



**WETENSCHAPPELIJK COMITÉ
VAN HET FEDERAAL AGENTSCHAP VOOR DE VEILIGHEID
VAN DE VOEDSELKETEN**

ADVIES 18-2012

Betreft: Bijdrage van de voeding tot de overdracht van antibioticumresistentie naar de mens (dossier Sci Com 2007/08: eigen initiatief).

Advies goedgekeurd door het Wetenschappelijk Comité op 25 mei 2012.

Samenvatting

In dit advies wordt nagegaan op welke manier de voeding een rol kan spelen bij de overdracht van antibioticumresistentie naar de mens. Tevens wordt nagegaan welke aanbevelingen kunnen gemaakt worden met betrekking tot deze problematiek.

Antibioticumresistentie komt algemeen voor in bacteriën geïsoleerd uit mensen, dieren en levensmiddelen. Er zijn verschillende manieren waarop levensmiddelen kunnen besmet worden met antibioticumresistente bacteriën en/of genen. Een eerste weg is de aanwezigheid van antibioticumresistente bacteriën op de primaire voedingsproducten geselecteerd door het gebruik van antibiotica tijdens de landbouwproductie. Een tweede route is de mogelijke aanwezigheid van antibioticumresistentiegenen in bacteriën die intentioneel worden toegevoegd (starterculturen, probiotica, bioconserverende micro-organismen en bacteriofagen) tijdens de productie van levensmiddelen. Een derde route is via contaminatie met resistente bacteriën tijdens de voedselverwerking. Bij deze laatste contaminatieroute wordt ook de aandacht gevestigd op bacteriën die door het gebruik van biociden in de levensmiddelenbedrijven, naast de resistentie tegen deze biociden ook een kruisresistentie vertonen tegen antibiotica.

Primaire voedingsproducten kunnen zonder een voorafgaande verwerkings- of conserveringstechniek worden geconsumeerd en houden bijgevolg het grootste risico in voor de overdracht van antibioticumresistentie naar de mens, aangezien de eventueel aanwezige antibioticumresistente bacteriën niet afgedood worden. Vele voedingsproducten ondergaan een minimale verwerkings- of conserveringsbehandeling, waardoor een groot deel van de bacteriën wordt afgedood, maar waardoor een kleiner aantal subleetaal beschadigde of gestresseerde cellen kunnen ontstaan. Er zijn indicaties dat het stresseren van cellen de overdracht van antibioticumresistentiegenen naar andere bacteriën stimuleert. Heel wat voedingsprocessen worden toegepast om de bacteriën af te doden. Levensmiddelen die een dergelijke verwerking hebben ondergaan, houden aldus het kleinste risico op overdracht van antibioticumresistentie in.

Antibioticumresistente bacteriële pathogenen kunnen worden opgenomen door de consument en vormen een verhoogd risico voor de volksgezondheid omwille van verschillende redenen zoals beperking van het therapeutisch arsenaal bij behandeling van ziekten of het risico van therapiefalen, opflakking van resistente gastro-intestinale pathogenen en ten slotte een mogelijks grotere kans op een verhoogde virulentie (bijvoorbeeld door co-selectie van resistentie- en virulentie-eigenschappen).

Antibioticumresistentiegenen aanwezig in voedingsproducten, hetzij ingesloten in bacteriën en bacteriofagen, hetzij onder de vorm van DNA-fragmenten, kunnen een indirect risico vormen voor de volksgezondheid, aangezien ze de genenpool waaruit (pathogene) bacteriën antibioticumresistentiegenen kunnen opnemen en doorgeven aan (pathogene) bacteriën, vergroten.

Teneinde het risico van overdracht van antibioticumresistentie naar de mens via de voeding zo laag mogelijk te houden, bevat het advies ook een aantal aanbevelingen.

Summary

Advice 18-2012 of the Scientific Committee of the FASFC on the contribution of the food chain to the transfer of antibiotic resistance to humans

In this advice, the way in which food can play a role in the transmission of antibiotic resistance to humans is examined. Also, it is explored what recommendations can be made regarding this issue.

Antibiotic resistance is common in bacterial strains isolated from humans, animals and food. There are several ways in which food can be contaminated with antibiotic resistant bacteria and/or genes. A first way is the presence of antibiotic resistant bacteria on the primary food products selected by the use of antibiotics during the agricultural production. A second route is the possible presence of antibiotic resistance genes in bacteria that are intentionally added (starter cultures, probiotics, bioconserving microorganisms and bacteriophages) during the production of food. A third route is via contamination with resistant bacteria during food processing. In this latter route of contamination, the attention is also drawn to bacteria that show, by the use of biocides in the food industry, in addition to the resistance to this biocides, also a cross-resistance to antibiotics.

Primary food products can be consumed without a prior processing or preservation technique and therefore hold the greatest risk for transmission of antibiotic resistance to humans, as the eventually present antibiotic resistant bacteria are not killed. Many foodstuffs undergo a minimal processing or preservation treatment, whereby a large part of the bacteria are killed but a smaller number of sublethal damaged or stressed cells can be formed. There are indications that stressing cells stimulates the transfer of antibiotic resistance genes to other bacteria. Many food processes are used to kill bacteria. Foods that have undergone such processing contain as such the smallest risk of transmission of antibiotic resistance.

Antibiotic resistant bacterial pathogens can be absorbed by the consumer and constitute an increased risk to public health because of various reasons such as limitation of the therapeutic arsenal for treatment of diseases or the risk of treatment failure, flare of resistant gastrointestinal pathogens and finally a potentially greater chance of an increased virulence (for example by co-selection of resistance and virulence properties).

Antibiotic resistance genes that are present in food products, either enclosed in bacteria and bacteriophages, either in the form of DNA fragments, can form an indirect risk to public health, as they increase the gene pool from which (pathogenic) bacteria can pick up antibiotic resistance genes and transfer them to other (pathogenic) bacteria.

To keep the risk of transfer of antibiotic resistance to humans via food as low as possible, the advice also contains a number of recommendations.

Sleutelwoorden

Antibioticumresistentie-overdracht – voedselketen – beheersmaatregelen

1. Referentietermen

De werkzaamheden in het kader van het eigen initiatief dossier Sci Com 2007/08 hebben reeds aanleiding gegeven tot een eerste advies (29-2010) met betrekking tot de voedselgebonden overdracht van antibioticumresistentie van dieren naar de mens. De resultaten van de studie van de antibioticumresistentieprofielen en de faagtypes van *Salmonella* Typhimurium afkomstig van varkens en pluimvee, van varkens- en pluimveevlees en van de mens suggereerden dat zowel varkens- als pluimveevlees een belangrijke bron zijn van de overdracht van resistente *Salmonella* Typhimurium naar de mens en van de overdracht van antibioticumresistentiegenen. Dit advies heeft eveneens aanleiding gegeven tot een wetenschappelijke publicatie (Van Boxstael *et al.*, 2012).

In dit advies wordt nagegaan op welke manier de voeding een rol kan spelen bij de overdracht van antibioticumresistentie naar de mens. Tevens wordt nagegaan welke aanbevelingen kunnen gedaan worden met betrekking tot deze problematiek.

1.1. Vraagstelling

De studie van de bijdrage van de voeding tot de overdracht van antibioticumresistentie naar de mens wordt teruggebracht tot het beantwoorden van de volgende twee vragen:

- Op welke manier kan de voeding een rol spelen bij de overdracht van antibioticumresistentie naar de mens?
- Welke zijn de aandachtspunten en beheersmaatregelen om de bijdrage van de voeding tot de overdracht van antibioticumresistentie te reduceren (binnen het bevoegdheidsdomein van het FAVV)?

1.2. In scope

De overdracht van antibioticumresistentie via de voeding naar de mens.

1.3. Buiten scope

De overdracht van antibioticumresistentie via andere wegen dan de voeding (vb. via medische behandeling, via inhalatie van besmet stof of door direct contact met dieren, planten of levensmiddelen, ...) maakt geen deel uit van dit advies.

