

Nationale Referenzzentrale für Salmonellen

Jahresbericht 2016

AGES – IMED Graz
Zentrum für lebensmittelbedingte
Infektionskrankheiten
Beethovenstraße 6
A-8010 Graz
Tel. 050555-61217
E-Mail: humanmed.graz@ages.at

Ansprechpersonen:
Dr. Christian Kornschöber

Zusammenfassung

Im Jahr 2016 wurde an der Nationalen Referenzzentrale für Salmonellen eine Abnahme der Anzahl eingesandter humaner Erstisolate um 9,2% gegenüber dem Vorjahr registriert. Insgesamt war *Salmonella (S.)* Enteritidis (49%) der häufigste Serotyp. Der häufigste *S. Enteritidis* Phagentyp (PT) war PT8; er war für 38,8% aller *S. Enteritidis* Isolate verantwortlich. Der Anteil an multiresistenten Isolaten lag bei 4,3%. High-Level Resistenzen gegen Ciprofloxacin sowie Resistenzen gegen Cephalosporine der dritten Generation (Cefotaxim, Ceftazidim) traten nur vereinzelt auf (<1%). Es gab zwei bundesländerübergreifende Ausbrüche, einen im Frühjahr verursacht durch *S. Senftenberg*, einen weiteren – hauptsächlich die Steiermark betreffend – verursacht durch *S. Enteritidis* PT6c.

Summary

In 2016, the number of primary human isolates sent to the National Reference Centre for Salmonella decreased by 9.2% as compared to 2015. Overall, *Salmonella (S.)* Enteritidis was the most frequent serovar (49%). Phage type (PT) 8 accounted for 38.8% of all *S. Enteritidis* isolates. In 2016, the rate of multi-resistance was 4.3%. High level resistance against ciprofloxacin or resistance against third generation cephalosporins (cefotaxime, ceftazidime) are still rare (<1%). Two nation-wide outbreaks were registered in 2016, one in spring caused by *S. Senftenberg*, another one – mainly affecting the province of Styria – caused by *S. Enteritidis* PT 6c.

Einleitung

In der Europäischen Union stellt die Salmonellose – nach der Campylobacteriose – die zweithäufigste lebensmittelassoziierte Infektion dar. Im Jahr 2015 waren EU-weit 229,213 bestätigte Fälle von Campylobacter-Infektion und 94,625 bestätigte Fälle von Salmonellose sowie 4,362 lebensmittelassoziierte Ausbrüche registriert worden [1]. Für den Menschen stellen tierische Lebensmittel die bedeutendste Infektionsquelle für Salmonellosen dar. Werden Salmonellen aus humanmedizinischem oder tierischem Untersuchungsmaterial bzw. aus Lebensmitteln isoliert, so sind in Österreich Labore verpflichtet, diese Isolate entsprechend dem Epidemiegesetz, dem Zoonosengesetz und dem Lebensmittelsicherheits- und Verbraucherschutzgesetz an die zuständige nationale Referenzzentrale bzw. das Referenzlabor zu versenden. Dort werden genaue Typisierungen der Isolate durchgeführt, um mögliche Zusammenhänge zwischen dem Auftreten der Erreger entlang der Lebensmittelkette aufzudecken.

Resultate

Allgemeines:

Eine deutlich verbesserte Erkennung von Folgeisolaten (durch Umstellung der in der Nationalen Referenzzentrale für Salmonellen (NRZS) verwendeten Laborsoftware Anfang 2010 sowie eine seit 2012 durchgeführte manuelle Duplettensuche) hat dazu geführt, dass die Zahl der humanen Salmonella-Erstisolate sowie die Zahl der entsprechend der NRZS Datenbank erkrankten bzw. mit Salmonellen infizierten Personen nur noch geringfügig von der an das BMGF gemeldeten Fallzahl abweicht (Abb. 1). Die Diskrepanz ist zum Teil auf die in der NRZS übliche separate Zählung bei Mehrfachinfektion (z.B. Nachweis von *S. Enteritidis* und *S. Typhimurium* in einer Einsendung werden als zwei Ereignisse/Erstisolate gewertet) zurückzuführen. Außerdem werden an der NRZS auch Isolate von mit Salmonellen infizierten, aber nicht erkrankten Personen sowie von Personen, die sich nicht über ein Lebensmittel, sondern z.B. durch Kontakt zu Reptilien mit Salmonellen infiziert haben, erfasst.

