

Salmonellen-Infestationen in Amphibien und Reptilien

Andreas Hassl^{1,2}, Silvia Pfleger¹, Gerald Benyr³

Einleitung

Seit den späten 60er Jahren des 20. Jahrhunderts erregen Berichte über schwere, zum Teil lebensbedrohende menschliche Salmonellosen (= Erkrankungen durch Bakterien der Gattung *Salmonella*) die öffentliche Aufmerksamkeit, die sehr wahrscheinlich durch Reptilien, die als Heimtiere gehalten wurden, übertragen worden sind. In den USA führte das Anschwellen der Zahl solcher Infektionen auf geschätzte 280.000 jährlich in den Jahren 1970 und 71 (2, 8) und der Tod eines Kleinkindes zu einer heftigen, teilweise stark emotional gefärbten Diskussion über dieses Thema. Letztendlich wurden im Jahre 1975 gesetzliche Maßnahmen ergriffen, die auf ein fast vollständiges Inlands-Handelsverbot für Wasserschildkröten unter 10,2 cm (= 4 inches) Carapaxlänge hinausliefen. Natürlich konnte dadurch das weitere Auftreten von Salmonellosen bei Reptilienhaltern nicht verhindert werden (1). Es wird geschätzt, dass in den USA 5% aller Fälle humaner Salmonellosen auf den Kontakt mit exotischen Heimtieren zurückzuführen ist (10). Derzeit ist die Diskussion über Präventionsmaßnahmen und über die Möglichkeit von Schadensersatzansprüchen von Erkrankten gegenüber Tierhändlern und Zoos wieder entbrannt (1).

In Österreich wurden die ersten Berichte über Reptilien-assoziierte humane Salmonellosen kürzlich publiziert, in der Tagespresse (5) ebenso wie auf Fachtagungen (HADITSCH et al., Vortrag anlässlich der 22. Tagung der ÖGTP, Wien 1999). Gleichzeitig läuft eine umfassende Studie über die Verteilungsmuster von *Salmonella*-Exkretionen bei in einem öffentlichen Wiener Vivarium gehaltenen Amphibien und Reptilien (6).

In der vorliegenden, retrospektiven Studie wurde das Stammspektrum der Salmonellen im Kot von in Gefangenschaft gehaltenen Amphibien und Reptilien ermittelt und mit jenem von Freilandtieren verglichen und aus dem Verteilungsmuster der *Salmonella*-Stämme epidemiologische Aussagen hergeleitet.

Material und Methoden

In einem Zeitraum von zwei Jahren (1997-99) wurden 376 frische Kotproben von 138 Individuen von in Terrarien gehaltenen Amphibien (5 Arten), Schlangen (6 Arten, ausschließlich Colubridae), Echsen (12 Arten) und Schildkröten (4 Arten) in durchschnittlichen Abständen von 49 Tagen untersucht. Alle Tiere lebten vor der Untersuchung mindestens einen Monat in Gefangenschaft, in den allermeisten Fällen aber bereits mehr als fünf Monate oder sie waren Nachzuchttiere. Die 50 Kotproben von wildlebenden Reptilien wurden im Zuge von drei herpetologischen Exkursionen gesammelt: an der Lokalität N 46° 36' / O 13° 13' konnten 22 Proben von Echsen (alle *Lacerta* sp.) gesammelt werden, zwischen N 47° 05' und 47° 04' / O 15° 15' und 15° 03' wurden 26 Kotproben (24 *Lacerta* sp. und *Podarcis* sp., 2 *Anguis* sp.) gesammelt, und an N 45° 03' / O 14° 02' zwei Kotproben (*Anguis* sp. und *Vipera* sp.). Die Proben stammten von 50 Individuen aus 6 Arten, davon 4 Eidechsenarten.

Die frisch abgesetzten Kotproben wurden, frei von Kontaminationen mit Bodenmaterial, in sterile Plastikröhrchen abgefüllt und, ausgenommen einige Proben von den Exkursionen, innerhalb von 24 Stunden verarbeitet. Die Kotproben wurden 1:5 (w/v) in steriler NaCl-Pepton Lösung pH 7,0 (Merck KgaA Darmstadt, D) aufgeschwemmt und dann durch Gaze gefiltert um große Partikeln zu entfernen. 0,1 ml dieser Suspension wurden in 0,9 ml Rappaport-Vassiliadis Lösung (Merck KgaA) eingebracht und bei 28°C für 24 h bebrütet. Nach dieser selektiven Anreicherung wurde die Suspension auf SMID Agarplatten (bioMerieux GesmbH, Wien, A) ausgestrichen und die Platten für 24 h bei 28°C bebrütet. Aus typischen Kolonien wurden kleine Mengen an Bakterien entnommen und mit sensibilisierten Latexpartikeln (Oxoid Ltd, Basingstoke, GB) vermischt um durch eine Agglutination die Anwesenheit von Salmonellen festzustellen. Agglutinierende Kolonien wurden vereinzelt, erneut angezüchtet und mittels des api20E-Systems biochemisch identifiziert (bioMerieux GesmbH). Solcherart identifizierte Stämme wurden zur Serovar- und Antigenformel-Bestimmung ins Nationale Referenzlabor (BBSUA Graz, A) versandt.