Overwegende de besprekingen tijdens de vergaderingen van de werkgroep van 18 januari 2012 en de plenaire zitting van 25 mei 2012;

geeft het Wetenschappelijk Comité het volgende advies:

2. Inleiding

De beschikbaarheid van antibiotica voor de behandeling van infectieziekten heeft de gezondheid en de levensverwachting van de mens en de gezondheid en het welzijn van dieren drastisch verbeterd. Het gebruik van antibiotica leidt echter tot de selectie van antibioticumresistentie bij bacteriën. Antibioticumresistentie is een wereldwijd probleem voor zowel de menselijke als de dierlijke gezondheid. De voedselketen kan functioneren als een vector voor de overdracht van antibioticumresistente bacteriën en genen naar de mens.

Verscheidene wetenschappelijke studies ondersteunen de hypothese van het verband tussen het gebruik van antibiotica in de primaire productiesector en antibioticumresistentie bij humane pathogenen met voeding als belangrijk middel van overdracht (Carattoli, 2008; Mayrhofer *et al.*, 2006; Silbergeld *et al.*, 2008; Srinivasan *et al.*, 2008; Stine *et al.*, 2007; Zirakzadeh & Patel, 2005). Het gebruik van antibiotica in de primaire landbouwproductie wordt beschouwd als de belangrijkste oorzaak van de selectie voor antibioticumresistentie bij bacteriën die vervolgens op levensmiddelen kunnen terechtkomen. Het grootste gebruik van antibiotica in de primaire landbouwproductie wordt vastgesteld in de dierlijke productie. Varkens- en pluimveevlees zijn bijvoorbeeld een belangrijke bron van de overdracht van antibioticumresistente stammen van *Salmonella* Typhimurium naar de mens (FAVV, 2010; 2011). In de plantaardige productiesector is het gebruik van antibiotica beperkt. Een voorbeeld was fructocin, een gewasbeschermingsmiddel op basis van streptomycine, dat erkend was (tot 25/12/2002) voor de bestrijding van bacterievuur (*Erwinia amylovora*) bij appelsaars en perelaars (FAVV, 2003).

Er zijn verschillende manieren waarop levensmiddelen kunnen besmet worden met antibioticumresistente bacteriën en/of genen. Antibioticumresistentie kan aanwezig zijn in de bacteriële flora van de bodem, van water en in het fecaal materiaal van mensen en dieren. Dierlijke producten kunnen o.a. antibioticumresistente bacteriën bevatten ten gevolge van fecale contaminatie tijdens het slachten. Plantaardige producten kunnen besmet worden met antibioticumresistente micro-organismen tijdens de primaire productie via irrigatie met gecontamineerd water. Dit water kan besmet zijn door feces van mensen en/of dieren alsook door lozing van rioolwater (Bergogne-Bérézin, 1997). Levensmiddelen kunnen ook besmet worden door een contaminatie vanuit de omgeving. Deze besmetting kan gebeuren na de voedselverwerkingstap en wordt dan postcontaminatie genoemd. Ten slotte kunnen levensmiddelen besmet worden door de intentionele toevoeging van micro-organismen zoals starterculturen, probiotica, bioconserverende micro-organismen en bacteriofagen in het geval deze antibioticumresistentiegenen zouden dragen.

Horizontale gentransfer tussen bacteriën gebeurt via drie verschillende mechanismen: conjugatie, transformatie en transductie (zie bijlage 1). Deze kunnen optreden in de bodem, in water, in het spijsverteringsstelsel van mensen en dieren en in levensmiddelen.

Conjugatie is de transfer van DNA tussen levende bacteriële cellen en vereist direct contact tussen donor- en recipiëntcel. Conjugatie gebeurt in vergelijking met transformatie en transductie met een hogere frequentie en naar het breedste spectrum aan bacteriële species.

Transductie gebeurt via vasthechten van een specifieke bacteriofaag aan een bacterie waarbij genetisch materiaal wordt overgedragen dat mogelijks bacterieel DNA van zijn vorige gastheer met eventueel antibioticumresistentiegenen bevat. Transductie treedt over het algemeen op tussen nauw verwante bacteriële stammen.

Bij transformatie worden naakte DNA-fragmenten vanuit de omgeving opgenomen in bacteriële cellen.

3. Bijdrage van de voeding tot de overdracht van antibioticumresistentie naar de mens

3.1. Prevalentie van antibioticumresistentie in bacteriën

Antibioticumresistentie wordt vaak gevonden in bacteriële isolaten van mensen, dieren en voedsel (EFSA, 2009). Over het algemeen komen in isolaten van levensmiddelen dezelfde antibioticumresistentiegenen voor als in isolaten van mensen en dieren (FAVV, 2011).

De prevalentie van antibioticumresistentie varieert naargelang het type pathoog, het antibioticum en de geografische regio (ECDC, 2009 (a); EFSA, 2009). Wereldwijd stijgt de prevalentie van antibioticumresistentie in pathogenen (ECDC, 2009 (b)) en in indicatororganismen zoals *E. coli* (FAVV, 2011; Persoons *et al.*, 2010; Smet *et al.*, 2008).

3.2. Prevalentie van antibioticumresistentie in bacteriofagen

Over de prevalentie van antibioticumresistentiegenen in bacteriofagen is niet veel geweten. In een recente studie werden 30 monsters van bacteriofaag-DNA afkomstig van stedelijk afvalwater en rivierwater getest op de aanwezigheid van drie genen die resistentie tegen β -lactam-antibiotica verschaffen, namelijk twee β -lactamase-genen (*bla*TEM en *bla*CTX-M9) en één gen dat codeert voor een penicilline-bindend proteïne (*mecA*). In alle geteste monsters werden de drie genen teruggevonden. Deze studie geeft aan dat bacteriofagen reservoirs van antibioticumresistentiegenen zouden kunnen zijn in de omgeving (Colomer-Lluch *et al.*, 2011 (a)). In een andere studie werd de prevalentie van bacteriofagen met dezelfde genen als in de vorige studie in dierlijke omgevingen onderzocht. 71 monsters van bacteriofaag-DNA afkomstig van fecaal afval van varkens, pluimvee en vee werden getest en de genen werden in bijna alle monsters gedetecteerd. Deze studie geeft aan dat bacteriofagen zouden kunnen fungeren als omgevingsvectoren voor de horizontale transfer van antibioticumresistentiegenen (Colomer-Lluch *et al.*, 2011 (b)).

3.3. Invloed van micro-organismen die aan levensmiddelen worden toegevoegd op de aanwezigheid van antibioticumresistentie in levensmiddelen

Tijdens de productie van bepaalde levensmiddelen worden micro-organismen intentioneel toegevoegd om technische redenen. Afhankelijk van het beoogde doel, kunnen deze micro-organismen ingedeeld worden in vier groepen, namelijk starterculturen, probiotica, bioconserverende micro-organismen en bacteriofagen.

3.3.1. Aard van de micro-organismen die aan levensmiddelen worden toegevoegd

Starterculturen zijn microbiologische culturen die aan voeding worden toegevoegd om de fermentatie op te starten. Meestal worden melkzuurbacteriën aangewend (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* en *Pediococcus*). Sommige starterculturen kunnen eveneens probiotische eigenschappen bevatten of gebruikt worden voor bioconservering (zie verder). Starterculturen vinden hun toepassing vaak in gefermenteerde voeding en dranken zoals yoghurt, gefermenteerde worst en zuurkool.

Probiotica zijn levende micro-organismen die aan voeding worden toegevoegd omwille van de voordelige effecten die ze hebben op hun gastheerorganisme. De meest gebruikte micro-organismen met probiotische eigenschappen zijn melkzuurbacteriën en bifidobacteriën. Bepaalde gisten en bacillen worden eveneens gebruikt. Probiotica worden voornamelijk toegevoegd aan gefermenteerde voeding zoals yoghurt en supplementaire voeding. Ze worden eveneens gebruikt als voedingsupplement.

