tupferproben des Personals der behandelnden Tierarztpraxis. Diese Beobachtung deutet darauf hin, dass die Übertragung von ST398 zwischen verschiedenen Spezies möglich ist. Bis heute ist unklar, ob Tiere der hauptsächliche Ursprung humaner MRSA-Infektionen sind, oder ob die meisten

MRSA-Infektionen bei Tieren humanen Ursprungs sind (VAN DUIJKEREN et al. 2005). Im Fallbericht 1 hatte der Hund keinerlei Kontakt zu Schweinen oder anderen Nutztieren, so dass eine direkte Übertragung zwischen Nutztieren und dem Hund unwahrscheinlich ist. In der Schweineproduktion tätige Menschen, die einen intensiven Kontakt zu Schweinen haben, tragen jedoch ein hohes Risiko, MRSA-Träger zu sein (WULF et al. 2007). MEEMKEN et al. (2008) beschrieben, dass etwa 23% der beruflich exponierten Personen in Nord-West-Deutschland nasal mit MRSA ST398 besiedelt sind. Dementsprechend war es nicht überraschend zu sehen, dass der Besitzer des Hundes, ein Fachtierarzt für Schweine, nasal mit MRSA ST398 besiedelt war und diesen Erreger auf seinen Hund übertragen hatte. Die hier beschriebenen Ergebnisse zeigen mit großer Wahrscheinlichkeit die Richtung der Übertragung von MRSA ST398 vom Menschen auf den Hund.

Im Fall 2 hatte der Hund regelmäßigen Kontakt zu der im selben Haushalt lebenden Schwiegermutter der Hundehalterin. Auch hier war der wahrscheinlichste Übertragungsweg des MRSA-Stammes von der Schwiegermutter auf den Hund, wobei offen bleibt, welche Rolle das Pflegepersonal spielt und wie der Erreger in den Haushalt gekommen ist. Die Nasenschleimhäute dienen als primäres Reservoir für *Staphylococcus aureus* und sind Ausgangspunkt für die Kolonisation anderer Körperregionen (LOWY 1998). Nur über die gezielte Aufklärung und Befragung der Besitzerin konnte der wahrscheinliche Übertragungsweg aufgedeckt werden. Dies ist ein gutes Beispiel für die Notwendigkeit einer intensiven Aufklärung der Patientenbesitzer, um eine Rekolonisation / Reinfektion nach Therapie wie bei MANIAN (2003) beschrieben, zu vermeiden.

Allgemein ist wenig bekannt über den möglichen Austausch von kommensal lebenden Bakterien zwischen Menschen und Tieren, die in engem Kontakt zueinander stehen. Somit ist in diesem Zusammenhang auch wenig bekannt über mögliche Transmissionen von MRSP und deren Bedeutung. Zum einen scheint es üblich zu sein, dass veterinärmedizinisches Personal und auch Besitzer, welche konstanten Kontakt zu Hunden haben, die unter atopischer Dermatitis leiden, kolonisiert sind (HARVEY et al. 1994), zum anderen wird ansonsten *S. pseudintermedius* selten bei Menschen gefunden (TALAN et al. 1989, MAHOUDEAU

et al. 1997). Somit liegt es nahe, dass bei MRSP eine Transmission vom Hund auf den Menschen stattfindet. Beim Menschen gefundene Stämme entsprechen in der Regel denen, die bei ihren Hunden isoliert werden konnten (GOODACRE et al. 1997; TANNER et al. 2000). Legt man aber zugrunde, dass neben der Übertragung resistenter Stämme vom Tier auf den Menschen und umgekehrt auch der Austausch von Resistenzgenen zwischen unterschiedlichen Staphylokokkenspezies (SCHWARZ et al. 1990, SCHWARZ 1995) oder zwischen Bakterien verschiedener Genera (KADLEC und SCHWARZ 2010; LÓPEZ et al. 2011) möglich ist, sind Studien zum Austausch von Bakterien zwischen Mensch und Tier auch unter diesem Aspekt sinnvoll und notwendig, zumal es Beschreibungen von MRSP-Infektionen beim Menschen gibt (VAN HOOVELS et al. 2006).

4 Risikoanalyse

Aufgrund der geringen Detektion von MRSA in dieser Untersuchung war die geplante Identifikation von Risikofaktoren analog zur Humanmedizin, die über den Fragebogen erarbeitet werden sollte, nicht möglich. Es ließen sich keine validen Odds Ratios berechnen. Um diesen Teil der Studie realisieren zu können, muss die Stichprobenzahl bei der vorliegenden Auffindungsrate um ein Vielfaches höher sein. Eine solche Fragestellung zu bearbeiten, ist dann möglich, wenn zeitgleich im Rahmen von multizentrischen Studien in einer größeren Anzahl von Kliniken die gleiche Untersuchung und Evaluierung unter identischen Bedingungen durchgeführt würde, da so entsprechende Fallzahlen erreicht werden könnten.

