

# **Antibiotikaresistenz in der Lebensmittelkette**

BfR-Symposium zu Antibiotikaresistenz in der Lebensmittelkette, 2.–3. November 2015,  
Berlin

## **Impressum**

BfR Abstracts

BfR-Symposium  
Antibiotikaresistenz in der Lebensmittelkette,  
2.–3. November 2015, Berlin

Für den Inhalt der Abstracts sind deren Autoren verantwortlich.

Bundesinstitut für Risikobewertung  
Max-Dohrn-Straße 8–10  
10589 Berlin

Berlin 2015  
79 Seiten

Druck: BfR-Hausdruckerei Marienfelde

**Inhalt**

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>5</b>	
<b>2</b>	<b>Programm</b>	<b>6</b>	
<b>3</b>	<b>Abstracts</b>	<b>11</b>	
3.1	ARS – Antibiotikaresistenz-Surveillance in der Humanmedizin		11
3.2	Resistenzmonitoring in der Lebensmittelkette – Daten für Deutschland 2011-2014		13
3.3	Aktuelle Empfindlichkeitsdaten zu Cephalosporinen und Fluorchinolonen bei tierpathogenen Erregern		17
3.4	Eintrag resistenter Keime in die Geflügelhaltung – vertikal oder horizontal?		19
3.5	Vergleich von Resistenzmustern entlang der Lebensmittelkette – Beispiel Hähnchenfleisch		21
3.6	Küchenhygiene? Da war doch was! – Studien zur Kreuzkontamination mit MRSA und ESBL <i>E. coli</i> in Geflügelfleisch		25
3.7	Wie viel ist viel? Methoden zur Berechnung des Antibiotikaeinsatzes bei Nutztieren		27
3.8	Aktueller Stand der Untersuchungen zum Antibiotikaeinsatz in der Tierhaltung		29
3.9	Erfassung der Therapiehäufigkeit nach dem Arzneimittelgesetz – Erfahrungen nach 1 Jahr		33
3.10	Gesundheitsmonitoring bei Tieren: Gesamtmonitoring bei Schweinen		35
3.11	Integrated Analysis of Data on Resistance and Antimicrobial Consumption from the Human and Animal Sectors in Europe. The ECDC/EFSA/EMA JIACRA Report		37
3.12	Antibiotikaeinsatz in der Geflügelhaltung und Resistenzsituation in Österreich – eine Zusammenhangsanalyse		39
3.13	Reduction in Antimicrobial Use in Animals – Do We See Effects on Antimicrobial Resistance?		41
3.14	Horizontaler Gentransfer und seine Bedeutung für die Resistenzausbreitung		43
3.15	Resistente Keime in der Tierhaltung: wie groß ist ihr Beitrag zur Kolonisation des Menschen?		47
3.16	Untersuchungen zum Vorkommen Carbapenemresistenter Enterobakterien in deutschen Nutztierhaltungen und deren Molekularbiologische Charakterisierung		49
3.17	Carbapenmasen in der Küche – Symptom oder Ursache?		51
3.18	Import von ESBL und Carbapenemase-bildenden <i>Enterobacteriaceae</i> nach Deutschland durch Reisende		55
3.19	Pflanzliche Lebensmittel als Vektor für ESBL und Carbapenemase bildende Enterobacteraceae		57
3.20	ESBL/AmpC und Carbapenemasebildende Keime beim Menschen		59

---

3.21	<b>MRSA bei einer Veterinärkohorte und deren Angehörigen: 2008 bis 2014</b>	<b>63</b>
3.22	<b>Longitudinale Untersuchungen zu MRSA in Schweinebeständen in der Schweiz</b>	<b>65</b>
3.23	<b>Veterinärantibiotika in der Umwelt – Abschätzung von Eintragsmengen auf der Basis von Verbrauchsdaten</b>	<b>69</b>
3.24	<b>Resistance in the Wilderness – Should We Keep Distance from Dear Deer?</b>	<b>73</b>
3.25	<b>Zusammenhang zwischen Antibiotikagabe und weiteren Faktoren mit resistenten <i>E. coli</i> beim Schwein</b>	<b>77</b>
4	<b>Autorenverzeichnis</b>	<b>79</b>

## 1 Einleitung

Sehr geehrte Damen und Herren,

ich begrüße Sie sehr herzlich zu unserem Symposium „Antibiotikaresistenz in der Lebensmittelkette“. Das Thema dieser Tagung steht unter besonderer Aufmerksamkeit der Öffentlichkeit. Wie der aktuelle BfR Verbrauchermonitor zeigt, wissen mehr als 82 % der Bevölkerung um die Problematik und 72 % sind durch sie beunruhigt.

Mit der Deutschen Antibiotika-Resistenz-Strategie (DART 2020) hat die Bundesregierung auf die besondere Bedeutung der Antibiotikaresistenzen hingewiesen. Sie betont, dass die Anstrengungen zur Eindämmung der Antibiotikaresistenzen weiter verstärkt und Konzepte und Maßnahmen in den verschiedenen Bereichen konsequent weiterentwickelt und ausgebaut werden müssen. Mit dem Globalen Aktionsplan zur Bekämpfung von Antibiotikaresistenzen wird von der WHO die besondere Bedrohung der öffentlichen Gesundheit ebenfalls unterstrichen.

Die Ursachen der Resistenzprobleme in der Humanmedizin sind vielschichtig. Die Tierhaltung und Lebensmittelproduktion stehen hier immer wieder in der Kritik, und bei der Mehrheit der vom BfR befragten Bürger herrscht der Eindruck, diese seien die Hauptverantwortlichen für die Probleme beim Menschen, auch wenn zahlreiche Untersuchungen ein weit differenzierteres Bild zeichnen.

Ungeachtet des Umfangs, in dem die Tierhaltung und Lebensmittelproduktion zur Resistenzproblematik beim Menschen beiträgt, wurden in den letzten Jahren einschneidende Maßnahmen ergriffen, um diesen Anteil weiter zu reduzieren. Mit der 16. Novelle des Arzneimittelgesetzes wurde ein Instrumentarium geschaffen, um den Einsatz von antimikrobiellen Tierarzneimitteln in Mastbetrieben valide zu erfassen. Betriebe, die mehr Arzneimittel anwenden als Vergleichsbetriebe, müssen Maßnahmepläne erstellen und Maßnahmen ergreifen, um diesen Einsatz zu reduzieren.

Seitdem im Jahre 2011 erstmals in Deutschland die Mengen von antimikrobiellen Tierarzneimitteln erfasst wurden, die an Tierärzte abgegeben worden waren, ist dieser Wert kontinuierlich von 1706 t im ersten Jahr auf etwa 1238 t im Jahr 2014 zurückgegangen bei gleichzeitig weiter steigender Produktion von Fleisch. Dies lässt vermuten, dass eine Reduktion des Einsatzes möglich ist, wenn diese priorisiert wird.

Das BfR trägt mit der Durchführung seiner Amtsaufgaben, mit Forschungsprojekten, mit der Ausrichtung von Tagungen und Symposien sowie einer Vielzahl von Vorträgen nachdrücklich dazu bei, die teilweise sehr emotional geführte Debatte zu versachlichen. Dies betrifft zum einen die tierartenbezogene Erfassung des Antibiotikaverbrauchs in Tierbeständen, die Abschätzung, welcher Anteil der Probleme beim Menschen mit der Tierhaltung zusammenhängen könnte und die Entwicklung und Validierung möglicher Ansätze, um die Häufigkeit von antibiotikaresistenten Keimen zu reduzieren. Das BfR agiert so im Sinne des One Health Konzepts im Verbund mit Fachexperten in den Bereichen Tierhaltung, Veterinärmedizin und der Humanmedizin im In- und Ausland.

Das Programm dieser Tagung ist ein Spiegel dieser Aktivitäten. In ihm wird sowohl die aktuelle Situation bei den Antibiotikaresistenzen thematisiert als auch ihre möglichen unterschiedlichen Quellen, die Maßnahmen zu ihrer Begrenzung sowie deren Auswirkungen auf die Entwicklung der Antibiotikaresistenz. Wir werden in diesem Symposium nicht alle Fragen klären können, werden aber versuchen, den aktuellen Stand der Diskussionen widerzuspiegeln und herauszuarbeiten, wo weitere Anstrengungen nötig sind.

Ich wünsche Ihnen und uns für diese Tagung neben den interessanten Vorträgen gute Gespräche und ein besseres Verständnis für die Problematik und neue Einsichten in mögliche Verbesserungsstrategien.

Professor Dr. Dr. Andreas Hensel

## 2 Programm

### Montag, 2. November 2015

10:00–10:10 Uhr

**Grußworte**

Prof. Dr. Dr. Andreas Hensel, Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR)

10:10–10:35 Uhr

**ARS – Antibiotikaresistenz-Surveillance in der Humanmedizin**

Dr. Tim Eckmanns, Robert Koch-Institut (RKI)

10:35–11.00 Uhr

**Resistenzmonitoring in der Lebensmittelkette –  
Daten für Deutschland, 2011-2014**

Dr. Katja Alt, Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR)

11:00–11:25 Uhr

**Aktuelle Empfindlichkeitsdaten zu Cephalosporinen und Fluorchinolonen  
bei tierpathogenen Erregern**

Dr. Heike Kaspar, Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL)

*11:25–12:00 Uhr Kaffeepause*

12:00–12:25 Uhr

**Eintrag resistenter Keime in die Geflügelhaltung – vertikal oder horizontal?**

Prof. Dr. Uwe Rösler, Freie Universität Berlin (FU)

12:25–12:50 Uhr

**Vergleich von Resistenzmustern entlang der Lebensmittelkette –  
Beispiel Hähnchenfleisch**

PD Dr. Bernd-Alois Tenhagen, Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR)

12:50–13:15 Uhr

**Küchenhygiene? Da war doch was! –**

**Studien zur Kreuzkontamination mit MRSA und ESBL *E. coli* in Geflügelfleisch**

Dr. Alexandra Fetsch, Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR)

*13:15–14:05 Uhr Mittagspause*

14:05–14:30 Uhr

**Wie viel ist viel?**

**Methoden zur Berechnung des Antibiotikaeinsatzes bei Nutztieren**

PD Dr. Roswitha Merle, Freie Universität Berlin (FU)

14:30–14:55 Uhr

**Aktueller Stand der Untersuchungen zum Antibiotikaeinsatz in der Tierhaltung**

Prof. Dr. Lothar Kreienbrock, Tierärztliche Hochschule Hannover (TiHo)

14:55–15:20 Uhr

**Erfassung der Therapiehäufigkeit nach dem Arzneimittelgesetz – Erfahrungen nach 1 Jahr**

Dr. Arno Piontkowski, Ministerium für Klimaschutz, Umwelt, Landwirtschaft, Natur- und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen (MKULNV)

15:20–15:45 Uhr

**Gesundheitsmonitoring bei Tieren: Gesamtmonitoring bei Schweinen**

Dr. Bernhard Schlindwein, Westfälisch-Lippischer Landwirtschaftsverband

*15:45–16:15 Uhr Kaffeepause*

16:15–16:45 Uhr

**Integrated Analysis of Data on Resistance and Antimicrobial Consumption from the Human and Animal Sectors in Europe. The ECDC/EFSA/EMA JIACRA Report**

Pierre Alexandre Beloeil, European Food Safety Authority (EFSA)

16:45–17:10 Uhr

**Antibiotikaeinsatz in der Geflügelhaltung und Resistenzsituation in Österreich – eine Zusammenhangsanalyse**

Mag.a Antonia Griesbacher, Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit (AGES)

17:10–17:40 Uhr

**Reduction in Antimicrobial Use in Animals –  
Do We See Effects on Antimicrobial Resistance?**

Prof. Dr. Dik Mevius, Central Veterinary Institute (CVI), The Netherlands

**Dienstag, 3. November 2015**

9:00–9:30 Uhr

**Horizontaler Gentransfer und seine Bedeutung für die Resistenzausbreitung**

Andrea T. Feßler, PhD, Friedrich-Loeffler-Institut (FLI)

9:30–9:55 Uhr

**Resistente Keime in der Tierhaltung: wie groß ist ihr Beitrag zur Kolonisation des Menschen?**

PD Dr. Annemarie Käsbohrer, Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR), Berlin

9:55–10:20 Uhr

**Untersuchungen zum Vorkommen Carbapenem – resistenter Enterobakterien in deutschen Nutztierhaltungen und deren molekularbiologische Charakterisierung**

Dr. Nicole Roschanski, Freie Universität Berlin (FU)

10:20–10:45 Uhr

**Carbapenemasen in der Küche  
Symptom oder Ursache?**

Dr. Arthur P. Schiffmann, Landesbetrieb Hessisches Landeslabor

*10:45–11:15 Uhr Kaffeepause*

11:15–11:40 Uhr

**Besiedlung des Menschen mit ESBL bildenden Keimen nach Fernreisen**

PD Dr. Christoph Lübbert, Universität Leipzig

11:40–12:05 Uhr

**Pflanzliche Lebensmittel als Vektor für ESBL und Carbapenemase bildende Enterobacteriaceae**

Dr. Katrin Zurfluh, Universität Zürich

12:05–12:30 Uhr

**ESBL/AmpC und Carbapenemase-bildende Keime beim Menschen**

Dr. Yvonne Pfeifer, Robert Koch-Institut (RKI)

12:30–12:55 Uhr

**MRSA bei einer Veterinärkohorte und deren Angehörigen: 2008 bis 2014**

Dr. Jan Walter, Robert Koch-Institut (RKI)

*12:55–14:10 Uhr Mittagspause*

14:10–14:35 Uhr

**Longitudinale Untersuchungen zu MRSA in Schweinebeständen in der Schweiz**

Dr. Gudrun Overesch Universität Bern

14:35–15:00 Uhr

**Veterinärantibiotika in der Umwelt –  
Abschätzung von Eintragungsmengen auf der Basis von Verbrauchsdaten**

Jakob Menz, Prof. Dr. Klaus Kümmerer, Leuphana Universität Lüneburg



15:00–15:25 Uhr

**Resistance in the Wilderness – Should We Keep Distance from Dear Deer?**

Dr. Dariusz Wasyl, National Veterinary Research Institute, Puławy, Poland

15:25–15:50 Uhr

**Zusammenhang zwischen Antibiotikagabe und weiteren Faktoren mit resistenten *E. coli* beim Schwein**

Dr. Elke Burow, Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR)

15:50–16:05 Uhr

**Schlusswort**

Prof. Dr. Dr. Andreas Hensel, Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR)



### **3 Abstracts**

#### **3.1 ARS – Antibiotikaresistenz-Surveillance in der Humanmedizin**

Dr. Tim Eckmanns

Robert Koch-Institut (RKI), Berlin

Der Text lag bei Redaktionsschluss noch nicht vor.

Raum für Notizen



### 3.2 Resistenzmonitoring in der Lebensmittelkette – Daten für Deutschland 2011-2014

Dr. Katja Alt<sup>1</sup>, PD Dr. Bernd-Alois Tenhagen<sup>1</sup>, Dr. Beatriz Guerra<sup>1,2</sup>, Dr. Mirjam Grobbel<sup>1</sup>, Dr. Andreas Schroeter<sup>1</sup>, Dr. Alexandra Fetsch<sup>1</sup>, Dr. Kerstin Stingl<sup>1</sup>, PD Dr. Annemarie Käsbohrer<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR), Abt. Biologische Sicherheit, Berlin

<sup>2</sup> Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA), Parma, Italien

#### Einleitung

Das Ziel des Resistenzmonitorings ist, für bestimmte Zoonoseerreger und kommensale *E. coli* die Resistenzsituation auf verschiedenen Stufen unterschiedlicher Lebensmittelketten zu schätzen. Die gewonnenen Informationen dienen einerseits der Bewertung von Vorkommen und Entwicklungstendenzen von Resistenzen. Andererseits sollen neue Entwicklungen frühzeitig erkannt werden. Betrachtet werden vor allem Lebensmittelketten tierischen, aber auch pflanzlichen Ursprungs; auch Futtermittel werden im Stichprobenplan berücksichtigt.

Seit Beginn des Monitorings im Jahr 2009 werden mit diesem Instrument wichtige Erkenntnisse zur Antibiotikaresistenz in der Lebensmittelkette in Deutschland gewonnen. Zusammen mit Ergebnissen aus der Humanmedizin und der Umwelt betrachtet leistet das Resistenzmonitoring in der Lebensmittelkette einen wichtigen Beitrag zur Beurteilung der Resistenzsituation in Deutschland und Europa.

#### Material und Methoden

Jährlich bereitet das BfR einen Stichprobenplan vor, der die Vorschläge weiterer Bundesbehörden und der Bundesländer sowie die Vorgaben der Europäischen Kommission und die Empfehlungen der Europäischen Lebensmittelsicherheitsbehörde (EFSA) berücksichtigt. Eine repräsentative Zahl von Proben wird auf allen Produktionsstufen in den Bundesländern genommen und von den Landesuntersuchungseinrichtungen auf die jeweiligen Erreger untersucht. Dort gewonnene Isolate werden an die Nationalen Referenzlabore am BfR zur weiteren Charakterisierung und Resistenztestung gesandt.

Die untersuchten Erreger umfassen Salmonellen, *Campylobacter*, VTEC, MRSA und zusätzlich kommensale *Escherichia coli*, die anhand von Bouillon-Mikrodilution nach den Vorgaben von CLSI auf ihre Resistenz gegen antimikrobielle Substanzen getestet werden.

Bei allen untersuchten Zoonoseerregern wurden Resistenzen gegen Vertreter der Wirkstoffklassen Aminoglykoside, Phenicole, Chinolone, Penicilline, Tetrazykline und Folatsynthesehemmer betrachtet. Resistenzen gegen Cephalosporine wurden zusätzlich bei MRSA, Salmonellen und *E. coli* getestet, Polymyxine nur bei den zuletzt genannten Enterobakterien. Makrolide wurden bei *Campylobacter* sowie MRSA getestet. Lincosamide, Pseudomoninsäuren, Oxazolidinone, Streptogramine, Triterpensäuren, Pleuromutiline und Glykopeptide wurden nur bei MRSA untersucht. Zusätzlich wurden in 2014 erstmalig Resistenzen gegen Vertreter der Carbapeneme, Azalide und Gyzykline bei kommensalen *E. coli* und Salmonellen geprüft, dafür entfielen die Untersuchungen auf Resistenzen gegen die Substanzen Kanamycin und Streptomycin sowie Florfenicol. Bei *Campylobacter* erfolgte 2014 erstmalig keine Resistenztestung für Chloramphenicol. Die Bewertung der Resistenz erfolgte nach epidemiologischen Cut-Offs nach EUCAST ([www.eucast.org](http://www.eucast.org)).

p-Werte wurden mit z- und (bei Isolatmengen < 30) N1 two proportion Tests berechnet. Die vorliegende Auswertung berücksichtigt keine Isolate aus Futtermitteln.

## Ergebnisse

Insgesamt wurden in den Jahren 2011 – 2014 über 11.000 Isolate aus allen Produktionsstufen in den Lebensmittelketten Geflügel (Masthähnchen und Mastputen), Mastschwein, Rind (Mastrind, Milchrind und Mastkalb) auf ihre Resistenzeigenschaften untersucht (Tabelle 1). Tabelle 1 Anzahl getesteter Isolate nach Jahr je Bakterienart und Lebensmittelkette

2011			2012		
Lebensmittelkette	N Isolate je Bakterienart		Lebensmittelkette	N Isolate je Bakterienart	
Masthähnchen	Salmonellen	118	Mastpute	Salmonellen	78
	Campylobacter	322		Campylobacter	464
	<i>E. coli</i>	418		<i>E. coli</i>	639
	MRSA	289		MRSA	579
Mastrind	Salmonellen	1	Mastkalb	Salmonellen	2
	<i>E. coli</i>	977		Campylobacter	24
	VTEC	245		<i>E. coli</i>	575
	MRSA	64		VTEC	226
	MRSA	309			
Mastschwein	Salmonellen	101			
	Campylobacter	6			
	<i>E. coli</i>	911			
2013			2014		
Masthähnchen	Salmonellen	60	Masthähnchen	Salmonellen	59
	Campylobacter	371		Campylobacter	566
	<i>E. coli</i>	921		<i>E. coli</i>	615
	MRSA	406			
Mastrind	Campylobacter	78	Mastpute	Salmonellen	39
	<i>E. coli</i>	561		Campylobacter	575
	VTEC	77		<i>E. coli</i>	372
	MRSA	93		MRSA	235

Aus dem Monitoring des Jahres 2014 wurden zudem Isolate aus Tankmilch konventioneller und ökologischer Produktion bezüglich ihrer Resistenzen untersucht. Ergänzend wurden *E. coli* aus frischen Kräutern (N = 15) im vergangenen Untersuchungsjahr getestet. In der vorliegenden Auswertung werden Ergebnisse aus 2014 im Vergleich zu den vergangenen Jahren betrachtet. Ergebnisse aus den Mastrind-, Mastkalb- und Mastschwein-Lebensmittelketten wurden ausgeklammert, da diese Ketten 2014 nicht berücksichtigt wurden.

Ausgewählte Ergebnisse nach Bakterienart:

- Salmonellenisolate aus Putenschlachtkörpern wiesen in 2012 (N = 49) mit 69 % die höchste Resistenzrate gegen Ciprofloxacin auf. Dieser Anteil betrug in 2014 74 % (N = 30). Resistenzen gegen Cephalosporine und die erstmals getesteten Wirkstoffe Meropenem und Tigazyklin wurden in 2014 nicht beobachtet. In 2011 und 2013 war jeweils 1 Isolat aus der Primärproduktion beim Masthähnchen resistent gegen Cephalosporine der 3. Generation. Isolate aus Hähnchenfleisch im Einzelhandel waren in 2011 (N = 24) zu 54 %, in 2013 (N = 18) zu 39 % und in 2014 (N = 19) zu 58 % resistent gegen Ciprofloxacin.
- Insgesamt waren *Campylobacter coli* Isolate aus beiden Geflügelfleischketten häufiger und gegen mehr Substanzen resistent als *Campylobacter jejuni*. In 2011 waren 1 %, in 2013 0,3 % und in 2014 waren 3 % ( $p_{2013} = 0,006$ ;  $p_{2011} = 0,1$ ) der *C. jejuni* Isolate aus der Hähnchenfleischkette resistent gegen Erythromycin. Es wurden keine wesentlichen Veränderungen der Resistenz von *C. coli* aus der Hähnchenfleischkette zwischen 2011 und 2014 beobachtet. *C. jejuni* aus Blinddarminhalt von Puten waren in 2012 und 2014 zu 80 % und 74 % ( $p = 0,3$ ), aus Putenfleisch in 2012 zu 77 % und 2014 zu 70 % ( $p = 0,4$ ) gegen mindestens einen Wirkstoff resistent. Drei der 10 Isolate aus Tankmilchproben von Milchviehherden waren resistent und zwar gegen Ciprofloxacin und Nalidixinsäure (2 Isolate) und/oder Tetrazyklin (2 Isolate). Die Isolate stammten aus konventionell wirtschaftenden Betrieben. Beide Isolate aus ökologisch wirtschaftenden Betrieben waren vollständig sensibel.

- 64 % der VTEC Isolate aus konventionellen Milchviehbeständen (N = 14) waren gegen alle Testsubstanzen empfindlich, von den 5 Isolaten aus ökologisch wirtschaftenden Beständen waren es 2.
- Die untersuchten MRSA Isolate waren über die typische Resistenz gegen  $\beta$ -Laktam-Antibiotika hinaus zwischen 87 und 100 % resistent gegen Tetrazyklin. In 2012 waren 42 % der Isolate aus Putenbeständen und Putenfleisch (N = 318) resistent gegen Ciprofloxacin; in 2014 (N = 235) waren es im Vergleich dazu mit 54 % ( $p = 0,005$ ) signifikant mehr. Isolate aus Tankmilchproben aus Milchviehherden (N = 41; 36 konventionell, 5 ökologisch) waren zu 24 % resistent gegen Ciprofloxacin. Bei 6 von 19 getesteten Substanzen waren die Resistenzraten der Isolate aus der Putenfleischkette signifikant höher ( $p < 0,05$ ) als die der Isolate aus Tankmilch. Unter den Isolaten der Putenfleischkette aus 2014 waren 5 gegen Rifampicin, 12 gegen Linezolid, und 3 gegen Vancomycin resistent; 2012 wurden Resistenzen gegen Rifampicin und Vancomycin jeweils nur bei einem Isolat beobachtet.
- In 2012 (Pute) und 2013 (Hähnchen) waren jeweils 13 % der kommensalen *E. coli* Isolate in der Puten- und Hähnchenfleischkette voll sensibel. In 2014 waren es aus beiden Ketten jeweils 19 % ( $p < 0,01$ ). Resistenzen gegen das erstmals getestete Azithromycin kamen zu ca. 9 % jeweils in Isolaten aus beiden Geflügelfleischketten vor, aber in keinem der Isolate aus Tankmilch. Resistenzen gegen Meropenem und Tigecyclin wurden nicht beobachtet. Im Vergleich zu den Jahren 2013 (Hähnchen) und 2012 (Puten) wurden keine signifikanten Veränderungen bei den einzelnen in beiden Jahren getesteten Substanzen erkannt. Resistenzen gegen Cephalosporine kamen in 2014 in 3 und 4 % der Isolate der Puten- und Hähnchenfleischkette vor; in 2013 (Hähnchen) in 7 % und 2012 (Puten) 3 % der Isolate ( $p_{\text{Hähnchen}} = 0,01$ ). Gegen Ciprofloxacin waren in den Jahren 2012 und 2014 jeweils 37 und 40 % Isolate der Putenfleischkette resistent. In Vergleich dazu waren in 2013 und 2014 jeweils 49 und 30 % der Isolate der Hähnchenfleischkette ciprofloxacinresistent ( $p < 0,0001$ ).