Bioconservering betekent het toevoegen van natuurlijke of gecontroleerde microbiota aan levensmiddelen om de houdbaarheid ervan te verlengen. Dergelijke bacteriën kunnen bederforganismen en pathogenen inhiberen of inactiveren, aangezien ze in competitie zijn voor nutriënten en/of antimicrobiële agentia produceren. Bovendien kunnen ze ook fermenterende of probiotische eigenschappen hebben. Melkzuurbacteriën kunnen gebruikt

worden voor de bioconservering van diverse levensmiddelen zoals gefermenteerde voeding en gekookte vleesproducten. Wegens de productie van zuren en bacteriocines hebben ze een antibacteriële werking tegen bederforganismen en pathogene bacteriën zoals *Listeria monocytogenes* (Hugas, 1998; Jacobsen *et al.*, 2003; Vermeiren *et al.*, 2004). Bepaalde melkzuurbacteriën van het genus *Enterococcus* hebben een inhiberend effect op de meest relevante bederfers in vis en schaaldieren en kunnen bijgevolg toegevoegd worden aan dergelijke levensmiddelen (Chahad *et al.*, 2012). De gist *Pichia anomala* kan toegevoegd worden aan plantaardige producten zoals graan, wegens zijn antifungaal effect, alsook zijn inhiberend effect tegen Gram-negatieve bacteriën waaronder *Enterobacteriaceae* (Olstorpe & Passoth, 2011; Schnürer & Jonsson, 2011; Sundh & Melin, 2010). *Lactococcus plantarum* en *Lactococcus pentosus* kunnen gebruikt worden voor de bioconservering van zeebaars wegens hun antagonistische activiteit tegen psychrotrofe, pathogene en coliforme bacteriën (El Bassi *et al.*, 2009).

Bacteriofagen worden beschouwd als natuurlijke vijanden van bacteriën en kunnen bijgevolg gebruikt worden om voedselgebonden pathogenen en bederforganismen te bestrijden. In de literatuur werd het gebruik van bacteriofagen beschreven voor het bestrijden van *Listeria monocytogenes* op zachte kaas (Carlton *et al.*, 2005) en op honingmeloen (Leverentz *et al.*, 2003; Leverentz *et al.*, 2004), en van *Campylobacter jejuni* (Atterbury *et al.*, 2003; Goode *et al.*, 2003) en *Salmonella* Enteritidis (Goode *et al.*, 2003) op kippenvel.

3.3.2. Antibioticumresistentie in micro-organismen die aan levensmiddelen worden toegevoegd

Een algemene bevinding van antibioticumresistentie in starterculturen is dat transfereerbare resistentiegenen zeldzaam zijn en dat resistentie tegen tetracycline het meest voorkomt (EFSA, 2008). Antibioticumresistentie wordt af en toe gedetecteerd in gefermenteerde voeding (Teuber *et al.*, 1999) en in probiotische stammen (Masco *et al.*, 2006). Onder de melkzuurbacteriën geïsoleerd uit levensmiddelen die spontaan gefermenteerd zijn, komt resistentie het meest voor bij *Enterococcus*. Het gaat hier meestal over resistentie tegen vancomycine, hoewel resistentie tegen tetracycline, erythromycine en chloramphenicol eveneens voorkomen (Teuber *et al.*, 1999). *Enterococcus*, *Lactococcus* en *Lactobacillus* met multiresistente plasmiden werden reeds geïsoleerd uit zuivelproducten (Gfeller *et al.*, 2003; Teuber *et al.*, 1999). Onder *Lactobacillus* geïsoleerd uit ambachtelijke kaas, werd een hoge incidentie aan resistentie tegen tetracycline en erythromycine gedetecteerd (Cataloluk & Gogebakan, 2004). Resistentie tegen tetracycline komt relatief vaak voor in melkzuurbacteriën geassocieerd met rauw vlees (Gevers *et al.*, 2003). Uit een onderzoek in Duitsland bleek dat 6 van de 473 onderzochte probiotische melkzuurbacteriën geïsoleerd uit humane en dierlijke isolaten, multiresistent waren tegen tetracycline en erythromycine (Klare *et al.*, 2007). In *Lactococcus* en *Streptococcus thermophilus* geïsoleerd uit zuivelproducten, werd een hoge incidentie aan resistentie tegen tetracycline en erythromycine gevonden (Wang *et al.*, 2006). Resistentie tegen tetracycline werd eveneens gedetecteerd in probiotische *Bifidobacteria*, met inbegrip van 7 *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*- en *Bifidobacterium bifidum*-stammen (Masco *et al.*, 2006). In een onderzoek in Noorwegen werden 189 isolaten van melkzuurbacteriën geanalyseerd op hun gevoeligheid tegen 14 antibiotica. Slechts één isolaat was resistent tegen één antibioticum. Het betrof een *Lactobacillus*-stam die resistent was tegen streptomycine (Katla *et al.*, 2001). In een onderzoek in Zwitserland werden 200 isolaten van starterculturen en probiotica geanalyseerd op hun resistentie tegen 20 antibiotica. Resistentie tegen tetracycline werd gevonden in 5 *Staphylococcus*-isolaten gebruikt als starterculturen in vlees en in *Bifidobacterium lactis* en *Lactobacillus reuteri*. In *Lactobacillus reuteri* werd resistentie tegen lincosamide gevonden (Kastner *et al.*, 2005). In een onderzoek in Duitsland werden 330 coagulase-negatieve staphylococci geassocieerd met voeding of gebruikt in starterculturen, getest op hun resistentie tegen 21 antibiotica. Antibioticumresistentie kwam vaak voor in stammen geïsoleerd uit kaas, worst en vlees. Opmerkelijk was dat alle staphylococci gevoelig waren voor de klinisch belangrijke antibiotica (Resch *et al.*, 2008).

3.3.3. Transfer van antibioticumresistentie van micro-organismen die aan levensmiddelen worden toegevoegd naar de mens

Na de consumptie van het levensmiddel komen de toegevoegde micro-organismen terecht in het spijsverteringsstelsel van de mens, waar de overdracht van genen tussen bacteriën kan plaatsvinden. Meestal gebeurt dit via het proces van conjugatie, hoewel ook transformatie en transductie theoretisch niet uitgesloten kunnen worden. Aangezien starterculturen, probiotica en bioconserverende micro-organismen vaak dezelfde bacteriële genera omvatten, gebeurt de overdracht van antibioticumresistentie via dezelfde mechanismen.

In vitro onderzoek toonde de overdracht van antibioticumresistentiegenen via conjugatie aan van melkzuurbacteriën naar Gram-positieve en Gram-negatieve bacteriën (Mathur & Singh, 2005), en tussen melkzuurbacteriën onderling (Toomey *et al.*, 2009), bijvoorbeeld van tetracyclineresistentiegenen van *Lactobacillus plantarum* naar *Lactococcus lactis* en *Enterococcus faecalis* (Toomey *et al.*, 2010), van erythromycineresistentiegenen van *L. fermentum* en *L. salivarius*, en van tetracyclineresistentiegenen van *L. plantarum* en *L. brevis* naar *E. faecalis* (Nawaz *et al.*, 2011), tussen *L. curvatus* en van *E. faecalis* naar *L. curvatus* (Vogel *et al.*, 1992), en van tetracycline- en erythromycineresistentiegenen tussen *E. faecalis* (Cocconcelli *et al.*, 2003).

Ook in levensmiddelen werd de overdracht van antibioticumresistentiegenen via conjugatie aangetoond, namelijk van tetracyclineresistentiegenen tussen melkzuurbacteriën in gefermenteerde melk (Toomey *et al.*, 2009), tussen *Lactobacillus curvatus* in gefermenteerde worst (Vogel *et al.*, 1992), en van tetracycline- en vancomycineresistentiegenen tussen *Enterococcus faecalis* tijdens fermentaties van worst en kaas (Cocconcelli *et al.*, 2003).

Bacteriofagen zijn gastheerspecifiek en men neemt aan dat transductie door fagen enkel plaatsvindt tussen nauw verwante stammen meestal van éénzelfde species. Echter, de transductie door fagen van een pathogeniciteitseiland tussen *Staphylococcus aureus* en *Listeria monocytogenes* werd reeds aangetoond (Chen & Novick, 2009). Tot op heden werd de transfer van antibioticumresistentie via transductie in *in vitro* studies slechts zelden gerapporteerd. In de literatuur werd de transfer van genen die coderen voor de multidrug effluxproteïnen *qacA* en *qacB* in methicilline-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA)-stammen door transductie beschreven (Nakaminami *et al.*, 2007). Overdracht van antibioticumresistentie via transductie in voeding werd tot op heden niet gerapporteerd.