Die im Studiendesign geplante Risikoanalyse für MRSP konnte aufgrund der geringen Auffindungsrate bei den Katzen lediglich für die Hunde realisiert werden. Da die Daten von Patienten aus einer speziellen Klinik stammen, sind die Angaben in dieser Studie zweifach selektiert (z.T. erkrankte Tiere und „spezielle Tierklinik“). Aus diesem Grund und basierend auf der Tatsache, dass die Stichprobenzahl für eine Prävalenzschätzung noch zu gering ist, kann der Anteil positiver Befunde im eigentlichen Sinn nicht als Prävalenz bezeichnet werden. Entsprechend sollte dieser

Ausdruck bei diesem Studiendesign vermieden werden. Ähnliche Studien (SASAKI et al. 2007; HANSELMAN et al. 2008) sprechen allerdings von „Prävalenzen“ obwohl aus den oben genannten Gründen deutlich gemacht werden muss, dass es sich hierbei nicht um „wahre“ Prävalenzen handeln kann. Aus dem gleichen Grund konnten in der vorliegenden Studie keine Risikofaktoren identifiziert werden, sondern nur „Indizien für Risikofaktoren“ gesammelt werden (KREIENBROCK 2010). Dementsprechend wird in dieser Arbeit von Auffindungsraten und Indizien für Risikofaktoren gesprochen. Es ist wünschenswert, auf internationaler Ebene mit den gleichen Termini zu arbeiten, um schon über die Art des Ausdrucks darauf hinzuweisen, dass z.B. „Prävalenzen“, die mit unterschiedlichem Studiendesign generiert wurden, nicht ohne weiteres vergleichbar sind.

Die beiden ermittelten Faktoren für eine Kolonisation/Infektion mit MRSP, „vorangegangene stationäre Aufenthalte“ und „antibiotische Behandlung innerhalb der letzten sechs Monate“ decken sich mit anderen Studien im Bereich von Kleintierkliniken (SASAKI et al. 2007). Sie lassen sich allerdings nicht unabhängig voneinander diskutieren. Häufig ist eine antibiotische Behandlung der Hunde und Katzen während eines stationären Aufenthaltes in Kliniken notwendig, so dass die Tiere häufig gleichzeitig beiden Faktoren ausgesetzt sind. Um die Bedeutung der Risikofaktoren jeweils einzeln werten zu können, ist eine multivariable Analyse notwendig. Auf eine solche Analyse musste in der vorliegenden Studie verzichtet werden, da auch für diese Fragestellung die Stichprobengröße noch zu gering war. Jedoch konnte mit Hilfe der CART-Analyse bewiesen werden, dass die beiden Faktoren „vorangegangene stationäre Aufenthalte“ und „antibiotische Behandlung innerhalb der letzten sechs Monate“ einen statistisch signifikanten Einfluss auf eine MRSP-Trägerschaft besitzen.

5 Bekämpfung von MRSA/MRSP in Kleintierkliniken

Aufgrund der hohen Widerstandsfähigkeit von Staphylokokken auch in der unbelebten Umgebung (HEUCK et al. 1995) wie z.B. Türklinken, Tische, Oberflächen, medizinische Geräte und Instrumente, Kittel und Schutzhandschuhe des Personals etc., besteht die Gefahr des Persistierens Methicillin-resistenter Staphylokokken in Kleintierkliniken und -praxen. Der bedeutendste Übertragungsweg für Mikroorganismen in der Klinik und damit auch für nosokomiale Infektionen sind die Hände, wobei aber jeglicher Kontakt zwischen Mensch-Tier, Tier-Tier, Tier-Mensch zu einer Übertragung führen kann (WALTHER und GROBBEL 2009).

Durch das Robert Koch-Institut wurde eine „Empfehlung zur Prävention und Kontrolle von Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus*-Stämmen (MRSA) in Krankenhäusern und anderen medizinischen Einrichtungen“ (ROBERT KOCH-INSTITUT 1999) herausgegeben. In diesen Empfehlungen sind detaillierte Anweisungen zu räumlich-funktionellen Anforderungen an die Unterbringung von MRSA-besiedelten Patienten, zum Schutz vor Kontamination, zur Desinfektion und Reinigung, zur Abfallentsorgung und zu Eingriffen an Patienten gegeben. Zudem enthält das Dokument Empfehlungen zum Screening, der Sanierung von MRSA-Trägern, zur Aufhebung der Isolierung, zu Maßnahmen bei Verlegungen und Transporten innerhalb des Krankenhauses, zu zusätzlichen Maßnahmen bei Verlegung in andere Krankenhäuser bzw. Einrichtungen und zu Maßnahmen bei der Entlassung. Aufgrund der ähnlichen Situation, nämlich dass Methicillin-resistente Staphylokokken, insbesondere MRSP, auch im Bereich von Kleintierkliniken zu Problemen mit dem Charakter nosokomialer Infektionen führen können (PERRETEN et al. 2010) ist es sinnvoll, die oben genannten Empfehlungen des Robert Koch-Instituts auf die speziellen Bedürfnisse in Kleintierkliniken anzupassen.

