

Herausgegeben von L. Ellerbroek, H. Wichmann-Schauer, K.N. Mac

Methoden zur Identifizierung und Isolierung von Enterokokken und deren Resistenzbe- stimmung

Teilprojekt "Enterokokken" im Forschungsvorhaben des Fachbereiches 3 "Hygiene der Lebensmittel und Bedarfsgegenstände" des BfR, gefördert vom Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft (BMVEL)

Förderzeitraum: 01. Mai 2000 bis 30. April 2003

Impressum

BfR Wissenschaft

Herausgegeben von L. Ellerbroek, H. Wichmann-Schauer, K.N. Mac

Methoden zur Identifizierung und Isolierung von Enterokokken und deren Resistenzbestimmung

Bundesinstitut für Risikobewertung
Pressestelle
Thielallee 88-92
14195 Berlin

Berlin 2004 (BfR-Wissenschaft)
98 Seiten, 62 Abbildungen, 17 Tabellen
€ 5,-

Druck: Umschlag
Druck: Inhalt und buchbinderische Verarbeitung
BfR-Hausdruckerei Dahlem

ISSN 1614-3795 ISBN 3-931675-84-X

Inhalt

1	Einleitung	5
2	Material und Methoden	7
2.1	Probenahme	7
2.2	Enterokokken-Isolierung und Differenzierung (Anhang 1 und 2)	7
2.3	Bestimmung der Minimalen Hemmkonzentration (MHK)	8
2.4	Polymerase-Kettenreaktion (PCR, Anhang 3)	9
2.5	Pulsfeldgelelektrophorese (PFGE)	9
3	Ergebnisse	10
3.1	Enterokokken-Isolation aus verschiedenen Probenmaterialien	10
3.2	Enterokokken-Speziesverteilung aus den verschiedenen Probenmaterialien und Auswahl der Stämme für die MHK-Untersuchung	10
3.3	Erfassung des Vorkommens von Antibiotika-Resistenzen gegenüber 16 antimikrobiellen Substanzen bei Enterokokken tierischen Ursprungs	13
3.3.1	β-Laktam-Antibiotika	13
3.3.1.1	Ampicillin	13
3.3.1.2	Amoxicillin/Clavulansäure	16
3.3.1.3	Penicillin	18
3.3.2	Avilamycin	21
3.3.3	Bacitracin	24
3.3.4	Chloramphenicol	27
3.3.5	Enrofloxacin	30
3.3.6	Flavomycin	33
3.3.7	Gentamicin	36
3.3.8	Makrolide	39
3.3.8.1	Erythromycin	39
3.3.8.2	Tylosin	42
3.3.9	Glykopeptide	45
3.3.9.1	Teicoplanin	45
3.3.9.2	Vancomycin	48
3.3.10	Quinupristin/Dalfopristin (Synercid®)	51
3.3.11	Trimethoprim/Sulfamethoxazol	54
3.4	Antibiotika-Resistenzen der untersuchten <i>E. faecalis</i> - und <i>E. faecium</i> -Stämmen	54
3.4.1	Antibiotika-Resistenzen von <i>E. faecalis</i> -Stämmen	54
3.4.2	Antibiotika-Resistenzen von <i>E. faecium</i> -Stämmen	61
3.5	Molekularbiologische Charakterisierung von Enterokokken-Feldstämmen	66
3.5.1	Nachweis von Vancomycin-Resistenzgenen und Bestimmung der Spezies mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR)	66
3.5.2	Stammdifferenzierung von Enterokokken-Feldstämmen mittels Pulsfeldgelelektrophorese (PFGE)	69
4	Diskussion	72

4.1	Speziesbestimmung der Enterokokkenisolate	72
4.2	Antibiotika-Resistenzen bei Enterokokken	72
4.2.1	Beta-Laktame, Glykopeptide und Gentamicin	72
4.2.2	Tetrazykline	73
4.2.3	Makrolide	74
4.2.4	Quinupristin/Dalfopristin	74
4.2.5	Enrofloxacin, Chloramphenicol, Trimethoprim/Sulfamethoxazol	75
4.2.6	Bacitracin, Avilamycin und Flavomycin	75
4.3	Molekularbiologische Untersuchungen	76
5	Schlussfolgerungen	77
6	Zusammenfassung	78
7	Projektgebundene Arbeiten (Publikationen, Poster, Vorträge)	79
8	Literatur	81
9	Anhänge	86
Anhang 1:	Enterokokkenisolation und Speziesdifferenzierung	86
	a. Probennahme	86
	b. Speziesdifferenzierung	86
	c. Stammbezeichnung	89
	d. Referenzstämme	89
Anhang 2:	Bestimmung der Minimalen-Hemmstoff-Konzentration (MHK)	90
10	Abbildungsverzeichnis	92
11	Tabellenverzeichnis	97

1 Einleitung

Bakterien des Genus *Enterococcus* (*E.*) sind ubiquitär verbreitete Mikroorganismen und kommen im Magen-Darm-Trakt von Mensch und Tier vor. Sie besitzen eine Vielzahl von natürlichen und unter Umständen auch erworbenen Resistenzdeterminanten gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen und werden deshalb als Indikatorkeime für das Vorkommen von Antibiotika-Resistenzen, z.B. bei einer bestimmten Tierpopulation, herangezogen.

Weiterhin gelten sie als bedeutende Verursacher nosokomialer Infektionen und sind auf Grund ihrer Resistenzeigenschaften in der Humanmedizin gefürchtet, da sie die Bekämpfung dieser Infektionen erschweren bzw. verhindern können.

Die heute angewendeten antimikrobiell wirksamen Substanzen greifen die Bakterienzelle auf verschiedenste Weise an:

1. Hemmung der Zellwandsynthese (z.B. β -Laktame wie Penicilline und Glykopeptide wie Teicoplanin und Vancomycin)
2. Veränderung der Permeabilität der Zytoplasmamembran (z.B. Polypeptidantibiotika)
3. Störung der Proteinsynthese (z.B. Lincosamide, Makrolide, Chloramphenicol, Tetracycline und Aminoglykoside)
4. Blockierung der Nukleinsäuresynthese (z.B. Sulfonamide und Chinolone).

Diese Wirkmechanismen umgehen resistente Bakterien, indem sie den Wirkstoff selbst enzymatisch verändern, die Wirksubstanz aktiv aus der Zelle transportieren oder den Angriffsort des Antibiotikums modifizieren.

