

Aus dem Institut für Lebensmittelhygiene
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig
und
dem Robert Koch-Institut, Bereich Wernigerode

**Entwicklung eines Lysotypiesystems für *Salmonella* Infantis
und dessen Anwendung für epidemiologische Zwecke**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doctor medicinae veterinariae (Dr. med. vet.)
durch die Veterinärmedizinische Fakultät
der Universität Leipzig

eingereicht von
Tatjana Miller
aus Omsk

Leipzig, 2009

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Professor Dr. med. vet. Arwid Dauschies

Betreuer: Professor Dr. Dr. h. c. med. vet. Karsten Fehlhaber
Dr. rer. nat. Wolfgang Rabsch

Gutachter: Professor Dr. Dr. h. c. med. vet. Karsten Fehlhaber
Institut für Lebensmittelhygiene
Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig

Professor Dr. med. vet. Ulrich Neumann
Klinik für Geflügel
Tierärztliche Hochschule Hannover

Tag der Verteidigung: 16.06.2009

Frau Dr. Elke Dinger gewidmet

Wir wissen nichts – das ist das Erste. Deshalb sollen wir sehr bescheiden sein – das ist das Zweite. Dass wir nicht behaupten, zu wissen, wenn wir nicht wissen, das ist das Dritte.“

Karl Popper (1994)

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | Einleitung | 1 |
| 2 | Literatur | 3 |
| 2.1 | Charakteristika und Taxonomie des Genus <i>Salmonella</i> | 3 |
| 2.2 | Epidemiologische Zuordnung der <i>Salmonella</i> -Serovare | 4 |
| 2.3 | Salmonellose des Menschen | 5 |
| 2.3.1 | Epidemiologie der Enteritis-Salmonellose | 5 |
| 2.3.2 | Infektionsdosis und Krankheitsbilder | 5 |
| 2.4 | Pathogenität und Virulenz | 7 |
| 2.4.1 | Typ-3-Sekretionssysteme | 7 |
| 2.4.2 | Invasionsrelevantes Effektorprotein SopE | 9 |
| 2.5 | Bedeutung von <i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> Serovar Infantis als Erreger humaner Salmonellose | 12 |
| 2.5.1 | Übersicht | 12 |
| 2.5.2 | Nosokomiale Fälle | 12 |
| 2.5.3 | Lebensmittelvergiftungen | 13 |
| 2.6 | Bedeutung von <i>S. Infantis</i> als Erreger bei verschiedenen Tierarten | 14 |
| 2.6.1 | Geflügel | 14 |
| 2.6.2 | Schwein und Rind | 17 |
| 2.7 | Typisierungsmethoden für <i>Salmonella</i> spp. | 17 |
| 2.7.1 | Serotypie | 19 |
| 2.7.2 | Lysotypie | 19 |
| 2.7.3 | Antibiotikaresistenz | 22 |
| 2.7.4 | Makrorestriktionsanalyse | 23 |
| 2.7.5 | Multiple-Locus Variable-Number of Tandem-Repeat Analysis | 23 |
| 2.8 | Gesetzliche Grundlagen zur Bekämpfung der Salmonellose | 24 |
| 3 | Material und Methoden | 27 |
| 3.1 | Material | 27 |
| 3.1.1 | <i>Salmonella</i> Infantis-Stämme | 27 |
| 3.1.2 | Bakteriophagen | 27 |
| 3.1.3 | Software | 28 |
| 3.1.4 | Kulturmedien | 29 |
| 3.1.5 | Puffer- und Stammlösungen | 31 |
| 3.1.6 | Enzyme | 34 |
| 3.1.7 | Reagenzien und Chemikalien | 35 |
| 3.1.8 | Verwendete Antibiotika | 35 |
| 3.1.9 | Sonstiges Material | 36 |
| 3.1.10 | Oligonukleotide | 37 |
| 3.1.11 | Geräte | 37 |
| 3.2 | Methoden | 37 |
| 3.2.1 | Anzucht von <i>Salmonella</i> -Stämmen | 37 |
| 3.2.2 | Stammhaltung | 38 |
| 3.2.3 | Entwicklung des Lysotypiesystems für <i>S. Infantis</i> | 38 |
| 3.2.3.1 | Isolierung und Adaptation der Bakteriophagen | 38 |
| 3.2.3.2 | Prophageninduktion durch Mitomycin C | 38 |
| 3.2.3.3 | Isolierung der Wildphagen aus Abwasser | 39 |
| 3.2.3.4 | Adaptation der bereits isolierten Phagen an andere Stämme | 39 |
| 3.2.4 | Die Bestimmung des Wirtsspektrums eines Phagen | 39 |
| 3.2.5 | Phagen-Titerbestimmung | 40 |
| 3.2.6 | Flüssige Anreicherung | 40 |

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|---|------------|
| 3.2.7 | Weichagarmethode..... | 41 |
| 3.2.8 | Phänotypische Methoden | 42 |
| 3.2.8.1 | Serotypie..... | 42 |
| 3.2.8.2 | Lysotypie..... | 42 |
| 3.2.8.3 | Bestimmung der Antibiotikaresistenz..... | 44 |
| 3.2.9 | Molekularbiologische Methoden..... | 46 |
| 3.2.9.1 | Makrorestriktionsanalyse | 46 |
| 3.2.9.2 | Polymerase-Ketten-Reaktion | 47 |
| 3.2.9.3 | Sequenzierung mittels „cycle sequencing“ | 48 |
| 3.2.9.4 | Multiple-Locus Variable-Number of Tandem-Repeat Analysis..... | 50 |
| 4 | Ergebnisse | 51 |
| 4.1 | Entwicklung eines Lysotypiesystems für <i>S. Infantis</i> | 51 |
| 4.1.1 | Induktion und Auswahl der temperenten Phagen aus lysogenen <i>S. Infantis</i> -Stämmen..... | 51 |
| 4.1.2 | Isolierung und Auswahl der virulenten Wildphagen..... | 51 |
| 4.1.3 | Induktion und Auswahl der temperenten Phagen des „Bayerischen Klons“ | 54 |
| 4.1.4 | Evaluierung der ausgewählten Bakteriophagen auf Eignung | 55 |
| 4.1.5 | Die Typisier- und die Diskriminationsfähigkeit..... | 56 |
| 4.1.6 | Untypisierbarkeit bei <i>S. Infantis</i> -Stämmen | 56 |
| 4.1.7 | Testung der <i>S. Infantis</i> Typisierphagen auf ihre Spezifität..... | 57 |
| 4.2 | Anwendung des Lysotypiesystems für epidemiologische Zwecke..... | 57 |
| 4.2.1 | Verteilung der Lysotypen nach Herkunft..... | 57 |
| 4.2.2 | Verteilung der Lysotypen nach geografischem Auftreten | 58 |
| 4.2.3 | Verteilung der Lysotypen nach epidemiologischer Relevanz..... | 59 |
| 4.2.3.1 | Ausbruchsuntersuchungen | 59 |
| 4.2.3.2 | Sporadische Isolate..... | 64 |
| 4.3 | Nachweis und Sequenzierung des Virulenzgens <i>sopE</i> | 66 |
| 4.4 | Bestimmung der Antibiotikaresistenz..... | 68 |
| 4.5 | Anwendung genotypischer Methoden zur Subdifferenzierung..... | 69 |
| 4.5.1 | Makrorestriktionsanalyse | 69 |
| 4.5.2 | Multiple-Locus Variable-Number of Tandem-Repeat Analysis..... | 74 |
| 5 | Diskussion | 77 |
| 5.1 | Lysotypie..... | 77 |
| 5.1.1 | Entwicklung des Schemas..... | 77 |
| 5.1.1.1 | Auswahl der temperenten Phagen aus lysogenen <i>S. Infantis</i> -Stämmen..... | 77 |
| 5.1.1.2 | Auswahl der Phagen für untypisierbare Stämme | 78 |
| 5.1.1.3 | Vergleich der Lysotypiesysteme für den Serovar <i>S. Infantis</i> | 79 |
| 5.1.2 | Epidemiologische Analyse von <i>S. Infantis</i> -Isolaten..... | 80 |
| 5.1.2.1 | Verteilung der Lysotypen nach Herkunft..... | 80 |
| 5.1.2.2 | Verteilung der Lysotypen nach geografischem Auftreten | 83 |
| 5.1.2.3 | Verteilung der Lysotypen nach epidemiologischer Relevanz..... | 84 |
| 5.1.2.4 | Nosokomiale Infektionen | 85 |
| 5.1.2.5 | Lebensmittelvergiftungen..... | 85 |
| 5.2 | Nachweis des <i>sopE</i> -Gens | 86 |
| 5.3 | Bestimmung der Antibiotikaresistenz | 87 |
| 5.4 | Makrorestriktionsanalyse | 89 |
| 5.5 | Multiple Locus Variable Number Tandem Repeat Analysis | 91 |
| 6 | Zusammenfassung | 93 |
| 7 | Summary | 95 |
| 8 | Literaturverzeichnis..... | 97 |
| 9 | Anhang | 123 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|-------------|--|
| Aqua dest. | Aqua destillata |
| BfR | Bundesinstitut für Risikobewertung |
| bp | Basenpaar |
| Cs | Zentisomposition auf dem Typhimurium LT 2-Chromosom |
| etc. | et cetera |
| DIN | Deutsches Institut für Normung e. V. |
| DNA | Deoxyribonucleic Acid, (Desoxyribonukleinsäure) |
| DNase | Desoxyribonuclease |
| DT | definierter Typ |
| EDTA | Ethylendiamintetraacetat |
| EFSA | European Food Safety Authority |
| EFSA | Europäische Lebensmittelsicherheitsbehörde |
| ESBL | <u>Extended-Spectrum Beta-Lactama</u> |
| evtl. | eventuell |
| engl. | Englisch |
| EN | Europäische Norm |
| EU | Europäische Union |
| FDA | Food Additive Safety |
| G | Gramm |
| H | Stunde (n) |
| Inkl. | Inklusiv |
| IfSG | Infektionsschutzgesetz |
| kDa | Kilodalton |
| L | Liter |
| Kb | Kilobasenpaare |
| LB-Boullion | Luria-Bertani-Boullion |
| LT | Lysotypen |
| Lnn. | Lymphknoten |
| M | Mol |
| MLVA | Multiple-Locus Variable-Number of Tandem Repeat Analysis |
| min | Minute(n) |
| µm | Mikrometer |
| mg | Milligramm |
| Mm | Millimeter |
| ml | Milliliter |
| MHK | Minimale Hemmkonzentration |
| N | Anzahl |
| NB | Nährbouillon |
| nm | Nanometer |
| NRZ | Nationales Referenzzentrum |
| NRC | engl. National Reference Centre |
| OD | optische Dichte (engl. optical density) |
| o. g. | oben genannt |
| PCR | Polymerase-Ketten-Reaktion (engl. Polymerase chain reaction) |
| pH | Wasserstoffionenkonzentration |
| PFGE | Pulsfeldgelelektrophorese |
| PT | engl. phage type |
| RKI | Robert Koch-Institut |
| Rpm | rounds per minute |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|-----------|---|
| RTD | Routine-Test-Verdünnung, routine test dilution |
| <i>S.</i> | <i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>enterica</i> |
| s. | siehe |
| sek. | Sekunde (n) |
| sp./spp. | Spezies (Singular/Plural) |
| subsp. | Subspezies |
| SCB | Selenit-Cystin-Bouillon |
| SDS | Sodium-Dodecyl-Sulphate |
| TBE | Tris-Borsäure-EDTA (Puffer) |
| TierSG | Tierseuchengesetz |
| Tris | Tris (hydroxymethyl)-aminomethan |
| U | Unit (s) |
| u. U. | unter Umständen |
| Ut | untypisierbar |
| UV-Licht | Ultraviolettes Licht |
| var. | Variante |
| VO | Verordnung |
| WR. | Wernigerode |
| z. T. | zum Teil |
| °C | Grad Celsius |
| λ Phage | Lambda Phage |
| Φ | Phage |

1 Einleitung

Salmonellen zählen weltweit zu den am häufigsten vorkommenden bakteriellen Krankheitserregern lebensmittel- und wasserassoziierter Infektionen. Von der World Health Organization (WHO) wird eingeschätzt, dass der Erreger *Salmonella* jährlich für 3 Milliarden humane Infektionen verantwortlich ist, wobei Typhus abdominalis pro Jahr 22 Millionen Fälle verursacht, darunter 200.000 mit tödlichem Ausgang (CRUMP et al. 2004). Es wurde geschätzt, dass *Salmonella*-Infektionen dem EU-Gesundheitswesen jährlich 3 Milliarden Euro kosten (BfR 2004). Salmonellen verursachen sowohl beschwerdefreies Dauerträgertum als auch vielfältige Erkrankungen. Sie reichen von leichten Befindlichkeitsstörungen über schwere Gastroenteritiden bis hin zu systemischen Infektionen mit Todesfolge, vor allem bei abwehrgeschwächten und älteren Personen sowie kleinen Kindern. Das Reservoir für Enteritis-Salmonellosen des Menschen ist hauptsächlich in den Tierbeständen zu sehen. Von der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) neu durchgeführte EU-weite Studien zur Salmonellen-Prävalenz in Geflügel-, Schweine- und Putenbeständen bestätigen, dass das *Salmonella*-Problem nach wie vor ein wichtiges Thema im Gesundheitswesen und in der Veterinärmedizin ist (ANON. 2007a, 2007b, 2008a, 2008b). In Deutschland wurden im Jahr 2007 gemäß Meldepflicht nach Infektionsschutzgesetz insgesamt 55.400 *Salmonella*-Infektionen an das Robert Koch-Institut (RKI) gemeldet. Da nur bei einem Teil der *Salmonella*-Erkrankungen die Ätiologie abgeklärt wird und eine Meldung erfolgt, ist anzunehmen, dass lediglich 10 % aller Fälle registriert werden. Deshalb kann davon ausgegangen werden, dass in der Bundesrepublik in Wirklichkeit jährlich etwa eine Million Menschen erkranken (TSCHÄPE u. BOCKEMÜHL 2002).

Der Serovar *S. Infantis* nahm weltweit unter den nachgewiesenen *S. enterica*-Serovaren bei Menschen oder Tieren den 5. bzw. 4. Rang ein (GALANIS et al. 2006). In den letzten vier Jahren ist *S. Infantis* als Enteritis-Erreger bei Menschen an die dritte Stelle unter den *S. enterica*-Serovaren in Deutschland aufgerückt. In der europaweiten EFSA-Studie zur *Salmonella*-Prävalenz bei Masthähnchenfleisch war *S. Infantis* mit 54,5 % der wichtigste Serovar im Jahr 2006 (ANON. 2007c). Außerdem wird *S. Infantis* zu den fünf häufigsten *Salmonella*-Serovaren gezählt, die im Rahmen eines europäischen Programms zur Bekämpfung von bestimmten *Salmonella*-Serovaren bei Zuchttieren (Legehennen und Masthähnchen) nach der Verordnung (EG) Nr. 1003/2005 bekämpft werden sollen. Um *S. Infantis* zurückzudrängen, müssen die epidemiologisch wichtigen Reservoirs erkannt werden. Um Infektionsquellen und -wege nachzuweisen, werden Typisierungsmethoden benötigt.

Eine mit relativ wenig apparativem Aufwand durchzuführende Methode ist die Lysotypie, bei der die Feindifferenzierung von Bakterien durch spezifische Bakteriophagen erfolgt. Mit Hilfe etablierter Lysotypiesysteme für *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Heidelberg* *S. Derby* sowie *S. Agona* konnten Infektionswege erfolgreich nachgewiesen werden (RABSCH 2007; ASAI et al. 2008). Die Lysotypie spielte auch bei der Aufklärung von Infektionsketten nosokomialer Infektionen (z. B. für die Ruhr, *Shigella* spp. oder *Staphylococcus aureus*) eine große Rolle (WOODWARD et al. 2005; HILLIER. 2006; SZABO et al. 2009).

Das Ziel der vorliegenden Arbeit am Nationalen Referenzzentrum (NRZ) für Salmonellen und andere bakterielle Enteritiserreger war die Entwicklung und Erprobung eines Lysotypiesystems für *S. Infantis*. Im Rahmen der Dissertation wurden Phagen bezüglich ihrer Wirtsbereiche und ihrer diskriminatorischen Potentiale analysiert, um ein Lysotypieschema erstellen zu können. Dazu wurden *S. Infantis*-Phagen isoliert, geprüft und bewertet. Mittels dieser Typisierphagen wurden ausgewählte *S. Infantis* Stämme (n = 1008) von Menschen (Ausbruchs- und sporadische Isolate), von Tieren, von Lebensmitteln sowie von Umweltisolaten untersucht. Alle typisierbaren Stämme konnten zunächst einem vorläufigen, später einem definierten Lysotyp zugeordnet werden. Die Ergebnisse des entwickelten Lysotypiesystems wurden mit denen der Makrorestriktionsanalyse und Methode Multiple-Locus Variable-Number of Tandem Repeat Analysis (MLVA) verglichen.

Zusätzlich wurde das Vorhandensein des Gens *sopE* bei *S. Infantis* Stämmen geprüft. Das Effektorprotein SopE wurde bereits als Virulenzmarker beim epidemiologisch relevanten *S. Enteritidis*-Lysotyp (LT) 4/6 sowie den definierten Typen (DT) von *S. Typhimurium* DT 49, DT 68, DT 175, DT 204 und DT 204c identifiziert. Die das *sopE*-tragenden *S. Typhimurium*-Stämme waren mit Epidemien beim Rind und beim Schwein assoziiert (MIROLD et al. 1999). Es wird angenommen, dass die *sopE*-tragenden Stämme als hochvirulent einzustufen sind. Daher wurden *S. Infantis*-Stämme von epidemiologisch häufig vorkommenden und selten auftretenden Lysotypen ausgewählt und mittels PCR untersucht. Zur Verifizierung der PCR-Amplifikate wurde eine Sequenzierung durchgeführt.

Diese Arbeit kann aufgrund der nachgewiesenen Lysotypie-Daten auch ein Beitrag zur Entscheidungsfindung eines geeigneten *S. Infantis*-Vakzinestammes für potentielle Impfstoffproduzenten für Hühner oder Schweine sein.

2 Literatur

2.1 Charakteristika und Taxonomie des Genus *Salmonella*

Salmonellen sind gramnegativ, fakultativ anaerob, stäbchenförmig, ca. 0,7 - 1,5 x 2 - 5 µm groß und bis auf wenige Ausnahmen (*S. Gallinarum* und *S. Pullorum*) peritrich begeißelt und dadurch beweglich. Sie gehören zur Familie der *Enterobacteriaceae*. Salmonellen vermehren sich auch bei minimalem Nährstoffangebot in einem Temperaturbereich von 5 bis 45 °C, wobei das Optimum bei 37 °C liegt (BAZACO et al. 2007). Die Überlebenszeit ist umso höher, je geringer der Wassergehalt des umgebenden Substrates ist. Im Staub lassen sich Salmonellen bis zu vier Jahre, in trockener Erde 16 Monate und in feuchter Erde 12 Monate nachweisen. In Milch- und Eipulver, Nudeln, Gewürzen und Schokolade sind Salmonellen bis zu mehreren Jahren lebensfähig (LEHMACHER et al. 1995; HARTWIG et al. 2006).

Das Genus *Salmonella* wird in zwei Spezies eingeteilt, *S. bongori* und *S. enterica*, wobei die Spezies *S. enterica* nochmals in sechs Subspezies (Subsp.) unterteilt wird: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* und *indica* (Abbildung 1). Die *Salmonella*-Spezies *bongori* und Subspezies *enterica* werden weiterhin in Serovare gegliedert. Nach dem heutigen Datenstand konnten über 2.500 verschiedene Serovare des Genus *Salmonella* nach dem White-Kauffmann-Le Minor-Schema (früher Kauffmann-White Schema) identifiziert werden (GRIMONT u. WEILL 2007). Im Schema sind Serovare nach der Expression ihrer somatischen Lipopolysaccharide (O-Antigen), der Geißeln (H-Antigen) sowie in einigen wenigen Fällen der Kapseln (Vi-Antigen, z. B. *S. Typhi*) zugeordnet. Die *S. enterica* Subsp. *enterica* stellt den für Warmblüter bedeutsamsten Vertreter dar, die Subsp. *arizonae* und *diarizonae* werden vorwiegend bei wechselwarmen Tieren nachgewiesen (GRIMONT u. WEILL 2007; DIECKMANN et al. 2008). 99 % aller isolierten *Salmonella*-Stämme gehören zur Subspezies *enterica*, die als einzige von klinischer und epidemiologischer Bedeutung beim Menschen ist (CHAN et al. 2003; DIECKMANN et al. 2008). Die häufig vorkommenden Serogruppen der Subspezies *enterica* sind A, B, C1, C2, D und E (DUNKLEY et al. 2009). Die Spezies *bongori* wird hauptsächlich in Umweltproben gefunden (DIECKMANN et al. 2008). Die Stämme dieser Spezies besitzen häufig folgende O-Antige: A, G, H, O:60, O:66, V und Y (GRIMONT u. WEILL 2007).

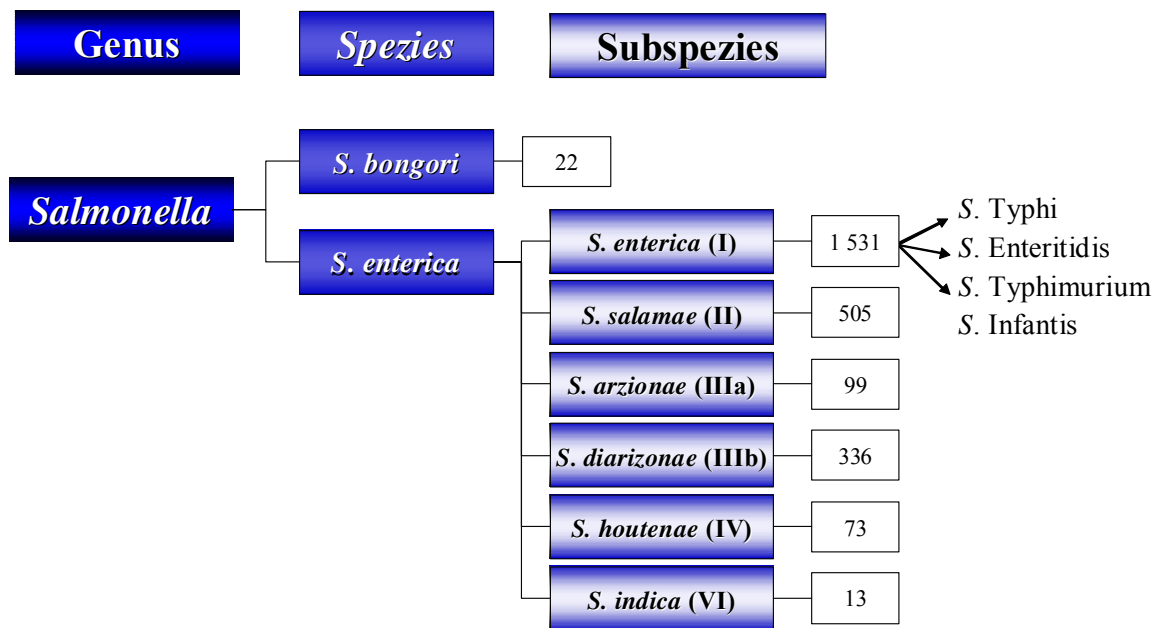


Abbildung 1: Taxonomie des Genus *Salmonella*. Die Zahlen geben die unterschiedliche Anzahl der Serovare für die jeweilige Spezies bzw. Subspezies an, insgesamt sind 2 579 Serovare bekannt (GRIMONT u. WEILL 2007)

2.2 Epidemiologische Zuordnung der *Salmonella*-Serovare

Bezüglich der epidemiologischen Bedeutung können *Salmonella*-Serovare in verschiedene Gruppen eingeteilt werden. Zur ersten Gruppe gehören die humanadaptierten Serovare *S. Typhi* sowie *S. Paratyphi* A, B und C, die beim Menschen Typhus abdominalis bzw. Paratyphus auslösen (CRUMP et al. 2004; DARBY u. SHEOREY 2008). Zur zweiten Gruppe zählen alle übrigen Serovare, die man als nicht typhoide bzw. Enteritis-Salmonellen bezeichnet. Diese Serovare können bei Mensch und Tier subklinische Infektionen, schwere Gastroenteritiden bis zu systemischen Erkrankungen mit Todesfällen verursachen. In einer dritten Gruppe können die Serovare zusammengefasst werden, die an bestimmte Tierarten adaptiert sind, z. B. *S. Dublin* beim Rind, *S. Choleraesuis* und *S. Typhisuis* beim Schwein und *S. Gallinarum/Pullorum* beim Huhn.

Epidemiologische Beobachtungen, dass manche nicht wirtsadaptierte Serovare in Verbindung mit bestimmten Tierarten auftreten, ohne klinische Symptome auszulösen (*S. Enteritidis* bei Huhn, *S. Hadar* bei Pute, *S. Infantis* bei Masthähnchen und *S. enterica* ssp. IV, 48:g,z51:- bei Reptilien), weisen wahrscheinlich auf die Existenz einer weiteren Wirtsanpassung hin, durch die sich bestimmte Klone eines Serovars in den Erreger-Populationen der entsprechenden Tierarten festsetzen und weiterverbreiten können (BfR 2005, 2006, 2008a, 2008b; WOLFGANG, RABSCH, Wernigerode, 20.10.2008).

2.3 Salmonellose des Menschen

2.3.1 Epidemiologie der Enteritis-Salmonellose

Im Jahr 2007 traten 55.400 gemeldete Enteritis-Salmonellose Fälle in Deutschland auf (ROBERT KOCH-INSTITUT 2008). Die Übertragung auf den Menschen erfolgt überwiegend durch Lebensmittel besonders Eier und Eierzeugnisse, die entweder intravital infiziert sind oder durch den Verarbeitungsprozess kontaminiert werden (TSCHÄPE u. BOCKEMÜHL 2002). Nicht vom Tier stammende Lebensmittel wie z. B. Schokolade (PRAGER u. TSCHÄPE 2003), Obst, Gemüse, Gewürze (LEHMACHER et al. 1995; HARTWIG et al. 2006) sowie Fenchel-Anis-Tee (RABSCH et al. 2005) können ebenfalls kontaminiert sein. Auch infizierte Personen, die Umgang mit Lebensmitteln haben, sind zu berücksichtigen und kommen dadurch als Ursache von Gruppenerkrankungen und Hospitalinfektionen in Frage (JANSEN et al. 2007; DÜSTERHAUS et al. 2007; MILLER et al. 2008; JANSEN et al. 2008). Im Rahmen einer epidemiologischen Untersuchung in Japan zum Vorkommen nicht-typhoider *Salmonella* spp. konnten zwischen 1999 und 2000 bei Beschäftigten im Lebensmittelbereich (Betrieben, Hotels, Restaurants, Supermärkte, Hospital und Schulen) auf der Insel Kyushu folgende Daten gefunden werden: 106 *Salmonella*-positive Träger wurden aus 331.644 untersuchten Stuhlproben erfasst. *S. Infantis* nahm mit 48 % (n = 106) den ersten Platz unter den 16 identifizierten Serovaren ein (MURAKAMI et al. 2007). Seltener ist dagegen eine direkte/indirekte Übertragung (Schmierinfektion) von Mensch zu Mensch, z. B. von der Mutter auf das Neugeborene oder als Hospitalinfektion (HOF 2001). Neben den klassischen Reservoirien wurde auch über exotische Infektionsquellen wie z. B. Reptilien-assoziierte Salmonellosen berichtet, die bei Kleinkindern immer wieder beobachtet wurden (BERTRAND et al. 2008; WEIß et al. 2008).

2.3.2 Infektionsdosis und Krankheitsbilder

Beim gesunden, erwachsenen Menschen liegt die Infektionsdosis bei $\geq 10^5$ Salmonellen. Dagegen reicht bei Kindern und immungeschwächten Personen sowie in fettreicher Nahrung wie Schokolade oder Käse eine geringere Keimzahl aus, u. U. weniger als 100, um eine Infektion auszulösen (TSCHÄPE u. BOCKEMÜHL 2002; TODD et al. 2008). In einer Studie wurde die Invasionsfähigkeit verschiedener *Salmonella*-Serovare in Abhängigkeit vom Patienten-Alter untersucht. *S. Infantis* zeigte den höchsten Wert bei Kindern unter zwei, und bei Erwachsenen über 60 Jahren (WEINBERGER et al. 2004). Die Salmonellose beim

Menschen erzeugt zwei klinische Bilder: die typhoide Form, die durch die Serovare *S. Typhi* sowie *S. Paratyphi* A, B und C hervorgerufen wird; und die enterische Form, die durch tieradaptierte und nicht wirtsadaptierte Salmonellen ausgelöst wird (LAYTON u. GALYOV 2007; DARBY u. SHEOREY 2008). Neben den streng humanadaptierten Serovaren, die eine systemische Infektion auslösen, können auch andere nicht wirtsadaptierte Serovare wie z. B. *S. Enteritidis* und *S. Infantis* u. U. eine Allgemeininfektion verursachen.

S. Typhi- und *S. Paratyphi*-Infektionen werden gegenwärtig vorwiegend nach Reisen in Endemiegebiete, z. B. die Türkei, asiatische Länder, Südamerika und Afrika beobachtet. Als wichtigste Infektionsursache gelten Dauerausscheider, kontaminierte Lebensmittel sowie Trinkwasser. Die Inkubationszeit beim Typhus beträgt in der Regel zehn Tage, kann aber zwischen drei und 30 Tagen variieren. Dann treten initial unspezifische Symptome wie Kopfschmerzen, Obstipation und treppenförmiger Fieberanstiege bis 40 °C auf. Danach kommt es zu Roseolen auf der Haut, einer relativen Bradykardie, Splenomegalie, Benommenheit und breiförmigen Durchfällen bis zu Darmperforationen. Durch eine systemische Verbreitung der Keime erfolgt die Manifestation in den verschiedenen Organen, z. B. Meningitis, Myokarditis und Enzephalopathien. Die Letalität beträgt bei unbehandelten Patienten 10 bis 15 %. Mit einem rechtzeitig eingesetzten Antibiotikum, z. B. Fluorchinolonen, sinkt die Letalität des Typhus unter 1 %. Etwa 5 % der Erkrankten werden durch Persistenz des Erregers in der Gallenblase zum Dauerausscheider (LO et al. 2004; VOGEL et al. 2007). Die Behandlung der betroffenen Patienten erfolgt durch Ektomie der Gallenblase (TSCHÄPE u. BOCKEMÜHL 2002). Die Immunität nach einer Typhus- oder Paratyphusinfektion hält drei bis sechs Jahre an. Es gibt jedoch keine Kreuzimmunität zwischen Typhus und den verschiedenen Paratyphusformen. Eine aktive Immunisierung mit Typhus-Impfstoffen ist bei reisenden Personen in Entwicklungsländern zu empfehlen (GUZMAN 2006; BOYLE et al. 2007). Leider existiert kein Impfstoff für Paratyphus.

Enteritis infectiosa kann durch eine orale Aufnahme der nicht typhoidalen Salmonellen entstehen. Nach einer Inkubationszeit von ca. 6 bis 48 h kommt es zu klinischen Erscheinungen wie Fieber, Erbrechen und profusem Durchfall. Die auf Grund des Durchfalls entstehenden Flüssigkeitsverluste sollten durch ausreichende Elektrolyt- und Glukosezufuhr ersetzt werden, da sonst durch die Hypovolämie im Blutkreislauf eine orthostatische Synkope entstehen kann. Ein Antibiotikum ist bei normalen Verlaufformen nicht indiziert, weil die Infektion nach vier bis sieben Tagen von selbst eliminiert wird. Der Erreger wird jedoch im Anschluss für kurze Zeit bis hin zu einigen Monaten weiter ausgeschieden (LAYTON u. GALYOV 2007). Bei Neugeborenen, Kleinkindern und immunsupprimierten Personen kann

aus einer enteritisch verlaufenden Infektion auch eine systemische entstehen. Enterale Infektionen mit den Enteritis-Salmonellen führen oft zu immunologisch induzierten Folgekrankheiten wie z. B. Reaktive Arthritis. Bei der Reaktiven Arthritis handelt es sich um eine postinfektiöse, nicht septische Arthritis, die durch eine extraartikuläre Infektion ausgelöst wird und bei der der ursächliche Erreger nicht lebend im Gelenk nachweisbar ist (EKMAN et al. 1999; TOWNES et al. 2008). Eine Enteritis hinterlässt keine allgemeine Immunität, jedoch eine lokale gegen Infektionen mit dem gleichen Erregertyp. Um *Salmonella*-Infektionen zu vermeiden steht deshalb der hygienische Umgang mit Lebensmitteln in Verbindung mit persönlicher Hygiene an erster Stelle. Keimausscheider müssen daher von Lebensmitteln und Kindereinrichtungen durch ein Tätigkeitsverbot ferngehalten werden (IfSG, §42).

2.4 Pathogenität und Virulenz

Oral aufgenommene Salmonellen überleben im Magen mit Hilfe verschiedener Systeme von Protonenpumpen (FOSTER u. SPECTOR 1995; SLAUCH et al. 1997). Danach erfolgt ihre Adhäsion mittels Adhärenzfaktoren, z. B. unterschiedlichen Fimbrien an absorptive Epithelzellen des Dünndarms (KORHONEN 2007; NUCCIO u. BÄUMLER 2007). Die molekularen Grundlagen der Invasion von *Salmonella* spp. in eukaryontischen Zellen wurden intensiv untersucht (GERLACH u. HENSEL 2007); jedoch sind die intrazellulären Mechanismen zwischen Wirt und Erreger, die zur systemischen Infektion führen, bisher nur teilweise charakterisiert.

2.4.1 Typ-3-Sekretionssysteme

Um den Wirtsorganismus erfolgreich zu kolonisieren und dabei dem Immunsystem zu entkommen, besitzt *Salmonella* sowohl unterschiedliche Stressantwortsysteme als auch eine große Zahl von virulenzassoziierten Genen. Diese Gene sind häufig innerhalb großer, chromosomaler Bereiche lokalisiert, die als Pathogenitätsinseln (SPI) bezeichnet werden. Es wurden bereits 14 *Salmonella*-SPIs identifiziert (GERLACH u. HENSEL 2007). *Salmonella* spp. besitzen zwei Typ-3-Sekretionssysteme (T3SS), die sich in verschiedenen Regionen des Chromosoms befinden (HAPFELMEIER et al. 2004; RAFFATELLU et al. 2005; BOYLE et al. 2006; SCHLUMBERGER u. HARDT 2006; ABRAHAMS u. HENSEL 2006; CARNELL et al. 2007; GIACOMODONATO et al. 2007). Diese beiden Typ-3-Sekretionssysteme spielen während der Pathogenese eine unterschiedliche Rolle: während SPI-1 zahlreiche

Effektorproteine in das Zytoplasma der Wirtszelle injiziert, um die Invasion und inflammatorische Reaktion (Enteritidis) zu vermitteln, ist SPI-2 für das Überleben und die Replikation innerhalb der Wirtszelle und im Verlauf einer systemischen Infektion erforderlich (Abbildung 2, Abbildung 3). Translozierte Effektoren (Virulenzproteine) der SPI-1 und besonders der SPI-2 bestimmen den entweder enteritischen oder systemischen Verlauf (LAWLEY et al. 2006; JONES et al. 2007). Das genaue Zusammenspiel der diversen Effektoren von SPI-1 und von SPI-2 und dadurch die Bestimmung des enteritischen oder systemischen Verlaufs ist bis heute noch nicht vollständig geklärt. Dabei spielen der Immunitätsstatus des Wirtes und die Virulenzeigenschaften des *Salmonella*-Stammes eine wesentliche Rolle (ZHANG et al 2003; LAWLEY et al. 2006).

Beim enteritischen Verlauf induzieren Effektoren die Störungen des Wasser-, Elektrolyt- und Proteinhaushaltes durch permanenten Ausfluss und lokale Inflammation, was beides zu Durchfall mit Fieber und Erbrechen führt (ZHANG et al 2003; LAYTON u. GALYOV 2007). Durch SPI-1 injizierte Proteine SopE, SopE2 und SopB wird das Aktin-Zytoskelett der Wirtszelle depolarisiert, was zu einer Membranausstülpung („*membrane ruffles*“) und zur Aufnahme der Salmonellen in die sogenannten Makropinosomen führt [Abbildung 2, Abbildung 3] (PATEL u. GALAN 2005; BOYLE et al. 2006; LAYTON u. GALYOV 2007).

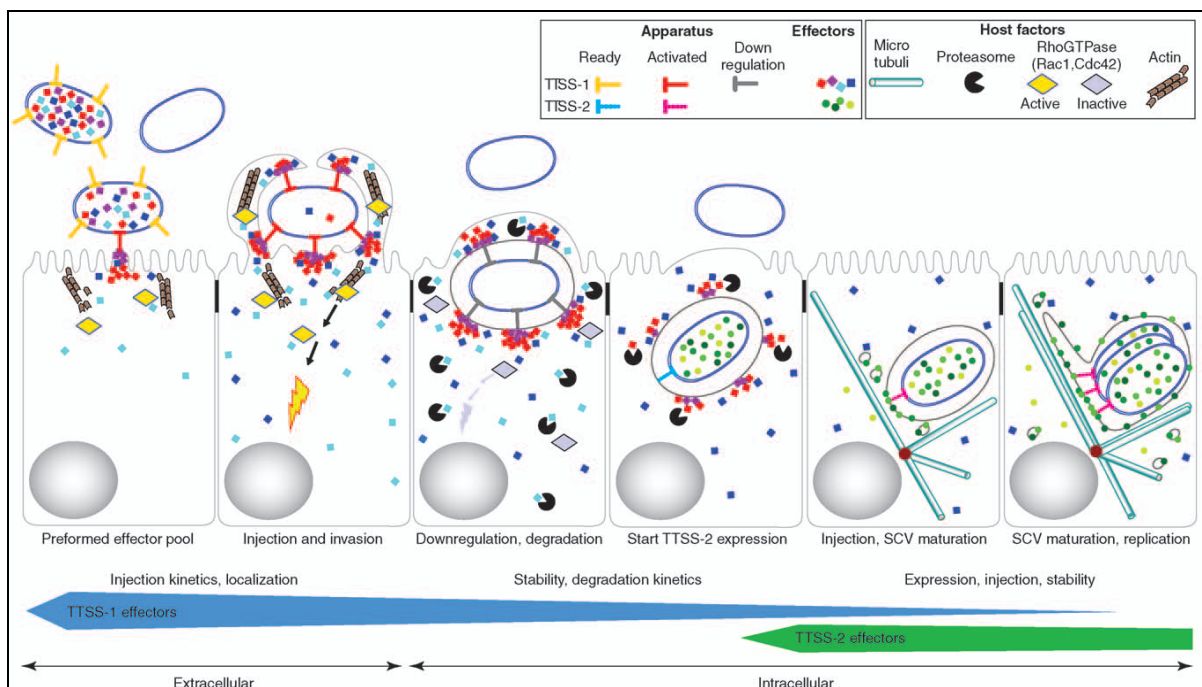


Abbildung 2: Darstellung von zwei Sekretions-Systemen: T3SS-1 und T3SS-2, je nach der Infektionsphase in der Darmepithelzelle (SCHLUMBERGER u. HARDT 2006)

Neben Enterozyten werden auch nicht phagozytierende M-Zellen (Microfold-Zellen der Peyer'schen Plaques), Zellen des angeborenen Immunsystems sowie dendritische Zellen und phagozytierende Makrophagen als Eintrittspforte genutzt, um tiefere Schichten der Darmwand und schließlich die regionalen Lymphknoten zu erreichen (ZHANG et al 2003; MARTINOLI et al. 2007). Nach erfolgtem Eintritt über das „*membrane ruffling*“ in die M-Zellen und Enterozyten liegen die Salmonellen in Membran-umhüllten Vesikeln im Zellinneren vor, den sog. *Salmonella*-containing vacuoles (SCV). Diese SCV's bilden eine intrazelluläre Nische und werden für das Überleben und die Replikation genutzt (SCHLUMBERGER u. HARDT 2006; ABRAHAMS u. HENSEL 2006). Bereits vier Stunden nachdem eine Salmonelle die mononukleär phagozytierende Zelle (Makrophagen und/oder dendritische Zellen) besiedelt hat, ermöglichen bestimmte Effektorproteine der SPI-1 und SPI-2, eine Apoptose der Zellen zu induzieren, was wiederum die Progression der Salmonellose zur Folge hat (HUEFFER et al. 2004; GUINEY et al. 2005; VALLE et al. 2005). Über Makrophagen disseminieren die Salmonellen im ganzen Organismus und können somit die Organe des retikuloendothelialen Systems wie Milz und Leber besiedeln (MONACK et al. 2004; GUINEY et al. 2005). Dieser Verlauf kann ohne Therapie zu einem Zusammenbruch des Immunsystems führen.

2.4.2 Invasionsrelevantes Effektorprotein SopE

Nicht alle Effektoren, die über das SPI-1 Typ 3-Sekretions-System transloziert werden, sind auf der Pathogenitätsinsel-1 kodiert (Abbildung 3). So zeigten MIROLD et al. (1999), dass auch einzelne Virulenzfaktoren mit Hilfe von Plasmiden und Bakteriophagen zwischen verschiedenen Spezies übertragen werden, wie im Falle des Effektorproteins SopE (ZHOU et al. 2001; ZHANG et al. 2002; PELLUDAT et al. 2003). Das Gen *sopE* ist eingebettet in die Sequenzen des Fels-2-ähnlichen Prophagen SopE oder in Sequenzen mit Ähnlichkeit zu Bakteriophagenfamilien wie z. B. λ oder P22 (Abbildung 3). Der Phage SopE besitzt eine bevorzugte Integrationsstelle und liegt bei Zentisom 60 des *S. Typhimurium*-Chromosoms des Stamms SL1344 mit einer Größe von 723 bp [Abbildung 3, Abbildung 4] (MIROLD et al. 2001). In anderen Serovaren, beispielweise *S. Typhi*, befindet sich das Gen *sopE* in der *Salmonella*-Pathogenitätsinsel 7, bei Zentisomposition 93 von *S. Typhi* Stamm CT18 [Abbildung 4] (PARKHILL et al. 2001; DENG et al. 2003; BUENO et al. 2004). Obwohl das Gen *sopE* in verschiedenen Regionen des Genoms bei *S. Typhi* bzw. *S. Typhimurium* liegt,

weisen die flankierenden Regionen des Gens eine große Sequenzhomologie auf (Abbildung 4). Für den Serovar *S. Infantis* ist die Integrationsstelle des Gens bisher unbekannt.

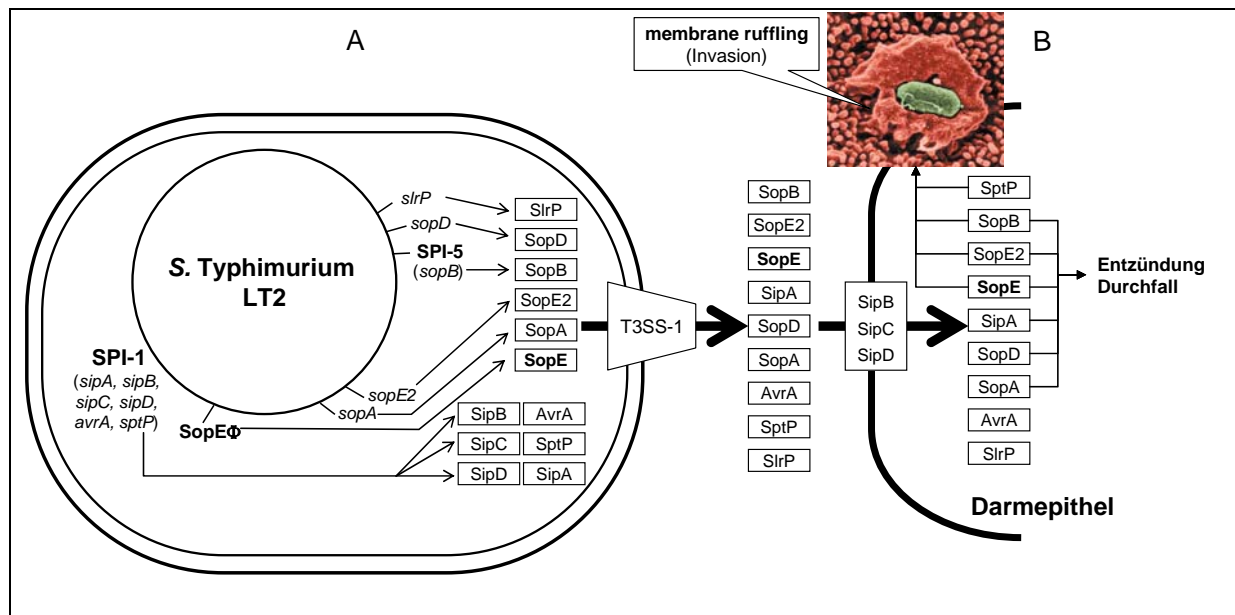


Abbildung 3: Illustration der frühen Phase der Invasion von Salmonellen in Darmepithelzellen von *S. Typhimurium* LT 2.

- (A) Dargestellt ist die Infektion mit einem enteritischen Erreger, welcher zur Manifestation der Gastroenteritis führt. T3SS-1 mit seinen translozierten Effektorproteinen. Weitere Typ-III-abhängig translozierte Effektoren sind in anderen chromosomalen Regionen kodiert (ZHANG et al. 2003, verändert vom Autor der vorliegenden Arbeit).
- (B) Eindringen von *S. Typhimurium* in eine Epithelzelle. Dabei induzierter *membrane ruffling* auf der Oberfläche von MDCK Zellen (GINOCCHIO et al. 1994).

Obwohl die Gene *sopE* und *sopE2* außerhalb der SPI-1 lokalisiert sind, ist ihre Sekretion von der SPI-1 abhängig (EHRBAR et al. 2003). Der Typ 3-abhängige Transport von SopE wird durch ein Typ 3-spezifisches Helferprotein unterstützt, dem Chaperon InvB (EHRBAR et al. 2006). Im Laufe der Entwicklung haben Salmonellen eine Kopie des Gens *sopE* das Gen *sopE2* erworben, die sich in ihrer Funktion überlappen. Die Effektoren SopE, SopE2 und SopB verursachen *membrane ruffling* durch Aktin-Zytoskeletumlagerungen der Wirtszelle (GUINEY u. LESNICK 2006; BOYLE et al. 2006). Der Effektor SopE dient als G-Nukleotidaustauschfaktor (GEF: G- nucleotide exchange factor) der Rho-Familie von GTPases - kleine Proteine Cdc42 und Rac1. Die RhoGTPasen Cdc42 und Rac1 sind zentrale Regulatoren der Aktinpolymerisation, je nach gebundenem Nukleotid, GTP oder GDP, sind sie aktiv oder inaktiv. Der Austausch von GTP und GDP wird z. B. durch GTPase aktivierende Proteine, sogenannte GAPs katalysiert (SCHLUMBERGER et al. 2006).

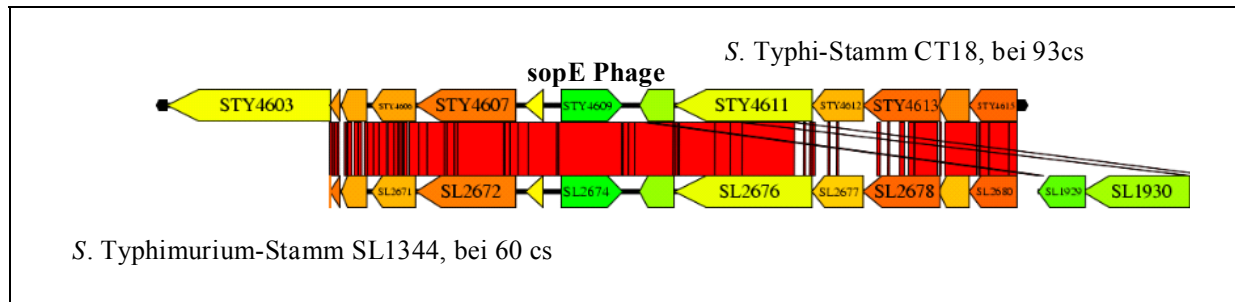


Abbildung 4: Sequenzvergleiche von Nachbarregionen des Gens *sopE* bei *S. Typhi* und *S. Typhimurium*.

Die deletierten Mutanten für *sopE*, *sopE2* und *sopB* konnten keine Polarisation der Epithelzelle hervorrufen (MIROLD et al. 2001; ZHOU u. GALAN 2001). Außerdem zeigten *in vivo*- und *in vitro*-Studien, dass die Expression von *sopE* und *sopB* direkt bei der Auslösung der inflammatorischen Reaktion des Wirtes beteiligt ist (FENG et al. 2001). Die Rolle von SopE in der Pathogenese von *S. enterica* lässt vermuten, dass die Fähigkeit zur Zellinvasion allein den Stämmen vorbehalten ist, die lysogen für einen SopE-kodierenden Bakteriophagen sind (PELLUDAT et al. 2003).

Unter den *S. enterica*-Serovaren, die das Gen *sopE* tragen, zählen vor allem die systemischen wirtsadaptierten Erreger wie *S. Typhi*, *S. Paratyphi B*, *S. Dublin* und *S. Gallinarum/Pullorum* (PRAGER et al. 2000; MIROLD et al. 2001; STRECKEL et al. 2004). *S. Paratyphi B*-Stämme, die systemisch verlaufende Infektionen hervorrufen, sind immer für das Virulenzgen *avrA* negativ und für *sopE* positiv, dagegen sind enteritische *S. Paratyphi B*-Stämme generell negativ für *sopE* (PRAGER et al. 2003). Nicht alle enteritischen Serovare bzw. Lysotypen eines Serovars wie *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* und *S. Infantis* besitzen ein Gen *sopE* (MIROLD et al. 1999; PRAGER et al. 2000; STRECKEL et al. 2004; HOPKINS u. THRELFALL 2004). Die Stämme von *S. Enteritidis* LT 4/6 und *S. Typhimurium* DT 49, DT 204, und DT 204c (besonders Epidemiotypen beim Rind) sind *sopE*-positiv. Es gibt jedoch auch epidemiologisch dominante Stämme, wie beispielweise *S. Typhimurium* DT 104, die *sopE*-negativ sind (MIROLD et al. 1999; ZHANG et al. 2002; EHRBAR et al. 2002; PELLUDAT et al. 2003; HOPKINS u. THRELFALL 2004).

2.5 Bedeutung von *S. enterica* subsp. *enterica* Serovar *Infantis* als Erreger humaner Salmonellose

2.5.1 Übersicht

S. Infantis ist ein nicht-wirtsadaptierter Serovar, der sowohl für Menschen als auch für Tiere pathogen sein kann. Der Serovar tritt als Erreger von klassischen Lebensmittelvergiftungen und Hospitalinfektionen auf. Der erstmals 1943 in den USA isolierte und weltweit verbreitete Serovar *S. Infantis* nimmt seit 2001 europaweit einen vorderen Platz (dritten bzw. vierten) unter bei Patienten nachgewiesenen *S. enterica*-Serovaren ein (WHEELER u. BORMAN 1943; GALANIS et al. 2006; GILL u. THRELFALL 2007). Ende der 1970er Jahre wurde eine weltweite Zunahme dieses Serovars wie z. B. in Japan, Argentinien, Australien, den Niederlanden, Finnland, Brasilien, Kanada und Ungarn beobachtet (KASATIYA et al. 1979; LASZLO et al. 1988; PELKONEN et al. 1994; KHAKHRIA et al. 1997; MURAKAMI et al. 1999; KATO et al. 2001, VAN DUIJKEREN et al. 2002; MERINO et al. 2003; FONSECA et al. 2006; ASAI et al. 2007; LAPUZ et al. 2008; ROSS u. HEUZENROEDER 2008; NOGRADY et al. 2008). Außerdem wurden einige Studien zum Vorkommen der *Salmonella* spp. bei hospitalisierten Patienten in Tunesien, Indien, Mexiko, Russland, Japan und Italien durchgeführt. *S. Infantis* nahm bei diesen Untersuchungen einen vorderen Platz (2 bzw. 3) ein (BEN HASSEN et al. 1993; SAHA et al. 2001; KUDAKA et al. 2006; PANIAGUA et al. 2007; EGOROVA et al. 2007; MONNO et al. 2007).

2.5.2 Nosokomiale Fälle

Seit den 1960er Jahren ist bekannt, dass *S. Infantis* als Erreger von Hospitalinfektionen vorwiegend bei Kleinkindern, aber auch bei Erwachsenen, die teilweise einen septikämischen Verlauf mit letalem Ausgang zeigten, vorkommen kann (GUTHEIL 1960; KASPER u. GUTHEIL 1964; KOHLER 1964; KASATIYA et al. 1979; HASENSEN et al. 1995; TAUXE et al. 1988; JOHNSON et al. 2001; CONZA et al. 2002). Im Rahmen eines zentralen Überwachungsprogrammes für Salmonellose (ZüpSalm) in den Jahren 1974 - 1985 wurden in deutschen Krankenhäusern 14 *S. Infantis*-Infektionen erfasst (Tabelle 1). Einen besonderen Fall beschrieben DEMIN und BRUSINA (2006). Eine *S. Infantis* Hospitalinfektion persistierte im Zeitraum von 1990 bis 2003 in einem russischen Krankenhaus. Insgesamt wurden 405 Fälle erfasst, vor allen waren die Patienten der Chirurgischen, Orthopädischen und Neugeborenen-Stationen betroffen. In Brasilien haben resistente *S. Infantis*-Isolate seit

1994 bei hospitalisierten Kindern schwere Magen-Darm-Erkrankungen verursacht (ASENSI u. HOFER 1994). Außerdem wurden zwischen 1996 und 1998 zwei Ausbrüche durch Extended-Spectrum Beta-Lactamase-bildende *S. Infantis*-Stämme auf Neugeborenenstationen beobachtet. Bei einem Ausbruch waren 140 Säuglinge erkrankt; bei 28 davon Betroffenen verlief die Infektion systemisch (MORAES et al. 2000; PESSOA-SILVA et al. 2002; FONSECA et al. 2006).

Tabelle 1: S. Infantis Hospital-Infektionen in Deutschland

| Jahr | Bundesland, Stadt | A* | ggf. Quelle | Referenz |
|------|------------------------------------|-----|---------------------|--------------|
| 1974 | Nordrhein-Westfalen, Lüdenscheid | - | - | PÖHN (1974c) |
| 1974 | Baden-Württemberg, Mannheim | - | - | PÖHN (1974d) |
| 1974 | Nordrhein-Westfalen, Dortmund | - | - | PÖHN (1974e) |
| 1974 | Nordrhein-Westfalen, Dortmund | 100 | - | PÖHN (1975a) |
| 1976 | Niedersachsen, Hannover | - | - | PÖHN (1976a) |
| 1976 | Nordrhein-Westfalen, Benninghausen | 100 | Ausscheider | PÖHN (1976c) |
| 1978 | Nordrhein-Westfalen, Dortmund | 8 | Schmierinfektion | PÖHN (1978a) |
| 1978 | Niedersachsen, Meierhöfen | <10 | - | PÖHN (1978b) |
| 1979 | Niedersachsen, Celle | 10 | Ausscheider (Küche) | PÖHN (1979a) |
| 1979 | Bayern, Würzburg | >15 | - | PÖHN (1979c) |
| 1979 | Berlin (West) | 10 | - | PÖHN (1980a) |
| 1981 | Bayern, Werneck | 15 | - | PÖHN (1981b) |
| 1981 | Bayern, Bad Kissingen | 2 | - | PÖHN (1981c) |
| 1982 | Baden-Württemberg, Baden-Baden | 20 | Ausscheider | PÖHN (1982b) |

* Anzahl der Betroffenen

2.5.3 Lebensmittelvergiftungen

Menschen infizieren sich vorwiegend durch den Verzehr von mit *S. Infantis* kontaminierten Lebensmitteln tierischen Ursprungs, seltener durch kontaminierte pflanzliche Produkte oder durch Kontakt bereits infizierter Mitmenschen. EU-weite durchgeführte epidemiologische Untersuchungen zur Prävalenz von *Salmonella* spp. identifizierten Tiere und daraus gewonnene Lebensmittel (Masthähnchen, Eier, Legehennen und Schweinefleisch) als die häufigsten Quellen für humane *S. Infantis*-Infektionen (ANON. 2007a; 2007b; 2007c; 2008a). Außerdem kann es bei der Zubereitung von Speisen mit Geflügelprodukten zur Kontamination weiterer Lebensmittel kommen. In den Jahren von 1974 bis 1985 wurden an das Zentrale Überwachungsprogramm für Salmonellose 35 Ausbrüche von Lebensmittelvergiftungen mit *S. Infantis* in Deutschland gemeldet (Tabelle 2, Anhang). In der Tabelle 3 sind relevante, weltweit vorkommende *S. Infantis*-Lebensmittelinfektionen aufgelistet.

Tabelle 3: S. Infantis Lebensmittelinfektionen

| Jahr | Land | A* | Quelle | Referenz |
|------|-------------|-----|---------------------------------|---|
| 1953 | Deutschland | - | Hühnereier | OSTERWALD u. STAACK (1954); STAACK (1954) |
| 1962 | Deutschland | 180 | Speiseeis mit Rohei | BIERSCHENK (1962) |
| 1973 | USA | - | Lebensmittel | LEVY et al. (1975) |
| 1978 | Kanada | 23 | Lebensmittel | KASATIYA et al. (1979) |
| 1974 | Deutschland | 300 | Orangeneis mit Rohei | PÖHN (1975b) |
| 1981 | Deutschland | 173 | unbekannt | PÖHN (1981a) |
| 1983 | USA | 260 | Geflügelfleisch | NELSON (1985) |
| 1985 | Deutschland | 59 | unbekannt | PÖHN (1985d) |
| 1986 | Finnland | 226 | Ausscheider | HATAKKA (1992) |
| 1990 | USA | 474 | Geflügelfleisch | MEEHAN et al. (1992) |
| 1993 | Dänemark | 500 | Schweinefleisch | WEGENER u. BAGGESEN (1996) |
| 1994 | Spanien | 620 | Konditoreiwaren | FERNANDEZ DE LA HOZ ZEITLER et al. (1994) |
| 1994 | USA | 30 | Rindfleisch | ANON. (2006a) |
| 1996 | Japan | - | Hühnereier | OTOMO et al. (2007) |
| 1996 | Japan | - | unbekannt | MURAKAMI et al. (1999) |
| 1997 | USA | 42 | Luzerne-Sprossen | PEZZINO et al. (1998) |
| 1998 | USA | 91 | Reis-Dressing | KOHL u. FARLEY (2000) |
| 1998 | Deutschland | 72 | Hühnereier | DIECKMANN et al. (1999) |
| 1998 | Kanada | 99 | Futtermittel (Schwein) für Hund | CLARK et al. (2001) |
| 1999 | USA | 21 | Trägertum bei Geflügel | WILKINS et al. (2002) |
| 2001 | Frankreich | 45 | Brie Käse, Milch | ANON. (2001a) |
| 2002 | USA | 25 | Putenfleisch und Kartoffelsalat | ANON. (2002) |
| 2002 | Ungarn | 22 | unbekannt | NOEMI, NOGRADY, Budapest, 20.12.2008 |
| 2003 | Ungarn | 136 | unbekannt | NOEMI, NOGRADY, Budapest, 20.12.2008 |
| 2004 | Japan | 366 | unbekannt | TAGUCHI et al. (2006) |
| 2004 | Deutschland | 31 | Hackfleisch und Wurstwaren | JANSEN et al. (2005) |
| 2004 | Deutschland | 188 | Konditoreiwaren mit Eier | MILLER et al. (2008) |
| 2007 | Deutschland | 34 | Ausscheider | MILLER et al. (2008) |
| 2006 | Ungarn | 32 | unbekannt | NOEMI, NOGRADY, Budapest, 20.12.2008 |
| 2007 | Deutschland | 14 | Fleisch- und Wurstwaren | MILLER et al. (2008) |
| 2008 | Deutschland | 80 | Döner mit Geflügelfleisch | WOLFGANG, RABSCH, Wernigerode, 5.11.2008 |

* Anzahl der Betroffenen

2.6 Bedeutung von *S. Infantis* als Erreger bei verschiedenen Tierarten

2.6.1 Geflügel

In einem EU-weiten Monitoring wurden Legehennen und Masthähnchen auf Salmonellen untersucht. Von der EFSA (European Food Safety Authority) wurde eine Studie zur Prävalenz von Salmonellen in Legehennenbeständen durchgeführt. Es wurden EU-weit 4797

Betriebe analysiert und bewertet, von denen 30,7 % *Salmonella*-positiv gefunden wurden (ANON. 2007a). In einer weiteren Studie zur *Salmonella*-Prävalenz wurden 7120 der Masthähnchenbestände mit mindestens 5000 Tieren geprüft; hiervon sind 23,7 % als positiv identifiziert worden (ANON. 2007b). Die europaweiten Studien zeigten, dass *S. Infantis* in den Legehennen- und Masthähnchenbeständen der am zweithäufigsten auftretende Serovar ist (Tabelle 4). Das stärkste Vorkommen des Serovars *S. Infantis* zeigte sich bei Masthähnchen in Ungarn mit 87 %, in Polen mit 19 % und in Tschechien mit 13 % (ANON. 2007b).