3.3.4. Risico op transfer van antibioticumresistentie via micro-organismen die aan levensmiddelen worden toegevoegd

De meeste micro-organismen koloniseren de darm slechts kortstondig. Probiotica hebben echter de capaciteit om zich vast te hechten aan de epitheelcellen van de darm. Deze capaciteit kan sterk verschillen naargelang de stam. Bijgevolg kunnen probiotica het spijsverteringsstelsel gedurende een langere periode koloniseren, waardoor er meer kans is op overdracht van antibioticumresistentiegenen in vergelijking met kortstondig koloniserende stammen. Bovendien worden levensmiddelen met probiotica vaak gedurende lange periodes ingenomen.

Micro-organismen die in hoge aantallen aanwezig zijn in een levensmiddel of in de darm van de mens, hebben een grotere kans op overdracht van antibioticumresistentiegenen in vergelijking met micro-organismen die in kleinere aantallen aanwezig zijn. Dit is het geval voor probiotica en bioconserverende micro-organismen wanneer deze in grote aantallen aan levensmiddelen worden toegevoegd, alsook voor starterculturen die tijdens de fermentatie tot hoge aantallen uitgroeien. Antibioticumresistente enterococci hebben automatisch meer kans op overdracht van antibioticumresistentiegenen aangezien dergelijke bacteriën behoren tot de natuurlijke flora van de darm en bijgevolg in hoge aantallen zullen aanwezig zijn.

Het risico dat starterculturen resistent zijn wordt hoger ingeschat bij een spontane fermentatie dan bij een fermentatie waarbij gecontroleerde starterculturen gebruikt worden, aangezien de stammen van starterculturen kunnen gecontroleerd worden op het bezit van transfereerbare antibioticumresistentiegenen. Voor bacteriofagen is dit risico in de EU momenteel heel

miniem, aangezien tot op heden nog geen bacteriofagen goedgekeurd werden voor gebruik in levensmiddelen.

3.3.5. Criteria voor het veilig gebruik van micro-organismen die aan levensmiddelen worden toegevoegd

Een grote variëteit aan microbiële species wordt gebruikt in de productie van voeding en voeder. Bepaalde micro-organismen kunnen echter overdraagbare antibioticumresistentiegenen bevatten en deze transfereren naar (pathogene) bacteriën. Bijgevolg is het noodzakelijk dat dergelijke micro-organismen vrij zijn van overdraagbare antibioticaresistentiegenen.

Micro-organismen die toegevoegd worden om voeding te fermenteren worden in de USA geëvalueerd op basis van het principe 'food grade' of 'Generally Regarded As Safe' (GRAS) (HGR, 2012). In Europa wordt gebruik gemaakt van het concept van Qualified Presumption of Safety (QPS) met een lijst van micro-organismen die beschouwd worden als veilig voor gebruik. De QPS status wordt toegekend aan een bepaalde taxonomische groep van micro-organismen op basis van de vaststelling van de identiteit, het geheel van de beschikbare kennis, de mogelijke pathogeniciteit en het finaal gebruik. Voor ieder micro-organisme dat tot een QPS-groep behoort, is een verdere veiligheidsanalyse niet meer noodzakelijk. Voor micro-organismen die niet tot een QPS-groep behoren, is een volledige veiligheidsanalyse nodig. Voor wat betreft de micro-organismen die toegevoegd worden aan voeding voor mensen, is Verordening (EC) Nr. 258/97¹ van toepassing. Voor wat betreft micro-organismen die toegevoegd worden aan voeder voor dieren, is Verordening (EC) Nr. 1831/2003² van toepassing (EFSA, 2007).

Bacteriofagen worden beschouwd als additieven, echter het gebruik ervan is niet toegelaten in de EU. Recent werd een vraag ingediend bij EFSA over het gebruik van de bacteriofaag LISTEX™ P100 als decontaminant van oppervlakken van levensmiddelen van dierlijke oorsprong onder de hygiënewetgeving (EFSA, 2012 (a))³.

3.4. Invloed van biociden op de aanwezigheid van antibioticumresistentie op levensmiddelen

Bacteriële cellen kunnen via de omgeving blootgesteld worden aan biociden en kunnen hierdoor gestresseerd en/of geïnactiverd zijn. Bacteriële sporen zijn intrinsiek het meest resistent tegen biociden, gevolgd door mycobacteriën, Gram-negatieve bacteriën zijn gevoeliger en Gram-positieve bacteriën zijn het meest gevoelig voor biociden (Tumah, 2009). De resistentie tegen biociden is afhankelijk van de aanwezigheid van de bacterie in een biofilm en is meestal te wijten aan een verlaagde permeabiliteit van de cellen (Tumah, 2009).

Antibioticumresistentiegenen aanwezig in gedeeltelijk geïnactiverde, gestresseerde cellen kunnen doorgegeven worden aan commensalen en pathogenen zowel in het levensmiddel als na opname in het spijsverteringsstelsel van de mens. Dit kan enerzijds gebeuren door conjugatie wanneer de resistentie gelegen is op mobiliseerbare elementen, en anderzijds via transformatie en transductie, echter in mindere mate. Wanneer bacteriële cellen geïnactiverd worden door biociden, is het mogelijk dat hun DNA ten gevolge van lyse vrijgesteld wordt in de voedingsomgeving. Vrij DNA kan opgenomen worden door bacteriën via het proces van transformatie.

Daarnaast kan een kruisresistentie tegen biociden en antibiotica ontstaan (Meyer, 2006). Recent onderzoek toont de epidemiologische relatie aan tussen een verhoogde resistentie tegen quaternaire ammoniumcomponenten in klinische *E. coli*-isolaten en een verhoogde resistentie tegen cotrimoxazole en amoxicilline (Buffet-Bataillon *et al.*, 2011). Uit ander recent

¹ URL: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:1997R0258:20090120:NL:PDF>

² URL: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2003R1831:20090807:NL:PDF>

³ Eind maart 2012 bracht de EFSA een wetenschappelijk advies uit waarin er geconcludeerd werd dat Listex™ P100 veilig gebruikt kan worden voor het verwijderen van een oppervlaktebesmetting van rauwe vis met *Listeria monocytogenes* (EFSA, 2012 (b)).

onderzoek blijkt dat één enkele blootstelling aan bepaalde biociden kan zorgen voor de selectie van mutante *Salmonella* Typhimurium met een efflux-gemedieerde multidrugresistentie (Whitehead *et al.*, 2011). Studies uit de literatuur suggereren echter dat er geen consistent patroon bestaat in de relatie tussen antibioticumresistentie en biocideresistentie. Wanneer *Serratia marcescens* werd blootgesteld aan cetylpyridinium chloride, vertoonde de stam een verhoogde resistentie tegen bepaalde biociden en antibiotica, en een verlaagde resistentie tegen andere biociden en antibiotica (Maseda *et al.*, 2009). Echter, het ontstaan van een kruisresistentie tussen biociden en antibiotica is afhankelijk van de aard van het biocide en het antibioticum, en van de omstandigheden. *In vitro* zorgde de blootstelling van *Salmonella* Typhimurium aan zowel quaternaire ammoniumcomponenten als triclosan voor een verhoogde resistentie tegen antibiotica, terwijl de blootstelling aan zowel een mengsel van oxiderende componenten als een desinfectans gebaseerd op fenolische teerzuren niet zorgde voor een verhoogde resistentie tegen antibiotica, echter wel voor een verhoogde resistentie tegen biociden (Karatzas *et al.*, 2007). In vele gevallen is het niet duidelijk of de kruisresistentie tijdelijk of irreversibel is. Vooral bij Gram-negatieve bacteriën, waar de buitenste lagen van de cel als barrière tegen antibiotica en hydrofobe moleculen met een hoog moleculair gewicht fungeren, valt een kruisresistentie te verwachten (IFH, 2000). De overdracht van de resistentie ontstaan door biocidebehandeling naar andere bacteriën werd tot op heden nog niet aangetoond.

