

Abschlussbericht

Projekt „Untersuchung zum Eintrag von *Listeria monocytogenes*
in die Lebensmittelkette von Schlachtschweinen“

April 2021

Fördergeber:

QS-Wissenschaftsfonds

FUB-Vertragsnummer: 2018000308

Zuwendungsempfänger:

Institut für Lebensmittelsicherheit und –hygiene
Arbeitsgruppe Fleischhygiene
Freie Universität Berlin

Projektleitung:

Prof. Dr. Diana Meemken

Projektbearbeitung:

Mag. med. vet. Verena Oswaldi
Tierärztin Janine Dzierzon

Laufzeit des Projektes:

01.01. – 31.12.2019

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	3
2. Material & Methoden.....	5
3. Ergebnisse	8
4. Diskussion.....	14
5. Bedeutung für die Praxis	19
6. Literaturverzeichnis.....	21
7. Liste der in Bearbeitung befindlichen Qualifikationsarbeiten	23
8. Geplante Fachpublikationen	23
9. Liste der Fachbeiträge auf Fachkonferenzen	23
10. Erklärung zur Einhaltung der Ausgaben- und Zeitplanung	25

1. Einleitung

Listeria (L.) monocytogenes als bedeutendste humanpathogene Spezies der Gattung *Listeria* gilt als Erreger einer seltenen, aber schwerwiegenden Erkrankung beim Menschen, der Listeriose. Die Infektion erfolgt primär über Lebensmittel, wobei Schwangere, alte und immungeschwächte Personen sowie Neugeborene besonders gefährdet sind. Als Symptome können Gastroenteritis, Septikämie, Meningitis, Enzephalitis und Abort auftreten. In Deutschland wurden 701 humane Erkrankungsfälle im Jahr 2018 gemeldet, was einer Inzidenz von 0,8 Fällen pro 100 000 Einwohnern entspricht (RKI 2019).

Listerien sind grampositive, psychotrophe und fakultativ anaerobe Bakterien, die sich in infizierten Menschen und Tieren intrazellulär vermehren. Sie kommen ubiquitär in der Umwelt vor, sind sehr widerstandsfähig gegenüber äußeren Umweltbedingungen wie Trockenheit, Kälte, höheren Temperaturen und einer hohen Salzkonzentration, können Bestandteil von Biofilmen sein und werden häufig in rohen Lebensmitteln wie Fleisch, Gemüse, Milchprodukten und Feinkostprodukten, die ohne vorherige Erhitzung für den Verzehr vorgesehen sind, nachgewiesen (Allerberger und Huhulescu 2015). Viele Tiere, so auch Schweine, und Menschen können Träger des Bakteriums sein, ohne selbst klinische Symptome zu zeigen. Sie können somit unerkannt als Überträger fungieren. Insbesondere im Lichte des Antibiotikaminimierungskonzepts der 16. AMG-Novelle stellt sich die Frage, ob die deutliche Reduktion des Antibiotikaeinsatzes seit 2011 in der Schweinehaltung (Wallmann et al. 2018) dazu geführt hat, dass die Häufigkeit des Auftretens von Listerien in der Schweinepopulation gestiegen ist. Der häufigere Einsatz von Antibiotika im Schweinemastbereich könnte in der Vergangenheit (vor 2011) nämlich zu einer Reduzierung der Listerienpopulation im Schwein geführt haben. Dieser Effekt könnte durch die erfolgreiche Minimierung der eingesetzten Antibiotika nur noch in abgeschwächter Form vorhanden sein und so zu einer Zunahme von Listerien im Schwein geführt haben.

Dieses Projekt untersucht, ob und in welchem Umfang Schlachtschweine als primäre Eintragsquelle von *L. monocytogenes* in die Lebensmittelkette in Frage kommen.

In der Literatur sind verschiedene Studienergebnisse darüber zu finden. Borch et al. (1996) kamen zu dem Schluss, dass die Kontamination von Schweinefleisch mit *L. monocytogenes* hauptsächlich aus der Verarbeitungsumgebung und nicht primär von den Tieren selber stammt. Andere Studien (Fredriksson-Ahomaa et al. 2009; Hellström et al. 2010) identifizierten jedoch das Schlachtschwein als mögliche Eintragsquelle des Erregers in die Lebensmittelkette. In verschiedenen Ländern

wurden Mastschweine als asymptomatische Träger dieses Bakteriums identifiziert und Prävalenzdaten dazu erhoben (siehe Abbildung 1).

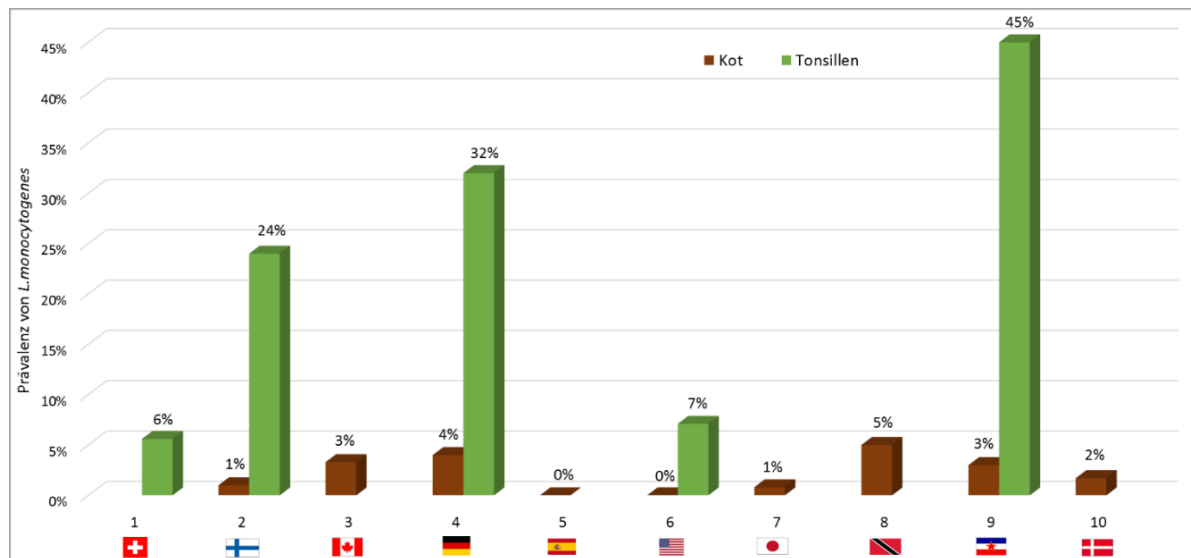


Abbildung 1: Ergebnisse von bisher durchgeführten Prävalenzstudien von *L. monocytogenes* im Mastschwein

Legende der x-Achsenbeschriftung:

- 1) (Sarno et al. 2016) (Schweiz)
- 2) (Hellström et al. 2010) (Finnland)
- 3) (Farzan et al. 2010) (Kanada)
- 4) (Fredriksson-Ahomaa et al. 2009) (Süddeutschland)
- 5) (Esteban et al. 2009) (Spanien)
- 6) (Kanuganti et al. 2002) (USA)
- 7) (Iida et al. 1998) (Japan)
- 8) (Adesiyun und Krishnan 1995) (Trinidad)
- 9) (Bunčić 1991) (Jugoslawien)
- 10) (Skovgaard und Nørnung 1989) (Dänemark)

Mit Hilfe der Ganzgenomsequenzierung (Whole Genome Sequencing, WGS) können Isolate, die für ein Krankheitsgeschehen verantwortlich sind, einer Quelle zugeordnet werden sowie Verwandtschaften zwischen Isolaten festgestellt werden. Die wichtigste Methode dafür stellt die Multilocus Sequenz Typisierung (MLST) dar (Chenal-Francisque et al. 2011). Basierend auf den Nukleotidsequenzen von sieben im Kerngenom stabil verankerten housekeeping Genen (Haushaltsgenen) liefert sie eine übertragbare und standardisierte Terminologie, indem Stämme in Sequenztypen (STs) und Klonale Komplextypen (CCs) unterteilt werden. Ein ST ist definiert als die Übereinstimmung von Allelen der sieben housekeeping Gene, ein CC als Cluster von STs, die in mindestens sechs Allelen übereinstimmen (Félix et al. 2018).

