

Zoonosen und Lebensmittelsicherheit

BfR-Symposium am 2. und 3. November 2009

Impressum

Tagungsband

Zoonosen und Lebensmittelsicherheit
BfR-Symposium am 2. und 3. November 2009

Bundesinstitut für Risikobewertung
Pressestelle
Thielallee 88-92
14195 Berlin

Berlin 2009
119 Seiten

Druck: Umschlag, Inhalt und buchbinderische Verarbeitung
BfR-Hausdruckerei Dahlem

Inhalt**Vorwort**

Kurzfassungen der Beiträge	7
Einführung in die Thematik	7
Ziele und Schwerpunkte der europäischen und nationalen Zoonosenprävention und -bekämpfung aus Sicht des BMELV B. Kühnle, Berlin	7
Zoonosenbekämpfung und das „One World, One Health“- Konzept K. Schwabenbauer, Rom	9
Prävalenzsenkungen im Hinblick auf eine integrierte Strategie zur Reduzierung des Zoonoseerregerintrags in die Lebensmittelkette R. Kamphausen, Düsseldorf	13
Epidemiologie, Monitoring, Kontrolle	15
Ausbreitung von Erregern in Tierbeständen F. J. Conraths, Wusterhausen	15
Monitoring von <i>Salmonella</i> in der Lebensmittelkette – Ausgangspunkt für Reduktionsstrategien A. Käsbohrer, Berlin	19
Gefahrenpotential von häufig in Broilern und Schweinen vorkommenden <i>Salmonella</i> Serovaren B. Malorny, Berlin	25
Risiko orientierte Untersuchungs- und Überwachungssysteme für Lebensmittel L. Ellerbroek, Berlin	29
Mikrobiologie I	33
Prädiktive Mikrobiologie – verfügbare Ressourcen sowie Möglichkeiten und Grenzen ihrer Anwendung M. Filter, Berlin	33
Bekämpfung von <i>Campylobacter</i> - aktuelle Entwicklung und Forschungsansätze T. Alter, Berlin	37
Epidemiologie und Nachweis enteropathogener Yersinien M. Frederiksson-Ahoomaa, München	43
Mikrobiologie II	47
Was lernen wir aus der molekularen Epidemiologie von <i>Escherichia coli</i>? L. Wieler, Berlin	47
Bewertung von Shiga (Vero) Toxin-produzierenden <i>Escherichia coli</i> aus Wildfleischproben als potenzielle Krankheitserreger für den Menschen L. Beutin, Berlin	51
Pathogene <i>Vibrio</i> spp. in Fischen und Fischereierzeugnissen: Bedeutung, Nachweis und Vorkommen E. Bartelt, Cuxhaven	57

Untersuchungen der Überlebensfähigkeit von Brucellen in Lebens- und Futtermitteln	
A. Falenski, Berlin	61
Mikrobiologie III	65
<i>Mycobacterium paratuberculosis</i> in der Lebensmittelkette	
P. Hammer, Kiel	65
<i>Listeria monocytogenes</i> – a re-emerging phenomenon?	
M. Wagner, Wien	71
Vorkommen von <i>Trichinella</i> in Deutschland: Ansätze für eine risikobasierte Untersuchung beim Schwein	
K. Nöckler, Berlin	73
Lebensmittelbedingte Ausbrüche	75
Lebensmittelbedingte Infektionen durch Zoonoseerreger	
K. Stark, Berlin	75
Lebensmittel als Ursache von Ausbrüchen durch Zoonoseerreger	
H. Wichmann-Schauer, Berlin	79
Aufklärung eines Ausbruchs von lebensmittelbedingten <i>Salmonella</i> Panama-Infektionen in Thüringen 2008	
H. Palla, Erfurt	83
Antibiotikaaanwendung und -resistenz	87
Consumption of Antibiotics in Livestock in Germany: Feasibility and Outlook	
R. Merle	87
Resistenzmonitoring in der Veterinärmedizin als Teil von DART	
B.-A. Tenhagen, Berlin	93
Aktuelle Daten zur Antibiotikaresistenz im humanen Bereich vom Projekt Antibiotika-Resistenz-Surveillance in Deutschland (ARS)	
T. Eckmanns, Berlin	99
Diversität der laMRSA in der Lebensmittelkette	
A. Fetsch, Berlin	103
Antibiotikaresistenz und Erregerbekämpfung	107
Resistenzsituation bei <i>Salmonella</i>-Isolaten vom Schwein in Deutschland	
A. Schroeter, Berlin	107
Molekularer Nachweis von Beta-Laktamasen (ESBLs und AmpC) bei <i>Salmonella</i> Isolaten	
B. Guerra, Berlin	111
Einsatz von Bakteriophagen zur Bekämpfung von <i>Campylobacter</i> in der Lebensmittelkette	
S. Hertwig, Berlin	113
Dekontamination in der Lebensmittelkette	
G. Klein, Hannover	117

Vorwort

Sehr geehrte Kollegen und Kolleginnen,
sehr geehrte Gäste,

wir heißen Sie im BfR recht herzlich zum Symposium
„Zoonosen und Lebensmittelsicherheit“ willkommen!

Auch in diesem Jahr wird die Bedeutung von Zoonoseerregern durch eine besondere Vielfalt nationaler und internationaler Tagungen deutlich gemacht.

Neben vielen BfR-Fachveranstaltungen im Range von Fachgesprächen oder Workshops zu einzelnen Zoonosethemen, möchte das BfR die Gelegenheit ergreifen, künftig in regelmäßigen Abständen ein Symposium zum Stand der Zoonosenforschung und deren Bedeutung für die Lebensmittelsicherheit anzubieten.

In den nächsten zwei Tagen wird Ihnen mit 30 Vorträgen eine Übersicht über bedeutsame und aktuelle Fragestellungen und Bewertungen zu Zoonosen im Kontext der Lebensmittelsicherheit vorgestellt. Hierzu konnten wir eine Vielzahl von externen Experten und Expertinnen von Universitäten und anderen Forschungseinrichtungen aus dem deutschsprachigen Raum gewinnen, aber auch engagierte Mitarbeiter und Mitarbeiterinnen aus dem BfR und anderen Bundes- und Landesinstituten werden ihre aktuellen Daten präsentieren.

Einerseits deuten sinkende Fallzahlen für Salmonelloseerkrankungen beim Menschen in Deutschland und Europa an, dass Bekämpfungs- und Hygienemaßnahmen in der Primärproduktion ihre positive Wirkung zeigen. Auf der anderen Seite steigen seit einigen Jahren die Fallzahlen für Campylobakteriose eher an. Die Gründe dafür gilt es zu erforschen. Im Lichte eines zunehmend globalen Handels von Lebensmitteln, verstärkter Reisetätigkeit und damit verbunden auch illegalen Einfuhren von Lebensmitteln aus entfernten Regionen sowie legalem aber auch illegalem Import von exotischen Tieren nimmt die Bedeutung der Zoonosen zu. Nicht zuletzt führen messbare Auswirkungen des Klimawandels direkt oder indirekt über neue Vektoren zu einer ständigen und teils verstärkten Auseinandersetzung mit den Erregern. Die eben genannten Faktoren und Wege sind in unseren Breiten auch nicht unerheblich an der Entstehung und Verbreitung von Mehrfach-Resistenzen gegenüber antibakteriellen Wirkstoffen verantwortlich.

Nicht unerwähnt bleiben soll, dass auch der Verbraucher zukünftig noch stärker durch verbesserte Aufklärung über Hygienemaßnahmen in die Verhütung von alimentär-bedingten zoonotischen Erkrankungen eingebunden werden muss. Hierzu sollten alle zuständigen Institutionen sowie Verbände verstärkt die Grundprinzipien guter hygienischer Praxis „unter das Volk“ bringen.

Dem aufmerksamen Betrachter wird nicht entgangen sein, dass auf diesem Symposium virale Erreger in Zusammenhang mit Lebensmitteln scheinbar keine Erwähnung finden. Der Grund dafür liegt in einer Aufteilung bzw. Konzentrierung dieses Schwerpunkts in einem eigenständigen BfR-Symposium, welches sich unmittelbar an diese Tagung am 4. November im BfR anschließt.

Alle Mitarbeiter der Abteilung Biologische Sicherheit des BfR wünschen Ihnen eine erfolgreiche Tagung und angenehme Tage in Berlin.

Bernd Appel
Leiter der Abteilung 4, BfR

Kurzfassungen der Beiträge

Einführung in die Thematik

Ziele und Schwerpunkte der europäischen und nationalen Zoonosenprävention und -bekämpfung aus Sicht des BMELV

Bernhard Kühnle

Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV), Bonn

Kontrolle und Prävention von Zoonosen in der Lebensmittelkette gehören auf europäischer und auf nationaler Ebene zu den wichtigsten Maßnahmen zur Wahrung und Verbesserung der Lebensmittelsicherheit. Basis für erfolgreiche Strategien in diesem Bereich ist es, Risiken frühzeitig zu erkennen, zu quantifizieren und auf der Basis wissenschaftlicher Erkenntnisse zu bewerten.

Für die Beurteilung möglicher Maßnahmen sind grundsätzliche Überlegungen anzustellen: Ziel jeglicher Zoonosenpolitik des nationalen und europäischen Gesetzgebers im Bereich der Lebensmittelsicherheit ist es, den Verpflichtungen der Charta der Grundrechte der Europäischen Union vom 14. Dezember 2007 gerecht zu werden. Hier heißt es in Artikel 38: Die Europäische Union stellt ein hohes Verbraucherschutzniveau sicher. Dabei sollten die Regelungen und Strategien zur Zoonosenkontrolle und –prävention jedoch auch ökonomische Gegebenheiten und die Grenzen des für die beteiligte Wirtschaft aktuell Machbaren und Erreichbaren in geeigneter Weise berücksichtigen. Klarer Auftrag an das politische Management ist es daher, sich für verhältnismäßige Lösungen einzusetzen.

Vielfältige Einflussfaktoren und Steuerungsgrößen, die die Entwicklung und Ausbreitung von Zoonosen in der Lebensmittelkette beeinflussen, stellen an das Risikomanagement der Zoonosenproblematik sehr komplexe Anforderungen. Im Sinne einer pragmatischen und zweckorientierten Strategie hat der europäische Gesetzgeber mit der Verordnung (EG) Nr. 2160/2003 deshalb zunächst Maßnahmen und Konzepte gestaltet, die auf die Senkung der Prävalenz der wichtigsten Salmonellenserovare bei den wichtigen Nutztierkategorien Geflügel und Schwein abzielen. An der konsequenten Durchsetzung dieses Ziels arbeiten Europäische Kommission und Mitgliedstaaten gemeinsam.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass die Europäische Gemeinschaft und Deutschland im Hinblick auf die Kontrolle und Prävention von Salmonellen in der Lebensmittelkette über ein geschlossenes Regelwerk und Maßnahmen und Instrumente zur Durchsetzung der Regelungen verfügen. Erste Erfolge dieses Konzeptes sind erkennbar.

Neben den Maßnahmen zur Salmonellenprävention spielt auch die Erfassung und Bewertung zahlreicher weiterer Krankheitserreger bei der Erarbeitung umfassender Zoonosenpräventionsstrategien eine bedeutende Rolle. Aus Sicht des BMELV sollten insbesondere die Erreger *Campylobacter*, lebensmittelrelevante Viren, Listerien und Vibrionen in Zukunft vermehrt untersucht und geprüft werden. Ebenso ist das Thema der Antibiotikaresistenz von großer Bedeutung. Die Bundesregierung hat dieser Bedeutung Rechnung getragen durch die Etablierung einer umfassenden Deutschen Antibiotikaresistenzstrategie (DART), in der Maßnahmen und Ziele formuliert worden sind, die die Humanmedizin und den Bereich der Tierhaltung, der Lebensmittelkette und der tierärztlichen Tätigkeit betreffen. Ein Beispiel für die Untersuchung des Themenkomplexes der Antibiotikaresistenzen ist die Bearbeitung der MRSA-Problematik.

Zoonosenbekämpfung und das „One World, One Health“- Konzept

Karin Schwabenbauer, Katinka de Balogh und Jan Slingenbergh
Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Animal Health Service
Rom, Italien

Zusammenfassung

Beim Menschen sind 60 % aller Infektionen, und 75 % aller neuartigen Infektionen Zoonosen oder haben ihren Ursprung in der Tierwelt (Taylor et al., 2001). Prominente Beispiele sind HIV/AIDS, Ebola, Nipah, BSE, SARS, und Aviäre Influenza H5N1. Aber auch alte Bekannte wie Brucellose, Tuberkulose, und Tollwut sind in einigen Regionen der Welt wieder auf dem Vormarsch (WHO, 2009).

Zoonosen entstehen an den Schnittstellen der Lebensräume von Tier (Haus- und Wildtieren) und Mensch. Diese verschiedenen „Biotope“ sind in den letzten Jahrzehnten immer näher aneinander gerückt, so dass sie sich stärker überlappen.

Zoonosen stellen die Gesundheitssysteme vor besondere Herausforderungen. Die „siloartige“ Unterteilung der Disziplinen – Humanmedizin, Tiermedizin und Ökologie – stellt eine besondere Hürde bei der Früherkennung und Bekämpfung von Zoonosen dar, insbesondere wenn die klinische Symptomatik beim Tier milde oder unspezifisch ist.

In diesem Papier sollen einige Ursachen für die aktuelle Entwicklung beleuchtet und Vorschläge für Lösungsansätze unterbreitet werden.

Einführung

Das Konzept einer einheitlichen Medizin (One World One Health) ist nicht neu. Es wurde bereits von Calvin Schwabe (5) in den 80er Jahren des letzten Jahrhunderts propagiert. Der HPAI H5N1 Seuchenzug, aber auch SARS, haben diesem Konzept in jüngster Zeit Beachtung in der internationalen Diskussion beschert. Auf einer Internationalen Ministeriellen Konferenz in Sharm-el-Sheik (Ägypten) im Oktober 2008 haben sich die Teilnehmer auf ein von den Internationalen Institutionen, FAO, WHO, UNICEF, OIE, WB und UNSIC vorbereitetes Papier verständigt, das das One World One Health Konzept als Strategie der Zukunft bei der Bekämpfung von Zoonosen vorstellt (1). Auch die Europäische Kommission hat dieses Prinzip in einer aktuellen Öffentlichkeitskampagne aufgegriffen (3). Diese neueren Aktivitäten wurden ausgelöst durch immer häufiger auftretende neue Zoonosen, die spät erkannt viele Menschen in Mitleidenschaft ziehen können und hohe Kosten verursachen. Früherkennung bei den Tieren ist daher aus vielerlei Gründen anzustreben.

Faktoren für (neu)-auftretende Zoonosen

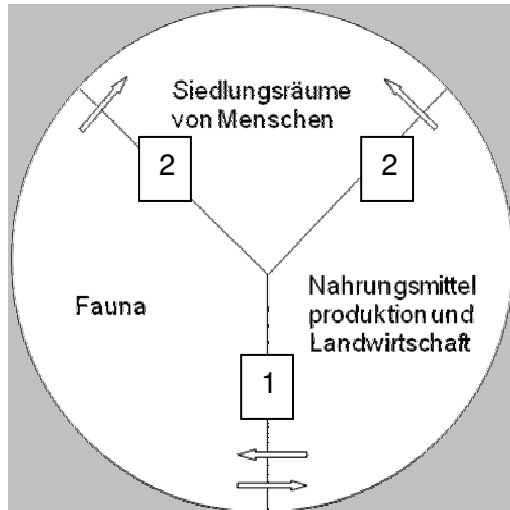
Folgende Faktoren begünstigen das Entstehen neuer Zoonosen:

- Eine wachsende Weltbevölkerung, insbesondere in den urbanen Zentren.
- Höhere Einkommen, verbunden mit einem zunehmenden Konsum tierischer Proteine in den sich entwickelnden Ökonomien des Südens.
- Intensivierung und Homogenisierung der Agrarproduktion, verbunden mit einer Veränderung der Agrar-Ökosysteme.
- Die Globalisierung von Handel und Reisen.

Diese Faktoren führen dazu, dass die Lebensräume von Menschen, Haustieren, und Fauna immer mehr enger aneinander rücken, wodurch ein Austausch von Pathogenen erleichtert wird (Abb. 1). Wenn es sich um neue Krankheiten handelt, werden diese meistens zunächst bei Menschen entdeckt, und es kann lange dauern, bis der Zusammenhang mit der Tierwelt entdeckt wird. So war es z.B. bei HIV/AIDS, Ebola, Nipah, aber auch bei BSE.

Durch den Klimawandel entstehen darüber hinaus neue Biotope für Vektoren, so dass heute das Auftreten von vektorieell übertragenen Zoonosen in neuen geographischen Regionen, wie z.B. Rift Tal Fieber in Europa, nicht mehr ausgeschlossen werden kann.

Abb. 1 Interaktionen zwischen den verschiedenen Ökosystemen (Slingenbergh, 2008)



1. Zwischen wildlebenden Tieren und landwirtschaftlichen Nutztieren werden Pathogenen entweder durch direkten Kontakt oder indirekt über Vektoren ausgetauscht

2. Infektionen des Menschen mit zoonotischen Erregern können auf direkten Kontakt mit infizierten Tieren, auf Vektorübertragung, oder auf den Verzehr kontaminierter Lebensmittel zurückgeführt werden

Die institutionellen Voraussetzungen

Um diesen neuen Herausforderungen effizient zu begegnen, ist ein multidisziplinärer Ansatz notwendig. Dies wird zunehmend berücksichtigt, wie z.B. in der von der Bundesregierung 2006 beschlossenen Forschungsvereinbarung zu Zoonosen (2). Auch in der von FAO, OIE und WHO errichteten gemeinsamen Plattform (GLEWS) mit dem erklärten Ziel, Frühwarn- und Frühreaktion der drei Organisationen bei Zoonosenausbrüchen zu verbessern (4), wird dieses Prinzip verfolgt. Auch die Arbeitsgruppen „Veterinary Public Health“ der WHO und FAO bemühen sich seit langem die Disziplinen zusammenzuführen. In Deutschland hat Zessin (2008) kürzlich die Diskussion zu dieser Thematik mit einem Artikel im Deutschen Tierärzteblatt angeschoben (8).

Die Zusammenarbeit mit den Umweltbehörden steckt dagegen noch in den Anfängen, wenn auch beim OIE schon lange eine Arbeitsgruppe „Wildlebende Tiere“ existiert und im Zuge der HPAI-Krise FAO eine Gruppe „Wildlife“ innerhalb der Tiergesundheitsgruppe eingerichtet hat, die fachübergreifend Fragestellungen die die Fauna betreffen aufgreift.

Dennoch bleiben die Fachinstitutionen in der täglichen Arbeit meist siloartig voneinander getrennt. Dies hat viele Gründe, die auch in der traditionellen Ausbildung von Ärzten und Tierärzten begründet sind. Hinzu kommt die weitgehende Spezialisierung innerhalb der Disziplinen, die dazu führen kann, dass der Blick für das große Bild verstellt wird (Zinsstag et al., 2009). Der oftmals enge Rechtsrahmen sowie der Kampf um Ressourcen spielen ebenfalls eine wesentliche Rolle.

Diese Problematik wird sich nicht schnell lösen lassen.

Neue institutionelle Regelungen?

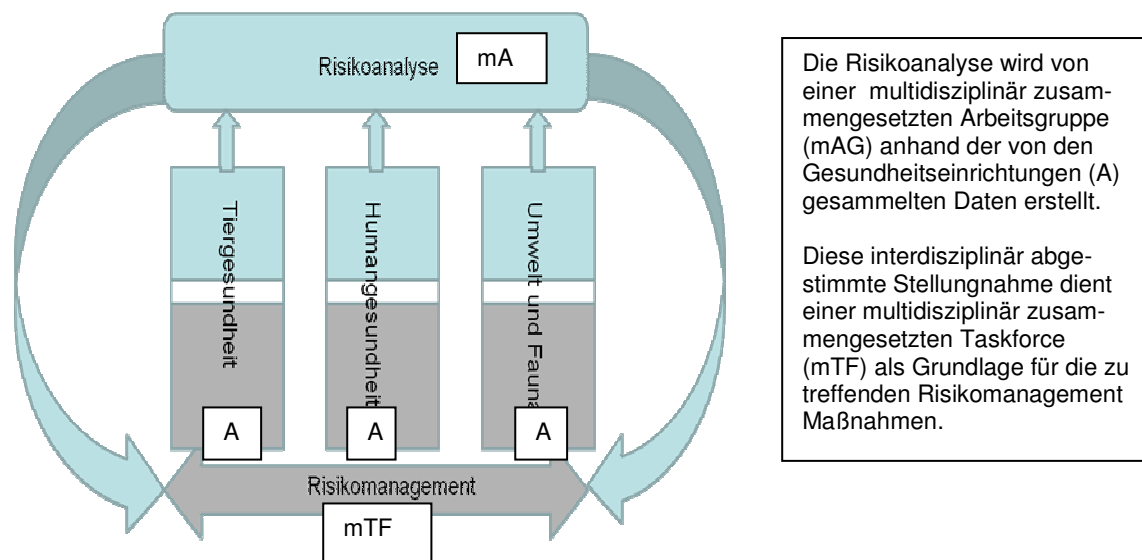
Um diesen Herausforderungen zu begegnen sind neue institutionelle Regelungen wünschenswert.

Erste Lösungsansätze könnten bei Risikobewertung und Risikomanagement von Zoonosen geschaffen werden. Im Ansatz ist dies bei GLEWS realisiert, denn neben dem Sammeln von Ausbruchsdaten, hat GLEWS auch die Aufgabe Risikobewertungen im Hinblick auf die Frühreaktion (Risikomanagement) der beteiligten Institutionen FAO, OIE und WHO vorzubereiten. Dies geschieht derzeit nur punktuell, insbesondere wegen der dürftigen Datenlagen aus den betroffenen Ländern. Aus unserer Sicht sollte das Modell aber weiterverfolgt werden, um dem Anspruch der „Einen Medizin“ gerecht zu werden.

Wichtige Voraussetzung für den Erfolg dieses Modells ist das Bestehenbleiben der existierenden Institutionen auf den Gebieten der Veterinärmedizin, der Humanmedizin, sowie des Umweltschutzes. Diese müssen ihre bisherigen Funktionen vollumfänglich behalten, denn nur dann werden sie die notwendigen Daten in der gewünschten Qualität für die Risikobewertungen von potentiellen Zoonosen sichern können.

Wir schlagen daher vor, als **Ergänzung** zu den bestehenden Institutionen der Gesundheitsdienste eine multidisziplinäre Arbeitsgruppe „Risikobewertung“ sowie eine ebenfalls multidisziplinär besetzte Taskforce „Risikomanagement“ zu schaffen. Beide Einrichtungen sollten auf Dauer angelegt sein. Die Arbeitsgruppe Risikobewertung sollte für ihre Arbeit auf Expertise und Daten der bestehenden Institutionen zurückgreifen, um jeweils interdisziplinär abgestimmte Risikobewertungen zu erstellen. Diese würden dann der ebenfalls multidisziplinär zusammengesetzten Taskforce „Risikomanagement“ zur Verfügung gestellt (Abb.2).

Abb. 2: Multidisziplinäre Risikoanalyse und Risikomanagement



Wichtig ist dabei, dass auffällige Ereignisse gemeinsam erörtert werden. So könnte es zu einer Umkehr der bisherigen Praxis kommen, wo Menschen häufig als Sentinels für Tierkrankheiten dienen, oder Krankheitsgeschehen bei Wildtieren längere Zeit unbeachtet bleiben, weil ihre Relevanz für Mensch und Haustiere nicht erkannt werden.

Im Zuge der Vorbereitung auf HPAI-Ausbrüche haben FAO und WHO in den vergangenen Jahren gemeinsame Notfallübungen in verschiedenen Ländern entwickelt und durchgeführt. Die dabei gewonnenen Erfahrungen sollten bei der Weiterentwicklung multidisziplinärer Risikomanagement-Strukturen genutzt werden.

Schlussfolgerungen

Zoonosen stellen die Gesundheitsdienste vor besondere Herausforderungen, die eine enge Zusammenarbeit erforderlich machen. Aufgrund globaler Entwicklungen (rapide wachsende Weltbevölkerung, Urbanisation, globaler Handel, Klimawandel) werden immer häufiger neue Zoonosen auftreten. Diesen zu begegnen erfordert neue Instrumente, die jedoch die bestehenden nicht gefährden. Daher sollten auf der Ebene der Risikobewertung und des Risikomanagements multidisziplinäre Arbeitseinheiten geschaffen werden, die integriert abgestimmt arbeiten. Hilfreich wäre es, wenn bereits in der Ausbildung von Ärzten und Tierärzten der Blick für das jeweils „Andere“ geschärft würde.

Literaturverzeichnis

Contributing to One World, One Health - A Strategic Framework for Reducing Risks of Infectious Diseases at the Animal–Human–Ecosystems Interface (2008), <http://un-influenza.org/node/2341/>

Bundesregierung: Forschungsvereinbarung zu von Tieren auf Menschen übertragbaren Krankheiten (Zoonosen) zwischen dem Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV), dem Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) und dem Bundesministerium für Gesundheit (BMG) vom 22.03.2006

Europäische Kommission: Tiere + Menschen = eine Gesundheit, 2008, http://one-health.eu/ee/index.php/de/page/eine_gesundheit/

FAO: http://www.glews.net/index.php?option=com_content&view=article&id=50&Itemid=54

Schwabe, C.W. (1984), *Veterinary Medicine and Human Health*. Williams & Wilkins, 713 pp.

Slingenbergh, J. (2008) 29th World Veterinary Congress, Vancouver, Canada

Taylor LH, Latham SM, Woolhouse ME. Risk factors for human disease emergence. *Philos Trans R Soc Lond B*. 2001;356:983–9.

Zessin, K-H, 2008, Was ist Veterinary Public Health – Zeit für eine nützliche Diskussion, *Deutsches Tierärzteblatt*, 56, 2008, 1468-1477

Zinsstag, J., E. Schelling, B. Bonfoh, et al., 2009, Towards a “One Health” research and application tool box, *Veterinaria Italiana*, 45 (1), 121-133

Prävalenzsenkungen im Hinblick auf eine integrierte Strategie zur Reduzierung des Zoonoseerregereintrags in die Lebensmittelkette

Rolf Kamphausen und Friedhelm Jaeger
Ministerium für Umwelt und Naturschutz, Landwirtschaft und Verbraucherschutz des Landes
Nordrhein-Westfalen

Zielsetzung der Verordnung (EG) Nr. 2160/2003 zur Bekämpfung von Salmonellen und anderer Zoonoseerregern ist es, durch wirksame Maßnahmen zur Feststellung und Bekämpfung von Salmonellen und anderen Zoonoseerregern auf allen Lebensmittelstufen die Prävalenz dieser Erreger und das von ihnen ausgehende Risiko für die öffentliche Gesundheit zu senken. Dabei kann diese Verordnung nur ein Element einer umfassenden Strategie zur Minderung des Eintrags von Zoonoseerregern in die Lebensmittelkette sein, wie es im strategischen Ziel IV des Mehrjährigen Nationalen Kontrollplans Deutschlands aufgeführt ist. Sucht man im Weißbuch für die Lebensmittelsicherheit nach entsprechenden Formulierungen, so fällt auf, dass nur wenige Aussagen zur Senkung des Eintrages von Zoonoseerregern gemacht werden und eine umfassende durchgehende Konzeption für alle Stufen der Lebensmittelkette anscheinend fehlt. Es wird lediglich auf die zum Zeitpunkt der Verabschiedung des Weißbuchs bereits in der Beratung befindlichen Verordnungen (EG) Nr. 2160/2003 und Nr. 2073/2005 über mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel abgestellt.

Die Fragestellung BSE war eine der Gründe für die Erstellung des Weißbuchs zur Lebensmittelsicherheit. Zur BSE-Problematik wurde eine Gesamtkonzeption vorgelegt, die von Forschungsaktivitäten über die Senkung der Prävalenz, intensiven Untersuchungs- und Monitoringprogrammen bis hin zur Rindfleischetikettierung und damit einer eingehenden Information der Verbraucher besteht. Eine solche Gesamtkonzeption lässt sich für die Fragestellung mikrobiologische Belastung mit zoonotischen Erregern nicht feststellen. Insbesondere die Information der Verbraucher über entsprechende mögliche mikrobiologische Belastungen und deren Wissen über den richtigen Umgang mit Lebensmitteln werden nicht behandelt, obwohl dies in Ansätzen in Art. 14 der Verordnung (EG) Nr. 178/2002, der Basis-Verordnung über sichere Lebensmittel, abgehandelt ist.

Die bisherige Umsetzung der Verordnung (EG) Nr. 2160/2003 hat sicherlich einen wichtigen Beitrag zur Verbesserung der Zoonosesituation geleistet. In Nordrhein-Westfalen war von Beginn an klar, dass eine konsequente Umsetzung der Ziele dieser Verordnung bedeutet, dass erhebliche Anstrengungen in der Primärproduktion, insbesondere in der Geflügelhaltung, ergriffen werden müssen. Gemeinsam mit den Beteiligten hat das Verbraucherschutzministerium des Landes NRW in den Jahren 2007 bis 2009 zwei Programme, das Untersuchungs- und Hygieneprogramm und das Hygieneprogramm 2009, auf den Weg gebracht, um die Primärproduzenten in diesen Anstrengungen zu unterstützen. Ansonsten hätte die Implementierung der VO (EG) Nr. 2160/2003 zu einem Aus für diese Produktionszweige führen können. Denn die Senkung der Gesamtprävalenz wird letztendlich nur über die Eradikation einer jeweils Salmonellen positiven Herde erreicht. Eine Prävalenzsenkung im eigentlichen Sinne, in der Herde ist aufgrund der festgelegten Maßnahmen bei Salmonellennachweis im Tier oder in der Stallumgebung nicht vorgesehen.

Deutlich geworden bei den Maßnahmen ist, dass trotz der Zielsetzung nur wenige Salmonellen-Serotypen zu bekämpfen, dieses Ziel nur mit umfassenden Hygienemaßnahmen in den Betrieben zu erreichen ist. Daraus ergibt sich sicherlich ein positiver Nebeneffekt auch für andere, insbesondere zoonotische Keimbelastungen.

Eine Bewertung der Gesamtsituation in Bezug auf Salmonellen wird von der Kommission erst jetzt auf Grund der Zusagen bei der Verabschiedung der VO (EG) Nr. 2073/2005 durchgeführt. Eine vorläufige Aussage dazu ist, dass den Mitgliedstaaten noch mehr Zeit zur Er-

reichung der Ziele der VO (EG) Nr. 2160/2003 gegeben werden soll, ehe endgültig über strengere Grenzwerte für Salmonellen in Geflügelfleisch im Rahmen der VO (EG) Nr. 2073/2005 entschieden werden kann.

Die EU liegt trotz alledem mit ihrem Zoonosereduzierungsprogramm in etwa im Zeitplan. Die weitere Vorgehensweise für die nächsten Jahre ist soweit festgelegt, dass auch hier der Zeitplan wahrscheinlich eingehalten wird. Dies unterscheidet dieses Programm deutlich von den jahrelangen Überlegungen zur Reduzierung des Eintrags von Salmonellen in die Lebensmittelkette über die Schweineproduktion. Hier wurden erst nach langen Diskussionen entsprechende Maßnahmen ergriffen. Beim Geflügel war deutlich, dass ein derartig langer Zeitraum einfach nicht zur Verfügung steht.

EU-weit scheint es notwendig, die Bekämpfungsprogramme auf der Stufe der Primärproduktion verstärkt mit den Lebensmittelsicherheitskriterien und den Maßnahmen in der weiteren Lebensmittelkette abzustimmen. Diese Notwendigkeit zeigt sich insbesondere in der Berücksichtigung unterschiedlicher Erregerspektren in der o.a. Verordnung. Eine entsprechende Gesamtkonzeption sollte im Rahmen der Programme Tiergesundheit und Lebensmittelsicherheit zumindest auf nationaler Ebene erarbeitet werden. Die Arbeiten im Rahmen der AVV Zoonosen Lebensmittelkette können dabei allenfalls ein wenn auch wichtiges Begleitinstrument sein. Es bleibt abzuwarten, ob z.B. mit der geänderten Rinder-Tuberkuloseverordnung eine engere Verknüpfung zwischen den Maßnahmen gegen Zoonosen in der Primärproduktion und den anderen Stufen der Lebensmittelkette erreicht werden kann.

Wenn sich durch die Programme zur Umsetzung der VO (EG) Nr. 2160/2003 die Hygienesituation zwar insgesamt gebessert hat, so geben diese Instrumente aber trotzdem keine Antworten z.B. auf Campylobacterbelastung von Geflügelfleisch. Das heißt, die Verbraucher werden zukünftig vielleicht mit weniger Salmonellen aber möglicherweise weiterhin im gleichen Maße wie bisher mit anderen pathogenen Keimen im Geflügelfleisch rechnen können. In diesem Zusammenhang hilft bis jetzt auch das andere Element des Weißbuchs zur Lebensmittelsicherheit, nämlich die Verordnung über mikrobiologische Kriterien von Lebensmitteln nichts. Denn Campylobacter wurde aus vielen Gründen nicht mit in diesen Verordnungstext aufgenommen. Insoweit stellt sich die Frage, ob tatsächlich die einfache Aussage „Prävalenzsenkung einiger pathogener Keime bei der Primärproduktion führt zu mehr Lebensmittelsicherheit“ aufrecht erhalten werden kann. Neben der Zusammenführung der Programme aus der Tiergesundheit und Lebensmittelsicherheit muss verstärkt das Instrument „Information der Verbraucher“ genutzt werden. Dabei sind sowohl die Lebensmittelwirtschaft als auch die Überwachungsbehörden gefordert.

Insgesamt müssen die einzelnen guten Ansätze und Werkzeuge zur Senkung der Prävalenz von Zoonoseerregern noch stärker zu einer integrierten Strategie zusammengeführt werden.

Epidemiologie, Monitoring, Kontrolle

Ausbreitung von Erregern in Tierbeständen

Franz J. Conraths, Jürgen Teuffert, Matthias Kramer, Jörn Gethmann, Claudia Schoene, Hartmut Lentz, Maria Kasper und Thomas Selhorst
Friedrich-Loeffler-Institut, Institut für Epidemiologie, Wusterhausen

Die Ausbreitung von Infektionserregern in Tierbeständen hängt von den Determinanten ab, welche die Wechselwirkungen von Erreger, Wirt und Umwelt bestimmen. Die für die Ausbreitung wesentlichen Einflussfaktoren müssen daher für jede Infektionskrankheit, ihren Erreger, die Wirte sowie die Umweltbedingungen, denen Erreger und Wirt ausgesetzt sein können, gesondert betrachtet werden.

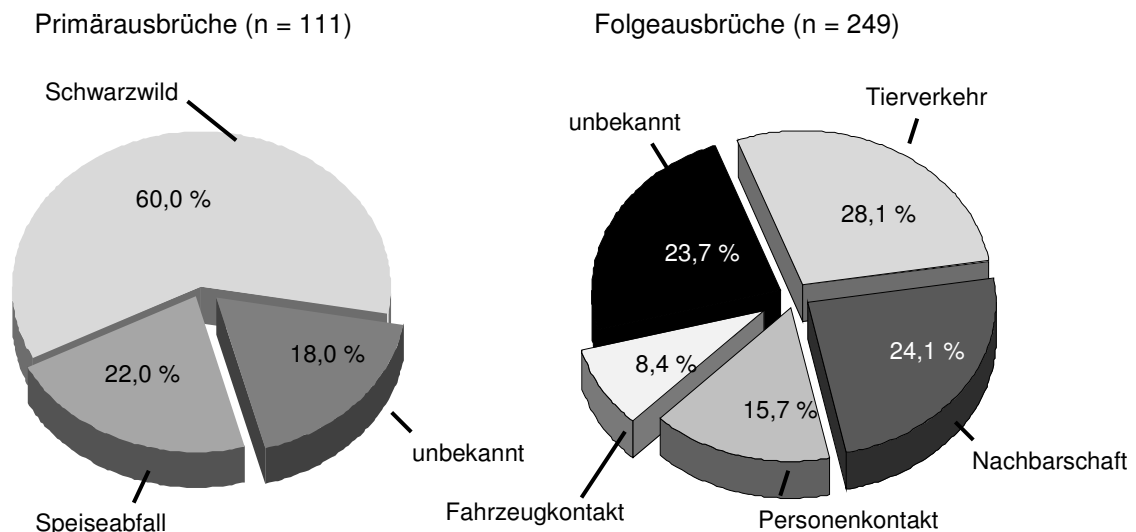
Bezüglich der Eintragsquellen von Infektionserregern in Tierbestände liegen Daten in unterschiedlicher Qualität vor. Häufig gelingt es nicht, die Eintragsquelle der Erreger von anzeigepflichtigen Tierseuchen und Zoonosen nach Feststellung des Ausbruchs eindeutig zu identifizieren. So ließ sich bei Geflügelpestausrüchen mit hochpathogenem Influenzavirus vom Subtyp H5N1 zwar aufgrund der vorliegenden Nukleinsäure-Sequenzdaten die enge Verwandtschaft von Viren zeigen, die man mehr oder weniger zeitgleich bei Wildvögeln und in den betroffenen Hausgeflügelbeständen fand, der unmittelbare Eintrag des Virus durch einen infizierten Wildvogel in einen Hausgeflügelbestand konnte bisher allerdings nicht nachgewiesen werden (Schoene et al., 2009). Jedoch gelang es, nach Geflügelpestausrüchen, die sich bei Kleinhaltungen in Brandenburg im Dezember 2007 ereigneten, in mindestens zwei Fällen zu zeigen, dass das betroffene Geflügel Zugang zu Abfällen von Schlachtenten gehabt hatte und dass das Virus, welches in den Kleinbeständen nachgewiesen wurde, identisch war mit dem Erreger, der bereits im Spätsommer 2007 zu Geflügelpestausrüchen in Entenmastbetrieben in Bayern geführt hatte. Es ist daher in diesem Fall von einer direkten epidemiologischen Verbindung zwischen den Geflügelpestausrüchen bei Mastenten in Bayern und den Fällen in Brandenburg auszugehen (Harder et al., 2009).

Das Geflügelpest-Ausbruchsgeschehen des Jahres 2007 veranschaulicht zugleich, dass Faktoren, die den Wirtsarten (z.B. Enten, Hühner, Puten) zuzuordnen sind, für die Ausbreitung von Erregern von entscheidender Bedeutung sein können. Während das Influenzavirus vom Subtyp H5N1 bei Mastenten allenfalls in geringem Ausmaß zu Verlusten führte, gingen die Infektionen bei Hühnern, die Zugang zu Abfällen von mutmaßlich mit dem Virus infizierten Schlachtenten gehabt hatten, mit einer extrem hohen Letalität einher.

Aufschlussreiche Daten liegen zur Einschleppung und Ausbreitung der klassischen Schweinepest vor. Bezüglich der Ausbrüche, die sich in Deutschland in den Jahren 1993 bis heute ereigneten, wurde bei 60,0 % der Primärausbrüche Kontakt zu Schwarzwild, welches dem Virus als Reservoir dient, als gesicherte oder begründet vermutete Einschleppungsursache festgestellt (Abb. 1). In 22,0 % der Fälle waren unzureichend erhitzte Speiseabfälle verfüttert worden, eine Praxis, die nur in den ersten Jahren des Untersuchungszeitraums noch verbreitet war. Inzwischen spielt sie – nach Durchsetzung der entsprechenden Verbote und Hygienemaßnahmen – in Deutschland keine Rolle mehr als Einschleppungsursache für die klassische Schweinepest.

Betrachtet man die Folgeausbrüche von klassischer Schweinepest (Abb. 1), d.h. die Verbreitung des Erregers aus dem Bestand mit dem Indexfall in weitere Betriebe, so sind die Eintragsquellen vielfältiger und reichen unter den aufgeklärten oder begründet vermuteten Einschleppungsursachen vom Tierverkehr (Handel; 28,1 %) über Nachbarschaft (24,1 %), Personen- (15,7 %) bis hin zu Fahrzeugkontakten (8,4 %).

Abb. 1: Klassische Schweinepest. Gesicherte oder begründet vermutete Einschleppungsursachen der Ausbrüche seit 1993



Wie dieses Beispiel zeigt, kann dem Handel mit Tieren auch über weite Distanzen bei der Verbreitung von Krankheitserregern eine große Bedeutung zukommen. Es bietet sich daher an, die räumliche und zeitliche Dynamik von Infektionskrankheiten in solchen Netzen durch Modellierung zu untersuchen. In diesem Zusammenhang kann es von besonderer Bedeutung sein, in einem Handelsnetz „natürliche Cluster“ zu identifizieren, die sich durch starke Handelsaktivitäten innerhalb der Cluster und geringe Handelsaktivitäten aus den Clustern heraus auszeichnen. Die Kenntnis der Strukturen des Netzes, insbesondere der natürlichen, in sich mehr oder weniger abgeschlossenen Kompartimente (Cluster), könnte genutzt werden, um Maßnahmen zu optimieren, die der Ausbreitung von Erregern entgegenwirken.

Derzeit wird als Beispiel das Handelsnetz der Betriebe analysiert, die in den Jahren 2006-2008 in Deutschland Schweine hielten. Das Netzwerk bestand aus ca. 121.000 Betrieben und mehr als 5 Millionen Handelsaktivitäten im betrachteten Zeitraum. Für dieses Handelsnetz wurde eine Clusteranalyse durchgeführt. Dabei ergab sich, dass ein Großteil der Betriebe, die in Deutschland Schweine halten (ca. 98%), einem von 10 Clustern zugeordnet werden können. Interessanter Weise stellten sich die ermittelten Cluster mehr oder weniger räumlich getrennt dar, obwohl die Information über die geografische Lage der Betriebe bei der Clusteridentifizierung nicht verwendet wurde (Lentz et al., 2009).

Weitere hinsichtlich der Ausbreitung von Infektionskrankheiten relevante Kenngrößen des Netzes sind die ‚Reichweite‘ und die ‚stark zusammenhängende Komponente‘. Die Reichweite gibt an, wie viele Betriebe von einem Bestand aus durch Handelskontakte erreicht werden können. Bei der Analyse der Daten zur Reichweite für alle Betriebe im Netz der Schweine haltenden Betriebe in Deutschland ergaben sich lediglich zwei Reichweitenklassen. Von den Betrieben der einen Klasse konnten ca. 50.000 Betriebe erreicht werden, wohingegen von Betrieben der anderen Klasse nicht mehr als 100 Betriebe erreichbar waren. Nur die Hälfte der Schweine haltenden Betriebe in Deutschland fiel in die erste Kategorie und nur diese wäre von einem Seuchenzug größeren Umfangs im Falle der ausschließlichen Ausbreitung über den Handel betroffen.

Die stark zusammenhängende Komponente umfasst Betriebe, die jeden anderen Betrieb innerhalb dieser Komponente mit einer geringen Anzahl von Schritten erreichen kann. Für die Schweine haltenden Betriebe in Deutschland umfasste diese Komponenten ca. 30.000

Betriebe. Diese Bestände könnten aufgrund der engen Verknüpfung zu anderen Betrieben eine Infektionskrankheit in kurzer Zeit weiterverbreiten. Mit Hilfe der Netzwerkanalyse können sowohl die Betriebe mit hoher Reichweite als auch die Bestände, die zur stark zusammenhängenden Komponente gehören, identifiziert werden.

Die weitere Analyse der Daten wird Wege aufzeigen, um das Risiko einer Ausbreitung von Erregern über den Handel wirksam zu verringern.

Literatur

HARDER, T., TEUFFERT, J., STARICK, E., GETHMANN, J., GRUND, C., FEREDUNI, S., DURBAN, M., BOGENER, K.-H., NEUBAUER-JURIC, A., REPPER, R., HLINAK, A., ENGELHARDT, A., NÖCKLER, A., SMIETANKA, K., MINTA, Z., KRAMER, M., GLOBIG, A., METTENLEITER, T.C., CONRATHS, F.J., BEER, M. (2009). Highly pathogenic avian influenza virus H5N1 in frozen duck carcasses, Germany, 2007. *Emerg. Infect. Dis.* **15**, 272-279.

LENTZ, H., KASPER, M., SELHORST, T. (2009). Cluster und Infektionsdynamiken auf Handelsnetzen. Tagung der Fachgruppe Epidemiologie und Dokumentation der DVG, Gießen, 2.-4.9.2009, Tagungsband, S. 30-31.

SCHOENE, C.U.R., HARDER, T., GLOBIG, A., CONRATHS, F.J., BEER, M. & METTENLEITER, T.C. 2009. Die Wildvogel-Frage: Welche Rolle spielen Wildvögel im Infektionsgeschehen der hochpathogenen aviären Influenza. *Tierärztliche Umschau*, 64: 77-83.

Monitoring von *Salmonella* in der Lebensmittelkette – Ausgangspunkt für Reduktionsstrategien

Annemarie Käsbohrer, Bernd-Alois Tenhagen, Kirsten Heckenbach, Matthias Hartung und Bernd Appel
Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin

Einleitung

Die Salmonellose des Menschen ist seit vielen Jahren eine der häufigsten lebensmittelbedingten Infektionskrankheiten in Deutschland und in der Europäischen Union. Im Jahr 2008 wurden in Deutschland insgesamt 42.909 Salmonellenerkrankungen gemeldet, die Inzidenz lag bei 52,2 Erkrankungen pro 100.000 Einwohner. Gegenüber dem Vorjahr nahm die Inzidenz in allen Bundesländern ab (RKI, 2009). Vergleiche der nachgewiesenen Serovare und Phagentypen in den lebensmittelliefernden Tieren, tierischen Lebensmitteln sowie bei den Erkrankungen des Menschen ergaben, dass insbesondere Lebensmittel vom Geflügel und vom Schwein als wichtigste Infektionsquellen des Menschen angesehen werden müssen (Käsbohrer et al., 2007).

Monitoringprogramme und ihre rechtlichen Grundlagen

Auf der Grundlage der Richtlinie 92/117/EG wurde 1994 begonnen, jährlich die Ergebnisse der Überwachungsaktivitäten der Länder in Deutschland in einem Bericht zusammenzufassen. Diese Ergebnisse wurden auf EU-Ebene von 1994 bis 2003 vom Gemeinschaftlichen Referenzlabor für die Epidemiologie der Zoonosen am BfR, und seit 2004 von der EFSA im EU-weiten Zoonosenbericht zusammengefasst.

Für die Bewertung der Situation in der Europäischen Gemeinschaft werden vergleichbare und repräsentative Daten zu den Entwicklungstendenzen und Quellen von Zoonosen und Zoonoseerregern benötigt. Diesen Anforderungen wurde durch die Richtlinie 2003/99/EG und die Allgemeine Verwaltungsvorschrift (AVV) Zoonosen Lebensmittelkette Rechnung getragen.