An Kleintierkliniken angepasste Empfehlungen könnten analog zu den Empfehlungen des Robert Koch-Instituts folgende Punkte beinhalten:

1. Schulung des Personals
2. Einführung von Hygienebeauftragten

3. enger Kontakt zu infektiologisch erfahrenen Tierärzten
4. interdisziplinärer Kontakt mit Human-Infektiologen
5. räumlich getrennte Unterbringung MRSP- / MRSA-kolonisierter Tiere
6. Kohortenisolierung ist möglich
7. strikte Einhaltung der Händehygiene (auch bei Benutzung von Einmalhandschuhen)
8. Kittelwechsel beim Betreten der (Isolier-)Station. Der Kittel verbleibt auf der Station und wird über geeignete Wäschesäcke entsorgt
9. Einmalhandschuhe sind erforderlich und sind auf der Station bzw. im Vorraum als Abfall zu entsorgen
10. Transporte bzw. Verlegungen sind zu vermeiden
11. tägliche Flächendesinfektion
12. Wischdesinfektion aller Kontaktflächen von am Tier benutzten Geräten (Köpfe von Ultraschallgeräten etc.) nach Einsatz
13. Phonendoskope, Thermometer etc. sind patientenbezogen zu verwenden und unmittelbar nach Gebrauch zu desinfizieren
14. Desinfektion der am Patienten benutzten Instrumente (Scherköpfe, Scheren, Klemmen,...)
15. Entsorgung der Abfälle gemäß eines Hygieneplans
16. Durchführung diagnostischer und kleinerer therapeutischer Eingriffe auf der Station
17. Vermeidung elektiver und invasiv-diagnostischer Maßnahmen, wenn möglich
18. Operation MRSP- / MRSA-kolonisierter / -infizierter Tiere in dafür vorgesehenen OP-Einheiten, bzw. jeweils am Ende des OP-Programms. Durchführung von Desinfektionsmaßnahmen unmittelbar nach dem Eingriff gemäß den „Anforderungen der Hygiene bei Operationen und anderen operativen Eingriffen“(RKI 1998)

Des Weiteren sollten Screeningmaßnahmen auch für Kleintierkliniken etabliert werden. Diese könnten wie folgt aussehen:

1. Routinemäßige Untersuchung von Patienten oder medizinischem Personal auf Methicillin-resistente Staphylokokken (MRS) nicht notwendig.
2. Screening von Patienten (Nasen-/ Rachen-Tupfer und Perinealtupfer) bei:
 - Wiederaufnahme mit bekannter MRS-Anamnese
 - Bei Aufnahme von Patienten aus Einrichtungen mit bekanntem endemischen MRS Vorkommen
 - Bei gehäuftem Nachweis von MRS mehrerer Patienten (>2), in zeitlichem und räumlichem Zusammenhang ist Genotypisierung anzustreben. Bei klonaler Identität Screening aller Patienten der betroffenen Einheit sowie des Personals
3. Maßnahmen bei Entlassung:
 - Entlassung von Patienten, wenn klinischer Zustand es zulässt, ungeachtet ggf. vorhandener Kolonisierung mit MRS
 - Information und Beratung des weiterbehandelnden Tierarztes über sinnvolle hygienische Maßnahmen im Vorfeld
 - Aufklärung von Patientenbesitzern z.B. mittels Informationsblatt

Ein solcher Maßnahmenkatalog ist geeignet, in Verbindung mit weiteren Maßnahmen, wie der sorgfältigen Abwägung des Einsatzes von Antibiotika und der regelmäßigen Resistenztestung, die Verbreitung von MRS einzudämmen. Ähnliche Empfehlungen bzw. Forderungen wurden auch von anderen Autoren diskutiert (WALTHER 2007, RUSCHER 2010), die bezüglich der einzuleitenden Maßnahmen zu denselben Schlüssen kamen. Da diese Studien allerdings an eingesendetem Probenmaterial durchgeführt wurden, ließen sich dort keine Hinweise auf Risikofaktoren ermitteln. Die in diesen Studien geführte Diskussion beruhte ausschließlich auf der Annahme, dass beim Kleintier die gleichen Risikofaktoren bedeutsam sind wie in der Humanmedizin. Im Vergleich dazu finden sich in den vorliegenden Untersuchungen klare Hinweise, dass auch beim Kleintier der Einsatz

von Antibiotika und der vorhergehende Aufenthalt in Tierkliniken als mögliche Risikofaktoren einzustufen sind.

Vor dem Hintergrund der Annäherung der diagnostischen und therapeutischen Verfahren in der Kleintiermedizin an die Humanmedizin, mit dem Effekt der Zunahme an geriatrischen, immunsupprimierten und mehrfach operierten Patienten und damit einer längeren Verweildauer in Tierkliniken verbunden mit häufigerem Antibiotikaeinsatz, bekommt die Kontrolle von nosokomialen Infektionen in Kleintierkliniken in den kommenden Jahren eine zunehmende Bedeutung.

Abschließend lässt sich sagen, dass über die Problematik methicillin- bzw. multiresistenter Staphylokokkenspezies in Kleintierkliniken auf breiter Basis aufgeklärt werden muss. Die Untersuchung von Abstrichen und die Resistenztestung von gewonnenen Isolaten muss bei Infektionen, wie z.B. Pyodermien oder Wundheilungsstörungen, bei denen *Staphylococcus* spp. in der Regel eine bedeutende Rolle spielen, zur Routine in der tierärztlichen Praxis werden. Die in dieser Studie ermittelten Daten zeigen, dass Indizien für Hauptrisikofaktoren die antibiotische Behandlung von Tieren und Klinikaufenthalte sind. Daraus folgt, dass effektive Präventionsmaßnahmen, wie z.B. Eingangsuntersuchungen von Risikopatienten in Kleintierkliniken (Surveillance-Programme) in Zukunft notwendig sein werden, um gezielte Interventionsprogramme zu etablieren. Zudem sollte die Notwendigkeit jeder antibiotischen Therapie bei jedem einzelnen Tier sorgfältig abgewogen werden. Nicht zuletzt ist die enge Kooperation mit der Humanmedizin unumgänglich, da kaum ein anderes Gebiet den „One Health“-Gedanken derzeit so widerspiegelt wie die interdisziplinäre Bekämpfung resistenter Bakterien (WALTHER und GROBBEL 2009). Interdisziplinäre Studien, wie sie hier vorliegen, fördern das Verständnis für das jeweilig andere Fachgebiet und können neue Ansätze bei der Entwicklung von Bekämpfungsstrategien bringen. Dieses sollte bei zukünftigen Studien berücksichtigt werden.

