

Vorkommen von *Clostridioides difficile* in Lebensmitteln

Untersuchungen des BfR

17.11.2023, Berlin

Dr. Anissa Scholtzek

FG 44: Bakterielle Toxine, Gemeinschaftsverpflegung

Abt. 4: Biologische Sicherheit

Agenda

Einleitung *Clostridioides difficile*

C. difficile in pflanzlichen Lebensmitteln

C. difficile in tierischen Lebensmitteln

Fazit

Clostridioides difficile

Erreger

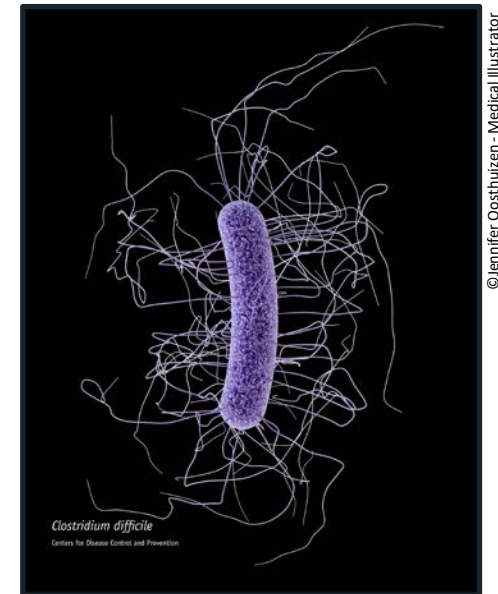
Obligat anaerob, Sporenbildner

Ubiquitäres Vorkommen (Erde, Wasser, Magen-Darm-Trakt von Menschen und Tieren)

Vorkommen: Kleinkinder $\geq 80\%$; Adulte $\leq 5\%$

Verursacht Großteil nosokomialer Durchfälle

- Toxin-produzierende Stämme (Toxin A, Toxin B und/oder binäres Toxin)
- Antibiotika-assoziierte Durchfälle
- Pseudomembranöse Kolitis
- Toxisches Megakolon



Clostridioides difficile

Infektion (CDI)

Nach CDI häufig Rückfälle

Meldepflicht schwerer Verläufe (bundesweit)

In Sachsen zusätzlich Meldung aller Durchfallerkrankungen mit Beteiligung von *C. difficile*

Risikofaktoren

Hohes Alter (> 65 Jahre)

Antibiotika-Einnahme

Krankenhausaufenthalte

Community-assoziiert

Junge Menschen

Keine Antibiotika-Therapie

Keine Krankenhausaufenthalte

Clostridioides difficile

Bedeutung im Lebensmittel

Quelle für Kolonisierung/Infektion?

Auftreten von Symptomen erst bei **Störung des Darmmikrobioms**

- Möglicherweise **große Zeitabstände** zwischen Kolonisierung und Infektion

Fragestellung

Potenziell pathogene (toxinbildende) *C. difficile* auf Lebensmitteln?

- Untersuchung pflanzlicher und tierischer Lebensmittel

Clostridioides difficile

Nachweismethoden

Screening via RT-PCR auf Speziesmarker-Gen *tpi*



Gewinnung der Isolate:

Homogenisierte Teilproben oder Oberflächentupfer (Erdbeeren, Kartoffeln)

- Anreicherung 2-3 Tage
- Ausstrich auf **Selektivmedium**
- Subkultivierung auf Blutagar
- Speziesbestätigung (MALDI-TOF)
- Charakterisierung der gewonnenen Isolate (Ribotypisierung, Toxingen-RT-PCR, AB-Resistenz)
- Gesamtgenomsequenzierung und Verwandtschaftsanalyse

Inkubation immer unter anaeroben Bedingungen!

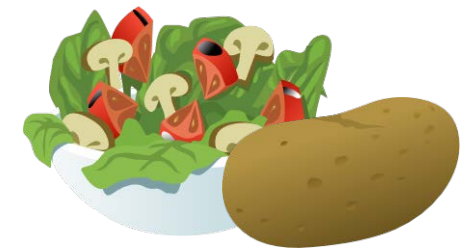
Clostridioides difficile bei Salat und Kartoffeln

Nachweis von *C. difficile* in 8/393 Salatproben (2 %) aus Supermärkten

→ 7/8 vorgewaschen und verzehrfertig in luftdichten Beuteln

→ 1/8 ungewaschen in luftdichtem Beutel

Nachweis von *C. difficile* in 8/30 Kartoffelproben (26,7 %) aus Supermärkten, privatem Anbau, von Wochenmärkten und Direktvermarktern