Im Rahmen von EU-weit durchgeführten Monitoringprogrammen wurde anhand repräsentativer Stichproben eine Schätzung der Prävalenz von Salmonellen in ausgewählten Stufen der Lebensmittelkette ‚Geflügel‘ und ‚Schwein‘ vorgenommen. Seit Oktober 2004 wurden vier EU-weite einjährige Grundlagenstudien zum Vorkommen von Salmonellen beim Geflügel (Legehennen, Masthähnchen und Puten) sowie zwei Studien beim Schwein (Zuchtschweine, Mastschweine) durchgeführt (Tabelle 1). Die detaillierten Anforderungen wurden jeweils in Entscheidungen der Kommission festgelegt.

Ergänzend hierzu wird national seit 2008 jährlich ein Zoonosen-Stichprobenplan gemäß AVV Zoonosen Lebensmittelkette in enger Zusammenarbeit mit den Ländern erarbeitet und durchgeführt. Eine Übersicht über die für 2008 freiwilligen Programme zur Prävalenz von *Salmonella* in der Lebensmittelkette ist in Tabelle 2 zusammengefasst.

Ergebnisse der koordinierten Überwachungsprogramme beim Geflügel

Die *Salmonella*-Prävalenz bei den verschiedenen Geflügelpopulationen unterschied sich erheblich (Tabelle 3). In knapp 30% der Legehennenherden wurde *Salmonella* spp. nachgewiesen. Beim Mastgeflügel lag die Prävalenz niedriger: In 17,5% bzw. 10,3% der untersuchten Herden von Masthähnchen und Mastputen wurden Salmonellen festgestellt (BfR 2005, 2006, 2008a).

Tab. 1: Grundlagenstudien zum Vorkommen von *Salmonella* spp. beim Geflügel und Schwein

Tierart (Rechtsgrundlage) Zeitraum	Population und Probenahmeort	Zeitpunkt der Beprobung	Geplante/ tatsächliche Stichprobenzahl	Anzahl und Art der Proben
Legehennen (2004/665/EG) 10/2004-09/2005	Kommerzielle Betriebe mit mindestens 1000 Tieren	Innerhalb der letzten 9 Wochen vor Ausstallung	533 / 563	5 Kot-Pools 2 Staubproben
Masthähnchen (2005/636/EG) 10/2005-09/2006	Kommerzielle Betriebe mit mindestens 5000 Tieren	Innerhalb der letzten 3 Wochen vor Ausstallung	373 / 378	5 Kot-Pools
Mastputen (2006/662/EG) 10/2006-09/2007	Kommerzielle Betriebe mit mindestens 500 Puten	Innerhalb der letzten 3 Wochen vor Ausstallung	336 / 300	5 Kot-Pools
Masthähnchen (2007/515/EG) 01/2008-12/2008	Schlachtcharge in einer Herde im MS aufgezogen und angeliefert	zum Zeitpunkt der Eviszeration bzw. vor der Verarbeitung	384 / 432	10 Blinddärme (freiwillig) 1 Karkasse
Mastschweine (2006/668/EG) 10/2006-09/2007	Schlachtschweine, in D in den letzten 3 Monaten gemästet	zum Zeitpunkt der Eviszeration	2400 / 2659	Mind. 5 Lymphknoten
Zuchtschweine (2008/55/EG) 01/2008-12/2008	Betriebe mit mindestens 50 Zuchttieren	Tier mindestens 6 Monate alt	220 / 201	10 Kot-Pools

Tab. 2: Auszug aus Zoonosen-Stichprobenplan 2008

Tierart, Matrix	Ebene der Beprobung	Erreger	Probenumfang
Hähnchenfleisch	Einzelhandel	<i>Salmonella</i> spp., <i>Campylobacter</i> spp., Methicillin-resistente <i>Staphylococcus aureus</i>	384
Schweinefleisch	Einzelhandel	<i>Salmonella</i> spp., <i>Campylobacter</i> spp., <i>Yersinia enterocolitica</i> , Methicillin-resistente <i>Staphylococcus aureus</i>	457
Hühnereier	Packstellen* und Einzelhandel	<i>Salmonella</i> spp.	4800 4800

*Die Entnahme der Eier konnte auch in einer Sammelstelle oder im Vorraum des Legebetriebes erfolgen

Auch das Serovarspektrum unterschied sich deutlich. Während bei Legehennen *S. Enteritidis* mit fast 80 % dominierte, war bei Masthähnchen die monophasische Variante 4,12:d:- mit 30,3 % das häufigste Serovar. Dieser monophasische Typ dominierte auch auf den Karkassen von Masthähnchen. Im Gegensatz zur Studie auf Betriebsebene wurde bei den freiwillig teilnehmenden Ländern in den Blinddarmproben am Schlachthof *S. Ohio* und *S. Paratyphi B* (dT+) am häufigsten nachgewiesen. Bei Mastputen wurden am häufigsten *S. Typhimurium*, *S. Saintpaul* und *S. Hadar* isoliert (BfR 2005, 2006, 2008a, 2009a).

Dieses unterschiedliche Serovarspektrum führt zu Unterschieden in der Prävalenz für die bekämpfungsrelevanten Serovare *S. Enteritidis* und *S. Typhimurium*. Während fast ein Viertel der Legehennenherden betroffen sind, waren jeweils nur ca. 3 % der Mastgeflügelherden mit *S. Enteritidis* oder *S. Typhimurium* kontaminiert.

Dass der Eintrag über die Tiere in den Schlachthof zu einer deutlichen Steigerung der Kontaminationsraten der Tierkörper führt, zeigt der Vergleich der Untersuchungsergebnisse von Zaekumproben und Karkassen der selben Schlachtchargen von Masthähnchen. Bei 65 % der Schlachtgruppen mit Nachweis von *Salmonella* spp. im Zaekum und bei 16 % der

Schlachtgruppen ohne Nachweis von *Salmonella* spp. im Zaekum konnte eine Salmonella Kontamination auf der Karkasse ermittelt werden.

Ergebnisse der koordinierten Überwachungsprogramme beim Schwein

Es waren 326 (12,7 %) der untersuchten 2.569 Schlachtschweine bakteriologisch positiv für *Salmonella* spp. (BfR, 2008b). Bei Zuchtschweinen waren 6,2 % der untersuchten 2.010 Sammelkotproben positiv. Von den 201 untersuchten Zuchtschweinebeständen waren 22,6 % mit Salmonellen kontaminiert (BfR, 2009b).

Während bei den Lymphknotenproben von Schlachtschweinen *S. Typhimurium* deutlich dominierte, wurde bei Zuchtschweinen am häufigsten *S. Derby*, noch vor *S. Typhimurium* nachgewiesen (BfR, 2008b, 2009b).

Tab. 3: Ergebnisse der koordinierten Überwachungsprogramme

Tierart	N	Salmonella positive Proben (%)	positive Betriebe/Herden (%)	
			Salmonella spp.	S. Enteritidis/ S. Typhimurium
Legehennen (Herden)	563	Sammelkot: 12,5 18,7% Staub: 18,7	29,3	24,7
Masthähnchen (Herden)	378	Sammelkot: 11,7	17,5	2,9
Masthähnchen (Schlachtchargen)	432 307	Karkassen: 17,6 gepoolte Zaeka: 7,5	17,6 7,5	4,6 0,7
Mastputen (Herden)	300	Sammelkot: 7,2	10,3	3,0
Zuchtputen (Herden)	98		0	
Mastschweine (Tiere am Schlachthof)	2569	Lymphknoten: 12,7	(12,7)	7,4
Zuchtschweine (Herden)	201	Sammelkot: 6,2	22,6	4,5

Ergebnisse des Zoonosen-Stichprobenplans 2008 nach AVV Zoonosen Lebensmittelkette

Bereits vor Verabschiedung der AVV Zoonosen Lebensmittelkette wurde für 2008 in 10 Ländern begonnen, den vorgeschlagenen Zoonosen-Stichprobenplan auf freiwilliger Ebene umzusetzen.

Bei der Untersuchung von *Salmonella* in Konsumeiern wurden in 4 Pools Salmonellen nachgewiesen. Dabei wurden Salmonellen in drei Pools von den Schalen der Eier und in zwei Pools aus dem Eigelb isoliert. Ein positiver Nachweis gelang bei Eiern, die beim Erzeuger entnommen wurden, drei weitere Nachweise gelangen bei Eiern aus dem Einzelhandel. Legt man der Berechnung die in den Pools enthaltenen Eier (5 bis 10 Eier je Pool) sowie die Annahme zugrunde, dass nur ein Ei im Pool positiv war, so ergibt sich eine Nachweisrate von 0,12%. Bei den vier positiven Nachweisen handelte es sich jeweils um zwei *S. Enteritidis* und zwei *S. Typhimurium* Isolate. Bei zwei Eier-Poolproben wurden Salmonellen nur auf der Schale nachgewiesen (1x *S. Enteritidis*, 1x *S. Typhimurium*), bei einem Pool wurde *S. Enteritidis* auf der Schale und im Eigelb isoliert und bei einem Ei wurde *S. Typhimurium* nur im Eigelb isoliert. Insgesamt wurden also bei 3 Pools von Eischalen und 2 Pools von Eigelb Salmonellen nachgewiesen.

Tab. 4: Nachweis von *Salmonella* spp. in Hühnereiern

Art der Probe	untersuchte Eier	Positive Poolproben	Positive Eier (%)
Hühnereier, gesamt	3362	4	0,12
- Schale	2500	3	0,12
- Eigelb	2500	2	0,08
- Eiweiß	320	0	0

Bei der Untersuchung von Hähnchenfleisch und Schweinefleisch, das vorwiegend im Einzelhandel entnommen wurde, wurden bei 12,1 % der Hähnchenfleischproben und 1,7 % der Schweinefleischproben Salmonellen nachgewiesen.

Tab. 5. Nachweis von *Salmonella* spp. in frischem Fleisch

Matrix	Hähnchenfleisch			Schweinefleisch		
	Untersuchungen	Positiv	Positiv(%)	Untersuchungen	Positiv	Positiv (%)
Gesamt	331	40	12,1	118	2	1,7
- Hersteller	46	5	10,9	15	0	0,0
- Einzelhandel	285	35	12,3	103	2	1,9

Für den überwiegenden Anteil der Isolate aus Hähnchenfleisch wurde nur die Sero-Gruppe angegeben. Am häufigsten wurde *S. D1*-monophasisch nachgewiesen, alle 12 Isolate wurden aus einer Untersuchungseinrichtung berichtet. *S. Enteritidis* (ebenfalls Serogruppe D) wurde bei Hähnchenfleisch nicht berichtet. Der Nachweis von *S. Typhimurium* wurde in einem Fall berichtet. Bei den zwei Isolaten aus Schweinefleisch handelte es sich jeweils einmal um *S. Typhimurium* und einmal um *S. Derby*.

Bewertung der derzeitigen Situation

Dank der Grundlagenstudien liegt nun für Legehennen, die beiden Mastgeflügelarten sowie Schweine ein Ausgangswert für die Bewertung künftiger Bekämpfungsmaßnahmen vor. Die Studien ermöglichen erstmals einen EU-weiten Vergleich der Salmonellensituation bei wichtigen lebensmittelliefernden Tierarten. Während die Prävalenz von *S. Enteritidis*/*S. Typhimurium* bei Legehennen in Deutschland über dem EU-Mittel lag, lag dieser Wert für Masthähnchen und Mastputen unter dem EU-Durchschnitt. Insbesondere bei Masthähnchen war im EU-Mittel eine deutlich höhere Prävalenz von *S. Enteritidis*/*S. Typhimurium* berichtet worden (EFSA, 2007a, 2007b, 2008a). Bei Schlachtschweinen lag die Prävalenz geringfügig über dem Vergleichswert der EU (EFSA, 2008b). Für Masthähnchen am Schlachthof und Zuchtschweine befindet sich die EU-weiten Auswertung in Vorbereitung.

In den freiwillig teilnehmenden Ländern konnte der Zoonosen-Stichprobenplan 2008 erfolgreich durchgeführt werden. Dabei wurden wichtige Daten und Erfahrungen gesammelt. Die für *Salmonella* spp. erhobenen Daten bestätigen bisherige Erkenntnisse aus der Zoonosen-berichterstattung des BfR zur Verbreitung des Erregers.

Aus beiden Studienreihen wird deutlich, dass eine flächendeckende repräsentative Beprobung sowie eine umfangreiche Erhebung von begleitenden Daten erforderlich ist, um die Ergebnisse im Sinne der Zusammenhänge entlang der Lebensmittelkette interpretieren und den Einfluss verschiedener Faktoren hierauf berücksichtigen zu können.

Ausblick

Die im Rahmen der vorgeschriebenen Bekämpfungsprogramme erhobenen Angaben und Ergebnisse müssen kontinuierlich für eine umfassende Auswertung und Bewertung der aktuellen Situation sowie der Wirkung der Bekämpfungsmaßnahmen zusammengetragen werden. Nur so können die richtigen Prioritäten für Bekämpfungsmaßnahmen gesetzt und Empfehlungen für verbesserte Maßnahmen abgeleitet werden. Mit der AVV Zoonosen Lebensmittelkette können diese Bemühungen zielgerichtet ergänzt werden zur Verbesserung des gesundheitlichen Verbraucherschutzes.

Erster Erfolg des seit 2007 bundesweit eingeführten Salmonellen-Bekämpfungsprogramms bei Legehennen könnte die Senkung der Prävalenz von *S. Enteritidis* und *S. Typhimurium* in den Legehennenherden sein. In 2008 wurden auch deutlich seltener *Salmonella* spp. in Konsumeiern im Einzelhandel nachgewiesen (Hartung, 2009a, 2009b, 2009c). Beim Menschen nahm die Inzidenz der Salmonellose 2008 um 23% gegenüber 2007 ab. Dies wird vor allem durch sinkende *S. Enteritidis* -Infektionszahlen erklärt.

Literatur

BfR, 2005. Pilotstudie zum Vorkommen von *Salmonella* spp. bei Herden von Legehennen in Deutschland. Bericht des BfR zur Umsetzung der Entscheidung 2004/665/EG.

http://www.bfr.bund.de/cm/208/pilotstudie_zum_vorkommen_von_salmonella_spp_bei_herden_von_legehennen_in_deutschland.pdf

BfR, 2006. Grundlagenstudie zur Erhebung der Prävalenz von Salmonellen in Gallusgallus-Broilerbetrieben. Bericht des BfR vom 27.10.2006.

http://www.bfr.bund.de/cm/208/grundlagenstudie_zur_erhebung_der_praevalenz_von_salmonellen_in_gallus_gallus_broilerbetrieben.pdf

BfR, 2008a. Grundlagenstudie zur Erhebung der Prävalenz von Salmonellen in Truthühnerbeständen. Bericht des BfR vom 04. März 2008.

http://www.bfr.bund.de/cm/208/grundlagenstudie_zur_erhebung_der_praevalenz_von_salmonellen_in_truthuehnerbestaenden.pdf

BfR, 2008b. Grundlagenstudie zur Erhebung der Prävalenz von Salmonellen in Mastschweinen. Bericht des BfR vom 20. Februar 2008.

http://www.bfr.bund.de/cm/208/grundlagenstudie_zur_erhebung_der_praevalenz_von_salmonellen_in_mastschweinen.pdf

BfR, 2009a. Grundlagenstudie zur Erhebung der Prävalenz und der Resistenz gegen antimikrobielle Mittel von *Campylobacter* spp. in Masthähnchenherden und der Prävalenz von *Campylobacter* spp. und *Salmonella* spp. in Schlachtkörpern von Masthähnchen (Entscheidung 2007/516/EG). Bericht des BfR vom 16.07.2009.

BfR, 2009b. Grundlagenstudie zur Erhebung der Prävalenz von *Salmonella* spp. und Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Zuchtschweinebeständen (Entscheidung 2008/55/EG). Bericht des BfR vom 25.03.2009.

EFSA, 2007a. Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on the Analysis of the baseline study on the prevalence of *Salmonella* in holdings of laying hen flocks of *Gallus gallus*. The EFSA Journal (2007) 97.

EFSA, 2007 b. Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on the Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in broiler flocks of *Gallus gallus*, in the EU, 2005-2006. Part A: *Salmonella* prevalence estimates. The EFSA Journal (2007) 98, 1–85.

EFSA, 2008a. Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on the Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in turkey flocks, in the EU, 2006-2007. Part A: *Salmonella* prevalence estimates. The EFSA Journal (2008) 134, 1–91.

EFSA, 2008b. Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on the analysis of the baseline survey on the prevalence of Salmonella in slaughter pigs, Part A, The EFSA Journal (2008) 135, 1–111

RKI, 2009. Robert Koch-Institut: Infektionsepidemiologisches Jahrbuch für 2008, Berlin, 2009.

Käsbohrer A, Schroeter A, Frank C., 2007. Attribution Of Human Salmonellosis To Main Foodborne Sources In Germany. 3rd Annual Scientific Meeting - Med-Vet-Net. Lucca, Italy.

Hartung, M, 2009a. Erreger von Zoonosen in Deutschland im Jahr 2007. BfR-Wissenschaft 5/2009

http://www.bfr.bund.de/cm/238/erreger_von_zoonosen_in_deutschland_im_jahr_2007.pdf

Hartung, M, 2009b. Ergebnisse der Zoonosenerhebung 2008 bei Lebensmitteln. Fleischwirtschaft. Manuskript eingereicht.

Hartung, M, 2009c: Erreger von Zoonosen in Deutschland im Jahr 2008. BfR-Wissenschaft. In Vorbereitung

Gefahrenpotential von häufig in Broilern und Schweinen vorkommenden *Salmonella* Serovaren

Burkhard Malorny¹, Elisabeth Hauser¹, Erhard Tietze² und Reiner Helmuth¹

¹Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin

²Robert-Koch-Institut, Wernigerode.

Geflügel und Mastschweine sowie die aus ihnen hergestellten Lebensmittel sind für den Menschen eine bedeutende Quelle für Gastroenteritiden (Salmonellose) (EFSA, 2008). Die Belastung von Salmonellen beim Geflügel und Schwein konnte in den vergangenen Jahren aufgrund der Durchführung mehrerer Grundlagenstudien zur Erhebung der Prävalenz von Salmonellen in Legehennen, Masthähnchen, Puten und Mastschweinen nach der Verordnung 2160/2003 vom 17 November 2003 und nachgeordnete Entscheidungen für die Mitgliedsstaaten der Europäischen Union erfasst werden (Anonymous, 2003). Ein Vergleich der in den Studien nachgewiesenen *Salmonella* Serovare in Deutschen Beständen zeigte, dass verschiedene Serovare mit unterschiedlicher Häufigkeit bei Legehennen, Masthähnchen und Puten sowie bei Schweinen isoliert wurden. Während das am häufigsten nachgewiesene Serovar bei Legehennen Enteritidis mit 64 % war, gefolgt von einer rauen Subspezies I Variante, konnte bei Masthähnchen das Serovar 4,12:d:- (23 %), gefolgt von Anatum und Paratyphi B d-Tartrat positiv (je ca. 15 %) isoliert werden. Bei Mastputen ist das häufigste isolierte Serovar Typhimurium, gefolgt von Hadar und Saintpaul. Bei Mastschweinen wurde das Serovar Typhimurium (55 %) und eine monophasische Variante 4,[5],12:i:- (20 %), gefolgt vom Serovar Derby und Enteritidis am häufigsten isoliert (genauere Angaben zu den Grundlagenstudien siehe Beitrag von A. Käsbohrer „Monitoring von *Salmonella* in der Lebensmittelkette - Ausgangspunkt für Reduktionsstrategien“).

Viele der vom Geflügel und Schwein isolierten Serovare gehören in Deutschland auch zu den zehn häufigsten beim Menschen vorkommenden Serovaren. Dies legt den Schluss nahe, dass solche Serovare über die Lebensmittelkette den Menschen erreichen. Im Gegensatz dazu wird das Serovar 4,12:d:- trotz seiner hohen Prävalenz beim Masthähnchen nur sehr selten vom Menschen isoliert. Außer Zweifel steht die Bedeutung der Serovare Enteritidis und Typhimurium, die im Jahr 2008 mit 62 % und 30 % am häufigsten von Menschen isoliert wurden (Anonymous, 2009).

Warum sich bestimmte *Salmonella* Serovare oder spezifische Subtypen so erfolgreich lokal oder weltweit, ausbreiten können, ist ungeklärt. Beispiele für die erfolgreiche Verbreitung sind die Phagentypen des PT4 und PT8 Serovars Enteritidis in Geflügel und Menschen. Ein weiteres Beispiel ist das multiresistente Serovar Typhimurium DT204 und DT193 beim Rind und Menschen, und seit Anfang der 1990er Jahre der Phagentyp DT104, der zunächst in Rind und Schwein auftrat, aber später auch in verschiedenen anderen Spezies isoliert wurde, und damals einer der Haupttypen für Salmonellose beim Menschen war. Möglicherweise haben bestimmte Serovare bzw. Subtypen einen Vorteil, den Menschen bzw. das Tier zu infizieren, der im Genom des Stammes/Serovar begründet liegt. Dabei spielen wahrscheinlich Gene, die einen Einfluss auf die Virulenz haben, eine wesentliche Rolle.

Im folgendem werden die genetischen Eigenschaften dreier Serovare näher beschrieben, die aktuell häufig in der Geflügel bzw. Schwein-Lebensmittelkette gefunden werden. Es wird eine Einschätzung des Gefahrenpotentials der Serovare für den Menschen gegeben. Die Serovare Enteritidis und Typhimurium werden aufgrund des bereits guten Wissenstandes bezüglich ihres pathogenen Potentials für Mensch und Tier als Vergleichs-Serovare betrachtet.

***Salmonella enterica* Serovar 4,12:d:-**

Das Serovar 4,12:d:- wurde in den vergangenen zehn Jahren eher selten vom Menschen isoliert. Das Nationale Referenzzentrum für Salmonellen und andere Enteritiserreger (NRZ-Wernigerode) verzeichnete 55 humane Isolat-Einsendungen, während das Nationale Referenzlabor für Salmonellen am BfR (NRL-Salm) 818 Isolate, die hauptsächlich vom Masthähnchen isoliert wurden, zählte. Man kann daher von einem Geflügel-assoziierten Serovar sprechen. Eine kürzlich veröffentlichte Studie des Serovars offenbarte, warum der vom Masthähnchen isolierte Typ eher selten beim Menschen vorkommt (Huehn et al., 2009a). Dem Serovar fehlen im Vergleich zu epidemiologisch bedeutenden Serovaren wie Enteritidis und Typhimurium viele Virulenzgene, insbesondere mit Prophagen vorkommende Virulenzgene. Weiterhin sind Isolate des Serovars bisher sensibel gegenüber einer Reihe von antimikrobiell wirksamen Substanzen wie Sulfonamide, Tetracyclin, Streptomycin, Chloramphenicol oder Spectinomycin. Eine enge Verwandtschaft mit einem Serovar, das zusätzlich ein Phase 2-Antigen exprimieren kann, wie Duisburg oder Schwarzengrund, konnte nicht nachgewiesen werden. Dies lässt auch darauf schließen, dass sich das Serovar eigenständig entwickelt hat und nicht erst kürzlich durch eine Deletion der Phase 2 kodierenden Gene entstanden ist. Aufgrund der molekularbiologischen Beobachtungen, des Fehlens einer Reihe von Virulenzgenen und der Epidemiologie des Serovars kann daher das Gefahrenpotential des Serovars für den Menschen momentan als gering eingestuft werden.

***Salmonella enterica* Serovar Paratyphi B (d-Tartrat positiv)**

Ein epidemiologisch interessantes Serovar, das sowohl häufig beim Geflügel (besonders Masthähnchen) in Deutschland, Belgien und den Niederlanden als auch beim Menschen isoliert wird, ist Paratyphi B (Seroformel 4,[5],12:b:1,2). Das White-Kauffmann-Le Minor Schema empfiehlt, das Serovar hinsichtlich seiner Fähigkeit zur d-Tartrat Fermentation zu differenzieren. Es wurde beobachtet, dass die nicht d-Tartrat fermentierende Variante (dT-) typhoid-ähnliche Erkrankungen beim Menschen verursachen kann, während die d-Tartrat fermentierende Variante (dT+) nicht invasiv ist. Wesentlich häufiger wird in industrialisierten Ländern die d-Tartrat fermentierende Variante isoliert. Es wird vermutet, dass diese Variante im wesentlichen durch Geflügel auf den Menschen übertragen wird. Eine Studie aus unserem Labor zeigt jedoch, dass es zwei Abstammungslinien des Serovars Paratyphi B (dT+) gibt, die phänotypisch durch die Expression des O5-Antigens unterscheidbar sind (Huehn et al., 2009b). Während die O5-negative Variante hochklonal ist und ein Tn7-ähnliches Klasse 2 Integron besitzt, das eine *dfrA1-sat1* - *aadA1* Resistenzgenkassette enthält (Miko et al., 2003), die Resistenz gegenüber Trimethoprim, Streptomycin und Spectinomycin kodiert, sind Stämme der O5-positiven Variante eher heterogen und besitzen teilweise eine *Salmonella* Genomic Island 1, die Resistenzen kodiert (Weill et al., 2005; Huehn et al., 2009b). Aus Geflügel aus Westeuropa (Deutschland, Belgien, Niederlande) wird ausschließlich nur die O5-negative Variante isoliert. Sie hat sich seit 2000 massiv in Masthähnchenbeständen etabliert (Miko et al., 2002). Berichte über Infektionen beim Menschen mit dieser Variante sind jedoch sehr selten. Bedeutendere Ausbrüche werden beim Menschen wahrscheinlich ausschließlich durch die O5-positive Variante verursacht (Desenclos et al., 1996; Levings et al., 2006). Ob die Geflügel-assoziierte Variante für den Menschen als gefährlich eingestuft werden kann, ist bisher noch nicht abschließend aufgeklärt und wird in der Zukunft umfangreicher untersucht werden. Ein Vergleich beider Varianten hinsichtlich ihrer Virulenzprofile zeigte, dass sie ein unterschiedliches Repertoire an Virulenzgenen besitzen und trotz derselben Serovarbezeichnung nicht miteinander eng verwandt sind. Sie unterscheiden sich mindestens in vier Fimbrienklustern LPF, STC, STJ und STK und einer Reihe von weiteren hauptsächlich in Prophagen lokalisierten Virulenzgenen, die nur in der O5-positiven Variante auftreten (Huehn et al., 2009b). Aufgrund der Abwesenheit vieler Virulenzgene bei der O5-negativen Variante wird sie gegenüber der O5-positiven als eher weniger gefährlich eingestuft. Mit Sorge wird aber die durchgehende Multiresistenz der Stämme gesehen, die seit kurzem auch gegen die dritte Generation der Cephalosporine resistent sein können. Beachtung muss aber der O5-positiven Variante gegeben werden, deren Reservoir und Übertragungswege noch relativ unbekannt sind. Möglicherweise stehen Reptilien, besonders Schlangen in Verdacht, es ist

aber unklar, ob die aus Schlangen und Menschen isolierten Subtypen genotypisch ähnlich bzw. identisch sind. Ihr Virulenzgenrepertoire ähnelt eher dem des Serovars Typhimurium.

***Salmonella enterica* Serovar 4,[5],12:i:-**

In den letzten Jahren gibt es vermehrt Isolate, die eine monophasische Variante des Serovars Typhimurium zuzuordnen sind. Sie exprimieren nicht mehr die zweite H-Antigen-Phase, besitzen aber sonst die Seroformel des Serovars Typhimurium. Ein Vergleich des Virulenzgenrepertoires zeigte, dass die monophasische Variante mit Typhimurium (biphasisch) ein identisches Repertoire an Fimbrienkluster (außer PEF, Plasmid-kodierte Fimbriae) besitzt und auch andere chromosomal kodierte Gene übereinstimmen. Das in Isolaten des Serovars Typhimurium häufig vorkommende Virulenzplasmid fehlt jedoch in der monophasischen Variante. Der Haupttyp ist vierfach-resistent gegenüber Ampicillin, Streptomycin, Sulfonamid und Tetracyclin und gehört dem Phagentypen DT193 an. Sie werden durch die Resistenzgene *bla*_{TEM}, *strA/strB*, *sul2* und *tet(B)* kodiert. Das Serovar wird seit 2002/2003 in Deutschland immer häufiger von Schweinen und Rindern isoliert. Zeitgleich stiegen auch die Isolationszahlen beim Menschen an. Interessanterweise erfolgt die Verbreitung des Serovars auf Kosten des Serovars Typhimurium, dessen Isolationszahlen mit dem Anstieg der monophasischen Variante bei Schweinen und Menschen zurückgehen. Für 2008 beträgt der Anteil der monophasischen Variante bezogen auf alle Typhimurium Isolate beim Menschen ca. 40% und beim Tier und Lebensmittel ca. 33 %. Aufgrund der hohen Ähnlichkeit des Virulenzgenprofils der monophasischen Variante zu Typhimurium und seiner engen Verwandtschaft sowie Infektionsraten beim Menschen kann es als ebenso gefährlich wie das Serovar Typhimurium eingestuft werden. Seit der erstmaligen Beschreibung einer monophasischen Typhimurium Variante in Spanien (Echeita et al., 1999), die dem Phagentypen U302 angehörte, erfolgt inzwischen die Verbreitung weltweit (Switt et al., 2009).

Der weltweite Anstieg der monophasischen Typhimurium Variante 4,[5],12:i:- kann mit der explosionsartigen Verbreitung des Serovars Typhimurium Phagentyp DT104 verglichen werden. Der Subtyp hat sich von einem niedrigen Niveau aus im Nutztier Rind und Schwein verbreitet und verursachte mit geringer zeitlicher Verzögerung beim Menschen immer häufiger Salmonellosen. Bereits 1996 belegte er Rang 2 nach Enteritidis PT4 in der Häufigkeitsskala der vorkommenden Erregertypen (Liesegang et al., 1997). Vergleichbar ist auch die bisher relative hohe Klonalität zwischen der aufkommenden monophasischen Variante und dem damals sich verbreitenden Phagentyp DT104, der eine Antibiotika-Mehrfachresistenz gegenüber Chloramphenicol/Florfenicol, Streptomycin, Sulfonamid, Tetracyclin und die β -Lactam Antibiotika besitzt (Baggesen et al., 2000). Geht man davon aus, dass die monophasische Variante sich ähnlich erfolgreich wie der Phagentyp DT104 weiter verbreiten wird, ist in den nächsten Jahren noch mit steigenden Isolationszahlen zu rechnen. Die Ursache für die Verdrängung bzw. Explosion einer Variante sind vielfältig. Einerseits kann es mit veränderten Haltungsbedingungen bei Tieren in Zusammenhang stehen, die der Variante einen Vorteil geben. Andererseits kann eine Nutztierpopulation und auch humane Population einen gewissen Grad an Immunität erlangt haben, wodurch eine lang anhaltend persistierende Variante zurückgedrängt wird und Platz für den nächsten Subtypen macht. In diesem Zusammenhang mögen auch die in Deutschland laufenden *Salmonella* Impfprogramme einen Einfluss auf den Serovarwechsel haben.

Literatur

Anonymous (2003). Regulation (EC) No 2160/2003 of the European Parliament and of the Council of 17 November 2003 on the control of salmonella and other specified food-borne zoonotic agents. (http://europa.eu.int/eur-lex/pri/en/oj/dat/2003/l_325/l_32520031212en00010015.pdf). Official J. Euro. Union L325-1-L325/14: 12.12.2003.

- Anonymous (2009). Salmonellose. In Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2008, T.Eckmanns, ed. (Berlin: Robert-Koch-Institut), pp. 152-156.
- Baggesen,D.L., Sandvang,D., and Aarestrup,F.M. (2000). Characterization of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104 isolated from Denmark and comparison with isolates from Europe and the United States. *J. Clin. Microbiol.* *38*, 1581-1586.
- Desenclos,J.C., Bouvet,P., Benz-Lemoine,E., Grimont,F., Desqueyroux,H., Rebiere,I., and Grimont,P.A. (1996). Large outbreak of *Salmonella enterica* serotype Paratyphi B infection caused by a goats' milk cheese, France, 1993: a case finding and epidemiological study. *BMJ* *312*, 91-94.
- Echeita,M.A., Aladuena,A., Cruchaga,S., and Usera,M.A. (1999). Emergence and spread of an atypical *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype 4,5,12:i:- strain in Spain. *J. Clin. Microbiol.* *37*, 3425.
- EFSA (2008). Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards on a request from the European Commission on a quantitative microbiological risk assessment on *Salmonella* in meat: Source attribution for human salmonellosis from meat. *The EFSA Journal* *625*, 1-32.
- Huehn,S., Bunge,C., Junker,E., Helmuth,R., and Malorny,B. (2009a). Poultry associated *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar 4,12:d:- reveals high clonality and a distinct pathogenicity gene repertoire. *Appl. Environ. Microbiol.* *75*, 1011-1020.
- Huehn,S., Helmuth,R., Bunge,C., van Pelt,W., and Malorny,B. (2009b). Characterization of pathogenic and resistant genome repertoire reveals two clonal lines in *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Paratyphi B (+)-tartrate positive. *Foodborne Path. Dis.* *6*, 431-443.
- Levings,R.S., Lightfoot,D., Hall,R.M., and Djordjevic,S.P. (2006). Aquariums as reservoirs for multidrug-resistant *Salmonella* Paratyphi B. *Emerg. Infect. Dis.* *12*, 507-510.
- Liesegang,A., Prager,R., Streckel,W., Rabsch,W., Gericke,B., Seltmann,G., Helmuth,R., and Tschäpe,H. (1997). Wird der Salmonella-enterica-Stamm DT104 des Serovars Typhimurium der neue führende Epidemietyp in Deutschland? *Robert-Koch Info* *1*, 6-10.
- Miko,A., Guerra,B., Schroeter,A., Dorn,C., and Helmuth,R. (2002). Molecular characterization of multiresistant d-tartrate-positive *Salmonella enterica* serovar Paratyphi B isolates. *J. Clin. Microbiol.* *40*, 3184-3191.
- Miko,A., Pries,K., Schroeter,A., and Helmuth,R. (2003). Multiple-drug resistance in D-tartrate-positive *Salmonella enterica* serovar Paratyphi B isolates from poultry is mediated by class 2 integrons inserted into the bacterial chromosome. *Antimicrob. Agents Chemother.* *47*, 3640-3643.
- Switt,A.I., Soyer,Y., Warnick,L.D., and Wiedmann,M. (2009). Emergence, distribution, and molecular and phenotypic characteristics of *Salmonella enterica* serotype 4,5,12:i:-. *Foodborne. Pathog. Dis* *6*, 407-415.
- Weill,F.X., Fabre,L., Grandry,B., Grimont,P.A., and Casin,I. (2005). Multiple-antibiotic resistance in *Salmonella enterica* serotype Paratyphi B isolates collected in France between 2000 and 2003 is due mainly to strains harboring *Salmonella* genomic islands 1, 1-B, and 1-C. *Antimicrob. Agents Chemother.* *49*, 2793-2801.

Risiko orientierte Untersuchungs- und Überwachungssysteme für Lebensmittel

Lüppo Ellerbroek
Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin

Seit Jahrzehnten werden in Deutschland Lebensmittel kontrolliert und untersucht, ob sie ohne Schaden für den Menschen verzehrt werden können und ob sie entsprechend den rechtlichen Vorgaben gekennzeichnet wurden. Die Untersuchungseinrichtungen der Länder und Kommunen berichten auf regionaler Basis regelmäßig über Mängel und Beanstandungen sowie über "risikoreichere" Lebensmittel, die bei den wiederkehrenden Untersuchungen aufgefallen sind. Schon seit Jahren gleichen sich die amtlichen Berichte. Es sind kaum Veränderungen und Verbesserungen festzustellen. Auch kommen aus dem sehr vielfältigen und komplexen Lebensmittelangebot immer wieder andere Produkte oder Produktvariationen zur Untersuchung. Gleichzeitig hat sich der Lebensmittelmarkt in den vergangenen Jahren dramatisch verändert: Es ist eine zunehmende Konzentration auf wenige Hersteller mit hoher Produktionskapazität und vor allem überregionalem Vertriebsnetz festzustellen.

Diese neue Konstellation hat das alte Prinzip der regionalen Untersuchungspraxis und die Auswahl der Lebensmittelproben in Frage gestellt. Daher hat die Europäische Union mit der Einführung des neuen gemeinschaftlichen Lebensmittelrechts entschieden, dass zukünftig Lebensmittelkontrollen in den Mitgliedsstaaten auf Risikobasis durchzuführen sind. Ziel ist es demnach, Lebensmittel und deren Herstellung um so intensiver und häufiger zu überprüfen, je höher das betreffende Risiko beim Verzehr des Lebensmittels für den Menschen einzustufen ist. Im Rahmen dieser neuen Strategie sind Lebensmittel hinsichtlich unterschiedlicher Gefahren einer Risikobewertung im Sinne der so genannten Basis-Lebensmittel-Verordnung (EG) Nr. 178/2002 zu unterziehen.

Mit dem neuen EU-Hygienericht wird in den kommenden Jahren auch eine flexibilisierte Praxis der Schlachttier- und Fleischuntersuchung Wirklichkeit werden. Moderne landwirtschaftliche Produktionsbedingungen, insbesondere für Mastschweine, haben zu einer verbesserten Tiergesundheit geführt. Starre Untersuchungsschemata können unter bestimmten Voraussetzungen gelockert werden. Um Mißverständnissen vorzubeugen: Nach wie vor muß jedes (lebende) Schlachttier jeder Schlachtkörper einzeln untersucht werden. Aber wie? Wird nur etwas weggelassen oder kommt etwas an anderer Stelle hinzu?

Risikobewertung

Mit der systematischen Risikobewertung steht nunmehr ein spezialisiertes Verfahren zur Verfügung, um aktuelle wissenschaftliche Daten und Informationen zu verschiedenen Gesundheitsgefahren in Lebensmitteln klar, folgerichtig und logisch zu bewerten. Sie stellt ein wertvolles Werkzeug im Dienste sowohl von Bewertungsinstituten, wie z.B. EFSA, das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) als auch für Behörden dar, die für die Lebensmittelüberwachung zuständig sind. Risikobewertungen liefern dem Risikomanagement der Länder eine Entscheidungsgrundlage für die Auswahl von Proben zur Untersuchung.

Im Rahmen der Risikobewertung werden mikrobiologische Gefahren, wie pathogene Mikroorganismen beispielsweise in Geflügelfleisch in verschiedene Gefahrenklassen eingeteilt. So muss z.B. aufgrund der großen Zahl humaner Erkrankungsfälle infolge von *Salmonella* spp. oder *Campylobacter* spp. beiden Mikroorganismen die höchste Priorität in Europa eingeräumt werden. Andere Bakterien, wie z.B. *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Shigella* spp. und *Staphylococcus aureus*, deren Pathogenität für den Menschen bekannt ist, können ebenfalls durch Geflügelfleisch übertragen werden. Eine Kontamination mit diesen pathogenen Mikroorganismen geschieht hauptsächlich während der Gewinnung und häuslichen Zubereitung. Viele weitere pathogene Mikroorganismen werden im Zusammenhang mit Geflügelfleisch genannt, sind jedoch nach bisheriger Kenntnis von untergeordneter Bedeutung. Im Rahmen der Farm-to-fork-Strategie kommt es darauf an, pathogene Mikroorganismen an der

am besten geeigneten Produktionsstufe zu eliminieren oder zumindest ihre Keimzahl zu reduzieren (HACCP-gestützte Verfahren).

Die Risikodefinition verlangt eine Risikokategorisierung von Lebensmitteln. Danach sind zunächst die Gefahren im Zusammenhang mit einem Lebensmittel oder einem unter gleichartigen Bedingungen produzierten und verzehrten Lebensmittel zu identifizieren, um daraus das entsprechende Risiko unter Berücksichtigung der Wahrscheinlichkeit des Vorkommens von unerwünschten gesundheitlichen Auswirkungen in hoch, mittel oder niedrig einzustufen. Das Ziel dieser Kategorisierung in verschiedene Risikostufen ist es, die ermittelten Risiken angemessen im Lebensmittelüberwachungssystem berücksichtigen zu können. Bei der Auswahl von Lebensmitteln für die Kontrollpläne sollen die Lebensmittelherstellungskette (mit den sog. kritischen Produktionsstufen) und das Ausmaß der Gefahren, die mit dem entsprechenden Rohmaterial, mit möglichen Zwischenprodukten oder auch mit den Herstellungsgegebenheiten verbunden sind, berücksichtigt werden.

Einstufung des Gefährdungspotentials im Rahmen der Schlachtier- und Fleischuntersuchung

Schweinefleisch kann Keime enthalten, die für den Menschen eine Gesundheitsgefahr darstellen. Um belastetes Fleisch frühzeitig zu erkennen, wurde Anfang des 20. Jahrhunderts die obligatorische Fleischschau von Schlachttieren eingeführt. Dies war ein Durchbruch für den gesundheitlichen Verbraucherschutz. Durch die konsequente Anwendung genormter Fleischuntersuchungsprozeduren konnten die sogenannten „klassischen“ Zoonosen, wie Tuberkulose und Brucellose, größtenteils getilgt werden. Diese Anstrengungen und verbesserte Haltungsbedingungen haben in den letzten 100 Jahren zu einem deutlich besseren Gesundheitszustand der Schlachttiere geführt. Allerdings wird heutzutage diese pathologisch-anatomisch orientierte Fleischuntersuchung den aktuellen Gefahren für die menschliche Gesundheit nicht mehr gerecht.

Auf die heute vorherrschenden, beim Tier subklinisch verlaufenden Zoonosen weisen (ebenso wie auf mögliche Rückstände) keine sichtbaren Veränderungen an Tierkörpern und Organen hin. Zoonosen gehören zu den wichtigsten Verursachern von Durchfallerkrankungen beim Menschen. So sind es die bei den Schlachttieren vorkommenden inapparenten Zoonosen, die heute im Vordergrund stehen und eine wichtige Ursache humaner Durchfallerkrankungen sind. Die bisherigen Fleischuntersuchungsverfahren sind nur ungenügend auf die Diagnose von Zoonosen, wie Salmonellen, Mykobakterien und Yersinien, eingerichtet. Auch die Präventionsmaßnahmen im Bereich des Schlachthofes zur Kontaminationsminderung von Fleisch mit diesen Zoonoseerregern sind unzureichend. Diese Erkenntnisse sollten bei modernen Verfahren der Schlachtier- und Fleischuntersuchung berücksichtigt werden.

Die Europäische Union hat bereits im Frühjahr 2004 mit der Verordnung (EG) Nr. 854/2004 die Grundlagen für die Einführung einer Risiko orientierten Fleischuntersuchung geschaffen. Mit der Verordnung (EG) Nr. 1244/2007 wurden ergänzende Durchführungsvorschriften hierzu getroffen, um eine gemeinschaftsweit möglichst einheitliche Anwendung sicherzustellen. Darin ermöglicht sie der zuständigen Behörde ein Verfahren, in dem die Fleischuntersuchung bei Mastschweinen auf eine Besichtigung beschränkt werden kann. Dies gilt, sofern die Schlachttiere unter kontrollierten Bedingungen und in integrierten Produktionssystemen gehalten wurden, der Lebensmittelunternehmer entsprechende Informationen zur Lebensmittelkette zur Verfügung gestellt hat und eine Anzahl an ausgewählten Tieren regelmäßig serologisch und/oder mikrobiologisch überwacht wird. Dieser Ansatz will insbesondere die inapparenten Zoonosen und andere mögliche Gefahren für die menschliche Gesundheit berücksichtigen, die bislang im Rahmen der sogenannten klassischen Schlachtier- und Fleischuntersuchung nicht oder nicht ausreichend erkannt werden konnten. Es sind weitergehende Informationen nötig, wie sie in den Verordnungen (EG) Nr. 852-854/2004 vorgeschrieben werden. Zukünftig müssen demnach bestimmte Vorabinformationen des Her-

kunftsbetriebs zu den Schlachtschweinen vor deren Anlieferung an den Schlachthof vorliegen.

Kommen Mastschweine, die seit dem Absetzen in integrierten Produktionssystemen in kontrollierter Haltung gehalten werden, mit diesen Lebensmittelketteninformationen zum Schlachthof, so kann die zuständige Behörde auch darüber entscheiden, ob die traditionelle Untersuchungsprozedur für die jeweilige Lieferpartie noch angemessen ist, oder ob eine visuelle Fleischuntersuchung ausreicht. Dabei wird nach wie vor nicht stichprobenartig sondern jeder Schlachtkörper untersucht, da es sich um eine nicht zerstörende (visuelle) Prüfung und zahlenmäßig auch erfaßbare Stückzahl handelt. Risiko orientiert bedeutet, der Untersuchungsgang wird an die veränderten Risiken bei der Aufzucht und Mast der Tiere sowie dem Schlachtvorgang angepaßt.

Einstufung des Gefährdungspotentials von relevanten Lebensmitteln für die Lebensmitteluntersuchung

Anders als bei der Schlachttier- und Fleischuntersuchung werden bei der Risiko orientierten Lebensmitteluntersuchung aus der Vielzahl der angebotenen Lebensmittel von den für die Lebensmittelüberwachung zuständigen Behörden Stichproben entnommen und deren Untersuchung veranlaßt. Dabei werden Produkte ausgewählt, bei denen entweder Gefahren, die mit gesundheitlichen Beeinträchtigungen einhergehen können, vermutet werden oder deren Gefährdungspotential noch unbekannt ist und daher überprüft werden soll.

Sofern die einzelnen Gefahrenarten nicht gleichermaßen in allen Produktarten (Endprodukte) einer Produktgruppe vorkommen, sind die einzelnen Erzeugnisarten hinsichtlich der betreffenden Gefahr differenziert einzustufen. So ist z.B. das Auftreten mikrobiologischer Gefahren wie Salmonellen, Listerien, *Staphylococcus aureus* oder *Campylobacter* in Rohmilchfrischkäse aufgrund des fehlenden Erhitzungsschrittes bei der Herstellung weitaus wahrscheinlicher, als in erhitzten Milchprodukten. Im Rahmen der empirischen Einschätzung der Gefahrenauswirkung können nur bereits festgestellte Risiken berücksichtigt werden, da für unbekannte Gefahren keine Erfahrungswerte vorliegen. Dabei sollten die die Gesundheit beeinträchtigenden Auswirkungen der bekannten Gefahren nach derzeitigem Stand des Wissens einheitlich als „schwer“ angenommen werden, da eine Abstufung unterschiedlicher Schweregrade, z. B. nach kurz- oder langfristigen Auswirkungen nicht sinnvoll erscheint. Des Weiteren ist auch die Eintrittswahrscheinlichkeit der Gefahr durch den Verzehr eines belasteten Lebensmittels einzubeziehen. Sofern das Vorkommen einer konkreten Gefahr in einem in einem Erzeugnis wahrscheinlich ist, könnte dazu als „Maß“ für die Eintrittswahrscheinlichkeit der Gesundheitsbeeinträchtigung beim Menschen entweder die Gesamt-Verzehrmenge oder die im Inland produzierte (Teil-) Verzehrmenge, importierte Mengen oder die aus anderen Mitgliedsstaaten verbrachte Menge der am Markt befindlichen Produkte zu Grunde gelegt werden. Ist es dagegen unwahrscheinlich, dass eine Gefahr in einem Lebensmittel überhaupt vorkommt, ist es folglich auch „ungefährlich“, dieses Produkt zu verzehren. Was nicht vorkommt, kann nichts auslösen, egal wie viel man davon ißt.

