



Autorinnen: Dr. Claudia Bagutti, Dr. Sylvia Gautsch

Oberflächen aus dem Lebensmittel- und Nichtlebensmittelbereich / Antibiotikaresistente Enterobakterien und Enterokokken

Anzahl untersuchter Tupferabstrichproben: 303

Anzahl Proben mit antibiotikaresistenten Enterobakterien des Typs ESBL: 1

Anzahl Proben mit antibiotikaresistenten Enterobakterien des Typs AmpC: 31

Anzahl Proben mit cefotaximresistenten Enterobakterien: 1

Anzahl Proben mit high-level-Aminoglycosid-resistenten Enterokokken: 1

Ausgangslage

Antibiotikaresistenzen werden mittlerweile von verschiedener Seite als eines der wichtigsten Public Health Probleme angesehen. Ihre Häufigkeit hat in den letzten Jahren deutlich zugenommen. Die Gefahr dabei ist, dass im Erkrankungsfall Antibiotika weniger gut bzw. nicht mehr wirken und Infektionen im Extremfall gar nicht mehr therapierbar sind. Eine der aktuell wichtigsten Resistenzmechanismen sind die bei Enterobakterien vorkommenden Resistenzen gegen Cephalosporine. Cephalosporinresistente Bakterien sind unempfindlich gegen eine ganze Reihe von Vertretern der beta-Laktam-Antibiotika Klasse und sind somit als multiresistent anzusehen. Am bekanntesten sind die "Extended-spectrum beta-lactamase" (ESBL)- und die AmpC-beta Laktamasen-vermittelten Resistenzen. Aber auch bei Enterokokken stehen die Vancomycin- (VRE) und high-level-Aminoglycosid-resistenten Vertreter (HLARE) zunehmend im Fokus. Die Ursachen für diesen Anstieg der Resistenzen sind vielfältig und umfassen unter anderem einen gewissen Selektionsdruck durch verbreitete Verwendung von Antibiotika in der Agrarwirtschaft und Human- und Veterinärmedizin sowie die Eigenschaft der Bakterien, Gene - wie Antibiotikaresistenzgene - nicht nur auf die nächste Generation, sondern auch zwischen den Bakterien und über die Gattungsgrenze hinaus weitergeben zu können. Man spricht dabei von horizontalem Gentransfer. Dabei stellen nicht nur pathogene resistente Bakterien eine Gefahr dar, sondern auch nicht-pathogene Bakterien sind als Reservoir von Resistenzgenen anzusehen.

Enterobakterien und Enterokokken kommen überall in unserer Umwelt vor, so auf Pflanzen, im Boden, im Wasser und im Magen-Darm-Trakt von Mensch und Tier. Von hier aus können, wie diverse Studien zeigen¹, antibiotikaresistente Vertreter relativ einfach Nahrungsmittel tierischer und pflanzlicher Herkunft sowie Oberflächen aus dem Lebensmittel- und Nicht-Lebensmittelbereich kontaminieren. Zumindest für Lebensmittel zeigen drei früher im Kantonalen Laboratorium durchgeführte Untersuchungskampagnen, dass in vorgekochten Proben Teigwaren, Reis und Gemüse aus Restaurationsbetrieben cephalosporinresistente Enterobakterien des Typs AmpC, in rohem Poulet aus dem Handel cephalosporinresistente Enterobakterien mehrheitlich des Typs ESBL, aber auch des Typs AmpC vorkommen und in frischen Kräutern und Sprossen aus dem Handel ebenfalls cephalosporinresistente Enterobakterien des Typs ESBL und AmpC nachzuweisen sind². Oberflächen hingegen sind vom Kantonalen Laboratorium noch nie auf das Vorkommen von antibiotikaresistenten Keimen untersucht worden.

¹ Beispielsweise: Girlich, D., et al. (2007). *Appl. Environ. Microbiol.* 73(14): 4681-4685, Abgottspon, H., et al. (2013). *Journal of Food Protection* 77(1): 112-115, Belmar Campos, C., et al. (2014). *International Journal of Medical Microbiology* 304(5-6): 678-684, Blaak, H., et al. (2014). *International Journal of Food Microbiology* 168-169(0): 8-16, Tschudin-Sutter, S., et al. (2014). *Infection Control and Hospital Epidemiology* 35(5): 581-584.

