

Multiresistente Keime bei Puten

Das gleichzeitige Vorkommen von Resistenzen gegen mehrere Antibiotika, sog. Multiresistenzen, erschwert oder verhindert die Behandlung bakterieller Infektionen zunehmend in erheblichem Maße. Zu den derzeit weltweit wichtigsten multiresistenten Keimen gehören **Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA)** und **Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE)**. Diese Bakterien kommen sowohl bei Menschen als auch bei Tieren vor. Die Wechselwirkungen zwischen Mensch und Tier (**Zoonose**) sind noch nicht abschließend geklärt. Hierfür sind systematische Untersuchungen zum Vorkommen dieser multiresistenten Keime bei verschiedenen Tierarten und bei Menschen mit Tierkontakt notwendig, um Entwicklungen und Risiken einer gegenseitigen Übertragung abschätzen zu können.

Ziel dieses Projektes des CVUA Stuttgart und des Geflügelgesundheitsdienstes Stuttgart war es deshalb, erstmals das Vorkommen von MRSA- und VRE-Keimen in Putenmastbeständen zu ermitteln.

Diese Untersuchungen ergaben insgesamt unerwartet hohe Zahlen, insbesondere für MRSA und etwas geringer für VRE. So waren 72% (143 von 200) der untersuchten Proben aus 20 Mastputenherden mit MRSA und 27% (54 von 200) mit VRE besiedelt. Betroffen von MRSA waren 90% (18 von 20) der untersuchten Bestände und 75% (15 von 20) mit VRE. Die Besiedlungen mit MRSA bei den untersuchten Puten verliefen ohne klinische Erscheinungen.

Personen mit häufigem, d.h. mit täglichem oder mindestens wöchentlichem Kontakt zu Puten, waren signifikant häufiger mit MRSA besiedelt (Nasenschleimhaut) als Personen mit weniger häufigem Kontakt. Auch hier verliefen die Besiedlungen mit MRSA bei den untersuchten Personen ohne klinische Erscheinungen.

Eine Besiedlung der Nasenschleimhaut mit VRE-Keimen konnte bei keiner der untersuchten Personen nachgewiesen werden.

Das Vorkommen von MRSA oder VRE bei Tieren hat weder Einschränkungen noch Maßnahmen einer Bekämpfung zur Folge. Allerdings sollten Personen mit Kontakt zu MRSA und/oder VRE positiven Tieren, die in Krankenhäusern oder Pflegeeinrichtungen arbeiten oder bei denen ein operativer Eingriff notwendig ist, sich untersuchen lassen, um Besiedlungen oder Infektionen vorzubeugen.

Einleitung

Die Entdeckung und Weiterentwicklung von Antibiotika ermöglichte es erstmals, gezielt zahlreiche bakterielle Infektionen erfolgreich zu bekämpfen. Bis heute sind Antibiotika für die Behandlung bakterieller Infektionen unverzichtbar. Während nach dem 2. Weltkrieg in den 1950er und 1960er zahlreiche Antibiotika verschiedener Gruppen mit unterschiedlichen Wirkmechanismen entdeckt und entwickelt wurden, wird die Suche nach neuartigen Chemotherapeutika immer schwieriger und aufwändiger. Seit Beginn der 1980er Jahre hat die Entwicklung neuer Antibiotika deutlich abgenommen (Holzgrabe und Schmitz, 2010). Gleichzeitig ist der Bedarf an neuartigen Antibiotika aufgrund der Zunahme von bakteriellen Resistenzen in den letzten 10 bis 20 Jahren angestiegen (GERMAP, 2008). Diese besorgniserregende Entwicklung hat die Diskussion um den Einsatz von Antibiotika in der Humanmedizin in die Öffentlichkeit gerückt. Auch in der Nutztiermedizin war dies Anlass zu Appellen und Maßnahmen, mit dem Ziel, antibakterielle Chemotherapeutika vernünftig, verantwortungsvoll und in möglichst geringeren Mengen einzusetzen (AHO, 2010; AHO, 2011; BTK/AGTAM, 2010; EFSA, 2010; FVE, 1999; RKI, 2008; RKI, 2010a).