Mikrobiologie I

Prädiktive Mikrobiologie – verfügbare Ressourcen sowie Möglichkeiten und Grenzen ihrer Anwendung

Matthias Filter, Annemarie Käsbohrer und Bernd Appel
Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin

Zusammenfassung

Der Begriff „prädiktive Mikrobiologie“ steht für einen Forschungsbereich an der Schnittstelle zwischen experimenteller Mikrobiologie, Lebensmitteltechnologie, Mathematik, Statistik und Informationstechnologie. Zielstellung aller Arbeiten in diesem Bereich ist die Entwicklung von Prognosemodellen mit denen das Verhalten oder die Eigenschaften von Mikroorganismen unter bestimmten Umweltbedingungen vorhergesagt werden können. Im Idealfall liefern diese Modelle zudem Rückschlüsse auf zu Grunde liegende biologische Prozesse.

Die Erstellung prädiktiver Modelle basiert auf der Integration von Expertenwissen und experimentellen Daten unter Nutzung mathematischer Algorithmen und ist i.d.R. an die spezifischen Nutzeranforderungen angepasst. Anwendungsbereiche sind z.B.: Teilfragen bei der Identifikation von CCPs in HACCP-Analysen oder bei Expositionsabschätzungen, Prognosen zu Produkteigenschaften und zur Produktsicherheit, Unterstützung von Versuchsplanungen etc..

Ziel dieser Arbeit ist es, den im Bereich „Zoonosen und Lebensmittelsicherheit“ tätigen Wissenschaftlern einen Überblick über die derzeit verfügbaren Ressourcen sowie Anwendungsmöglichkeiten und -grenzen zu geben.

Entwicklung prädiktiver mikrobieller Modelle

Der Einsatz prädiktiver mikrobieller Modelle (PMM) hat sich seit den Anfängen in den 20-er und 30-er Jahren des letzten Jahrhunderts (Bigelow, 1921; Scott, 1937) auf viele Bereiche der Lebensmittelproduktion und insbesondere auf den Bereich der Lebensmittelsicherheit (Legan, 2007; McMeekin et al., 2006; Membre und Lambert, 2008) ausgeweitet. Modelle können einerseits von experimentellen Daten abgeleitet (empirische Modelle) oder auf Basis von Hypothesen entwickelt werden, die Expertenwissen über die dem betrachteten System zu Grunde liegenden biologischen Prozesse integrieren (mechanistische Modelle) (McKellar und Lu, 2003; Ratkowsky et al., 2005). Zur Erstellung empirischer Modelle können Standardverfahren aus dem Bereich der Statistik und Mustererkennung eingesetzt werden, z.B. Regressionsanalysen, Bayes'sche oder neuronale Netze, Entscheidungsbäume u.v.m.. Mechanistische Modelle sind heutzutage ebenfalls in zahlreichen Varianten etabliert (McMeekin et al., 2008); die Schätzung der jeweiligen Modellparameter erfolgt auch hier durch das Anpassen der Modellfunktion an experimentelle Daten (Brul et al., 2007; Lebert und Lebert, 2006).

Möglichkeiten und Grenzen der Anwendung von PMMs:

Beim Einsatz von PMMs sind einige grundsätzliche Hinweise zu beachten (USDA-FSIS, 2005):

- PMMs liefern nur für die experimentellen Bedingungen, auf deren Basis sie erstellt wurden, valide Vorhersagen. Die Verwendung unter veränderten Rahmenbedingungen sollte nur nach vorheriger experimenteller Validierung erfolgen.
- PMMs berücksichtigen stets nur eine begrenzte Zahl von Einflussfaktoren. Die Entscheidung, ob das jeweilige Model trotz der nicht berücksichtigten Einflussgrößen (z.B. physiologischer Zellstatus, evtl. vorhandene protektive Matrixeffekte, die Kultivierungshistorie oder die genetische Ausstattung der Mikroorganismen) im fraglichen Kontext anwendbar ist, muss der Nutzer treffen (Janssen et al., 2008).

- PMMs berücksichtigen in der Regel keine kompetitiven Effekte zwischen verschiedenen Mikroorganismen oder Selektionseffekte durch die Matrix.
- Die Art und die Höhe der mit dem PMM verbundenen Variabilität und Unsicherheit sind vielfach nicht vollständig klar. In einigen Fällen können Vertrauensintervalle falsch oder gar nicht vorhanden sein.

Folglich sollten Einschätzungen zur Sicherheit von Lebensmitteln oder von Produktionsanlagen nicht allein auf den PMM-Vorhersagen beruhen.

Verfügbare Ressourcen:

Die Verbreitung prädiktiver mikrobieller Modelle in der Wissenschaft und Produktionspraxis war in der Vergangenheit einerseits durch die limitierte Abdeckung relevanter Einflussfaktoren oder lückenhafter Kenntnisse zur Physiologie und Genetik der betroffenen Mikroorganismen und andererseits durch das Fehlen einfach bedienbarer Softwarelösungen begrenzt. Geschulte Wissenschaftler können mit Hilfe statistischer Softwarelösungen (z.B. SAS, SPSS, R) aus experimentellen Daten Modelle ableiten oder publizierte Modelle re-implementieren. Für die überwiegend experimentell arbeitenden Nutzer wurden insbesondere in den letzten Jahren Softwarelösungen entwickelt, um unter Verwendung eigener oder öffentlich zugänglicher Daten neue prädiktive mikrobielle Modelle zu erstellen:

- DMFit
<http://ifrswwwdev.ifrn.bbsrc.ac.uk/CombasePMP/DMFit/>.
- Peleg's Excel-Pluginns (Peleg, 2007)
<http://www-unix.oit.umass.edu/~aew2000/ExcelLinks.html>
- Sym'Previus (kostenpflichtig (Leporq et al., 2005))
http://www.symprevius.org/index.php?rub=access_software

Darüber hinaus haben sich Systeme (sogenannte Tertiär-Modelle) etabliert, die bereits veröffentlichte PMM enthalten und diese mit einer intuitiven Benutzeroberfläche zur Vorhersage von mikrobiellen Parametern verbinden:

- Pathogen Modeling Program (Buchanan, 1993)
<http://portal.arserrc.gov/>
- ComBase (Baranyi und Tamplin, 2004)
www.combase.cc
- Sym'Previus (Leporq et al., 2005)
www.symprevius.org
- Seafood Spoilage and Safety Predictor (Dalgaard et al., 2002)
www.dfu.min.dk/micro/sssp/
- Refrigeration Index Calculator (McMeekin et al., 2008)
<http://www.foodsafetycentre.com.au/refrigerationindex.php>
- Microbial Response Viewer (MRV) (Koseki, 2009)
<http://cbnfri.dc.affrc.go.jp/MRV/Welcome.html>
- Shelf Stability Predictor (Ingham et al., 2009)
http://meathaccp.wisc.edu/ST_calc.html

Ausblick

Die prädiktive Mikrobiologie hat sich innerhalb der letzten 30 Jahre zu einem anerkannten Teilbereich im Forschungsgebiet der Mikrobiologie von Lebensmitteln entwickelt. Für viele Fragestellungen im Bereich der Lebensmittelqualität und -sicherheit wurden Algorithmen und Methoden entwickelt, die mit wenig Aufwand an neue Daten, Fragestellungen und Einsatzbereiche angepasst werden können. Durch die internationale Vernetzung der fachlichen Kompetenzen und wissenschaftlicher Ressourcen - insbesondere durch den freien Zugang zu experimentellen Daten (z.B. ComBase-DB) - ist es möglich geworden, neuartige Modelle und Vorhersagen zu generieren, die unter Beachtung der o.g. Hinweise für viele

Mikroorganismen anwendbar sind (Koseki, 2009; van Asselt und Zwietering, 2006). Technologische Neuentwicklungen im Bereich der Nachweis- und IT-Systeme werden diese Entwicklung weiter beschleunigen.

Durch das BfR werden prädiktive Modelle insbesondere zur Erstellung qualitativer/quantitativer Risikobewertungen von Zoonoseerregern entlang der Lebensmittelkette genutzt, die letztendlich eine Abschätzung des Gesundheitsrisikos für den Verbraucher erlauben. Darüber hinaus können diese Modelle dazu beitragen, um *a priori* den Effekt von Interventionsmaßnahmen zu bewerten. Intensive Forschungsarbeiten werden am BfR derzeit auch zu prädiktiven Modellen für hochpathogene Erreger oder bakterielle Toxine durchgeführt.

Literatur

- Baranyi, J., und M. L. Tamplin. 2004. ComBase: A common database on microbial responses to food environments. *J. Food Protection* 67(9):1967-1971.
- Bigelow, W. D. 1921. The Logarithmic Nature of Thermal Death Time Curves. *Journal of Infectious Diseases* 29:528-536.
- Brul, S., S. Van Gerwen, and M. Zwietering. 2007. *Modelling Microorganisms in Food*. Woodhead Publishing Lt., Abington Hall, Abington.
- Buchanan, R. L. 1993. Developing and distributing user-friendly application software. *Journal of Industrial Microbiology* 12(3-5):251-255.
- Dalgaard, P., P. Buch, und S. Silberg. 2002. Seafood Spoilage Predictor - Development and distribution of a product specific application software. *International Journal of Food Microbiology* 73(2-3):343-349.
- Ingham, S. C., B. H. Ingham, D. Borneman et al. 2009. Predicting Pathogen Growth during Short-Term Temperature Abuse of Raw Sausage. *J. Food Protection* 72(1):75-84.
- Janssen, M., A. Verhulst, V. Valdramidis et al. 2008. Inactivation model equations and their associated parameter values obtained under static acid stress conditions cannot be used directly for predicting inactivation under dynamic conditions. *International Journal of Food Microbiology* 128(1):136-145.
- Koseki, S. 2009. Microbial Responses Viewer (MRV): A new ComBase-derived database of microbial responses to food environments. *International Journal of Food Microbiology* 134(1-2):75-82.
- Lebert, I., und A. Lebert. 2006. Quantitative prediction of microbial behaviour during food processing using an integrated modelling approach: a review. *International Journal of Refrigeration* 29(6):968-984.
- Legan, D. 2007. Application of models and other quantitative microbiology tools in predictive microbiology. *Modelling Microorganisms in Food*:82-109.
- Leporq, B., J. M. Membre, C. Dervin et al. 2005. The "Sym'Previus" software, a tool to support decisions to the foodstuff safety. *International Journal of Food Microbiology* 100(1-3):231-237.
- McKellar, R. C., and X. E. Lu. 2003. *Modeling microbial responses in food*. CRC Press., Boca Raton, FL.
- McMeekin, T., J. Bowman, O. McQuestin et al. 2008. The future of predictive microbiology: Strategic research, innovative applications and great expectations. *International Journal of Food Microbiology* 128(1):2-9.
- McMeekin, T. A., J. Baranyi, J. Bowman et al. 2006. Information systems in food safety management. *International Journal of Food Microbiology* 112(3):181-194.

Membre, J.-M., und R. J. W. Lambert. 2008. Application of predictive modelling techniques in industry: From food design up to risk assessment. *International Journal of Food Microbiology* 128(1):10-15.

Peleg, M. 2007. Letter to the editor of the *International Journal of Food Microbiology* on software to calculate food safety. *International Journal of Food Microbiology* 118(1):97-98.

Ratkowsky, D. A., J. Olley, und T. Ross. 2005. Unifying temperature effects on the growth rate of bacteria and the stability of globular proteins. *Journal of Theoretical Biology* 233(3):351-362.

Scott, W. J. 1937. The growth of microorganisms on ox muscle. I. The influence of temperature. *Journal of the Council of Scientific and Industrial Research, Australia* 10:338-350.

USDA-FSIS. 2005. Use of Microbial Pathogen Computer Modeling in HACCP Plans, FSIS Notice 25-05.

van Asselt, E. D., und M. H. Zwietering. 2006. A systematic approach to determine global thermal inactivation parameters for various food pathogens. *International Journal of Food Microbiology* 107(1):73-82.

Bekämpfung von *Campylobacter* - aktuelle Entwicklung und Forschungsansätze

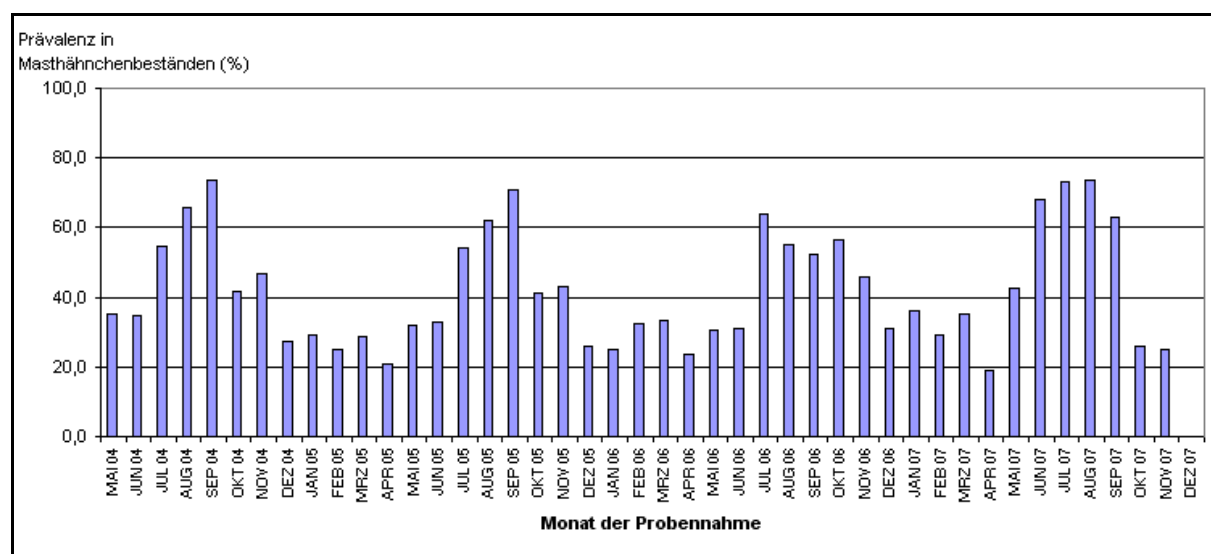
Thomas Alter und Greta Gölz
Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin

1. *Campylobacter* - Bedeutung für den gesundheitlichen Verbraucherschutz

Thermophile *Campylobacter* (*C.*) spp. stellen neben den Salmonellen eine der häufigsten Ursachen für bakteriell bedingte Magen-Darm-Erkrankungen beim Menschen dar. In zahlreichen Ländern ist die Zahl der an Campylobacteriose erkrankten Menschen höher als die Anzahl von humanen Salmonellen-Infektionen. Es kann beobachtet werden, dass *Campylobacter*-Infektionen in den letzten Jahren auch in der öffentlichen Wahrnehmung an Bedeutung gewinnen. Dies verstärkt die Notwendigkeit, zügig geeignete Handlungsstrategien zur Prävention und Kontrolle von thermophilen *Campylobacter* spp. in der Lebensmittelkette zu erarbeiten.

Ein nationales Masthähnchenmonitoringprogramm (2004–2007) bezifferte die Prävalenz von thermophilen *Campylobacter* in deutschen Mastgeflügelbeständen auf ca. 40 % (Alter und Reetz, 2008). Eine starke Saisonalität war dabei erkennbar. Die höchsten Prävalenzen fanden sich in den Sommermonaten. Jedoch lag auch in den Wintermonaten der Anteil *Campylobacter*-positiver Herden immer über 20 % (Abb. 1).

Abb. 1: *Campylobacter*-Prävalenzen in deutschen Masthähnchenherden



2. Bekämpfungsmaßnahmen

Die Überwachung von thermophilen *Campylobacter* spp. ist in der Richtlinie 2003/99/EG zur Überwachung von Zoonosen und Zoonoseerregern geregelt. Hierbei wird in Anhang I der Richtlinie 2003/99/EG die Campylobacteriose und ihre Erreger als überwachungspflichtige Zoonose bzw. Zoonoseerreger gelistet. Anhang II weist auf die Verpflichtung der EU-Mitgliedstaaten hin, Informationen zur Antibiotikaresistenz zumindest über eine repräsentative Anzahl von Isolaten von *C. jejuni* und *C. coli* von Rindern, Schweinen und Geflügel sowie aus diesen Tieren gewonnenen Lebensmitteln zu liefern.

Zahlreiche Studien weisen darauf hin, dass derzeit eine komplette Elimination von *Campylobacter* aus der Lebensmittelkette in Mitteleuropa praktisch nicht erreichbar ist. Zur Eradikation von *Campylobacter* aus der Lebensmittelkette fehlen weiterhin effektive und praxisnahe Lösungen. Gegenwärtiges Ziel sollte es daher sein, Bekämpfungsmaßnahmen zur Minimie-

zung des Vorkommens von *Campylobacter* spp. in den Beständen zu etablieren und die quantitative Belastung von Tieren und Lebensmitteln mit *Campylobacter* zu senken. Hierzu erscheint eine Kombination mehrerer Verfahren auf verschiedenen Stufen der Lebensmittelkette (schwerpunktmäßig im Geflügelsektor) am erfolgversprechendsten.

2.1 Maßnahmen im Primärproduktionsbereich

Interventionsmaßnahmen im Primärproduktionsbereich müssen darauf gerichtet sein, den Eintrag von thermophilen *Campylobacter* in die Bestände und die Infektion der Tiere zu verhindern sowie die Übertragungsrate innerhalb einer Herde zu senken.

Aufgrund des breiten Wirtsspektrums und des häufigen Vorkommens von thermophilen *Campylobacter* spp. ist jedoch eine Reduktion der Prävalenz im Primärproduktionsbereich schwierig. Häufig konzentrierten sich die Interventionsmaßnahmen in der Primärproduktion auf die Salmonellen-Bekämpfung, während es kaum praktische Erfahrungen bei *Campylobacter* gibt. Erschwerend kommt die geringe minimale Infektionsdosis ($< 3 \log_{10}$ Zellen) von *Campylobacter* spp. für Geflügel hinzu (Chen et al. 2006). Als mögliche Eintragsquellen von *Campylobacter* spp. in die Bestände gelten die unterschiedlichsten belebten und unbelebten Vektoren, von denen das Betreuungspersonal und kontaminiertes Tränkwasser die größte Bedeutung besitzen. Die vertikale Übertragung wird von den meisten Autoren weitgehend ausgeschlossen (Chuma et al. 1997).

2.1.1 Allgemeine Hygienemaßnahmen

Die intestinale Kolonisation des Geflügels mit *Campylobacter* kann selbst durch ein gutes Hygiene-Management (u.a. Personalhygiene, Insektenbekämpfung, Fernhalten von Nagern und Wildvögeln, keine gemeinsame Haltung mit anderen Nutztieren, gründliche Reinigung und Desinfektion der Stallungen vor Neubesatz) nicht vollständig verhindert werden. Jedoch werden Verzögerungen bei der Infektion der Bestände durch die Stärkung allgemeiner Hygienemaßnahmen erreicht. Dies kann sich in sinkenden Prävalenzen oder niedrigeren Erregerkonzentrationen zum Zeitpunkt der Schlachtung widerspiegeln. Erfahrungen aus den skandinavischen Ländern demonstrieren, dass unter spezifischen Umweltbedingungen und einer speziellen landwirtschaftlichen Struktur im Geflügelbereich eine massive Senkung der Infektion von Geflügelherden (Norwegen erreicht Prävalenzen von 7 % in den Geflügelherden) über strikte „biosecurity“-Maßnahmen möglich ist. Es erscheint notwendig, diese Erfahrungen auf nationale Bedingungen zu übertragen und deren Wirksamkeit (einzelne Maßnahmen bzw. die Kombination mehrerer Verfahren) unter Praxisbedingungen zu verifizieren (Adkin et al. 2006).

2.1.2 Spezifische Bekämpfungsmaßnahmen

Der Einsatz spezifischer Maßnahmen zur Bekämpfung von thermophilen *Campylobacter* ist derzeit äußerst limitiert. Bisher sind keine wirksamen **Impfstoffe** einsetzbar. Dies scheiterte vor allem an der antigenetischen Vielfalt der Stämme. In Forschungsansätzen konnte eine Antikörperbildung zwar nachgewiesen werden, jedoch konnten verschiedene Tot- oder Lebendvakzine nicht vor einer Infektion schützen. Andererseits deuten Entwicklungen in der Human- und Veterinärmedizin darauf hin, dass unter Einsatz neuer Verfahren erfolgversprechendere Ansätze nunmehr vorliegen.

Der in der Literatur beschriebene Einsatz von **lytischen (virulenten) Bakteriophagen** zur Senkung der quantitativen Belastung mit *Campylobacter* erscheint interessant. Bisher konnte im Hühnerdarm und auf Geflügelkarkassen nachgewiesen werden, dass die *Campylobacter*-Zahl unter Anwesenheit virulenter Bakteriophagen um bis zu zwei Zehnerpotenzen reduziert

werden kann. Die *in vitro* gewonnenen Ergebnisse müssen jedoch *in vivo* unter praxisnahen Bedingungen verifiziert werden.

Nur wenige Studien (und zudem mit voneinander abweichenden Ergebnissen) untersuchen die Wirkung der Applikation von **Probiotika** auf die *Campylobacter*-Besiedlung bei Hühnern (Hakkinen und Schneitz, 1999). Der Einsatz von Probiotika (z.B. *Lactobacillus acidophilus* und *Streptococcus faecium*) zeigte zwar in einzelnen Untersuchungen eine Verringerung der Besiedlung des Kükendarms mit *Campylobacter* spp., jedoch konnten diese Ergebnisse bisher von anderen Forschungsgruppen nicht verifiziert werden (Wagenaar et al. 2006).

Über die Bedeutung von weiteren Verfahren zur Stärkung der Widerstandsfähigkeit der Tiere gegen eine *Campylobacter*-Infektion (z.B. Einsatz von antikörperhaltigem Eipulver, Übertragung maternalen Antikörper) existieren wenig belastbare Daten in der Literatur (Sahin et al. 2001). Jedoch weist die Abwesenheit von *Campylobacter* in den ersten Lebenstagen von Küken darauf hin, dass protektive Effekte in dieser Zeit vorliegen. Cawthraw und Newell (2007) konnten in einer Studie belegen, dass die experimentelle Infektion und Kolonisation von Küken *Campylobacter*-belasteter Elterntiere in den ersten Lebenstagen signifikant schlechter erfolgte als bei Küken *Campylobacter*-negativer Elterntiere. Mit zunehmendem Alter glichen sich diese Unterschiede. Dies werten die Autoren als einen Hinweis, dass maternale Antikörper eine Rolle bei der Verhinderung der Kolonisation von jungen Küken spielen können.

2.2 Schlachthygiene

Die Wirkung der **logistischen Schlachtung** auf die *Campylobacter*-Belastung von Geflügelkarkassen wird kontrovers diskutiert. Zahlreiche Autoren und alle bisher hierfür erstellten Risikobewertungen stimmen jedoch überein, dass diese Maßnahme nur bei sehr niedrigen *Campylobacter*-Prävalenzen in den Schlachtchargen wirksam ist (Rosenquist et al. 2003).

Die Erhöhung der **Brühwassertemperatur** bei der Geflügelschlachtung von 50 °C auf 55 °C führt zu einer Reduktion der *Campylobacter*-Zahl. Andererseits kann es durch das Brühbad sowie den Rupfer und die Eviszierung zur Kreuzkontamination kommen (sowohl innerhalb eines Schlachtpostens als auch zwischen verschiedenen Schlachtposten an einem Schlachttag). Rupfen und Eviszierung können zudem zur Rekontamination mit fäkalen *Campylobacter*-Stämmen führen. Bemerkenswert ist die beobachtete Einschränkung der Stammvielfalt während des Schlachtprozesses: Spezifische Genotypen besitzen offensichtlich ein höheres Überlebenspotential unter solchen Stressoren (Alter et al. 2005).

Eine Reduktion der *Campylobacter*-Konzentration auf Geflügelkarkassen um den Faktor 100 kann durch die Prozessschritte der Schlachtung erfolgen (Rosenquist et al., 2003). Bei durchschnittlichen *Campylobacter*-Konzentrationen von 6-7 log₁₀ KbE/g Fäzes, wie sie in einer dänischen und einer britischen Risikobewertungsstudie ermittelt wurden, finden sich nach der Kühlung noch 5-6 log₁₀ KbE/Karkasse.

2.3 Behandlungen des Schlachtkörpers bzw. des Lebensmittels

Eine Maßnahme zur Senkung der *Campylobacter*-Belastung von Schlachtkörpern, die in verschiedenen Ländern bereits erprobt und teilweise routinemäßig eingesetzt wird, ist das Einfrieren *Campylobacter*-positiver Karkassen (häufig wird das sogenannte „**crust-freezing**“ angewendet). Hierbei werden Reduktionsraten von 1-2 log₁₀-Stufen erreicht. Island führte sogar ein obligatorisches Einfrieren von Karkassen aus *Campylobacter*-positiven Schlachtchargen ein (Stern et al. 2003).

Die Behandlung von Geflügelkarkassen mit **Ultraschall und Dampf** (Sonosteam-Verfahren;

in Dänemark und Deutschland in Testung), die eine durchschnittliche Senkung der *Campylobacter*-Kontamination von 2,5 log₁₀ KbE/ml ermöglicht, oder die Dekontamination mit organischen Säuren bzw. die Bestrahlung der Geflügelprodukte können ebenfalls die *Campylobacter*-Belastung senken.

Organische Säuren, einzeln oder in Kombinationen angewendet, zeigen auf *Campylobacter* spp. eine starke bakterizide Wirkung. So können Applikationen von organischen Säuren, z.B. als Tränkwasserzusatz auf Geflügelfarmen, präventiv eingesetzt werden. Ansatzweise kommen Milchsäuresprays während des Schlachtprozesses zur Anwendung, welche den Kontaminationslevel von *Campylobacter* auf Geflügelkarkassen reduzieren. Allerdings besteht für *Campylobacter*, wie für viele andere pathogene Mikroorganismen auch, die Möglichkeit der Adaptation an Säuren oder andere Stressoren. Für thermophile *Campylobacter* spp. wurden diese Effekte bisher nur *in vitro* beobachtet (Bori et al. 2006).

Campylobacter zeigen sich empfindlich gegenüber verschiedenen Maßnahmen der Konservierung, wie beispielsweise Säuerung, Trocknung oder Salzung. Hohe Temperaturen, wie sie beim Kochen oder Braten erreicht werden, töten *Campylobacter* wirkungsvoll und schnell ab. Temperaturen im Bereich von 52 °C bis 60 °C senken die Keimzahl. Jedoch können hierbei *Campylobacter* unter Umständen überleben (z.B. im Brühwasser in der Geflügelschlachtung). Zu einer raschen Abtötung kommt es erst zwischen 60 °C und 74 °C. Auch Reifungsprozesse in Putenrohwürsten führen rasch zu einer starken Senkung des *Campylobacter*-Levels in diesem Produkt (Alter et al. 2006).

Unter **Kühlung** überleben thermophile *Campylobacter* gut. Das **Gefrieren** von Fleisch senkt die quantitative Belastung von *Campylobacter*, führt aber nicht zu einer vollständigen Eliminierung. Diese Mikroorganismen können mehrere Monate auf und in gefrorenen Produkten überleben und sind nach dem Auftauen von kontaminierten Produkten vor allem im Tauwasser vorhanden. Dieses Tauwasser verbessert die Überlebensfähigkeit von *Campylobacter* unter verschiedenen Stressoren.

Letztendlich kommt dem Verbraucher bei der Unterbrechung der Infektkette eine große Bedeutung zu: Quantitative Risikoschätzungen kamen zu dem Schluss, dass eine gute Küchenhygiene und die Vermeidung von Kreuzkontaminationen in der Küche als wichtige Vorsorgemaßnahmen zur Vermeidung humaner *Campylobacter*-Infektionen anzusehen sind (Luber und Bartelt, 2007). Insbesondere bei der Zubereitung von rohem Geflügelfleisch ist eine besondere hygienische Sorgfalt erforderlich.

Literatur

Adkin, A., Hartnett, E., Jordan, L., Newell, D. und Davison, H. (2006). Use of a systematic review to assist the development of *Campylobacter* control strategies in broilers. *J. Appl. Microbiol.* 100, 306-315.

Alter, T., Bori, A., Hamedy, A., Ellerbroek, L. und Fehlhaber, K. (2006). Influence of inoculation levels and processing parameters on the survival of *Campylobacter jejuni* in German style fermented turkey sausages. *Food Microbiol.* 23, 701-706.

Alter, T., Gaull, F., Froeb, A. und Fehlhaber, K. (2005). Distribution of *Campylobacter jejuni* strains at different stages of a turkey slaughter line. *Food Microbiol.* 22, 345-351.

Alter, T. und Reetz, J. (2008). Bedeutung von *Campylobacter* spp. für den gesundheitlichen Verbraucherschutz. Quellen und Übertragungswege. *RFL-Rundschau für Fleischhygiene und Lebensmittelüberwachung* 60, 459-463.

Bori, A.I., Alter, T. und Fehlhaber, K. (2006). *In vitro* Untersuchungen zur adaptiven Stressantwort von *Campylobacter jejuni* auf ausgewählte technologische Stressoren. DVG, 45. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes „Lebensmittelhygiene, Proceedings, 95-100.

- Cawthraw, S. und Newell, D. (2007). The role of maternal immunity in the lag phase of *C. jejuni* infections in broilers. CHRO 2007, Rotterdam, Proceedings.
- Chen, L., Geys, H., Cawthraw, S., Havelaar, A. und Teunis, P. (2006). Dose response for infectivity of several strains of *Campylobacter jejuni* in chickens. *Risk Anal.* *26*, 1613-1621.
- Chuma, T., Makino, K., Okamoto, K. und Yugi, H. (1997). Analysis of distribution of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in broilers by using restriction fragment length polymorphism of flagellin gene. *J. Vet. Med. Sci.* *59*, 1011-1015.
- Hakkinen, M. und Schneitz, C. (1999). Efficacy of a commercial competitive exclusion product against *Campylobacter jejuni*. *Br. Poult. Sci.* *40*, 619-621.
- Luber, P. und Bartelt, E. (2007). Enumeration of *Campylobacter* spp. on the surface and within chicken breast fillets. *J. Appl. Microbiol.* *102*, 313-318.
- Rosenquist, H., Nielsen, N.L., Sommer, H.M., Norrung, B. und Christensen, B.B. (2003). Quantitative risk assessment of human campylobacteriosis associated with thermophilic *Campylobacter* species in chickens. *Int. J. Food Microbiol.* *83*, 87-103.
- Sahin, O., Zhang, Q., Meitzler, J.C., Harr, B.S., Morishita, T.Y. und Mohan, R. (2001). Prevalence, antigenic specificity, and bactericidal activity of poultry anti-*Campylobacter* maternal antibodies. *Appl. Environ. Microbiol.* *67*, 3951-3957.
- Stern, N.J., Hiett, K.L., Alfredsson, G.A., Kristinsson, K.G., Reiersen, J., Hardardottir, H., Briem, H., Gunnarsson, E., Georgsson, F., Lowman, R., Berndtson, E., Lammerding, A.M., Paoli, G.M. und Musgrove, M.T. (2003). *Campylobacter* spp. in Icelandic poultry operations and human disease. *Epidemiol. Infect.* *130*, 23-32.
- Wagenaar, J.A., Mevius, D.J. und Havelaar, A.H. (2006). *Campylobacter* in primary animal production and control strategies to reduce the burden of human campylobacteriosis. *Rev. Sci. Tech.* *25*, 581-594.

Epidemiologie und Nachweis enteropathogener Yersinien

Maria Fredriksson-Ahomaa, Cornelia Meyer und Silke Wacheck
Ludwig-Maximilians-Universität München, Lehrstuhl für Hygiene und Technologie der Lebensmittel, München

Y. enterocolitica und *Y. pseudotuberculosis* können eine enterale Yersiniose hervorrufen. In Europa sowie in Deutschland steht die Yersiniose nach der Campylobacteriose und der Salmonellose an dritter Stelle der bakteriell bedingten Gastroenteritiden (3). Jedoch sind direkte Vergleiche der Inzidenzen der Yersiniose in den verschiedenen Ländern aufgrund uneinheitlicher Überwachungssysteme nicht möglich. Die Gesamtinzidenz der Yersiniose in Europa betrug 2,8 Fälle pro 100.000 Einwohner im Jahr 2007. Die höchsten Inzidenzen wurden aus Litauen (16,8), Finnland (9,1), Schweden (6,2) und Deutschland (6,1) (3) gemeldet. Die Mehrheit der Fälle treten bei Kindern unter fünf Jahren auf und sind heimisch erworben. Ein saisonales Auftreten der Erkrankung konnte in Europa bisher nicht festgestellt werden (3).

Y. enterocolitica ist die häufigste *Yersinia* Spezies, die an der humanen Yersiniose beteiligt ist (4). Ausbrüche sind jedoch selten und die meisten Fälle kommen ohne eine eindeutig identifizierbare Infektionsquelle sporadisch vor. Nur bestimmte Bioserotypen wurden mit humanen *Y. enterocolitica* Infektionen in Zusammenhang gebracht. Der Bioserotyp 4/O:3 kommt beim Menschen weltweit am häufigsten vor, gefolgt vom Bioserotyp 2/O:9 und 2/O:5,27. Vor kurzem wurde in Polen von einem drastischen Anstieg an *Y. enterocolitica* O:8-Infektionen berichtet.

Auch Infektionen mit *Y. pseudotuberculosis* wurden aus allen Kontinenten gemeldet, wobei die Inzidenz niedriger ist als bei *Y. enterocolitica*. In Frankreich wurde in den Jahren 2004 und 2005 ein Anstieg humaner *Y. pseudotuberculosis* Infektionen berichtet. Obwohl die meisten Infektionen sporadisch auftreten, wurden in den letzten Jahren mehrere Ausbrüche in Finnland und Russland gemeldet, bei denen am häufigsten Kinder in Kindertagesstätten und Schulen betroffen waren (4). Im Gegensatz zu *Y. enterocolitica* sind alle *Y. pseudotuberculosis* Stämme humanpathogen. In Europa herrschen unter den aus Menschen isolierten Stämmen die Serotypen O:1 und O:3 vor.

Y. enterocolitica und *Y. pseudotuberculosis* können eine Vielzahl an intestinalen und extraintestinalen Erkrankungen hervorrufen, die von milder Enteritis bis hin zu Septikämie reichen (4). Typische Symptome sind Fieber, Durchfall sowie abdominaler Schmerz, hervorgerufen durch eine mesenteriale Lymphadenitis, der oft klinisch nicht von einer Appendizitis differenzierbar ist. Insbesondere bei Kleinkindern kann der Durchfall blutig und das Fieber hoch sein. Durchfall ist das dominierende Symptom bei Infektionen mit *Y. enterocolitica*, während Fieber und Bauchschmerzen die häufigsten Symptome bei Infektionen mit *Y. pseudotuberculosis* darstellen. Postinfektiöse Komplikationen wie Gelenkschmerzen (reaktive Arthritis) oder Hautausschlag (Erythema nodosum) sind häufig. Die Inkubationszeit der gastrointestinalen Symptome liegt bei ca. 1 Woche mit einer Zeitspanne von 1 bis 11 Tagen. Die Symptome bleiben meist für 5 bis 14 Tage bestehen, können aber auch mehrere Monate andauern. In den meisten Fällen ist die Erkrankung selbstlimitierend, so dass eine antimikrobielle Therapie nicht notwendig ist.

Die Epidemiologie enteraler Yersiniosen ist komplex und immer noch nicht geklärt (4). Lange Zeit wurden Tiere verdächtigt, ein Reservoir für pathogene *Y. enterocolitica* und *Y. pseudotuberculosis* zu sein, und hieraus resultierend eine Infektionsquelle für den Menschen darzustellen (1,2). Der Nachweis dieser Bakterien gelang sporadisch aus unterschiedlichen Tierarten. Schweine werden als das Hauptreservoir für humanpathogene *Y. enterocolitica* 4/O:3 Stämme angesehen. Denn dieser Bioserotyp wurde häufig aus den Tonsillen von Mast Schweinen isoliert (2). Tabelle 1 zeigt die Isolierungsrate von *Y. enterocolitica* 4/O:3 aus verschiedenen Proben in Süddeutschland. Auch für *Y. pseudotuberculosis* O:3 stellen Schweine

ein Reservoir in Europa dar. Es wird jedoch angenommen, dass das Hauptreservoir Wildtiere, insbesondere Vögel und Nagetiere sind. Humanpathogene *Y. enterocolitica* Stämme wurden nur sporadisch aus anderen Tieren als Haustieren, Wiederkäuern, Vögeln und Wildtieren isoliert. Meist sind Tiere asymptomatische Träger, jedoch können sie aufgrund von Stress wie kaltes und feuchtes Wetter sowie bei Futtermangel erkranken und das Bakterium ausscheiden. Beim Feldhasen wurden Infektionen mit *Y. pseudotuberculosis* in Deutschland beschrieben.

Obwohl angenommen wird, dass Lebensmittel und Trinkwasser die Hauptinfektionsquellen pathogener *Y. enterocolitica* und *Y. pseudotuberculosis* Stämme darstellen, wurden diese Bakterien bislang nur selten daraus isoliert (4). Jedoch gelang es mittels PCR pathogene *Y. enterocolitica* häufig in Schweinezungen, -hackfleisch und -würsten nachzuweisen. Darüber hinaus wurden pathogene *Y. enterocolitica* sporadisch in Hähnchen, grünem Salat und Trinkwasserproben nachgewiesen. Tabelle 2 zeigt Prävalenzen pathogener *Y. enterocolitica* in unterschiedlichem Probenmaterial aus Süddeutschland. *Y. pseudotuberculosis* wurde in Finnland aus Eisbergsalat und rohen Mohrrüben, die mit lebensmittelbedingten Ausbrüchen in Verbindung gebracht wurden, isoliert. In Japan und Korea gelang die Isolierung von *Y. pseudotuberculosis* aus Frischwasser wie beispielsweise Fluss-, Brunnen- oder Bergwasser.

Die Übertragungswege von *Y. enterocolitica* und *Y. pseudotuberculosis* sind weitestgehend unbekannt (4). Der wahrscheinlichste Übertragungsweg ist fäkal-oral über kontaminierte Lebensmittel oder kontaminiertes Trinkwasser. Eine fäkal-orale Übertragung kann ebenso direkt von Tier zu Mensch oder von Mensch zu Mensch erfolgen, seltener auch über Bluttransfusionen. Ein Zusammenhang zwischen Infektionen mit *Y. enterocolitica* und dem Verzehr von nicht ausreichend erhitztem Schweinefleisch und Rohwurstprodukten konnte in Fall-Kontroll-Studien festgestellt werden. In einer vor kurzem veröffentlichten Studie wurde gezeigt, dass die Verwendung von Schnullern bei Säuglingen und der Kontakt mit Haustieren wichtige Risikofaktoren für heimisch erworbene *Y. enterocolitica* Infektionen bei Kindern in Schweden darstellen. In Japan wird nicht gechlortes Trinkwasser wie Brunnen-, Quell- oder Bergwasser, das mit Fäkalien von Wildtieren kontaminiert ist, als ein wichtiger Übertragungsweg für *Y. pseudotuberculosis* angesehen. In Finnland wurde der Eisbergsalat wahrscheinlich mit Wasser aus Bewässerungsanlagen kontaminiert.

Die Isolierung von *Y. enterocolitica* und *Y. pseudotuberculosis* ist herausfordernd, da diese Pathogene langsam wachsen und leicht von anderen Bakterien überwachsen werden. Bei asymptomatischen Tieren sowie bei kontaminierten Lebensmittel- und Umweltproben ist die Anzahl an pathogenen Yersinien oft niedrig, jedoch die der Begleitflora hoch, so dass eine direkte Isolierung nur selten erfolgreich ist. Um die Anzahl an Yersinien zu erhöhen, ist eine Anreicherung in flüssigem Medium erforderlich. Für *Y. enterocolitica* ist hierfür eine 2tägige Selektivanreicherung und für *Y. pseudotuberculosis* eine 1 bis 3wöchige Kälteanreicherung geeignet (Tabelle 3). Der selektive CIN-Agar, der für die Isolierung von *Y. enterocolitica* entwickelt wurde, wird auch für die Isolierung von *Y. pseudotuberculosis* verwendet. Das API 25E System hat eine hohe positive Identifizierungsrate für *Y. enterocolitica* und für *Y. pseudotuberculosis*, wenn es bei 25-30 °C anstatt 37 °C inkubiert wird. Zusätzlich muss die Pathogenität von *Y. enterocolitica* Isolaten beurteilt werden, da die Mehrheit nichthumaner Isolate apathogen ist. Dies kann durch die Bestimmung des Biotyps oder des Nachweises des chromosomal kodierten *ail* Gens geschehen. Die Serotypisierung kann mit handelsüblichen Antiseren durchgeführt werden.

Mehrere PCR-Methoden wurden bisher etabliert, um das Vorkommen wichtiger Virulenzgene von *Y. enterocolitica* und *Y. pseudotuberculosis* zu erforschen (5). Vor kurzem wurden für den Nachweis von *Y. enterocolitica* (6) und *Y. pseudotuberculosis* (7) in Lebensmitteln zwei real-time PCR Methoden entwickelt, die auf der TaqMan Sonde basieren, welche zielgerichtet das *ail* Gen auf dem Chromosom detektiert. Ein Grund für die niedrigen Prävalenzen dieser pathogenen Bakterien in nichtmenschlichen Proben können ineffiziente Isolierungsme-

thoden sein. PCR könnte somit eine sinnvolle Methode parallel zu kulturellen Methoden darstellen, um tierische Proben sowie Lebensmittel- und Umweltproben zu untersuchen (5).

Tab. 1: Isolierungsrate von *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 in Süddeutschland

Proben	Isolierungs-jahr	Anzahl Proben	Anzahl pos. Proben	%
Mensch ^a Stuhl	2002	22 835	44	0.2
Schwein Tonsillen	2000	50 ^b	30	60
Schwein Tonsillen	2003	50 ^b	28	56
Schwein Tonsillen	2004	64 ^b	43	67
Truthahn Schnabelhöhle und Kot	2001	100 ^b	0	0
Rind Tonsillen und Kot	2002	101	0	0
Pferd Kot	2003	98	0	0
Schaf Kot	2006	200	0	0
Schweinefleisch Zunge	2000	20	17	85
Schweinefleisch Essbare Innereien ^c	2000	80	36	45
Schweinefleisch Rohes Hackfleisch	2000	178	16	9
Schweinefleisch Erhitzte Produkte	2000	85	0	0
Schweinefleisch Rohes Fleisch	2001	115	14	12
Schweinefleisch Rohes Fleisch	2007-8	100	6	6
Schweinefleisch Rohwürste	2003	100	0	0
Rindfleisch Rohes Fleisch	2006	101	0	0
Geflügel Rohes Fleisch	2006	102	0	0

^a zusätzlich: Isolierung der Bioserotypen 2/O:9 und Biotyp 1A aus 2 Menschen

^b Anzahl Tiere

^c Lunge, Herz, Leber, Nieren

Tab. 2. PCR-Nachweis *ail*-positiver *Y. enterocolitica* in Süddeutschland und in der Schweiz*

Proben	Isolierungs-jahr	Anzahl Proben	Anzahl pos. Proben	%
Schwein* Tonsillen	2006	200	175	88
Wildschwein* Tonsillen	2007-8	153	53	35
Schaf Faeces	2006	200	0	0
Schaf* Tonsillen	2008-9	100	1	1
Ziege* Tonsillen	2008-9	100	0	0
Hund Kot	2006	100	5	5
Katze Kot	2006	100	3	3
Heimtier Nagerkot	2006	100	3	3
Schweinefleisch Rohes Fleisch	2005	100	7	7
Schweinefleisch Rohes Fleisch	2006	140	13	9
Schweinefleisch Rohes Fleisch	2007-8	100	17	17
Schweinefleisch Rohwürste	2006	75	0	0
Schweinefleisch Fertigprodukte	2005	50	2	4
Rindfleisch Rohes Fleisch	2006	101	0	0
Rindfleisch Rohwürste	2006	55	0	0
Geflügel Rohes Fleisch	2006	102	1	1
Geflügel Rohwürste	2006	6	0	0
Wild Rohes Fleisch	2006	60	23	38

Tab. 3. Nachweis enteropathogener Yersinien mittels kultureller und PCR-Methoden

Bouillon	Anreicherung	PCR	Nährboden	Zeit (h)	YE	YP
TSBa 1:10	nein	nein	CINd, MACe	18–24	x	
				36–48		x
	20-22 °C, 16–18 h	ja	CIN, SSDCf	18–24	x	
			CIN, MAC	36–48		x
PMBb 1:10	4 °C, 1–3 Wochen	ja	CIN, SSDC	18–24	x	
				36–48		x
	ITCc 1:10	25 °C, 48 h		CIN	18–24	x

^a TSB, Tryptose-Soja-Bouillon

^b PMB, Phosphat gepufferte Salzlösung angereichert mit Mannitol und Gallensalzen

^c ITC, Irgasan-Ticarcillin-Kaliumchlorat-Bouillon

^d CIN, Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin Nährboden

^e MAC, MacConkey Nährboden

^f SSDC, Salmonella-Shigella Agar mit Natriumdesoxycholat und Calciumchlorid

Literatur

Aleksic, S. et al., Epidemiology of *Y. pseudotuberculosis* in Germany, 1983-1993, *Contrib. Microb. Immunol.*, 13, 55, 1995.

Bucher, M. et al., Epidemiological data on pathogenic *Yersinia enterocolitica* in Southern Germany during 2000-2006, *Foodborne Pathog. Dis.*, 5, 273, 2008.

EFSA, The community summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents in the European Union in 2007, *EFSA J*, 223, 190, 2009.

Fredriksson-Ahomaa, M. et al., *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis*. In: Pathogens and toxins in foods: challenger and interventions. Juneja, V.K. and N.J. Sofos (ed). ASM Press. Washington, D.C. In press.

Skurnik, M. et al., *Yersinia*. In: Molecular detection of foodborne pathogens. Liu, D. (ed). CRC Press. Boca Raton, Florida. In press.

Thisted Lambertz, S. et al., Real-time PCR method for detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in food, *Appl. Environ. Microbiol.*, 20, 6465, 2008a.