3.5. Invloed van voedingsprocessen op de aanwezigheid van antibioticumresistentie op levensmiddelen

Voedselverwerkings- en conserveringstechnieken worden toegepast om de houdbaarheid van levensmiddelen te verlengen en hebben een variabel effect op de bacteriële cellen die aanwezig zijn op de levensmiddelen (zie bijlage 2). De cellen kunnen levend blijven (waarbij de groei al dan niet geïnhibeerd wordt), ze kunnen gestresseerd of subletaal beschadigd worden, of ze kunnen afgedood worden (geïnactiveerd). Daarnaast hebben sommige voedingsprocessen geen meetbaar effect op de vegetatieve cellen of de sporen. In de meeste gevallen echter zorgen voedingsprocessen voor een reductie van het aantal bacteriën.

Primaire voedingsproducten kunnen zonder een voorafgaande verwerkings- of conserveringsbehandeling worden geconsumeerd (vb. verse groenten en fruit, rauwe melk) en kunnen levende, niet-gestresseerde bacteriële cellen bevatten op het ogenblik van consumptie. Dergelijke voedingsproducten houden bijgevolg het grootste risico in voor de overdracht van antibioticumresistentie, aangezien de eventueel aanwezige antibioticumresistente bacteriën niet afgedood worden. De overdracht van antibioticumresistentiegenen vanuit levende bacteriën naar andere bacteriën in het levensmiddel of in de darm na consumptie door de mens, kan gebeuren door conjugatie.

Bepaalde voedingsproducten ondergaan een minimale verwerkings- of conserveringsbehandeling, waardoor subletaal beschadigde of gestresseerde cellen ontstaan. Dergelijke processen zijn o.a. koelen, verzuren, verpakken onder gemodificeerde atmosfeer, vriezen, mild pasteuriseren, behandelen met intense lichtpulsen, behandelen met UV-stralen. Een behandeling met UV-stralen kan het bacterieel DNA muteren. Diverse behandelingen waaronder pasteurisatie kunnen de kieming van sporen induceren. Gestresseerde cellen kunnen ook worden bekomen door het toepassen van minimale conservering, gebaseerd op een combinatie van verschillende stresserende factoren die de groei van bacteriën remmen (combinatietechnologie). Dergelijke technologie wordt steeds frequenter gebruikt om een langere houdbaarheid te combineren met het behoud van een optimale smaak en een maximaal behoud aan nutritionele componenten. Bovendien is er een tendens naar de consumptie van rauwe en minimaal bewerkte levensmiddelen. Uit een onderzoek blijkt dat subletale bewaarcondities (een lage pH, een hoge NaCl-concentratie, een lage/hoge temperatuur en combinaties van dergelijke condities) de horizontale transmissie via conjugatie van plasmiden met antibioticumresistentiegenen verhogen ten opzichte van de frequentie vastgesteld tussen niet-gestresseerde bacteriële cellen (Mc Mahon *et al.*, 2007). Bijgevolg zou het kunnen dat bepaalde minimale conserveringstechnieken aldus het risico op overdracht van antibioticumresistentie verhogen indien ze leiden tot subletale beschadiging in plaats van volledige afdoding van de cellen.

Heel wat voedingsprocessen worden toegepast om de bacteriële cellen af te doden. Afgedode cellen kunnen intact blijven of kunnen ten gevolge van celwandbeschadiging gelyseerd worden zodanig dat het bacteriële DNA met inbegrip van de eventuele antibioticumresistentiegenen in de omgeving vrijgesteld worden. Toepassing van warmtebehandelingen zoals sterilisatie, UHT-behandeling en pasteurisatie onder bepaalde tijd/temperatuurcombinaties leidt tot afdoding van bacteriële cellen. Daarnaast kan het gebruik van minimale conserveringstechnieken hetzelfde effect hebben onder bepaalde omstandigheden. Afgedode cellen kunnen geen antibioticumresistentiegenen doorgeven aan andere bacteriën via conjugatie of transductie. Zodra het DNA vrijgesteld is, kunnen de antibioticumresistentiegenen theoretisch overgedragen worden via transformatie. Het proces van transformatie is echter weinig frequent en aan heel wat voorwaarden gebonden. Dergelijke voedingsprocessen houden aldus het kleinste risico in voor wat betreft de overdracht van antibioticumresistentie.

4. Gevolgen van voedselgebonden antibioticumresistentie voor de consument

Antibioticumresistente pathogene bacteriën kunnen worden opgenomen door de consument en vormen een direct risico voor de volksgezondheid. Verschillende studies onderzochten de gevolgen voor de volksgezondheid van antibioticumresistente *Salmonella* en *Campylobacter* spp. voor de consument (Mølbak, 2004, 2005; Streit *et al.*, 2006; Varma *et al.*, 2005). Uit deze studies bleek dat de opkomende resistentie in deze voedselgebonden pathogenen zorgt voor een stijgend aantal ziekenhuisopnames, een groter risico op invasieve infecties, en meer sterftegevallen.

Antibioticumresistentiegenen aanwezig in voedingsproducten, hetzij ingesloten in bacteriën en bacteriofagen, hetzij onder de vorm van DNA-fragmenten, kunnen een indirect risico vormen voor de volksgezondheid, aangezien ze de genenpool waaruit (pathogene) bacteriën antibioticumresistentiegenen kunnen opnemen en eventueel doorgeven aan andere (pathogene) bacteriën, vergroten. *In vitro* onderzoek toonde de transfer van erythromycineresistentiegenen aan van melkzuurbacteriën naar *Listeria* spp. (Toomey *et al.*, 2009). De transfer van tetracycline- en erythromycineresistentiegenen van *Enterococcus faecalis* naar *Listeria monocytogenes* werd aangetoond zowel *in vitro* als in het spijsverteringskanaal van muizen (Doucet-Populaire *et al.*, 1991).

Een eerste gevolg van antibioticumresistentie bij pathogene kiemen is dat medische behandelingen kunnen falen. Een tweede gevolg is dat de keuze voor behandelingen met antibiotica wordt beperkt. Ten derde kunnen resistente gastro-intestinale pathogenen een selectief voordeel krijgen bij patiënten die behandeld worden met antibiotica voor een andere medische reden. Dit kan leiden tot een grotere nosocomiale verspreiding naar andere patiënten die behandeld worden met antibiotica (Oon *et al.*, 2001). Ten slotte kan antibioticumresistentie gepaard gaan met een mogelijks grotere kans op een verhoogde virulentie. Dit kan het gevolg zijn van een coselectie van resistentie- en virulentie-eigenschappen door integratie van virulentie- en resistentieplasmiden (Fluit, 2005; Guerra *et al.*, 2004). De verhoogde virulentie kan ook een gevolg zijn van een verhoogde regulatie van de virulentiedeterminanten samen met de resistentiedeterminanten (Gooderham & Hancock, 2009). Uit de literatuur blijkt dat antibioticumresistentie soms gepaard gaat met een verminderde biologische fitness van de bacterie. Dit werd aangetoond voor *Streptococcus pneumoniae* met resistentie tegen macrolides (Maher *et al.*, 2012) en voor *Acinetobacter* sp. met resistentie tegen rifampicine (Kang & Park, 2010). Uit een ander onderzoek daarentegen bleek dat antibioticumresistentie in pneumococcon gepaard ging met een gelijke of verhoogde biologische fitness in vergelijking met gevoelige pneumococcon (Rudolf *et al.*, 2011).