6 Referenzen

Abraham, J.L., Morris, D.O., Griffeth, G.C., Shofer, F.S., Rankin, S.C., 2007. Surveillance of healthy cats and cats with inflammatory skin disease for colonization of the skin by methicillin-resistant coagulase-positive staphylococci and *staphylococcus schleiferi ssp. schleiferi*. *Vet. Dermatol.* 18, 252-9.

Baptiste, K.E., Williams, K., Williams, N.J., Wattret, A., Clegg, P.D., Dawson, S., Corkill, J.E., O'Neill, T., Hart, C.A., 2005. Methicillin-Resistant staphylococci in companion animals. *Emerg. Infect. Dis.* 11, 1942-1944.

Cefai, C., Ashurst, S., Owens, C., 1994. Human carriage of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* linked with a pet dog. *Lancet.* 344, 539-540.

Chaberny, I.F., Ziesing, S., Mattner, F., Bärwolff, S., Brandt, C., Eckmanns, T., Rüdén, H., Sohr, D., Weist, K., Gastmeier, P., 2005. The burden of MRSA in four German university hospitals. *Int. J. Hyg. Environ.-Health* 208, 447-453.

Descloux, S., Rossano, A., Perreten, V., 2008. Characterisation of New Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCC*mec*) and Topoisomerase Genes in Fluorquinolone- and Methicillin-Resistant *staphylococcus pseudintermedius*. *J. Clin. Microbiol.* 46, 1818-1823.

Devriese, L.A., Vancanneyt, M., Baele, M., Vaneechoutte, M., De Graef, E., Sanauwaert, C., Cleenwerck, I., Dawyndt, P., Swings, J., Decostere, A., Haesebroeck, F., 2005. *Staphylococcus pseudintermedius* sp. nov., a coagulase-positivespecies from animals. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55, 1569-1573.

Devriese, L.A., Hermans, K., Baele, M., Haesebrouck, F., 2009. *Staphylococcus pseudintermedius* versus *Staphylococcus intermedius*. *Vet. Microbiol.* 133, 206-207.

Feßler, A.T., Scott, C., Kadlec, K., Ehricht, R., Monecke, S., Schwarz, S., 2010. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from cases of bovine mastitis. J. Antimicrob. Chemother. 65, 619-25.

Feßler, A.T., Kadlec, K., Hassel, M., Hauschild, T., Eidam, C., Ehricht, R., Monecke, S., Schwarz, S., 2011. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from food and food products of poultry origin in Germany. Appl Environ Microbiol., Jul 1. [Epub ahead of print].

Goodacre, R., Harvey, R., Howell, S. A., Greenham, L.W., Noble, W.C., 1997. An epidemiological study of *Staphylococcus intermedius* strains isolated from dogs, their owners and veterinary surgeons. J. Anal. Appl. Pyrol. 44, 49–64.

Griffeth, G.C., Morris, D.O., Abraham, J.L., Shofer, F.S., Rankin, S.C., 2008. Screening for skin carriage of methicillin-resistant coagulase-positive staphylococci and *Staphylococcus schleiferi* in dogs with healthy and inflamed skin. Vet. Dermatol. 19, 142-149.

Hanselman, B. A., Kuth, S., Weese, J. S., 2008. Methicillin-resistant staphylococcal colonisation in dogs entering a veterinary teaching hospital. Vet. Microbiol. 126, 277-281.

Harvey, R.G., Marples, R.R., Noble, W.C., 1994. Nasal carriage of *Staphylococcus intermedius* in humans in contact with dogs. Microb. Ecol. Health Dis. 7, 225–7.

Heuck, D., Braulke, D., Lauf, H., Witte, W., 1995. Analysen und Schlussfolgerungen zur epidemischen Verbreitung von Methicillin-resistenten *S. aureus*. Zentralbl. Hyg. Umweltmed. 198, 57-71.

Kadlec, K., Schwarz, S., 2010. Identification of a plasmid-borne resistance gene cluster comprising the resistance genes *erm(T)*, *dfrK*, and *tet(L)* in a porcine

methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 strain. Antimicrob. Agents Chemother. 54, 915-8.

Kadlec, K., Matic, N., Weese, J.S., Schwarz, S., 2010. Distribution of *dru* types among methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from dogs and cats. Tagungsband des 14th International Symposium on Staphylococci and Staphylococcal Infections (ISSSI), 06.-09.09. in Bath, UK.