*E. coli* Isolate aus Tankmilch konventionell und ökologisch wirtschaftender Betriebe waren zu 89 % und 96 % voll sensibel ( $p_{\text{konv./öko.}} = 0,1$ ). Maximal 6 % der Isolate war gegen eine der Testsubstanzen resistent. Ein Isolat war cephalosporinresistent; zwei resistent gegen Ciprofloxacin.

Drei kommensale *E. coli* aus Kräutern (N = 15) waren gegen Ampicillin resistent, 2 gegen Sulfamethoxazol und ein Isolat war resistent gegen Ciprofloxacin.

## Diskussion

Der hohe Anteil gegen Ciprofloxacin resistenter Salmonellen Isolate aus Puten und Masthähnchen ist bedeutsam wegen der Einstufung der Wirkstoffklasse als „prioritized critically important antimicrobials“ (CIA) (FAO/WHO/OIE, 2007). Allerdings standen in den jeweiligen Jahren nur wenige Isolate zur Verfügung und die Serovarverteilung variierte.

Unter dem Aspekt der CIA, ist ebenso kritisch die Zunahme resistenter *C. jejuni* Isolate gegen Erythromycin in der Hähnchenfleischkette zu betrachten. *Campylobacter* wurden nur selten aus Tankmilch isoliert und Unterschiede zwischen konventionellen und ökologisch wirtschaftenden Betrieben waren aufgrund der insgesamt geringen Resistenzraten nicht darstellbar. Ähnlich war die Mehrzahl der untersuchten VTEC aus Tankmilch sensibel gegen alle getesteten Wirkstoffe. Im Vergleich zu kommensalen *E. coli* aus Tankmilchproben waren die Resistenzraten bei VTEC etwas höher, allerdings war die Zahl der VTEC Isolate begrenzt, so dass ein Vergleich nicht aussagekräftig erscheint.

Der höhere Anteil resistenter MRSA aus der Putenfleischkette bestätigt die Ergebnisse der vergangenen Jahre (Monitoring 2009 und 2010, hier nicht dargestellt), dass Isolate aus

Tankmilch auch im Fall von MRSA weniger Resistenzen aufweisen als solche aus den Geflügelfleischketten.

Bemerkenswert ist in der Putenfleischkette das über die Jahre vermehrte Auftreten von MRSA Isolaten, die gegen die humanmedizinisch relevante Substanzen Rifampicin, Linezolid und auch Vancomycin resistent waren. Im Falle einer Infektion des Menschen mit solchen Isolaten kann eine Therapie problematisch sein, auch wenn keines dieser Isolate gegen alle genannten Substanzen resistent war.

Die Ergebnisse der Resistenztestung von kommensalen *E. coli* im Monitoring 2014 bestätigen die in vergangenen Monitorings aufgezeigte hohe Variabilität der Resistenz in Abhängigkeit von der Herkunft der Isolate. Die numerische Zunahme vollsensibler Isolate ist vor dem Unterschied der verwendeten Testpanels zu beurteilen. Für die besonders wichtigen Antibiotika (Cephalosporine und Ciprofloxacin) zeigte sich jedoch für die Hähnchenfleischkette in jedem Fall in 2014 eine geringere Resistenzrate als in den jeweils betrachteten Vorjahren.

Resistente Keime in Milch stellen aufgrund der regelmäßigen Wärmebehandlung nur dann ein Risiko für Verbraucher dar, wenn die Milch roh verzehrt wird. Da frische Kräuter z. T. auch roh verzehrt werden kann es auf diesem Weg zu einer Exposition des Verbrauchers gegenüber diesen Keimen kommen. Diese Untersuchungsergebnisse unterstreichen die Notwendigkeit, auch frische Kräuter bei der Zubereitung oder vor dem Verzehr am besten unter fließendem Wasser sehr gründlich zu waschen, um den Keimgehalt zu reduzieren.



### 3.3 Aktuelle Empfindlichkeitsdaten zu Cephalosporinen und Fluorchinolonen bei tierpathogenen Erregern

Dr. Heike Kaspar, Ulrike Steinacker, Anne-Kathrin Karaalp, Antje Römer, Jürgen Wallmann  
Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL), Berlin, heike.kaspar@bvl.bund.de

WHO und OIE haben u. a. die Cephalosporine der 3. und 4. Generation sowie die Gruppe der Fluorchinolone als „highest priority critically important antimicrobials“ bzw. als „critically important“ eingestuft. Wirkstoffe dieser Klassen sind auch in der Veterinärmedizin zugelassen.

Antibiotika sind ein wichtiges Werkzeug zur Therapie von bakteriellen Infektionskrankheiten bei Tieren. Sie dienen sowohl dem Verbraucher- als auch dem Tierschutz, stellen jedoch keinen Ersatz für suboptimale Haltungsbedingungen und mangelnde Hygiene dar. Vielmehr muss auf den wirklich gerechtfertigten Einsatz gemäß der geltenden Antibiotika-Leitlinien geachtet werden.

Zur Erfassung der Resistenzsituation bei tierpathogenen Bakterien und einer frühzeitigen Aufdeckung neuer Resistenzen ist ein umfassendes nationales Monitoringsystem notwendig. Hierzu wird im Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) seit dem Jahr 2001 eine jährliche Multicenterstudie mit Bakterienisolaten von erkrankten Tieren (Lebensmittel liefernde und Nicht-Lebensmittel liefernde Tiere) durchgeführt.

Die Daten werden entsprechend ihrer Zugehörigkeit zu den verschiedenen Bakterienarten, Tierarten und Indikationen ausgewertet.

Insgesamt zeigen die Bakterienisolate von an **Mastitis** erkrankten Kühen niedrige Resistenzraten: *S. aureus* liegt bei 0-0,8 % bei den getesteten Cephalosporinen, gleiches gilt für Enrofloxacin (MHK<sub>90</sub> 0,25 mg/L). Bei der Spezies *E. coli* zeigt die Resistenzrate im Jahr 2012 einen Anstieg von 2 auf 9 % an, dieser Trend zeigte sich auch bei den übrigen Cephalosporinen. (Anstieg der MHK<sub>90</sub>-Werte von 0,12 auf 8 mg/L im gleichen Zeitraum). Im Untersuchungsjahr 2014 lagen sowohl die Resistenzrate für Ceftiofur als auch die MHK<sub>90</sub>-Werte für die anderen untersuchten Cephalosporine wieder auf gleicher Höhe wie in den Jahren zuvor.

Die Bakterienisolate von an **Enteritis** erkrankten Kälbern weisen sowohl gegenüber den Cephalosporinen als auch gegenüber den Fluorchinolonen hohe MHK<sub>90</sub>-Werte auf (> 32 resp. > 16 mg/L). Dies Ergebnis betrifft v. a. die Spezies *E. coli*. Die ESBL-Raten beim Kalb liegen derzeit bei ca. 34 %. Für die Tierart Schwein stellt sich die Situation etwas günstiger dar. Die MHK<sub>90</sub>-Werte der neueren Cephalosporine zeigten über mehrere Studienjahre eine günstigere Empfindlichkeitslage als diejenigen vom Kalb; für Fluorchinolone zeigte sich eine ansteigende Tendenz der MHK<sub>90</sub>-Werte (derzeit bei 8 mg/L).

Im **Geflügelbereich** liegen die Resistenzraten bei den Fluorchinolonen sowohl für die Pute als auch für die Legehennen unter 5 %, die Raten für Masthähnchen liegen mit 6 % etwas darüber.

Beim Hund und Katze zeigen sich bei Bakterienisolaten der Spezies *E. coli* des Urogenitaltraktes höhere Resistenzraten als bei Isolaten des Gastrointestinaltraktes, dies betrifft insbesondere die Fluorchinolone (ca. 30 %).

Aufgrund dieser soliden wissenschaftlichen Datenbasis ist es möglich, die Resistenzlage im veterinärmedizinischen Bereich zu bewerten und in Bezug zur Einschätzung des Risikos für die Humanmedizin zu setzen. Mit dieser Kenntnis kann derzeit zusammenfassend festge-

stellt werden, dass sich das Resistenzlevel im Laufe der letzten 10 Jahre bzgl. einiger Indikationen/Tierarten im Veterinärbereich erhöht hat.

**Literatur**

Anonymous (2010b): Leitlinien für den sorgfältigen Umgang mit antibakteriell wirksamen Tierarzneimitteln.  
<http://www.bundestieraerztekammer.de/downloads/btk/antibiotika/Antibiotika-Leitlinien.pdf>

### 3.4 Eintrag resistenter Keime in die Geflügelhaltung – vertikal oder horizontal?

Prof. Dr. Uwe Rösler, Michaela Projahn, Katrin Dähre, Anika Friese

Institut für Tier- und Umwelthygiene (ITU), Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin

#### Einleitung

Vergangene Untersuchungen im Rahmen des BMBF-Verbundforschungsvorhabens RESET zeigten, dass ESBL- (Extended-Spektrum Beta-Laktamase)/ AmpC Beta-Laktamase produzierende Enterobakterien mit hoher Prävalenz in Masthähnchenbetrieben in Deutschland vorkommen. Jedoch ist bisher wenig bekannt über die genaue Herkunft bzw. die speziellen Eintragungswege dieser Bakterien in die Geflügelmastbetriebe.

#### Material und Methoden

In der hier vorgestellten laufenden, weiterführenden Studie innerhalb des Verbundforschungsvorhabens RESET werden daher erstmals alle relevanten Stationen der Masthähnchenfleischkette von den Elterntierherden über die Brüterei und den Mastbetrieb bis hin zum Schlachthof hinsichtlich des Vorkommens von ESBL-/AmpC-Laktamase produzierenden Enterobakterien untersucht. Dabei werden die Tiere bzw. Bruteier chargenweise verfolgt und beprobt, um einen möglichen vertikalen Transfer von resistenten Bakterien ausgehend von den Elterntierherden sowie auch einen horizontalen Eintrag nachweisen zu können. Die Abklärung weiterer möglicher Eintragswege erfolgt parallel auch durch Untersuchung verschiedenster Umweltproben.

Dabei werden zu jedem Beprobungszeitpunkt Einzeltierproben/Bruteier sowie diverse Umgebungs- und Luftproben analysiert. ESBL-/AmpC-verdächtige Keime werden isoliert und anschließend mittels PCR-Analysen auf die Zugehörigkeit zu entsprechenden phylogenetischen Gruppen und das Vorhandensein möglicher Resistenz-Gene hin untersucht.

#### Ergebnisse

In vier von fünf der bisher im gesamten Mastverlauf untersuchten Herden waren die verschiedenen Proben aus der Brüterei (Bruteier, Küken, Umgebung) ESBL-/AmpC-negativ. Bei nur einer einzigen Herde konnten vereinzelt ESBL-/AmpC bildende Enterobakterien auf den Eioberflächen nachgewiesen werden. Im Gegensatz zu vorherigen Studien wurden auch alle Eintagsküken in der Brüterei sowie bei der Ankunft im Mastbetrieb negativ getestet. Erst ab dem Zeitpunkt der Mastmitte wurden in allen Herden ESBL-/ AmpC bildende Enterobakterien nachgewiesen. Diese unterschieden sich jedoch meist in Phylogruppe und vorhandenen Resistenzgenen von den entsprechenden Elterntierherden.

#### Diskussion/Schlussfolgerung

Ein vertikaler Transfer von ESBL-/AmpC bildende Enterobakterien von den Elterntieren auf die nachfolgende Generation scheint nach derzeitiger Datenlage daher eher von nachgeordneter Bedeutung zu sein, wohingegen dem horizontalen Eintrag und einer guten Reinigung und Desinfektion zwischen den Mastdurchgängen wahrscheinlich eine größere Bedeutung zukommt.



### 3.5 Vergleich von Resistenzmustern entlang der Lebensmittelkette – Beispiel Hähnchenfleisch

PD Dr. Bernd-Alois Tenhagen<sup>1</sup>, Dr. Mirjam Grobbel<sup>1</sup>, Dr. Beatriz Guerra<sup>1,2</sup>, Dr. Andreas Schroeter<sup>1</sup>, PD Dr. Annemarie Käsbohrer<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin, <sup>2</sup>aktuelle Tätigkeit: EFSA, Parma, Italien

#### Einleitung

Die Übertragung resistenter Keime entlang der Lebensmittelkette ist eine der wichtigsten Herausforderungen für die Lebensmittelsicherheit und den gesundheitlichen Verbraucherschutz. Während in der Vergangenheit vor allem die Übertragung von Zoonoseerregern wie *Salmonella* spp. und *Campylobacter* spp. im Fokus der Untersuchungen stand, wurden in den letzten Jahren mehr und mehr Untersuchungen dazu durchgeführt, ob und in welchem Maße auch andere resistente Keime und/oder Resistenzgene entlang der Lebensmittelkette übertragen werden. Ergebnis dieser Untersuchungen war in den meisten Fällen, dass die Keime, die auf dem Fleisch im Einzelhandel nachgewiesen werden, überwiegend auch schon in der landwirtschaftlichen Tierhaltung nachzuweisen sind, aber dass die Diversität der Keime entlang der Lebensmittelkette zunimmt (Tenhagen et al., 2014; Vossenkühl et al., 2014). Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, die Resistenzmuster von kommensalen *E. coli* entlang der Lebensmittelkette Hähnchenfleisch zu vergleichen.

#### Material und Methoden

Im Rahmen des nationalen Resistenzmonitorings zur Erfüllung der Aufgaben nach Art. 7 der RL 2003/99/EG (Zoonosenrichtlinie) wurden seit 2009 regelmäßig kommensale *E. coli* von verschiedenen Stufen der Hähnchenfleischkette auf ihre Resistenz gegenüber antimikrobiellen Substanzen untersucht. Dabei erfolgte die Untersuchung anhand eines einheitlichen Panels antimikrobieller Substanzen, das überwiegend für die Untersuchung von *Salmonella* spp. nach der Kommissionsentscheidung 2007/407/EG festgelegt wurde. Die Bewertung der ermittelten Minimalen Hemmkonzentrationen erfolgte einheitlich nach den für das Jahr 2013 festgelegten epidemiologischen Cut-Off Werten nach EUCAST (BVL, 2015)

#### Ergebnisse

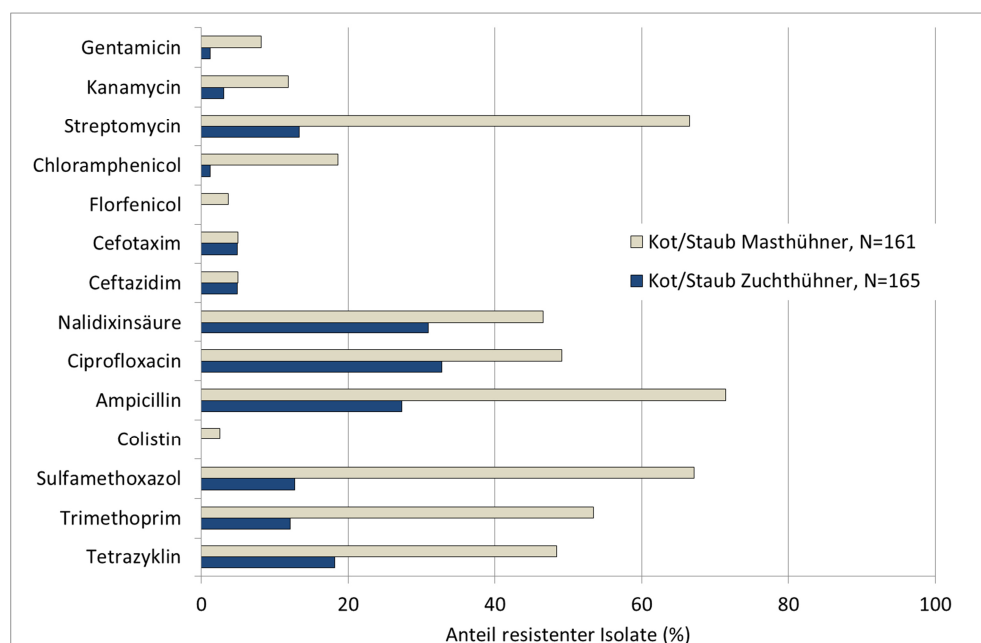


Abbildung 1: Resistenz von *E. coli* aus Herden von Zuchthühnern der Mastrichtung und von Masthühnern im Bestand. Zoonosen-Monitoring 2013.

Für 12 der 14 getesteten Wirkstoffe lagen die Anteile resistenter Isolate aus Masthähnchenbeständen deutlich höher als die aus Herden von Zuchthühnern der Mastrichtung. Ausnahme waren die zwei getesteten Cephalosporine der 3. Generation (Abb. 1).

Isolate aus Masthähnchenbeständen unterschieden sich hinsichtlich ihrer Resistenz kaum von denen aus Fleisch im Einzelhandel. Lediglich gegenüber Streptomycin, Ampicillin, Sulfamethoxazol und Trimethoprim zeigten sich bei den Isolaten aus dem Einzelhandel etwas geringere Resistenzraten.

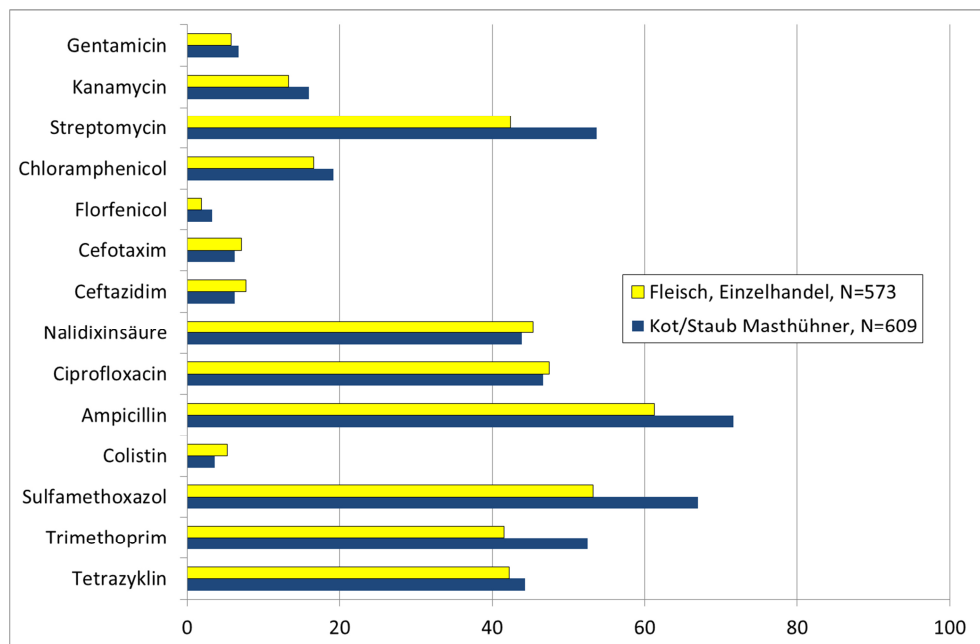


Abb. 2: Resistenz von *E. coli* aus Herden von Masthühnern im Bestand und aus dem Fleisch im Einzelhandel. Summe aus Zoonosen-Monitoring 2009, 2011 u. 2013.

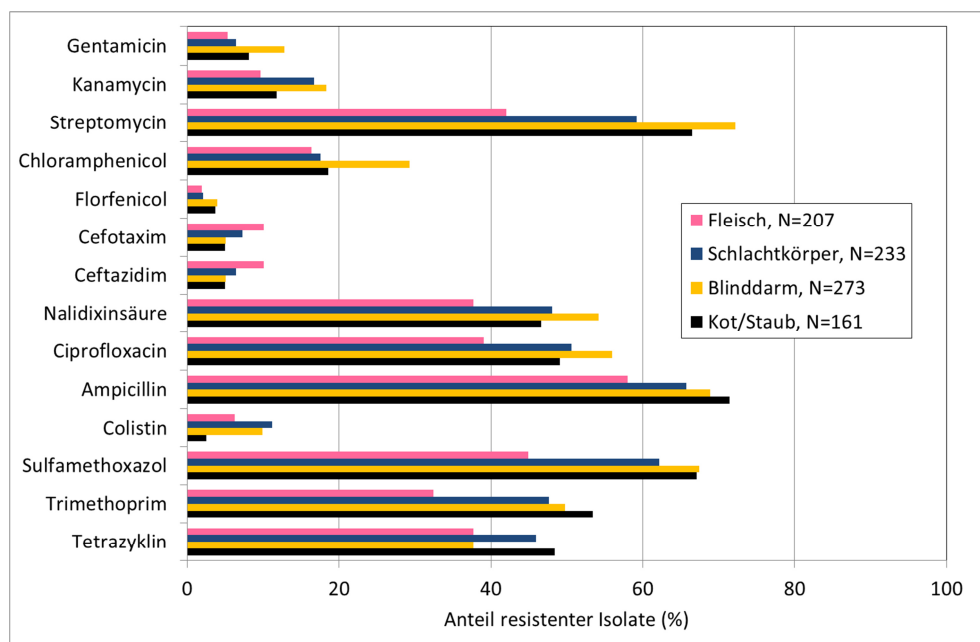


Abb. 3: Resistenz von *E. coli* aus Herden von Masthühnern im Bestand, aus Blinddärmen von Masthühnern am Schlachthof, von den Schlachtkörpern sowie aus dem Fleisch im Einzelhandel. Zoonosen-Monitoring 2013.

Im Jahr 2013 wurden auch noch *E. coli* aus Blinddarmproben von Schlachthähnchen sowie von Schlachtkörpern gewonnen. Diese unterschieden sich hinsichtlich ihrer Resistenz weder gravierend untereinander noch von den Isolaten aus dem Fleisch im Einzelhandel oder von den Isolaten aus den Beständen.

### Diskussion

Die Untersuchungen zeigen, dass bereits in den Elterntierherden ein erheblicher Teil der Isolate Resistenzen gegen eine oder mehrere Substanzen zeigt, dass die Resistenzraten aber in den Mastherden deutlich höher sind. Lediglich die Resistenz gegen Cephalosporine der 3. Generation bildet eine Ausnahme, indem sie sich nicht zwischen Elterntierherden und Mastherden unterscheidet. Dies könnte dadurch erklärt werden, dass diese Resistenzen vertikal aus den Elternbeständen in die Mastbestände übertragen werden können.

Die Ergebnisse zeigen, dass es eine weitgehende Übereinstimmung der Resistenzmuster zwischen den Isolaten von *E. coli* gibt, die in den Masthähnchenbeständen, von Masthähnchen am Schlachthof sowie von den Schlachtkörpern und dem Fleisch im Einzelhandel isoliert werden. Dies gilt sowohl für Anzahl der Resistenzen, gegen verschiedene Antibiotikaklassen, als auch für die einzelnen Substanzen und Substanzklassen.

Aus diesem nicht unerwarteten Befund lässt sich zweierlei ableiten:

1. Die Resistenzmuster werden überwiegend in der landwirtschaftlichen Tierhaltung definiert und müssen daher auch dort beeinflusst werden. Im Rahmen der Lebensmittelgewinnung und -verarbeitung ändert sich an der Art der Resistenzen offenbar wenig.
2. Die Lebensmittelgewinnung und -verarbeitung kann lediglich den Umfang der Kontamination des Fleisches im Einzelhandel mit den unterschiedlichen Keimen beeinflussen. Im Gegensatz zur Situation bei Zoonoseerregern, kann der Eintrag aus der landwirtschaftlichen Tierhaltung nicht grundsätzlich verhindert werden da alle Tiere immer eine erhebliche Keimlast in den Schlachthof eintragen. Lediglich die Eigenschaften der Keime können durch die Tierhaltung beeinflusst werden.