Die Resistenz kann entweder intrinsisch sein, d.h. sie ist chromosomal verankert, nicht übertragbar und bei allen oder den meisten Stämmen einer Spezies vorhanden. Die zweite Möglichkeit stellt der Erwerb von mobilen genetischen Elementen (z.B. Plasmiden und Transposons) dar, wobei Resistenzen von der Bakterienzelle aufgenommen und abgegeben werden können.

Für die Entstehung von Antibiotika-Resistenzen bei Enterokokken wird neben dem Einsatz von Antibiotika in der Humanmedizin auch die Anwendung von antimikrobiellen Wirkstoffen in der Nutztierhaltung verantwortlich gemacht. Eine Übertragung resistenter Mikroorganismen auf den Menschen kann sowohl durch direkten Kontakt als auch durch vom Tier stammende Lebensmittel stattfinden. Antibiotika-Resistenzgene von Enterokokken können im Magen-Darm-Trakt des Menschen auch auf die autochthone Bakterienpopulation übergehen.

Im Rahmen des Forschungsvorhabens „Erarbeitung von Methoden zur Identifizierung und Isolierung von Enterokokken und deren Resistenzbestimmung“ sollten

- 1) methodische Grundlagen zur Resistenzbestimmung bei Enterokokken und
- 2) Daten zum Vorkommen von Antibiotika-Resistenzen bei Enterokokken landwirtschaftlicher Nutztiere und aus Lebensmitteln erhoben werden.

Das Hauptaugenmerk im Forschungsvorhaben galt der Glykopeptid-Resistenz von Enterokokken-Feldstämmen. Das bis zum Jahre 1996 in der Tiermast angewandte Glykopeptid „Avoparcin“ wird als wesentliche Ursache für den Anstieg der Häufigkeit von Vancomycin-resistenten Enterokokken (VRE) angesehen. Eine Resistenz anderer pathogener Erreger, wie z.B. *Staphylococcus* (*S.*) *aureus*, gegen diese in der Humanmedizin verwendeten Reserve-Antibiotika hätte verheerende Folgen, da durch sie ein Therapieerfolg in Frage gestellt wäre. Tatsächlich wurde im Jahre 1997 der erste Fall eines Vancomycin-resistenten *S. aureus*-Stammes in Japan bekannt, der diese Befürchtungen bestätigte. In den vergangenen Jahren wurde deshalb die Zahl der zugelassenen Leistungsförderer in der Tiermast bis zum

heutigen Zeitpunkt in den EU-Ländern auf Flavomycin, Avilamycin, Salinomycin-Na und Monensin-Na reduziert, um das Risiko der Entstehung von Antibiotika-Resistenzen zu minimieren.

Folgende Fragestellungen sollten durch dieses Forschungsprojekt beantwortet werden:

1. Welche Vorgehensweise ist nötig, um eine Speziesdifferenzierung von Enterokokken-Isolaten aus Probenmaterial vom Tier und aus Lebensmitteln durchzuführen? Hier sollten biochemische und molekularbiologische Methoden herangezogen werden.
2. In welcher Häufigkeit können die unterschiedlichen Enterokokkenspezies wie *E. faecalis*, *E. faecium* und *E. gallinarum* aus den genannten Probenmaterialien isoliert werden? Können auf Grund ihrer Resistenzeigenschaften weitere Rückschlüsse auf die spezies-spezifische Frage der Resistenzsituation von Enterokokken getroffen werden?
3. Welche Antibiotika-Resistenzmuster finden sich bei den in Deutschland gewonnenen Enterokokken-Stämmen? Gibt es regionale Unterschiede der Enterokokken-Stämme aus Tier- und Lebensmittelproben in Bezug auf das Vorkommen von Antibiotika-Resistenzen? Existieren tierartspezifische Unterschiede bei den Resistenzmustern?
4. Welche Tendenzen lassen sich im Hinblick auf die Antibiotika-Resistenzsituation von Enterokokken seit dem Verbot des Avoparcin-Einsatzes im Jahre 1996 nachweisen? Ist eine Abnahme der Häufigkeit von VRE-Stämmen beim Tier und bei Lebensmitteln im betrachteten Untersuchungszeitraum 2000-2002 festzustellen?

2 Material und Methoden

2.1 Probenahme

Die Probenahme erfolgte in deutschen Schlachtbetrieben durch dort beschäftigte amtliche Tierärzte oder durch Mitarbeiter des Bundesinstitutes für Risikobewertung (BfR).

An den Schlachthöfen wurden Tupferproben frisch geschlachteter Masttiere (Schwein, Rind) sowohl vom Kot als auch von der Schlachtkörperoberfläche der Tiere entnommen, ins Labor transportiert und dort aufgearbeitet.

Beim Geflügel wurden auf den Schlachthöfen ganze Karkassen entnommen, von denen anschließend im Labor die Halshäute und Blinddärme untersucht wurden.

Weiterhin wurden in verschiedenen Regionen Deutschlands Lebensmittel tierischer Herkunft (z.B. Hackfleisch) eingekauft, um sie auf das Vorkommen von Enterokokken und deren Resistenzeigenschaften zu untersuchen. Dazu gehörten auch 21 Weichkäseproben unterschiedlicher Herkunft aus verschiedenen Berliner Lebensmittelgeschäften.

Tabelle 1: Anzahl beprobter Herden (Rinder, Schweine, Geflügel) bzw. Lebensmittelproben im Untersuchungszeitraum 2000-2002

Region	Probenart			
	Rinder	Schweine	Geflügel	Lebensmittel
Berlin/Brandenburg (BRB)	5	9	21	96
Sachsen-Anhalt (SA)	5	6	-	24
Sachsen (S)	5	-	-	4
Niedersachsen (NI)	21	6	18	3
Bayern (BY)	11	24	18	10
Schleswig-Holstein (SH)	9	12	-	11
Nordrhein-Westfalen (NRW)	4	22	-	17
Baden-Württemberg (BW)	-	18	-	1
Gesamt	60	97	57	166

2.2 Enterokokken-Isolierung und Differenzierung (Anhang 1 und 2)

Die Isolierung der Enterokokken erfolgte auf Citrat-Azid-Tween-Carbonat (CATC)-Nährmedium (Merck) mit und ohne Zusatz von 6 mg/l Vancomycin sowie teilweise nach Voranreicherung in Chromocult®-Enterokokken-Bouillon (Merck). Von jeder Selektivnährmediumplatte wurden bis zu drei verdächtige Kolonien unterschiedlicher Morphologie auf Blutnährmediumplatten überimpft und mittels mikrobiologischer und biochemischer Tests (Katalase, Pyrrolidonylarylamidase, Wachstum in Gegenwart von 6,5% NaCl) bestätigt. Die Speziesdifferenzierung erfolgte anhand biochemischer und mikrobiologischer Testreaktionen (Beweglichkeit, Pigmentbildung, Arginindihydrolase, Abbau von Pyruvat und Säureproduktion aus Ribose, L-Arabinose, Mannitol, Melezitose, Melibiose, Methyl- α -D-Glucopyranosid, Raffinose, Sorbitol und L-Sorbose).