2. Material & Methoden

Die Probenentnahmen wurden in Zusammenarbeit mit zwei industriellen Schweineschlachthöfen in Deutschland geplant und durchgeführt, um das Vorkommen von Listerien in Schlachtschweinen aus zwei verschiedenen Regionen Deutschlands sowie mit der Umgebung eines Schlacht- und Verarbeitungsbetriebes vergleichen zu können.

Es wurden am Schlachthof 1

- a) Kot- und Tonsillarproben (Abb. 2) von 200 Mastschweinen aus 20 Beständen (je Betrieb 10 Tiere) in Nordwestdeutschland direkt nach der Schlachtung sowie
- b) Umgebungsproben vom Schlachthof und der Verarbeitung (Abb. 3) entnommen

und qualitativ auf Listerien untersucht.



Abbildung 2: Entnahme einer Tonsillenprobe mit sterilem Skalpell und Pinzette



Abbildung 3: Probenentnahme der Umgebung in der Zerlegung (Förderband) mit sterilem Schwamm

Außerdem wurden Tonsillenproben am Schlachthof 2 von

- c) 180 Mastschweinen aus 18 ostdeutschen Beständen (je Betrieb 10 Tiere) und zusätzlich von

- d) 50 Mastschweinen aus 5 nordwestdeutschen Betrieben (je Betrieb 10 Tiere) entnommen.

Am Schlachthof 1 wurden die Tierkörper inklusive der Schädel mit zwei Handsägen gespalten, bevor die Tonsillenproben entnommen wurden. Am Schlachthof 2 dagegen gab es automatisierte Sägen, die die Tierkörper exklusive der Schädel spalteten und nach jedem Tierkörper mit heißem Wasser gereinigt wurden.

Die Proben wurden modifiziert nach DIN EN ISO 11290-1:2017 aufgearbeitet (Isolate in Abb. 4 und 5 zu sehen). Zur Bestätigung der Spezies der nachgewiesenen Isolate wurde MALDI-TOF MS und eine Multiplex-PCR nach Bubert et al. (1999) verwendet.



Abbildung 4: Kolonien von *L. monocytogenes* auf Palcam-Agar

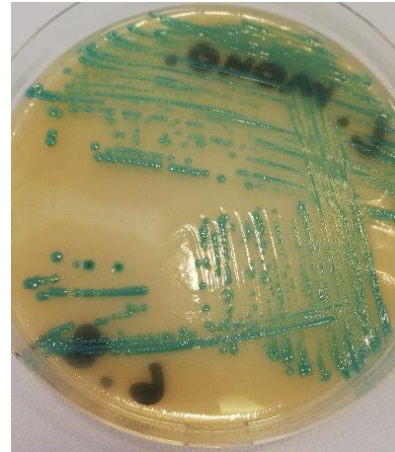


Abbildung 5: Kolonien von *L. monocytogenes* auf ALOA-Agar

Durch eine Kooperation mit dem EU-Projekt *ListAdapt* wurden die nachgewiesenen *Listeria*-Isolate im ANSES-Institut, EU-Referenzlabor für *L. monocytogenes* in Paris, subtypisiert, um das zoonotische Potential der Isolate und die Verwandtschaft der Isolate untereinander bestimmen zu können. Diese Untersuchung wurde mittels der state-of-the-art-Methode der Ganzgenomsequenzierung (Whole Genome Sequencing, WGS) durchgeführt. Zum Vergleich und Kontrolle der Ergebnisse ergab sich die Möglichkeit, diese Untersuchung nochmals am Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) in Berlin durchzuführen. Durch in diesem Bereich erfahrene Wissenschaftlerinnen am BfR konnten wir zusätzliches Know-how für die Auswertung dieser Ergebnisse gewinnen. Die STs konnten durch Verwendung des Servers des Center for Genomic Epidemiology (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/MLST/>) aus den WGS-Daten identifiziert werden (Larsen et al. 2012).

Zusätzlich wurde nach Ablauf der Projektlaufzeit auf Kosten der FU Berlin in Kooperation mit dem Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen eine Bestimmung der Minimalen Hemmkonzentration (MHK) für alle *L. monocytogenes*-Isolate durchgeführt, um eine Aussage über die Resistenzlage dieser Isolate zu erhalten. Dazu wurden die in Kryoröhrchen eingefrorenen Isolate über Nacht auf Blutplatten angezüchtet und Kolonien von dieser Platte mit einem sterilen Tupfer entnommen, um sie in NaCl-Lösung (2 ml) zu suspendieren. Um mit der korrekten Menge an Bakterienkolonien zu arbeiten, wurde die optische Dichte mittels eines Photometers gemessen und gegebenenfalls auf McFarland 0,5 angepasst. Diese Suspension wurde anschließend in 12ml Müller-Hinton-II-Medium, das zuvor mit Pferdeblut versetzt wurde, eingemischt und mit einer Mehrkanalpipette auf Mikrotiterplatten, bereits versetzt mit aufsteigenden Konzentrationen verschiedener Antibiotika, zu 50 µl je

Probenslot aufgetragen. Diese Mikrotiterplatten wurden gemeinsam mit Blutplatten, auf denen je 100 µl der Bakteriensuspension zur Bestimmung der Zellzahl ausgespatelt wurde, für 24h bei 35°C bebrütet und vorhandenes Bakterienwachstum anschließend abgelesen sowie die gewachsenen Kolonien auf den Blutplatten gezählt. Für die Auswertung der Ergebnisse wurden die in den Guidelines der *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) definierten klinischen Grenzwerte für die Antibiotika Penicillin, Ampicillin und Trimethoprim/Sulfamethoxazol, für die eigene klinische Grenzwerte für Listerien definiert sind, herangezogen, für die restlichen Antibiotika wurden die Grenzwerte für *Staphylococci* verwendet. Anhand des WGS wurden für alle Isolate die genotypischen Resistenzen durch Ermittlung des Vorhandenseins bereits bekannter Resistenzgene gegenüber Antibiotika und Desinfektionsmittel dargestellt. Hierfür wurde die ResFinder Datenbank ([https://cge.cbs.dtu.dk /services/ResFinder/](https://cge.cbs.dtu.dk/services/ResFinder/)) des Center for Genomic Epidemiology, Version 4.1 (Bortolaia et al. 2020) genutzt.

3. Ergebnisse

Die Nachweishäufigkeit von *L. monocytogenes* in den Tonsillenproben der 200 Mastschweine aus Nordwestdeutschland am Schlachthof 1 war mit **1% (2/200)** sehr gering (Studie a). Diese positiven Proben stammen von Tieren, für deren Schlachtkörper als auch für deren Organe im Zuge der Fleischuntersuchung keine pathologischen Befunde dokumentiert wurden. In den dazugehörigen Kotproben konnte kein Nachweis von *L. monocytogenes* (**0%, 0/200**) erbracht werden (Studie a). In sieben (**9%**) der 77 untersuchten Umgebungsproben konnte *L. monocytogenes* nachgewiesen werden (Studie b). Die Proben wurden in der Schlachthalle (N=39), in der Zerlegung (N=11), von Stiefelprofilen von Mitarbeitern (N=15) und in der Verarbeitung (N=12) entnommen. Zwei der 39 Proben aus der Schlachthalle (Bodenabfluss), zwei der 11 Proben aus der Zerlegung (Förderband und Arbeitsgerät), eine Probe der Stiefelprofile sowie zwei Proben aus der Verarbeitung (Oberfläche und Fleischwolf) brachten ein auf *L. monocytogenes* positives Ergebnis. Außerdem konnten auch andere, apathogene Spezies des Genus *Listeria*, *L. innocua* und *L. welshimeri*, isoliert werden.