² <http://www.gesundheitsschutz.bs.ch/konsum-umwelt/berichte.html> (Berichte 2014, 2013, 2012)

Untersuchungsziele

Um eine Abschätzung über die Kontamination von Oberflächen aus dem Lebensmittel- und Nicht-Lebensmittelbereich zu machen, sollten im Rahmen von zwei Praktikumsprojekten Oberflächen von Objekten in Gastronomieküchen, von Lebensmitteln und von Alltagsgegenständen auf deren Belastung mit cephalosporinresistenten Enterobakterien sowie Vacomycin- (VRE) und high-level-Aminoglycosid-resistenten Enterokokken (HLARE) hin untersucht werden. Dabei sollten Oberflächen, die in direktem Kontakt mit Lebensmitteln stehen (z.B. Schneidbretter, Messer aus Gastronomieküchen) oder Lebensmitteloberflächen selbst (z.B. Gemüse, Fleisch) mit denjenigen Oberflächen aus dem Lebensmittelbereich verglichen werden, bei denen ein derartiger direkter Kontakt mit Lebensmitteln weitgehend ausgeschlossen werden kann (z.B. Arbeitsfläche, Wasserhahn, Türgriff in Gastronomieküchen) bzw. mit Oberflächen aus dem Nicht-Lebensmittelbereich (z.B. Computertastaturen, Geld).



Gesetzliche Grundlagen

Gesetzliche Vorgaben für das Auftreten von Antibiotikaresistenzen in Lebensmitteln sind bis heute weder in der Schweiz noch in der EU in Kraft. Die EU (European Food Safety Authority, EFSA) erklärte 2001 die Verringerung der Verwendung von Antibiotika und das Überwachen von Antibiotikaresistenzen in Lebensmittel-assoziierten Bakterien zum Ziel einer Strategie zur Erhöhung der Lebensmittelsicherheit. Der Bundesrat hat das Bundesamt für Gesundheit BAG³ 2013 beauftragt, zusammen mit den Bundesämtern BVET, BLW und BAFU ein Konzept für ein nationales Programm zu Antibiotikaresistenzen auszuarbeiten⁴.

Die Untersuchung von Tupferabstrichproben ist gesetzlich generell nicht geregelt.

Probenbeschreibung

Im Zeitraum von Oktober 2013 bis Juni 2014 wurden insgesamt 303 Tupferabstrichproben untersucht. Diese umfassten 199 Tupferabstrichproben von Oberflächen diverser Gegenstände, Utensilien, Geräte und Arbeitsflächen aus dem Lebensmittel- und Nicht-Lebensmittelbereich sowie 104 Tupferabstrichproben von rohen Lebensmitteln aus dem Handel. Die Proben stammten aus zehn Gastronomiebetrieben des Kantons Basel-Stadt, zwei Filialen von Grossverteilern, vier Privathaushalten und drei Bürokomplexen. Die Anzahl Tupferabstrichproben und deren Erhebungsstelle sind aus Tabelle 1 ersichtlich.

³ Bundesamt für Veterinärwesen BVET, Bundesamt für Landwirtschaft BLW, Bundesamt für Umwelt BAFU

⁴ <http://www.bag.admin.ch/themen/medizin/14226/index.html?lang=de>

Tabelle 1: Anzahl Tupferabstrichproben und deren Erhebungsstelle

Oberflächen mit Kontakt zu Lebensmitteln		Oberflächen ohne Kontakt zu Lebensmitteln	
von Lebensmitteln	in Gastronomieküchen	in Gastronomieküchen	von Alltagsgegenständen aus dem Nicht-Lebensmittelbereich
Gemüse (27)	Messer (39)	Tischarbeitsflächen (21)	Gebäudeassoziiert (z.B. Türgriff, Lichtschalter, Treppengeländer) (18)
Früchte (28)	Schneidbretter (25)	Geschirrrusche (10)	Büroassoziiert (z.B. Tastatur, Telefon, Stift) (14)
Fleisch/Fisch (20)	Div. Küchengeräte (11)	Wasserhahn (10)	Geld (Münzen, Scheine) (13)
Käse (20)	Anderes (5)	Türgriff Kühlelemente (10)	Umwelt-/Bodenassoziiert (z.B. Teppich, Schuhsohle) (16)
Eier (9)			Personenassoziiert (z.B. Kleider) (4)
			Radio/TV/Wecker (3)
Total: 104	Total: 80	Total: 51	Total: 68