Für die Kontrolle des Risikos der Übertragung resistenter Keime aus der Masthähnchenhaltung auf den Menschen über die Lebensmittelkette bedeutet dies, dass es vier Ansatzpunkte gibt:

1. Verhinderung des vertikalen Eintrags von resistenten Keimen aus den Elterntierherden über die Brüterei in die Mastherden
2. Begrenzung der Vermehrung resistenter Keime in den Masttierherden und Begrenzung des Einsatz antimikrobieller Substanzen
3. Verhinderung der Verschleppung resistenter Keime von den Schlachttieren auf Schlachtkörper und Fleisch während der Fleischgewinnung.
4. Verhinderung der Übertragung der resistenten Keime auf die verzehrfertigen Speisen durch optimierte Küchenhygiene im Privathaushalt und in Einrichtungen der Gemeinschaftsverpflegung.

### Literatur

BVL. 2015. Berichte zur Lebensmittelsicherheit 2013 - Zoonosen-Monitoring No. 9. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit.

Tenhagen, B. A. et al. 2014. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in cattle food chains - prevalence, diversity, and antimicrobial resistance in Germany. *Journal of Animal Science* 92: 2741-2751.

Vossenkuhl, B. et al. 2014. Comparison of *spa* Types, *SCCmec* Types and Antimicrobial Resistance Profiles of MRSA Isolated from Turkeys at Farm, Slaughter and from Retail Meat Indicates Transmission along the Production Chain. *Plos One* 9: e96308.



### 3.6 Küchenhygiene? Da war doch was! – Studien zur Kreuzkontamination mit MRSA und ESBL *E. coli* in Geflügelfleisch

Dr. Alexandra Fetsch, PD Dr. Bernd-Alois Tenhagen, Ylanna Kelner-Burgos, PD Dr. Annemarie Käsbohrer

Bundesinstitut für Risikobewertung, Abteilung Biologische Sicherheit, Berlin

#### Hintergrund

Extended-Spectrum Beta-Laktamasen (ESBL)-produzierende *Escherichia (E.) coli* und Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) werden über kontaminierte Lebensmittel wie rohes Geflügelfleisch regelmäßig in Küchen im Privathaushalt eingetragen. Ob, und wenn ja in welchem Ausmaß es dabei zur Kontamination von anderen Lebensmitteln kommt, ist unbekannt. Dies macht eine valide Bewertung der Wahrscheinlichkeit einer Exposition des Verbrauchers durch die jeweiligen Erreger unmöglich.

#### Zielstellung

Das Ziel der Studie war es, den Transfer von auf Geflügelfleisch vorhandenen ESBL-*E. coli* bzw. MRSA auf Hände und Küchenutensilien, und von dort auf zum Rohverzehr vorgesehene Lebensmittel zu quantifizieren.

#### Material und Methoden

In zwei unterschiedlichen Szenarien, die jeweils mit 10 Wiederholungen durchgeführt wurden, wurden ausgewählte Situationen in Küchen im Privathaushalt simuliert. Zunächst wurde frisches Hähnchenbrustfilet artifiziell mit einer Keimkonzentration zwischen  $10^5$ - $10^7$  KbE/20 cm<sup>2</sup> mit ESBL-*E. coli* bzw. MRSA kontaminiert und über Nacht bei +4<sup>0</sup> C gelagert. Im ersten Szenario wurde der Transfer der Erreger auf die Hände des Verbrauchers simuliert. Im selben Szenario wurde das kontaminierte Geflügelfleisch mit einem Messer in zwei Hälften geschnitten, um dasselbe Messer anschließend zum Schneiden von Toastbrot zu verwenden. Auch das Brett, auf dem zuvor das rohe Geflügelfleisch lag wurde noch einmal verwendet, um darauf Toastbrot zu schneiden. Im zweiten Szenario wurde der Transfer von ESBL *E. coli* bzw. MRSA von einem zuvor kontaminierten Teller bzw. einer Grillzange auf frisch gegrilltes, bzw. gegrilltes und anschließend bei +60<sup>0</sup> C warmgehaltenes Hähnchenbrustfilet quantifiziert. In beiden Szenarien wurde ergänzend untersucht, ob Abspülen des Bretts bzw. Tellers, auf dem zuvor das kontaminierte Geflügelfleisch lag, mit kaltem Wasser ausreicht, um die Erreger zu eliminieren. Die Keimzählung erfolgte über Koloniezählverfahren mit selektiven Nähragarplatten.

#### Ergebnisse und Diskussion

In beiden Szenarien wurden sehr homogene Ergebnisse mit geringer Standardabweichung erzielt. Zum Teil wurden überraschend hohe Keimzahlen verschleppt. Es wurde weiter gezeigt, dass sich die Transferraten zwischen den verschiedenen Arbeitsschritten, aber auch zwischen ESBL *E. coli* und MRSA signifikant voneinander unterscheiden. Der Eintrag von ESBL *E. coli* bzw. MRSA in den Privathaushalt über rohes Geflügelfleisch kann demnach zur Verbraucherexposition beitragen. Eine Kontamination anderer Lebensmittel sowie eine Rekontamination von Geflügelfleisch während des Handlings und der Zubereitung von mit ESBL *E. coli* bzw. MRSA kontaminiertem rohem Geflügelfleisch in privaten Küchen ist daher bei Missachtung der Regeln der Küchenhygiene wahrscheinlich. Die gewonnenen Daten werden in quantitative Modelle einfließen und zur Bewertung der damit verbundenen Risiken beitragen.



### 3.7 Wie viel ist viel? Methoden zur Berechnung des Antibiotikaeinsatzes bei Nutztieren

PD Dr. Roswitha Merle

Freie Universität Berlin, Fachbereich Veterinärmedizin, Institut für Veterinär-Epidemiologie und Biometrie,  
roswitha.merle@fu-berlin.de

Nicht erst seit Inkrafttreten der 16. AMG-Novelle und der Einführung eines nationalen Antibiotikamonitoring gibt es Überlegungen, wie der Einsatz von Antibiotika bei (Nutz)Tieren gemessen, berechnet und bewertet werden kann. Während in Deutschland die Therapiehäufigkeit zur Quantifizierung des Antibiotikaeinsatzes verwendet wird, beschreiten einige europäische Mitgliedsstaaten einen anderen Weg, indem sie „defined daily doses“ (DDDA) als Bewertungsgrundlage heranziehen. Länderübergreifende Vergleiche werden dagegen häufig mit Hilfe der Wirkstoffmenge vorgenommen.

Aus diesem Grund stehen wir vor der Situation, dass zwar Daten aus vielen Ländern und Quellen vorliegen, diese jedoch mit unterschiedlichen Methoden analysiert werden und die Ergebnisse daher nicht verglichen werden können. Welche Methode am besten geeignet ist, hängt vom Detailgrad der zu Verfügung stehenden Daten sowie von der spezifischen Zielsetzung der Datenerfassung ab.

Eine häufig verwendete Variable zur Quantifizierung des Antibiotikaeinsatzes ist die Darstellung der verwendeten Mengen. Sie stellt auch die Information dar, die in den meisten Erfassungssystemen verfügbar ist. Daher wird sie in der Literatur regelmäßig berichtet und oft für Vergleiche herangezogen. Der angemessene Umgang mit dieser Variablen ist jedoch nicht trivial. Wirkstoffmengen dürfen nur nach Wirkstoffen getrennt summiert werden, da aufgrund unterschiedlicher Dosierungen eine bestimmte Menge des einen Wirkstoffs für eine andere Anzahl von Anwendungen steht als die gleiche Menge eines anderen Wirkstoffs. Die Angabe des verbrauchten Wirkstoffs je Populationseinheit (z. B. pro Tier oder kg Lebendgewicht) und Wirkstoff getrennt für jede Tierart kann für Vergleichszwecke nützlich sein.

Sofern die Mengen je Wirkstoff sowie die Populationsgröße bekannt sind, kann die Zahl der Indexanwendungen pro Tier berechnet werden, die wirkstoffübergreifend ist und die Häufigkeit des Antibiotikaeinsatzes unter Verwendung standardisierter Werte beschreibt. Diese Methode kann auch dann verwendet werden, wenn Anwendungsdaten auf Betriebsebene nicht zur Verfügung stehen.

Die Defined Daily Dose Animal DDDA ist dabei die Dosis eines Wirkstoffs, die ein Tier an einem Tag erhält, wenn es mit der standardisierten (pharmakologisch empfohlenen) Dosierung behandelt wird und ein angenommenes Standardtiergewicht hat. Die Anzahl der DDDA ( $nDDDA$ ) wird berechnet, indem die Wirkstoffmenge durch die DDDA dividiert wird. Die  $nDDDA$  wird für jede Behandlung berechnet, bei Kombinationspräparaten für jeden Wirkstoff einzeln. Sie kann über den beobachteten Zeitraum summiert werden und durch Division mit der Populationsgröße als  $nDDDA_{\text{population}}$ , also Zahl der DDDA je Tier, ausgedrückt werden. Das Ergebnis repräsentiert die Anzahl von Indexanwendungen je Tier, quantifiziert jedoch nicht die tatsächlich vorgenommenen Anwendungen.

Da für die Berechnung der  $nDDDA_{\text{population}}$  eine Datenerhebung auf Betriebsebene nicht erforderlich ist, kann diese Variable auch dann ermittelt werden, wenn keine detaillierten Anwendungsdaten verfügbar sind. Durch die Standardisierung von Variablen sind Daten aus verschiedenen Quellen miteinander vergleichbar – allerdings nur dann, wenn auch die gleichen Standardtiergewichte und Dosierungen eingesetzt werden und wenn für jede der Quellen die Population je Tiergruppe bekannt ist. Damit ist die Kennzahl  $nDDDA_{\text{population}}$  gut geeignet, große Populationen miteinander oder zwischen verschiedenen Zeiträumen zu vergleichen. Für die Mitteilung von Betriebseinzelenergebnissen (z. B. im Rahmen eines Bench-

markings) oder für die öffentliche Kommunikation ist sie jedoch kaum geeignet, da sie keine tatsächlichen Anwendungshäufigkeiten darstellt, dies aber suggerieren kann.

Die Berechnung der Anzahl der Anwendungen pro Tier bietet die Möglichkeit, Aussagen über die tatsächliche Häufigkeit des Antibiotikaeinsatzes zu treffen. Im ersten Schritt wird die Zahl der Behandlungseinheiten einer Behandlung (Zahl der behandelten Tiere (Tierzahl)  $\times$  Behandlungstage  $\times$  Zahl der Wirkstoffe) berechnet. Daraus lässt sich die Used Daily Dose UDDA ableiten, indem die Wirkstoffmenge durch die Zahl der Behandlungseinheiten dividiert wird. Die Berechnung erfolgt bei Kombinationspräparaten für jeden Wirkstoff getrennt.

Die Anzahl der Behandlungseinheiten  $nUDDA$  wird über den Beobachtungszeitraum summiert und durch die Gesamtzahl der Tiere in der Population dividiert. Auf diese Weise erhält man die Anzahl der Behandlungseinheiten je Tier, die als Therapiehäufigkeit oder als  $nUDDA_{\text{population}}$  bezeichnet wird.

Da derartige Anwendungsdaten nur über einen Bottom-up-Ansatz auf Betriebs- oder Praxisebene gewonnen werden können, ist die Datenerfassung stets mit großem Aufwand verbunden. Andererseits ist diese Form der Datenerhebung für die Auswertung und Kommunikation auf Betriebs- oder Praxisebene gut geeignet, da die Berechnungen auf der Grundlage der tatsächlichen Anwendungen erfolgt und die Rechenwege dadurch leicht nachvollzogen werden können. Veränderungen der Einsatzhäufigkeit im Betrieb sind transparent, so dass z. B. der Erfolg von Maßnahmen zur Stärkung der Tiergesundheit mit dem Instrument der Anwendungshäufigkeit auf einfache Art und Weise von Tierhalter und Tierarzt überprüft werden kann.

### 3.8 Aktueller Stand der Untersuchungen zum Antibiotikaeinsatz in der Tierhaltung

Prof. Dr. Lothar Kreienbrock<sup>1</sup>, Malin Hemme<sup>1</sup>, Maria Hartmann<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für Biometrie, Epidemiologie und Informationsverarbeitung, Tierärztliche Hochschule Hannover

<sup>2</sup>Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin

#### Einleitung

Das Projekt „VetCAB-S“ – Sentinel-Study on Veterinary Consumption of Antibiotics – ist ein Projekt des Institutes für Biometrie, Epidemiologie und Informationsverarbeitung der Tierärztlichen Hochschule Hannover (IBEL-TiHo), welches in Zusammenarbeit mit dem Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) durchgeführt wird.

In den Jahren 2007 und 2008 wurde zunächst in einer Machbarkeitsstudie untersucht, ob es in Deutschland technisch wie fachlich möglich ist, den Einsatz von Antibiotika bei Lebensmittel liefernden Tieren zu erheben und zu quantifizieren. Um eine Grundlage zur Entwicklung eines kontinuierlichen Monitoringsystems zu schaffen, wurde anschließend eine Pilotstudie durchgeführt, die erstmalig repräsentative Daten zum veterinärmedizinischen Arzneimitteleinsatz in Deutschland zusammengestellt hat. Ergebnisse dieser Untersuchungen, die gemeinsam mit der Universität Leipzig durchgeführt wurden, wurden in den letzten Jahren veröffentlicht (siehe z. B. Merle et al., 2012, van Rennings et al., 2013, van Rennings et al., 2015).

Seit Beginn des Jahres 2014 wird das in der Pilotstudie entwickelte Konzept des Monitoring nun in einer sogenannten Sentinelstudie VetCAB-S fortgesetzt. Der Schwerpunkt des Projektes liegt auf der zeitlichen Entwicklung der Verschreibungsgewohnheiten von Antibiotika in der aktuellen Nutztiermedizin in Deutschland. Hierbei soll insbesondere auch die öffentliche Diskussion um die 16. Arzneimittelgesetz-Novelle, welche seit Mitte des Jahres 2014 in Kraft getreten ist, Berücksichtigung finden. Dazu wird der Antibiotikaeinsatz einzelner Betriebe über einen größeren Zeitraum hinweg dokumentiert und ausgewertet. Beschrieben werden dabei die Anwendungsdauer, die Art des Wirkstoffes sowie die tierärztliche Indikation, die zu einer Verschreibung von Arzneimitteln mit antibiotischen Wirkstoffen geführt hat. Aus diesen Gründen werden vornehmlich Betriebe rekrutiert, die bereits an der Pilotstudie teilgenommen haben. Zudem werden weiterhin fortlaufend Tierärzte und Landwirte in die Studie aufgenommen.

#### Material und Methoden

VetCAB-Sentinel basiert als wissenschaftliches Projekt auf der freiwilligen Teilnahme von Tierärzten und Landwirten. Die Teilnehmer stellen Informationen zur Anwendung von antimikrobiell wirksamen Arzneimitteln in ihrem Betrieb bzw. zur Abgabe von antibiotischen Arzneimitteln an die von ihnen betreuten Betriebe, sowie Informationen zur Anzahl gehaltener und behandelter Tiere und ggf. zum Betriebsmanagement zur Verfügung. Diese Informationen werden anschließend pseudonymisiert, in die projekteigene Datenbank eingepflegt und nach pharmakologischen und epidemiologischen Gesichtspunkten ausgewertet.

Es soll vor allem betrachtet werden, ob und in welchem Umfang sich das Verschreibungsverhalten deutscher Nutztierärzte seit dem Jahr 2011 verändert hat. Hierzu wird im Rahmen einer Querschnittsanalyse der Antibiotikaeinsatz der einzelnen Nutztierrichtungen pro Halbjahr mit Hilfe der Therapiehäufigkeit

$$TH = \frac{\sum_{\text{Gruppen}} \sum_{\text{Behandlungen}} (\# \text{ behandelte Tiere} \times \# \text{ Anwendungstage})}{\# \text{ Stallplätze}}$$

Berechnet und anschließend im zeitlichen Verlauf bewertet.

### Ergebnisse

Insgesamt haben seit 2011 1.927 Betriebe an der VetCAb-Studie teilgenommen. Davon halten 485, in 2014 sogar 582 Betriebe Schweine. Von diesen produzieren 2014 162 Betriebe Ferkel, 202 betreiben eine Ferkelaufzucht und 486 sind Mastbetriebe, teilweise in kombinierter Form. Bei über 50 % handelt es sich um Panelbetriebe, also Tierhaltungen, die sowohl an der Pilot- als auch an der Sentinelstudie teilgenommen haben. Diese Betriebe sind für die Auswertung von besonderer Bedeutung.

Von den über 140.000 AuA-Belegen, die bislang insgesamt in das System eingepflegt, auf Plausibilität geprüft und ausgewertet wurden, sind etwa 55.000 Belege für Schweine ausgestellt worden. Der Median der Anzahl der Belege (= Anwendungen) pro Halbjahr liegt bei Sauen und Ferkeln bei 7 und bei Mastschweinen und Läufern bei 4 Belegen pro Halbjahr und Tierhaltung.

Die Therapiehäufigkeit der an der Pilotstudie teilnehmenden Landwirte wurde bereits von van Rennings et al., 2015. veröffentlicht. Sie betrug für Mastschweine etwa 5 Tage antibiotische Behandlung pro Stallplatz im Halbjahr. 2013 sind es innerhalb des Sentinel-Kollektivs noch knapp 3 Tage antibiotische Behandlung, 2014 sinkt die Therapiehäufigkeit weiter auf etwa einen Tag antibiotische Behandlung pro Stallplatz.

Im Rahmen des Beitrags werden noch weitere Verläufe und Tendenzen bei der Verabreichung spezifischer Wirkstoffklassen im Detail aufgezeigt.

### Ausblick

Nachdem die durchgeführte Pilotstudie zeigen konnte, dass eine repräsentative Erfassung des Antibiotikaeinsatzes in Deutschland möglich ist, läuft nun seit 2014 darauf aufbauend eine Sentinelstudie. Erste Ergebnisse zeigen, dass es eine Veränderung im Ordnungsverhalten der deutschen Nutztierärzte gegeben hat. Es gilt nun diese Veränderung genauer zu studieren, um die Ursache dieser Veränderung benennen zu können. Dabei soll untersucht werden, inwieweit eine verkürzte Anwendungsdauer, eine veränderte Präparate- oder Wirkstoffwahl oder ein Wandel in den Indikationen zur antibiotischen Behandlung stattgefunden hat.

### Literatur

- van Rennings L, von Münchhausen C, Otilie H, Hartmann M, Merle R, Honscha W, Käsbohrer A, Kreienbrock L. Cross-sectional study on antibiotic usage in pigs in Germany. PLoS One. 2015 Mar 18;10(3): e0119114.
- van Rennings L, von Mühhausen C, Hartmann M, Otilie H, Honscha W, Käsbohrer A, Kreienbrock L. Antibiotikaverbrauch und Antibiotikaverkauf in Deutschland im Jahr 2011 – Zur Situation des Arzneimittelensatzes in der Veterinärmedizin. Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift 2014; 127 (9-10): 366-374.
- Honscha W, van Rennings, L, von Mühhausen C, Kreienbrock L, Käsbohrer A, Otilie H. Systeme zur Erfassung von Antibiotikagabe und –einsatz in Deutschland – ein Überblick. Rundschau für Fleischhygiene und Lebensmittelüberwachung 2014; 66: 148-151.
- Merle R, Robanus M, Hegger-Gravenhorst C, Mollenhauer Y, Hajek P, Käsbohrer A, Honscha W, Kreienbrock L. Feasibility study of veterinary antibiotic consumption in Germany - comparison of ADDs and UDDs by animal production type, antimicrobial class and indication. BMC Vet Res. 2014 Jan 8;10(1):7.

- Merle R, Mollenhauer Y, Hajek P, Robanus M, Hegger-Gravenhorst C, Honscha W, Käsbohrer A, Kreienbrock L. Verbrauchsmengenerfassung von Antibiotika beim Schwein in landwirtschaftlichen Betrieben. Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift 2013; 126(7-8):326 -332.
- Merle R, Mollenhauer Y, Hajek P, Robanus M, Hegger-Gravenhorst C, Honscha W, Käsbohrer A, Kreienbrock L. Verbrauchsmengenerfassung von Antibiotika beim Rind in landwirtschaftlichen Betrieben. Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift 2013; 126(7-8):318 -325.
- Merle R, Hegger-Gravenhorst C, Robanus M, Hajek P, Honscha W, Käsbohrer A, Kreienbrock L. Erfassung des Antibiotikaeinsatzes bei Lebensmittel liefernden Tieren in der tierärztlichen Praxis. Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift 2013; 126(7-8):310-317.
- van Rennings L, Merle R, von Münchhausen C, Stahl J, Honscha W, Käsbohrer A, Kreienbrock L. Variablen zur Beschreibung des Antibiotikaeinsatzes beim Lebensmittel liefernden Tier. Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift 2013; 126(7-8):297-309.
- van Rennings L, von Münchhausen C, Honscha W, Otilie H, Käsbohrer A, Kreienbrock L. Kurzbericht über die Ergebnisse der Studie „VetCab-Pilot“. Repräsentative Verbrauchsmengenerfassung von Antibiotika in Nutztierhaltung. Deutsches Tierärzteblatt 2013; 61(8-August): 1080-1083.
- Merle R, Hajek P, Käsbohrer A, Hegger-Gravenhorst C, Mollenhauer Y, Robanus M, Ungemach FR, Kreienbrock L. Monitoring of antibiotic consumption in livestock: A German feasibility study. Preventive veterinary medicine 2012; 104 (1–2):34-43.
- Hajek P, Merle R, Käsbohrer A, Kreienbrock L, Ungemach FR. Antibiotikaeinsatz in der Nutztierhaltung. Ergebnisse der Machbarkeitsstudie „VetCAB“. Deutsches Tierärzteblatt, 2010: 476-480.
- Hajek P, Merle R, Kaesbohrer A, Kreienbrock L, Ungemach FR. Monitoring the consumption of antibiotics in veterinary medicine in Germany. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics 2009; 32 (Suppl. 1):60-1.





### 3.9 Erfassung der Therapiehäufigkeit nach dem Arzneimittelgesetz – Erfahrungen nach 1 Jahr

Dr. Arno Piontkowski

Ministerium für Klimaschutz, Umwelt, Landwirtschaft, Natur- und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen, Düsseldorf

Bereits der „Werdegang“ der 16. AMG-Novelle war von erheblicher Skepsis von den hauptbetroffenen Berufsgruppen der Landwirte und Tierärzte begleitet. Noch bis kurz vor dem Ende des ersten Erfassungszeitraums, des zweiten Halbjahres 2014, bemühte sich insbesondere die Landwirtschaft um eine „Gleichschaltung“ der Erfassungssystematik in der staatlichen Antibiotika-Datenbank mit dem entsprechenden System bei der QS Qualität und Sicherheit GmbH. Stein des Anstoßes war vorrangig die Berechnung der Zahl der durchschnittlich gehaltenen Tiere mit der Vorgabe der tagesaktuellen Erfassung in der staatlichen Datenbank.

Zwar war die „Meldemoral“ am Ende des Halbjahrs grundsätzlich als gut zu bezeichnen. Aber natürlich gab es auch in weiten Kreisen nicht zuletzt durch die kontrovers geführten Diskussionen eine gewisse Verunsicherung. So haben bundesweit Landwirte bzw. die von diesen beauftragten Dritten in einer Dimension keine Antibiotika-Verabreichungen oder -Anwendungen gemeldet, die an der Plausibilität der Meldung bzw. Nicht-Meldung zweifeln lassen. Auf der anderen Seite gab es offensichtlich auch „Doppelmeldungen“ dergestalt, dass beauftragte Dritte und der Landwirt selbst entsprechende Meldungen abgaben, was die individuelle Therapiehäufigkeit nach oben getrieben hat. Ein weiteres Problem war die mangelnde Fehlerkorrektur bei angezeigten Implausibilitäten, die die Therapiehäufigkeit in teilweise astronomische Höhen getrieben hat. Dabei hätte z. B. die korrekte Eingabe des „Anfangsbestandes“ zur Fehlervermeidung bereits genügt.