Im Zweifelsfall erfolgte eine molekularbiologische Speziesbestimmung mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR).

2.3 Bestimmung der Minimalen Hemmkonzentration (MHK)

Die MHK wurde mittels Mikrobouillondilutionsverfahren (MID) gemäß den aktuellen Vorgaben des National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) und unter Verwendung von kommerziell erhältlichen, standardisierten MHK-Platten (Sensititre®-System, MCS-Diagnostics) bestimmt. Sie wurde an ausgewählten Stämmen durchgeführt. Zur Überprüfung der high-level Resistenz gegenüber Gentamicin sowie den Glykopeptiden Vancomycin und Teicoplanin kam zusätzlich der Etest® (AB Biodisk) zum Einsatz. Für die Einteilung in die Resistenzklassen wurden in der Literatur zugängliche Grenzwerte herangezogen (NCCLS 1999, 2001; DANMAP 2000; Aarestrup, 2000).

In Tabelle 2 sind die Grenzwerte für die 16 antimikrobiellen Wirkstoffe dargestellt, anhand derer die untersuchten Enterokokken-Stämme in die Resistenzklassen sensibel, intermediär oder resistent eingeteilt wurden. Neben 14 in der Human- und Veterinärmedizin eingesetzten Wirkstoffen wurden auch zwei bei Nutztieren eingesetzte Leistungsförderer (Flavomycin, Avilamycin) untersucht.

Tabelle 2: Grenzwerte zur Empfindlichkeitsbeurteilung von *Enterococcus* spp. im Rahmen der Bestimmung der Minimalen Hemmstoff-Konzentration (MHK)

antimikrobieller Wirkstoff	Grenzwert [$\mu\text{g/ml}$]			Referenz
	sensibel	intermediär	resistent	
Ampicillin (AMP)	= 8		= 16	NCCLS, 2001
Amoxicillin/Clavulansäure (AUG)	= 8*		= 16*	NCCLS, 2001
Avilamycin (AVL)			= 16	DANMAP, 2001
Bacitracin (BAC)			= 128	DANMAP, 2001
Chloramphenicol (CHL)	= 8		16 = 32	NCCLS, 2001
Enrofloxacin (ENRO)	= 0,5		1-2 = 4	NCCLS, 1999
Erythromycin (ERY)	= 0,5		1-4 = 8	NCCLS, 2001
Flavomycin (FLV)			= 16	DANMAP, 2001
Gentamicin** (GEN)			> 500	NCCLS, 2001
Penicillin (PEN)	= 8		= 16	NCCLS, 2001
Synercid*** (SYN)	= 1		2 = 4	NCCLS, 2001
Teicoplanin (TEI)	= 8		16 = 32	NCCLS, 2001
Tetrazyklin (TET)	= 4		8 = 16	NCCLS, 2001
Trimethoprim/Sulfamethoxazol (SXT)	16		32-64 128	DIN 58940 (2000)
Tylosin (TYL)			> 8	Aarestrup et al., 2000
Vancomycin (VAN)	= 4		8-16 = 32	NCCLS, 2001

* bezogen auf die Amoxicillinkonzentration

** Hier wird nur Hochresistenz betrachtet, da Enterokokken eine natürliche low-level Resistenz besitzen

*** besteht aus Quinupristin/Dalfopristin

Die Auswahl der Enterokokkenisolate für die MHK-Bestimmung erfolgte nach folgendem Verfahren: Pro Tupper- und Lebensmittelprobe wurde von den drei von CATC-Nährmedium isolierten Stämmen ein Vertreter jeder Spezies auf sein Antibiotika-Resistenzverhalten untersucht. Gehörten alle drei Stämme derselben Spezies an, gelangten nur ein Stamm zur weiteren Untersuchung, gehörten alle drei verschiedenen Enterokokkenspezies an, wurden alle drei Stämme weiter untersucht. Die von mit Vancomycin supplementierten CATC-Nährmedien isolierten Enterokokken-Stämme wurden nach dem selben Prinzip für die weitere Untersuchung ausgewählt, das heißt, es wurde jeweils ein Vertreter jeder Spezies aus einer Probe getestet.

2.4 Polymerase-Kettenreaktion (PCR, Anhang 3)

Zum Nachweis von Vancomycin-Resistenzgenen wurde eine bereits in der Literatur beschriebene PCR-Technik für Enterokokken-Feldstämme tierischen Ursprungs derart optimiert, dass damit eine Überprüfung der biochemischen Speziesdifferenzierung möglich war (Mac et al., 2001b). Dies erfolgte durch den Nachweis speziesspezifischer Genfragmente ($ddl_{E. faecium}$, $ddl_{E. faecalis}$, $vanC1?$ *E. gallinarum* und $vanC2?$ *E. casseliflavus*) der Enterokokken.

Für die PCR-Untersuchungen wurden solche Enterokokken-Stämme ausgewählt, deren Spezies mittels biochemischen Testverfahren nicht eindeutig bestimmt werden konnten.

Mit dieser PCR-Methode war es möglich, das Genus *Enterococcus* (Ke et al., 1999; Deasy et al., 2000) sowie die Vancomycin-Resistenzgene *vanA*, *vanB* und die genannten *vanC*-Gene zu bestimmen.

Im Jahre 2000 wurden auch Einzel-PCR-Untersuchungen bei ausgewählten Enterokokken-Stämmen durchgeführt, um die obengenannten Genfragmente zu bestimmen. Diese Einzel-PCR-Untersuchungen wurden in den darauffolgenden Jahren durch eine sogenannte Multiplex-PCR (MPCR) ersetzt, um alle Genfragmente gleichzeitig zu bestimmen.

Mit der Multiplex-PCR konnten nach einer erfolgreichen Methodenoptimierung vergleichbare und zuverlässige Resultate wie mit der Einzel-PCR-Untersuchung gewonnen werden (Mac et al., 2001a; 2002c). In den vorliegenden Untersuchungen wurden dafür 522 Enterokokken-Feldstämme ausgewählt, die in den Jahren 2001 und 2002 in verschiedenen Regionen Deutschlands gesammelt wurden.