Prüfverfahren

Isolierung und Identifikation

Zur qualitativen Isolierung der Enterobakterien und Enterokokken wurde die zu beprobende Oberfläche mit einem sterilen befeuchteten Wattetupfer abgetupft. Der Tupfer wurde in Buffered Pepton Water für 24 h bei 37°C inkubiert. Ausgehend von den Anreicherungen erfolgte zur Selektionierung der Enterobakterien die Isolierung auf Violet Red Bile Glucose Agar (24 h bei 37°C), während der Nachweis der Enterokokken durch Isolierung auf Compass® Enterococcus Agar erfolgte (24 h bei 44°C). Nach Bestätigung der isolierten Keime als Enterobakterien (pro Probe 5 Isolate) bzw. Enterokokken (pro Probe 10 Isolate) mittels Standardtests (Gramfärbung, Oxidase-Test, Oxidations/Fermentations-Test, Katalasetest, Äskulinspaltung) erfolgte die Identifikation der Spezies mittels biochemischer Testsysteme (Microgen ID System) bzw. MALDI-TOF Massenspektrometrie.

Nachweis von Antibiotikaresistenzen

Zum Nachweis cephalosporinresistenter Enterobakterien wurden bestätigte Enterobakterien-Isolate auf MacConkey Platten mit 10 mg/L Cefotaxim (CTX) umgezüchtet und über Nacht bei 37°C inkubiert. Stämme, die auf diesen Platten gewachsen waren, galten als potentielle ESBL oder AmpC β-Laktamasen produzierende Enterobakterien und wurden dem Agardiffusionstest zum Nachweis von ESBL und AmpC β-Laktamasen nach den Richtlinien CLSI unterzogen (Disk-Assay SOP529; ESBL + AmpC Screen ID bzw. Confirmation Kit, Fa. Rosco, AxonLab). Zum Nachweis von VRE und HLARE wurden bestätigte Enterokokken-Isolate auf Vancomycin- (6 mg/L) bzw. Gentamicin- (512 mg/L) enthaltende VRE/HLARE-Agar Platten (Medco Diagnostika GmbH) ausgestrichen und bei 37°C für 24 h inkubiert.

Ergebnisse

Enterobakterien

- In 68% bzw. 55% aller in den Gastronomieküchen erhobenen Tupferabstrichproben von Gegenständen (mit bzw. ohne Kontakt zu Lebensmitteln) wurden Enterobakterien nachgewiesen (siehe Tabelle 2).
- Eine ähnlich hohe Nachweisrate zeigten Lebensmittel, bei denen in 41% der Proben auf den Oberflächen Enterobakterien nachgewiesen werden konnten (Tabelle 2).
- Im klaren Unterschied hierzu steht der seltene Nachweis von Enterobakterien auf der Oberfläche von Alltagsgegenständen aus dem Nicht-Lebensmittelbereich. Hier konnten diese Keime nur in 4% der Proben detektiert werden.

- Bei den von Gegenständen in Gastronomieküchen gewonnenen Isolaten handelte es sich mehrheitlich um *Enterobacter cloacae* (48% der Isolate) gefolgt von *Pantoea agglomerans* (12% der Isolate). Mit einer Nachweisrate von 33% bzw. 17% war *Pantoea agglomerans* auch die am stärksten vertretene Art unter den Isolaten von Alltagsgegenständen und Lebensmitteloberflächen. Die Isolate, die von den Lebensmitteloberflächen gewonnen wurden, fielen durch ihre Artenvielfalt auf. So konnten auf den Lebensmitteln weitere 17 Enterobakterienspezies identifiziert werden, davon am zweithäufigsten, mit einer Nachweisrate von 8%, *Escherichia coli*.
- Die Belastung der einzelnen Oberflächen im Detail ist aus Tabelle 3 ersichtlich.

Enterokokken

- In 22% der Tupferabstrichproben von Lebensmitteloberflächen wurden Enterokokken nachgewiesen (siehe Tabelle 2),
- Im klaren Unterschied hierzu steht auch hier der seltene Nachweis von Enterokokken auf der Oberfläche von Alltagsgegenständen aus dem Nicht-Lebensmittelbereich. Hier konnten diese Keime nur in 4% der Proben detektiert werden.
- Bei den Enterokokken wurde am häufigsten *Enterococcus casseliflavus* nachgewiesen. Auf 10% der Lebensmittelproben, vor allem Gemüse und Früchte, fand sich dieser Vertreter. *Enterococcus faecium* und *Enterococcus faecalis* wurden mit einer Nachweisrate von je 7% vor allem auf Käse gefunden.
- Die Belastung der einzelnen Oberflächen im Detail ist aus Tabelle 4 ersichtlich.

