

Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR)

Resistenzeigenschaften bei *Salmonella*- und *E. coli*-Isolaten

Kurzfassung des Abschlussberichts zum Forschungsvorhaben des BfR vom 30. Januar 2004

Von September 2000 bis August 2003 untersuchte das Nationale Referenzlabor für Salmonellen (NRL-SALM) am BfR im Rahmen des Forschungsvorhabens „Erfassung phänotypischer und genotypischer Resistenzeigenschaften bei *Salmonella*- und *E. coli*-Isolaten vom Tier, Lebensmitteln, Futtermitteln und aus der Umwelt“ die Situation der Antibiotikaresistenz bei *Salmonellen* und bei *Escherichia coli*. Die untersuchten Bakterienstämme entstammten Routineuntersuchungen der Bundesländer in Tierbeständen, Lebensmitteln, Futtermitteln und der Umwelt. Hinzu kamen noch Proben, die zur Klärung spezifischer Fragestellungen gezogen wurden. Dieser Text enthält die zusammengefassten Ergebnisse des Abschlussberichtes. Den vollständigen Bericht finden Sie ebenfalls auf der BfR Website unter dem Menüpunkt „Forschung/Berichte zu Forschungsvorhaben des BfR“. (Direkter Zugriff unter der URL http://www.bfr.bund.de/cms/media.php/91/erfassung_phaenotypischer_und_genotypischer_resistenzeigenschaften_bei_salmonella__und_e._coli_isolaten_vom_tier_abschlussbericht.pdf)

Charakterisierung des Forschungsvorhabens

Das Forschungsvorhaben hatte im wesentlichen drei Arbeitsschwerpunkte:

1. Erfassung der Häufigkeit des Vorkommens (Prävalenz) von Resistenzen bei Salmonellen aus dem Bereich Tier, Nutztier, Lebens- und Futtermittel sowie der Umwelt.
2. Erfassung der Prävalenz von Resistenzen bei *Escherichia coli*.
3. Molekularbiologische Untersuchungen zur Resistenzentwicklung bei Salmonellen und *E. coli*.

Insgesamt wurden 14212 *Salmonella* und 407 *E. coli*-Isolate phänotypisch und 723 *Salmonella* sowie 170 *E. coli* Isolate genotypisch untersucht.

Die Erfassung der Prävalenzen erfolgte gemäß den Vorgaben einer europäischen Expertenkommission (ARBAO-Arbeitsgruppe) der EU (**Antibiotic Resistance in Bacteria of Animal Origin**, FAIR PL 97 3654) und den Vorgaben des geplanten nationalen Resistenzmonitoringprogramms des BfR.

Die Untersuchungen bei den Salmonellen konzentrierten sich auf die Eigenschaften der an das Nationale Referenzlabor für Salmonellen (NRL-Salm) gesandten Einsendungen verschiedener deutscher Untersuchungseinrichtungen aus allen Bundesländern. Für diese wurden keinerlei epidemiologischen Vorgaben gemacht und sie repräsentieren ein Stammkollektiv, das im Rahmen verschiedener Aktivitäten der Untersuchungseinrichtungen erhoben wird. Dazu gehören sowohl routinemäßig gezogene Überwachungs-, Umgebungs- und diagnostische Proben, als auch Proben, die zur Klärung spezifischer Fragestellungen gewonnen wurden.

Die untersuchten *E. coli*-Isolate entstammten den Routineeinsendungen an das NRL-E. coli des BfR.

Die molekularbiologischen Untersuchungen konzentrierten sich auf spezielle, für den Verbraucherschutz besonders relevante Fragestellungen der Resistenzentwicklung. Dazu gehört die Erfassung der Fluorochinolonresistenz sowie das Vorkommen von genetischen

Strukturen, die Integrons genannt werden und die an der Ausprägung der Multiresistenz beteiligt sind. Außerdem wurden die am häufigsten vorkommenden Resistenzgene multiresistenter Salmonellen charakterisiert. Resistenzdeterminanten einfachresistenter Isolate wurden zwar erfasst, in diesem Bericht jedoch nicht aufgeführt.

Die prozentualen Angaben zum Vorkommen aller phänotypischen und wichtigen genotypischen Resistenzmerkmale wurden in Bezug auf ihre Herkunft und zeitlichen Zusammenhang einer statistischen Auswertung unterzogen.

