



Rohes Poulet / Cephalosporin resistente Enterobakterien

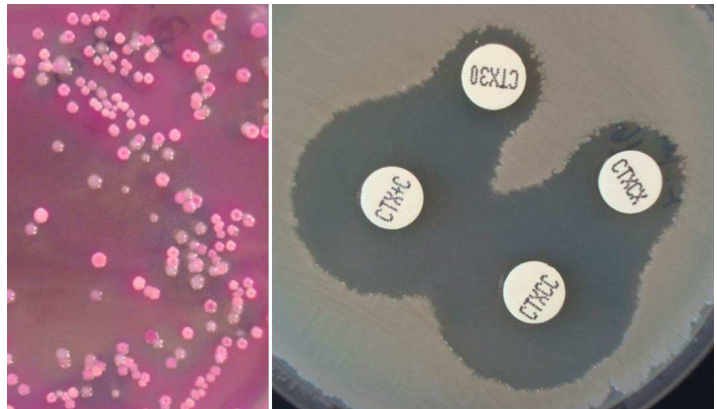
Anzahl untersuchter Pouletproben: 10

Anzahl Pouletproben mit cephalosporin resistenten Enterobakterien: 9

Ausgangslage

MRSA, EHEC O104:H4 und ESBL sind sind Akronyme für methicillinresistente *S. aureus* (MRSA) und gegen β -Laktame¹ resistente Enterobakterien wie *E. coli* EHEC O104:H4² und ESBL- (extended-spectrum- β -lactamase) -produzierende Enterobakterien. Grund für die grosse Medienpräsenz ist das zunehmende Auftreten von antibiotikaresistenten, speziell multiresistenten Bakterien in Zusammenhang mit schwer therapierbaren Infektionen.

Als mögliche Ursachen für das vermehrte Auftreten von Antibiotikaresistenzen werden ein übermässiger Einsatz von Antibiotika in der Human- und Tiermedizin wie auch in der Lebensmittelproduktion (Tierhaltung, Aquakulturen) angenommen. Die Bildung von Multiresistenzen wird durch die Eigenschaft der Bakterien begünstigt, Gene - wie Antibiotikaresistenzgene - durch horizontalen Gentransfer gegenseitig weitergeben zu können. Für die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen genügt somit jeglicher Kontakt mit Bakterien, die Resistenzgene tragen, sei es direkt über eine Infektion oder via Nahrungsaufnahme. In letzterem Fall kommen die mit dem Lebensmittel aufgenommenen, resistenten Bakterien mit der natürlichen Darmflora in Kontakt, wodurch ein Austausch von Resistenzgenen stattfinden kann³. Die Abschätzung der Wahrscheinlichkeit für eine derartige Übertragung von Antibiotikaresistenzen ist zur Zeit Gegenstand von Studien und Risikobewertungen⁴.



Untersuchungsziel

Mit der vorliegenden Studie sollte das Auftreten von antibiotikaresistenten β -Laktamasen produzierenden Enterobakterien (Familie der Enterobacteriaceae) aus rohem Pouletfleisch untersucht werden. Die Isolate wurden auf Resistenzen analysiert, welche in Enterobakterien als humane Infektionserreger wiederholt nachgewiesen wurden⁵.

Gesetzliche Grundlagen

Gesetzlichen Vorgaben für das Auftreten von Antibiotikaresistenzen in Lebensmitteln sind bis heute weder in der Schweiz noch in der EU in Kraft. Die EU (European Food Safety Authority, EFSA) erklärte 2001 die Verringerung der Verwendung von Antibiotika und das Überwachen von Antibiotikaresistenzen in Lebensmittel-assoziierten Bakterien zum Ziel einer Strategie zur

¹ β -Laktam-Antibiotika wirken durch Hemmung der Zellwandsynthese bei Bakterien.

² RKI (2011). Epidemiologisches Bulletin 35: 325-329.

³ Salyers, A. A. et al. (2004). Trends Microbiol 12(9): 412-416; Sorum, H. and T. M. L'Abée-Lund (2002). Int J Food Microbiol 78(1-2): 43-56.

⁴ Bundesinstitut für Risikobewertung (2012) 002; EFSA Panel on Biological Hazards, (2011). EFSA J 9(8): 2322.

⁵ Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (2008). 1. Auflage. BVL, Berlin.