Nach der ersten Bekanntgabe der Kennzahlen Ende März 2014 hagelte es demzufolge heftige Kritik und Zweifel an der Aussagefähigkeit der Zahlen. Insbesondere die Kennzahlen für Mastkälber und Mastrinder sorgten für Verwirrung.

Bei den Mastkälbern war offensichtlich eine deutlich höhere durchschnittliche Therapiehäufigkeit erwartet worden. Eine Vielzahl der entsprechenden Betriebe hält lediglich wenig mehr als 20 – vornehmlich männliche – Kälber über den Zeitraum von vier Wochen hinaus auf dem Hof. Für NRW weist die HI-Tier-Datenbank beispielsweise für das 2. Halbjahr 2014 von den insgesamt etwa 2500 erfassten Mastkälberbetrieben nur wenig mehr als 1000 mit einem Durchschnittsbestand > 30 aus. Damit erklärt sich auch der Median von 0,000 und die relativ niedrige Kennzahl von 5,058 für das dritte Quartil bei dieser Nutzungsart, da bei den kleinen Tiergruppen ohne einen „Crowding-Effekt“ so gut wie keine antibiotischen Behandlungen erforderlich waren - wenn denn alle Behandlungen auch gemeldet wurden. Anders sieht es bei den klassischen Kälbermastbetrieben aus, deren Therapiehäufigkeit erwartungsgemäß deutlich höher ist. Für NRW liegt sie bei Betrieben mit einem Durchschnittsbestand > 100 im zweiten Halbjahr 2014 im Mittel bei etwa 30. Das führt bei solchen Betrieben natürlich zu der berechtigten Befürchtung, dass sie mit schöner Regelmäßigkeit über der Kennzahl 2 liegen werden und immer wieder aufs Neue einen Maßnahmenplan einreichen müssen und auch mit behördlichen Maßnahmen zu rechnen haben, da sie aufgrund der Betriebsstruktur praktisch keine Chance haben, eine Unterschreitung der Kennzahl 2 zu erreichen. Aber auch hier gibt es „gute“ und „weniger gute“ Betriebe, zwischen denen zur Wahrung der Verhältnismäßigkeit differenziert werden sollte. In NRW soll deshalb eine Binnendifferenzierung auf der Basis der verfügbaren Kennzahlen und noch zu bildender Größenklassen vorgenommen werden.

Bei den Mastrindern > 8 Monate sollten angesichts der häufig zu konstatierenden Einzelfallbehandlungen die Maßnahmenpläne so einfach wie möglich gehandhabt werden. So kann in NRW auf solche stattgefundenen Einzelfallbehandlungen Bezug genommen werden, wenn sie für die festgestellte individuelle Therapiehäufigkeit plausibel sind. Weitere „Maßnahmen“ sind dann entbehrlich, da kranke Tiere schließlich behandelt werden müssen. Aus Sicht der unmittelbar für die Überwachung zuständigen Behörden spräche einiges für einen zukünftigen Verzicht dieser Nutzungsart bei der Erhebung der Therapiehäufigkeit.

Die Fokussierung auf die Registriernummer zur Identifizierung der meldepflichtigen Einheiten der Tierhaltungsbetriebe kann dann Probleme bei der Kennzahlberechnung mit sich bringen, wenn sich darunter mehrere Stalleinheiten verbergen, die unterschiedliche Behandlungsdensitäten aufweisen. Da die Zahl aller unter dieser Registriernummer erfassten durchschnittlich gehaltenen Tiere den Nenner in der Berechnungsformel bildet, werden hohe Therapiehäufigkeiten in einzelnen Ställen sozusagen „wegdividiert“.

Eine Konsequenz aus dem ersten Erfassungsdurchgang ist jedenfalls, dass die zuständigen Behörden einen Kontrollschwerpunkt auf die Validität der eingegebenen Daten legen und aufgrund der gemachten Erfahrungen auch weiterhin legen werden. Bei vorwerfbaren Meldeverstößen müssen entsprechende Maßnahmen bis zur Einleitung von Bußgeldverfahren ergriffen werden. Dies ist nicht zuletzt eine Frage der Glaubwürdigkeit, da die Länder einerseits maßgeblich an der Ausgestaltung der 16. AMG-Novelle beteiligt waren und andererseits die Verantwortung für den Vollzug tragen.

Von verschiedenen Seiten wird bereits jetzt eine Anpassung des AMG zur Beseitigung von erkannten Fehlerquellen noch vor Ablauf des gesetzlichen Evaluierungszeitraums von fünf Jahren ins Spiel gebracht. Es bleibt abzuwarten, ob ernsthafte Initiativen in diese Richtung ergriffen werden. Eine punktuelle Anpassung wollte zumindest der zuständige Abteilungsleiter des BMEL auf dem bpt-Kongress in München am zweiten Oktoberwochenende nicht grundsätzlich ausschließen.

### 3.10 Gesundheitsmonitoring bei Tieren: Gesamtmonitoring bei Schweinen

Dr. Bernhard Schindwein

Westfälisch-Lippischer Landwirtschaftsverband, Münster

Die aktuelle Diskussion über den Einsatz von Antibiotika in der Tierhaltung im Zusammenhang mit der Entstehung von Antibiotikaresistenzen und Bakterien im Stall macht deutlich, dass die konsequente Verbesserung der Tiergesundheit von zentraler Bedeutung für landwirtschaftliche Betriebe in der Zukunft ist. Die in Kraft getretene Novelle des Arzneimittelgesetzes sieht Maßnahmen vor, die den Einsatz von Antibiotika verringern sollen. Im Zusammenhang mit der Prävention von Tierseuchen und Tierkrankheiten kommt der Verbesserung der Tiergesundheit ebenfalls eine zentrale Rolle zu.

Neben der Tiergesundheit braucht es tiergerechtere Lösungen im Sinne des Tierschutzes und des Tierwohls. Von besonderem Interesse sind hierbei die Kastration männlicher Ferkel und das „routinemäßige“ Kürzen des Schwanzes bei Schweinen

Vor dem Hintergrund der gesellschaftlichen Diskussion um Tiergesundheit und Tierwohl wurde die „Initiative Tierwohl“ für die Geflügel- und Schweinefleischerzeugung gegründet. Hierauf verständigten sich führende Vertreter aus Landwirtschaft, Fleischwirtschaft und Lebensmitteleinzelhandel. Damit ist ein klares Bekenntnis der gesamten Wertschöpfungskette für eine nachhaltige Fleischerzeugung unter Berücksichtigung des Tierwohls sowie der Tiergesundheit und des Tierschutzes gegeben worden.

Zur Stärkung einer nachhaltigen und wettbewerbsfähigen Tierhaltung in Nordrhein-Westfalen hat sich deshalb ein Forum zur Verbesserung von Tiergesundheit und Tierwohl gegründet. An diesem Forum beteiligen sich die Landwirtschaftskammer NRW, verschiedene Erzeugerringe, die beiden Tierärztekammern, die Tierseuchenkasse NRW, Verbände der Landwirtschaft sowie die IQ-Agrar Service GmbH als Datenbankdienstleister. Wissenschaftlich begleitet wird das Forum durch den Fachbereich Agrarwirtschaft der Fachhochschule Südwestfalen.

Die an dem Forum beteiligten Organisationen schaffen ein erweitertes Beratungssystem für Tiergesundheit und Tierwohl, das

- die Einführung und Weiterentwicklung einer innovativen Gesundheitsberatung,
- die Umsetzung präventiver Hygienemaßnahmen und
- die Weiterentwicklung eines Beratungskonzeptes zum Vermeiden von Caudophagie

umfasst.

Konkret umfasst das Beratungskonzept für mehr Tiergesundheit und Tierwohl folgende Elemente:

- Identifizierung wesentlicher Parameter für Tiergesundheit und Tierwohl. Dazu zählen u. a. die Diagnose der Tiergesundheit über Blutparameter, die Ergebnisse von Sektionen, Stallklimadaten, Daten über die Qualität von Futter und Wasser.
- Weiterentwicklung und Etablierung der im Projekt „Gesunde Tiere – gesunde Lebensmittel“ angelegten Datenbank für das Tiergesundheitsberatungssystem für Landwirte wie für Beratungsorganisationen. Dies beinhaltet die Gestaltung einer anwenderfreundlichen

Oberfläche, die Vernetzung mit anderen Datenbanken (z. B. QS-Datenbanken für Antibiotika und Salmonellen) und die Nutzung von Auswertungstools.

- Entwicklung von passenden Beratungspaketen für landwirtschaftliche Betriebe, um größtmögliche Akzeptanz der Landwirte durch individualisierbare Pakete bzw. darauf basierende Beratungen anbieten zu können. In Gruppengesprächen mit den Landwirten, den Beratern und den Hoftierärzten sollen die Inhalte der Beratungspakete erarbeitet werden.
- Entwicklung eines Beratungskonzeptes zur Vermeidung von Caudophagie auf landwirtschaftlichen Betrieben nach vorhergehender Ursachenidentifikation. Hierzu wurden landwirtschaftliche Betriebe durch Informationsschreiben, Publikationen in Fachzeitschriften informiert und aufgefordert, sich zu melden. Ein Arbeitsblatt mit Hinweisen zur Vermeidung von Caudophagie wurde erstellt und bei Betriebsbesuch eines/einer wissenschaftlichen Mitarbeiter/in vor Ort angewendet. Auf den sich beteiligenden Betrieben werden Daten zur Futter- und Wasserversorgung, Haltungsfaktoren sowie Stallklima erhoben. Darüber hinaus werden Wasser-, Futter- und Blutproben gewonnen und analysiert. Zeitgleich erfolgt eine produktionstechnische Betriebsberatung, gegebenenfalls wird diese wiederholt.
- Begleitung landwirtschaftlicher Betriebe bei der Mast nicht kupierter Schweine. Voraussetzung dafür ist, dass die Betriebe ihr Managementsystem optimiert haben, frei von Caudophagie sind und in den Verzicht auf das Schwanzkupieren einsteigen werden. Begleitend werden Koordinationstreffen der beteiligten Organisationen sowie Workshops mit Interessierten aus Forschung und Praxis durchgeführt und die Ergebnisse in der landwirtschaftlichen Fachpresse publiziert.
- Verstärkung einer präventiven Hygieneberatung, u. a. mit Verbesserung der Reinigung und Desinfektion, der Tränkwasserhygiene, der Futter- und Fütterungshygiene mit dem Ziel der Keimzahlreduktion.
- Organisation und Durchführung von Fortbildungs- und Schulungsmaßnahmen.
- Außendarstellung in der Fachpresse und auf Branchenveranstaltungen.
- Einrichtung einer Koordinierungsstelle.

### **Fazit**

Ziel ist die breite Vertiefung einer Tiergesundheits- und Tierwohlberatung und deren flächendeckende Etablierung in der Bestandsbetreuung. Dazu werden bestehende Beratungskonzepte weiterentwickelt, so dass sie in der breiten landwirtschaftlichen Praxis und Beratung Anwendung finden. Davon profitieren die Schweine haltenden Betriebe über eine verbesserte individualisierte Beratung

### 3.11 Integrated Analysis of Data on Resistance and Antimicrobial Consumption from the Human and Animal Sectors in Europe. The ECDC/EFSA/EMA JIACRA Report

Pierre Alexandre Beloeil

European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy, on behalf of the JIACRA Working Group

The ECDC, the EFSA and the EMA have for the first time jointly explored possible relationships between consumption of antimicrobials in humans and food-producing animals, and antimicrobial resistance in bacteria from humans and food-producing animals, using 2011 and 2012 data currently available from their relevant five EU monitoring networks. As agencies of the European Commission (EC), the ECDC, the EFSA and the EMA receive information annually from the EU Member States and other European reporting countries. The datasets used have been established for primary purposes other than the current integrated analyses, and the analyses focused on certain combinations of antimicrobials and bacterial species. This report was prepared following a mandate from the EC.

Comparison of antimicrobial consumption data in animals and humans in 2012, both expressed in milligrams per kilogram of estimated biomass, revealed that overall antimicrobial consumption was higher in animals (144.0 mg/kg, range: 3.8–396.5 mg/kg) than in humans (116.4 mg/kg, range: 56.7–175.8 mg/kg), although contrasting situations were observed between countries. Consumption in food-producing animals was lower or much lower than in humans in 15 of 26 countries, in three countries it was similar, and in eight countries consumption in food-producing animals was higher or much higher than in humans. The consumption of several antimicrobials extensively used in animal husbandry was higher in animals than in humans, while consumption of antimicrobials critically important for human medicine (such as fluoroquinolones and 3rd - and 4th - generation cephalosporins) was higher in humans.

To analyse the relationship between consumption of antimicrobials and resistance in bacteria from food-producing animals, a summary indicator of the proportion of resistant bacteria in the main three food-producing animal species was calculated for the analysis, as consumption data in food-producing animals were not available at the species level. Combined data on antimicrobial consumption and corresponding resistance in animals and humans for EU MSs and reporting countries were analysed using logistic regression models for the combinations of bacteria and antimicrobials selected.

In both humans and animals, positive associations between consumption of antimicrobials and the corresponding resistance in bacteria were observed for most of the combinations investigated. In food-producing animals, the strongest associations between consumption and resistance were found for the antimicrobials studied in relation to indicator *Escherichia coli*. Positive associations were also noted for *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. In some cases, a positive association was also found between antimicrobial consumption in animals and resistance in bacteria from humans.

While highlighting findings of concern, these results should be interpreted with caution owing to current data limitations and the complexity of the antimicrobial resistance phenomenon, which is influenced by several factors besides antimicrobial consumption. Other factors that would have to be considered are resistance to other antimicrobials (co-resistance/co-selection phenomena), travel by humans, import and trade of food, and trade of live animals both between and within countries. Improvement of existing systems should enable better integrated analyses of consumption of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from humans and food-producing animals in the future.

The findings in ecological analyses such as those presented in this report should be considered as hypotheses for subsequent testing by focused research that in time could provide more definitive explanations for the observed associations. In any case, responsible use of antimicrobials in both humans and animals should be promoted.

### 3.12 Antibiotikaeinsatz in der Geflügelhaltung und Resistenzsituation in Österreich – eine Zusammenhangsanalyse

Mag.a Antonia Griesbacher<sup>1</sup>, H. Sun<sup>1</sup>, P. Much<sup>1</sup>, R. Fuchs<sup>1</sup>, S. Weber<sup>2</sup>, K. Fuchs<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit (AGES), Graz, antonia.griesbacher@ages.at;

<sup>2</sup>QGV – Österreichische Qualitätsgeflügelvereinigung, Tulln

Um geeignete Maßnahmen gegen die steigenden Resistenzraten ergreifen zu können, ist es notwendig, den Antibiotika-Einsatz und die Ausbildung von resistenten Keimen zueinander in Beziehung zu setzen, um die vielschichtigen Mechanismen besser zu verstehen.

Als Datenquellen für diesen Vortrag dienen der Datensatz für die Jahre 2013 und 2014 aus der Datenbank der Österreichischen Qualitätsgeflügelvereinigung (QGV), in der alle Geflügelherden und Antibiotika-Verschreibungen inkl. der Anwendungsmengen auf Herdenbasis aufgezeichnet werden (Griesbacher et al., 2014<sup>1</sup>), und die Daten aus dem österreichischen Resistenzmonitoring (Much und Sun<sup>2</sup>, 2013). Die Proben aus dem Resistenzmonitoring sind mit einer Herden-ID versehen. Somit ist es möglich, den Einfluss von Antibiotika-Einsatzmengen auf die Bildung von resistenten Keimen direkt auf Herdenbasis nachzuprüfen.

Für die vorliegende Studie wurden die Daten für die Geflügelsparten Masthühner und Puten bzw. die Keime *C. jejuni* und *E. coli* herangezogen. Die Isolate wurden anhand der MHK-Werte nach den epidemiologischen Grenzwerten in resistent/nicht resistent eingeteilt. Zusätzlich wurde für alle *C. jejuni*-Isolate der Resistenzscore nach Ruddat<sup>3</sup> berechnet. Dieser Score berechnet sich für jedes Isolat aus den MHK-Werten für die verschiedenen Wirkstoffe und ist umso höher, je mehr Resistenzen ein Isolat aufweist.

Als statistische Werkzeuge kommen generalisierte lineare Modelle wie logistische Regression und Poisson-Modelle bzw. ordinale Regressionsmodelle zum Einsatz, um signifikante Beziehungen zwischen den Antibiotika-Einsatzmengen und den Resistenzraten bzw. minimalen Hemmkonzentrationen (MHK) zu untersuchen. Dabei werden sowohl getrennte Modelle für jeden Wirkstoff berechnet, als auch Gesamtmodelle, in denen das multivariate Resistenzprofil zu einer Zielgröße zusammengefasst wird. Als Einflussgrößen wurden die verschriebene Menge an Antibiotika, Herdengröße, regionale und temporäre Effekte, die Herkunft der Herde und die Integration in die Modelle miteinbezogen.

Bei den Masthühnern konnte kein statistisch signifikanter Einfluss der Menge der Antibiotikagaben auf die Resistenzbildung festgestellt werden. Lediglich regionale Unterschiede und Unterschiede zwischen verschiedenen Brütereien und Integrationen waren festzustellen. Betrachtet man hingegen die Puten, so finden sich hier starke Hinweise auf den Zusammenhang zwischen dem Antibiotika-Einsatz und der Ausbildung von resistenten Keimen. Zusätzlich konnten regionale Unterschiede und Unterschiede zwischen verschiedenen Brütereien bzw. zwischen verschiedenen Elterntierbetrieben beobachtet werden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Resistenzbildung sicher nicht allein durch den Antibiotika-Einsatz verursacht wird, allerdings legen die präsentierten Ergebnisse nahe, dass er zumindest bei den Puten, die deutlich mehr Antibiotika-Gaben als Masthühner erhalten, eine nicht zu unterschätzende Rolle spielt. Weitere Forschung, die untersucht, wie stark der Einfluss tatsächlich ist, ist vonnöten und wird von Seiten der AGES angestrebt.

#### Literatur

[1] Griesbacher, A; Obritzhauser, W; Scheriau, S.; Schleicher, C.; Stüger, HP; Fuchs, K. (2014)

„Modellierung von Antibiotika-Verschreibungsmengen in der österreichischen Geflügelproduktion von 2008 – 2012 mit Hilfe von Cumulative Link Mixed Models.“

Vortrag DACH-Tagung, Sep 2014, Zürich

[2] Much, P; Sun, H. (2013)

„Antibiotikaresistenz bei ausgewählten Zoonoseerregern und Indikatorbakterien - Daten aus dem Veterinärbereich, 2013.“

aus: Resistenzbericht Österreich AURES 2013,

<http://bmg.gv.at/cms/home/attachments/9/2/1/CH1318/CMS1416214760260/aires2013.pdf>

[3] Ruddat, I. (2013)

„Multivariate Analyse der Basistypisierung von Bakterien unter Berücksichtigung epidemiologischer Information“  
Dissertation, Hannover



### 3.13 Reduction in Antimicrobial Use in Animals – Do We See Effects on Antimicrobial Resistance?

Prof. Dr. Dik Mevius

Central Veterinary Institute (CVI), part of Wageningen UR, The Netherlands

In 2014 the sales of antimicrobial veterinary medicinal products (207 tonnes) decreased by 4.4 %, compared to 2013 (217 tonnes). The total sales decreased from 2009, the index year as defined by the Ministry of Economic Affairs, to 2014 by 58.1 %. This means that the policy objective for 2015, a 70 % reduction compared to 2009, will be a challenge. Compared to 2007, the year with highest sales (565 tonnes), the decrease in sales is 63 %.

Although major reductions in use in livestock of 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> generation cephalosporins and fluoroquinolones were realized, total sales of both groups increased by 4.3 % and 2.4 %, respectively. This was due to usage in animal species which are at present not monitored.

It can be concluded that antibiotic sales for animals have decreased substantially from 2007 to 2013. In 2014 the reduction in use levelled off in most animal species except for poultry and dairy cattle. In poultry the use increased while in dairy cattle a substantial decrease in use was observed. This usage pattern was reflected in the resistance data of 2014. After a decrease observed since 2011, the resistance levels stabilized in 2014 in bacterial organisms sampled from all animal species, including occurrence of cefotaxime resistant ESBL-suspected *E. coli* in the gut of broilers. However, the proportion of poultry meat products contaminated with ESBLs showed a tendency to decrease in 2014 compared to previous years. These findings indicate that reductions in the total quantity of antibiotics used in the Netherlands and in 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> generation cephalosporins have been effective in reducing the general levels of antimicrobial resistance and the levels of ESBLs to a certain extent. However the current levelling off in antibiotic use was directly followed by a stabilization of resistance levels. This may warrant a re-evaluation of the current targets for antibiotic use in relation to targets for antimicrobial resistance in animals and food thereof.



### 3.14 Horizontaler Gentransfer und seine Bedeutung für die Resistenzausbreitung

Andrea T. Feßler, Kristina Kadlec, Geovana Brenner Michael und Stefan Schwarz

Institut für Nutztiergenetik, Friedrich-Loeffler-Institut (FLI), Neustadt-Mariensee

Antibiotikaresistenz und deren Ausbreitung stellt ein ernst zu nehmendes Problem in der Tier- und Humanmedizin dar. Die Ausbreitung von Resistenzeigenschaften kann vertikal und horizontal erfolgen. Die unterschiedlichen Verbreitungswege sind für das Verständnis der Resistenzausbreitung von großer Bedeutung und sollen im Folgenden erläutert werden.

Bei der vertikalen Verbreitung werden die Resistenzeigenschaften durch Zellteilung an die Nachkommen weiter gegeben. Auf diese Weise können nicht nur chromosomal lokalisierte Resistenzgene und resistenzvermittelnde Mutationen (z. B. gegenüber Fluorchinolonen, Spectinomycin, Rifampicin), sondern auch Plasmide weiter gegeben werden. Im Gegensatz dazu ermöglicht der horizontale Gentransfer einen Austausch von Resistenzgenen zwischen unterschiedlichen Bakterien. Voraussetzung dafür ist die Lokalisation des entsprechenden Resistenzgens auf einem mobilen genetischen Element. Beispiele für mobile genetische Elemente sind in erster Linie Plasmide, Transposons, Genkassetten sowie integrative und konjugative Elemente (ICEs).

**Plasmide** repräsentieren extrachromosomale, doppelsträngige, meist ringförmige DNA-Moleküle unterschiedlicher Größe. Sie sind zur eigenständigen Vermehrung unabhängig von der chromosomalen DNA befähigt. Plasmide liegen in unterschiedlicher Kopienzahl pro Bakterienzelle vor und tragen häufig Antibiotikaresistenzgene. Sie können aber auch Gene für ihre Übertragung in andere Bakterienzellen, Virulenzgene oder Gene für metabolische Eigenschaften besitzen. Insbesondere größere Plasmide können auch kleinere Plasmide oder Transposons als Integrate aufweisen. Beispiele für Plasmide sind einerseits das 4,8 kb große Plasmid pKKS49 von *Staphylococcus aureus*, das nur über ein Resistenzgen, das Apramycin-Resistenzgen *apmA* verfügt, andererseits aber auch das 49 kb große Multiresistenzplasmid pAFS11 von *S. aureus*, das zusätzlich zum *apmA*-Gen vier weitere antimikrobielle Resistenzgene [*aadD*, *tet(L)*, *dfkK* und *erm(B)*] trägt und somit Resistenz gegenüber Apramycin, Kanamycin/Neomycin, Tetrazyklin, Trimethoprim und Makroliden/Linkosamiden/Streptogramin B vermittelt. Das *erm(B)*-Gen auf dem Plasmid pAFS11 ist Teil eines Relikts des Transposons Tn917. Plasmid pAFS11 verfügt zudem über Gene, die Resistenz gegenüber Kupfer und Cadmium vermitteln.

**Transposons** stellen mobile genetische Elemente dar, die ebenfalls aus doppelsträngiger DNA bestehen und zum Ortswechsel (Transposition) befähigt sind. Im Gegensatz zu Plasmiden verfügen Transposons nicht über die Fähigkeit zur eigenständigen Vermehrung; sie sind daher immer auf ein vermehrungsfähiges Vektormolekül (chromosomale DNA oder Plasmide), in das sie integrieren, angewiesen. Transposons variieren in ihren Größen und in ihrem Aufbau und können ein oder mehrere Antibiotikaresistenzgene tragen. Größere Transposons können ebenfalls Gene besitzen, deren Genprodukte einen eigenständigen Transfer in andere Bakterienzellen ermöglichen. Kleinere nicht-konjugative Transposons wie Tn554 mit den Resistenzgenen *erm(A)* und *spc*, Tn558 mit dem Resistenzgen *fexA* und Tn559 mit dem Resistenzgen *dfkK* werden häufig bei Staphylokokken von Tieren nachgewiesen.