Serotypisierung:

Im Jahr 2016 wurden 1.480 humane Salmonellenerstisolate (von 1.478 Erkrankten/Infizierten) an die NRZS eingesandt (Abb. 2). Daraus errechnet sich eine Jahresinzidenz von 17,1/100.000 EinwohnerInnen. Im Jahr 2015 wurden 1.630 humane Erstisolate gezählt. Die Abnahme der Gesamtzahl eingesandter Erstisolate um 150 entspricht einem prozentuellen Rückgang um 9,2% gegenüber dem Vorjahr. Gemessen an der Gesamtzahl des Jahres 2002 beträgt der Rückgang 82,4% (2002: 8.405 Erstisolate, siehe Jahresbericht 2002). Die Abnahme der humanen Salmonellenerstisolate seit 2002 ist nahezu ausschließlich durch einen Rückgang der *S. Enteritidis* Isolate bedingt (2002: 7.459; 2016: 725 humane Erstisolate; -90,3%). Während bis 2010 kein eindeutiger Trend erkennbar war, geht seit 2011 auch die

Anzahl an *S. Typhimurium* Isolaten (inklusive der monophasischen Variante) kontinuierlich zurück (2002: 364; 2003: 488; 2004: 703; 2005: 402; 2006: 639; 2007: 376; 2008: 469; 2009: 558; 2010: 319; 2011: 372; 2012: 337; 2013: 297; 2014: 270; 2015: 255; 2016: 243).

Abbildung 1: Vergleich: humane Salmonella-Erstisolate (NRZS) (inkl. Isolate von mit Salmonellen infizierten, aber nicht erkrankten Personen und Isolate von Personen, die sich nicht über ein Lebensmittel, sondern z.B. durch Kontakt mit Reptilien mit Salmonellen infiziert haben) – Meldedaten (BMGF), 2000 - 2016, Österreich