Thisted Lambertz, S. et al., TaqMan-based real-time PCR method for detection of *Yersinia pseudotuberculosis* in food, *Appl. Environ. Microbiol.*, 20, 6465, 2008b.

Mikrobiologie II

Was lernen wir aus der molekularen Epidemiologie von *Escherichia coli*?

Lothar H. Wieler

Freie Universität Berlin, Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen, Berlin

Vielfalt von *Escherichia coli*

Escherichia (E.) coli stellt bei Säugetieren die dominante aerobe intestinale Population der *Enterobacteriaceae* dar. Eine Besonderheit der Spezies *E. coli* ist ihre hohe Diversität. So existieren neben den mehrheitlich kommensalen Vertretern der intestinalen Mikrobiota auch pathogene Typen, die als Pathotypen oder Pathovaren bezeichnet werden. Hier wird unterschieden zwischen solchen, die im Darm für die Auslösung von Krankheiten verantwortlich sind, die intestinal-pathogenen *E. coli* (InPEC), und jenen, die außerhalb des Darmes Krankheiten hervorrufen, die extraintestinal-pathogenen *E. coli* (ExPEC). Das Verständnis dieser unterschiedlichen Typen beruhte ursprünglich darauf, dass bestimmte Serotypen vermehrt bei bestimmten Krankheiten nachgewiesen wurden. So wurden in den 1960er Jahren als erstes die enteropathogenen *E. coli* (EPEC) definiert. Heute unterscheiden wir eine Vielzahl von Pathotypen, Tabelle 1. gibt einen Überblick über die tiermedizinisch relevanten Pathotypen. Mit zunehmender Kenntnis über die Pathogenitätsmechanismen der einzelnen Pathotypen wurde aber deutlich, dass der bloße Nachweis von Serotypen für den Nachweis eines Pathotyps nicht ausreicht. Leider besteht zwischen dem Nachweis bestimmter Serotypen und dem Vorkommen bestimmter Pathotypen nämlich häufig keine enge Assoziation. So können zwar – z.B. bei der Ödemkrankheit des Schweins – durch die Verwendung von diagnostischen Antisera zum Nachweis der in Tabelle 1 genannten Serotypen EDEC mit guter Spezifität nachgewiesen werden, aber leider kommen auch EDEC vor, die anderen Serotypen angehören (9). Bei anderen Krankheiten ist die diagnostische Aussagekraft der Serotypisierung noch schwächer.

Typisierung von *Escherichia coli*

Die fachgerechte Serotypisierung ist wenigen Referenzlaboratorien vorbehalten, denn sie ist eine anspruchsvolle Technik. Sie bedarf der Herstellung und Distribution von tierischen Seren, unspezifische Bindungen müssen bedacht werden und ausgebildete Kapseln können das O-Antigen markieren. Ein weiterer Nachteil der Serotypisierung ist, dass Stämme im Zusammenhang mit Krankheiten isoliert werden, die selbst von Referenzlaboren mit dem Serotypisierungsschema nicht typisierbar sind (O nicht typisierbar; Ont), da nur gegen eine endliche Anzahl von O-Typen Seren erhältlich sind. Auch muss bedacht werden, dass der Nachweis identischer O-Antigene prinzipiell suggeriert, dass die so typisierten Stämme miteinander verwandt sind, teilweise wird sogar davon ausgegangen, dass Stämme derselben Serotypen verwandte Klone sind. Diese Annahme ist i.d.R dann korrekt, wenn es sich um ein Ausbruchsgeschehen handelt. Vergleicht man jedoch Stämme, die epidemiologisch in keinem Zusammenhang miteinander stehen, so kann ein identischer Serotyp eine Verwandtschaft vortäuschen. In diesem Falle führen diese Untersuchungen zu Fehlschlüssen.

Tab. 1: Zusammenfassung der wichtigsten tiermedizinisch relevanten *E. coli*-Pathotypen und einiger ihrer typischen Eigenschaften.

Intestinal pathogene <i>E. coli</i> (InPEC)				
Pathotyp	Typische Eigenschaften			Typische Krankheit
	Virulenzfaktoren		Häufige Serotypen*	
	Adhäsine	Toxine		
Enteropathogene <i>E. coli</i> (E-PEC)	<i>E. coli</i> -secreted protein; A (EsPA); Intimin; Long polar fimbriae (Lpf) Adherence fimbriae / rabbit 1 (AF/R1) Porcine attaching and effacing associated (Paa)	Lymphostatin (LifA) Serinprotease (EspP) <i>E. coli</i> secreted proteins (Esp) F,G,H	O2, O5, O13:H2 O15:NM, O25:H11 O26:NM**/H11 O45, O103:H2 O111:NM/H2, O119, O128, O145	Diarrhoe (Kaninchen, Kalb, Schwein, Hund, Katze)
Enterotoxische <i>E. coli</i> (E-TEC)	Fimbrien (F4, F5, F6, F17b, F18ac, F41) Porzine Attaching and Effacing associated (Paa) Adhäsine für diffuse Adhärenz (AIDA-I)	Hitzelabile Enterotoxine (LT-I; LT-II) Hitzestabile Enterotoxine (ST-Ia, ST-Ib, ST-II) Hitzestabiles <i>E. coli</i> -Enterotoxin (EAST1) α -Hämolyisin (α -Hly)	O8, O9, O45, O64, O20, O101, O108, O138, O139, O141, O147, O149, O157	Sekretorische Diarrhoe (Kalb, Saugferkel, Lamm, Ziege, Hund, Katze)
Shiga Toxin bildende <i>E. coli</i> (STEC)	<i>E. coli</i> -secreted Protein A (EspA) Intimin EHEC factor of adhesion 1 (Efa-1) Long polar fimbriae (Lpf)	Shiga Toxine (Stx; Stx1, Stx2) Enterohämolyisin (EHly) Serinprotease (EspP) <i>E. coli</i> secreted proteins (Esp) F,G,H	O5:NM, O91:NM, O26:NM/H11, O111:NM,/H2/H8, O103:H2, O145:H28, O118:NM/H16, O157:NM/H7	(osmotische) Diarrhoe (Kalb, Lamm, Ziege, Dammwild; sporadisch Hund, Katze)
Ödemkrankheits- <i>E. coli</i> (EDEC)	F18ab Adhäsine für diffuse Adhärenz (AIDA-I)	Shiga Toxin 2e (Stx2e) α -Hämolyisin (α -Hly)	O138, O139, O141, O147, O157	Absetzferkel
Extraintestinal pathogene <i>E. coli</i> (ExPEC)				
Uropathogene <i>E. coli</i> (U-PEC)	P-Fimbrien (Pap) Typl-Fimbrien (Fim) S-Fimbrien (Sfa)	α -Hämolyisin (α -Hly) Zytonekrose-Faktor (CNF1) Secreted auto-transporter toxin (Sat)	O1, O2, O4, O6, O18, O25, O74	Zystitis, Pyelonephritis Hund, Katze, CM beim Schwein
Aviare pathogene <i>E. coli</i> (A-PEC)	Typl-Fimbrien (Fim) Temperatur-sensitives Hämagglutinin (Tsh) P-Fimbrien (Pap)	Vakuolisierendes Autotransporter Toxin (Vat)	O1:H1/H2, O2:H1/H2/H5, O18, O78	System. Infektionen beim Wirtschaftsgeflügel
Septikämische <i>E. coli</i> (SEPEC)	Fimbrien (F17b, F17c) CS31A		O78:K80	Septikämie bei Kalb und Lamm

*: Der Nachweis des jeweiligen Serotyps hat keine sichere Assoziation mit dem genannten Pathotyp, weshalb eine ätiologische Diagnostik i.d.R. den zusätzlichen Nachweis von Virulenzfaktoren erfordert.

** : NM: non-motile (nicht beweglich)

Seit einigen Jahren existiert mit der Multilocus-Sequenztypisierung eine DNA-Sequenz-basierte Methode, die erstmals die weltweit vergleichbare Typisierung aller *E. coli*-Stämme ermöglicht, gleichgültig, aus welcher Tierart und von welcher Krankheit die jeweiligen Stämme isoliert wurden (1, 8, 9). Diese Methode ermöglicht nach einem einheitlichen Schema mit hoher Genauigkeit – der DNA-Sequenzierung – die exakte Typisierung von *E. coli*-Stämmen weltweit, und zwar jedem Labor, das mittels PCR DNA amplifizieren kann und diese dann z.B. bei einem kommerziellen Anbieter sequenzieren lässt. Da es eine online verfügbare Datenbank gibt, in der die Daten kuriiert eingetragen werden (www.mlst.net), können alle Wissenschaftler und Diagnostiker *E. coli*-Isolate mit allen anderen transparent vergleichen. Der Wissenszuwachs, der durch diese Möglichkeit generiert wurde, ist enorm, und bleibt nicht auf Referenzlabore beschränkt.

Über diese für jedes diagnostische Labor sehr praktikable Nutzung hinaus bietet die MLST aber auch die Möglichkeit, Aussagen über die Phylogenie von *E. coli* zu treffen. So werden unter Verwendung frei verfügbarer Software unmittelbar die tatsächlichen Verwandtschaftsverhältnisse von serotypisierten Stämmen sichtbar, also auch jener, die als Ont typisiert wurden. Weiterhin lassen sich Aussagen zu Pathotypen machen, die bislang nur durch aufwendige Analysen möglich waren.

Einige dieser Möglichkeiten werden derzeit im Rahmen des BMBF-geförderten Zoonosen-Verbundes FBI-Zoo (www.fbi-zoo.net) erforscht, hier liegt der Schwerpunkt auf der Analyse von Shiga-Toxin-bildenden *E. coli*, die beim Menschen zu teilweise schwerwiegenden extraintestinalen Komplikationen führen können, wie z.B. dem hämolytisch urämischem Syndrom (HUS) oder der thrombotisch thrombozytopenischen Purpura (TTP) (2, 6, 7). Im Vortrag werden anhand einiger Beispiele der Nutzen sowie Vor- und Nachteile der MLST von *E. coli* besprochen. So konnten wir erstmals eine Verwandtschaft zwischen animalen und humanen EPEC-Isolaten belegen, die aufgrund der Ont-Serotypisierung verhindert wurde. Aber auch die Diagnostik tiermedizinisch relevanter Krankheitserreger konnten wir verbessern. So können wir heute mit größerer Sicherheit Stämme des APEC-Pathotyps identifizieren. APEC-Infektionen können in der Geflügelwirtschaft zu hohen Verlusten führen, eine fundierte Impf-Prophylaxe ist aber nur möglich, wenn die ätiologisch relevanten Stämme diagnostiziert werden, was mit der Serotypisierung aufgrund der geringen Sensitivität kaum möglich ist (3-5).

Literatur

- Bielaszewska, M., F. Stoewe, A. Fruth, W. Zhang, R. Prager, J. Brockmeyer, A. Mellmann, H. Karch, and A. W. Friedrich. 2009. Shiga toxin, cytolethal distending toxin, and hemolysin repertoires in clinical *Escherichia coli* O91 isolates. *J Clin Microbiol* 47:2061-6.
- Bielaszewska, M., W. Zhang, A. Mellmann, and H. Karch. 2007. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O26:H11/H-: a human pathogen in emergence. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr* 120:279-87.
- Ewers, C., E. M. Antao, I. Diehl, H. C. Philipp, and L. H. Wieler. 2009. Intestine and environment of the chicken as reservoirs for extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* strains with zoonotic potential. *Appl Environ Microbiol* 75:184-92.
- Ewers, C., T. Janssen, S. Kiessling, H. C. Philipp, and L. H. Wieler. 2004. Molecular epidemiology of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC) isolated from colisepticemia in poultry. *Vet Microbiol* 104:91-101.
- Ewers, C., T. Janssen, and L. H. Wieler. 2003. [Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC)]. *Berl Munch Tierärztl Wochenschr* 116:381-95.
- Karch, H., A. W. Friedrich, A. Gerber, L. B. Zimmerhackl, M. A. Schmidt, and M. Bielaszewska. 2006. New aspects in the pathogenesis of enteropathic hemolytic uremic syndrome. *Semin Thromb Hemost* 32:105-12.

Karch, H., P. I. Tarr, and M. Bielaszewska. 2005. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in human medicine. *Int J Med Microbiol* 295:405-18.

Mellmann, A., M. Bielaszewska, R. Kock, A. W. Friedrich, A. Fruth, B. Middendorf, D. Harmsen, M. A. Schmidt, and H. Karch. 2008. Analysis of collection of hemolytic uremic syndrome-associated enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Emerg Infect Dis* 14:1287-90.

Wirth, T., D. Falush, R. Lan, F. Colles, P. Mensa, L. H. Wieler, H. Karch, P. R. Reeves, M. C. Maiden, H. Ochman, and M. Achtman. 2006. Sex and virulence in *Escherichia coli*: an evolutionary perspective. *Mol Microbiol* 60:1136-51.

Bewertung von Shiga (Vero) Toxin-produzierenden *Escherichia coli* aus Wildfleischproben als potenzielle Krankheitserreger für den Menschen

Lothar Beutin und Angelika Miko
Bundesinstitut für Riskobewertung, Berlin

Einleitung

Problemstellung: Shiga Toxin-produzierenden *Escherichia coli* (STEC) gehören zu den lebensmittelassoziierten Zoonose-Erregern, die bei Menschen Durchfall, hämorrhagische Colitis (HC) und das lebensbedrohliche Hämolytisch Urämische Syndrom (HUS) hervorrufen (1). STEC produzieren Zytotoxine, die als Shiga Toxine (Stx) bzw. Vero Toxine (VT) bezeichnet werden und als Hauptvirulenzfaktoren am Krankheitsprozess beteiligt sind. Enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC) sind eine Untergruppe der STEC und gelten als Hauptverursacher von HC und HUS. Neben Stx sind bei den EHEC weitere Virulenzfaktoren vorherrschend, die die Zerstörung der Darmmukosa verursachen (LEE Lokus, Merkmal *eae*) und gewebeschädigend wirken (Enterohämolysin, Merkmal *E-hlyA*). *E. coli* Stämme der Serogruppen O157, O26, O103, O111 und O145 sind die am häufigsten isolierten EHEC bei Menschen mit HC und HUS (2).

STEC und EHEC sind häufig Bestandteil der Darmflora bei verschiedenen Tierarten. Wiederkäuer, wie Rinder, Schafe und Ziegen, stellen ein bedeutendes Reservoir für diese Keime dar. Studien konnten zeigen, dass diese Keime von Tieren auf Menschen übertragen werden, häufig durch den Verzehr von STEC/EHEC-kontaminierten Lebensmitteln und Wasser, aber auch durch Kontakt mit ausscheidenden Tieren und Menschen (3). Auch Wildtiere spielen eine wichtige Rolle als Über(Träger). STEC und EHEC wurden bereits in Kotproben von Rotwild nachgewiesen. Wildtiere als Ausscheider von STEC können die Keime durch Kontamination von Weideland mit ihren Fäzes indirekt auf grasende landwirtschaftliche Nutztiere übertragen. Zugvögel spielen als STEC-Ausscheider eine wichtige Rolle, denn sie verbreiten diese Keime über weite Entfernungen (4).

Auch Wildfleisch ist häufig mit STEC kontaminiert. Nach einer belgischen Studie lagen bei ca. 50% der untersuchten Wildfleischproben STEC vor (5). In den USA wurden aus Fleisch vom Rotwild EHEC O157 isoliert und mit einem Erkrankungsgeschehen in Zusammenhang gebracht (6). Erhebungen aus dem Nationalen Referenzlabor für Zoonosen am BfR ergaben für 2005 und 2006 Kontaminationsraten für STEC von 9,0 bzw. 14,8% bei Wildfleischproben. Der Anteil von STEC-kontaminiertem Wildfleisch war damit in diesem Zeitraum bedeutend höher als der von STEC-kontaminiertem Rindfleisch (1,3% bis 4,5%) (7, 8).

Wildfleisch ist in Deutschland beliebt, da es als qualitativ hochwertiges Produkt gilt, und der pro-Kopf-Verbrauch ist stetig gestiegen (9). Aus der Jagdsaison 2005/2006 ergab sich eine Gesamtmenge von 36.126 Tonnen Wildfleisch: 19.000 Tonnen vom Wildschwein (461.881 Tiere), 11.300 Tonnen vom Reh (905.387) und etwa 4.000 Tonnen vom Rotwild (60.664) (10). Für Deutschland hochgerechnet liegt der durchschnittliche jährliche Wildfleisch-Konsum bei ca. 0,45 kg/Person, was 0,8% des gesamten Fleischkonsums entspricht (11). Über 62% des im Handel verkauften Wildfleisches stammt von Tieren, die in Deutschland in der freien Natur gejagt wurden. Nur 3% stammen aus landwirtschaftlicher Produktion (Gatterwild) und 35% sind importiert (12). Nach den Hygienevorschriften muss das Wild möglichst unmittelbar nach dem Erlegen ausgenommen werden. Vom Jäger als einwandfrei begutachtete Tierkörper können direkt vermarktet werden. Nur ein kleiner Teil des Wildfleisches passiert die amtliche Fleischschau vor der Vermarktung (12).

Ziel der Arbeit: Bisher wurden über 400 STEC-Serotypen mit Humaninfektionen in Verbindung gebracht (13). Gegenwärtig ist wenig zur Rolle von STEC aus Wildfleisch als Quelle von Humaninfektionen bekannt. Um abzuschätzen, ob STEC aus Wildfleisch eine mögliche

Quelle für Erkrankungen bei Menschen sein können, haben wir 140 STEC-Stämme aus Fleischproben von Rotwild, Wildschwein und Hasen untersucht. Hierbei wurden die Serotypen bestimmt sowie Virulenzfaktoren, die beim Krankheitsprozess eine Rolle spielen. Darüber hinaus wurden STEC aus Wildfleischproben auf ihre genetische Verwandtschaft mit STEC aus Nutztieren, deren Produkten (Fleisch, Milch, Käse) und mit STEC aus Patienten verglichen, um Ähnlichkeiten zu ermitteln. Die Ergebnisse zeigen, dass Wildfleisch eine potenzielle Quelle von humanpathogenen EHEC und STEC darstellt.

Material und Methoden

Herkunft und Typisierung von STEC: 140 STEC-Stämme aus Wildfleisch wurden untersucht, 110 vom Rotwild, 18 vom Wildschwein, acht vom Hasen und vier anderer Herkunft. Die STEC-Stämme waren im Rahmen der Lebensmittelüberwachung in Deutschland zwischen 1998 und 2006 isoliert und das NRL-E.coli zur Typisierung geschickt worden. Am NRL-E.coli wurden alle STEC auf ihre Serotypen und ihre Virulenzmerkmale untersucht (14). Zum Vergleich wurden 101 STEC-Stämme aus anderen Quellen herangezogen. Vierundvierzig STEC stammten von Nutztieren: Rinder (n=21), Schafe (n=22) und Ziege (n=1). Dreiundzwanzig STEC stammten aus Nahrungsmitteln bovinen, ovinen und porcinen Ursprungs. Vierunddreißig STEC waren von Humanpatienten mit Durchfall, HC oder HUS.

Genetische Verwandtschaftsbestimmungen bei STEC: XbaI-Makrorestriktionsmuster der Gesamt-DNA der jeweiligen STEC-Stämme wurden mit der Pulsfeld-Gelelektrophorese (PFGE) nach standardisiertem PulseNet-Protokoll untersucht (15). Die Daten wurden mit der Software BioNumerics analysiert und Dendrogramme erstellt, um klonale Verwandtschaften zu ermitteln. Zusätzlich wurden EHEC O103:H2-Stämme mittels MLST auf ihre klonale Verwandtschaft geprüft, wobei die Nukleotidsequenz von sieben Stoffwechsel-assoziierten Genen miteinander verglichen wurden (16).

Ergebnisse

Eigenschaften von STEC aus Wildfleisch: Die 140 STEC-Stämme gehörten zu 26 O-Gruppen und 23 H-Typen. Mehr als zwei Drittel der Stämme gehörten zu acht O-Gruppen (O21, O146, O128, O113, O22, O88, O6, O91) (100 Stämme=71,4%) und vier H-Typen (H21, H28, H2, H8) (106 Stämme=75,7%). Insgesamt lagen 38 O:H-Serotypen vor, 18 von diesen sind bereits mit Humaninfektionen in Zusammenhang gebracht worden (13). Sieben Stämme (5,0%) gehörten zu den klassischen EHEC-Typen O103:H2 (N=4) und O26:[H11] (N=3). Bei den STEC wurden ein bis drei verschiedene Shiga Toxine nachgewiesen. Diese unterteilten sich in zwei Subtypen der Stx1-Familie, Stx1 (17,1%) und Stx1c (20,0%), sowie fünf Subtypen der Stx2-Familie, nämlich Stx2 (7,9%), Stx2d-activ (22,9%), Stx2-O118 (56,4%), Stx2e (2,9%) und Stx2g (2,1%). Zytotoxische Aktivität und Produktion von Stx lag bei 138 Stämmen (98,6%) vor. EHEC-typische Virulenzmerkmale, wie *eae* (Intimin) und *E-hlyA* (Enterohämolyisin) waren bei acht (5,7%) beziehungsweise 77 (55,0%) der 140 STEC nachweisbar.

Vergleich von STEC aus Wildfleisch mit STEC anderer Herkunft: Zum Vergleich wurden Isolate von klassischen EHEC O103:H2 und O26:H11 sowie von STEC von Serotypen, die häufig aus Humanpatienten isoliert werden (O113:H21, O91:H21, O128:H2, O146:H28, O146:H21) herangezogen. Insgesamt wurden 155 STEC-Stämme aus Wildfleisch, landwirtschaftlichen Nutztieren, deren Produkten (Fleisch, Milch, Käse) und aus Patienten verglichen. Hinsichtlich der Virulenzgene fanden sich keine Unterschiede beim Vergleich von Vertretern des jeweiligen Serotyps, unabhängig aus welcher Quelle (Wild, Nutztier, Lebensmittel, Mensch) die STEC stammten. Stx2 und Stx2d-activ waren am häufigsten mit STEC O113:H21 und O91:H21-Stämmen assoziiert. Stx1c und Stx2-O118 lagen bei den STEC O128:H2 und O146:H21-Stämmen vor. Die Kombination der Virulenzmarker *stx*₁, *E-hlyA* und *eae* war charakteristisch für EHEC O103:H2 und O26:H11.

Genetische Verwandtschaftsuntersuchungen mit PFGE: Der Vergleich der PFGE-Profile bei EHEC/STEC Isolaten eines Serotyps zeigte hohe Übereinstimmungen zwischen Isolaten, die aus verschiedenen Quellen stammten (Wildfleisch, Nutztiere, Lebensmittel, Mensch). Die Clusteranalyse ergab bei EHEC O103:H2-, O26:H11-, und STEC O113:H21-, O128:H8- und O146:H28-Stämmen Ähnlichkeiten von 90-100% zwischen Isolaten aus Wildfleisch und aus Humanpatienten (Abbildung 1 + 2). Ähnlich hohe Übereinstimmungen ergaben sich beim Vergleich von STEC aus Wildfleisch mit STEC, die aus landwirtschaftlichen Nutztieren sowie deren Produkten stammten (Abbildung 1 + 2).

Klontypenbestimmung bei EHEC O103:H2: Durch MLST konnten die vier EHEC O103:H2-Stämme aus Wildfleisch dem Klontyp „MLST-I“ zugeordnet werden. „MLST-I“ ist vorherrschend bei EHEC O103:H2-Stämmen, die aus Durchfallerkrankungen, HC und HUS bei Menschen isoliert worden sind (16). Auch die aus landwirtschaftlichen Nutztieren und deren Produkten zum Vergleich herangezogenen EHEC O103:H2 gehörten zum Klontyp „MLST-I“.

Diskussion

Mit Ausnahme von EHEC O157 wurden STEC aus Wildfleisch bisher noch nicht als Erreger von lebensmittelbedingten Infektionen beim Menschen identifiziert. Jedoch gehören 57,1% der 140 STEC Wildfleisch-Isolate aus unserer Studie zu 18 Serotypen, die einen humanpathogenen Bezug haben (2,13). Virulenzmerkmale, die mit schweren klinischen Verläufen (HC und HUS) verbunden sind (*stx₂*, *stx_{2d-activ}* und *eae*), lagen bei 32,8% der STEC vor. Darunter fielen klassische EHEC O26:H11 und O103:H2 (isoliert aus Hirsch-, Wildschwein- und Hasenfleisch), die zu den fünf Serotypen gehören, die in Europa am häufigsten aus Humanpatienten isoliert werden (2). Unseres Wissens ist dies der erste Bericht über den Nachweis von EHEC O26 und O103 aus Wildfleisch. Mit wenigen Ausnahmen waren STEC aus Wildfleisch hinsichtlich ihrer Virulenzmerkmale mit entsprechenden STEC aus Nutztieren, Lebensmitteln und Patienten identisch. Die genetische Ähnlichkeit von STEC-Isolaten eines Serotyps, die aus verschiedenen Quellen stammen, wurde durch Untersuchungen mittels PFGE und MLST bestätigt.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass Wildtiere als natürliches Reservoir für humanpathogene EHEC und STEC eine Rolle spielen. Es ist anzunehmen, dass die aus Wildfleisch isolierten EHEC/STEC auf fäkale Kontamination durch das jeweilige Erzeugertier zurückzuführen sind. Fäkale Kontamination von Schlachtkörpern durch das Erzeugertier gilt als die wichtigste Eintragsquelle von STEC in Fleischerzeugnisse von Nutztieren. Sie kann durch einen hohen Hygienestandard reduziert werden, der im Schlachthaus unter kontrollierten Bedingungen eher gegeben ist als beim Erlegen und Ausweiden von Wild bei der Jagd.

Die Tatsache, dass STEC aus Wildfleisch, landwirtschaftlichen Nutztieren und deren Produkten starke Gemeinsamkeiten aufweisen, deuten auf eine Übertragung dieser Stämme zwischen Wild- und Nutztieren. Das natürliche Reservoir der EHEC/STEC beschränkt sich somit nicht, wie ursprünglich angenommen, nur auf landwirtschaftliche Nutztiere, wie Rinder, Schafe und Ziegen.

Weitere Studien sind notwendig, um zu klären, ob die hohe Inzidenz von STEC bei Wildfleisch auf mangelnde Hygiene bei der Fleischverarbeitung zurückzuführen ist, oder ob einer größerer Anteil der Wildtiere mit STEC kolonisiert ist. Spezifische Empfehlungen für Jäger, für Wildfleisch-verarbeitende Betriebe und für Verbraucher sollten entwickelt werden, um das Risiko von lebensmittelbedingten EHEC/STEC-Infektionen beim Menschen zu minimieren.

Literatur

1. Karch, H., P. I. Tarr, and M. Bielaszewska. 2005. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in human medicine. *Int. J. Med. Microbiol.* 295:405-418.
2. EFSA. 2007. Scientific opinion of the panel on biological hazards on a request from EFSA on monitoring of verotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) and identification of human pathogenic types. *The EFSA Journal* 579:1-61.
3. Caprioli, A., A. E. Tozzi, G. Rizzoni, and H. Karch. 1997. Non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 3:578-579.
4. Beutin L. Emerging Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*, Causes and Effects of the Rise of a Human Pathogen. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health.* 2006 Sep;53(7):299-305.
5. Pierard, D., L. Van Damme, L. Moriau, D. Stevens, and S. Lauwers. 1997. Virulence factors of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* isolated from raw meats. *Appl. Environ. Microbiol.* 63:4585-4587.
6. Rabatsky-Ehr, T., D. Dingman, R. Marcus, R. Howard, A. Kinney, and P. Mshar. 2002. Deer meat as the source for a sporadic case of *Escherichia coli* O157:H7 infection, Connecticut. *Emerg. Infect. Dis.* 8:525-527.
7. Hartung, M. 2007. Ergebnisse der Zoonoseerhebung 2005 bei Lebensmitteln. *Fleischwirtschaft* 2:98-106.
8. Hartung, M. 2007. Ergebnisse der Zoonosenerhebung bei Lebensmitteln für das Jahr 2006. *J. Verbr. Lebensm.* 2:468-479.
9. Bundesinstitut für Risikobewertung; <http://www.bfr.bund.de/cd/7134>
10. Deutscher Jagdschutz-Verbandt <http://www.jagd-online.de>
11. Gurrath, P. 2008. Vom Erzeuger zum Verbraucher: Fleischversorgung in Deutschland. Ausgabe 2008, p. 1-37. *Statistisches Jahrbuch für die Bundesrepublik Deutschland 2008.* Statistisches Bundesamt, Wiesbaden, Germany.
12. Hurlin, J. and H. Schulze. 2007. Möglichkeiten und Grenzen der Qualitätssicherung in der Wildfleischvermarktung. Department für Agrarökonomie und Rurale Entwicklung. Report 0703, 1-53. Georg-August-Universität Göttingen. Göttingen, Germany.
13. Scheutz, F. and N. A. Strockbine. 2005. Genus I. *Escherichia*, p. 607-624. *In* G. M. Garrity, D. J. Brenner, N. R. Krieg, and J. T. Staley (eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.* Springer.
14. Beutin, L., A. Miko, G. Krause, K. Pries, S. Haby, K. Steege, and N. Albrecht. 2007. Identification of human-pathogenic strains of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from food by a combination of serotyping and molecular typing of Shiga toxin genes. *Appl. Environ. Microbiol.* 73:4769-4775.
15. Gerner-Smidt, P. and F. Scheutz. 2006. Standardized pulsed-field gel electrophoresis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: the PulseNet Europe Feasibility Study. *Foodborne. Pathog. Dis.* 3:74-80.
16. Beutin, L., S. Kaulfuss, S. Herold, E. Oswald, and H. Schmidt. 2005. Genetic analysis of enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli* serogroup O103 strains by molecular typing of virulence and housekeeping genes and pulsed-field gel electrophoresis. *J. Clin. Microbiol.* 43:1552-1563.

Abbildung 1: Dendrogramm der PFGE Profile von EHEC O103:H2-Stämmen (MLST-I Klon) aus verschiedenen Quellen; die Isolate aus Wildfleisch sind fett gedruckt

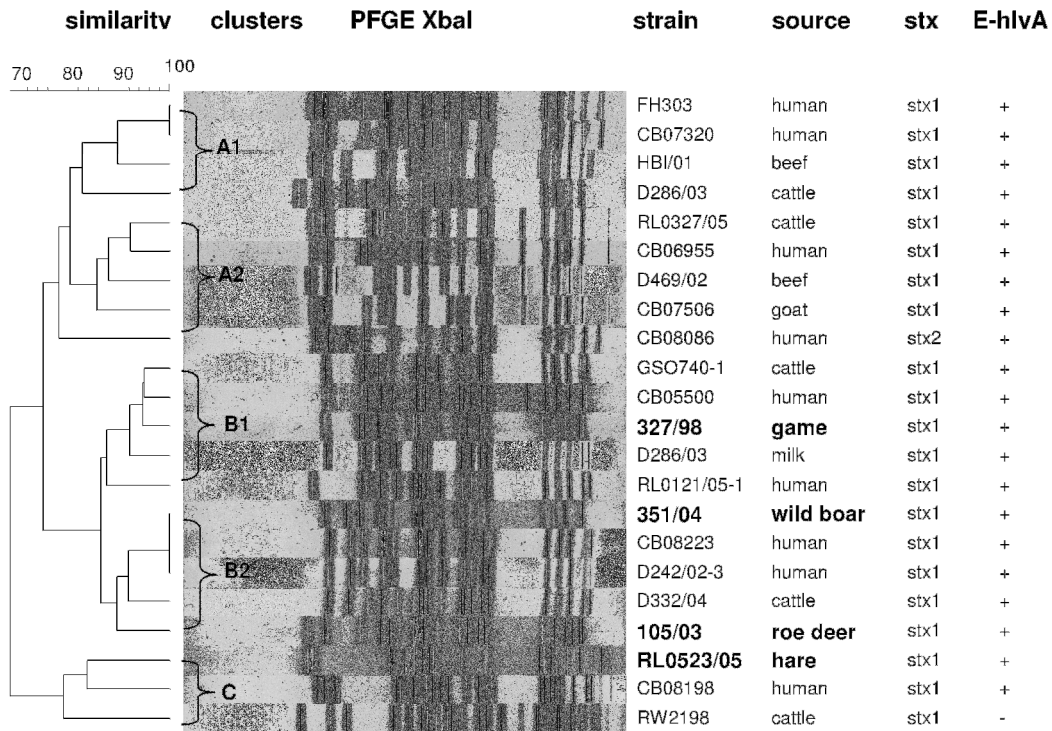
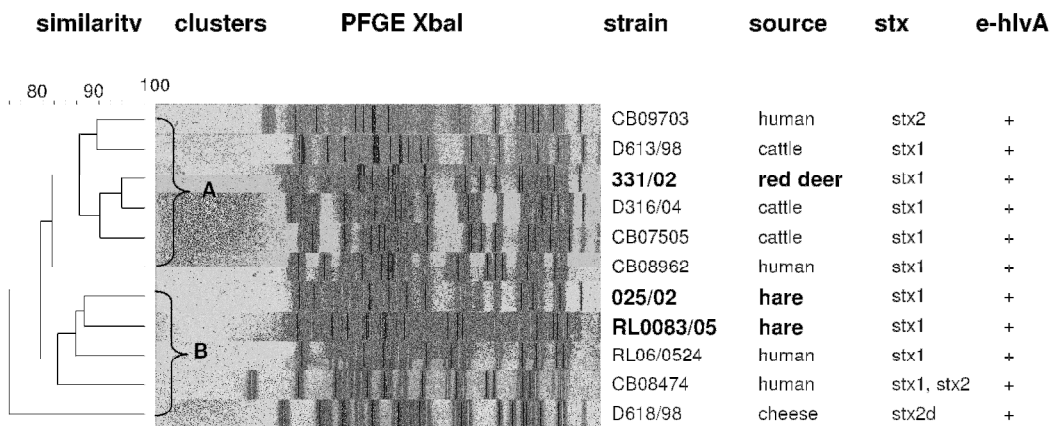


Abbildung 2: Dendrogramm der PFGE Profile von EHEC O26:H11-Stämmen aus verschiedenen Quellen; die Isolate aus Wildfleisch sind fett gedruckt



Pathogene *Vibrio* spp. in Fischen und Fischereierzeugnissen: Bedeutung, Nachweis und Vorkommen

Edda Bartelt

Niedersächsisches Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (LAVES),
Institut für Fische und Fischereierzeugnisse (IFF), Cuxhaven

1. Bedeutung pathogener *Vibrio* spp. als Erreger von Lebensmittelinfektionen

Während das Fangvolumen der Meeresfischerei seine Grenzen erreicht hat, nimmt seit 1970 der Anteil der Aquakultur an der globalen Versorgung mit Fisch, Krusten-, Schalen- und Weichtieren mit einer jährlichen Wachstumsrate von 8,7% kontinuierlich zu. Die Aquakultur liefert derzeit 76% der weltweiten Süßwasserfischproduktion und 65% der Weichtierproduktion (FAO, 2007). Mit der Entwicklung der Aquakultur wachsen die Herausforderungen an die Umweltverträglichkeit, Produktqualität und Lebensmittelsicherheit (pathogene Erreger, chemische Kontaminanten, Rückstände von Chemotherapeutika, Antibiotikaresistenzentwicklung). Pathogene Erreger in Fischen und Fischereierzeugnissen aus Aquakulturen sind aquatischen, allgemeinen und/oder humanen und tierischen Ursprungs, wobei das Vorkommen pathogener Erreger tierischen und humanen Ursprungs wie Salmonellen, *Listeria* spp., *Staphylococcus aureus* und Noro-Viren von entscheidender Bedeutung ist. Relevante Erreger marinen Ursprungs oder aus Estuaren sind **Vibrionen**.

Das Genus ***Vibrio* (V.)** enthält mindestens zwölf pathogene Spezies, wobei acht mit Lebensmittelinfektionen assoziiert sind. Die Mehrzahl der Lebensmittelinfektionen wird durch *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* oder *V. vulnificus* verursacht (Oliver and Kaper, 1997; Dalsgaard, 1998). Einige Spezies sind primär mit Gastroenteritiden assoziiert (*V. cholerae* and *V. parahaemolyticus*), während andere (*V. vulnificus*) nicht intestinale Erkrankungen, wie Septikämien verursachen können. ***V. parahaemolyticus*** ist der hauptsächliche, mit Fischereierzeugnissen assoziierte Lebensmittelinfektionserreger in Asien (FAO, 2001). Der neue *V. parahaemolyticus* Klon vom Serotyp O3:K6 trat erstmals 1996 in Indien auf (Calcutta) und wurde über Asien und die USA verbreitet (Matsumoto u.a., 2000). Die der Berechnung von Dosis-Wirkungsbeziehungen zugrunde liegenden Daten zeigten, dass die Aufnahme von 2×10^5 to 3×10^7 Zellen zur Auslösung der Erkrankung erforderlich sind, wobei epidemiologische Analysen in den USA von einer 10fach höheren MID ausgehen (FAO, 2001). Der Virulenzmechanismus von *V. parahaemolyticus* ist noch nicht geklärt. Der Erreger produziert vier Hämolyse-Komponenten, wobei zwei, das thermostabile direct hemolysin (TDH) und ein TDH-related hemolysin (TRH) sehr eng mit der Virulenz assoziiert sind. ***V. vulnificus*** verursacht Wundinfektionen, aber auch weitere schwer verlaufenden Infektionen (Bakteriämie, Septikämie), vor allem bei Risikogruppen (chronische Lebererkrankungen, Hepatitis o.a. Vorerkrankungen). Die Aufnahme von pathogenen *V. parahaemolyticus* wird oft mit dem Verzehr von rohen oder unzureichend erhitzten Fischereierzeugnissen oder rekontaminierten Lebensmitteln nach dem Zubereiten in Zusammenhang gebracht. In den USA waren Erkrankungen häufig mit dem Verzehr von Krabben, Austern, Shrimps und Lobster assoziiert (DePaola u.a., 2000).

2. Vorkommen in Fischen und Fischereierzeugnissen

In tropischen und wärmeren Regionen kommen pathogene Vibrionen in der marinen Umwelt, in Küstengewässern und Estuaren vor. *Vibrio* Spezies sind autochthon in der aquatischen Umwelt und ihre Anwesenheit und Keimdichte wird von Faktoren wie Temperatur, Salinität und Algendichte beeinflusst. Vibrionen benötigen NaCl (2-3%) zur Vermehrung und sie werden oft bei Fischen und Krusten-, Schalen und Weichtieren nachgewiesen. Die meisten Spezies sind mesophil und die höheren Keimzahlen werden von daher in der warmen Jahreszeit nachgewiesen. *V. parahaemolyticus* wird häufig in marinen Fischereierzeugnissen nachgewiesen, insbesondere in zweischaligen Muscheln. Die Mehrzahl der aus der Umwelt isolierten Stämme (ca. 95-99%) sind nicht pathogene Stämme. Die Keimzahlen von *V. parahaemolyticus* schwanken je nach Temperatur, wobei die höheren Keimzahlen in den

wärmeren Monaten nachgewiesen werden. Während der kälteren Jahreszeit überlebt der Erreger vermutlich im Sediment und wird mit dem Plankton mit steigenden Temperaturen verbreitet (EC, 2001). Die Keimzahlen in Austern können von 1 bis 10^4 cfu/g schwanken. *V. parahaemolyticus* kommt in europäischen Erzeugnissen weniger häufig vor, wobei in den Sommermonaten auch über positive Funde in Muscheln berichtet wurde (Lhafi und Kühne, 2007). Als mesophiler, halotoleranter Keim vermehrt sich *V. parahaemolyticus* in Fischereierzeugnissen, sofern sie bei Umgebungstemperatur gelagert werden. Die sehr niedrige Generationszeit (z.B. 12-18 Minuten bei 30 °C) ermöglicht die schnelle Vermehrung. Auch in lebenden Austern ist die Vermehrung während der Lagerung möglich. Sehr niedrige Temperaturen führen in Abhängigkeit von der Lebensmittelmatrix, der Salinität und weiterer Faktoren zur Keimverminderung. *V. parahaemolyticus* ist sehr hitzeempfindlich und wird durch Kochen abgetötet (D-Werte bei 50-60 °C: 0.3-0.8 min (Kaysner, 2000)). *V. vulnificus* vermehrt sich kaum unter 15 °C, bei Temperaturen um 20 °C in Fischereierzeugnissen dagegen sehr schnell (lebende Austern!). Der Erreger ist sehr sensitiv gegenüber üblichen Behandlungsverfahren für Lebensmittel (D-Wert bei 47 °C: 78 Sek.), sehr empfindlich gegenüber Kältelagerung und sehr sensitiv gegenüber niedrigem pH (kein Wachstum bei pH<5).

3. Nachweisverfahren

Neben den klassischen kulturellen Verfahren nach ISO/TS 21872-1:2006 und ISO/TS 21872-2:2006 zum qualitativen Nachweis von *Vibrio* spp. in Lebensmitteln werden zunehmend PCR-Verfahren beschrieben. Die konventionellen Verfahren, selbst in Kombination mit der Kolonieblot-Hybridisierung sind allerdings zeit- und arbeitsintensiv. Die Anwendung spezifischer PCR-Verfahren erfordert angesichts der Vielfalt potentiell pathogener *Vibrio*-Stämme den Einsatz einer optimierten Multiplex-PCR für mindestens zehn nachzuweisende Gene. In den letzten Jahren sind hierzu zahlreiche Publikationen erschienen, um den Nachweis und die Differenzierung zwischen apathogenen und pathogenen Stämmen von *V. vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, und *V. cholerae* zu führen. Ein routinefähiges Untersuchungsverfahren für den Nachweis der Amplicons von allen potentiell pathogenen *Vibrio* spp. in einem Untersuchungsgang, beispielsweise unter Anwendung der Microarray-Technik (Panicker u.a., 2004), würde signifikant die Effizienz der Untersuchung von Fischereierzeugnissen erhöhen.

4. Ergebnisse aus der amtlichen Untersuchung von Fischen und Fischereierzeugnissen

In der amtlichen Untersuchung von Fisch und Fischereierzeugnissen in Niedersachsen wurden Fischereierzeugnisse, insbesondere Krusten-, Schalen- und Weichtiere unter Anwendung der ISO-Verfahren qualitativ auf *Vibrio* spp. untersucht. Da für die quantitative Bestimmung derzeit in kein standardisiertes Verfahren für *Vibrio* spp. verfügbar ist, wurde ein MPN-Verfahren für den differenzierten Nachweis der *Vibrio* spp. unter Verwendung mehrerer Selektivmedien und weitergehender Differenzierungen eingesetzt.

In einer Schwerpunktuntersuchung von Großgarnelen in 2008 waren *Vibrio* spp. nur zu 9% nachweisbar, wobei in den positiven Garnelen-Proben der Nachweis von *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* als auch *V. vulnificus* gelang (LAVES, 2009). Nach den Niedersächsischen Ausführungshinweisen zur Durchführung der Muschelhygieneüberwachung werden Miesmuscheln aus den Muschelerzeugungsgebieten regelmäßig mikrobiologisch untersucht. Die Ergebnisse einer Studie in 2007 an insgesamt N=209 Proben zur monatlichen bakteriellen und viralen Belastung werden vorgestellt. Gleichwohl die Miesmuscheln niedersächsischer Erzeugungsgebiete grundsätzlich von mikrobiologisch einwandfreier Beschaffenheit waren und zumeist der Klassifizierung in „A-Gebiete“ entsprachen, waren das Vorkommen höherer *E. coli*- Befunde als 230 MPN/100g sowie Salmonellenfunde nicht auszuschließen. Die Miesmuscheln waren zudem sehr häufig mit Vibrionen kontaminiert. In den Sommermonaten wurden in allen untersuchten Proben Vibrionen nachgewiesen. *V. parahaemolyticus* - allerdings nur sehr selten Kanagawa-positive Stämme- war mit 54% aller Vibrionenisolate die dominierende Vibrionenspezies. Zum Teil waren die Proben mit mehreren Vibrionenarten kontaminiert. Der Nachweis von *V. fluvialis*, *V. vulnificus* und *V. cholerae* (Non-O1, non-

O139) waren zwar selten, aber dennoch möglich. Es wurde mit den Untersuchungen bestätigt, dass keine Korrelation zum Vorkommen und zur Keimzahl von *E.coli* in Muscheln, dem derzeit anzuwendenden Kriterium für die Klassifizierung von Muschelerzeugungsgebieten, besteht. Weitere Untersuchungsergebnisse von Muscheln in 2008 und 2009, insbesondere zum quantitativen Nachweis von *Vibrio* spp. werden dargestellt.

(Literatur: beim Verfasser)

Untersuchungen der Überlebensfähigkeit von Brucellen in Lebens- und Futtermitteln

Alexander Falenski¹, Anne Mayer-Scholl¹, Falk Melzer² und Karsten Nöckler¹

¹Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin

²Friedrich-Loeffler-Institut, Jena

Die Produktion von sicheren Lebensmitteln ist eine wichtige Voraussetzung für den Schutz des Verbrauchers vor Krankheit und Krankheitsausbrüchen. Durch die Zentralisierung der Futtermittel- und Lebensmittelproduktion ist die Erzeugung sicherer Lebensmittel ökonomischer und effizienter geworden. Gleichzeitig sind jedoch solche zentralisierte Strukturen anfällig für Bedrohungen durch terroristische Anschläge. Ein solcher Anschlag könnte schnell zu einer Krise im Bereich der Lebensmittelversorgung der Bevölkerung führen.

Die möglichen wirtschaftlichen und gesundheitlichen Folgen einer absichtlichen Ausbringung werden insbesondere bei der Betrachtung der Schäden deutlich, die durch die unabsichtliche Kontamination von Futter- oder Lebensmitteln entstanden sind. So erkrankten 1994 in den USA mehr als 200 000 Menschen an Salmonellose durch mit *S. enteritidis* kontaminierte, Flüssigeiscreme.

Brucella ist ein zoonotischer Erreger, welcher von den Centres of Disease Control and Prevention in den USA als Agenz der Kategorie B eingestuft wird. Diese Kategorie beinhaltet Erreger, die einfach auszubringen sind, mittlere Morbiditätsraten und geringe Sterblichkeitsrate aufweisen und eine Erweiterung der Laborkapazitäten und Krankheitsüberwachung erfordern.

Brucella kommt endemisch in den Mittelmeerländern, der Arabischen Halbinsel, Afrika, Asien und in Mittel- und Südamerika vor. Es sind derzeit zehn Spezies beschrieben, von welchen besonders *B. melitensis*, *B. suis* und *B. abortus* als humanpathogen gelten. Zu den Symptomen einer Infektion gehören unter anderem undulierendes Fieber, Gelenk- und Muskelschmerzen, Bauch- und Kopfschmerzen sowie Persönlichkeitsänderungen. Eine Brucellose wird am häufigsten durch den Verzehr kontaminierter Lebensmittel und den Kontakt mit infizierten Tieren verursacht.