Antibioticumresistentie bij commensalen vormt een indirect risico voor de volksgezondheid aangezien de antibioticumresistentiegenen kunnen overdragen worden naar pathogenen. Zo kunnen bijvoorbeeld *E. coli*-stammen die opgenomen worden via de voeding extended spectrum β -lactamase (ESBL)-genen bevatten, welke gelegen zijn op mobiele genetische elementen (Thomson & Moland, 2000). Bijgevolg is het mogelijk dat de overdracht van

cefalosporineresistentie plaatsvindt naar pathogenen in het spijsverteringsstelsel van de mens. Dit werd reeds *in vitro* aangetoond (Smet *et al.*, 2010). Onderzoek in Nederland geeft een indirect bewijs voor de overdracht van ESBL-genen van pluimvee naar de mens via de voedselketen. 35 % van de onderzochte humane isolaten bevatten ESBL-genen, waarvan 19 % genen bevatten die genetisch identiek waren aan genen geïsoleerd uit kippenvlees. 86 % bevatten genen die predominant waren in 78 % en 75 % van de isolaten van respectievelijk pluimvee en kippenvlees. 94 % van de onderzochte kippenvleesisolaten bevatten ESBL-genen, waarvan 39 % behoorden tot genotypes van *E. coli* die eveneens aanwezig zijn in humane isolaten (Leverstein-van-Hall *et al.*, 2011).

5. Conclusies en aanbevelingen

Het gebruik van antibiotica in de primaire landbouwproductie wordt beschouwd als de belangrijkste oorzaak van de selectie voor antibioticumresistentie bij bacteriën die vervolgens op levensmiddelen kunnen terecht komen. Het Wetenschappelijk Comité raadt bijgevolg aan om antibiotica in de primaire productie op een verantwoorde wijze te gebruiken. Hierbij dient de grootste aandacht uit te gaan naar de dierlijke productie. Voor de plantaardige productie is het belangrijk dat goede landbouwpraktijken (GAP) toegepast worden en dat hierover informatie verspreid wordt om de besmetting met fecale micro-organismen te vermijden. Een voorbeeld waar deze kennis op een eenvoudige en duidelijke manier wordt aangebracht, is het document "Five keys to growing safer fruits and vegetables" (WHO, 2011).

Verder zijn ook de toepassing van goede productiepraktijken (GMP) en goede hygiënepraktijken (GHP) onontbeerlijk voor een veilige productie van levensmiddelen. Tijdens de processing van levensmiddelen moeten de fysische parameters (vb. de combinaties van tijd en temperatuur bij hitteprocessen) gerespecteerd worden en moeten de goede hygiënepraktijken toegepast worden in de volledige voedselketen van riek tot vork. Het Wetenschappelijk Comité raadt hierbij aan om blijvend ruime aandacht te besteden aan het respecteren van GAP, GMP en GHP binnen de autocontrolesystemen op de bedrijven.

Rauwe producten houden het grootste risico in voor de overdracht van antibioticumresistentie, aangezien de eventueel aanwezige antibioticumresistente bacteriën niet afgedood worden.

Het effect van voedselverwerkings- en conserveringstechnieken op de aanwezige bacteriën is divers, maar in de meeste gevallen wordt het aantal bacteriën op levensmiddelen gereduceerd. Gezien conjugatie de belangrijkste weg van horizontale gentransfer is en afgedode bacteriën geen conjugatie meer kunnen uitvoeren, reduceren deze (hitte)behandelingen in vele gevallen het risico op overdracht van antibioticumresistentiegenen naar bacteriën aanwezig in voedsel en/of het humaan intestinaal stelsel.

Minimale verwerkings- of conserveringstechnieken zorgen voor gestresseerde bacteriën, waardoor de kans op overdracht van antibioticumresistentie via conjugatie zou kunnen verhogen (Mc Mahon *et al.*, 2007). Hierover is echter weinig informatie beschikbaar in de literatuur. Onderzoek omtrent dit onderwerp zou meer duidelijkheid verschaffen.

Micro-organismen die aan levensmiddelen worden toegevoegd kunnen overdraagbare antibioticumresistentiegenen bevatten en deze transfereren naar (pathogene) bacteriën. Het Wetenschappelijk Comité beveelt aan dat dergelijke micro-organismen gecontroleerd worden op de afwezigheid van antibioticumresistentiegenen. Deze controle zou kunnen gebeuren in het kader van de autocontrole van de voedingsproductie.

Ten slotte stipt het Wetenschappelijk Comité aan dat het belangrijk is dat verder onderzoek zou uitgevoerd worden naar de kwantificering van horizontale gentransfer van antibioticumresistentiegenen naar pathogenen via de voeding naar de mens, naar de kruisresistentie tussen biociden en antibiotica en naar de correlatie tussen virulentie-eigenschappen en antibioticumresistentie.

Voor het Wetenschappelijk Comité,
De Voorzitter,

Prof. Dr. Ir. André Huyghebaert

Brussel, 05/06/2012

Referenties

Atterbury, R.J., Connerton, P.L., Dodd, C.E.R., Rees, C.E.D., Connerton, I.F., 2003. Application of host-specific bacteriophages to the surface of chicken skin leads to a reduction in recovery of *Campylobacter jejuni*. *Applied and Environmental Microbiology* 69, 6302-6306.

Bergogne-Bérézin, E., 1997. Who or what is the source of antibiotic resistance? *Journal of Medical Microbiology* 46 (6), 461-470.

Buffet-Bataillon, S., Branger, B., Cormier, M., Bonnaure-Mallet, M., Jolivet-Gougeon, A., 2011. Effect of higher minimum inhibitory concentrations of quaternary ammonium compounds in clinical *E. coli* isolates on antibiotic susceptibilities. *Journal of Hospital Infection* 79, 141-146.

Carattoli, A., 2008. Animal reservoirs for extended spectrum beta-lactamase producers. *Clinical Microbiology and Infection* 14 (1), 117-123.

Carlton, R.M., Noordman, W.H., Biswas, B., De Meester, E.D., Loessner, M.J., 2005. Bacteriophage P100 for control of *Listeria monocytogenes* in foods: Genome sequence, bioinformatic analyses, oral toxicity study, and application. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 43, 301-312.

Cataloluk, O., Gogebakan, B., 2004. Presence of drug resistance in intestinal lactobacilli of dairy and human origin in Turkey. *FEMS Microbiology Letters* 236, 7-12.

Chahad, O.B., Bour, M.E., Calo-Mata, P., Boudabous, A., Barros-Velázquez, J., 2012. Discovery of novel biopreservation agents with inhibitory effects on growth of food-borne pathogens and their application to seafood products. *Research in Microbiology* 163, 44-45.

Chen, J., Novick, R.P., 2009. Phage-mediated intergeneric transfer of toxin genes. *Science* 323, 139-141.

Cocconcelli, P.S., Cattivelli, D., Gazzola, S., 2003. Gene transfer of vancomycin and tetracycline resistances among *Enterococcus faecalis* during cheese and sausage fermentations. *International Journal of Food Microbiology* 88 (2-3), 315-323.

Colomer-Lluch, M., Imamovic, L., Jofre, J., Muniesa, M., 2011 (b). Bacteriophages Carrying Antibiotic Resistance Genes in Fecal Waste from Cattle, Pigs, and Poultry. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 55 (10), 4908-4911.

Colomer-Lluch, M., Jofre, J., Muniesa, M., 2011 (a). Antibiotic Resistance Genes in the Bacteriophage DNA Fraction of Environmental Samples. *PLoS ONE* 6 (3), e17549. doi: 10.1371/journal.pone.0017549.

Doucet-Populaire, F., Trieu-Cuot, P., Dosbaa, I., Andremont, A., Courvalin, P., 1991. Inducible Transfer of Conjugative Transposon Tn1545 from *Enterococcus faecalis* to *Listeria monocytogenes* in the Digestive Tracts of Gnotobiotic Mice. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 35 (1), 185-187.

ECDC, 2009 (a). Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2009. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net).

ECDC, 2009 (b). Scientific Opinion of the European Centre for Disease Prevention and Control; Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards; Opinion of the Committee for Medicinal Products for Veterinary Use; Scientific Opinion of the Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks: Joint Opinion on antimicrobial resistance (AMR) focused on zoonotic infections. *EFSA Journal* 2009; 7(11):1372.

EFSA, 2007. Opinion of the Scientific Committee on a request from EFSA on the introduction of a Qualified Presumption of Safety (QPS) approach for assessment of selected microorganisms referred to EFSA. EFSA Journal 587, 1-16.

EFSA, 2008. Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards on a request from the European Food Safety Authority on foodborne antimicrobial resistance as a biological hazard. EFSA Journal 765, 1-87.