Die epidemiologischen Daten wurden zum Zwecke der Erstellung einer Risikoanalyse mittels two tailed Fisher`s exact test (InStat 1.15, GraphPAD, San Diego, CA) analysiert. P-Werte < 0,05 wurden als signifikant eingestuft.

Ergebnisse Salmonellen konnten in 54 der 376 Kotproben (14%) von in Gefangenschaft gehaltenen Amphibien und Reptilien gefunden werden, in den 50 Kotproben freilebender Reptilien waren 14 Salmonellen-enhaltende Proben (28%). Allerdings war die Verteilung der Salmonellen-Stämme und Serovare sehr unterschiedlich. Während 13 der insgesamt 17 *Salmonella arizonae*-Funde in Kotproben freilebender Tiere gemacht wurden, gelang der Nachweis von potentiell humanpathogenen Stämmen (Subspezies I) ausschließlich in den Proben von in Gefangenschaft gehaltenen Tieren ($p < 0,00001$). Auf Grund der günstigen Umstände, dass alle in Gefangenschaft gehaltenen Tiere in nur einer, beständigen Vivarienanlage lebten und von nur wenigen Pflegepersonen versorgt wurden, bezogen wir nur die Ergebnisse der Testung dieser Tiere in die Risikobewertung ein. Schlangen hatten die höchste Infektionsrate (23%), Echsen eine mittlere (17%) und Schildkröten, erstaunlicherweise, die geringste (3%). Weder das Taxon, noch der Terrarientyp und die Futterart konnten statistisch signifikant mit einer Salmonellen-Infestation in Verbindung gebracht werden. In Tabelle 1 sind die im Kot aller Amphibien und Reptilien gefundenen Salmonella-Serovare und Subtypen aufgelistet. Das Muster der Ausscheidung innerhalb des Tierbestandes wies keinerlei erkennbare Regelmäßigkeiten auf; eine permanente und/oder langdauernde Ausscheidung eines Stammes durch ein Individuum oder durch die Tiere in einem Terrarium konnte nie beobachtet werden.

Diskussion Die Bedeutung von Reptilien, speziell von Wasserschildkröten, als Träger und Verteiler von humanpathogenen Salmonellen-Stämmen ist lange bekannt und führte zu massiven Handelsbeschränkungen in den USA (1). Allerdings sind bislang kaum exakte Angaben zur Durchseuchungsrate von verschiedenen Taxa der Herpetofauna erhoben worden, noch sind die Infektionsraten und Salmonella-Serovare von freilebenden Tieren mit jenen von Terrarientieren verglichen worden. Es gibt auch nur wenige Daten zur Bedeutung der Terrarientier-assoziierten humanen Salmonellose in Mitteleuropa (3), aus Österreich gibt es bislang gar keine. Ein klinisch relevanter Fall einer solchen Infektion durch Nattern-Haltung (*Elaphe* sp.) wurde zwar kürzlich bekannt, der Salmonellen-Stamm aber nicht genauer bestimmt und die Angaben nicht publiziert (persönliche Mitteilung).

In dieser retrospektiven Studie wurden die intestinalen Salmonellen-Infestationen von Amphibien und Reptilien in Süd- und Ostösterreich und Slovenien untersucht. Trotz des Nachweises potentiell pathogener Stämme konnte von uns niemals ein klinisch manifester Fall einer Salmonellose in den Tieren beobachtet werden. Der sehr häufige stille Trägerstatus wurde auch von anderen Autoren beschrieben (2). In den in Gefangenschaft gehaltenen Tieren wurden in 82% der Infestationen das Auftreten von potentiell humanpathogenen Salmonellen (Typ I) beobachtet, die-

Tabelle 1:

Aus Amphibien und Reptilien isolierte *Salmonella*-Serovare (in Klammer: Antigenformel), Anzahl der Isolierungen und Wirtstaxon (Einzahl: eine Spezies).