Antibiotikaresistente Enterobakterien und Enterokokken

- In 29% bzw. 16% aller in den Gastronomieküchen erhobenen Tupferabstrichproben von Gegenständen (mit bzw. ohne Kontakt zu Lebensmitteln) wurden cephalosporinresistente Enterobakterien des Typs AmpC nachgewiesen, wobei es sich mehrheitlich um *Enterobacter cloacae* handelte.
- Diese Keime konnten hingegen auf Oberflächen von Lebensmitteln nicht gefunden werden. Hier liessen sich auf einer rohen Pouletbrust aus der Schweiz cephalosporinresistente Enterobakterien des Typs ESBL nachweisen. Dabei handelte es sich um *Escherichia coli*-, *Klebsiella terrigena*- und *Klebsiella ozaenae*-Isolate.
- Auf einem Bürotisch konnten cefotaximresistente Enterobakterien detektiert werden.
- Auf einer Probe Rohmilchhartkäse aus der Schweiz konnte *Enterococcus faecalis* nachgewiesen werden mit einer high-level-Gentamicin-Resistenz und einer high-level-Streptomycin-Resistenz.
- Auf keinem der Alltagsgegenstände aus dem Nicht-Lebensmittelbereich konnten VRE bzw. HLARE gefunden werden.
- Die Belastung der einzelnen Oberflächen im Detail ist aus Tabelle 5 ersichtlich.

Tabelle 2: Anzahl Tupferabstrichproben mit Enterobakterien bzw. Enterokokken inklusive antibiotikaresistenten Vertretern

Oberflächen mit Kontakt zu Lebensmitteln		Oberflächen ohne Kontakt zu Lebensmitteln	
von Lebensmitteln	in Gastronomieküchen	in Gastronomieküchen	von Alltagsgegenständen aus dem Nicht-Lebensmittelbereich
43 von 104 Proben (41%) enthielten EB*	54 von 80 Proben (68%) enthielten EB	28 von 51 Proben (55%) enthielten EB	3 von 68 Proben (4%) enthielten EB
1 von 104 Proben enthielt cephalosporinresistente EB des Typs ESBL	23 von 80 Proben (29%) enthielten AmpC-produzierende EB	8 von 51 Proben (16%) enthielten AmpC-produzierende EB	1 von 68 Proben enthielt cefotaximresistente EB
23 von 104 Proben (22%) enthielten EK*	n.d.*	n.d.	3 von 68 Proben (4%) enthielten EK
1 von 104 Proben enthielt high-level-Aminoglycosid-resistente EK	n.d.	n.d.	Keine der Proben enthielt Vancomycin- bzw. high-level-Aminoglycosid-resistente EK

* EB: Enterobakterien, EK: Enterokokken, n.d.: die Untersuchung auf EK wurde in den Proben der Gastronomieküchen nicht durchgeführt.

Tabelle 3: Anzahl Tupferabstrichproben mit Enterobakterien nach Erhebungsstelle aufgeschlüsselt

Oberflächen mit Kontakt zu Lebensmitteln		Oberflächen ohne Kontakt zu Lebensmitteln	
von Lebensmitteln	in Gastronomieküchen	in Gastronomieküchen	von Alltagsgegenständen aus dem Nicht-Lebensmittelbereich
Gemüse: 15 (56%)	Messer: 26 (67%)	Tischarbeitsflächen: 12 (57%)	Treppengeländer: 1
Früchte: 13 (46%)	Schneidbretter: 20 (80%)	Geschirrdusche: 7 (70%)	Tischfläche: 1
Fleisch/Fisch: 12 (60%)	Div. Küchengeräte: 6 (55%)	Wasserhahn: 4 (40%)	Schuhsohlen: 1
Käse: 3 (15%)	Anderes: 2 (40%)	Türgriff Kühlelemente: 5 (50%)	
Eier: 0 (0%)			
Total: 43	Total: 54	Total: 28	Total: 3

Tabelle 4: Anzahl Tupferabstrichproben mit Enterokokken nach Erhebungsstelle aufgeschlüsselt

Oberflächen mit Kontakt zu Lebensmitteln		Oberflächen ohne Kontakt zu Lebensmitteln	
von Lebensmitteln	in Gastronomieküchen	in Gastronomieküchen	von Alltagsgegenständen aus dem Nicht-Lebensmittelbereich
Gemüse: 6 (22%)	n.d.*	n.d.	Türgriff: 1
Früchte: 4 (14%)	n.d.	n.d.	Fenstersims: 1
Fleisch/Fisch: 5 (25%)	n.d.	n.d.	Schuhsohlen: 1
Käse: 6 (30%)	n.d.	n.d.	
Eier: 2 (22%)	n.d.	n.d.	
Total: 23	n.d.	n.d.	Total: 3

* n.d.: die Proben der Gastronomieküchen wurden nicht auf Enterokokken untersucht.