In einer Pilotstudie wurde eine Erhebung der Prävalenz von Salmonellen in Masthähnchenbetrieben durchgeführt (BfR 2006). Dazu fand eine Analyse der Daten 378 Herden aus Betrieben mit mindestens 5000 Tieren statt. Die Studie zeigt, dass 17,5 % der Masthähnchenbetriebe aller Kategorien in Deutschland *Salmonella*-positiv sind (BfR 2006). Im Vergleich zu skandinavischen Ländern, in denen seit Jahren Bekämpfungsmaßnahmen gegen Salmonellen gezielt eingeleitet werden, liegt die Rate in Deutschland deutlich höher. In einer Pilotstudie zum Vorkommen von *Salmonella* spp. wurden insgesamt 563 Herden von Legehennen in Deutschland untersucht. 29 % der Legehennenbetriebe aller Kategorien in Deutschland waren *Salmonella*-positiv (BfR 2005). In Deutschland nahm *S. Infantis* in beiden Studien den vierten Platz mit ca. 4 % bzw. 9 % ein (Tabelle 4).

Tabelle 4: EFSA-Studien zum Vorkommen von *Salmonella* spp. in Legehennen- und Masthähnchenbeständen (ANON. 2007a; 2007b)

| Legehennen | | Masthähnchen | |
|------------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| EU-weit 2007 | Deutschland 2005 | EU-weit 2007 | Deutschland 2006 |
| <i>S. Enteritidis</i> 52,3 % | <i>S. Enteritidis</i> 64,4 % | <i>S. Enteritidis</i> 3,8 % | <i>S. 4, 12:d:-</i> 23,0 % |
| <i>S. Infantis</i> 8,4 % | <i>S. ssp. I R.*</i> 18,4 % | <i>S. Infantis</i> 22,0 % | <i>S. Paratyphi B</i> 15,6 % |
| <i>S. Typhimurium</i> 4,8 % | <i>S. Typhimurium</i> 5,1 % | <i>S. Mbandaka</i> 8,1 % | <i>S. Anatum</i> 14,7 % |
| <i>S. Mbandaka</i> 4,1 % | <i>S. Infantis</i> 3,9 % | <i>S. Hadar</i> 3,7 % | <i>S. Infantis</i> 8,9 % |
| <i>S. Livingstone</i> 2,7 % | <i>S. Livingstone</i> 1,8 % | <i>S. Typhimurium</i> 3,0 % | <i>S. Typhimurium</i> 8,4 % |

* I R., Rauh-Form

Außerdem wurde von der EFSA eine weitere Studie zur *Salmonella*-Prävalenz bei Masthähnchenfleisch durchgeführt. EU-weit wurde *S. Infantis* mit 55 % im Jahr 2006 als der häufigste Serovar nachgewiesen. In einigen Ländern wie z. B. Ungarn mit 96 %, Slowenien mit 55 % und Österreich mit 44 % gehörte er zu den wichtigsten Serovaren (ANON. 2007c). Bei Eiern und Eierprodukten nahm *S. Infantis* europa- sowie deutschlandweit den zweiten Platz (7 % bzw. 10 %) ein (ANON. 2009).

Aus der Literatur ist bekannt, dass *S. Infantis*-Infektionen bei Lebensmittel-liefernden Tieren in der Regel latent verlaufen. Allerdings konnten auch Erkrankungen mit klinischer Symptomatik beobachtet werden. So wurden z. B. seit 1971 zahlreiche *S. Infantis*-Epidemien bei Mastgeflügel in Finnland registriert (VASA 1984; NURMI et al. 1992).

Seit Ende der 90-er Jahre gehörte *S. Infantis* zu dem häufigsten Serovar bei Masthähnchen in Ungarn, wobei die Untersuchungen von 2004 bis 2007 bei Mensch und Masthähnchen zeigten, dass PT 213 und PT 217 nach LASZLO et al. (1988) dominierten. Außerdem besitzen diese Klone Resistenzen gegen Nalidixinsäure, Streptomycin, Sulfonamid und Tetrazyklin (NOGRADY et al. 2007, 2008). Die Durchseuchung der Geflügelbestände mit *S. Infantis* ist nicht nur ein Problem in Ungarn, sondern auch in Japan, Island, Frankreich, Niederlanden, Amerika, Australien, Türkei, Saudi-Arabien und Algerien (Al-NAKHLI et al. 1999; VAN DUIJKEREN et al. 2002; KUDAKA et al. 2006; ASAI et al. 2006, 2007; SEXTON et al. 2007; THORSTEINSDOTTIR et al. 2007; SHAHADA et al. 2008; CETINKAYA et al. 2008; ELGROUD et al. 2008; HEITHOFF et al. 2008; RIVOAL et al. 2009).

2.6.2 Schwein und Rind

Im Gegensatz zum Masthähnchen wurde *S. Infantis* beim Schwein selten nachgewiesen. Die Europäische Lebensmittelsicherheitsbehörde empfahl für eine EU-weite Datenerhebung zur Bestimmung der *Salmonella*-Prävalenz von Schlachtschweinen Lymphknoten und Oberflächentupfer als Probematerial. EU-weit nahm *S. Infantis* den achten Platz mit 1,9 % beim Lymphknoten-Nachweis und den dritten Platz mit 3,4 % bei Untersuchungen in Tupferproben von Schlachtkörpern ein (ANON. 2008a). Erstaunlich ist, dass *S. Infantis* sowohl bei Masthähnchen als auch bei Mastschweinen (zweiter Platz mit 21 %) häufig in Ungarn vorkam (ANON. 2009). In Deutschland wurde *S. Infantis* mit 2,5 % (fünfter Platz) im Jahr 2006 auch bei Lymphknoten-Material vom Mastschwein nachgewiesen (BfR 2008a). In Island und Japan lag der prozentuale Anteil des Serovars beim Mastschwein wesentlich höher als in Deutschland. In Island dominierte *S. Infantis* mit 63 % zwischen Isolaten von 2001 bis 2005 (THORSTEINSDOTTIR et al. 2007). In den japanischen Studien nahm *S. Infantis* den dritten Platz mit 16,4 % bzw. 13,5 % beim Mastschwein ein (FUTAGAWA-SAITO et al. 2008).

LINDQVIST et al. (1999) berichteten über einen Ausbruch durch *S. Infantis* in einem Rinderbetrieb im Jahr 1995, wobei 324 Kühe klinisch oder subklinisch krank waren. Der gleiche Stamm des PFGE-Typs wurde auch im Futtermittel nachgewiesen. Im Jahr 1995 wurden noch weitere 34 Milchviehbetriebe identifiziert, die auch dieses kontaminierte Futtermittel erworben hatten. Neben dem Ausbruchsklon wurden im Jahr 1995 noch andere PFGE-Typen gefunden. Die primäre Infektionsquelle konnte aber nicht ermittelt werden. LINDQVIST u. PELKONEN (2007) publizierten, dass Infektionen bei Rindern durch den endemischen *S. Infantis*-Serovar zwischen 1980 und 2003 vorkamen und im Jahr 2006 wieder aufgetaucht sind. Die PFGE-Analyse von Proben aus den 478 Milchviehbetrieben von 1985 bis 2005 zeigte, dass neben dem häufigsten PFGE-Typ 1 noch weitere 50 Klone aufgetreten sind. Auch die EFSA-Studie bestätigt, dass *S. Infantis* zu den häufigsten Serovaren bei Rindfleisch in Finnland gehörte (ANON. 2007c).

2.7 Typisierungsmethoden für *Salmonella* spp.

Die Typisierungsverfahren stellen eine wichtige Methode dar, um verschiedene Stämme eines bestimmten Taxongenoms zu unterscheiden (VAN BELKUM et al. 2007). Wesentliche Kriterien für die Wahl eines geeigneten Verfahrens sind die Typisierbarkeit der zu

untersuchenden Mikroorganismen mit der gewählten Methode, die Reproduzierbarkeit sowie deren Diskriminierungsfähigkeit (SCHWARZ et al. 2003; COOKE et al. 2007). Einige Methoden nach WICHELHAUS et al. (2000) und COOKE et al. (2007) sind in der Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5: Charakteristika der phänotypischen und genotypischen Methoden

| Methoden | Typisierbarkeit | Reproduzierbarkeit | Diskriminierungspotential | Vorteile | Nachteile |
|---------------------------------|-----------------|--------------------|--|--|--|
| Serotypie | Variabel | gut | mäßig | – relativ einfache Durchführung | – geringe Diskriminierung |
| Antimikrobielle Resistenzmuster | 100 % | gut | gering | – leichte Interpretation – standardisiertes Verfahren – einfache Durchführung – preiswert | – geringe Diskriminierung |
| Lysotypie | Variabel | gut bis mäßig | gut bis mäßig | – standardisiertes Verfahren | – aufwendige Durchführung – Referenzlaboren vorbehalten – Interpretation z. T. schwierig |
| PFGE | 100 % | gut | gut bis exzellent (Ausnahme: <i>S. Enteritidis</i>) | – Interpretation z. T. schwierig | – aufwendige Durchführung – kostenintensiv |
| MLVA | 100 % | gut | je nach Serovar bzw. LT | – einfache Interpretation | – nicht standardisiertes Verfahren |

Die Genotypisierung stützt sich direkt auf die Eigenschaften der chromosomalen und extrachromosomalen DNA. Auf diese Weise können Erreger über DNA-Polymorphismen differenziert werden. Genotypische Verfahren untersuchen die Ähnlichkeit des Genoms verschiedener Isolate und dienen dazu, identische, nahe verwandte oder nicht in Beziehung stehende Stämme zu identifizieren. Dies ist aus epidemiologischer Sicht sehr wichtig, um Zusammenhänge verschiedener Ausbrüche von Infektionskrankheiten aufzudecken. So kann z. B. das Vorliegen einer Infektionskette oder einer Lebensmittelvergiftung genau erfasst werden (WICHELHAUS et al. 2000). Derzeit eingesetzte Genotypisierungs-Methoden sind unter anderem die Plasmid-Analyse (VAN BELKUM et al. 2007), Restriktion-Fragmentlängen-Polymorphismus (RFLP) (VAN BELKUM et al. 2007), Ribotypisierung (SCHWARZ et al. 2003; VAN BELKUM et al. 2007), der amplifizierte Fragmentlängen-Polymorphismus (AFLP) (LINDSTEDT et al. 2000; VAN BELKUM et al. 2007), die

Pulsfeldgelelektrophorese (PFGE) (HUNTER et al. 2005) und Multiple Locus Variable-Number of Tandem-Repeat Analysis (MLVA) (LINDSTEDT et al. 2004). Obwohl genotypische Verfahren heute eine wichtige Rolle spielen, kann auf traditionell phänotypische Untersuchungsmethoden zur Identifizierung und Differenzierung von Mikroorganismen nicht verzichtet werden. Verfahren wie Serotypie, Bestimmung der Antibiotikaresistenz und der Lysotypie, dienen alle zur Erstellung eines komplexen epidemiologischen Markers der einzelnen *Salmonella*-Stämme (TSCHÄPE 1996; PRAGER u. TSCHÄPE 2003).

2.7.1 Serotypie

SCHWARZ et al. (2003) bezeichneten die Serotypie von Salmonellen als grundlegendes und wichtigstes phänotypisches Untersuchungsverfahren. Bei Salmonellen erfolgt eine serologische Typisierung in der Regel, wenn sich die Mikroorganismen als *Salmonella*-verdächtig erwiesen haben (polyvalent) oder zur weiteren Charakterisierung unterhalb der Spezies-Ebene. Die Serotypie kann als alleinige Untersuchungsmethode bei epidemiologischen Fragestellungen dann ausreichen, wenn es sich um exotische Serovare handelt.

2.7.2 Lysotypie

Die Lysotypie von *Salmonella* spp. wurde empirisch zur epidemiologischen Unterscheidung der Stämme von häufig vorkommender *Salmonella* Serovare entwickelt. Die Ära der Lysotypie hat im Jahr 1934 mit dem Phagensatz für den damals relevanten Erreger *S. Typhi* angefangen (MARCUSE 1934). Sie beruht auf der unterschiedlichen Empfindlichkeit verschiedener Stämme gegen unterschiedliche Bakteriophagen. Die Bakteriophagen wurden im Jahr 1915 von dem Engländer Frederick Twort entdeckt. Phagen sind Viren, die Bakterien als Wirtszelle befallen und entweder DNS oder RNS als genetisches Material enthalten können. Sie finden auch praktische Anwendung im Lebensmittelbereich bzw. sind Studienobjekte für grundlegende biologische Forschung (HUDSON et al. 2005; REES u. DODD 2006). Im Lebensmittelbereich werden Bakteriophagen z. B. zur Reduzierung des mit Listerien belasteten Geflügelfleisches in den USA eingesetzt (ANON. 2006b). In der Veterinärmedizin werden Versuche unternommen, Bakteriophagen zur Prophylaxe bzw. Therapie bei bakteriellen Infektionen (*Salmonellen*, *Campylobacter* und *Escherichia coli*) bei Rind, Schwein und Masthähnchen zu verwenden (ATTERBURY et al. 2007; JOHNSON et

al. 2008). In der Humanmedizin wird schon seit mehreren Jahren geforscht, den Bakteriophagen für die Behandlung einiger bakteriellen Infektionen wie z. B. *Burkholderia cepacia* einzusetzen (SEED u. DENNIS 2009).

Des Weiterens wird auf die Grundlage der Lysotypie detailliert eingegangen. Hauptprinzip der Lysotypie ist Lysierbarkeit der Stämme durch spezifische Phagen. Bei der Vermehrung von Phagen kann zwischen zwei verschiedenen Möglichkeiten einer Wirtsinfektion unterschieden werden, dem lytischen und dem lysogenen Vermehrungszyklus (KNIPPERS 2006). Die Phageninfektion und -vermehrung in der Wirtszelle kann hierbei in vier Schritte unterteilt werden (Abbildung 5).

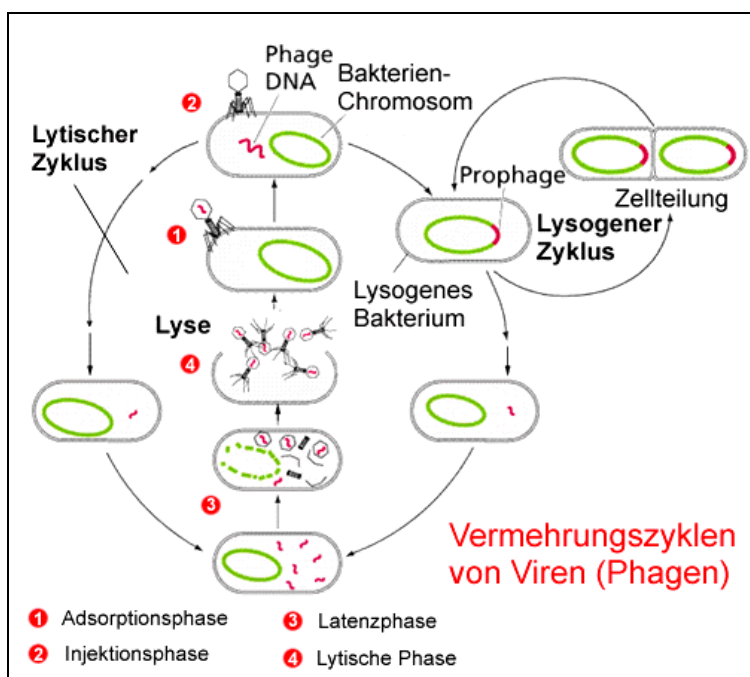


Abbildung 5: Vermehrungszyklen von Phagen (ANON. 2005a)

Der erste Schritt ist die Adsorption eines Bakteriophagen an bestimmte Rezeptorstrukturen auf der Zelloberfläche. Hierdurch wird die Wirtserkennung, d. h. auch die Spezifität der Phagen beim Befall ihrer Wirtszellen bedingt. Der zweite Schritt besteht in der Infektion des Phagengenoms in die Zelle. Nach einer Latenzperiode erfolgt die Expression der viralen Gene. Das Transkriptionsprogramm besteht dabei aus den drei Phasen der „frühen“, der „verzögert frühen“ und der „späten“ Gene. Während die Translationsprodukte der beiden ersten Phasen vorwiegend für regulatorische und suppressive Aufgaben wie die Inhibition des Wirtsmetabolismus und die Etablierung der weiteren Infektion verantwortlich sind, sorgen die späten Transkripte für die Morphogenese der neuen Phagenpartikel, d. h. für die Synthese

aller genetischen und strukturellen Bestandteile der Viren sowie deren Zusammenbau innerhalb der Wirtszelle. Bei dem lytischen Vermehrungszyklus erfolgt danach als Viertes die finale Freisetzung der reifen Phagennachkommen. Sie erfordert die enzymatische Lyse der Wirtszellwand von innen durch ein spezifisches, phagencodiertes „Phagenlysin“ oder „Endolysin“, welches am Ende der Latenzperiode exprimiert wird.

90% aller bekannten Phagen können über den beschriebenen lytischen Vermehrungszyklus hinaus auch einen lysogenen Zyklus einschlagen und werden als temperent bezeichnet (Abbildung 5). Sie haben nach Injektion ihrer DNS die Möglichkeit, ihr gesamtes Genom an einer bestimmten Stelle in die DNS ihres Wirtes als sog. „Prophagen“ zu integrieren (KNIPPERS 2006). Ihre Vermehrung erfolgt dann in einer mehr oder weniger stabilen Symbiose, die über Generationen andauern kann, simultan mit der Zellteilung des dann als „lysogen“ bezeichneten Wirtes. Die „Entscheidung“ temperenter Phagen zwischen Lyse oder Initiierung und Etablierung von Lysogenie stellt ein Gleichgewicht dar, welches u. a. in Abhängigkeit des physiologischen Status der Wirtszelle variiert und von einem komplexen Regulationmechanismus bestimmt wird. Eine „Reanimierung“ von inaktiven Prophagen in lysogenisierten Bakterien passiert selten spontan, häufig jedoch bei einer Verschlechterung der Lebensbedingungen oder des physiologischen Status der Zelle und kann auch extern durch Stimulation mit UV-Licht, Mitomycin C, mit Novobiocin oder β -Propiolacton induziert werden (KLAUS et al. 1992). Es erfolgt dabei die Excision der Phagen-DNS aus dem Wirtsgenom und eine Fortsetzung der Phageninfektion über einen lytischen Zyklus (KNIPPERS 2006).

Für die epidemiologisch wichtigen *Salmonella*-Serovare wurden verschiedene Bakteriophagen isoliert und in ausgewählten Typisierphagensätzen zusammengestellt. Da jeder Bakteriophage eines Typisiersatzes nur bestimmte Bakterienstämme lysiert, werden unter einer größeren Anzahl der zu untersuchenden Stämme verschiedene Lysisbilder gefunden, anhand derer sie bestimmten Lysotypen zugeordnet werden können (WICHELHAUS et al. 2000; RABSCH 2007; VAN BELKUM et al. 2007). Der Lysotyp kann als ein epidemiologischer Marker angesehen werden. TSCHÄPE (1996) schrieb, dass die Lysotypie eine Labormethode von großer infektionsepidemiologischer Bedeutung ist. Unter Berücksichtigung der Erfahrungen von Laboratorien anderer Länder wurden verbindliche internationale Basissätze für *S. Typhimurium* und *S. Enteritidis* zusammengestellt und standardisiert (LILLENGEN. 1948; FELIX 1956; CALLOW 1959; ANDERSON et al. 1977; WARD et al. 1987). Mittels Typisierphagen können bei *S. Typhimurium* ca. 300, bei *S. Enteritidis* ca. 80 Lysotypen unterschieden werden. Auch für

andere *Salmonella*-Serovare wurden Lysotypie-Schemata erfolgreich etabliert bzw. angewandt, z. B. für *S. Heidelberg* (IBRAHIM 1969; DEMCZUK et al. 2003), *S. Hadar* (BOUZOUBAA et al. 1986; VALDEZATE et al. 2000), *S. Paratyphi B* (LALKO 1965), *S. Virchow* (VELAUDAPILLAI. 1959; CHAMBERS et al. 1987) und *S. Virchow*, *S. Manhattan*, *S. Thompson*, *S. Oranienburg* sowie *S. Bareilly* (LASZLO u. CSORIAN 1988). Für bestimmte, häufig vorkommende *Salmonella*-Serovare, wie z. B. *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* und *S. Hadar*, hat sich die Lysotypie für die epidemiologische Überwachung und Kontrolle dieser pathogenen Erreger bewährt (TSCHÄPE et al. 1999; MICHAEL et al. 2006a; MICHAEL et al. 2006b; VALDEZATE et al. 2007; ASAI et al. 2008; COLLARD et al. 2008; KAFATOS et al. 2009). Mit Hilfe der Lysotypie wurden in den letzten vier Jahren *Salmonella*-Ausbrüche aufgeklärt, die durch kontaminierte pflanzliche Lebensmittel wie Tee und Schokolade verursacht wurden (PRAGER u. TSCHÄPE 2003; CROOK et al. 2003; RABSCH et al. 2005). Dabei ist zu beachten, dass 85 % aller Enteritissalmonellosen in Deutschland als sporadische Fälle zu bezeichnen sind. Aus epidemiologischer Sicht ist es daher wichtig, nicht nur die an spektakulären Ausbrüchen beteiligten Salmonellen zu untersuchen und zu typisieren, sondern auch die Typisierung der sporadischen *Salmonella*-Isolate zu veranlassen, um somit ihre epidemiologische Zuordnung in das vorherrschende Gesamtgeschehen zu ermöglichen (TSCHÄPE u. BOCKEMÜHL 2002). Die Vorteile der Lysotypie sind Schnelligkeit und geringere Kosten (Tabelle 5). Allerdings wird eine spezielle Expertise zur Interpretation der Lysismuster benötigt sowie eine strenge Qualitätskontrolle der biologischen Reagenzien (SCHWARZ et al. 2003; RABSCH 2007).

2.7.3 Antibiotikaresistenz

Ein wesentlicher Bestandteil der epidemiologischen Überwachung von *Salmonella* spp. ist die Überwachung der Resistenzentwicklung gegen verschiedene Antibiotika und Chemotherapeutika (THRELFALL et al. 2003). Die dabei erhaltenen Ergebnisse sind jedoch keine Grundlage für die Therapie, da die Enteritis-Salmonellose in der Regel nicht therapiert wird, sondern das Antibiogramm dient als epidemiologischer Marker. Obwohl die Diskriminationsfähigkeit der Methode gering ist, sind die Ergebnisse im Kontext einer Ausbruchssituation für erste Falldefinitionen nützlich (AMMON et al. 2001).

2.7.4 Makrorestriktionsanalyse

Die Bestimmung der Makrorestriktionsmuster des *Salmonella*-Genoms in der Pulsfeld-Gelelektrophorese ist eine standardisierte Methode, die nach dem PulseNet CDC-Protokoll 2000 durchgeführt wird (HUNTER et al. 2005). Bei dieser Methode wird das gesamte verdaute Genom (DNA) in der Pulsfeld-Gelelektrophorese aufgetrennt. Die Anwendung der PFGE-Analyse ermöglicht den Daten-Austausch zwischen nationalen und internationalen Netzwerken (z. B. PulseNet Europa, USA, SalmGene, ECDC). Mit Hilfe der PFGE konnten beispielsweise Ausbrüche durch *S. Brandenburg* (OPPERMANN et al. 2004), *S. Panama* (BURCKHARDT u. FRANK 2008), *S. Typhimurium* DT 104 (LUZZI et al. 2007) und *S. Weltevreden* (EMBERLAND et al. 2007) aufgeklärt werden. Die PFGE dient zur Überwachung des epidemischen Prozesses (PRAGER u. TSCHÄPE 2003). Die Vor- und Nachteile der PFGE-Analyse sind in der Tabelle 5 zusammengefasst. Bei der Auswertung und Interpretation einiger PFGE-Muster können Schwierigkeiten auftreten. Hierbei ist zu bedenken, dass auch der Genotyp eines Bakteriums keine absolute Stabilität besitzt (VAN BELKUM et al. 2001). Die genetischen Veränderungen in der chromosomalen DNA werden durch die chromosomale Integration von temperenten Phagen, Insertionselementen, Plasmiden, Transposons und Integrons/Genkassetten, aber auch den Erwerb/Verlust oder die Transposition entsprechender Elemente hervorgerufen (VAN BELKUM et al. 2001).

2.7.5 Multiple-Locus Variable-Number of Tandem-Repeat Analysis

Die Variable-Number Tandem-Repeat Loci sind Regionen mit sich wiederholenden Sequenzmotiven und stellen aufgrund ihres Diskriminierungsvermögens bedeutende molekular-epidemiologische Marker dar, welche bei der Subtypisierung zahlreicher Mikroorganismen Verwendung finden (LINDSTEDT et al. 2005; VAN BELKUM. 2007). Die MLVA-Schemen wurden für diverse *Salmonella*-Serovare wie *S. Typhi* und *S. Paratyphi* (LIU et al. 2003; RAMISSE et al. 2004; LINDSTEDT et al. 2005), *S. Typhimurium* (LINDSTEDT et al. 2003, 2004) *S. Enteritidis* (CHO et al. 2007; BERANEK et al. 2008) sowie *S. Infantis* (ROSS u. HEUZENROEDER 2008) entwickelt.

Bei dieser Methode wird in mehreren DNA-Loci die Anzahl von DNA-Repeats mittels PCR amplifiziert und es werden die Größen der PCR-Produkte bestimmt. Bei *Salmonella* wird die Diversität von fünf bis elf auf dem Chromosom verteilten VNTR (Variable-Number Tandem-Repeat)-Loci analysiert. Die Anzahl der Repeats in den DNA-Loci wird als MLVA-Profil

zusammengefasst (LINDSTEDT et al. 2004, 2005; MALORNY et al. 2008; ERHARD, TIETZE, Wernigerode, 20.07.08). Die Bewertung der MLVA-Verfahren ist in der Tabelle 5 zu finden. Als Folge der Sequenzhomologie der Wiederholungseinheiten untereinander kann es aufgrund intramolekularer Fehlpaarungen (slipped-strand mispairing - SSM) während der Replikation oder Reparaturprozesse der DNA zur Schleifenbildung im Matrizen- oder Sinnstrang und damit verbunden zu Insertions- und Deletionsmutationen einzelner oder mehrerer Wiederholungseinheiten kommen (LEVINSON u. GUTMAN 1987; VOGLER et al. 2006, 2007). Dieser Mechanismus erklärt den variablen Charakter der Tandem-Repeat in den Loci.

2.8 Gesetzliche Grundlagen zur Bekämpfung der Salmonellose

Da die Salmonellose zu den Zoonosen gehört, unterliegt sie einer gesetzlichen Anzeige- und Meldepflicht. Die gesetzliche Erfassung in Deutschland basiert auf dem Infektionsschutz- sowie auf dem Tierseuchengesetz. Das Infektionsschutzgesetz (IfSG) vom 20.07.2000 dient dazu, übertragbare Krankheiten beim Menschen vorzubeugen (ANON. 2000). Die gem. §8 IfSG zur Meldung verpflichteten Personen informieren das zuständige Gesundheitsamt über Erkrankungen, Todesfälle oder Nachweise von Erregern. Von dort werden die Informationen über die zuständige Landesbehörde an das RKI übermittelt (§11 Abs.1).

Die zwei wichtigsten Zoonosen-Rechtsnormen wurden am 17.11.2003 von der Europäischen Kommission erlassen: die EU-Richtlinie zum Salmonellenmonitoring 2003/99/EG (ANON. 2003a) und die EU-Verordnung (EG) 2160/2003 (ANON. 2003b). Die Richtlinie 2003/99/EG schreibt ein Monitoring der Zoonosen vor, in dem jedes Land eine Basislinie für alle Nutztierspezies etablieren muss. Die Verordnung (EG) Nr. 2160/2003 legt Ziele für die Senkung der Prävalenz bestimmter Zoonosen auf der Ebene der Primärproduktion (*Gallus gallus* Zuchtherden, Legehennen, Masthähnchen, Puten sowie Zuchtschweine und Schlachtschweine) und ggf. auf anderen Stufen der Lebensmittelkette fest, genehmigt spezifische Bekämpfungsprogramme und regelt die Vorschriften für bestimmte Bekämpfungsmethoden und den innergemeinschaftlichen Handel mit bestimmten Tieren und Erzeugnissen tierischen Ursprungs sowie deren Einfuhr aus Drittländern. Weitere Verordnungen wie die Verordnung (EG) Nr. 852/2004 des Europäischen Parlamentes und des Rates über Lebensmittelhygiene, die Verordnung (EG) Nr. 853/2004 mit speziellen Hygienevorschriften für Lebensmittel tierischen Ursprungs und die Verordnung (EG) Nr. 854/2004 mit besonderen Verfahrensvorschriften für die amtliche Überwachung von zum

menschlichen Verzehr bestimmten Erzeugnissen tierischen Ursprungs sollen einen weiteren Beitrag zum Verbraucherschutz leisten (ANON. 2004a; 2004b; 2004c).

Bestimmte Tierarten wie Rinder, Hühner oder Schweine sind größtenteils die Ursachen für *Salmonella*-Infektionen des Menschen. Aufgrund dessen wurden für diese Tierarten spezielle Salmonellen-Verordnungen (VO) erlassen: die Rinder-Salmonellose-VO (ANON. 1991), die Hühner-Salmonellen-VO (ANON. 2001b) und die Schweine-Salmonellen-VO (ANON. 2007d). Die epidemiologischen Daten aus den EFSA-Studien unterstreichen die Notwendigkeit der Bekämpfung von Salmonellen in Zuchtgeflügelbeständen und Aufzuchttherden für die Legehennenhaltung sowie in Mastgeflügelbeständen. Das deutsche Bekämpfungsprogramm umfasst alle Ebenen der Primärproduktion wie z. B. die Futtermittelherstellung, die Geflügelzucht und Geflügelaufzucht für die Legehennenhaltung sowie Maßnahmen für die Schlachtung von Zucht- und Aufzuchtgehühnern und die Nutzung von Eiern aus der Geflügelzucht.

Das Ziel ist eine stetige Reduktion der *Salmonella*-Prävalenz auf unter 1 %, wie sie in der Verordnung zur Bekämpfung von Salmonellen und bestimmten anderen, durch Lebensmittel übertragbaren Zoonoseerregern (EG 2160/2003) vorgeschrieben ist. Die einzelnen Maßnahmen und Schritte, um dieses Ziel zu erreichen, wie Pflichtimpfungen, Untersuchungsintervalle auf Salmonellen, Probenentnahme, Bekämpfungsmaßnahmen und Vermarktungsvorschriften sind in den folgenden Verordnungen festgelegt.

- Verordnung (EG) 1003/2005 zur Senkung der Prävalenz bestimmter *Salmonella*-Serovare in Zuchtherden der Spezies *Gallus gallus* (ANON. 2005b).
- Verordnung (EG) Nr. 1168/2006 zur Eindämmung der Prävalenz bestimmter Salmonellen-Serotypen bei Legehennen der Spezies *Gallus gallus* (ANON. 2006c).
- Verordnung (EG) Nr. 1177/2006 zu Bestimmungen über die Anwendung von spezifischen Bekämpfungsmethoden im Rahmen der nationalen Programme zur Bekämpfung von Salmonellen bei Geflügel (ANON. 2006d).
- Verordnung (EG) Nr. 646/2007 dient zur Reduzierung der Prävalenz von *S. Enteritidis* und *S. Typhimurium* bei Masthähnchen der Spezies *Gallus gallus* (ANON. 2007e).
- Verordnung (EG) Nr. 1237/2007 zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 2160/2003 sowie der Entscheidung 2006/696/EG hinsichtlich des Inverkehrbringens von Eiern aus mit Salmonellen infizierten Legehennenherden (ANON. 2007f).

- Entscheidung (EG) Nr. 2007/848 zur Genehmigung bestimmter nationaler Programme zur Salmonellenbekämpfung bei Legehennenbeständen der Spezies *Gallus gallus* (ANON. 2007g).
- Entscheidung (EG) Nr. 815/2008 zur nationalen Salmonellenbekämpfung in Masthähnchenbeständen der Spezies *Gallus gallus* (ANON. 2008c).

3 Material und Methoden

3.1 Material

3.1.1 *Salmonella* Infantis-Stämme

Alle in der Arbeit verwendeten Stämme wurden aus der Stammsammlung des Nationalen Referenzzentrums (NRZ) für Salmonellen und andere bakterielle Enteritiserreger des Robert Koch-Instituts, Bereich Wernigerode entnommen. Die Isolate sind mit einer Datenbanknummer versehen (Jahr mit laufender Eingangsnummer). Sie sind sowohl nach verschiedenen Quellen (Mensch, Tier-Isolate, Lebensmittel, Futtermittel) als auch nach dem Herkunftsland ausgewählt worden. Insgesamt wurden 1008 *S. Infantis*-Stämme typisiert, die im Zeitraum 1973 - 2009 an das NRZ eingesandt wurden. Die Tabelle 6 beinhaltet eine Übersicht aller verwendeten *S. Infantis*-Stämme dieser Arbeit (Anhang).

3.1.2 Bakteriophagen

Die Tabelle 7 gibt einen Überblick zu den in der Arbeit isolierten und verwendeten Bakteriophagen. Die Phagenlysate wurden unter sterilen Bedingungen in Phagenbouillon (pH 7,4) bei 4 °C gelagert.

Tabelle 7: *S. Infantis*-Testphagen

| Phage | Isolierungsstamm | Anreicherungsstamm | RTD ¹ | Auswahl ² |
|-------|------------------|--------------------|------------------|----------------------|
| Φ9 | 74-00161 | 74-00477 | 10 ⁻³ | - |
| Φ10 | 74-00448 | 74-00477 | 10 ⁻³ | + |
| Φ13 | 74-00674 | 74-00477 | 10 ⁻³ | + |
| Φ17 | 74-01065 | 74-00477 | 10 ⁻¹ | - |
| Φ20 | 74-01366 | 00-10849 | 10 ⁻³ | - |
| Φ22 | 74-01637 | 74-00477 | 10 ⁻¹ | + |
| Φ24 | 74-01662 | 74-00477 | 10 ⁻³ | - |
| Φ28 | 74-02051 | 02-05401-2 | 10 ⁻¹ | + |
| Φ29 | 74-02056 | 74-00448 | 10 ⁻¹ | + |
| Φ30 | 74-02107 | 00-10849 | 10 ⁻³ | - |
| Φ31 | 74-02108 | 74-00477 | 10 ⁻³ | - |
| Φ33 | 74-02118 | 00-10849 | 10 ⁻³ | - |
| Φ36 | 74-02176 | 00-10849 | 10 ⁻¹ | + |
| Φ40 | 75-00152 | 00-10849 | 10 ⁻³ | - |
| Φ44 | 75-00384 | 74-00477 | 10 ⁻¹ | - |
| Φ46 | 75-00534 | 74-00477 | 10 ⁻³ | + |
| Φ47 | 75-00535b | 00-10849 | 10 ⁻³ | - |
| Φ48/1 | 75-00545 | 74-00477 | 10 ⁻³ | + |

| Phage | Isolierungsstamm | Anreicherungsstamm | RTD ¹ | Auswahl ² |
|--------|------------------|--------------------|------------------|----------------------|
| Φ52 | 99-05309 | 74-00477 | 10 ⁻³ | + |
| Φ64 | 00-10849 | 74-00477 | 10 ⁻³ | - |
| Φ69 | 01-09038 | 00-10849 | 10 ⁻⁴ | + |
| Φ84/1 | 03-03044 | 74-00477 | 10 ⁻³ | + |
| Φ92 | 04-00089 | 74-00477 | 10 ⁻³ | - |
| Φ99 | 04-03316 | 02-05401-2 | 10 ⁻³ | + |
| Φ109 | 04-08504 | 74-00477 | 10 ⁻³ | - |
| Φ110/1 | 04-08506 | 74-00477 | 10 ⁻³ | + |
| Φ117 | 05-00102 | 74-00477 | 10 ⁻¹ | - |
| Φ119 | 05-00895 | 74-00477 | 10 ⁻³ | + |
| Φ8 | Abwasser | 75-00376 | 10 ⁻³ | - |
| Φ23 | Abwasser | 75-00376 | 10 ⁻³ | - |
| Φ14 | Abwasser | 02-01782 | 10 ⁻¹ | - |
| Φ22 | Abwasser | 02-01782 | 10 ⁻¹ | - |
| Φ5Bay | 06-01099 | 75-00536 | 10 ⁻¹ | - |
| Φ2Bay | 06-01099 | 06-01099 | 10 ⁻¹ | - |
| Φ1Bay | 04-03355 | 04-03355 | 10 ⁻¹ | - |
| Φ4Bay | 04-03355 | 74-00477 | 10 ⁻¹ | - |
| Φ84/2 | 03-00044 | 74-00111 | 10 ⁻² | + |
| Φ48/2 | 75-00545 | 97-04211 | 10 ⁻³ | + |
| Φ110/2 | 04-08506 | 00-01752 | 10 ⁻¹ | + |

¹ Routine-Test-Verdünnung

² endgültige Auswahl der Phagen für das Lysotypieschema

3.1.3 Software

In der Tabelle 8 sind die verwendete Software und deren Bezugsquellen aufgelistet.

Tabelle 8: Auflistung der in der Arbeit verwendeten wissenschaftlichen Software und Angabe der Verwendung und Bezugsquelle

| Bezeichnung | Verwendung | Herkunft / Bezugsquelle |
|--------------------------------|--|---|
| LaserGene 6.1 | Erstellen und Assemblieren von Sequenzen | DNASTAR Inc., Lizenz Robert Koch-Institut |
| NCBI BLAST | paarweise und multiple | http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST |
| Clustal W | Sequenzvergleiche | http://www.ebi.ac.uk/clustalw |
| Primer3 | Desing von Oligonukleotiden | http://frode.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3_www.cgi |
| BioNumerics Software 4.0 | Interpretieren von Gelen | Applied Maths, Sint Martens-Latem, Belgium |
| Quantity One® v4.5 | Dokumentation und Verarbeitung von Spectrophotometer Daten | Bio-Rad Laboratories Headquarters 1000 Alfred Nobel Drive Hercules, CA 94547 |
| Ridom EpiCompare Software- 1.0 | Statistische Auswertung molekular-epidemiologischer Daten | http://www.ridom.de/epicompare/index.shtml |

3.1.4 Kulturmedien

Endo-Agar (ENDO 1904) ist ein mäßig selektiver Nährboden, mit dem sich Lactose-spaltende und Lactose-nicht-spaltende Kolonien unterscheiden lassen. Als Indikator wird saures Fuchsin verwendet (Fuchsinglanz bei stark positiven Kolonien). Das Medium diente als Referenzmedium für die Kontrolle auf Reinkulturen bei *Salmonella*-Spezies und wurde für die Anzucht von Salmonellen verwendet. Hausendo* ist eine im Labor für Nährmedien des RKI Wernigerode entwickelte Rezeptur. Dieser Nährboden wurde kommerziell erworben.

*Zusammensetzung 10,0 g Endo-Agar (Sifin)
Hausendo-Agar: 24,0 g Nähragar (Sifin)
 3,0 g Fleischextrakt
 3,0 g Hefeextrakt
 6,0 g Lactose
 ad 1 liter Aqua dest.
 pH 7,5 +/- 0,2

Nährbouillon wurde für die Salmonellen-Anreicherung und -Lysotypie verwendet.

Zusammensetzung: 8 g Nutrient Broth (Difco)
 8,5 g NaCl
 ad 1 liter Aqua dest.
 pH 7,5 +/-0,2

Oxoid-3-Nährboden diente zur Bestimmung des Phagentiters und der Lysotypie von *S. Infantis*-Stämmen.

Zusammensetzung: 20,0 g Nutrient Broth (Difco)
 8,5 g NaCl (Fluca)
 13,0 g Agar Nr. 3
 2,0 g Hefeextrakt (Difco)
 1,0 g Caseinpepton pankr. (Merck)
 2,0 g Bacto Pepton
 ad 1 liter Aqua dest.
 pH 7,4 (beim Ansetzen 7,6 – 7,7)
 1 ml 1M MgCl₂
 1 ml 0,1 M CaCl₂

5 ml Spurenelemente (Schlösser)

Wasserblau-Glucose-Hefeextrakt-Nährboden (BRESCH 1952) wurde zur Bestimmung des Phagentiters und der Lysotypie von *S. Infantis* eingesetzt. Lysogene Bakteriophagen verursachen beim Austritt aus der Wirtszelle eine Zelllyse. Dadurch werden Zellbestandteile aus den Bakterien freigesetzt. Deren saure Komponenten reagieren mit dem zugesetzten Wasserblau. So konnten dunkelblaue Plaques (Zelllyse) auf hellblauem Hintergrund besser erkannt werden.

Zusammensetzung: 5,0 g Hefeextrakt (Difco)
1,0 g Fleischextrakt (Difco)
5,0 g Caseinpepton (Difco)
5,0 g NaCl
5,0 g Saures Caseinhydrolysat (Difco)
17,0 g Agar (Difco)
ad 1 liter Aqua dest.

Sterilisation wie 12 ml Wasserblaulösung (2 %), 24 ml Glucoselösung (50 %)
oben angeführt: pH 7,3 +/- 0,1

Weichagar wurde für die Phagenvermehrung verwendet.

Zusammensetzung: 25,0 g Luria Broth
4,5 g Agar (Sifin)
pH 7,3 +/- 0,2
ad 1 liter Aqua dest.

Schwärmagar im U-Röhrchen (GARD 1938): Das Schwärmen bei Salmonellen wird zur Ermittlung der H-Antigene angewandt. Der Schwärmagar ist eine im Labor für Nährmedien des RKI Wernigerode entwickelte Rezeptur.

Zusammensetzung: 20,0 g Proteose Pepton
1,0 g Glucose
5,0 g NaCl
2,0 g Na₂HPO₄ x 2H₂O
3,0 g Hefeextrakt (Difco)
3,0 g Fleischextrakt(Difco)

8,0 g Agar (Difco)
ad 1 liter Aqua dest.
pH 7,3 +/-0,2

Hefeextrakt + Nähragar-Medium diente für die Phagenvermehrung zur Lysotypie.

Zusammensetzung: 35,0 g Nähragar I (Sifin)
2,0 g Hefeextrakt
ad 1 liter Aqua dest.
pH 7,3 +/-0,2

Phagenbouillon (KIESEWALTER u. SELTMANN 1968) diente zur Verdünnung und Aufbewahrung von Bakteriophagen.

Zusammensetzung: 20,0 g Nutrient Broth
7,5 g NaCl
ad 1 Liter Aqua dest.
pH 7,3 +/-0,2

Tryptic-Soy-Agar wurde für die Anreicherung von Salmonellen für die Pulsfeld-Gelelektrophorese verwendet. Dieser Nährboden wurde auch kommerziell erworben.

Zusammensetzung: 40,0 g Trockenmedium (BD)
15,0 g Caseinpepton
5,0 g Soja-Pepton
5,0 g NaCl
15,0 g Agar
ad 1 liter Aqua dest.
pH 7,3 +/-0,1

IsoSensitest-Bouillon fand für die Verdünnung der Antibiotika für die Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MHK-Test) bei Salmonellen Anwendung.

Zusammensetzung: 23,4 g IsoSensitest-Bouillon
ad 1 liter Aqua dest.
pH 7,4

3.1.5 Puffer- und Stammlösungen

1 M Tris-HCl (pH 8,0)

| | |
|-----------------|--------------|
| Tris | 121,1 g |
| Aqua bidest | 650 - 700 ml |
| 6 N HCl | 80 ml |
| Aqua bidest. ad | 1000,0 ml |

0,5 M EDTA (pH 8,0)

| | |
|--|---------|
| Na ₂ EDTA · 2H ₂ O | 93,05 g |
| Aqua bidest | 400 ml |
| 10 N NaOH | 25 ml |
| Aqua bidest. | 500 ml |

10 N NaOH

| | |
|-----------------|--------|
| NaOH | 80 g |
| Aqua bidest. | 160 ml |
| Aqua bidest. ad | 200 ml |

1 N NaOH-Lösung

| | |
|--------------|--------|
| 10 N NaOH | 50 ml |
| Aqua bidest. | 450 ml |

10 % Sarcosyl-Lösung (N-Laurylsarcosin, Natriumsalz)

| | |
|--------------|-------|
| Sarcosyl | 10 g |
| Aqua bidest. | 90 ml |

20 % Sodium-Dodecyl-Sulfat-Lösung (SDS)

| | |
|--------------|-------|
| SDS | 20 g |
| Aqua bidest. | 80 ml |

20 mg/ml Proteinase K-Stammlösung

| | |
|--------------|----------|
| Proteinase | K 100 mg |
| Aqua bidest. | 5 ml |

bei -20°C gelagert

5 x TBE-Puffer für PFGE

Material und Methoden

| | |
|-----------------|-------------------------|
| Tris | 54,4 g (M=121,14 g/Mol) |
| Borsäure | 27,3 g (M=61,83 g/Mol) |
| EDTA | 2,9 g (M=292,3 g/Mol) |
| Aqua bidest. ad | 1000,0 ml |

10 x TBE-Puffer für PFGE (pH 8,0)

| | |
|-----------------|---------------------|
| Tris | 108 g (0,9 M) |
| Borsäure | 55 g (0,9 M) |
| EDTA | 5,8 g (freie Säure) |
| Aqua bidest. ad | 1000,0 ml |

1 % Thioharnstoff-Stammlösung

| | |
|---------------|---|
| Thioharnstoff | 1 g (M=76,12 g/Mol)/100 ml Lösung (davon werden dem Gel und dem Laufpuffer (100 µM) zugesetzt) 80 ml Gel = 61 µl 100 ml Gel = 76 µl 120 ml Gel = 91 µl 2,0 liter Laufpuffer = 1,5 ml 2,5 liter Laufpuffer = 1,9 ml |
|---------------|---|

5 x TBE-Puffer für PCR

| | |
|-----------------|-----------|
| Tris | 54,5 g |
| Borsäure | 27,5 g |
| EDTA | 3,7 g |
| Aqua bidest. ad | 1000,0 ml |

0,7 x TBE-Puffer für PCR (pH 8,3)

| | |
|-----------------------------|-----------|
| 5 x TBP-Puffer | 130 ml |
| 1-%ige Ethidiumbromidlösung | 50 µl |
| Aqua bidest. ad | 1000,0 ml |

DNA-Farbelösung „Bluemix“

| | |
|-----------------------|--------|
| Bromphenol Blue (BPB) | 125 mg |
| Ficoll (Sacharose) | 450 ml |

3.1.6 Enzyme

| | |
|---|----------------------|
| Restriktionsenzym <i>Xba</i> I: TCT AGA, (40 U/µl): | Roche, Penzberg |
| HotStarTaq-Polymerase Gold Master Mix Kit (5 U/µl): | QIAGEN, Hilden |
| Proteinase K: | Boehringer, Mannheim |

3.1.7 Reagenzien und Chemikalien

Tabelle 9: Auflistung der in der Arbeit verwendeten Reagenzien und Chemikalien

| Reagenzien und Chemikalien | Hersteller |
|--|----------------------------|
| Tris (hydroxymethyl)-aminomethan | Merck, Darmstadt |
| Tris PUFFERAN® | Carl Roth, Karlsruhe |
| Borsäure | Merck, Darmstadt |
| EDTA Ethylendiamintetraessigsäure | Serva, Heidelberg |
| EDTA-Na | Boehringer, Mannheim |
| EDTA Dinatriumsalz Dihydrat (Titrierkomplex III) | Carl Roth, Karlsruhe |
| SDS = Sodiumdodecylsulfat | Boehringer, Mannheim |
| NaOH | Merck, Darmstadt |
| NaCl | Fluca, Schweiz |
| N-Laurylsarcosine-sodium-salt 35 % | Serva, Heidelberg |
| Thioharnstoff | Merck, Darmstadt |
| Ethidiumbromid 1mg/ml | Carl Roth, Karlsruhe |
| Chloroform | Merk, Darmstadt |
| Mitomycin C | Sigma-Aldrich, Taufkirchen |
| Qiagen PCR Purification Kit | QIAGEN, Hilden |
| BigDye® 3.1 Terminator Sequencing Kit | QIAGEN, Hilden |
| Agarose Type II | Sigma-Aldrich, Taufkirchen |
| InCert Agarose | FMC, Bio Products |
| SeaKem Gold Agarose | FMC, Bio Products 50150 |
| Bromphenol Blue Na-Salt | Serva, Heidelberg |
| Ficoll® 400 | Carl Roth, Karlsruhe |
| Trypticase™ Soy Agar | BBL, USA |
| Luria Broth | LPHA, Biosciences |
| IsoSensitest Bouillon | Oxoid, England |

Die Nährmedien wurden von der Firma Difco, Detroit, USA und der Firma SIFIN, Berlin, bezogen. Alle anderen, hier nicht aufgeführten Feinchemikalien, stammten von den Firmen Merck, Darmstadt; Oxoid, England und Roth, Karlsruhe.

3.1.8 Verwendete Antibiotika

Tabelle 10: Auflistung der in der Arbeit verwendeten Antibiotika

| Antibiotikum (verw. Testkonzentrationen in mg/l) | Hersteller |
|--|----------------------------|
| Ampicillin (16-1) | Sigma-Aldrich, Taufkirchen |
| Mezlocillin (32-2) | Bayer, Leverkusen |

| Antibiotikum (verw. Testkonzentrationen in mg/l) | Hersteller |
|--|----------------------------|
| Cefotiam (8-0,5) | Grünenthal GmbH, Stolberg |
| Cefotaxim (16-1) | Sanofi-Aventis, Frankfurt |
| Ceftazidim (32-2) | GlaxoSmithKline, Dresden |
| Cefoxitin (32-0,5) | Sigma-Aldrich, Taufkirchen |
| Gentamicin (8-0,5) | Sigma-Aldrich, Taufkirchen |
| Kanamycin (32-2) | Sigma-Aldrich, Taufkirchen |
| Amikacin (32-2) | Sigma-Aldrich, Taufkirchen |
| Streptomycin (64-4) | Sigma-Aldrich, Taufkirchen |
| Nalidixinsäure (32-4) | Sigma-Aldrich, Taufkirchen |
| Chloramphenicol (32-4) | Sigma-Aldrich, Taufkirchen |
| Oxytetracyclin (8-0,5) | Sigma-Aldrich, Taufkirchen |
| Ciprofloxacin (2-0,063) | Fluka, Taufkirchen |
| Sulbactam (32-2) | Sanofi-Aventis, Frankfurt |
| Sulfamerazin (512-32) | Sigma-Aldrich, Taufkirchen |
| Trimethoprim (128-4) | Sigma-Aldrich, Taufkirchen |

Alle Antibiotika wurden als Trockensubstanz bei 4 °C (Ceftazidim bei -20 °C) aufbewahrt. Für die jeweiligen Versuche wurden zuvor Stammlösungen frisch hergestellt.

3.1.9 Sonstiges Material

Tabelle 11: In der Arbeit verwendetes sonstiges Material

| Material | Hersteller |
|---|-----------------------|
| Schraubkappenflaschen 50-2000 ml | Duran, Mainz |
| Falcon-Klare-Polystyrol Röhrchen 12x75 mm, 2027 | Merck, Darmstadt |
| Falcon-Konische-Röhrchen 2070 | Merck, Darmstadt |
| Grüne Filterkappen | Biorad, München |
| Tubes 15 ml | Falcon, USA |
| Kryoröhrchen | NalGene, USA |
| Einmal Impfösen | VWR, Darmstadt |
| Objektträger (ca. 78 x 26mm) | Carl Roth, Karlsruhe |
| Plug Molds zum Blöckchengießen | Biorad, München |
| Omnifix 2 ml, 5 ml, 10 ml | B/Braun, Melsungen AG |
| Minisart plus, rote Filter (Porengröße 1,20 µm) | Sartorius, Hannover |
| Minisart, gelbe Filter (Porengröße 0,45 µm) | Sartorius, Hannover |
| blaue Filter (Porengröße 0,20 µm) | Disposable, Hannover |
| Eppendorf Röhrchen 0,2 ml, 1,5 ml und 2 ml | Eppendorf, Hamburg |

Eppendorf-Pipetten und -Spitzen in verschiedenen Größen (2-20, 10-100, 20-200, 100-1000, 500-5000 µl).

3.1.10 Oligonukleotide

Die Sequenzen für die Oligonukleotidprimer wurden mithilfe des Programms Blast der Genbank NCBI auf ihre Sequenzhomologie zum *sopE* Gen bei dem *S. Infantis*-Serovar entnommen. Aus diesen Homologiebereichen wurden mit Hilfe des Programms *Primer3* Oligonukleotide abgeleitet. Die Synthese der Primer erfolgte in der MetabION International AG, Martinsried. Die Primer wurden als Stammlösung mit einer Konzentration von 5 pmol/μl bei -20 °C gelagert. Die Sequenzen der Primer sind in der Tabelle 12 aufgelistet.

Tabelle 12: Verwendete Oligonukleotide zum Nachweis des *sop E*

| Gen | Orientierung* | Sequenz 5' → 3' | Funktion |
|-------------|---------------|----------------------------|---|
| <i>sopE</i> | → | GTC GCT GTG TTG ATC CCT TT | Amplifikation des 229 bp Fragmentes zum Nachweis des <i>sopE</i> Gens |
| | ← | CAA CAC ACT TTC ACC GAG GA | |

* entspricht einer Orientierung des offenen Leserahmens des Gens; ← entgegengesetzt

3.1.11 Geräte

- Pulsfeld-Elektrophorese Chef DR II und III (Biorad, München)
- PCR-Elektrophorese Consort EV 243 (peqlab, Erlangen)
- Wasserbad (GFL, Burgwedel)
- Schüttelwasserbad (GFL, Burgwedel)
- Photometer [Wellenlänge 450 nm] (GENE-Trak)
- Thermomixer Comfort (Eppendorf, Hamburg)
- Mikrowelle (Privileg 8017)

3.2 Methoden

3.2.1 Anzucht von *Salmonella*-Stämmen

Die Anzucht der Salmonellen erfolgte aerob in Nährbouillon (1 Kolonie auf 3 ml). Diese wurde 90 min bei 37 °C im Brutschrank inkubiert. Die vorbereitete Bouillonkultur muss eine annähernde Keimdichte von 10⁸ Keimen/ml (gut sichtbare Trübung) haben. Das Wachstum der Bakterien wurde optisch im Beckman Spektrophotometer DU 640 bei 600 nm überprüft.

3.2.2 Stammhaltung

Alle in der Arbeit verwendeten Wildstämme wurden auf Endo-Agar bei 4 °C gehalten und wiederum nach vier Wochen auf Endo-Agar überimpft. Die Stämme wurden zusätzlich in einer 40-%igen Glycerol-Lösung bei -80 °C eingelagert.

3.2.3 Entwicklung des Lysotypiesystems für *S. Infantis*

Die Entwicklung des Systems erfolgte in vier Stufen, wobei die Anzahl der Phagen von 147 (1. Stufe), 32 (2. Stufe), 35 (3. Stufe), 22 (4. Stufe) auf 17 (5. Stufe) reduziert wurde. Die Kriterien für die Bewertung der getesteten Phagen wurden nach MEYER et al. (1973) angewandt.

3.2.3.1 Isolierung und Adaptation der Bakteriophagen

Die Typisierphagen wurden auf drei verschiedenen Wegen gewonnen:

- Induktion temperenter Phagen aus lysogenen Stämmen durch Mitomycin C und anschließend Kreuzkulturtechnik nach FISK (1942)
- Isolierung frei vorhandener Phagen, z. B. aus Abwasser
- Adaptation bereits isolierter Phagen an andere Stämme nach ANDERSON (1962)

3.2.3.2 Prophageninduktion durch Mitomycin C

Hierfür wurden 50 - 100 µl einer Übernachtskultur (Schütteln bei 37 °C) des lysogenen Bakterienstammes in 5 ml Nährbouillon, die zusätzlich 2,5 µg/ml Mitomycin C enthielt, überführt und für weitere 2½ Stunden aerob inkubiert (37 °C). Die im Anschluss hinzupipettierten 50 µl Chloroform (CHCl₃) töteten alle Bakterienzellen ab und setzten noch intrazellulär vorhandene Viruspartikel frei. Das Phagenlysate wurde mittels Zentrifugation von Bakterienbestandteilen „gereinigt“ (10.000 U/min, 5 min) und anschließend steril filtriert (Porengröße 0,2 µm).

3.2.3.3 Isolierung der Wildphagen aus Abwasser

Die Abwasserproben stammten aus dem Klärwerk Silstedt (Landkreis Wernigerode). Die Entnahme erfolgte ausschließlich vor der mechanischen Reinigung des Abwassers. Aus dem Zulauf der Kläranlage wurden am 27.11.2005 acht verschiedene Abwasserproben entnommen. Von je 200 ml Probevolumen wurden 15 ml steril filtriert. Auf eine Spritze wurden zwei Milliporfilter vorgeschraubt. Da viele Schwebstoffe und Festbestandteile im Abwasser enthalten sind, muss ein Vorfilter vorgeschaltet werden. Dadurch werden Bestandteile, die größer als 1,2 μm sind, herausfiltriert. Der zweite Filter hat eine Porengröße von 0,45 μm . Dieser Minisart Sartorius-Filter hält alle Bakterien, Pilze und Sporen zurück. Je 15 ml Phagen-Filtrat wurde in Plastikröhrchen abgefüllt. Die Prüfung auf Anwesenheit von Phagen im Filtrat erfolgte mit der Agar-Überschichtungsmethode. Die Methode ist unter 3.2.6.2 Weichagarmethode beschrieben. Die Anwesenheit von Phagen war durch Plaquebildung im Bakterienrasen zu erkennen.

3.2.3.4 Adaptation der bereits isolierten Phagen an andere Stämme

Bei der „wirtskontrollierten Modifikation“ verleiht eine bestimmte Wirtszelle den von ihr produzierten Phagen bestimmte Eigenschaften hinsichtlich ihres Wirtsbereiches (RABSCH 2007). Die Adaptation der Phagen an die verschiedenen Bakterienstämme und ihre anschließende Anreicherung erfolgte mit der als bekannt vorausgesetzten Technik in flüssigen oder auf festen Nährmedien (ANDERSON 1962). Dafür wurde eine Oxoid-3-Platte mit dem Indikator-Stamm abgeschwemmt. Nach dem Antrocknen wurden 5 μl der Test-Phagen mittels Pipette auf die Platte aufgetropft und die Testplatte über Nacht im Brutschrank bei 37 °C inkubiert. Danach wurden die modifizierten Phagen auf mögliche Veränderungen im Wirtsspektrum untersucht. Nach Adaptation an andere Stämme wurde das Lysisspektrum des Phagens erweitert oder reduziert.

3.2.4 Die Bestimmung des Wirtsspektrums eines Phagen

Für die Lysotypie ist die Lysis-Spezifität der verwendeten Phagen eine notwendige Voraussetzung. Zur Bestimmung des Lysisspektrums erfolgte von jedem zu testenden Bakteriophagen die Herstellung einer Typisierplatte (Oxoid-3-Platte). Nach dem Trocknen der mit dem Stamm abgeschwemmt Platte wurden die induzierten unverdünnten Phagenlysate nach Fisk bzw. in der Routine-Test-Verdünnung (RTD = routine test dilution) aufgetropft,

wobei jeder Phage mit jedem Teststamm untersucht wurde. Die Aufbringung der Phagen auf den zu testenden Stamm erfolgte mit einem Multipointinokulator (Abbildung 6). Danach wurden die Platten über Nacht bei 37 °C inkubiert. Am nächsten Tag wurden die Platten abgelesen und die Phagen-Reaktion bewertet. Jeder Phagentyp kann nur eine bestimmte Gruppe eines Serovars infizieren. Deshalb war es das Ziel, nach Ermittlung des Lysisspektrums die Test-Phagen mit eingeschränktem und breitem Wirtsspektrum zu eliminieren, weil sie ein schwaches Diskriminierungspotenzial besitzen.

3.2.5 Phagen-Titerbestimmung

Für die Titerbestimmung eines Phagen wurde zunächst eine Verdünnungsreihe in zehner Stufen bis 10^{-6} des Phagen in einer Phagenbouillon (900 µl Phagenbouillon und 100 µl Phagensuspension) hergestellt. Dann wurden Einzelkolonien des Stammes in 3 ml Nährbouillon geimpft und diese für 90 min bei 37 °C bebrütet. Der Phagentiter konnte anschließend durch Auftragen von je 10 µl des unverdünnten Phagenlysates und der verschiedenen Verdünnungsstufen von 10^{-1} bis 10^{-6} bestimmt werden. Nach dem Antrocknen wurde die Platte über Nacht bei 37 °C inkubiert. Die Phagenplaques wurden mit einem Stereomikroskop (8- bis 10-fache Vergrößerung) ausgezählt und nach folgender Formel bestimmt:

$$\text{Phagentiter (pfu/ml)} = \frac{\text{Anzahl der Plaques} \times \text{Verdünnungsfaktor Phagen}}{\text{ml Probe Phagenlysat}}$$

Die RTD eines Phagen entspricht der niedrigsten Phagenkonzentration, bei der gerade noch eine konfluente Lysis entsteht (MEYER et al. 1973). Die RTD wurde nach jeder neuen Verdünnung bzw. Anreicherung der Phagen mit den Teststämmen überprüft.