Nachfolgend sind die gesamten Ergebnisse der untersuchten Proben aus Nordwestdeutschland aufgelistet (a + b):

- 4 auf *Listeria* spp. positive von 200 Kotproben:
 - 4 *L. innocua*

- 3 auf *Listeria* spp. positive von 200 Tonsillenproben:
 - 2 *L. monocytogenes*
 - 1 *L. innocua*

- 10 auf *Listeria* spp. positive von 77 Umgebungsproben:
 - 7 *L. monocytogenes* (2x Bodenabfluss in der Schlachthalle, 1x Stiefelprofil Mitarbeiter*, 2x Förderband bzw. Arbeitsgerät in der Zerlegung, 2x Oberfläche* bzw. Fleischwolf* in der Verarbeitung)
 - 4 *L. welshimeri* (2x Fleischwolf* bzw. 1x Oberfläche in Verarbeitung, 1x Stiefelprofil von Mitarbeiter*)
 - 2 *L. innocua* (1x Oberfläche in Verarbeitung*, 1x Stiefelprofil von Mitarbeiter)

*In diesen Proben wurden jeweils zwei verschiedene Listerienspezies isoliert.

Bei den Umgebungsproben wurden in drei Proben jeweils zwei verschiedene Listerienspezies isoliert, was die Differenz aus der Anzahl der positiven Proben und den gefundenen Isolaten erklärt.

Aufgrund des nicht vorhandenen Nachweises von *L. monocytogenes* in den untersuchten Kotproben am Schlachthof 1 und des hohen Kosten- und Zeitaufwands wurde im weiteren Projekt auf die Untersuchung von Kotproben verzichtet und auf die Untersuchung von Tonsillenproben fokussiert. Am Schlachthof 2 wiesen die Tonsillenproben der aus ostdeutschen Betrieben stammenden Tiere mit 5 auf *L. monocytogenes* positiven Proben (**5/180**) eine geringfügig höhere Prävalenz von rund **3%** auf (Studie c).

Nachfolgend sind die Ergebnisse der untersuchten Proben von ostdeutschen Mastschweinen aufgelistet (c):

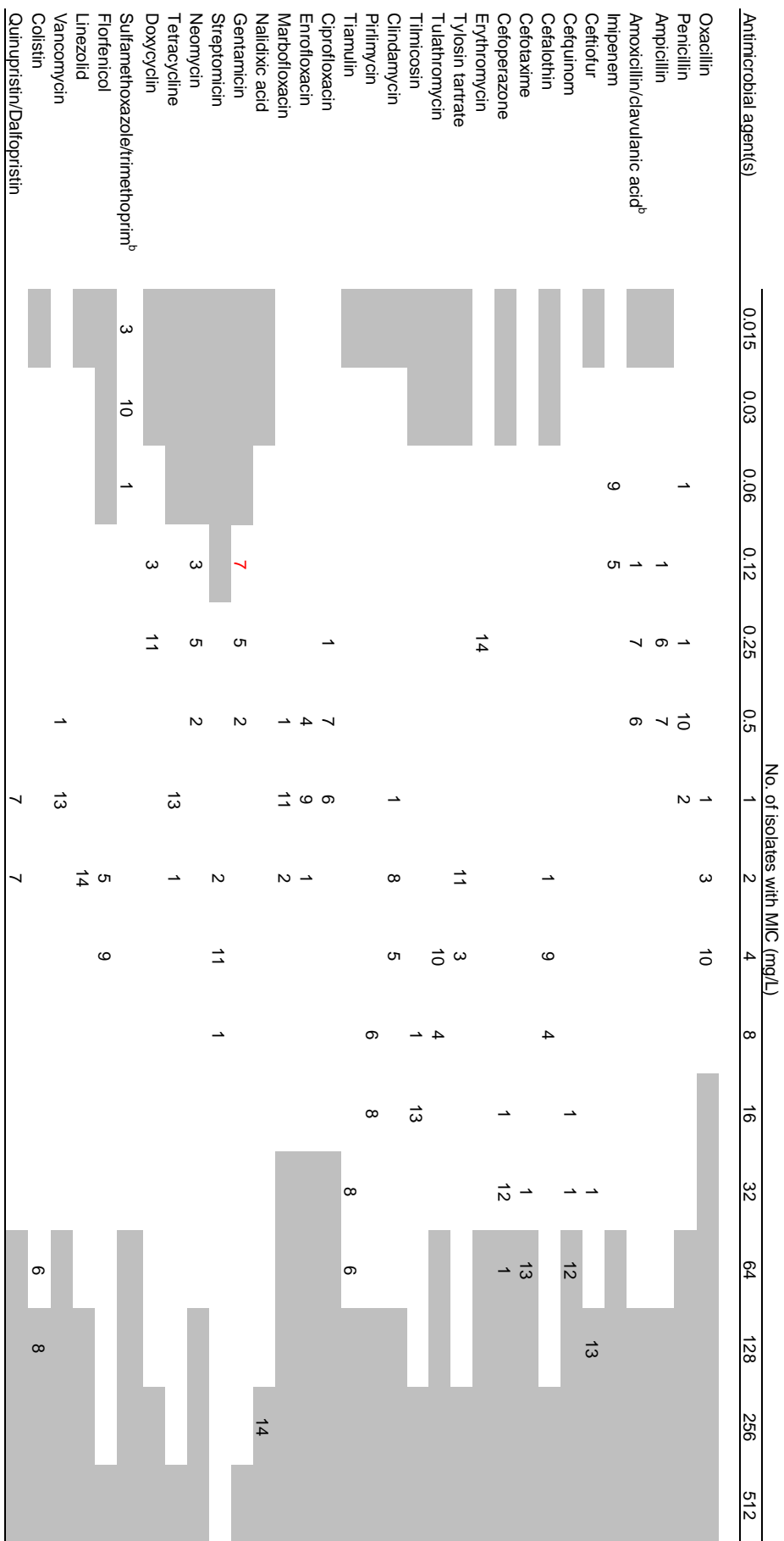
- 8 auf *Listeria* spp. positive von 180 Tonsillenproben:
 - 5 *L. monocytogenes*
 - 3 *L. innocua*

Die am Schlachthof 2 entnommenen 50 Tonsillenproben von Tieren aus nordwestdeutschen Betrieben (Studie d) brachten kein auf *L. monocytogenes* positives Ergebnis (**0%, 0/50**). Nur in einer Probe wurde *L. innocua* gefunden.

d)

- 1 auf *Listeria* spp. positive von 50 Tonsillenproben:
 - 1 *L. innocua*

Die Ergebnisse der MHK-Bestimmung der insgesamt 14 *L. monocytogenes*-Isolate, die in Tonsillen- und Schlachthofumgebungsproben nachgewiesen wurden, sind in Tabelle 1 dargestellt. Auf der y-Achse sind alle Antibiotika, für die ein MHK-Wert ermittelt wurde, abgebildet. Die x-Achse stellt die Anzahl an Isolaten dar, deren Grenzwerte in jenem abgebildeten Bereich (mg/L) liegen. Die grau hinterlegten Bereiche liegen außerhalb des getesteten Bereichs.



^aClassification as susceptible, intermediate or resistant, where applicable breakpoints were available in the CLSI document VET08, 4th Edition
^b amoxicillin and trimethoprim MIC values were used for the combinations amoxicillin/clavulanic acid (2:1) and sulfamethoxazole/trimethoprim (19:1), respectively
 CLSI breakpoints for the classification as susceptible, intermediate (if available) and resistant are indicated by black vertical lines

Tabelle 1: MHK-Werte von ausgewählten antibiotischen Wirkstoffen für 14 *L. monocytogenes*-Isolate

Für Listerien existieren nur für Penicillin, Ampicillin und Trimethoprim/Sulfamethoxazol vom CLSI vorgegebene klinische Werte, ab wann eine Resistenz vorliegt, da diese Wirkstoffe die größte Relevanz für die Behandlung von Listeriose im humanmedizinischen Bereich haben. Für die wichtigsten im humanmedizinischen Bereich gegen Listeriose verwendeten Wirkstoffe sind in Tabelle 2 die Resistenzmuster der getesteten 14 *L. monocytogenes*-Isolate abgebildet. Alle 14 Isolate werden als empfindlich gegenüber diesen Antibiotika eingestuft.