2.5 Pulsfeldgelelektrophorese (PFGE)

Die PFGE-Methode gilt als "gold standard" für die Feindifferenzierung von Bakterien-Stämmen. In Anlehnung an eine Arbeitsvorschrift von Lemcke und Bülte (1998) wurde eine PFGE-Methode zur Feindifferenzierung von Enterokokken weiterentwickelt, so dass ausgewählte VRE-Stämme (18 von 27 VRE-Stämmen) auf mögliche Verwandtschaften untereinander untersucht werden konnten.

3 Ergebnisse

3.1 Enterokokken-Isolation aus verschiedenen Probenmaterialien

Aus den verschiedenen Probenmaterialien (Rind, Schwein, Geflügel und Lebensmittel) wurden insgesamt 1931 Enterokokken-Stämme isoliert. 414 Isolate stammten von Rindern, 481 von Schweinen, 568 von Geflügel und 468 von Lebensmitteln.

3.2 Enterokokken-Speziesverteilung aus den verschiedenen Probenmaterialien und Auswahl der Stämme für die MHK-Untersuchung

Die Speziesdifferenzierung der Enterokokken-Stämme wurde mit einem mikrobiologischen und biochemischen Differenzierungsschlüssel durchgeführt. Vor allem die Unterscheidung zwischen den Spezies *E. gallinarum* und *E. casseliflavus* gestaltete sich bei allen Probenmaterialien als schwierig, da diese beiden Spezies ein ähnliches biochemisches Verhalten zeigen. Auf Grund von intrinsischen *vanC*-Genen bei *E. gallinarum* und *E. casseliflavus* (*E. gallinarum*→*vanC1*, *E. casseliflavus*→*vanC2*) ist hier eine eindeutige Spezies-Differenzierung nur mittels PCR möglich.

Bei der biochemischen Differenzierung zeigten die Enterokokken-Stämme vom Geflügel häufig Reaktionen, die im Vergleich zu den meist eindeutigen Bestimmungen bei Enterokokken aus anderen Probenmaterialien eine Speziesbestimmung erschwerten.

Die Spezies *E. faecalis* wurde aus allen Materialien am häufigsten isoliert (n=905, 46%). Bei Probenmaterial vom Rind kamen *E. casseliflavus*-Stämme in einer größeren Häufigkeit vor (n=145, 35% aller Stämme isoliert aus Probenmaterial vom Rind). Dies könnte mit dem gehäufteten Vorkommen von *E. casseliflavus* bei Pflanzen in Verbindung stehen.

E. faecium-Stämme kamen bei Proben vom Geflügel und bei Proben vom Schwein (n=103, 18% der Stämme vom Geflügel; n=69, 14% der Stämme vom Schwein) häufiger vor als bei Probenmaterial von Rindern und aus Lebensmitteln (n=20, 5% der Stämme beim Rind; n=52, 11% der Stämme aus Lebensmittelproben).

Die beiden Spezies *E. durans* und *E. hirae*, die durch das biochemische Differenzierungsverfahren nicht sicher voneinander unterschieden werden konnten, wurden im vorliegenden Bericht gemeinsam betrachtet. Sie kamen mit unterschiedlichen Häufigkeiten in allen Probenmaterialien vor. Diese Stämme wurden überwiegend aus Probenmaterial von Schweinen und Geflügel (n=77, 16% der Stämme vom Schwein bzw. n=73, 13% der Stämme vom Geflügel) isoliert, während aus Probenmaterial vom Rind 44 (11%) und aus Lebensmitteln 22 (5%) Stämme dieser Spezies angezüchtet werden konnten.

E. avium-Stämme wurden seltener gefunden (n=17 von 1931 Stämmen, Häufigkeit bei allen Probenmaterialien in der Regel =1%).

Bei 67 Enterokokkenstämmen war eine eindeutige Spezieszuordnung aufgrund unregelmäßiger biochemischer Reaktionen nicht möglich. Vor allem 38 aus Lebensmitteln isolierte Enterokokkenstämme (8% aller isolierten Enterokokkenstämme aus Lebensmitteln) waren schwierig zuzuordnen. Es gelang trotz mehrfacher Wiederholungen der biochemischen Ansätze und der Untersuchung mittels PCR-Methode nicht, diese Stämme eindeutig zu bestimmen. Nach dem angewandten biochemischen Differenzierungsschlüssel entsprachen sie keiner bestimmten Spezies. Dennoch ergab eine Genusbestimmung mittels PCR-Methode, dass es sich bei diesen Stämmen um Enterokokken handelte.

Bei 860 Enterokokkenstämmen wurde eine Bestimmung der MHK-Werte für die 16 eingesetzten Wirkstoffe durchgeführt.

Ein besonderes Augenmerk lag auf den in der Humanmedizin bedeutsamen Enterokokkenspezies *E. faecium* sowie *E. faecalis*. Daneben wurden jedoch die häufig isolierten Stämme der *E. gallinarum*-Gruppe nicht vernachlässigt, weil diese Enterokokken als Ursache für Septikämien beim Menschen eine Rolle spielen können (van Goethem et al., 1994; Ratanasuwana et al., 1999; Reid et al., 2001; Dargere et al., 2002).

Tabelle 3 gibt die Gesamtzahl der isolierten Enterokokkenstämmen aus den einzelnen Probenmaterialien sowie die Anzahl der zur Antibiotika-Resistenz-Testung ausgewählten Stämme wieder.

Tabelle 3: Häufigkeiten unterschiedlicher Enterokokkenspezies in unterschiedlichen Probenmaterialien

		Probenmaterial			
		Rind	Schwein	Geflügel	Lebensmittel
Gesamtzahl der Stämme		414	481	568	468
Spezies					
<i>E. faecalis</i>	Anzahl positiv	152	196	238	319
	% positiv von Gesamtzahl	37	41	42	68
	Anzahl für MHK-Untersuchung	70	81	114	136
<i>E. faecium</i>	Anzahl positiv	20	69	103	54
	% positiv von Gesamtzahl	5	14	18	11
	Anzahl für MHK-Untersuchung	9	35	67	26
<i>E. durans/ E. hirae</i>	Anzahl positiv	44	77	73	23
	% positiv von Gesamtzahl	11	16	13	5
	Anzahl für MHK-Untersuchung	23	35	42	13
<i>E. gallinarum</i>	Anzahl positiv	47	78	86	10
	% positiv von Gesamtzahl	11	16	15	2
	Anzahl für MHK-Untersuchung	21	25	37	5
<i>E. casseliflavus</i>	Anzahl positiv	145	48	43	22
	% positiv von Gesamtzahl	35	10	8	5
	Anzahl für MHK-Untersuchung	59	20	26	10
<i>E. avium</i>	Anzahl positiv	1	3	11	2
	% positiv von Gesamtzahl	<1	<1	1	<1
	Anzahl für MHK-Untersuchung	0	0	0	0
<i>E. spp.*</i>	Anzahl positiv	5	10	14	38
	% positiv von Gesamtzahl	1	2	3	8
	Anzahl für MHK-Untersuchung	0	0	3	3