Genrell gilt, dass die Anwendung von Antibiotika nicht zur Evolution von Resistenz-Genen führt, sondern die auf natürliche Weise entstandenen resistenten Varianten durch Antibiotika selektiert werden (Kayser, 1998). Deshalb wurde 1996 die Anwendung von Avoparcin als Futterzusatzstoff europaweit verboten. Hierdurch soll der Selektion von Keimen, die gegen die Gruppe der Glykopeptid-Antibiotika, zu denen auch Vancomycin gehört, entgegengewirkt werden (BfR, 1996; RKI, 1997).

Bakterien, die gleichzeitig gegen mehrere Antibiotika resistent sind (multi-resistente Bakterien) kommen sowohl beim Menschen als auch bei Tieren vor. Die antibiotische Behandlung von Infektionen, die durch multiresistente Bakterien ausgelöst werden, sind stark eingeschränkt.

Zu den wichtigsten Antibiotika-resistenten Keimen gehören **Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA)** und **Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE)**.

Ergebnisse eigener Untersuchungen

MRSA

In eigenen Untersuchungen konnte MRSA bei 71,5% (143 von 200) der untersuchten Puten in insgesamt 90% (18 von 20) der Betriebe nachgewiesen werden.

Von betriebszugehörigen Personen, die mittels Nasentupfer untersucht wurden, erwiesen sich 37,3% (22 von 59) als MRSA-Träger. Darüber hinaus konnte ermittelt werden, dass bei Personen, die sich regelmäßig (täglich oder mindestens ein mal pro Woche) in den Putenstallungen aufhielten, das Risiko einer Besiedlung mit MRSA signifikant höher war, als bei Personen, die weniger häufig Kontakt zu den Tieren hatten.

VRE

VRE-Keime konnten bei 27% (54 von 200) der untersuchten Puten in insgesamt 75% (15 von 20) der in die Studie einbezogenen Mastbetriebe isoliert werden. Aus dem Untersuchungsspektrum der VRE-Resistenzgene waren ausschließlich das *vanA*-Gen (17,6%) und das *vanC1*-Gen (82,4%) nachweisbar. Nicht nachgewiesen werden konnten die in die Untersuchungen einbezogenen Resistenzgene *vanB1/2/3* und *vanC2/3*.

Bei keiner der 59 beprobten Personen konnten VRE-Keime in Nasentupferproben isoliert werden.

Schlussfolgerungen

MRSA

- Durch diese Studien konnten erstmals umfassende Daten zum Vorkommen von MRSA bei Mastputen gewonnen werden. Die Nachweisraten fielen hierbei mit 71,5% positiven Proben in 90% der untersuchten Mastputenbetrieben unerwartet hoch aus.
- Das zoonotische Potenzial von MRSA wird in folgenden Ergebnissen deutlich:
 - Personen mit Kontakt zu Mastputen erwiesen sich weit häufiger MRSA positiv als Personen aus der Normalbevölkerung.

- Die Wahrscheinlichkeit eines MRSA positiven Nachweises in der Nasentupferprobe hat mit der Häufigkeit des Kontaktes dieser Personen zu Mastputen signifikant zugenommen.
- Nicht nur Personen mit Kontakt zu Schweinen, sondern auch Personen mit Kontakt zu Puten, die in Krankenhäusern oder Pflegeeinrichtungen arbeiten oder Personen, bei denen ein Aufenthalt in einer medizinischen Einrichtung ansteht, sollten auf eine Besiedlung mit MRSA getestet werden.

VRE

- Mit 27% positiven Proben in 75% der untersuchten Mastputenbetriebe konnte ein häufiges Vorkommen von VRE festgestellt werden. Die Ursachen für die Häufigkeit der VRE, auch nach dem Verbot der Verwendung von Avoparcin als Futterzusatzstoff, sind nicht geklärt.
- Die Dominanz der in dieser Arbeit nachgewiesenen Resistenzgene *vanA* und *vanC1* entspricht der in der Literatur beschriebenen Daten. Nicht nachgewiesen werden konnten die Resistenzgene *vanB1/2/3* und *vanC2/3*.
- Obwohl sich der Großteil der Betriebe als VRE-positiv erwies, konnten aus den von betriebszugehörigen Personen entnommenen Nasentupferproben keine VRE-Isolate gewonnen werden. Es bleibt deswegen weiteren Untersuchungen vorbehalten, ob die Nasentupferentnahme als alleinige Untersuchungsmethode für den Nachweis von VRE-Keimen bei Personen geeignet ist und ob die Übertragung von VRE von Tieren auf den Menschen auch bei einer hohen VRE-Prävalenz bei Tieren eine Rolle spielt.