Antimicrobial agent(s)	Susceptible		Intermediate		Resistant	
	no.	%	no.	%	no.	%
Penicillin	14	100	0	0	0	0
Ampicillin	14	100	0	0	0	0
Erythromycin	14	100	0	0	0	0
Gentamicin	14	100	0	0	0	0
Sulfamethoxazole/trimethoprim	14	100	0	0	0	0
Vancomycin	14	100	0	0	0	0

Tabelle 2: Antimikrobielle Resistenzmuster der getesteten 14 *L. monocytogenes*-Isolate gegenüber den humanmedizinisch relevanten antimikrobiellen Wirkstoffen

Susceptible=empfindlich, *Intermediate*=intermediär, *Resistant*=resistent

Die Ergebnisse der Ganzgenomsequenzierung (WGS) lassen auf den Grad der Verwandtschaft der Listerien rückschließen und mit welchem Kompartiment der Lebensmittelkette diese Isolate hauptsächlich assoziiert werden. Dafür können die Clonalen Komplextypen (CC) mit jenen in der Literatur verglichen werden und so Aussagen über den wahrscheinlichen Ursprung des betreffenden Isolats gemacht werden. Außerdem geben die Resistenzgene Aufschluss über genotypische Resistenzen. In Tabelle 3 sind die Ergebnisse für die *L. monocytogenes*-Isolate abgebildet, in Tabelle 4 folgen jene für Isolate anderer Listerienspezies.

Ursprung	Linie	MLST Klonaler Komplex (CC)	Resistenzgene
Tonsille Schwein (SH1)	II	11	fosX
Tonsille Schwein (SH1)	II	37	fosX
Tonsille Schwein (SH2)	I	6	fosX
Tonsille Schwein (SH2)	II	31	fosX
Tonsille Schwein (SH2)	I	6	fosX
Tonsille Schwein (SH2)	II	7	fosX
Tonsille Schwein (SH2)	II	18	fosX
Bodenabfluss (Schlachthalle in SH1)	II	412	fosX
Schuhsohle Gummistiefel (Schlachthalle in SH1)	II	9	fosX
Bodenabfluss (Schlachthalle in SH1)	II	412	fosX
Förderband (Zerlegung in SH1)	I	5	fosX

Arbeitsgerät (Zerlegung in SH1)	I	5	fosX
Fleischwolf (Verarbeitung in SH1)	I	6	fosX
Oberfläche in Füllerei (Verarbeitung in SH1)	II	20	fosX

Tabelle 3: Charakteristika der *L. monocytogenes*- Isolate anhand der Ergebnisse der Ganzgenomsequenzierung (WGS); SH=Schlachthof

Ursprung	Spezies	Sequenztyp (ST)	Resistenzgene
Darminhalt Schwein (SH1)	<i>L. innocua</i>	603	tet(S)
Darminhalt Schwein (SH1)	<i>L. innocua</i>	1087	k.n.
Darminhalt Schwein (SH1)	<i>L. innocua</i>	637	tet(M)
Darminhalt Schwein (SH1)	<i>L. innocua</i>	2156	k.n.
Tonsille Schwein (SH1)	<i>L. innocua</i>	2694	k.n.
Tonsille Schwein (SH2)	<i>L. innocua</i>	637	dfrG, tet(M), ant(6)-Ia (ant6, aadE)
Tonsille Schwein (SH2)	<i>L. innocua</i>	2694	k.n.
Tonsille Schwein (SH2)	<i>L. innocua</i>	1087	k.n.
Tonsille Schwein (SH2)	<i>L. innocua</i>	637	Ant(6)-Ia (ant6, aadE), mph(N), tet(M)
Fleischwolf (Verarbeitung in SH1)	<i>L. welshimeri</i>	unbekannt	k.n.
Oberfläche in Füllerei (Verarbeitung in SH1)	<i>L. welshimeri</i>	unbekannt	k.n.
Schuhsohle Gummistiefel (Schlachthalle in SH1)	<i>L. innocua</i>	532	ClpL
Schuhsohle Gummistiefel (Schlachthalle in SH1)	<i>L. welshimeri</i>	1084	k.n.
Fleischwolf (Verarbeitung in SH1)	<i>L. welshimeri</i>	unbekannt	k.n.
Oberfläche in Füllerei (Verarbeitung in SH1)	<i>L. innocua</i>	1482	k.n.

Tabelle 4: Charakteristika der Isolate anderer *Listerienspezies* anhand der Ergebnisse der Ganzgenomsequenzierung (WGS); SH=Schlachthof; k.n.=keine nachweisbar

Der klonale Komplex (CC) bzw. Sequenztyp (ST) gibt Auskunft über den Verwandtschaftsgrad der Isolate. Außerdem kann die Häufigkeit, mit der die jeweiligen CCs für humane Krankheitsausbrüche verantwortlich gemacht werden, festgestellt werden und somit ihre humanpathogene Relevanz beurteilt werden. Der CC 6 wurde hier in 2 Tonsillenproben von Schweinen unterschiedlicher Mastbetriebe sowie in einer Probe vom Fleischwolf nachgewiesen. Der CC 412 wurde aus demselben Bodenabfluss nach 8 Wochen erneut isoliert. Beide in der Zerlegung gefundenen Isolate entsprechen dem CC 5. *L. innocua* ST 637 wurde aus 3 Proben von Schweinen unterschiedlicher Mastbetriebe isoliert. Der ST 1087 und ST 2694 wurden jeweils in Proben von

Schweinen unterschiedlicher Herkunft gefunden. Alle anderen CCs und STs kamen in dieser Studie jeweils nur einmal vor.

In Tabelle 3 ist ersichtlich, dass alle *L. monocytogenes*-Isolate nur das Resistenzgen *fosX* aufweisen, das für eine Fosfomycinresistenz, die bei *L. monocytogenes* natürlicherweise vorkommt, kodiert. Fünf *L. innocua*-Isolate (siehe Tabelle 4) weisen mindestens ein Resistenzgen auf, zwei davon, beide ST 637, jeweils 3 Resistenzgene. Die Gene *tet(S)* und *tet(M)* kodieren für eine Resistenz gegenüber Tetracyclinen. Das Gen *dfpG* kodiert für eine Trimethoprimresistenz, *ant(6)-Ia* für eine Streptomycinresistenz und *mph(N)* für eine Erythromycinresistenz. Das Gen *ClpL* sorgt dafür, dass das Bakterium weniger empfindlich gegenüber Hitzeeinwirkung ist und so höhere Temperaturen als andere dieser Spezies überleben kann. Keines der in dieser Studie gefundenen 4 Isolate der Spezies *L. welshimeri* weist ein Resistenzgen auf.