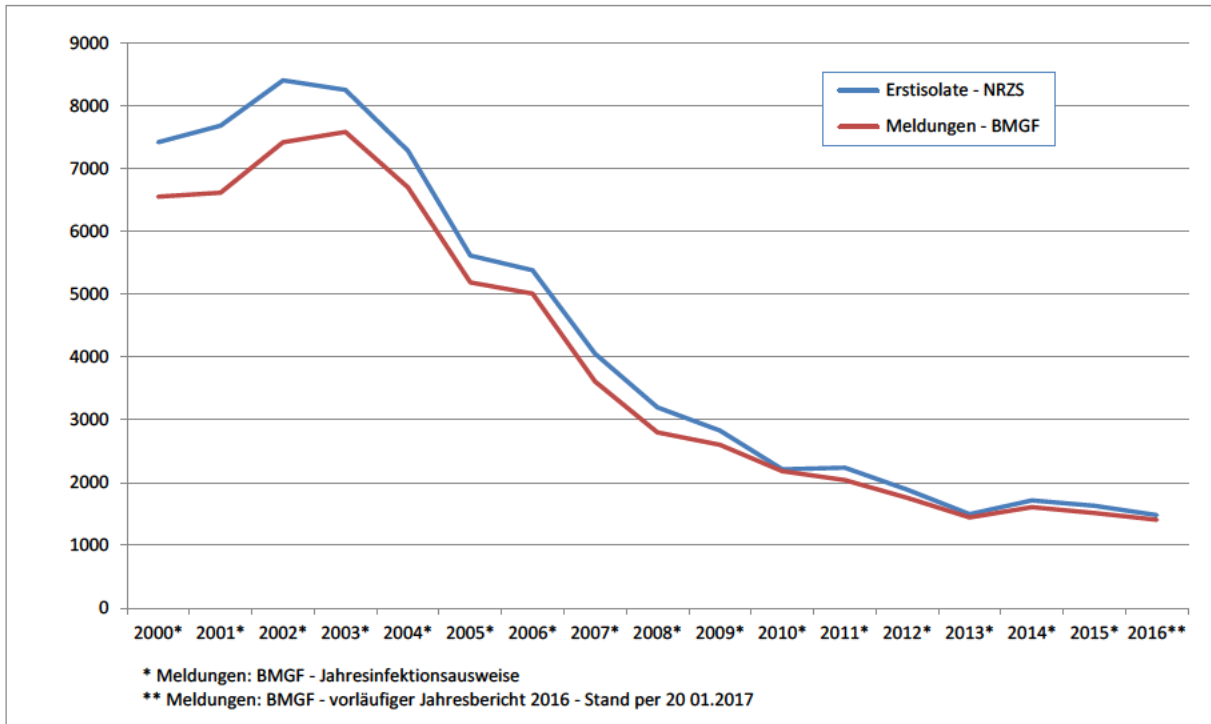
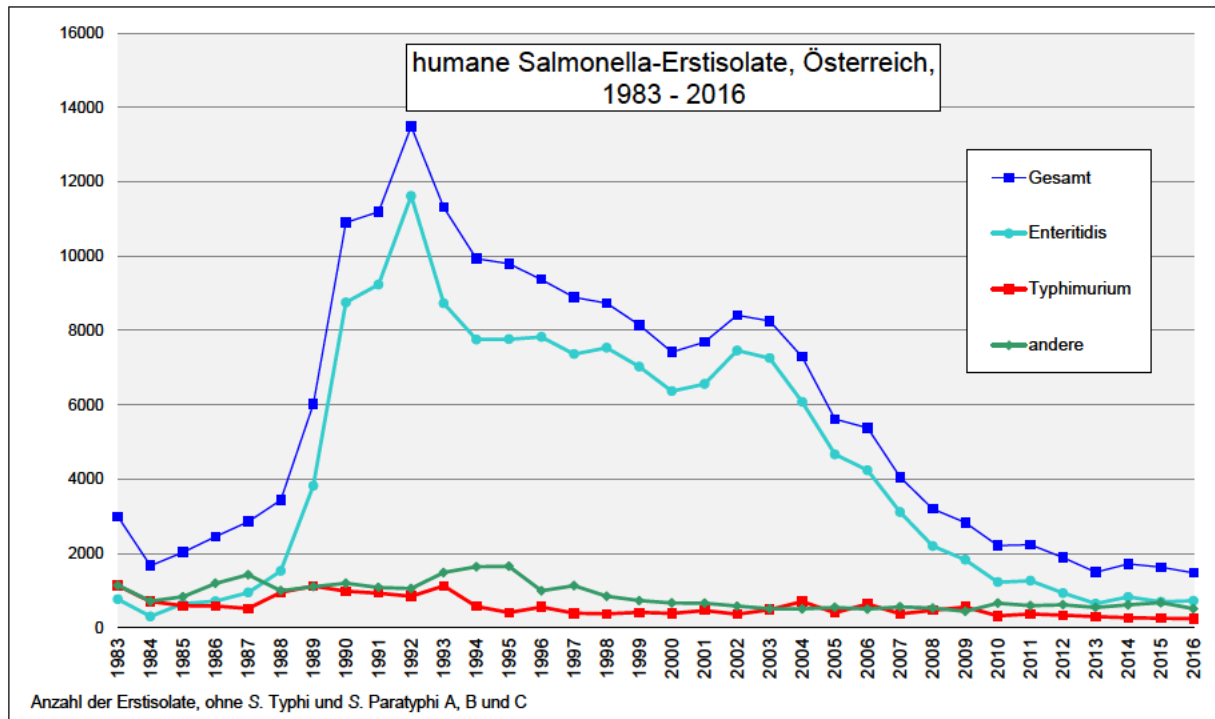
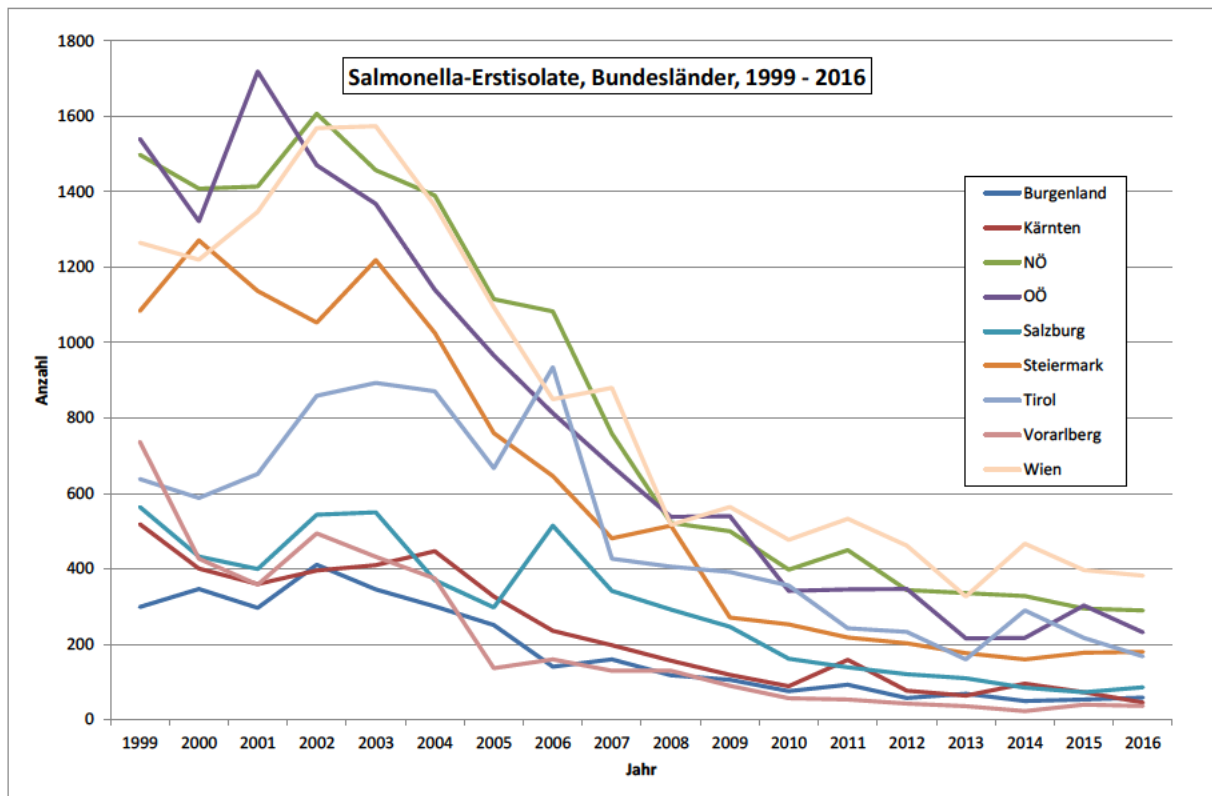