Erhöhung der Lebensmittelsicherheit. Der Bundesrat hat das Bundesamt für Gesundheit BAG⁶ 2013 beauftragt, zusammen mit den Bundesämtern BVET, BLW und BAFU ein Konzept für ein nationales Programm zu Antibiotikaresistenzen auszuarbeiten⁷.

Probenbeschreibung

Die zehn untersuchten Pouletproben setzten sich zusammen aus einem ganzen Poulet, zwei Unterschenkel, zwei Flügel, zwei Pouletbrust, zwei Geschnietzeltes, ein Poulet-Innenfilet, ein Poulet-Sticks. Die Proben stammten hälftig aus der Schweiz und dem Ausland (Frankreich drei, Ungarn zwei), wovon zwei aus dem Offenverkauf und acht von vorverpackter Ware. Aus den zehn Pouletfleischproben wurden insgesamt 40 Bakterienisolate der Familie der Enterobakterien isoliert. Bei den gewonnenen Enterobakterienisolate handelte es sich um *Escherichia coli* (32 Isolate), *Hafnia alvei* (sechs) und zwei nicht näher bestimmte Enterobakterienarten.

E. coli und *H. alvei* sind natürliche Besiedler des Darms von Säugetieren (wie auch dem Menschen) und Vögeln, können jedoch auch zu Infektionen in ihrem Wirtsorganismus führen. Speziell *E. coli*-bedingte Erkrankungen gehören zu den häufigsten Infektionsursachen bei Geflügel. Aufgrund ihres Vorkommens sind beide Keime auch als Hygieneindikatoren in Lebensmitteln bekannt.

Prüfverfahren

Aufarbeitung der Pouletproben und Isolierung der Enterobakterien erfolgte durch Homogenisieren von Pouletfleisch in Peptonwasser mittels Stomacher und anschliessendem Ausstreichen auf Selektivmedium (Cefotaxim- bzw. Ceftazidim-enthaltender McConkey Agar). Diese Anreicherung begünstigt das Wachstum von ESBL-bildenden Enterobakterien. Von jeder Probe wurden - falls vorhanden - je drei Isolate gewonnen und analysiert. Die isolierten Enterobakterien wurden mittels MALDI-TOF Massenspektrometrie auf Speziesebene identifiziert.

Agardiffusionstest (Disk-Assay) zum Nachweis von ESBL und AmpC β -Laktamasen: Die Untersuchungen und Beurteilungen erfolgten gemäss SOP529 und nach den Richtlinien NCCLS⁸. Jedes zu untersuchende Bakterienisolat wurde als homogener Rasen auf einer Agarplatte ausgesät. Darauf wurden Papierblättchen (Disks) gelegt, die mit einem Antibiotikum oder einem Antibiotikum-Inhibitor-Gemisch imprägniert waren (Cefotaxim CTX alleine, CTX + Clavulansäure (ESBL-Inhibitor), CTX + Cloxacillin (AmpC-Inhibitor) und CTX + Clavulansäure + Cloxacillin; ESBL + AmpC Screen ID Kit, Fa. Rosco, Alere). Die Grösse des nach dem Bebrüten entstehenden Hemmhofs um die Disks wurde gemessen. Sie ist ein Mass für die Empfindlichkeit oder Resistenz.

Nachweis von Antibiotikaresistenzgenen mittels DNA-Microarray: Von einzelnen Isolaten wurde die DNA isoliert und mit dem Identibac AMR-ve ArrayTube™ Assay (Fa. Alere) auf das Vorhandensein von Antibiotikaresistenzgenen in Gram-negativen Bakterien untersucht.

Ergebnisse

Aus 9 der 10 Pouletproben konnten Enterobakterien isoliert werden. Von den 40 Enterobakterienisolaten wiesen 35 eine oder mehrere Antibiotikaresistenzen auf:

- Bei 19 Isolaten wurde eine ESBL-vermittelte Resistenz nachgewiesen, in 15 Fällen bestätigt durch den Nachweis eines dafür verantwortlichen Gens der bla_{CTX}-Genfamilie
- 13 Isolate wiesen eine Resistenz via β -Laktamasen des Typs AmpC auf, die den Resistenzgenen der Genfamilien bla_{CMY} (sieben Isolate) und bla_{ACC} (ein) zugeordnet werden konnte. In fünf Isolaten fehlte der eindeutige genotypische Nachweis.
- In zwei Isolaten wurden beide β -Laktamasen-Resistenzmechanismen festgestellt. Die nachgewiesenen Resistenzgene gehörten zu den Genfamilien bla_{CTX}, bla_{FOX} und bla_{CMY}.