Ergebnis:

Die vorgelegten Daten zeigen, dass bei Salmonellen und *E. coli* während des gesamten Untersuchungszeitraumes:

- 69 % der aus Lebensmittel liefernden Nutztieren (Rind, Schwein, Geflügel) stammenden Salmonellen und 42 % der *E. coli*-Isolate resistent gegenüber antimikrobiell wirksamen Substanzen sind.
- 52 % der vom Nutztier und 42 % der von Lebensmittel stammenden Salmonellen sowie 37 % aller *E. coli*-Isolate multiresistent sind (mehr als eine Resistenz).
- es speziell beim Geflügel zunehmend zur Resistenz gegenüber Chinolonen kommt. Bei Salmonellen nahm die Resistenz innerhalb des Untersuchungszeitraums signifikant von 5,3 % auf 26 % zu.
- die Fluorochinolonresistenz bei *E. coli* bereits bei 14 % liegt.
- viele multiresistente Isolate Integronstrukturen aufweisen, die Multiresistenzen *en bloc* horizontal und vertikal ausbreiten können.
- die Resistenzdeterminanten von *E. coli* und Salmonellen teilweise große Unterschiede aufweisen.

Bewertung der einzelnen Ergebnisse

Bewertung der Situation bei Salmonellen

Trotz einer signifikanten Abnahme von 85 % im Jahre 2000 auf nunmehr 63 % liegt die Resistenzrate bei den Salmonellen aus Lebensmittel liefernden Tieren (Rind, Schwein, Geflügel) mit durchschnittlich 70% weiterhin auf einem hohen Niveau.

Die Abnahme der Gesamtresistenzrate beruht zu einem wesentlichen Teil auf der Abnahme der Einzelresistenz gegenüber Sulfamethoxazol.

Trotz einer Abnahme seiner Prävalenz herrscht der resistente Salmonellatyp *S. Typhimurium* Phagentyp DT104 mit 42 bzw. 59 % im Jahr 2003 bei den Nutztierarten Rind und Schwein vor.

Bei den Phagentyp DT104-Isolaten sind 99 % aller Isolate des Untersuchungszeitraumes resistent und 97 % mehrfach resistent.

Bewertung der molekularbiologischen Eigenschaften von Salmonellen

63 % der getesteten multiresistenten *Salmonella*-Stämme vom Tier (Geflügel, Schwein, Rind), von Lebensmitteln, von Futtermitteln und aus der Umwelt trugen Class 1-Integrone. Die Prävalenz war besonders hoch bei Isolaten vom Rind (88 %), gefolgt von Isolaten aus Lebensmitteln (61 %), Futtermitteln (57 %), vom Schwein (57 %), der Umwelt (44 %) und dem Geflügel (37 %).

Die in den *Salmonella*-Isolaten am weitesten verbreiteten Resistenzgene waren:

- für die Sulfonamid-Resistenz das *sul1*-Gen mit 67 %,
- für die Streptomycin/Spectinomycin-Resistenz die *aadA*-Gene mit 78 %,
- für die Tetracyclin-Resistenz das *tet(G)*-Gen mit 58 %,
- für die Ampicillin-Resistenz das *pse-1*-Gen mit 64 %,
- für die Chloramphenicol-Resistenz das *floR*-Gen mit 88 %,
- für die Trimethoprim-Resistenz das *dfrA1*-Gen mit 68 %,
- für die Kanamycin/Neomycin-Resistenz das *aphA1*-Gen mit 82 %,
- für die Gentamicin-Resistenz das *aac(3)-IV*-Gen mit 35 %.

Zwischen den Resistenzeigenschaften der vom Tier und Lebensmitteln stammenden *Salmonella*-Isolate besteht eine hohe Übereinstimmung.

Die hohe Prävalenz von Integrone in multiresistenten *Salmonella*-Stämmen aller Serotypen und deren Assoziation mit Transposons und konjugativen Plasmiden sollte aufmerksam und kritisch verfolgt werden, da Integrone damit hocheffektive Vektoren sowohl zur horizontalen als auch zur vertikalen Ausbreitung von Resistenzen darstellen.

Bewertung der Situation bei *E. coli*

42 % der untersuchten *E. coli* sind resistent, wovon 37 % mehrfach resistent sind.

Isolate vom Geflügel und Schwein weisen mit 61 % bzw. 67 % höhere Prävalenzen resistenter Isolate als Isolate vom Rind auf (χ^2 , $p < 0,01$).

33 % der Geflügel-Isolate sind Chinolon resistent (95 % Konfidenzintervall [24 - 41]) und weisen eine verminderte Empfindlichkeit (18,4 %) bzw. Resistenz (14 %) gegen Fluorochinolone auf.