filioser Typ der F-Gruppe (11:-:-)	1	Echse
rauer Salmonellen Stamm (nicht bestimmbar)	4	Echsen, Schlange (1)
<i>Salmonella</i> I (4,12,27:b:L-)	1	freilebende Eidechse (Echse)
<i>Salmonella</i> abidjan (39:b:1,w)	2	Frosch
<i>Salmonella</i> blockley (6,8: k: 1, 5)	3	Echsen
<i>Salmonella</i> fresno (9,46:z38:-)	2	Echse
<i>Salmonella</i> gaminara (16:d:1,7)	7	Echsen, Schlange (1)
<i>Salmonella</i> gatuni (6,8:b:e,n,x)	3	Echsen
<i>Salmonella</i> hvittingvoss (16:b:e, n, x)	1	Echse
<i>Salmonella</i> montevideo (6,7:g,m,s:-)	3	Echsen
<i>Salmonella</i> newport (6,8:e,h:1,2)	2	Echse, Schlange (1)
<i>Salmonella</i> nima (28:y:1,5)	2	Schlangen
<i>Salmonella</i> oranienburg (6,7:m,t:-)	5	Schlangen
<i>Salmonella</i> romanby (13,23:z4z24:-)	1	Schildkröte
<i>Salmonella</i> schwarzengrund (1,4,12,27:d:1,7)	3	Echsen
<i>Salmonella</i> tennessee (6,7:z29:-)	4	Echse
<i>Salmonella</i> tornow (45:g,m(s),(t):-)	4	Echsen, Schlange (1)
<i>Salmonella</i> wandsworth (39:b:1,2)	3	Schlange, Frosch (1)
<i>Salmonella</i> II (30:1,z28:z6)	1	Echse
<i>Salmonella</i> III (arizonae) (nicht bestimmt)	13	freilebende Eidechsen (Echsen)
<i>Salmonella</i> IIIa (arizonae) (44:z4,z24:-)	1	Schlange
<i>Salmonella</i> IIIa (arizonae) (40:z4,z23:-)	2	Schlange
<i>Salmonella</i> IIIb (arizonae) (47:i:z53)	1	Schlange

ses Ergebnis ist in sehr guter Übereinstimmung mit Angaben aus der Literatur (9). In der gleichen Tiergruppe wurden allerdings sehr selten Salmonellen des Typs III – vermeintlich Reptilien-assoziiert – und der anderen Typen gefunden. Vorerst haben wir diese Häufung auf einen starken Einfluss unseres Isolierungs- und Typisierungsverfahrens zurückgeführt, diese Annahme ließ sich aber beim Studium der Ergebnisse der Isolierungen aus Kotproben freilebender Reptilien nicht aufrecht erhalten. Aus diesen Proben konnten fast ausschließlich nur *Salmonella arizonae* (Typ III) isoliert werden. Die Ergebnisse sind statistisch hochsignifikant und unterstützen erheblich die These, dass die Darmflora von im Freiland lebenden Reptilienpopulationen nicht mit jener von in Gefangenschaft gehaltenen übereinstimmt. Dies ist wohl die Folge eines intensiven Darmkeimaustausches zwischen den Reptilien und anderen Bewohnern des Biotops, bei in Gefangenschaft gehaltenen Tieren mit dem Eintrag durch das Futter und dem Kontakt mit dem Pfleger. Unterstützt wird

diese Annahme durch den verbürgt temporären Status von Reptilien als Salmonellen-Ausscheider (z. B. (7), auch eigene Ergebnisse) und durch das Fehlen jeglicher erkennbarer Gesetzmäßigkeit im zeitlichen und individuellen Muster der Ausscheidung in den Populationen (6).

Mit dieser Studie konnte der Nachweis erbracht werden, dass die Salmonellen-Infestationen von freilebenden und in Gefangenschaft gehaltenen Reptilien sich in ihrer Stammzusammensetzung erheblich unterscheiden. Als eine Schlussfolgerung ergibt sich zwangsläufig, dass Terrarientiere ihre Typ I-*Salmonella*-Infestationen durch den engen Kontakt mit dem Menschen akquirieren, die in der Literatur beschriebenen extrem hohen Durchseuchungsraten von Reptilien [bis 90%; z. B. (2), (7), (10)] speziell Schildkröten in und aus Zuchtanstalten, also auf einen anthropogenen Eintrag, wahrscheinlich durch das Futter (Schlachtabfälle aus der Geflügelzucht) zurückzuführen sind. Terrarientiere sind folglich dann keine Risikoquellen für den Menschen, wenn sie unter hygienisch einwandfreien Bedingungen gepflegt werden (4).