Abbildung 2: Humane Salmonella-Erstisolate, Österreich, 1983 – 2016



Eine bundesländerspezifische Analyse zeigt gegenüber dem Vorjahr einen Rückgang an Salmonellen für die Bundesländer Kärnten (-37%), Oberösterreich (-23,4%), Tirol (-22,6 %), Vorarlberg (-7,5%), Wien (-3,8%) und Niederösterreich (-1,7%) sowie Zunahmen für Salzburg (17,8%), Burgenland (+9,3%) und die Steiermark (+1,1%).

Abbildung 3: Humane Salmonella-Erstisolate nach Bundesländern, 1999 - 2016



Die epidemiologische Situation ist nach wie vor von *S. Enteritidis* geprägt. Während in den Jahren 2000-2005 der Anteil der *S. Enteritidis* Isolate an allen Salmonellen noch jeweils mehr als 80% ausgemacht hat, ist er in den letzten Jahren auf zuletzt 49% abgefallen (2006: 78,8%; 2007: 76,8%; 2008: 68,5%; 2009: 64,7%; 2010: 55,5%; 2011: 56,6%; 2012: 49,4%; 2013: 43,5%; 2014: 48,3%; 2015: 42,8). *S. Typhimurium* (inklusive der monophasischen Variante mit der Antigenformel 1,4,5,12 : i : -, der im Vergleich zu einem klassischen *S. Typhimurium* Stamm – Antigenformel 1,4,5,12 : i : 1,2 – die 2. Geißelantigenphase fehlt) war auch 2015 der zweithäufigste Serotyp mit einem Anteil von 16,5% an allen humanen Erstisolaten (Tab. 1).