**Genkassetten** stellen kleine mobile genetische Elemente dar, die üblicherweise lediglich ein Gen, meist ein Antibiotikaresistenzgen, und eine spezifische Rekombinationsstelle besitzen. Sie unterscheiden sich von Plasmiden durch das Fehlen von Replikationssystemen und von Transposons durch das Fehlen von Transpositionssystemen. Genkassetten liegen meist an einer spezifischen Stelle in ein „Integron“ integriert vor. Ihre Mobilität basiert auf ortsspezifischen Rekombinationsprozessen, welche von einer Integrase des jeweiligen Empfänger-

integrations katalysiert werden. Die Genkassetten besitzen in der Regel keine Promotorstrukturen, sondern werden von einem Promotor im jeweiligen Integron aus transkribiert. Da intakte, aber auch defekte Transposons häufig als Integrations fungieren, findet man Integrationsstrukturen, die Genkassetten enthalten, sowohl in der chromosomalen DNA der Bakterien als auch auf Plasmiden. Genkassetten, die die Gene *aadA* (kombinierte Streptomycin- und Spectinomycinresistenz) oder *dfrA* (Trimethoprimresistenz) tragen, kommen häufig bei *Escherichia coli* und *Salmonella enterica* von Tieren vor.

**Integrative und konjugative Elemente (ICEs)** stellen größere, meist chromosomal lokalisierte doppelsträngige DNA-Elemente dar, die mittels Konjugation ausgetauscht werden. Dabei vereinigen sie die integrativen Eigenschaften von Transposons oder Bakteriophagen mit dem Übertragungsmechanismus konjugativer Plasmide. ICEs integrieren präferenziell in bestimmte tRNAs in der chromosomalen DNA. ICEs verfügen über Regionen, die die Gene für den konjugativen Transfer, aber auch die Integration in das Wirtsgenom und die Exzision aus dem Wirtsgenom enthalten. Daneben verfügen viele ICEs über akzessorische Genregionen, die antimikrobielle Resistenzgene enthalten. Mittels Gesamtgenomanalyse eines multi-resistenten bovinen *Pasteurella multocida*-Isolats wurde das ICE *Pmu1* identifiziert, das über 12 Gene für Resistenzen gegenüber Streptomycin/Spectinomycin (*aadA25*), Streptomycin (*strA* und *strB*), Gentamicin (*aadB*), Kanamycin/Neomycin (*aphA1*), Tetrazyklinen [*tetR-tet(H)*], Chloramphenicol/Florfenicol (*floR*), Sulfonamide (*sul2*), Tilmicosin/Clindamycin [*erm(42)*], Tilmicosin/Tulathromycin [*msr(E)-mph(E)*] und Penicillinen (*bla<sub>OXA-2</sub>*) verfügt, die somit mittels eines einzigen Transferprozesses auf einen neuen Wirt übertragbar sind.

Mobile genetische Elemente können auf drei verschiedene Arten übertragen werden und zwar mittels Transformation, Transduktion und Konjugation/Mobilisierung.

Die Übertragung von reiner DNA in aufnahmebereite („kompetente“) Empfängerzellen erfolgt unter Laborbedingungen meist in Form der **Transformation** oder **Elektrotransformation**. Bei einigen Bakterien, wie verschiedenen *Streptococcus*- oder *Bacillus*-Arten, spielt die Transformation auch unter *in-vivo* Bedingungen eine nicht unerhebliche Rolle.

Die **Transduktion** beschreibt den Transfer von Resistenzplasmiden mittels Bakteriophagen. Hierbei kommt es beim Zusammensetzen der Phagen im Zytoplasma der Bakterienzelle zur irrtümlichen Verpackung von Plasmiden in den Phagenkopf. Die daraus resultierenden Pseudophagen sind zwar in der Lage, nach ihrer Freisetzung an neue Bakterienzellen anzuhängen. Anstelle ihrer eigenen Erbinformation injizieren sie aber die fehlverpackte Plasmid-DNA in die neue Wirtszelle und ermöglichen so die Verbreitung der Resistenzplasmide in neue bakterielle Wirte. Die Möglichkeit zur Transduktion chromosomal lokalisierter Resistenzgene besteht immer dann, wenn diese in unmittelbarer Nähe eines chromosomal integrierten Prophagen lokalisiert sind, bei einer ungenauen Exzision des Prophagen Bestandteil des Phagenoms werden und mit dem Phagen in neue Wirtszellen verbreitet werden.

Die **Konjugation** beschreibt den eigenständigen Transfer eines selbstübertragbaren (konjugativen) Plasmides oder Transposons aus einer Spenderzelle in eine Empfängerzelle. Konjugative Plasmide oder Transposons verfügen über einen sogenannten *tra*-Genkomplex. Die Produkte dieses Genkomplexes stellen einzelne Komponenten des Transferapparates dar, mit dessen Hilfe sich die Plasmide oder Transposons von einer Bakterienzelle in die nächste bewegen. Der konjugative Transfer verläuft in der Regel so, dass eine Kopie des betreffenden resistenzvermittelnden Elementes in der Spenderzelle verbleibt und eine weitere Kopie in die Empfängerzelle gelangt. Konjugative Plasmide und Transposons sowie ICEs können kleinen nicht-konjugativen Plasmiden, die sich in der gleichen Bakterienzelle befinden, den Wechsel in die neue Wirtszelle ermöglichen, indem sie diesen Plasmiden ihren Transferapparat zur Verfügung stellen. Diesen Vorgang bezeichnet man als **Mobilisierung**.

Die vorab erläuterten horizontalen Gentransferprozesse (insbes. Transduktion, Konjugation und Mobilisierung) erfolgen innerhalb von Bakterienpopulationen des gleichen Wirtes, unabhängig davon, ob dieser Wirt Mensch oder Tier ist. Resistente Bakterien können aber auch zwischen verschiedenen Wirtstieren oder aber zwischen Menschen und Tieren übertragen werden und nach dem Transfer auf einen neuen Wirt, ihre Resistenzgene über die vorab genannten Wege mit Bakterien des neuen Wirts austauschen. Beim horizontalen Gentransfer können Intraspezies-Transfer, die Übertragung innerhalb einer Bakterienspezies (z. B. *Staphylococcus aureus* ↔ *Staphylococcus aureus*), Interspezies-Transfer, die Übertragung zwischen verschiedenen Spezies des gleichen Genus (z. B. *Staphylococcus aureus* ↔ *Staphylococcus hyicus*) und Intergenust-Transfer, die Übertragung von Genen zwischen Bakterien unterschiedlicher Genera (z. B. *Enterococcus faecalis* ↔ *Staphylococcus aureus*), unterschieden werden. Insbesondere der Intergenusttransfer ist für die rasche Ausbreitung von Resistenzgenen innerhalb einer bakteriellen Mischpopulation, wie sie unter anderem im Darm, Respirationstrakt oder auf der Haut von Menschen und Tieren zu finden ist, von großer Bedeutung. Für einen effizienten Transfer sind verschiedene Faktoren unverzichtbar: (a) die Resistenzgene müssen auf mobilen genetischen Elementen (Plasmide, Transposons) lokalisiert sein, (b) es muss ein enger räumlicher Kontakt zwischen den Bakterien bestehen und (c) ein entsprechender Selektionsdruck, welcher im Wesentlichen auf der Anwendung der entsprechenden antimikrobiellen Wirkstoffe beruht, ist erforderlich. Die Tatsache, dass Plasmide, Transposons und ICEs mitunter mehrere unterschiedliche Resistenzgene tragen, birgt die Gefahr, dass unter dem Einsatz eines einzigen Wirkstoffes, im Zuge des Transfers solcher Plasmide, Transposons und ICEs Resistenzen gegenüber anderen Wirkstoffen mitübertragen werden. Unter solchen Umständen ist selbst bei einem kompletten Verzicht auf den Einsatz des betreffenden Wirkstoffes kein Rückgang der Resistenzraten zu erwarten.



### 3.15 Resistente Keime in der Tierhaltung: wie groß ist ihr Beitrag zur Kolonisation des Menschen?

PD Dr. Annemarie Käsbohrer, Lars Valentin, Hannah Jabin

Bundesinstitut für Risikobewertung, Abteilung Biologische Sicherheit, Berlin

Die Entwicklung von Resistenzen gegen therapeutisch wichtige Antibiotika ebenso wie die Verbreitung von multiresistenten Keimen stehen derzeit im Zentrum des öffentlichen Interesses. Der Nutztierhaltung, insbesondere in Form der Intensivtierhaltung, wird in der Presse wie in der allgemeinen Wahrnehmung bei der Exposition des Menschen mit derartigen Resistenzen häufig eine wichtige Rolle zugeschrieben. Daher soll nachfolgend beleuchtet werden, ob und ggf. in welchem Umfang dies wissenschaftlich belegt werden kann.

Bei der Bewertung der Bedeutung verschiedener Expositionswege des Menschen mit resistenten Keimen muss generell unterschieden werden, ob die Ausbreitung von bestimmten Keimen mit ihren Resistenzeigenschaften betrachtet wird, oder ob eine Fokussierung auf Resistenzdeterminanten erfolgt.

Für die klassischen Erreger von Lebensmittel bedingten Infektionen des Menschen, wie z. B. Salmonellen oder auch *Campylobacter*, wird vorwiegend eine klonale Ausbreitung und ggf. Aufnahme der Keime durch den Menschen beobachtet. Auch für Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) erlaubt die gezielte Beobachtung der Verbreitung von Vertretern des klonalen Komplexes 398 eine Bewertung der Bedeutung der möglichen Expositionswege und weist auf die besondere Bedeutung der Übertragung durch direkten Tierkontakt hin.

Im Gegensatz dazu stellt die Abschätzung der Bedeutung von Keimen in der Tierhaltung mit Resistenzdeterminanten, die auf mobilen genetischen Elementen lokalisiert sind und somit zwischen Erregern verschiedener Spezies und Genera ausgetauscht werden können, eine besondere Herausforderung dar. So sind insbesondere Resistenzgene für Beta-Laktamasen mit erweitertem Wirkspektrum (sog. Extended-Spektrum Beta-Laktamasen) wie auch solche für Carbapenemasen häufig auf Plasmiden lokalisiert. Hierdurch besteht die Möglichkeit, andere, für den Menschen bereits pathogene Erreger zusätzlich mit Antibiotikaresistenzgenen auszustatten. Man bezeichnet diesen Weg, auf dem Bakterien untereinander genetische Eigenschaften austauschen, als horizontalen Gentransfer.

Betrachtet man die Verteilung dieser Resistenzgene für ESBLs, so belegen aktuelle Studien, dass bei *E. coli*-Isolaten von Nutztieren, Heimtieren und vom Menschen häufig die gleichen ESBL-Gene nachgewiesen werden können, allerdings mit unterschiedlicher Häufigkeit. Diese Gene sind in den meisten Fällen aber auf verschiedenen *E. coli*-Stämmen lokalisiert, was wiederum die Bedeutung des horizontalen Gentransfers bekräftigt. In welchem Ausmaß ESBL-bildende Bakterien von Nutztieren und Lebensmitteln zum Vorkommen von Infektionen mit ESBL-bildenden Bakterien in der Humanmedizin beitragen, kann derzeit nicht sicher quantifiziert werden. Dass diese Übertragung stattfindet, gilt aber als gesichert. Aktuelle Ergebnisse zeigen, dass die verschiedenen Nutztierarten, aber auch Heimtiere zur Exposition und ggf. Besiedelung des Menschen beitragen können.





### 3.16 Untersuchungen zum Vorkommen Carbapenem-resistenter Enterobakterien in deutschen Nutztierhaltungen und deren Molekularbiologische Charakterisierung

Dr. Nicole Roschanski<sup>1</sup>, Jennie Fischer<sup>2</sup>, Anika Friese<sup>1</sup>, Annemarie Käsbohrer<sup>2</sup>, Lothar Kreienbrock<sup>3</sup>, Yvonne Pfeifer<sup>4</sup>, Beatriz Guerra<sup>2,§</sup> und Uwe Rösler<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Freie Universität Berlin - Institut für Tier- und Umwelthygiene, <sup>2</sup> Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin – NRL- Antibiotikaresistenz, <sup>3</sup> Tierärztliche Hochschule Hannover, Institut für Biometrie, Epidemiologie und Informationsverarbeitung, <sup>4</sup> Robert-Koch Institut, Wernigerode; FG 13: Nosokomiale Infektionserreger und Antibiotikaresistenzen, <sup>§</sup> Derzeitiger Arbeitsort: Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA), Parma – Referat: Biological Hazards and Contaminants

Steigende Zahlen antibiotikaresistenter Bakterien führen zunehmend zu Schwierigkeiten bei der Wahl geeigneter Therapieoptionen. Carbapeneme stellen aufgrund ihres breiten Wirtsspektrums und ihrer hohen Stabilität gegen  $\beta$ -Laktamasen (darunter auch den meisten Extended Spektrum Beta-Laktamasen (ESBL) sowie Enzymen vom Typ AmpC) im Bereich der Humanmedizin derzeit eine der letzten verfügbaren Behandlungsmöglichkeiten für Infektionen mit multiresistenten Bakterien dar. Aus diesem Grund wurden die Carbapeneme von der WHO als Reserveantibiotikum eingestuft (WHO, 2011). Die steigenden Zahlen Carbapenem-resistenter Enterobakterien (CRE) im humanmedizinischen Umfeld, ebenso wie deren Funde im Bereich der Veterinärmedizin und der Nutztierhaltung bedürfen daher einer aufmerksamen Beobachtung (Nordmann et al., 2011; Glasner et al., 2013; Guerra et al., 2014; Woodford et al., 2014).

Als 2012 im Rahmen des nationalen Verbundprojektes RESET ([www.reset-verbund.de](http://www.reset-verbund.de)) die ersten *bla*<sub>VIM-1</sub>-bildenden *Salmonella* Infantis und *E. coli* Isolate in den Stallungen bzw. der Umgebung von zwei deutschen Schweinemast (S1 und S2) sowie einem Mastgeflügelbetrieb (G1) gefunden wurden (Fischer et al., 2012, 2013), stellte sich EU-weit die Frage, ob es unbemerkt zu einer großflächigen Ausbreitung derartiger Resistenzgene in den Nutztierhaltungen gekommen ist (EFSA, 2013). Daher wurde damit begonnen die in den Jahren 2011-2013 im Rahmen des RESET-Programms gesammelten Proben deutscher Nutztierhaltungen retrospektiv auf das Vorkommen von CRE zu untersuchen. In einem Screening von 238 vorhandenen Mischkulturen (vormals gewonnen aus Sammelkot und Sockentupfern), gesammelt in 58 Schweinemastbetrieben, konnten auf einem Betrieb *bla*<sub>VIM-1</sub> bildende *E. coli* nachgewiesen werden. Bei diesem Betrieb handelte es sich um den bereits von Fischer et al. beschriebenen Betrieb „S2“ (Fischer et al., 2013). Aus Proben von vier weiteren Betrieben wurden auffällige enterobakterielle Isolate (1 *E. coli*, 2 *Enterobacter*, 1 *Proteus penneri*) isoliert. Weiterführende Untersuchungen haben hier jedoch keine Rückschlüsse auf das Vorhandensein einer Carbapenemase zugelassen. In einer parallel verlaufenden Studie wurden alle asservierten Proben der zuvor VIM-1 positiv getesteten Betriebe systematisch auf das Vorhandensein von Carbapenemasen untersucht. Dabei stellte sich lediglich der Betrieb „S2“ als hoch prävalent heraus. Darüber hinaus konnte eine weitere VIM-1 positive *S. Infantis* in einer Einzeltierkotprobe auf einem dritten Schweinemastbetrieb „S3“ identifiziert werden.

Die derzeit noch andauernde, retrospektive Untersuchung der im Rahmen des RESET-Programms asservierten Masthähnchenisolate hat neben dem 2013 beschriebenen *S. Infantis* (Fischer et al., 2013) einen weiteren Betrieb aufgezeigt, in dem *bla*<sub>VIM-1</sub> kodierende Enterobakterien (ein *E. coli* und eine *Salmonella* Subspezies Rauhform) gefunden wurden. Die nähere Charakterisierung dieser Isolate findet derzeit statt.

Aufgrund der besonderen Bedeutung dieser Thematik erfolgte im Juli dieses Jahres eine umfangreiche Nachuntersuchung des 2011 hoch prävalenten Schweinemastbetriebes „S2“. Dabei konnten keine VIM-positiven Enterobakterien nachgewiesen werden. Dieses Ergebnis ist von enormer Bedeutung da sich zeigt, dass ein gutes Reinigungs- und Desinfektionsmanagement in den Stallungen zu einem erfolgreichen eliminieren der multiresistenten Bakte-

rien beitragen kann. Darüber hinaus ist basierend auf den vorliegenden Daten festzustellen, dass das Vorkommen Carbapenemase-produzierender Enterobakterien in Nutztierhaltungen ein ernst zu nehmendes Thema darstellt, was einer kontinuierlichen Beachtung bedarf. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass die Durchführung konsequenter Monitoring-Programme notwendig ist um ein Auftreten der Carbapenemase-bildenden Enterobakterien erkennen und eine weitere Verbreitung unterbinden zu können.

#### Literatur

- EFSA, 2013. Scientific Opinion on Carbapenem resistance in food animal ecosystems. EFSA Journal 11.
- Fischer, J., Rodriguez, I., Schmoger, S., Friese, A., Roesler, U., Helmuth, R., Guerra, B., 2012. *Escherichia coli* producing VIM-1 carbapenemase isolated on a pig farm. J Antimicrob Chemother 67, 1793-1795.
- Fischer, J., Rodriguez, I., Schmoger, S., Friese, A., Roesler, U., Helmuth, R., Guerra, B., 2013. *Salmonella enterica* subsp. *enterica* producing VIM-1 carbapenemase isolated from livestock farms. J Antimicrob Chemother 68, 478-480.
- Glasner, C., Albiger, B., Buist, G., Tambic Andrasevic, A., Canton, R., Carmeli, Y., Friedrich, A.W., Giske, C.G., Glupczynski, Y., Gniadkowski, M., Livermore, D.M., Nordmann, P., Poirel, L., Rossolini, G.M., Seifert, H., Vatopoulos, A., Walsh, T., Woodford, N., Donker, T., Monnet, D.L., Grundmann, H., European Survey on Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae Working, G., 2013. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe: a survey among national experts from 39 countries, February 2013. Euro Surveill 18.
- Guerra, B., Fischer, J., Helmuth, R., 2014. An emerging public health problem: acquired carbapenemase-producing microorganisms are present in food-producing animals, their environment, companion animals and wild birds. Vet Microbiol 171, 290-297.
- Nordmann, P., Naas, T., Poirel, L., 2011. Global spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Emerg Infect Dis 17, 1791-1798.
- WHO, 2011. Critically Important Antimicrobials for Human Medicine. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data 3rd Revision.
- Woodford, N., Wareham, D.W., Guerra, B., Teale, C., 2014. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and non-Enterobacteriaceae from animals and the environment: an emerging public health risk of our own making? J Antimicrob Chemother 69, 287-291.

### 3.17 Carbapenemase in der Küche – Symptom oder Ursache?

Dr. Arthur P. Schiffmann

Landesbetrieb Hessisches Landeslabor, Gießen, arthur.schiffmann@lhl.hessen.de

Mit der Einführung einer Meldepflicht für multiresistente Keime (2012) bei klinisch-mikrobiologischen Untersuchungen an Patienten werden Carbapenem-resistente Keime in Hessen systematisch erfasst. Dabei lassen sich sowohl Tendenzen in der Verbreitung von resistenten Erregern auf Landes- wie auch regionaler Ebene darstellen. Die Meldepflicht hat aber auch dazu geführt, dass in einer Klinik über einen längeren Zeitraum (2013 / 2014) ein Anstieg Carbapenem-resistenter Enterobacteriaceae (4-MRGN) bei Rektalabstrichen von Patienten festzustellen war <sup>(1)</sup>.

Bei der Suche nach den Ursachen zeichnete sich letztendlich die Küche als möglicher zentraler Punkt für die Verbreitung innerhalb des Krankenhauses ab, an deren Ende alle Stationen betroffen waren mit Ausnahme der Neonatalstation.

Bei allen Mitarbeitern der Küche wurden Rachen- und Rektalabstriche entnommen. Bei keinem Mitarbeiter konnten 4-MRGN nachgewiesen werden. Da die Mitarbeiter auch Speisen aus der Küche aufgenommen hatten, konnte davon ausgegangen werden, dass bei den Patienten eine Antibiotikatherapie einen prädisponierenden Faktor darstellte.

Zunächst legten epidemiologische Studien einen Zusammenhang zwischen dem Verzehr von Salat bzw. Käse und der Besiedelung der Patienten nahe, der jedoch nicht bestätigt werden konnte. Darauf schloss sich eine umfangreiche Beprobung (n = 201) der Einrichtungen zur Herstellung der Speisen wie auch der Abwasserentsorgung sowie aller vorhandenen Rückstellproben von Speisen durch die Lebensmittel-Überwachungsbehörde und dem LHL an.

Die Beprobung der Arbeitsflächen erfolgte mittels Kratzschwämmen, die der Bodenflächen mittels Sockentupfern. Die Isolierung der Keime folgte einem Protokoll der DTU Food (EU Ref. Laboratory antimicrobial resistance) aus 25 g Lebensmittel bzw. dem Tupfer / Schwamme nach nicht-selektiver Anreicherung in gepuffertem Pepton 18-24h bei 37° C. Als Selektivmedien wurden ChromID Carba- und OXA-48-Agar (Fa. Biomerieux) sowie Brillance ESB<sup>L</sup>™ und Brillance CRE-Agar (Fa. Oxoid) eingesetzt. Alle Kolonien wurden mittels MALDI-TOF (Fa. Bruker) identifiziert. Die Isolate wurden zur weiteren Differenzierung an das Institut für medizinische Mikrobiologie des Universitätsklinikums Gießen-Marburg (Prof. E. Domann) sowie das nationale Referenzzentrum für gramnegative Krankenhauserreger an der Ruhr-Universität Bochum (Dr. M. Kaase) versandt <sup>(2)</sup>.

In sechs Umgebungsproben und zwei Rückstellproben konnten Keime nachgewiesen werden, die dasselbe KPC-2 Plasmid (*bla<sub>TEM</sub> upstream von bla<sub>KPC</sub>*) trugen wie die Patienten. In den Umgebungsproben wurden *C. freundii* (3x), *C. amalonaticus* (1x) und *K. oxytoca* (2x) nachgewiesen, in den Lebensmitteln jeweils *K. oxytoca* und *C. freundii*. Quantitativ konnten die Keime in den Lebensmitteln nicht nachgewiesen werden (Nachweisgrenze von 40 KbE/g).

Auf dem Fußboden und der Wasserabflussrinne konnten *K. oxytoca* und *C. freundii* nachgewiesen werden, auf dem Fußboden der Spülküche und der Siphonglocke des Abflusses *C. freundii*, *C. amalonaticus* und *K. oxytoca*, wie auch im Fettabscheider. Neben dem spezifischen KPC-2 Plasmid konnte in der Siphonglocke und in einem Pudding *E. asburiae* mit der Metallo-β-Lactamase VIM-1 nachgewiesen werden.

Ein Schlauch zum Befüllen der Reinigungsmaschine und eine Spirale zur Beseitigung von Verstopfungen der Abwasserleitungen waren ebenfalls kontaminiert.

Ein der Kontamination der Küche zugrunde zulegendes Lebensmittel konnte nicht ermittelt werden. Daher zeichneten sich zwei Szenarien ab.

Ausgehend von einem Patienten als Primärausscheider über die im Krankenhausbereich wie auch dem Küchenbereich eingesetzte Spirale zur Rohrreinigung wurden die Keime in das Abwassersystem und in die dort vorhandenen Biofilme eingetragen. Durch Rückstau von Wasser über dem Fettabscheider (ein Rückschlagventil fehlte) gelangten die Keime über die Abflurrinnen auf den Küchenboden. Bei der Reinigung unter Zuhilfenahme eines Schlauches wurden die Keime mit dem Spritzwasser in die ca. 30 cm über dem Boden, auf einem offenen Regal stehenden, gereinigten Schüsseln verteilt. In diesen Schüsseln wurden sowohl der Salat wie auch der kalte Pudding zubereitet.