Aufgrund der hohen Virulenz und Infektiosität des Erregers, sowie der schwierigen Therapie und eines fehlenden Impfstoffes sind Brucellen in der Vergangenheit zur Entwicklung biologischer Waffen von mehreren Ländern verwendet worden.

Mit dem vom Bundesamt für Landwirtschaft und Ernährung geförderten Projekt ‚Brucellakontam‘ soll die Relevanz möglicher Szenarien zur absichtlichen Einbringung von Brucellen in die Futtermittel- und Lebensmittelkette zum Zweck bioterroristischer Aktivitäten unter experimentellen Bedingungen untersucht werden. In diesem Zusammenhang sollte das tatsächliche Gefährdungspotential hinsichtlich der notwendigen Erregermenge und deren Überlebens- und Vermehrungschancen unter den herrschenden Bedingungen überprüft werden, um an den entscheidenden Stufen der Lebensmittelerzeugung zielgerichtet diagnostische Untersuchungen durchführen zu können.

Lebensmittel

Hierzu wurden am Bundesinstitut für Risikobewertung stilles Mineralwasser, H-Milch, Vollzugsmilch, Rohmilch und drei verschiedene Joghurtsorten unterschiedlicher Fettstufen mit dem *Brucella abortus* Stamm 1119-3 kontaminiert und bis zum Ende der Haltbarkeit des Lebensmittels unter gewöhnlichen Lagerbedingungen aufbewahrt.

Von den am jeweiligen Tag zu untersuchenden Proben wurden Verdünnungsreihen erstellt und diese auf Nähragar ausgespatelt, so dass nach einer Bebrütung bei 37 °C aus den gewachsenen Kolonien auf die Gesamtkeimzahl geschlossen werden konnte.

Dabei stellte sich heraus, dass der Modellkeim *Brucella* in stillem Mineralwasser 60 Tage, in H-Milch über 88 Tage, in Vorzugs- und Rohmilch über 4 Tage und in Joghurt 1-4 Tage überlebte. Die kurze Überlebenszeit in dem wesentlich länger haltbaren Joghurt kann aller Wahrscheinlichkeit nach auf den niedrigen pH-Wert, der mit 4,0-4,2 deutlich unter dem für Brucellen (bei 37°C) optimalen Bereich zwischen pH 6,6 und pH 7,5 liegt, zurückgeführt werden. Alle anderen Lebensmittel hatten einen pH-Wert im für Brucellen optimalen Bereich.

Die zusammengefassten Ergebnisse (Tabelle 1) zeigen, dass bei einer absichtlichen Kontamination der untersuchten Lebensmittel Mineralwasser, H-Milch, Vorzugsmilch und Rohmilch bei den angegebenen Temperaturen der Genuss solcher Produkte innerhalb des Mindesthaltbarkeitsdatums mit hoher Wahrscheinlichkeit zu einer Infektion mit *Brucella* führen würde.

Tab. 1: Ergebnisse der Tenazitätsuntersuchungen von *Brucella abortus* 1119-3 in ausgesuchten Lebensmitteln

Matrix	Lagerungstemperatur (°C)	Fettgehalt (%)	pH-Wert	Haltbarkeit (Tage)	Ermittelte Überlebensdauer (Tage)
Wasser	20	0,0	7,31	365	60
H-Milch	20	1,5	6,59	84	> 88*
Vorzugsmilch	5	3,5	6,68 6,75	4	> 4*
Rohmilch	5	3,2		4	> 4*
Joghurt	5	1,5	4,26	30	2
		3,5	4,21		4
		10,0	4,10		1
* <i>Brucella abortus</i> 1119-3 überlebte bis zum Ende der Untersuchungszeit.					

In einem zweiten Versuch konnte gezeigt werden, dass bei Kontamination von H-Milch mit einer geringen Konzentration von *Brucella abortus* 1119-3 ein exponentielles Wachstum innerhalb der ersten Woche einsetzt und dadurch für die Dauer der Haltbarkeit des Produkts eine deutliche Anreicherung des Erregers im Lebensmittel stattfindet.

Futtermittel

Am Friedrich-Loeffler-Institut werden im Rahmen desselben Projektes Untersuchungen zur Tenazität von Brucellen am Beispiel von *Brucella abortus* 1119-3 in ausgewählten Futtermitteln durchgeführt. Die vorliegenden Ergebnisse sind in Tabelle 2 dargestellt. Es wurde Trinkwasser in Trinkwasserqualität bei Kühlschranktemperatur (KS, ca. 8°C) und bei Raumtemperatur (RT, ca. 22-24°C) untersucht, welches mit ca. 10^8 KbE/ml kontaminiert wurde. Die Ergebnisse zeigen, dass Brucellen im kühleren Milieu, welches Leitungswasser bzw. tiefes Brunnenwasser imitieren soll, deutlich länger vermehrungsfähig und damit infektiös bleiben, als bei Raumtemperatur.

Als weiteres Referenzfuttermittel wurde Krafftutter (Getreideschrot) ausgewählt, wie es in der Schweinemast üblicherweise Anwendung findet. Nach aufwändigen Voruntersuchungen hinsichtlich einer auch unter BSL3-Bedingungen praktikablen Experimentieranordnung wurden bisher folgende Untersuchungsergebnisse (siehe Tabelle 2) erzielt. Die am Tag 0 in das Probenmaterial eingebrachte Zahl von ca. 10^8 KbE/g Futter war auch bei sofortiger Untersuchung des Probenmaterials nach Einbringung der Bakteriensuspension nur in geringerer Menge (Reduzierung um eine logarithmische Stufe) nachweisbar. Entsprechend sind alle erzielten Ergebnisse zu bewerten, d.h. entweder stirbt direkt nach Einbringung ein gewisser Prozentsatz der Erreger ab oder es gibt eine experimentell bedingte verminderte Nachweisrate. Vermehrungsfähige Brucellen konnten bis zu 2 Wochen nach Einbringung in das Krafftutter nachgewiesen werden.

Tab. 2: Ergebnisse der Tenazitätsuntersuchungen von *Brucella abortus* 1119-3 in ausgesuchten Futtermitteln

Matrix	Lagerungs- temperatur (°C)	pH-Wert	Ermittelte Überlebensdauer (Wochen)
Tränkwasser	21-24	7,3	ca. 3
Tränkwasser	6-8	7,3	ca. 6
gepuffertes Tränkwasser	6-8	7,5	> 15
Kraftfutter	21-24	trocken	ca. 2

Ausblick

Als weiteres relevantes Futtermittel soll Silage, wie sie als Futter für Rinder und Schafen eingesetzt wird, Verwendung finden. Die dazu bereits durchgeführten Untersuchungen mit gepuffertem Wasser verschiedener pH-Werte (zwischen 4 und 8), zeigten, dass die Brucellen lediglich bei einem pH-Wert von 4 im Vergleich zu allen anderen Pufferlösungen relativ schnell absterben. Ansonsten ist im Vergleich zu ungepufferten Lösungen (normales Trinkwasser) die Überlebensfähigkeit der Brucellen in gepufferten Lösungen (Phosphat-Zitratpuffer) deutlich erhöht. Wir gehen davon aus, dass der relativ niedrige pH-Wert von 4 bis 5 bei Silage nicht zwangsläufig zu einem frühzeitigen Absterben der eingebrachten Brucellen führt. In ersten Vorversuchen wird derzeit die unter den nötigen Sicherheitsvorkehrungen sinnvollste Experimentieranordnung ermittelt.

Mikrobiologie III

Mycobacterium paratuberculosis in der Lebensmittelkette

Bedeutung und Minimierungsoptionen

Philipp Hammer
Max Rubner-Institut, Kiel

Tierkrankheit/Morbus Crohn

Mycobacterium avium ssp. *paratuberculosis* (MAP) ist seit Anfang des 20. Jahrhunderts als Erreger der Paratuberkulose vor allem bei Wiederkäuern bekannt. Beim Rind erfolgt die Infektion in den ersten Lebenswochen überwiegend durch Aufnahme von sekretorisch oder fäkal kontaminiertem Kolostrum bzw. von Milch. Klinische Symptome in Form von unstillbarem Durchfall treten ca. ab dem 3-4 Lebensjahr oder später, manchmal auch gar nicht auf. Die Krankheit gilt als unheilbar und endet bei klinischen Fällen fast immer tödlich. Infizierte Tiere können lange vor dem Auftreten klinischer Symptome den Erreger mit dem Kot ausscheiden. Dies erfolgt oft intermittierend, d. h. es gibt Phasen mit und ohne Ausscheidung und auch die Keimzahlen können stark schwanken. Bei klinischen Fällen können sehr hohe Keimzahlen erreicht werden. Extremfall sind hier die sog. „Supershedder“, bei denen 10^{8-9} KbE/g Kot vorkommen können.

In Bezug auf eine Beteiligung von MAP an der Crohnschen Erkrankung des Menschen, und damit auch auf die Bedeutung als möglicher Zoonoseerreger, gibt es nach wie vor widersprüchliche Auffassungen. Es besteht mit großer Sicherheit ein Zusammenhang zwischen dem Vorkommen des Erregers bei Menschen und der Erkrankung Morbus Crohn (1). Die Diskussion über dessen Rolle bei der Ätiologie oder gar eine Kausalität ist aber nach wie vor offen. Unterstützer der Kausaltheorie führen neben Erkenntnissen aus genetischen Forschungen u.a. Befunde aus Biopsiematerial und Serologie sowie teilweise erfolgreiche Therapieversuche mit anti-mykobakteriellen Antibiotika als Begründung auf. Zu diesem Themenkomplex hat 2007 eine Expertenrunde auf Einladung der American Academy of Microbiology getagt und Forschungsbedarf wie folgt formuliert (2):

- an infiziertem Gewebe ist zu prüfen, ob MAP nur als Opportunist vorhanden ist und die eigentliche Ursache der Infektion ein anderer Erreger ist, dies gilt auch in Bezug auf die Wirksamkeit einer Antibiotikatherapie
- um Untersuchungsergebnisse vergleichbar und vor allem belastbar zu machen muss eine standardisierte, in Laborvergleichsuntersuchungen geprüfte, auf einem Goldstandard basierende Methodik etabliert werden – dies wird als Ausschlußkriterium gesehen

Vor dem Hintergrund der noch offenen Fragestellungen sollte unter dem Gesichtspunkt des vorbeugenden Verbraucherschutzes eine Exposition des Menschen gegenüber diesem Erreger vermieden oder wenigstens reduziert werden.

Eintrag und Verhalten in der Nahrungskette

Der Eintrag von MAP in die Umwelt und damit auch in die Nahrungskette erfolgt überwiegend durch Kot subklinisch und klinisch erkrankter Tiere. Hauptaugenmerk soll hier auf Rindern liegen, die auf Grund der Bestandszahlen und der abgesetzten Kotmenge die größte Bedeutung haben dürften. Der Erreger ist sehr widerstandsfähig gegenüber Umwelteinflüssen und kann jahrelang außerhalb des Wirtkörpers überleben. Ein großer Vorteil aus hygienischer Sicht ist dabei, dass eine Vermehrung nur im Wirt erfolgen kann, das Geschehen in Umwelt und Nahrungskette daher von stetiger Verminderung der Keimzahlen gekennzeichnet ist. Dies geschieht einerseits durch Absterben, andererseits durch Verdünnung z.B. in Wasser oder bei der Milchsammlung. Ein wichtiges Problem in der Lebensmittelverarbeitung,

dass Erreger in die Betriebe einwandern, haften und sich dort vermehren, was dann eine Rekontaminationsgefahr für die Produkte darstellt, ist durch die fehlende Vermehrungsfähigkeit praktisch auszuschließen.

Vorkommen von MAP in Lebensmitteln

Die umfangreichsten Untersuchungen zum Vorkommen von MAP in Lebensmitteln sind bisher an Milch und Milchprodukten durchgeführt worden (Tab.1).

Tab. 1: Kultureller Nachweis von MAP in Milchprodukten aus dem Handel

Produkt	Prozessbedingungen	Proben ins-ges./positiv	Land	Autor
Vollmilch	mindestens 71,7 °C für 15 s	244/4	CZ	(3)
Vollmilch	„Pasteurisiert“, keine Details angegeben	702/20	USA	(4)
Vollmilch	72-74 °C für 15-28 s	228/3	GB	(5)
Trinkmilch, 1,5 % Fett	72-75 °C für 14-25 s	179/5	GB	(5)
Magermilch	72 °C für 15-17 s	160/2	GB	(5)
Voll- und Magermilch	„Pasteurisiert“, keine Details angegeben	124/2	D	(6)
Trinkmilch	„Pasteurisiert“, keine Details angegeben	18/1	RA	(7)
Trinkmilch	138 °C für 30 s	30/1	RA	(7)
Weichkäse	Feta, keine Angabe ob Milch erhitzt	42/1	GR	(8)
Babynahrungspulver	keine Information	51/1	CZ	(9)

Zunehmend werden auch Ergebnisse von Studien an Schlachttieren veröffentlicht. Hier zeigt sich, dass neben Organen auch muskelassoziierte Lymphknoten und die Muskulatur betroffen sein können (10, 11). Eine disseminierte Infektion kann schon bei klinisch unauffälligen Tieren vorliegen (38 %), d.h. diese würden „gesund“ zur Schlachtung gelangen (13). Erwartungsgemäß scheint fäkale Kontamination in Bezug auf Schlachtkörperoberflächen ein Problem zu sein (14) und auch Kreuzkontamination zwischen Schlachtkörpern eine Rolle zu spielen (15).

Die Tenazität von MAP und das dadurch bedingte nahezu ubiquitäre Vorkommen in der Umwelt führen auch zur Kontamination von Oberflächengewässern (16). Inwieweit dies Bedeutung für daraus gewonnenes Trinkwasser hat ist in der Diskussion.

Technologische Optionen zur Reduktion von MAP in Lebensmitteln

Bei Trinkmilch lag der Schwerpunkt der Forschung naturgemäß auf dem Feld der Hitzeinaktivierung. Die Literaturdaten sind hier uneinheitlich. Zusammenfassend, unter Einschluss eigener Untersuchungen, zeigt sich für die Reduktion von MAP folgendes Bild (17):

- Dauererhitzung (30 min/63 °C): Reduktion 5 – 6 log₁₀ Stufen
- Kurzzeiterhitzung (15-30 s/72-75 °C): Reduktion 4 – 6 log₁₀ Stufen
- Hoherhitzung (z.B. 1 s/127 °C): Reduktion 4 – 6 log₁₀ Stufen
- UltraHoherhitzung (> 1 s/> 135 °C): Reduktion bis 7 log₁₀ Stufen

In Abhängigkeit von der kulturellen Untersuchungsmethode und dem Probenvolumen, konnten nach allen Erhitzungsprozessen immer wieder überlebende MAP in geringer Keimzahl nachgewiesen werden. Die theoretisch für Erhitzungsprozesse immer zu erwartende Überlebensrate liegt hier selbst bei der UltraHoherhitzung, die normalerweise eine sog. „kommerzielle Sterilität“ auch in Bezug auf Abtötung von Sporen erreicht, noch im messbaren Bereich. Neueste Erkenntnisse zur Sporenbildung bei *M. marinum* und *M. bovis* BCG könnten hier in Zukunft vielleicht eine Erklärung geben (18). Weitere Optionen zur Reduktion von

Bakterien und somit auch von MAP bei der Milchbearbeitung wie Homogenisierung, Reinigungszentrifugation, Bactofugation und Mikrofiltration führen zur Reduktion um 90 %, 50 %, 90 % bzw. 99 %. Inwieweit dies für MAP tatsächlich zutrifft wird derzeit in dem EU-Forschungsvorhaben ParaTBTools bearbeitet. Die Reduktion bei der Käseherstellung wird bestimmt durch die Summe der Effekte die Milcherhitzung, Salzgehalt, pH-Wert und Reifungskultur bewirken. Bei Herstellung von Käse aus Rohmilch wird durch die drei letzten Faktoren eine Reduktion der Keimzahl um 90 % bei Frischkäse nach 40-50 Tagen, bei Tilsiter nach 45 Tagen, bei Emmentaler nach 28 Tagen und bei Cheddar nach 90-107 Tagen beschrieben (19, 20, 21). Weitere Untersuchungen zum Verhalten bei der Käse- und Joghurtherstellung werden ebenfalls im Rahmen von ParaTBTools durchgeführt (<http://www.vigilanciasanitaria.es/paratbtools/index.php>).

Minimierungsoptionen

Das Vorkommen und die Keimzahl von MAP in der Nahrungskette, lassen sich durch eine Reihe von Maßnahmen in der Primärproduktion und bei der Lebensmittelherstellung reduzieren.

In der Primärproduktion sind Maßnahmen des vorbeugenden Infektionsschutzes und des Herdenmanagements geeignet, das Problem gar nicht erst entstehen zu lassen. Bei bereits infizierten Rinderherden kann vor dem Hintergrund der hohen Ausscheidungsmenge eine sofortige Merzung klinisch kranker Tiere den Gesamteintrag erheblich reduzieren. In die gleiche Richtung zielt eine Verbesserung der Melkhygiene zur Minimierung der fäkalen Kontamination der Milch. Diese beiden Maßnahmen sind kurzfristig umsetzbar und wirksam wogegen Sanierungsprogramme für betroffene Herden nur langfristig eine Wirkung zeigen können. Einen Beitrag zur Herdensanierung kann auch die schonende Kolostrumerhitzung leisten, bei der MAP abgetötet, die Immunglobuline aber erhalten bleiben. Hierzu liegen erste eigene Untersuchungsergebnisse vor. Zu beachten ist, dass Kolostrum auch für den menschlichen Verzehr zugelassen ist.

Eine weitere Abreicherung bei der Lebensmittelherstellung durch entsprechende Prozess-technologie ist möglich, die entsprechenden Optionen sind überwiegend kurzfristig anwendbar. Zu berücksichtigen ist hierbei die hohe Tenazität des Erregers und das Ausbleiben einer Vermehrung außerhalb eines Wirtes. Für eine Minimierung steht an erster Stelle die Wärmebehandlung. Dies Verfahren zeigt bei Milch eine gute Wirkung, für andere Lebensmittel sollten bei Temperaturen über 60 °C ebenfalls positive Effekte zu erwarten sein, auch wenn der empirische Nachweis noch aussteht. Weitere erprobte Verfahren bei der Milchbearbeitung sind Homogenisierung und Fermentation. Für Milch haben die bereits kommerziell genutzten Technologien der Bactofugation und Mikrofiltration bei anderen Bakterienarten gezeigt, dass eine Reduktion der Keimzahl um bis zu 99 % erreicht werden kann, dies sollte auch für MAP zutreffen. Erste Ergebnisse aus dem Bereich Schlachtung zeigen, dass eine verbesserte Schlachthygiene zur Vermeidung von fäkaler Kontamination des Schlachtkörpers und eine getrennte Schlachtung infizierter Tiere zu einer Reduktion des Eintrages führen sollten. Problematisch ist, dass Tiere mit bereits disseminierter Infektion nicht immer als krank erkannt werden.

Schlussfolgerungen

Bezüglich einer eventuellen Relevanz von MAP für die Lebensmittelkette lässt sich folgendes feststellen:

MAP wird in die Nahrungskette eingetragen, das Vorkommen von kleinen Keimzahlen in Milch und Milchprodukten aus dem Handel ist nachgewiesen. Bei anderen Lebensmitteln, insbesondere bei verarbeitetem Fleisch und Fleischprodukten, fehlt dieser Nachweis, ein Vorkommen ist jedoch wahrscheinlich. Durch sofortige Merzung klinisch kranker Rinder kann der Eintrag ganz erheblich reduziert werden.

Im Bereich Milch sind eine Reihe von Prozessoptionen geprüft, die zu einer starken Reduktion führen, allen voran die Wärmebehandlung. Eine Anwendbarkeit für andere Lebensmittel bedarf noch der Prüfung.

Derzeitige Bemühungen MAP von der Nahrungskette fernzuhalten, bzw. innerhalb dieser auf eine Minimierung hinzuwirken, haben vorbeugenden Charakter, solange die Rolle des Erregers als möglicher Zoonoseerreger nicht abschließend geklärt ist.

Literatur

- (1) Feller, M., Huwiler, K., Stephan, R., Altpeter, E., Shang, A., Furrer, H., Pfyffer, G.E., Jemmi, T., Baumgartner, A., Egger, M. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* and Crohn's disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infectious Diseases* 2007, **7**, no. 9, 607-613
- (2) Nacy, C., Buckley, M. *Mycobacterium avium paratuberculosis*: Infrequent human pathogen or public health treat. Report from the American Academy of Microbiology 2008, doi <http://academy.asm.org/images/stories/documents/mycobacteriumaviumparatuberculosis.pdf>
- (3) Ayele, W.Y., Svastova, P., Roubal, P., Bartos, M., Pavlik, I. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* Cultured from Locally and Commercially Pasteurized Cow's Milk in the Czech Republic. *Appl. Environm. Microbiol.* 2005, **71**, 1210-1214
- (4) Ellingson, J.L.E., Anderson, J.L., Koziczowski, J.J., Radcliff, R.P., Sloan, S.J., Allen, S.E., Sullivan, N.M. Detection of Viable *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Retail Pasteurized Whole Milk by Two Culture Methods and PCR. *J. Food Prot.* 2005, **68**, 966-972
- (5) Grant, I.R., Ball, H.J., Rowe, M.T. Incidence of *Mycobacterium paratuberculosis* in Bulk Raw and Commercially Pasteurized Cow's Milk from Approved Dairy Processing Establishments in the United Kingdom. *Appl. Environm. Microbiol.* 2002, **68**, 2428-2435
- (6) Hassan, A.A., Akineden, Ö., Usleber, E. Untersuchungen zum kulturellen Nachweis von *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Konsummilch. Proc. 46. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft, Sept. 27-30 2005, Garmisch-Partenkirchen, Germany, 173-178
- (7) Paolicci, F., Cirone, K., Morsella, C., Gioffré, A., Romano, M. Isolation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map) from commercial pasteurized milk. Proc. of the 8th International Colloquium on Paratuberculosis, Aug. 14-18 2005, Copenhagen, Denmark, 342
- (8) Ikonopoulou, J., Pavlik, I., Bartos, M., Svastova, P., Ayele, W.Y., Roubal, P., Lukas, J., Cook, N., Gazouli, M. Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in retail cheeses from Greece and the Czech republic. *Appl. Environm. Microbiol.* 2005, **71**, 8934-8936
- (9) Hruska, K., Bartos, M., Kralik, P., Pavlik, I. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in powdered infant milk: paratuberculosis in cattle - the public health problem to be solved. *Veterinarni Medicina* 2005, **50**, 327-335
- (10) Rossiter, C.A., Henning, W.R. Isolation of *Mycobacterium paratuberculosis* from thin market cows at slaughter. *J. Dairy Sci.* 2001, **84** (Suppl. 1):113. (Abstr.)
- (11) Seitert, G., Bögli-Stuber, K., Kohler, C., Wittwer, M., Wassenaar, T.M., Frey, J., Bisig-Choisat, B. Development and validation of molecular biological methods for the detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in tissues from slaughtered cows. Proc. 44. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft, Sept. 29.- Oct. 2 2003, Garmisch-Partenkirchen, Germany, 278-283
- (12) Ayele, W.Y., Bartos, M., Svastova, P., Pavlik, I. Distribution of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in organs of naturally infected bull-calves and breeding bulls. *Vet. Microbiol.* 2004, **103**, 209-217

- (13) Antognoli, M.C., Garry, F.B., Hirst, H.L., Lpmbard, J.E., Dennis, M.M., Gould, D.H., Sal-
man, M.D. Characterization of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* disseminated
infection in dairy cattle and its association with antemortem test results. *Vet. Microbiol.* 2008,
127, 300-308
- (14) Meadus, W.J., Gill, C.O., Duff, P., Badoni, M., Saucier, L. Prevalence on beef carcasses
of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* DNA. *Int. J. Food Microbiol.* 2008, **124**,
291-294
- (15) Wells, J.E., Bosilevac, J.M., Kalchayanand, N., Arthur, T.M., Shackelford, S.D.,
Wheeler, T.L., Koochmarai, M. Prevalence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*
in Ileocecal Lymph Nodes and on Hides and Carcasses from Cull Cows and Fed Cattle at
Commercial Beef Processing Plants in the United States. *J. Food Prot.* 2009, **72**, 1457-1462
- (16) Pickup, R.W., Rhodes, G., Bull, T.J., Arnott, S., Sidi-Boumedine, K., Hurley, M., and
Hermon-Taylor, J. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in lake catchments, in river
water abstracted for domestic use, and in effluent from domestic sewage treatment works:
Diverse opportunities for environmental cycling and human exposure. *Appl. Environm. Mi-
crobiol.* 2006, **72**, 4067-4077
- (17) Hammer, P., Kiesner, C., Walte, H.-G., Teufel, P. Inactivation of *Mycobacterium avium*
subsp. *paratuberculosis* in whole milk, skim milk and cream in a pilot plant pasteurizer. *Kieler
Milchw. Forschungsberichte* 2006, **58**, 17-40
- (18) Ghosh, J., Larsson, P., Singh, B., Pettersson, B.M.F., Islam, N.M., Sarkar, S.N., Das-
gupta, S., Kirsebom, L.A. Sporulation in mycobacteria. *PNAS* 2009, **106**, 10781-10786
- (19) Sung, N., Collins, M.T. Effect of Three Factors in Cheese Production (pH, Salt, and
Heat) on *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* Viability. *Appl. Environm. Microbiol.*
2000, **66**, 1334-1339
- (20) Spahr, U., Schafroth, K. Fate of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Swiss
Hard and Semihard Cheese Manufactured from Raw milk. *Appl. Environm. Microbiol.* 2001,
67, 4199-4205
- (21) Donaghy, J.A., Totton, N.L., Rowe, M.T. Persistence of *Mycobacterium paratuberculosis*
during manufacture and ripening of Cheddar cheese. *Appl. Environm. Microbiol.* 2004, **70**,
4899-4905

***Listeria monocytogenes* – a re-emerging phenomenon?**

Martin Wagner

Institute for Milk Hygiene, Milk Technology and Food Science and Christian-Doppler Laboratory for Molecularbiological Food Analytics, Department for Farm Animals and Veterinary Public Health, Vienna, Austria

Combatting *L. monocytogenes*, a pathogen causing severe invasive infections in mammals and now known for almost a century, is still one of the most challenging problems in food hygiene.

Still fascinating is the clinical manifestation of the disease in the human body that comprises either the central nervous system or the gravid reproduction system. The clinical manifestations in humans are very similar to the manifestation in the animal body. A further parallel is the cause of infection, since both humans and animals attract the infection via contaminated food or feed. Still unknown is if the infection, as in humans, is facilitated when animals suffer from an immunosuppression due to stress or underlying disease.

Human prevalences of listeriosis have been raising in some EU member states in the recent years. France reported an increase from 3.5 to 5.7 cases per million persons within 3 years (Goulet et al., 2009). Other member states such as Germany (Koch and Stark, 2005), Austria (Kasper et al., 2009) and the UK (Cairns and Payne, 2009) observed similar increases, although the peak in case accumulations seem to be passed and the numbers started to drop again in 2008. The French data emphasize age being the most substantial parameter in attracting the disease. In the French study it was shown that most cases occurred in persons >60, with those over >75 being the most vulnerable group (Goulet et al., 2008). These findings are, although not surprising, irritating since *L. monocytogenes* was found most prevalent in households of elderly what was obviously a result of the consumption patterns since food commodities known for vulnerability with regard to *Listeria* contamination were more often present in this social context (Wagner et al., 2007). The presence of underlying disease in the patients suffering from listeriosis, as a factor pointing towards an immunocompromised state, did not seem to have a great influence on the outcomes. This was in line with observations from Austria, where the presence of a particular genotype that was closely related to the types having caused most of the outbreaks worldwide was correlated with unusual high fatalities in 1996. The underlying disease status obviously did not have a similar impact (Wagner and Allerberger, 2003). In a study from the UK, bacteraemic cases presented more frequently with gastrointestinal symptoms and were more likely to have underlying medical conditions than CNS cases. Gastroenteric listeriosis has been considered as a mild form of listeriosis but the numbers of outbreak reports are increasing. The authors also stressed the point that medical treatment with regard to lowering the acid barrier in the stomach could have an impact on the outcome of the disease

At least until now, no outbreak episode was unravelled in the accumulation of listeriosis in Europe. Most cases of listeriosis occur sporadically and the reason for that phenomenon is not really understood. It is however likely that the probability of attracting the infection is lowered by limiting factors such as the virulence of isolate (virulence heterogeneity, most clinical cases are attributed to a few serovars), level of contamination (contaminated foods are usually spoiled at low levels), stress response towards food chain (*Listeriae* are good adaptors to stresses but bad competitors to the commensal flora) and the response of the host (some degree of immunocompromised status is facilitating the disease onset).

According to a statement recently published by the European Food Safety Authority (EFSA), the transmission of *Listeria* should be a matter of increased and intensified research. *Listeria*, both the pathogenic and the apathogenic species, are usually transmitted from environments into food processing plants. Interestingly, the scientific information on the survival capabilities

of listeriae outside foodchains is rather poor. *Listeria* can be isolated from plant rhizospheres, soil samples and primitive organisms such as acanthamoeba (Kutter et al., 2006). Soil moisture seems to have some impact on the survival. Introduction of listeriae into the food plants is certainly facilitated by having insufficient hygienic barriers in place. A stringent and widely understood phenomenon is the persistence of *Listeriae* in food processing plants. Since 1996, reports have been many showing that indistinguishable genetic types of listeriae are frequently recoverable from various materials and surfaces within dairies, fish, meat or produce processing plants. A conclusion is that listeriae survive in niches where the sanitation measures lead to inefficient results. From there, listeriae can contaminate the food under processing through crosscontamination by inappropriate trafficking, workers and manipulations, aerosols or when a contaminated equipment is getting into direct contact with the food under processing (Pappelbaum et al., 2008). In many outbreaks, slicers, smear robots, packaging machines and other equipment that is often hard to decontaminate was shown to transfer the pathogen to the product. In cheese making, smearing could transfer the contamination efficiently when the process of smearing is started on the almost finished cheeses since cheeses at a latter stage of ripening are usually contaminated at higher levels than cheese at the beginning of the smearing cycle. An innovative element of the Austrian *Listeria* monitoring is to use a very sensitive method (about 1000ml of smear liquid is tested every two to four weeks). Such an approach allows to detect very few, even stressed *Listeria* cells thus allowing to unravel a starting contamination cycle very timely. In about 65% of the cases where we isolated the organism once we were not capable of detecting it in follow-up investigations. However, if the chance of early sanitation response is missed, plant surfaces could be persistently colonized.

Literatur

Cairns BJ, Payne RJH. (2009) Sudden increases in listeriosis rates in England and Wales, 2001 and 2003. *Emerg Infect Dis* 15: 465-468.

Gillespie IA, McLaughlin J, Little CL, Penman C, Mook P, Grant K, O'Brian SJ (2009) Disease presentation in relation to infection foci for non pregnancy-associated human listeriosis in England and Wales, 2001-2007: observational study. *J Clin Microbiol* Aug Epub ahead.

Goulet V, Hedberg C, le Monnier A, de Valk H. (2008) Increasing incidence of listeriosis in France and other European countries. *Emerg Infect Dis* 14: 734-740.

Kasper S, Huhulescu S, Auer B, Heller I, Karner F, Würzner R, Wagner M, Allerberger F. (2009) Epidemiology of listeriosis in Austria. *Wien Klin Wochenschr* 121: 45-51.

Koch J, Stark K. Significant increase of listeriosis in Germany – epidemiological patterns 2001-2005 (2006) *Euro Surveill* 11:85-88.

Kutter S, Hartmann A, Schmid M. (2006) Colonization of barley (*Hordeum vulgare*) with *Salmonella enterica* and *Listeria* spp. *FEMS Microbiol Ecol.* 56, 262-271.

Pappelbaum K, Grif K, Würzner R, Hein I, Ellerbroek L, Wagner M. (2008) Contamination chains of *Listeria monocytogenes* in a produce processing plant. *J Food Prot.* 71, 735-741.

Wagner M, Auer B, Trittmel C, Hein I, Schoder D. (2007) Survey of the *Listeria contamination* of ready-to-eat food products and household environments in Vienna, Austria. *Zoonoses Public Health* 54: 16-22.

Wagner M, Allerberger F (2003) Characterization of *L. monocytogenes* by serotyping and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) to investigate 41 cases of sporadic listeriosis in Austria. *FEMS Med. Immun. Micro.* 35, 227-234.

Vorkommen von *Trichinella* in Deutschland: Ansätze für eine risikobasierte Untersuchung beim Schwein

Karsten Nöckler, Sabine Reckinger und Anne Mayer-Scholl
Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin

Die Trichinellose ist eine Zoonose, die durch Fadenwürmer der Gattung *Trichinella* verursacht wird und beim Menschen mild bis tödlich verlaufen kann. Die Infektion erfolgt durch den Verzehr von Fleisch oder daraus hergestellten Produkten (z.B. Rohwurst) welche infektiöse Stadien dieses Parasiten (Muskellarve 1) enthalten. In Deutschland sind Trichinellose Fälle beim Menschen eher selten und zumeist importiert. In der Vergangenheit traten jedoch auch größere autochthone Ausbrüche mit mehreren an Trichinellose erkrankten Personen auf. Deshalb muss das Fleisch aller Tiere, die potentiell mit diesem Parasiten infiziert sein können (insbesondere Schwein, Wildschwein und Pferd), einer Trichinenuntersuchung unterzogen werden.

Nach den an das Statistische Bundesamt übermittelten Daten wurden zwischen 1999 und 2008 mehr als 445 Mio. Schlachtschweine in Deutschland untersucht und lediglich 4 Schweine waren in der Trichinenuntersuchung positiv. In allen positiven Fällen (*Trichinella spiralis*) handelte es sich um Schweine aus Freilandhaltung mit 1 Tier im Jahr 2003 aus Nordrhein-Westfalen und 3 Tieren im Jahr 2008 aus Mecklenburg-Vorpommern. Als Infektionsquelle kommt der Eintrag über infizierte Wildtiere bzw. die Verfütterung von Fleisch dieser Tiere in Betracht. Somit ist die Exposition maßgeblich vom Haltungssystem abhängig, wobei das Risiko einer *Trichinella*-Infektion bei Schweinen aus geschlossenen Haltungssystemen als vernachlässigbar eingeschätzt wird. Alle bisher in Deutschland untersuchten Schlachtpferde waren in der Trichinenuntersuchung negativ.

Im Vergleich zu den Haustieren kommt *Trichinella* bei Wildtieren in Deutschland eine größere Bedeutung zu. Bei Wildschweinen liegt die durchschnittliche *Trichinella*-Prävalenz deutschlandweit bei etwa 0,004%. Während in der Vergangenheit die meisten *Trichinella*-Funde beim Wildschwein aus Süddeutschland (Bayern, Baden-Württemberg) kamen, häufen sich in letzter Zeit die positiven Befunde aus Nord-Ostdeutschland (Mecklenburg-Vorpommern). Offenbar besteht hier ein Zusammenhang mit der Marderhundpopulation, welche in dieser Region seit den letzten Jahren drastisch angewachsen ist. Regional in Mecklenburg-Vorpommern beim Marderhund durchgeführte Untersuchungen ergaben eine *Trichinella*-Prävalenz (*T. spiralis* und *T. pseudospiralis*) von bis zu 5%. Für den Fuchs wurde in verschiedenen Regionen Deutschlands eine Befallshäufigkeit (*T. spiralis*, *T. pseudospiralis* und *T. britovi*) von 0,03 bis 1% ermittelt.

Durch die Verordnung (EG) Nr. 2075/2005 wurde die Trichinenuntersuchung für den innergemeinschaftlichen Handelsverkehr und den Import aus Drittländern neu geregelt. Mit dieser Verordnung, die auch national unmittelbar rechtswirksam ist (Ausnahme lokal vermarktete Wildschweine und Schweine aus Hausschlachtungen), wurden die vorher existierenden verschiedenen rechtlichen Vorgaben (Richtlinien 64/433/EWG, 77/96/EG, 92/45/EG und Entscheidung 92/120/EG) gebündelt. Oberster Grundsatz ist, dass das Fleisch aller Tiere, die sich mit Trichinellen infizieren können, einer Untersuchung unterzogen werden muss, wobei für Schweine auch eine risikoorientierter Ansatz möglich ist. Im Vorfeld der neuen Gesetzgebung wurden verschiedene Risikobewertungen zum Vorkommen, der Epidemiologie, Diagnostik und Überwachung der Trichinellose durch den wissenschaftlichen Ausschuss der Kommission und später durch die Europäische Lebensmittelbehörde durchgeführt.

Nach dieser Verordnung ist nunmehr eine systematische Trichinenuntersuchung nicht mehr notwendig, sofern es sich um Mastschweine aus einem zertifizierten Betrieb handelt oder die Schweine aus einer Region stammen, in der das Risiko einer *Trichinella*-Infektion zu vernachlässigen ist. Für alle anderen Schweine aus Haltungen mit einem höheren Risiko (Sau-

en, Eber, Tiere aus Freilandhaltung) ist die Trichinenuntersuchung weiterhin vorgeschrieben. Diese Untersuchungspflicht betrifft natürlich auch Pferde, Wildschweine und andere Tiere, die zur Fleischgewinnung dienen und mit Trichinellen infiziert sein können. Die vom BfR im Jahr 2007 durchgeführte Risikobewertung ergab, dass eine Anerkennung Deutschlands als Region mit einem vernachlässigbaren *Trichinella*-Risiko beim Schwein aufgrund des *Trichinella*-Vorkommens bei Wildtieren derzeit nicht möglich ist. Unter Berücksichtigung der in Deutschland vorliegenden Bedingungen, d.h. einem hohen Anteil von Mastschweinen aus geschlossenen Intensivhaltungen, wird jedoch die Möglichkeit zur Zertifizierung entsprechender Betriebe gesehen. Vom Lebensmittelunternehmer müssen dazu verschiedene Voraussetzungen für den Bestand (wie geschlossenes Haltungssystem mit Barrieren, Schädlingsbekämpfung, Futtermittelkontrolle, Ferkel aus kontrollierter Haltung, Kennzeichnung der Tiere, etc.) erfüllt sein. Die Zertifizierung des Betriebes erfolgt durch die zuständige Behörde, wobei zuvor zwei Kontrollbesuche innerhalb von 12 Monaten durchzuführen sind. Mit der Zertifizierung von Betrieben hat das Mitgliedsland jährlich einen Bericht an die Kommission abzugeben. Dieser umfasst u.a. die Anzahl der humanen Trichinellose-Fälle, die Testergebnisse für die Schweine aus den nicht zertifizierten Betrieben, die Testergebnisse für Pferde, Wild und Indikatortiere (z.B. Fuchs), und die Anzahl verdächtiger und *Trichinella*-positiver Fälle (autochthon, importiert).

Im Rahmen der Zertifizierung ist von der zuständigen Behörde außerdem ein Überwachungsprogramm mit dem Ziel zu veranlassen, den Status von Betrieben oder einer Region mit vernachlässigbarem Risiko einer *Trichinella*-Infektion beim Schwein anhand von Stichprobenuntersuchungen zu überwachen. Zu diesem Zweck kann sowohl die Methode für die Trichinenuntersuchung (Verdauungsmethode) als auch serologische Tests (ELISA) eingesetzt werden. Im Verbund des Europäischen und der Nationalen Referenzlabors für Trichinellose konzentrieren sich gegenwärtig die Aktivitäten auf die Standardisierung der serologischen Methoden und die Ausarbeitung geeigneter Probenahmepläne. Ein weiterer Schwerpunkt liegt auf der Planung und Durchführung von Ringversuchen zur Überprüfung der Untersuchungsqualität der Labors.

Lebensmittelbedingte Ausbrüche

Lebensmittelbedingte Infektionen durch Zoonoseerreger

Klaus Stark, Susanne Behnke, Helen Bernard, Christina Frank, Judith Koch, Dirk Werber
Robert Koch-Institut, Abt. für Infektionsepidemiologie, Berlin

Lebensmittelbedingte Zoonosen gehören in Deutschland zu den häufigsten Krankheiten, die im Rahmen der bundesweiten Surveillance gemäß Infektionsschutzgesetz (IfSG) erfasst werden. Unter diesen dominieren Bakterien (Salmonellen, *Campylobacter*, STEC, Yersinien, Listerien), aber auch Viren (z. B. Hepatitis E) und Parasiten (z. B. *Giardia lamblia*) spielen eine wichtige Rolle. Bei vielen Infektionen ist von einer hohen Dunkelziffer auszugehen.

Während sich die Anzahl der *Campylobacter*-Fälle weiterhin auf einem hohen Niveau bewegt (2008: 65.000 gemeldete Fälle), ist bei den Salmonellosen in den letzten Jahren ein kontinuierlicher Rückgang zu beobachten (2008: 43.000 Fälle). Dieser Trend ist besonders ausgeprägt bei *S. Enteritidis* [1]. Allerdings sind die Salmonellen weiterhin verantwortlich für die Mehrzahl der entdeckten lebensmittelbedingten Krankheitsausbrüche durch Zoonoseerreger (Abb. 1).

Seit 2004 werden im Rahmen der integrierten Ausbruchserfassung bei den Surveillance-Daten (IfSG) auch Daten zur Bedeutung von Lebensmitteln als Infektionsvehikel in Ausbrüchen erhoben. Diese Daten sind wichtig für die epidemiologische Bewertung lebensmittelbedingter Ausbrüche in Deutschland sowie für den resultierenden Präventions- und Forschungsbedarf.

Ausbrüche durch potenziell lebensmittelübertragene Erreger

Zu den meldepflichtigen Erregern (Erkrankungen), die durch Lebensmittel übertragen werden können, gehören: *Clostridium botulinum*, *Brucella* spp., *Campylobacter* spp., *Coxiella burnetii*, *Cryptosporidium parvum*, *Escherichia coli*, inklusive enterohämorrhagische *Escherichia coli* (EHEC), *Francisella tularensis*, *Giardia lamblia*, Hepatitis A-Virus, Hepatitis E-Virus, *Listeria monocytogenes*, Norovirus, *Salmonella enterica* Serovar Paratyphi A bis C, *Salmonella enterica* Serovar Typhi, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Trichinella spiralis*, *Yersinia enterocolitica* und *Vibrio cholerae*. Im Folgenden werden Ausbrüche durch diese Erreger als potenziell lebensmittelbedingte Ausbrüche bezeichnet.

Im Jahr 2008 wurden insgesamt 11.636 potenziell lebensmittelbedingte Ausbrüche an das RKI übermittelt. Betroffen waren insgesamt 133.470 Personen (s. Tab. 1). Abgesehen von den Norovirus-Ausbrüchen, die eher selten lebensmittelbedingt sind, hatten *Salmonella* spp. mit 1.233 (2007: 1.844) Ausbrüchen und *Campylobacter* spp. mit 730 Ausbrüchen (6 %) den größten Anteil. Bemerkenswert ist der deutliche Rückgang der Zahl der Salmonellenausbrüche parallel zum Rückgang der Meldungen zu *S. Enteritidis*-Infektionen.

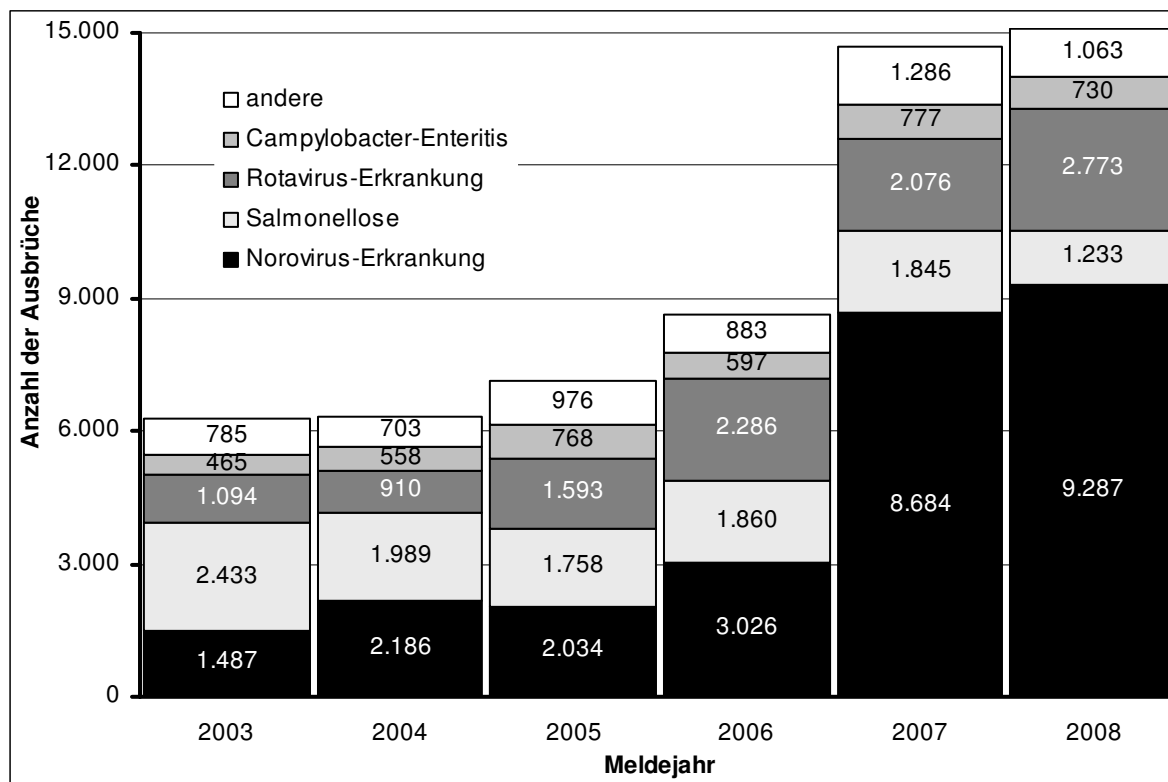
Bei 1.061 (9 %) Ausbrüchen (bzw. 36 % ohne Berücksichtigung der Norovirus-Ausbrüche) übermittelte das Gesundheitsamt Angaben zum verdächtigten Lebensmittel und stufte diese somit als lebensmittelbedingt ein; sie betrafen insgesamt 6.373 Erkrankte (s. Tab. 1). Darunter waren 526 Ausbrüche durch *Salmonella* spp. (50 %) mit 2.935 Fällen und 235 Ausbrüche durch *Campylobacter* spp. (22 %) mit 707 Fällen.