Phagentypisierung:

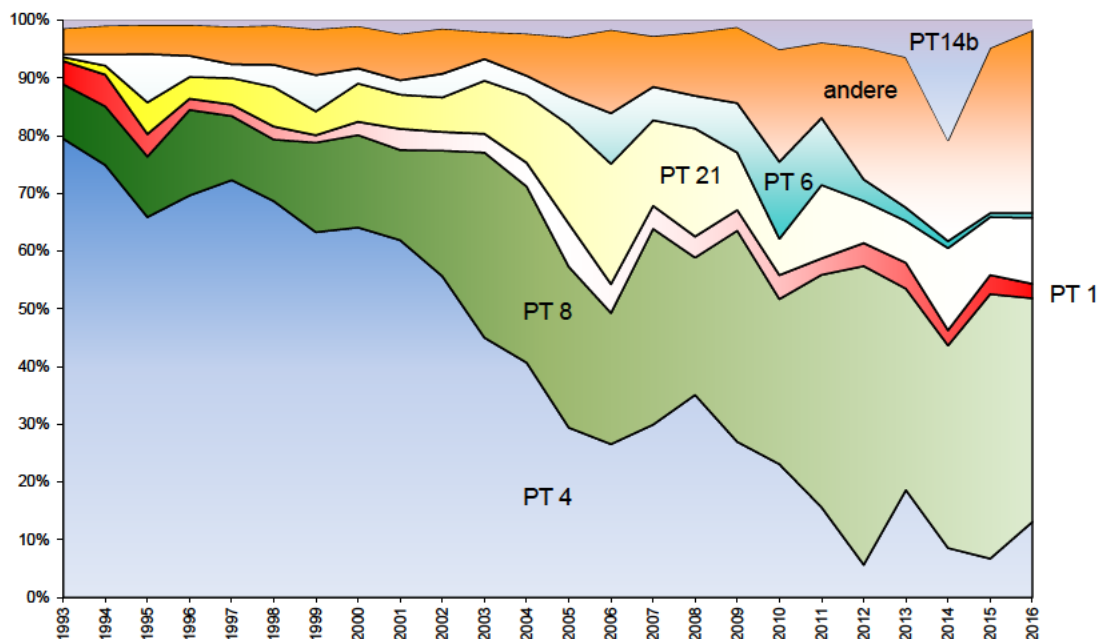
Die Phagentyp (PT)-Verteilung von *S. Enteritidis* zeigt PT8 als den – in allen Bundesländern (mit Ausnahme der Steiermark aufgrund eines Ausbruches verursacht durch *S. Enteritidis* PT6) – häufigsten Phagentypen (38,8%), gefolgt von PT4 mit 13,1% und Phagentyp 21 mit 11,4%. (Abb. 4).

Tabelle 1: Vergleich der häufigsten Serovare bei humanen und nicht-humanen Isolaten, Österreich, 2016

häufigste Serovare human - 2016:		
	Anzahl	Prozent
S. Enteritidis	725	49,0
S. Typhimurium	243	16,5
biphasische Variante (1,4,5,12 : i : 1,2)	182	12,3
monophasische Variante (1,4,5,12 : i : -)	61	4,1
S. Infantis	68	4,6
S. Senftenberg	43	2,9
S. Coeln	23	1,6
S. Newport	22	1,5
S. Stanley	20	1,4
S. Saintpaul	je 17	1,1
S. Thompson		
S. Braenderup	je 16	1,1
S. Virchow		
Gesamtzahl aller humanen Erst-Isolate: 1480		

häufigste Serovare nicht-human - 2016:		
	Anzahl	Prozent
S. Infantis	547	32,3
S. Senftenberg	191	11,3
S. Typhimurium	140	8,3
biphasische Variante (1,4,5,12 : i : 1,2)	134	7,9
monophasische Variante (1,4,5,12 : i : -)	6	0,4
S. Enteritidis	96	5,7
S. Montevideo	75	4,4
S. Coeln	73	4,3
S. Thompson	50	2,9
S. Agona	33	1,9
S. Stanley	31	1,8
Gesamtzahl aller nicht-humanen Isolate: 1695		

Abbildung 4: Phagentypenverteilung, S. Enteritidis, human, Österreich, 1993 - 2016