(Rind, Schwein, Geflügel, Lebensmittel) aus verschiedenen Regionen Deutschlands sowie Anzahl der jeweiligen Enterokokkenstämme für die MHK-Untersuchung

* Enterokokkenstämme ohne eindeutige Spezieszuordnung

3.3 Erfassung des Vorkommens von Antibiotika-Resistenzen gegenüber 16 antimikrobiellen Substanzen bei Enterokokken tierischen Ursprungs

3.3.1 β -Laktam-Antibiotika

3.3.1.1 Ampicillin

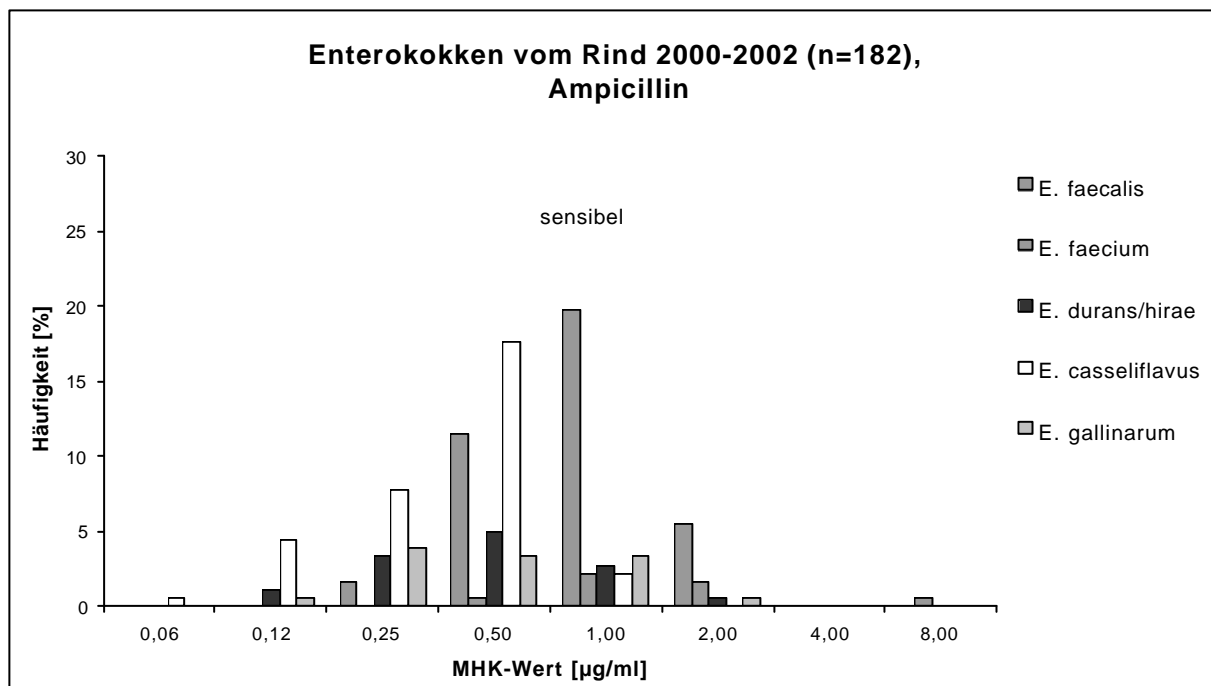
Die Ergebnisse der Resistenztestung gegenüber Ampicillin sind für alle untersuchten Enterokokkenstämme in den Abbildungen 1 bis 4 dargestellt. In Tabelle 4 sind die Resistenzmuster Ampicillin-resistenter Stämme aufgelistet. Auf eine grafische Darstellung resistenter Stämme wird hier verzichtet, da diese nur in Probenmaterial vom Geflügel (G) und Schwein (S) gefunden wurden.

Alle untersuchten Enterokokken-Isolate aus Rinder- sowie Lebensmittelproben zeigten eine Sensibilität gegenüber Ampicillin. Dies galt unabhängig von der Enterokokken-Spezies.

Nur ein einziger *E. faecium*-Stamm vom Schwein mit einer MHK von 64 $\mu\text{g/ml}$ erwies sich als Ampicillin-resistent. Dieser Stamm wurde im Jahr 2002 aus einer Herde in Baden-Württemberg isoliert. Alle weiteren isolierten Enterokokken-Stämme vom Schwein waren sensibel gegenüber Ampicillin.