Bei 562 (53 %) der insgesamt 1.061 vom Gesundheitsamt als lebensmittelbedingt eingestuft Ausbrüche wurde eine Mahlzeit als Infektionsvehikel verdächtig, es konnte aber kein bestimmtes Lebensmittel sicher eingegrenzt werden. Unter den übrigen 499 Ausbrüchen wurden bei 211 (42 %) Eier oder Eiprodukte als Infektionsvehikel angegeben, bei 193 (39 %) Fleisch oder Fleischprodukte, bei 50 (10 %) Milch oder Milchprodukte und bei 22 (4 %) Fisch oder Meeresfrüchte. Bei den Salmonellen-Ausbrüchen wurden als Infektionsvehikel überwie-

gend Eier und Eiprodukte gefolgt von Fleisch und Fleischprodukten angegeben und für *Campylobacter*-Ausbrüche waren primär Fleisch und Fleischprodukte sowie Milch und Milchprodukte verantwortlich.

Bei der Interpretation der Daten muss berücksichtigt werden, dass die Informationen, die die integrierte Ausbruchserfassung liefert, zum Teil unvollständig sind und bisher nur stichprobenartig evaluiert wurden. So ist insbesondere der Anteil lebensmittelbedingter Ausbrüche an allen Salmonellen- und *Campylobacter*-Ausbrüchen mit Sicherheit zu niedrig, da davon auszugehen ist, dass der Großteil dieser Infektionen über kontaminierte Lebensmittel erfolgt.

Abb.1: Ausbrüche durch die vier am häufigsten für Ausbrüche ursächlichen Erreger nach Meldejahr, Deutschland, 2003 bis 2008



Ausbrüche mit bestätigtem Lebensmittelbezug

Nur für eine geringe Anzahl der Ausbrüche konnte ein Lebensmittel als verantwortliches Vehikel tatsächlich verifiziert werden (durch eine epidemiologische Fall-Kontroll-Studie oder Kohortenstudie oder über den Erregernachweis im verzehrten Lebensmittel).

Im Jahr 2008 betraf dies in den Surveillance-Daten 27 Ausbrüche mit insgesamt 661 Erkrankten (Median: 20, Min.:2, Max.:105) und zwei Todesfällen. Der Erreger bzw. das Toxin war in 22 (81 %) Ausbrüchen *Salmonella* spp., und jeweils einmal *Campylobacter* spp., *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, EHEC und *Staphylococcus*. Bei 22 Ausbrüchen erfolgte die Bestätigung des Lebensmittels als Infektionsvehikel über den Erregernachweis im Lebensmittel, fünfmal wurde der Zusammenhang über eine analytische epidemiologische Studie hergestellt. Die mittlere Ausbruchsdauer betrug vier Tage (Median) und als Ausbruchsettings wurden am häufigsten „Gaststätte, Kantine, Imbissstand“ (9), „Altersheim, Reha“ und „Haushalt“ (je 3) angegeben. Dies deutet an, dass es sich zumeist um lokal begrenzte Ausbruchsgeschehen handelte. Die am häufigsten übermittelte Lebensmittelkategorie war „Fleisch, Fleischprodukte“ (9), gefolgt von „Ei, Eiprodukte“ (7).

Das vom BfR koordinierte Erfassungssystem für Daten zu Lebensmitteln, die an Ausbrüchen

beteiligt sind (BELA), stellt zusätzliche wichtige Daten bereit, die in einem gemeinsamen jährlichen Bericht des RKI und des BfR zu lebensmittelbedingten Ausbrüchen in Deutschland an die Europäische Lebensmittelsicherheitsbehörde (EFSA) übermittelt werden.

Die im Rahmen der Surveillance gewonnenen Daten zu lebensmittelbedingten Infektionen liefern eine wichtige Grundlage für die Bewertung der epidemiologischen Situation. Allerdings sollten wesentlich mehr Ausbrüche untersucht werden, um die Bedeutung verschiedener Lebensmittel als Infektionsvehikel valide einschätzen und Schlussfolgerungen für geeignete Präventions- und Kontrollmaßnahmen ziehen zu können. Dies betrifft sowohl lokal begrenzte Ausbrüche wie auch räumlich und zeitlich weit verteilte Geschehen. In den letzten Jahren konnte eine Reihe von größeren überregionalen Ausbrüchen durch die enge Zusammenarbeit von Öffentlichem Gesundheitsdienst und Veterinärbehörden erfolgreich aufgeklärt werden (z. B. *S. Agona* bei Säuglingen durch Kräutertee, Listeriose durch Sauermilchkäse, *S. Panama* durch Minisalami, *S. Bovismorbificans* durch rohes Schweinehackfleisch).

Darüber hinaus sind verstärkt Studien notwendig zur Rolle von Lebensmitteln bei bisher eher vernachlässigten Erregern. So mehren sich beispielsweise Hinweise, dass der Verzehr von Wildschweinprodukten und Innereien ein wichtiger Risikofaktor für autochthon erworbene Hepatitis E-Fälle ist [2, 3]. In einer Fall-Kontroll-Studie war der Verzehr von bestimmten Lebensmitteln (Salate) signifikant mit dem Risiko einer *Giardia lamblia*-Infektion assoziiert [4].

Gerade bei den durch Lebensmittel übertragenen Zoonoseerregern kommt der molekularen Typisierung der Erregerisolate (Mensch, Lebensmittel, Tier, Umwelt) große Bedeutung zu. Sie erlaubt Aussagen zu den Trends in der Populationsgenetik der Mikroorganismen, kann aber insbesondere durch die zeitnahe Identifikation des verantwortlichen Erregerstammes entscheidend zur (Früh-) Erkennung und Aufklärung von Ausbrüchen beitragen. In Zukunft ist es verstärkt notwendig, dass in Ausbruchsuntersuchungen molekulare und epidemiologische Methoden in geeigneter Weise kombiniert werden.

Tab. 1: Ausbrüche insgesamt und lebensmittelbedingte Ausbrüche, Deutschland, 2008

Erreger	Ausbrüche	Erkrankungen im Rahmen von Ausbrüchen	Lebensmittelbedingte Ausbrüche	Erkrankungen im Rahmen von lebensmittelbedingten Ausbrüchen	Todesfälle im Rahmen von lebensmittelbedingten Ausbrüchen
bakteriell					
<i>Salmonella</i> spp.	1.233	5.393	526	2.935	2
<i>Campylobacter</i> spp.	730	1.904	235	707	
<i>Escherichia coli</i> (ohne EHEC*)	98	267	22	56	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	34	85	10	25	
<i>Shigella</i> spp.	26	69	6	18	
EHEC*	21	51	3	6	
HUS*	8	42	3	31	
<i>Coxiella burnetii</i>	21	266			
<i>Salmonella</i> Typhi	5	10			
<i>Salmonella</i> Paratyphi	5	12	1	4	
<i>Clostridium botulinum</i>	1	5	1	5	
<i>Francisella tularensis</i>	1	2			
<i>Vibrio cholerae</i>					
<i>Listeria monocytogenes</i>	1	3			
<i>Brucella</i> spp.	1	2			
viral					
Norovirus	9.287	124.854	225	2.481	1
Hepatitis A-Virus	80	227	10	24	
Hepatitis E-Virus	1	2			
parasitär					
<i>Giardia lamblia</i>	63	198	15	62	
<i>Cryptosporidium parvum</i>	20	78	4	19	
<i>Trichinella spiralis</i>					
Gesamt	11.636	133.470	1.061	6.373	3

Literatur

1. Frank C, Käsbohrer A, Stark K, Werber D. Marked decrease in reporting incidence of salmonellosis driven by lower rates of *Salmonella* Enteritidis infections in Germany in 2008 – a continuing trend. Euro Surveill 2009;14(11):pii=19154.
2. Wichmann O, Schimanski S, Koch J, Kohler M, Rothe C, Plentz A, Jilg W, Stark K. Phylogenetic and case-control study on hepatitis E virus infection in Germany. Journal of Infectious Diseases 2008;198:1732-1741.
3. Schielke A, Sachs K, Lierz M, Appel B, Jansen A, Johne R. Detection of hepatitis E virus in wild boars of rural and urban regions in Germany and whole genome characterization of an endemic strain. Virology Journal 2009;6:58.
4. Espelage W, an der Heiden M, Stark K, Alpers K. Characteristics and risk factors for *Giardia lamblia* infections in Germany. BMC Public Health, in press.

Lebensmittel als Ursache von Ausbrüchen durch Zoonoseerreger

Heidi Wichmann-Schauer
Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin

Lebensmittelbedingte Infektionen und Vergiftungen (Intoxikationen) des Menschen können von einer Vielzahl bakterieller, viraler und parasitärer Erreger bzw. durch sie gebildete Gifte hervorgerufen werden. Meistens führen sie zu Magen-Darm-Beschwerden, die oft einen milden, selbstlimitierenden Verlauf nehmen; sie können aber auch schwere, mitunter lebensbedrohliche Syndrome verursachen. Der Verdacht auf einen lebensmittelbedingten Krankheitsausbruch besteht bei Erkrankungen von zwei oder mehr Personen, welche im Zusammenhang mit demselben Lebensmittel aufgetreten sind.

Lebensmittelbedingte Ausbrüche können als lokale Ereignisse beispielsweise in einer Einrichtung der Gemeinschaftsverpflegung oder im Privathaushalt auftreten, wenn durch Handlungsfehler oder durch die Verwendung verunreinigter Zutaten verzehrsfertige Lebensmittel kontaminiert werden. Dann kann es zu einem plötzlichen Auftreten von mehreren Erkrankungsfällen nach dem Verzehr dieser Speisen kommen. Lokale lebensmittelbedingte Ausbrüche werden dadurch in der Regel schnell erkannt, an die zuständigen Behörden gemeldet und von diesen untersucht.

Werden Lebensmittel hingegen schon auf vorgelagerten Stufen der Lebensmittelkette kontaminiert, beispielsweise bei der Gewinnung oder bei der Verarbeitung, und anschließend über große Gebiete verteilt, dann werden die von diesen Lebensmitteln verursachten diffusen, überregionalen Ausbrüche nur selten entdeckt. Zur Ausbruchserkennung werden von den Gesundheitsbehörden aktuelle Fallzahlen seltener Erreger bzw. seltener *Salmonella*-Serovare dem Erwartungswert vorangegangener Jahre gegenübergestellt. Diffuse überregionale lebensmittelbedingte Ausbrüche erfordern in der Regel eine komplexe Ausbruchsuntersuchung unter Beteiligung der Bundesbehörden. Durch den langen Zeitverzug bis zur Ausbruchserkennung und Eingrenzung eines verdächtigen Lebensmittels bzw. eines Lebensmittelunternehmens ist der Nachweis des Ausbruchserregers in untersuchten Lebensmitteln bei diesen Ausbrüchen besonders schwierig. Die Identifizierung eines wahrscheinlichen Vehikels stützt sich deshalb fast ausschließlich auf die Ergebnisse durchgeführter analytischer epidemiologischer Studien.

Die Ziele der Untersuchung von lebensmittelbedingten Ausbrüchen sind, den aktuellen Ausbruch zu beenden und über einen Erkenntnisgewinn weitere Ausbrüche zu verhindern. So soll die Lebensmittelsicherheit in Deutschland und der Europäischen Union verbessert werden, um die Anzahl von Lebensmittelinfektionen und -intoxikationen zukünftig reduzieren zu können.

Die Europäische Kommission hat daher in ihrer Richtlinie 2003/99/EG zur Überwachung von Zoonosen und Zoonoseerregern die Aufklärung von lebensmittelbedingten Krankheitsausbrüchen und die regelmäßige Übermittlung der daraus resultierenden Daten geregelt. Hierbei werden neben Daten aus dem humanen Bereich auch Angaben zu den am Ausbruch beteiligten Lebensmitteln gefordert, insbesondere zur Art des Betriebes, in dem das verdächtige Lebensmittel hergestellt, gekauft, bezogen oder konsumiert wurde und zu weiteren Faktoren, wie etwa mangelnde Hygiene bei der Lebensmittelverarbeitung. Die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) wertet die von den Mitgliedstaaten übermittelten Daten in Zusammenarbeit mit dem Zoonoses Collaboration Centre (ZCC) auf Gemeinschaftsebene aus und publiziert jährlich den EU-Zoonosenbericht.

Für die Erfassung der epidemiologischen Daten von Ausbrüchen übertragbarer Krankheiten beim Menschen, so auch von lebensmittelbedingten Krankheiten, steht in Deutschland das Meldewesen des Infektionsschutzgesetzes (IfSG) zur Verfügung. Ergänzend zu diesem vom

Robert Koch-Institut (RKI) geführten System führt das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) seit November 2005 ein bundesweites System zur einheitlichen Erfassung von Lebensmitteln, die bei Ausbrüchen beteiligt sind (BELA). Es ist aus dem ZEVALI-System (Zentrale Erfassung von Ausbrüchen lebensmittelbedingter Infektionen und Intoxikationen) hervorgegangen und dient der zentralen Sammlung von Daten zu Ursachen und epidemiologischen Zusammenhängen bei Lebensmittelinfektionen und -intoxikationen. Weiterhin sollen diese zusammengeführten Daten für eine Risikobewertung verschiedener Erreger-Lebensmittel-Kombinationen verwendet werden. Am 18. Juli 2008 ist mit der Allgemeinen Verwaltungsvorschrift über die Erfassung, Auswertung und Veröffentlichung von Daten über das Auftreten von Zoonosen und Zoonoseerregern entlang der Lebensmittelkette (AVV Zoonosen Lebensmittelkette) auch die Rechtsgrundlage für das BELA-System in Kraft getreten. Mit dieser Vorschrift soll den Anforderungen der Richtlinie 2003/99/EG in Deutschland noch besser entsprochen werden.

Für die Datenerhebung hat der Ausschuss „Zoonosen“ nach den Vorgaben der „AVV Zoonosen Lebensmittelkette“ im Dezember 2008 ein vom BfR geführtes System beschlossen, welches aus drei verschiedenen Dokumentationsbögen (Mantelbogen, Lebensmittel-Dokumentationsbogen, Proben-Dokumentationsbogen) und einem Handbuch mit Erläuterungen zum Ausfüllen besteht. Diese Dokumentationsbögen sind von den für die Lebensmittelüberwachung zuständigen Behörden nach dem Auftreten von lebensmittelbedingten Krankheitsausbrüchen auszufüllen.

Die gewonnenen Daten zu den Lebensmitteln werden vom BfR in einer Datenbank erfasst und insbesondere hinsichtlich der beteiligten Erreger, der Art und Herkunft der implizierten Lebensmittel, der Verzehrsorte sowie der wesentlichen Einflussfaktoren analysiert. Die ausgewerteten Daten werden jährlich in zusammenfassenden Berichten publiziert. Sie bilden die Grundlage für Stellungnahmen und Pressemitteilungen des BfR mit dem Ziel, die Anzahl von lebensmittelbedingten Erkrankungen in Deutschland zu reduzieren. Außerdem werden sie mit den nach dem IfSG beim RKI erfassten Daten zu den menschlichen Erkrankungen abgeglichen und zusammengeführt, um sie entsprechend den Vorgaben der AVV Zoonosen Lebensmittelkette in den EU-Zoonosenbericht nach Richtlinie 2003/99/EG integrieren zu können.

Um eine zufriedenstellende Datenerfassung zu gewährleisten, ist eine gründliche Untersuchung lebensmittelbedingter Ausbrüche durch die zuständigen Behörden notwendig. Für eine erfolgreiche Ausbruchsauflärung bedarf es insbesondere einer schnellen Informationsweiterleitung sowie einer guten Zusammenarbeit zwischen den Gesundheits- und Veterinär- bzw. Lebensmittelüberwachungsbehörden der Länder. Nur so können Befragungen der Erkrankten und Probenahmen in verdächtigen Betrieben zügig durchgeführt werden. Als Service für die Landesbehörden und zur Steigerung der Datenqualität bietet das BfR auf Anfrage Fortbildungen zur Ausbruchsuntersuchung entlang der Lebensmittelkette an. Im Rahmen dieser Veranstaltungen kann unter anderem das BELA-System vorgestellt und das Ausfüllen der Dokumentationsbögen an einem konkreten Beispiel geübt werden. Auf Wunsch unterstützt das BfR außerdem die für die Lebensmittelüberwachung zuständigen Landesbehörden bei laufenden Ausbruchsuntersuchungen hinsichtlich der Identifizierung von ursächlich beteiligten Lebensmitteln.

In den vergangenen Jahren wurden vor allem Salmonellen-Ausbrüche an das BfR gemeldet. Bei diesen Ausbrüchen gelingt auch relativ häufig der Nachweis des Erregers in untersuchten Lebensmitteln, so dass auch die meisten vom BfR als „verifiziert“ klassifizierten Ausbrüche durch Salmonellen ausgelöst worden waren. Als verifiziert gilt ein lebensmittelbedingter Ausbruch nach Definition der EFSA unter anderem, wenn der ursächliche Erreger bzw. das Toxin in einem Lebensmittel nachgewiesen wurde, das aufgrund einer beschreibenden epidemiologischen Studie (Befragung von Patienten) mit den Erkrankungen in Verbindung gebracht wird. Nur vereinzelt wurden verifizierte Ausbrüche durch *Campylobacter*, EHEC oder

Parasiten an das BfR berichtet. Die Trichinellose ist in Deutschland selten geworden, seit jedes Schwein bei der Schlachtung auf Trichinen untersucht wird. Vereinzelt Ausbrüche, die in der jüngeren Vergangenheit aufgetreten sind, standen in engem Zusammenhang mit dem Verzehr von Fleischprodukten aus Risikogebieten in Osteuropa.

Für die Jahre 2007 und 2008 wurden insgesamt 46 durch Zoonoseerreger ausgelöste lebensmittelbedingte Ausbrüche an das BfR übermittelt, die als verifiziert angesehen werden können. Fleisch, Fleischerzeugnisse und Geflügelfleischerzeugnisse waren an insgesamt zehn dieser Ausbrüche beteiligt. Eine bedeutende Lebensmittelkategorie war auch die Gruppe der selbst hergestellten Desserts (n=9), die mit *Salmonella* Enteritidis kontaminiert waren. Zusammengesetzte Mahlzeiten und Buffet-Speisen verursachten acht weitere Ausbrüche von *Salmonella* Enteritidis. Diese Kategorie wurde auch gewählt, wenn der Erreger in diversen Rückstellproben gefunden wurde, sich ein bestimmtes ursächliches Lebensmittelvehikel jedoch nicht identifizieren ließ. Außerdem wurde über Ausbrüche von *Salmonella* Enteritidis durch den Verzehr von unter Verwendung von Eiern hergestellten feinen Backwaren (n=5) und Teigwaren (n=4) berichtet. Drei verifizierte Salmonellen-Ausbrüche wurden nach dem Verzehr von Rohkost- und Feinkost-Salaten bzw. Salatsoße ausgelöst.

Bei der Mehrzahl der verifizierten Ausbrüche ließ sich nur die verzehrte Speise als ursächliches Vehikel identifizieren. Bei vier Ausbrüchen konnte durch Nachweis von *Salmonella* Enteritidis in und/oder auf untersuchten Eiern aber auch die Zutat „Hühnerei“ als Vehikel benannt werden. Die rohen Hühnereier waren zu Spiegelei, Stockbrot-Teig und Zitronencreme verarbeitet oder mit Hackepeter vermengt und roh verzehrt worden.

Der Verzehr von nicht erhitzter „Rohmilch ab Hof“ hatte im genannten Zeitraum zu zwei *Campylobacter*- und einem EHEC-Ausbruch geführt, obwohl in Deutschland Rohmilch ab Hof nur mit einem Hinweis abgegeben werden darf, dass die Rohmilch vor dem Verzehr abzukochen ist.

Die an das BfR übermittelten Informationen zu Lebensmitteln, die an Ausbrüchen beteiligt sind, zeigen auf, dass Zoonoseerreger ausgehend von der Primärproduktion in die Lebensmittelkette gelangen und Erkrankungen beim Menschen verursachen. Der Durchführung von geeigneten Zoonosen-Bekämpfungsmaßnahmen bei Lebensmittel liefernden Tieren kommt somit weiterhin eine große Bedeutung zu. Die Meldungen an das BfR belegen aber auch, dass sich lebensmittelbedingte Ausbrüche auf unterschiedliche Handlungsfehler zurückführen lassen, welche auf mangelnde Sachkenntnis beim Verbraucher bzw. beim Küchenpersonal schließen lassen. Dazu gehören Hygienemängel, Fehler in der Temperaturführung, aber auch die Abgabe bzw. der Verzehr roher tierischer Lebensmittel. Deshalb ist im Hinblick auf die Prävention lebensmittelbedingter Ausbrüche auch die Aufklärung der Verbraucher besonders relevant. Das BfR hat daher Merkblätter mit Verbrauchertipps zum Schutz vor lebensmittelbedingten Infektionen erstellt, die kostenlos aus dem Internet herunter geladen oder in der Pressestelle des BfR angefordert werden können.

Aufklärung eines Ausbruchs von lebensmittelbedingten *Salmonella* Panama-Infektionen in Thüringen 2008

Heike Palla¹, Evelyn Jensen², Arndt Fernekorn² und Katrin Kopp²

¹Thüringer Ministerium für Soziales, Familie und Gesundheit, Erfurt; ²Thüringer Landesamt für Lebensmittelsicherheit und Verbraucherschutz (TLLV), Bad Langensalza

In Thüringen kamen im Zeitraum vom 04.08. – 08.10.2008 82 Infektionen mit *Salmonella* Panama, davon 66 Erkrankungen mit 16 Ausscheidern zur Meldung. Die Mehrzahl der Erkrankungen lag im Monat August (42 Erkrankte). 13 Erkrankte mussten hospitalisiert werden, davon sechs Kinder und sieben Erwachsene.

Außerhalb Thüringens waren bundesweit seit Beginn des Ausbruchs vier Erkrankungen beobachtet worden (Bayern, Baden-Württemberg, Niedersachsen, Sachsen-Anhalt), von denen drei Erkrankungen in epidemiologischem Zusammenhang mit dem Ausbruch in Thüringen standen.

Durch einen engen Informationsaustausch zwischen Gesundheitsbehörden und Veterinär- und Lebensmittelüberwachungsbehörden gelang die Ermittlung der Ausbruchsursache und konnten geeignete Vorbeugemaßnahmen ergriffen werden.

Ermittlungen

Auf Grund der Ermittlungsergebnisse der Gesundheitsämter wurden die von den Erkrankten genannten Fleischereien, Fleischereifilialen und Fleischabteilungen in Handelseinrichtungen von den Veterinär- und Lebensmittelüberwachungsämtern kontrolliert. Hierbei wurden umfangreiche Tupfer- und Abklatschproben entnommen, weiterhin wurden Rohwürste sowie Schweinedärme beprobt.

Nahezu alle diese Fleischereien bezogen ihr Fleisch von einem bestimmten Schlachthof. Dieser wurde daraufhin in die Beprobungen einbezogen.

Im genannten Schlachthof befindet sich eine eigenständige Firma, die Därme von Schlachttieren aufarbeitet und mit ihnen handelt.

Daneben wurden von den jeweilig zuständigen Gesundheitsämtern in den betroffenen Fleischereien, dem Schlachthof und der Darmabteilung im Schlachthof geprüft, ob sich unter den Beschäftigten Salmonellenausscheider befinden.

Außerdem wurden im Zusammenhang mit den Überprüfungen bei verschiedenen Erzeugerbetrieben von Schlachtschweinen für den Schlachthof Kotproben bzw. Staubproben entnommen.

Ergebnisse

Tupfer- und Abklatschproben

Von den in 18 Fleischereien und Fleischereifilialen, in fünf Fleischereiabteilungen in Handelseinrichtungen, im Schlachthof und in der selbstständigen Darmbearbeitung entnommenen Tupfer- und Abklatschproben wurden in zwei Einrichtungen,

1. der Filiale einer Landfleischerei (Schneidbrett und Messer)
2. der Darmbearbeitung im Schlachtbetrieb (Türgriff)

Salmonella Panama bestimmt.

Im Darmbearbeitungsbetrieb konnte in der Salzkiste, der Darmreinigung und an Därmen nach Spülung mit 35 %-iger Salzlake auch *Salmonella* Agona nachgewiesen werden.

Produktproben

In fünf Fleischereien wurden Rohwurstproben entnommen. In Erzeugnissen von zwei dieser Betriebe, wurde in den Rohwürsten *Salmonella* Panama und in einer weiteren Rohwurstprobe auch *Salmonella* Agona nachgewiesen.

Schweinedärme

In der Probe einer frischen Wursthülle, die vom zuständigen Veterinär- und Lebensmittelüberwachungsamt aus einer der zwei Fleischereien mit auffälligen Ergebnissen entnommen wurde, konnten die Salmonellentypen Agona und Panama nachgewiesen werden. Die Wursthüllen waren als Frischdärme von dem Darmbearbeitungsbetrieb im betroffenen Schlachthof bezogen worden.

Salmonellenausscheider bei den Beschäftigten

Die von den Gesundheitsämtern veranlassten Stuhluntersuchungen der Beschäftigten in ausgewählten Betrieben führten zur Ermittlung von neun Ausscheidern von *Salmonella* Panama bzw. *Salmonella* Agona und *Salmonella* Goldcoast.

Untersuchung von Kotproben/Staubproben

Nach Bekanntwerden des positiven Salmonellenbefundes in einer Darmprobe der Darmbearbeitungsfirma wurden die Schlachtstage ermittelt, an denen die Därme gewonnen wurden und daraus auf die Herkunftsbestände der Schweine zurückgeschlossen. Nach den Angaben des zuständigen Veterinär- und Lebensmittelüberwachungsamtes handelte es sich hierbei um zwölf Erzeugerbetriebe, die alle in Salmonellenstatusklasse I gemäß Schweine-Salmonellen-Verordnung eingeordnet waren.

Es wurde eine anlassbezogene Prüfung dieser zwölf Bestände auf das Vorhandensein von Salmonellen durch die amtliche Entnahme und Untersuchung von Kot- bzw. Staubproben durchgeführt. Aus zwei weiteren Schweinebeständen, die Schweine an den betroffenen Schlachthof lieferten, wurden ebenfalls Kotproben entnommen.

Mit diesen Proben wurde in einem Mastbestand *Salmonella* Panama und in einem weiteren *Salmonella* Typhimurium nachgewiesen. In einem Sauenbetrieb lag eine Mischkultur der Salmonellentypen *Salmonella* Typhimurium und *Salmonella* Panama vor.

Feintypisierung

Die Feintypisierung der Isolate von acht Patienten, aus fünf Rohwurstproben, von drei Tupferproben, von einer Schweinedarmprobe, aus zwei Staub- und einer Kotprobe am Nationalen Referenzzentrum für Salmonellen des Robert Koch-Institutes in Wernigerode ergab ein identisches Muster in der Pulsfeldelektrophorese, was für ein einheitliches Geschehen spricht.

Maßnahmen in den Betrieben

Maßnahmen wurden von den Gesundheits- sowie Veterinär- und Lebensmittelüberwachungsämtern durchgeführt, in deren Überwachungsbereichen Salmonellen in Produkten und Fleischereien nachgewiesen wurden.

Durch die Veterinär- und Lebensmittelüberwachungsämter erfolgten Anweisungen zu einer grundlegenden Reinigung und Desinfektion in den Betrieben. Außerdem wurde veranlasst, dass der gesamte Restbestand der beanstandeten Rohwurst entsorgt wurde. In den Herstellerbetrieben erfolgte eine Auswertung und Belehrung.

Die als Ausscheider von den Gesundheitsämtern identifizierten Beschäftigten erhielten ein befristetes Tätigkeitsverbot. Nach Feststellung der Salmonellenfreiheit der Beschäftigten konnten die betroffenen Personen wieder in der Produktion bzw. Verkauf eingesetzt werden.

Maßnahmen zur Verhinderung eines Salmonelleneintrags in die Schlacht und Verarbeitungsprodukte

Als wahrscheinliche Quellen des Salmonelleneintrags in die Darmbearbeitung waren die Schlachttiere anzusehen. Nach den Ergebnissen der Kot- bzw. Staubprobenuntersuchungen wurden drei Schweinebestände positiv auf Salmonellen getestet.

Mit den betroffenen Unternehmen wurden nach Absprache mit dem zuständigen Veterinär- und Lebensmittelüberwachungsamt die folgenden weiteren Maßnahmen festgelegt:

- Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen
- Schädnerbekämpfung
- Futtermitteluntersuchungen
- Klinische Untersuchung insbesondere auf Diarrhoe
- In einem Mastbetrieb Einstellungsstopp für vier Wochen, hier buchtenweise Reinigung und Desinfektion, da kein Rein-Raus-Prinzip
- Selektionsschweine werden komplett separiert und nicht wieder eingegliedert
- Minimierung von Stress durch Optimierung der Haltungsbedingungen und der Fütterung
- Nachfolgend in den positiv befundenen Mastbeständen Nachkontrollen von Kot- und Staubproben der Schweine im schlachtnahen Zeitraum
- Nachfolgende Bestandsuntersuchung in einem weiteren Mastbetrieb, in dem Läufer aus dem betroffenen Sauenbetrieb gemästet werden

Maßnahmen in der Schlachtung

- Schlachtung der Schweine der betroffenen Bestände am Ende des Schlachttages
- Anschließend Reinigung und Desinfektion
- Verwerfen der Darmpakete dieser Schweine

Maßnahmen in den Verarbeitungsbetrieben

Hackfleisch und frische Rohwurst werden ausschließlich aus Fleisch hergestellt, welches nicht aus den Salmonellen-positiven Beständen stammt. Zudem wird der Produktionsablauf in beiden verarbeitenden Betrieben derart umgestellt, dass Fleisch aus Beständen mit Nachweis von *Salmonella* Panama am Ende des Herstellungstages verarbeitet wird und Kreuzungswege beachtet werden, so dass eine Kontamination vermieden werden kann. Die Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen werden optimiert und vermehrt Eigenkontrollen durchgeführt. Die Rückverfolgbarkeit muss gewährleistet werden.

Fleisch aus Beständen mit Nachweis von *Salmonella* Panama wird nur zur Herstellung lang gereifter Rohwurst verwendet. Es müssen mindestens folgende Grenzwerte erreicht werden:

a_w -Wert: 0,92

pH-Wert: 5,5, besser 5,3

Die Freigabe jeder Charge für den Verkauf erfolgt erst nach negativer Eigenkontrolle auf Salmonellen.

Maßnahmen in dem Darmbearbeitungsbetrieb

Nach Bekanntwerden des positiven Nachweises von *Salmonella* Panama in einer vom zuständigen Veterinär- und Lebensmittelüberwachungsamt gezogenen Probe Frischdärme von der Darmbearbeitungsfirma, des Nachweises von *Salmonella* Panama in Tupferproben am Türgriff der Darmbearbeitung, Salmonellen vom Typ Agona an der Salzkiste und an mit 35 %-iger Salzlake gespülten Därfen sowie nach der Ermittlung eines Mitarbeiters dieser Firma als Ausscheider von *Salmonella* Agona und *Salmonella* Goldcoast wurde ein Verkehrsverbot für frische Därme verfügt. Vom Gesundheitsamt war gegen den Salmonellen

ausscheidenden Mitarbeiter ein Beschäftigungsverbot erlassen worden. Die Darmbearbeitungsfirma wurde vorläufig geschlossen.

Nach Änderung der Darmbearbeitungstechnologie (Salzung der Därme mind. 14 Tage), der Durchführung von Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen, der Vorlage von in Bezug auf Salmonellen negativen Eigenkontrollergebnissen sowie amtlicher Betriebs- und Prozesskontrolle wurde das Verkehrsverbot durch das Veterinär- und Lebensmittelüberwachungsamt wieder aufgehoben. Der ehemalige Ausscheider ist wieder im Betrieb tätig.

Resümee

- Das Ergebnis der Feintypisierung von Patientenisolaten, Rohwurstproben, Tupferproben, Staub- und Kotproben durch Pulsfeldelektrophorese zeigte ein identisches Muster. Es handelte sich bei den Erkrankungen durch *Salmonella* Panama um ein einheitliches Geschehen.
- Als Hauptursache für die Infektionen ist auf Grund der Probenuntersuchungen, der Ermittlungsergebnisse in den Lebensmittelbetrieben, den Untersuchungen der Beschäftigten, der Bearbeitungstechnologie und dem Vertrieb von Frischdärmen in der Darmbearbeitung die Darmbearbeitungsfirma zu sehen. Die Firma hatte ihre Därme an 20 verschiedene Fleischereien überwiegend in der Region verkauft. Nach der vorläufigen Betriebschließung und Umstellung auf ein Hürdenkonzept in der Darmbearbeitung wurde nach dem 22.10.2008 keine Neuerkrankung, verursacht durch *Salmonella* Panama, bekannt.
- Der Nachweis von Salmonellen bei neun Mitarbeitern in fünf Lebensmittelunternehmen konnte keinen Beitrag zur Verbreitung der *Salmonella* Panama-Infektionen geleistet haben. Die Infektionen blieben nämlich nicht auf die zwei Thüringer Kreise begrenzt in denen sich die betreffenden Fleischereien und deren Vermarktungsgebiete befanden, sondern waren über elf Thüringer Kreise verteilt.
- Neben der sehr guten Ermittlungsarbeit der Gesundheitsämter und der Veterinär- und Lebensmittelüberwachungsämter war der intensive Austausch der gewonnenen Ergebnisse ausschlaggebend für die Aufklärung des Infektionsgeschehens.

Antibiotikaaanwendung und -resistenz

Consumption of Antibiotics in Livestock in Germany: Feasibility and Outlook

Roswitha Merle¹, Peter Hajek², Christine Hegger-Gravenhorst C¹, Yvonne Mollenhauer¹, Matthias Robanus², Annemarie Käsbohrer³, Fritz-Rupert Ungemach² und Lothar Kreienbrock¹

¹Department of Biometry, Epidemiology and Information Processing, WHO-Collaborating Centre for Research and Training in Veterinary Public Health, University of Veterinary Medicine, Hannover, Germany

²Institute for Pharmacology, Pharmacy and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, Universität Leipzig, Leipzig, Germany

³Federal Institute for Risk Assessment, Berlin, Germany

Every application of antibacterial drugs in veterinary medicine may lead to a development of resistant bacteria as a potential risk to human health. In Germany no valid data are available which would be suitable for a species specific estimation of drug consumption especially regarding food producing animals.

A feasibility study was conducted to identify the technical preconditions and develop a concept for a regular monitoring system within Germany. 24 veterinary surgeries and 67 farmers were visited, and all applications of antibiotics to farm animals during the course of one year (September 1, 2006 to August 31, 2007) were entered into a central database.

An estimation of the consumption per animal within each farm, surgery and district was carried out based on structural data of the study regions. Consumption of antibiotics was calculated in kg, but also the number of doses applied to the animals was analysed to perform comparisons of data with other countries or from year to year.

Correct and detailed data regarding the structures of the agricultures as well as of veterinary surgeries are necessary to estimate the consumption of antibiotics trustworthy. Although several information gaps were identified, e.g. the number of treated animals per surgery, the system proposed is able to deal as a monitoring system for antibiotics consumption in Germany.

Keywords: Antibiotics, consumption, farm animals, monitoring system

1 Introduction

The 2003/99/EC directive of the European Commission (2003) lays down that the member states have to carry out monitoring of antibiotic resistance in zoonotic pathogens. The amount of applied antibiotics may be linked to the development of bacterial resistances. The drug's dose and the application period are regarded as the most important factors affecting the spread of bacterial resistances. Low doses given to large animal groups for a long time may enhance the resistance development as well as the distribution of resistant bacteria.

Hence, it is necessary to control the resistance development and in addition the quantity of antibiotics applied to farm animals. Some European member states already implemented such monitoring systems (Bengtsson et al., 2007, Blix et al., 2007, Heuer et al., 2007). In Germany, veterinarians are permitted to order and deliver drugs on their own. Therefore the German monitoring system had to account for the German conditions – including the federal state system. In a feasibility study, a concept to collect data on the antibiotics consumption in farm animals was developed.

2 Material and Methods

The general source for study data were the delivery and drugs application records to farm animals, which veterinarians and farmers are forced to store by law. These documents include information regarding the date of delivery/application, number, type and identity of the animals, drug's name, drug's volume, dosage per animal/day as well as the treatment duration.

The data were entered into a central database by the study personnel (see figure 1). 24 veterinary clinics (pigs, cattle, poultry) in five districts and 66 farms (pigs, cattle, dairy cattle) of one district took part at the survey. The dataset included all entries between September 1, 2006 and August 31, 2007.

Eingabemaske - Anwendung/Abgabe 21.02.2008 11:40 Uhr Startseite

Erhebungsort: Bitte wählen! *

Betrieb/Praxis: Bitte wählen! *

Art des Belegs: Bitte wählen! *

Abgabedatum: (TT-MM-JJJJ) *

Tierart und Nutzung: Bitte wählen! * Bitte wählen! *

Anzahl behandelter Tiere: *

Alter der behandelten Tiere:

Behandlungsanlass: Bitte wählen! *

Diagnose: Bitte wählen! *

Arzneimittel: Bitte wählen! * **Wirkstoff:** Bitte wählen! * **AM-Name:**

Chargennummer:

Abgabe-/Behandlungsmenge: * Bitte wählen! *

Applikationsform: Bitte wählen! *

Anwendungsdauer (in Tagen): *

Bemerkung:

Haltbarkeitsdatum AM: (TT-MM-JJJJ)

! nicht plausibel !
Grund: Bitte wählen!

Figure 1 data entry form

Data records were defined by forms per applied drug. Consumption of antibiotics was calculated in kg, but also the number of doses applied to the animals was analysed to perform comparisons of data with other countries or from year to year. Following the concept of incidence density (see e.g. Kreienbrock & Schach, 2005) a "therapeutical density" was calculated by

$$\text{therapeutical density} = \frac{\# \text{ single applications}}{\# \text{ animals under care}},$$

where a "single application" is the application of one single drug to one animal at one day, and the "animals under care" are all animals at one farm or all animals supported by a veterinary clinic by definition.

To evaluate the consumption data information on agricultural structures (number of animals and number of farms per species) in the study districts were included into the analyses (Statistische Ämter des Bundes und der Länder, 2008). Data on structures of the study clinics (number of veterinarians, number of consulted farms, animal species, etc.) were evaluated through a questionnaire. The software SAS[®], Version 9.1 TS Level 1M3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) was used for statistical analyses.

3 Results

74,427 records were included into the analyses, there under 5,862 data from farms (geometric mean: 58 records per farm) and 68,565 data from clinics (geometric mean: 2,015 records per clinic).

The consumption of active substance groups as well as the number of daily doses per species is displayed in table 1. Data of poultry are not shown. In both species, tetracyclines were the most frequently used substances, followed by beta-lactames. In cattle, also the trimethoprim/sulfonamid group was often applied. Regarding the number of applications, the percentage of tetracyclines decreases, while macrolides and the sulfonamides/trimethoprim group increase. Oral application is very common which is reflected in the predominance of usage of substance classes where oral application is permitted (e.g. 4,229 record of beta-lactames and 5,312 records of tetracyclines). Beta-lactames were also frequently applied parenterally (16,815 records). But considering the number of daily doses (records multiplied by days and number of animals), 93.9 % of all beta-lactames are applied orally.

Table 1 consumption of substance groups per species (mass in kg)

substance group	pigs				cattle			
	mass		applications		mass		applications	
	kg	%	number	%	kg	%	number	%
Makrolides	1,636	5.2	3,813,561	13.3	98	2.4	36,320	2.7
Beta-Lactames	7,275	23.0	6,354,797	22.1	663	16.5	212,480	15.8
Aminoglycosides	252	0.8	1,004,626	3.5	120	3.0	124,029	9.2
Fenicoles	29	0.1	43,051	0.1	28	0.7	12,832	1.0
Tetracyclines	17,156	54.3	7,391,674	25.7	1,940	48.1	363,979	27.1
Lincosamides	298	0.9	1,065,198	3.7	19	0.5	29,781	2.2
Polypeptides	619	2.0	3,249,793	11.3	35	0.9	46,785	3.5
Sulfonamides	2,859	9.0	2,794,841	9.7	627	15.6	218,939	16.3
Trimethoprim	1,156	3.7	1,757,300	6.1	461	11.4	214,162	16.0
Fluochinolones	22	0.1	263,435	0.9	19	0.5	40,093	3.0
Cephalosporines	8	0.0	200,414	0.7	21	0.5	42,590	3.2
Pleuromutilines	310	1.0	828,835	2.9
All	31,622	100.0	28,767,525	100.0	4,031	100.0	1,341,990	100.0

Considering the agricultural structures, the average treatment frequency was analysed per district by means of the treatment density. Non dairy cattle were treated rarely (less than one application), and pigs were frequently treated species (table 2). The treatment frequency varied between the farms, dependent on the farms' health status.

Table 2 number of applications and treatment density per animal: geometric mean per farm

	number of applications			treatment density		
	geometric mean	lower limit std	upper limit std	geometric mean	lower limit std	upper limit std
pigs	8,847	1,420	55,106	4.61	1.22	17.45
non dairy cattle	56	9	367	0.67	0.09	4.84
dairy cattle	124	45	342	2	0.86	4.66

lower/upper limit std = geom. Mean \times/\div geom. std.dev.

The practitioners recorded the number of animals treated, but neither the number of farms nor the farm sizes that were consulted per clinic were known. Therefore, the overall number of animals within the study cohort, i.e. the animals under care, could not be determined and the treatment density could not be calculated for data captured by veterinarians.

4 Discussion and Conclusions

Although within the feasibility study no attempt to guarantee representativeness was made, the results of the antibiotics consumption rates corresponded to the findings of other authors (Bengtsson et al., 2007, Blix et al., 2007, Heuer et al., 2007). In farm animal husbandry, the oral drugs are commonly used for the treatment of large animal groups. Therefore, substances that are available for oral application – like tetracyclines – are used in cases of contagious diseases like respiratory or enteric diseases. Other substances like fenicoles and cephalosporines are preferred at individual treatment, because no drugs for oral treatment are registered.

Consumption results should be interpreted regarding the number of applications as well as the substance volumes, because substance dosages differ and may serve as bias regarding the distribution of the substance classes.

The analysis of the monitoring data requires parameters that are comparable to results of other countries and from year to year. For this purpose, the treatment density was evaluated because it offers a general categorisation of districts or farms. But, within this feasibility study, this variable could not be determined by the data from veterinary clinics. The statistical estimation of the overall number of animals per clinic through the analysis of the data obtained on rural structures and clinics characteristics is not reliable at the moment. Therefore the data should only be evaluated by clinics if the number of animals under care per veterinary clinic is known.

On the other hand it was shown, that a documentation system may be set up to give a detailed overview on the consumption of antibiotics in livestock in Germany. Correct and detailed data regarding the structures of the agricultures as well as of veterinary clinics will be necessary to generate a trustworthy estimation of the antibiotics consumption. Although several information gaps were identified, e.g. the number of treated animals per veterinary clinic, the proposed system is able to function as a monitoring system for antibiotic use in Germany.

References

Anonymous. Directive 2003/99/EC of the European Parliament and of the Council of 17 November 2003 on the monitoring of zoonoses and zoonotic agents, amending Council Decision 90/424/EEC and repealing Council Directive 92/117/EEC. J.O. (L 325) 31, 2003.

Bengtsson B, Franklin A, Greko C, Grönlund-Anderson U, Odensvik K. SVARM 2007: Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring. *SVARM*. Uppsala (SE), Department of Antibiotics, National Veterinary Institute (SVA), 2007.

Blix H, Gaustad P, Grave K, Kruse H, Lassen J, Mannsaker T, Norström M, Sandven P, Simonsen G, Stavnes T, Sunde M. NORM/NORM-VET 2006. Usage of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in Norway. *NORM/NORM-VET*. Tromsø/Oslo, N, Norwegian Food Safety Authority, National Veterinary Institute, Norwegian Zoonosis Centre, National Veterinary Institute, Section of Bacteriology, Norwegian Institute of Public Health, 2007.

Heuer O, Agero Y, Emborg H, Seyfarth A, Jensen U, Hammerum A, Muller A, Skov R, monnet D. DANMAP 2007 - Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, foods and humans in Denmark. *DANMAP*. Søborg, DK, Statens Serum Institut, Danish Veterinary and Food Administration, Danish Medicines Agency, National Veterinary Institute, Technical University of Denmark, National Food Institute, Technical University of Denmark, 2007.

Kreienbrock L, Schach S. *Epidemiologische Methoden*, 4. Aufl. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 2005

Statistische Ämter des Bundes und der Länder. Easystat: Statistik regional. CD-ROM. Version 2007. 2007 ed. Duesseldorf, Germany, Statistische Ämter des Bundes und der Länder, 2008.

Resistenzmonitoring in der Veterinärmedizin als Teil von DART

Bernd-Alois Tenhagen, Andreas Schroeter und Annemarie Käsbohrer
Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin

Am 18. November 2008 hat die Bundesregierung ihre neue Antibiotikaresistenzstrategie veröffentlicht. Ziel der Strategie ist es, die Resistenz von Bakterien gegen antimikrobielle Substanzen zu überwachen und nach Möglichkeit zurückzudrängen. Die Strategie wurde gemeinsam von den Bundesministerien für Gesundheit, für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz sowie für Bildung und Forschung verkündet. Dies spiegelt die Breite der Thematik wieder, denn die Wirksamkeit von Antibiotika ist sowohl für das Gesundheitswesen als auch für die Erhaltung der Tiergesundheit von entscheidender Bedeutung.

Entsprechend werden antimikrobielle Substanzen aber auch in beiden Bereichen in erheblichem Ausmaß eingesetzt. Mit dem Einsatz verbunden ist ein kontinuierlicher Selektionsdruck, der auf die Bakterienpopulationen wirkt. Dieser Selektionsdruck entsteht bei jeder Behandlung mit Antibiotika. Er betrifft einerseits die Bakterienpopulationen, die das Ziel der Behandlung sind. Andererseits betrifft er aber auch alle anderen Keime, die im Körper vorhanden sind und in Kontakt mit unterschiedlichen Konzentrationen des Wirkstoffs kommen. Die meisten dieser Keime sind harmlose Kommensalen, also Keime, die in einem Lebewesen oder auf seiner Oberfläche leben und ihren Wirt nicht oder doch zumindest nicht negativ beeinflussen. In der Veterinärmedizin kommt zu diesen Kommensalen noch die Gruppe der Zoonoseerreger hinzu. Viele dieser Erreger können Tiere ebenfalls ohne klinische Krankheitserscheinungen besiedeln, oder nur in Ausnahmefällen zu klinischen Erkrankungen führen. Einige führen aber auch regelmäßig bei Mensch und Tier zu Erkrankungen. Insgesamt können in der Tiermedizin also drei Gruppen von Bakterien unterschieden werden, die einem Selektionsdruck ausgesetzt sind: Die Krankheitserreger der Tiere, die Zoonoseerreger und die Kommensalen.

Für das Resistenzmonitoring in der Veterinärmedizin ist es wichtig, alle diese Populationen zu betrachten auch wenn die jeweilige Begründung für das Monitoring sehr unterschiedlich ist. Bei den tierpathogenen Erregern haben Tierärztinnen und Tierärzte ein unmittelbares Erkenntnisinteresse, weil sie wissen wollen, mit welchem Wirkstoff sie erkrankte Tiere sinnvoll und effektiv behandeln können.