VRE/MRSA

- Von besonderer Brisanz ist eine mögliche Vancomycin-Resistenz nicht nur bei Enterokokken, sondern auch bei *Staphylococcus aureus*-Keimen, da eine Resistenz gegen dieses Reserve-Antibiotikum die Therapie für MRSA-Infektionen zusätzlich erschwert.

Untersuchungsmethoden

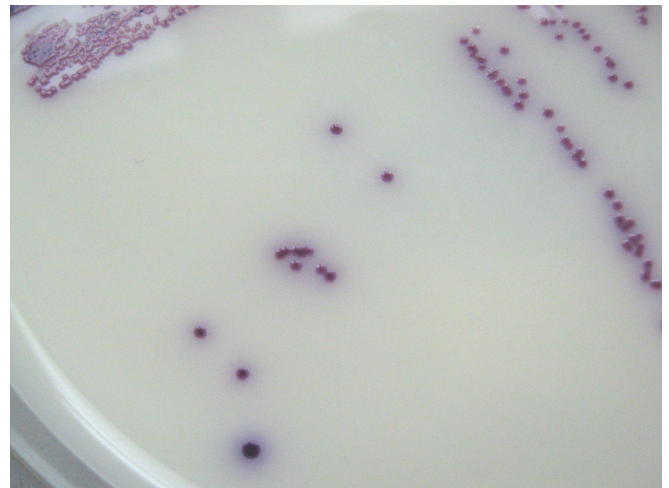
MRSA

Für den Nachweis von MRSA-Keimen wurden Kloaken- und Trachealtupferproben von insgesamt 200 Mastputen und Staubproben aus 20 Putenställen sowie Nasentupferproben von 59 Personen dieser Betriebe

entnommen. Die Untersuchungen wurden gemäß den Vorgaben des Bundesinstituts für Risikobewertung (BfR) mit Hilfe einer Kombination aus Voranreicherung und Anreicherung und anschließender Kultivierung auf einer selektiven, chromogenen Agarplatte durchgeführt (Entscheidung der Kommission 2008/55/EG). Die Identifizierung von Gattung und Spezies wurde mittels Fourier-Transformations-Infrarotspektroskopie (FT-IR, http://www.cvuas.de/pub/beitrag.asp?subid=1&Thema_ID=2&ID=1400) und der Nachweis des Resistenzgens *mecA* mittels PCR durchgeführt.



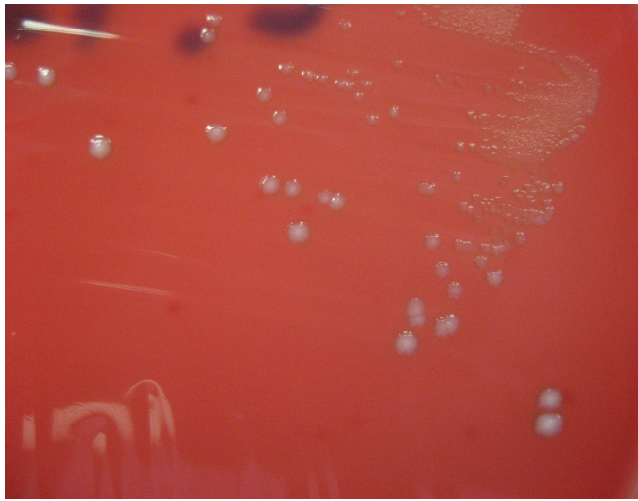
Kolonien von *Staphylococcus aureus*-Keimen auf Schafblutagar. Deutlich sichtbar ist die gold-gelbe Färbung der Kolonien, die dem Keim seinen Namen gegeben hat (aureus = golden). Die Kolonien haben eine Größe (Durchmesser) von 2 bis 3 mm.