Clostridioides difficile bei Salat und Kartoffeln



Isolate aus Salat (n = 8)

Ribotyp	Anzahl Isolate	Toxin A	Toxin B	AB-Resistenz
002/2	1	+	+	-
010	2	-	-	-
014	2	+	+	-
085	1	-	-	CLI, ERY, MOX, TET
500	2	+	+	-

CLI = Clindamycin, ERY = Erythromycin, MOX = Moxifloxacin, TET = Tetrazyklin

Clostridioides difficile bei Salat und Kartoffeln



Isolate aus Salat (n = 8)

Ribotyp	Anzahl Isolate	Toxin A	Toxin B	AB-Resistenz
002/2*	1	+	+	-
010*	2	-	-	-
014*	2	+	+	-
085	1	-	-	CLI, ERY, MOX, TET
500	2	+	+	-

Potenziell humanpathogene Ribotypen

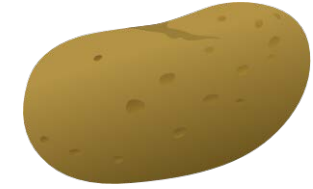
Kein Isolat mit Gen für binäres Toxin

Ein Isolat multiresistent

CLI = Clindamycin, ERY = Erythromycin, MOX = Moxifloxacin, TET = Tetrazyklin

* = in Menschen nachgewiesene und ggf. krankheitsassoziierte Ribotypen

Clostridioides difficile bei Salat und Kartoffeln

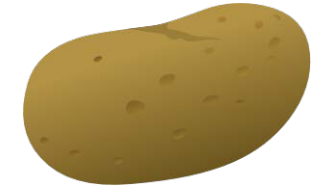


Isolate aus Kartoffeln (n = 8)

Ribotyp	Anzahl Isolate	Toxin A	Toxin B	Binäres Toxin	AB-Resistenz
005	1	+	+	-	-
010	1	-	-	-	CLI, ERY
014/0	1	+	+	-	-
023	1	+	+	+	-
078	1	+	+	+	-
neu	2	-	-	-	-
neu	1	+	+	-	-

CLI = Clindamycin, ERY = Erythromycin

Clostridioides difficile bei Salat und Kartoffeln



Isolate aus Kartoffeln (n = 8)

Ribotyp	Anzahl Isolate	Toxin A	Toxin B	Binäres Toxin	AB-Resistenz
005*	1	+	+	-	-
010*	1	-	-	-	CLI, ERY
014/0*	1	+	+	-	-
023*	1	+	+	+	-
078*	1	+	+	+	-
neu	2	-	-	-	-
neu	1	+	+	-	-

Potenziell humanpathogene Ribotypen

RT 023 und 078 mit schweren Verläufen assoziiert

CLI = Clindamycin, ERY = Erythromycin

* = in Menschen nachgewiesene und ggf. krankheitsassoziierte Ribotypen

Clostridioides difficile bei Erdbeeren

Fokus auf **Selbstpflück-Angebote** in Berlin und im Berliner Umland
25 Probenahme-Orte, je 2 Poolproben

Ergebnisse

Clostridium-spp. in 4 Proben

C. difficile in **einer** Probe

Nicht-toxinogener RT051



Clostridioides difficile bei Lebensmitteln auf Insektenbasis

Proben (n=71) von zum Verzehr bestimmten Insekten oder Produkten mit Insektenzutaten

Außerdem ein Skorpion und eine Spinne

Aus Supermärkten und dem europäischen Online-Handel

Grillen, Käferlarven, Grashüpfer, Ameisen, Schmetterlingslarven

Ergebnisse

In **keiner Probe** konnte *C. difficile* nachgewiesen werden



©katerinavulcova/pixabay

***Clostridioides difficile* bei Geflügelfleischprodukten mit Haut**

Insgesamt 364 Proben – frische Geflügelfleischprodukte (nicht tiefgefroren)

Aus Supermärkten in Berlin und Brandenburg

Pute (16 Proben ohne Haut)

Hähnchen (322 Proben mit Haut; 8 Proben ohne Haut)