EFSA, 2009. European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control: The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in the European Union in 2009. EFSA Journal 9 (7), 2154.

EFSA, 2012 (a). Register of Questions. Beschikbaar op het adres: <http://registerofquestions.efsa.europa.eu/roqFrontend/questionsListLoader?panel=BIOHAZ&foodsectorarea=50&questiontype=2>.

EFSA, 2012 (b). Scientific Opinion on the evaluation of the safety and efficacy of Listex™ P100 for the removal of *Listeria monocytogenes* surface contamination of raw fish. EFSA Journal 10 (33), 2615.

El Bassi, L., Hassouna, M., Shinzato, N., Matsui, T., 2009. Biopreservation of refrigerated and vacuum-packed *Dicentrarchus labrax* by lactic acid bacteria. Journal of Food Science 74 (6), 335-339.

FAVV, 2003. Advies 2003/07 van het Wetenschappelijk Comité. Streptomycine residuen in honing door het gebruik van het product Fructocin op appelaars en perelaars. Beschikbaar op het adres: http://www.favv.be/home/com-sci/avis03_nl.asp#07.

FAVV, 2010. Advies 29-2010 van 10 september 2010 van het Wetenschappelijk Comité. Aanwijzingen voor de voedselgebonden overdracht van antibioticumresistentie van dieren naar de mens: studie van antibioticumresistentieprofielen en faagtype van *Salmonella* Typhimurium geïsoleerd bij varkens en pluimvee, uit varkens- en pluimveevlees en bij de mens (periode 2001-2006) (Dossier SciCom 2007/08 – eigen initiatief). Beschikbaar op het adres: http://www.favv-afsc.fgov.be/wetenschappelijkcomite/adviezen/_documents/ADVIES-29-2010_NL_Dossier2007-08.pdf.

FAVV, 2011. Advies 08-2011 van 16 september 2011 van het Wetenschappelijk Comité. Blootstellingsschatting aan cefalosporine resistente *E. coli* door consumptie van kippenvlees (Sci Com 2010/15: eigen-initiatief dossier). Beschikbaar op het adres: http://www.favv-afsc.fgov.be/wetenschappelijkcomite/adviezen/_documents/ADVIES08-2011_NL_DOSSIER2010-15.pdf.

Fluit, A.C., 2005. Towards more virulent and antibiotic-resistant *Salmonella*? FEMS Immunology and Medical Microbiology 43, 1-11.

Gevers, D., Masco, L., Baert, L., Huys, G., Debevere, J., Swings, J., 2003. Prevalence and diversity of tetracycline resistant lactic acid bacteria and their *tet* genes along the process line of fermented dry sausages. Systematic and Applied Microbiology 26, 277-283.

Gfeller, K.Y., Roth, M., Meile, L., Teuber, M., 2003. Sequence and genetic organization of the 19.3-kb erythromycin and dalopristin resistance plasmid pLME300 from *Lactobacillus fermentum* ROT1. Plasmid 50, 190-201.

Goode, D., Allen, V.M., Barrow, P.A., 2003. Reduction of experimental *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of chicken skin by application of lytic bacteriophages. Applied and Environmental Microbiology 69 (8), 5032-5036.

- Gooderham, W.J., Hancock, R.E.W., 2009. Regulation of virulence and antibiotic resistance by two-component regulatory systems in *Pseudomonas aeruginosa*. FEMS Microbiology Reviews 33, 279-294.
- Guerra, B., Junker, E., Miko, A., Helmuth, R., Mendoza, M.C., 2004. Characterization and localization of drug resistance determinants in multidrug-resistant, integron-carrying *Salmonella enterica* serotype Typhimurium strains. Microbial Drug Resistance 10, 83-91.
- Hoge Gezondheidsraad (HGR), 2012. Publication of the Superior Health Council No. 8651. Probiotics and their implications for Belgian public health. Part 1: Microbiological characterization.
- Hugas, M., 1998. Bacteriocinogenic Lactic Acid Bacteria for the Biopreservation of Meat and Meat Products. Meat Science 49 (1), 139-150.
- IFH, 2000. Microbial resistance and biocides. A review by the International Scientific Forum on Home Hygiene.
- Jacobsen, T., Budde, B.B., Koch, A.G., 2003. Application of *Leuconostoc carnosum* for biopreservation of cooked meat products. Journal of Applied Microbiology 95, 242-249.
- Kang, Y.S., Park, W., 2010. Trade-off between antibiotic resistance and biological fitness in *Acinetobacter* sp. strain DR1. Environmental Microbiology 12 (5), 1304-1318.
- Karatzas, K.A.G., Webber, M.A., Jorgensen, F., Woodward, M.J., Piddock, L.J.V., Humphrey, T.J., 2007. Prolonged treatment of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium with commercial disinfectants selects for multiple antibiotic resistance, increased efflux and reduced invasiveness. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 60, 947-955.
- Kastner, S., Perreten, V., Bleuler, H., Hugenschmidt, G., Lacroix, C., Meile, L., 2005. Antibiotic susceptibility patterns and resistance genes of starter cultures and probiotic bacteria used in food. Systematic and Applied Microbiology 29, 145-155.
- Katla, A.-K., Kruse, H., Johnsen, G., Herikstad, H., 2001. Antimicrobial susceptibility of starter culture bacteria used in Norwegian dairy products. International Journal of Food Microbiology 67, 147-152.
- Klare, I., Konstabel, C., Werner, G., Huys, G., Vankerckhoven, V., Kahlmeter, G., Hildebrandt, B., Müller-Bertling, S., Witte, W., Goossens, H., 2007. Antimicrobial susceptibilities of *Lactobacillus*, *Pediococcus* and *Lactococcus* human isolates and cultures intended for probiotic or nutritional use. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 59, 900-912.
- Leverentz, B., Conway, W.S., Camp, M.J., Janisiewicz, W.J., Abuladze, T., Yang, M., Saftner, R., Sulakvelidze, A., 2003. Biocontrol of *Listeria monocytogenes* on fresh-cut produce by treatment with lytic bacteriophages and a bacteriocin. Applied and Environmental Microbiology 69, 4519-4526.
- Leverentz, B., Conway, W.S., Janisiewicz, W., Camp, M.J., 2004. Optimizing concentration and timing of a phage spray application to reduce *Listeria monocytogenes* on honeydew melon tissue. Journal of Food Protection 67, 1682-1686.
- Leverstein-van Hall, M.A., Dierickx, C.M., Stuart, J.C., Voets, G.M., van den Munckhof, M.P., van Essen-Zandbergen, A., Platteel, T., Fluit, A.C., van de Sande-Bruinsma, N., Scharinga, J., Bonten, M.J.M., Mevius, D.J., 2011. Dutch patients, retail chicken meat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains. Clinical Microbiological Infections 17, 873-880.
- Maher, M.C., Alemayehu, W., Lakew, T., Gaynor, B.D., Haug, S., Cevallos, V., Keenan, J.D., Lietman, T.M., Porce, T.C., 2012. The Fitness Cost of Antibiotic Resistance in *Streptococcus pneumoniae*: Insight from the Field. PLoS ONE 7 (1), e29407.