Kreienbrock, L., 2010. pers. Mitteilung

Lefebvre, S.L., Waltner-Toews, D., Peregrine, A.S., Reid-Smith, R., Hodge, L., Arroyo, L.G., Weese, J.S., 2006. Prevalence of zoonotic agents in dogs visiting hospitalized people in Ontario: implications for infection control. J. Hosp. Infect. 62, 458-466.

López, M., Kadlec, K., Schwarz, S., Torres, C., 2011. First Detection of the staphylococcal trimethoprim resistance gene *dfrK* and the *dfrK*-carrying transposon Tn559 in Enterococci. Microb. Drug Resist. In press.

Lowy, F.D., 1998. *Staphylococcus aureus* Infections. New Engl. J. 339, 520-532.

Mahoudeau, I., Delabranche, X., Prevost, G., Monteil H, Piemont, Y. 1997. Frequency of isolation of *Staphylococcus intermedius* from humans. J.Clin. Microbiol. 35, 2153-2154.

Malik, S., Coombs, G., O'Brian, F., Peng, H., Barton, M., 2006. Molekular typing of methicillin-resistant staphylococci isolated from cats and dogs. J. Antimicrob. Chemother. 58, 428-431.

Manian, F.A., 2003. Asymptotic nasal carriage of mupirocin-resistant, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in a pet dog associated with MRSA infection in household contacts. Clin. Infect. Dis. 36, E26-E28.

Meemken, D., Cuny, C., Witte, W., Eichler U., Staudt R., Blaha, T., 2008. Occurrence of MRSA in pigs and humans involved in pig production – Preliminary results of a study in Northwest of Germany. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 115, 132-139.

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., Ehricht, R., 2011. A field guide to pandemic, epidemic and sporadic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. PLoS ONE. 6: e17936.

Moodley, A., Stegger, M., Bagcigil, A., Baptiste, K., Loeffler, A., Lloyd, D., Williams, N., Leonard, N., Abott, Y., Skov, R., Guadabassi, L., 2006. *spa* typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from domestic animals and veterinary staff in the UK and Ireland. J. Antimicrob. Chemother. 58, 1118-1123.

Morris, D.O., Mauldin, E.A., O'Shea, K., Shofer, F.S., Rankin, S.C., 2006. Clinical, microbiological, and molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections of cats. Am. J. Vet. Res. 67, 1421-1425.

Nahvi, M.D., Fitzgibbon, J.E., John, J.F., Dubin, D.T. 2001. Sequence analysis of *dru* regions from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococcal isolates. Microb. Drug Resist. 7, 1-12.

Nishi, J., Miyanochara, H., Nakajima, T., Kitajima, I., Yoshinaga, M., Maruyama, I., Miyata, K., 1995. Molecular typing of the methicillin resistance determinant (*mec*) of clinical strains of *Staphylococcus* based on *mec* hypervariable region length polymorphisms. J. Lab. Clin. Med. 126, 29-35.

Norström, M., Sunde, M., Tharaldsen, H., Mørk, T., Bergsjø, B., Kruse, H., 2009. Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* in the Norwegian Dog Population. *Microbial Drug Resistance*. 15, 55-59.

O`Mahony, R., Abbott, Y., Leonard, F.C., Markey, B.K., Quinn, P.J., Pollock, P.J., Fanning, S., Rossney, A.S., 2005. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from animals and veterinary personnel in Ireland. *Vet. Microbiol.* 109, 285-296.

Perreten, V., Kadlec, K., Schwarz, S., Grönlund Andersson, U., Finn, M., Greko, C., Moodley, A., Kania, S.A., Frank, L.A., Bemis, D.A., Franco, A., Iurescia, M., Battisti, A., Duim, B., Wagenaar, J.A., van Duijkeren, E., Weese, J.S., Fitzgerald, J.R., Rossano, A., Guardabassi, L., 2010. Clonal spread of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in Europe and North America: an international multicentre study. *J. Antimicrob. Chemother.* 65, 1145-1154.

Robert Koch-Institut, 1999. Empfehlung zur Prävention und Kontrolle von Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* Stämmen (MRSA) in Krankenhäusern und anderen medizinischen Einrichtungen. Mitteilung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention am RKI. *Bundesgesundheitsbl-Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz*. 42, 954–958.

Ruscher, C., Luebke-Becker, A., Wleklinski, C.G., Şoba, A., Wieler, L.H., Walther, B., 2009. Prevalence of Methicillin resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from clinical samples of companion animals and equidae. *Vet. Microbiol.* 136, 197-201.

Ruscher, C. 2010. Molekulare Epidemiologie Methicillin-resistenter Staphylokokken der Intermedius-Gruppe. Diss. FU Berlin Journal Nr.: 3418.

Sasaki, T., Kikuchi, K., Tanaka, Y., Takahashi, N., Kamata, S., Hiramatsu, K., 2007. Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in a veterinary teaching hospital. J. Clin. Microbiol. 45, 1118-1125.

Schwarz, S., Cardoso, M., Grözl-Krug, S., Blobel, H., 1990. Common antibiotic resistance plasmids in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* from human and canine infections. Zentralbl. Bakteriol. 273, 369-377.

Schwarz, S., 1995. Genetische Grundlagen der Resistenz gegenüber Chloramphenicol und Tetracyclinen bei Staphylokokken animaler Herkunft. Habilitationsschrift zur Erlangung der Venia legendi an der Tierärztlichen Hochschule Hannover, Hannover, Deutschland.