4. Diskussion

In der Literatur sind verschiedene Studien zu Prävalenzen von *L. monocytogenes* in Mastschweinen zu finden, die zu verschiedensten Ergebnissen kommen. Diese reichen von 0% Nachweisrate in Kotproben in einer spanischen Studie (Esteban et al. 2009) bis zu einer Nachweisrate von 45% in Tonsillenproben in einer frühen Studie aus Jugoslawien (Bunčić 1991). Der direkte Vergleich dieser Studienergebnisse ist kritisch zu betrachten, da unterschiedliche Voraussetzungen und Studienparameter vorliegen. Zum Beispiel wurden in jener Studie aus Jugoslawien ein Teil der Schweine mit Silage gefüttert – einem Futtermittel, in dem Listerien häufig vorkommen (Stein et al. 2018). Bei diesen Tieren lag eine höhere Prävalenz an *L. monocytogenes* vor. Ebenso zeigten in einer finnischen Studie (Hellström et al. 2010) der Teil der Schweine, die einem biologischen Haltungssystem entstammten, eine höhere Nachweisrate als Schweine aus konventionellen Haltungssystemen. Dies weist auf einen Einfluss der Fütterung und der Haltungsumgebung auf die Infektion von Schweinen mit diesem Erreger hin. Außerdem zeigen diese Ergebnisse eine höhere Nachweishäufigkeit dieses Erregers in den Tonsillen verglichen mit jener im Kot, was mit den Ergebnissen unserer eigenen Studie übereinstimmt. Dies lässt Kot trotz seiner einfachen Beschaffbarkeit als Untersuchungsmaterial zur Erfassung der Betriebsituation bezogen auf die Zahl der Carriertiere als ungeeignet erscheinen.

In nachfolgender Abbildung sind die eigenen Ergebnisse (1-3) und im Vergleich dazu jene von bisherigen Prävalenzstudien von *L. monocytogenes* in Mastschweinen (4-13) der Aktualität nach grafisch dargestellt:

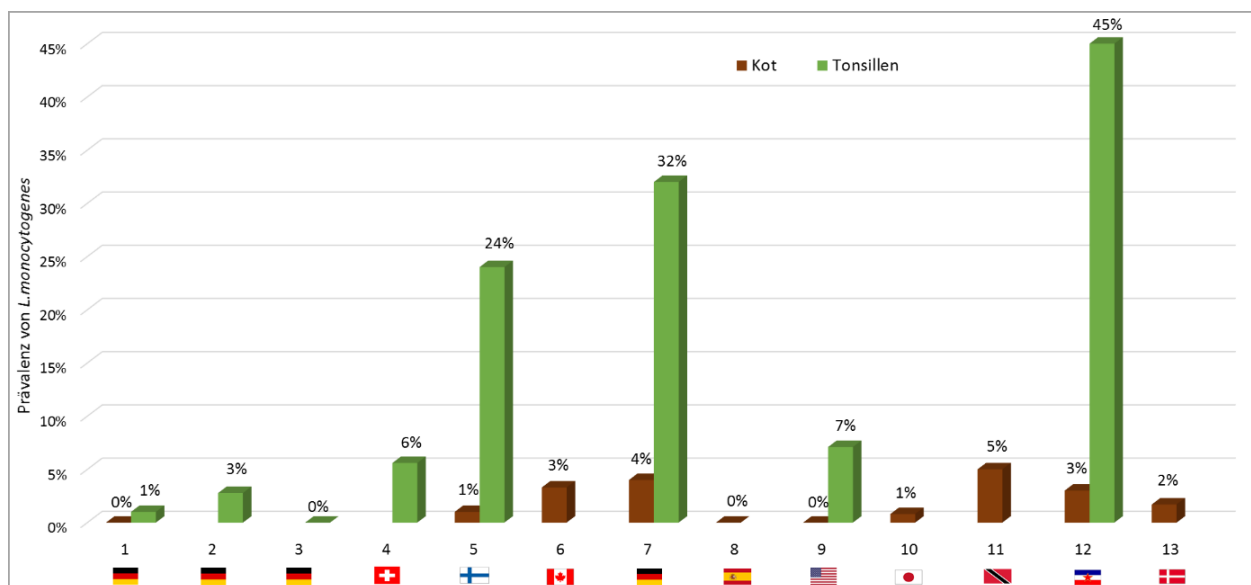


Abbildung 6: Eigene Studie im Vergleich zu bisher durchgeführten Prävalenzstudien von *L. monocytogenes* im Mastschwein

Legende der x-Achsenbeschriftung:

- 1) Schlachthof 1 (Tiere aus Nordwestdeutschland)
- 2) Schlachthof 2 (Tiere aus Ostdeutschland)
- 3) Schlachthof 2 (Tiere aus Nordwestdeutschland)
- 4) (Sarno et al. 2016) (Schweiz)
- 5) (Hellström et al. 2010) (Finnland)
- 6) (Farzan et al. 2010) (Kanada)
- 7) (Fredriksson-Ahomaa et al. 2009) (Süddeutschland)
- 8) (Esteban et al. 2009) (Spanien)
- 9) (Kanugantiet al. 2002) (USA)
- 10) (Iida et al. 1998) (Japan)
- 11) (Adesiyun und Krishnan 1995) (Trinidad)
- 12) (Bunčić 1991) (Jugoslawien)
- 13) (Skovgaard und Nørrung 1989) (Dänemark)

Auch unsere eigenen Ergebnisse zeigen, dass Tonsillen von Schlachtschweinen ein Reservoir für *L. monocytogenes* sein können. Der Erreger wurde jedoch in dieser Studie häufiger in der Umgebung nachgewiesen. Somit ist aufgrund dieser Ergebnisse davon auszugehen, dass ein geringes Risiko vorhanden ist, dass der Erreger über den Weg der Kreuzkontamination von den Tonsillen auf das Fleisch gelangt. Die höhere Nachweisrate in der Umgebung im Gegensatz zur sehr geringen Nachweisrate in den Tonsillen wirft die Frage auf, ob sich jene Pathogene aus den Tonsillen entlang der Lebensmittelkette anreichern oder diese durch eine andere Eintragsquelle in die Schlacht- und Verarbeitungsumgebung gelangen. Die Ergebnisse der Ganzgenomsequenzierung zeigen genetisch diverse Listerien-Isolate innerhalb ihrer Spezies, die sowohl in den Mastschweinen als auch in der Schlacht- und Verarbeitungsumgebung vorkommen. In Proben vom Schwein aus Schlachthof 1 wurden *L. monocytogenes* mit den CCs 11 und 37, aus Schlachthof 2 die CCs 6, 7, 18 und 31 gefunden. Aus Umgebungsproben der Schlachthalle in Schlachthof 1 wurden *L. monocytogenes* mit den CCs 9 und 412, aus der Zerlegung der CC 5 und aus der Verarbeitung die CCs 6 und 20 isoliert. Maury et al. (2016) assoziierten CC 6 stark mit humanen klinischen Erkrankungen, CC 9 stark mit Lebensmitteln, jedoch nur selten mit klinischen Erkrankungen. Die restlichen hier erwähnten sind als intermediäre Klone beschrieben, die aus beiden Segmenten ähnlich häufig isoliert werden. Obwohl sich diese Studie aus Isolaten aus Frankreich zusammensetzt, können ihre Erkenntnisse für unsere Beurteilung herangezogen werden, da eine vergleichbare klonale Verteilung in verschiedenen Ländern und Regionen der Welt angenommen wird (Chenal-Francoise et al. 2011). Dass der hochvirulente CC 6 auch aus Tonsillen vom Schwein isoliert wurde, zeigt, dass humanrelevante Isolate auch in Schweinen vorkommen und so in die Lebensmittelkette eingetragen werden können. Dieser wurde außerdem im Fleischwolf – einem Gerät mit direktem Lebensmittelkontakt - gefunden, was ein

hohes Risiko einer humanen Infektion über hierin produzierte Produkte in sich bergen kann. Auch alle anderen in dieser Studie aus Tonsillenproben isolierten Klone sind potenziell krankheitsauslösend und ein Eintrag in die Lebensmittelkette sollte verhindert werden.

Am Schlachthof 1, wo die Tierkörper inklusive der Schädel mit einer Handsäge gespalten und im direkten Anschluss die Tonsillenproben entnommen wurden, kann nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden, dass es durch die Säge zu einer Kreuzkontamination der Tonsillen mit Listerien kam, obwohl die von den Sägen mit sterilen Schwämmen entnommenen Proben ausschließlich negative Ergebnisse auf *L. monocytogenes* brachten. Am Schlachthof 2 dagegen war die Verschleppung von Listerien auf nachfolgende Tierkörper und dessen Tonsillen äußerst unwahrscheinlich, da die automatisierten Sägen, die die Tierkörper inklusive Schädel spalten, nach jedem Tierkörper mit heißem Wasser gereinigt werden.