Als zweite Möglichkeit kommen Aerosolabscheider in Betracht. Ein automatisches Sprühreinigungssystem ist mit dem Abwassersystem verbunden und zieht wiederum als Folge eines fehlenden Rückschlagventils und eines Unterdruckes im laufenden Küchenbetrieb Aerosole aus dem Abwassersystem an. Bei der nächsten Sprühreinigung verteilen sich neue Aerosole auf den Küchenoberflächen.

Die Antwort auf die Frage „Carbapenemasen in der Küche: Symptom oder Ursache?“ kann daher lauten: Symptom eines mangelhaften Hygienemanagements in der Küche und Ursache dafür, dass das Lebensmittel als Überträger von multiresistenten Keimen zu einer Besiedelung des Darmtraktes bei (bestimmten) Verbrauchern führen konnten.

Nach Abschluss der Untersuchungen stellte sich die Frage der Risikobewertung und damit der rechtlichen Beurteilung des Geschehens, insbesondere die Stellung der kontaminierten Lebensmittel, die zu einer Kolonisierung von Verbrauchern mit multiresistenten Keimen geführt haben.

Gemäß Artikel 14 Abs. 1 der Verordnung (EG) 178/2002<sup>(3)</sup> dürfen Lebensmittel, die nicht sicher sind, nicht in den Verkehr gebracht werden. Als nicht sicher gelten sie, wenn sie gesundheitsschädlich oder nicht zum Verzehr geeignet sind. Dabei sind zu berücksichtigen a) die wahrscheinlichen sofortigen, kurz-, mittel- oder langfristigen Auswirkungen auf den Verbraucher oder b) die besondere Empfindlichkeit einer bestimmten Verbrauchergruppe, sofern die Lebensmittel für diese bestimmt sind.

Hierzu soll in Abstimmung mit dem Bundesministerium für Gesundheit eine gemeinsame Stellungnahme des BfR und des Robert Koch Institutes (RKI) erfolgen mit dem Arbeitstitel *„Gesundheitliche Risiken für Verbraucher infolge der Verwendung von Lebensmitteln, die mit antibiotikaresistenten Bakterien oder pathogenen Erregern behaftet sind, in Krankenhausküchen“*<sup>(4)</sup>.

Am LHL, Fachgebiet tierische Lebensmittel wurde im Juli 2015 ein Projekt zum Nachweis von multiresistenten gramnegativen Keimen in hessischen Krankenhausküchen gestartet.

#### Literatur und Quellen

1) Robert Koch-Institut: Häufung von KPC-2 produzierenden Stämmen verschiedener Enterobacteriaceae-Spezies in Hessen. *Epid Bull* 2014; 21:183–184

2) Robert Koch-Institut: Plasmid-vermittelter Multispezies-Ausbruch mit Carbapenem-resistenten *Enterobacteriaceae*. *Epid Bull* 2014; 47:455–459

3) Verordnung (EG) Nr. 178/2002 des Europäischen Parlaments und des Rates zur Festlegung der allgemeinen Grundsätze und Anforderungen des Lebensmittelrechts, zur Errichtung der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit und zur Festlegung von Verfahren zur Lebensmittelsicherheit, 28. Januar 2002

4) Schreiben des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft, bezüglich einer Anfrage der Risikobewertung von multiresistenten Keimen auf verzehrsfähigen Lebensmitteln. 03.09.2014 (AZ: 314 – 38306/0005)

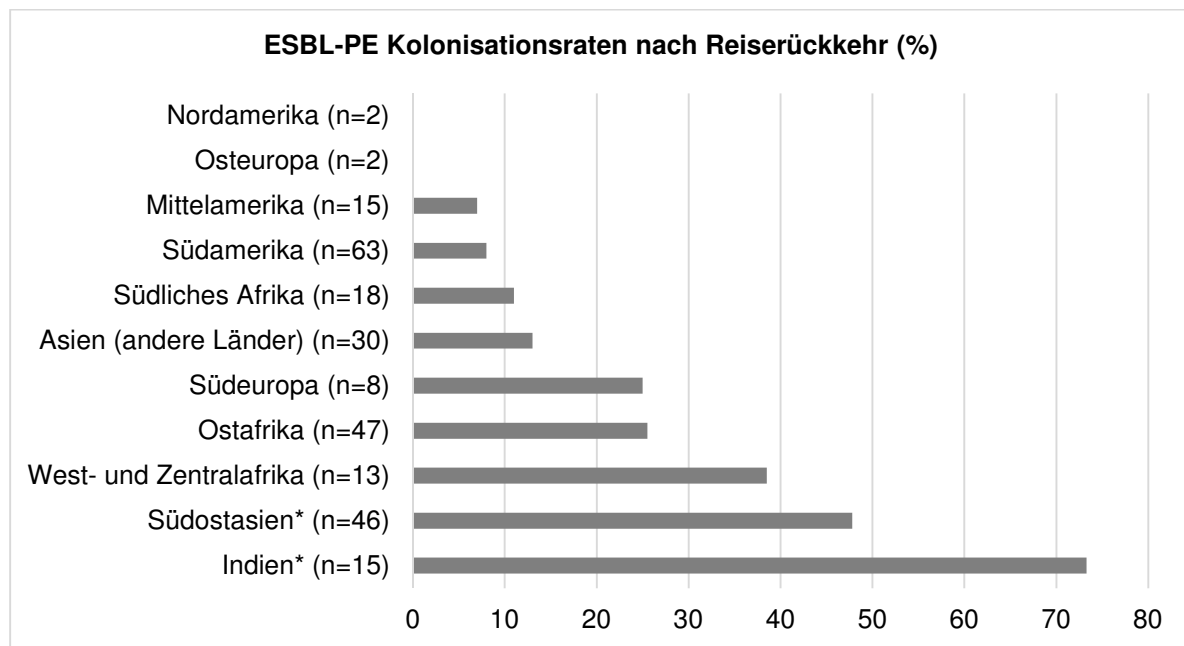


### 3.18 Import von ESBL und Carbapenemase-bildenden *Enterobacteriaceae* nach Deutschland durch Reisende

Priv.-Doz. Dr. med. habil. Christoph Lübbert

Universitätsklinikum Leipzig

225 gesunde, deutsche Freiwillige, die in 53 verschiedene Länder (meist nach Asien, Afrika und Südamerika) reisten, wurden in eine prospektive Kohortenstudie aufgenommen. Stuhlproben und Daten über potenzielle reiseassoziierte Risikofaktoren (wie Reisestil, Essgewohnheiten, Auftreten von Gastroenteritis, Hygienemaßnahmen) wurden vor und nach der Reise mittels Fragebogen gesammelt. Mittels Selektivmedien (CHROMagar™ ESBL/KPC-Platten) wurden eine Untersuchung der Stuhlproben auf extended-spectrum beta-lactamase bildende *Enterobacteriaceae* (ESBL-PE) und Carbapenemase bildende *Enterobacteriaceae* (CPE) durchgeführt. Isolate mit bestätigtem ESBL-Phänotyp wurden auf das Vorhandensein von *bla*CTX-M-, *bla*TEM-, *bla*SHV-, *bla*VIM-, *bla*NDM-, *bla*KPC- und *bla*OXA-48-Genen mit Hilfe von PCR-Amplifikation und -Sequenzierung getestet. Bei den Antibiotikaempfindlichkeitstests wurde mit konventioneller Mikrobouillonverdünnung gearbeitet. Die Auswertung von 205 kompletten Teilnahmen zeigte vor Reiseantritt eine ESBL-PE Prävalenzrate von 6,8 % (14/205). Unter den 191 Teilnehmern, die vor der Reise ESBL-negativ getestet wurden, waren nach Reiserückkehr 58 (30,4 %) mit ESBL-bildenden *Escherichia coli* kolonisiert und 5 Reisende (8,6 %) waren zusätzlich mit ESBL-produzierenden *Klebsiella pneumoniae* besiedelt. Carbapenem-resistente *Enterobacteriaceae* wurden nicht nachgewiesen. Die molekulargenetische ESBL-Typisierung zeigte, dass 52/54 (96,6 %) der *E. coli* und 4/4 (100 %) der *K. pneumoniae*-Stämme, die für die Sequenzierung verfügbar waren, CTX-M-Enzyme produzierten, und zwar überwiegend CTX-M-15 (33/56, 58,9 %), und 2/54 (3,7 %) der *E. coli*-Stämme SHV-12-Enzyme bildeten. Die Reisenden nach Indien wiesen die höchste Kolonisationsrate mit ESBL-PE (11/15, 73,3 %;  $p = 0.015$ ) auf, gefolgt von Reisenden nach Südostasien (22/46, 47,8 %;  $p = 0.038$ ). Die Auswertung der reiseassoziierten Risikofaktoren ergab nur für das Auftreten einer Gastroenteritis eine statistische Signifikanz ( $p = 0.011$ ). Strikte Händehygiene und ausschließliches Konsumieren abgepackter Getränke zeigten keinen protektiven Effekt. Die ESBL-PE-Persistenzrate nach 6 Monaten lag bei 8,6 % (3/35). Die vorliegenden Ergebnisse sprechen dafür, dass weltweite Anstrengungen notwendig sind, um die weitere Ausbreitung von ESBL-PE in der Bevölkerung zu kontrollieren. Eine aktive Überwachung und Kontaktisolation ist bei Aufnahme in eine medizinische Einrichtung speziell für Patienten, die innerhalb der letzten 6 Monate nach Indien und Südostasien gereist waren, empfehlenswert.



**Abb. 1:** ESBL-PE Kolonisationsraten nach Reiserückkehr

\* Für Reisende, die aus Indien ( $p = 0.015$ ) und Südostasien ( $p = 0.038$ ) zurückkehrten, war die Rate der intestinalen Besiedlung mit ESBL-PE statistisch signifikant.

Hinweis: Da 50 Teilnehmer (26,2 %) mehr als ein Land und 5 (2,6 %) mehr als einen Kontinent besuchten, übersteigt die Anzahl der Reisenden im Diagramm die Anzahl der 191 Studienteilnehmer.

#### Literatur

Lübbert C, Straube L, Stein C, Makarewicz O, Schubert S, Mössner J, Pletz MW, Rodloff AC. Colonization with extended-spectrum beta-lactamase-producing and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in international travelers returning to Germany. *Int J Med Microbiol.* 2015; 305(1):148-56.



### 3.19 Pflanzliche Lebensmittel als Vektor für ESBL und Carbapenemase bildende Enterobacteriaceae

Dr. Katrin Zurfluh, Magdalena Nüesch-Inderbinen, Roger Stephan  
Universität Zürich

The production of extended spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) is one of the most important mechanisms of antibacterial resistance in *Enterobacteriaceae*. Most ESBLs can be divided into 4 groups: TEM, SHV, OXA, and CTX- M types. Currently, CTX-Ms are the most prevalent type of ESBLs described. The last decade has seen a high degree of diversification of these enzymes and an explosive global spread driven primarily by their carriage on resistance plasmids and by the spread of extraintestinal pathogenic *E. coli* clones. Important clonal lineages include *E. coli* strains belonging to multilocus sequence types (MLST) ST131 (often associated with CTX-M-15), and enteroaggregative *E. coli* (EAEC) ST38. In addition to these widespread ESBLs, less frequently occurring ESBLs have been detected on regional scales, e.g. GES, PER, VEB types.

Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* were first described in Europe in the 1990s, and since then they have been increasingly reported especially in clinical settings. Recently, the occurrence of *Escherichia coli* producing OXA-48  $\beta$ -lactamase was also found for the first time in the community in Switzerland.

Currently, the most prevalent carbapenemases among *Enterobacteriaceae* include the Ambler class A carbapenemase KPC, the class B metallo- $\beta$ -lactamases (MBLs) of the IMP-, NDM- or VIM-type, and the class D OXA-48-like oxacillinases.

In recent years it has become widely recognized that the dissemination of ESBL- and carbapenemase producing bacteria is an issue that is no longer restricted to the medical health care system, but represents a growing problem involving food safety and environmental integrity.

There is increasing evidence that antimicrobial drug use in the livestock sector plays an important role in the contamination of food with ESBL-producing bacteria, but little is still known about the burden of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* on fresh vegetables. In the crop production sector, products can be contaminated through application of manure (animal origin) or sewage sludge (human origin) to the soil, or through application of treated or untreated wastewater that is used for irrigation of crops.

In Switzerland as in most industrialized countries, pre-harvest intervals restrict the application of manure to the soil, and wastewater is treated before reuse, with high ecological standards and levels of hygiene applied to all stages of culture and harvesting. Hence, the bacteriological burden of vegetable crops is low. By contrast, in many developing countries, most prominently Vietnam, China and India, wastewater without or with insufficient treatment is commonly used for agriculture, implicating negative effects on human health and the environment.

Analyses of alimentary consumption trends in Switzerland record an increase in Asian and Latin American cuisine and point towards a demand for fresh produce. Import trade statistics show that imports to Switzerland of edible vegetables from India have doubled over the last decade, and quadrupled from Socialist Republic of Vietnam. Over the last 4 years, Switzerland imported an average of 701.25 metric tons per annum of edible vegetables from the Dominican Republic, India, Thailand and Vietnam. (Swiss Federal Customs Administration FCA; <https://www.swiss-impex.admin.ch>).

The aim of this study was to evaluate the presence of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* in vegetables imported from these countries as well as products produced in Switzerland. Moreover, the occurrence of carbapenemase producing *Enterobacteriaceae* was examined in a set of imported products collected on the Swiss market.

**Further reading**

Nüesch-Inderbinen, M., Zurfluh, K., Peterhans, S., Hächler, H., Stephan, R. (2015). Assessment of the prevalence of extended-spectrum  $\beta$ -Lactamase-producing Enterobacteriaceae in ready-to-eat salads, fresh-cut fruit, and sprouts from the Swiss market. *Journal of Food Protection* 78, 1178–1181.

Zurfluh, K., Nüesch-Inderbinen, M., Morach, M., Zihler Berner, A., Hächler, H., Stephan, R. (2015). Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing-Enterobacteriaceae in vegetables imported from the Dominican Republic, India, Thailand and Vietnam. *Applied and Environmental Microbiology* 81, 3115–3120.

Zurfluh, K., Nüesch-Inderbinen, M., Poirer, L., Nordmann, P., Hächler, H., Stephan, R. (2015). Emergence of *Escherichia coli* producing OXA-48 beta-lactamase in the community in Switzerland. *Antimicrobial Resistance and Infection Control* 4:9. DOI: 10.1186/s13756-015-0051-x.

### 3.20 ESBL/AmpC und Carbapenemasebildende Keime beim Menschen

Dr. Yvonne Pfeifer

Robert Koch-Institut, FG13 Nosokomiale Infektionserreger und Antibiotikaresistenzen, Wernigerode, pfeifery@rki.de

Die Resistenz gegenüber Cephalosporinen der dritten und vierten Generation sowie auch Carbapenemen wird in den letzten 10 Jahren zunehmend bei Enterobacteriaceae beobachtet. Verschiedenste enterobakterielle Spezies mit diesen Resistenzen, insbesondere *Escherichia coli* und *Klebsiella pneumoniae*, finden sich als Darmbesiedler oder Infektionserreger bei hospitalisierten und ambulanten Patienten. Resistenzen gegenüber Cephalosporinen und Carbapenemen können spontan entstehen, basierend auf intrinsischen (Spezies-eigenen) Mechanismen, wie z. B. Gen-Mutationen in Außenmembranproteinen (Porinverlust) oder in Regulatoren für die Expression von Effluxpumpen oder Beta-Laktamasen. Allerdings erfolgt bei Enterobacteriaceae der Resistenzwerb häufig durch die Aufnahme von verschiedenen Resistenzgenen, die für Beta-Laktam hydrolysierende Enzyme kodieren. So führt die Bildung von „Extended-Spectrum Beta-Laktamasen“ (ESBL) oder AmpC-Beta-Laktamasen (z. B. CMY) zur Resistenz gegenüber Drittgenerations-Cephalosporinen und die Bildung von Carbapenemasen (z. B. KPC) zur Carbapenemresistenz. ESBL-, AmpC- und Carbapenemase-Gene liegen zumeist auf Plasmiden, die durch Konjugation zwischen verschiedenen enterobakteriellen Spezies ausgetauscht werden können. Dieser horizontale Gentransfer fördert die Verbreitung der oben genannten Resistenzen innerhalb einer Spezies und über deren Grenzen hinweg wobei Beta-Laktam-Antibiotika die entstehenden resistenten Erreger weiter selektieren. Im folgenden Beitrag werden aktuelle Ergebnisse molekularer Untersuchungen zu ESBL- AmpC- und Carbapenemase-Bildnern beim Menschen vorgestellt.

#### ESBL-Bildner

Die Resistenz gegenüber Drittgenerations-Cephalosporinen (Indikatorsubstanz Cefotaxim) ist bei den klinisch besonders relevanten enterobakteriellen Spezies *E. coli* und *K. pneumoniae* zu mehr als 90 % die Folge einer ESBL-Bildung. Dem Antibiotikaresistenz-Surveillance System ARS (<https://ars.rki.de/>) waren im Jahr 2014 12.6 % und 13.8 % der *E. coli* und *K. pneumoniae* in deutschen Krankenhäusern resistent gegenüber Cefotaxim; mit steigendem Trend. Auf Intensivstationen sind die Resistenzraten deutlich höher (16.4 % *E. coli*; 17.1 % *K. pneumoniae*) aber auch im ambulanten Bereich (Arztpraxen) wurden 7.5 %/11.2 % Cefotaxim-resistente *E. coli*/*K. pneumoniae* nachgewiesen. Eine kürzlich veröffentlichte Studie zur ESBL-Kolonisation von 3000 gesunden Probanden in Bayern ergab eine Besiedlungsrate mit ESBL-bildenden *E. coli* von 6.3 % (Valenza *et al.* 2014). Im Rahmen des interdisziplinären Forschungsverbundes RESET ([www.reset-verbund.de](http://www.reset-verbund.de)) wurden seit 2011 in mehreren Studien molekulare Untersuchungen zu ESBL-bildenden *E. coli* aus verschiedenen Bereichen durchgeführt. Die Analysen nosokomialer *E. coli*, *E. coli* aus dem ambulanten Bereich (überwiegend Harnwegsinfektionen) sowie *E. coli* als rektale Besiedler gesunder Personen zeigten, dass drei ESBL-Typen besonders häufig vorkommen: CTX-M-15 (45-50 %), CTX-M-1 (25-30 %) und CTX-M-14 (7-14 %). Der hohe Anteil von CTX-M-15 war insbesondere bei nosokomialen *E. coli* und *E. coli* aus dem ambulanten Bereich auf die Verbreitung von Stämmen der klonalen Linie *E. coli*-ST131 (Anteil 30-40 %) zurückzuführen (Pietsch *et al.* 2015). Demgegenüber wurden bei Untersuchungen in verschiedenen Schweinemastanlagen deutlich weniger CTX-M-15 bildende *E. coli* gefunden (Anteil 5-10 %) und der beim Menschen häufig auftretende Sequenztyp *E. coli*-ST131 war nur in Einzelfällen vorhanden. Die Mehrheit der Proben (Stallstaub, Kot etc.) war positiv für CTX-M-1 bildende *E. coli* und phylogenetische Analysen zeigten, dass *E. coli* bestimmter klonaler Linien, z. B. ST410 und ST10, häufiger vorkommen und sowohl beim Mensch als auch beim Tier (Valentin *et al.* 2014; Pietsch *et al.* 2015). Somit erscheint ein Austausch bestimmter *E. coli*-Stämme zwischen Mensch und Tier wahrscheinlich zu sein; die genauen Transferwege sind jedoch noch

nicht geklärt. In welchem Ausmaß ESBL-Gen-tragende Plasmide zwischen den verschiedenen *E. coli*-Populationen verbreitet werden bedarf ebenfalls weiterer Untersuchungen.

### **AmpC-Bildner**

Bei einigen enterobakteriellen Spezies, z. B. *Enterobacter cloacae* und *Citrobacter freundii* ist die Resistenz gegenüber Drittgenerations-Cephalosporinen seltener die Folge einer ESBL-Bildung; vielmehr wird diese durch die Überexpression der chromosomal-kodierten Spezies-eigenen AmpC-Beta-Laktamase verursacht. Diese *ampC*-Gene sind mobilisierbar und können, in konjugative Plasmide eingebaut, in andere Spezies übertragen werden (Pfeifer *et al.* 2010). Die am weitesten verbreiteten plasmid-kodierten AmpC-Beta-Laktamasen sind die CMY-Enzyme, insbesondere die Variante CMY-2. Diese ursprünglich aus *C. freundii* stammenden AmpC-Beta-Laktamase findet man heute auch in *Proteus mirabilis*, *Salmonella*, *E. coli* und auch *Klebsiella spp.* In den Studien des RESET-Verbundes wurde CMY-2 in geringem Ausmaß in Cephalosporin-resistenten *E. coli* vom Menschen (ca. 1 %) gefunden; dagegen lag der Anteil CMY-2-bildender *E. coli* in Geflügelmastanlagen (Huhn und Pute) teilweise über 30 % (Laube *et al.* 2014). Die Ursache hierfür liegt sehr wahrscheinlich in einer Verschleppung der CMY-*E. coli* über die Produktionskette ausgehend von kolonisierten Tieren der Eltern/Großeltern-Generation, wie eine norwegische Studie kürzlich zeigte (Solveig *et al.* 2014). Ob ein Transfer CMY-bildender Stämme oder *bla*<sub>CMY</sub>-tragender Plasmide vom Tier zum Mensch erfolgt, muss noch im Detail untersucht werden. Für Zoonose-Erreger, wie Salmonellen, sind humane Infektionen durch kontaminierte Lebensmittel nachgewiesen; der Anteil ESBL- und CMY-bildender Salmonellen ist mit < 1 % allerdings sehr gering (Eller *et al.* 2013 und Rodriguez *et al.* 2009). Auffällig bleibt der hohe CMY-Anteil (ca. 60 %) bei Cephalosporin-resistenten *P. mirabilis*, die überwiegend als Erreger von Harnwegsinfektionen beim Menschen in Erscheinung treten. Inwieweit diese CMY-Plasmid-Population mit denen in anderen enterobakteriellen Spezies interagiert werden zukünftige Studien zeigen.

### **Carbapenemase-Bildner**

In Deutschland sind klinische Isolate mit Carbapenemresistenz noch selten. Die Resistenzraten liegen bei *E. coli* weit unter 1 %; bei *K. pneumoniae* jedoch stieg der Anteil auf Intensivstationen in den letzten 5 Jahren auf 1.8 % (<https://ars.rki.de/>). Zudem sind Resistenzraten von 25-50 %, wie sie aus *K. pneumoniae*-Blutkulturisolaten aus Europäischen Nachbarländern (Italien, Griechenland) gemeldet werden, sehr besorgniserregend (EARS-Net Report 2013). Daten des Nationalen Referenzzentrums (NRZ) für gramnegative Krankenhauserreger in Bochum zufolge bilden ca. die Hälfte aller Carbapenem-resistenten *E. coli* und *K. pneumoniae* eine Carbapenemase und es werden jährlich mehrere hundert dieser multiresistenten Erreger aus ganz Deutschland an das NRZ gesendet; mit steigendem Trend (Epidemiol. Bull. 43/2014). Carbapenemase-bildende Keime erreichen deutsche Krankenhäuser oft über zuvor im Ausland hospitalisierte Patienten, die mit diesen Erregern besiedelt sind. Dennoch deuten kleinere Häufungen oder regional steigende Fallzahlen darauf hin, dass auch durch Verlegungen von Patienten zwischen deutschen Krankenhäusern und anderen Klinik-nahen Einrichtungen Carbapenemase-bildende Bakterien unentdeckt verbreitet werden können. Ob auch für Personen ohne Kontakt zum Gesundheitssystem in Regionen mit höherer Prävalenz von Carbapenemase-Bildnern in der Umwelt ein Risiko besteht solche Keime zu erwerben und diese mit nach Deutschland zu bringen, ist noch unklar. Bisher zeigten Untersuchungen, dass ca. 30 % der Reiserückkehrer aus Asien eine Kolonisation mit ESBL-bildenden *E. coli* aufwiesen (Lübbert *et al.* 2015); diese Besiedlungsrate nahm nach sechs Monaten jedoch wieder stark ab und Carbapenemase-Bildner wurden bisher nicht gefunden.