Strommenger, B., Kehrenberg, C., Kettlitz, C., Cuny, C., Verspohl, J., Witte, W., Schwarz, S., 2006. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from pet animals and their relationship to human isolates. J. Antimicrob. Chemother. 57, 461-465.

Talan, D.A., Staats, D., Staats, A. et al., 1989. Frequency of *Staphylococcus intermedius* as human nasopharyngeal flora. J. Clin. Microbiol. 27, 2393.

Tanner, M.A., Everett, C.L., Youvan, D.C., 2000. Molecular phylogenetic evidence for noninvasive zoonotic transmission of *Staphylococcus intermedius* from a canine pet to a human. J. Clin. Microbiol. 38, 1628-1631.

van Duijkeren, E., Wolfhagen, M.J.H.M., Box, A.T.A., Heck, M.E.O.C., Wannet, W.J.B., Fluit, A.C., 2004. Human-to-dog transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Emerg. Infect. Dis. 10, 2235-2237.

van Duijkeren, E., Wolfhagen, M.J.H.M., Heck, M.E.O.C., Wannet, W.J.B., 2005. Transmission of panton-valentine leucocidin-positive methicillin-resistant

Staphylococcus aureus strain between humans and a dog. J. Clin. Microbiol. 43, 6209-6211.

Van Hoovels, L., Vankeerberghen, A., Boel, A., Van Vaerenberg, K., De Beenhouwer, H., 2006. First case of *S. pseudintermedius* infection in a human. J. Clin. Microbiol. 44, 4609-4612.

Vengust, M., Anderson, M.E., Rousseau, J., Weese, J.S., 2006. Methicillin-resistant staphylococci colonization in clinical normal dogs and horses in the community. Let. Appl. Microbiol. 43, 602-606.

Walther, B., 2007. Molekulare Epidemiologie Methicillin-resistenter *S. aureus* (MRSA) in der Veterinärmedizin. Diss. FU Berlin Journal Nr.: 3107.

Walther, B., Grobbel, M., 2009. Nosokomiale Infektionen in der Kleintierpraxis. Kleintierpraxis 54, Heft 1, 33-42.

Weese, J. S., 2005. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: An emerging pathogen in small animals. J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 41, 150-157.

Weese, J., Dick, H., Willey, B., McGeer, A., Kreiswirth, B., Innis, B., Low, D., 2006. Suspected transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between domestic pets and humans in veterinary clinics and the household. Vet. Microbiol. 115, 148-155.

Weese, J.S., van Duijkeren, E., 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. Vet. Microbiol. 140, 418-429.

Wettstein, K., Descloux, S., Rossano, A., Perreten, V., 2008. Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in Switzerland: three cases of urinary tract infections in cats. Schweiz. Arch. Tierheilkd. 150, 339-43.

Witte, W., Werner, G., Cuny, C., 2001. Subtyping of MRSA isolates belonging to a widely disseminated clonal group by polymorphism of the *dru* sequences in *mec*-associated DNA. Int. J. Med. Microbiol. 291, 57–62.

Witte, W., Strommenger, B., Stanek, C., Cuny, C., 2007. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in humans and animals, Central Europe. Emerg. Infect. Dis. 13, 255-258.

Wulf, M. W. H., Sørum, M., van Nes, A., Skov, R., Melchers, W., Klaassen, C., Voss, A., 2008. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among veterinarians: an international study. Clin. Microbiol. Infect. 14, 29–34.

Zusammenfassung

6 Zusammenfassung

Ulrike Nienhoff

Untersuchungen zu Vorkommen und Verbreitung von Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA) und Methicillin-resistenten *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) bei Hund und Katze

Von September 2007 bis Januar 2009 wurden Hunde und Katzen, die in der Klinik für Kleintiere der Tierärztlichen Hochschule Hannover vorgestellt wurden, auf das Vorkommen von Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA) und Methicillin-resistenten *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) untersucht. Hierzu wurden bereits im Wartebereich Tupferproben aus dem Nasen-/ Rachenraum, vom Perineum und, wenn vorhanden, von Wunden und Hautinfektionen entnommen. Ein Fragebogen für Hintergrundinformationen zu jedem Tier und dessen Besitzer wurde auf freiwilliger Basis ausgefüllt. Die MRSA- und MRSP-Isolate wurden einer eingehenden Analyse unterzogen. Mögliche Risikofaktoren für MRSP-Trägerschaft bei Hunden wurden durch einfaktorielle Kontingenztafeln und CART-Analyse ermittelt.

Die MRSA Isolate wurden mittels Multi-Locus Sequenz Typisierung (MLST), *spa* Typisierung und Makro-Restriktionsanalyse mit den Restriktionsenzymen *Sma*I und *Ap*aI charakterisiert. Darüber hinaus wurden mit Hilfe einer PCR-Methode die SCC*mec* Typen bestimmt und auf das Vorhandensein der PVL Toxin-Gene *lukS-PV* und *lukF-PV* untersucht. Die MRSP Isolate wurden mittels SCC*mec* Typisierung und PFGE charakterisiert. Bei MRSP-Isolaten von Katzen wurde zusätzlich die *spa* und die *dru* Typisierung durchgeführt. Die Resistenzbestimmung erfolgte im Mikrodilutionsverfahren gemäß CLSI Standard.