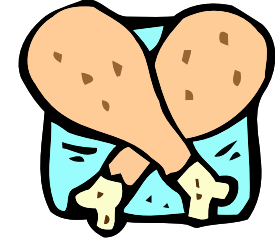
Ergebnisse

C. difficile nur in Proben **mit Haut** nachgewiesen (n = 54/322; 14,8 %)

Nachweis mit Screening via RT-PCR



Clostridioides difficile bei Geflügelfleischprodukten mit Haut

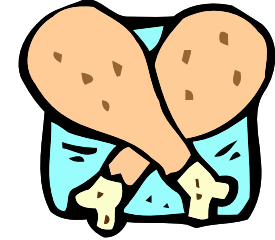


51 Isolate kultivierbar

Ribotyp	Anzahl Isolate	Toxin A	Toxin B	AB-Resistenz
002/2	10	+	+	-
001	9	+	+	-
005	5	+	+	-
014	5	+	+	-
neu	4	+	+	-
087	2	+	+	-
205	3	-	-	-
701	2	-	-	-
010	1	-	-	CLI, ERY
049, 020, 464, 503, 212, 220/1, 625, AI-29	je 1	+	+	-
578, 629	je 1	-	-	-

CLI = Clindamycin, ERY = Erythromycin

Clostridioides difficile bei Geflügelfleischprodukten mit Haut



51 Isolate kultivierbar

Ribotyp	Anzahl Isolate	Toxin A	Toxin B	AB-Resistenz
002/2*	10	+	+	-
001*	9	+	+	-
005*	5	+	+	-
014*	5	+	+	-
neu	4	+	+	-
087	2	+	+	-
205	3	-	-	-
701	2	-	-	-
010*	1	-	-	CLI, ERY
049, 020, 464, 503, 212, 220/1, 625, AI-29	je 1	+	+	-
578, 629	je 1	-	-	-

Potenziell humanpathogene Ribotypen

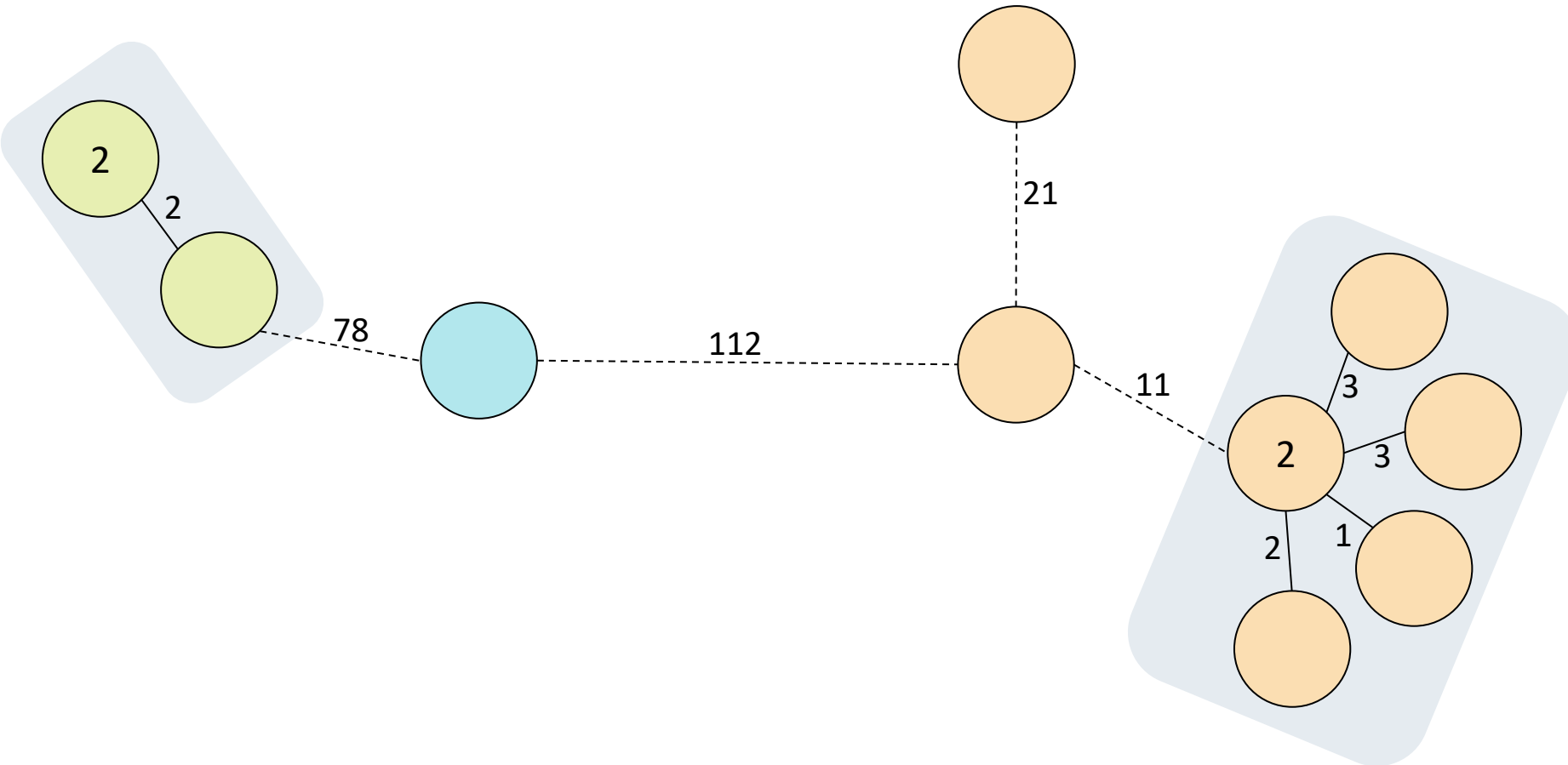
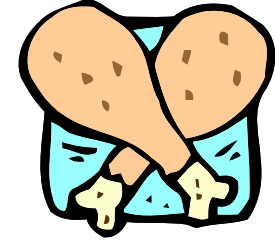
Kein Isolat mit Gen für binäres Toxin