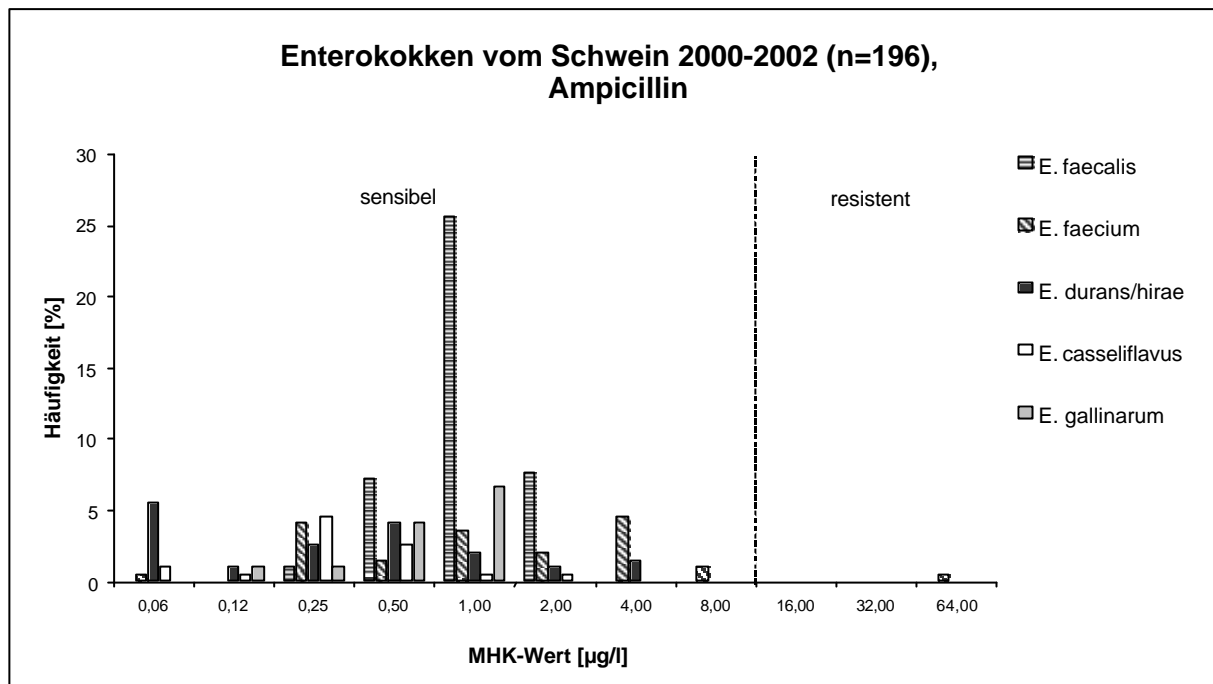
Die Zahl der Ampicillin-resistenten Geflügelstämme variierte in den drei Projektjahren. Mit 12 resistenten von insgesamt 67 untersuchten *E. faecium*-Stämmen war die Resistenzrate hier weitaus größer als bei Enterokokken aus den übrigen Probenmaterialien. Diese Enterokokken-Stämme wurden aus sechs verschiedenen Herden isoliert und waren mit weiteren Resistenzen gegen mehr als sechs Wirkstoffe wie z.B. Bacitracin, Amoxicillin/Clavulansäure oder Enrofloxacin ausgestattet.

Abbildung 1: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=182) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Rind gegenüber Ampicillin



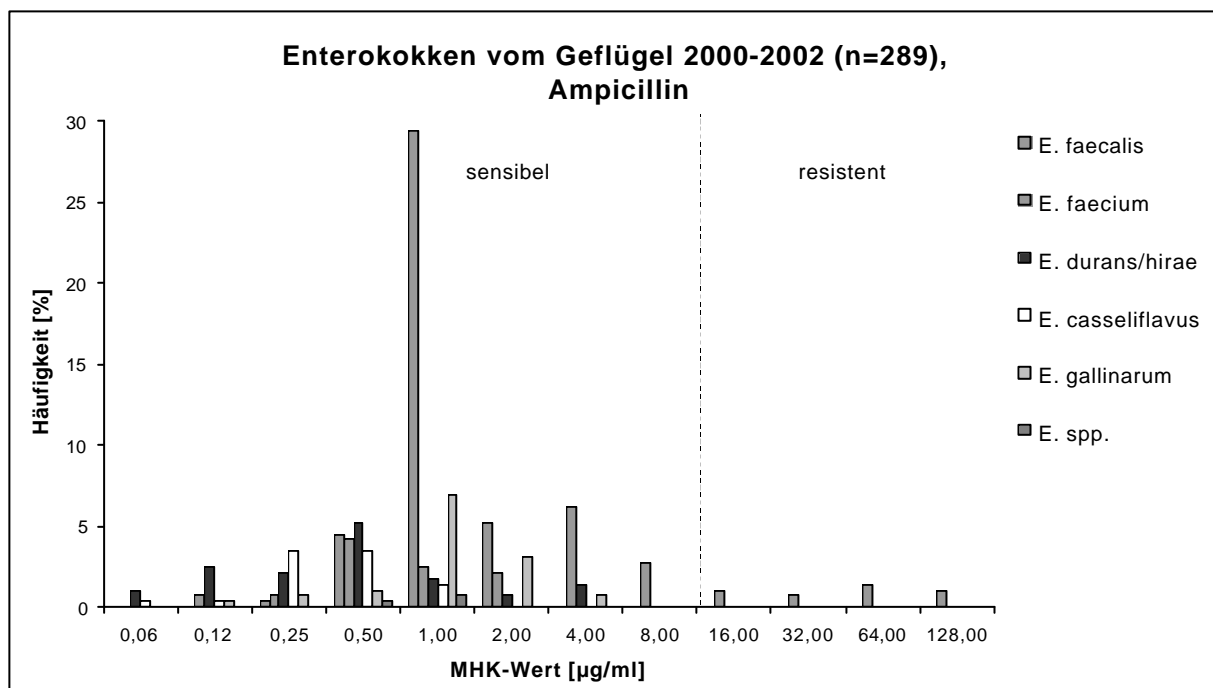
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 2: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=196) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Schwein gegenüber Ampicillin



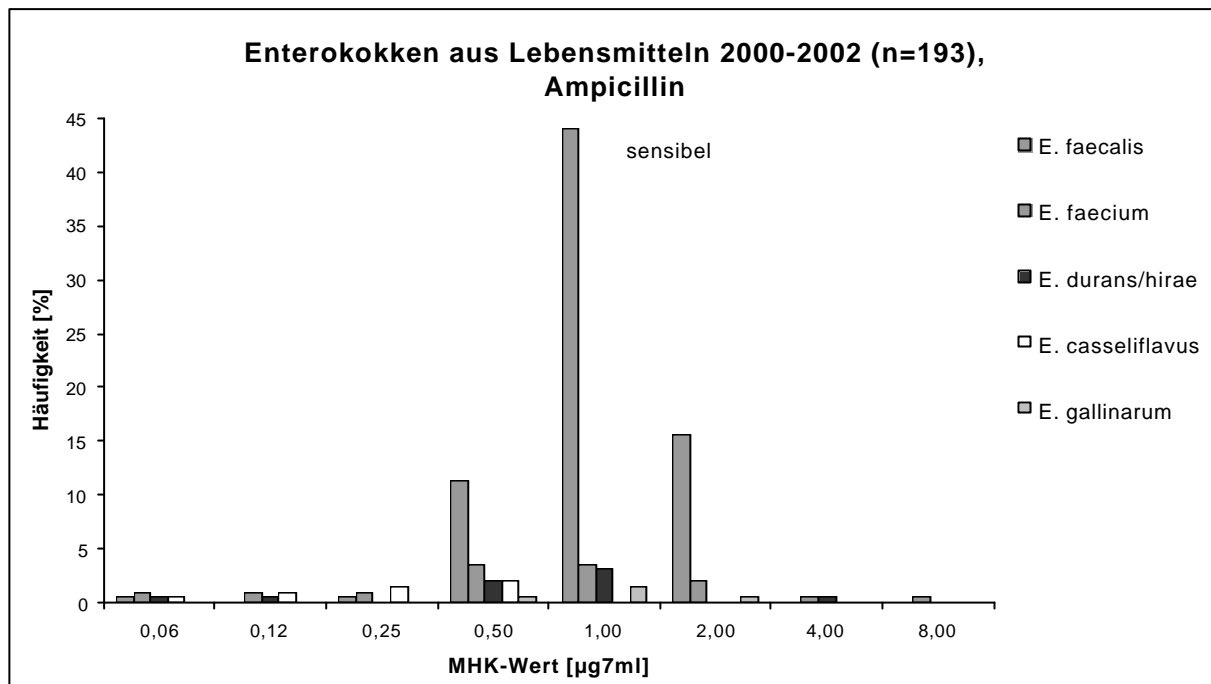
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 3: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=289) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Geflügel gegenüber Ampicillin



Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 4: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=193) isoliert aus Lebensmitteln gegenüber Ampicillin



Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Tabelle 4: Ampicillin-resistente Enterokokken-Feldstämmen von Geflügel (G) und Schwein (S) und ihre Antibiotika-Resistenzmuster

Stamm*	Spezies	Region	Resistenzmuster
G3Hc	<i>E. faecium</i>	BRB	AMP, AUG, BAC, ENRO, ERY, FLV, GEN, PEN, TET
G3Kb	<i>E. faecium</i>	BRB	AMP, AUG, BAC, ENRO, ERY, FLV, GEN, PEN, TET
G27Kc	<i>E. faecium</i>	NI	AMP, AUG, ENRO, FLV, GEN, PEN, TET,
G27Kva	<i>E. faecium</i>	NI	AMP, AUG, ENRO, FLV, GEN, PEN, TET, VAN
G27Hcva	<i>E. faecium</i>	NI	AMP, AUG, AVL, BAC, CHL, ENRO, ERY, FLV, GEN, PEN, SYN, TET,
G27KCvb	<i>E. faecium</i>	NI	AMP, AUG, ENRO, FLV, GEN, PEN, TET, VAN
G29KCvb	<i>E. faecium</i>	NI	AMP, AUG, ENRO, FLV, GEN, PEN, SYN, TET, VAN
G35Kb	<i>E. faecium</i>	BY	AMP, AUG, AVL, BAC, CHL, ENRO, ERY, FLV, GEN, PEN, SYN, TET,
G35Kvb	<i>E. faecium</i>	BY	AMP, AUG, AVL, BAC, CHL, ENRO, ERY, FLV, GEN, PEN, SXT, TET,
G44Hb	<i>E. faecium</i>	BRB	AMP, AUG, AVL, BAC, ENRO, ERY, FLV, GEN, PEN, TET
G53HCvb	<i>E. faecium</i>	BY	AMP, BAC, ENRO, ERY, FLV, GEN, PEN, TET
G53KCva	<i>E. faecium</i>	BY	AMP, BAC, ENRO, ERY, FLV, GEN, PEN, TET
S94Ka	<i>E. faecium</i>	BW	AMP, AUG, AVL, BAC, ENRO, ERY, FLV, GEN, PEN, SYN, TET

* Stammbezeichnung siehe Anhang 1

AMP: Ampicillin
CHL: Chloramphenicol
GEN: Gentamicin
VAN: Vancomycin

AUG: Amoxicillin/Clavulansäure
ENRO: Enrofloxacin
PEN: Penicillin

AVL: Avilamycin
ERY: Erythromycin
SYN: Synercid®

BAC: Bacitracin
FLV: Flavomycin
TET: Tetrazyklin

BY: Bayern

BW: Baden-Württemberg

NI: Niedersachsen

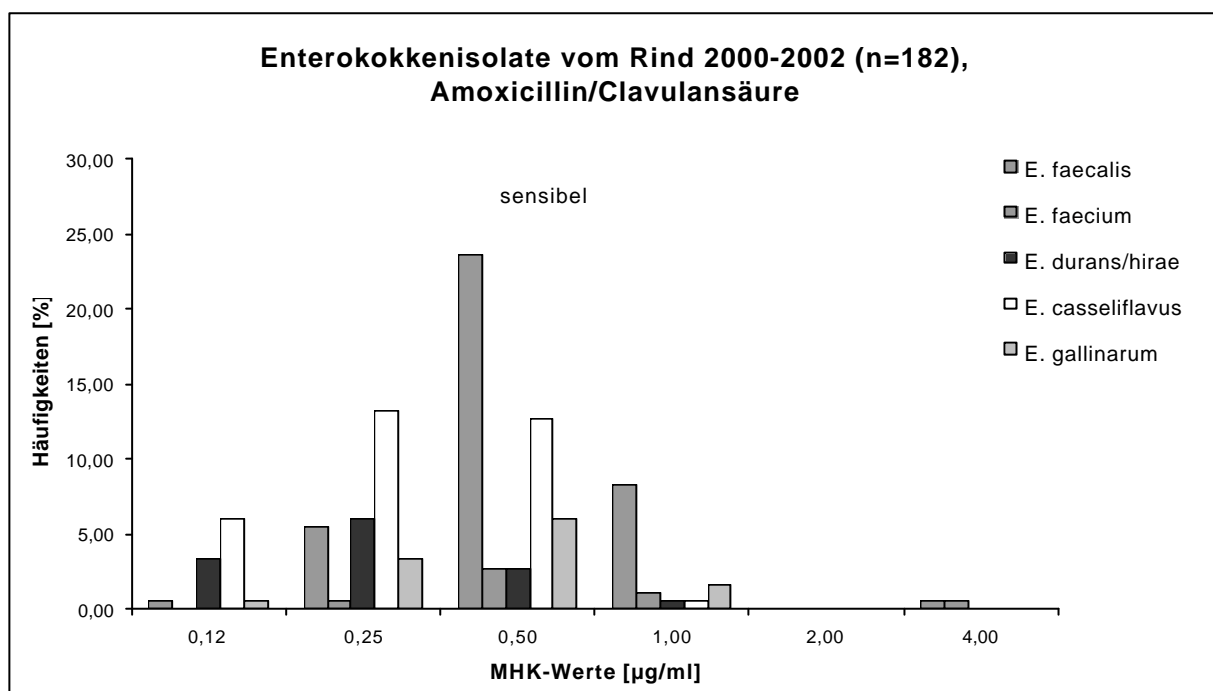
BRB: Berlin/Brandenburg

3.3.1.2 Amoxicillin/Clavulansäure

Die Ergebnisse der Resistenztestung gegenüber der Wirkstoffkombination Amoxicillin/Clavulansäure für alle untersuchten Enterokokkenstämme sind in den Abbildungen 5 bis 8 dargestellt.