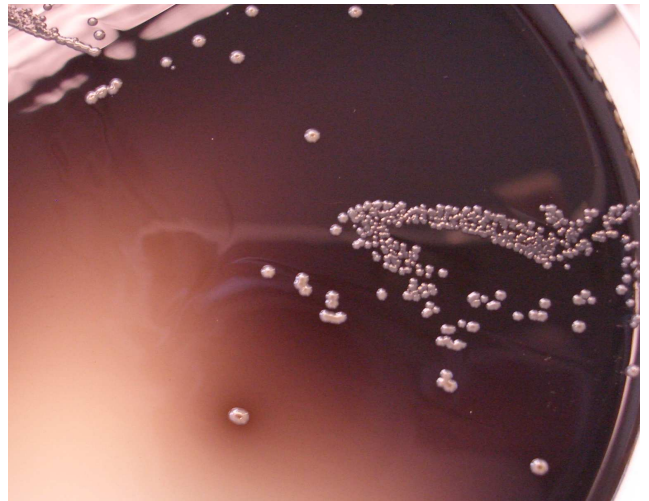
Kolonien Methicilin-resistenter *Staphylococcus aureus*-Keime (MRSA) auf einer chromogenen Selektivagarplatte.

VRE

Für den Nachweis von VRE-Keimen wurden Kloakentupferproben von 200 lebenden Puten und Staubtupferproben aus 20 Mastputenställen sowie 59 humane Nasentupferproben in diese Studie einbezogen. Der Nachweis der VRE-Keime wurde mittels Anreicherungsverfahren und anschließender Kultivierung auf einem mit Vancomycin angereicherten Selektivagar kombiniert. Die Identifizierung der Enterokokken erfolgte mit Hilfe biochemischer Parameter, der Nachweis der Resistenzgene *vanA*, *vanB1/2/3*, *vanC1* und *vanC2/3* mittels PCR.



Kolonien von Enterokokken auf Schafblutagar. Die Kolonien haben eine Größe (Durchmesser) von 1 bis 1,5 mm.



Kolonien Vancomycin-resistenter Enterokokken (VRE) auf Selektivagar.

Weitere Informationen zu Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus*- (MRSA) und Vancomycin-resistenten Enterokokken (VRE)

An erster Stelle nosokomialer (in Krankenhäusern erworbenen), multiresistenter Infektionserreger stehen derzeit Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) und Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE). Auch bei Tieren wurde in den letzten Jahren verstärkt über das Auftreten von MRSA und VRE, auch als Infektionserreger berichtet (http://www.cvuas.de/pub/beitrag.asp?subid=1&Thema_ID=2&ID=1319; Hafez und Jodas, 1997; Selbitz, 2007).

MRSA- wie auch VRE-Keime können weltweit sowohl beim Menschen wie auch beim Tier nachgewiesen werden, so dass diese Keime als potentielle **Zoonoseerreger** anzusehen sind. Untersuchungen von Tieren als Basis einer Risikoabschätzung zur Übertragung multiresistenter Keimen auf den Menschen sind deshalb unverzichtbar.

In Hinblick auf Infektionsquellen unterscheidet man **MRSA** in Krankenhäusern (haMRSA = hospital acquired MRSA), in Alten- und Pflegeeinrichtungen (hcaMRSA = health care acquired MRSA), in der Bevölkerung (caMRSA = community acquired MRSA) oder bei Nutztieren (laMRSA = livestock acquired MRSA).

Unter den Nutztieren gibt es vor allem bei Schweinen Daten zur Prävalenz von **MRSA-Keimen**. Aber auch bei Kühen, Pferden und bei Kleintieren

konnten MRSA-Keime nachgewiesen werden. Beim Geflügel hingegen gibt es gegenwärtig nur vereinzelte Berichte über MRSA-Nachweise. Angaben über deren Prävalenz fehlen vollständig.

Was **VRE**-Keime anbetrifft, konzentrieren sich die meisten Studien auf eine mögliche Ausbreitung von VRE aus der landwirtschaftlichen Tierhaltung über die Nahrungskette auf den Menschen. So konnte nachgewiesen werden, dass Vancomycin-resistente *Enterococcus faecium*-Isolate (VREF) bestimmter Genogruppen bei Mensch und Tier vorkommen. Somit können Haustiere eine potenzielle Quelle für VRE-Stämme bei Krankenhauspatienten darstellen. Dennoch geht man davon aus, dass VRE-Keime von Mensch und Tier zum größten Teil getrennten Genotypen angehören und sich diese zwei Linien weitgehend aus zwei verschiedenen Richtungen entwickelt haben. Unsere Studie gibt hier erstmals Einblick in die Verbreitung von VRE bei Puten.

