

## **Forschung - BgVV-finanziertes Projekt für Nachwuchswissenschaftler**

### **Molekularbiologische Charakterisierung von resistenten Erregern aus Nutztieren**

B. Guerra, A. Miko, A. Schroeter, B. Malorny und R. Helmuth  
Nationales Referenzlabor für Salmonellen des BgVV

#### **Problemstellung**

In den letzten Jahren hat der Einsatz antimikrobiell wirksamer Substanzen bei lebensmittel-liefernden Nutztieren immer mehr Bedeutung in der Diskussion gesundheitspolitischer Aspekte gewonnen. Dabei steht die Möglichkeit der Weitergabe resistenter Mikroorganismen oder ihrer Gene vom Tier über Lebensmittel auf den Menschen besonders im Vordergrund. In vielen Berichten der WHO, des wissenschaftlichen Lenkungsausschusses der EU sowie einer interministeriellen Arbeitsgruppe unter Federführung des BMG wurde darauf hingewiesen, dass sowohl der Erfassung resistenter Erreger als auch der Fragestellung, inwiefern diese beim Menschen vorkommen, besondere Bedeutung beigemessen werden muß. Heutzutage werden Daten zur Prävalenz von resistenten Mikroorganismen über phänotypische Methoden wie der Agardiffusion oder der Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MHK) gewonnen. In Deutschland ist dazu der Aufbau eines nationalen Resistenzmonitoring am BgVV vorgesehen. Beim Aufbau nationaler Resistenzmonitoringprogramme ist es unumstritten, dass die reine phänotypische Charakterisierung der Erreger nur einen ersten Beitrag zur Abklärung der gesundheitspolitischen Bedeutung des Einsatzes antimikrobiell wirksamer Substanzen beim Nutztier liefern kann. Eine abschließende, wissenschaftlich fundierte Aussage darüber, inwiefern sich die vom Nutztier, Lebensmitteln und erkrankten Menschen stammenden Erreger gleichen, kann nur eine umfassende molekularbiologische Charakterisierung erbringen.

#### **Zielstellung des Projektes/Methodik**

Das übergeordnete Ziel der Forschungsarbeit ist es, die Häufigkeit des Auftretens resistenter Erreger und ihrer Resistenzdeterminanten beim Nutztier zu erfassen und deren Übergang auf den Menschen zu verhindern.

Im einzelnen stehen die folgenden Punkte im Vordergrund:

- Molekulare Typisierung aktueller und sich entwickelnder resistenter Erreger vom Nutztier.
- Identifikation mobiler genetischer Elemente (Plasmide, Integrons, Transposons).
- Molekulare Epidemiologie resistenter Klone.
- Identifikation von Faktoren, die die Entstehung und Ausbreitung von Resistenzen begünstigen.

Deswegen ist es beabsichtigt, die am BgVV vorliegenden Salmonella und E. coli Isolate einer umfassenden, alle Resistenzgene betreffenden molekularbiologischen Charakterisierung zu unterziehen.

Dazu werden im Einzelnen folgende Schwerpunkte gesetzt:

- Klonale Analyse von Erregern (Zoonosen, Indikatorkeimen).
- Ermittlung der Resistenzmechanismen für die wichtigsten antimikrobiell wirksamen Substanzen ( $\beta$ -Lactame, Aminoglycoside, Tetracycline, Chloramphenicol, Sulfonamide, Trimethoprim, Glycopeptide, Fluorochinolone, etc.).
- Ermittlung der Resistenz vermittelnden genetischen Strukturen (Integrone der Klassen 1,2, Transposons, Virulenzplasmide, Resistenzplasmide, etc.).
- Studien zur Übertragbarkeit der Resistenz (homolog, heterolog).
- Bereitstellung geeigneter Primer zum Nachweis von Resistenzen.
- Sequenzierung zum Nachweis von Mutationen bzw. Zur Charakterisierung von Genen und Genkasstten

### Vorgesehene Umsetzung

Am Ende des Projektes wird das BgVV in der Lage sein Aussagen zum Vorkommen von Resistenzgenen und spezieller Klone bei den relevanten Mikroorganismen-Gruppen der Zoonosen und Indikatorbakterien treffen zu können. Diese Aussagen bilden die Grundlage für korrigierende Maßnahmen beim Einsatz antimikrobiell wirksamer Substanzen im Bereich der Haltung von Nutztieren und der Erzeugung von Lebensmitteln. Hierdurch würde ein wesentlicher Beitrag zum vorsorgenden Verbraucherschutz innerhalb der EU geleistet.

### Veröffentlichungen zum Thema des Vortrages:

Malorny, B., Schroeter, A., Bunge, C., Helmuth R. (2002). Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 prophage-like sequences among German *Salmonella enterica* serotype Typhimurium phage types and their use in detection of phage type DT104 by the Polymerase Chain Reaction. *Veterinary Microbiology* (im Druck).

Miko, A., Guerra, B., Shroeter A., Dorn C., Helmuth R. (2002). Molecular characterization of multiresistant d-tartrate positive *Salmonella enterica* serovar Paratyphi B isolates. *Journal of Clin Microbiology* (im Druck)

Guerra, B., Soto, S., Helmuth, R., Mendoza. M.C. (2002). Characterization of a self-transferable plasmid from *Salmonella* serotype Typhimurium clinical isolates carrying two integron-borne gene cassettes together with virulence and drug-resistance genes. Eingereicht bei: *Antimicrobial Agents Chemotherapy*.

Maidhof, H., Guerra B., Abbas S., Elshekia H. M., Whittam T.S., Beutin L. A multiresistant clone of Shiga toxin producing *Escherichia coli* (STEC) O118:H16 is spread in cattle and humans over different countries of Europe. Eingereicht bei: *Applied and Environmental Microbiology*.

Guerra B., Soto S., Junker E., Miko A., Helmuth R., Mendoza M.C. Molecular Characterization of Multidrug Resistant (MDR) strains related to *Salmonella* serotype Typhimurium, Proceedings of the 3<sup>rd</sup> International Symposium *Salmonella* and salmonellosis. Ploufragan, France, May 2002.

Guerra, B., Junker E., Helmuth R., Mendoza M.C. Location of class 1 integrons and antimicrobial resistance genes in *Xba*I genomic restriction maps of *Salmonella* serotypes Typhimurium and monophasic [4,5,12:i:-]. (In Vorbereitung).

Anfertigung zweier Zwischenberichte für das Ministerium in den Jahren 2001 und 2002.