Bei den Zoonoseerregern besteht dieses Interesse teilweise auch, weil diese auch zu Erkrankungen bei Tieren führen können. Im Vordergrund steht hier aber schon der Aspekt des Verbraucherschutzes. Spätestens wenn der Zoonoseerreger den Menschen befällt, ist es von herausragender Bedeutung zu wissen, gegenüber welchen Wirkstoffen er noch empfindlich ist. Da die meisten Zoonoseerreger nicht zu unmittelbar behandlungswürdigen klinischen Erscheinungen bei Tieren führen, ist es hier wichtig, Erreger zu untersuchen, die von klinisch gesunden Tieren stammen.

Warum sollen kommensale Bakterien untersucht werden?

Das unmittelbare Erkenntnisinteresse der praktizierenden Tierärztinnen und Tierärzte entfällt bei den Kommensalen. Diese sind nicht pathogen. Eine Behandlung mit dem Ziel ihrer Elimination ist nicht erforderlich. Warum also sollten Sie in das Monitoring einbezogen werden? Dies hat mehrere Gründe, die im Folgenden erläutert werden sollen.

1. *Im Gegensatz zu Pathogenen oder Zoonoseerregern sind kommensale Bakterien von jeder antibiotischen Behandlung betroffen.*

Daraus ergibt sich für diese Bakterien ein wesentlich höherer und vor allem häufigerer Selektionsdruck im Hinblick auf die Entwicklung und Verbreitung von Resistenzen gegen Antibiotika.

2. Die Empfindlichkeit der Kommensalen wird bei der Therapieentscheidung in aller Regel nicht berücksichtigt.

Die Anwendung von Antibiotika erfolgt immer im Hinblick auf bestimmte Pathogene von denen angenommen wird, dass sie für die jeweilige Erkrankung ursächlich sind. Die Auswahl des Wirkstoffs und der Dosierung erfolgt gezielt im Hinblick auf die (vermutete oder bestimmte) Empfindlichkeit des Pathogens. Dies ist auch in den Leitlinien der Bundestierärztekammer niedergelegt (Bundestierärztekammer 2000). Auf die Empfindlichkeit der Kommensalen wird dabei in aller Regel keine Rücksicht genommen. Aufgrund der Vielfalt der Organismen, aus denen sich die kommensale Flora zusammensetzt, kann dies auch nicht sein. Dies bedeutet, dass mit den meisten Behandlungen auch Kommensale mit Wirkstoffkonzentrationen konfrontiert werden, die unterhalb der minimalen Hemmkonzentration liegen, was die Selektion resistenter Populationen fördert.

3. Die Zahl der vorhandenen kommensalen Bakterien ist in der Regel um ein vielfaches höher als die der Pathogene.

Bei einer gegebenen Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer Mutation oder eines Bakterienklons der gegen einen Wirkstoff oder eine Wirkstoffgruppe resistent ist, erhöht sich damit die Wahrscheinlichkeit, dass ein solcher Klon Teil der kommensalen Flora ist und durch die Anwendung von Antibiotika optimierte Vermehrungsbedingungen erhält.

4. Die Resistenz von Antibiotika beruht auf Genen, die teilweise auf mobilen Elementen angesiedelt sind und daher u.a. von Kommensalen auf Pathogene übertragbar.

Damit können kommensale Bakterien als Reservoir für Resistenzgene fungieren. Sie können Sie von anderen Bakterien übernehmen, sie aber auch an andere Bakterien weitergeben und zwar sowohl innerhalb der Spezies als auch von/zu anderen Spezies. Sie können die Resistenzdeterminanten auch – ähnlich wie die Zoonoseerreger - vom Tier über das Lebensmittel zum Menschen transportieren und dort wiederum auf potentielle pathogene Keime übertragen. Da diese Fähigkeit grundsätzlich auch tierpathogene Erreger und Zoonoseerreger besitzen, ist die Charakterisierung der Erreger und der genetischen Grundlagen ihrer Resistenzeigenschaften von herausragender Bedeutung.

Wie wird die Antibiotikaresistenz in der Veterinärmedizin derzeit überwacht?

Seit den 90er Jahren wurden im damaligen BgVV und später in seinen Nachfolgeinstituten Konzepte zum Resistenzmonitoring entwickelt. Diese Konzepte fanden zum einen Eingang in nationale Programme, aber auch in die von der EU entwickelten Programme zum Monitoring. In den Jahren 2003 und 2004 wurden in Berlin zwei große Konferenzen einerseits zur Risikobewertung, andererseits zum Risikomanagement abgehalten, in denen diese Vorstellung ebenfalls weiterentwickelt wurden (Käsbohrer und Heckenbach 2006).

Derzeit gibt es für alle drei Gruppen von Bakterien (Tierpathogene, Zoonoseerreger und Kommensalen) Überwachungsprogramme, die die Bundesbehörden in Zusammenarbeit mit den Behörden der Länder kontinuierlich weiter entwickeln und durchführen.

Die tierpathogenen Keime werden häufig im Interesse einer rationalen Therapieentscheidung auf Initiative der behandelnden Tierärztinnen und Tierärzte auf ihre Resistenz gegen antimikrobielle Mittel untersucht. Diese Daten stehen aber in aller Regel nicht für eine zentrale Auswertung im Sinne eines Monitorings zur Verfügung. Auch wird die Untersuchung oft mit unterschiedlichen Methoden (z.B. Mikrodilutionsmethode oder Agar-diffusion) durchgeführt, so dass auch unter diesem Aspekt die Vergleichbarkeit der Daten eingeschränkt ist. Einen wesentlichen Fortschritt bedeutet hier die Verständigung auf einheitliche Untersuchungsstrategien für bestimmte Gruppen von Erregern, die eine Arbeitsgruppe der DVG erarbeitet hat (Luhofer et al. 2004; Werckenthin et al. 2008). Durch die Verständigung auf die Mikrodilution und ein spezifisches Konzentrationsspektrum für bestimmte Wirkstoffe werden hier in zunehmendem Maße vergleichbarere Daten erhoben.

Eine zentrale Erfassung dieser Daten erfolgt nach wie vor nicht. Allerdings wird durch das Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) ein Monitoring durchgeführt. Für dieses Monitoring werden den beteiligten Laboren jährlich Stichprobenpläne zur Verfügung gestellt, die regeln, wie viele Erreger welcher Spezies und aus welcher Tierart an das BVL zum Zweck der Resistenzbestimmung gegen eine breites Spektrum von Wirkstoffen eingesandt werden sollen. Die Ergebnisse dieser und komplementärer Untersuchungen zu Tier/Pathogen Kombinationen, die von GERM Vet nicht erfasst wurden, werden in wissenschaftlichen Publikationen veröffentlicht. Im Jahr 2008 erschien der Bericht GERMAP, der eine Übersicht über die in den Jahren 2004-2006 generierten Daten gibt (Anonymus 2008).

Für die Zoonoseerreger geben die Richtlinie 2003/99/EG den Rahmen vor. Hier ist vorgesehen, dass nicht nur das Vorkommen der Zoonoseerreger überwacht werden soll sondern auch deren Resistenz gegen antimikrobielle Mittel. Eine präzise Regelung findet sich in der Kommissionsentscheidung 407/2007/EG (EU 2007), die regelt, welche und wie viele Isolate von *Salmonella* und *Campylobacter* in das Monitoring einzubeziehen sind. Sie regelt auch, welche antimikrobiellen Wirkstoffe in die Untersuchung einzubeziehen sind. Vorteil dieser Regelung ist, dass EU-weit harmonisierte Daten erhoben werden. Die Umsetzung dieser Regelung erfolgt in Deutschland in Zusammenarbeit der Länderbehörden mit dem Nationalen Referenzlabor für Antibiotikaresistenz am Bundesinstitut für Risikobewertung. Die Berichterstattung erfolgt im Rahmen der jährlichen Berichte der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA)(EFSA 2009).

Im Hinblick auf das Monitoring der Resistenz kommensaler Bakterien gibt es eine Empfehlung der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA), *Escherichia (E.) coli* als Indikatorkeim für das Spektrum gramnegativer Keime zu testen und *Enterococcus spp.* als Indikatorkeim für grampositive Spezies (EFSA 2008). Auf dieser Grundlage werden im aktuellen Zoonosenstichprobenplan nach der AVV Zoonosen Lebensmittelkette, Tiere und Lebensmittel auf kommensale *E. coli* untersucht, die dann zentral im BfR auf ihre Resistenz gegen antimikrobielle Mittel getestet werden. Erste Ergebnisse dieser flächendeckenden Untersuchung sind im nächsten Sommer zu erwarten. Ähnliche Programme zur Untersuchung von *Enterococcus spp.* sind in Vorbereitung.

Herausforderungen

In Übereinstimmung mit den Zielen von DART gilt es, die Kooperation der Beteiligten in der Industrie, der Tierproduktion, der praktischen Tiermedizin, der Wissenschaft und in den Behörden weiter zu verbessern. Ein positives Beispiel ist die konzertierte Arbeit dieser Gruppen an der Problematik der Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* bei Tieren. Hier haben auf verschiedenen Ebenen Vertreter der unterschiedlichen Bereiche in enger Kooperation einen enormen Erkenntniszuwachs geschaffen und damit die Grundlage für die Bewertung der von dieser Problematik ausgehenden Probleme für den gesundheitlichen Verbraucherschutz geschaffen.

Auf methodischer Ebene sind in den letzten Jahren national und international erhebliche Fortschritte bei der Harmonisierung der Methoden gemacht worden. Neben der technischen Durchführung der Untersuchung gibt es auch Unterschiede in der Bewertung der Messwerte. Aus klinischer Sicht ist es entscheidend, welche Konzentration des Wirkstoffs über welchen Zeitraum im Zielgewebe erreicht werden muss, um Aussicht auf eine erfolgreiche Therapie zu haben. Hierzu wurden und werden sogenannte klinische Breakpoints entwickelt, die spezifisch für den Keim, die Tierart und das Zielgewebe sind. Für den Bereich der Veterinärmedizin fehlen diese Werte häufig noch, so dass Therapieentscheidungen nur auf der Grundlage aus der Humanmedizin oder von anderen Tierarten abgeleiteter Werte getroffen werden können.

Aus epidemiologischer Sicht sind aber schon Resistenzentwicklungen unterhalb dieser Schwelle interessant. Jede Abweichung vom „Wildtyp“ einer Bakterienspezies im Hinblick auf

die Empfindlichkeit, deutet auf die Entwicklung von Resistenzen hin. Dies muss nicht gleich dazu führen, dass der Wirkstoff in der Therapie nicht mehr einsetzbar ist, ist aber ein Hinweis darauf, dass sich die Resistenzlage des Erregers verschlechtert, was in der Folge irgendwann zu einer mangelhaften Wirksamkeit führen kann. Um diese Entwicklung zu erkennen, wurden sogenannte epidemiologische cut offs entwickelt, deren Überschreitung anzeigt, dass sich ein Isolat nicht mehr wie der Wildtyp verhält. Beide Interpretationen der Messwerte haben ihre Relevanz für die jeweilige Fragestellung, Es ist aber wichtig, klar festzuhalten, welche Interpretation dem Begriff „resistent“ zu Grunde liegt.

Die Untersuchung von kommensalen Bakterien steht noch am Anfang. Die Empfehlung der EFSA, kommensale *E. coli* und *Enterococcus* spp. zu untersuchen, stellt einen Schritt in die richtige Richtung dar. Anhand der Untersuchung von kommensalen Bakterien lässt sich die Entwicklung und Ausbreitung von Resistenzdeterminanten in Tierpopulationen früher erkennen und damit lassen sich Gegenmaßnahmen ergreifen.

Eine wichtige Lücke in den vorhandenen Daten stellt das Fehlen von konkreten Zahlen zum Umfang der Anwendung von antimikrobiellen Substanzen in den verschiedenen Zweigen der Tierproduktion, aber auch bei Haus- und Heimtieren dar. Da jede Anwendung mit der Entwicklung eines Selektionsdrucks einhergeht, ist der Umfang des Einsatzes ein vermutlich bedeutender Faktor bei der Bestimmung des Resistenzgeschehens. Das Wissen hierüber sollte eine wichtige Grundlage für die Entscheidung über Monitoringprogramme sein. Erste vom BfR initiierte Pilotstudien hierzu sind abgeschlossen und werden im Rahmen des Symposiums vorgestellt.

Weiterhin wird es wichtig sein, zu wissen, welche Faktoren die Anwendung von Antibiotika in der Tierhaltung beeinflussen, anhand welcher Maßnahmen der Gesundheitsförderung in der Tierhaltung die Anwendung von Antibiotika vermindert werden kann und wie die Anwendung solcher Maßnahmen (Hygienemanagement, optimierte Fütterung, tiergerechte Haltung, Impfprogramme) durch Tierhalter und Tierärzte gefördert werden kann.

Literatur

Anonymus. 2008. GERMAP 2008 - Antibiotika - Resistenz und -Verbrauch, http://www.bvl.bund.de/cln_007/DE/08_PresseInfothek/00_doks_downloads/Germap_2008,templateld=raw,property=publicationFile.pdf/Germap_2008.pdf.

Bundestierärztekammer. 2000. Leitlinien für den sorgfältigen Umgang mit antimikrobiell wirksamen Tierarzneimitteln, http://www.bundestieraerztekammer.de/datei.htm?filename=ab_leitlinien.pdf&themen_id=4868.

EFSA. 2008. Report from the Task Force on Zoonoses Data Collection including guidance for harmonized monitoring and reporting of antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. from food animals. The EFSA Journal 141.

EFSA. 2009. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic agents in the European Union in 2007. The EFSA Journal 223.

EU. 2007. Commission Decision - 2007/407/EC - of 12 June 2007 on a harmonised monitoring of antimicrobial resistance in *Salmonella* in poultry and pigs. OJ L 153/26.

Käsbohrer, A., und K. Heckenbach. 2006. Monitoring of antimicrobial resistance on the basis of the E.U. Zoonoses Directive. Int J Med Microbiol. 296(41):39–43.

Luhofner, G., A. Bottner, H. M. Hafez et al. 2004. [Proposals of the working group "Antibiotic resistance" for the configuration of microtitre plates to be used in routine antimicrobial susceptibility testing of bacterial pathogens from infections of large food-producing animals and mastitis cases]. Berl Munch. Tierarztl. Wochenschr 117(7-8):245-251.

Werckenthin, C., G. Luhofer, A. Bottner et al. 2008. [Layout proposal for a microtitre plate to be used in routine antimicrobial susceptibility testing of bacteria from infections of dogs and cats]. Berl Munch. Tierarztl. Wochenschr 121(1-2):19-26.

Aktuelle Daten zur Antibiotikaresistenz im humanen Bereich vom Projekt Antibiotika-Resistenz-Surveillance in Deutschland (ARS)

Tim Eckmanns, Ines Noll, Brigitta Schweickert, Marcel Feig, Özlem Gencaslan und Gérard Krause
Robert Koch-Institut, Berlin

Antibiotikaresistenz ist ein zunehmendes Problem in Deutschland und vielen anderen Ländern. Gründe sind eine Zunahme der Hochleistungsmedizin, die einen vermehrten Einsatz von Antibiotika notwendig macht, inadäquater Antibiotikaeinsatz, unzureichende Hygiene. Ein wichtiges Instrument um der zunehmenden Antibiotikaresistenz etwas entgegen zu setzen ist die Antibiotikaresistenzsurveillance. Nur wenn Resistenzraten und deren Entwicklung bekannt sind, kann darauf richtig reagiert werden.

Im Rahmen der deutschen Antibiotika-Resistenzstrategie (DART) wurden zehn nationale Ziele in vier Komponenten festgelegt. Teilziel 1.1 beinhaltet die Stärkung der Surveillance-systeme zur Erfassung und Bewertung der Antibiotikaresistenz. Der Bedarf ist ein repräsentatives Surveillancesystem für den ambulanten und stationären Bereich, zur Beurteilung der lokalen, regionalen und nationalen Antibiotikaresistenz in Deutschland mit zentraler Erfassung und Analyse der Daten. Diese Eigenschaften erfüllt ARS (Antibiotika-Resistenz-Surveillance in Deutschland).

Ziele von ARS

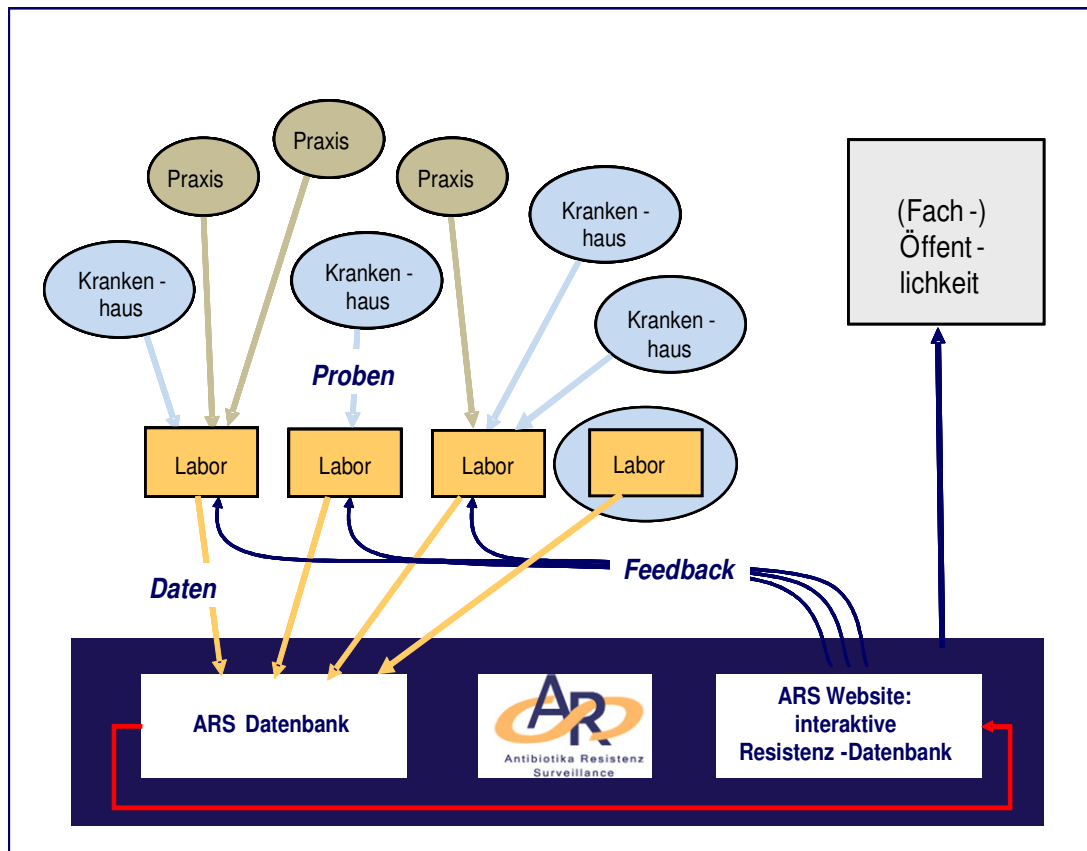
Repräsentativität der Einsender hinsichtlich geographischer Verteilung und nach Struktur der Gesundheitsversorgung.

Bereitstellung von Referenzdaten zur Resistenzlage in der stationären und ambulanten Versorgung.

Mit ARS existiert eine laborgestützte Surveillance mit umfassendem Erhebungsansatz, dies beinhaltet Resistenzdaten für alle klinisch relevanten bakteriellen Erreger aus allen Materialien. Technisch gelöst ist dies durch eine Schnittstelle zum automatisierten Datentransfer für teilnehmende Labore. Dabei werden die laborspezifischen Kodierungen auf eine standardisierte Variablenstruktur abgebildet. Es erfolgt eine methodenspezifische Auswertung mit Trennung von DIN- und CLSI-basierten SIR. Die ARS Netzwerkstruktur ist in Abbildung 1 dargestellt. Von den Laboren und Krankenhäusern gehen die Proben zum Labor. Im Labor werden die Ergebnisdaten im Laborinformationssystem abgespeichert. Über die Schnittstelle werden diese Daten an die zentrale ARS Datenbank am RKI gesendet.

Für das Jahr 2008 wurden von fünf Labore Resistenzdaten von 99 Krankenhäusern und 3003 Praxen erfasst. Dies entspricht 145.499 stationären Proben und 111.059 ambulanten Proben. Über 65 % der einsendenden Praxen sind Innere Medizin bzw. Allgemeinmedizin, gefolgt von 11 % Gynäkologie und 7 % Pädiatrie. In Tabelle 1 sind Ergebnisse ausgewählter Erreger dargestellt.

Abb. 1: Netzwerkstruktur ARS (Antibiotika-Resistenz-Surveillance in Deutschland)



Tab. 1: Resistenzsituation ausgewählter Erreger

	Ambulant		Stationär	
	Resistent	Anzahl N°	Resistent	Anzahl N°
<i>E. coli</i>				
Amoxicillin/Clavulansäure	17,1	15.012	26,5	19.795
Piperacillin/Tacobactam	2,8	21.026	6,9	22.919
Cefotaxim	2,6	24.073	6,5	23.297
Ciprofloxacin	14,4	25.049	20,8	23.306
<i>K. pneumoniae</i>				
Amoxicillin/Clavulansäure	10,3	1.840	17,6	3.361
Piperacillin/Tacobactam	2,6	2.694	10,9	3.993
Cefotaxim	2,4	3.030	10,5	4.068
Meropenem	0	3.025	0,1	3.858
Ciprofloxacin	6,3	3.125	13,9	4.069
<i>P. aeruginosa</i>				
Piperacillin/Tacobactam	1,8	2.685	5,3	5.212
Ceftazidim	2,0	3.119	6,4	5.286
Imipenem	2,8	3.139	6,9	5.049
Ciprofloxacin	10,6	3.148	15,8	5.287
<i>A. baumannii</i>				
Ceftazidim	3,3	418	15,7	687
Imipenem	0	424	2,3	651
Meropenem	0	416	3,1	647
<i>S. aureus</i>				
Oxacillin	16,5	11.307	25,7	14.222
<i>E. faecalis</i>				
Teicoplanin	0,3	7.293	0,3	1.189
Vancomycin	0,2	7.400	0,3	1.568
<i>E. faecium</i>				
Teicoplanin	1,9	158	3,0	203
Vancomycin	3,6	168	5,2	349

Schlussfolgerung

Durchgehend liegt die Antibiotikaresistenz im stationären Bereich höher als im ambulanten Bereich. Die Ausdehnung des Surveillancesystems wird eine stratifizierte Auswertung nach Region, Krankenhausart und Disziplin ermöglichen und damit wird eine representative Interpretation von Antibiotikaresistenzdaten möglich sein.

Diversität der laMRSA in der Lebensmittelkette

Alexandra Fetsch, Bernd-Alois Tenhagen, Britta Kraushaar, Beatriz Guerra, Andreas Schroeter, Jens-André Hammerl, Juliane Bräunig, Annemarie Käsbohrer, Katja Alt und Bernd Appel
Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin

Einleitung

Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) werden in der Humanmedizin seit langem als bedeutende Infektionserreger beschrieben. Durch den Nachweis von MRSA bei Haus- und Nutztieren ist in jüngster Zeit ein weiterer Aspekt zu dieser komplexen Thematik hinzugekommen. Insbesondere die Tatsache, dass MRSA aus Nutztierbeständen Personen mit unmittelbarem Kontakt zu diesen Tieren (hierzu zählen Landwirte und Tierärzte) kolonisieren können, gibt hierbei Anlass zur Sorge (Voss et al. 2005). Denn jede Zunahme der Besiedlung in diesen Berufsgruppen führt auch zu einem verstärkten Eintrag des Erregers in andere Bevölkerungsgruppen und Risikobereiche wie Krankenhäuser und Pflegeeinrichtungen. Da die überwiegende Mehrheit dieser MRSA einem bestimmten klonalen Komplex (CC398) zugeordnet werden konnten, der zudem bis dato nicht in der Humanmedizin beschrieben worden war, werden zu dieser Gruppe zugehörige MRSA auch als livestock associated (la)MRSA bezeichnet.

LaMRSA werden jedoch nicht nur in Nutztierbeständen von Schweinen, Rindern und Geflügel detektiert, sondern von der Primärproduktion ausgehend auf allen Stufen entlang der Lebensmittelkette bis zum Lebensmittel (Rohfleisch und -zubereitungen) im Einzelhandel (Beneke et al. 2009; van Loo et al. 2007). Die genaue Bedeutung des Expositionswegs Lebensmittel aus der Sicht der Humangesundheit ist derzeit jedoch noch offen und bedarf weitergehender, epidemiologischer Untersuchungen. Derzeit gehen die europäischen Behörden jedoch von einer geringen Bedeutung des Lebensmittels als Vektor für die Übertragung des Erregers auf den Menschen aus (ECDC et al. 2009). Zum besseren Verständnis der klonalen Zusammenhänge der laMRSA müssen die Stämme molekularbiologisch typisiert und hinsichtlich ihrer Virulenz- und Resistenzeigenschaften charakterisiert werden. Es ist denkbar, dass sich die auf den verschiedenen Stufen der Lebensmittelkette isolierten laMRSA nicht unerheblich voneinander unterscheiden. Neben MRSA mit Zugehörigkeit zum CC398-Komplex könnten auch Stämme anderer klonaler Zugehörigkeit (Non-CC398 MRSA) vorkommen und in der Konsequenz möglicherweise eine stammspezifische Risikocharakterisierung erforderlich machen.

Ziel des hier vorgelegten Beitrags war es daher, in Abhängigkeit von der Herkunft der MRSA aufzuzeigen, welche klonalen Linien in Deutschland entlang der Lebensmittelkette vorkommen und welches Resistenzspektrum diese Stämme aufweisen. Im Fokus der Betrachtungen stehen hierbei Isolate aus Lebensmitteln aus dem Einzelhandel (d.h. Rohfleisch und Rohfleischzubereitungen von Schwein, Huhn, Pute und Rind).

Material und Methoden

Im Nationalen Referenzlabor für Koagulase positive Staphylokokken liegen MRSA-Stämme unterschiedlichster Herkünfte vor, die im Rahmen nationaler und EU-weiter Monitoringprogramme und Forschungsprojekte isoliert wurden. Hierzu zählen Isolate aus Nutztierbeständen (Zucht- und Mastschweinebestände, Milchrinder), vom Schlachthof (Schweine), und aus Lebensmittelproben aus dem Einzelhandel (rohes Schweine-, Kalb-, Hähnchen- und Putenfleisch sowie Zubereitungen daraus).

Alle Isolate wurden anhand des für das Protein A codierenden Gens (*spa*) molekularbiologisch typisiert (so genannte *spa*-Typisierung) (Shopsin et al. 1999). Ein Isolat eines jeden *spa*-Typs wurde zudem anhand der Polymorphismen seiner Nukleotidsequenzen interner Fragmente von sieben hochkonservierten ‚housekeeping genes‘ (*yqiL*, *arcC*, *aroE*, *glpF*, *gmk*, *pta* und *tpi*) nach (Enright et al. 2000) typisiert (so genannte Multi Locus Sequenztypi-

sierung, MLST). Zudem wurde die das Gen für die Methicillin Resistenz (*mecA*) tragende Genkassette *SCCmec* der Isolate typisiert (Zhang et al. 2005). Alle Isolate wurden mittels Agardiffusion bzw. Bouillon-Mikrodilution auf ihre Resistenz gegenüber antimikrobiellen Substanzen untersucht.

Ergebnisse

Bisher gehört die überwiegende Mehrheit der laMRSA zu *spa*-Typen, die dem CC398-Komplex zugeordnet werden können. So dominieren in den Beständen bei Zucht- und Mastschweinen die Typen t011, t034 und t108. Vereinzelt Isolate vom Schwein gehörten den *spa*-Typen t1250, t1451, t2510 und t2576 an. Der Anteil der Non-CC398 MRSA, wie ST9, ST37 und ST97, lag hingegen unter fünf Prozent. Auch am Schlachthof dominieren CC398 assoziierte MRSA beim Schwein, der Anteil der *spa*-Typen t011, t034 und t108 variierte aber zum Teil erheblich (Tenhagen et al. 2009). In drei Milchkuhbeständen in Südwestdeutschland wurden aus Gemelks- und Staubproben MRSA des *spa*-Typs t011 detektiert (Spohr et al. 2009). Aus Anlieferungsmilchproben konnten überwiegend der *spa*-Typ t034 und ausschließlich CC398 assoziierte MRSA (t011 und t1457) isoliert werden.

In den Beständen und am Schlachthof überwiegen die *SCCmec* - Typen V und III. Weniger häufig wurden die Typen IVa oder IVd nachgewiesen. Die Isolate aus Anlieferungsmilch hatten ausschließlich die *SCCmec* Kassette des Typs V in ihr Genom integriert.

Isolate aus der Primärproduktion waren neben der beta-Laktam-Resistenz alle auch resistent gegenüber Tetrazyklinen und häufig auch gegenüber Lincosamiden (Clindamycin) und Makrolidantibiotika (Erythromycin). Zudem wiesen die Isolate Resistenzen gegen Aminoglykoside (Gentamicin und Kanamycin) und Trimethoprim auf.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen der Untersuchungen in der Primärproduktion liegt bei Lebensmittelproben aus dem Einzelhandel in Abhängigkeit von der Herkunft (d.h. Tierart) eine zum Teil erhebliche Diversität vor (Fetsch et al. 2009). So ließen sich über 15 Prozent von 377 Isolaten nicht dem CC398 Komplex zuordnen., 49 dieser Isolate wurden in rohem Geflügel- und Putenfleisch bzw. deren Zubereitungen detektiert. Der Anteil der Non-CC398 MRSA war im Hähnchenfleisch am größten (27 %), während aus Kalbfleisch ausschließlich CC398 MRSA isoliert wurden (Abbildung 1). Bis auf fünf, den MLST-Typen ST1 und ST5 zugehörige Isolate, handelte es sich bei den Non-CC398 aus Geflügelfleisch ausschließlich um MRSA des MLST-Typs ST9 und des *spa*-Typs t1430. Im Rohfleisch anderer Tierarten wurde dieser klonale Komplex nicht nachgewiesen.

Bei den CC398 Isolaten aus Lebensmitteln dominierten dieselben *spa*-Typen, die auch in der Primärproduktion vorherrschten: t011 und t034 mit einem Anteil von zusammen 93 %. Weitere zum CC398 Komplex zählende *spa*-Typen (u.a. t1451, t2576, t108, t1456) waren entsprechend selten.

Hinsichtlich der bei MRSA aus Lebensmitteln vorkommenden *SCCmec* Kassetten gibt es hingegen wieder deutliche Unterschiede zur Primärproduktion. Zwar dominiert auch hier der *SCCmec*-Typ V (68 % aller Isolate), der Anteil der MRSA Isolate, die den *SCCmec* Typ IVa in ihrem Genom integriert haben, ist mit knapp 20 Prozent jedoch im Rohfleisch bedeutend höher. Der *spa*-Typ t1430 war fast ausnahmslos mit diesem *SCCmec* Typ assoziiert. Zudem trugen nahezu 80 Prozent aller aus Geflügelfleisch (Huhn und Pute) isolierten MRSA eine *SCCmec* Kassette des Typs IVa.

Das Resistenzspektrum der aus Lebensmitteln isolierten MRSA unterschied sich ebenfalls deutlich von dem der Isolate aus der Primärproduktion (Abbildung 2). Insbesondere der hohe Anteil Erythromycin (ERY) resistenter Isolate fällt hierbei auf. Neben der Resistenz gegenüber Oxacillin (OXA) und Tetrazyklin (TET) waren Resistenzen gegenüber Clindamycin (CLI), Kanamycin (KAN) und Synercid (SYN) häufig. In Abhängigkeit von der Herkunft vari-

ierte zudem der Anteil der gegenüber Ciprofloxacin (CIP) resistenten Stämme: über 30 % aller Isolate vom Huhn aber nur zwischen zehn und zwölf Prozent der Isolate von Pute, Schwein bzw. Kalb erwiesen sich hierbei als resistent.

Diskussion und Ausblick

Es konnte bestätigt werden, dass entlang der Lebensmittelkette eine erhebliche Diversität der MRSA vorliegt. Der Anteil der Non-CC398 MRSA ist in Lebensmitteln aus dem Einzelhandel, insbesondere in Rohfleisch u. -zubereitungen vom Huhn, am größten. Bestimmte klonale Linien mit bestimmten Resistenzeigenschaften scheinen in Abhängigkeit von der Herkunft der Stämme zu dominieren, wie z.B. der Typ t1430 und der SCC*mec* Kasette IVa beim Geflügel. Es ist zu prüfen, ob diese Diversität eine stammspezifische Risikocharakterisierung erforderlich macht. Weiterführende molekularbiologische Untersuchungen, wie z.B. zum Vorliegen von Genen, die für Virulenzfaktoren (Panton-Valentin-Leukozidin, PVL bzw. Superantigenen wie Staphylokokken-Enterotoxine, SET) oder für Resistenzen codieren, können hierbei wichtige Informationen liefern.

Abb. 1: Anteil der Non-CC398 MRSA im Lebensmittel

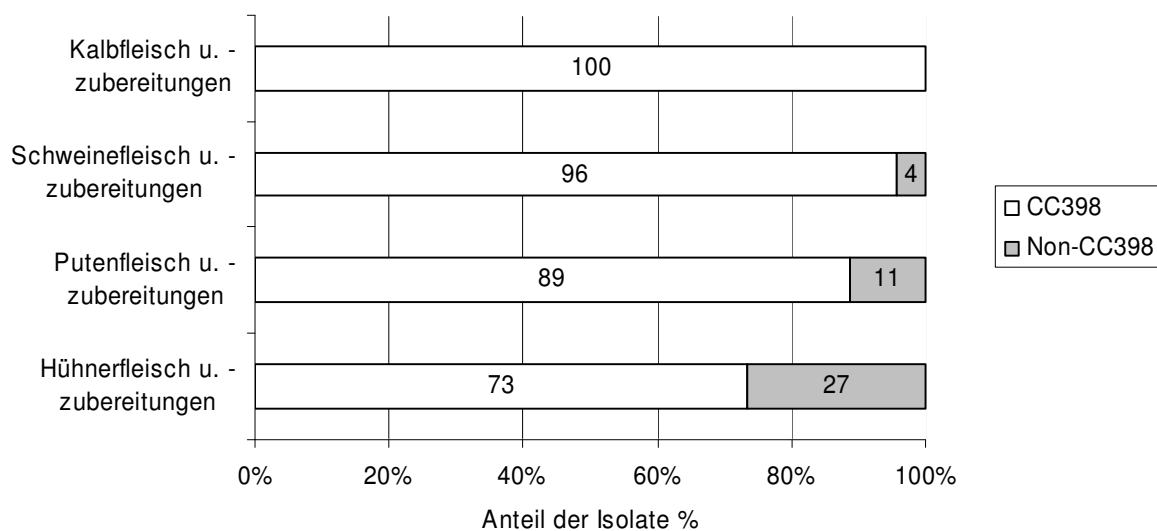
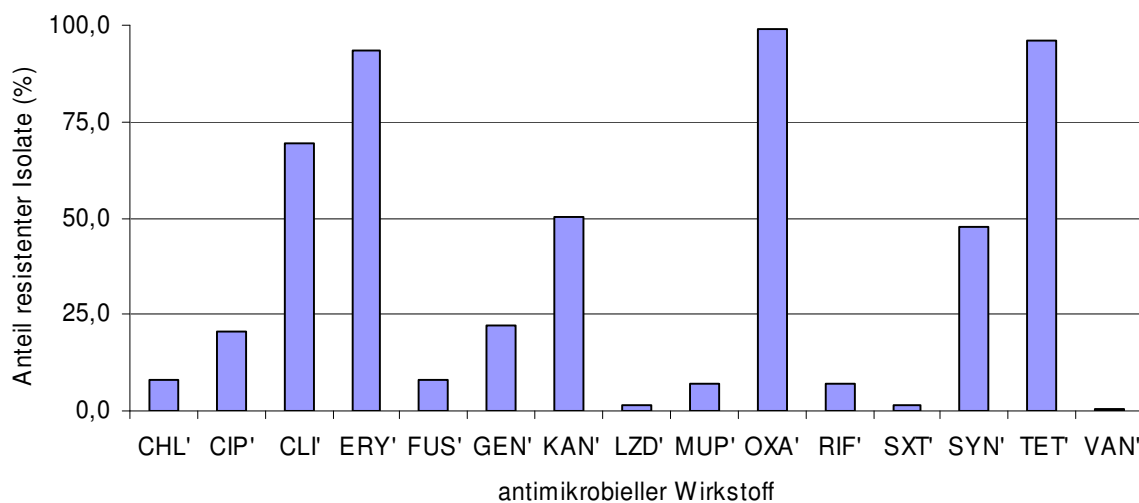


Abb. 2: Resistenzspektrum der Isolate aus Lebensmitteln (n=359)



Literatur

- Beneke, B., S. Klees, A. Fetsch et al. 2009. Erhebungen zum Vorkommen von Methicillin resistenten *Staphylococcus aureus* bei der Herstellung von Frischfleisch und Frischfleischzubereitungen vom Schwein. Garmisch-Partenkirchen, 30.09.2009, Tagung der DVG Fachgruppe Lebensmittelhygiene, in press.
- ECDC, EFSA, and EMEA. 2009. Joint scientific report of ECDC, EFSA and EMEA on methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in livestock, companion animals and food, http://www.efsa.europa.eu/cs/BlobServer/Report/biohaz_report_301_joint_mrsa_en.pdf?ssbinary=true. Accessed 24-7-2009.
- Enright, M. C., N. P. Day, C. E. Davies et al. 2000. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology* 38(3):1008-1015.
- Fetsch, A., B. Guerra, B. Kraushaar, S. Hertwig, J. A. Hammerl, J. Braeunig, A. Kaesbohrer, B. Appel, and B.-A. Tenhagen. 2009. Diversity among laMRSA isolates in food at retail – potential emergence of a non ST398 clone.
- Shopsin, B., M. Gomez, S. O. Montgomery et al. 1999. Evaluation of protein A gene polymorphic region DNA sequencing for typing of *Staphylococcus aureus* strains. *Journal of Clinical Microbiology* 37(11):3556-3563.
- Spohr, M., J. Rau, A. Friedrich, G. Klittich, A. Fetsch, J. A. Hammerl, and B.-A. Tenhagen. 2009. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in three dairy herds in Southwest Germany.
- Tenhagen, B.-A., A. Fetsch, B. Stührenberg et al. 2009. Prevalence of MRSA types in slaughter pigs in different German abattoirs. *The Veterinary Record*:in press.
- van Loo, I. H. M., B. M. Diederer, P. H. M. Savelkoul et al. 2007. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat products, the Netherlands. *Emerging Infectious Diseases* 13(11):1753-1755.
- Voss, A., Loeffen F, Bakker J et al. 2005. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farming. *Emerging Infectious Diseases* 11(12):1965-1966.
- Zhang, K., J. A. McClure, S. Elsayed et al. 2005. Novel multiplex PCR assay for characterization and concomitant subtyping of staphylococcal cassette chromosome mec types I to V in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology* 43(10):5026-5033.

Ergänzende Informationsquellen

- Homepage des BfR:
- http://www.bfr.bund.de/cm/208/menschen_koennen_sich_ueber_den_kontakt_mit_nutztieren_mit_mrsa_infizieren.pdf
- <http://www.bfr.bund.de/cd/29776>
- http://www.bfr.bund.de/cm/276/ausgewaehlte_fragen_und_antworten_zu_methicillin_resistenten_staphylococcus_aureus_mrsa.pdf

Weitere, kürzlich zur Thematik erschienene Artikel der Autoren

Fetsch, A., et al. "Risikoabschätzung von laMRSA in der Lebensmittelkette - Molekulare Diagnostik als Werkzeug zur Aufklärung epidemiologischer Zusammenhänge ." *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* (2009).

Tenhagen, B.-A., et al. "Prävalenz von MRSA bei landwirtschaftlichen Nutztieren und in Lebensmitteln." *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 116(8):307-311.

Antibiotikaresistenz und Erregerbekämpfung

Resistenzsituation bei *Salmonella*-Isolaten vom Schwein in Deutschland

Andreas Schroeter
Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin

Die Salmonellose ist eine wichtige bakterielle Zoonose in Deutschland. Im Jahr 2008 wurden im Rahmen des Infektionsschutzgesetzes 42.789 humanen Fällen gemeldet, so dass sie in der Rangliste hinter *Campylobacter*-Enteritis den zweiten Platz einnahm.

Im Rahmen seiner Tätigkeit differenziert das Nationale Referenzlabor für Salmonellen *Salmonella*-Isolate vom Tier, Lebensmitteln, Futtermitteln und der Umwelt. Das betraf im Zeitraum 2000 bis 2008 insgesamt 34.703 Isolate, die von Untersuchungsinstitutionen der Länder, von Universitäten, zoologischen Gärten und privaten Einsendern eingesandt wurden.

Davon stammten 50,9 % vom Tier, 31,3 % aus Lebensmitteln, 9,2 % aus Futtermitteln, 7,0 % aus der Umwelt sowie 1,6 % aus sonstigen Herkünften.

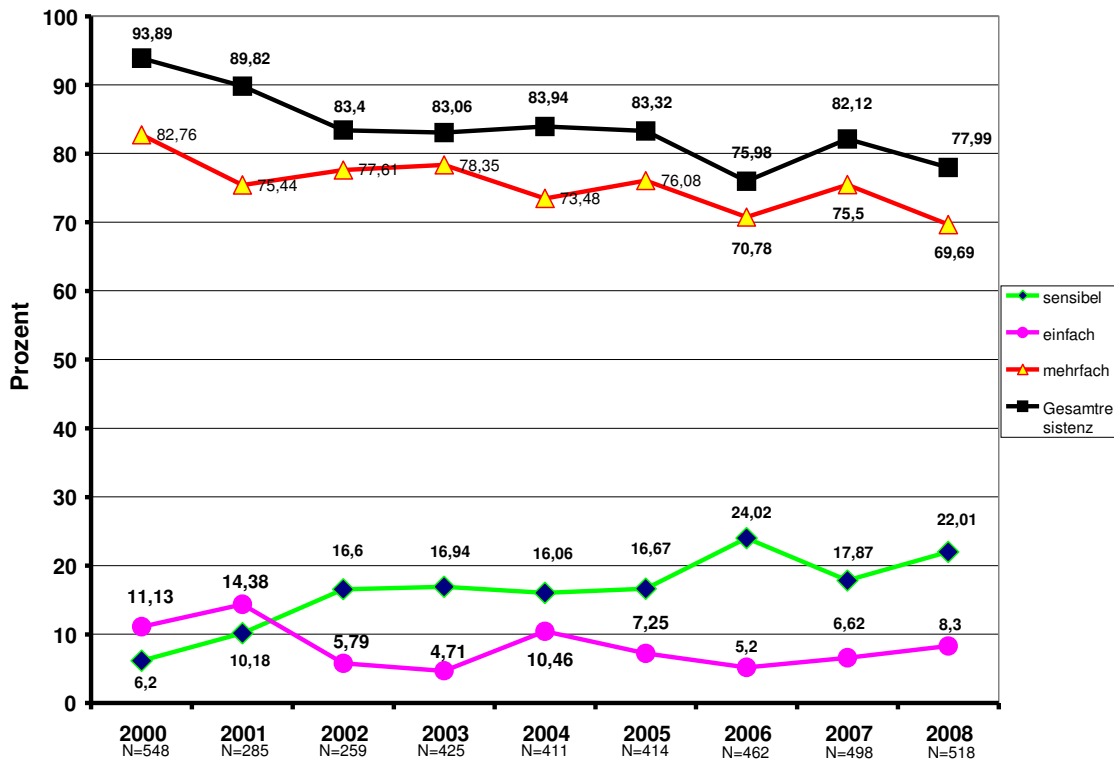
Im genannten Zeitraum wurden 3.820 *Salmonella*-Isolate vom Schwein (11,0 % aller Isolate) eingesandt, wobei die jährliche Anzahl zwischen 259 in 2002 und 548 in 2000 schwankte. Insgesamt konnten 50 verschiedene Serovare einschließlich Subspezies beim Schwein nachgewiesen werden. Der dominierende Serovar war *Salmonella* (S.) Typhimurium mit 67,9 %, wobei der prozentuale Anteil von 83 % in 2000 auf 44 % in 2008 bzw. 48 % in 2009 (11.09.2009) sank. Das hängt mit der Zunahme der *Salmonella*-Isolate mit der Seroformel 4,(5),12:i:- zusammen, deren Anteil von 0 % in 2000 auf 22 % in 2008 bzw. 32 % in 2009 anstieg und damit der zweithäufigste nachgewiesene Serovar beim Schwein wurde. Dieser Serovar ist molekularbiologisch (Deletion im Gen, das für die zweite H-Phase verantwortlich ist) eine monophasische Variante von *Salmonella* Typhimurium (Switt et al. 2009, Malorny unpubl. Resultate) und erklärt somit die starke Abnahme von *S. Typhimurium* im genannten Zeitraum. Weitere Serovare aber mit bedeutend geringerem, prozentualem Anteil waren *S. Derby* mit durchschnittlich 8 %, *S. Subspezies I* raue Isolate und *S. Enteritidis* mit jeweils 2 % und *S. Infantis* und *S. London* mit jeweils 1 %.

Die minimale Hemmkonzentration wurde mit Hilfe der Mikrobouillon-Verdünnungsmethode (NCCLS 2000/CLSI 2009) und fertig konfektionierten Mikrotiterplatten (TREK Diagnostics Ltd., UK) der Plattenformate NLMV1A (2000-2007) mit 17 antimikrobiellen Substanzen und ab 2008 mit dem europäischen Plattenformat EUMVS mit 14 antimikrobiellen Substanzen ermittelt. Zur Bewertung wurden die epidemiologische "cut off" Werte nach EUCAST (www.eucast.org) verwendet. Waren diese für bestimmte antimikrobielle Substanzen noch nicht evaluiert, wurden die Grenzwerte nach NCCLS 2000 (M7-A5) bzw. DANMAP 2001 eingesetzt.