Resistenzmechanismen

Für die Behandlung von Staphylokokken stellen aufgrund ihrer guten Wirksamkeit die sog. β -Laktamantibiotika die Mittel der Wahl dar. Zu diesen werden neben dem klassischen Penicillin, die Antibiotika Methicillin, Ampicillin, Amoxicillin, Carbenicillin u.a. gezählt. Die Wirkung der β -Laktamantibiotika beruht auf einer Inaktivierung von Enzymen (Transpeptidasen), die an der Zellwandbildung der Bakterien beteiligt sind. Durch die Hemmung dieser Enzyme durch β -Laktamantibiotika kommt es zu einer Instabilität der Zellwand und zur Störung von Zellteilungsvorgängen, die zur Abtötung der Bakterien führt (bakterizide Wirkung). Schutz bietet **MRSA**-Keimen das Penicillin-bindende Protein PBP2a, das β -Laktamantibiotika inaktiviert. Die genetische Basis für die Bildung des PBP2a ist das sog. *mecA*-Gen. Der molekularbiologische Nachweis des *mecA* ist von großer Bedeutung für die MRSA-Diagnose.

Das Glycopeptid-Antibiotikum Vancomycin bindet an Bausteine der Bakterienzellwand (D-Alanin), so dass der enzymatische Aufbau der Zellwand abgebrochen wird. Die Ursache der Resistenz von **VRE**-Keimen liegt darin, dass in der Biosynthese der Zellwand der Baustoff D-Alanin durch D-Lactat (verantwortliche Resistenzgene: *vanA*, *vanB*, *vanD*) oder D-Serin (verantwortliche Resistenzgene: *vanC*, *vanE*, *vanG*, *vanL*) ersetzt wird und somit Glykopeptid-Antibiotika nicht mehr binden können. Die wichtigs-

ten hierfür verantwortlichen Resistenzgene sind *vanA* (sog. „high level“ Resistenz, die sowohl gegen Vancomycin als auch gegen das verwandte Teicoplanin gerichtet ist), *vanB* (mäßige Empfindlichkeit bis schwacher Resistenz, sog. „low-level“ Resistenz, gegen Vancomycin bei gleichzeitiger Empfindlichkeit gegen Teicoplanin) und *vanC* (mäßige Empfindlichkeit bis schwache Resistenz, sog. „low-level“ Resistenz gegen Vancomycin, aber Empfindlichkeit gegen Teicoplanin).

Bedeutung kommt der Vancomycin-Resistenz auch deshalb zu, weil Vancomycin eines der sog. Reserveantibiotikum gegen MRSA-Keime ist.

Maßnahmen gegen MRSA und VRE

Da MRSA- und VRE-Keime bei Tieren weit verbreitet vorkommen und sowohl bei gesunden Menschen und Tieren nachgewiesen werden können, wird in bestimmten Fällen (z.B. Klinik- und Pflegepersonal, Krankenhausaufenthalte) eine Sanierung empfohlen. Personen mit Kontakt zu MRSA- und oder VRE-positiven Tieren sollten sich vor Krankenhausaufenthalten auf MRSA- und VRE-Keime untersuchen lassen, um Infektionen vorzubeugen (BfR, 2009, RKI, 2008, 2010b).

Autoren

- Dr. Reinhard Sting, Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Stuttgart
- Tierärztin Agnes Richter, Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Stuttgart
- Dr. Christina Popp, Geflügelgesundheitsdienst Stuttgart der Tierseuchenkasse Baden-Württemberg
- Dr. Jörg Rau, Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Stuttgart
- Professor Dr. Hafez Mohamed Hafez, Direktor des Instituts für Geflügelkrankheiten der Freien Universität Berlin

Literatur

AHO (Animal-Health-Online): EP-Agrarausschuss fordert Reduktion des Antibiotikaeinsatzes bei Tieren, 18.04.2011.

<http://www.animal-health-online.de/gross/2011/04/18/ep-agrarausschuss-fordert-reduktion-des-antibiotikaeinsatzes-bei-tieren/16803/>

AHO (Animal-Health-Online) (2010): Dänemark: Zweijähriges Moratorium bei Cephalosporinen in der Schweinproduktion. AHO Redaktion Großtiere, 14.06.2010.

<http://www.animal-health-online.de/gross/2010/06/14/daenemark-zweijaehriges-moratorium-bei-cephalosporinen-in-der-schweineproduktion/14106/>

AHO (Animal-Health-Online) (2010): Dänemark: „Gelbe Karte“ und harte Auflagen bei zu hohem Antibiotikaverbrauch. AHO Redaktion Großtiere, 15.06.2010.