3.2.6 Flüssige Anreicherung

Die flüssige Anreicherung erfolgte nach WHITE et al. (1959). Aus einem *S. Infantis*-Rasen wurde ein Plaque so ausgestochen, dass mit dem Phagen auch Bakterien aufgenommen wurden. Der ausgestochene Plaque wurde dann mit 2 ml Nährbouillon gefüllten Eppendorfröhrchen suspendiert und für 5 h unter Schütteln bei 37 °C bebrütet. Es wurde dann abzentrifugiert (8000 U/min, 20 min) und der Überstand (Phagenlysat) steril-filtriert sowie 10 µl Chloroform zugegeben. Danach erfolgte die Titerbestimmung des Phagen.

3.2.7 Weichagarmethode

Die Anreicherung mittels Weichagarmethode wurde nach SWANSTROM u. ADAMS (1951) durchgeführt. Dazu wurden Hefe-Nähragar-Platten mit einem Gemisch aus 100 µl Übernachtkultur des Stammes und 100 µl Phagenlysat verschiedener Verdünnungsstufen in 3 ml Weichagar (<50 °C) überschichtet und bei 37 °C über Nacht bebrütet. Der Lysisgrad der zugegebenen Bakteriophagen sollte ausreichen, um auf dem Indikatorstamm einen Lysisgrad weniger als C1 hervorrufen zu können (Abbildung 7). Danach wurden die Hefe-Nähragar-Platten mit 5 ml Phagenbouillon abgeschwemmt und 90 min mäßig geschüttelt. Durch diese Behandlung ist es möglich, einen Großteil der Phagen aus dem Agar freizusetzen. Der Weichagar wurde mit einem Glasspatel zerkleinert, bis eine möglichst homogene Masse entstand. Der Plattenüberstand wurde anschließend mittels einer 5 ml-Pipette abgesaugt und mittels Zentrifugation (8.000 U/min, 20 min) sowie Sterilfiltration (Ø 0,2 µm) von Zell- und Agarresten befreit. Im Anschluss wurden 10 µl Chloroform hinzu gegeben. Die Bestimmung des Phagentiters erfolgte analog (siehe Kapitel 3.2.5).

3.2.8 Phänotypische Methoden

3.2.8.1 Serotypie

Die serologische Differenzierung der *S. Infantis*-Stämme erfolgte im Nationalen Referenzzentrum für Salmonellen und andere bakterielle Enteritiserreger, Bereich Wernigerode. Vor der Durchführung der Antigen-Antikörper-Reaktionen werden Versuche durchgeführt, um zu überprüfen, ob eine unspezifische Agglutination stattfindet. Dazu wird auf einem Objektträger eine Einzelkolonie mit 0,85-%iger NaCl-Lösung verrieben und die Suspension vor einem schwarzen Hintergrund beobachtet. Sofern die Suspension etwa 2 min milchig trüb bleibt, findet keine Spontanagglutination statt. Zusätzlich wurde zur Kontrolle der Rauh-Form der O1-Phagen-Test durchgeführt (RISCHE 1973). Bei *S. Infantis* wurden die O-Antigene 6, 7, 14 sowie die H-Antigene 1, 5 und r geprüft. Dazu wird etwas Bakterienmaterial mit dem amtlich geprüften O-Antiserum verrieben. Nach etwa 2 min sollten deutlich sichtbare Agglutinate (Antigen-Antikörper-Komplex) auftreten. Danach wird mit Hilfe der H-Antiseren in der Objektträgeragglutination die vorliegende Geißelphase ermittelt. Ist die erste Phase des H-Antigens ermittelt, erfolgt die Bestimmung der zweiten Phase. Dazu wird eine Schwärmplatte nach Sven-Gard hergestellt, die das entsprechende H-Antiserum der bereits nachgewiesenen Phase enthält. Das Schwärmen der Bakterien, die das H-Antigen der ersten Phase besitzen, wird dadurch gehemmt. Nur solche, die in die zweite Phase umgeschaltet haben, können unter diesen Bedingungen schwärmen. Nach 17 h bei 37 °C Bebrütung kann mit dem Bakterienmaterial aus der Randschwärmzone die zweite Phase durch Agglutination mit geeigneten H-Antiseren bestimmt werden. Aus der Kombination der O- und H-Antigene der ersten und zweiten Phase wird der Serovar des vorliegenden *Salmonella* Stammes aus dem Serotypisierungssystem nach White-Kauffmann-Le Minor (GRIMONT u. WEILL 2007) identifiziert.

3.2.8.2 Lysotypie

Von einer frisch ausgestrichenen Endo-Platte wurde eine Einzelkolonie in 3 ml Bouillon geimpft und diese 90 min bei 37 °C inkubiert. Die vorbereitete Bouillonkultur, die eine annähernde Keimdichte von 10^8 Keimen/ml (eine gut sichtbare Trübung) hatte, wurde gleichmäßig auf eine Typisierplatte (Hefeblauchplatte) abgeschwemmt. Anschließend wurde die aufgetragene Stammkultur angetrocknet, indem die geöffnete Platte in die Nähe der Glasflamme gestellt wurde. Danach wurden die Typisierphagen (RTD) mit Hilfe eines Multipointinokulators auf die Platte gestempelt (Abbildung 6). Sind die Phagentropfen

angetrocknet, wurde die Testplatte über 17 h im Brutschrank bei 37 °C bebrütet. Das Ablesen der Platten und die Bewertung des Lysisgrades der einzelnen Phagen erfolgte mit einem Stereomikroskop (10-fache Vergrößerung) bei schräg einfallendem Licht. Wichtig beim Ablesen sind die richtige Protokollierung und Beurteilung der Lysisgrade. Der Lysisgrad kann variieren von zählbaren Einzelplaques über teilweise Lysis bis zu konfluierender Lysis mit sekundärem Wachstum und vollständiger Lysis. Für die Registrierung der Lysisgrade wurden folgende Kennzeichnungen verwendet (Abbildung 7). Die statistische Auswertung der Lysotypie-Daten erfolgte mit Hilfe der Ridom EpiCompare Software-1.0. Der diskriminatorische Index nach Simpson's wurde mittels Ridom EpiCompare berechnet GRUNDMANN et al. (2001).



Abbildung 6: Multipointinokulator und Matrize für die Lysotypie

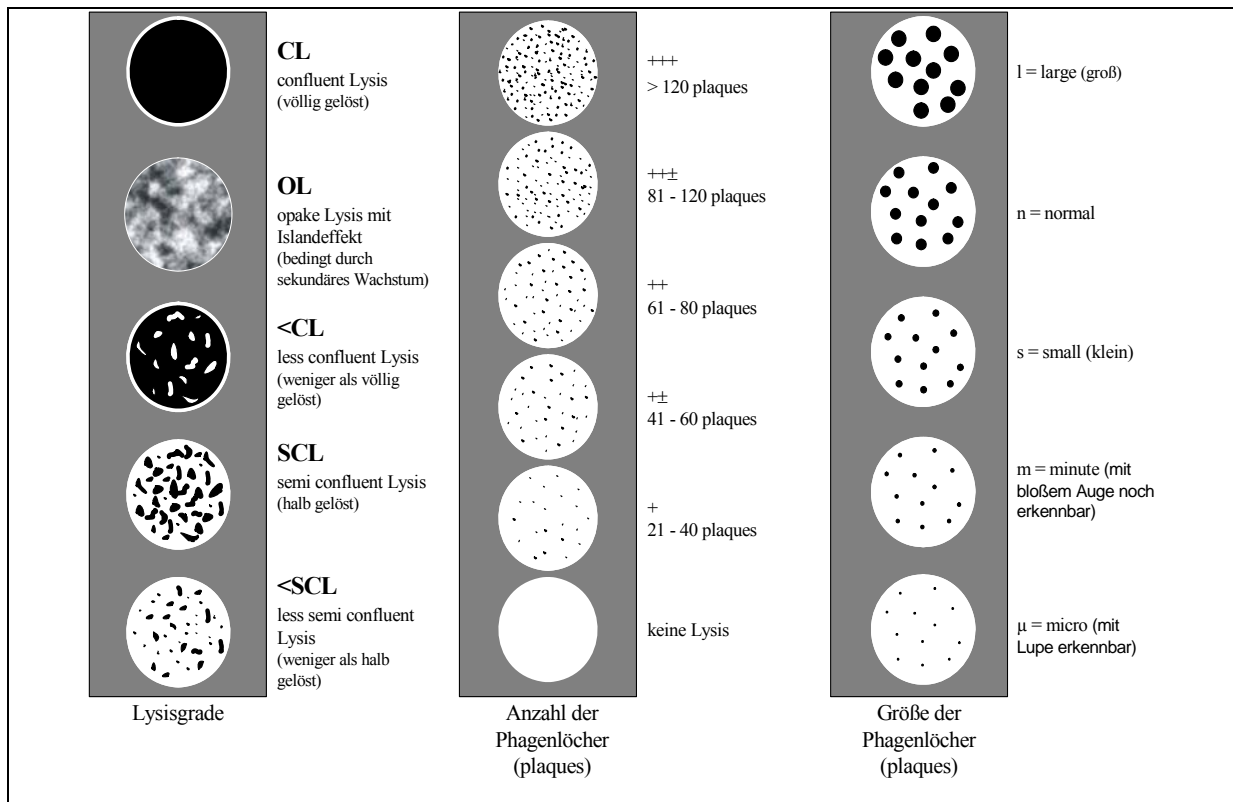


Abbildung 7: Kennzeichnung der Lysisgrade

Lysisgrade: CL, vollständige Lysis; <CL, nicht vollständige Lysis; SCL, semikonfluierende Lysis (halb gelöst); <SCL, weniger als SCL; OL, opake Lysis (mit starkem sekundärem Wachstum); -, keine Lysis
 Anzahl Plaques: +, 5 bis 10 Plaques; ++, 10 bis 50 Plaques; +++, über 50 Plaques
 Größe Plaques: μ, micro, nur mit Lupe erkennbar; m, winzig, nur mit bloßem Auge erkennbar; s, klein; n, normal; l, groß

Die Angabe der einzelnen schwachen Lysisgrade (z. B. ++m oder +s) wird genauso protokolliert wie die Angabe der starken Lysisgrade (CL, OL, SCL).

3.2.8.3 Bestimmung der Antibiotikaresistenz

Die Resistenzenbestimmung erfolgte im Zuge der serologischen Charakterisierung im Nationalen Referenzzentrum für Salmonellen und andere bakterielle Enteritiserreger am Robert Koch-Institut. Die Antibiotikaresistenz eines Isolates wurde durch Bestimmung der Minimalen Hemmstoff-Konzentrationen (MHK) der einzelnen antibakteriellen Chemotherapeutika mittels Mikrobouillonverdünnungstest ermittelt. Die MHK (μg/ml oder mg/l angegeben) ist die kleinste Testkonzentration des jeweiligen Antibiotikums, bei der kein Wachstum des betreffenden Bakterienstammes festzustellen ist. Mit der MHK-Testplatte für gramnegative Bakterien können im Mikrobouillonverdünnungstest in einer Mikrotiterplatte

mit 96 Vertiefungen gleichzeitig die MHK-Werte gegen 17 Antibiotika bzw. Antibiotika-Kombinationen bestimmt werden (Abbildung 8).





| | AMP (1) | MEZ (2) | MSU (3) | CTM (4) | CTX (5) | CAZ (6) | FOX (7) | GEN (8) | KAN (9) | AMK (10) | STR (11) | NAL (12) | |
|---------|---|------------|------------|------------|------------|---|---|------------|------------|-------------|-------------|-------------------|-----|
| (A) | 16 | 32 | 32 | 8 | 16 | 32 | 32 | 8 | 32 | 32 | 64 | 32 | |
| (B) | 8 | 16 | 16 | 4 | 8 | 16 | 16 | 4 | 16 | 16 | 32 | 16 | |
| (C) | 4 | 8 | 8 | 2 | 4 | 8 | 2 | 2 | 8 | 8 | 16 | 8 | |
| (D) | 2 | 4 | 4 | 1 | 2 | 4 | 1 | 1 | 4 | 4 | 8 | 4 | |
| (E) | 1 | 2 | 2 | 0,5 | 1 | 2 | 0,5 | 0,5 | 2 | 2 | 4 | WK (1/2 IST-B) | |
| CMP (F) |  | 4 | 8 | 16 | 32 |  |  | 32 | 64 | 128 | 256 | 512 | SMZ |
| OTE (G) | 0,5 | 1 | 2 | 4 | 8 |  | 4 | 8 | 16 | 32 | 64 | 128 | SXT |
| CIP (H) | 0,063 | 0,125 | 0,25 | 0,5 | 1 | 2 | 4 | 8 | 16 | 32 | 64 | WK (IST-B) | |

Abbildung 8: Schema der MHK-Testplatte (Testkonzentrationen in µg/ml oder mg/L)

rot, resistent; gelb, intermediär; weiß, sensitiv; WK, Wachstumskontrolle (IST-B; IsoSensitest-Bouillon bzw. 1/2 IsoSensitest-Bouillon; 1:1 in physiologischer NaCl-Lösung verdünnte, nur für OTE-Test, alle anderen Antibiotika in ISB); AMP, Ampicillin; MEZ, Mezlocillin; MSU, Mezlocillin/Sulbactam (konstant 8 µg/ml); CTM, Cefotiam; CTX, Cefotaxim; CAZ, Ceftazidim; FOX, Cefoxitin; GEN, Gentamicin; KAN, Kanamycin; AMK, Amikacin; STR, Streptomycin; NAL, Nalidixinsäure; CMP, Chloramphenicol; OTE, Oxytetracyclin, CIP, Ciprofloxacin; SMZ, Sulfameracin; SXT, Sulfamerazin-Trimethoprim

Alle in dieser Arbeit ermittelten MHK-Werte wurden entsprechend der DIN 58940 (Teil 8: Mikrobouillonverdünnungstest, Stand: April 2004) gewonnen. Im Nährmedienlabor des Robert Koch-Institutes wurde das Resistenznährmedium (IsoSensitest-Bouillon, IST) selbst hergestellt. Drei bis vier berührte Kolonien des zu untersuchenden Isolates wurden dazu in 5 ml Nährbouillon suspendiert und bei 37 °C für 2 - 3 Stunden bis zur Trübung des McFarland-Standards OD = 0,5 bebrütet. Davon wurden 4 ml in 36 ml 0,85-%iger physiologischer Kochsalzlösung in einer sterilen Inokulumschale gleichmäßig verteilt. Anschließend wurde die MHK-Testplatte mittels sterilem Multipointinokulators durch Eintauchen in o. g. Bakteriensuspension in der Inokulumschale beimpft. Die beimpften MHK-Testplatten wurden mit dem Plattendeckel verschlossen, in Aluminiumfolie verpackt und im Brutschrank bei

37 °C für 18 - 24 h inkubiert. Am nächsten Tag erfolgt die Ablesung der MHK-Werte in der o. g. Weise.

Zusätzlich wurde mittels PCR-Verfahren und Sequenzierung von Frau Dr. Pfeifer ESBL-Gene (Extended-Spectrum Beta-Lactamase) bei vier *S. Infantis*-Isolaten nachgewiesen.

3.2.9 Molekularbiologische Methoden

3.2.9.1 Makrorestriktionsanalyse

Zur weiteren Charakterisierung der *S. Infantis*-Stämme wurde eine *XbaI*-Makrorestriktionsanalyse (*XbaI*-Analyse) nach dem PulseNet CDC-Protokoll 2000 durchgeführt (HUNTER et al. 2005). Die erzeugten *XbaI*-Bandenmuster, die in Abhängigkeit von genomischen Polymorphismen entstehen, werden verglichen und eine Aussage über den Grad der genetischen Verwandtschaft zwischen verschiedenen Isolaten getroffen. Die genomische DNA der in den Agarose-Blöckchen befindlichen Bakterien wird freigesetzt und mittels *XbaI* (selten im Genom schneidendes Enzym) verdaut. Die entstehenden DNA-Fragmente werden zur Analyse im 1-%igen Agarosegel aufgetrennt. Zur Auftrennung der erzeugten Fragmente wird die sog. Pulsfeldgel-Elektrophorese (PFGE) herangezogen.

Tag 1: Die Stämme wurden auf Tryptic-Soy-Agar ausgestrichen und bei 37 °C für 8 h bebrütet.

Tag 2: Einige Kolonien wurden von der Platte in den CSB-Puffer eingerieben. Die Suspension sollte im Photometer bei 450 nm eine Extinktion von 0,25 - 0,35 erreichen. Das entspricht einer Extinktion von 0,35 - 0,44 bei einer Wellenlänge von 600 nm und 1 cm Schichtdicke. In 2,0 ml Eppendorf-Tubes wurden je 300 µl Bakteriensuspension, 15 µl Proteinase K (20 mg/ml STL) und 315 µl 1 % SKG-Agarose mit 1 % SDS (50 °C) gemischt und luftblasenfrei in die Gießform eingefüllt. Nach etwa 15 min Abkühlen wurden die Blöckchen in 50 ml-Röhrchen mit der Lyselösung (25 µl Proteinase K STL und 5 ml Lysepuffer) gegeben und 2 h bei 54 °C im Wasserbad geschüttelt. Danach wurde die Lyselösung entfernt und die Blöckchen je 2 x für 15 min in 10 ml Aqua bidest. (55 °C) und je 4 x mit TE-Puffer gewaschen. Bis zur weiteren Verwendung wurden die Blöckchen in TE-Puffer bei 4 °C gelagert.

Tag 3: In die 1,5 ml Eppendorf-Tubes wurde jeweils ein Blöckchen mit je 200 µl Puffermischung ohne Enzym für 10 min gegeben, danach die Puffermischung entfernt, die Restriktionspuffermischung (175 µl A. bidest., 20 µl H-Puffer, 5 µl *XbaI*-Enzym (10 U/µl,

Restriktionsendonuklease) zugefügt und 4 h bei 37 °C im Thermomixer inkubiert. Die Blöckchen wurden einzeln auf einen Gelkamm (10er/15er) gesetzt und in die Gelform gestellt. Die dann eingefüllte 1-%ige SKG-Agaroselösung (55 °C) umschließt die Blöckchen. Nach 30 min Abkühlen (Gelschlitze verschließen mit Agaroselösung) kann das Gel in die 0,5 x TBE-Puffer gefüllte PFGE-Elektrophoresekammer (Vorkühlen auf 14 °C, Pumpe 1l/min) eingebracht werden.

Laufbedingungen: Pulszeit 2,2 - 63,8 s
Startratio 1
Spannung 6 V/cm
Laufzeit 19 - 20 h
Winkel 120°

Anschließend wurde das Gel 40 min im Ethidiumbromid-Bad gefärbt und die Banden im UV-Licht (Wellenlänge 450 nm) sichtbar gemacht.

Zur Überprüfung der klonalen Verwandtschaft der untersuchten Stämme wurde mit Hilfe des Programms GelCompare©BioNumerics auf Grundlage der Restriktionsmuster eine Clusteranalyse unter Verwendung des DICE-Koeffizienten durchgeführt. Die Ergebnisse wurden in einem UPGMA-Dendrogramm (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Averages) dargestellt. Je ähnlicher Isolate sind, desto größer ist die prozentuale Ähnlichkeit der Bandenmuster. Die Grundlage für die Auswertung und die Bewertung der Bandenmuster ist die Erzeugung des charakteristischen Bandenmusters des Referenzstammes *S. Braenderup*, H9812 und die Normalisierung der Bandenmuster nach den Kriterien von BARRETT et al. (2006). Die statistische Analyse der PFGE-Daten erfolgte mit Hilfe der Ridom EpiCompare Software-1.0.

3.2.9.2 Polymerase-Ketten-Reaktion

Für jeden in der Tabelle 12 aufgelisteten Primer wurde eine PCR-Reaktion durchgeführt. Für die Amplifikation nach dem Hot Start-Prinzip (Qiagen, Hilden) wurde pro 20 µl PCR-Ansatz eingesetzt: 10 µl Hot Star Taq™ Mix (5 U/µl), 5 µl Aqua bidest., je 1 µl vorwärts/rückwärts Primer (10 µM) und 3 µl chromosomaler *S. Infantis*-DNA. Zur Isolation genomischer DNA wurden 2 Kolonien in 100 µl A. bidest. eingegeben und 5 min bei 99 °C im Thermomixer inkubiert. Die Zellreste wurden durch Zentrifugation (10000 U/min, 5 min) abgetrennt und die DNA-Lösung bei -20 °C aufbewahrt. Die Wahl der Hybridisierungstemperatur sowie der Elongationsdauer erfolgte entsprechend der Primereigenschaften (GC-Gehalt) und der Länge

des zu amplifizierenden DNA-Fragmentes. Als Negativkontrolle wurde ein PCR-Ansatz ohne DNA verwendet. Die Amplifikation erfolgte im Gene Amp® PCR-System 9700 Thermocycler von Applied Biosystems, Darmstadt mit folgendem Programm:

| | | | |
|-------------------------|--------|-------|-------------|
| 1. Denaturierung | 5 min | 95 °C | } 29 Zyklen |
| 2. Denaturierung | 30 s | 94 °C | |
| 3. Hybridisierung | 30 s | 56 °C | |
| 4. Elongation | 1 min | 72 °C | |
| 5. Abschluss-Elongation | 10 min | 72 °C | |
| 6. Kühlung | 8 | 4 °C | |

Um die PCR-Amplifikate sichtbar zu machen, wurden sie auf ein 1-%iges Agarosegel aufgetragen. Hierfür wurde die Agarose in 0,7 x TBE-Puffer durch Aufkochen in der Mikrowelle gelöst, in die Gelkammer gegossen und nach Erkalten des Gels die PCR-amplifizierten DNA-Proben aufgetragen. Jeweils 10 µl (Mix: 5 µl PCR-Produkt, 2 µl Aqua bidest. und 3 µl Bluemix) der Probe wurden in die Geltaschen pipettiert. Die elektrophoretische Auftrennung der DNA erfolgte mit 150 V, 300 mA und ca. 60 min in einer Elektrophorese-Kammer (peqlab, Erlangen). Als Laufpuffer wurde 0,7 x TBE-Puffer verwendet und zum Anfärben der DNA dem Gel und dem Puffer 0,5 µg/ml Ethidiumbromid zugesetzt. Die Detektion der DNA-Banden wurde mit Hilfe eines UV-Spektrometers (GelDoc2000, Biorad, München) durchgeführt. Als DNA-Marker für die linearen DNA-Fragmente fand der AmpliSize™Molecular Ruler (50-2000bp, Bio-Rad, München) Einsatz.

3.2.9.3 Sequenzierung mittels „cycle sequencing“

Die in dieser Arbeit angefertigten Sequenzierungen dienten zum Vergleich des sopE PCR-Amplifikates. Nach der Durchführung einer PCR befinden sich neben dem erwünschten Produkt noch andere unverbrauchte oder inaktive Reagenzien, welche für viele andere Anwendungen, wie die Sequenzierung, störend sein können. Solche Störfaktoren sind Puffer, Taq-Polymerase, unverbrauchte Primer, Salze etc. Mit einem Reinigungskit können diese Produkte leicht entfernt werden.

Lösungen:

Aufzureinigendes PCR-Produkt (mind. 30 µl)

PCR Purification Kit

Durchführung:

1. Volumenbestimmung des PCR-Produktes
2. Mischen des PCR-Produktes mit dem 5-fachen Volumen an PB-Puffer und anschließendes Auftragen auf Säule (Binden des PCR-Produktes an Membran)
3. Zentrifugieren (14000 U/min, 1 min)
4. Durchfluss entfernen
5. Zugabe von PE-Puffer (mit Ethanol), (Waschen)
6. Zentrifugieren (14000 U/min, 1 min)
7. Durchfluss entfernen
8. Zentrifugieren (14000 U/min, 2 min), (Trocknen der Membran)
9. Überführung der Säule in ein steriles 1,5 ml Reaktionsgefäß
10. Zugabe von mind. 30 μ l sterilem nukleasefreien bidest. H₂O, 2 min Inkubation, (Öffnen der Membranporen)
11. Zentrifugieren (14000 U/min, 2 min)

Die Sequenzierungsreaktion wurde mit Hilfe des *BigDye*® 3.1 Terminator Sequencing-Kit und die Sequenzierung der Amplifikate nach dem Didesoxynukleotid-Kettenabbruchverfahren durchgeführt. Dieser Kit enthält eine DNA-Tag-Polymerase, MgCl₂ sowie neben den vier dNTP's (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) auch didesoxy-NTP's (ddATP, ddCTP, ddGTP, ddTTP). Den ddNTP's fehlt am 3. C-Atom der Ribose die notwendige Hydroxylgruppe, an die üblicherweise das nächste Nukleotid bei der Strangverlängerung geknüpft wird. Statistisch wird ab und zu ein ddNTP eingebaut und es kommt zum Abbruch der Strangverlängerung. Des Weiteren ist an jedes der vier ddNTP's jeweils ein anderer Fluoreszenzfarbstoff gekoppelt. Durch die PCR-Reaktion entstehen unterschiedlich lange DNA-Fragmente mit einem fluoreszenzmarkierten ddNTP am 3'-Ende. Die Fragmente werden dann in einem Gel elektrophoretisch aufgetrennt, dabei mit Hilfe eines Lasers angeregt und das emittierte Licht gemessen. Anhand dieser Daten kann anschließend die Nukleotidsequenz der sequenzierten Fragmente ermittelt werden. Dabei ist wichtig, dass die mit den verschiedenen Oligonukleotiden sequenzierten Fragmente sich in den Endbereichen überlappen, um in der Auswertung die richtige Reihenfolge der Einzelfragmente wiederherstellen zu können. Für jedes PCR-Amplifikat wurden 2 Reaktionsansätze hergestellt, wobei einmal der Vorwärts- und einmal der Rückwärts-PCR-Primer zugegeben wurde. Verwendete Primer für die Sequenzierung sind in der Tabelle 12 aufgelistet.

Sequenziersatz:

PCR-Produkt : 0,4 µl
 Primer (F/R): 2 µl
 BigDye-3.1 Ready Mix: 1 µl
 Aqua bidest: ad. 10 µl
 Einsatz PCR-Produkt: mind. 10 ng/µl DNA

Einsatz Primer in Konzentration: 0,8 µM (10 µM PCR-Primer)

Anschließend wurden die 10 µl-Ansätze mit dem GeneAmp PCR-System 9700 (Perkin Elmer, Darmstadt) anhand des folgenden Programms sequenziert:

| | | | |
|-------------------------|--------|-------|-------------|
| 1. Denaturierung | 15 min | 95 °C | |
| 2. Denaturierung | 30 s | 96 °C | } 25 Zyklen |
| 3. Hybridisierung | 30 s | 56 °C | |
| 4. Elongation | 45 s | 72 °C | |
| 5. Abschluss-Elongation | 10 min | 72 °C | |
| 6. Kühlung | 4 °C | 8 | |

Die Analyse der Sequenzierprodukte wurde im Robert Koch-Institut Berlin mit Hilfe des ABI Prism 377 DNA-Sequencer (Amersham Biosciences, München) durchgeführt. Die Auswertung der DNA-Sequenzen erfolgte *in silico* mit dem Programm *LaserGene v 6.1*.

3.2.9.4 Multiple-Locus Variable-Number of Tandem-Repeat Analysis

Bei dieser Methode wurden mehrere DNA-Loci mittels PCR amplifiziert und die Größen der PCR-Produkte, die von der Anzahl der DNA-Repeats abhängt, bestimmt. Bei *S. Infantis* wurde die Diversität von elf auf dem Chromosom verteilten VNTR (Variable-Number Tandem-Repeat)-Loci analysiert. Die jeweilige Anzahl der Repeats in den elf DNA-Loci wurde als MLVA-Profil zusammengefasst. Die MLVA-Profile werden über eine interne Datenbank, die für Salmonellen von einem Mitarbeiter des NRZ (Herr Dr. E. Tietze) für Salmonellen und andere bakterielle Enteritiserreger entwickelt wurde, verglichen und einem MLVA-Typ zugeordnet. Zur weiteren Diskriminierung erfolgte zusätzlich die Sequenzierung des VNTR-Locus P222 (bei *S. Typhimurium* LT 2 als STTR5, MLVA-System von Lindstedt) (LINDSTEDT et al. 2004). Der Bezeichnung des VNTR-Typs besteht aus MLVA-Typ plus P222 Sequenzierung-Allel. MLVA-Analyse der 40 *S. Infantis*-Isolate wurde durch Mitarbeiter des Robert Koch-Institutes, Bereich Wernigerode durchgeführt.

4 Ergebnisse

4.1 Entwicklung eines Lysotypiesystems für *S. Infantis*

Ziel der Untersuchung dieser Arbeit war die Entwicklung eines Lysotypiesystems für *S. Infantis* und dessen Anwendung für epidemiologische Analysen im medizinischen und veterinärmedizinischen Bereich. Zu diesem Zweck wurden die Typisierphagen auf zwei verschiedenen Wegen isoliert (durch Induktion temperenter Phagen aus lysogenen *S. Infantis*-Stämmen und durch Isolierung virulenter Abwasser-Wildphagen). Die Evaluierung der ausgewählten Phagen hinsichtlich ihrer Diskriminationsfähigkeit erfolgte in 5 Stufen.

4.1.1 Induktion und Auswahl der temperenten Phagen aus lysogenen *S. Infantis*-Stämmen

In der ersten Stufe wurden 119 induzierte unverdünnte Bakteriophagenlysate mit den 119 Stämmen, aus denen die Isolierung erfolgte, geprüft (Daten nicht gezeigt). Die verschiedenen Lysismuster der 119 isolierten Phagen wurden analysiert. Phagen, die keine Lysis oder ein gleiches Lysisspektrum besaßen, wurden eliminiert. 28 stark diskriminierende *S. Infantis*-Phagen wurden ausgewählt. Ein Problem bestand darin, dass nach der Interpretation des Kreuztests neun Stämme als untypisierbar (ut) bewertet wurden, weil sie keine Phagenreaktion zeigten. Unter diesen waren auch die Stämme eines Ausbruchs im Jahr 2004 in Bayern, der sog. „Bayrische Klon“ (z. B. Stamm Nr. 04-05339). Deshalb war es zwingend notwendig, nach geeigneten Phagen zu suchen, die untypisierbare Stämme lysieren konnten.

4.1.2 Isolierung und Auswahl der virulenten Wildphagen

Insgesamt wurden 28 Wildphagen aus dem Abwasserzulauf der Kläranlage Silstedt isoliert (siehe Kapitel 3.2.3.3). Diese Wildphagen wurden zunächst an vier *S. Infantis*-Stämmen, die zuvor mit keinen oder wenigen Phagen reagiert hatten, wie z. B. 75-00376, 99-06260, 02-01782 und 02-03400, getestet (Tabelle 13). Dann erfolgte die Adaptation der unterschiedlich reagierenden Wildphagen $\Phi 14$ und $\Phi 22$ an den Stamm 02-01782 und die Phagen $\Phi 8$ und $\Phi 23$ an den Stamm 75-00376, um das Wirtsspektrum der Phagen zu erweitern. Anschließend wurden die adaptierten Wildphagen angereichert und die Routine-Test-Verdünnung festgelegt.

Des Weiteren wurde mit 32 Phagen (28 *S. Infantis* Phagen und 4 Wildphagen, 2. Stufe) in der RTD gearbeitet. Mit diesen 32 Testphagen wurden 24 *S. Infantis* Isolate typisiert (Tabelle 14). Aus dieser Untersuchung ist ersichtlich, dass manche Stämme gleiche Lysis-Muster aufwiesen. Dies wurde deutlich an den Beispielen der Stämme 06-00844 und 06-00849 bzw. der Isolate 06-00237 und 06-00870, die den zwei verschiedenen Lysotypen angehörten. Auch eine Gruppe von Isolaten (06-03256 bis 06-03265; Brasilien, Schwein) konnte einem Typ zugeordnet werden. Nach dieser Typisierung wurden sowohl temperente *S. Infantis*-Phagen als auch virulente Wildphagen bezüglich ihrer Diskriminationsfähigkeit wieder bewertet (siehe Kapitel 3.2.3). Von den Wildphagen (Φ 8, Φ 14, Φ 22 sowie Φ 23) wurden für die weiteren Experimente die Phagen 8, 14 und 23 ausgewählt. Da die Phagen 22 und 23 ein ähnliches Wirkungsprofil besaßen, wurde der Phage 22 eliminiert (siehe Kapitel 3.2.3.2).

Tabelle 13: Testung und Adaptation der Wildphagen an *S. Infantis*-Stämme

| RKI-Nr. | Phagen | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|--------|---|---|---|---|---|---|------|---|-----|------|----|----|----------|------|----|----|----|----|----------|----|---------|----------|----|----|----|----|----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 |
| 75-00376 | - | - | - | - | - | - | - | ol* | - | ol | (ol) | - | - | ol | - | - | - | - | - | (ol) | ol | ol | +++ m | - | - | - | - | - |
| 02-03400 | - | - | - | - | - | - | - | ol | - | ol | - | - | - | - | 3m | - | - | - | - | - | ol | - | - | - | - | - | - | - |
| 02-01782 | - | - | - | - | - | - | - | <scl | - | cl | ol | - | - | +++ m | (ol) | - | - | - | - | +++ m | ol | ++ m | - | - | - | - | - | - |
| 99-06260 | - | - | - | - | - | - | - | <cl | - | scl | <scl | - | - | <cl | scl | - | - | - | - | <cl | ol | - | - | - | - | - | - | - |

* Legende: Kennzeichnung der Lysisgrade gilt für alle weiteren Tabellen

Lysisgrade: CL, vollständige Lysis; <CL, nicht vollständige Lysis; SCL, semikonfluierende Lysis (halb gelöst); <SCL, weniger als SCL; OL, opake Lysis (mit starkem sekundärem Wachstum); -, keine Lysis

Anzahl Plaques: +, 5 bis 10 Plaques; ++, 10 bis 50 Plaques; +++, über 50 Plaques Größe Plaques: m, winzig, nur mit Lupe erkennbar; s, klein, mit bloßem Auge noch erkennbar; n, normal; l, groß

Tabelle 14: Lysismuster von 24 *S. Infantis*-Stämmen mittels 32 Phagen (2. Stufe)

| RKI-Nr. | Phagen | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|--------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 9 | 10 | 13 | 17 | 20 | 22 | 24 | 28 | 29 | 30 | 31 | 33 | 36 | 40 | 44 | 46 | 47 | 48 | 52 | 64 | 69 | 84 | 92 | 99 | 109 | 110 | 117 | 119 | 8* | 14* | 22* | 23* | |
| 04-03355 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 06-00045 | <sc1 | <sc1 | +s | +s | - | - | - | - | ol | ol | sc1 | <sc1 | - | - | +++s | - | +++s | +++s | - | +++s | - | +++s | +++m | <sc1 | - | +++s | - | +++s | - | - | - | - | +++s |
| 06-00237 | - | +s | - | - | - | - | - | - | sc1 | - | - | - | - | - | +s | - | 1s | - | sc1 | - | - | <sc1 | - | - | - | - | - | - | - | - | 1m | - | |
| 06-00844 | - | - | sc1 | <sc1 | - | - | <cl | +++s | (ol) | +s | +++s | ol | - | ol | ol | <sc1 | <cl | <sc1 | - | ol | +++s | +++s | - | - | - | - | - | - | ol | sc1 | <sc1 | <sc1 | |
| 06-00849 | - | - | <cl | <sc1 | - | - | sc1 | +++s | (ol) | - | +++s | ol | - | ol | ol | <sc1 | <cl | <sc1 | - | ol | +++s | +++s | - | - | - | - | - | - | ol | sc1 | <sc1 | <sc1 | |
| 06-00857 | 8s | 1s | - | - | - | - | - | - | <sc1 | 3s | 5s | - | - | - | - | - | - | (ol) | - | (ol) | - | - | - | - | - | - | - | (ol) | <sc1 | +++s | +s | | |
| 06-00870 | - | +s | - | - | - | - | - | - | sc1 | +s | - | - | - | - | +++s | - | - | - | (ol) | - | sc1 | - | - | - | - | - | - | - | 1m | 3s | - | - | |
| 06-01099 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 06-01100 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 74-00477 | sc1 | <cl | ol | <sc1 | <sc1 | <sc1 | sc1 | - | (ol) | (ol) | ol | ol | (ol) | ol | ol | <sc1 | sc1 | sc1 | (ol) | - | ol | +++s | <sc1 | - | +s | sc1 | (ol) | ol | sc1 | <sc1 | <sc1 | | |
| 06-03256 | - | sc1 | - | - | - | - | - | +++m | <sc1 | +++m | +++m | - | - | - | sc1 | - | - | +++m | 2m | - | - | - | - | - | - | - | - | - | <cl | <sc1 | +++m | +++m | |
| 06-03257 | - | <sc1 | - | - | - | - | - | +++m | <sc1 | <sc1 | +++m | 3m | - | - | sc1 | - | - | 5m | 1m | - | 6m | - | - | - | - | - | - | - | ol | sc1 | <sc1 | <sc1 | |
| 06-03258 | - | sc1 | - | - | - | - | - | +++m | <sc1 | <sc1 | +++m | - | - | - | sc1 | - | - | 6m | 2m | - | 2m | - | - | - | - | - | - | - | ol | <cl | <sc1 | <sc1 | |
| 06-03259 | - | <cl | - | - | - | - | - | +++m | <sc1 | <sc1 | <sc1 | 4m | - | - | sc1 | - | - | +++m | 1m | - | 3m | - | 1m | - | - | - | - | - | ol | <cl | <sc1 | <sc1 | |
| 06-03260 | - | sc1 | - | - | - | - | - | +++m | <sc1 | <sc1 | <sc1 | - | - | - | sc1 | - | - | +++m | 3m | - | 12m | - | 2m | - | - | - | - | - | ol | sc1 | <sc1 | <sc1 | |
| 06-03261 | - | sc1 | - | - | - | - | - | +++m | <sc1 | +++m | +++m | - | - | - | <sc1 | - | - | +++m | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | ol | sc1 | <sc1 | <sc1 | |
| 06-03262 | - | sc1 | - | - | - | - | - | +++m | <sc1 | <sc1 | +++m | +++m | - | 1m | sc1 | - | 2m | +++m | - | - | +++m | - | 2m | - | - | - | - | - | ol | sc1 | <sc1 | <sc1 | |
| 06-03263 | - | sc1 | - | - | - | - | - | +++m | <sc1 | <sc1 | +++m | 4m | - | - | sc1 | - | - | +++m | - | - | 10m | - | - | - | - | - | - | - | ol | sc1 | <sc1 | <sc1 | |
| 06-03264 | - | sc1 | - | - | - | - | - | +++m | <sc1 | <sc1 | +++m | - | - | - | sc1 | - | 1m | +m | - | - | +m | - | - | - | - | - | - | - | ol | sc1 | <sc1 | <sc1 | |
| 06-03265 | - | sc1 | - | - | - | - | - | +++m | <sc1 | <sc1 | +++m | - | - | - | sc1 | - | - | +++m | - | - | 3m | - | - | - | - | - | - | - | ol | sc1 | <sc1 | <sc1 | |
| 06-03266 | - | sc1 | - | - | - | - | - | - | ol | sc1 | +++m | - | - | <sc1 | - | - | +++m | ol | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 2m | - | 1m | - | |
| 06-03267 | ol | <cl | sc1 | <sc1 | <sc1 | <sc1 | <sc1 | <sc1 | ol | ol | ol | <cl | <cl | <sc1 | sc1 | +++m | <sc1 | sc1 | ol | - | <cl | +++m | <sc1 | ol | 3m | sc1 | ol | <sc1 | ol | +++m | +m | | |
| 06-03268 | ol | sc1 | sc1 | <sc1 | <sc1 | <sc1 | <sc1 | <sc1 | ol | ol | ol | <sc1 | <sc1 | <sc1 | sc1 | +++m | <sc1 | <cl | ol | - | sc1 | +++m | <sc1 | <cl | 1m | sc1 | sc1 | sc1 | +++m | +++m | +++m | | |
| 06-03269 | sc1 | sc1 | <sc1 | <sc1 | ol | sc1 | sc1 | - | ol | ol | ol | ol | sc1 | ol | ol | <sc1 | sc1 | sc1 | - | - | ol | <sc1 | <sc1 | - | +m | sc1 | ol | sc1 | sc1 | <sc1 | <sc1 | | |

* virulente Wildphagen

4.1.3 Induktion und Auswahl der temperenten Phagen des „Bayerischen Klons“

Aus den drei untypisierbaren Stämmen (06-01099, 04-03355 und 06-01100) des „Bayerischen Klons“ wurden weitere temperente Bakteriophagen (Φ 1Bay, Φ 2Bay und Φ 3Bay) isoliert (siehe Kapitel 3.2.3.2). Die Phagen Φ 1Bay, Φ 2Bay und Φ 3Bay wurden an 12 *S. Infantis*-Stämme 74-00477, 75-00376, 99-06260, 74-02157, 75-00152, 75-00536b, 00-00653-1, 03-01120, 04-02041, 04-05339, 06-03267 und 06-03256 getestet (Tabelle 15). Als Indikatorstamm diente der Stamm 74-00477, weil er von allen untersuchten Phagen lysiert wurde. Der Phage 1Bay ergab auf dem Stamm 74-00477 zwei verschiedene Plaque-Morphologien, was vermuten ließ, dass mehr als ein temperenter Bakteriophage freigesetzt wurde. Daher erfolgte die Anreicherung der beiden Plaque-Typen; der zweite isolierte Phage erhielt die Bezeichnung 4Bay (74-00477). Der Phage 2Bay (06-01099) wurde zusätzlich auf den Stamm 75-00536b adaptiert und trägt jetzt die Bezeichnung 5Bay 06-01099/75-00536b. Da der Phage 3 Bay (06-01100) keine Lysis gezeigt hatte, wurde er eliminiert.

Tabelle 15: Lysis der *S. Infantis*-Stämme mit *S. Infantis* Phagen des „Bayerischen Klons“

| Stamm | Phagen | | |
|------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | Φ 1 (04-03355) | Φ 2 (06-01099) | Φ 3 (06-01100) |
| 74-00477 | +s, +m | 3m | - |
| 74-02157 | - | - | - |
| 75-00152 | - | - | - |
| 75-00376 | - | - | - |
| 75-00536b | 3s | ++s | - |
| 99-06260 | - | - | - |
| 00-00653-1 | - | - | - |
| 03-01120 | - | - | - |
| 04-02041 | - | - | - |
| 04-05339* | - | - | - |
| 06-03256 | - | - | - |
| 06-03267 | - | - | - |

* der Stamm des „Bayerischen Klons“

4.1.4 Evaluierung der ausgewählten Bakteriophagen auf Eignung

Die weitere Arbeit erfolgte mit 35 Testphagen (28 *S. Infantis* Phagen, 4 *S. Infantis* Phagen des „Bayerischen Klons“ und 3 Wildphagen). Mit Hilfe dieser 35 Typisierphagen (3. Stufe) wurden 115 der *S. Infantis*-Stämme untersucht und hierbei 40 provisorische Lysotypen definiert (Tabelle 16, Anhang). Phagen mit ähnlichem Lysisbild, gleichem Wirtsbereich, engem Wirtsspektrum oder unklarer Lysis wurden eliminiert (Tabelle 7). Nach dieser Untersuchung verblieben 22 Typisierphagen für eine weitere Testung.

Für die weitere Entwicklung eines handbaren Lysotypieschemas wurden mittels 22 Bakteriophagen (4. Stufe) 869 welt- und deutschlandweit aufgetretene *S. Infantis*-Isolate verschiedener Herkunft aus dem Zeitraum von 1996 bis 2009 typisiert und ihren Lysismustern entsprechend 69 provisorischen Lysotypen zugeordnet (Daten nicht gezeigt). Zwei Beispiele sind in der Abbildung 9 dargestellt.

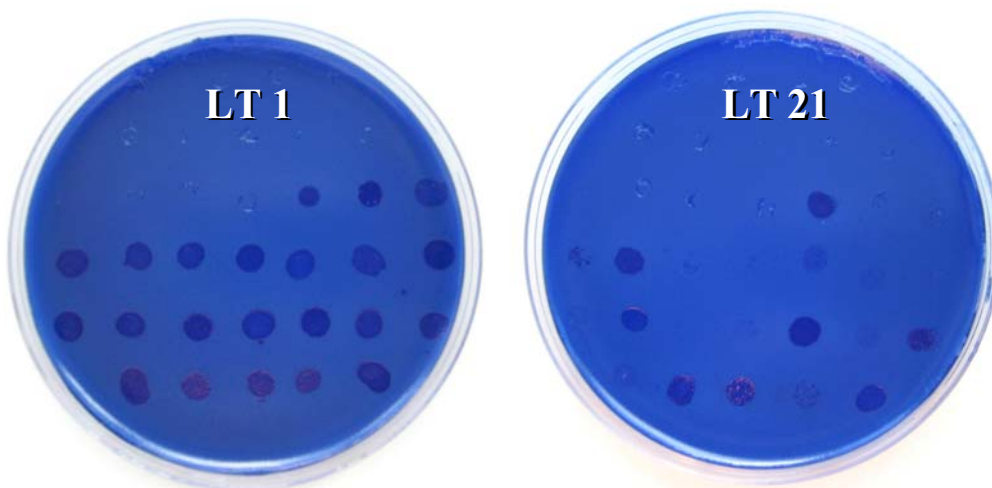


Abbildung 9: Provisorische Lysotypen 1 und 21 (22 Phagen, 4. Stufe)

Nach der Auswertung dieser Ergebnisse wurden die 14 am stärksten diskriminierenden Phagen ($\Phi 10$, $\Phi 13$, $\Phi 22$, $\Phi 28$, $\Phi 29$, $\Phi 36$, $\Phi 46$, $\Phi 48$, $\Phi 52$, $\Phi 69$, $\Phi 84$, $\Phi 99$, $\Phi 110$ und $\Phi 119$) für das Lysotypieschema ausgewählt. Da 41 Stämme mit keinem Typisierphagen Lysis zeigten, wurden noch weitere Versuche vorgenommen, um zusätzliche Typisierphagen zu finden. Dazu wurden die bereits isolierten hochtitrigen *S. Infantis*-Bakteriophagen $\Phi 84$, $\Phi 48$ und $\Phi 110$ an die ausgewählten *S. Infantis*-Stämme adaptiert und angereichert (Tabelle 17).

Tabelle 17: Adaptation der Phagen Φ 84, Φ 48 und Φ 110 an anderen *S. Infantis*-Stämme

| Ausgangspophage | Isolierungsstamm | Adaptationsstamm | adaptierter Phage |
|-----------------|------------------|------------------|-------------------|
| Φ 84/1 | 03-03044 | 74-00111 | Φ 84/2 |
| Φ 48/1 | 75-00545 | 97-04211 | Φ 48/2 |
| Φ 110/1 | 04-08506 | 00-01752 | Φ 110/2 |

Die nachfolgende Analyse von 1008 *S. Infantis*-Isolaten aus den Jahren 1973 - 2009 zeigte 69 provisorische Lysotypen (Haupttypen mit Varianten).

Jeweils ein Stamm der provisorischen Lysotypen wurde mit 17 Phagen (14 Phagen und 3 neue adaptierte Phagen, 5. Stufe) wiedertypisiert (Daten nicht gezeigt). Mit Hilfe der 17 diskriminierenden Phagen wurden 61 Lysotypen bestimmt (Tabelle 18, Anhang). Die endgültige Auswahl der Phagen für das Lysotypieschema ist in der Tabelle 7 dargestellt. Die am häufigsten nachgewiesenen Lysotypen waren LT 29 (28 %), LT 1 (20 %), LT 11 (7 %), LT 9 (7 %), LT 24 (6 %), LT 4 (3,7 %), LT 8 (3 %), LT 61 (2,6 %) aller untersuchten Stämme.

4.1.5 Die Typisier- und die Diskriminationsfähigkeit

Von allen 1008 untersuchten Stämmen wurden 23 Isolate als untypisierbar (2,3 %) eingestuft und somit eine Typisierfähigkeit von 97,7 % erreicht. Der diskriminatorische Index nach Simpson's (D-Index) für 985 Stämme (ohne untypisierbare) betrug in unserem Fall 0,86 mit einem Konfidenzintervall von 0,842 bis 0,871 (Daten nicht gezeigt).

4.1.6 Untypisierbarkeit bei *S. Infantis*-Stämmen

Bei allen getesteten Stämmen wurde der vollständige Antigenbestand (O 6, 7 sowie die Geißelantigene H r : H 1, 5) nachgewiesen. Die untypisierbaren Stämme (n = 23) wurden auf die Rauh-Form (rough) überprüft (3.2.8.1). Die Ergebnisse zeigten, dass es sich um Stämme der Glatt-Form (smooth) handelte. In der Tabelle 19 ist der Anteil der untypisierbaren Isolate im Vergleich zu allen in dieser Arbeit getesteten *S. Infantis*-Stämmen pro Jahr dargestellt.

Tabelle 19: Anteil der untypisierbaren *S. Infantis*-Stämme zwischen 1973 – 2009

| Jahr | Anzahl Stämme | ut-Stämme | Anteil (%) |
|--------------|----------------------|------------------|-------------------|
| 1973 | 2 | - | - |
| 1974 | 29 | - | - |
| 1975 | 12 | - | - |
| 1995 | 2 | - | - |
| 1996 | 19 | 1 | 5,2 |
| 1997 | 11 | 1 | 9,0 |
| 1998 | 9 | - | - |
| 1999 | 43 | 1 | 2,3 |
| 2000 | 16 | - | - |
| 2001 | 24 | - | - |
| 2002 | 56 | 2 | 3,6 |
| 2003 | 65 | 1 | 1,5 |
| 2004 | 149 | 13 | 8,7 |
| 2005 | 76 | 2 | 2,6 |
| 2006 | 125 | 1 | 0,8 |
| 2007 | 232 | 1 | 0,4 |
| 2008 | 101 | - | - |
| 2009 | 37 | - | - |
| Summe | 1008 | 23 | 2,3 |

4.1.7 Testung der *S. Infantis* Typisierphagen auf ihre Spezifität

Stämme anderer Serovare sowohl der gleichen O-Antigengruppe 6, 7 (C1), *S. Virchow*, *S. Oranienburg* und *S. Colindale* als auch anderer O-Antigengruppen, *S. Typhimurium* (B), *S. Derby* (B), *S. Heideberg* (B), *S. Enteritidis* (D1), *S. Hadar* (C2), *S. Bovismorbificans* (C2) wurden mittels *S. Infantis*-Phagen des Typisiersatzes getestet. Die *S. Infantis*-Typisierphagen zeigten mit allen getesteten Stämmen anderer Serovare keine Reaktion (Daten nicht gezeigt).

4.2 Anwendung des Lysotypiesystems für epidemiologische Zwecke

4.2.1 Verteilung der Lysotypen nach Herkunft

In diesem Teil werden bereits Ergebnisse der PFGE-Analyse dargestellt, weil die Daten der Lysotypie und der PFGE-Analyse unter einem epidemiologischen Aspekt sehr verbunden sind. In der Tabelle 20 sind einige Lysotypen zu sehen, die sowohl bei Patienten-Isolaten als auch bei Tieren, Futtermitteln und Umweltisolaten (z. B. 1, 4, 8, 9, 11, 24, 25, 29 und 33) nachgewiesen wurden.

Tabelle 20: S. Infantis Lysotypen nach Herkunft

| Herkunft | Lysotyp |
|------------------------|---|
| Mensch (n = 514) | 1, 4, 8, 9, 11, 19, 21, 24, 29, 30, 33, 38, 51, 53, 57, 59, 60, ut* |
| Masthähnchen (n = 199) | 1, 4, 6, 8, 9, 10, 11, 14, 15, 17, 24, 25, 26, 29, 32, 33, 35, 38, 41, 46, 49, 58, 61 |
| Legehennen (n = 16) | 8, 10, 29, 30, 45, ut |
| Schwein (n = 71) | 1, 2, 3, 5, 8, 9, 11, 21, 24, 25, 29, 30, 33, 39, 55, 61, ut |
| Rind (n = 39) | 1, 9, 11, 18, 24, 29 |
| Pute (n = 2) | 8, 29 |
| Ente (n = 4) | 61 |
| Gans (n = 1) | 29 |
| Wildtiere (n = 16) | 1, 4, 5, 8, 9, 15, 17, 40, ut |
| Hund (n = 6) | 8, 9, 10, 11, 29, 41 |
| Futtermittel (n = 21) | 1, 9, 10, 11, 13, 24, 29, 41, 42, 53 |
| Umwelt (n = 59) | 1, 4, 5, 8, 9, 10, 11, 15, 23, 24, 26, 28, 29, 30, 33, 43, ut |
| Lebensmittel (n = 54) | 1, 4, 6, 8, 9, 11, 17, 19, 24, 26, 29, 33, 39, 40, 53 |
| Sonstiges (n = 6) | 11, 26, 47, 54, 56 |

* ub., untypisierbare Stämme

Im Gegensatz dazu kommen Stämme mit folgenden Lysotypen nur bei bestimmten Tierarten vor: wie bei Legehennen LT 45, bei Masthähnchen LT 35, LT 38, LT 46 und beim Schwein LT 2, LT 3. Bei Masthähnchen wurden LT 4/*Xba*I 4 und LT 29/*Xba*I 5, 27 am häufigsten nachgewiesen, wobei die Stämme mit der Kombination LT 29/*Xba*I 5 ursprünglich aus Ungarn stammten. Beim Schwein wurden folgende Lyso-, *Xba*I-Typen als epidemiologisch relevant angesehen: LT 1/*Xba*I 34, LT 11/*Xba*I 7 und LT 21/*Xba*I 1a. LT 11 und LT 24/*Xba*I 2 wurden mehrfach beim Rind gefunden. Bei dieser epidemiologischen Analyse wurde festgestellt, dass die zahlreichen beim Tier gefundenen Stämme nicht beim Menschen angekommen sind, beispielsweise Stämme des LT 3 sowie LT 55 (Schwein), LT 6 (Wildschwein), LT 14, LT 35, LT 40, LT 46, LT 58, LT 61 (Masthähnchen), LT 18 (Rind) und LT 45 (Legehennen).

4.2.2 Verteilung der Lysotypen nach geografischem Auftreten

Eine Übersicht über das Vorkommen der Lysotypen in den einzelnen Ländern für die Jahre 1973 - 2009 gibt die Tabelle 21. Es ist zu erkennen, dass einige Lysotypen sowohl in Deutschland als auch weltweit verbreiten sind. Dagegen konnten einige Lysotypen nur in bestimmten Ländern gefunden werden: LT 40 für England, LT 16 für Kanada bzw. LT 17 für Australien oder LT 55 und LT 61 für Island.

Tabelle 21: Weltweit vorkommende *S. Infantis*-Lysotypen

| Land | Lysotyp | Herkunft |
|---------------------------------------|---|--|
| Australien (n = 44) | 1, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 17, 32, 41, 49, ut* | Mensch, Masthähnchen, Ei, Schwein, Rind, Ziege, Futtermittel, Reptilien, Hund |
| Brasilien (n = 15) | 1, 9, 24, 25 | Schwein |
| Deutschland (n = 857) | 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 26, 27, 28, 30, 31, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 42, 43, 44, 48, 50, 51, 52, 53, ut | Mensch, Masthähnchen, Legehennen, Ei, Schwein, Rind, Futtermittel, Reptilien, Hund |
| England (n = 2) | 40 | Rebhuhn |
| Island (n = 31) | 1, 9, 25, 51, 55, 61 | Mensch, Masthähnchen, Schwein, Ente |
| Kanada (n = 1) | 16 | Mensch |
| Niederlande (n = 1) | 1 | Masthähnchen |
| Polen (n = 1) | 1 | unbekannte Herkunft |
| Senegal (n = 1) | ut | unbekannte Herkunft |
| Tunesien (n = 1) | 43 | Mensch |
| Ungarn (n = 38) | 4, 11, 26, 29, 46, 54, 56, 57, 58, 59, 60 | Masthähnchen, Pute, Schwein |
| USA (n = 1) | 39 | Schwein |
| Vereinigte Arabische Emirate (n = 15) | 1, 4, 8, 9, 15, ut | Masthähnchen, Kamel, Falke, Reptilien |

* ub., untypisierbare Stämme

4.2.3 Verteilung der Lysotypen nach epidemiologischer Relevanz

4.2.3.1 Ausbruchsuntersuchungen

Neben den vielen Einzelerkrankungen konnten 187 (36 %) der untersuchten humanen *S. Infantis*-Stämme Ausbrüchen zugeordnet werden. In der Tabelle 22 sind Familien- und Gruppenerkrankungen sowie Hospitalinfektionen im Zeitraum 1974 - 2009 mit den jeweiligen Lysotypen sowie *XbaI*-Typen zusammengefasst. Bei epidemiologisch relevantem Geschehen (Isolate mit zeitlichem und örtlichem Zusammenhang) wiesen alle Ausbruchs-Stämme den einheitlichen Lyso- und *XbaI*-Typ auf. Die *XbaI*-Makrorestriktionsanalyse wurde nicht für jede Ausbruchsuntersuchung retrospektiv durchgeführt. Bei den 40 untersuchten Lebensmittelvergiftungen sowie 10 Ausbrüchen in Krankenhäusern in Deutschland wurden 12 Lysotypen (1, 4, 8, 9, 11, 19, 21, 23, 24, 29, 30 sowie 33) ermittelt. Manche Typen kamen häufig vor, wie LT 1 (n = 11) und LT 29 (n = 19), dagegen wurden andere wie LT 4 und LT 8 nur bei einzelnen Geschehen ermittelt. Die erfolgreiche Anwendung der Lysotypie zusammen mit der PFGE-Analyse zur Aufklärung von Ausbrüchen wird nachfolgend an einigen Beispielen erläutert.

Tabelle 22: S. Infantis-Ausbrüche 1974 - 2008 (n = 50) nach Bundesland und Lyso/XbaI-Typ

| Bundesland | Jahr | Ort, Ausbruch-Typ, ggf. Infektionsquelle | Lyso/XbaI-Typ |
|------------------------|------|--|---------------|
| Baden-Württemberg | 2002 | Offenburg, F ¹ . | LT 24 |
| | 2002 | Dobel, G ² ., Hospitalinfektion | LT 29/ 27 |
| | 2003 | Dobel, G., Hospitalinfektion | LT 29/ 27 |
| | 2004 | Dobel, G., Hospitalinfektion | LT 29/ 27 |
| | 2007 | Dobel, G., Hospitalinfektion | LT 29/ 27 |
| | 2008 | Dobel, G., Hospitalinfektion | LT 29/ 27 |
| Bayern | 1997 | München, G., IQ ³ : Salami | LT 9 |
| | 2004 | München, G., IQ: Backwaren bzw. Ausscheider | LT 53/ 6 |
| | 2004 | Eichstätt, G., IQ: Backwaren bzw. Ausscheider | LT 53/ 6 |
| Brandenburg | 2004 | Ranzig, G., IQ: Landfleischerei, Fleischwaren | LT 11/ 7 |
| Berlin | 2002 | F. | LT 1 |
| Hessen | 1975 | G. | LT 23 |
| | 1997 | Bad Camberg, F. | LT 33 |
| Mecklenburg-Vorpommern | 1998 | Rostock, G. | LT 29 |
| | 1999 | Laage, F. | LT 1 |
| | 1999 | Groß Lüsewitz, F. | LT 1 |
| | 2002 | Vielank, F. | LT 1 |
| Niedersachsen | 1974 | G. | LT 1 |
| | 1998 | Lüneburg, G., IQ: Salat-Dressing mit rohen Eiern | LT 8/ 43a |
| | 2002 | Bodensee, F. | LT 29 |
| | 2006 | Goslar, G. | LT 29 |
| | 2007 | Goslar, G. | LT 29/ 6 |
| | 2007 | Bovenden, F. | LT 29/ 27a |
| Nordrhein-Westfalen | 1996 | Köln, F. | LT 29 |
| | 1999 | Hamm, G., Hospitalinfektion | LT 1 |
| | 2000 | Bad Driburg, G., Klinikum | LT 24/ 2 |
| | 2007 | Greven, G., IQ: Abiturfeier, Ausscheiderin | LT 1/ 34a |
| | 2008 | Aachen, G. | LT 21/ 1a |
| | 2008 | Stolberg, IQ: Döner mit Geflügelfleisch | LT 1/ 34 |
| Sachsen-Anhalt | 1996 | Magdeburg, F., IQ: Ausscheiderin | LT 29 |
| | 1997 | Bernburg, F. | LT 30 |
| | 2001 | Köthen, F. | LT 1 |
| | 2001 | Wittenberg, F. | LT 1 |
| | 2002 | Aken, F. | LT 1 |
| | 2003 | Wittenberg, F. | LT 11 |
| | 2004 | Drohndorf, F., IQ: Ausscheider | LT 29 |
| | 2005 | Naumburg, F. | LT 24/ 2 |
| | 2005 | Ahlsdorf, F., IQ Ausscheiderin | LT 30 |
| | 2007 | Zerbst, F. | LT 29/ 6 |
| Schleswig-Holstein | 2003 | Bundeswehrstandort, G. | LT 1/ 34 |
| Thüringen | 1999 | Sollstedt, F. | LT 4/ 4 |
| | 2000 | Saalfeld, F. | LT 19 |
| | 2000 | Katzhütte, F. | LT 9 |
| | 2002 | Eichsfeldkreis, G. | LT 11 |
| | 2003 | Harzungen, F. | LT 24 |
| | 2006 | Eichsfeldkreis, G. | LT 29/ 27 |

| Bundesland | Jahr | Ort, Ausbruch-Typ, ggf. Infektionsquelle | Lyso/XbaI-Typ |
|------------|------|--|---------------|
| | 2007 | Eichsfeldkreis, G. | LT 29/ 27a |
| | 2007 | Kirchworbis, F., IQ: Masthähnchen | LT 29/ 27 |
| | 2007 | Kirchgandern, F. | LT 29/ 27b |
| | 2008 | Stadtilm, G., Klinikum | LT 29/ 27 |

¹F., Familienerkrankung; ²G., Gruppenerkrankung; ³IQ., Infektionsquelle

Nosokomiale Infektionen

Baden-Württemberg 2002 - 2008

Wie aus der Tabelle 22 ersichtlich, ist besonders bemerkenswert, dass der Serovar *S. Infantis* auch als Erreger mehrerer nosokomialer Ausbrüche in Deutschland eine Rolle spielt. Es handelte sich z. B. um einen Klon, der seit 2002 in einer Klinik immer wieder auftrat. Auch im Jahr 2008 kamen wieder Patientenisolat aus dieser Klinik zur Feintypisierung, die identisch zum Typ LT 29/XbaI 27 waren. In der Abbildung 10 ist zu sehen, dass Isolate zwischen 2004 und 2008 ein identisches Bandenmuster aufweisen. Bei dem Stamm 04-02619 konnte allerdings eine kleine zusätzliche Bande von ca. 60 kbp nachgewiesen werden. Die Infektionsquelle wurde vom zuständigen Gesundheitsamt bisher nicht gefunden.