Von den 3.820 untersuchten Isolaten vom Schwein waren durchschnittlich nur 16,2 % sensibel und 8,3 % einfach bzw. 75,5 % mehrfach (gegen mehr als eine antimikrobielle Substanz) resistent. Trotz der unterschiedlichen Anzahl von untersuchten *Salmonella*-Isolaten vom Schwein pro Jahr und dem Wechsel des Plattenformats in 2008 bleibt der prozentuale Anteil der sensitiven, einfach- und mehrfach resistenten Isolate im genannten Zeitraum relativ konstant (Abb. 1). Zwar sinkt der prozentuale Anteil resistenter Isolate von 94 % im Jahr 2000 auf 83 % in 2002, bleibt dann aber auf dem hohen Level fast konstant, was sowohl auf die mehrfach resistenten wie einfach resistenten Isolate zutrifft. Das weist u.a. auf einen kontinuierlichen Einsatz von antimikrobiellen Substanzen bei der Schweineproduktion hin. Von den getesteten antimikrobiellen Substanzen weisen Sulfamethoxazol mit 76,7 %, Tetrazyklin mit 72,0 %, Streptomycin mit 70,7 %, Ampicillin mit 66,7 % und Spectinomycin (bis 2007 getestet) mit 47,7 % hohe Resistenzraten auf. Die Gruppe der Phenicole mit Chloramphenicol und

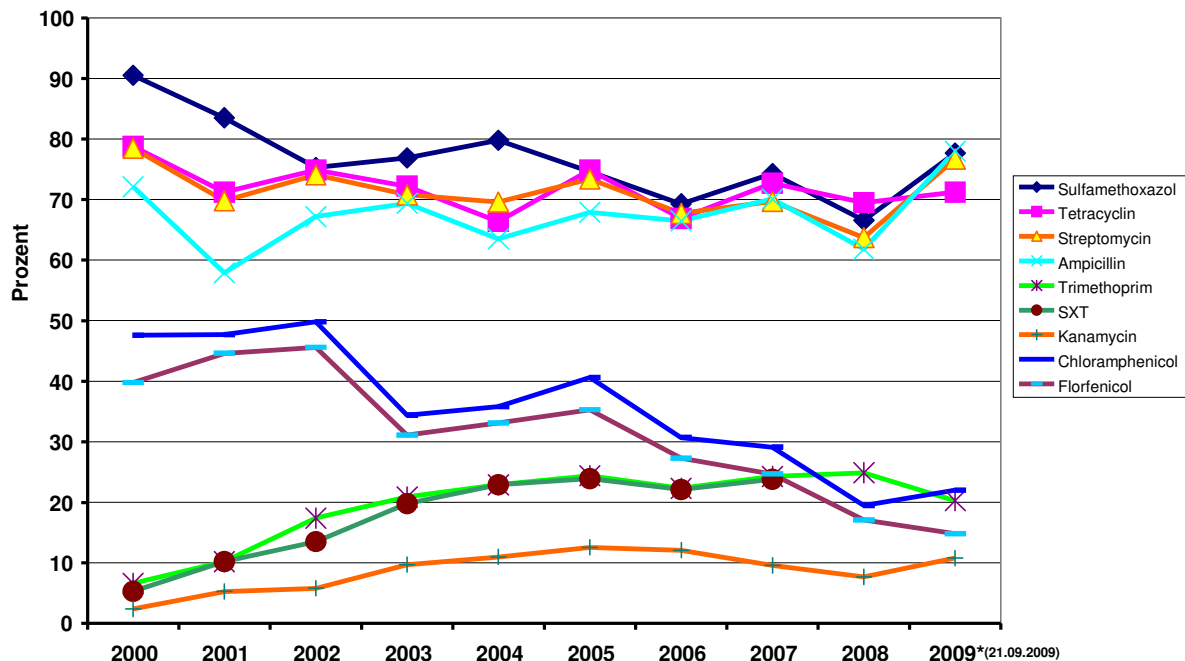
Florfenicol haben eine Resistenzrate von 36,0 % bzw 31,8 %. Geringere Resistenzraten zeigen die Aminoglycoside Kanamycin mit 8,5 %, Gentamicin mit 4,5 % und Neomycin (bis 2007 getestet) mit 8,6 %. Das Chinolon Nalidixinsäure und das Fluorchinolon Ciprofloxacin weisen Resistenzraten von 3 bzw 4 % auf. Die untersuchten Cephalosporine Ceftiofur und ab 2008 Ceftazidim und Cefotaxim haben eine geringere Resistenzrate von 0,2 % bzw. 0,4 und 0,8 % auf. Das trifft auch auf das Peptidantibiotikum Colistin zu, wo eine Resistenzrate von 0,6 % ermittelt wurde.

Abb. 1: Anteil resistenter *Salmonella*-Isolate beim Schwein 2000-08 im NRL-Salm



Schaut man sich den zeitlichen Verlauf der Resistenzentwicklung an, so entspricht er bei Sulfamethoxazol, Tetracyclin, Streptomycin und Ampicillin der Entwicklung der Gesamtresistenz. Bei Chloramphenicol und Florfenicol zeigt sich eine sinkende Tendenz von resistenten Isolaten, die von 48 bzw. 40 % im Jahr 2000 auf nunmehr 22 bzw. 17 % in 2009 zurück geht. Demgegenüber steigt der prozentuale Anteil resistenter Isolate bei Trimethoprim, Trimethoprim/Sulfamethoxazol und Kanamycin von 6 %, 5 % und 2 % auf jeweils 24 % bei Trimethoprim und Trimethoprim/Sulfamethoxazol bzw. auf 13 % bei Kanamycin im Jahr 2005 und bleibt dann annähernd konstant bis 2009* (Abb. 2).

Von den 50 nachgewiesenen *Salmonella*-Serovaren und Subspezies sind 19 sensitiv und alle übrigen tragen eine oder meist mehrere Resistenzdeterminanten. Von dem beim Schwein dominierenden Serovar *S. Typhimurium* (2.595 Isolate) sind 6 % einfach und 87 % mehrfach resistent. Hinzu kommen die 330 Isolate mit der Seroformel 4,(5),12:i:-, von denen 10 % einfach resistent und 87 % mehrfach resistent sind. Bei *Salmonella* Derby sind dagegen 19 % einfach und nur 34 % mehrfach resistent, so dass die Gesamtresistenz signifikant unter der von *S. Typhimurium* liegt. Insgesamt beträgt der Anteil der drei Serovare an allen resistenten Isolaten 90,2 % und damit bestimmen sie die Resistenzsituation bei den *Salmonella*-Isolaten vom Schwein.

Abb. 2: Resistenzentwicklung bei *Salmonella*-Isolaten vom Schwein 2000-2009*

Im Rahmen des Zoonosenmonitoring der EG (VO EG Nr. 2160/2003) wurden 2006/2007 Schlachtschweine (Entscheidung 2006/668/EG) und 2008 Zuchtschweine (Entscheidung 2007/636/EG) hinsichtlich des Vorkommens von *Salmonellen* in Deutschland untersucht und die Beprobung nach statistischen Vorgaben vorgenommen. Das ermöglicht nun den Vergleich zwischen den im NRL-Salm im Rahmen der Diagnostik erhobenen Werten mit denen beider Studien.

Tab. 1: Vergleich der erhobenen Daten im NRL-Salm mit denen der EG-Studien

	NRL-Salm 2000-2008 (%)	NRL-Salm 2006-2007 (%)	EG Mastschwein 2006/2007 (%)	EG Zuchtschwein 2008 (%)
<i>S. Typhimurium</i>	67,93	60,31	55,35	16,95
<i>S. 4,(5),12;i:-</i>	8,64	14,79	18,96	7,63
<i>S. Derby</i>	7,83	8,23	8,87	41,53
<i>S. Subspez. I rau</i>	2,02	2,50	1,22	1,69
<i>S. Enteritidis</i>	1,62	1,67	3,06	0
<i>S. Infantis</i>	1,39	1,67	2,45	0,85
<i>S. London</i>	1,39	2,08	1,22	0
Übrige Serovare	9,18	8,75	8,87	31,35
Resistenz ges.	83,59	79,17	71,65	38,13
Sensitiv	16,41	20,83	28,35	61,86
Einfach resistent	8,30	6,15	3,43	2,54
Mehrfach res.	75,29	73,02	68,22	35,59

Der Vergleich der beiden EG-Studien zeigt signifikante Unterschiede zwischen Schlacht- und Zuchtschweinen hinsichtlich der Serovarverteilung und auch der daraus resultierenden Gesamtresistenz (Tab. 1). Der Anteil mehrfach resistenter Isolate liegt mit 36 % bei den Zuchtschweinen fast um die Hälfte niedriger als bei dem der Schlachtschweine, was vor allem an dem signifikant niedrigerem Anteil an *S. Typhimurium* und *S. 4,(5),12;i:-* Isolaten liegt. Zudem sind die *S. Typhimurium*-Isolate von den Zuchtschweinen nur zu 45 % resistent (mehrfach) im Gegensatz zu dem der Schlachtschweine, bei denen 81 % mehrfach resistenten

Isolate nachgewiesen wurden. Des weiteren trägt der hohe Anteil von *S. Derby* Isolaten (42 %) bei den Zuchtschweinen und deren geringe Resistenz (27 %) ebenso zu den signifikanten Unterschied in der Resistenz im Vergleich zu dem bei den Schlachtschweinen bei. Deren *S. Derby* Anteil ist mit 19 % signifikant niedriger, wobei der Prozentsatz resistenter Isolate mit 25 % vergleichbar dem der Zuchtschweine ist.

Vergleicht man die im Rahmen der Diagnostik im NRL-Salm erhobenen Daten mit denen der beiden Studien, so gibt es bezüglich der Schlachtschweine eine gute Übereinstimmung, was die prozentuale Serovarverteilung und die Gesamtresistenz betrifft. Dies wird besonders deutlich, wenn man die Daten des Vergleichszeitraumes 2006/2007 im NRL-Salm dazu heranzieht (Tab. 1). Im Gegensatz dazu unterscheiden sich die Daten der Zuchtschweine, ähnlich wie beim Vergleich mit denen der Schlachtschweine, signifikant hinsichtlich der Serovarverteilung und dem Anteil resistenter Isolate von denen im NRL-Salm erhobenen Daten.

Schlußfolgernd kann festgehalten werden, dass der hohe Prozentsatz resistenter *Salmonella*-Isolate vom Schwein, die an das NRL-Salm eingesandt und untersucht wurden, durch die EG-Studie zu den Schlachtschweinen eindrucksvoll bestätigt werden konnten. Bedingt wird dies durch den hohen Anteil von multiresistenten *S. Typhimurium* und *S. 4,(5),12:i:-* Isolaten sowohl bei der Studie als auch bei den Daten des NRL-Salm.

Bei den Zuchtschweinen zeigt sich ein anderes Bild. Deren geringerer Anteil resistenter Isolate wird durch den höheren Anteil (42 %) des Serovars *S. Derby* bedingt, das auch im Gegensatz zu *S. Typhimurium* weniger (27 %) resistente Isolate aufweist.

Hingewiesen werden soll an der Stelle nochmals auf den hohen Anteil von multiresistenten *Salmonella*-Isolaten, die über den untersuchten Zeitraum mit durchschnittlich 75 % sehr hoch ist und ein ernst zu nehmendes Risikopotential darstellt. Die EG-Studien weisen fast eine Verdopplung des Anteils multiresistenter Erreger von den Zuchtschweinen zu den Schlachtschweinen aus, so dass verschiedene Maßnahmen zur Reduktion des Auftretens ergriffen werden müssen.

Molekularer Nachweis von Beta-Laktamasen (ESBLs und AmpC) bei *Salmonella* Isolaten

Beatriz Guerra, Irene Rodríguez, Silke Jahn, Belén Ruiz del Castillo, Janine Beutlich, Andreas Schroeter und Reiner Helmuth
Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin

In den letzten Jahren nahm die Zahl resistenter Mikroorganismen gegen antimikrobiell wirksame Substanzen, die von der Weltgesundheitsorganisation als klinisch wichtige Arzneimittel in Human- und Veterinärmedizin eingestuft wurden, deutlich zu. Dazu gehört insbesondere der Resistenzanstieg gegen Beta-Laktame mit erweitertem Wirkungsspektrum und gegen Fluorchinolone. Die Resistenz gegen Beta-Laktame der letzten Generation entsteht normalerweise durch Einwirkung von Beta-Laktamasen mit erweitertem Wirkungsspektrum (ESBLs) oder AmpC-Enzymen.

Seit ihrer ersten Beschreibung in Deutschland in den frühen 1980er Jahren nahm die Zahl der ESBL-produzierenden Bakterien in vielen *Enterobacteriaceae* Genera weltweit zu. Bei den meisten dieser Enzyme handelt es sich um Derivate der TEM oder SHV Beta-Enzyme. In den letzten Jahren jedoch konnte eine neue Familie von ESBLs, die CTX-M-Beta-Laktamasen, beschrieben werden. Sie können auf Grund ihrer Aminosäuresequenz in fünf Subgruppen unterteilt werden: CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9 und CTX-M-25. Gene, die für diese Enzyme kodieren, sind normalerweise auf Plasmiden lokalisiert. In vielen Fällen treten sie in Verbindung mit anderen verbreiteten Resistenzmechanismen auf, einschließlich plasmid-lokalisierter Gene wie *qnr*, *qepA* oder *aac(6)-Ib-cr*, die eine niedrige Fluorchinolonen-Resistenz vermitteln, oder Methylase-kodierender Gene, die Aminoglykosid-Resistenz hervorrufen (z.B. *arm* Gene). Diese Entwicklung ist besorgniserregend, da es bei Anwendung verschiedener antimikrobiell wirksamer Substanzen zu einer Co-Selektion der Resistenz kommen kann.

Die EFSA (Europäische Lebensmittelbehörde) meldet in ihrem jährlichen Bericht das Auftreten Cephalosporin resistenter *E.coli* Isolate in Schweinen, Rindern und Geflügel sowie generell das Auftreten von ESBLs in Bakterien tierischen Ursprungs. Obwohl die durch ESBLs verursachte Cephalosporin-Resistenz in den nordeuropäischen Staaten eher selten auftritt, wird in den Anrainerstaaten wie Deutschland, den Niederlanden, Dänemark und Frankreich insbesondere in Geflügel-Isolaten eine stetige Resistenzzunahme beobachtet. Da bei Geflügel die Anwendung von Cephalosporinen jedoch nicht zulässig ist, lässt sich diese Zunahme nur, durch Co-Selektion aufgrund des Einsatzes anderer antimikrobiell wirksamer Substanzen oder durch illegalen Einsatz, erklären.

In der Abteilung für Biologische Sicherheit des BfRs, speziell in der Fachgruppe für Antibiotikaresistenz und Resistenzdeterminanten (Fachgruppe 46) werden die Untersuchungen zu den phäno- und genotypischen Eigenschaften resistenter Isolate durchgeführt. Diese Arbeitsgruppe gehört zum Nationalen Referenzlabor für Antibiotikaresistenz (NRL-AR) und zum Nationalen Referenzlabor für Salmonellen (NRL-Salm). Im Durchschnitt werden hier jährlich um die 8.000 Isolate (*Salmonella*, *E. coli* und *Staphylococcus aureus* MRSA) untersucht.

Bisherige Studien des NRL-Salm und des NRL-ARes zeigten, dass von den zwischen 2003 und 2007 isolierten 22.679 *Salmonella*-Isolaten, nur 0,4 % eine Resistenz gegen das Cephalosporin der dritten Generation Ceftiofur aufwiesen. ESBLs wurden nur sporadisch nachgewiesen (ohne Duplikate, 26 Isolate mit *bla*_{CTX-M-1}, *bla*_{CTX-M-15}, *bla*_{TEM-52} und *bla*_{TEM-20}). Ihre Verbreitung war meistens an die endemisch klonalen Linien von *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Paratyphi B dT+ und *Salmonella* Agona gebunden. Allerdings, wird beobachtet, dass die Zahl positiver ESBL-Isolate seit 2008 stetig ansteigend ist (bis November 2009, 39

Isolate), wobei es sich bei den meisten um aus Geflügel und Geflügelprodukten stammende *Salmonella* Paratyphi B dT+ handelt, die unterschiedliche Beta-Laktamasen ausbilden. Diese *Salmonella* Paratyphi B dT+ Isolate wiesen unterschiedliche Resistenz-Phänotypen auf, hatten aber alle eine Ampicillin- und Trimethoprim-Resistenz gemeinsam. Siebzehn Isolate zeigten ein gemeinsames XbaI-PFGE-Muster (Unterschiede nur in einer Bande) und alle bis auf zwei Isolate, die sich in zwei Banden unterschieden, das gleiche BlnI-Muster. Wobei bei letzterem einige Varianten im Bandenbereich <80 kb auftraten. Insgesamt wurden fünf unterschiedliche Plasmidprofile gefunden. Alle Isolate besaßen ein 2300bp/*dfrA1-sat1-aadA1* Klasse 2 Integron, das Resistenzen gegen Trimethoprim, Streptothrycin und Streptomycin (bei einigen Isolaten nur intermediär) vermittelt. Sechs Isolate enthielten zusätzlich auch Klasse 1 Integrons mit einer variablen Region von 1.000 bp, 1.600 bp und 1.900 bp. ESBLs wurden in allen Isolaten nachgewiesen, während AmpC nur in einem von ihnen (07-04825) gefunden wurde. Acht Isolate waren sensibel für Imipenem und Cefoxitin, aber resistent gegenüber Ampicillin, Piperacillin, Ticarcillin, Cefalotin, Cefuroxim, Cefotaxim, Ceftriaxon und Cefpodoxim. Sie waren außerdem intermediär oder resistent gegen Aztreonam, und intermediär oder sensibel gegen Cefepime und Amoxicillin/Clavulansäure. Alle Isolate exprimierten das Gen *bla*_{CTX-M-1}, das auf selbst-transferierbaren Plasmiden ähnlicher Größe (~100-85 kb) der Inkompatibilitätsgruppe IncI1 lokalisiert war. Vier Isolate trugen *bla*_{CTX-M-2} Gene, die auf selbst-transferierbaren IncHI2 Plasmiden mit einer Größe von >300 kb (1 Isolat) und 240 kb (die anderen 2 Isolate) detektiert wurden. Das erste Isolat war ebenfalls positiv für die Gene *AmpC* und *bla*_{ACC-1}. Tem-1-Varianten wurden in fünf Isolaten gefunden. Drei von ihnen zeigten ähnliche Resistenzen wie die *bla*_{CTX-M} Gruppe, aber mit intermediärer oder voll ausgeprägter Resistenz gegen Ceftriaxon, Cefotaxim und Ceftazidim und trugen das Gen *bla*_{TEM-52}. Die anderen beiden Isolate waren sensibel gegen Ceftazidim und exprimierten das Gen *bla*_{TEM-20}. Alle diese *bla*_{TEM} Gene waren auf IncI1 Plasmiden lokalisiert und waren bis auf das Plasmid des Stammes 03-03096 selbst-transferierbar. Die Gene *qnrA*, *qnrB* or *qnrS*, *aac(6)-Ib-cr* und *armA* konnten in diesen Isolaten nicht gefunden werden.

Diese Resultate zeigen, dass der in Deutschland von Miko et al. (JCM 2002; AAC 2003) beschriebene und weit verbreitete *Salmonella* Paratyphi dT+ Klon, der ein chromosomal lokalisiertes Klasse 2 Integron enthält, nun durch die Aufnahme von unterschiedliche ESBL kodierenden Plasmiden auch eine Cephalosporin-Resistenz entwickelt hat. Wie in anderen Mitteleuropäischen Staaten, so ist auch in Deutschland eine Zunahme der Resistenz gegen Cephalosporine der dritten Generation und Flourchinolone in *Salmonella* Paratyphi dT+ Isolaten festzustellen. Dies gilt besonders für vom Geflügel stammende Lebensmittel-Isolate. Innerhalb der Deutschen Geflügelbestände scheint ein und derselbe Klon mit identischen Plasmiden und Resistenzen weit verbreitet zu sein.

Einsatz von Bakteriophagen zur Bekämpfung von *Campylobacter* in der Lebensmittelkette

Stefan Hertwig, Thomas Alter, Jochen Reetz und Jens André Hammerl
Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR), Berlin

1. *Campylobacter* als Krankheitserreger

Infektionen mit thermophilen *Campylobacter* (*C.*)-Spezies (*C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, und *C. upsaliensis*) sind eine der häufigsten Ursachen für bakteriell bedingte Magen-Darm-Erkrankungen beim Menschen. Im Jahr 2005 übertrafen die in Deutschland gemeldeten humanen *Campylobacter*-Infektionen (64.590) erstmalig die Zahl der durch Salmonellen hervorgerufenen Erkrankungen.

Thermophile *Campylobacter*-Spezies sind in der Umwelt weit verbreitet. Besonders hohe Zahlen findet man im Darm warmblütiger Tiere, wo die Bakterien jedoch nur selten klinische Symptome hervorrufen. Im Geflügel und Rind dominiert *C. jejuni*, während das Schwein oft von *C. coli* befallen wird. Obwohl die Bedeutung von Umweltquellen für humane *Campylobacter*-Infektionen diskutiert wird, wird die Aufnahme dieser Bakterien über Lebensmittel tierischer Herkunft als eine der Hauptursachen für *Campylobacter*-Infektionen beim Menschen betrachtet. Infektionsquellen sind hier vor allem unzureichend erhitztes oder rekontaminiertes Geflügelfleisch und Geflügelfleischprodukte, aber auch nicht pasteurisierte Milch, kontaminiertes Trink- und Oberflächenwasser sowie der Kontakt zu Haus- und Heimtieren. Die meisten *Campylobacter*-Infektionen treten sporadisch als Einzelerkrankung auf, Ausbrüche sind eher selten.

Aus Risikobewertungen geht hervor, dass etwa 30-50 % der humanen *Campylobacteriosen* durch Hähnchenfleisch verursacht werden (Luber und Bartelt, 2005). Geflügelbestände sind hochgradig mit *Campylobacter* kolonisiert. Durchschnittlich liegt die Prävalenz von thermophilen *Campylobacter* in deutschen Mastgeflügelbeständen bei ca. 40 % (Alter und Reetz, 2008). Meist werden die Küken in den ersten Lebenstagen infiziert und bleiben lebenslang asymptomatische Träger von *Campylobacter*. Mehrere Studien zeigen, dass die Herdenprävalenz innerhalb einer Woche von unter 5 % auf über 95 % ansteigen kann (Katsma et al., 2005). Die Eintragsquellen für Geflügelbestände sind vielfältig (u.a. Tränkwasser, Wildvögel, Nager, Fliegen oder Personal). Hohe Nachweisraten (bis zu 60 %) finden sich auch auf Geflügelfleisch im Einzelhandel. Untersuchungen im Rahmen der amtlichen Lebensmittelüberwachung zeigen, dass die Nachweisraten seit Jahren unverändert hoch sind. Im Jahre 2006 lag der Anteil positiver Proben bei 31,9 %. Bei etwa zwei Drittel der Isolate aus Geflügelfleisch handelte es sich um *C. jejuni*. Diese Gegebenheiten machen es dringend erforderlich, geeignete Strategien zur Prävention und Kontrolle von *Campylobacter* in der Lebensmittelkette zu entwickeln.

2. Bakteriophagen zur Bekämpfung pathogener Bakterien

Neben der Verbesserung der allgemeinen Hygienebedingungen und der Entwicklung eines geeigneten Impfstoffes stellt der Einsatz von Bakteriophagen (Phagen) ein vielversprechendes Mittel dar, die *Campylobacter*-Belastung im Tier und in Lebensmitteln quantitativ zu senken. Phagen sind Viren, die ausschließlich Bakterien befallen. Sie besitzen ein begrenztes Wirtsspektrum und infizieren in den meisten Fällen nur Stämme einer Spezies. Berechnungen gehen davon aus, dass es auf der Erde zehnmal so viele (10^{31}) Phagen gibt als Bakterien. Deshalb nimmt der Mensch auch jeden Tag viele Phagen mit der Nahrung auf. Die Bekämpfung pathogener Bakterien mit Hilfe von Phagen wurde schon in der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts erfolgreich praktiziert, insbesondere in der ehemaligen Sowjetunion. Mit Entdeckung der Antibiotika wurden Phagen immer seltener eingesetzt. Durch die kontinuierlich ansteigenden Resistenzen gegenüber vielen Antibiotika hat die Forschung an Phagen und ihre Nutzung jedoch in den letzten Jahren eine Renaissance erlebt. Auch bei einigen lebensmittelassoziierten Zoonoseerregern (z.B. *E. coli* O:157, *Salmonella* Enteritidis) wurden

Phagen bereits in zahlreichen Labor-Versuchsreihen erfolgreich getestet. Ein Phagenpräparat (Listex) zur Bekämpfung von *Listeria monocytogenes* hat in den USA bereits eine Zulassung und den GRAS- (Generally Recognized As Safe) Status erhalten.

2.1 *Campylobacter*-Phagen

Campylobacter-spezifische Phagen wurden in der Vergangenheit häufig zur Differenzierung (Bestimmung des Lysotyps) dieser Bakterien eingesetzt. Für die Lysotypisierung werden überwiegend Phagen verwendet, die eine hohe Wirtsspezifität aufweisen und nur wenige Serovare von *C. jejuni* infizieren. Zur Bekämpfung einer möglichst großen Zahl unterschiedlicher *Campylobacter*-Stämme sind solche Phagen eher ungeeignet. Hier sollten Phagen mit einem möglichst breiten Wirtsspektrum eingesetzt werden. Zu diesem Zweck wurden insbesondere in England und Dänemark bereits eine Reihe potentiell geeigneter Phagen aus Geflügel und Umweltproben isoliert (Atterbury et al., 2003; Hansen et al., 2007). Es zeigte sich, dass ein hoher Prozentsatz der mit *Campylobacter* infizierten Tiere auch Träger entsprechender Phagen waren. Die Keimzahl auf den Phagen-positiven Tieren lag dabei durchschnittlich zwei Zehnerpotenzen niedriger als bei Tieren ohne Phagen (Atterbury et al., 2005). Dieses Ergebnis deutet darauf hin, dass auch unter natürlichen Bedingungen *Campylobacter*-spezifische Phagen die Keimzahl der Bakterien im Tier begrenzen. Interessanterweise zeigten fast alle bis jetzt isolierten *Campylobacter*-Phagen eine ähnliche Morphologie mit einem isodiametrischen Kopf und langem, kontraktilen Schwanz. Damit sind sie der Familie der *Myoviridae* zuzuordnen. Mit Hilfe der Pulsfeld-Gelelektrophorese wurden die Größen der Phagengenome abgeschätzt. Dadurch konnten die Phagen in drei Gruppen eingeteilt werden, welche Genome (doppelsträngige DNA) von ca. 138 kb, 185 kb bzw. 320 kb besitzen. Genauere molekulargenetische Daten oder gesamte DNA-Sequenzen von *Campylobacter*-Phagen wurden bis jetzt leider nicht publiziert. Das kann daran liegen, daß die DNAs vieler *Campylobacter*-Phagen Modifikationen aufweisen, welche eingehendere Untersuchungen (z.B.: Restriktionsanalysen, molekulare Klonierungen) erschweren.

Aus England und den Niederlanden liegen bereits einige Studien vor, bei denen Hühnern zur Keimzahlreduktion von *Campylobacter* Phagen verabreicht wurden (Wagenaar et al., 2005, Loc Carrillo et al., 2005). Die Phagen-Gabe erfolgte dabei auf oralem Weg entweder präventiv oder „therapeutisch“. Die Versuche ergaben, dass die Gabe von Phagen die Kolonisierung der Hühner mit *Campylobacter* nicht verhindern konnte, dass es aber stets zu einer Reduzierung der Keimzahl kam. Je nach Applikation konnte so die Zahl an Bakterien um 1-5 Zehnerpotenzen verringert werden. Resistenzen gegenüber den verabreichten Phagen traten nur sehr begrenzt auf. Von großer Bedeutung ist hierbei die Beobachtung, dass die phagenresistenten Bakterien nicht eine Dominanz erlangten, sondern z. T. sogar wieder zu einem phagensensitiven Phänotyp revertierten, da dieser besser die Hühner kolonisieren konnte (Connerton et al., 2004; Scott et al., 2007). Neben Studien am lebenden Tier wurden auch Versuche unternommen, die Keimzahl von *Campylobacter* auf der Haut von Hühnerfleischprodukten zu senken. Auch hier konnte die Zahl an Bakterien um bis zu 95 % gesenkt werden (Goode et al., 2003).

2.1.1 BLE-Projekt „Campyquant“

In Deutschland liegen bis jetzt leider keine Daten über Phagen von *Campylobacter* und ihrer Verwendung zur Bekämpfung dieser Bakterien vor. Aus diesem Grund wurde von der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) im Rahmen der Innovationsförderung ein Projekt („Campyquant“) an das BfR und ein mittelständisches Unternehmen vergeben, bei dem das Potential von *Campylobacter*-Phagen untersucht werden soll.

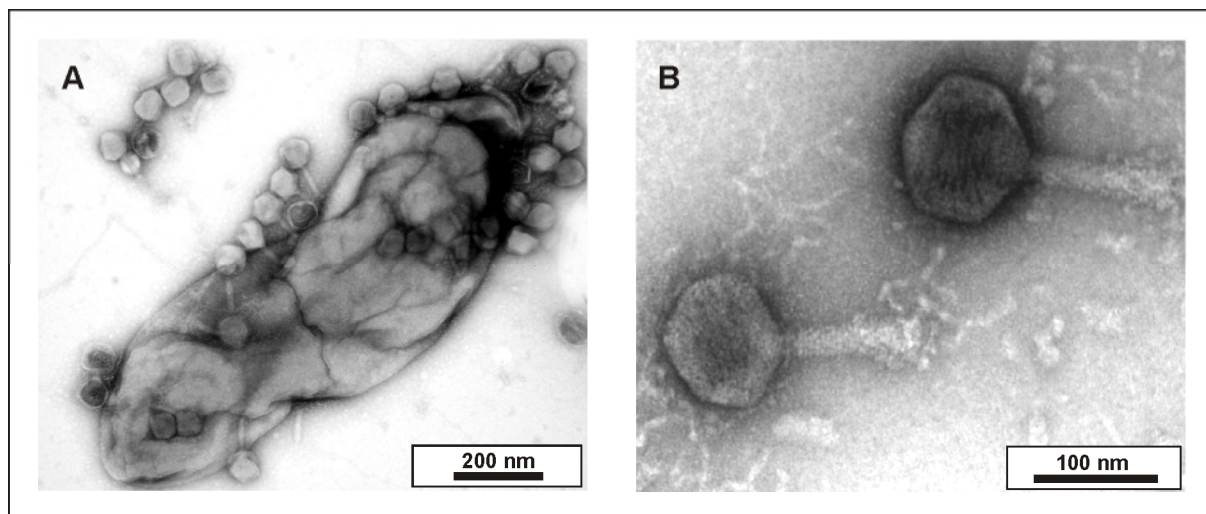
In einem ersten Schritt wurde damit begonnen, *Campylobacter*-spezifische Phagen aus Hühner- und Umwelt-Proben zu isolieren. Hierbei bestätigte sich, dass *Campylobacter*-positive Proben deutlich häufiger (bis zu 50 %) Phagen enthalten. Allerdings mussten wir feststellen, dass Proben der gleichen regionalen und zeitlichen Herkunft oft sehr ähnliche oder identische Phagen enthielten. Der Nachweis hierfür wurde durch elektronenmikroskopi-

sche Untersuchungen sowie der Bestimmung der Wirtsspektren und der Restriktionsmuster der isolierten Phagen erbracht. Morphologisch gehören alle von uns isolierten Phagen der Familie *Myoviridae* an (Abb. 1). Sie infizieren ausschließlich *C. jejuni*, wobei jeweils nur eine begrenzte Zahl unterschiedlicher Stämme von den Phagen lysiert werden. Die aus den Phagen isolierte DNA konnte nur mit wenigen Restriktionsendonukleasen gespalten werden, was auch bei diesen Isolaten auf Modifikationen in der DNA hindeutet. Um erste Erkenntnisse über das Genom von *Campylobacter*-Phagen zu erhalten, haben wir von einem unserer Phagen (CP81, Abb. 1B) die gesamte Nukleotidsequenz (132.454 bp) bestimmt. Der GC-Gehalt der CP81-DNA beträgt nur 26 %. Die bioinformatische Auswertung des Genomes zeigte, dass der Phage CP81 zur Gruppe der T4-ähnlichen Phagen gehört, wobei die engste Verwandtschaft zu Phagen mariner Bakterien (*Prochlorococcus*, *Synechococcus*) besteht.

3. Ausblick

In den nun folgenden Arbeiten sollen zunächst weitere *Campylobacter*-Phagen isoliert und charakterisiert werden. Mit Hilfe neuer Phagen soll das Spektrum an sensitiven *Campylobacter*-Stämmen erweitert werden. Es werden dann einzelne Phagen ausgewählt, mit denen kinetische Untersuchungen zur Phagenvermehrung durchgeführt werden. Am Ende des Projektes sollen Infektionsversuche mit Hühnern vorgenommen werden, um zu überprüfen, ob sich die laborexperimentellen Ergebnisse im Tier bestätigen lassen.

Abb. 1: Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen von *Campylobacter*-Phagen. (A) *Campylobacter*-Zelle, die von Bakteriophagen infiziert wird. (B) Phage CP81 (Negativkontrastierung mit Uranylacetat).



Literatur

Alter, T. und Reetz, J. (2008). Bedeutung von *Campylobacter* spp. für den gesundheitlichen Verbraucherschutz. Quellen und Übertragungswege. RFL-Rundschau für Fleischhygiene und Lebensmittelüberwachung 60, 459-463.

Atterbury, R.J., Connerton, P.L., Dodd, C.E.R., Rees, C.E.D. und Connerton, I.F. (2003). Isolation and characterization of *Campylobacter* bacteriophages from retail poultry. Appl. Environ. Microbiol. 69, 4511-4518.

Atterbury, R.J., Dillon, E., Swift, C., Connerton, P.L., Frost, J.A., Dodd, C.E.R., Rees, C.E.D. und Connerton, I.F. (2005). Correlation of *Campylobacter* bacteriophages with reduced presence of hosts in broiler chicken ceca. Appl. Environ. Microbiol. 71, 4885-4887.

Connerton, P.L., Loc Carrillo, C.M., Swift, C., Dillon, E., Scott, A., Rees, C.E., Dodd, C.E., Frost, J. und Connerton, I.F. (2004). Longitudinal study of *Campylobacter jejuni* bacteriophages and their hosts from broiler chickens. Appl. Environ. Microbiol. 70, 3877-3883.

- Goode, D., Allen, V.M. und Barrow, P.A. (2003). Reduction of experimental *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of chicken skin by application of lytic bacteriophages. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 5032-5036.
- Hansen, V.M., Rosenquist, H., Baggesen, D.L., Brown, S. und Christensen, B.B. (2007). Characterization of *Campylobacter* phages including analysis of host range by selected *Campylobacter* Penner serotypes. *BMC Microbiol.* 7, 90.
- Loc Carrillo, C.M., Atterbury, R.J., El-Shibiny, A., Connerton, P.L., Dillon, E., Scott, A., und Connerton, I.F. (2005). Bacteriophage therapy to reduce *Campylobacter jejuni* colonization of broiler chickens. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 6554-6563.
- Luber, P. und Bartelt, E. (2007). Enumeration of *Campylobacter* spp. on the surface and within chicken breast fillets. *J. Appl. Microbiol.* 102, 313-318.
- Katsma, W.E.A., de Koeijer, A.A., Fischer, E.A.J., Jacobs-Reitsma, W. und Wagenaar, J. (2005). *Campylobacter* prevalence in broiler flocks in the Netherlands. Modelling transmission within and between flocks and efficacy of interventions. Animal Sciences Group (ASG) Wageningen. Report ASG05/100113.
- Scott, A.E., Timms, A.R., Connerton, P.L., Loc Carrillo, C., Adzfa Radzum, K., und Connerton, I.F. (2007). Genome dynamics of *Campylobacter jejuni* in response to bacteriophage predation. *PLOS Pathogens* 3, 1142-1151.
- Wagenaar, J., van Bergen, M., Mueller, M., Wassenaar, T. und Carlton, R. (2005). Phage therapy reduces *Campylobacter jejuni* colonization in broilers. *Vet. Microbiol.* 109, 275-283.

Dekontamination in der Lebensmittelkette

Günter Klein

Institut für Lebensmittelqualität und -sicherheit, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

In der Lebensmittelkette können Dekontaminationsmaßnahmen unter zwei Aspekten eingesetzt werden: 1. Reinigung und Desinfektion von Räumen, Oberflächen und Bedarfsgegenständen in Lebensmittelbetrieben; 2. Dekontamination von Tierkörpern oder Oberflächen von Lebensmitteln. Für beide Bereiche gelten völlig unterschiedliche rechtliche Regelungen und Anwendungsumstände. Während die Desinfektion im Lebensmittelbereich seit Jahrzehnten rechtlich verankert ist und Methoden und Überprüfung Gegenstand zahlreicher Normen und Empfehlungen sind, ist die Dekontamination von Schlachtierkörpern in der EU erst seit der Novellierung des Lebensmittelrechts zum 01.01.2006 theoretisch möglich. Die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) muss aber vor einer Zulassung die Wirksamkeit und Unbedenklichkeit einer solchen Dekontamination bestätigen.

Desinfektion im Lebensmittelbereich

Das Ziel von Reinigung und Desinfektion in der Lebensmittelwirtschaft ist es, den Menschen vor lebensmittelbedingten Erkrankungen, zu schützen. Eine sorgfältige und ordnungsgemäße Reinigung und Desinfektion ist die Basis für die Erzeugung sicherer Lebensmittel, die den Anforderungen an Produktqualität, Haltbarkeit und mikrobiologische Unbedenklichkeit entsprechen. Die Prozesse der Reinigung und Desinfektion im Lebensmittelbereich, speziell in der Fleischverarbeitung, unterscheiden sich grundsätzlich von den entsprechenden Maßnahmen im medizinischen Bereich oder in der Tierhaltung. Die DIN 10516 „Lebensmittelhygiene – Reinigung und Desinfektion“ (2001) definiert die Desinfektion als Verfahren zur Abtötung von Mikroorganismen auf ein Niveau, welches weder gesundheitsschädlich ist noch die Qualität der Lebensmittel beeinträchtigt. Eine vorhergehende Reinigung ist maßgeblich an der Effektivität von Desinfektionsmaßnahmen beteiligt und ist daher eine unabdingbare Voraussetzung für eine erfolgreiche Desinfektion im Lebensmittelbereich.

Durch die Desinfektion soll die Zahl an Mikroorganismen auf ein möglichst geringes Niveau reduziert werden. Die Reduktionsraten, die gewöhnlich erreicht werden können, liegen zwischen 5 und 8 lg-Stufen pro cm². Für den Lebensmittelbereich sind mehrere Desinfektionsmittelwirkstoffe bedeutsam. An erster Stelle stehen die quaternären Ammoniumverbindungen (QAV). Gemische von QAV mit Aldehyden oder Biguaniden sind ebenfalls häufig eingesetzte Kombinationen ebenso wie organische Säuren oder Amphotensid-Präparate. Alkohole werden hauptsächlich zur Händedesinfektion und zur Luftdesinfektion eingesetzt. Peressigsäure und Halogene als Wirkstoff in Desinfektionsmitteln findet man insbesondere in geschlossenen Kreisläufen (CIP-Anlagen). Der wichtigste Parameter eines Desinfektionsmittels ist die Wirksamkeit, d.h. die Eigenschaft, Mikroorganismen in ihrer Anzahl mit breitem Wirkungsspektrum zu reduzieren. Eine kurze Einwirkzeit (≤ 30 min) ist von Vorteil, damit das zu desinfizierende Objekt schnell wieder für den Gebrauch zur Verfügung steht. Desinfektionsmittel sollten außerdem zuverlässig wirken, d. h. keine oder nur eine geringe und ausgleichbare negative Beeinträchtigung der Wirkung durch äußere Faktoren (Proteine, niedrige Temperaturen, Seifen, pH-Wert) aufweisen. Hierbei entstehen zwar keine Resistenzen, aber verminderte Effektivität unter Anwendungsbedingungen.

Das Biozid-Gesetz regelt die Zulassung von Desinfektionsmitteln. Bei der Beurteilung der Zulässigkeit werden hierbei die Toxizität, die Arbeitssicherheit und die Umweltsicherheit berücksichtigt.

Einflüsse auf die Desinfektionsmittel-Wirksamkeit: Eiweißfehler und Kältefehler

Verschmutzungen durch eiweißhaltige Substanzen stellen für Keime Hüllsubstanzen dar, die zu einer Erhöhung ihrer Tenazität und somit zu einer deutlichen Verminderung der Desinfektionsmittelwirkung führen können (Eiweißfehler). Da in bestimmten Bereichen keine vollständige Reinigung erzielt werden kann, muss der Eiweißfehler berücksichtigt werden, das heißt, bei Wirksamkeitsverlusten durch Restverschmutzung müssen diese Verluste durch entsprechende Konzentrationserhöhungen oder einer Erhöhung der Einwirkzeit ausgeglichen werden. Außerdem muss der Kältefehler berücksichtigt werden, da in Schlacht- und Verarbeitungsbetrieben viele Prozesse im Kühlbereich ablaufen. Viele Desinfektionsmittel zeigen einen Wirksamkeitsverlust bei veränderter Umgebungstemperatur. Eiweiß- und Kältefehler finden auch bei der Prüfung von Desinfektionsmitteln nach den Richtlinien der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG) Berücksichtigung. Als Basis für eine vergleichbare Beurteilung von Desinfektionsmitteln verfasste der Ausschuss „Desinfektion in der Veterinärmedizin“ der DVG die „Richtlinien zur Prüfung chemischer Desinfektionsmittel für die Veterinärmedizin“. Die sachgemäße Prüfung eines Desinfektionsmittels entsprechend dieser Richtlinien durch zwei unabhängige Gutachten führt zur Aufnahme in die regelmäßig veröffentlichten Listen der DVG. In den DVG-Listen werden bis zu 32 Anwendungskonzentrationen für ein Produkt angegeben. Die Anwendungskonzentrationen beziehen sich auf die unterschiedlichen Gegebenheiten. Berücksichtigung finden neben dem Eiweißfehler und dem Kältefehler auch die Einwirkzeiten und die verschiedenen Zielorganismen (Bakterien, Pilze, Viren, Parasiten). So können optimale Konzentrationsangaben für das jeweilige Produkt unter den verschiedensten Situationen angegeben werden. Die richtige Konzentration dient außerdem zur Vermeidung überhöhter Rückstände, der Entstehung von Gefahrensituationen für Reinigungspersonal, Vermeidung einer Schädigung von Anlagen und Geräten sowie der Minimierung von Umweltbelastungen.

Jede Unterdosierung ist mit einer unzureichenden Wirkung verbunden. Eine laufende Unterdosierung würde die Gefahr der Ausbildung einer selektierten Mikroflora hervorrufen und damit das Entstehen einer Hausflora ermöglichen. Auch die Bildung von Resistenzen bei Mikroorganismen kann durch eine laufende Unterdosierung gefördert werden. Es handelt sich in diesen Fällen jedoch nicht um eine erworbene Resistenz, wie sie gegenüber Antibiotika eintreten kann, sondern um eine natürlich vorhandene Toleranz. Bei Staphylokokken z. B. sind Resistenzen gegenüber QAV festgestellt worden. Neben der richtigen Dosierung der Desinfektionsmittel ist daher auch ein regelmäßiger Wechsel der Produkte angezeigt.

Dekontamination von Schlachttierkörpern und Lebensmitteln

Eine Dekontamination von Oberflächen ist in der EU durch die VO (EG) 853/2004 für Schlachttierkörper prinzipiell möglich, sofern die EFSA die Wirksamkeit und Unbedenklichkeit der Anwendung bestätigt. In den USA besteht eine längere Tradition der Anwendung von Dekontaminationsmitteln, sogenanntem „post harvest treatment“. Als chemische Substanzen (auch physikalische Behandlungen sind denkbar) kommen v.a. Chlorverbindungen, organische Säuren, Peroxide und Phosphate in Betracht. Anwendungen in der EU sind bisher nur im Geflügelbereich vorgesehen, stehen aber auch für andere Lebensmittelgruppen zur Verfügung (z.B. Karkassen vom Rind, Salate).

Resistenzen gegen Biozide galten lange Zeit als nicht möglich, da biozide Substanzen eine unspezifische Wirkung entfalten. Es gibt jedoch Berichte zu einer „acquired reduced susceptibility“ von Mikroorganismen gegenüber diesen Substanzen sowie einer intrinsischen Resistenz. Weiterhin ist abzuklären, ob Resistenzen zu therapeutisch genutzten Substanzen vermittelt wird, die anderen Substanzklassen angehören als die Biozide. Die „acquired reduced susceptibility“ ist laut EFSA (2008) definiert als ein Zustand, in dem das Bakterium eine Toleranz gegen höhere bakteriostatische oder bakteriozide Konzentrationen des Biozids entwickelt als phänotypisch verwandte Stämme oder Wildstämme.

Als Resistenzmechanismen kommen u.a. Zellwandbarrieren (z.B. bei Sporen) sowie Efflux-Pumpen in Frage sowie enzymatischer Abbau. Unterdosierung kann zur Ausbildung solcher Mechanismen führen. Bisherige Untersuchungen stützen sich aber auf Laborversuche und nicht auf Anwendungskonzentrationen und Feldversuche. Die EFSA-Stellungnahme (EFSA, 2008) kommt daher zu der Schlussfolgerung, dass keine Hinweise auf Resistenzentstehung oder „acquired reduced susceptibility“ gegen bestimmte Biozide bestehen, dass jedoch eine große Unsicherheit aufgrund fehlender Daten festgestellt werden muss. Vor einer Anwendung müssen auch die Verbraucherakzeptanz und mögliche negative Auswirkungen auf die Betriebs- und Produkthygiene bedacht werden. Letztere darf nicht vernachlässigt werden trotz des Einsatzes von Bioziden, außerdem kann durch Re-Kontamination eine Besiedlung mit Pathogenen wieder erfolgen. Die Wirksamkeit schließlich ist sicherzustellen. Erfahrungen aus den USA lassen sich nicht ohne weiteres übertragen, da in der EU z.T. erhebliche technologische Unterschiede in der Gewinnung und Verarbeitung bestehen.

Die Dekontamination in der Lebensmittelkette kann zusammenfassend in zwei Bereiche eingeteilt werden: Desinfektionsmaßnahmen in Lebensmittelbetrieben, die bereits jahrzehntelang mit eingehend geprüften Substanzen durchgeführt werden, sowie Dekontamination von Karkassen, für die in der EU noch keine Anwendungserfahrungen vorliegen und die zumindest potentiell die Gefahr der Resistenzbildung einschließen. Daher besteht insbesondere für Dekontaminationen an Schlachttierkörpern noch erheblicher Forschungsbedarf.

Ausgewählte Referenzen

DVG (2003) 6. Desinfektionsmittelliste der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG) für den Lebensmittelbereich. DVG, Gießen.

EFSA (2008) Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards on a request from DG SANCO on the assessment of the possible effect of the four antimicrobial treatment substances on the emergence of antimicrobial resistance. *EFSA Journal* 659, 1-26.

VERORDNUNG (EG) Nr. 853/2004 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 29. April 2004 mit spezifischen Hygienevorschriften für Lebensmittel tierischen Ursprungs. ABl. L 226 vom 25.6.2004, S. 22ff.