Tabelle 5: Vorkommen von antibiotikaresistenten Enterobakterien und Enterokokken nach Erhebungsstelle aufgeschlüsselt

Oberflächen mit Kontakt zu Lebensmitteln		Oberflächen ohne Kontakt zu Lebensmitteln	
von Lebensmitteln	in Gastronomieküchen	in Gastronomieküchen	von Alltagsgegenständen aus dem Nicht-Lebensmittelbereich
Gemüse: 0	Messer: 10 (26%)	Tischarbeitsflächen: 2 (10%)	Tischfläche: 1
Früchte: 0	Schneidbretter: 10 (40%)	Geschirrdusche: 3 (30%)	
Fleisch/Fisch: 1	Div. Küchengeräte: 2 (18%)	Wasserhahn: 2 (20%)	
Käse: 1	Anderes: 1 (20%)	Türgriff Kühlelemente: 1 (10%)	
Eier: 0			
Total: 2	Total: 23	Total: 8	Total: 1

Massnahmen

Die Proben wurden nicht im Rahmen einer Vollzugstätigkeit erhoben. Da ausserdem für die Untersuchung auf antibiotikaresistente Keime eine gesetzliche Regelung fehlt, sind die Proben nicht zu beanstanden und es sind keine Massnahmen zu treffen.

Schlussfolgerungen

- Antibiotikaresistente Enterobakterien und Enterokokken lassen sich nicht nur in und auf Lebensmitteln nachweisen, sondern auch auf Oberflächen diverser Gegenstände, Utensilien, Geräte und Arbeitsflächen aus dem Lebensmittel- und, wenn auch viel seltener, aus dem Nicht-Lebensmittelbereich. Wie die Proben aus den Gastronomieküchen zeigen, besteht dabei kein Unterschied in der Kontaminationsrate zwischen Oberflächen, die direkt mit Lebensmitteln in Kontakt kommen und denjenigen ohne diesen direkten Kontakt. Das Vorkommen cephalosporinresistenter Enterobakterien auf Oberflächen mit Kontakt zu Lebensmitteln wird gestützt durch die Resultate einer kürzlich publizierten Studie des Unispitals Basel in Zusammenarbeit mit dem Institut für Lebensmittelsicherheit und -Hygiene Zürich⁵, die auf Schneidbrettern multi-resistente ESBL-produzierende *Escherichia coli* nachgewiesen hat.
- Die in den Tupferabstrichproben am häufigsten nachgewiesenen Bakterienarten kommen natürlicherweise sowohl im menschlichen und tierischen Darm, wie auch in der Umwelt, insbesondere auch auf Pflanzen vor. Aufgrund dieser ubiquitären Verbreitung ist die Herkunft der Oberflächenkontaminationen von Gegenständen oder Lebensmitteln schwierig abzuschätzen. Primäre Verunreinigungen von Lebensmitteln als auch mangelnde Prozesshygiene können hierbei eine Rolle spielen.
- Bei der grossen Mehrheit der gefundenen antibiotikaresistenten Enterobakterien handelte es sich um *Enterobacter cloacae*, die natürlicherweise eine, über ein chromosomales Gen vermittelte Cephalosporinresistenz des Typs AmpC aufweisen. ESBL-produzierenden *Escherichia coli* wurden, wie schon in einer früheren Studie, einzig von der Oberfläche einer rohen Pouletfleischprobe isoliert. Zum ersten Mal erfolgte der Nachweis von high-level-Aminoglycosid-resistenten Enterokokken.
- Es sind auch weiterhin Untersuchungen auf antibiotikaresistente Keime im Lebensmittel- und Nicht-Lebensmittelbereich durchzuführen, um Auskunft über die Verbreitung und Herkunft all-fälliger Kontaminationen zu erhalten.

⁵ Tschudin-Sutter, S., et al. (2014). *Infection Control and Hospital Epidemiology* 35(5): 581-584.