⁶ Bundesamt für Veterinärwesen BVET, Bundesamt für Landwirtschaft BLW, Bundesamt für Umwelt BAFU

⁷ <http://www.bag.admin.ch/themen/medizin/14226/index.html?lang=de>

⁸ "Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Test: M100-S21" Vol. 30 des Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, Wayne, Pa.).

- Sechs Isolate konnten keinem der beiden Resistenztyp zugeordnet werden, wobei ein Isolat davon weiterhin gegen die als Vorselektion verwendeten β -Laktam-Antibiotika resistent war. Bei den im Bestätigungstest nicht mehr resistenten Enterobakterienisolaten handelte es sich in allen Fällen um *H. alvei*.

Schlussfolgerungen

- Mit einer Ausnahme konnten aus allen Pouletfleischproben *cephalosporin* resistente Enterobakterien isoliert werden. Die identifizierten Arten *E. coli* und *H. alvei* sind bekannt als Lebensmittelkontaminanten: Es handelt sich dabei um Darmbakterien menschlichen und tierischen Ursprungs, die pathogen bzw. opportunistisch pathogen sein können.
- Einheimisches Poulet und Importware unterschieden sich nicht signifikant in Bezug auf das Auftreten resistenter Enterobakterienisolate.
- Von den isolierten Enterobakterien waren 88 % resistent gegenüber den als Selektivmedium eingesetzten β -Laktam-Antibiotika Cefotaxim und Ceftazidim. Diese Antibiotika gehören zu den sogenannten Breitspektrumcephalosporinen oder Cephalosporine der 3. Generation. Kommt es zu Infektionen mit Erregern dieses Resistenztyps, sind somit alle in diese und frühere Kategorien fallenden Antibiotika wirkungslos. Unter diesen resistenten Enterobakterienisolaten befanden sich ESBL-bildende *E. coli* (51%), AmpC-Typ β -Laktamase-produzierende *E. coli* (31%) und *H. alvei* (3%) sowie zwei *E.coli*-Isolate (6%), welche sowohl ESBL- als auch AmpC-Typ β -Laktamase-Bildner waren.
- Diese und eine weiterführende genetische Analyse⁹ zeigte, dass 8 der 10 Proben mehr als ein genetisch unterschiedliches Breitspektrumcephalosporinen-resistentes Isolat enthielten.
- Wie häufig bei ESBL- und AmpC-Typ β -Laktamase-bildenden Bakterien waren auch die untersuchten Isolate gegen weitere Antibiotikaklassen resistent⁹, sodass es sich um multiresistente Isolate handelt.
- Obwohl das Risiko der Übertragung einer Antibiotikaresistenz über die Nahrungsaufnahme als sehr viel geringer einzustufen ist als über Infektionen, wurde diese Möglichkeit in Studien aufgezeigt³. Bedeutend ist in diesem Zusammenhang, dass gerade die gefundenen Resistenzgene zu denjenigen gehören, die sich auf Plasmiden (mobile genetische Elemente) befinden und so leichter auf andere Bakterien übertragen werden können.
- Da zum jetzigen Zeitpunkt gesetzlichen Vorgaben für das Auftreten von Antibiotikaresistenzen in Lebensmitteln fehlen, sind die Proben vollzugsrechtlich nicht zu beanstanden.
- Die Untersuchung von antibiotikaresistenten Bakterien aus Lebensmitteln wird als Schwerpunktstätigkeit fortgesetzt und auf weitere Bakterienfamilien und Matrizes ausgeweitet.

⁹ H. Abgottspon*, R. Stephan*, C. Bagutti, P. Brodmann, H. Hächler*, K. Zurfluh*. Characteristics of extended-spectrum cephalosporin resistant *Escherichia coli* isolated from Swiss and imported poultry meat. 2013. Journal of Food Protection. (in Druck) *Institut für Lebensmittelsicherheit und -Hygiene, VetSuisse Fakultät Universität Zürich