Bewertung der molekularbiologischen Eigenschaften bei *E. coli*

Nahezu ein Drittel der getesteten resistenten *E. coli*-Stämme tragen Integrone (95 % Konfidenzintervall [24,8 - 38,8]).

Die in den *E. coli*-Isolaten am weitesten verbreiteten Resistenzgene waren:

- für die Sulfonamid-Resistenz das *sul2*-Gen mit 66 %,
- für die Streptomycin/Spectinomycin-Resistenz das *strA*-Gen mit 62 %,
- für die Tetracyclin-Resistenz das *tet(A)*-Gen mit 66 %,
- für die Ampicillin-Resistenz das *tem-1*-Gen mit 96 %,
- für die Chloramphenicol-Resistenz das *catA*-Gen mit 74 %,
- für die Trimethoprim-Resistenz das *dfrA1*-Gen mit 71 %
- für die Kanamycin/Neomycin-Resistenz das *aphA1*-Gen mit 100 %
- für die Gentamicin-Resistenz das *aac(3)-IV*-Gen mit 56 %.

Die hohe Prävalenz von Integrons in resistenten *E. coli*-Stämmen sollte aufmerksam und kritisch verfolgt werden, da Integrons sehr effektive Vektoren zur Ausbreitung von Resistenzen darstellen.

Bewertung der Chinolonresistenz bei Salmonellen und *E. coli*

Die Chinolonresistenz der untersuchten *E. coli*-Stämme ist bei Isolaten vom Geflügel im Vergleich zu anderen Nutztierarten besonders hoch (84 % der Chinolon resistenten Stämme sind Isolate vom Geflügel, 95 % Konfidenzintervall [73,3 - 94,4], statistisch significant (χ^2 , $p < 0,05$). Das belegt, dass die im Rahmen der Bestandsmedikation oral verabreichten Fluorochinolone einen hohen Selektionsdruck ausübt.

Der Anteil Chinolon resistenter *Salmonella*-Isolate vom Geflügel liegt 2003 bei 26 % und hat damit signifikant um mehr als 20 % zugenommen. Die Fluorochinolonresistenz (MHK $\geq 2 \mu\text{g/ml}$) liegt 2003 bei 1,7 %. Bei Isolaten einiger Serovare vom Geflügel können aber Stämme mit verminderter Fluorochinolon-Empfindlichkeit in mehr als 50 % der Isolate gefunden werden (Malorny et al., 2003, Veterinary Record 153, 643-648).

Der Test auf Nalidixinsäureresistenz erweist sich als guter Frühindikator für eine beginnende Fluorochinolonresistenz.

Einzelmutationen in der QRDR Region des *gyrA* Gens, oder eine Einzelmutation im *gyrA* Gen und ein Einzelmutation im *parC* Gen, bewirken eine reduzierte Empfindlichkeit gegenüber Fluorochinolonen.

Doppelmutationen in der QRDR des *gyrA* Gens zusammen mit einer Einzelmutation im *parC* Gen bewirken eine hohe Fluorochinolonresistenz.

Handlungsoptionen/Empfehlungen

Aufgrund der Ergebnisse des Forschungsvorhabens empfiehlt das BfR:

1. Es muss vermehrt darauf hingewirkt werden, dass antimikrobiell wirksame Substanzen nur gezielt, gemäß den Zulassungsbedingungen, eingesetzt werden. Generell sollte der Einsatz antimikrobiell wirksamer Substanzen vermindert werden. Der Einsatz von Fluorochinolonen sollte nicht über eine Bestandsmedikation z. B. durch das Trinkwasser erfolgen.
2. Die vorgelegten Daten zeigen ein häufiges Vorkommen von Resistenzen bei Salmonellen und *E. coli*. Es ist deshalb erneut darauf hinzuweisen, dass neben dem Resistenzmonitoring, auch die Verbrauchsmengen antimikrobiell wirksamer Substanzen in der Tiermedizin, aufgeschlüsselt nach Tierarten und Anwendungsgebieten, zu erfassen sind. Diese Erfassung sollte rechtlich verbindlich in Ergänzung zum nationalen Resistenzmonitoring durchgeführt werden. Nur so kann die Prävalenz der Resistenz bei von Nutztieren und Lebensmitteln stammenden Erregern mit den Einsatzmengen und damit dem selektiven Druck antimikrobiell wirksamer Substanzen korreliert werden.
3. Im Rahmen der EU-Zoonosenrichtlinie sollte das Resistenzmonitoring erweitert auf die dort aufgeführten bakteriellen, lebensmittel-assoziierten Zoonoseerreger fortgeführt werden.