Resistenztestung:

Die Nationale Referenzzentrale für Salmonellen führt bei allen Isolaten eine Resistenztestung und Bewertung entsprechend EUCAST bzw. – bei Antibiotika, für die keine EUCAST-Werte verfügbar sind – entsprechend CLSI (Clinical and Laboratory

Standards Institute) durch (Plättchendiffusion, MHK-Testung mittels ϵ -Test bei besonderen Fragestellungen) [2,3]. Die Auswahl der Antibiotika wurde mit Beginn 2014 den aktuellen Vorgaben des ECDC angepasst (Streptomycin und Kanamycin wurden ersetzt durch Ceftazidim, Meropenem und Tigecyclin) [4]. Aufgrund epidemiologischer Kriterien werden auch Antibiotika getestet, die für die Therapie nicht geeignet sind. Zur Erkennung von Low-Level Ciprofloxacin Resistenzen wird entsprechend den EUCAST-Vorgaben Pefloxacin anstelle von Ciprofloxacin eingesetzt; bei Isolaten, die aufgrund eines geringen Pefloxacin Hemmhofdurchmessers verdächtig für eine High-Level Ciprofloxacin Resistenz sind, wird zusätzlich die Ciprofloxacin-MHK mittels ϵ -Test bestimmt. Zur Beurteilung der Tigecyclin-Resistenz werden die bisher nur für *E. coli* validierten EUCAST Grenzwerte verwendet. So wie schon in den Vorjahren lagen auch 2016 die Resistenzraten gegen mehrere Antibiotika (Ampicillin, Sulfonamide, Tetrazykline) über 10% (Tab. 2). Ursache dafür ist vor allem das gehäufte Auftreten von multiresistenten *S. Typhimurium*-Stämmen (z.B. DT193, DT120). Aufgrund des gehäuften Vorkommens von Nalidixinsäure-/Low-Level Ciprofloxacin resistenten *S. Enteritidis*- und *S. Infantis*-Isolaten lag auch die Nalidixinsäure bzw. Low-Level Ciprofloxacin Resistenzrate deutlich über 10%. Der Anteil an multiresistenten Isolaten (definiert als Resistenz gegen vier oder mehr Antibiotikaklassen) lag – bedingt durch den Wegfall von Streptomycin – wieder unter 10%.

Im Jahr 2016 gab es in Österreich 12 High-Level Ciprofloxacin-resistente Salmonella-Isolate (10 x *S. Kentucky*, je einmal *S. Infantis* und *S. Saintpaul*; bei Bewertung entsprechend den seit Anfang 2017 geltenden neuen EUCAST-Vorgaben [Ciprofloxacin resistent bei MHK > 0,5 $\mu\text{g/ml}$] käme noch ein *S. Senftenberg* Isolat dazu) sowie 8 Stämme mit Resistenz gegenüber 3.-Generations-Cephalosporinen (4 x *S. Typhimurium*, 2 x *S. Infantis* und je einmal *S. Braenderup* und *S. Haifa*).

Ausbrüche in Österreich:

Im Jahr 2016 gab es zwei bundesländerübergreifende lebensmittelbedingte Krankheitsausbrüche.

Im Frühjahr erkrankten mindestens 23 Personen – mit Ausnahme von Kärnten und dem Burgenland verteilt auf das gesamte Bundesgebiet – an *S. Senftenberg*. Weitere im gleichen Zeitraum aufgetretene Erkrankungsfälle wurden aufgrund von zum Ausbruchstamm unterschiedlichen Profilen in der Puls-Feld-Gelelektrophorese (PFGE) nicht dem Ausbruch zugerechnet. Auch die PFGE Profile der vor bzw. während des Ausbruchs in Lebens- und Futtermitteln bzw. im Veterinärbereich nachgewiesenen *S. Senftenberg* Stämme waren zum Ausbruchstamm unterschiedlich. Aufgrund fehlender mikrobiologischer und epidemiologischer Evidenz konnte die Infektionsquelle letztendlich nicht eruiert werden.