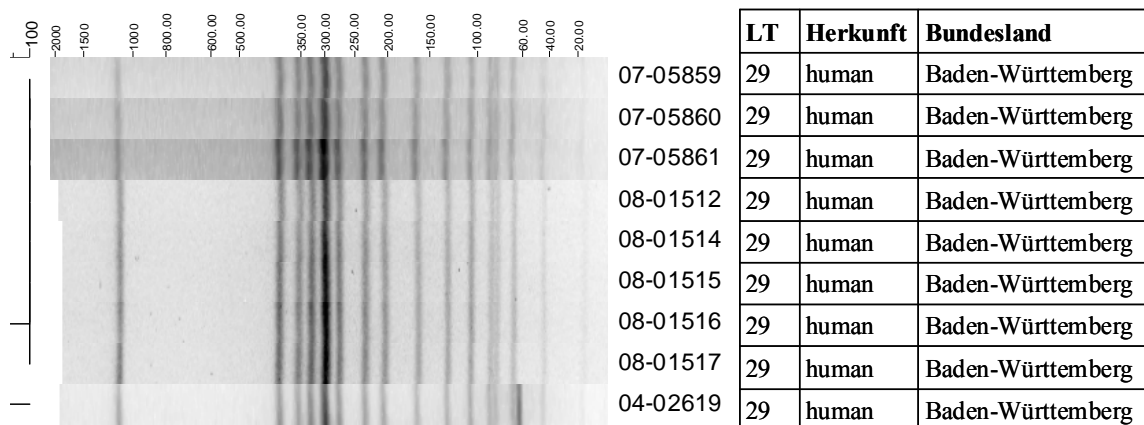


Abbildung 10: Ausbruchsisolate 2004 - 2008 aus der Klinik (LT 29/XbaI 27)

Bayern 2004

Von der 3. bis zur 52. Meldewoche (MW) im Jahr 2004 wurden in Bayern 188 *S. Infantis*-Infektionen gemeldet (Abbildung 11). Die ersten Human- und Lebensmittel-Isolate sind im Mai 2004 zur Feindifferenzierung an das NRZ gesandt worden. Durch Lysotypie und PFGE konnten alle als identische Isolate charakterisiert werden (LT 53/XbaI 6, „Bayerischer Klon“). In der 28. MW kam es zu einem größeren Ausbruch durch diesen „Bayerischen Klon“ in einem Krankenhaus der Stadt A, bei dem sowohl Patienten der geriatrischen Abteilung als

auch Kinder des Krankenhauskindergartens betroffen waren. Alle Kinder hatten von einer in der Krankenhausküche zubereiteten Erdbeertorte gegessen. Wenig später wurde ein weiterer Ausbruch in einem Krankenhaus der Stadt B bekannt, wo eine Himbeertorte als Infektionsquelle für *S. Infantis* ermittelt werden konnte. In der Großbäckerei, die diese Himbeertorte geliefert hatte, wurde noch in vier anderen Konditoreiwaren (Fruchtkugeln, Frankfurter Kranz, Nusscremetorte, Bananen-Törtchen) *S. Infantis* nachgewiesen. Die Personaluntersuchungen durch das Gesundheitsamt ergaben, dass zwei Mitarbeiter der Bäckerei *Salmonella*-positiv (*S. Enteritidis* bzw. *S. Infantis*) waren. Die vermutete Ursache der Kontamination lag in der Verwendung von Eiern für Tortencremes oder bei einem *S. Infantis*-positiven Mitarbeiter. Alle fünf Isolate aus den Backwaren gehörten zum sog. „Bayerischen Klon“ (LT 53/XbaI 6). *S. Infantis*-Isolate von Mitarbeitern standen für eine Typisierung nicht zur Verfügung. In der Folge kam es zu weiteren regional verteilten Infektionen durch den „Bayerischen Klon“. Darüber hinaus wurden 2004 auch *S. Infantis*-Stämme mit anderen LT/XbaI-Mustern in Bayern nachgewiesen (Abbildung 11).

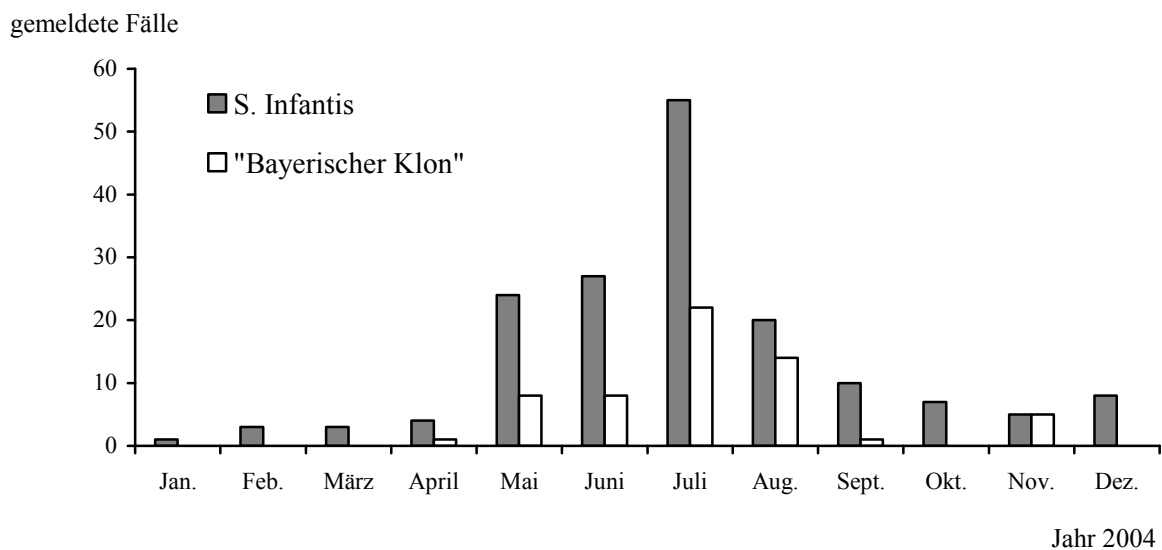


Abbildung 11: *S. Infantis*-Fälle nach Monat und dem Anteil des „Bayerischen Klons“

Lebensmittelvergiftungen

Niedersachsen 1998

Wie aus der Tabelle 22 ersichtlich, sind kontaminierte Lebensmittel ursächlich für einige andere Gruppenerkrankungen. So wurde im Jahr 1998 im Rahmen eines Schützenfestes in

Niedersachsen ein Ausbruch durch den LT 8/XbaI 43a beobachtet, der 72 Personen betraf. In einem mit Rohei zubereiteten Kartoffelsalat wurde der gleiche Typ nachgewiesen.

Brandenburg 2004

Ein weiterer Ausbruch wurde im Jahr 2004 in einer Landfleischerei in Ranzig ermittelt. Bei den Angestellten, die als Salmonellen-Keimträger in den fleischverarbeitenden Betrieben bzw. Verkaufsfilialen tätig waren, wurde LT 11/XbaI 7 identifiziert, der sowohl bei den Erkrankten als auch in der Hackfleischprobe nachgewiesen wurde. Die ursprüngliche Herkunft der Salmonellen konnte nicht gefunden werden. Untersuchungen im Herkunftsbestand der Schlachtschweine der Agrargenossenschaft Ranzig verliefen ohne Ergebnis. Die Untersuchungen von Stuhlproben der Mitarbeiter dieses Schlachtbetriebes ergaben in 9 Fällen den Nachweis von *S. Infantis* (5 der 9 Mitarbeiter waren klinisch erkrankt). Durch die vom Gesundheitsamt veranlassten Stuhlkontrollen der Mitarbeiter der Landfleischerei wurden 4 Personen als Ausscheider ermittelt. Da die als Ausscheider erfassten Mitarbeiter der Landfleischerei die von ihnen hergestellten Produkte auch selbst verzehrten, konnte nicht geklärt werden, ob sie die Erregerquelle für das Zustandekommen der Lebensmittelinfektion darstellten.

Nordrhein-Westfalen 2007

Nach einer Abiturfeier in Greven kam es am 16. Juni 2007 zu einer Gruppenerkrankung. Insgesamt wurden dem Gesundheitsamt 34 Personen mit Symptomen gemeldet. Das Buffet dieser Feier für 450 Personen wurde von einem Catering-Unternehmen angefertigt, das am gleichen Tag noch weitere Veranstaltungen belieferte. Insgesamt sind ca. 700 Portionen an diesem Tag gefertigt worden. Die Rückstellproben der angebotenen Speisen waren nicht mehr vorhanden. Von den anderen Veranstaltungen sind keine Erkrankungsfälle bekannt geworden. Bei den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Firma traten keine Krankheitserscheinungen auf, jedoch führten die mikrobiologischen Untersuchungen der Stuhlproben bei einer Köchin zum Nachweis von *S. Infantis*. Zur Bearbeitung und Aufklärung des Ausbruchsgeschehens wurde eine retrospektive Kohortenstudie durchgeführt. Die Kohortenstudie erfolgte anhand eines standardisierten Fragebogens, der den Teilnehmern der Abiturfeier zugeschickt wurde. Insgesamt wurden 89 Personen in die Auswertung einbezogen, davon 34 Fälle und 55 Kontrollen. Danach ergaben sich zwischen dem Verzehr der einzelnen Speisen und Getränke und den Erkrankungen folgende Korrelationen: das höchste Infektionsrisiko lag beim Schweinebraten (Relatives Risiko = RR 1,95) vor. Ein geringeres Risiko wurde in der Studie

aber auch für den Verzehr der Butterplatte (RR 1,28), der Baguette und Partybrötchen (RR 1,16) und von Hähnchenbrustfilets (RR 1,13) festgestellt. Einige Patientenisolat dieses Ausbruchs wurden zur Feintypisierung an das NRZ gesandt. Beide Untersuchungsmethoden (Lysotypie, PFGE) ergaben eine Übereinstimmung der Ergebnisse LT 1/*Xba*I 34a. Der gleiche Lyso- bzw. *Xba*I-Typ wurde auch aus den Stuhlproben der Köchin ermittelt. Da die Ausscheiderin nichts von den Speisen des Buffes gegessen hatte, ist davon auszugehen, dass die erkrankten Personen durch kontaminierte Lebensmittel infiziert wurden.

Überregionaler Ausbruch 2007

Im Oktober 2007 fiel eine überregionale Häufung von *S. Infantis*-Meldungen aus Thüringen, Niedersachsen und Nordrhein-Westfalen (14 Erkrankungsfälle) auf. Die Isolate wurden dem zeitlichen Zusammenhang nach zugeordnet. Die Erkrankten hatten Fleisch- und Wurstwaren von verschiedenen Landfleischereien eingekauft. Die daraufhin veranlassten Untersuchungen des Veterinäruntersuchungsamtes und des Gesundheitsamtes erbrachten keinen Nachweis von Salmonellen in Tupfer- und Stuhlproben der Mitarbeiter und Mitarbeiterinnen dieser Landfleischereien. Lebensmittelproben wurden nicht zurückgestellt. Alle 14 *S. Infantis*-Isolate sind einheitlich bezüglich des LT-Typs und *Xba*I-Typs (LT 29/*Xba*I 27a).

Nordrhein-Westfalen 2008

Eine islamische Gesellschaft veranstaltete am 01.11.2008 ein Fest in Stolberg. Von etwa 400 Teilnehmern erkrankten rund 80 Personen, darunter 20 Kinder im Alter von 6 bis 10 Jahren, wobei 2 Kinder und ca. 30 Erwachsene hospitalisiert werden mussten. Die Betroffenen zeigten Übelkeit, Erbrechen, Magenschmerzen sowie Fieber. Als vermutliche Infektionsquelle wurde der Verzehr von Döner mit Geflügelfleisch angenommen. Der tiefgefrorene Döner wurde von einem Großhändler aus Köln geliefert. Einige Patientenisolat dieses Ausbruchs wurden zur Feintypisierung an das NRZ gesandt, dabei wurden alle Isolate dem LT 1/*Xba*I 34 zugeordnet.

4.2.3.2 Sporadische Isolate

64 % aller getesteten humanen *S. Infantis*-Stämme (n = 327) gehörten zu den sporadischen Isolaten. Aus epidemiologischer Sicht ist es wichtig zu analysieren, wie mittels des neu entwickelten Lysotypiesystems sporadische Isolate unterteilen werden können. Trotz der großen Fülle von Lysotypen (61) stehen nur sehr wenige Typen epidemiologisch im Vordergrund, z. B. die Lysotypen 1, 4, 8, 9, 11, 21, 24, 29, 30 und 33, die immer wieder

deutschlandweit aufgetreten, wobei die LT 1 und LT 29 dominierten. Die Tabellen 23 und 24 zeigen, dass sporadische Isolate mit zeitlichem und/oder örtlichem Zusammenhang sowohl mittels Lysotypie als auch mittels PFGE-Analyse einheitlichen und verschiedenen Typen zugeordnet werden konnten. Bei einigen sporadischen Fällen ließ sich vermuten, dass mehrere „Ausbruchsgeschehen“ unentdeckt waren. So konnten retrospektiv z. B. die beiden Fälle des Typs LT 8/*Xba*I 33 aus Sachsen-Anhalt sowie zwei Isolate des Typs LT 10/*Xba*I 34b aus Thüringen in einen epidemiologischen Zusammenhang gestellt werden.

Tabelle 23: Vorkommen von identischen Lyso/*Xba*I-Typen bei Isolaten mit zeitlichem und örtlichem Zusammenhang

| Lyso/ <i>Xba</i> I-Typ* | RKI-Nr. | Isolierungsdatum | Bundesland | Herkunft |
|-------------------------|----------|------------------|-------------------------------|----------|
| 1 / - | 01-11512 | 26.11.2001 | Sachsen-Anhalt, Aken | Mensch |
| 1 / - | 01-11412 | 20.11.2001 | Sachsen-Anhalt, Aken | Mensch |
| 11 / - | 02-01836 | 09.03.2002 | Thüringen, Eichsfeldkreis | Mensch |
| 11 / - | 02-01597 | 28.02.2002 | Thüringen, Eichsfeldkreis | Mensch |
| 11 / - | 03-07625 | 24.10.2003 | Sachsen-Anhalt, Wittenberg | Mensch |
| 11 / - | 03-08272 | 19.11.2003 | Sachsen-Anhalt, Wittenberg | Mensch |
| 8 / 33 | 04-05520 | 18.08.2004 | Sachsen-Anhalt, Aken | Mensch |
| 8 / 33 | 04-05586 | 21.08.2004 | Sachsen-Anhalt, Wittenberg | Mensch |
| 1 / 34 | 05-02254 | 29.04.2005 | Berlin | Mensch |
| 1 / 34 | 05-02429 | 07.04.2005 | Berlin | Mensch |
| 29 / 27 | 06-04383 | 05.07.2006 | Niedersachsen, Hann. Münden | Mensch |
| 29 / 27 | 06-04384 | 05.07.2006 | Niedersachsen, Bovenden | Mensch |
| 10 / 34b | 07-06962 | 11.10.2007 | Thüringen, Wutha-Farnroda | Mensch |
| 10 / 34b | 07-07661 | 20.10.2007 | Thüringen, Wutha-Farnroda | Mensch |
| 29 / 6 | 07-07565 | 01.11.2007 | Sachsen-Anhalt | Mensch |
| 29 / 6 | 07-07797 | 10.11.2007 | Sachsen-Anhalt | Mensch |
| 9 / - | 08-05828 | 01.09.2008 | Nordrhein-Westfalen, Arnsberg | Mensch |
| 9 / - | 08-05614 | 29.08.2008 | Nordrhein-Westfalen, Aachen | Mensch |
| 1 / - | 08-04926 | 07.08.2008 | Sachsen-Anhalt | Mensch |
| 1 / - | 08-04904 | 08.08.2008 | Niedersachsen | Mensch |

* *Xba*I-Analyse nicht in allen Fällen durchgeführt

Tabelle 24 zeigt, dass Isolate, die zeitnah eingeschickt wurden, nicht immer zu einem Ausbruch gehörten. So stehen z. B. die isolierten Stämme vom 20.11.2008 des Labors Mönchengladbach, Medizinisches Versorgungszentrum Dr. Stein und Kollegen, Nordrhein-Westfalen in keinem epidemiologischen Zusammenhang.

Tabelle 24: Vorkommen verschiedener Lyso/XbaI-Typen bei Isolaten mit zeitlichem und örtlichem Zusammenhang

| Lyso- typ | RKI-Nr. | Isolierungs- datum | Bundesland | Herkunft |
|--------------|----------|-----------------------|----------------------------|----------|
| ut* | 03-00766 | 28.01.2003 | Sachsen-Anhalt, Wittenberg | Mensch |
| 11 | 03-01028 | 14.01.2003 | Sachsen-Anhalt, Wittenberg | Mensch |
| 29 | 08-07524 | 20.11.2008 | Nordrhein-Westfalen | Mensch |
| 21 | 08-07523 | 20.11.2008 | Nordrhein-Westfalen | Mensch |
| 52 | 08-07291 | 06.11.2008 | Nordrhein-Westfalen | Mensch |
| 1 | 08-07292 | 07.11.2008 | Nordrhein-Westfalen | Mensch |

* untypisierbares Isolat

Außer den seltenen Lyso-*typen* LT 2, LT 7, LT 13, LT 19, LT 20, LT 31, LT 34, LT 36, LT 37, LT 42 und LT 52, wurden noch weitere 15 Lyso-*typen* gefunden, die nur einmal beim Menschen identifiziert wurden (Tabelle 25).

Tabelle 25: Einzelisolate mit einmalig nachgewiesenem Lyso-*typ*

| Lyso- typ | RKI-Nr. | Bundesland | Herkunft |
|--------------|----------|---------------------|----------|
| LT 12 | 07-02668 | Nordrhein-Westfalen | Mensch |
| LT 16 | 02-03440 | Kanada | Mensch |
| LT 22 | 99-05640 | Nordrhein-Westfalen | Mensch |
| LT 27 | 07-05486 | Niedersachsen | Mensch |
| LT 34 | 08-03859 | Niedersachsen | Mensch |
| LT 36 | 01-04952 | Sachsen-Anhalt | Mensch |
| LT 37 | 04-08067 | Thüringen | Mensch |
| LT 44 | 07-07329 | Schleswig-Holstein | Mensch |
| LT 48 | 08-05560 | Niedersachsen | Mensch |
| LT 49 | 06-08843 | Australien | Mensch |
| LT 50 | 97-04211 | Hessen | Mensch |
| LT 51 | 74-00923 | Nordrhein-Westfalen | Mensch |
| LT 57 | 09-00529 | Ungarn | Mensch |
| LT 59 | 09-00526 | Ungarn | Mensch |
| LT 60 | 09-00531 | Ungarn | Mensch |

4.3 Nachweis und Sequenzierung des Virulenzgens *sopE*

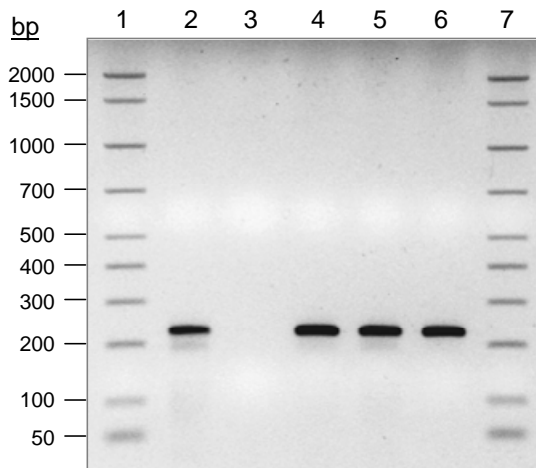
Zur weiteren Subdifferenzierung der bereits definierten Lyso-*typen* wurde eine PCR zum Nachweis des *sopE*-Gens entwickelt. Es wurden sowohl die Stämme von epidemiologisch häufig vorkommenden Lyso-*typen* als auch von seltenen Lyso-*typen* untersucht. In den getesteten 50 Ausbruchsisolaten wurde das *sopE*-Gen nicht gefunden (Daten nicht gezeigt). Es wurden zusätzlich 115 ausgewählte *S. infantis* Isolate mit den häufigen und seltenen Lyso-*typen* auf Vorkommen des Gens überprüft (Tabelle 26). Außer den drei *sopE*-positiven Isolaten des LT 26 waren alle getesteten Stämme negativ. In der Abbildung 12 sind die positiven PCR-Amplifikate dargestellt.

Tabelle 26: Anzahl der *sopE*-positiven *S. Infantis*-Stämme nach Lysotypen

| Lysotyp | Anzahl der Stämme | |
|---------|-------------------|---------------|
| | <i>sopE</i> - | <i>sopE</i> + |
| 1 | 26 | - |
| 2 | 2 | - |
| 4 | 2 | - |
| 8 | 3 | - |
| 9 | 8 | - |
| 10 | 1 | - |
| 11 | 10 | - |
| 14 | 2 | - |
| 16 | 7 | - |
| 17 | 1 | - |
| 20 | 2 | - |
| 24 | 9 | - |

| Lysotyp | Anzahl der Stämme | |
|---------|-------------------|---------------|
| | <i>sopE</i> - | <i>sopE</i> + |
| 25 | 5 | - |
| 26 | 3 | 3 |
| 27 | 1 | - |
| 31 | 12 | - |
| 32 | 2 | - |
| 35 | 1 | - |
| 36 | 1 | - |
| 40 | 1 | - |
| 44 | 9 | - |
| 51 | 1 | - |
| 53 | 3 | - |
| ut* | 3 | - |

* ut., untypisierbare Stämme



Legende:

- 1, 7 Molekulargewichtsstandard (BioRad)
- 2 Positivkontrolle *S. Colindale*, 00-02781
- 3 Negativkontrolle
- 4 04-04044 (Masthähnchen)
- 5 04-09356 (Mensch)
- 6 07-05050 (Lebensmittel)

Abbildung 12: Darstellung der *sopE*-Gen-Amplifikate (229 bp) bei *S. Infantis*-Stämmen

Die Sequenzierungen wurden unter den in Punkt 3.2.9.3 beschriebenen Bedingungen und Konditionen durchgeführt und anschließend mit Hilfe des Programms LaserGene SeqMan ausgewertet. Das Alignment wurde mit Hilfe der NCBI/BLAST Software des *European Bioinformatics Institute* Heidelberg durchgeführt. Dabei ist zu beachten, dass *sopE*-Nukleotidsequenzen von *S. Infantis*-Stämmen (04-04044, 04-09356, 07-05050) eine 100-%ige Übereinstimmung mit *S. Infantis G-nucleotide exchange factor SopE* (Zugangsnummer: AY167931.1) aufwiesen. Weitere Sequenzvergleiche ergaben 96 % Homologie zum Gen *sopE* von anderen Serovaren, z. B. *S. Paratyphi A*, *S. Typhi* und *S. Heidelberg*. Die Sequenz von *S. Colindale* (00-02781) zeigte eine 100-%ige

Verwandtschaft mit dem Stamm AKU-12601 des Serovars *S. Paratyphi A invasion-associated secreted protein* (Zugangsnummer: FM200053.1).

4.4 Bestimmung der Antibiotikaresistenz

Insgesamt wurden 937 *S. Infantis*-Isolate hinsichtlich ihrer Resistenz gegen 17 Antibiotika im Mikrobouillonverdünnungstest geprüft. Der Anteil der Antibiotikaresistenzen bei den untersuchten Stämmen war sehr unterschiedlich und reichte von einer vollständigen Sensibilität ($n = 246$) bis hin zur Mehrfachresistenz (Tabelle 6, Anhang, Abbildung 13). 380 Stämme waren lediglich gegenüber Sulfameracin resistent. Weitere Einfachresistenzen sind bei 7 Isolaten gegen Streptomycin, 3 Isolaten gegen Chloramphenicol, 2 Isolaten gegen Nalidixinsäure und einem Isolat gegen Ampicillin nachgewiesen worden.

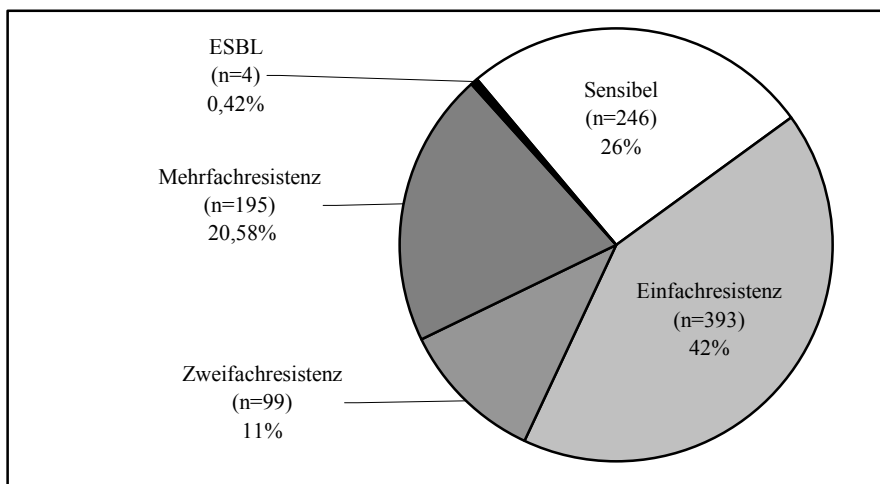


Abbildung 13: Prozentualer Anteil der Antibiotikaresistenz bei *S. Infantis*

In der Abbildung 13 ist zu sehen, dass der prozentuale Anteil der sensiblen und einfachresistenten *S. Infantis*-Stämme 68 % betrug. Zweifachresistente Stämme machten 11 %, mehrfachresistente 20,6 % aus. Außerdem wurden auch sogenannte Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Stämme (ESBL) bei 0,42 % gefunden.

Wie zu erwarten, zeigten alle Stämme eines Ausbruchs identische Antibiotikaresistenzprofile, z. B. alle 14 Ausbruchs isolate LT 29/*Xba*I 27a im Jahr 2007 in Thüringen besaßen Antibiotikaresistenz gegen Ampicillin, Oxytetracyclin und Sulfameracin. Stämme des Ausbruchs mit dem LT 11/*Xba*I 7 in Brandenburg im Jahr 2004 waren nur gegenüber Sulfameracin resistent. Während bei den Stämmen des LT 29/*Xba*I 6, 27 und 27a von Menschen und

Masthähnchen aus Deutschland eine Resistenz nur gegen Sulfonamid oder gegen Ampicillin, Sulfameracin und Oxytetracyclin nachgewiesen wurden, wurden bei den Stämmen des LT 29/*Xba*I 5 von Masthähnchen aus Ungarn eine Mehrfachresistenz gegenüber Chloramphenicol, Nalidixinsäure, Oxytetracyclin, Sulfameracin und Streptomycin gefunden. Eine andere Subgruppe von Stämmen des Lysotyps 29, ebenfalls von Masthähnchen, zeigte das gleiche Resistenzmuster; jedoch waren sie gegen Chloramphenicol empfindlich. Stämme des LT 24/*Xba*I 2, die zwischen 2002 - 2006 sowohl bei Mensch als auch bei Schwein und Rind isoliert wurden, kamen in verschiedenen Bundesländern wie Brandenburg, Schleswig-Holstein, Niedersachsen, Thüringen und Sachsen-Anhalt vor. Diese Stämme besaßen einheitliche Resistenzen gegenüber Chloramphenicol und Sulfameracin.

Zum ersten Mal wurden 2005 bzw. 2007 im NRZ für den Serovar *S. Infantis* vier Isolate gefunden, bei denen eine erweiterte Resistenz gegen Cephalosporine, die ESBL-vermittelte Resistenz nachgewiesen werden konnte. Mittels PCR und anschließender Sequenzierung konnten die ESBL-Typen CTX-M-1 (*bla*_{CTX-M-1}) und TEM-52 (*bla*_{TEM-52}) identifiziert werden (Tabelle 27).

Tabelle 27: ESBL-positive *S. Infantis*-Stämme

| Stamm | Land / Bundesland (D) | Herkunft | <i>Xba</i> I-Typ | LT | ESBL-Typ | Antibiotikaresistenzen |
|----------|-----------------------|--------------|------------------|----|----------|--------------------------|
| 07-07386 | Niederlande | Masthähnchen | 1a | 1 | CTX-M-1 | AMP,CTM,CTX,SMZ,STR,SXT* |
| 05-00102 | Niedersachsen | Mensch | 34 | 1 | TEM-52 | AMP,CAZ,CTM,CTX,SMZ |
| 07-02328 | Nordrhein-Westf. | Mensch | 5a | 29 | CTX-M-1 | AMP,CTM,CTX,SMZ,SXT |
| 07-02577 | Nordrhein-Westf. | Masthähnchen | 27 | 29 | TEM-52 | AMP,CAZ,CTM,CTX,SMZ |

* Abkürzungen s. Abbildung 8

4.5 Anwendung genotypischer Methoden zur Subdifferenzierung

4.5.1 Makrorestriktionsanalyse

Zur molekularen Subdifferenzierung und zur Überprüfung des neu etablierten Lysotypiesystems wurden 325 *S. Infantis*-Isolate vom Mensch, Tier und Lebensmittel durch *Xba*I-Makrorestriktionsanalyse untersucht. 89 dieser Isolate stammten aus 24 ermittelten Ausbrüchen und 236 waren sporadische Isolate verschiedener Herkunft. Es wurden unter den 325 Isolaten 58 *Xba*I-Muster identifiziert, dagegen durch Lysotypie nur 31 Lysotypen festgestellt, wobei 9 Stämme mittels Lysotypie untypisierbar waren. Die *Xba*I-

Makrorestriktionsanalyse wies eine 100-%ige Typisierfähigkeit auf. Der diskriminatorische Index nach Simpson's der PFGE von 325 Isolaten war 0,95 mit einem Konfidenzintervall 0,94 - 0,96 (Daten nicht gezeigt). Für die Lysotypie konnte der diskriminatorische Index 0,82 mit einem Konfidenzintervall von 0,79 bis 0,86 ermittelt werden (Daten nicht gezeigt).

Neben dem diskriminatorischen Index wurde eine Übereinstimmung von Lysotypen bzw. *XbaI*-Typen mittels Wallace's Koeffizienten berechnet. Der Wallace's Koeffizient betrug bei der Lysotypie 25 % und bei der *XbaI*-Analyse 87 % (Daten nicht gezeigt). Die Clusteranalyse der DNA-Fragmentprofile zum Nachweis der Identität bzw. der Heterogenität der 325 *S. Infantis*-Stämme zeigte den prozentualen Verwandtschaftsgrad der Isolate, der in diesem Fall 45 % aufwies (Daten nicht gezeigt). Die häufigsten nachgewiesenen PFGE-Typen waren *XbaI* 27 (13 %), *XbaI* 5 (10 %), *XbaI* 6 (6 %), *XbaI* 34 (8 %), *XbaI* 2 (6 %), *XbaI* 27a (5 %), *XbaI* 4 (5 %), *XbaI* 7 (5 %) und *XbaI* 1a (4 %). Dabei ist anzumerken, dass der mehrfache Nachweis einzelner *XbaI*-Typen mit der vermehrten Untersuchung von Isolaten eines Ausbruchs korreliert, wie z. B. *XbaI* 2, *XbaI* 4, *XbaI* 6, *XbaI* 7, *XbaI* 27, *XbaI* 27a und *XbaI* 34. Im Gegensatz dazu wurde der Typ *XbaI* 5 ausschließlich nur bei den sporadischen Isolaten vom Menschen und von Masthähnchen gefunden. Daneben wurden bei 26 Stämmen einzigartige *XbaI*-Typen identifiziert wie z. B. *XbaI* 1, *XbaI* 10, *XbaI* 12, *XbaI* 20, *XbaI* 21, *XbaI* 22, *XbaI* 23, *XbaI* 25, *XbaI* 31, *XbaI* 32, *XbaI* 36, *XbaI* 37, *XbaI* 41, *XbaI* 42, *XbaI* 44, *XbaI* 47 und *XbaI* 48. Die Stämme, die zu einem Ausbruch gehörten, sind durch einen einheitlichen Lyso- und *XbaI*-Typ gekennzeichnet (Tabelle 6, Anhang), z. B. die Ausbruchsstämme LT 1/*XbaI* 34 von Nordrhein-Westfalen, LT 11/*XbaI* 7 von Brandenburg oder LT 29/*XbaI* 27 von Baden-Württemberg. Darüber hinaus fanden wir über Jahre in sporadischen Isolaten (n = 150) von Menschen, Tieren und Lebensmitteln auch immer wieder diese LT/*XbaI*-Kombinationen wie z. B. LT 1/*XbaI* 34, LT 11/*XbaI* 7 und LT 29/*XbaI* 5, 27 (Tabelle 6, Anhang).

In der Abbildung 14 ist zu sehen, dass die Kombination LT 11/*XbaI* 7 über Jahre bei Mensch, Lebensmitteln und Geflügel nachgewiesen wurde. Bei den Geflügel-Isolaten konnten jedoch in den Jahren 2005 und 2006 geringe Unterschiede der Restriktionsmusters festgestellt werden.

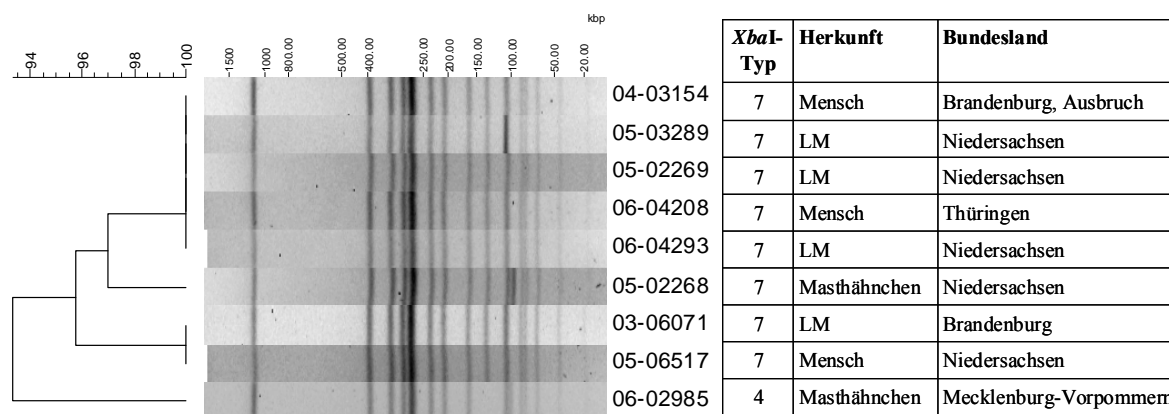


Abbildung 14: Vorkommen der sporadischen Isolate des LT 11

Unter den Stämmen des Lysotyps 24 wurde überwiegend der *XbaI*-Typ 2 gefunden, der bei Mensch, Rind, Schwein sowie Futtermitteln immer wieder aufgetreten ist (Abbildung 15, Tabelle 6, Anhang). Neben diesem „Hauptklon“ konnten noch zwei weitere *XbaI*-Typen (20 und 21) durch *XbaI*-Analyse subdifferenziert werden. Sie unterschieden sich deutlich in den Restriktionsmustern.

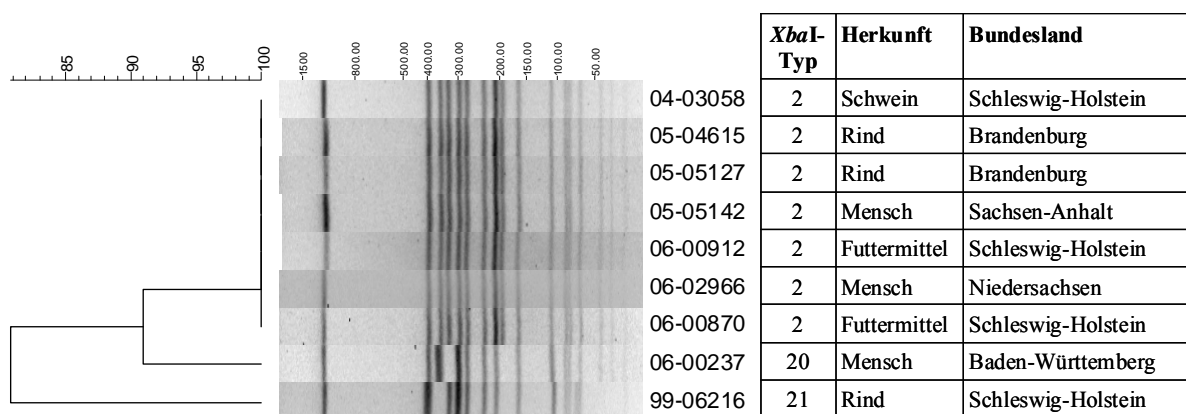


Abbildung 15: Verschiedene *XbaI*-Typen bei Stämmen des LT 24

Weitere sporadische Isolate (n = 86) hingegen zeigten sehr verschiedene Lyso- und *XbaI*-Typ-Kombinationen. Die Lysotypen wie LT 1 und LT 29 wurden durch die *XbaI*-Analyse noch weiter diskriminiert.

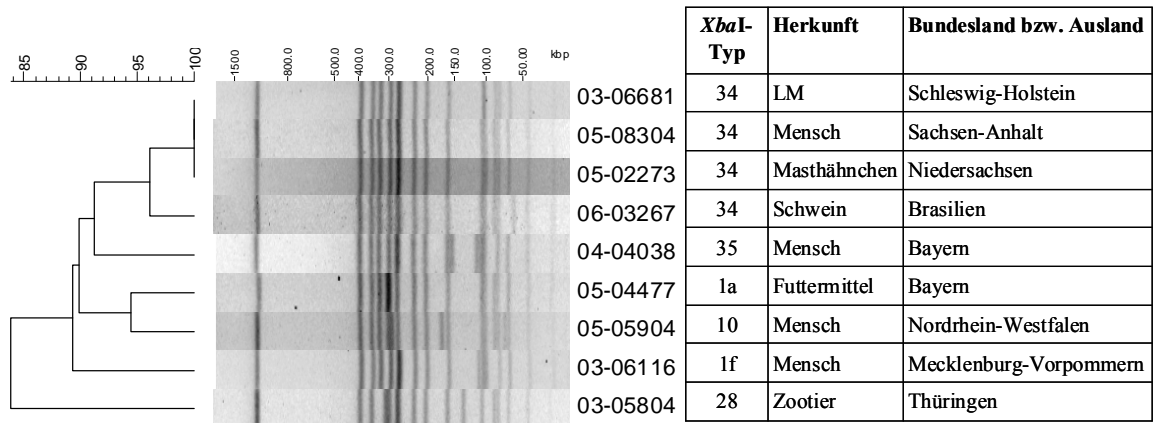


Abbildung 16: Vorkommen der *Xba*I-Typen bei Stämme des LT 1

Durch *Xba*I-Analyse konnten die Isolate des LT 1 in sechs verschiedenen *Xba*I-Mustern (34, 35, 1a, 10, 1f und 28) eingeordnet werden (Abbildung 16). Das *Xba*I Muster 34 war das häufigste bei 19 Stämmen (Tabelle 6, Anhang). Die Stämme des LT 1/*Xba*I 34 traten über Jahre bei verschiedenen Tierarten in Deutschland auf. Das Isolat vom Schwein aus Brasilien unterschied sich von den anderen LT 1/*Xba*I 34 in einer Bande (> 50 kbp).

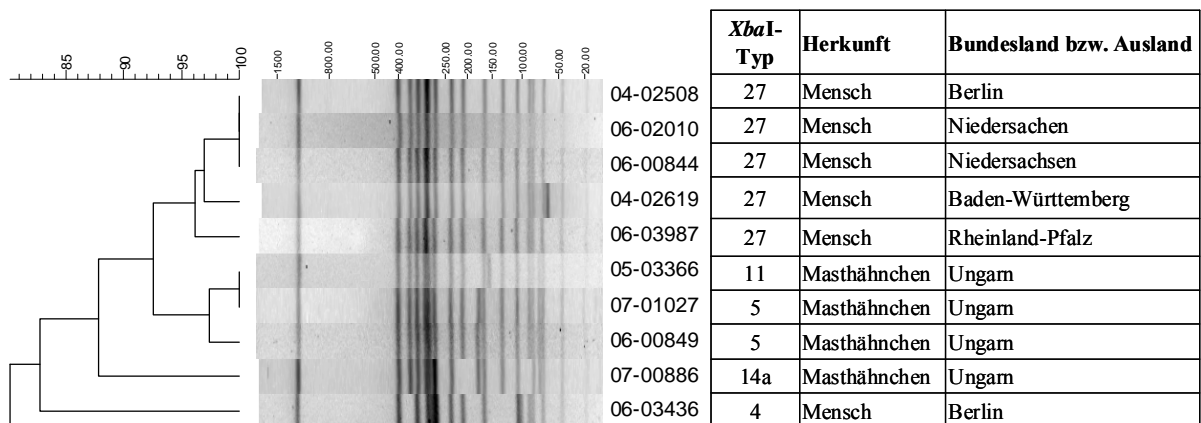


Abbildung 17: Vorkommen der *Xba*I-Typen bei Stämme des LT 29

In der Abbildung 17 ist dargestellt, dass bei den untersuchten Stämmen des Lysotyps 29 fünf unterschiedliche *Xba*I-Typen vorkamen. Dabei besaßen vier humane Stämme das identische *Xba*I-Muster 27, welches über Jahre immer wieder bei Mensch und Masthähnchen nachgewiesen wurde. Aber auch hier konnte eine Variabilität des *Xba*I-Musters 27 festgestellt werden, wie z. B. bei dem Isolat 04-02619 aus Baden-Württemberg. Die *Xba*I-Typen 5, 11 und 27 waren ähnlich, allerdings hatte *Xba*I 5 zwei zusätzliche Banden von ca. 70 kbp und 170 kbp und der *Xba*I 11 von ca. 70 kbp und von 160 kbp gegenüber den *Xba*I 27.

Weitere Vergleichsuntersuchungen zwischen Lysotypie und *Xba*I-Analyse zeigten, dass durchaus mittels Lysotypie Stämme weiter als mit der PFGE zu diskriminieren waren. Beispiele dafür sind in der Tabelle 28 zu sehen.

Tabelle 28: Subdifferenzierung von Stämmen mit gleichen *Xba*I-Mustern durch Lysotypie

| <i>Xba</i> I-Typ | Lysotyp | <i>Xba</i> I-Typ | Lysotyp |
|------------------|---------------|------------------|-----------|
| 1a | 1, 7, 9, 21 | 15 | 9, 12 |
| 1c | 10, 26 | 16 | 9, 33, ut |
| 4 | 4, 11, 24, 29 | 16a | 9, 33 |
| 5a | 1, 29 | 17 | 20, ut |
| 6 | 20, 53 | 27 | 27, 29 |
| 7a | 11, 46 | 27a | 5, 29 |
| 13 | 9, 11, 30 | 34b | 1, 10, 28 |

In der Abbildung 18 wurde die Subdifferenzierung des *Xba*I-Typs 1a durch die Lysotypie dargestellt. Die Stämme des *Xba*I 1a vom Schwein wurden dem LT 1 und dem LT 21 zugeordnet, Isolate vom Menschen und von Lebensmitteln aus verschiedener Bundesländer zu den Lysotypen LT 1, LT 7 sowie LT 9.

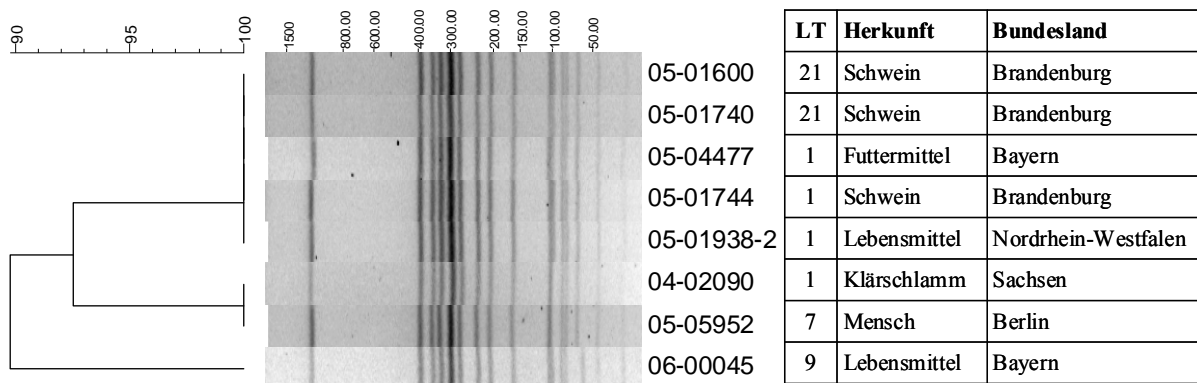


Abbildung 18: Unterscheidung von Stämmen des *Xba*I-Typs 1a durch Lysotypie

Unter den 325 ausgewählten Isolaten waren neun Isolate nach dem Wernigeröder Lysotypeschema untypisierbar. Bei diesen Isolaten wurden durch PFGE folgende *Xba*I-Typen gefunden: 5, 16, 17, 26, 43 und 23 (Tabelle 6, Anhang).

Aus epidemiologischer Sicht ist wichtig zu bemerken, dass die bei Lebensmitteln und Tieren zahlreich nachgewiesenen *Xba*I-Typen auch bei Menschen auftraten wie z. B. *Xba*I 1a, 2, 5, 6 und 34 (Tabelle 29). Dagegen gibt es *Xba*I-Typen, die ausschließlich bei einer Tierart zu finden waren, wie z. B. *Xba*I 15a, 41 sowie 42 beim Masthähnchen, *Xba*I 16a und 36 beim Schwein, *Xba*I 21 beim Rind und *Xba*I 1 bei Legehennen.

Tabelle 29: S. Infantis XbaI-Typen nach Herkunft

| Herkunft | XbaI-Typ |
|------------------------|---|
| Mensch (n = 204) | 1a, 1c, 1f, 2, 3, 4, 5, 5a, 6, 7, 7a, 10, 12, 13, 13a, 15, 16, 16b, 17, 18, 19, 20, 22, 23, 25, 26, 27, 27a, 27b, 27var, 31, 32, 33, 34, 34a, 34b, 35, 37a, 43, 43a, 44 |
| Masthähnchen (n = 169) | 1a, 4, 5, 5a, 7, 15, 15a, 27, 34, 41, 42 |
| Legehennen (n = 2) | 1, 43a |
| Schwein (n = 22) | 1a, 2, 4, 5, 5a, 13, 16, 16a, 18, 19, 34, 36 |
| Rind (n = 6) | 2, 19, 21, 34 |
| Pute (n = 1) | 5 |
| Lebensmittel (n = 14) | 1a, 5, 6, 7, 11, 16a, 42, 43a |
| Futtermittel (n = 7) | 1a, 1var, 2, 6 |
| Umwelt (n = 14) | 1a, 1b, 4, 7, 13, 15, 16, 27, 27a, 33a, 35, 43, 47 |
| Sonstiges (n = 2) | 5, 28 |

4.5.2 Multiple-Locus Variable-Number of Tandem-Repeat Analysis

Neben der Lysotypie und der XbaI-Makrorestriktionsanalyse wurde eine weitere molekularbiologische Methode, die MLVA, bei 40 Isolaten angewandt (Tabelle 30). Sie vergleicht die Größe der VNTR-Loci in den elf Tandem-Repeats von ST-1 bis ST-11. Aus der Analyse der elf Allele wurde ein MLVA-Profil erstellt. Dabei konnten 17 VNTR-Typen und 9 Lysotypen unterschieden werden. Die Typisierbarkeit (Lysotypie, PFGE und MLVA) von vierzig Isolaten wurde als 100 % eingestuft. Die diskriminatorischen Indizes nach Simpson's betragen 0,805 für Lysotypie, 0,921 für PFGE und 0,906 für MLVA (Tabelle 31). Der Wallace's Koeffizient war bei der MLVA-Analyse 53 % und bei der Lysotypie 25 %. Die Korrelation durch Wallace's Koeffizient zwischen XbaI-Verfahren und Lysotypie konnte mit 97 % und 45 % bestimmt werden (Daten nicht gezeigt). Die häufigsten VNTR-Typen waren 42/313-2 (22,5 %), 42/307-1 (17,5 %), 163/307-1 (12,5 %), 251/313-2 (7,5 %), 162/313-2, 208/307-1 und 42/319-1 mit jeweils (5 %).

Tabelle 30: Vergleich VNTR-, XbaI- und LT-Typen bei S. Infantis-Stämmen

| Stamm | Bundesland | Herkunft | VNTR-Typ ¹ | XbaI-Typ | LT |
|----------|---------------------|---------------|-----------------------|-------------------|----|
| 06-00585 | Bayern | Mensch | 162 / 313-4 | 12 | 8 |
| 03-06118 | Thüringen | Schneeeule | 163 / 307-1 | 28 | 1 |
| 06-04208 | Thüringen | Mensch | 163 / 307-1 | 7 | 11 |
| 06-02985 | Meckl.-Vorpommern | Masthähnchen | 163 / 307-1 | 4 | 11 |
| 08-01574 | Niedersachsen | Mensch | 163 / 307-1 | 7 | 11 |
| 08-01430 | Baden-Württemberg | Mensch | 163 / 307-1 | 7 | 11 |
| 05-05904 | Nordrhein-Westfalen | Mensch | 208 / 307-1 | 10 | 1 |
| 05-03428 | Sachsen-Anhalt | Masthähnchen | 208 / 307-1 | 5 | 29 |
| 06-02705 | Ungarn | Masthähnchen | 208 / 301-2 | 11 | 29 |
| 04-08280 | Baden-Württemberg | LM | 208 / 313-3 | 41 | 29 |
| 04-02619 | Baden-Württemberg | Mensch | 42 / 307-1 | 27 | 29 |
| 08-01518 | Baden-Württemberg | Mensch | 42 / 307-1 | n.b. ² | 29 |
| 08-01516 | Baden-Württemberg | Mensch | 42 / 307-1 | 27 | 29 |
| 08-01515 | Baden-Württemberg | Mensch | 42 / 307-1 | 27 | 29 |
| 04-08287 | Baden-Württemberg | Mensch | 42 / 307-1 | 27 | 29 |
| 04-09348 | Baden-Württemberg | Mensch | 42 / 307-1 | 44 | 29 |
| 07-02577 | Baden-Württemberg | Mensch | 42 / 307-1 | 27 | 29 |
| 08-01517 | Baden-Württemberg | Mensch | 42 / 313-2 | 27 | 29 |
| 08-01514 | Baden-Württemberg | Mensch | 42 / 313-2 | 27 | 29 |
| 08-01512 | Baden-Württemberg | Mensch | 42 / 313-2 | 27 | 29 |
| 08-01463 | Baden-Württemberg | Mensch | 42 / 313-2 | 27 | 29 |
| 04-09349 | Baden-Württemberg | Mensch | 265 / 307-1 | 27 | 29 |
| 04-03316 | Sachsen-Anhalt | Impfstoffwerk | 251 / 313-2 | 15 | 9 |
| 08-01567 | Niedersachsen | Huhn | 251 / 313-2 | 15 | 9 |
| 08-01566 | Niedersachsen | Huhn | 251 / 313-2 | 15 | 9 |
| 08-01569 | Niedersachsen | Huhn | 42 / 313-2 | 15 | 9 |
| 04-02100 | Niedersachsen | Schwein | 42 / 295-2 | 18 | 1 |
| 04-04038 | Bayern | Mensch | 42 / 301-2 | 35 | 1 |
| 08-01412 | Berlin | Mensch | 42 / 301-3 | n.b. | 1 |
| 99-03037 | Niedersachsen | Mensch | 42 / 307-2 | 25 | 9 |
| 06-03235 | Sachsen-Anhalt | Mensch | 42 / 313-2 | 13 | 30 |
| 06-03267 | Brasilien | Schwein | 42 / 313-2 | 34 | 1 |
| 05-02254 | Berlin | Mensch | 42 / 313-2 | 34 | 1 |
| 06-08807 | Australien | Hühner Ei | 42 / 313-2 | 1 | 10 |
| 04-04034 | Bayern | Mensch | 42 / 313-3 | 34 | 1 |
| 07-05487 | Niedersachsen | Legehenne | 42 / 313-4 | 43a | 8 |
| 05-02660 | Nordrhein-Westfalen | Mensch | 42 / 319-1 | 4 | 4 |
| 08-1609 | Brandenburg | Hackfleisch | 42 / 319-1 | 4 | 4 |
| 08-01568 | Niedersachsen | Huhn | 162 / 313-2 | 15a | 25 |
| 08-01565 | Niedersachsen | Huhn | 162 / 313-2 | 15a | 25 |

¹ VNTR-Typ besteht aus MLVA-W-Profil Nr. plus P222 Sequenzierungs-Allel, ² n.b., nicht bestimmt
Der Vergleich von Lysotypie mit XbaI-Analyse und MLVA zeigt:

- **Übereinstimmung bei sporadischen Isolaten:** Bei einigen sporadischen Isolaten, z. B. 06-03267 (Brasilien, Schwein) und 05-02254 (Berlin, Mensch) konnte ohne erkennbaren epidemiologischen Zusammenhang eine klonale Identität festgestellt werden (LT 1, XbaI 34 und VNTR-Typ 42/313-2).

- **Subdifferenzierung von Lysotypen durch *XbaI*- bzw. MLVA-Analyse:** Bei den Stämmen des LT 29 wurden verschiedene *XbaI*-Typen (27, 5, 41 und 11) bzw. VNTR-Typen (42/307-1, 42/313-2 und 265/307-1) nachgewiesen. Dies bedeutet, dass Stämme des LT 29 über die PFGE hinaus durch MLVA in weitere “Subklone“ differenziert werden konnten.
- **Mittels Lysotypie und *XbaI*-Verfahren konnten bestimmte VNTR-Typen noch weiter diskriminiert werden:** Im Gegensatz dazu konnten *S. Infantis*-Stämme mit den Typen VNTR-Typ 163/307-1, VNTR-Typ 42/313-2 und VNTR-Typ 208/307-1 durch PFGE und Lysotypie weiter unterschieden werden. Der VNTR-Typ 163/307-1 wurde in drei verschiedene *XbaI*-Typen bzw. zwei verschiedene Lysotypen subdifferenziert. Ein weiteres Beispiel ist bei den Stämmen des VNTR-Typs 42/313-2 zu sehen, bei dem die *XbaI*-Typen 1, 13 und 34 bzw. LT 1, LT 10 und LT 30 vorkamen.
- **Isolate, die nur mittels *XbaI*-Verfahren weiter differenziert werden konnten:** Der LT 11 bzw. VNTR-Typ 163/307-1 (06-04208 und 06-02985) wies verschiedene *XbaI*-Typen auf.

In der Tabelle 31 ist die statistische Auswertung aller angewandten Methoden zur Feindifferenzierung der *S. Infantis*-Isolate zusammengefasst.

Tabelle 31: Vergleich der Typisierungsmethoden anhand sporadischer Isolate

| Methoden | Anzahl der Typen | Anzahl der häufigste Typen (n) | DI* | Konfidenzintervall |
|--------------------|------------------|---|-------|--------------------|
| Lysotypie (n = 40) | 9 | LT 29 (15), LT 1 (8) LT 9 (5) | 0,805 | 0,721 – 0,890 |
| PFGE (n = 38) | 19 | <i>XbaI</i> 27 (10) <i>XbaI</i> 15 (4) | 0,913 | 0,852 – 0,975 |
| MLVA (n = 40) | 17 | 42 / 313-2 (9) 42 / 307-1 (7) | 0,906 | 0,857 – 0,956 |

* der Diversitäts Index nach Simpson’s (95% CI)

5 Diskussion

5.1 Lysotypie

5.1.1 Entwicklung des Schemas

Das Ziel der Arbeit war es, ein neues Lysotypiesystem zur Subdifferenzierung des weltweit verbreiteten Serovars *S. Infantis* zu entwickeln. Dafür wurden temperente (n = 123) und virulente Wildphagen (n = 28) getestet (FISK 1942; ANDERSON 1962; RABSCH 2007). Diese Vorgehensweise ist bereits bei der Entwicklung von Lysotypiesystemen für *S. Typhi* nach CRAIGIE u. FELIX (1947), für *S. Enteritidis* nach WARD et al. (1987) sowie für *S. Agona* nach RABSCH et al. (2005) angewandt worden.

5.1.1.1 Auswahl der temperenten Phagen aus lysogenen *S. Infantis*-Stämmen

Von den ursprünglich 119 induzierten temperenten *S. Infantis*-Phagen kamen im endgültigen Typisiersystem nur noch 14 Typisierphagen zur Anwendung. Diese temperenten Typisierphagen $\Phi 10$, $\Phi 13$, $\Phi 22$, $\Phi 28$, $\Phi 29$, $\Phi 36$, $\Phi 46$, $\Phi 48/1$, $\Phi 52$, $\Phi 69$, $\Phi 84/1$, $\Phi 99$, $\Phi 110/1$ sowie $\Phi 119$ wurden an *S. Infantis*-Stämmen angereichert (Tabelle 7).

Drei Phagen $\Phi 84/2$, $\Phi 48/2$ sowie $\Phi 110/2$ wurden durch Adaptation an entsprechende *S. Infantis*-Stämme weiter modifiziert (Tabelle 17). Dabei spielt eine Rolle, ob DNA-modifizierende Methylasen- und Restriktionsendonukleasen in der Bakterienzelle enthalten sind oder nicht. Dieser Schutzmechanismus bringt die Bakterien in die Lage, nicht modifizierte Fremd-DNA, wie z. B. Phagen-DNA, von ihrer eigenen (modifizierten) DNA zu unterscheiden und durch Restriktion zu zerstören (KNIPPERS 2006; RABSCH 2007). Bei der wirtskontrollierten Modifikation verleiht ein bestimmter Stamm den auf ihm angereicherten Phagen gewisse Eigenschaften hinsichtlich seines Wirtsbereiches (KLAUS et al. 1992). Dieser Mechanismus hat höchstwahrscheinlich eine Bedeutung für die Typisierbarkeit einiger *S. Infantis*-Stämme, da es durch Adaptation dieser 3 Phagen ($\Phi 84/2$, $\Phi 48/2$ und $\Phi 110/2$) gelang, den Anteil untypisierbarer Stämme, z. B. Stämme des „Bayerischen Klons“, zu reduzieren (Tabelle 17 und 6, Anhang).

Im Gegensatz zu der hier beschriebenen Methode stammten die temperenten Phagen nach LASZLO et al. (1988) überwiegend von anderen *Salmonella*-Serovaren: vier *S. Thomson*-Phagen, ein *S. Newport*-Phage, zwei *S. Cerro*-Phagen und nur zwei *S. Infantis*-Phagen. KASATIYA et al. (1979) hatten in dem von ihm entworfenen Lysotypiesystem für den Serovar *S. Infantis* nicht mit temperenten Phagen gearbeitet. Virulente Phagen werden oft als

für die Lysotypie nicht so wertvoll bezeichnet, da Mechanismen wie Repressor-Operator, Antirepressor und Superinfektionsausschluss nicht wirksam sind (HOFER et al. 1995; RABSCH 2007).

5.1.1.2 Auswahl der Phagen für untypisierbare Stämme

Ein bei der Entwicklung der Lysotypie für *S. Infantis* auftretendes Problem war das Auftreten von untypisierbaren Stämmen. Die Nichttypisierbarkeit kann durch das Vorkommen von Rauh-Formen verursacht werden. Die Rauh-Stämme bilden morphologisch heterogene, flache Kolonien auf dem Medium, weil ihnen große Teile der Lipopolysaccharide (LPS) fehlen. An diesen Rauh-Stämmen und den Isolaten mit Mutationen der Zellwandrezeptoren können Bakteriophagen nicht mehr adsorbieren und die Zelle bleibt resistent (KLAUS et al. 1992; RABSCH 2007). Die Überprüfung der untypisierbaren Stämme mit einer Kochsalzlösung und mit dem O 1-Phagentest ergab, dass alle *S. Infantis*-Stämme in der Glatt-Form vorlagen (siehe Kapitel 4.1.6). Rauh-Formen können also nicht die Ursache dafür sein, dass von 1008 untersuchten Stämmen 23 Isolate als nicht typisierbar (2,3 %) definiert wurden.