Die am häufigsten in Deutschland nachgewiesenen Carbapenemase-Typen sind OXA-48, KPC-2/3, VIM-1/2 und NDM-1, wobei bisher mehrere Ausbruchsgeschehen mit KPC-bildenden *K. pneumoniae* beschrieben wurden (Wendt *et al.* 2010; Ehrhardt *et al.* 2014; Epidemiol. Bulletin 47/2014). OXA-48 wurde kürzlich in *K. pneumoniae* und *E. coli* bei Hunden

in einer Tierklinik nachgewiesen. Die weiteren molekularen Untersuchungen deuten darauf hin, dass in diesem Fall eine Übertragung sehr wahrscheinlich von Mensch zu Tier erfolgt sein muss (Stolle *et al.* 2013). Carbapenemase-Bildner bei Tieren sind weltweit bisher nur in Einzelfällen beschrieben; in 2011 wurden z. B. im Rahmen einer RESET-Studie VIM-1-bildende *E. coli* in einem deutschen Schweinemastbetrieb gefunden (Fischer *et al.* 2012). Da ein Eintrag multiresistenter Keime in solche Tierhaltungen zur massenhaften Verbreitung von Resistenz-Eigenschaften führen könnte, ist eine intensive molekulare Surveillance im veterinärmedizinischen Bereich ebenso wie in humanmedizinischen Einrichtungen von größter Bedeutung.

#### Literatur

- Ehrhard I, Karaalp AK, Hackel T, Höll G, Rodewald N, Reif U, Kaase M, Eckmanns T, Sydow W. [Prevalence of carbapenemase-producing bacteria in hospitals in Saxony, Germany]. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz. 2014 Apr; 57(4):406-13.
- Eller C, Simon S, Miller T, Frick JS, Prager R, Rabsch W, Guerra B, Werner G, Pfeifer Y. Presence of  $\beta$ -lactamases in extended-spectrum-cephalosporin-resistant *Salmonella enterica* of 30 different serovars in Germany 2005-11. J Antimicrob Chemother. 2013 Sep; 68(9):1978-81.
- Fischer J, Rodríguez I, Schmogger S, Friese A, Roesler U, Helmuth R, Guerra B. *Escherichia coli* producing VIM-1 carbapenemase isolated on a pig farm. J Antimicrob Chemother. 2012 Jul; 67(7):1793-5.
- Laube H, Friese A, von Salviati C, Guerra B, Rösler U. Transmission of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* from broiler chicken farms to surrounding areas. Vet Microbiol. 2014 Aug 27; 172(3-4):519-27.
- Lübbert C, Straube L, Stein C, Makarewicz O, Schubert S, Mössner J, Pletz MW, Rodloff AC. Colonization with extended-spectrum beta-lactamase-producing and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in international travelers returning to Germany. Int J Med Microbiol. 2015 Jan; 305(1):148-56.
- Pfeifer Y, Cullik A, Witte W. Resistance to cephalosporins and carbapenems in Gram-negative bacterial pathogens. Int J Med Microbiol. 2010 Aug; 300(6):371-9.
- Pietsch M, Eller C, Pfeifer Y, Falgenhauer L, Rasmus Leistner R, Valenza G, Wendt C, Werner G. Comparison of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* isolates from hospitals, ambulatory settings and the community. National Symposium on Zoonosis Research Berlin, 16-17. Oktober 2015. Poster.
- Rodríguez I, Barownick W, Helmuth R, Mendoza MC, Rodicio MR, Schroeter A, Guerra B. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases and AmpC  $\beta$ -lactamases in ceftiofur-resistant *Salmonella enterica* isolates from food and livestock obtained in Germany during 2003-07. J Antimicrob Chemother. 2009 Aug; 64(2):301-9.
- Mo SS<sup>1</sup>, Norström M<sup>2</sup>, Slettemeås JS<sup>2</sup>, Løvland A<sup>3</sup>, Urdahl AM<sup>2</sup>, Sunde M. Emergence of AmpC-producing *Escherichia coli* in the broiler production chain in a country with a low antimicrobial usage profile. Vet Microbiol. 2014 Jul 16; 171(3-4):315-20.
- Stolle I, Prenger-Berninghoff E, Stamm I, Scheufen S, Hassdenteufel E, Guenther S, Bethe A, Pfeifer Y, Ewers C. Emergence of OXA-48 carbapenemase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in dogs. J Antimicrob Chemother. 2013 Dec; 68(12):2802-8. doi: 10.1093/jac/dkt259. Epub 2013 Jul 5.
- Valentin L, Sharp H, Hille K, Seibt U, Fischer J, Pfeifer Y, Michael GB, Nickel S, Schmiedel J, Falgenhauer L, Friese A, Bauerfeind R, Roesler U, Imirzalioglu C, Chakraborty T, Helmuth R, Valenza G, Werner G, Schwarz S, Guerra B, Appel B, Kreienbrock L, Käsbohrer A. Subgrouping of ESBL-producing *Escherichia coli* from animal and human sources: an approach to quantify the distribution of ESBL types between different reservoirs. Int J Med Microbiol. 2014 Oct; 304(7):805-16.
- Valenza G, Nickel S, Pfeifer Y, Eller C, Krupa E, Lehner-Reindl V, Höller C. Extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* as intestinal colonizers in the German community. Antimicrob Agents Chemother. 2014;58(2):1228-30.
- Wendt C, Schütt S, Dalpke AH, Konrad M, Mieth M, Trierweiler-Hauke B, Weigand MA, Zimmermann S, Biehler K, Jonas D. First outbreak of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-producing *K. pneumoniae* in Germany. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2010 May; 29(5):563-70.



### 3.21 MRSA bei einer Veterinärkohorte und deren Angehörigen: 2008 bis 2014

Dr. Jan Walter, Dr. Tim Eckmanns

Robert Koch-Institut, Berlin

Verschiedene kleinere Studien haben gezeigt, dass nicht nur Landwirte sondern auch Veterinäre ein berufsbedingtes Risiko der Besiedlung mit „livestock-associated“ (LA)-MRSA besitzen. Um die Prävalenz einer Besiedlung mit LA-MRSA zu messen, Risikofaktoren zu identifizieren, die Persistenz einer Besiedlung zu beschreiben und um mögliche Übertragungen zu Haushaltskontakten zu quantifizieren, hat das Robert Koch-Institut mit Unterstützung des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (Projektverbund MedVetStaph) seit 2008 eine Kohorte von Teilnehmern an tierärztlichen Kongressen in regelmäßigen Abständen befragt und auf eine Besiedlung mit LA-MRSA beprobt.

In den Jahren 2008/2009 wurden insgesamt 1453 Personen bei drei veterinärmedizinischen Kongressen in Deutschland (Hannover, Nürnberg und Rosenheim) in die Studie eingeschlossen. 18 Personen wurde nachträglich wegen fehlender Angaben von der Analyse ausgeschlossen, so dass die Grundauswertung 1435 Personen umfasste. 75 (5 %) von diesen waren mit MRSA des klonalen Komplexes 398, der typisch für LA-MRSA ist, besiedelt. 86 % der Klone gehörten dabei den spa-Typen t011 (59 %) und t034 (27 %) an.

Eine eingehende Risikofaktorenanalyse wurde in der Subgruppe der Personen, die in dem der Beprobung vorausgehenden Jahr Bestandsbesuche durchgeführt hatten, vorgenommen (n = 695). Risikofaktoren waren unter anderem das Arbeiten mit Schweinen, ein Wohnort in Niedersachsen und das Verschreiben bestimmter Antibiotika. Diese Assoziationen hatten auch in einer adjustierten Analyse erhalten bestand (Walter et al. (2015) CID doi: 10.1093/cid/civ752).

180 LA-MRSA negative und 45 LA-MRSA positive Studienteilnehmer konnten für die Teilnahme an einer prospektiven Kohortenstudie gewonnen werden. Diese Untergruppe und deren Haushaltskontakte wurden in 2011, 2012 und 2014 erneut auf eine Besiedlung mit LA-MRSA beprobt sowie erneut gebeten, einen Fragebogen auszufüllen. Von den ursprünglich LA-MRSA positiven Teilnehmern testeten in 2011 30 (67 %) erneut positiv auf LA-MRSA. In 2012, waren dies 16 (45 %) von 37 getesteten Personen und in 2014 14 (45 %) von 31. Von 8 (26 %) Personen, die an allen 4 Zeitpunkten LA-MRSA positiv testeten, waren nur 4 (13 %) durchgehend mit demselben spa-Typen kolonisiert.

Von den ursprünglich LA-MRSA negativen Teilnehmern testeten insgesamt 13 (7 %) wenigsten einmal LA-MRSA positiv (9 [5 %] in 2011, 4 [3 %] von 151 bis dahin nicht-kolonisierten Teilnehmer in 2012, und keine weiteren Besiedlungen unter 126 bis dahin durchgehend negativen Teilnehmern in 2014).

185 (82 %) der 225 Teilnehmer des prospektiven Teils der Studie schickten mindestens zu einem Zeitpunkt Proben von einem oder mehreren Haushaltskontakten ein (N = 991 Proben). 36 Proben von 26 verschiedenen Haushaltskontakten in 21 Haushalten testeten LA-MRSA positiv. Der Anteil LA-MRSA positiver Haushaltskontakte von ursprünglich LA-MRSA positiven Indexteilnehmern schwankte über die Jahre leicht (16 von 97 [16 %] in 2011, 6 von 67 [9 %] in 2012 und 6 von 55 [11 %] in 2014, alle Jahre kombiniert: 28 von 219 [13 %]). Unter den ursprünglich LA-MRSA negativen Indexteilnehmern waren nur wenige Haushaltskontakte LA-MRSA kolonisiert (4 von 320 [1 %] in 2011, 1 von 239 [0 %] in 2012 und 2 von 206 [1 %] in 2014, alle Jahre kombiniert: 7 von 772 [1 %]).

Die Kolonisierung von mindestens einem Haushaltskontakt an mindestens einem Zeitpunkt war dabei deutlich mit dem LA-MRSA Status des Indexteilnehmers in 2008/09 (Odds Ratio

[OR]: 12, 95 % Konfidenzintervall [KI]: 4-37), sowie mit Schweinebestandsbesuchen des Indexteilnehmers (OR 8, 95 % KI: 2-37) assoziiert. Diese Assoziationen blieben bestehen, wenn Haushaltskontakte mit einer Tätigkeit in der Veterinärmedizin ausgeschlossen wurden.

Zusammengenommen zeigen diese Daten, dass Tierärzte mit beruflichem Kontakt zu Schweinen und deren Haushaltskontakte ein erhöhtes Risiko für eine Besiedlung mit LA-MRSA besitzen. Persistente Besiedlungen mit demselben spa-Typen über den Beobachtungszeitraum von 5-6 Jahren waren jedoch selten.



### 3.22 Longitudinale Untersuchungen zu MRSA in Schweinebeständen in der Schweiz

Patrick Daniel Bangerter<sup>1</sup>, Xaver Sidler<sup>2</sup>, Vincent Perreten<sup>1</sup> und Gudrun Overesch<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Vetsuisse Faculty, University of Bern, Institute of Veterinary Bacteriology, Bern, Switzerland, <sup>2</sup>Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Department of Farm Animals, Division of Swine Medicine, Zurich, Switzerland

Wie die Daten des jährlichen Nationalen Resistenzmonitorings zeigen, ist im Zeitraum von 2009 bis 2014 die Prävalenz von Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Schweizer Schlachtschweinen von 2.0 % auf 26.5 % angestiegen. Dieser rasante Anstieg ist vor allem auf den Nachweis eines spezifischen Klons des Genotyps MRSA ST398-t034 zurückzuführen, welcher sich durch eine breite Resistenz gegenüber therapeutisch wichtigen Antibiotika auszeichnet. Eine erste, als Masterarbeit am Zentrum für Zoonosen, bakterielle Tierkrankheiten und Antibiotikaresistenz (ZOBA) konzipierte Studie zeigte, dass ein potentieller gemeinsamer Betrieb als Quelle dieses Klons nicht zu identifizieren war. Wirkungsvolle Maßnahmen zur Eindämmung der Weiterverbreitung von MRSA in der Schweizer Schweinepopulation können nur dann entwickelt werden, wenn detaillierte Erkenntnisse über die spezifischen Einflussfaktoren, wie Eintragsweg, Verbreitung dieses Erregers innerhalb eines Betriebes bis hin zur Schlachtung bekannt sind. Bis heute fehlen detaillierte Informationen, über die Dynamik von MRSA bei Schweinen auf dem Level des Einzeltieres, da sich bisher nur wenige longitudinale Studien mit diesem Thema befasst haben. Ziel unserer Studie war es, den Status der MRSA Kolonisation des einzelnen Schweines von Geburt bis hin zur Schlachtung zu bestimmen, um ein besseres Verständnis über die Übertragungsmechanismen von MRSA zu gewinnen.

An der Studie beteiligten sich zwei Zucht-, Mast- und zwei reine Mastbetriebe. An 11 Beprobungszeitpunkten wurden total 1'728 Nasentupfer von 390 Schweinen und 592 Umweltproben gesammelt und mittels selektivem Anreicherungsverfahren auf MRSA untersucht.

Auffallend an der Verfolgung des individuellen MRSA Status war die intermittierende Kolonisation während des gesamten Produktionszyklus. Beinahe jedes Schwein wechselte den Status mehrmals, was für eine wechselnde, anstelle einer permanenten Besiedlung mit MRSA spricht und auf eine wiederholte Kontamination der Schweine in einer MRSA-positiven Umgebung hindeuten könnte. Für die Bekämpfung einer weiteren Ausbreitung von MRSA in Schweizer Schweinebeständen könnte es von Nutzen sein, den MRSA Status auf Herden Niveau zu bestimmen und den Handel innerhalb Betrieben mit gleichem Status zu fördern. Damit könnte gleichzeitig die weitere Verbreitung von Nutztier-assoziierten MRSA via Menschen, die in engem Kontakt mit Nutztieren stehen (Tierhalter, Tierärzte, Viehhändler, Schlachthofmitarbeitende), in medizinische Einrichtungen und die Gesellschaft minimiert werden.

Im Jahr 2014 wurden deutschlandweit ca. 1200 t Veterinärantibiotika (VA) abgegeben (BVL 2015). Dies entspricht ungefähr der doppelten Menge des humanmedizinischen Antibiotikaverbrauchs (vgl. Paul-Ehrlich-Gesellschaft 2014). An Menschen und Tiere verabreichte Antibiotika werden größtenteils unverändert als Muttersubstanz oder in veränderter Form als Metabolite wieder ausgeschieden und können nachfolgend in die Umwelt gelangen. Bei Antibiotikarückständen aus dem Veterinärbereich geschieht dies in der Regel über diffuse Eintragswege, wobei der Eintrag in landwirtschaftlich genutzte Böden mit der Ausbringung von Wirtschaftsdünger tierischer Herkunft (z. B. Gülle) von großer Bedeutung ist. Rückstände von Antibiotika werden zudem unter bestimmten Voraussetzungen aus belasteten Böden in Oberflächengewässer oder auch in das Grundwasser transportiert. Als Folge sind Antibiotikarückstände sowohl in den Exkrementen behandelter Tiere als auch in verschiedenen Umweltkompartimenten (Boden, Oberflächen- und Grundwasser) regelmäßig nachweisbar.

### Stand der Forschung

Die Vielfalt der in Böden nachgewiesenen Wirkstoffe und die Anzahl der Funde bilden nur teilweise die bekannten Verbräuche ab. So ergab eine Zusammenstellung von deutschland- und europaweit erhobenen Monitoringdaten (Bergmann et al. 2011), dass bisher nur Wirkstoffe aus vier verschiedenen Antibiotikaklassen in Bodenproben nachweisbar waren. Die überwiegende Anzahl von Funden entfiel hierbei auf die Klasse der Tetracykline, gefolgt von Sulfonamiden. Des Weiteren deutet die Zusammenstellung lediglich auf vereinzelte Funde der Wirkstoffe Enrofloxacin und Trimethoprim hin. Demgegenüber stehen mindestens 18 Wirkstoffklassen, die nachweislich aktuell in Deutschland abgegeben werden (vgl. BVL 2015). Somit muss davon ausgegangen werden, dass momentan vorhandene Umweltdaten nur ein unvollständiges Bild des tatsächlichen Umwelteintrags zeigen. Die Eintragsmengenabschätzung auf der Basis von Verbrauchsdaten kann daher wichtige Zusatzinformationen liefern, die sowohl für die Risikobewertung als auch für die Planung von Monitoringprogrammen hilfreich sein können.

Die Abschätzung von Arzneimitteleinträgen in Verbindung mit der Ausbringung von Wirtschaftsdünger tierischer Herkunft erfolgt in der Regel ausgehend von der vorausgesagten Umweltkonzentration (predicted environmental concentration, PEC) im Dünger, welche anhand der Häufigkeit der Wirkstoffanwendung und der zugehörigen Dosierung berechnet werden kann. Somit sind anwendungsbezogene Daten zum Antibiotikaeinsatz in den Mastbetrieben von essentieller Bedeutung für eine fundierte Analyse des potenziellen Umwelteintrags. Seit 2014 sind nach AMG § 58a, b alle Betriebe, die Rinder, Schweine, Hühner oder Puten zur Mast berufs- oder gewerbsmäßig halten, zur Mitteilung des Antibiotikaeinsatzes an die zuständige Behörde verpflichtet. Diese Daten sind bisher nur stark eingeschränkt öffentlich zugänglich. Jedoch wurden innerhalb des Projektes „VetCAB“ Daten zum Antibiotikaeinsatz durch ausgewählte Betriebe und Tierärzte in Nordrhein-Westfalen und Niedersachsen (Machbarkeitsstudie) bzw. bundesweit in repräsentativen Landkreisen (Pilotstudie) erhoben und veröffentlicht (Robanus, 2011; Merle et al., 2012; van Rennings et al., 2014). Des Weiteren gab das Niedersächsische Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit Therapiehäufigkeiten in ausgewählten niedersächsischen Mastbetrieben bekannt (LAVES, 2011). Somit stehen erstmalig anwendungsbezogene Daten für die Einschätzung des potenziellen Umwelteintrags von VA in Deutschland zur Verfügung.

### Methodik und Ergebnisse der Eintragsmengenabschätzung

Basierend auf veröffentlichten Daten aus der VetCAB-Datenbank (Robanus, 2011) wurde zunächst für alle dort erfassten Wirkstoffe mit dokumentierter, oraler Verabreichung die relative Anwendungshäufigkeit und die durchschnittliche Dosierung für die Tierarten Schwein, Rind und Geflügel als sog. „Anwendungsmuster“ definiert (vgl. Menz et al., 2015). In einem zweiten Schritt wurde für jede Tierart eine repräsentative Nutztierkategorie ausgewählt (Schwein: Mastschwein, Rind: Kalb, Geflügel: Masthuhn) und die durchschnittliche Therapiehäufigkeit (Durchschnittsszenario) bzw. die maximale Therapiehäufigkeit (Worst-Case-Szenario) unter Berücksichtigung der zuvor beschriebenen Erhebungen zum Antibiotikaeinsatz abgeschätzt. Mithilfe dieser Variablen war es nun möglich für jeden Wirkstoff und jede Tierart PEC-Werte für Dünger ( $PEC_{\text{manure}}$ ) und Boden ( $PEC_{\text{soil}}$ ) zu berechnen. Dabei wurde zunächst ein Gesamtrückstandsansatz (total residue approach) verfolgt.

Im Durchschnittsszenario konnte in 12 von 17 Stichproben eine gute Übereinstimmung des  $PEC_{\text{manure}}$  mit europaweit gemessenen Höchstwerten aus der Literatur beobachtet werden. Dies spricht für eine realistische Größenordnung der berechneten  $PEC_{\text{manure}}$ -Werte für anschließende Vorhersagen des Eintrags in Böden. In diesem Zusammenhang wurde für die Wirkstoffe Chlortetracyclin, Tetracyclin, Sulfadiazin, Amoxicillin und Trimethoprim ein  $PEC_{\text{soil}} > 100 \mu\text{g kg}^{-1}$  bestimmt. Die höchste Gesamtrückstandskonzentration im Boden wurde mit  $407 \mu\text{g kg}^{-1}$  für den Wirkstoff Chlortetracyclin ermittelt. Das Worst-Case-Szenario zeigte zwar in Einzelfällen eine deutliche Überschätzung der Wirkstoffkonzentration im Dünger im Ver-

gleich mit Literaturwerten, allerdings lagen auch hier in 11 von 17 Fällen die durchgeführten Stichproben in einer ähnlichen Größenordnung. Ein  $PEC_{soil} > 100 \mu\text{g kg}^{-1}$  wurde insgesamt für 12 Wirkstoffe aus 7 verschiedenen Wirkstoffklassen berechnet. Die höchste Gesamtrückstandskonzentration im Boden wurde mit  $3,7 \text{ mg kg}^{-1}$  für den Wirkstoff Tetrazyklin ermittelt. Die von der WHO als „Highest priority critically important antimicrobials“ (HPCIIAs) eingestuftes Wirkstoffklassen erreichten überwiegend  $PEC_{soil}$ -Werte von  $0,1\text{-}30 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Der Wirkstoff Tylosin aus der Gruppe der Makrolidantibiotika erzielte allerdings einen Maximalwert von  $490 \mu\text{g kg}^{-1}$  im Worst-Case-Szenario.

### Fazit

Die durchgeführte Eintragsmengenabschätzung ermöglicht erstmalig eine ganzheitliche Abschätzung der theoretisch möglichen Antibiotikakonzentrationen in Wirtschaftsdünger und Boden. Demnach können selbst bei durchschnittlicher Therapiehäufigkeit mehrere Wirkstoffe Gesamtrückstandskonzentrationen von  $> 100 \mu\text{g kg}^{-1}$  im Boden erreichen. Die Eintragsmengenabschätzung mithilfe von Anwendungsmustern ermöglicht eine Abschätzung für Wirkstoffe, die sich bisher der Beobachtung entzogen haben. Dies kann eine effektive Ergänzung zu aufwendigen Monitoringprogrammen darstellen. In Deutschland bestehen jedoch große regionale Unterschiede hinsichtlich der Viehbestandsdichte, die mit großen Unterschieden bei der Antibiotikaabgabe und der anfallenden Menge Wirtschaftsdünger einhergehen. Daher führen Vorhersagen anhand überregionaler Durchschnittswerte möglicherweise zu erheblichen Fehleinschätzungen. Regionale Daten zur Abgabe und Anwendung von VA sind bisher nur in sehr begrenztem Umfang verfügbar, wodurch eine fundierte Bewertung des Risikos auf lokaler Ebene nicht immer möglich ist.



### 3.23 Veterinärantibiotika in der Umwelt – Abschätzung von Eintragsmengen auf der Basis von Verbrauchsdaten

Jakob Menz, Prof. Dr. Klaus Kümmerer

Institut für Nachhaltige Chemie und Umweltchemie, Leuphana Universität Lüneburg, jakob.menz@leuphana.de

#### Hintergrund

Im Jahr 2014 wurden deutschlandweit ca. 1200 t Veterinärantibiotika (VA) abgegeben (BVL 2015). Dies entspricht ungefähr der doppelten Menge des humanmedizinischen Antibiotikaverbrauchs (vgl. Paul-Ehrlich-Gesellschaft 2014). An Menschen und Tiere verabreichte Antibiotika werden größtenteils unverändert als Muttersubstanz oder in veränderter Form als Metabolite wieder ausgeschieden und können nachfolgend in die Umwelt gelangen. Bei Antibiotikarückständen aus dem Veterinärbereich geschieht dies in der Regel über diffuse Eintragswege, wobei der Eintrag in landwirtschaftlich genutzte Böden mit der Ausbringung von Wirtschaftsdünger tierischer Herkunft (z. B. Gülle) von großer Bedeutung ist. Rückstände von Antibiotika werden zudem unter bestimmten Voraussetzungen aus belasteten Böden in Oberflächengewässer oder auch in das Grundwasser transportiert. Als Folge sind Antibiotikarückstände sowohl in den Exkrementen behandelter Tiere als auch in verschiedenen Umweltkompartimenten (Boden, Oberflächen- und Grundwasser) regelmäßig nachweisbar.