<http://www.animal-health-online.de/gross/2010/06/15/daenemark-gelbe-karte-und-harte-auflagen-bei-zu-hohem-antibiotikaverbrauch/14120/>

AHO (Animal-Health-Online): Niederlande: Antibiotikaeinsatz bei Tieren soll um 50% reduziert werden, 11.12.2010.

<http://www.animal-health-online.de/gross/2010/12/11/niederlande-antibiotikaeinsatz-bei-tieren-soll-um-50-reduziert-werden/15409/#more-15409>

BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung) (1996), Avoparcin. www.bfr.bund.de > A-Z Index > A > Avoparcin.

BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung) (2009), Methicillinresistente *Staphylococcus aureus* (MRSA). www.bfr.bund.de > A-Z Index > M > Methicillinresistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) > Fragen und Antworten für Tierärzte zu MRSA.

BTK (Bundestierärztekammer), Arbeitsgruppe Tierarzneimittel (AGTAM) der Länderarbeitsgemeinschaft Verbraucherschutz (2010): Leitlinien für den sorgfältigen Umgang mit antibakterielle wirksamen Tierarzneimitteln. Beilage zum Deutschen Tierärzteblatt 10/2010.

EFSA (European Food Safety Authority) (2010): The Community Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from animals and food in the European Union in 2008. EFSA Journal 8 (7), 1658. <http://www.efsa.europa.eu/de/efsajournal/pub/1658.htm>

FVE (Federation of Veterinarians of Europe) (1999): Antibiotikaresistenz Vernünftiger Einsatz von Antibiotika in der Tiermedizin. http://www.tieraerzverband.de/wDeutsch/redaktion/pub/FVE-Umgang_mit_Antibiotika.pdf

GERMAP (2008): Antibiotika-Resistenz und Verbrauch. Bericht über den Antibiotikaverbrauch und die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen in der Human- und Veterinärmedizin in Deutschland. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, Berlin; Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V., Rheinbach, Infektiologie Freiburg der Medizinischen Universitätsklinik. 1. Auflage. http://www.bvl.bund.de/DE/08_PressInfothek/00_doks_downloads/Germap_2008.html

Holzgrabe und Schmitz (2010): Neue Antibiotika - Den Vorsprung wahren. Pharmazeutische Zeitung Online. <http://www.pharmazeutische-zeitung.de/index.php?id=31957>

Hafez, H.M. und S. Jodas (1997): Streptokokken (Enterokokken) - Infektionen. In: H.M. Hafez und S. Jodas (Hrsg.): Puten-Krankheiten. Enke Verlag, Stuttgart.

Kayser F. H. (1998): Ursprung und Evolution der Antibiotikaresistenz. Verein Forschung für Leben, Zürich. 51. <http://www.forschung-leben.ch/index.cfm/dienstleistungen/publikationen/biofokus/>

RKI (Robert-Koch-Institut) (1997): Einsatz von Avoparcin als Futterzusatzstoff wird europaweit verboten. Epidemiologisches Bulletin 2: 9. www.rki.de > Infektionsschutz > Epidemiologisches Bulletin > 1997 > Epidemiologisches Bulletin 02 / 1997.

RKI (Robert-Koch-Institut) (2008): Kommentar zu den „Empfehlungen zur Prävention und Kontrolle von MRSA-Stämmen in Krankenhäusern und

anderen medizinischen Einrichtungen“. Epidemiologisches Bulletin 42: 363-364. www.rki.de > Infektionsschutz > Epidemiologisches Bulletin > 2008 > Epidemiologisches Bulletin 42 / 2008.

RKI (Robert-Koch-Institut) (2010a): Antibiotikaresistenz. www.rki.de > Infektionsschutz > Antibiotikaresistenz.

RKI (Robert-Koch-Institut) (2010b): Kommentar zu den „Empfehlungen zur Prävention und Kontrolle von MRSA-Stämmen in Krankenhäusern und anderen medizinischen Einrichtungen“. Epidemiologisches Bulletin 44: 427-436. www.rki.de > Infektionsschutz > Epidemiologisches Bulletin > 2010 > Epidemiologisches Bulletin 44 / 2010.

Selbitz, H.-J. (2007): Micrococcaceae. In: Mayr A. (Hrsg): Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. Enke Verlag, Stuttgart. 8.