Bei dem Schema nach KASATIYA wurden 1,3 % und bei dem nach LASZLO 1,1 % untypisierbare Stämme gefunden. Dieses Problem ist bei allen Lysotypiesystemen bekannt. Die Angaben über das Vorkommen von untypisierbaren Stämmen des Serovars *S. Typhi* schwanken bei den einzelnen Untersuchungen im Allgemeinen zwischen 5 % und 10 % (RISCHE u. ZIESCHE 1973).

Wegen der praktischen Bedeutung des Auftretens von untypisierbaren Stämmen wurde nach Möglichkeiten gesucht, die untypisierbaren Stämme einer Typisierung zugänglich zu machen. Die von uns getesteten 28 Wildphagen aus Abwasser wurden auf Grund der fehlenden Diskriminierungsfähigkeit komplett eliminiert (siehe auch Kap. 4.1.2). Im Gegensatz dazu gehörten alle ausgesuchten *S. Infantis*-Typisierphagen nach KASATIYA zu den virulenten Wildphagen, die aus Abwasser und Stuhl isoliert worden waren. Die Lysotypiesysteme der Serovare *S. Hadar* und *S. Enteritidis* enthalten sowohl temperente Phagen als auch Wildphagen (DE SA et al. 1980; WARD et al. 1987).

Möglicherweise könnte durch eine größere Anzahl oder durch aus anderem Milieu gewonnene Wildphagen der Anteil der ut-Isolate in unserem *S. Infantis*-Lysotypiesystem verringert werden.

Die temperenten *S. Infantis*-Phagen Φ 1Bay, Φ 2Bay und Φ 3Bay, welche ursprünglich von den untypisierbaren Stämmen des „Bayerischen Klons“ stammten sowie die an andere Stämme adaptierten Phagen Φ 4Bay und Φ 5Bay wurden für das endgültige System auch nicht

übernommen, weil diese Phagen in weiteren Experimenten ein geringes Diskriminierungspotenzial oder keine Reaktion gezeigt hatten (Tabellen 15 und 16, Anhang).

5.1.1.3 Vergleich der Lysotypiesysteme für den Serovar *S. Infantis*

Die bereits von KASATIYA et al. (1979) und von LASZLO et al. (1988) entworfenen Lysotypiesysteme für den Serovar *S. Infantis* wurden nicht im NRZ eingesetzt, weil die zugehörigen Typisierphagen ein breites, nicht spezifisches Wirtsspektrum besitzen. Die Überprüfung der Phagen (ursprünglich Wildphagen) nach KASATIYA sowohl mit anderen Vertretern der Familie Enterobacteriaceae wie *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli* und *Shigella* sp. als auch mit anderen *Salmonella* Serovaren wie *S. Typhimurium*, *S. Heidelberg* und *S. Newport* ergaben positive Reaktionen. Für das Schema nach LASZLO wurden Phagen von anderen *Salmonella*-Serovaren, z. B. *S. Thomson*, *S. Newport* und *S. Cerro* eingesetzt. Obwohl es von LASZLO et al. (1988) nicht getestet wurde, ist zu vermuten, dass die ursprünglich von anderen Serovaren stammenden Phagen einige Stämme des entsprechenden Serovars lysieren können. Unsere Typisierphagen dagegen reagierten hoch spezifisch (siehe Kapitel 4.1.7). Um möglichst eine sehr heterogene Auswahl der Phagen für das Schema zu treffen, wurden die temperenten Bakteriophagen aus Stämmen isoliert, die von 1974 bis 2005 ausgewählt wurden (Tabelle 7). Die Typisierphagen nach KASATIYA und nach LASZLO stammten hingegen aus einem relativ kurzen Zeitraum von 1974 bis 1978 nach kanadischem Schema und von 1983 bis 1984 nach ungarischem Schema. In den vorliegenden Untersuchungen von 1008 *S. Infantis*-Isolaten aus den Jahren von 1973 bis 2009 konnten mit den 17 Typisierphagen 61 Lysotypen definiert werden. Im Vergleich dazu wurden mittels 9 Typisierphagen nach KASATIYA et al. (1979) 23 Lysotypen bei 546 Isolaten unterschieden. Mit Hilfe des Typisiersystems nach LASZLO wurden 4847 Isolate zu 60 Lysotypen zugeordnet. Die Anzahl der gefundenen Lysotypen hängt jedoch in hohem Maß von der epidemiologischen Situation des jeweiligen Landes und den daraus entstandenen Einzel- und Ausbruchs-Isolaten ab. Mittels des neu entwickelten Systems lassen sich sowohl deutsche als auch ausländische Isolate (n = 152) typisieren. Die publizierten Studien zur Subdifferenzierung von *S. Infantis*-Stämmen aus Ungarn und Kanada beschränkten sich auf Isolate aus einem bestimmten Zeitraum (nach LASZLO 1983-1985; nach KASATIYA 1974-1978) und betrafen jeweils nur inländische Isolate.

Die Typisierfähigkeit ist ein Maß für die Wahrscheinlichkeit, mit der für ein Isolat ein eindeutiges Typisiererergebnis erzielt wird (VAN BELKUM et al. 2007). In der vorliegenden Arbeit wurde eine Typisierfähigkeit von 97,7 % erreicht. Die Typisierfähigkeit der Schemen

nach KASATIYA (98,7 %) sowie nach LASZLO (98,9 %) lag etwas höher. Der diskriminatorische Index nach Simpson's (D-Index) für 985 von uns untersuchte Isolate betrug 0,86. Der D-Index wird ausgedrückt als eine Zahl zwischen 0 und 1, wobei eine 100%ige Diskriminierungsfähigkeit dem Wert 1 entspricht und eine völlig fehlende Diskriminierungsfähigkeit dem Wert 0. Je höher die Diskriminationsfähigkeit, desto besser kann die Methode definitionsgemäss kleinste oder weniger häufige Variationen unterscheiden (HUNTER 1990; GRUNDMANN et al. 2001). Dies bedeutet, dass unsere Methode mit einer Wahrscheinlichkeit von 86 % zwei zufällig aus der Testpopulation entnommene Isolate zu zwei unterschiedlichen Typen zuordnen kann.

5.1.2 Epidemiologische Analyse von *S. Infantis*-Isolaten

5.1.2.1 Verteilung der Lysotypen nach Herkunft

Die Ergebnisse der Lysotypie weisen darauf hin, dass einige Stämme der Lysotypen wie LT 1, LT 4, LT 8, LT 9, LT 11, LT 24, LT 25, LT 29 und LT 33 sowohl unter Menschen als auch unter verschiedenen Tierarten verbreitet sind (Tabelle 20). Die durchgeführten EU-Studien zur Prävalenz von *Salmonella* spp. bestätigen, dass *S. Infantis*-Stämme besonders häufig bei Masthähnchen (22 %), jedoch auch bei Legehennen (9 %) sowie bei Mastschweinen (3,4 % in Tupferproben von Schlachtkörpern) vorkamen (ANON. 2007a, 2007b, 2008a). Der bei Masthähnchen auftretende *S. Infantis*-Stamm LT 29/*Xba*I 27 wurde bei zahlreichen Geschehen beim Menschen identifiziert, was auf eine klonale Ausbreitung über Jahre hindeutet (Tabelle 22). Neben diesem Klon wurden noch weitere Klone beim Masthähnchen gefunden, die deutschlandweit verbreitet sind (Abbildung 19). Die Untersuchungen von Masthähnchen-Isolaten aus Ungarn zeigten, dass dort ein anderer *S. Infantis*-Stamm LT 29/*Xba*I 5 vorkommt. In Deutschland wurde dieser Klon nur bei Einzelerkrankungen beobachtet. NOGRADY et al. (2007, 2008) berichteten, dass die Stämme des PT 213 und PT 217 nach Laszlo beim Menschen und beim Masthähnchen in Ungarn dominierten. Es ist wichtig anzumerken, dass Stämme des LT 29/ *Xba*I 27 aus Deutschland und Stämme des LT 29/*Xba*I 5 aus Ungarn einen identischen Lysotyp nach dem „Wernigeröder Schema“ besitzen. Die Stämme des PT 213 nach Laszlo entsprechen dem Lysotyp (LT 29/*Xba*I 5) nach dem „Wernigeröder Schema“ (WOLFGANG, RABSCH, Wernigerode, 19.01.09). Die Unterschiede in den *Xba*I-Mustern bedeuten Variabilität in zwei Banden von ca. 70 kbp und 170 kbp und sind sehr wahrscheinlich durch das Auftreten von Plasmiden bedingt. Beispielweise konnte aus den Stämmen 03-02419 und 04-91651

(Masthähnchen, Ungarn, LT 29/*Xba*I 5) ein Plasmid mit einer Größe von 170 kbp isoliert werden (WOLFGANG, RABSCH, Wernigerode, 19.01.09). Ebenso gibt es Hinweise von KASATIYA et al. (1979), KATO et al. (2001), ASAI et al. (2007) sowie LAPUZ et al. (2008), dass sowohl durch epidemiologische Ermittlungen als auch durch Labormethoden (z. B. PFGE), die Zusammenhänge zwischen humanen Erkrankungen und Masthähnchen-Isolaten in Japan nachgewiesen wurden. NOGRADY et al. (2008) betonten eine Verwandtschaft zwischen den verbreiteten Klonen bei Masthähnchen in Ungarn und in Japan bezüglich der Resistenz gegen Tetrazykline und des identischen Klasse 1-Integrans. Die Untersuchungen von PELKONEN et al. (1994) zeigten dagegen keine Zusammenhänge zwischen den Isolaten vom Menschen und vom Geflügel in Finnland. Da die Epidemien durch *S. Infantis* beim Rind seit den 70er Jahren immer wieder auftraten, könnte möglicherweise dort die Ursache der Erkrankungen zu suchen sein (LINDQVIST et al. 1999; LINDQVIST u. PELKONEN 2007). Auch in der EFSA-Studie wurde festgestellt, dass im Jahr 2006 *S. Infantis* der häufigste Serovar bei Rindfleisch in Finnland war (ANON. 2007c).

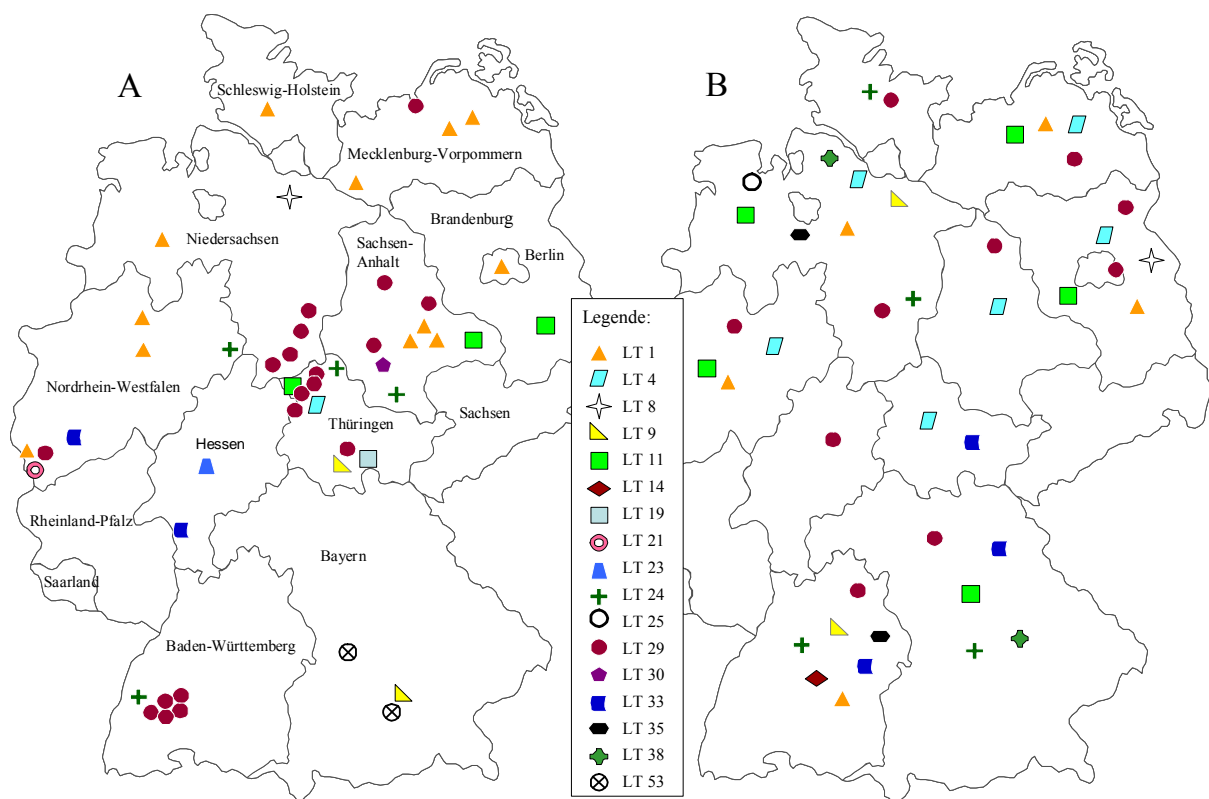


Abbildung 19: Verteilung einiger *S. Infantis*-Lysotypen bei Mensch (A) und Masthähnchen (B)

Es ist wichtig, noch einmal anzumerken, dass *S. Infantis*-Stämme in Geflügelbeständen europaweit verbreitet sind. Insgesamt wurden 24 Typen erfasst, die in ausgewählten Ländern

wie Deutschland, Ungarn und Island gefunden wurden. Weitere Vergleichsuntersuchungen von *S. Infantis*-Isolaten von Masthähnchen aus Deutschland und Ungarn zeigten, dass Stämme des LT 29 in beiden Ländern dominierten. Im Gegensatz dazu wurden bei isländischen Isolaten aus Masthähnchen ein bisher in Deutschland und Ungarn nicht vorkommender Lysotyp (LT 61) nachgewiesen. Neben den häufig nachgewiesenen LT 1 bzw. LT 29 gab es weitere Lysotypen, die bisher nur bei bestimmten Tierarten gefunden wurden wie z. B. Masthähnchen (LT 35, LT 38, LT 46) sowie Schweinen (LT 2 und LT 3) (siehe auch Tabelle 20). Da unsere Studie nicht so breit angelegt war, ist es bisher noch nicht klar, ob sich diese Typen tatsächlich an nur eine bestimmte Tierart angepasst haben. Es ist bekannt, dass bei dem Serovar *S. Typhimurium* die Stämme des Lysotyps DT 2 und DT 99 weltweit an Tauben adaptiert sind (RABSCH et al. 2002a; HELM et al. 2004). Auch bei *S. Enteritidis* ist eine strenge Wirtsanpassung nachgewiesen worden. Seit den 80er Jahren dominieren *S. Enteritidis*-Stämme des LT 4/6 insbesondere bei Geflügel (RABSCH et al. 2007). Außerdem scheinen *S. Enteritidis*-Stämme des LT 9a und LT 11 an Igel adaptiert zu sein (NAUERBY et al. 2000).

Bei Isolaten von Legehennen traten LT 8, LT 10, LT 29, LT 30 und LT 45 auf. Auffallend ist, dass die Anzahl der bei Legehennen gefundenen Typen deutlich geringer als bei Masthähnchen ist. Auch die EFSA-Studie zur Prävalenz von Salmonellen in Legehennenbeständen zeigte, dass *S. Infantis* weitaus weniger als bei Masthähnchen verbreitet ist (ANON. 2007a).

Die Ergebnisse der deutschen Pilotstudie zur *Salmonella*-Prävalenz beim Mastschwein zeigten, dass im Jahr 2006 der Serovar *S. Infantis* den fünften Platz mit 2,5 % bei Lymphknoten-Nachweisen eingenommen hat (BfR 2008a). Auch unsere Untersuchungen weisen darauf hin, dass zahlreiche Lysotypen (Klone) bei Stämmen vom Schwein und vom Schweinefleisch verbreitet sind. Weitestgehend waren diese Lysotypen von denen bei Mastgeflügel vorkommenden zu unterscheiden (Tabelle 20). Beim Schwein wurden folgende Lyso-, *Xba*I-Typen als epidemiologisch relevant angesehen: LT 21/*Xba*I 1a und LT 1/*Xba*I 34 (Tabelle 6, Anhang). Diese Typ-Kombinationen wurden auch bei Ausbruchsgeschehen beobachtet (Tabelle 22). Da die Kombination LT 21/*Xba*I 1a bisher nur beim Schwein nachgewiesen wurde, ist es vermutlich, dass der Ausbruch in Nordrhein-Westfalen 2008 auf Schweinefleisch bzw. Schweinefleischprodukte zurückzuführen ist.

5.1.2.2 Verteilung der Lysotypen nach geografischem Auftreten

Mittels des neu entwickelten Lysotypiesystems konnte nachgewiesen werden, dass einige Lysotypen weltweit verbreitet sind (Tabelle 21). Andere sind dagegen nur in bestimmten Ländern zu finden. Erstaunlich ist, dass Stämme aus den Vereinigten Arabischen Emiraten, Australien sowie Island mit unserem Typisiersystem gleichen Lysotypen zugeordnet werden konnten (z. B. LT 1, LT 4 und LT 9). Die weltweite Streuung von *Salmonella*-Typen kann durch interkontinentalen Lebensmittel-, Tier- und Futtermittelverkehr bedingt sein. So ist das Auftreten eines PFGE-Typs des Serovars *S. Oranienburg* in Europa (Deutschland, Tschechien, Österreich, Belgien, Niederlanden, Dänemark, Schweden) epidemiologisch bemerkenswert. Dieser Serovar wurde durch Schokolade aus Deutschland in andere Länder importiert und weiter verbreitet (PRAGER u. TSCHÄPE 2003). Außerdem konnten Epidemietypen wie *S. Enteritidis*- PT 4 und PT 8 sowie *S. Typhimurium*-Stämme DT 104 in europäischen, nordamerikanischen und asiatischen Ländern nachgewiesen werden (PANG et al. 2006; GATTO et al. 2006; PETERS et al. 2007; PANG et al. 2007; ASAI et al. 2008).

Epidemiologisch besonders hervorzuheben ist, dass sich der *S. Infantis* LT 29 in Ungarn und Deutschland ausgebreitet hat. Langzeitstudien in Ungarn zeigten jedoch, dass sich offensichtlich ein Erregerwandel vollzogen hat. Nach den Untersuchungen von LASZLO et al. (1988) machten in den 80er Jahren die PT 211 und PT 541 ca. die Hälfte der Gruppenerkrankungen beim Menschen aus. Aktuelle Ergebnisse von NOGRADY et al. (2007, 2008) weisen aus, dass von 2004 bis 2008 bei den humanen *S. Infantis*-Ausbrüchen PT 213 (entspricht dem LT 29 nach unserem Schema) sowie PT 217 dominierten. Auch in Island wurde ein Erregerwandel beobachtet. Die von uns getesteten isländischen Isolate aus den Jahren 2001 und 2002 von Masthähnchen wurden dem Lysotyp 61 zugeordnet. Stämme aus dem Jahr 2003 gehörten hingegen zu den Lysotypen LT 1 und LT 9. Im getesteten *S. Infantis*-Stammmaterial aus Deutschland der 70er Jahre konnte ebenfalls ein Erregerwandel festgestellt werden. Zu den damaligen Lysotypen wird z. B. der LT 23 gezählt, der in den Jahren 1974 bis 1975 bei sporadischen Isolaten und bei einer Gruppenerkrankung in Hessen nachgewiesen wurde (Tabelle 22). Seitdem wurde dieser Typ nicht mehr beobachtet. Weiterhin wurde bei Stämmen eines Ausbruchs in Hessen im Jahr 1997 der Lysotyp 33 ermittelt. Dieser trat dagegen im Jahr 2004 bei sporadischen Fällen wieder auf. Der nach 2000 dominierende Lysotyp 29 wurde im Stammmaterial aus den 70er Jahren nur ein Mal (74-01213, Mensch, Bayern) gefunden. Was das „Kommen“ und „Gehen“ der Stämme ausmacht, warum die Stämme eine Zeitspanne lang auftreten und dann wieder in einer

Reservation verschwinden, lässt sich beim gegenwärtigen Kenntnisstand nicht erklären (TSCHÄPE u. BOCKEMÜHL 2002).

Darüber hinaus war erstaunlich, dass Stämme des LT 16 für Kanada, LT 17, LT 32, LT 41, LT 49 für Australien, LT 40 für England, LT 46 für Ungarn oder LT 61 für Island ermittelt wurden. Obwohl die Anzahl der Stämme aus Kanada und England sehr gering war, zeigen diese Befunde doch, dass länderspezifisch Lysotypen auftraten. Auch Vergleichsuntersuchungen mittels Lysotypie und PFGE von *S. Enteritidis*-Stämmen aus Deutschland und Taiwan zeigten, dass eine große Diversität zwischen verbreiteten Klonen in beiden Ländern existiert (PANG et al. 2007).

5.1.2.3 Verteilung der Lysotypen nach epidemiologischer Relevanz

Trotz der großen Anzahl von 61 Lysotypen traten nur sehr wenige Typen epidemiologisch in den Vordergrund, z. B. die Lysotypen LT 29 (28 %), LT 1 (20 %), LT 11 (7 %), LT 9 (7 %), LT 24 (6 %), LT 4 (3,7 %), LT 8 (3 %) und LT 61 (2,6 %) aller untersuchten Stämme. Dabei ist zu bemerken, dass der mehrfache Nachweis einiger Lysotypen mit den zahlreichen Ausbrüchen beim Menschen zusammenhängt wie z. B. Lysotyp LT 1 und LT 29 (Tabelle 6, Anhang). Außerdem wurden diese Lysotypen ebenso häufig bei Isolaten vom Schwein für LT 1 und Masthähnchen für LT 29 gefunden. Auch nach TSCHÄPE (1996) zeigte die Analyse der klonalen Natur der sporadischen *Salmonella* Isolate, dass der überwiegende Teil der Isolate dem vorherrschenden Epidemietyp zuzurechnen ist. Daher kann angenommen werden, dass eine breite, viel größere Durchseuchung mit dem dominanten Epidemiestamm vorliegt, als es einzelne Ausbrüche vermuten lassen.

Außer den häufigsten Lysotypen wurden auch selten vorkommende Lysotypen (2, 7, 12, 13, 19, 20, 22, 27, 31, 34, 36, 37, 42, 44, 48, 50 und 52) gefunden. Auch von LASZLO et al. (1988) und KASATIYA et al. (1979) wurden über 20 bzw. 9 Typen nachgewiesen, die unter 1 % Häufigkeit vorkamen. Die Vielfalt der Typen kann durch horizontalen Gentransfer oder durch Mutation entstehen, die z. B. Lipopolysaccharide (LPS) oder Proteine in der Außenmembran betreffen (THRELFALL et al. 1993; BRÜSSOW et al. 2004). Durch Aufnahme eines Plasmids oder durch spontanen Verlust entsprechender genetischer Elemente kann der Lysotyp ebenfalls verändert werden (RABSCH et al. 1982; LASZLO et al. 1988; CHART et al. 1989; FROST et al. 1989; THRELFALL et al. 1993; BROWN et al. 1999; LACONCHA et al. 2000; LIEBANA et al. 2001; TUCKER u. HEUZENROEDER 2004).

5.1.2.4 Nosokomiale Infektionen

Besonders bemerkenswert erscheint uns, dass *S. Infantis* auch als Erreger bei nosokomialen Infektionen in Deutschland nachgewiesen wurde (Tabelle 22). Über nosokomiale Infektionen mit *S. Infantis* wurde bereits seit 1960 aus europäischen, süd- und nordamerikanischen Ländern berichtet (GUTHEIL 1960; KOHLER 1964; KASATIYA et al. 1979; TAUXE et al. 1988; HASENSEN et al. 1995; PESSOA-SILVA et al. 2002; CONZA et al. 2002). Ein für Baden-Württemberg erwähnter *S. Infantis*-Ausbruch scheint sich von den in der Literatur genannten dadurch zu unterscheiden, dass die Infektionen über einen Zeitraum von 17 Jahren immer wieder auftraten. Eine Aussage, ob innerhalb von 17 Jahren ein identischer Klon persistierte, kann nicht getroffen werden, da aus dieser Klinik keine Patientenisolat zwischen 1991 - 2001 an das NRZ eingesandt wurden. Die epidemiologische Konstanz ergibt sich auch aus dem Befund, dass in einer Klinik von verschiedenen Patienten zu verschiedenen Zeiten (2002 - 2008) isolierte Stämme den gleichen LT/*Xba*I-Typ (29/27) aufwiesen. Die Tatsache, dass Isolate mit identischem Muster über einen so langen Zeitraum (2002 - 2008) hinweg immer wieder nachgewiesen wurden, könnte darauf hindeuten, dass *S. Infantis* durch mögliche Schwachstellen im Hygienekonzept in der Klinik persistiert. DEMIN u. BRUSINA (2006) dokumentierten die *S. Infantis*-Infektionen, die von 1990 bis 2003 in einem russischen Krankenhaus persistierten. Die Infektionsquelle wurde leider auch hier nicht ermittelt. Die Isolate von Patienten wurden allerdings nicht subdifferenziert. Darüber hinaus wurde auch bei Tieren beobachtet, dass *S. Infantis*-Infektionen über längere Zeit in einer Universitätsklinik für Pferde vorkamen (TILLOTSON et al. 1997; DUNOWSKA et al. 2007). Offensichtlich gibt es bei diesem Serovar einige Klone, die länger persistieren können. Auch LAPUZ et al. (2008) betonten, dass *S. Infantis*-Isolate in der Umwelt dauerhaft gefunden werden konnten. BERNDT et al. (2007) beobachteten bei Tierexperimenten mit Eintagesküken, dass *S. Infantis* gegenüber *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* und *S. Hadar* schon nach einem Tag eine höhere Fähigkeit aufwies, im Cäcum zu kolonisieren.

5.1.2.5 Lebensmittelvergiftungen

Ein Großteil der *S. Infantis*-Infektionen ist lebensmittelbedingt und hat ihren Ursprung in kontaminierten bzw. infizierten Lebensmitteln. Bei den 40 untersuchten Lebensmittelvergiftungen in Deutschland wurden 12 Lysotypen ermittelt (Tabelle 22). Auch internationale und nationale Studien weisen zahlreiche Lebensmittelvergiftungen durch *S. Infantis* nach (Tabelle 2, Anhang, Tabelle 3). Leider konnten nur bei drei Geschehen Patienten-Isolate zusammen mit Isolat von Lebensmitteln typisiert werden. Beispielsweise

von einem Ausbruch wurden Stämme des Lysotyps 8 bestimmt, die sowohl bei Patienten und als auch beim Kartoffelsalat mit Rohei in Niedersachsen im Jahr 1998 nachgewiesen wurden (Tabelle 22). Die vom Veterinäramt veranlassten Untersuchungen zur Ursachenermittlung im Herkunftsbestand der Legehennen erbrachten den gleichen Lysotyp 8 (Stamm 07-05487, Tabelle 6, Anhang). Bei weiteren zwei Geschehen durch Stämme der Lysotypen LT 11 (Brandenburg, 2004) und LT 53 (Bayern, 2004) waren auch Isolate (04-03490, 04-05339) von Wurst- und Konditoreiwaren dem gleichen Lysotyp zu zuordnen. Bei einer Gruppenerkrankung in Stolberg 2008 wurde durch eine retrospektive Fall-Kontroll-Studie Geflügelfleisch als Infektionsursache ermittelt. Aus den Veröffentlichungen über *S. Infantis*-Ausbrüche ist bekannt, dass als häufigste Infektionsquelle für Menschen der Verzehr von mit Salmonellen belastetem Geflügelfleisch angegeben wird (KASATIYA et al. 1979; NELSON 1985; LASZLO et al. 1988; KHAKHRIA et al. 1997; KATO et al. 2001; NOGRADY et al. 2007, 2008; ASAI et al. 2007; LAPUZ et al. 2008). Neben kontaminierten Masthähnchen werden Salmonellen ebenfalls über Hühnereier oder Schweinefleisch auf den Menschen übertragen (STAACK 1954; BIERSCHENK 1962; DIECKMANN et al. 1999; WILKINS et al. 2002; JANSEN et al. 2005; OTOMO et al. 2007; RIVOAL et al. 2009). In wenigen Fällen werden für *Salmonella*-Infektionen auch Übertragungswege von Mensch-zu-Mensch beschrieben (HOF 2001). Aus Tabelle 22 ist zu ersehen, dass bei einigen *S. Infantis*-Infektionen Ausscheider eine Rolle spielten. So kam es 2005 in Ahlsdorf zur Erkrankung durch *S. Infantis* (LT 30) eines gestillten 8 Monate alten Säuglings, der von seiner Mutter infiziert wurde. Ein identischer Infektionsweg ist bei zwei weiteren Familienerkrankungen durch Stämme des LT 29 festzustellen. Ein Geschehen wurde im Jahr 1996 in Magdeburg, ein anderes in Drohndorf, Salzlandkreis, Sachsen-Anhalt, im Jahr 2004 erfasst. MURAKAMI et al. (2007) bestätigten das Vorkommen von *S. Infantis*-Trägertum z. B. bei Beschäftigten im Lebensmittelbereich in Japan.

5.2 Nachweis des *sopE*-Gens

Interessanterweise konnte in früheren Experimenten festgestellt werden, dass das Gen *sopE* im Unterschied zu den Genen *sopB* und *sopE2*, die bisher in jedem *Salmonella*-Stamm nachgewiesen wurden (PRAGER et al. 2000; MIROLD et al. 2001), nur in einigen Isolaten der Serovare der *S. enterica* I, IV sowie VII vorhanden ist (HARDT et al. 1998; MIROLD et al. 1999; HOPKINS u. THRELFALL 2004; PASMANS et al. 2005). Von 173 untersuchten Stämmen mit 23 Lysotypen wurde *sopE* nur in drei Isolaten des Lysotyps 26 gefunden. Dies

lässt auf eine eventuelle klonale Verbreitung schließen. Epidemiologisch erfolgreiche Lysotypen von verschiedenen Serovaren wie *S. Enteritidis* LT 4/6- sowie *S. Typhimurium* DT 49- und DT 204-Stämme sind *sopE*-positiv. Allerdings gibt es auch epidemiologisch dominante Stämme, wie beispielweise DT 104, die *sopE*-negativ sind (MIROLD et al. 1999; ZHANG et al. 2002; EHRBAR et al. 2002; PELLUDAT et al. 2003; HOPKINS u. THRELFALL 2004). Aus der Literatur ist bekannt, dass mehrere Virulenzfaktoren den epidemiologischen Erfolg von *Salmonella*-Serovaren erhöhen können. Eine höhere Virulenz für den Serovar-*S. Infantis* bedingt durch *sopE* ist daher unwahrscheinlich.

5.3 Bestimmung der Antibiotikaresistenz

Die Bestimmung von antimikrobiellen Resistenzprofilen ist sowohl für den epidemiologischen Gebrauch als auch für notwendige Therapien bei Komplikationen wertvoll. In der Tabelle 6 ist dargestellt, dass alle Isolate eines Ausbruchs identische Antibiotikaresistenzprofile wie z. B. die Stämme LT 29/*Xba*I 27a von Thüringen 2007 das Muster Ampicillin, Mezlocillin, Oxytetracyclin und Sulfameracin aufwiesen. Bei den sporadischen Isolaten hingegen sind verschiedene Resistenz-Kombinationen bis hin zu Mehrfachresistenzen zu verzeichnen (Tabelle 6). Stämme des LT 29/*Xba*I 5 von importierten ungarischen Masthähnchen zeigten Resistenzen gegenüber Chloramphenicol, Nalidixinsäure, Oxytetracyclin, Sulfameracin und Streptomycin. Das Vorkommen mehrfachresistenter Stämme mit gleichem Muster ist bereits von NOGRADY et al. (2007, 2008) aus Ungarn sowie von ASAI et al. (2007) aus Japan bei Masthähnchen beschrieben worden. Die Verbreitung der Antibiotikaresistenzen bei ausgewählten *Salmonella*-Serovaren zwischen 1993 - 2008 zeigt die Abbildung 20 (WOLFGANG, RABSCH, Wernigerode, 20.10.2008). Bei *S. Enteritidis* und *S. Infantis* werden überwiegend sensible bzw. einfachresistente Isolate beobachtet. Im Unterschied zu *S. Enteritidis*, weist *S. Infantis* eine höhere Anzahl an Stämmen auf, die mehrfachresistent sind. Bei *S. Typhimurium* der Lysotypen DT 104, DT 193 und U 302 ist die Mehrfachresistenz-Situation besonders prekär (PRAGER et al. 1999; BOYD et al. 2002; MIKO et al. 2005; QUINN et al. 2006; CHEN et al. 2007; MATIASOVICOVA et al. 2007). Eine Ursache für die Mehrfachresistenz ist die Aufnahme der sogenannten *Salmonella*-Genomischen-Insel 1 (SGI-1) bzw. SGI-2, die bei *S. Typhimurium* DT 104 und *S. Infantis*-Stämmen entsprechend nachgewiesen wurden. Sie vermitteln diverse Antibiotikaresistenzen, in dem die SGI's Antibiotika-Resistenzdeterminanten sukzessiv aufgenommen werden (LEVINGS et al. 2005; CLOECKAERT et al. 2007; MATIASOVICOVA et al. 2007; NOGRADY et al. 2008;

LEVINGS et al. 2008; KHAN et al. 2009). Es ist bekannt, dass *S. Enteritidis*-Stämme erst Mitte der 80-er Jahre weltweit in die Geflügelbestände eingedrungen sind (RABSCH et al. 2001; RABSCH et al. 2007). *S. Typhimurium* war vor diesem Erregerwechsel der häufigste Serovar und hat im Laufe der Zeit einige Integrons mit Resistenzgenen gegen Sulfonamide (z. B. *sulI*) oder gegen Aminoglykoside (z. B. *aadA2*) erworben. Darüber hinaus könnten bei *S. Enteritidis* auch Restriktionsdeterminanten auftreten, die erschweren, dass sich fremde genetische Elemente wie Transposons und Integrons/Genkassetten etablieren. Diese SGI's wurden früher bei *S. Enteritidis*-Stämmen nicht beobachtet, aber seit 2000 wurden solche Integrons auch bei *S. Enteritidis* beschrieben (RODRIGUEZ et al. 2008).

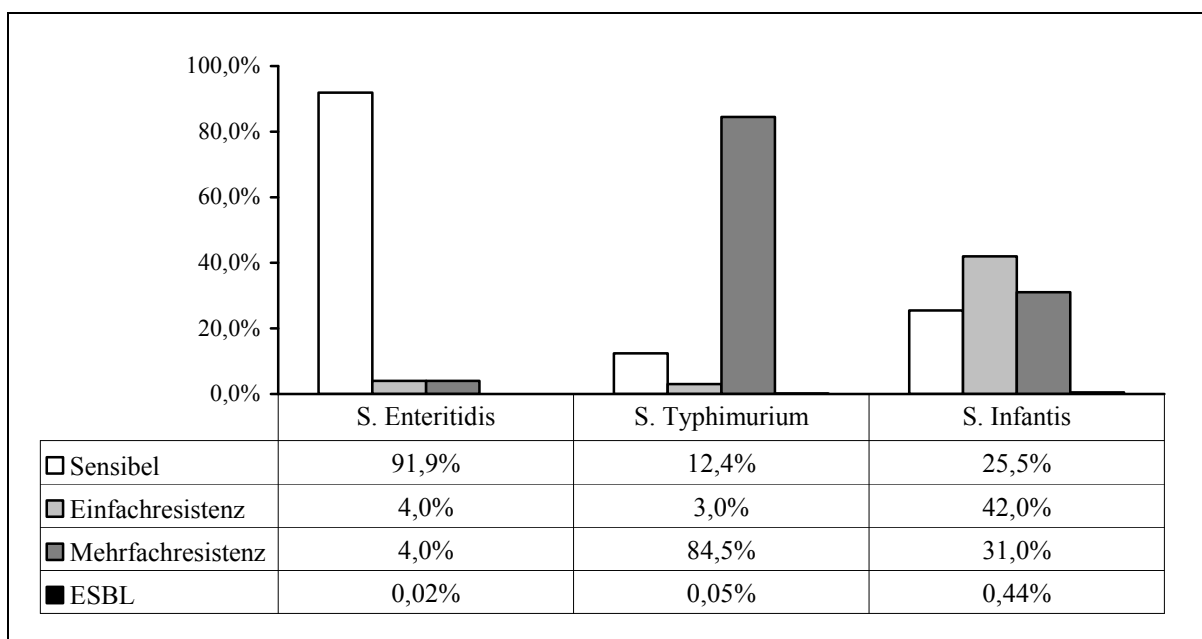


Abbildung 20: Resistenzen bei ausgewählten *Salmonella*-Serovaren

Besonders bemerkenswert ist die Tatsache, dass bei *S. Infantis* erstmals vier Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)-produzierende Stämme in Deutschland aufgetreten sind (Tabelle 27). Der Prozentsatz liegt etwa 10x höher als bei *S. Enteritidis* und *S. Typhimurium* (Abbildung 20). Auch in der Literatur wurde seit den 1990er Jahren über ESBL positive *S. Infantis*-Isolate beim Menschen und bei Mastgeflügel aus anderen Ländern wie Niederlande, Belgien, Poland, USA, Brasilien, Argentinien, Tunesien, Honduras sowie Japan berichtet (ASENSI u. HOFER 1994; SZYCH et al. 2001; CONZA et al. 2002; CHEN et al. 2004; LIEBANA et al. 2004; HASMAN et al. 2005; TAGUCHI et al. 2006; SHAHADA et al. 2006; CHOUCANI et al. 2006; CLOECKAERT et at. 2007). Außerdem wurden bereits einige Ausbrüche durch mehrfachresistente *S. Infantis*-Stämme (ESBL) insbesondere bei

kleinen Kindern in Brasilien und Argentinien beobachtet (MORAES et al. 2000; PESSOA-SILVA et al. 2002; DI CONZA et al. 2002; FONSECA et al. 2006). Die Resistenz gegenüber der 3. Generation von Cephalosporinen wurde in unserem Fall durch plasmidkodierende Gene *bla*_{CTX-M-1} und *bla*_{TEM-52} vermittelt. Es ist auch zu bemerken, dass diese Isolate zu zwei dominierenden Lysotypen (LT 1/ LT 29) gehörten (Tabelle 27). CLOECKAERT et al. (2007) fanden auch *S. Infantis*-Stämme beim Menschen und bei Mastgeflügel in Belgien, die einen identischen Typ *bla*_{TEM-52} aufwiesen. Der Typ *bla*_{CTX-M-1} wurde bei *S. Infantis*-Isolaten zum ersten Mal in Deutschland gefunden. Die nachgewiesenen plasmidkodierenden Gene (*bla*_{CTX-M-1} und *bla*_{TEM-52}) sind mobil und können sich gegebenenfalls sowohl unter *S. Infantis*-Stämmen als auch innerhalb der Familie der *Enterobacteriaceae* (*E. coli* gehört zu Darmflora) schnell verbreiten.

5.4 Makrorestriktionsanalyse

325 *S. Infantis*-Isolate verschiedener Jahre und Herkunft wurden sowohl durch Lysotypie als auch durch *Xba*I-Makrorestriktionsanalyse untersucht. Dabei sind 31 Lysotypen und 58 *Xba*I-Typen identifiziert worden. Neun Stämme wurden wegen Untypisierbarkeit keinem Lysotyp zugeordnet. Die Clusteranalyse der 325 *S. Infantis*-Stämme zeigte eine hohe Diversität der *S. Infantis* *Xba*I-Profile (45 % Verwandtschaftsgrad, Daten nicht gezeigt). Auch bei anderen Serovaren wurde die *Xba*I-Makrorestriktionsanalyse erfolgreich zur Feintypisierung der Stämme von z. B. *S. Heidelberg* (DEMCZUK et al. 2003), *S. Infantis* (NOGRADY et al. 2007, 2008), *S. Derby* (BRENNER MICHAEL et al. 2006a), *S. Bovismorbificans* (LIESEGANG et al. 2002) oder *S. Agona* (RABSCH et al. 2005) angewandt. Im Gegensatz dazu zeigt die Subdifferenzierung von *S. Enteritidis*-Stämmen (GARAIZAR et al. 2000; PRAGER u. TSCHÄPE 2003; BOXRUD et al. 2007; ROSS u. HEUZENROEDER 2009; RIVOAL et al. 2009, BERANEK et al. 2009), dass die PFGE in diesem Fall weniger als andere molekulare Methoden diskriminiert. Die Anwendung der PFGE zur Feintypisierung von Salmonellen gilt als so genannter „goldener Standard“ und wird immer wieder, insbesondere vor dem Hintergrund der hohen Klonalität der Salmonellen, diskutiert. Salmonellen gelten insgesamt als klonal und homogen, und sie sind genetisch stabil (PRAGER u. TSCHÄPE 2003).

Bei den untersuchten *S. Infantis*-Stämmen sind verschiedene Varianten durch Lysotypie und PFGE festgestellt worden. Bei epidemiologisch relevantem Geschehen wiesen alle zusammengehörende Stämme (n = 89) einen einheitlichen Lyso- und *Xba*I-Typ auf. Neben diesen Ausbruchstämmen gab es auch sporadische Isolate (n = 150), die durch die gleiche

Lyso-/XbaI-Typ-Kombination gekennzeichnet waren. Andere sporadische Isolate (n = 86) hingegen zeigten verschiedene Lyso- und XbaI-Typ-Kombinationen (Tabelle 6, Anhang). Zu diesen gehörten z. B. Stämme des Lysotyps 11, bei denen man mittels PFGE-Verfahren XbaI 7 und XbaI 4 finden konnte (Abbildung 14). Außerdem besitzen die Isolate 08-01574 (XbaI 7), 06-04208 (XbaI 7) und 06-02985 (XbaI 4) den gleichen VNTR-Typ 163/ 307-1, deshalb könnte man bei dem Isolat 06-02985, XbaI 4 annehmen, dass es sich um eine zusätzliche Bande handelt, die wahrscheinlich durch Aufnahme eines Plasmids entstanden ist. So könnten Stämme dieser Gruppe doch einem identischen Klon zugeordnet werden. Die Stämme, die zum Lysotyp 24 gehörten, weisen vermehrt der XbaI-Typ 2 auf, aber auch andere XbaI-Typen wie z. B. XbaI 21 und XbaI 20 (Abbildung 15). Die sich in mehrere Restriktionsfragmenten von XbaI 2 unterscheiden. Hier wird eine Identität als unwahrscheinlich angesehen.

Da Prophagen-Lysogenie bei genetisch unterschiedlichen Stämmen auftreten kann, werden manche Lysotypen durch PFGE-Verfahren weiter differenziert (TSCHÄPE 1996; RABSCH et al. 2002b; BRÜSSOW et al. 2004). So wurden z. B. Stämme des LT 29 in diverse XbaI-Typen unterteilt (Abbildung 17). Auch LIEBANA et al. (2002a, 2002b) wiesen nach, dass *S. Typhimurium*-Stämme der Lysotypen DT 104, U 302, DT 204b und DT 49 bzw. *S. Enteritidis*- Stämme der Lysotypen PT 4, PT 7, PT 6, PT 8, PT 13a, PT 29 sowie PT 34 durch PFGE feiner subdifferenziert werden konnten. Die XbaI-Typen 27, 5 und 11 des LT 29 sind sehr ähnlich bezüglich ihrer XbaI-Muster. Aus XbaI 5-Isolaten (04-08271, 03-02419 und 04-09165, Masthähnchen, Ungarn) konnten jeweils Plasmide mit einer Größe von 160 kbp isoliert werden. Deshalb ist es wahrscheinlich, dass durch Aufnahme eines Plasmids das XbaI-Muster verändert wurde (BRÜSSOW et al. 2004). Die PFGE-Typen 27, 5 und 11 sind daher als verwandt zu beurteilen.

Im Gegenteil dazu ist in der Tabelle 28 zu sehen, dass bei einigen XbaI-Mustern (1a, 1c, 4, 5a, 6, 7a, 13, 15, 16, 16a, 17, 27, 27a und 34b) unterschiedliche Lysotypen festgestellt wurden. Eine Erklärung dafür wäre, dass Integrationsstellen der Prophagen auf großen PFGE-Fragmenten liegen. Im Gel ist der Unterschied des Prophagen von ca. 30 kbp jedoch nicht sichtbar. Aus der Literatur ist bekannt, dass der Genotyp eines Bakteriums auch keine absolute Stabilität besitzt (VAN BELKUM et al. 2001). Die genetischen Veränderungen in der chromosomalen DNA werden durch die chromosomale Integration von temperenten Phagen, Insertionselementen, Plasmiden, Transposons und Integrons/Genkassetten, aber auch durch den Erwerb/Verlust oder die Transposition entsprechender Elemente hervorgerufen (VAN BELKUM et al. 2001; BRÜSSOW et al. 2004). Auch bei anderen *Salmonella*-

Serovaren wurden einige *XbaI*-Typen gefunden, die durch Lysotypie weiter differenziert werden konnten (GIBSON et al. 2001; LIESEGANG et al. 2002; DEMCZUK et al. 2003). Deshalb kann man durch kombinierten Einsatz mehrerer Methoden eine bessere Differenzierung der Stämme erzielen. Eine weitere Möglichkeit zur Feindifferenzierung wäre der Einsatz eines zweiten Enzyms z. B. *BlnI*. Um die diskriminatorische Kraft der verschiedenen Methoden beurteilen zu können, wurden statistische Methoden hinzugezogen. Der diskriminatorische Index nach Simpson's wird für eine Methode berechnet, während der Wallace's Koeffizient eine Vergleichsanalyse von zwei Methoden darstellt. Der diskriminatorische Index nach Simpson's betrug 0,95 bei der PFGE für *XbaI* und bei der Lysotypie 0,82. Es zeigt sich, dass in der vorliegenden Arbeit die *XbaI*-Analyse für die Subdifferenzierung des Serovars *S. Infantis* ein starkes Diskriminierungspotential aufweist, was auch die Ergebnisse von ROSS u. HEUZENROEDER (2008) bestätigen. Der bestimmte Wallace's Koeffizient wies eine schlechende Korrelation zwischen beiden Methoden auf. Er gibt die Wahrscheinlichkeit an, ob zwei Isolate eines Lysotyps zu einem *XbaI*-Typ zugeordnet werden können. In diesem Fall war sie 45 %. Wenn die Wahrscheinlichkeit umgekehrt analysiert wird, so dass zwei einheitliche *XbaI*-Typen zu einem bestimmten Lysotyp gehören können, betrug sie 97 %. Die Unterschiede der Methoden liegen in den epidemiologischen Betrachtungsebenen. Die Lysotypie erfasst die Ebene der epidemiologisch relevanten „Typen“ und andere die populationsgenetische Ebene (TSCHÄPE 1996). Als besonders diskriminatorisch für Salmonellen hat sich dabei die PFGE in Kombination mit der Lysotypie für epidemiologische Zwecke erwiesen (PRAGER et al. 1999; LIESEGANG et al. 2001).

5.5 Multiple Locus Variable Number Tandem Repeat Analysis

Mit Hilfe von MLVA und Lysotypie wurden in einer Vergleichsuntersuchung 40 *S. Infantis*-Stämme von Menschen, Tieren und Lebensmitteln getestet (Tabelle 30). Dabei konnten 17 VNTR-Typen und 9 Lysotypen gefunden werden. Bei diesen Untersuchungen wurde 100 % Typisierbarkeit durch MLVA und Lysotypie erreicht (Tabelle 31). Wichtig ist zu bemerken, dass einige Stämme des gleichen Lysotyps durch die MLVA weiter differenziert wurden. Beispielsweise konnte der epidemiologisch bedeutendste LT 29 durch MLVA in unterschiedliche Subklone (42/307-1, 42/313-2 und 265/307-1) aufgeteilt werden (Tabelle 30). Dies wurde auch durch die MLVA bei dem *S. Typhimurium*-Lysotyp DT 104 (LINDSTEDT et al. 2003) bzw. dem *S. Enteritidis*-Lysotyp 13a (BOXRUD et al. 2007) bestätigt. Im Gegensatz dazu konnten bei weiteren sporadischen Isolaten ohne erkennbaren

epidemiologischen Zusammenhang die gleichen VNTR-Typen und Lysotypen gefunden werden. So konnte z. B. bei den sporadischen Isolaten 06-03267 und 05-02254 trotz des fehlenden epidemiologischen Zusammenhangs eine Identität festgestellt werden (LT 1/ VNTR-Typ 42/313-2), genauso wie die Stämme 06-04208, 08-01574 und 08-01430, die zum LT 11 und VNTR-Typ 163/307-1 gehörten. Solche Analysen ermöglichen, diffuse Ausbrüche in einen epidemiologischen Zusammenhang zu stellen, wie dies bei einem *S. Agona*-Ausbruch in Deutschland durch Anwendung komplexer Typisierung gelungen ist (RABSCH et al. 2005). In der Tabelle 31 ist der diskriminatorische Index nach Simpson's für drei Methoden dargestellt. Die höchsten Subdifferenzierungsvermögen lagen bei diesem Vergleich sowohl in der PFGE-Analyse als auch in der MLVA. Auch in der Literatur wird PFGE zur Feintypisierung von Salmonellen als so genannter „goldener Standard“ angesehen (PRAGER u. TSCHÄPE 2003). Von MALORNY et al. (2008) wurde ebenfalls gute Differenzierungskraft der MLVA für *S. Enteritidis*-Stämme ermittelt. Demgegenüber beschreiben ROSS u. HEUZENROEDER (2008) in ihren durchgeführten Untersuchungen bei *S. Infantis*-Isolaten, dass ihr MLVA-System einen mäßigen D-Index (0,67) aufwies.

6 Zusammenfassung

Tatjana Miller

Entwicklung eines Lysotypiesystems für *Salmonella* Infantis und dessen Anwendung für epidemiologische Zwecke

Institut für Lebensmittelhygiene der Veterinärmedizinischen Fakultät, Universität Leipzig und Robert Koch-Institut Bereich Wernigerode
Eingereicht im März 2009

96 Seiten, 20 Abbildungen, 31 Tabellen, 334 Literaturangaben, 1 Anhang

Schlüsselwörter: *Salmonella* Infantis, Lysotypie, *Xba*I-Makrorestriktionsanalyse, komplexe Typisierung, Antibiotikaresistenz, ESBL

Salmonella (*S.*) *Infantis*-Infektionen des Menschen, oft durch Lebensmittel übertragen, sind weltweit von wachsender Bedeutung. Daher war das Ziel dieser Arbeit ein Lysotypiesystem zur Charakterisierung von *S. Infantis*-Stämmen zu entwickeln.

154 Bakteriophagen wurden zwecks Evaluierung ihrer diskriminatorischen Fähigkeit für *S. Infantis*-Stämme getestet. Das etablierte Lysotypiesystem umfasst letztlich 17 Typisierphagen. Insgesamt wurden 1008 *S. Infantis*-Stämme in dieser Arbeit untersucht, die aus Ausbrüchen und sporadischen Fällen von Gastroenteritiden des Menschen, von Tieren, aus Lebensmitteln, Futtermitteln und durch Umgebungsuntersuchungen von 1973 bis 2009 isoliert wurden. Von den 1008 untersuchten *S. Infantis*-Stämmen waren 985 Isolate durch das etablierte Lysotypiesystem typisierbar und konnten in 61 Lysotypen (LT) unterteilt werden. 23 Stämme konnten durch die Lysotypie nicht charakterisiert werden. Unter den 61 Lysotypen dominierten vor allem die Lysotypen LT 29 (30 %), LT 1 (21 %), LT 11 (7 %) sowie LT 9 (7 %), die sowohl beim Menschen als auch in Lebensmitteln und bei Tieren vorkamen, und wahrscheinlich als epidemisch relevante Stämme anzusehen sind. Bemerkenswert ist auch der Befund, dass Stämme des LT 23 in Deutschland nur in den 70er Jahren beim Mensch gefunden wurden, was für einen Erregerwandel spricht.

Zur molekularen Subdifferenzierung wurden 325 *S. Infantis*-Isolate verschiedener Herkunft ausgewählt und durch Lysotypie und *Xba*I-Makrorestriktionsanalyse untersucht, wobei 31 Lyso- und 58 *Xba*I-Typen identifiziert wurden. Die Analyse von Stämmen (n = 89), die zu mehreren Ausbrüchen gehörten, zeigen innerhalb eines Geschehens einen einheitlichen Lyso- bzw. *Xba*I-Typ, wie z. B. die Stämme der Ausbrüche in Dobel (LT 29/*Xba*I 27), in Lüneburg (LT 8/*Xba*I 43a) und in Stolberg (LT 1/*Xba*I 34). Es gab darüber hinaus auch sporadische Isolate vom Mensch und von verschiedenen Tierarten (n = 150) mit Lyso-/*Xba*I-Typ-Kombinationen, die bei verschiedenen Ausbruchsstämmen gefunden wurden. Das könnte auf eine Verbreitung und lange Persistenz dieser Klone hindeuten. Andere sporadische Isolate (n = 86) hingegen wiesen verschiedene Lyso- und *Xba*I-Typ-Kombinationen auf. Diese Ergebnisse unterstreichen, dass durch die komplexe Typisierung eine bessere Diskriminierung von *S. Infantis*-

Stämmen möglich wird und dadurch auch eine eindeutigere Erkennung von Ausbrüchen. Bei 50 untersuchten Ausbrüchen (40 Lebensmittelvergiftungen und 10 Hospitalinfektionen, insgesamt 187 Stämme) wurden 12 Lysotypen nachgewiesen. Bei mehreren dieser Ausbrüche wurde der Klon LT 29/*Xba*I 27 identifiziert, der vermehrt bei Masthähnchen vorkommt. Besonders bemerkenswert ist das Auftreten von *S. Infantis* als nosokomialer Erreger von Hospitalausbrüchen in deutschen Kliniken. Beispielsweise traten in einer Klinik in Baden-Württemberg seit 2002 immer wieder *S. Infantis*-Stämme des LT 29/*Xba*I 27 auf. Eine Lebensmittelvergiftung mit 188 Erkrankten in zwei Krankenhäusern wurde im Jahr 2004 in Bayern durch Backwaren verursacht. Mittels Lysotypie und PFGE konnten alle Stämme von Menschen und Lebensmitteln als LT 53/*Xba*I 6 charakterisiert werden.

Die überwiegende Anzahl der *S. Infantis*-Infektionen sind lebensmittelbedingt. Bei zwei Ausbrüchen in Nordrhein-Westfalen in den Jahren 2007 und 2008, die durch Schweinebraten und Geflügeldöner verursacht wurden, sind die *S. Infantis*-Klone LT 1/*Xba*I 34a und LT 1/*Xba*I 34 identifiziert worden. Der Typ LT 1/*Xba*I 34 wurde auch bei Schweinen und bei Masthähnchen nachgewiesen. Die komplexe Typisierung beweist, dass beide Tierspezies als Infektionsquellen für *S. Infantis* dienen. Eine überregionale Häufung von *S. Infantis*-Meldungen aus Thüringen, Niedersachsen und Nordrhein-Westfalen fielen im Oktober 2007 auf, wobei alle *S. Infantis*-Isolate bezüglich des Lyso-/*Xba*I-Typs (LT 29/*Xba*I 27a) identisch waren. Somit lassen sich durch kontinuierliche komplexe Typisierung von *S. Infantis*-Isolaten auch diffuse Ausbrüche erfassen.

Der Serovar *S. Infantis* ist in Geflügelbeständen weit verbreitet. Isolate aus Masthähnchen, die aus Deutschland, Ungarn und Island stammten, wurden typisiert und in 24 Lysotypen eingeordnet. In Deutschland dominierten bei Masthähnchen Stämme mit folgenden Typisierungsmustern, LT 4/*Xba*I 4, LT 29/*Xba*I 5 und LT 29/*Xba*I 27. Die Stämme mit der Kombination LT 29/*Xba*I 5 stammten ursprünglich aus Ungarn. Im Gegensatz dazu wurde bei isländischen Isolaten aus Masthähnchen der bisher in Deutschland und Ungarn nicht vorkommende Lysotyp 61 nachgewiesen. Die Lysotypie weist sowohl darauf hin, dass *S. Infantis*-Stämme zwischen verschiedenen Ländern zirkulieren als auch darauf, dass es länderspezifische epidemiologische Prozesse gibt.

Die Antibiotikaresistenz-Testung gegen 17 Antibiotika ergab, dass 68 % der *S. Infantis*-Stämme sensibel oder einfachresistent und nur 21 % mehrfachresistent sind. Besorgniserregend war, dass zum ersten Mal vier Isolate des Serovars *S. Infantis* gefunden wurden, die über eine Extended-Spectrum Beta-Lactamase-vermittelte Resistenz gegen Cephalosporine verfügten, was durch PCR und Sequenzierung bestätigt wurde. Diese mehrfachresistenten Stämme mit den ESBL-Typen CTX-M-1 bzw. TEM-52 gehören zu den häufig vorkommenden Lysotypen LT 1 und LT 29, die auch bei Masthähnchen und Mastschweinen verbreitet sind. Die ESBL-Resistenz bei *S. Infantis* in Deutschland sollte weiter beobachtet werden.

Der routinemäßige Einsatz des entwickelten Lysotypieschemas für den *S. Infantis*-Serovar wird dazu beitragen, die epidemiologische Analyse zu verbessern.

7 Summary

Tatjana Miller

Development of a phage typing system for *Salmonella* Infantis for epidemiological purposes

Institute of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig and
Robert Koch-Institute, Wernigerode Branch
Submitted in March 2009

96 pages, 20 figures, 31 tables, 334 references, 1 appendix

Keywords: *Salmonella* Infantis, phage typing, *Xba*I macrorestriction analysis, complex typing, antibiotic resistance, ESBL

The impact of *Salmonella* (*S.*) *Infantis* infections in humans often transmitted by foods is increasing all around the world. The aim of this thesis was the development of a phage typing scheme for the characterization of *S. Infantis*.

154 typing phages were tested on *S. Infantis* strains and evaluated according to their discriminating capacity. The final typing scheme was established using 17 typing phages. A total of 1008 *S. Infantis* strains were included in this study. The strains were isolated from outbreaks and sporadic cases of gastroenteritis in humans, from animals, food, feed and the environment during the period 1973 - 2009.

For molecular subdifferentiation and examination, 325 *S. Infantis* isolates of different origins were characterized by phage typing and *Xba*I macrorestriction pattern analysis by pulsed field gel electrophoresis (PFGE).

Of the 1008 *S. Infantis* strains analyzed, 985 were typeable with the established scheme, resulting in 61 different *S. Infantis* phage types (PT). The *S. Infantis* phage types PT 29 (30 %), PT 1 (21 %), PT 11 (7 %) and PT 9 (7 %) are epidemiologically predominant. These results show epidemic relevant strains, which are found in humans, food and animals. PT 23 was found only in isolates from the seventies, suggesting a later change in the phage type of this strain.

*Xba*I macrorestriction analysis was performed for molecular subdifferentiation of some strains (n = 325). It was found, that they belonged to 31 different phage- and 58 *Xba*I types. Strains of the same outbreak (n=89) revealed identical phage- and *Xba*I-types. The majority of sporadic isolates (n=150) showed the same phage- and *Xba*I-types. This may be a sign of widespread and long-persisting clones. In contrast, the other sporadic isolates (n = 86) belonged to different phage- and *Xba*I-types. This shows that complex typing allows a better discrimination of *S. Infantis*.

Among fifty outbreaks (187 strains in 40 food poisoning and 10 hospital outbreaks) 12 phage types were found. The most frequently observed clone PT 29/*Xba*I 27 was detected in broiler and human outbreaks, which indicates a clonal distribution. Remarkable was the emergence of *S. Infantis* as a nosocomial pathogen in several German hospitals. For example, *S. Infantis* strains of PT 29/*Xba*I 27 were repeatedly detected in a Baden-Württemberg clinic since 2002. A huge outbreak with 188 cases in two clinics was observed in Bavaria in 2004 and traced back to bakery products. All strains isolated from humans and food could be characterized as identical by phage typing and *Xba*I macrorestriction analysis (PT 53/*Xba*I 6).

The majority of *S. Infantis*-infections are food-borne outbreaks and these have their origins in contaminated food. Two other outbreaks in North Rhine-Westphalia in 2007 and 2008 caused by hog roast and chicken doner kebab belong to PT 1/*Xba*I 34a and PT 1/*Xba*I 34. The later was also found in pigs and broilers. The complex typing indicates these animal species as source of *S. Infantis*-infections. A supra-regional outbreak of *S. Infantis* in Thuringia, North Rhine-Westphalia and Lower Saxony was confirmed by identical phage- and *Xba*I types (PT 29/*Xba*I 27a). Diffuse outbreaks can also be detected by this complex typing system.

Broiler strains from different countries (Germany, Hungary and Iceland) were typed. A total of 24 types were found. In Germany, it was demonstrated that PT 4/*Xba*I 4, PT 29/*Xba*I 5 and PT 29/*Xba*I 27 were frequently isolated in broilers. The strains of PT 29/*Xba*I 5 were associated with the import of broilers from Hungary. Interestingly, PT 61 is a unique PT, only found in Icelandic broilers strains. This lysotyping analysis demonstrated spreading of *S. Infantis* in broiler flocks, circulation of same strains between different countries, as well as the development of country-specific epidemiologic processes.