- Masco, L., van Hoorde, K., de Brandt, E., Swings, J., Huys, G., 2006. Antimicrobial susceptibility of *Bifidobacterium* strains from humans, animals and probiotic products. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 58, 85-94.
- Maseda, H., Hashida, Y., Konaka, R., Shirai, A., Kourai, H., 2009. Mutational Upregulation of a Resistance-Nodulation-Cell-Division-Type Multidrug Efflux Pump, SdeAB, upon Exposure to a Biocide, Cetylpyridinium Chloride, and Antibiotic Resistance in *Serratia marcescens*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 53 (12), 5230-5235.
- Mathur, S., Singh, R., 2005. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria - a review. *International Journal of Food Microbiology* 105, 281-295.
- Mayrhofer, S., Paulsen, P., Smulders, F.J.M., Hilbert, F., 2006. Antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* isolated from muscle foods as related to the veterinary use of antimicrobial agents in food-producing animals in Austria. *Microbial Drug Resistance* 12, 278-283.
- Mc Mahon, M.A.S., Blair, I.S., Moore, J.E., Mc Dowell, D.A., 2007. The rate of horizontal transmission of antibiotic resistance plasmids is increased in food preservation-stressed bacteria. *Journal of Applied Microbiology* 1364-5072.
- Meyer, B., 2006. Does microbial resistance to biocides create a hazard to food hygiene? *International Journal of Food Microbiology* 112, 275-279.
- Mølbak, K., 2004. Spread of resistant bacteria and resistance genes from animals to humans – the public health consequences. *Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious diseases and veterinary public health* B51, 364-369.
- Mølbak, K., 2005. Human health consequences of antimicrobial drug-resistant *Salmonella* and other foodborne pathogens. *Clinical Infectious Diseases* 41, 1613-1620.
- Nakaminami, H., Noguchi, N., Nishijima, S., Kurokawa, I., So, H., Sasatsu, M., 2007. Transduction of the plasmid encoding antiseptic resistance gene *qacB* in *Staphylococcus aureus*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 30, 1412-1415.
- Nawaz, M., Wang, J., Zhou, A., Chaofeng, M., Wu, X., Moore, J.E., Millar, B.C., Xu, J., 2011. Characterization and Transfer of Antibiotic Resistance in Lactic Acid Bacteria from Fermented Food Products. *Current Microbiology* 62, 1081-1089.
- Olstorpe, M., Passoth, V., 2011. *Pichia anomala* in grain biopreservation. *Antonie van Leeuwenhoek* 99, 57-62.
- Oon, L.L., Ling, M.M., Chiew, Y.F., 2001. Gastrointestinal colonisation of vancomycin-resistant enterococcus in a Singapore teaching hospital. *Pathology* 33 (2), 216-221.
- Persoons, D., Dewulf, J., Smet, A., Herman, L., Heyndrickx, M., Martel, A., Catry, B., Butaye, P., Haesebrouck, F., 2010. Prevalence and Persistence of Antimicrobial Resistance in Broiler Indicator Bacteria. *Microbial Drug Resistance* 16 (1), 67-74.
- Resch, M., Nagel, V., Hertel, C., 2008. Antibiotic resistance of coagulase-negative staphylococci associated with food and used in starter cultures. *International Journal of Food Microbiology* 127, 99-104.
- Rudolf, D., Michaylov, N., van der Linden, M., Hoy, L., Klugman, K.P., Welte, T., Pletz, M.W., 2011. International Pneumococcal Clones Match or Exceed the Fitness of Other Strains despite the Accumulation of Antibiotic Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55 (10), 4915-4917.
- Schnürer, J., Jonsson, A., 2011. *Pichia anomala* J121: a 30-year overnight near success biopreservation story. *Antonie van Leeuwenhoek* 99, 5-12.

Silbergeld, E.K., Graham, J., Price, L.B., 2008. Industrial food animal production, antimicrobial resistance and human health. *Annual Review of Public Health* 29, 151-169.

Smet, A., Martel, A., Persoons, D., Dewulf, J., Heyndrickx, M., Catry, B., Herman, L., Haesebrouck, F., Butaye, P., 2008. Diversity of extended-spectrum- β -lactamases and class C β -lactamases among cloacal *Escherichia coli* in Belgian broiler farms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 52 (4), 1238-1243.

Smet, A., Rasschaert, G., Martel, A., Persoons, D., Dewulf, J., Butaye, P., Catry, B., Haesebrouck, F., Herman, L., Heyndrickx, M., 2010. *In situ* ESBL conjugation from avian to human *Escherichia coli* during cefotaxime administration. *Journal of Applied Microbiology* 110 (2), 541-549.

Srinivasan, V., Nam, H.-M., Sawant, A.A., Headrick, S.I., Nguyen, L.T., Oliver, S.P., 2008. Distribution of tetracycline and streptomycin resistance genes and class 1 integrons in *Enterobacteriaceae* isolated from dairy and nondairy farm soils. *Microbial Ecology* 55, 184-193.

Stine, O.C., Johnson, J.A., Keefer-Norris, A.K., Perry, K.L., Tigno, J., Qaiyumi, S., Stine, M.S., Morris, J.G. Jr., 2007. Widespread distribution of tetracycline resistance genes in a confined animal feeding facility. *International Journal of Antimicrobial Agents* 29, 348-352.

Streit, J.M., Jones, R.N., Toleman, M.A., Strachounski, L.S., Fritsche, T.R., 2006. Prevalence and antimicrobial susceptibility patterns among gastroenteritis-causing pathogens recovered in Europe and Latin America and *Salmonella* isolates recovered from bloodstream infections in North America and Latin America: report from the SENTRY antimicrobial surveillance program (2003). *International Journal of Antimicrobial Agents* 27, 367-375.

Sundh, I., Melin, P., 2011. Safety and regulation of yeasts used for biocontrol or biopreservation in the food or feed chain. *Antonie van Leeuwenhoek* 99, 113-119.

Teuber, M., Meile, L., Schwartz, F., 1999. Acquired antibiotic resistance in lactic acid bacteria from foods. *Antonie van Leeuwenhoek* 76, 115-137.

Thomson, K.S., Moland, E.S., 2000. Version 2000: the new β -lactamases of Gram-negative bacteria at the dawn of the new millennium. *Microbes and Infection* 2 (10), 1225-1235.

Toomey, N., Bolton, D., Fanning, S., 2010. Characterisation and transferability of antibiotic resistance genes from lactic acid bacteria isolated from Irish pork and beef abattoirs. *Research in Microbiology* 161, 127-135.

Toomey, N., Monaghan, A., Fanning, S., Bolton, D.J., 2009. Assessment of antimicrobial resistance transfer between lactic acid bacteria and potential foodborne pathogens using *in vitro* methods and mating in a food matrix. *Foodborne Pathogens and Disease* 6 (8), 925-933.

Tumah, H.N., 2009. Bacterial Biocide Resistance. *Journal of Chemotherapy* 21 (1), 5-15.

Van Boxstael, S., Dierick, K., Van Huffel, X., Uyttendaele, M., Berkvens, D., Herman, L., Bertrand, S., Wildenauwe, C., Catry, B., Butaye, P., Imberechts, H., 2012. Comparison of antimicrobial resistance patterns and phage types of *Salmonella* Typhimurium isolated from pigs, pork and humans in Belgium between 2001 and 2006. *Food Research International* 45, 913-918.

Vermeiren, L., Devlieghere, F., Debevere, J., 2004. Evaluation of meat born lactic acid bacteria as protective cultures for the biopreservation of cooked meat products. *International Journal of Food Microbiology* 96, 149-164.

Vogel, R.F., Becke-Schmid, M., Entgens, P., Gaier, W., Hames, W.P., 1992. Plasmid transfer and segregation in *Lactobacillus curvatus* LTH1432 *in vitro* and during sausage fermentations. Systematic and Applied Microbiology 15, 129-136.

Varma, J.K., Greene, K.D., Ovitt, J., Barrett, T.J., Medalla, F., Angulo, F.J., 2005. Hospitalization and antimicrobial resistance in *Salmonella* outbreaks, 1984-2002. Emerging infectious diseases 11, 943-946.

Wang, H.H., Manuzon, M., Lehman, M., Wan, K., Luo, H., Wittum, T.E., Yousef, A., Backaletz, L., 2006. Food commensal microbes as a potentially important avenue in transmitting antibiotic resistance genes. FEMS Microbiology Letters 254, 226-231.

WHO, 2011. Five keys to growing safer fruits and vegetables: promoting health by decreasing microbial contamination. Trial edition for field testing, June 2011. Beschikbaar op het adres: http://www.who.int/foodsafety/consumer/5keys_growing_trial_edition.pdf.

Whitehead, R.N., Overton, T.W., Kemp, C.L., Webber, M.A., 2011. Exposure of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium to High Level Biocide Challenge Can Select Multidrug Resistant Mutants in a Single Step. PLoS ONE 6 (7), e22833. doi:10.1371/journal.pone.0022833.

Zirakzadeh, A., Patel, R., 2005. Epidemiology and mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. Current Opinion in Infectious Diseases 18, 507-512.