Im ersten Fallbericht trug ein gesunder Hund ein MRSA Isolat (ST398, t034) welches nicht mittels *Sma*I, aber mit *Ap*aI typisierbar war. Der Stamm war PVL negativ, trug eine SCC*mec* Typ V Kasette und war resistent gegenüber β -Laktamen, Erythromycin, Clindamycin und Tetracyclin. Der Besitzer des Hundes, ein

Fachtierarzt für Schweine, zeigte eine nasale Kolonisation mit einem Stamm, der die gleichen Charakteristika zeigte. Im zweiten Fallbericht konnte bei einem Hund ein MRSA Isolat (ST225, t014) im Nasen/Rachenraum nachgewiesen werden. Das Isolat war PVL negativ, trug eine SCCmec Typ II Kasette und war resistent gegenüber β -Laktamen, Erythromycin, Clindamycin und Enrofloxacin. Der Hund hatte regelmäßigen Kontakt zu der 85 Jahre alten Schwiegermutter der Patientenbesitzerin, welche im selben Haushalt wohnte und aufgrund eines infizierten Dekubitus am Fuß ambulante Pflege erhielt. Ein MRSA Isolat mit gleichen Charakteristika konnte aus dem Dekubitus der alten Frau isoliert werden.

Unter den 814 beprobten Hunden wurden drei (0,4%) MRSA-Träger und 60 (7,4%) MRSP Träger identifiziert. Alle MRSP Isolate beherbergten die SCCmec Gen-Kasette des Typs II-III und zeigten eine ausgeprägte Resistenz gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen. 15 verschiedene PFGE-Muster konnten identifiziert werden. Die Hauptfaktoren im Zusammenhang mit MRSP-Trägertum waren vorangegangene stationäre Aufenthalte und antibiotische Behandlung innerhalb der letzten sechs Monate vor Beprobung.

Bei den untersuchten Katzen wurde MRSP weniger häufig gefunden (3/131; 2,3%). Alle sechs Isolate der drei Katzen trugen eine SCCmec Gen-Kasette des Typs II-III und konnten dem *spa*-Typ t02 zugeordnet werden. Die Isolate wurden zur weiteren Charakterisierung einer *dru*-Typisierung unterzogen. Es konnte gezeigt werden, dass sich feline MRSP-Isolate mit dieser Methode typisieren lassen. Alle Isolate gehörten zum *dru*-Typ dt9a. Auch die MRSP Isolate der Katzen zeigten zahlreiche Resistenzen gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen. Die Isolate derselben Katze zeigten jeweils identische PFGE-Muster.

Das Auftreten von MRSA bei Hunden in dieser Studie war gering. Die beiden Fallberichte zeigen, dass MRSA Stämme verschiedener Sequenztypen scheinbar leicht zwischen Menschen und deren Haustieren zu übertragen sind. Das Auftreten von MRSP bei Hunden im Rahmen dieser Arbeit war höher, bei Katzen jedoch gering. Die Daten aus den Untersuchungen bezüglich MRSP demonstrieren, dass die Hauptindizes für Risikofaktoren für eine Kolonisierung mit MRSP bei Hunden vorangegangene stationäre Aufenthalte und antibiotische Behandlung sind. Aus

diesem Grund sollten Hygienemaßnahmen in Tierarztpraxen und Kliniken höchste Priorität haben und die Notwendigkeit einer antibiotischen Therapie sollte für jeden einzelnen Patienten sorgfältig geprüft werden.

Summary

7 Summary

Ulrike Nienhoff

Studies on occurrence and spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) in dogs and cats

During Sep 2007 – Jan 2009, dogs admitted to the Small Animal Clinic of the University of Veterinary Medicine Hannover, Germany, were screened for the presence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP). Swabs were taken from the nose and the pharyngeal region as well as from the perineum and also from possible skin infections of dogs and cats before they entered the clinic. A questionnaire for background information on the sampled pet and the pet owner was completed on a voluntary basis. The MRSA isolates of the two cases for which sufficient background data were available and 85 MRSP isolates were subjected to molecular analysis. A first screening for possible risk factors for MRSP carriage was performed by means of unifactorial contingency tables and CART analysis.

The MRSA isolates were characterized by multilocus sequence typing (MLST), *spa* typing, as well as macrorestriction analysis with *Sma*I and *Apa*I. Moreover, the isolates were subjected to PCR-directed *SCCmec* typing and detection of the PVL toxin genes *lukS-PV* and *lukF-PV*. The MRSP isolates were characterized by *SCCmec* typing and PFGE. Isolates from cats were also subjected to *spa* and *dru* typing. The antimicrobial susceptibility status was determined by broth microdilution according to CLSI standards.

In case 1, a healthy dog carried an MRSA isolate (ST398, t034) which was non-typeable by *Sma*I but typeable by *Apa*I. The strain was PVL negative, carried a *SCCmec* type V cassette and was resistant to β -lactam antibiotics, erythromycin, clindamycin, and tetracycline. The dog owner, a specialist veterinarian in swine diseases, showed nasal colonization by a strain which showed the same

characteristics. In case 2, a dog was positive for an MRSA isolate (ST225, t014). The isolate was PVL negative, harboured a *SCCmec* type II cassette and was resistant to β -lactam antibiotics, erythromycin, clindamycin, and enrofloxacin. The dog had regular contact to the dog owner's 85-year-old mother-in-law who lived in the same household and received nursing care at home because of an infected decubital ulcer on her foot. An MRSA isolate, indistinguishable from that of the dog, was isolated from the decubital ulcer of the dog owner's mother-in-law.