The investigation of antibiotic resistance (against 17 antibiotics) in *S. Infantis* strains showed 68 % sensitive or monoresistant and 21 % multiresistant strains. It is alarming that four isolates belonged to the *S. Infantis* group of Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) strains. Four β -lactamase-producing strains were investigated additionally by PCR and sequencing. In these multiresistant strains (PT 1 and PT 29) the resistant determinants were CTX-M-1 and TEM-52. The ESBL-resistance in *S. Infantis* strains in Germany should be investigated.

The developed phage typing scheme can be used for laboratory-based surveillance of *S. Infantis*.

8 Literaturverzeichnis

Abrahams GL, Hensel M. Manipulating cellular transport and immune responses: dynamic interactions between intracellular *Salmonella enterica* and its host cells. *Cell Microbiol.* 2006;8(5):728-37.

Al-Nakhli HM, al-Ogaily ZH, Nassar TJ. Representative *Salmonella* serovars isolated from poultry and poultry environments in Saudi Arabia. *Rev Sci Tech.* 1999;18(3):700-9.

Anderson ES. The genetic basis of bacteriophage typing. *Br Med Bull.* 1962;18:64-8.

Anderson ES, Ward LR, Saxe MJ, de Sa JD. Bacteriophage-typing designations of *Salmonella typhimurium*. *J Hyg (Lond).* 1977;78:297-300.

Anon. Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on the Analysis of the baseline study on the prevalence of *Salmonella* in holdings of laying hen flocks of *Gallus gallus*. *The EFSA J.* 2007a;97:18-9.

Anon. Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on the Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in broiler flocks of *Gallus gallus*, Part A. *The EFSA J.* 2007b;98:1-85.

Anon. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial Resistance and Foodborne Outbreaks in the European Union in 2006. *The EFSA J.* 2007c;130:78-352.

Anon. Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on the analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in slaughter pigs, Part A. *The EFSA J.* 2008a;135:1-111.

Anon. Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on the Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in turkey flocks, Part B. *The EFSA J.* 2008b;198:1-22.

Anon. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents in the European Union in 2007. *The EFSA J.* 2009;220-23.

Asai T, Itagaki M, Shiroki Y, Yamada M, Tokoro M, Kojima A, et al. Antimicrobial resistance types and genes in *Salmonella enterica* infantis isolates from retail raw chicken meat and broiler chickens on farms. *J Food Prot.* 2006;69(1):214-6.

Asai T, Ishihara K, Harada K, Kojima A, Tamura Y, Sato S, et al. Long-term prevalence of antimicrobial-resistant *Salmonella enterica* subspecies *enterica* Serovar infantis in the broiler chicken industry in Japan. *Microbiol Immunol.* 2007;51(1):111-5.

Asai T, Harada K, Kojima A, Sameshima T, Takahashi T, Akiba M, et al. Phage type and antimicrobial susceptibility of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis from food-producing animals in Japan between 1976 and 2004. *New Microbiol.* 2008;31(4):555-9.

- Asensi MD, Hofer E. Serovars and multiple drug resistant *Salmonella* sp. isolated from children in Rio de Janeiro – Brazil. *Rev Microbiol o Paul.* 1994;25:149-53.
- Atterbury RJ, Van Bergen MA, Ortiz F, Lovell MA, Harris JA, De BA, et al. Bacteriophage therapy to reduce *Salmonella* colonization of broiler chickens. *Appl Environ Microbiol.* 2007;73(14):4543-9.
- Barrett TJ, Gerner-Smidt P, Swaminathan B. Interpretation of pulsed-field gel electrophoresis patterns in foodborne disease investigations and surveillance. *Foodborne Pathog Dis.* 2006;3(1):20-31.
- Bazaco MC, Eifert JD, Williams RC, Kathariou S. Quantitative recovery of *Listeria monocytogenes* and select salmonella serotypes from environmental sample media. *J AOAC Int.* 2007;90(1):250-7.
- Ben HA, Bejaoui M, Hichri A, Lakhoua R, Ben RS. Non-typhoid *Salmonella* in pediatric patients in Tunis (Hospital Charles-Nicolle) from 1980 to 1991. *Bull Soc Pathol Exot.* 1993;86(3):190-4.
- Beranek A, Mikula C, Rabold P, Arnhold D, Berghold C, Lederer I, et al. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis for subtyping of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis. *Int J Med Microbiol.* 2009;299(1):43-51.
- Berndt A, Wilhelm A, Jugert C, Pieper J, Sachse K, Methner U. Chicken cecum immune response to *Salmonella enterica* serovars of different levels of invasiveness. *Infect Immun.* 2007;75(12):5993-6007.
- Bertrand S, Rimhanen-Finne R, Weill FX, Rabsch W, Thornton L, Perevoscikovs J, et al. *Salmonella* infections associated with reptiles: the current situation in Europe. *Euro Surveill.* 2008;13(24):pii:18902.
- Bierschenk H. Eine Lebensmittelvergiftung durch *Salmonella* Infantis im Speiseeis. *Z die gesamte Hygiene und ihre Grenzgebiete.* 1962;5:383-7.
- Bouzoubaa K, Nagaraja KV, Newman JA, Pomeroy BS. Phage-typing system for *Salmonella* hadar of animal origin. *Avian Dis.* 1986;30(2):358-61.
- Boxrud D, Pederson-Gulrud K, Wotton J, Medus C, Lyszkowicz E, Besser J, et al. Comparison of multiple-locus variable-number tandem repeat analysis, pulsed-field gel electrophoresis, and phage typing for subtype analysis of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis. *J Clin Microbiol.* 2007;45(2):536-43.
- Boyd D, Cloeckert A, Chaslus-Dancla E, Mulvey MR. Characterization of variant *Salmonella* genomic island 1 multidrug resistance regions from serovars Typhimurium DT104 and Agona. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46(6):1714-22.
- Boyle EC, Brown NF, Finlay BB. *Salmonella enterica* serovar Typhimurium effectors SopB, SopE, SopE2 and SipA disrupt tight junction structure and function. *Cell Microbiol.* 2006;8(12):1946-57.

- Boyle EC, Bishop JL, Grassl GA, Finlay BB. *Salmonella*: from pathogenesis to therapeutics. *J Bacteriol.* 2007;189(5):1489-95.
- Bresch C. Unterscheidung verschiedener Bakteriophagentypen durch Farbindikatornährböden. *Zentralbl Bakteriol Parasitenkd Infektionskr Hyg.* 1952;159(1-2):47.
- Brown DJ, Baggesen DL, Platt DJ, Olsen JE. Phage type conversion in *Salmonella enterica* serotype Enteritidis caused by the introduction of a resistance plasmid of incompatibility group X (IncX). *Epidemiol Infect* 1999;122(1):19-22.
- Brussow H, Canchaya C, Hardt WD. Phages and the evolution of bacterial pathogens: from genomic rearrangements to lysogenic conversion. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2004;68(3):560-602.
- Bueno SM, Santiviago CA, Murillo AA, Fuentes JA, Trombert AN, Rodas PI, et al. Precise excision of the large pathogenicity island, SPI7, in *Salmonella enterica* serovar Typhi. *J Bacteriol.* 2004;186(10):3202-13.
- Burckhardt F, Frank C. *Salmonella*-Panama-Erkrankungen: Zu einem überregionalen Ausbruch bei Kindern durch Minisalami-Sticks. *Epid Bull.* 2008;5:36-8.
- Callow BR. A new phage-typing scheme for *Salmonella typhimurium*. *J Hyg (Lond).* 1959;57:346-59.
- Carnell SC, Bowen A, Morgan E, Maskell DJ, Wallis TS, Stevens MP. Role in virulence and protective efficacy in pigs of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium secreted components identified by signature-tagged mutagenesis. *Microbiology.* 2007;153(Pt 6):1940-52.
- Cetinkaya F, Cibik R, Ece Soyutemiz G, Ozakin C, Kayali R, Levent B. Shigella and *Salmonella* contamination in various foodstuffs in Turkey. *Food Control.* 2008;19:1059-63.
- Chambers RM, McAdam R, de Sa JDH, Ward LR, Rowe B. A phage-typing scheme for *Salmonella virchow*. *FEMS Microbiol Lett.* 1987;40:155-7.
- Chan K, Baker S, Kim CC, Detweiler CS, Dougan G, Falkow S. Genomic comparison of *Salmonella enterica* serovars and *Salmonella bongori* by use of an *S. enterica* serovar typhimurium DNA microarray. *J Bacteriol.* 2003;185(2):553-63.
- Chart H, Row B, Threlfall EJ, Ward LR. Conversion of *Salmonella enteritidis* phage type 4 to phage type 7 involves loss of lipopolysaccharide with concomitant loss of virulence. *FEMS Microbiol Lett.* 1989;51(1):37-40.
- Chen CY, Nace GW, Solow B, Fratamico P. Complete nucleotide sequences of 84.5- and 3.2-kb plasmids in the multi-antibiotic resistant *Salmonella enterica* serovar Typhimurium U302 strain G8430. *Plasmid.* 2007;57(1):29-43
- Chen S, Zhao S, White DG, Schroeder CM, Lu R, Yang H, et al. Characterization of multiple-antimicrobial-resistant salmonella serovars isolated from retail meats. *Appl Environ Microbiol.* 2004;70(1):1-7.

- Cho S, Boxrud DJ, Bartkus JM, Whittam TS, Saeed M. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis of *Salmonella* Enteritidis isolates from human and non-human sources using a single multiplex PCR. *FEMS Microbiol Lett.* 2007;275(1):16-23.
- Chouchani C, Berlemont R, Masmoudi A, Galleni M, Frere JM, Belhadj O, et al. A novel extended-spectrum TEM-type beta-lactamase, TEM-138, from *Salmonella enterica* serovar Infantis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006;50(9):3183-5.
- Clark C, Cunningham J, Ahmed R, Woodward D, Fonseca K, Isaacs S, et al. Characterization of *Salmonella* associated with pig ear dog treats in Canada. *J Clin Microbiol.* 2001;39(11):3962-8.
- Cloeckaert A, Praud K, Doublet B, Bertini A, Carattoli A, Butaye P, et al. Dissemination of an extended-spectrum-beta-lactamase blaTEM-52 gene-carrying IncII plasmid in various *Salmonella enterica* serovars isolated from poultry and humans in Belgium and France between 2001 and 2005. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51(5):1872-5.
- Collard JM, Bertrand S, Dierick K, Godard C, Wildemauwe C, Vermeersch K, et al. Drastic decrease of *Salmonella* Enteritidis isolated from humans in Belgium in 2005, shift in phage types and influence on foodborne outbreaks. *Epidemiol Infect.* 2008;136(6):771-81.
- Cooke FJ, Threlfall EJ, Wain J. Current Trends in the Spread and Occurrence of Human Salmonellosis: Molecular Typing and Emerging Antibiotic Resistance. In: Rhen M, Maskell D, Mastroeni P, Threlfall J, editors. *Salmonella* Molecular Biology and Pathogenesis. Wymondham: Horizon Bioscience; 2007. p. 1-29.
- Craigie J, Felix A. Typing of typhoid bacilli with Vi bacteriophage. *Lancet.* 1947;823-7.
- Crook PD, Aguilera JF, Threlfall EJ, O'Brien SJ, Sigmundsdottir G, Wilson D, et al. A European outbreak of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium definitive phage type 204b in 2000. *Clin Microbiol Infect.* 2003;9(8):839-45.
- Crump JA, Luby SP, Mintz ED. The global burden of typhoid fever. *Bull World Health Organ.* 2004;82(5):346-53.
- Darby J, Sheorey H. Searching for *Salmonella*. *Aust Fam Physician.* 2008; 37(10):806-10.
- Demczuk W, Soule G, Clark C, Ackermann HW, Easy R, Khakhria R, et al. Phage-based typing scheme for *Salmonella enterica* serovar Heidelberg, a causative agent of food poisonings in Canada. *J Clin Microbiol.* 2003;41(9):4279-84.
- Demin IA, Brusina YB. Hospital-acquired salmonellosis caused by *Salmonella* Infantis. *J Epidemiol and Infect Dis.* 2006;1:21-3.
- De Sa JDH, Ward LR, Rowe B. A scheme for the phage typing of *Salmonella* hadar. *FEMS Microbiol Lett.* 1980;9:175-7.
- Deng W, Liou SR, Plunkett G 3rd, Mayhew GF, Rose DJ, Burland V, et al. Comparative genomics of *Salmonella enterica* serovar Typhi strains Ty2 and CT18. *J Bacteriol.* 2003;185(7):2330-7.

- Di CJ, Ayala JA, Power P, Mollerach M, Gutkind G. Novel class 1 integron (InS21) carrying blaCTX-M-2 in *Salmonella enterica* serovar infantis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46(7):2257-61.
- Dieckmann H, Dreesman J, Dieckmann H, Malorny B, Schroeter A, Pulz M. Investigation of foodborne outbreak due to *Salmonella* infantis using epidemiological and microbiological methods. *Gesundheitswesen.* 1999;61(5):241-7.
- Dieckmann R, Helmuth R, Erhard M, Malorny B. Rapid classification and identification of salmonellae at the species and subspecies levels by whole-cell matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Appl Environ Microbiol.* 2008;74(24):7767-78.
- Dunkley KD, Callaway TR, Chalova VI, McReynolds JL, Hume ME, Dunkley CS, et al. Foodborne *Salmonella* ecology in the avian gastrointestinal tract. *Anaerobe.* 2009;15(1-2):26-35.
- Dunowska M, Morley PS, Traub-Dargatz JL, Davis MA, Patterson G, Frye JG, et al. Comparison of *Salmonella enterica* serotype Infantis isolates from a veterinary teaching hospital. *J Appl Microbiol.* 2007;102(6):1527-36.
- Düsterhaus A, Ulbrich U, Böhmann G, Trost M. Zu einem Ausbruch durch *Salmonella* Enteritidis am Klinikum Dortmund. *Epid Bull.* 2007;48:449-51.
- Egorova S, Kaftyreva L, Grimont PA, Weill FX. Prevalence and characterization of extended-spectrum cephalosporin-resistant nontyphoidal *Salmonella* isolates in adults in Saint Petersburg, Russia (2002-2005). *Microb Drug Resist.* 2007;13(2):102-7.
- Ehrbar K, Mirolid S, Friebel A, Stender S, Hardt WD. Characterization of effector proteins translocated via the SPI1 type III secretion system of *Salmonella typhimurium*. *Int J Med Microbiol.* 2002;291(6-7):479-85.
- Ehrbar K, Friebel A, Miller SI, Hardt WD. Role of the *Salmonella* pathogenicity island 1 (SPI-1) protein InvB in type III secretion of SopE and SopE2, two *Salmonella* effector proteins encoded outside of SPI-1. *J Bacteriol.* 2003;185(23):6950-67.
- Ehrbar K, Winnen B, Hardt WD. The chaperone binding domain of SopE inhibits transport via flagellar and SPI-1 TTSS in the absence of InvB. *Mol Microbiol.* 2006;59(1):248-64.
- Ekman P, Nikkari S, Putto-Laurila A, Toivanen P, Granfors K. Detection of *Salmonella* infantis in synovial fluid cells of a patient with reactive arthritis. *J Rheumatol.* 1999;26(11):2485-8.
- Elgroud R, Zerdoumi F, Benazzouz M, Bouzitouna-Bentchouala C, Granier SA, Fremy S, et al. Characteristics of salmonella contamination of broilers and slaughterhouses in the region of constantine (algeria). *Zoonoses Public Health.* 2009;56(2):84-93.
- Emberland KE, Ethelberg S, Kuusi M, Vold L, Jensvoll L, Lindstedt BA, et al. Outbreak of *Salmonella* Weltevreden infections in Norway, Denmark and Finland associated with alfalfa sprouts, July-October 2007. *Euro Surveill.* 2007;12(11):E071129.4.

Endo S. Über ein Verfahren zum Nachweis von Typhusbazillen. Zentralbl Bakt. I Orig. 1904;35:109-10.

Felix A. Phage typing of *Salmonella typhimurium*: its place in epidemiological and epizootiological investigations. J Gen Microbiol. 1956;14(1):208-22.

Feng Y, Wentz SR, Majerus PW. Overexpression of the inositol phosphatase SopB in human 293 cells stimulates cellular chloride influx and inhibits nuclear mRNA export. Proc Natl Acad Sci U S A. 2001;98(3):875-9.

Fernandez de la Hoz Zeitler, Carpintero Redondo JL, Puchades BJ, Verde LC, Garcia CC. Study of 2 food poisoning outbreaks in Mora (Toledo) with the same source of infection. Rev Sanid Hig Publica (Madr.). 1994;68(5-6):589-95.

Fernandez J, Fica A, Ebensperger G, Calfullan H, Prat S, Fernandez A, et al. Analysis of molecular epidemiology of Chilean *Salmonella enterica* serotype enteritidis isolates by pulsed-field gel electrophoresis and bacteriophage typing. J Clin Microbiol. 2003;41(4):1617-22.

Fisk RT. J Infect Dis (Chicago). 1942;71:53.

Fluit AC, Schmitz FJ. Class 1 integrons, gene cassettes, mobility, and epidemiology. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1999;18(11):761-70.

Fonseca EL, Mykytczuk OL, Asensi MD, Reis EM, Ferraz LR, Paula FL, et al. Clonality and antimicrobial resistance gene profiles of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar infantis isolates from four public hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. J Clin Microbiol. 2006;44(8):2767-72.

Foster JW, Spector MP. How *Salmonella* survive against the odds. Annu Rev Microbiol. 1995;49:145-74.

Frost JA, Ward LR, Rowe B. Acquisition of a drug resistance plasmid converts *Salmonella enteritidis* phage type 4 to phage type 24. Epidemiol Infect. 1989;103(2):243-8.

Futagawa-Saito K, Hiratsuka S, Kamibeppu M, Hirosawa T, Oyabu K, Fukuyasu T. *Salmonella* in healthy pigs: prevalence, serotype diversity and antimicrobial resistance observed during 1998-1999 and 2004-2005 in Japan. Epidemiol Infect. 2008;136(8):1118-23.

Galanis E, Lo Fo Wong DM, Patrick ME, Binsztein N, Cieslik A, Chalermchikit T, et al. Web-based surveillance and global *Salmonella* distribution, 2000-2002. Emerg Infect Dis. 2006;12(3):381-8.

Garaizar J, Lopez-Molina N, Laconcha I, Lau BD, Rementeria A, Vivanco A, et al. Suitability of PCR fingerprinting, infrequent-restriction-site PCR, and pulsed-field gel electrophoresis, combined with computerized gel analysis, in library typing of *Salmonella enterica* serovar enteritidis. Appl Environ Microbiol. 2000;66(12):5273-81.

Gard S. Das Schwärmphänomen in der *Salmonella*-Gruppe und seine praktische Ausnutzung. Z Hyg Infektionskr. 1938;120:615-9.

Gatto AJ, Peters TM, Green J, Fisher IS, Gill ON, O'Brien SJ, et al. Distribution of molecular subtypes within *Salmonella enterica* serotype Enteritidis phage type 4 and *S. Typhimurium* definitive phage type 104 in nine European countries, 2000-2004: results of an international multi-centre study. *Epidemiol Infect.* 2006;134(4):729-36.

Gerlach RG, Hensel M. *Salmonella* pathogenicity islands in host specificity, host pathogen-interactions and antibiotics resistance of *Salmonella enterica*. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 2007;120(7-8):317-27.

Giacomodonato MN, Uzzau S, Bacciu D, Caccuri R, Sarnacki SH, Rubino S, et al. SipA, SopA, SopB, SopD and SopE2 effector proteins of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium are synthesized at late stages of infection in mice. *Microbiology.* 2007;153(Pt 4):1221-8.

Gibson KJ, Prager R, Liesegang A, Fruth A, Blaha T, Tschäpe H, et al. Phage typing and clonal analysis of *Salmonella* Heidelberg strains isolated from animals and other sources from Minnesota (USA) and Germany. In: Van der Wof P, editor. *Proceedings of the 4th International Symposium on the Epidemiology and Control of Salmonella and other Food Borne Pathogens in Pork*; 2001 Sep 2-5; Leipzig, Deutschland. Wijk bij Duurstede: ADDIX; 2001. p. 364-6.

Gil PR, Alejandro CG, Meca AA, Barrera VH, de Miguel AG. Epidemiology of hospital-treated *Salmonella* infection; Data from a national cohort over a ten-year period. *J Infect.* 2009;58(3):175-81.

Ginocchio CC, Olmsted SB, Wells CL, Galan JE. Contact with epithelial cells induces the formation of surface appendages on *Salmonella typhimurium*. *Cell.* 1994;76(4):717-24.

Grundmann H, Hori S, Tanner G. Determining confidence intervals when measuring genetic diversity and the discriminatory abilities of typing methods for microorganisms. *J Clin Microbiol.* 2001;39(11):4190-2.

Guiney DG, Lesnick M. Targeting of the actin cytoskeleton during infection by *Salmonella* strains. *Clin Immunol.* 2005;114(3):248-55.

Guiney DG. The role of host cell death in *Salmonella* infections. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2005;289:131-50.

Gutheil H. On *Salmonella infantis* infection in premature infants. *Arch Kinderheilkd.* 1960;161:227-36.

Guzman CA, Borsutzky S, Griot-Wenk M, Metcalfe IC, Pearman J, Collioud A, et al. Vaccines against typhoid fever. *Vaccine.* 2006;24(18):3804-11.

Hald B, Olsen A, Madsen M. *Typhaea stercorea* (Coleoptera: Mycetophagidae), a carrier of *Salmonella enterica* serovar *Infantis* in a Danish broiler house. *J Econ Entomol.* 1998;91(3):660-4.

Hapfelmeier S, Ehrbar K, Stecher B, Barthel M, Kremer M, Hardt WD. Role of the *Salmonella* pathogenicity island 1 effector proteins SipA, SopB, SopE, and SopE2 in *Salmonella enterica* subspecies 1 serovar Typhimurium colitis in streptomycin-pretreated mice. *Infect Immun.* 2004;72(2):795-809.

- Hardt WD, Chen LM, Schuebel KE, Bustelo XR, Galan JE. *S. typhimurium* encodes an activator of Rho GTPases that induces membrane ruffling and nuclear responses in host cells. *Cell*. 1998;93(5):815-26.
- Hartwig H, Schlösser A, Rabsch W, Beckmann G. Salmonellen in Kräutern und Gewürzen: Eine Langzeitstudie aus einem mikrobiologischen Auftragslabor. *J Fleischwirtschaf*. 2006;8:155-61.
- Hasenson L, Gericke B, Liesegang A, Claus H, Poplawskaja J, Tscherkess N, et al. Epidemiological and microbiological studies on salmonellosis in Russia. *Zentralbl Hyg Umweltmed*. 1995;198(2):97-116.
- Hasman H, Mevius D, Veldman K, Olesen I, Aarestrup FM. beta-Lactamases among extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-resistant *Salmonella* from poultry, poultry products and human patients in The Netherlands. *J Antimicrob Chemother*. 2005;56(1):115-21.
- Hatakka M. *Salmonella* outbreak among railway and airline passengers. *Acta Vet Scand*. 1992;33(4):253-60.
- Heithoff DM, Shimp WR, Lau PW, Badie G, Enioutina EY, Daynes RA, et al. Human *Salmonella* clinical isolates distinct from those of animal origin. *Appl Environ Microbiol*. 2008;74(6):1757-66.
- Helm RA, Porwollik S, Stanley AE, Maloy S, McClelland M, Rabsch W, et al. Pigeon-associated strains of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium phage type DT2 have genomic rearrangements at rRNA operons. *Infect Immun*. 2004;72(12):7338-41.
- Hillier K. Babies and bacteria: phage typing, bacteriologists, and the birth of infection control. *Bull Hist Med*. 2006;80(4):733-61.
- Hof H. Salmonellose am Ende einer Schwangerschaft-Gefahr für das Neugeborene. *Epid Bull*. 2001;37:281-2.
- Hofer B, Ruge M, Dreiseikelmann B. The superinfection exclusion gene (*sieA*) of bacteriophage P22: identification and overexpression of the gene and localization of the gene product. *J Bacteriol*. 1995;177(11):3080-6.
- Hopkins KL, Threlfall EJ. Frequency and polymorphism of *sopE* in isolates of *Salmonella enterica* belonging to the ten most prevalent serotypes in England and Wales. *J Med Microbiol*. 2004;53(Pt 6):539-43.
- Hudson JA, Billington C, Carey-Smith G, Greening G. Bacteriophages as biocontrol agents in food. *J Food Prot*. 2005;68(2):426-37.
- Hueffer K, Galan JE. *Salmonella*-induced macrophage death: multiple mechanisms, different outcomes. *Cell Microbiol*. 2004;6(11):1019-25.
- Hunter PR. Reproducibility and indices of discriminatory power of microbial typing methods. *J Clin Microbiol*. 1990;28(9):1903-5.

- Hunter SB, Vauterin P, Lambert-Fair MA, Van Duyn MS, Kubota K, Graves L, et al. Establishment of a universal size standard strain for use with the PulseNet standardized pulsed-field gel electrophoresis protocols: converting the national databases to the new size standard. *J Clin Microbiol.* 2005;43(3):1045-50.
- Ibrahim AE. Bacteriophage typing of *Salmonella*. II. New bacteriophage typing scheme. *Appl. Microbiol.* 1969;18(5):748-54.
- Jansen A, Frank C, Alpers K. Bakterielle Gastroenteritiden-Focus Salmonellosen und Schweinefleisch-assoziierte Ausbrüche. *Epid Bull.* 2005;33:298.
- Jansen A, Habermann F, Dreesman J, Beyerer A, Hiller P, Feier B, et al. Zu einem Ausbruch von *Salmonella* (*S.*) Enteritidis in einem Wolfsburger Klinikum. *Epid Bull.* 2007;48:448-9.
- Jansen A, Hiller P, Desai S, Feier B, Habermann F, Baumann A, et al. Protracted nosocomial outbreak of *Salmonella* Enteritidis LT 8/7. *Z Gastroenterol.* 2008;46(11):1270-4.
- Johnson JR, Clabots C, Azar M, Boxrud DJ, Besser JM, Thurn JR. Molecular analysis of a hospital cafeteria-associated salmonellosis outbreak using modified repetitive element PCR fingerprinting. *J Clin Microbiol.* 2001;39(10):3452-60.
- Johnson RP, Gyles CL, Huff WE, Ojha S, Huff GR, Rath NC, et al. Bacteriophages for prophylaxis and therapy in cattle, poultry and pigs. *Anim Health Res Rev.* 2008;9(2):201-15.
- Jones MA, Hulme SD, Barrow PA, Wigley P. The *Salmonella* pathogenicity island 1 and *Salmonella* pathogenicity island 2 type III secretion systems play a major role in pathogenesis of systemic disease and gastrointestinal tract colonization of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in the chicken. *Avian Pathol.* 2007;36(3):199-203.
- Kafatos G, Andrews N, Gillespie IA, Charlett A, Adak GK, De PE, et al. Impact of reduced numbers of isolates phage-typed on the detection of *Salmonella* outbreaks. *Epidemiol Infect.* 2009;137(6):821-7.
- Kasatiya S, Caprioli T, Champoux S. Bacteriophage typing scheme for *Salmonella* infantis. *J Clin Microbiol.* 1979;10(5):637-40.
- Kasper W, Gutheil H. On the clinical aspects and epidemiology of *Salmonella* infantis infection. *Z Kinderheilkd.* 1964;90:341-50.
- Kato R, Ogata K, Akiba T, Yamada S. Serovar-distribution, drug-resistance, and DNA analysis of *Salmonella* strains isolated from sporadic diarrhea cases or healthy cases in Tama, Tokyo (1991-2000). *Kansenshogaku Zasshi.* 2001;75(10):837-45.
- Khakhria R, Woodward D, Johnson WM, Poppe C. *Salmonella* isolated from humans, animals and other sources in Canada, 1983-92. *Epidemiol Infect.* 1997;119(1):15-23.
- Khan AA, Ponce E, Nawaz MS, Cheng CM, Khan JA, West CS. Identification and characterization of Class 1 integron resistance gene cassettes among *Salmonella* strains isolated from imported seafood. *Appl Environ Microbiol.* 2009;75(4):1192-6.

Kiesewalter J, Seltmann G. Reagenzien und Nährböden. In: Sedlak J, Rische H, editors. Enterobacteriaceae-Infektionen. Leipzig: Thieme Verlag; 1968.

Klaus S, Krüger D, Meyer J. Bakterienviren. Jena: Gustav Fischer Verlag; 1992. p. 29-63.

Knippers R. Molekulare Genetik. Stuttgart: Thieme Verlag; 2006. p. 123-5.

Kohl KS, Farley TA. Initially unrecognized distribution of a commercially cooked meat product contaminated over several months with *Salmonella* serotype Infantis. Epidemiol Infect. 2000;125(3):491-8.

Kohler PF. Hospital Salmonellosis. A report of 23 cases of gastroenteritis caused by *Salmonella* Infantis. Jama. 1964;189:6-10.

Korhonen TK. Adhesins of *Salmonella* and their Putative Roles in Infection. In: Rhen MI, Maskell D, Mastroeni P, Threlfall J, editors. *Salmonella* Molecular Biology and Pathogenesis. Wymondham: Horizon Bioscience; 2007. p. 54-66.

Kudaka J, Itokazu K, Taira K, Iwai A, Kondo M, Susa T, et al. Characterization of *Salmonella* isolated in Okinawa, Japan. Jpn J Infect Dis. 2006;59(1):15-9.

Laconcha I, Baggesen DL, Rementeria A, Garaizar J. Genotypic characterisation by PFGE of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis phage types 1, 4, 6, and 8 isolated from animal and human sources in three European countries. Vet Microbiol. 2000;75(2):155-65.

Lalko J. Evaluation of the method of phage and biochemical typing of *Salmonella* paratyphi B. Biul Inst Med Morsk Gdansk. 1965;16(3):147-68.

Lapuz R, Tani H, Sasai K, Shirota K, Katoh H, Baba E. The role of roof rats (*Rattus rattus*) in the spread of *Salmonella* Enteritidis and *S. Infantis* contamination in layer farms in eastern Japan. Epidemiol Infect. 2008;136(9):1235-43.

Laszlo VG, Csak K, Csorian ES. A phage typing system for *Salmonella* infantis. Acta Microbiol Hung. 1988;35(1):55-69.

Laszlo VG, Csorian ES. Subdivision of common *Salmonella* serotypes: phage typing of *S. virchow*, *S. manhattan*, *S. thompson*, *S. oranienburg* and *S. bareilly*. Acta Microbiol Hung. 1988;35(3):289-94.

Lawley TD, Bouley DM, Hoy YE, Gerke C, Relman DA, Monack DM. Host transmission of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium is controlled by virulence factors and indigenous intestinal microbiota. Infect Immun. 2008;76(1):403-16.

Layton AN, Galyov EE. *Salmonella*-induced enteritis: molecular pathogenesis and therapeutic implications. Expert Rev Mol Med. 2007;9(18):1-17.

Lehmacher A, Bockemuhl J, Aleksic S. Nationwide outbreak of human salmonellosis in Germany due to contaminated paprika and paprika-powdered potato chips. Epidemiol Infect. 1995;115(3):501-11.

Levings RS, Lightfoot D, Partridge SR, Hall RM, Djordjevic SP. The genomic island SGI1, containing the multiple antibiotic resistance region of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT 104 or variants of it, is widely distributed in other *S. enterica* serovars. J Bacteriol. 2005;187(13):4401-9.

Levings RS, Djordjevic SP, Hall RM. SGI2, a relative of *Salmonella* genomic island SGI1 with an independent origin. Antimicrob Agents Chemother. 2008;52(7):2529-37.

Levinson G, Gutman GA. Slipped-strand mispairing: a major mechanism for DNA sequence evolution. Mol Biol Evol. 1987;4(3):203-21.

Levy BS, McIntire W, Damsky L, Lashbrook R, Hawk J, Jacobsen GS, et al. The Middleton outbreak: 125 cases of foodborne salmonellosis resulting from cross-contaminated food items served at a picnic and a smorgasbord. Am J Epidemiol. 1975;101(6):502-11.

Liebana E, Garcia-Migura L, Breslin MF, Davies RH, Woodward MJ. Diversity of strains of *Salmonella enterica* serotype enteritidis from English poultry farms assessed by multiple genetic fingerprinting. J Clin Microbiol. 2001;39(1):154-61.

Liebana E, Garcia-Migura L, Clouting C, Clifton-Hadley FA, Lindsay E, Threlfall EJ, et al. Multiple genetic typing of *Salmonella enterica* serotype typhimurium isolates of different phage types (DT 104, U 302, DT 204b and DT 49) from animals and humans in England, Wales and Northern Ireland. J Clin Microbiol. 2002a;40(12):4450-6.

Liebana E, Garcia-Migura L, Guard-Petter J, McDowell SW, Rankin S, Opitz HM, et al. *Salmonella enterica* serotype Enteritidis phage types 4, 7, 6, 8, 13a, 29 and 34: a comparative analysis of genomic fingerprints from geographically distant isolates. J Appl Microbiol. 2002b;92(2):196-209.

Liebana E, Batchelor M, Torres C, Brinas L, Lagos LA, Abdalhamid B, et al. Pediatric infection due to multiresistant *Salmonella enterica* serotype Infantis in Honduras. J Clin Microbiol. 2004;42(10):4885-8.

Liesegang A, Davos D, Balzer JC, Rabsch W, Prager R, Lightfoot D, et al. Phage typing and PFGE pattern analysis as tools for epidemiological surveillance of *Salmonella enterica* serovar Bovismorbificans infections. Epidemiol Infect. 2002;128(2):119-30.

Lilleengen K. Typing of *Salmonella* Typhimurium by means of bacteriophage. Acta Path Microbiol Scand Supplemen. 1948;77:1-39.

Lindqvist N, Heinikainen S, Toivonen AM, Pelkonen S. Discrimination between endemic and feedborne *Salmonella* Infantis infection in cattle by molecular typing. Epidemiol Infect. 1999;122(3):497-504.

Lindqvist N, Pelkonen S. Genetic surveillance of endemic bovine *Salmonella* Infantis infection. Acta Vet Scand. 2007;49:15.

Lindstedt BA, Heir E, Vardund T, Kapperud G. A variation of the amplified-fragment length polymorphism (AFLP) technique using three restriction endonucleases, and assessment of the

enzyme combination BglII-MfeI for AFLP analysis of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* isolates. FEMS Microbiol Lett. 2000;189(1):19-24.

Lindstedt BA, Heir E, Gjernes E, Kapperud G. DNA fingerprinting of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar typhimurium with emphasis on phage type DT 104 based on variable number of tandem repeat loci. J Clin Microbiol. 2003;41(4):1469-79.

Lindstedt BA, Vardund T, Aas L, Kapperud G. Multiple-locus variable-number tandem-repeats analysis of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium using PCR multiplexing and multicolor capillary electrophoresis. J Microbiol Methods. 2004;59(2):163-72.

Lindstedt BA. Multiple-locus variable number tandem repeats analysis for genetic fingerprinting of pathogenic bacteria. Electrophoresis. 2005;26(13):2567-82.

Liu Y, Lee MA, Ooi EE, Mavis Y, Tan AL, Quek HH. Molecular typing of *Salmonella enterica* serovar typhi isolates from various countries in Asia by a multiplex PCR assay on variable-number tandem repeats. J Clin Microbiol. 2003;41(9):4388-94.

Lo WT, Wang CC, Chu ML. Acute septicaemic acalculous cholecystitis complicated by empyema caused by *Salmonella* group D in a previously healthy child. Eur J Pediatr. 2002;161(11):575-7.

Luzzi I, Galetta P, Massari M, Rizzo C, Dionisi AM, Filetici E, et al. An Easter outbreak of *Salmonella* Typhimurium DT 104A associated with traditional pork salami in Italy. Euro Surveill. 2007;12(4):E11-2.

Malorny B, Junker E, Helmuth R. Multi-locus variable-number tandem repeat analysis for outbreak studies of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis. BMC Microbiol. 2008;8:84.

Marcuse K. Zbl Bakt I Orig. 1934;131:49.

Martinoli C, Chiavelli A, Rescigno M. Entry route of *Salmonella* typhimurium directs the type of induced immune response. Immunity. 2007;27(6):975-84.

Matiasovicova J, Adams P, Barrow PA, Hradecka H, Malcova M, Karpiskova R, et al. Identification of putative ancestors of the multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar typhimurium DT 104 clone harboring the *Salmonella* genomic island 1. Arch Microbiol. 2007;187(5):415-24.

Meakins S, Fisher IS, Berghold C, Gerner-Smidt P, Tschape H, Cormican M, et al. Antimicrobial drug resistance in human nontyphoidal *Salmonella* isolates in Europe 2000-2004: a report from the Enter-net International Surveillance Network. Microb Drug Resist. 2008;14(1):31-5.

Meehan PJ, Atkeson T, Kepner DE, Melton M. A foodborne outbreak of gastroenteritis involving two different pathogens. Am J Epidemiol. 1992;136(5):611-6.

Merino LA, Ronconi MC, Navia MM, Ruiz J, Sierra JM, Cech NB, et al. Analysis of the clonal relationship among clinical isolates of *Salmonella enterica* serovar Infantis by different typing methods. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2003;45(3):119-23.

- Meyer W, Ziomek D, Rische H. *Staphylococcus aureus*. In: Rische H, editor. *Lysotypie und andere spezielle epidemiologische Laboratoriumsmethoden*. Jena: Gustav Fischer Verlag; 1973. p. 471-91.
- Michael GB, Cardoso M, Rabsch W, Schwarz S. Phenotypic and genotypic differentiation of porcine *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Derby isolates. *Vet Microbiol*. 2006a;118(3-4):312-8.
- Michael GB, Cardoso M, Schwarz S. Molecular analysis of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Agona isolated from slaughter pigs. *Vet Microbiol*. 2006b;112(1):43-52.
- Miko A, Pries K, Schroeter A, Helmuth R. Molecular mechanisms of resistance in multidrug-resistant serovars of *Salmonella enterica* isolated from foods in Germany. *J Antimicrob Chemother*. 2005;56(6):1025-33.
- Miller T, Rabsch W, Prager R, Tietze E. Zum Vorkommen von *Salmonella* Infantis in Deutschland. *Epid Bull*. 2008;31:257-60.
- Miold S, Rabsch W, Rohde M, Stender S, Tschape H, Russmann H, et al. Isolation of a temperate bacteriophage encoding the type III effector protein SopE from an epidemic *Salmonella typhimurium* strain. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999;96(17):9845-50.
- Miold S, Rabsch W, Tschape H, Hardt WD. Transfer of the *Salmonella* type III effector sopE between unrelated phage families. *J Mol Biol*. 2001;312(1):7-16.
- Monack DM, Bouley DM, Falkow S. *Salmonella typhimurium* persists within macrophages in the mesenteric lymph nodes of chronically infected Nramp1^{+/+} mice and can be reactivated by IFN γ neutralization. *J Exp Med*. 2004;199(2):231-41.
- Monno R, Rizzo C, De VD, Nucleo E, Migliavacca R, Pagani L, et al. Prevalence, antimicrobial resistance, and extended-spectrum beta-lactamases characterization of *Salmonella* isolates in Apulia, southern Italy (2001-2005). *Microb Drug Resist*. 2007;13(2):124-9.
- Moraes BA, Cravo CA, Loureiro MM, Solari CA, Asensi MD. Epidemiological analysis of bacterial strains involved in hospital infection in a university hospital from Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2000;42(4):201-7.
- Murakami K, Horikawa K, Otsuki K. Genotypic characterization of human and environmental isolates of *Salmonella choleraesuis* subspecies *choleraesuis* serovar infantis by pulsed-field gel electrophoresis. *Microbiol Immunol*. 1999;43(3):293-6.
- Murakami K, Ishihara T, Horikawa K, Oda T. Features of *Salmonella* serovars among food handlers in Kyushu, Japan. *New Microbiol*. 2007;30(2):155-9.
- Nauerby B, Pedersen K, Dietz HH, Madsen M. Comparison of Danish isolates of *Salmonella enterica* serovar enteritidis PT 9a and PT 11 from hedgehogs (*Erinaceus europaeus*) and humans by plasmid profiling and pulsed-field gel electrophoresis. *J Clin Microbiol*. 2000;38(10):3631-5.

- Nelson JH. Foodborne disease outbreak following a barbecue at the Defense Language Institute. *J Environ Health*. 1985;48:19-21.
- Nogrady N, Toth A, Kostyak A, Paszti J, Nagy B. Emergence of multidrug-resistant clones of *Salmonella* Infantis in broiler chickens and humans in Hungary. *J Antimicrob Chemother*. 2007;60(3):645-8.
- Nogrady N, Kardos G, Bistyak A, Turcsanyi I, Meszaros J, Galantai Z, et al. Prevalence and characterization of *Salmonella* infantis isolates originating from different points of the broiler chicken-human food chain in Hungary. *Int J Food Microbiol*. 2008;127(1-2):162-7.
- Nuccio SP, Baumler AJ. Evolution of the chaperone/usher assembly pathway: fimbrial classification goes Greek. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2007;71(4):551-75.
- Nurmi E, Nuotio L, Schneitz C. The competitive exclusion concept: development and future. *Int J Food Microbiol*. 1992;15(3-4):237-40.
- Olsen JE, Brown DJ, Skov MN, Christensen JP. Bacterial typing methods suitable for epidemiological analysis. Applications in investigations of salmonellosis among livestock. *Vet Q*. 1993;15(4):125-35.
- Oppermann H, Miethig R, Tschäpe H, Rabsch W, Prager R. Erkrankungshäufung durch *Salmonella* Brandenburg ausgehend von einem Ferienhotel. *Epid Bull*. 2004;45:394-86.
- Osterwald KH, Staack HH. Clinical and bacteriological observations on *Salmonella* infantis infections. *Arztl Wochenschr*. 1954;9(13):293-5.
- Otomo Y, Abe K, Odagiri K, Shioto A, Takatori K, Hara-Kudo Y. Detection of *Salmonella* in spent hens and eggs associated with foodborne infections. *Avian Dis*. 2007;51(2):578-83.
- Pang JC, Lin JS, Tsai CC, Tsen HY. The presence of major world-wide clones for phage type 4 and 8 *Salmonella enterica* serovar Enteritidis and the evaluation of their virulence levels by invasiveness assays in vitro and in vivo. *FEMS Microbiol Lett*. 2006;263(2):148-54.
- Pang JC, Chiu TH, Helmuth R, Schroeter A, Guerra B, Tsen HY. A pulsed field gel electrophoresis (PFGE) study that suggests a major world-wide clone of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *Int J Food Microbiol*. 2007;116(3):305-12.
- Paniagua GL, Monroy E, Garcia-Gonzalez O, Alonso J, Negrete E, Vaca S. Two or more enteropathogens are associated with diarrhoea in Mexican children. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2007;6:17.
- Parkhill J, Dougan G, James KD, Thomson NR, Pickard D, Wain J, et al. Complete genome sequence of a multiple drug resistant *Salmonella enterica* serovar Typhi CT18. *Nature*. 2001;413(6858):848-52.
- Pasmans F, Martel A, Boyen F, Vandekerchove D, Wybo I, Immerseel FV, et al. Characterization of *Salmonella* isolates from captive lizards. *Vet Microbiol*. 2005;110(3-4):285-91.

- Patel JC, Galan JE. Manipulation of the host actin cytoskeleton by *Salmonella* all in the name of entry. *Curr Opin Microbiol.* 2005;8(1):10-5.
- Patterson S, Isaacson RE. Foodborne *Salmonella* Infections. In: Torrence ME, Isaacson RE, editors. *Microbial Food Safety in Animal Agriculture*. Iowa: State Press; 2003. p. 97-107.
- Pelkonen S, Romppanen EL, Siitonen A, Pelkonen J. Differentiation of *Salmonella* serovar infantis isolates from human and animal sources by fingerprinting IS200 and 16S rrn loci. *J Clin Microbiol.* 1994;32(9):2128-33.
- Pelludat C, Miold S, Hardt WD. The SopEPhi phage integrates into the *ssrA* gene of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium A36 and is closely related to the Fels-2 prophage. *J Bacteriol.* 2003;185(17):5182-91.
- Pessoa-Silva CL, Toscano CM, Moreira BM, Santos AL, Frota AC, Solari CA, et al. Infection due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype infantis in a neonatal unit. *J Pediatr.* 2002;141(3):381-7.
- Peters TM, Berghold C, Brown D, Coia J, Dionisi AM, Echeita A, et al. Relationship of pulsed-field profiles with key phage types of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis in Europe: results of an international multi-centre study. *Epidemiol Infect.* 2007;135(8):1274-81.
- Pezzino G, Miller C, Flahart R, Potsic SR. A multi-state outbreak of *Salmonella* serotypes Infantis and Anatum-Kansas and Missouri, 1997. *Kans Med.* 1998;98(3):10-2.
- Pöhn HP. Zentrales Überwachungs-Programm für Salmonellen, Monatsbericht Januar 1974. Bundesgesundheitsamt, Berlin 14. März 1974a, S. 3.
- Pöhn HP. Zentrales Überwachungs-Programm für Salmonellen, Bericht Februar 1974. Bundesgesundheitsamt, Berlin 10. April 1974b, S. 2.
- Pöhn HP. Zentrales Überwachungs-Programm für Salmonellen, Bericht März 1974. Bundesgesundheitsamt, Berlin 24. Mai 1974c, S. 2.
- Pöhn HP. Zentrales Überwachungs-Programm für Salmonellen, Berichte April und Juni 1974. Bundesgesundheitsamt, Berlin 01. Oktober 1974d, S. 10-2.
- Pöhn HP. Zentrales Überwachungs-Programm für Salmonellen, Berichte Juli und August 1974. Bundesgesundheitsamt, Berlin 12. November 1974e, S. 6-11.
- Pöhn HP. Zentrales Überwachungs-Programm für Salmonellen, Bericht November 1974. Bundesgesundheitsamt, Berlin 17. Februar 1975a, S. 5-6.
- Pöhn HP. Zentrales Überwachungs-Programm für Salmonellen, Bericht Dezember 1974. Bundesgesundheitsamt, Berlin 12. März 1975b, S. 5-6.
- Pöhn HP. Zentrales Überwachungs-Programm für Salmonellen, Monatsbericht Juni und Juli 1975. Bundesgesundheitsamt, Berlin 29. Oktober 1975c, S. 4.

- Pöhn HP. Zentrales Überwachungs-Programm für Salmonellen, Bericht Nr. 6 1975. Bundesgesundheitsamt, Berlin 29. Oktober 1975d, S. 2.
- Pöhn HP. Zentrales Überwachungs-Programm für Salmonellen, Bericht Nr. 4 1976. Bundesgesundheitsamt, Berlin 28. Mai 1976a, S. 1.
- Pöhn HP. Zentrales Überwachungs-Programm für Salmonellen, Bericht Nr. 6 1976. Bundesgesundheitsamt, Berlin 21. Juli 1976b, S. 1.
- Pöhn HP. Zentrales Überwachungs-Programm für Salmonellen, Bericht Nr. 11 1976. Bundesgesundheitsamt, Berlin 17. Dezember 1976c, S. 1.
- Pöhn HP. Zentrales Überwachungs-Programm für Salmonellen, Bericht Nr. 2 1977. Bundesgesundheitsamt, Berlin 27. April 1977a, S. 1.
- Pöhn HP. Zentrales Überwachungs-Programm für Salmonellen, Bericht Nr. 6 1977. Bundesgesundheitsamt, Berlin 19. August 1977b, S. 1.
- Pöhn HP. Zentrales Überwachungs-Programm für Salmonellen, Bericht Nr. 1 1978. Bundesgesundheitsamt, Berlin 23. März 1978a, S. 1.
- Pöhn HP. Zentrales Überwachungs-Programm für Salmonellen, Bericht Nr. 6 1978. Bundesgesundheitsamt, Berlin 02. Oktober 1978b, S. 1.
- Pöhn HP. Zentrales Überwachungs-Programm für Salmonellen, Bericht Nr. 2 1979. Bundesgesundheitsamt, Berlin 27. Februar 1979a, S. 1.
- Pöhn HP. Zentrales Überwachungs-Programm für Salmonellen, Bericht Nr. 5 1979. Bundesgesundheitsamt, Berlin 17. Juli 1979b, S. 1.
- Pöhn HP. Zentrales Überwachungs-Programm für Salmonellen, Bericht Nr. 7 1979. Bundesgesundheitsamt, Berlin 14. September 1979c, S. 1.
- Pöhn HP. Zentrales Überwachungs-Programm für Salmonellen, Bericht Nr. 8 1979. Bundesgesundheitsamt, Berlin 12. Oktober 1979d, S. 1.
- Pöhn HP. Zentrales Überwachungs-Programm für Salmonellen, Bericht Nr. 12 1980. Bundesgesundheitsamt, Berlin 01. Februar 1980a, S. 1.
- Pöhn HP. Zentrales Überwachungs-Programm für Salmonellen, Bericht Nr. 3 1980. Bundesgesundheitsamt, Berlin 02. Juni.1980b, S. 1.
- Pöhn HP. Zentrales Überwachungs-Programm für Salmonellen Bericht Nr. 5 1980. Bundesgesundheitsamt, Berlin 07. August 1980c, S. 1.
- Pöhn HP. Zentrales Überwachungs-Programm für Salmonellen, Bericht Nr. 7 1980. Bundesgesundheitsamt, Berlin 22. Oktober. 1980d, S. 1.
- Pöhn HP. Zentrales Überwachungs-Programm für Salmonellen, Bericht Nr. 2 1981a. Bundesgesundheitsamt, Berlin 22. Juni 1981a, S. 1.

- Pöhn HP. Zentrales Überwachungs-Programm für Salmonellen, Bericht Nr. 4 1981. Bundesgesundheitsamt, Berlin 26. August 1981b, S. 2.
- Pöhn HP. Zentrales Überwachungs-Programm für Salmonellen, Bericht Nr. 6 1981c. Bundesgesundheitsamt, Berlin 16. November 1981c, S. 1.
- Pöhn HP. Zentrales Überwachungs-Programm für Salmonellen, Bericht Nr. 2 1982a. Bundesgesundheitsamt, Berlin 22. März 1982a, S. 1.
- Pöhn HP. Zentrales Überwachungs-Programm für Salmonellen, Bericht Nr. 3 1982b. Bundesgesundheitsamt, Berlin 26. April 1982b, S. 1.
- Pöhn HP. Zentrales Überwachungs-Programm für Salmonellen, Bericht über Ausbrüche lebensmittelbedingter Infektionen und mikrobielle bedingter Intoxikationen 1985. Bundesgesundheitsamt, Berlin 16. September 1985a, b, c, d, S. 3.
- Prager R, Liesegang A, Rabsch W, Gericke B, Thiel W, Voigt W, et al. Clonal relationship of *Salmonella enterica* serovar typhimurium phage type DT 104 in Germany and Austria. Zentralbl Bakteriologie. 1999;289(4):399-414.
- Prager R, Mirolid S, Tietze E, Strutz U, Knuppel B, Rabsch W, et al. Prevalence and polymorphism of genes encoding translocated effector proteins among clinical isolates of *Salmonella enterica*. Int J Med Microbiol. 2000;290(7):605-17.
- Prager R, Rabsch W, Streckel W, Voigt W, Tietze E, Tschape H. Molecular properties of *Salmonella enterica* serotype paratyphi B distinguish between its systemic and its enteric pathovars. J Clin Microbiol. 2003;41(9):4270-8.
- Prager R, Tschape H. Genetic fingerprinting (PFGE) of bacterial isolates for their molecular epidemiology. Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 2003;116:(11-12):474-81.
- Prager R, Rabsch W, Streckel W, Voigt W, Tietze E, Tschape H. Molecular properties of *Salmonella enterica* serotype paratyphi B distinguish between its systemic and its enteric pathovars. J Clin Microbiol. 2003;41(9):4270-8.
- Quinn T, O'Mahony R, Baird AW, Drudy D, Whyte P, Fanning S. Multi-drug resistance in *Salmonella enterica*: efflux mechanisms and their relationships with the development of chromosomal resistance gene clusters. Curr Drug Targets. 2006;7(7):849-60.
- Rabsch W, Tschape H, Tietze E, Kuhn H. Characterization of individual *Salmonella* clones of an epidemic strain of the same lyso- and biochemotype using plasmid determination. Z Gesamte Hyg. 1982;28(12):842-4.
- Rabsch W, Tschape H, Baumler AJ. Non-typhoidal salmonellosis: emerging problems. Microbes Infect. 2001;3(3):237-47.
- Rabsch W, Andrews HL, Kingsley RA, Prager R, Tschape H, Adams LG, et al. *Salmonella enterica* serotype Typhimurium and its host-adapted variants. Infect Immun. 2002a;70(5):2249-55.

Rabsch W, Miroid S, Hardt WD, Tschape H. The dual role of wild phages for horizontal gene transfer among *Salmonella* strains. Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 2002b;115(9-10):355-9.

Rabsch W, Altier C, Tschäpe H, Bäuml A. Foodborne *Salmonella* Infections. In: Torrence ME, Isaacson RE, editors. Microbial Food Safety in Animal Agriculture. Iowa: State Press; 2003. p. 97-107.

Rabsch W, Prager R, Koch J, Stark K, Roggentin P, Bockemuhl J, et al. Molecular epidemiology of *Salmonella enterica* serovar Agona: characterization of a diffuse outbreak caused by aniseed-fennel-caraway infusion. Epidemiol Infect. 2005;133(5):837-44.

Rabsch W. *Salmonella* typhimurium phage typing for pathogens. Methods Mol Biol. 2007;394:177-211.

Rabsch W, Prager R, Braun P, Methner U. *Salmonella* in poultry flocks and humans *S. enterica* subspecies *enterica* serovar Enteritidis in the past. Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 2007;120(7-8):328-33.

Raffatellu M, Wilson RP, Chessa D, Andrews-Polymeris H, Tran QT, Lawhon S, et al. SipA, SopA, SopB, SopD, and SopE2 contribute to *Salmonella enterica* serotype typhimurium invasion of epithelial cells. Infect Immun. 2005;73(1):146-54.

Ramisse V, Houssu P, Hernandez E, Denoeud F, Hilaire V, Lisanti O, et al. Variable number of tandem repeats in *Salmonella enterica* subsp. *enterica* for typing purposes. J Clin Microbiol. 2004;42(12):5722-30.

Rees CE, Dodd CE. Phage for rapid detection and control of bacterial pathogens in food. Adv. Appl. Microbiol. (2006) 59:159-186.

Rische H. O-Phagentest. In: Rische H, editor. Lysotypie und andere spezielle epidemiologische Laboratoriumsmethoden. Jena: Gustav Fischer Verlag; 1973. p. 141-3.

Rische H, Zische K. *Salmonella* Typhi. In: Rische H, editor. Lysotypie und andere spezielle epidemiologische Laboratoriumsmethoden. Jena: Gustav Fischer Verlag; 1973. p. 48-9.

Rivoal K, Protais J, Queguiner S, Boscher E, Chidaine B, Rose V, et al. Use of pulsed-field gel electrophoresis to characterize the heterogeneity and clonality of *Salmonella* serotype Enteritidis, Typhimurium and Infantis isolates obtained from whole liquid eggs. Int J Food Microbiol. 2009;129(2):180-6.

Robert Koch-Institut. Epidemiologie spezifischer Krankheiten: Salmonellose. In: Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2007. Berlin, 2008. p. 158-62.

Rodriguez I, Rodicio MR, Herrera-Leon S, Echeita A, Mendoza MC. Class 1 integrons in multidrug-resistant non-typhoidal *Salmonella enterica* isolated in Spain between 2002 and 2004. Int J Antimicrob Agents. 2008;32(2):158-64.

Ross IL, Heuzenroeder MW. A comparison of three molecular typing methods for the discrimination of *Salmonella enterica* serovar Infantis. FEMS Immunol Med Microbiol. 2008;53(3):375-84.

- Ross IL, Heuzenroeder MW. A comparison of two PCR-based typing methods with pulsed-field gel electrophoresis in *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. Int J Med Microbiol. In press 2009.
- Saha MR, Saha D, Dutta P, Mitra U, Bhattacharya SK. Isolation of *Salmonella enterica* serotypes from children with diarrhoea in Calcutta, India. J Health Popul Nutr. 2001;19(4):301-5.
- Schlumberger MC, Hardt WD. Salmonella type III secretion effectors: pulling the host cell's strings. Curr Opin Microbiol. 2006;9(1):46-54.
- Schwarz S, Blickwede M, Kehrenberg C, Michael GB. Phenotypic and genotypic methods for epidemiological typing of veterinary important bacterial pathogens of the genera Staphylococcus, *Salmonella* and Pasteurella. Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 2003;116(9-10):401-16.
- Seed KD and Dennis JJ. Experimental bacteriophage therapy increases survival of Galleria mellonella larvae infected with clinically relevant strains of the Burkholderia cepacia complex. Antimicrob Agents Chemother. In press 2009.
- Sexton M, Raven G, Holds G, Pointon A, Kiermeier A, Sumner J. Effect of acidified sodium chlorite treatment on chicken carcasses processed in South Australia. Int J Food Microbiol. 2007;115(2):252-5.
- Shahada F, Chuma T, Tobata T, Okamoto K, Sueyoshi M, Takase K. Molecular epidemiology of antimicrobial resistance among *Salmonella enterica* serovar Infantis from poultry in Kagoshima, Japan. Int J Antimicrob Agents. 2006;28(4):302-7.
- Shahada F, Chuma T, Okamoto K, Sueyoshi M. Temporal distribution and genetic fingerprinting of *Salmonella* in broiler flocks from southern Japan. Poult Sci. 2008;87(5):968-72.
- Slauch J, Taylor R, Maloy S. Survival in a cruel world: how Vibrio cholerae and *Salmonella* respond to an unwilling host. Genes Dev. 1997;11(14):1761-74.
- Staack HH. Epidemiological observations on diseases caused by *Salmonella infantis*. Z Hyg Infektionskr. 1954;139(5):455-62.
- Streckel W, Wolff AC, Prager R, Tietze E, Tschape H. Expression profiles of effector proteins SopB, SopD1, SopE1, and AvrA differ with systemic, enteric, and epidemic strains of *Salmonella enterica*. Mol Nutr Food Res. 2004;48(7):496-503.
- Swanstrom M, Adams MH. Agar layer method for production of high titer phage stocks. Proc Soc Exp Biol Med. 1951;78(2):372-5.
- Szabo J, Dombradi Z, Dobay O, Orosi P, Konya J, Nagy K, et al. Phenotypic and genetic characterisation of methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains isolated from the university hospitals of Debrecen. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2009;28(2):129-36.
- Szych J, Cieslik A, Paciorek J, Kaluzewski S. Multidrug resistance to antibacterial drugs of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* strains isolated in Poland in the 1998-1999 period. Med Dosw Mikrobiol. 2001;53(1):17-29.

- Taguchi M, Seto K, Yamazaki W, Tsukamoto T, Izumiya H, Watanabe H. CMY-2 beta-lactamase-producing *Salmonella enterica* serovar infantis isolated from poultry in Japan. *Jpn J Infect Dis.* 2006;59(2):144-6.
- Tauxe RV, Hassan LF, Findeisen KO, Sharrar RG, Blake PA. Salmonellosis in nurses: lack of transmission to patients. *J Infect Dis.* 1988;157(2):370-3.
- Thorsteinsdottir TR, Kristinsson KG, Gunnarsson E. Antimicrobial resistance and serotype distribution among *Salmonella* spp. in pigs and poultry in Iceland, 2001-2005. *Microb Drug Resist.* 2007;13(4):295-300.
- Threlfall EJ, Frost JA. The identification, typing and fingerprinting of *Salmonella*: laboratory aspects and epidemiological applications. *J Appl Bacteriol.* 1990;68(1):5-16.
- Threlfall EJ, Chart H, Ward LR, de Sa JD, Rowe B. Interrelationships between strains of *Salmonella enteritidis* belonging to phage types 4, 7, 7a, 8, 13, 13a, 23, 24 and 30. *J Appl Bacteriol.* 1993;75(1):43-8.
- Threlfall EJ, Fisher IS, Berghold C, Gerner-Smidt P, Tschäpe H, Cormican M, et al. Antimicrobial drug resistance in isolates of *Salmonella enterica* from cases of salmonellosis in humans in Europe in 2000. *Euro Surveill.* 2003;8(2):41-5.
- Tillotson K, Savage CJ, Salman MD, Gentry-Weeks CR, Rice D, Fedorka-Cray PJ, et al. Outbreak of *Salmonella infantis* infection in a large animal veterinary teaching hospital. *J Am Vet Med Assoc.* 1997;211(12):1554-7.
- Todd EC, Greig JD, Bartleson CA, Michaels BS. Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 4. Infective doses and pathogen carriage. *J Food Prot.* 2008;71(11):2339-73.
- Townes JM, Deodhar AA, Laine ES, Smith K, Krug HE, Barkhuizen A, et al. Reactive arthritis following culture-confirmed infections with bacterial enteric pathogens in Minnesota and Oregon: a population-based study. *Ann Rheum Dis.* 2008;67(12):1689-96.
- Tschäpe H. Die Klonkonzeption in der epidemiologischen Analyse von *Salmonella*-Infektionen. In: Kühn H, Tschäpe H, editors. *Salmonellosen des Menschen-ätiologische und epidemiologische Aspekte.* München: Medizin Verlag; 1996. p. 65-77.
- Tschäpe H, Liesegang A, Gericke B, Prager R, Rabsch W, Helmuth R. Ups and downs of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in Germany. In: Saeed AM, Gast RK, Potter ME, Wall PG, editors. *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in Humans and Animals. Iowa: State University Press; 1999. p. 51-61.
- Tschäpe H, Bockemühl J. Lebensmittelübertragene Salmonellose in Deutschland. *Bundesgesundheitsbl-Gesundheitsforsch-Gesundheitsschutz.* 2002;45:491-6.
- Tucker CP, Heuzenroeder MW. ST64B is a defective bacteriophage in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT64 that encodes a functional immunity region capable of mediating phage-type conversion. *Int J Med Microbiol.* 2004;294(1):59-63.