Im Zuge eines hauptsächlich die Steiermark betreffenden Ausbruchs (daneben auch vereinzelt Fälle in Nieder- und Oberösterreich sowie in Tirol) konnte bei mindestens 33 erkrankten Personen *S. Enteritidis* PT6c MLVA 2 - 10/9 - 13 - 7 - 1 nachgewiesen werden. Weitere im gleichen Zeitraum aufgetretene Erkrankungsfälle wurden aufgrund unterschiedlicher Profile in der MLVA (Multi Locus Variable Number of

Tandem Repeats Analysis) bzw. einer Allel-Differenz > 10 in der WGS (Whole Genome Sequencing) nicht dem Ausbruch zugerechnet. Entsprechend den Erhebungen der Abteilung für Infektionsepidemiologie der AGES konnte ein von einem obersteirischen Familienbetrieb hergestellter Graukäse als Hauptinfektionsquelle eruiert werden.

Im Jahr 2016 sind 95 Familienausbrüche (definiert als zwei oder mehr infizierte Personen in einer Familie) mit 224 Personen gezählt worden (Quelle: Datenbank NRZS).

Tab. 2: Resistenzanteil aller humanen Salmonella-Erstisolate, Österreich, 2006 - 2016

Antibiotikum	2000-2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)
Ampicillin (A)	5,0	7,2	11,3	12,9	13,8	12,7	17,3	15,1	14,6	13,4	12,6
Chloramphenicol (C)	1,8	2,9	3,9	2,6	2,8	4,0	3,5	3,7	2,8	2,1	2,4
Streptomycin (S)	4,2	6	10,5	10,6	12,4	13,1	18,3	18,1	-	-	-
Sulfonamide (Su)	3,9	6,9	10,5	11	13,4	13,5	17,7	17,5	16,7	15,5	14,8
Tetracyclin (T)	4,6	7,9	12	11,6	14,9	14,8	19,5	18,3	17,4	15,6	14,9
Tigecyclin (Tig)	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5 (8)	0,3 (5)	0
Trimethoprim (Tm)	1,2	2,1	2,1	2,1	3,4	2,8	3,3	3,0	3,5	2,1	2,6
Gentamicin (G)	0,3	0,4	0,6	0,6	1,3	0,9	2,0	1,9	1,9	1,2	1,2
Kanamycin (K)	0,7	0,5	1	0,6	0,7	0,6	1,0	0,5	-	-	-
Nalidixinsäure (Nx)	5,6	4,6	14,2	6,5	10,4	11,1	16,4	17,7	19,1	21,9	13,2
Ciprofloxacin (Cp)											
High-Level-Resistenz	0,1 (37)	0,1 (6)	0,3 (9)	0,3 (8)	0,9 (19)	0,7 (15)	1,1 (20)	1,0 (15)	1,5 (25)	1,0 (16)	0,8 (12)
Low-Level-Resistenz (Pefloxacin)	-	-	-	-	-	-	-	-	18,4	21,3	13,5
Cefotaxim (Ctx)	0,1 (28)	0,1 (4)	0,2 (6)	0,3 (9)	0,4 (8)	0,7 (16)	0,6 (11)	0,7 (10)	0,9 (16)	0,4 (7)	0,5 (8)
Ceftazidim (Caz)	-	-	-	-	-	-	-	-	0,9 (15)	0,4 (6)	0,5 (7)
Meropenem (M)	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
Multiresistent	3,4	5,7	10,0	9,8	11,9	12,5	16,7	15,1	5,9	4,5	4,3
Gesamtzahl	50034	4050	3196	2829	2210	2235	1888	1495	1716	1630	1481

Diskussion

Salmonella Enteritidis PT8 ist mit 281 humanen Erst-Isolaten weiterhin der häufigste Sero-/Phagentyp, neben vielen sporadischen Erkrankungen gab es 2016 auch Familienausbrüche und regionale Häufungen. Eine Analyse von Isolaten von Familienausbrüchen und regionalen Häufungen sowie von willkürlich ausgewählten Isolaten von sporadischen Erkrankungsfällen und nicht-humanen Stämmen mittels

MLVA bzw. WGS zeigte, dass eine Unzahl unterschiedlicher Subtypen von *Salmonella* Enteritidis PT8 „im Umlauf“ ist und hier nicht von einer alleinigen Infektionsquelle ausgegangen werden kann.