Zusammenfassung

Diese retrospektive Studie war der Frage gewidmet, ob freilebende und in Gefangenschaft gehaltene Amphibien und Reptilien Salmonellen intestinal beherbergen und als Streuquelle fungieren können. Aus 426 Kotproben von 35 Amphibien und 153 Reptilien wurden 69 Salmonellen-Stämme isoliert und in den meisten Fällen bis zur Antigenformel biochemisch typisiert. Während freilebende Reptilien fast ausschließlich *Salmonella arizonae* beherbergen, wurde in den Terrarientieren ein unregelmäßiges Muster einer vorübergehenden *Salmonella* Typ I-Ausscheidung beobachtet.

Infestationen mit potentiell humanpathogenen Salmonellen (Typ I) sind unter freilebenden Reptilien extrem selten. Die Ausscheidung solcher Stämme ist eine Folge des engen Kontakts von Amphibien und Reptilien mit dem Menschen. Das Risiko einer Salmonellen-Infektion von Terrarientieren durch ihre Haustiere lässt sich durch eine hygienisch einwandfreie Tierhaltung und eine Fütterung mit bakteriologisch einwandfreien Futtermitteln erheblich verringern.

Schlüsselwörter

Salmonella sp., Reptilien, Amphibien, Herpetologie, Veterinär-Mikrobiologie.

Summary *Salmonella infestations in amphibians and reptiles*

This retrospective study was dedicated to the questions whether captive and freelifving amphibians and reptiles may act as host and distributor of Salmonella. From 426 faecal samples of 35 amphibian individuals and 153 reptiles 69 Salmonella strains were isolated and, in most cases, biochemically typed to obtain an antigen formula. While freelifving reptiles almost exclusively harbour *Salmonella arizonae* (type III), in captive animals an irregular pattern of temporary Salmonellae type I-excretion was observed.

Infestations with potentially pathogenic Salmonella species (type I) are extremely rare under freelifving reptiles. An excretion of this Salmonella type is a consequence of the close contact of amphibians and reptiles with humans. The risk of a Salmonellae infection of exotic pet keepers by its domestic animals can be substantially reduced by a hygienically perfect animal husbandry and a feeding with Salmonellae-free stuff.

Key words *Salmonella* sp., reptiles, amphibians, herpetology, veterinary microbiology.

Danksagung Die Autoren danken der BBSUA Graz unter ihrem früheren Direktor HR Dr. W. Thiel für die großzügige Kooperation, Dr. Werner Mayer (Naturhistorisches Museum Wien) für die organisatorische Unterstützung und Fr. Susanne Rudnicki für Ihre sorgfältige technische Assistenz.

Literatur

1. ANONYMOUS (1996):
Reptile-associated salmonellosis information page.
<http://www.xmission.com/~gastown/herpmed/salm.htm>. 1-8.
2. CHIODINI, R. J., SUNDBERG, J. P. (1981):
Salmonellosis in Reptiles: a review.
Am. J. Epidemiol. 113, 494-499.
3. FRANK, W. (1986):
Hygienic Problems and Pet Animals in the Federal Republic of Germany.
Zbl. Bakt. Hyg. B 183, 274-303.
4. GUMPENBERGER, M. (2000):
Reptilien und Salmonellen aus veterinärmedizinischer Sicht.
Mitt. Österr. Ges. Tropenmed. Parasitol. 22, 55-58.
5. KATSCHER, F. (2000):
Reptilien als Haustiere übertragen Salmonellen.
Wiener Zeitung 7./8., 12.
6. PFLEGER, S., BENYR, G., HASSL, A. (2002):
Pattern of Salmonella excretion in amphibians and reptiles.
(submitted).
7. WARD, L. (2000):
Salmonella perils of pet reptiles.
Commun. Dis. Public Health 3 (1), 2-3.
8. WARWICK, C., LAMBIRIS, A. J. L., WESTWOOD, D., STEEDMAN, C. (2001):
Reptile-related salmonellosis.
J. Royal Soc. Med. 94, 124-126.
9. WOKATSCH, R., ROHDE, R. (1979):
Salmonella-Stämme unterschiedlicher Subgenus-Zugehörigkeit bei Reptilien aus Zoologischen Gärten.
Zbl. Vet. Med. B 26, 174-183.
10. WOODWARD, D.L., KHAKHRIA, R., JOHNSON, W.M. (1997):
Human Salmonellosis associated with exotic pets.
J. Clin. Microbiol. 35, 2786-2790.