Der CC9, der an einem Gummistiefel eines Mitarbeiters gefunden wurde, gilt als hypovirulent (Maury et al. 2016) und gut an die Schlacht- und Verarbeitungsumgebung angepasst, da er häufig in Fleisch verarbeitenden Betrieben sowie in deren fertigen Produkten nachgewiesen wird, jedoch nicht im pre-harvest Bereich (Félix et al. 2018).

Im Bodenabfluss in der Schlachthalle in Schlachthof 1 konnte nach 8 Wochen erneut ein genetisch identisches *L. monocytogenes*-Isolat nachgewiesen werden, was auf eine Persistenz in dieser Nische hinweisen könnte. Bodenabflüsse bleiben über lange Zeit nass bzw. feucht und sind generell schwierig zu reinigen und desinfizieren. Es könnte sich auch um einen zufälligen Wiederholungsfund handeln. In beiden Fällen aber – zufällige Neubesiedelung mit einem genetisch identischen *L. monocytogenes*-Stamm oder persistierender Erreger - sollten Bodenabflüsse als Problembereiche im Schlachtbetrieb erkannt und gezielten Reinigungs- und Desinfektionsprozessen sowie Kontrolluntersuchungen unterzogen werden.

Auffallend an den Ergebnissen der aus Ostdeutschland stammenden Mastschweine (Schlachthof 2) ist, dass 3 der auf *L. monocytogenes* positiven Proben sowie die 3 auf *L. innocua* positiven Proben jeweils von Tieren desselben Betriebes stammen. Dies lässt eine innerbetriebliche Übertragung von im Bestand vorhandenen Listerien auf andere Tiere oder eine gemeinsame Infektionsquelle vermuten, der Vergleich der CCs und STs zeigt jedoch, dass die Isolate eines Betriebes jeweils keine Verwandtschaft miteinander aufweisen. Es scheinen also auf den betreffenden Herkunftsbetrieben mehrere Eintragsquellen vorzuliegen. Somit lässt diese Häufung verschiedener Listerien auf Hygienefehler in Bezug auf Listerienkontaminationen in diesen Betrieben schließen.

Beloeil et al. (2003) identifizierten auf Betriebsebene die Flüssigfütterung während der Mastperiode und fehlende Hygienemaßnahmen wie z.B. keine Desinfektion von Stiefeln von Mitarbeitern und kein Vorhandensein eines Umkleieraumes vor dem

Eingang zu den Mastabteilen als Risikofaktoren für eine Infektion der Mastschweine mit *L. monocytogenes*. Somit scheinen die Einhaltung von Hygienemaßnahmen im Mastbetrieb und die Verwendung eines Trockenfütterungssystems wirksame Methoden zur Verminderung des Eintragsrisikos von *L. monocytogenes* in die Lebensmittelkette darzustellen.

Die Ergebnisse der MHK-Wert-Bestimmung der *L. monocytogenes*-Isolate geben Auskunft über die phänotypische Resistenzlage dieser Bakterienisolate gegenüber den wichtigsten humanmedizinisch verwendeten Antibiotika. Die Ergebnisse zeigen eine relativ vergleichbare Resistenzlage bei allen Isolaten, es fällt kein Isolat mit außergewöhnlichen Resistenzen auf. Die alleinige Gabe von einem β -Lactam-Antibiotikum (Penicillin oder Ampicillin) sowie deren kombinierte Gabe mit Gentamicin bilden die Therapie erster Wahl bei Patienten, die an Listeriose erkrankt sind. Bei Patienten mit vorliegender Allergie gegen β -Lactam-Antibiotika findet Trimethoprim/Sulfamethoxazol Anwendung. Zur Behandlung schwangerer Frauen mit Listeriose oder bei Vorliegen einer Bakteriämie werden auch Erythromycin oder Vancomycin eingesetzt (Charpentier und Courvalin 1999). Für diese Wirkstoffe bestehen keine Resistenzen, die bei Behandlung einer durch diese Isolate alleinig ausgelösten Erkrankung eine erfolgreiche antimikrobielle Behandlung verhindern würden. Auch die genotypische Resistenzuntersuchung der *L. monocytogenes*-Isolate dieser Studie zeigte, dass keine außergewöhnlichen Resistenzen vorliegen. Für *L. monocytogenes* besteht eine intrinsische Resistenz gegenüber Fosfomycin (Troxler et al. 2000), was das Vorhandensein des Gens *fosX* in allen gefundenen *L. monocytogenes*-Isolaten erklärt. Es wurden keine weiteren Resistenzgene gefunden. Da über die Speziesgrenzen hinweg Resistenzgene über Plasmide zwischen Bakterien, so auch Listerien, ausgetauscht und weitergegeben werden können (Poyart-Salmeron et al. 1990), können Resistenzgene auch in apathogenen Spezies wie *L. innocua* und *L. welshimeri* von Bedeutung sein. In 4 *L. innocua*-Isolaten dieser Studie wurden Resistenzgene gegenüber Antibiotika gefunden, 2 Isolate vom ST 637 besitzen sogar jeweils 3 Resistenzgene. Jedes Isolat hiervon weist ein Resistenzgen gegenüber Tetracyclinen auf (*tet(S)* bzw. *tet(M)*), 2 Isolate zusätzlich gegenüber Trimethoprim (*dfrG*) und Streptomycin (*ant(6)-Ia*), sowie Erythromycin (*mph(N)*) und Streptomycin (*ant(6)-Ia*). Besonders eine Resistenz gegenüber Trimethoprim oder Erythromycin kann bei der Behandlung einer Listeriose ein Problem darstellen, wenn es durch Plasmide auf ein pathogenes Bakterium übertragen wird. Der ST 637, der am häufigsten Resistenzgene aufwies, wurde jeweils in Proben vom Mastschwein gefunden. In einem anderen Isolat (ST 532), das aus einer Probe der Gummistiefelsohle eines Mitarbeiters isoliert wurde, wurde ein Gen, das Hitzeresistenz kodiert (*ClpL*), gefunden, was in der Lebensmittelproduktion, insbesondere -dekontaminierung, zum Problem werden könnte. Vor allem der Fakt, dass in 3 der wenigen positiven Proben jeweils verschiedene Listerienspezies bzw. 3 Mastbetriebe, aus denen positive Tiere

identifiziert wurden, jeweils mehrere nicht miteinander verwandte Listerienisolate aufwiesen, also verschiedene Listerien räumlich eng beieinander leben, erleichtert den Austausch von Resistenzgenen zwischen unterschiedlichen Listerienspezies sowie -isolaten.

Mit diesem Projekt wird ein weiterer Beitrag geleistet zum Wissen über das Risiko der Einschleppung von *L. monocytogenes* und dessen Resistenzen in die Lebensmittelkette, das von konventionell gehaltenen und geschlachteten Mastschweinen ausgeht. Es bringt erste Erkenntnisse zu Nachweishäufigkeiten von *L. monocytogenes* in konventionell gehaltenen Mastschweinen in den Regionen Nordwest- und Ostdeutschland, in denen unterschiedliche Betriebsstrukturen vorliegen (Nordwestdeutschland: zahlreiche, mittelgroße Betriebe in geringem Abstand zueinander; Ostdeutschland: wenige, sehr große Betriebe mit größerem Abstand zueinander). Zudem wird die Wichtigkeit der Einhaltung der Hygiene im Haltungsbetrieb sowie im Schlachtprozess verdeutlicht.