CLI = Clindamycin, ERY = Erythromycin

* = in Menschen nachgewiesene und ggf. krankheitsassoziierte Ribotypen

Clostridioides difficile bei Geflügelfleischprodukten mit Haut

Verwandtschaftsanalyse: Beispiel RT 001

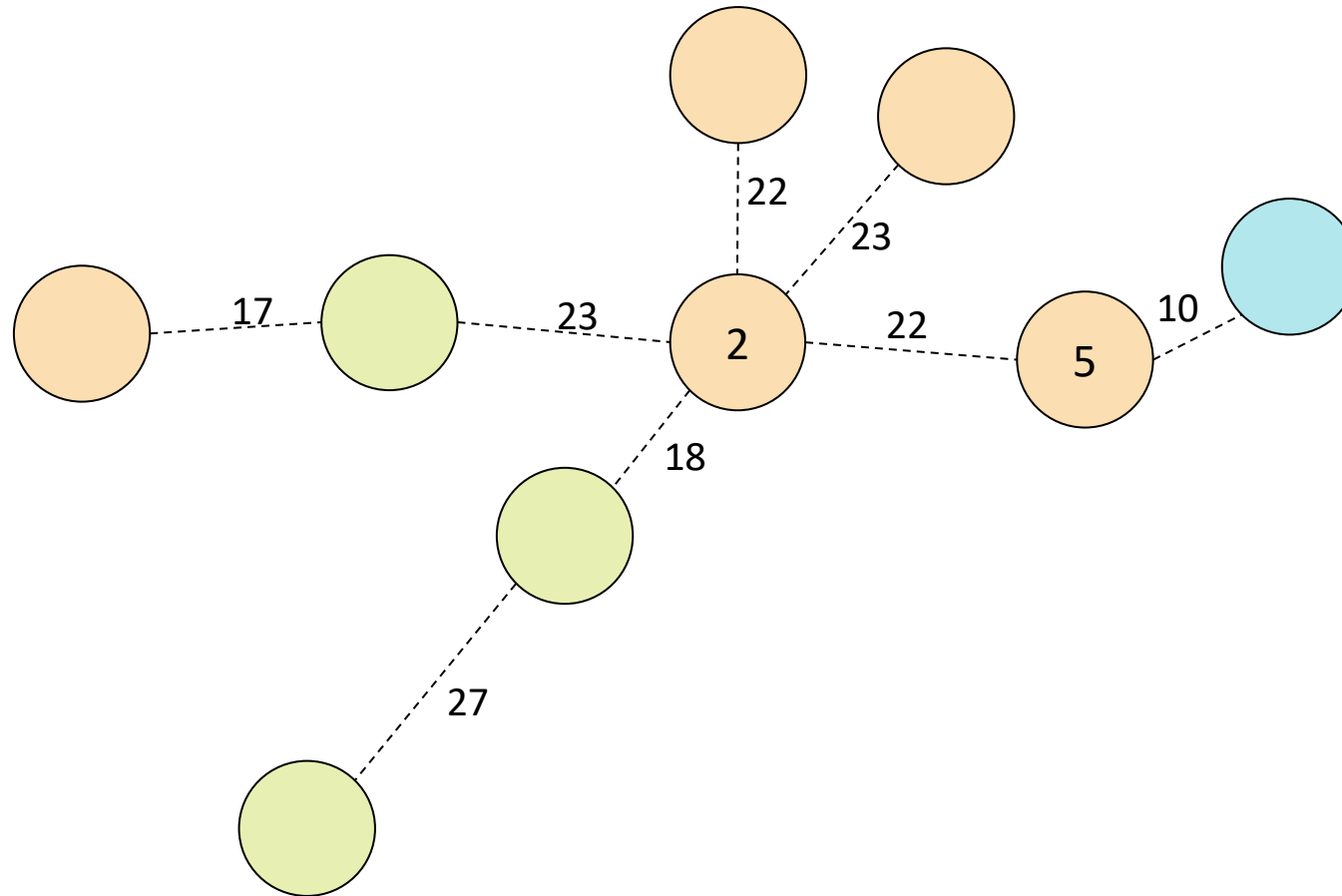


Legende

-  Geflügel
-  Schwein
-  Mensch

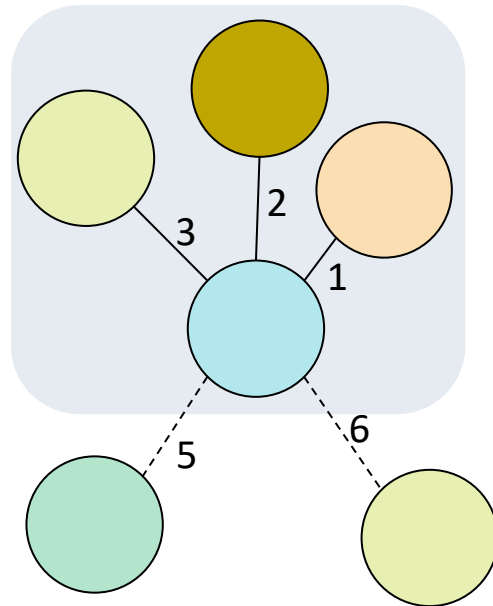
Clostridioides difficile bei Geflügelfleischprodukten mit Haut

Verwandtschaftsanalyse: Beispiel RT 002



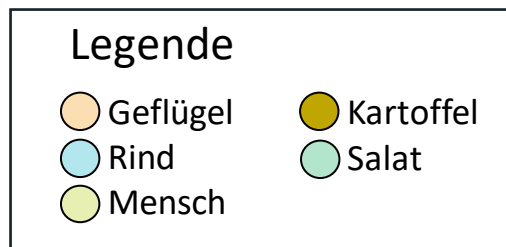
Clostridioides difficile bei Geflügelfleischprodukten mit Haut

Verwandtschaftsanalyse: Beispiel RT 010



Kein epidemiologischer Zusammenhang zwischen den Isolat

Nicht-toxinogene RT 010 sehr homogene Linie



Fazit

Potenziell humanpathogene *C. difficile* in pflanzlichen und tierischen Lebensmitteln

Antibiotikaresistenzen v.a. in nicht-toxinogenen Isolaten

Übertragung zwischen Mensch und Lebensmittel erscheint möglich

Zeitliche Zusammenhänge erschweren konkreten Beweis einer Übertragung

- Untersuchungen der genetischen Verwandtschaft können Hinweise liefern
- Homogenität verschiedener RT beachten

Danke

Mitarbeitende der FG 44

Sven Maurischat

Hendrik Frentzel

Pascal Witt

Ylanna Kelner-Burgos

Corinna Maneck

Janine Heise

Anna Maria Hanuschik

4NSZ (Nationales Studienzentrum
für Sequenzierungen in der
Risikobewertung)

Dr. Anissa Scholtzek

T +49 30 18412-24406

anissa.scholtzek@bfr.bund.de

sporenbildner@bfr.bund.de

Bundesinstitut für Risikobewertung

bfr.bund.de

BfR | Risiken erkennen –
Gesundheit schützen

Verbraucherschutz zum Mitnehmen

BfR2GO – das Wissenschaftsmagazin des BfR


bfr.bund.de/de/wissenschaftsmagazin_bfr2go.html

Folgen Sie uns

 @bfrde | @bfren | @Bf3R_centre

 @bfrde

 youtube.com/@bfr_bund

 social.bund.de/@bfr

 linkedin.com/company/bundesinstitut-f-r-risikobewertung