#### Stand der Forschung

Die Vielfalt der in Böden nachgewiesenen Wirkstoffe und die Anzahl der Funde bilden nur teilweise die bekannten Verbräuche ab. So ergab eine Zusammenstellung von deutschland- und europaweit erhobenen Monitoringdaten (Bergmann et al. 2011), dass bisher nur Wirkstoffe aus vier verschiedenen Antibiotikaklassen in Bodenproben nachweisbar waren. Die überwiegende Anzahl von Funden entfiel hierbei auf die Klasse der Tetrazykline, gefolgt von Sulfonamiden. Des Weiteren deutet die Zusammenstellung lediglich auf vereinzelte Funde der Wirkstoffe Enrofloxacin und Trimethoprim hin. Demgegenüber stehen mindestens 18 Wirkstoffklassen, die nachweislich aktuell in Deutschland abgegeben werden (vgl. BVL 2015). Somit muss davon ausgegangen werden, dass momentan vorhandene Umweltdaten nur ein unvollständiges Bild des tatsächlichen Umwelteintrags zeigen. Die Eintragsmengenabschätzung auf der Basis von Verbrauchsdaten kann daher wichtige Zusatzinformationen liefern, die sowohl für die Risikobewertung als auch für die Planung von Monitoringprogrammen hilfreich sein können.

Die Abschätzung von Arzneimitteleinträgen in Verbindung mit der Ausbringung von Wirtschaftsdünger tierischer Herkunft erfolgt in der Regel ausgehend von der vorausgesagten Umweltkonzentration (predicted environmental concentration, PEC) im Dünger, welche anhand der Häufigkeit der Wirkstoffanwendung und der zugehörigen Dosierung berechnet werden kann. Somit sind anwendungsbezogene Daten zum Antibiotikaeinsatz in den Mastbetrieben von essentieller Bedeutung für eine fundierte Analyse des potenziellen Umwelteintrags. Seit 2014 sind nach AMG § 58a, b alle Betriebe, die Rinder, Schweine, Hühner oder Puten zur Mast berufs- oder gewerbsmäßig halten, zur Mitteilung des Antibiotikaeinsatzes an die zuständige Behörde verpflichtet. Diese Daten sind bisher nur stark eingeschränkt öffentlich zugänglich. Jedoch wurden innerhalb des Projektes „VetCAB“ Daten zum Antibiotikaeinsatz durch ausgewählte Betriebe und Tierärzte in Nordrhein-Westfalen und Niedersachsen (Machbarkeitsstudie) bzw. bundesweit in repräsentativen Landkreisen (Pilotstudie) erhoben und veröffentlicht (Robanus, 2011; Merle et al., 2012; van Rennings et al., 2014). Des Weiteren gab das Niedersächsische Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit Therapiehäufigkeiten in ausgewählten niedersächsischen Mastbetrieben bekannt (LAVES, 2011). Somit stehen erstmalig anwendungsbezogene Daten für die Einschätzung des potenziellen Umwelteintrags von VA in Deutschland zur Verfügung.

### Methodik und Ergebnisse der Eintragsmengenabschätzung

Basierend auf veröffentlichten Daten aus der VetCAB-Datenbank (Robanus, 2011) wurde zunächst für alle dort erfassten Wirkstoffe mit dokumentierter, oraler Verabreichung die relative Anwendungshäufigkeit und die durchschnittliche Dosierung für die Tierarten Schwein, Rind und Geflügel als sog. „Anwendungsmuster“ definiert (vgl. Menz et al., 2015). In einem zweiten Schritt wurde für jede Tierart eine repräsentative Nutztierkategorie ausgewählt (Schwein: Mastschwein, Rind: Kalb, Geflügel: Masthuhn) und die durchschnittliche Therapiehäufigkeit (Durchschnittsszenario) bzw. die maximale Therapiehäufigkeit (Worst-Case-Szenario) unter Berücksichtigung der zuvor beschriebenen Erhebungen zum Antibiotikaeinsatz abgeschätzt. Mithilfe dieser Variablen war es nun möglich für jeden Wirkstoff und jede Tierart PEC-Werte für Dünger ( $PEC_{\text{manure}}$ ) und Boden ( $PEC_{\text{soil}}$ ) zu berechnen. Dabei wurde zunächst ein Gesamtrückstandsansatz (total residue approach) verfolgt.

Im Durchschnittsszenario konnte in 12 von 17 Stichproben eine gute Übereinstimmung des  $PEC_{\text{manure}}$  mit europaweit gemessenen Höchstwerten aus der Literatur beobachtet werden. Dies spricht für eine realistische Größenordnung der berechneten  $PEC_{\text{manure}}$ -Werte für anschließende Vorhersagen des Eintrags in Böden. In diesem Zusammenhang wurde für die Wirkstoffe Chlortetrazyklin, Tetrazyklin, Sulfadiazin, Amoxicillin und Trimethoprim ein  $PEC_{\text{soil}} > 100 \mu\text{g kg}^{-1}$  bestimmt. Die höchste Gesamtrückstandskonzentration im Boden wurde mit  $407 \mu\text{g kg}^{-1}$  für den Wirkstoff Chlortetrazyklin ermittelt. Das Worst-Case-Szenario zeigte zwar in Einzelfällen eine deutliche Überschätzung der Wirkstoffkonzentration im Dünger im Vergleich mit Literaturwerten, allerdings lagen auch hier in 11 von 17 Fällen die durchgeführten Stichproben in einer ähnlichen Größenordnung. Ein  $PEC_{\text{soil}} > 100 \mu\text{g kg}^{-1}$  wurde insgesamt für 12 Wirkstoffe aus 7 verschiedenen Wirkstoffklassen berechnet. Die höchste Gesamtrückstandskonzentration im Boden wurde mit  $3,7 \text{ mg kg}^{-1}$  für den Wirkstoff Tetrazyklin ermittelt. Die von der WHO als „Highest priority critically important antimicrobials“ (HPCIIAs) eingestufte Wirkstoffklassen erreichten überwiegend  $PEC_{\text{soil}}$ -Werte von  $0,1\text{--}30 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Der Wirkstoff Tylosin aus der Gruppe der Makrolidantibiotika erzielte allerdings einen Maximalwert von  $490 \mu\text{g kg}^{-1}$  im Worst-Case-Szenario.

### Fazit

Die durchgeführte Eintragsmengenabschätzung ermöglicht erstmalig eine ganzheitliche Abschätzung der theoretisch möglichen Antibiotikakonzentrationen in Wirtschaftsdünger und Boden. Demnach können selbst bei durchschnittlicher Therapiehäufigkeit mehrere Wirkstoffe Gesamtrückstandskonzentrationen von  $> 100 \mu\text{g kg}^{-1}$  im Boden erreichen. Die Eintragsmengenabschätzung mithilfe von Anwendungsmustern ermöglicht eine Abschätzung für Wirkstoffe, die sich bisher der Beobachtung entzogen haben. Dies kann eine effektive Ergänzung zu aufwendigen Monitoringprogrammen darstellen. In Deutschland bestehen jedoch große regionale Unterschiede hinsichtlich der Viehbestandsdichte, die mit großen Unterschieden bei der Antibiotikaabgabe und der anfallenden Menge Wirtschaftsdünger einhergehen. Daher führen Vorhersagen anhand überregionaler Durchschnittswerte möglicherweise zu erheblichen Fehleinschätzungen. Regionale Daten zur Abgabe und Anwendung von VA sind bisher nur in sehr begrenztem Umfang verfügbar, wodurch eine fundierte Bewertung des Risikos auf lokaler Ebene nicht immer möglich ist.

### Literatur

Bergmann, A., Fohrmann, R., Weber, F., 2011. Zusammenstellung von Monitoringdaten zu Umweltkonzentrationen von Arzneimitteln. Hg. v. Umweltbundesamt. Dessau-Roßlau.

Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) (28.07.2015): Antibiotikaabgabe in der Tiermedizin sinkt weiter. Online verfügbar unter [https://www.bvl.bund.de/DE/08\\_PresseInfothek/01\\_FuerJournalisten/01\\_Presse\\_und\\_Hintergrundinformationen/05\\_Tierarzneimittel/2015/2015\\_07\\_28\\_pi\\_Antibiotikaabgabemenge2014.html](https://www.bvl.bund.de/DE/08_PresseInfothek/01_FuerJournalisten/01_Presse_und_Hintergrundinformationen/05_Tierarzneimittel/2015/2015_07_28_pi_Antibiotikaabgabemenge2014.html), zuletzt geprüft am 12.10.2015.

Menz, J., Schneider, M., Kümmerer, K., 2015. Usage pattern-based exposure screening as a simple tool for the regional priority-setting in environmental risk assessment of veterinary antibiotics: A case study of north-western Germany. *Chemosphere* 127, 42–48. doi:10.1016/j.chemosphere.2014.12.091.

Merle, R., Hajek, P., Käsbohrer, A., Hegger-Gravenhorst, C., Mollenhauer, Y., Robanus, M., Ungemach, F.-R., Kreienbrock, L., 2012. Monitoring of antibiotic consumption in livestock: a German feasibility study. *Preventive Veterinary Medicine* 104, 34–43. doi:10.1016/j.prevetmed.2011.10.013.

LAVES, 2011. Bericht über den Antibiotikaeinsatz in der landwirtschaftlichen Nutztierhaltung in Niedersachsen.

Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie; Zentrum Infektiologie und Reisemedizin (2014): *Germap 2012. Antibiotika-Resistenz und -Verbrauch ; Bericht über den Antibiotikaverbrauch und die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen in der Human- und Veterinärmedizin in Deutschland*. 1. Aufl. Rheinbach: Antiinfectives Intelligence.

Robanus, M., 2011. *Antibiotika-Verbrauchsmengenerfassung bei landwirtschaftlichen Nutztieren in ausgewählten Betrieben und Tierarztpraxen in Niedersachsen und Nordrhein-Westfalen unter Berücksichtigung pharmakologischer Parameter*. Inaugural-Dissertation, Leipzig.

van Rennings, L., Münchhausen, C. von, Hartmann, M., Ottilie, H., Honscha, W., Käsbohrer, A., Kreienbrock, L., 2014. Antibiotikaverbrauch und Antibiotikaverkauf in Deutschland im Jahr 2011--Zur Situation des Arzneimittelensatzes in der Veterinärmedizin. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift* 127, 366–374.





### 3.24 Resistance in the Wilderness – Should We Keep Distance from Dear Deer?

Dr. Dariusz Wasyl

National Veterinary Research Institute, Department of Microbiology, National Reference Laboratory for Antimicrobial Resistance, 24-100 Puławy, Partyzantów 57, Poland

#### The background

Under the One Health concept, the actions in animal husbandry and the environment improve health care in humans. It holds true for numerous medical and ecological issues including infectious diseases caused by zoonotic agents and bacterial resistance to antimicrobials.

For some decades already cephalosporin resistance due to CTX-M-3-producing *Enterobacteriaceae* (Gołębiewski et al., 2007) and interregional spread of carbapenemases (Grundmann et al., 2010) have been the major public health concerns in Poland. To provide evidence-based knowledge on possible source of resistance in food production chain, antimicrobial resistance monitoring in *Salmonella* and indicator *Escherichia (E.) coli* was launched in 2008. The study based on EFSA recommendations showed *E. coli* resistance to be dependent on isolation source (food animals) and only a few changes of resistance level over the study period were noted. The highest dynamics were observed in cephalosporin resistance (Wasyl et al., 2013). Selective screening showed a huge burden of cephalosporin resistance in food animals (Wasyl et al., 2010), however the genetic background (Wasyl et al., 2012) differed considerably from the one observed in humans. Quinolone resistance was the second focus of the studies. Resistance mechanisms, including plasmid mediated ones (PMQR) were often found both in commensal *E. coli* (Wasyl, 2014) and *Salmonella* (Wasyl et al., 2014). Since selective pressure due to antimicrobial usage in animals contributed to *E. coli* resistance, clonal spread was relevant for *Salmonella* (Wasyl and Hoszowski, 2012; Wasyl et al., 2014; Zając et al., 2013).

#### Antimicrobial resistance in wild boars and deer

The aim of the study were: 1) to evaluate antimicrobial resistance in indicator *E. coli* isolated from hunted wild boars and deer, 2) to assess the prevalence of cephalosporin resistance in wildlife, 3) to characterise cephalosporin and quinolone resistance mechanisms as well as their carrier plasmids.

Wildlife reservoirs of antimicrobial resistance were tested in *E. coli* isolated from hunted red deer (n = 225), roe deer (n = 76), fallow deer (n = 24), European bison (n = 3, sanitary shots), and wild boar (n = 332). The samples were collected during 46 hunting events within two seasons (2012/2013, n = 7 and 2013/2014, n = 39) in 37 regional forests scattered over the whole territory of Poland. Direct streak of faeces on MacConkey agar followed by PCR identification (*uspA*) resulted in 542 *E. coli* (82.1 % isolation rate). Resistance (MIC, EUCAST epidemiological cut-offs) was found against 11 of 14 tested antimicrobials reaching the highest values for sulfamethoxazole (6.6 %), streptomycin (1.8 %), ampicillin, trimethoprim, and tetracycline (1.3 % each). Chloramphenicol, nalidixic acid, ciprofloxacin, gentamicin, kanamycin, and colistin resistances ranged between 0.2 % and 0.9 %. Although no significant differences were observed between *E. coli* isolated from wild boars (n = 278) and ruminants (n = 264), the values for the latter category were slightly lower with no ampicillin, gentamicin, kanamycin, chloramphenicol, and quinolone resistance. Moreover, none fallow deer and bison isolates showed any resistance. Simultaneously, the same samples streaked on cefotaxime-supplemented MacConkey agar gave estimates of cephalosporin-resistant *E. coli*. The overall prevalence was 1.7 % with single isolates obtained from fallow and red deer and nine from wild boars (prevalence within the wild boar population 2.7 %, CI95 % 1.0÷4.5 %). Cephalosporin-resistance mechanisms were identified (E-test<sup>®</sup>, PCRs) as extended-spectrum beta-lactamases (ESBL, n = 3) and *ampC*-type cephalosporinases (n = 8, including

2 isolates from fallow and red deer). Sequencing of PCR products identified ESBL genes as *bla*<sub>CTX-M-1/61</sub> (n = 2) or *bla*<sub>CTX-M-15</sub>. AmpC-type cephalosporinases producing isolates carried *bla*<sub>Cmy-2</sub> either alone (n = 1), on in combination with *bla*<sub>TEM-1</sub> (n = 5, including red deer isolate) or *bla*<sub>TEM-161</sub> (n = 1). Cephalosporin resistance mechanism of fallow deer isolate remained unrecognised. Plasmid screening (alkaline lysis) revealed several plasmids with molecular weight ranging between ca. 2, 1 to 200 kb and representing a wide spectrum of incompatibility groups (i.e. Inc11-alpha, IncF (FIB), IncFII, IncK, IncY, IncB/O, IncX1, IncFIC, IncHI1). Two wild boar isolates carrying *bla*<sub>Cmy-2</sub>+*bla*<sub>TEM-1</sub> and *bla*<sub>CTX-M-15</sub> as well as multiple plasmids representing various Inc groups were selected for resistance transfer experiments. The first and only transfer trial resulted in cephalosporin resistant *bla*<sub>Cmy-2</sub> carrying transconjugant and PBRT demonstrated the presence of ca. 85 kb Inc11-alpha plasmid in both recipient and donor strains. Two of cephalosporin resistant isolates (*bla*<sub>CTX-M-15</sub> and *bla*<sub>Cmy-2</sub>+*bla*<sub>TEM-1</sub>) as well as one of multidrug resistant, but cephalosporin susceptible isolates showed plasmid mediated quinolone resistance. PMQR genes were identified as *qnrS1/S3* often found in both *E. coli* and *Salmonella* of food animals (Wasył, 2014; Wasył et al., 2014). Interestingly, 6 cephalosporin-resistant isolates carrying various resistance genes but originating from wild boars shot during single hunting gave assumption for a common environmental reservoir of either resistance itself, or antimicrobial selective pressure. Since, none of the cephalosporin resistant isolates harboured pathogenicity markers (PCR) typical for enteropathogenic, enteroaggregative, enterotoxigenic, enteroinvasive or verotoxin-producing *E. coli* they might be considered a vector of resistance determinants, but not the pathogens themselves.

The results prove wild animals as environmental pool of cephalosporin and PMQR resistance genes. Their origin cannot be defined. They might easily originate from the environment itself, or from farm animals, since wildlife, particularly boars and roe deer, are often foraging on agricultural areas. The results draw attention to environmental aspects of spread of resistance.

### **Invasive alien turtles as a source of resistance**

Identification of antimicrobial resistance in bacteria isolated from invasive turtles captured from the environment in Poland is carried out in the ongoing project on epidemic threats resulting from the presence of alien species in the nature. Data on antimicrobial resistance in bacteria from reptiles, precisely from alien turtles are extremely sparse. Up to date, with the methodology used in wild mammals, we failed to isolate commensal and cephalosporin-resistant *E. coli* from both life-captured, euthanized and necropsied sliders. It might be explained with different microbiota in mammal and reptile guts. Resistance in *Salmonella* from turtles was rare and similar to the one observed in the isolates from European grass snakes (unpublished). However, promising results are expected from numerous isolates representing *Acinetobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Pseudomonas* spp., *Shewanella* spp., and *Aeromonas* spp. Environmental isolates of those species are often considered to be the primary source of mobilized resistance genes found in bacteria of animal and human relevance.

### **Funding and acknowledgements**

The studies were supported by governmental founding of the multi-annual research projects Protection of Animal and Human Health (Ministry of Council Resolutions 244/2008 of October 28, 2008 and 229/2013 of December 31, 2013), National Science Centre Grants No. NR12-0126-10/2011 (wildlife) and No. 2013/11/B/NZ7/01690 (invasive alien turtles). Colleagues from National Reference Laboratory, publications co-authors and project co-investigators are acknowledged for their valuable contribution to the presented results.

### **Further reading**

Gołębiewski, M., Kern-Zdanowicz, I., Zienkiewicz, M., Adamczyk, M., Żylinska, J., Baraniak, A., Gniadkowski, M., Bardowski, J., Ceglowski, P., 2007. Complete nucleotide sequence of the pCTX-M3 plasmid and its involvement in spread of the extended-spectrum  $\beta$ -lactamase gene *bla*<sub>CTX-M-3</sub>. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 51, 3789-3795.

Grundmann, H., Livermore, D., Giske, C., Canton, R., Rossolini, G., Campos, J., Vatopoulos, A., Gniadkowski, M., Toth, A., Pfeifer, Y., Jarlier, V., Carmeli, Y., 2010. Carbapenem-non-susceptible Enterobacteriaceae in Europe: conclusions from a meeting of national experts. *Euro Surveill* 15.

Wasył, D., 2014. Prevalence and Characterization of Quinolone Resistance Mechanisms in Commensal *Escherichia coli* Isolated from Slaughter Animals in Poland, 2009-2012. *Microbial Drug Resistance* 20, 544-549.

Wasył, D., Hasman, H., Cavaco, L.M., Aarestrup, F.M., 2012. Prevalence and characterization of cephalosporin resistance in nonpathogenic *Escherichia coli* from food-producing animals slaughtered in Poland. *Microbial Drug Resistance* 18, 79-82.

Wasył, D., Hoszowski, A., 2012. First isolation of ESBL-producing *Salmonella* and emergence of multiresistant *Salmonella* Kentucky in turkey in Poland. *Food Research International* 45, 958–961.

Wasył, D., Hoszowski, A., Zając, M., 2014. Prevalence and characterisation of quinolone resistance mechanisms in *Salmonella* spp. *Veterinary Microbiology* 171, 307-314.

Wasył, D., Hoszowski, A., Zając, M., Skarżyńska, M., 2010. Simple and efficient screening method for detection of cephalosporin resistant *Escherichia coli*. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 54, 147-151.

Wasył, D., Hoszowski, A., Zając, M., Szulowski, K., 2013. Antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* isolated from animals at slaughter. *Front Microbiol* 4, 1-12.

Zając, M., Wasył, D., Hoszowski, A., Le Hello, S., Szulowski, K., 2013. Genetic lineages of *Salmonella enterica* serovar Kentucky spreading in pet reptiles. *Veterinary Microbiology* 166, 686–689.



### 3.25 Zusammenhang zwischen Antibiotikagabe und weiteren Faktoren mit resistenten *E. coli* beim Schwein

Dr. Elke Burow, PD Dr. Annemarie Käsbohrer

Fachgruppe Epidemiologie, Zoonosen und Antibiotikaresistenz, Abteilung für Biologische Sicherheit, Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin, Elke.Burow@bfr.bund.de

In den letzten Jahren wurde ein Anstieg der Antibiotikaresistenzraten (AR) bei *Escherichia coli* (*E. coli*) vom Schwein beobachtet. Diese Kommensalen können Reservoir für Resistenzgene darstellen, die übertragbar auf andere Pathogene und zoonotische Bakterien sind. Da Antibiotika wichtig für die Therapie von Infektionen bei Tieren und Menschen sind, gilt es, Behandlungsmöglichkeiten zu erhalten.

Das Ziel dieses Literaturreviews war daher, kritische und schützende Faktoren für Antibiotikaresistenz (AR) bei kommensalen *Escherichia coli* (*E. coli*) des Schweins im Zusammenhang mit oraler Antibiotikagabe zu identifizieren. Relevante explorative Studien wurden anhand von Stichwortkombinationen aus elektronischen Datenbanken (veröffentlicht bis Juli 2015) herausgesucht. Identifizierte Studien wurden anhand von Auswahlkriterien geprüft und beurteilt. Elf relevante Artikel (acht beobachtende, drei experimentelle Studien) kamen schließlich in die Endauswahl. Auswirkung auf Resistenzentwicklung zeigten lt. den Studienergebnissen – neben der oralen Anwendung per se – Produktions(alter)gruppe, Zukauf von Tieren, Schweinekontakt von Besuchern in den letzten zwei Tagen, Dosierung, individuelle Behandlung vs. Gruppenbehandlung, Zeitspanne zwischen Behandlungs- und Beprobungsdatum, Herdengröße, Distanz zu einem anderen Betrieb und Jahreszeit. Zusammenhänge wurden durch eine bis vier Studien pro Faktor gezeigt und unterschieden sich in Stärke, Richtung und Signifikanzniveau. Das Verzerrungsrisiko war in fast der Hälfte der Informationen von beobachtenden Studien und in einem Großteil der Information von experimentellen Studien unklar. Besonders die Auswahl und Verblindung der Studienbetriebe waren oft unzureichend, gar nicht oder missverständlich dargestellt. Verschiedene Faktoren wurden identifiziert, die AR in *E. coli* des Schweins potentiell verringern können. Weitere Studien zum Effekt von spezieller Managementpraxis sind für die Ableitung evidenzbasierter Managementempfehlungen notwendig.



#### 4 Autorenverzeichnis

- Alt, Katja 13
- Bangerter, Patrick Daniel 65
- Beloeil, Pierre Alexandre 37
- Burow, Elke 77
- Dähre, Katrin 19
- Eckmanns, Tim 11, 63
- Feßler, Andrea T. 43
- Fetsch, Alexandra 13, 25
- Fischer, Jennie 49
- Friese, Anika 19, 49
- Fuchs, K. 39
- Fuchs, R. 39
- Geovana Brenner, Michael 43
- Griesbacher, Antonia 39
- Grobbel, Mirjam 13, 21
- Guerra, Beatriz 13, 21, 49
- Hartmann, Maria 29
- Hemme, Malin 29
- Jabin H. 47
- Kadlec, Kristina 43
- Karaalp, Anne-Kathrin 17
- Käsbohrer, Annemarie 13, 21, 25, 47, 49, 77
- Kaspar, Heike 17
- Kelner-Burgos, Ylanna 25
- Kreienbrock, Lothar 29, 49
- Kümmerer, Klaus 69
- Lübbert, Christoph 55
- Menz, Jakob 69
- Merle, Roswitha 27
- Mevius, Dik 41
- Much, P. 39
- Nüesch-Inderbinnen, Magdalena 57
- Overesch, Gudrun 65
- Perreten, Vincent 65
- Pfeifer, Yvonne 49, 59
- Piontkowski, Arno 33
- Projahn, Michaela 19
- Römer, Antje 17
- Roschanski, Nicole 49
- Rösler, Uwe 19, 49
- Schiffmann, Arthur P. 51
- Schlindwein, Bernhard 35
- Schroeter, A. 13, 21
- Schwarz, Stefan 43
- Sidler, Xaver 65
- Steinacker, Ulrike 17
- Stephan, Roger 57
- Stingl, Kerstin 13
- Sun, H. 39
- Tenhagen, Bernd-Alois 13, 21, 25
- Valentin, L. 47
- Wallmann, Jürgen 17
- Walter, Jan 63
- Wasył, Dariusz 73
- Weber, S. 39
- Zurfluh, Katrin 57