Salmonella Stanley, der Auslöser eines multinationalen Ausbruch mit 710 Erkrankungsfällen in zehn EU Mitgliedsstaaten (August 2011 bis Jänner 2013; ausgehend von kontaminiertem Putenfleisch; hauptbetroffen Österreich und Ungarn) sowie von zwei bundesländerübergreifenden Ausbrüchen (2014 bzw. 2015) ist 2016 nur noch vereinzelt (20 Fälle ohne zeitliche oder regionale Häufung) vorgekommen [5].

Im letzten Jahr ist es im Vergleich zum Jahr 2015 wieder zu einem leichten Rückgang der *Salmonella*-Erstisolate um 9,2% gekommen. Seit 2002 ist ein Rückgang von 82,4% zu verzeichnen. Der Abfall der humanen Salmonellose-Fälle ist vor allem durch den deutlich selteneren Nachweis von *S. Enteritidis* bedingt (2002: 7459; 2008: 2200; 2009: 1829; 2010: 1226; 2011: 1266; 2012: 933; 2013: 650; 2014: 829; 2015: 698; 2016: 725). Dies beruht zum einen auf der Umsetzung des Zoonosegesetzes (epidemiologische und mikrobiologische Abklärung von lebensmittelbedingten Ausbrüchen), zum anderen auf Maßnahmen im Legehennenbereich. Neben der verpflichtenden Impfung von Legehennen gegen *S. Enteritidis* (ab einer Betriebsgröße von 350 Tieren) besteht seit 2009 ein Vermarktungsverbot von Eiern (Verbot des Verkaufs als „Ess-Eier“) aus *S. Enteritidis* oder *S. Typhimurium* positiven Legehennenherden [6,7,8,9].

Als Folge all dieser Maßnahmen befinden wir uns jetzt sogar unter dem Niveau von vor Beginn der *Salmonella*-Epidemie (1984 - 1987 jährlich zwischen 1.600 und 2.800 humane *Salmonella*-Erstisolate), im Vergleich zur Mitte der 80er Jahre ist aber der Anteil von *S. Enteritidis* an der Gesamtzahl nach wie vor höher (1984 - 1987: ~ 30%; 2015: 49%). Bei konsequenter Fortsetzung des eingeschlagenen Weges erscheint eine weitere Reduktion der *S. Enteritidis* Nachweise und damit der Gesamtzahl an Salmonellen-Erkrankungen machbar.

Danksagung

Die Nationale Referenzzentrale für Salmonellen dankt allen beteiligten Ärzten und Behörden sowie allen einsendenden Laboren für die gute Zusammenarbeit.

Literatur

[1] EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), 2015. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. EFSA Journal 2016;14(12):4634, 231 pp. doi: 10.2903/j.efsa.2016.4634

[2] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters.

- [3] Clinical and Laboratory Standards Institute (2016) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Nineteenth Informational Supplement M100-S25. Wayne, PA, USA
- [4] European Centre for Disease Prevention and Control. EU protocol for harmonised monitoring of antimicrobial resistance in human Salmonella and Campylobacter isolates. Stockholm: ECDC; 2014
- [5] European Centre for Disease Prevention and Control, European Food Safety Authority. Multi-country outbreak of Salmonella Stanley infections – Third update, 8 May 2014. Stockholm and Parma: ECDC/EFSA; 2014
- [6] Anonymous. Verordnung (EG) Nr. 1237/2007 der Kommission vom 23. Oktober 2007 zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 2160/2003 des Europäischen Parlaments und des Rates sowie der Entscheidung 2006/696/EG hinsichtlich des Inverkehrbringens von Eiern aus mit Salmonellen infizierten Legehennenherden. OJ L 280, 5–9
- [7] Anonymous. Verordnung (EG) Nr. 2160/2003 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 17. November 2003 zur Bekämpfung von Salmonellen und bestimmten anderen durch Lebensmittel übertragbaren Zoonoseerregern. OJ L 325, 1-15
- [8] Anonymous. Bundesgesetz vom 18. November 2005 zur Überwachung von Zoonosen und Zoonoseerregern (Zoonosengesetz). BGBl. I Nr. 128/2005
- [9] Anonymous. Geflügelhygieneverordnung 2007. BGBl. II Nr. 100/2007