- Valdezate S, Echeita A, Diez R, Usera MA. Evaluation of phenotypic and genotypic markers for characterisation of the emerging gastroenteritis pathogen *Salmonella* hadar. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2000;19(4):275-81.
- Valdezate S, Arroyo M, Gonzalez-Sanz R, Ramiro R, Herrera-Leon S, Usera MA, et al. Antimicrobial resistance and phage and molecular typing of *Salmonella* strains isolated from food for human consumption in Spain. *J Food Prot*. 2007;70(12):2741-8.
- Valle E, Guiney DG. Characterization of *Salmonella*-induced cell death in human macrophage-like THP-1 cells. *Infect Immun*. 2005;73(5):2835-40.
- Van Belkum A, Struelens M, de VA, Verbrugh H, Tibayrenc M. Role of genomic typing in taxonomy, evolutionary genetics, and microbial epidemiology. *Clin Microbiol Rev*. 2001;14(3):547-60.
- Van Belkum A. Tracing isolates of bacterial species by multilocus variable number of tandem repeat analysis (MLVA). *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2007;49(1):22-7.
- Van Belkum A, Tassios PT, Dijkshoorn L, Haeggman S, Cookson B, Fry NK, et al. Guidelines for the validation and application of typing methods for use in bacterial epidemiology. *Clin Microbiol Infect*. 2007;13 Suppl 3:1-46.
- Van Duijkeren E, Wannet WJ, Houwers DJ, van Pelt W. Serotype and phage type distribution of *salmonella* strains isolated from humans, cattle, pigs and chickens in the Netherlands from 1984 to 2001. *J Clin Microbiol*. 2002;40(11):3980-5.
- Vasa M. Epidemiological aspects of *Salmonella* infantis and *Salmonella* typhimurium infections in Finnish broiler chickens. *Nord Vet Med*. 1984;36(9-10):317-23.
- Velaudapillai T. Phage-typing of *S. virchow*. *Z Hyg Infektionskr*. 1959;146:84-8.
- Vogel Y, Tannapfel A, Rabsch W, Henning B. Cholangitis with hepatic microabscesses caused by *Salmonella enterica* serovar choleraesuis. *Dtsch Med Wochenschr*. 2007;132(22):1214-8.
- Vogler AJ, Keys C, Nemoto Y, Colman RE, Jay Z, Keim P. Effect of repeat copy number on variable-number tandem repeat mutations in *Escherichia coli* O157:H7. *J Bacteriol*. 2006;188(12):4253-63.
- Vogler AJ, Keys CE, Allender C, Bailey I, Girard J, Pearson T, et al. Mutations, mutation rates, and evolution at the hypervariable VNTR loci of *Yersinia pestis*. *Mutat Res*. 2007;616(1-2):145-58.
- Ward LR, de Sa JD, Rowe B. A phage-typing scheme for *Salmonella enteritidis*. *Epidemiol Infect*. 1987;99(2):291-4.
- Wegener HC, Baggesen DL. Investigation of an outbreak of human salmonellosis caused by *Salmonella enterica* ssp. *enterica* serovar Infantis by use of pulsed field gel electrophoresis. *Int J Food Microbiol*. 1996;32(1-2):125-31.
- Weinberger M, Andorn N, Agmon V, Cohen D, Shohat T, Pitlik SD. Blood invasiveness of *Salmonella enterica* as a function of age and serotype. *Epidemiol Infect*. 2004;132(6):1023-8.

Weiß B, Frank C, Rabsch W. Reptilien-assoziierte *Salmonella*-Tennessee-Infektionen. *Epid Bull.* 2008;35:296-9.

Wheeler KM, Borman EK. Two New *Salmonella* Serotypes Isolated from Man. *J Bacteriol.* 1943;46(5):481.

White AC, Foster F, Knight V. *Antibiot Chemother.* 1959;9:81.

Wichelhaus TA, Schäfer V, Brade V. Typisierungsverfahren in der Infektionsepidemiologie. *Chemotherapie J.* 2000;2:93-8.

Wilkins MJ, Bidol SA, Boulton ML, Stobierski MG, Massey JP, Robinson-Dunn B. Human salmonellosis associated with young poultry from a contaminated hatchery in Michigan and the resulting public health interventions, 1999 and 2000. *Epidemiol Infect.* 2002;129(1):19-27.

Woodward DL, Clark CG, Caldeira RA, Ahmed R, Soule G, Bryden L, et al. Identification and characterization of *Shigella boydii* 20 serovar nov., a new and emerging *Shigella* serotype. *J Med Microbiol.* 2005;54(Pt 8):741-8.

Zhang S, Santos RL, Tsois RM, Miold S, Hardt WD, Adams LG, et al. Phage mediated horizontal transfer of the *sopE1* gene increases enteropathogenicity of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium for calves. *FEMS Microbiol Lett.* 2002;217(2):243-7.

Zhang S, Kingsley RA, Santos RL, Andrews-Polymenis H, Raffatellu M, Figueiredo J, et al. Molecular pathogenesis of *Salmonella enterica* serotype typhimurium induced diarrhea. *Infect Immun.* 2003;71(1):1-12.

Zhou D, Chen LM, Hernandez L, Shears SB, Galan JE. A *Salmonella* inositol polyphosphatase acts in conjunction with other bacterial effectors to promote host cell actin cytoskeleton rearrangements and bacterial internalization. *Mol Microbiol.* 2001;39(2):248-59.

Zhou D, Galan J. *Salmonella* entry into host cells: the work in concert of type III secreted effector proteins. *Microbes Infect.* 2001;3(14-15):1293-8.

Internetseiten

Ammon A, Gastmeier P, Weist K, Kramer M, Petersen LR. Empfehlungen zur Untersuchung von Ausbrüchen nosokomialer Infektionen. 2001. (zitiert vom 01.02.2009):6-16, <http://www.rki.de/cln_091/nn_197444/sid_03162B75856E89BF3EFB8221DEA7159C/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/Kommission/Downloads/Ausbr__RiliHeft.html?__nnn=true>.

Anon. An outbreak of salmonellosis serotype Infantis linked to the consumption of Brie cheese France 2001. 2001a (zitiert vom 01.03.2006):24-50, <http://www.pasteur.fr/infosci/conf/CRC/GGTSPU-vaccine-see-2.rki.de-2108-283633-DAT/Salmonella_CRC.ppt>.

Anon. Outbreak of *Salmonella* Infantis Associated with a Wedding Reception Washaw County. 2002 (zitiert vom 31.07.2007):1-6, <<http://www.dhss.mo.gov/EPI/OutbreakReport.pdf>>.

Anon. Food Safety Outbreak Alert from Center for Science in the Public Interest (USA). 2006a (zitiert vom 20.01.2009),
<<http://www.cspinet.org/foodsafety/outbreak/outbreaks.php?column=pathogenGroup&colval=Salmonella&sort=vehicle&dir=DESC&sort=code&dir=ASC&letter=m&letter=b>>.

Anon. Approval of *Listeria*-specific Bacteriophage Preparation on Ready-to-Eat (RTE) Meat and Poultry Products. 2006b (zitiert vom 01.08.2008),
<<http://www.cfsan.fda.gov/~dms/opabacqa.html>>.

Anon. Vermehrungszyklen von Phagen. 2005a (zitiert vom 23.09.2008),
<www.zum.de/Faecher/Materialien/beck/13/bs13-9.htm>.

BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin). Die Rückkehr der Keime. 2004 (zitiert vom 14.06.2008),
<http://www.bfr.bund.de/cd/3862?index=83&index_id=4585>.

BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin). Pilotstudie zum Vorkommen von *Salmonella* spp. bei Herden von Legehennen in Deutschland. 2005 (zitiert vom 20.12.2005):1-22,
<http://www.bfr.bund.de/cm/208/pilotstudie_zum_vorkommen_von_salmonella_spp_bei_herden_von_legehennen_in_deutschland.pdf>.

BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin). Grundlagenstudie zur Erhebung der Prävalenz von Salmonellen in *Gallus-gallus*-Broilerbetrieben. 2006 (zitiert vom 27.10.2006):1-9,
<http://www.bfr.bund.de/cm/208/grundlagenstudie_zur_erhebung_der_praevalenz_von_salmonellen_in_gallus_gallus_broilerbetrieben.pdf>.

BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin). Endbericht über die Grundlagenstudien zur Erhebung der Prävalenz von Salmonellen in Mastschweinen gemäß Entscheidung 2006/668/EG. 2008a (zitiert vom 20.02.2008):1-9,
<http://www.bfr.bund.de/cm/208/grundlagenstudie_zur_erhebung_der_praevalenz_von_salmonellen_in_mastschweinen.pdf>.

BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung, Berlin). Grundlagenstudie zur Erhebung der Prävalenz von Salmonellen in Truthühnerbeständen. 2008b (zitiert vom 04.03.2008):1-10,
<http://www.bfr.bund.de/cm/208/grundlagenstudie_zur_erhebung_der_praevalenz_von_salmonellen_in_truthuehnerbestaenden.pdf>.

Gill N, Threlfall J. Enter-net Quarterly Salmonella Report. International surveillance network for the enteric infections - Salmonella, VTEC O157 and Campylobacter. 2007 (zitiert vom 20.10.2008),
<http://ecdc.europa.eu/documents/pdf/ENTER_NET/07q2summ.pdf>.

Grimont PAD, Weill FX. WHOCC-Salm: Antigenic Formulae of the Salmonella Serovars. 9th Edition. 2007 (zitiert vom 27.10.2008):1-155,
<http://www.pasteur.fr/sante/clre/cadrecnr/salmoms/WKLM_2007.pdf>.

Gesetze, Verordnungen und Richtlinien

Anon. Rinder-Salmonellose-Verordnung (RindSalmV) zum Schutz gegen die Salmonellose der Rinder vom 30. Mai 1991. BGBl. Jahrgang 1991 Teil I, S. 2118 (14. Nov. 1991).

Anon. Infektionsschutzgesetz (IfSG) zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen vom 20. Juli 2000. BGBl. Jahrgang 2000 Teil I, S. 1045 (01. Jan. 2001), zuletzt geändert durch Artikel 16 des Gesetzes vom 17. Dez. 2008. BGBl. Jahrgang 2008 Teil I, S. 2586 (22. Dez. 2008).

Anon. Hühner-Salmonellen-Verordnung zum Schutz gegen bestimmte Salmonelleninfektionen beim Haushuhn vom 11. Apr. 2001b. BGBl. I Nr. 16 (20. Apr. 2001), geändert durch BGBl. I Nr. 55 (06. Nov. 2001), geändert durch BGBl. I Nr. 55 (06. Sep. 2005), zuletzt geändert durch BGBl. Nr. 50 vom 31. Okt. 2006 (07. Nov. 2006).

Anon. Richtlinie (EG) 2003/99 zur Überwachung von Zoonosen und Zoonoseerregern und zur Änderung der Entscheidung (EWG) 90/424 sowie zur Aufhebung der Richtlinie (EWG) 92/117, vom 17. Nov. 2003a. ABI. EU Nr. L325 (12. Dez. 2003).

Anon. Verordnung (EG) Nr. 2160/2003 zur Bekämpfung von Salmonellen und bestimmten anderen durch Lebensmittel übertragbaren Zoonoseerregern vom 17. Nov. 2003b. ABI. EU Nr. L325 (12. Dez. 2003).

Anon. Verordnung (EG) Nr. 852/2004 über Lebensmittelhygiene vom 29. Apr. 2004a. ABI. EU Nr. L139/1 (30. Apr. 2004).

Anon. Verordnung (EG) Nr. 853/2004 mit speziellen Hygienevorschriften für Lebensmittel tierischen Ursprungs vom 29. Apr. 2004b. ABI. EU L139/55 (30. Apr. 2004), zuletzt geändert durch die Verordnung (EG) Nr. 1662/2006 vom 6. Nov. 2006. ABI. EU Nr. L320 (18. Nov. 2006).

Anon. Verordnung (EG) Nr. 854/2004 mit besonderen Verfahrensvorschriften für die amtliche Überwachung von zum menschlichen Verzehr bestimmten Erzeugnissen tierischen Ursprungs vom 29. Apr. 2004c. ABI. EU L139/206 (30. Apr. 2004), zuletzt geändert durch die Verordnung (EG) Nr. 1663/2006 vom 6. Nov. 2006. ABI. EU Nr. L320 (18. Nov. 2006).

Anon. Verordnung (EG) Nr. 1003/2005 zur Durchführung der Verordnung (EG) Nr. 2160/2003 hinsichtlich eines Gemeinschaftsziels zur Senkung der Prävalenz bestimmter *Salmonella*-Serotypen bei Zuchtherden von *Gallus gallus* und zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 2160/2003, vom 30. Juni 2005b. ABI. EU Nr. L170 (01. Juli 2005), zuletzt geändert durch die Verordnung (EG) Nr. 213/2009 vom 18. Mär. 2009. ABI. EU Nr. L73/5 (19. Mär. 2009).

Anon. Verordnung (EG) Nr. 1168/2006 zur Durchführung der Verordnung (EG) Nr. 2160/2003 hinsichtlich eines Gemeinschaftsziels zur Eindämmung der Prävalenz bestimmter Salmonellen-Serotypen bei Legehennen der Spezies *Gallus gallus* und zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 1003/2005, vom 31. Juli 2006c. ABI. EU Nr. L211 (01. Aug. 2006).

Anon. Verordnung (EG) Nr. 1177/2006 zur Durchführung der Verordnung (EG) Nr. 2160/2003 hinsichtlich der Bestimmungen über die Anwendung von spezifischen Bekämpfungsmethoden im Rahmen der nationalen Programme zur Bekämpfung von Salmonellen bei Geflügel vom 1. Aug. 2006d. ABI. EU Nr. L212 (02. Aug. 2006).

Anon. Schweine-Salmonellose-Verordnung (SchwSalmoV) vom 13. März 2007d. BGBl. I Nr. 10 (23. März 2007).

Anon. Verordnung (EG) Nr. 646/2007 zur Durchführung der Verordnung (EG) Nr. 2160/2003 über ein Gemeinschaftsziel zur Senkung der Prävalenz von *Salmonella enteritidis* und *Salmonella typhimurium* bei Masthähnchen und zur Aufhebung der Verordnung (EG) Nr. 1091/2005, vom 12. Juni 2007e. ABI. EU Nr. L151 (13. Juni 2007).

Anon. Verordnung (EG) Nr. 1237/2007 zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 2160/2003 sowie der Entscheidung 2006/696/EG hinsichtlich des Inverkehrbringens von Eiern aus mit Salmonellen infizierten Legehennenherden vom 23. Okt. 2007f. ABI. EU Nr. L280 (24. Okt. 2007).

Anon. Entscheidung (EG) Nr. 2007/848 zur Genehmigung bestimmter nationaler Programme zur Salmonellenbekämpfung bei Legehennenbeständen der Spezies *Gallus gallus* vom 11. Dez. 2007g. ABI. EU Nr. L333 (19. Dez. 2007).

Anon. Entscheidung (EG) Nr. 815/2008 zur Genehmigung bestimmter nationaler Programme zur Salmonellenbekämpfung in Masthähnchenbeständen der Spezies *Gallus gallus* vom 20. Okt. 2008c. ABI. EU Nr. L283 (28. Okt. 2008).

9 Anhang

Tabelle 2: S. Infantis Lebensmittelvergiftungen in Deutschland

| Bundesland | Jahr | Ort, ggf. Quelle | Fälle | Referenz |
|---------------------|------|--|-------|----------------|
| Baden-Württemberg | 1974 | Reg. Bez. Freiburg | - | PÖHN (1974a) |
| | 1974 | Reg. Bez. Stuttgart, IQ ¹ : Metzgereien | - | PÖHN (1974b) |
| | 1974 | Reg. Bez. Stuttgart, IQ: Speiseeis | 300 | PÖHN (1975b) |
| Bayern | 1974 | Oberbayern | - | PÖHN (1974b) |
| | 1974 | Reg. Bez. Mittelfranken | - | PÖHN (1975b) |
| | 1976 | Kempton, in der Schule | - | PÖHN (1976b) |
| | 1977 | Würzburg | 10 | PÖHN (1977b) |
| | 1980 | Flachlanden | 16 | PÖHN (1980d) |
| | 1981 | Ebelsbach, IQ: Wurst (evtl. Rind) | 20 | PÖHN (1981b) |
| | 1981 | Ebelsbach, IQ: Wurst (evtl. Rind) | 12 | PÖHN (1981b) |
| Berlin | 1974 | Berlin (West) | - | PÖHN (1974e) |
| | 1979 | Berlin (West), IQ: Fleischwaren | <10 | PÖHN (1979b) |
| Bremen | 1974 | ub. ² | - | PÖHN (1974e) |
| | 1974 | ub. | - | PÖHN (1975a) |
| | 1980 | Altersheim | 10 | PÖHN (1980b) |
| | 1981 | Schule | 10 | PÖHN (1981c) |
| Rheinland-Pfalz | 1975 | Reg. Bez. Rheinhessen-Pfalz | - | PÖHN (1975c) |
| | 1981 | Ingelheim, IQ: rohes Bratwurstfüllsel | 9 | PÖHN (1981a) |
| Hessen | 1979 | Fulda, IQ: Ausscheider | - | PÖHN (1979d) |
| | 1982 | Bad Soden-Salmünster | 10 | PÖHN (1982a) |
| Niedersachsen | 1974 | Reg. Bez. Oldenburg | - | PÖHN (1974d) |
| | 1974 | Lüneburg | - | PÖHN (1975a) |
| | 1974 | Hannover, IQ: Milchreis | - | PÖHN (1975a) |
| | 1980 | Weser-Ems, Meppen | 14 | PÖHN (1980c) |
| Nordrhein-Westfalen | 1974 | Raum Düsseldorf, Köln u. Arnsberg | - | PÖHN (1974d,e) |
| | 1974 | Reg. Bez. Münster | - | PÖHN (1974d) |
| | 1975 | Saerbeck, IQ: Schinken | - | PÖHN (1975d) |
| | 1977 | Essen, IQ: Hähnchen | 11 | PÖHN (1977a) |
| | 1981 | Benninghausen | 173 | PÖHN (1981a) |
| Saarland | 1976 | Neunkirchen, IQ: Geflügelsalat | - | PÖHN (1976b) |
| Schleswig-Holstein | 1977 | Barsbüttel, IQ: Ausscheider | <10 | PÖHN (1977a) |
| Unbekannt | 1983 | ub., IQ: Kartoffelsalat und gebackener Kassler | 17 | PÖHN (1985a) |
| | 1984 | ub., IQ: Brathähnchen | 4 | PÖHN (1985b) |
| | 1984 | ub., IQ: Wurstwaren | 16 | PÖHN (1985c) |
| | 1985 | ub. | 59 | PÖHN (1985d) |

¹ IQ., Infektionsquelle; ² ub., unbekannt

Tabelle 6: Übersicht aller verwendeten *S. Infantis* Stämme dieser Arbeit

| RKI-Nr. | Bundesland bzw. Ausland | Herkunft | XbaI-Typ | LT | Resistenz |
|----------|-------------------------|------------------|----------|----|----------------|
| 73-01811 | Berlin | Klärschlamm | | 1 | nicht getestet |
| 73-01882 | Berlin | Klärschlamm | | 1 | nicht getestet |
| 74-00448 | Berlin | Klärschlamm | | 1 | nicht getestet |
| 74-00489 | Berlin | Klärschlamm | | 1 | nicht getestet |
| 74-01215 | unbekannt | human | | 1 | nicht getestet |
| 74-01637 | Niedersachsen | human | | 1 | nicht getestet |
| 74-01640 | Niedersachsen | human | | 1 | nicht getestet |
| 74-01889 | Nordrhein-Westfalen | human | | 1 | nicht getestet |
| 74-02009 | unbekannt | human | | 1 | nicht getestet |
| 75-00260 | unbekannt | human | | 1 | nicht getestet |
| 75-00423 | Nordrhein-Westfalen | human | | 1 | nicht getestet |
| 95-02192 | Nordrhein-Westfalen | human | | 1 | nicht getestet |
| 96-03548 | Nordrhein-Westfalen | human | | 1 | sensibel |
| 96-09162 | Nordrhein-Westfalen | human | | 1 | sensibel |
| 98-01471 | Niedersachsen | human | | 1 | sensibel |
| 99-05940 | Schleswig-Holstein | Rind | | 1 | sensibel |
| 99-05943 | Schleswig-Holstein | Rind | | 1 | sensibel |
| 99-05944 | Schleswig-Holstein | Rind | | 1 | sensibel |
| 99-05945 | Schleswig-Holstein | Rind | | 1 | sensibel |
| 99-05946 | Schleswig-Holstein | Rind | | 1 | sensibel |
| 99-05947 | Schleswig-Holstein | Rind | | 1 | sensibel |
| 99-05948 | Schleswig-Holstein | Rind | | 1 | sensibel |
| 99-05949 | Schleswig-Holstein | Rind | | 1 | sensibel |
| 99-05950 | Schleswig-Holstein | Rind | | 1 | sensibel |
| 99-05951 | Schleswig-Holstein | Rind | | 1 | sensibel |
| 99-06152 | Nordrhein-Westfalen | human, A | | 1 | sensibel |
| 99-06153 | Nordrhein-Westfalen | human, A | | 1 | sensibel |
| 99-06154 | Nordrhein-Westfalen | human, A | | 1 | sensibel |
| 99-06155 | Nordrhein-Westfalen | human, A | | 1 | sensibel |
| 99-06845 | Schleswig-Holstein | Rind | | 1 | sensibel |
| 99-06846 | Schleswig-Holstein | Schwein | | 1 | sensibel |
| 99-06847 | Schleswig-Holstein | Schwein | | 1 | SMZ |
| 99-06850 | Schleswig-Holstein | Schweinefleisch | | 1 | NOR |
| 99-06855 | Schleswig-Holstein | Schwein | | 1 | sensibel |
| 99-06856 | Schleswig-Holstein | Schwein | | 1 | sensibel |
| 99-06857 | Schleswig-Holstein | Schwein | | 1 | sensibel |
| 99-07290 | Schleswig-Holstein | Schwein | | 1 | sensibel |
| 99-07294 | Schleswig-Holstein | Schwein | | 1 | sensibel |
| 99-07295 | Schleswig-Holstein | Schwein | | 1 | sensibel |
| 99-08709 | Mecklenburg-Vorp. | Masthähnchen | | 1 | AMP,MEZ,SMZ |
| 99-08727 | Mecklenburg-Vorp. | human, F | | 1 | sensibel |
| 99-08728 | Mecklenburg-Vorp. | human, F | | 1 | SMZ |
| 99-09042 | Mecklenburg-Vorp. | human, F | | 1 | sensibel |
| 00-03790 | Schleswig-Holstein | Hämoglobinpulver | | 1 | sensibel |
| 00-06297 | Sachsen | LM | | 1 | SMZ |
| 00-10849 | Brandenburg | Klärschlamm | | 1 | AMP,MEZ,SMZ |
| 01-00458 | Berlin | human | | 1 | SMZ |
| 01-04673 | Sachsen-Anhalt | human, F | | 1 | sensibel |
| 01-04956 | Sachsen-Anhalt | human, F | | 1 | SMZ |
| 01-04957 | Sachsen-Anhalt | human, F | | 1 | SMZ |
| 01-05073 | Sachsen-Anhalt | human, F | | 1 | SMZ |

Anhang

| RKI-Nr. | Bundesland bzw. Ausland | Herkunft | XbaI-Typ | LT | Resistenz |
|----------------|--------------------------------|------------------|-----------------|-----------|---------------------------------|
| 01-05678 | Brandenburg | Hackfleisch | 5a | 1 | SMZ |
| 01-06343 | Sachsen-Anhalt | human | | 1 | SMZ |
| 01-06754 | Brandenburg | Zwiebelmettwurst | 34 | 1 | AMP,CMP,KAN,MEZ,OTE,SMZ,STR,SXT |
| 01-06907 | Sachsen-Anhalt | human | | 1 | AMP,CMP,KAN,MEZ,OTE,SMZ,STR,SXT |
| 01-11412 | Sachsen-Anhalt | human, A | | 1 | SMZ |
| 01-11512 | Sachsen-Anhalt | human, A | | 1 | SMZ,STR |
| 02-00051 | Sachsen-Anhalt | human, F | | 1 | SMZ |
| 02-00054 | Sachsen-Anhalt | human, F | | 1 | SMZ |
| 02-01744 | Sachsen-Anhalt | human | | 1 | SMZ |
| 02-01778 | Arabische Emirate | Geflügel | | 1 | AMP,CMP,COX,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 02-02757 | Thüringen | human | | 1 | SMZ,STR |
| 02-03203 | Bayern | human | | 1 | SMZ |
| 02-04193 | Sachsen-Anhalt | human | | 1 | SMZ |
| 02-05160 | Sachsen-Anhalt | human | | 1 | SMZ |
| 02-05401-2 | Poland | unbekannt | | 1 | SMZ,STR |
| 02-05567 | Niedersachsen | human | | 1 | SMZ |
| 02-06285 | Berlin | human | | 1 | SMZ |
| 02-07172 | Brandenburg | Fleisch, Kalb | | 1 | SMZ |
| 02-07680 | Brandenburg | Fleisch, Rind, | | 1 | CMP,SMZ |
| 02-07696 | Brandenburg | Fleisch, Rind, | | 1 | CMP,SMZ |
| 02-07698 | Brandenburg | Fleisch, Rind, | | 1 | CMP,SMZ |
| 02-09507 | Berlin | human, F | | 1 | SMZ,STR |
| 02-09508 | Berlin | human, F | | 1 | SMZ,STR |
| 02-09509 | Berlin | human, F | | 1 | SMZ,STR |
| 02-10693 | Niedersachsen | Milchpulver | | 1 | SMZ,STR |
| 03-00812-2 | Schleswig-Holstein | human, A | | 1 | CMP,SMZ,STR |
| 03-00814 | Brandenburg | Schwein | | 1 | SMZ |
| 03-00878 | Mecklenburg-Vorp. | human | | 1 | SMZ,STR |
| 03-01477 | Mecklenburg-Vorp. | human | | 1 | SMZ |
| 03-03920 | Mecklenburg-Vorp. | human | | 1 | SMZ |
| 03-04278 | Bayern | LM | | 1 | SMZ |
| 03-05804 | Thüringen | Elefant | 28 | 1 | SMZ |
| 03-06116 | Sachsen-Anhalt | human | 1f | 1 | SMZ |
| 03-06118 | Thüringen | Schneeeule | 28 | 1 | CMP,SMZ,STR |
| 03-06681 | Schleswig-Holstein | Schweinefleisch | 34 | 1 | SMZ |
| 03-07973 | Brandenburg | Schwein | | 1 | SMZ |
| 04-00035 | Sachsen-Anhalt | human | | 1 | SMZ |
| 04-00736 | Brasilien | Schwein | | 1 | SMZ |
| 04-01084 | Schleswig-Holstein | Füttermittel | | 1 | SMZ |
| 04-01339 | Sachsen-Anhalt | human | 34 | 1 | SMZ |
| 04-01934 | Niedersachsen | human | 34 | 1 | SMZ |
| 04-02100 | Niedersachsen | Schwein | 18 | 1 | AMP,MEZ,SMZ,STR, SXT |
| 04-03319 | Bayern | human | 34 | 1 | SMZ |
| 04-03535 | Thüringen | human | | 1 | SMZ |
| 04-04034 | Bayern | human | 34 | 1 | SMZ |
| 04-04038 | Bayern | human | 35 | 1 | SMZ |
| 04-04042 | Bayern | human | | 1 | SMZ |
| 04-04577 | Schleswig-Holstein | Schweinefleisch | | 1 | SMZ |
| 04-04656 | Bayern | Abstriche | 35 | 1 | SMZ |

Anhang

| RKI-Nr. | Bundesland bzw. Ausland | Herkunft | XbaI-Typ | LT | Resistenz |
|------------|-------------------------|-----------------|----------|----|-------------------------|
| 04-05017 | Berlin | human | 34 | 1 | SMZ |
| 04-05624 | Bayern | human | 34 | 1 | SMZ,STR |
| 04-06835 | Niedersachsen | human | | 1 | SMZ |
| 04-07255 | Brandenburg | Schwein | | 1 | SMZ |
| 04-08270 | Baden-Württemberg | Hackfleisch | | 1 | SMZ |
| 04-08272 | Baden-Württemberg | Ferkel | | 1 | AMP,MEZ,OTE,SMZ,STR,SXT |
| 04-08273 | Baden-Württemberg | Schwein | | 1 | AMP,MEZ,SMZ,STR,SXT |
| 04-08274 | Baden-Württemberg | Ferkel | | 1 | AMP,MEZ,OTE,SMZ,STR,SXT |
| 04-08293 | Baden-Württemberg | Huhn | | 1 | SMZ |
| 04-08294 | Baden-Württemberg | Huhn | | 1 | SMZ |
| 04-08297 | Baden-Württemberg | Huhn | | 1 | SMZ |
| 04-08428 | Niedersachsen | human | | 1 | SMZ |
| 04-08504 | Sachsen | Abstriche | | 1 | SMZ |
| 04-08751 | Sachsen-Anhalt | human | | 1 | SMZ |
| 04-09219 | Sachsen-Anhalt | human | | 1 | SMZ |
| 04-09347 | Baden-Württemberg | human | | 1 | SMZ,STR |
| 04-09364 | Baden-Württemberg | human | | 1 | SMZ,STR,SXT |
| 05-00093 | Sachsen-Anhalt | human | 34 | 1 | SMZ |
| 05-00102 | Niedersachsen | human | 34 | 1 | AMP,CAZ,CTM,CTX,MEZ,SMZ |
| 05-00740 | Bayern | human | 34 | 1 | SMZ |
| 05-01482 | Niedersachsen | human | 34 | 1 | SMZ |
| 05-01744 | Brandenburg | Schweinefleisch | 1a | 1 | SMZ |
| 05-01938-2 | Nordrhein-Westfalen | Fleischprodukte | 1a | 1 | SMZ |
| 05-02254 | Berlin | human | 34 | 1 | SMZ |
| 05-02273 | Niedersachsen | Masthähnchen | 34 | 1 | SMZ |
| 05-02425 | Sachsen-Anhalt | Hackfleisch | 34 | 1 | SMZ |
| 05-02429 | Berlin | human | 34 | 1 | SMZ |
| 05-03847 | Niedersachsen | Schwein | | 1 | AMP,MEZ,OTE,SMZ,STR |
| 05-04477 | Bayern | Futtermittel | 1a | 1 | NAL,SMZ |
| 05-05904 | Nordrhein-Westfalen | human | 10 | 1 | CMP,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 05-05952 | Sachsen | Kompost | 1a | 1 | nicht getestet |
| 05-06029 | Mecklenburg-Vorp. | human | 34 | 1 | SMZ |
| 05-08101 | Hamburg | human | 18 | 1 | SMZ |
| 05-08304 | Sachsen-Anhalt | human | 34 | 1 | SMZ |
| 06-00582 | Bayern | human | | 1 | SMZ |
| 06-03267 | Brasilien | Schwein | 34 | 1 | SMZ |
| 06-03268 | Brasilien | Schwein | 34 | 1 | SMZ |
| 06-06677 | Rheinland-Pfalz | human | | 1 | SMZ |
| 06-07089 | Baden-Württemberg | human | | 1 | sensibel |
| 06-08086 | Sachsen | Klär Schlamm | | 1 | sensibel |
| 06-08810 | Australien | Rind | 34 | 1 | SMZ |
| 07-01141 | Berlin | human | 34b | 1 | SMZ |
| 07-02293 | Thüringen | human | 34 | 1 | Sensibel |
| 07-03400 | Brandenburg | Rohwurst | 18 | 1 | Sensibel |
| 07-03759 | Niedersachsen | Masthähnchen | | 1 | nicht getestet |
| 07-03817 | Nordrhein-Westfalen | human, A | 34a | 1 | Sensibel |
| 07-03892 | Nordrhein-Westfalen | human, A | 34a | 1 | Sensibel |
| 07-03893 | Nordrhein-Westfalen | human, A | 34a | 1 | Sensibel |
| 07-03894 | Brandenburg | Rohwurst | 18 | 1 | AMP,MEZ,OTE,SMZ,STR,SXT |

Anhang

| RKI-Nr. | Bundesland bzw. Ausland | Herkunft | XbaI-Typ | LT | Resistenz |
|----------------|--------------------------------|-----------------|-----------------|-----------|-----------------------------|
| 07-03922 | Nordrhein-Westfalen | human, A | 34a | 1 | Sensibel |
| 07-03923 | Nordrhein-Westfalen | human, A | 34a | 1 | Sensibel |
| 07-04058 | Niedersachsen | human | 34a | 1 | Sensibel |
| 07-04173 | Nordrhein-Westfalen | human | 18 | 1 | Sensibel |
| 07-04398 | Nordrhein-Westfalen | human, A | | 1 | Sensibel |
| 07-04399 | Nordrhein-Westfalen | human, A | | 1 | SMZ |
| 07-04400 | Nordrhein-Westfalen | human, A | | 1 | SMZ |
| 07-04401 | Nordrhein-Westfalen | human, A | | 1 | Sensibel |
| 07-04402 | Nordrhein-Westfalen | human, A | | 1 | SMZ |
| 07-04623 | Arabische Emirate | Kamel, Milz | | 1 | Sensibel |
| 07-04904 | Niedersachsen | human | | 1 | SMZ |
| 07-05009 | Nordrhein-Westfalen | Schwein | | 1 | Sensibel |
| 07-05020 | Sachsen-Anhalt | Schwein | | 1 | AMP,STR,SXT,TMP,SPE,SMX |
| 07-05022 | Sachsen-Anhalt | Schwein | | 1 | AMP,STR,SXT,TMP,SPE,SMX |
| 07-05040 | Sachsen-Anhalt | Schwein | | 1 | Sensibel |
| 07-05048 | Niedersachsen | Hackfleisch | | 1 | Sensibel |
| 07-05058 | Nordrhein-Westfalen | human, A | | 1 | Sensibel |
| 07-05059 | Nordrhein-Westfalen | human, A | | 1 | Sensibel |
| 07-05060 | Nordrhein-Westfalen | human, A | | 1 | Sensibel |
| 07-05061 | Nordrhein-Westfalen | human, A | | 1 | Sensibel |
| 07-05097 | Brandenburg | human | 18 | 1 | SMZ |
| 07-05613 | Niedersachsen | Masthähnchen | | 1 | Sensibel |
| 07-06050 | Nordrhein-Westfalen | human | | 1 | SMZ |
| 07-07386 | Niederlande | Masthähnchen | 1a | 1 | AMP,CTM,CTX,MEZ,SMZ,STR,SXT |
| 08-01412 | Berlin | human | | 1 | Sensibel |
| 08-02128 | Sachsen | Klärschlamm | | 1 | Sensibel |
| 08-02133 | Sachsen | Klärschlamm | | 1 | CMP |
| 08-02138 | Sachsen | Klärschlamm | | 1 | CMP |
| 08-02418 | Mecklenburg-Vorp. | human | 48 | 1 | SMZ |
| 08-02850 | Brandenburg | Masthähnchen | | 1 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 08-02976 | Brandenburg | Masthähnchen | | 1 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 08-04926 | Sachsen-Anhalt | human | | 1 | Sensibel |
| 08-07282 | Nordrhein-Westfalen | human, A | | 1 | Sensibel |
| 08-07283 | Nordrhein-Westfalen | human, A | | 1 | SMZ |
| 08-07284 | Nordrhein-Westfalen | human, A | | 1 | Sensibel |
| 08-07285 | Nordrhein-Westfalen | human, A | 34 | 1 | Sensibel |
| 08-07286 | Nordrhein-Westfalen | human, A | | 1 | AMP,MEZ,SMZ,SXT |
| 08-07287 | Nordrhein-Westfalen | human, A | 34 | 1 | sensibel |
| 08-07288 | Nordrhein-Westfalen | human, A | | 1 | SMZ |
| 08-07289 | Nordrhein-Westfalen | human, A | | 1 | Sensibel |
| 08-07290 | Nordrhein-Westfalen | human, A | | 1 | SMZ |
| 08-07292 | Nordrhein-Westfalen | human, A | | 1 | SMZ |
| 08-07293 | Nordrhein-Westfalen | human, A | | 1 | Sensibel |
| 08-07294 | Nordrhein-Westfalen | human, A | | 1 | Sensibel |
| 08-07295 | Nordrhein-Westfalen | human, A | 34 | 1 | Sensibel |
| 08-07378 | Nordrhein-Westfalen | human, A | | 1 | SMZ |
| 08-07397 | Nordrhein-Westfalen | human, A | | 1 | SMZ |
| 08-07398 | Nordrhein-Westfalen | human, A | | 1 | SMZ |
| 08-07399 | Nordrhein-Westfalen | human, A | | 1 | SMZ |

Anhang

| RKI-Nr. | Bundesland bzw. Ausland | Herkunft | XbaI-Typ | LT | Resistenz |
|----------------|--------------------------------|--------------------|-----------------|-----------|-------------------------|
| 08-07400 | Nordrhein-Westfalen | human, A | | 1 | SMZ |
| 08-07449 | Nordrhein-Westfalen | human, A | | 1 | AMP,MEZ,SMZ,SXT |
| 08-07450 | Nordrhein-Westfalen | human, A | | 1 | SMZ |
| 09-00980 | Island | Masthähnchen | | 1 | Sensibel |
| 04-08506 | Brandenburg | Schweinezunge | | 2 | SMZ |
| 75-00534 | Nordrhein-Westfalen | human | | 2 | nicht getestet |
| 95-01911 | Nordrhein-Westfalen | human | | 2 | nicht getestet |
| 07-05001 | Thüringen | Schwein | | 3 | AMP,STR,TET,SMX |
| 01-02829 | Arabische Emirate | Falke | | 4 | SMZ |
| 02-06947 | Baden-Württemberg | human | | 4 | SMZ |
| 03-02583 | Baden-Württemberg | human | | 4 | SMZ,STR |
| 03-07965 | Sachsen | Biokompost | | 4 | SMZ |
| 04-01262 | Berlin | human | 4 | 4 | SMZ |
| 04-01956 | Berlin | human | 4 | 4 | SMZ |
| 04-05266 | Baden-Württemberg | human | 4 | 4 | SMZ |
| 04-08108 | Brandenburg | Masthähnchen | | 4 | SMZ |
| 04-09357 | Baden-Württemberg | Wasser, Abstriche | 4 | 4 | SMZ |
| 05-02660 | Nordrhein-Westfalen | human | 4 | 4 | AMP,MEZ,SMZ,SXT |
| 05-06719 | Niedersachsen | human | 4 | 4 | AMP,MEZ,MSU,OTE,SMZ,SXT |
| 06-00591 | Bayern | Wasser, Abstriche | 1b | 4 | SMZ |
| 06-02625 | Niedersachsen | Masthähnchen | 4 | 4 | nicht getestet |
| 06-03813 | Niedersachsen | human | 5 | 4 | OTE,SMZ |
| 06-08052 | Thüringen | Masthähnchen | | 4 | SMZ,STR |
| 06-08053 | Thüringen | Masthähnchen | | 4 | SMZ,STR |
| 06-08054 | Thüringen | Masthähnchen | | 4 | SMZ,STR |
| 06-08847 | Australien | human | | 4 | SMZ |
| 07-02936 | Nordrhein-Westfalen | Masthähnchen | 4 | 4 | Sensibel |
| 07-03727 | Niedersachsen | Masthähnchen | | 4 | nicht getestet |
| 07-03756 | Niedersachsen | Masthähnchen | | 4 | nicht getestet |
| 07-04994 | Baden-Württemberg | Kompost | | 4 | Sensibel |
| 07-05006 | Sachsen-Anhalt | Masthähnchen | | 4 | AMP,SXT,TMP,SMX |
| 07-05023 | Niedersachsen | Masthähnchen | | 4 | Sensibel |
| 07-07027 | Nordrhein-Westfalen | human | 4 | 4 | Sensibel |
| 07-07144 | Niedersachsen | Masthähnchen | | 4 | AMP,MEZ,SMZ,SXT |
| 07-07151 | Niedersachsen | Masthähnchen | | 4 | nicht getestet |
| 07-07808 | Niedersachsen | human | 4 | 4 | Sensibel |
| 07-08127 | Nordrhein-Westfalen | human | 4 | 4 | SMZ |
| 07-08273 | Mecklenburg-Vorp. | Masthähnchen | | 4 | AMP,MEZ,SMZ,SXT |
| 07-08279 | Mecklenburg-Vorp. | Masthähnchen | | 4 | AMP,MEZ,SMZ,SXT |
| 08-00586 | Ungarn | Masthähnchen | | 4 | SMZ |
| 08-01609 | Brandenburg | Hackfleisch | 4 | 4 | SMZ |
| 08-01809 | Brandenburg | Hackfleisch | | 4 | SMZ |
| 08-01810 | Brandenburg | Hackfleisch | | 4 | SMZ |
| 08-07333 | Ungarn | Masthähnchen | | 4 | AMP,MEZ,NAL,SMZ,SXT |
| 99-07201 | Thüringen | human, F | 4 | 4 | Sensibel |
| 03-07867 | Baden-Württemberg | human | 27a | 5 | SMZ |
| 06-08809 | Australien | human | | 5 | SMZ |
| 06-08818 | Australien | Schwein | 36 | 5 | OTE,STR |
| 06-08823 | Australien | Kängurufleisch | | 5 | SMZ |
| 08-02725 | Nordrhein-Westfalen | Kompost | | 5 | SMZ |
| 06-08841 | Australien | Masthähnchen | | 6 | SMZ |
| 96-00945 | Sachsen | Wildschweingulasch | | 6 | nicht getestet |

Anhang

| RKI-Nr. | Bundesland bzw. Ausland | Herkunft | XbaI-Typ | LT | Resistenz |
|----------------|--------------------------------|-------------------|-----------------|-----------|---------------------|
| 06-00045 | Berlin | human | 1a | 7 | SMZ |
| 06-08817 | Australien | human | | 7 | SMZ |
| 00-06745 | Arabische Emirate | Kamel | | 8 | SMZ |
| 04-05520 | Sachsen-Anhalt | human | 33 | 8 | SMZ |
| 04-05586 | Sachsen-Anhalt | human | 33 | 8 | SMZ |
| 04-08401 | Bayern | Abstriche | - | 8 | SMZ |
| 04-09362 | Baden-Württemberg | Wasser, Abstriche | 33a | 8 | SMZ |
| 06-00585 | Bayern | human | 12 | 8 | SMZ |
| 07-006407 | Sachsen-Anhalt | Klärschlamm | | 8 | SMZ,STR |
| 07-04991 | Baden-Württemberg | Umwelt | | 8 | Sensibel |
| 07-04998 | Thüringen | Ferkel | | 8 | Sensibel |
| 07-05003 | Nordrhein-Westfalen | Pute | | 8 | Sensibel |
| 07-05008 | Sachsen | Schweinefleisch | | 8 | Sensibel |
| 07-05010 | Mecklenburg-Vorp. | Hackfleisch | | 8 | sensibel |
| 07-05056 | Niedersachsen | LM | | 8 | Sensibel |
| 07-05487 | Niedersachsen | Legehennen, A | 43a | 8 | Sensibel |
| 07-05488 | Niedersachsen | Kartoffelsalat, A | 43a | 8 | SMZ,STR |
| 07-05489 | Niedersachsen | human, A | | 8 | Sensibel |
| 07-05490 | Niedersachsen | human, A | | 8 | SMZ,STR |
| 07-05491 | Niedersachsen | human, A | | 8 | SMZ,STR |
| 07-05492 | Niedersachsen | human, A | 43a | 8 | Sensibel |
| 07-05493 | Niedersachsen | human, A | 43a | 8 | Sensibel |
| 07-07758 | Niedersachsen | human, A | 43a | 8 | Sensibel |
| 07-07759 | Niedersachsen | human, A | 43a | 8 | Sensibel |
| 07-05856 | Brandenburg | Huhn | | 8 | SMZ |
| 07-08384-24 | Sachsen-Anhalt | Klärschlamm | | 8 | CMP,OTE,SMZ,STR,SXT |
| 99-01134 | Baden-Württemberg | Hund, Kot | | 8 | SMZ |
| 99-07548 | Niedersachsen | Huhn, Kot | | 8 | Sensibel |
| 00-00498 | Thüringen | human, F | | 9 | Sensibel |
| 00-00605 | Thüringen | human, F | | 9 | Sensibel |
| 01-06430 | Mecklenburg-Vorp. | human | | 9 | CAZ,CMP,SMZ,STR |
| 01-07857 | Niedersachsen | human | | 9 | SMZ,STR |
| 01-10754-1 | Sachsen | Dünger | 16 | 9 | SMZ |
| 02-09178 | Sachsen-Anhalt | human | | 9 | SMZ |
| 03-03438 | Berlin | human | | 9 | SMZ |
| 03-04901 | Niedersachsen | human | 16 | 9 | SMZ |
| 04-00336 | Niedersachsen | human | 32 | 9 | SMZ |
| 04-02090 | Bayern | LM | 1a | 9 | SMZ |
| 04-03316 | Sachsen-Anhalt | Staubprobe | 15 | 9 | Sensibel |
| 04-04828 | Sachsen-Anhalt | human | | 9 | SMZ |
| 04-08292 | Baden-Württemberg | Hähnchenbrust | 42 | 9 | SMZ |
| 04-09355 | Baden-Württemberg | human | | 9 | SMZ |
| 04-09361 | Baden-Württemberg | human | | 9 | SMZ |
| 05-00840 | Nordrhein-Westfalen | human | 16 | 9 | SMZ |
| 05-05441 | Niedersachsen | Schwein | 16a | 9 | SMZ |
| 05-07903 | Nordrhein-Westfalen | human | 15 | 9 | SMZ |
| 06-03269 | Brasilien | Schwein | | 9 | SMZ |
| 06-08808 | Australien | human | 16 | 9 | SMZ |
| 06-08811 | Australien | human | | 9 | SMZ |
| 06-08814 | Australien | human | | 9 | SMZ |
| 06-08815 | Australien | human | | 9 | SMZ |
| 06-08816 | Australien | human | | 9 | SMZ |

Anhang

| RKI-Nr. | Bundesland bzw. Ausland | Herkunft | XbaI-Typ | LT | Resistenz |
|----------------|--------------------------------|-----------------|-----------------|-----------|------------------|
| 06-08819 | Australien | human | | 9 | SMZ |
| 06-08821 | Australien | Abstriche | | 9 | SMZ |
| 06-08828 | Australien | Masthähnchen | | 9 | SMZ |
| 06-08829 | Australien | Futtermittel | | 9 | SMZ |
| 06-08830 | Australien | Masthähnchen | | 9 | SMZ |
| 06-08832 | Australien | Futtermittel | | 9 | SMZ |
| 06-08834 | Australien | Schwein | | 9 | SMZ |
| 06-08840 | Australien | Maus | | 9 | SMZ |
| 06-08845 | Australien | human | | 9 | SMZ |
| 06-08846 | Australien | Masthähnchen | | 9 | SMZ |
| 06-08849 | Australien | Hund | | 9 | SMZ |
| 07-00732 | Nordrhein-Westfalen | human | 15 | 9 | SMZ |
| 07-00946 | Sachsen-Anhalt | human | 15 | 9 | Sensibel |
| 07-01678 | Thüringen | human | | 9 | SMZ,STR |
| 07-02542 | Berlin | human | 13 | 9 | Sensibel |
| 07-05013 | Baden-Württemberg | Rind | | 9 | Sensibel |
| 07-05030 | Niedersachsen | Kalb | | 9 | Sensibel |
| 07-05043 | Nordrhein-Westfalen | Schwein | | 9 | Sensibel |
| 07-05052 | Hamburg | LM | | 9 | Sensibel |
| 07-05053 | Hamburg | LM | | 9 | Sensibel |
| 07-05054 | Niedersachsen | LM | | 9 | Sensibel |
| 07-05055 | Hamburg | unbekannte | | 9 | Sensibel |
| 07-06734 | Niedersachsen | human | | 9 | Sensibel |
| 07-08347 | Niedersachsen | Schwein | | 9 | SMZ |
| 08-01566 | Niedersachsen | Huhn | 15 | 9 | SMZ |
| 08-01567 | Niedersachsen | Huhn | 15 | 9 | SMZ |
| 08-01569 | Niedersachsen | Huhn | 15 | 9 | SMZ,STR |
| 08-05614 | Nordrhein-Westfalen | human | | 9 | STR |
| 08-05828 | Nordrhein-Westfalen | human | | 9 | Sensibel |
| 74-00161 | Berlin | Klärschlamm | | 9 | nicht getestet |
| 74-00477 | Niedersachsen | human | | 9 | nicht getestet |
| 74-02051 | Baden-Württemberg | human | | 9 | nicht getestet |
| 75-00384 | Berlin | human | | 9 | nicht getestet |
| 96-06825 | Bayern | human, F | | 9 | SMZ |
| 96-08020 | Niedersachsen | Schwein | | 9 | nicht getestet |
| 97-08512 | Bayern | human, F | | 9 | SMZ |
| 97-08513 | Bayern | human, F | | 9 | SMZ |
| 98-01472 | Nordrhein-Westfalen | human | | 9 | SMZ |
| 99-03037 | Niedersachsen | human | 25 | 9 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 99-04670 | Sachsen | Biogasgülle | | 9 | SMZ |
| 99-08947 | Arabische Emirate | Falke, Kot | | 9 | STR |
| 09-00979 | Island | Masthähnchen | | 9 | Sensibel |
| 09-00978 | Island | Masthähnchen | | 9 | Sensibel |
| 09-00977 | Island | Masthähnchen | | 9 | sensibel |
| 09-00976 | Island | Schwein | | 9 | Sensibel |
| 06-08806 | Australien | Futtermittel | 1var | 10 | SMZ |
| 06-08807 | Australien | Hühner-Ei | 1 | 10 | SMZ,STR |
| 06-08813 | Australien | Hund | | 10 | SMZ |
| 06-08833 | Australien | Legehennen | | 10 | SMZ |
| 07-06962 | Thüringen | human | 34b | 10 | Sensibel |
| 07-07661 | Thüringen | human, F | 34b | 10 | Sensibel |
| 07-07996 | Baden-Württemberg | human | 1c | 10 | Sensibel |

Anhang

| RKI-Nr. | Bundesland bzw. Ausland | Herkunft | XbaI-Typ | LT | Resistenz |
|----------------|--------------------------------|--------------------|-----------------|-----------|---------------------|
| 07-08384-25 | Sachsen-Anhalt | Klärschlamm | | 10 | Sensibel |
| 74-00674 | Nordrhein-Westfalen | human | | 10 | nicht getestet |
| 01-11247 | Brandenburg | Futtermittel | | 11 | SMZ,STR |
| 02-00053 | Thüringen | human | | 11 | SMZ |
| 02-00057 | Thüringen | human | | 11 | SMZ,STR |
| 02-01038 | Thüringen | human | | 11 | SMZ |
| 02-01187 | Thüringen | human | | 11 | SMZ |
| 02-01364 | Thüringen | human | | 11 | SMZ |
| 02-01597 | Thüringen | human | | 11 | SMZ |
| 02-01836 | Thüringen | human | | 11 | SMZ |
| 02-03551 | Thüringen | human | | 11 | SMZ |
| 02-07693 | Brandenburg | Futtermittel | | 11 | SMZ |
| 03-01028 | Sachsen-Anhalt | human, A | | 11 | Sensibel |
| 03-02618 | Brandenburg | Schwein | | 11 | SMZ |
| 03-03799 | Mecklenburg-Vorp. | human | | 11 | SMZ |
| 03-03801 | Brandenburg | Rind, Organ | | 11 | SMZ |
| 03-04150 | Thüringen | human | | 11 | SMZ |
| 03-04312-1 | Mecklenburg-Vorp. | human | | 11 | CMP,SMZ,STR |
| 03-06071 | Brandenburg | Lebensmittel | 7 | 11 | CMP,SMZ |
| 03-06072 | Brandenburg | Rind, Kot | | 11 | SMZ |
| 03-06297 | Brandenburg | Rind, Kot | | 11 | SMZ |
| 03-06637 | Brandenburg | Kalb, Kot | | 11 | SMZ |
| 03-06638 | Brandenburg | Kalb, Kot | | 11 | CMP,SMZ |
| 03-06639 | Brandenburg | Kalb, Kot | | 11 | SMZ |
| 03-06643 | Brandenburg | Rind, Kot | | 11 | SMZ |
| 03-06827 | Brandenburg | Kalb, Kot | | 11 | SMZ |
| 03-06828 | Brandenburg | Kalb, Kot | | 11 | SMZ |
| 03-06829 | Brandenburg | Kalb, Kot | | 11 | SMZ |
| 03-07625 | Sachsen-Anhalt | human, A | | 11 | SMZ |
| 03-07721 | Sachsen-Anhalt | human, F | | 11 | SMZ |
| 03-07837 | Sachsen-Anhalt | human, F | | 11 | SMZ,STR |
| 03-08272 | Sachsen-Anhalt | human, A | | 11 | SMZ |
| 03-08727 | Thüringen | human | | 11 | SMZ |
| 04-03154 | Brandenburg | human, A | 7 | 11 | SMZ |
| 04-03156 | Brandenburg | human, A | 7 | 11 | SMZ |
| 04-03161 | Brandenburg | human, A | 7 | 11 | SMZ |
| 04-03163 | Brandenburg | human, A | 7 | 11 | SMZ |
| 04-03490 | Brandenburg | LM, Hackfleisch, A | 7 | 11 | SMZ |
| 04-03302 | Sachsen-Anhalt | human | | 11 | CMP,SMZ |
| 04-04048 | Bayern | Masthähnchen | | 11 | SMZ |
| 04-09307 | Niedersachsen | human | | 11 | SMZ |
| 04-09327 | Niedersachsen | human | | 11 | SMZ |
| 05-02268 | Niedersachsen | Masthähnchen | 7 | 11 | AMP,MEZ,SMZ,STR,SXT |
| 05-02269 | Niedersachsen | Masthähnchen | 7 | 11 | AMP,MEZ,SMZ |
| 05-03289 | Niedersachsen | Masthähnchen | 7 | 11 | AMP,MEZ,SMZ,SXT |
| 05-06517 | Niedersachsen | human | 7 | 11 | SMZ |
| 06-02985 | Mecklenburg-Vorp. | Hähnchenbrustfilet | 4 | 11 | SMZ |
| 06-04208 | Thüringen | human | 7 | 11 | SMZ |
| 06-04293 | Niedersachsen | Lebensmittel | 7 | 11 | AMP,MEZ,SMZ |
| 07-01140 | Nordrhein-Westfalen | human | 13 | 11 | SMZ |
| 07-02666 | Nordrhein-Westfalen | human | 13 | 11 | Sensibel |
| 07-04512 | Nordrhein-Westfalen | Masthähnchen | | 11 | SMZ |

Anhang

| RKI-Nr. | Bundesland bzw. Ausland | Herkunft | XbaI-Typ | LT | Resistenz |
|----------------|--------------------------------|-------------------|-----------------|-----------|-----------------------------|
| 07-04997 | Hessen | Fleisch, Hirsch | | 11 | Sensibel |
| 07-05021 | Sachsen-Anhalt | Rind | | 11 | Sensibel |
| 07-05033 | Mecklenburg-Vorp. | Rind, Kot | | 11 | Sensibel |
| 07-05036 | Mecklenburg-Vorp. | Rind, Kot | | 11 | Sensibel |
| 07-05041 | Mecklenburg-Vorp. | Hund | | 11 | STR |
| 07-05045 | Hessen | Stufenkontrolle | | 11 | AMP |
| 07-05094 | Niedersachsen | Sockentupfer | | 11 | Sensibel |
| 07-05728 | Brandenburg | Masthähnchen | | 11 | SMZ |
| 07-06432 | Schleswig-Holstein | human | | 11 | Sensibel |
| 07-07837 | Sachsen-Anhalt | human | 7 | 11 | AMP,MEZ,OTE,SMZ,STR,SXT |
| 08-00028 | Sachsen-Anhalt | human | 7a | 11 | AMP,MEZ,MSU,OTE,SMZ,STR,SXT |
| 08-01103 | Niedersachsen | Masthähnchen | | 11 | nicht getestet |
| 08-01430 | Baden-Württemberg | human | 7 | 11 | Sensibel |
| 08-01574 | Niedersachsen | human | 7 | 11 | SMZ |
| 08-02770 | Niedersachsen | Vakzinestamm | | 11 | SMZ |
| 74-00876 | Berlin | Abwasser | | 11 | nicht getestet |
| 74-02107 | unbekannt | human | | 11 | nicht getestet |
| 74-02108 | unbekannt | human | | 11 | nicht getestet |
| 75-00293 | Nordrhein-Westfalen | human | | 11 | nicht getestet |
| 96-05045 | Nordrhein-Westfalen | human | | 11 | Sensibel |
| 96-05939 | Nordrhein-Westfalen | human | | 11 | SMZ |
| 07-02668 | Nordrhein-Westfalen | human | 15 | 12 | Sensibel |
| 00-05190 | Nordrhein-Westfalen | Futtermittel | | 13 | Sensibel |
| 01-09038 | Niedersachsen | human | | 13 | SMZ |
| 04-04045 | Bayern | Huhn | | 14 | SMZ |
| 01-02821 | Arabische Emirate | Kamel | | 15 | AMP,CMP,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 01-02831 | Arabische Emirate | Falke | | 15 | AMP,CMP,NAL,OTE,SMZ,STR,SXT |
| 02-01774 | Arabische Emirate | Geflügel | | 15 | CMP,COX,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 02-01796 | Arabische Emirate | Landgeflügel | | 15 | CMP,COX,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 03-03044 | Niedersachsen | Feldstamm | | 15 | AMP,CMP,COX,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 06-02283 | Arabische Emirate | Komodo-Waran, Kot | | 15 | CMP,COX,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 07-04625 | Arabische Emirate | Gepard | | 15 | CMP,COX,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 99-05309 | Arabische Emirate | Masthähnchen | | 15 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 99-05311 | Arabische Emirate | Masthähnchen | | 15 | CMP,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 02-03440 | Canada | human | | 16 | AMK,SMZ |
| 06-08820 | Australien | Krokodile | | 17 | SMZ,STR |
| 06-08825 | Australien | human | 37a | 17 | SMZ |
| 06-08831 | Australien | Geflügel Abfälle | | 17 | COX,SMZ |
| 06-08839 | Australien | Geflügel Abfälle | | 17 | SMZ |
| 06-08844 | Australien | Masthähnchen | | 17 | SMZ |
| 06-08848 | Australien | Masthähnchen | | 17 | SMZ |
| 06-08812 | Australien | human | | 17 | SMZ |
| 06-08824 | Australien | Masthähnchen | 37 | 17 | SMZ,STR |
| 06-08827 | Australien | Masthähnchen | | 17 | SMZ |
| 06-08842 | Australien | Geflügel Abfälle | | 17 | SMZ,STR |
| 06-08850 | Australien | human | | 17 | SMZ |
| 06-08851 | Australien | Ziegenfleisch | | 17 | SMZ,STR |
| 96-01096 | Thüringen | Kälber, A | | 18 | OTE,SMZ |
| 00-04802 | Thüringen | human, F | | 19 | KAN,OTE,SMZ,SXT |