5. Bedeutung für die Praxis

Die Ergebnisse zeigen, dass der Eintrag von *L. monocytogenes* nicht nur über die Umwelt, sondern auch über das Schlachttier selbst in den Lebensmittel produzierenden Bereich möglich sein kann und bei einer Listerienproblematik im Schlachtbetrieb neben dem Eintrag über die Umwelt als Eintragsquelle mit in Betracht gezogen werden sollte. Die Hygiene im Schlachtprozess spielt bei diesem Eintragsweg über das Tier eine große Rolle. Vor allem die Entfernung der Tonsillen, welche Träger von Listerien und anderen potentiell pathogenen Keimen sein können, sollte unter strenger Einhaltung der Schlachthygienevorgaben erfolgen, um einen Kontakt der Tonsillen mit als Lebensmittel dienenden Teilen des Schlachtkörpers zu vermeiden. Das Zersägen des Tierkörpers inklusive des Kopfes birgt hier ein spezielles Risiko. So können durch den Kontakt des Sägeblattes mit den Tonsillen eventuell vorhandene Pathogene wie auch Listerien von den Tonsillen auf andere Organe bzw. nachfolgende Tierkörper übertragen bzw. in die Schlachtungsumgebung verbracht werden. Auch apathogene Listerienspezies wie *L. innocua* bergen ein Risiko, auch wenn sie selbst zu keiner Erkrankung führen können. So besteht die Möglichkeit, dass sie z.B. Plasmid getragene Resistenzgene gegenüber Antibiotika oder Desinfektionsmaßnahmen an pathogene Bakterien weitergeben, sodass eine etwaige Behandlung bzw. Dekontaminierung von Lebensmitteln erschwert wird.

Wenn an einem Schweineschlachtbetrieb eine Häufung von *Listeria*-Nachweisen vorliegt, ohne dass die Eintragsquelle ermittelt werden kann, ist eine Reihenuntersuchung der anliefernden Mastbestände am Schlachthof eine Möglichkeit, um die Eintragsquelle aufzuspüren. Hierzu ist die Untersuchung der Tonsillen der Schlachttiere am sinnvollsten. In der vorliegenden Studie wird die Erfahrung bereits vorhandener Untersuchungen (siehe Abbildung 6) bestätigt, dass *L. monocytogenes* im Kot oder Darminhalt der Schlachttiere seltener bzw. wie in der vorliegenden Studie nicht nachgewiesen werden und somit eine schlechtere Aussagekraft als bei Untersuchung der Tonsillen besteht. Eine aussagekräftige Reihenuntersuchung im Schlachthof sollte demnach aus einer Untersuchung der im Schlachtprozess steril entnommenen Tonsillen bestehen. Da die Ergebnisse zeigen, dass Listerien in einer bestandsweisen Häufung vorkommen können, könnten diese positiven Bestände mit einer solchen Reihenuntersuchung identifiziert werden und so eine logistische Schlachtung und/oder eine Ursachenforschung und Problembeseitigung im Mastbetrieb eingeleitet werden. Wie Beloeil et al. (2003) zeigten, ist das Futter die häufigste Ursache eines Eintrags von Listerien in einen Mastschweinebestand. Eine Untersuchung des Futters sowie der Leitungen mit Folge einer Optimierung der Reinigungsreinigung oder der Umstellung von Nass- auf Trockenfütterung wären mögliche Handlungsansätze. Die Reinigung der Leitungen für das Nassfutter sollten laut den Autoren der Studie wenn überhaupt nur mit Wasser gespült werden. Auf eine

Desinfektion sollte verzichtet werden, um die kompetitive Keimflora nicht zu zerstören und eine Abschwemmung von Biofilmen in die Tröge zu verhindern. Auch die allgemeine landwirtschaftliche Betriebshygiene kann eine wichtige Rolle spielen und sollte überprüft werden. Ein Vorhandensein eines abgetrennten Umkleideraumes und das Desinfizieren oder Wechseln der Stiefel der Mitarbeiter vermindern das Risiko eines Eintrags von Listerien in den Mastbestand ebenso wie eine ausreichend lange Leerstehzeit der Stallbuchten nach Mastende, um eine effektive Reinigung und Desinfektion vor Neueinstellung zu gewährleisten.

6. Literaturverzeichnis

- Adesiyun, A. A.; Krishnan, C. (1995): Occurrence of *Yersinia enterocolitica* O:3, *Listeria monocytogenes* O:4 and thermophilic *Campylobacter* spp. in slaughter pigs and carcasses in Trinidad. In: *Food Microbiology* 12, S. 99–107. DOI: 10.1016/S0740-0020(95)80085-9.
- Allerberger, Franz; Huhulescu, Steliana (2015): Pregnancy related listeriosis: treatment and control. In: *Expert review of anti-infective therapy* 13 (3), S. 395–403. DOI: 10.1586/14787210.2015.1003809.
- Beloil, Pierre-Alexandre; Chauvin, Claire; Toquin, Marie-Thérèse; Fablet, Christelle; Le Nôtre, Yolaine; Salvat, Gilles et al. (2003): *Listeria monocytogenes* contamination of finishing pigs: an exploratory epidemiological survey in France. In: *Veterinary research* 34 (6), S. 737–748. DOI: 10.1051/vetres:2003031.
- Borch, Elisabeth; Nesbakken, Truls; Christensen, Hardy (1996): Hazard identification in swine slaughter with respect to foodborne bacteria. In: *International Journal of Food Microbiology* 30 (1-2), S. 9–25. DOI: 10.1016/0168-1605(96)00988-9.
- Bortolaia, Valeria; Kaas, Rolf S.; Ruppe, Etienne; Roberts, Marilyn C.; Schwarz, Stefan; Cattoir, Vincent et al. (2020): ResFinder 4.0 for predictions of phenotypes from genotypes. In: *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 75 (12), S. 3491–3500. DOI: 10.1093/jac/dkaa345.
- Bubert, Andreas; Hein, Inge; Rauch, Marcus; Lehner, Angelika; Yoon, ByoungSu; Goebel, Werner; Wagner, Martin (1999): Detection and Differentiation of *Listeria* spp. by a Single Reaction Based on Multiplex PCR. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 65 (10), S. 4688–4692. Online verfügbar unter <https://aem.asm.org/content/aem/65/10/4688.full.pdf>.
- Bunčić, Sava (1991): The incidence of *Listeria monocytogenes* in slaughtered animals, in meat, and in meat products in Yugoslavia. In: *International Journal of Food Microbiology* 12 (2-3), S. 173–180. DOI: 10.1016/0168-1605(91)90067-Y.
- Charpentier, Emmanuelle; Courvalin, Patrice (1999): Antibiotic Resistance in *Listeria* spp. In: *Antimicrob. Agents Chemother.* 43 (9), S. 2103–2108. DOI: 10.1128/AAC.43.9.2103.
- Chenal-Francisque, Viviane; Lopez, Jodie; Cantinelli, Thomas; Caro, Valerie; Tran, Coralie; Leclercq, Alexandre et al. (2011): Worldwide distribution of major clones of *Listeria monocytogenes*. In: *Emerging infectious diseases* 17 (6), S. 1110–1112. DOI: 10.3201/eid1706.101778.
- Esteban, Jon I.; Oporto, Beatriz; Aduriz, Gorka; Juste, Ramón A.; Hurtado, Ana (2009): Faecal shedding and strain diversity of *Listeria monocytogenes* in healthy ruminants and swine in Northern Spain. In: *BMC veterinary research* 5 (2). DOI: 10.1186/1746-6148-5-2.
- Farzan, A.; Friendship, R. M.; Cook, A.; Pollari, F. (2010): Occurrence of *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* O157 and *Listeria monocytogenes* in swine. In: *Zoonoses and public health* 57 (6), S. 388–396. DOI: 10.1111/j.1863-2378.2009.01248.x.
- Félix, Benjamin; Feurer, Carole; Maillet, Aurelien; Guillier, Laurent; Boscher, Evelyne; Kerouanton, Annaëlle et al. (2018): Population Genetic Structure of *Listeria monocytogenes* Strains Isolated From the Pig and Pork Production Chain in France. In: *Frontiers in microbiology* 9, S. 684. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00684.
- Fredriksson-Ahomaa, Maria; Gerhardt, Matthias; Stolle, Andreas (2009): High bacterial contamination of pig tonsils at slaughter. In: *Meat science* 83 (2), S. 334–336. DOI: 10.1016/j.meatsci.2009.06.004.
- Hellström, Sanna; Laukkanen, Riikka; Siekkinen, Kirsi-Maarit; Ranta, Jukka; Maijala, Riitta; Korkeala, Hannu (2010): *Listeria monocytogenes* contamination in pork can originate from farms. In: *Journal of Food Protection* 73 (4), S. 641–648. DOI: 10.4315/0362-028X-73.4.641.
- Iida, Takashi; Kanzaki, Masako; Nakama, Akiko; Kokubo, Yataro; Maruyama, Tsutomu; Kaneuchi, Choji (1998): Detection of *Listeria monocytogenes* in Humans, Animals and Foods. In: *Journal of Veterinary Medical Science* 60 (12), S. 1341–1343. DOI: 10.1292/jvms.60.1341.