814 dogs were sampled. Three dogs were positive for MRSA (0.4%), 60 dogs were positive for MRSP (7.4%). Fifteen different *Sma*I patterns were observed. The major factors that clustered with MRSP carriage were former hospitalization and antibiotic treatment within the last six months before sampling.

MRSP in cats was found less frequently (3/131; 2.3%). All six MRSP isolates harboured *SCCmec* type II-III and belonged to the *spa* type t02. *dru*-Typing was used for further characterisation. It could be shown that feline MRSP isolates are typable with this method. All isolates belonged to the same *dru*-type dt9a. The isolates of the cats also showed resistance to various antimicrobial agents. Isolates from the same cat showed indistinguishable PFGE patterns.

The occurrence of MRSA in dogs in this study was rare. The two case reports show that MRSA strains of different sequence types are readily transferred between humans and pets living in the same household. MRSP occurrence in dogs is higher, in cats also rare. The data from our surveillance regarding MRSP demonstrates that the main risk factors for MRSP carriage in dogs are prior antibiotic therapy and in-patient treatment. Therefore infection control measures such as routine screening in veterinary clinics should be born in mind and the necessity of antimicrobial therapy should be carefully balanced in every single case.

Danksagung

Mein Dank gilt ganz besonders Herrn Prof. Dr. Ingo Nolte für die Überlassung des spannenden Themas dieser Arbeit und die gewährte Unterstützung, durch die mir zahlreiche Möglichkeiten eröffnet wurden. Außerdem bedanke ich mich für sein großes Verständnis dafür, dass meine Kinder immer an erster Stelle stehen konnten.

Ich bedanke mich bei Frau PD Dr. Daniela Simon für die wertvollen Anregungen bei der Erstellung des Studiendesigns sowie für die Betreuung der Arbeit und die Hilfestellung während des klinischen Teils in der Kleintierklinik.

Ganz besonders herzlich danke ich Herrn Prof. Dr. Stefan Schwarz für die umfangreiche, engagierte Betreuung und Unterstützung beim molekularbiologischen Teil dieser Arbeit und die stete bereitwillige, oft auch sehr spontane Hilfe, wann immer ich sie brauchte.

Mein besonderer Dank gilt Frau Kristina Kadlec, Ph.D., die mich bei allen Problemen der Dissertation sowohl fachlich als auch freundschaftlich unterstützte. Mit ihren sachkundigen Ratschlägen, der Diskussionsbereitschaft und der Motivation hat sie zur Fertigstellung dieser Arbeit einen erheblichen Anteil beigetragen.

Insbesondere danke ich Frau Dr. Jutta Verspohl für ihre stetige Unterstützung bei der Promotionsarbeit. Vielen Dank für die nette Aufnahme im Institut und die zahlreichen Hilfestellungen.

Ich danke Herrn Prof. Dr. Gerald-F. Gerlach für die wissenschaftliche Beratung zur Erstellung des Studiendesigns.

Bei Frau PD Dr. Iris Chaberny bedanke ich mich für die Hilfe bei der Einarbeitung in das Thema und die zahlreichen nützlichen Informationen aus dem humanmedizinischen Bereich.

Herrn Prof. Dr. Kreienbrock danke ich für die so dringend benötigte Hilfestellung bei der statistischen Auswertung der Daten und seiner Geduld, mir komplizierte Zusammenhänge verständlich zu machen.

Ich bedanke mich bei den Mitarbeitern der Klinik für Kleintiere, insbesondere bei Karin Thum und Angelika Littmann für die jederzeit gewährte Hilfe bei der Koordination der Probennahme.

Ein besonderer Dank gilt den Mitarbeitern des Instituts für Mikrobiologie der Tierärztlichen Hochschule. Insbesondere Kerstin Habighorst-Blome danke ich für die exzellente technische Arbeit bei der Diagnostik der Proben.

Ebenfalls gilt ein besonderer Dank den Mitarbeitern des FLI in Mariensee. Besonders Frau Roswitha Becker danke ich für die exzellente technische Bearbeitung der Proben.

Ich bedanke mich bei den Mitarbeitern des Instituts für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene, insbesondere bei Frau Ilka Fröse und Frau Dagmar Stresemann für die Hilfestellung und professionelle technische Arbeit.

Bei Frau Galina Rechter und Frau Inga Ruddat bedanke ich mich für die unkomplizierte Hilfestellung bei der statistischen Auswertung der Studie.

Ich danke meinen Söhnen Jochen und Henning, die immer Verständnis hatten, wenn Mama mal wieder „in Sachen Dr.-Arbeit“ unterwegs war.

Mein größter Dank gilt meinem Ehemann Hendrik, der mich immer angespornt hat, weiterzumachen und mir stets die Gewissheit gab, dass ich es schaffe, diese Arbeit wirklich fertig zu stellen. Danke, dass Du mich immer ertragen hast.