Anhang

| RKI-Nr. | Bundesland bzw. Ausland | Herkunft | XbaI-Typ | LT | Resistenz |
|----------------|--------------------------------|-----------------|-----------------|-----------|------------------|
| 03-07419 | Bayern | LM | - | 19 | SMZ |
| 04-00089 | Bayern | human | 31 | 19 | SMZ |
| 04-05460 | Berlin | human | 17 | 20 | SMZ |
| 04-07019 | Niedersachsen | human | | 20 | CMP,OTE,SMZ,SXT |
| 04-08397 | Bayern | human, A | 6 | 20 | SMZ,STR |
| 04-08298 | Baden-Württemberg | human | | 21 | SMZ,STR |
| 05-01600 | Brandenburg | Schweinefleisch | 1a | 21 | SMZ |
| 05-01736 | Brandenburg | Schweinefleisch | | 21 | SMZ |
| 05-01737 | Brandenburg | Schweinefleisch | | 21 | SMZ |
| 05-01738 | Brandenburg | Schweinefleisch | | 21 | SMZ |
| 05-01739 | Brandenburg | Schweinefleisch | | 21 | SMZ |
| 05-01740 | Brandenburg | Schweinefleisch | 1a | 21 | SMZ |
| 05-01742 | Brandenburg | Schweinefleisch | | 21 | SMZ,SXT |
| 08-00080 | Nordrhein-Westfalen | human, A | 1a | 21 | SMZ |
| 08-00092 | Nordrhein-Westfalen | human, A | 1a | 21 | SMZ,STR |
| 08-00128 | Nordrhein-Westfalen | human, A | 1a | 21 | Sensibel |
| 08-00172 | Nordrhein-Westfalen | human, A | 1a | 21 | Sensibel |
| 08-07523 | Nordrhein-Westfalen | human | | 21 | Sensibel |
| 96-01756 | Brandenburg | human | | 21 | Sensibel |
| 99-05640 | Nordrhein-Westfalen | human, F | 16b | 22 | Sensibel |
| 74-00059 | Berlin | Klärschlamm | | 23 | nicht getestet |
| 74-00111 | unbekannt | human | | 23 | nicht getestet |
| 74-01662 | Berlin | human | | 23 | nicht getestet |
| 74-02118 | Berlin | Klärschlamm | | 23 | nicht getestet |
| 74-02120 | Berlin | Klärschlamm | | 23 | nicht getestet |
| 75-00022 | Berlin | Klärschlamm | | 23 | nicht getestet |
| 75-00034 | Berlin | Klärschlamm | | 23 | nicht getestet |
| 75-00376 | Hessen | human | | 23 | nicht getestet |
| 75-00535 | Nordrhein-Westfalen | human | | 23 | nicht getestet |
| 00-04857 | Nordrhein-Westfalen | human, A | 2 | 24 | Sensibel |
| 00-04858 | Nordrhein-Westfalen | human, A | 2 | 24 | Sensibel |
| 02-01815 | Brandenburg | Schwein | | 24 | CMP,SMZ |
| 02-01816 | Brandenburg | Schwein | | 24 | CMP,SMZ |
| 02-02578 | Brandenburg | Futtermittel | | 24 | CMP,SMZ |
| 02-02759 | Sachsen-Anhalt | human | | 24 | SMZ,STR |
| 02-02855 | Brandenburg | human | | 24 | SMZ,STR |
| 02-03300 | Brandenburg | human | | 24 | SMZ |
| 02-06845 | Baden-Württemberg | human, F | | 24 | SMZ |
| 02-11595 | Sachsen | human | | 24 | SMZ |
| 03-01120 | Niedersachsen | Futtermittel | | 24 | CMP,SMZ |
| 03-02103 | Thüringen | human | | 24 | CMP,SMZ |
| 03-02415 | Thüringen | human | | 24 | CMP,SMZ |
| 03-02935 | Thüringen | human | | 24 | CMP,SMZ |
| 03-03330 | Thüringen | human, F | | 24 | SMZ,STR |
| 03-03445 | Thüringen | human, F | | 24 | SMZ |
| 03-06587 | Thüringen | human | | 24 | CMP,SMZ,STR |
| 03-06587 | Thüringen | human | | 24 | CMP,SMZ,STR |
| 03-07429 | Niedersachsen | human | 2 | 24 | CMP,SMZ |
| 04-02892 | Brandenburg | Rind | | 24 | CMP,SMZ |
| 04-03058 | Schleswig-Holstein | Schweinefleisch | 2 | 24 | CMP,SMZ |
| 04-08237 | Schleswig-Holstein | human | | 24 | SMZ |
| 04-08295 | Baden-Württemberg | Legehennen | | 24 | SMZ |

Anhang

| RKI-Nr. | Bundesland bzw. Ausland | Herkunft | XbaI-Typ | LT | Resistenz |
|----------------|--------------------------------|-----------------|-----------------|-----------|---|
| 05-01956 | Sachsen-Anhalt | human, F | 2 | 24 | CMP,SMZ |
| 05-01957 | Sachsen-Anhalt | human, F | 2 | 24 | CMP,SMZ |
| 05-01958 | Sachsen-Anhalt | human, F | 2 | 24 | CMP,SMZ |
| 05-03310 | Brandenburg | Kalb | 2 | 24 | CMP,SMZ |
| 05-03311 | Brandenburg | Kalb | | 24 | CMP,SMZ |
| 05-03315 | Brandenburg | Kalb | | 24 | CMP,SMZ |
| 05-04615 | Brandenburg | Kalb | 2 | 24 | CMP,SMZ |
| 05-05126 | Brandenburg | Kalb | | 24 | CMP,SMZ |
| 05-05127 | Brandenburg | Kalb | 2 | 24 | CMP,SMZ |
| 05-05142 | Sachsen-Anhalt | human | 2 | 24 | CMP,COX,SMZ |
| 05-06716 | Niedersachsen | human | 2 | 24 | CMP,OTE,SMZ |
| 05-06720 | Niedersachsen | human | 2 | 24 | CMP,OTE,SMZ,STR |
| 06-00237 | Baden-Württemberg | human | 20 | 24 | SMZ |
| 06-00870 | Schleswig Holstein | Futtermittel | 2 | 24 | nicht getestet |
| 06-00912 | Schleswig-Holstein | Futtermittel | 2 | 24 | nicht getestet |
| 06-01248 | Brandenburg | Futtermittel | 2 | 24 | nicht getestet |
| 06-02966 | Niedersachsen | human | 2 | 24 | CMP,SMZ |
| 06-03266 | Brasilien | Schwein | | 24 | SMZ |
| 06-06904 | Brandenburg | Futtermittel | | 24 | CMP,SMZ |
| 07-02883 | Thüringen | human | 2 | 24 | SMZ |
| 07-04816 | Niedersachsen | human | 2 | 24 | SMZ |
| 07-05002 | Thüringen | Rind | | 24 | Sensibel |
| 07-05019 | Thüringen | Rind | | 24 | Sensibel |
| 07-05026 | Bayern | Geflügelfleisch | | 24 | Sensibel |
| 07-05046 | Niedersachsen | Huhn | | 24 | Sensibel |
| 07-05903 | Nordrhein-Westfalen | human | | 24 | AMP,MEZ,SMZ,SXT |
| 07-06158 | Schleswig-Holstein | Futtermittel | | 24 | nicht getestet |
| 07-07130 | Niedersachsen | Geflügel | | 24 | nicht getestet |
| 07-07946 | Niedersachsen | human | 4 | 24 | Sensibel |
| 08-02047 | Niedersachsen | human | | 24 | Sensibel |
| 08-02134 | Sachsen | Gärrückstand | | 24 | Sensibel |
| 08-02135 | Sachsen | Gärrückstand | 47 | 24 | Sensibel |
| 08-02874 | Sachsen-Anhalt | human | 2 | 24 | AMP,CMP,GEN,MEZ,MSU, NAL,OTE,SMZ,STR |
| 98-09095 | Mecklenburg-Vorp. | human | | 24 | SMZ,STR |
| 99-01037 | Schleswig-Holstein | Masthähnchen | | 24 | SMZ |
| 99-06216 | Schleswig-Holstein | Rind | 21 | 24 | Sensibel |
| 06-03256 | Brasilien | Schwein | | 25 | SMZ |
| 06-03257 | Brasilien | Schwein | | 25 | Sensibel |
| 06-03258 | Brasilien | Schwein | | 25 | Sensibel |
| 06-03259 | Brasilien | Schwein | | 25 | Sensibel |
| 06-03260 | Brasilien | Schwein | | 25 | Sensibel |
| 06-03261 | Brasilien | Schwein | | 25 | Sensibel |
| 06-03262 | Brasilien | Schwein | | 25 | Sensibel |
| 06-03263 | Brasilien | Schwein | | 25 | Sensibel |
| 06-03264 | Brasilien | Schwein | | 25 | SMZ |
| 06-03265 | Brasilien | Schwein | | 25 | Sensibel |
| 08-01565 | Niedersachsen | Huhn | 15a | 25 | STR |
| 08-01568 | Niedersachsen | Huhn | 15a | 25 | Sensibel |
| 09-00983 | Island | Schwein | | 25 | Sensibel |
| 09-00982 | Island | Schwein | | 25 | Sensibel |
| 03-03043 | Niedersachsen | Impfstamm | | 26 | STR |

Anhang

| RKI-Nr. | Bundesland bzw. Ausland | Herkunft | XbaI-Typ | LT | Resistenz |
|----------------|--------------------------------|------------------|-----------------|-----------|-------------------------------------|
| 04-04044 | Bayern | Masthähnchen | | 26 | SMZ |
| 04-09356 | Baden-Württemberg | human | | 26 | SMZ |
| 05-01329 | Niedersachsen | unbekannte | 1c | 26 | SMZ, STR |
| 06-03223 | Mecklenburg-Vorp. | human | 1c | 26 | SMZ |
| 07-05050 | Hamburg | LM | | 26 | Sensibel |
| 07-05486 | Niedersachsen | human | 27 | 27 | AMP,CMP,KAN,MEZ,NAL,OTE,SMZ,STR,SXT |
| 07-05446 | Sachsen-Anhalt | human | 34b | 28 | SMZ |
| 07-05862 | Sachsen-Anhalt | human | 34b | 28 | SMZ,STR,SXT |
| 07-07086 | Sachsen-Anhalt | human | 34b | 28 | Sensibel |
| 07-08384-26 | Sachsen-Anhalt | Klärschlamm | | 28 | Sensibel |
| 07-6406-1 | Sachsen-Anhalt | Klärschlamm | | 28 | SMZ |
| 00-653-1 | Niedersachsen | Masthähnchen | | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 01-00827 | Thüringen | human | | 29 | SMZ |
| 01-11308 | Niedersachsen | human | | 29 | CMP,SMZ |
| 02-00652 | Sachsen | Huhn, Eierschale | | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 02-01595 | Niedersachsen | human | | 29 | SMZ |
| 02-01681 | Thüringen | human | | 29 | SMZ |
| 02-06457 | Baden-Württemberg | human | | 29 | SMZ |
| 02-08334 | Niedersachsen | human | | 29 | SMZ |
| 02-11556 | Niedersachsen | human | | 29 | SMZ |
| 03-00437 | Mecklenburg-Vorp. | human | | 29 | SMZ |
| 03-00632 | Niedersachsen | human | | 29 | SMZ |
| 03-07050 | Thüringen | human | | 29 | CMP,SMZ |
| 03-07175 | Mecklenburg-Vorp. | human | | 29 | SMZ |
| 03-07726 | Niedersachsen | human | | 29 | CMP,SMZ |
| 04-01833 | Baden-Württemberg | human, A | | 29 | SMZ |
| 04-01835 | Baden-Württemberg | human, A | | 29 | SMZ |
| 04-02508 | Berlin | human | 27 | 29 | SMZ |
| 04-02619 | Baden-Württemberg | human, A | 27 | 29 | AMP,MEZ,SMZ |
| 04-02621 | Baden-Württemberg | human, A | | 29 | SMZ |
| 04-02623 | Baden-Württemberg | human, A | | 29 | SMZ,STR |
| 04-02625 | Baden-Württemberg | human, A | 27 | 29 | SMZ |
| 04-02627 | Baden-Württemberg | human, A | | 29 | SMZ |
| 04-02629 | Baden-Württemberg | human, A | | 29 | SMZ |
| 04-04046 | Bayern | Legehennen | | 29 | SMZ |
| 04-04047 | Bayern | Legehennen | | 29 | SMZ |
| 04-04055 | Bayern | Legehennen | | 29 | SMZ |
| 04-04875 | Bayern | human | 5 | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 04-07024 | Sachsen-Anhalt | human, F | | 29 | SMZ |
| 04-08267 | Baden-Württemberg | human | | 29 | SMZ |
| 04-08277 | Baden-Württemberg | Masthähnchen | 27 | 29 | SMZ |
| 04-08280 | Baden-Württemberg | Masthähnchen | 41 | 29 | SMZ |
| 04-08281 | Baden-Württemberg | human, A | | 29 | SMZ |
| 04-08284 | Baden-Württemberg | human, A | | 29 | SMZ |
| 04-08286 | Baden-Württemberg | human, A | | 29 | SMZ |
| 04-08288 | Baden-Württemberg | human, A | | 29 | SMZ |
| 04-08289 | Baden-Württemberg | human, A | | 29 | SMZ |
| 04-08291 | Baden-Württemberg | human, A | | 29 | SMZ |
| 04-08357 | Baden-Württemberg | human | | 29 | SMZ |
| 04-09349 | Baden-Württemberg | human, A | 27 | 29 | SMZ |
| 04-09352 | Baden-Württemberg | human, A | | 29 | SMZ |

Anhang

| RKI-Nr. | Bundesland bzw. Ausland | Herkunft | XbaI-Typ | LT | Resistenz |
|----------|-------------------------|-----------------|----------|----|-------------------------|
| 04-09353 | Baden-Württemberg | human, A | | 29 | SMZ |
| 04-09359 | Baden-Württemberg | Abwasser | | 29 | SMZ |
| 05-01626 | Nordrhein-Westfalen | Masthähnchen | 5 | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 05-01704 | Berlin | human | 27 | 29 | SMZ |
| 05-02008 | Saarland | human | 5 | 29 | CMP,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 05-02422 | Sachsen-Anhalt | Masthähnchen | 5 | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 05-02516 | Nordrhein-Westfalen | human | 5 | 29 | NAL,OTE,SMZ |
| 05-03366 | Nordrhein-Westfalen | Masthähnchen | 11 | 29 | NAL,SMZ |
| 05-05434 | Schleswig-Holstein | Masthähnchen | 5 | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 05-05932 | Brandenburg | Klärschlamm | 27 | 29 | nicht getestet |
| 05-07477 | Niedersachsen | Masthähnchen | 27 | 29 | nicht getestet |
| 05-08100 | Nordrhein-Westfalen | Masthähnchen | 5 | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 05-09166 | Sachsen-Anhalt | Masthähnchen | | 29 | nicht getestet |
| 06-00844 | Niedersachsen | human | 27 | 29 | SMZ |
| 06-00849 | Nordrhein-Westfalen | Masthähnchen | 5 | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 06-01919 | Mecklenburg-Vorp. | Masthähnchen | 27a | 29 | AMP,MEZ,MSU,OTE,SMZ,SXT |
| 06-02705 | Nordrhein-Westfalen | Masthähnchen | 11 | 29 | NAL,SMZ |
| 06-03938 | Mecklenburg-Vorp. | Masthähnchen | 27a | 29 | AMP,MEZ,MSU,OTE,SMZ,SXT |
| 06-03987 | Rheinland-Pfalz | human | 27 | 29 | SMZ |
| 06-04205 | Thüringen | human, A | 27 | 29 | SMZ |
| 06-04207 | Thüringen | human, A | 27 | 29 | SMZ |
| 06-04335 | Thüringen | human, A | 27 | 29 | SMZ |
| 06-04384 | Niedersachsen | human | 27 | 29 | SMZ |
| 06-05529 | Niedersachsen | human | | 29 | AMP,MEZ,SMZ |
| 06-06429 | Niedersachsen | human, A | | 29 | SMZ |
| 06-06562 | Niedersachsen | human, A | | 29 | SMZ,STR |
| 06-06728 | Niedersachsen | human, A | | 29 | Sensibel |
| 06-06930 | Thüringen | human | | 29 | Sensibel |
| 06-07483 | Niedersachsen | Masthähnchen | | 29 | Sensibel |
| 06-07520 | Niedersachsen | Masthähnchen | | 29 | AMP,MEZ,SMZ,SXT |
| 07-00500 | Brandenburg | Masthähnchen | 5 | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 07-00638 | Ungarn | Masthähnchen | 5 | 29 | CMP,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 07-01027 | Ungarn | Masthähnchen | 5 | 29 | NAL,SMZ,STR |
| 07-01084 | Ungarn | Masthähnchen | 5 | 29 | NAL,OTE,SMZ |
| 07-01563 | Ungarn | Masthähnchen | | 29 | NAL |
| 07-01753 | Ungarn | Masthähnchen | | 29 | CMP,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 07-02202 | Ungarn | Masthähnchen | | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 07-02358 | Nordrhein-Westfalen | human | 5a | 29 | SMZ |
| 07-02415 | Ungarn | Masthähnchen | 5 | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 07-02780 | Niedersachsen | human | 5a | 29 | GEN,SMZ,STR |
| 07-02809 | Ungarn | Schweinefleisch | 5 | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 07-02826 | Ungarn | Masthähnchen | 5 | 29 | CMP,COX,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 07-02981 | Thüringen | human | 27b | 29 | Sensibel |
| 07-03000 | Sachsen-Anhalt | human | 27b | 29 | Sensibel |
| 07-03239 | Sachsen-Anhalt | human | 27b | 29 | Sensibel |
| 07-03512 | Niedersachsen | human | 27a | 29 | AMP,MEZ,SMZ |
| 07-03513 | Thüringen | human | 27 | 29 | Sensibel |
| 07-03514 | Thüringen | human | 27 | 29 | SMZ |
| 07-03584 | Thüringen | human, F | 27b | 29 | Sensibel |
| 07-03698 | Niedersachsen | Masthähnchen | | 29 | nicht getestet |
| 07-03710 | Niedersachsen | Masthähnchen | 5a | 29 | nicht getestet |
| 07-03896 | Brandenburg | Masthähnchen | | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |

Anhang

| RKI-Nr. | Bundesland bzw. Ausland | Herkunft | XbaI-Typ | LT | Resistenz |
|----------------|--------------------------------|-----------------|-----------------|-----------|-----------------------------|
| 07-03998 | Niedersachsen | human | 27 | 29 | Sensibel |
| 07-04127 | Niedersachsen | human | 27 | 29 | Sensibel |
| 07-04128 | Niedersachsen | human, A | 6 | 29 | SMZ |
| 07-04145 | Niedersachsen | human, A | 6 | 29 | Sensibel |
| 07-04193 | Niedersachsen | human, A | 6 | 29 | GEN,STR |
| 07-04208 | Brandenburg | Masthähnchen | | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 07-04868 | Sachsen-Anhalt | human | 5a | 29 | AMP,MEZ,SMZ |
| 07-04909 | Thüringen | human | 27b | 29 | Sensibel |
| 07-04993 | Nordrhein-Westfalen | Masthähnchen | | 29 | NAL,STR,TET,SPE,SMX |
| 07-04995 | Niedersachsen | Wurst | | 29 | Sensibel |
| 07-04999 | Niedersachsen | Rind | | 29 | Sensibel |
| 07-05007 | Hessen | Hund | | 29 | NAL,STR,TET,SPE,SMX |
| 07-05011 | Sachsen | Masthähnchen | | 29 | NAL,STR,TET,SPE,SMX |
| 07-05018 | Brandenburg | Masthähnchen | | 29 | NAL,TET,SPE,SMX |
| 07-05024 | Brandenburg | Masthähnchen | | 29 | NAL,STR,TET,SPE,SMX |
| 07-05032 | Brandenburg | Masthähnchen | | 29 | NAL,STR,TET,SPE,SMX |
| 07-05034 | Niedersachsen | Stufenkontrolle | | 29 | AMP SXT TMP SMX |
| 07-05035 | Niedersachsen | Stufenkontrolle | | 29 | Sensibel |
| 07-05038 | Niedersachsen | Huhn | | 29 | AMP SMX |
| 07-05042 | Nordrhein-Westfalen | Masthähnchen | | 29 | NAL,STR,TET,SPE,SMX |
| 07-05044 | Hessen | Masthähnchen | | 29 | NAL TET SPE SMX |
| 07-05051 | Niedersachsen | LM | | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 07-05101 | Brandenburg | Masthähnchen | | 29 | AMP,MEZ,MSU,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 07-05726 | Brandenburg | Masthähnchen | | 29 | CMP,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 07-05729 | Brandenburg | Masthähnchen | | 29 | CMP,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 07-05859 | Baden-Württemberg | human, A | 27 | 29 | Sensibel |
| 07-05861 | Baden-Württemberg | human, A | 27 | 29 | Sensibel |
| 07-06357 | Brandenburg | Masthähnchen | | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 07-06785 | Sachsen-Anhalt | human | | 29 | Sensibel |
| 07-06799 | Nordrhein-Westfalen | human, A | 27a | 29 | AMP,MEZ,OTE,SMZ |
| 07-06799 | Nordrhein-Westfalen | human | | 29 | AMP,MEZ,OTE,SMZ |
| 07-06802 | Thüringen | human, A | 27a | 29 | AMP,MEZ,OTE,SMZ |
| 07-06889 | Thüringen | human, A | 27a | 29 | AMP,MEZ,OTE,SMZ |
| 07-06892 | Thüringen | human, A | 27a | 29 | AMP,MEZ,OTE,SMZ |
| 07-06946 | Thüringen | human | 27 | 29 | AMP,MEZ,OTE,SMZ |
| 07-06994 | Thüringen | human, A | 27a | 29 | AMP,MEZ,OTE,SMZ |
| 07-06996 | Thüringen | human, A | | 29 | AMP,MEZ,OTE,SMZ |
| 07-07306 | Niedersachsen | human, F | 27a | 29 | AMP,MEZ,OTE,SMZ |
| 07-07325 | Sachsen-Anhalt | human | 27var | 29 | Sensibel |
| 07-07542 | Niedersachsen | human, F | 27a | 29 | AMP,MEZ,OTE,SMZ |
| 07-07578 | Schleswig-Holstein | Futtermittel | | 29 | Sensibel |
| 07-07797 | Sachsen-Anhalt | human, F | 6 | 29 | Sensibel |
| 07-08183 | Brandenburg | Masthähnchen | | 29 | CMP,NAL |
| 07-08184 | Brandenburg | Masthähnchen | | 29 | CMP,NAL |
| 07-08384-27 | Sachsen-Anhalt | Klärschlamm | | 29 | Sensibel |
| 07-08384-28 | Sachsen-Anhalt | Klärschlamm | | 29 | Sensibel |
| 08-00190 | Brandenburg | Masthähnchen | 5 | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 08-00551 | Brandenburg | Masthähnchen | | 29 | CMP,NAL |
| 08-00640 | Ungarn | Masthähnchen | | 29 | CMP,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 08-01093-2 | Niedersachsen | Masthähnchen | | 29 | nicht getestet |
| 08-01129 | Niedersachsen | Masthähnchen | | 29 | SMZ,SXT |

Anhang

| RKI-Nr. | Bundesland bzw. Ausland | Herkunft | XbaI-Typ | LT | Resistenz |
|----------------|--------------------------------|-----------------|-----------------|-----------|-------------------------|
| 08-01200 | Ungarn | Masthähnchen | | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 08-01273 | Brandenburg | Masthähnchen | | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 08-01274 | Brandenburg | Masthähnchen | | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 08-01463 | Baden-Württemberg | human, A | 27 | 29 | SMZ |
| 08-01512 | Baden-Württemberg | human | 27 | 29 | Sensibel |
| 08-01516 | Baden-Württemberg | human, A | 27 | 29 | Sensibel |
| 08-01518 | Baden-Württemberg | human, A | | 29 | Sensibel |
| 08-01674 | Baden-Württemberg | human, A | | 29 | SMZ |
| 08-01680 | Brandenburg | Schweinefleisch | | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 08-01835 | Nordrhein-Westfalen | human | | 29 | CMP,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 08-02063 | Brandenburg | Masthähnchen | 5 | 29 | CMP,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 08-02064 | Brandenburg | Masthähnchen | | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 08-02156 | Brandenburg | Masthähnchen | 5 | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 08-02328 | Thüringen | human, A | 27a | 29 | AMP,MEZ,OTE,SMZ |
| 08-02649 | Brandenburg | Masthähnchen | | 29 | CMP,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 08-02651 | Brandenburg | Masthähnchen | | 29 | CMP,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 08-02851 | Brandenburg | Masthähnchen | | 29 | CMP,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 08-02925 | Brandenburg | Masthähnchen | | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 08-03064 | Brandenburg | Masthähnchen | | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 08-07524 | Nordrhein-Westfalen | human | | 29 | CMP |
| 74-01213 | Bayern | human | | 29 | nicht getestet |
| 96-00320 | Bayern | human, F | | 29 | nicht getestet |
| 96-02275 | Baden-Württemberg | human | | 29 | Sensibel |
| 96-02377 | Nordrhein-Westfalen | human, F | | 29 | Sensibel |
| 96-04243 | Sachsen-Anhalt | human, F | | 29 | Sensibel |
| 97-04074 | Bayern | human | | 29 | Sensibel |
| 98-04017 | Mecklenburg-Vorp. | human, A | | 29 | STR, |
| 98-12101 | Mecklenburg-Vorp. | human, A | | 29 | SMZ |
| 98-12102 | Brandenburg | human | | 29 | SMZ |
| 00-01568 | Bayern | Biogasquelle | | 29 | Sensibel |
| 00-10924 | Sachsen | Gänseflügel | | 29 | AMP,MEZ,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 01-04729 | Thüringen | human | | 29 | CMP,SMZ |
| 02-01596 | Niedersachsen | human, F | | 29 | SMZ |
| 02-01644 | Niedersachsen | human | | 29 | SMZ |
| 02-01645 | Thüringen | human | | 29 | SMZ |
| 02-01837 | Niedersachsen | human | | 29 | SMZ |
| 03-02419 | Nordrhein-Westfalen | Masthähnchen | | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 03-02761 | Mecklenburg-Vorp. | human | | 29 | SMZ |
| 03-03293 | Ungarn | Putenfleisch | 5 | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 03-03727 | Schleswig-Holstein | human | | 29 | SMZ,STR |
| 03-06860 | Niedersachsen | human | | 29 | SMZ |
| 03-07051 | Sachsen-Anhalt | human | | 29 | CMP,OTE,SMZ |
| 04-01834 | Baden-Württemberg | human, A | | 29 | SMZ |
| 04-02618 | Baden-Württemberg | human, A | 27 | 29 | SMZ |
| 04-02622 | Baden-Württemberg | human, A | | 29 | SMZ |
| 04-02624 | Baden-Württemberg | human, A | | 29 | SMZ |
| 04-02628 | Baden-Württemberg | human, A | | 29 | SMZ |
| 04-02630 | Baden-Württemberg | human, A | | 29 | SMZ |
| 04-04331 | Thüringen | human, A | 27 | 29 | SMZ |
| 04-08271 | Baden-Württemberg | Masthähnchen | | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 04-08285 | Baden-Württemberg | human, A | | 29 | SMZ |
| 04-08287 | Baden-Württemberg | human, A | 27 | 29 | SMZ |

Anhang

| RKI-Nr. | Bundesland bzw. Ausland | Herkunft | XbaI-Typ | LT | Resistenz |
|----------------|--------------------------------|-----------------|-----------------|-----------|-----------------------------|
| 04-08290 | Baden-Württemberg | human, A | | 29 | SMZ |
| 04-09165 | Brandenburg | LM | | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 04-09348 | Baden-Württemberg | human, A | 44 | 29 | SMZ |
| 04-09350 | Baden-Württemberg | human, A | | 29 | SMZ |
| 04-09358 | Baden-Württemberg | Abwasser | - | 29 | SMZ |
| 04-09360 | Baden-Württemberg | human, A | 27 | 29 | SMZ |
| 05-00842 | Mecklenburg-Vorp. | Masthähnchen | | 29 | SMZ |
| 05-02756 | Nordrhein-Westfalen | Fleischprodukte | 5 | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 05-03428 | Sachsen-Anhalt | Masthähnchen | 5 | 29 | CMP,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 05-03476 | Rheinland-Pfalz | human | 27 | 29 | SMZ |
| 05-05807 | Bayern | human | | 29 | CMP,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 05-06574 | Nordrhein-Westfalen | human | 27b | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR,SXT |
| 06-01182 | Niedersachsen | Masthähnchen | 27a | 29 | AMP,MEZ,SMZ,SXT |
| 06-02010 | Niedersachsen | human | 27 | 29 | SMZ |
| 06-02158 | Ungarn | Masthähnchen | 27 | 29 | NAL,SMZ |
| 06-03000 | Nordrhein-Westfalen | Masthähnchen | 5 | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 06-03436 | Berlin | human | 4 | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 06-04206 | Thüringen | human, A | 27 | 29 | SMZ |
| 06-04238 | Thüringen | human, A | 27 | 29 | SMZ |
| 06-04383 | Niedersachsen | human | 27 | 29 | Sensibel |
| 06-04567 | Nordrhein-Westfalen | Masthähnchen | 5 | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 06-06308 | Sachsen-Anhalt | human | | 29 | SMZ |
| 06-06563 | Niedersachsen | human, A | | 29 | OTE,SMZ,STR |
| 06-07497 | Niedersachsen | Masthähnchen | | 29 | AMP,MEZ,MSU,SMZ,STR,SXT |
| 07-00246 | Thüringen | human | 27b | 29 | Sensibel |
| 07-00433 | Ungarn | Masthähnchen | 5 | 29 | CMP,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 07-00886 | Ungarn | Masthähnchen | 14a | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 07-01026 | Ungarn | Masthähnchen | 5 | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 07-02128 | Ungarn | Masthähnchen | | 29 | CMP,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 07-02328 | Nordrhein-Westfalen | human | 5a | 29 | AMP,CTM,CTX,MEZ,MSU,SMZ,SXT |
| 07-02577 | Nordrhein-Westfalen | Masthähnchen | 27 | 29 | AMP,CAZ,CTM,CTX,MEZ |
| 07-02827 | Ungarn | Masthähnchen | 5a | 29 | AMP,MEZ,SMZ |
| 07-02985 | Thüringen | human | 27 | 29 | sensibel |
| 07-03003 | Thüringen | human, F | 27b | 29 | SMZ |
| 07-03348 | Thüringen | human | 27b | 29 | sensibel |
| 07-03396 | Brandenburg | Masthähnchen | 5 | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 07-03699 | Niedersachsen | Masthähnchen | | 29 | nicht getestet |
| 07-03743 | Niedersachsen | Masthähnchen | | 29 | nicht getestet |
| 07-03746 | Niedersachsen | Masthähnchen | | 29 | nicht getestet |
| 07-03837 | Sachsen-Anhalt | human | 5a | 29 | AMP,MEZ,SMZ |
| 07-03939 | Niedersachsen | human, A | 6 | 29 | sensibel |
| 07-04059 | Niedersachsen | human | 43 | 29 | OTE,STR |
| 07-04210 | Brandenburg | Masthähnchen | | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 07-04356 | Niedersachsen | human, A | 6 | 29 | sensibel |
| 07-04996 | Niedersachsen | Masthähnchen | | 29 | sensibel |
| 07-05000 | Niedersachsen | Masthähnchen | | 29 | NAL,STR,TET,SPE,SMX |
| 07-05014 | Baden-Württemberg | Masthähnchen | | 29 | sensibel |
| 07-05017 | Brandenburg | Masthähnchen | | 29 | NAL,STR,TET,SPE,SMX |
| 07-05025 | Bayern | Klärschlamm | | 29 | NAL,TET,SPE,SMX |
| 07-05031 | Sachsen-Anhalt | Schwein | | 29 | sensibel |
| 07-05039 | Berlin | Masthähnchen | | 29 | NAL,STR,TET,SPE,SMX |

Anhang

| RKI-Nr. | Bundesland bzw. Ausland | Herkunft | XbaI-Typ | LT | Resistenz |
|----------------|--------------------------------|-------------------|-----------------|-----------|---------------------|
| 07-05047 | Hessen | Masthähnchen | | 29 | NAL |
| 07-05049 | Niedersachsen | LM | | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 07-05473 | Nordrhein-Westfalen | human | 5 | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 07-05595 | Brandenburg | Masthähnchen | | 29 | CMP,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 07-05860 | Baden-Württemberg | human, A | 27 | 29 | sensibel |
| 07-06355 | Brandenburg | Rindfleisch | | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 07-06417 | Thüringen | human | | 29 | sensibel |
| 07-06891 | Thüringen | human, A | 27a | 29 | AMP,MEZ,OTE,SMZ,STR |
| 07-06893 | Thüringen | human, A | 27a | 29 | AMP,MEZ,OTE,SMZ |
| 07-06993 | Thüringen | human, A | | 29 | AMP,MEZ,OTE,SMZ |
| 07-07232 | Niedersachsen | human | 27a | 29 | AMP,MEZ,OTE,SMZ,STR |
| 07-07250 | Brandenburg | Schweinefleisch | 5 | 29 | CMP,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 07-07450 | Schleswig-Holstein | Futtermittel | | 29 | SMZ |
| 07-07471 | Brandenburg | Masthähnchen | 5 | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 07-07565 | Sachsen-Anhalt | human | 6 | 29 | sensibel |
| 07-07662 | Thüringen | human, A | 27a | 29 | AMP,MEZ,OTE,SMZ |
| 07-07798 | Sachsen-Anhalt | human, F | 6 | 29 | sensibel |
| 07-07813 | Niedersachsen | Masthähnchen | 5 | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 08-00185 | Brandenburg | Masthähnchen | 5 | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 08-00643 | Ungarn | Masthähnchen | | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 08-01108 | Niedersachsen | Masthähnchen | | 29 | nicht getestet |
| 08-01195 | Ungarn | Masthähnchen | | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 08-01271 | Brandenburg | Masthähnchen | | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 08-01275 | Brandenburg | Masthähnchen | | 29 | CMP,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 08-01514 | Baden-Württemberg | human | 27 | 29 | sensibel |
| 08-01515 | Baden-Württemberg | human, A | 27 | 29 | sensibel |
| 08-01517 | Baden-Württemberg | human, A | 27 | 29 | sensibel |
| 08-01680 | Brandenburg | Masthähnchen | | 29 | CMP,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 08-02065 | Brandenburg | Masthähnchen | | 29 | CMP,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 08-02647 | Brandenburg | Masthähnchen | | 29 | CMP,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 08-02648 | Brandenburg | Masthähnchen | | 29 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 08-02849 | Brandenburg | Masthähnchen | | 29 | CMP,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 08-03070 | Thüringen | human, A | 27 | 29 | sensibel |
| 74-00053 | Niedersachsen | human | | 29 | nicht getestet |
| 96-01854 | Bayern | human, F | | 29 | sensibel |
| 96-01952 | Baden-Württemberg | human | | 29 | sensibel |
| 96-02004 | Nordrhein-Westfalen | human, F | | 29 | sensibel |
| 96-04244 | Sachsen-Anhalt | human, F | | 29 | sensibel |
| 98-12103 | Mecklenburg-Vorp. | human, A | | 29 | NOT,OTE,SMZ |
| 07-05015 | Baden-Württemberg | Legehennen | | 45 | sensibel |
| 07-05016 | Baden-Württemberg | Hühnereier | | 45 | sensibel |
| 07-05029 | Baden-Württemberg | Legehennen | | 45 | sensibel |
| 01-07621 | Niedersachsen | human | | 30 | SMZ |
| 02-07669 | Nordrhein-Westfalen | human | | 30 | SMZ |
| 03-02458 | Schleswig-Holstein | Schwein | 13 | 30 | SMZ |
| 04-04059 | Thüringen | human | 13 | 30 | SMZ |
| 04-04805 | Thüringen | human | 13 | 30 | SMZ |
| 05-02802 | Niedersachsen | human | 13 | 30 | SMZ |
| 05-04013 | Sachsen-Anhalt | Wasser, Abstriche | 13 | 30 | SMZ |
| 05-04169 | Sachsen-Anhalt | human, F | | 30 | SMZ |
| 05-04780 | Sachsen-Anhalt | human, F | | 30 | sensibel |
| 05-07002 | Niedersachsen | human | 13 | 30 | OTE,SMZ |

Anhang

| RKI-Nr. | Bundesland bzw. Ausland | Herkunft | XbaI-Typ | LT | Resistenz |
|----------------|--------------------------------|-----------------|-----------------|-----------|-----------------------------|
| 06-03235 | Sachsen-Anhalt | human | 13 | 30 | SMZ |
| 06-03827 | Thüringen | human | 13 | 30 | SMZ |
| 74-01065 | Hessen | human | | 30 | nicht getestet |
| 75-00545 | Niedersachsen | human | | 30 | nicht getestet |
| 97-03210 | Sachsen-Anhalt | human, F | | 30 | SMZ |
| 99-08872 | Sachsen | Eierschale | | 30 | sensibel |
| 03-05951 | Sachsen-Anhalt | human | | 31 | AMP,MEZ,OTE,SMZ,STR,SXT |
| 98-03591 | Mecklenburg-Vorp. | human | | 31 | SMZ |
| 06-08836 | Australien | Huhn Abfälle | | 32 | OTE,SMZ |
| 02-04191 | Sachsen-Anhalt | human | | 33 | CMP,SMZ |
| 02-05189 | Niedersachsen | Schwein | | 33 | SMZ |
| 03-03081 | Sachsen | Klärschlamm | 16 | 33 | SMZ |
| 04-01877 | Brandenburg | Rohpöckelware | 16a | 33 | SMZ |
| 04-02041 | England | human | | 33 | SMZ |
| 04-04051 | Bayern | Huhn | | 33 | SMZ |
| 04-08275 | Baden-Württemberg | Huhn | | 33 | SMZ |
| 05-06204 | Schleswig-Holstein | Schwein | 16 | 33 | nicht getestet |
| 96-00853 | Thüringen | Huhn | | 33 | NOT,STR |
| 97-03016 | Nordrhein-Westfalen | human, F | | 33 | SMZ |
| 97-08206 | Nordrhein-Westfalen | human | | 33 | SMZ |
| 97-11332 | Hessen | human, F | | 33 | sensibel |
| 97-11333 | Hessen | human, F | | 33 | SMZ |
| 97-12291 | Baden-Württemberg | human | | 33 | sensibel |
| 98-04151 | Mecklenburg-Vorp. | human | | 33 | SMZ |
| 08-03859 | Niedersachsen | human | | 34 | SMZ |
| 05-00895 | Niedersachsen | Huhn | | 35 | AMP,MEZ,SMZ,STR,SXT |
| 06-07524 | Niedersachsen | Huhn | | 35 | SMZ |
| 07-05027 | Baden-Württemberg | Huhn | | 35 | sensibel |
| 01-04952 | Sachsen-Anhalt | human | 22 | 36 | SMZ |
| 04-08067 | Thüringen | human | | 37 | SMZ |
| 03-04900 | Baden-Württemberg | human | 13a | 38 | CMP,SMZ |
| 04-04049 | Bayern | Huhn | | 38 | AMP,CMP,KAN,MEZ,MSU,SMZ,STR |
| 04-09346 | Baden-Württemberg | human | | 38 | SMZ |
| 07-05012 | Bayern | Huhn | | 38 | AMP,STR,SXT,TMP,SPE,SMX |
| 07-05037 | Niedersachsen | Huhn | | 38 | sensibel |
| 00-01312 | USA | Schwein | | 39 | GEN,NOR,OTE,SMZ,STR |
| 00-01752 | England | human | | 39 | sensibel |
| 04-07958 | Niedersachsen | human | | 39 | SMZ |
| 05-01075 | Sachsen-Anhalt | human | 19 | 39 | sensibel |
| 05-01383 | Nordrhein-Westfalen | human | | 39 | SMZ |
| 05-07690 | Mecklenburg-Vorp. | Rinderroulade | 19 | 39 | SMZ |
| 99-01869 | Nordrhein-Westfalen | Schwein | 19 | 39 | SMZ |
| 08-00799 | England | Rote Rebhühner | | 40 | AMP,MEZ,MSU,SMZ,STR,SXT |
| 08-00800 | England | Rote Rebhühner | | 40 | AMP,MEZ,MSU,SMZ,STR |
| 06-08826 | Australien | Hund | | 41 | sensibel |
| 06-08837 | Australien | Futtermittel | | 41 | SMZ |
| 06-08838 | Australien | Futtermittel | | 41 | sensibel |
| 05-02801 | Thüringen | human | 26 | 42 | SMZ,STR |
| 07-05057 | unbekannt | Fischmehl | | 42 | sensibel |
| 07-08384-29 | Sachsen-Anhalt | Klärschlamm | | 43 | sensibel |
| 74-00060 | Berlin | Klärschlamm | | 43 | nicht getestet |
| 74-00470 | unbekannt | human | | 43 | nicht getestet |

Anhang

| RKI-Nr. | Bundesland bzw. Ausland | Herkunft | XbaI-Typ | LT | Resistenz |
|----------------|--------------------------------|------------------|-----------------|-----------|---------------------------------|
| 74-01950 | unbekannt | human | | 43 | nicht getestet |
| 74-02157 | Baden-Württemberg | human | | 43 | nicht getestet |
| 74-02176 | Nordrhein-Westfalen | human | | 43 | nicht getestet |
| 74-02177 | Nordrhein-Westfalen | human | | 43 | nicht getestet |
| 75-00558 | unbekannt | human | | 43 | nicht getestet |
| 75-00631 | Berlin | Klärschlamm | | 43 | nicht getestet |
| 99-06260 | Tunesien | human | | 43 | sensibel |
| 07-07329 | Schleswig-Holstein | human | | 44 | SMZ,STR |
| 07-05005 | Baden-Württemberg | Eier | | 45 | sensibel |
| 06-02157 | Ungarn | Masthähnchen | 7a | 46 | SMZ,STR |
| 08-00417 | Niedersachsen | Impfstamm | | 47 | sensibel |
| 08-05560 | Niedersachsen | human | | 48 | sensibel |
| 06-08843 | Australien | Geflügel | | 49 | SMZ |
| 97-04211 | Hessen | human | | 50 | KAN,OTE,STR |
| 74-00923 | Nordrhein-Westfalen | human | | 51 | nicht getestet |
| 09-00984 | Island | human | | 51 | sensibel |
| 06-00857 | Sachsen-Anhalt | human | 3 | 52 | AMP,MEZ,MSU,OTE,SMZ,STR |
| 06-01535 | Sachsen-Anhalt | human | 3 | 52 | AMP,MEZ,MSU,OTE,SMZ,STR |
| 08-07291 | Nordrhein-Westfalen | human | | 52 | sensibel |
| 00-09256 | Bayern | Futtermittel | 6 | 53 | SMZ |
| 04-03350 | Bayern | human, A | 6 | 53 | SMZ |
| 04-03351 | Bayern | human | 6 | 53 | SMZ |
| 04-03355 | Bayern | human, A | 6 | 53 | SMZ |
| 04-04039 | Bayern | human, A | 6 | 53 | SMZ |
| 04-04040 | Bayern | human, A | | 53 | SMZ |
| 04-04109 | Bayern | human, A | | 53 | SMZ |
| 04-04662 | Bayern | human, A | | 53 | SMZ |
| 04-05333 | Bayern | human, A | | 53 | SMZ |
| 04-05334 | Bayern | human, A | | 53 | SMZ |
| 04-05339 | Bayern | Himbeerkuchen, A | 6 | 53 | SMZ |
| 04-05341 | Bayern | human, A | | 53 | SMZ |
| 04-08398 | Bayern | human, A | 6 | 53 | SMZ,STR |
| 04-08399 | Bayern | human, A | 6 | 53 | SMZ,STR,SXT |
| 04-08559 | Bayern | human, A | | 53 | SMZ |
| 06-01099 | Bayern | Kirschtorte | 6 | 53 | SMZ |
| 06-01100 | Bayern | human | 6 | 53 | SMZ |
| 07-05004 | Rheinland-Pfalz | LM | 6 | 53 | sensibel |
| 09-00525 | Ungarn | sonstiges | | 54 | SMZ |
| 09-00968 | Island | Schwein | | 55 | sensibel |
| 09-00530 | Ungarn | sonstiges | | 56 | SMZ,STR |
| 09-00529 | Ungarn | human | | 57 | AMP,CMP,KAN,MEZ,OTE,SMZ,STR,SXT |
| 09-00536 | Ungarn | Masthähnchen | | 58 | sensibel |
| 09-00526 | Ungarn | human | | 59 | sensibel |
| 09-00531 | Ungarn | human | | 60 | NAL,OTE,SMZ,STR |
| 09-00981 | Island | Schwein | | 61 | sensibel |
| 09-00975 | Island | Masthähnchen | | 61 | sensibel |
| 09-00974 | Island | Schwein | | 61 | sensibel |
| 09-00973 | Island | Masthähnchen | | 61 | sensibel |
| 09-00972 | Island | Ente | | 61 | sensibel |
| 09-00971 | Island | Ente | | 61 | sensibel |
| 09-00970 | Island | Ente | | 61 | sensibel |
| 09-00969 | Island | Masthähnchen | | 61 | sensibel |

Anhang

| RKI-Nr. | Bundesland bzw. Ausland | Herkunft | XbaI-Typ | LT | Resistenz |
|----------------|--------------------------------|-----------------|-----------------|-----------|---------------------------------|
| 09-00967 | Island | Ente | | 61 | sensibel |
| 09-00966 | Island | Masthähnchen | | 61 | sensibel |
| 09-00965 | Island | Masthähnchen | | 61 | sensibel |
| 09-00964 | Island | Masthähnchen | | 61 | sensibel |
| 09-00963 | Island | Masthähnchen | | 61 | sensibel |
| 09-00962 | Island | Masthähnchen | | 61 | sensibel |
| 09-00961 | Island | Masthähnchen | | 61 | AMP,MEZ |
| 09-00960 | Island | Masthähnchen | | 61 | sensibel |
| 09-00959 | Island | Masthähnchen | | 61 | sensibel |
| 09-00958 | Island | Masthähnchen | | 61 | sensibel |
| 09-00957 | Island | Masthähnchen | | 61 | sensibel |
| 09-00955 | Island | Masthähnchen | | 61 | sensibel |
| 09-00956 | Island | Masthähnchen | | 61 | sensibel |
| 09-00954 | Island | Masthähnchen | | 61 | sensibel |
| 02-01782 | Arabische Emirate | Geflügel | | ut | NAL,OTE,SMZ |
| 02-03439 | Senegal | unbekannte | | ut | SMZ |
| 03-00766 | Niedersachsen | human | | ut | SMZ |
| 04-04469 | Arabische Emirate | Vögel, Organe | 5 | ut | SMZ |
| 04-08268 | Baden-Württemberg | human | | ut | SMZ |
| 04-08269 | Baden-Württemberg | Legehennen, Kot | 16 | ut | SMZ |
| 04-08269 | Baden-Württemberg | Legehennen, Kot | | ut | SMZ |
| 04-08276 | Baden-Württemberg | Legehennen | | ut | SMZ |
| 04-08276 | Baden-Württemberg | Legehennen | | ut | SMZ |
| 04-08278 | Baden-Württemberg | Legehennen | 16var | ut | SMZ |
| 04-08278 | Baden-Württemberg | Legehennen | | ut | SMZ |
| 04-08279 | Baden-Württemberg | Legehennen | 16 | ut | SMZ |
| 04-08279 | Baden-Württemberg | Legehennen | | ut | SMZ |
| 04-08282 | Baden-Württemberg | human, A | | ut | SMZ |
| 04-08283 | Baden-Württemberg | human, A | | ut | sensibel |
| 04-08296 | Baden-Württemberg | Legehennen, Kot | 16 | ut | SMZ |
| 05-02591 | Thüringen | human | 26 | ut | SMZ |
| 05-06502-1 | Nordrhein-Westfalen | human | 17 | ut | SMZ |
| 06-08852 | Australien | Schwein | | ut | CMP,COX,NAL,OTE,SMZ,STR |
| 07-04992 | Hessen | Gülle | 43 | ut | SMZ |
| 96-03887 | Hessen | human | | ut | AMP,MEZ,MSU,OTE,SMZ, SXT,STR |
| 97-02744 | Nordrhein-Westfalen | human | | ut | sensibel |
| 99-07982 | Mecklenburg-Vorp. | human | 23 | ut | SMZ |

Tabelle 18: Lysotypieschema des Serovars *S. Infantis*

| RKI-Nr. | LT | Phagen | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|----|--------------|----------|----------------|----------|-------|---------------|------------|------------|---------------|------------------|----------|----------|---------------|------------|----------|---------------|------------|------------|
| | | 99 | 22 | 10 | 69 | 36 | 110/2 | 119 | 13 | 52 | 28 | 48/2 | 110/1 | 29 | 46 | 84/2 | 84/1 | 48/1 | |
| 73-01882 | 1 | ol | ol | ol | ol | ol | ol | ol | +++sc | +++n | ol | ol | ol | ol | ol | ol | ol | ol | ol |
| 75-00534 | 2 | +n+++s+m | <scl | scl | +++nc | +++n | 3s3n | ol | +++sc | +++n | +n+s | ol | +++s+n | ol | ol | ol | ol | ol | +++s+n |
| 07-05001 | 3 | <scl | +++s+m | +++s | - | <scl | scl | +++s+m | +++s+m | <scl | scl | +++sc | scl | scl | scl | <scl | <scl | <scl | scl |
| 08-01609 | 4 | +++s +++m | +s, +m | - | +++s | +++mc | +++mc | <scl | +++s, +m | +++s +++m | +++n, +s +++m | +++n, +s | +++s, +n | +++m, +++s | +++s, +++n | +n, +s | +++n, +++s | +++n, +++s | +++s |
| 06-08809 | 5 | <cl | ol | +hc | 1s | - | ol | +h, +n | +hc | ol | ol | - | ol | ol | H | - | 1l, 1n | scl | scl |
| 06-08841 | 6 | +++m, ++sc | +++m, +s | +++nc, +s | - | - | ol | - | +++s, +++n | <scl | +++sc | +++sc | +++s | scl | +++sc | scl | scl | scl | +++s |
| 06-00045 | 7 | ol | +++s+++n | +++m, +++nc | - | - | ol | - | - | <scl | scl | - | ol | ol | +s+++m | <scl | +++m, +++s | +++s+n | +++s+n |
| 06-00585 | 8 | <scl | scl | - | - | - | <scl | - | +l | scl | ol | - | <scl | ol | - | - | - | - | +++n |
| 04-03316 | 9 | - | ol | scl | <scl | ol | ol | scl | ol | ol | ol | ol | ol | ol | scl | ol | ol | ol | ol |
| 07-07996 | 10 | - | <scl | +H | scl | ol | ol | ol | - | +n | +m, +n | +++n | ol | ol | ol | ol | ol | ol | ol |
| 04-03156 | 11 | - | ol | +H | scl | ol | ol | scl | - | ol | +n | +++nc | ol | +++nc+s | - | ol | ol | ol | scl |
| 07-02668 | 12 | - | <scl | +n, +++s | +++s, +m | +++sc | - | +++s, +n | +++s, +n | +++s, +++n | +++m, +++s | scl | <scl | ol | scl | scl | scl | scl | scl |
| 01-09038 | 13 | - | <scl | +n | - | - | ol | +++n | +s | <scl | scl | - | ol | ol | - | - | - | +++s, +++n | +++s, +++n |
| 04-04045 | 14 | - | +++s | +s+m | - | - | <scl | +++m | - | +m | +++m+s | +++s+++m | <scl | +++s | +++m | +++mc | +++m | +++m | +++m |
| 99-05309 | 15 | - | +++m | - | +++n | ol | <scl | +++nc | +++n, +++s | - | <scl | scl | ol | <scl | scl | ol | ol | ol | ol |
| 02-03440 | 16 | - | +++s | - | <scl | ol | - | <scl | +++nc | <scl | scl | scl | scl | ol | scl | scl | ol | ol | ol |
| 06-08812 | 17 | - | +++s | - | - | - | +++s, +++m | - | +++n | +++s | <scl | <scl | 4n, +s | <scl | +++nc | <scl | +++s | +++s, +n | +++s, +n |
| 96-01096 | 18 | - | <scl | - | - | - | ol | - | +n | <scl | <scl | - | ol | scl | +++n | - | +++nc | +++nc | +++nc |
| 00-04802 | 19 | - | - | +++s+m | ol | ol | ol | ol | scl | scl | <scl | scl | ol | scl | ol | ol | ol | ol | ol |
| 04-08397 | 20 | - | - | +++s | - | +++m | - | +++n, +++s | - | - | +++s, +++m | - | - | +++s | - | +++m, +s | +++m | - | - |
| 08-0080 | 21 | - | - | scl | - | - | ol | - | - | +++s | scl | +s, +m | ol | scl | +++nc | ol | +n | +n | scl |

| RKI-Nr. | LT | Phagen | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|----|--------|----|--------------|----------|---------|-------|-----------|----------|--------------|----------|----------|---------|-----------|------------|-----------|----------|--------|
| | | 99 | 22 | 10 | 69 | 36 | 110/2 | 119 | 13 | 52 | 28 | 48/2 | 110/1 | 29 | 46 | 84/2 | 84/1 | 48/1 |
| 99-05640 | 22 | - | - | ++n, ++m | - | - | ol | - | ++m | ++s, ++m | ++m | - | ol | +++m | ++m | ol | ++m | +s, +m |
| 74-01662 | 23 | - | +m | +n | - | - | - | +++s | - | ++m, +s | - | <scl | ++s, +m | +++s | +++s, ++lc | scl | ++m, +s | |
| 05-03310 | 24 | - | - | +++n | - | - | - | - | - | <scl | - | scl | - | ++s, ++m | scl | ol | ++s, ++m | |
| 06-03256 | 25 | - | - | ++n, +l, ++s | - | - | - | - | - | ++s, ++n | ++s, ++n | - | - | ++s, ++n | - | ol | ++m, ++s | |
| 06-03223 | 26 | - | - | ++n | - | - | - | - | - | - | ++n, +s | - | <scl | ol | ol | ol | - | |
| 07-05486 | 27 | - | - | - | scl | <scl | ++m | ++n++s | <scl | ol | ++n+s | ++s+sc | ++s+mm | - | ol | ol | scl | |
| 07-05862 | 28 | - | - | - | ++s | scl | <scl | <scl | ++s, +m | - | - | +m | scl | +s | ++s | <scl | <scl | |
| 07-07813 | 29 | - | - | - | <scl | ol | +++mc | scl | +++s++nc | - | +n, +m | scl | scl | - | scl | ol | ol | |
| 74-01065 | 30 | - | - | - | <scl | ol | - | ol | scl | ol | - | ol | <scl | - | <scl | ol | scl | |
| 98-03591 | 31 | - | - | - | ++s, +m | ++s, +m | - | scl | <scl | (scl) | +n, +m | scl | - | - | scl | ol | +s | |
| 06-08836 | 32 | - | - | - | ++s, ++m | ol | +m | +++s, ++m | - | - | - | +s | ++s, +m | - | ++m, ++s | ++m, +s | ++s | |
| 04-08275 | 33 | - | - | - | +n | - | - | ++nc, ++s | +++n | ++m, ++s, 4n | +++nc | ++s, ++n | +n | - | scl | ++s, ++nc | +++nc | |
| 08-03859 | 34 | - | - | - | - | +++m | <scl | - | - | - | - | ++m | ++m | +++n, +s | +++s | ++s, ++m | ++s, ++m | |
| 07-05027 | 35 | - | - | - | - | +++m | - | ++m | scl | - | 5n | <scl | ++m | - | <scl | ol | ol | |
| 01-04952 | 36 | - | - | - | - | +++sc | - | +++m | scl | - | - | - | +++m | ++m | - | +s | ++s, ++m | |
| 04-08067 | 37 | - | - | - | - | +++sc | - | +m, +s | - | - | - | +s, +m | ++m | - | ++s, +m | ++m | ++s, ++m | |
| 03-04900 | 38 | - | - | - | - | +m | - | - | +m | +m | - | ol | ++m | +++m, ++n | ol | ol | +m | |
| 05-01075 | 39 | - | - | - | - | - | ol | - | - | - | ++m | - | <scl | <scl | <scl | - | +++s | |

| RKI-Nr. | LT | Phagen | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|----|--------|------|---------|------------|----------|---------|------------|-----------|------------|-----------|---------|-----------|-----------|-----------|----------|------------------|----------|
| | | 99 | 22 | 10 | 69 | 36 | 110/2 | 119 | 13 | 52 | 28 | 48/2 | 110/1 | 29 | 46 | 84/2 | 84/1 | 48/1 |
| 08-00799 | 40 | - | - | - | - | - | ol | - | - | - | - | scl | <scl | - | - | - | - | - |
| 06-08826 | 41 | - | - | - | - | - | +s, ++m | - | 3s | +s, ++m | - | - | +s, +m | - | - | - | - | - |
| 05-02801 | 42 | - | - | - | - | - | +++mc | - | - | - | - | +++m | - | - | 4n | - | ++n | ++s |
| 74-00470 | 43 | - | - | - | - | - | - | +m, +s | ol | - | +s | - | +m, +s | - | - | ++s | ++n, +m +++sc | ++s, +m |
| 07-07329 | 44 | - | - | - | - | - | - | +s | - | +s, ++m | +s, ++m | ++s, +n | - | - | +++n | - | - | - |
| 07-05016 | 45 | - | - | - | - | - | - | - | scl | ++s, ++m | ++s | - | ol | scl | - | - | - | ol |
| 06-02157 | 46 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | +++s | - | - | ++s | +s, +m | ++n, +s | ++n | ++n |
| 08-00417 | 47 | - | - | - | - | - | - | - | +++nc | - | <scl | - | <scl | ++m, +s | ++s | ++s, +n | ++s, +n | ++s |
| 08-05560 | 48 | - | - | - | - | - | - | - | ++n, +s | - | <scl | - | - | - | ++s, ++m | ++s, ++m | ++s, ++m | - |
| 06-08843 | 49 | - | - | - | - | - | - | - | - | +s, +n, +m | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 97-04211 | 50 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | ol | - | - | - | - | - | ++n, +m | - |
| 74-00923 | 51 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | +s | - | - | - | ol | - | - | - |
| 06-01535 | 52 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | ++s | - | - | - | - |
| 04-03351 | 53 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | +++sc | ++m, +s | - | - |
| 09-00525 | 54 | <cl | scl | +++l | - | - | ++s | <scl | scl | scl | scl | scl | ol | scl | scl | - | - | scl |
| 09-00968 | 55 | +++s | +++m | +m | +++m | +++sc | ol | ++n, +++s | ++s, 4n | ++n, +s | +s, +m | +++s | ++s | ++n, ++s | +++s | +++s | +++s | +++s |
| 09-00530 | 56 | - | - | ++n | - | - | - | - | ++n | - | +n, +s | - | ++s, ++n | scl | scl | scl | - | - |
| 09-00529 | 57 | - | - | ++n, +s | +++s, +m | +++s, +m | - | +++s, +++n | ol | +s | ++n, ++s | - | - | ++s, ++n | ++n, ++s | ++n, ++s | ++n, ++s | ++n, ++s |
| 09-00536 | 58 | - | - | <scl | - | - | - | - | ++n, +++s | - | +++s, ++m | - | +++s, ++m | +++s, ++m | scl | scl | scl | +++s, +n |
| 09-00526 | 59 | - | - | scl | - | - | - | - | ++n | - | ++n | - | ++n, +s | ++n, +s | ++n, +++s | - | - | +++s, +m |
| 09-00531 | 60 | - | - | - | +++n, +++s | ol | <scl | scl | scl | ++n | +++n | +++n | ++n, +s | ++n, ++s | scl | scl | scl | scl |
| 09-00955 | 61 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | +++s, +n | - |

Danksagung

Zunächst möchte ich mich ausdrücklich bei Herrn Dr. Wolfgang Rabsch für die Überlassung des Themas der Doktorarbeit, im Besonderen für die Unterstützung, das Vertrauen und die Inspiration bedanken, ohne die die Bearbeitung des Themas nicht möglich gewesen wäre.

Bei Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. Karsten Fehlhaber möchte ich mich ebenfalls ausdrücklich bedanken, dass ich die Möglichkeit bekam, die Arbeit außerhalb der Universität Leipzig anzufertigen und er die Beurteilung der Arbeit als Erstgutachter übernahm.

Frau PD Dr. Peggy Braun für die freundliche Unterstützung, ihren allzeit gewährten fachlichen Rat und vor allem für das Korrekturlesen meiner Dissertationsschrift.

Ganz großer Dank gilt Frau Erika Kleindienst, Frau Dorothea Eitze, Frau Heidemarie Gattermann, Frau Susanne Kulbe, Frau Vera Trute, Frau Dagmar Busse, Frau Maria Stöckel, Frau Gerlinde Bartel, Frau Bettina Leiste, Frau Liesel Klingenberger, Frau Marita Wahnfried und Frau Heide Oberländer für die nette Aufnahme im Robert Koch-Institut, Bereich Wernigerode. Ohne die praktische Hilfe im Labor sowie die Weitergabe des speziellen Fachwissens jedes Einzelnen wäre die Arbeit nicht so gut gelungen.

Bei Frau Dr. Rita Prager, Herrn PD Dr. Erhard Tietze, Herrn Professor Dr. Helmut Tschäpe, Herrn PD Dr. Gottfried Wilharm, Frau Dr. Yvonne Pfeifer, Herrn Dr. Markus Antwerpen, Frau Dr. Birgit Strommenger, Herrn Dr. Guido Werner, Frau Dr. Christina Lang, Frau Angela Danschke, Herrn Henning Zaiß, Frau Laverde Gomez Jenny, Frau Janina Dordel und allen ungenannten Mitarbeiter des Robert Koch-Institutes, Bereich Wernigerode, danke ich für ihre Unterstützung und das herzliche Arbeitsklima.

Meinen Eltern, Ludmila und Viktor Miller, danke ich für ihre ebenfalls strapazierte Geduld, ihr volles Vertrauen.

Zuletzt gilt mein herzlichster Dank Andrej Miller, der zu jeder möglichen und unmöglichen Zeit ein offenes Ohr für mich und meine Sorgen und Nöte hatte.

Diese Promotion wurde mit Unterstützung der Begabtenförderung der Konrad Adenauer-Stiftung und dem Bundesministerium für Bildung und Forschung erstellt.