- Kanuganti, Sreenivas R.; Wesley, Irene V.; Reddy, P. Gopal; McKean, James; Hurd, H. Scott (2002): Detection of *Listeria monocytogenes* in Pigs and Pork. In: *Journal of Food Protection* 65 (9), S. 1470–1474. DOI: 10.4315/0362-028X-65.9.1470.
- Larsen, Mette V.; Cosentino, Salvatore; Rasmussen, Simon; Friis, Carsten; Hasman, Henrik; Marvig, Rasmus Lykke et al. (2012): Multilocus sequence typing of total-genome-sequenced bacteria. In: *Journal of clinical microbiology* 50 (4), S. 1355–1361. DOI: 10.1128/JCM.06094-11.
- Maury, Mylène M.; Tsai, Yu-Huan; Charlier, Caroline; Touchon, Marie; Chenal-Francisque, Viviane; Leclercq, Alexandre et al. (2016): Uncovering *Listeria monocytogenes* hypervirulence by harnessing its biodiversity. In: *Nature genetics* 48 (3), S. 308–313. DOI: 10.1038/ng.3501.
- Poyart-Salmeron, Claire; Carlier, Cecile; Trieu-Cuot, Patrick; Courtieu, Andre-Louis; Courvalin, Patrice (1990): Transferable plasmid-mediated antibiotic resistance in *Listeria monocytogenes*. In: *The Lancet* 335 (8703), S. 1422–1426. DOI: 10.1016/0140-6736(90)91447-1.
- RKI (2019): Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2018, 2019.
- Sarno, Eleonora; Fierz, Lisa; Zweifel, Claudio; Tasara, Taurai; Stephan, Roger (2016): Characteristics of *Listeria monocytogenes* isolated from tonsils of slaughtered fattening pigs in Switzerland. In: *J. Verbr. Lebensm.* 11 (1), S. 19–23. DOI: 10.1007/s00003-015-0974-4.
- Skovgaard, Niels; Nørrung, Birgit (1989): The incidence of *Listeria* spp. in faeces of Danish pigs and in minced pork meat. In: *International Journal of Food Microbiology* 8 (1), S. 59–63. DOI: 10.1016/0168-1605(89)90080-9.
- Stein, Heiko; Stessl, Beatrix; Brunthaler, Rene; Loncaric, Igor; Weissenböck, Herbert; Ruczizka, Ursula et al. (2018): Listeriosis in fattening pigs caused by poor quality silage - a case report. In: *BMC veterinary research* 14 (1), S. 362. DOI: 10.1186/s12917-018-1687-6.
- Troxler, R.; von Graevenitz, A.; Funke, G.; Wiedemann, B.; Stock, I. (2000): Natural antibiotic susceptibility of *Listeria* species: *L. grayi*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. monocytogenes*, *L. seeligeri* and *L. welshimeri* strains. In: *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 6 (10), S. 525–535. DOI: 10.1046/j.1469-0691.2000.00168.x.
- Wallmann, Jürgen; Bode, Christoph; Bender, Alice; Heberer, Thomas (2018): Abgabemengenerfassung von Antibiotika in Deutschland 2017. In: *Deutsches Tierärzteblatt* 66 (9), S. 1238–1247.

7. Liste der in Bearbeitung befindlichen Qualifikationsarbeiten

Die Dissertationsschrift „Untersuchung zum Eintrag von *Listeria monocytogenes* in die Lebensmittelkette von Schlachtschweinen“ von Verena Oswaldi befindet sich in Bearbeitung.

8. Geplante Fachpublikationen

Die Publikation mit dem Titel „Slaughter pigs as carrier of *Listeria monocytogenes* in Germany“ wurde in der Zeitschrift *Journal of Consumer Protection and Food Safety* veröffentlicht (<https://doi.org/10.1007/s00003-021-01322-4>). Eine 2. Fachpublikation, die die Ergebnisse der Ganzgenomsequenzierung sowie der MHK-Bestimmung beinhaltet, ist derzeit in Arbeit.

9. Liste der Fachbeiträge auf Fachkonferenzen

Poster:

Oswaldi, V.; Dzierzon, J.; Thieme, S.; Merle, R.; Meemken, D. (2019):
The entry of *Listeria monocytogenes* into the food chain via slaughter pigs.
Zoonoses 2019 - International Symposium on Zoonoses Research
Berlin – 16.10.-18.10.2019.

In: Zoonoses 2019 - International Symposium on Zoonoses Research, Joint meeting of the National Research Platform for Zoonoses and the Research Network Zoonotic Infectious Diseases, Program and Abstracts – German Research Plattform for Zoonoses (Hrsg.)
Berlin, S. 113

Vorträge:

Oswaldi, V.; Dzierzon, J.; Merle, R.; Thieme, S.; Meemken, D. (2019):
Eintrag von *Listeria monocytogenes* in die Lebensmittelkette über das Schlachtschwein.
60. Arbeitstagung des Arbeitsgebiets Lebensmittelsicherheit und Verbraucherschutz
Garmisch-Partenkirchen – 24.09.-27.09.2019.

In: Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft. 60. Arbeitstagung des Arbeitsgebiets
Lebensmittelsicherheit und Verbraucherschutz. 24.-27. September 2019 in Garmisch-Partenkirchen
Verlag der DVG Service GmbH, Gießen; 60, S. 189–190
ISBN: 978-3-86345-492-0

Oswaldi, V.; Dzierzon, J.; Merle, R.; Thieme, S.; Meemken, D. (2019):
The entry of *Listeria monocytogenes* into the food chain via slaughter pigs.

13th SafePork 2019. One Health - Tear down interdisciplinary walls

Berlin – 26.08.-29.08.2019.

In: 13th SafePork 2019: One Health - Tear down interdisciplinary walls: Proceedings – Safepork-Conference (Hrsg.)

Berlin: MCI Deutschland GmbH, S. 109

ISBN: 978-3-00-063507-6

www.safepork-conference.com/fileadmin/user_upload/MAIN-dateien/web_safepork.pdf

Oswaldi, V.; Dzierzon, J.; Merle, R.; Thieme, S.; Meemken, D. (2019):

Eintrag von *Listeria monocytogenes* in die Lebensmittelkette über das Schlachtschwein.

19. Fachtagung für Fleisch- und Geflügelfleischhygiene

Berlin – 05.03.-06.03.2019.

In: 19. Fachtagung für Fleisch- und Geflügelfleischhygiene, Abstracts – BfR (Hrsg.)

Berlin. BfR Abstracts, S. 25–26

ISBN: 978-3-00-061932-8

10. Erklärung zur Einhaltung der Ausgaben- und Zeitplanung

Das zugeteilte Budget wurde eingehalten, die getätigten Ausgaben waren für die Durchführung des Projektes notwendig und angemessen. Die praktischen Arbeiten wurden bis auf die extern durchgeführte Ganzgenomsequenzierung im vorgesehenen Zeitraum erfüllt.