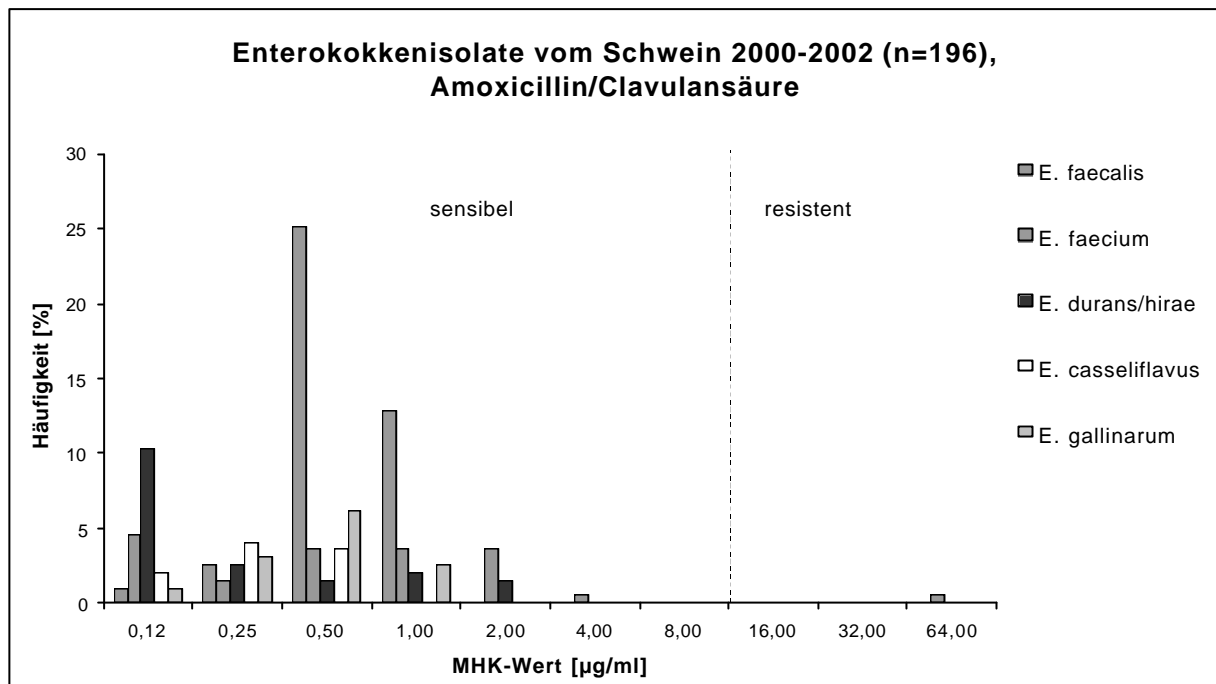
Alle Enterokokken-Stämme aus Probenmaterialien vom Rind und aus Lebensmitteln waren sensibel gegenüber Amoxicillin/Clavulansäure. Resistente Stämme wurden nur bei Enterokokken-Stämmen vom Schwein (n=1, 0,5% aller Stämme vom Schwein) und bei Geflügel (n=10, 3,4% aller Stämme vom Geflügel) nachgewiesen. Es handelte sich mit zwei Ausnahmen (G53Hvb und G53KCva) um die in Tabelle 4 aufgelisteten Stämme, die alle der Spezies *E. faecium* zugeordnet wurden.

Abbildung 5: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=182) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Rind gegenüber der Wirkstoffkombination Amoxicillin/Clavulansäure



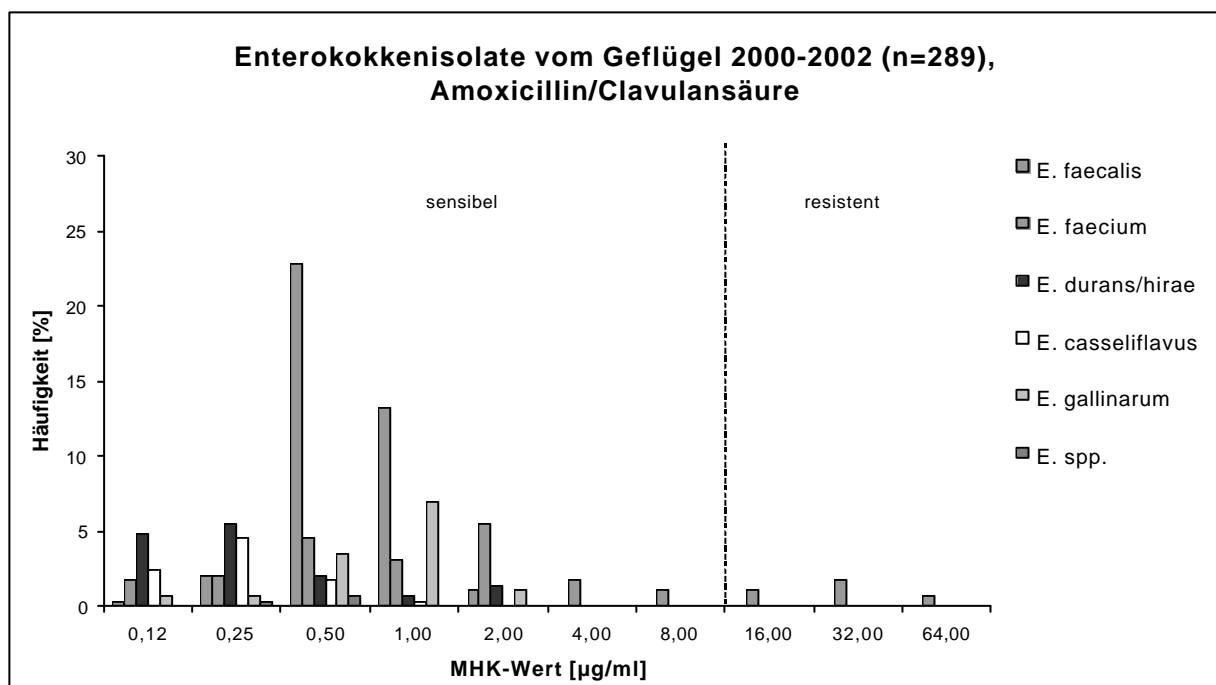
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 6: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=196) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Schwein gegenüber der Wirkstoffkombination Amoxicillin/Clavulansäure



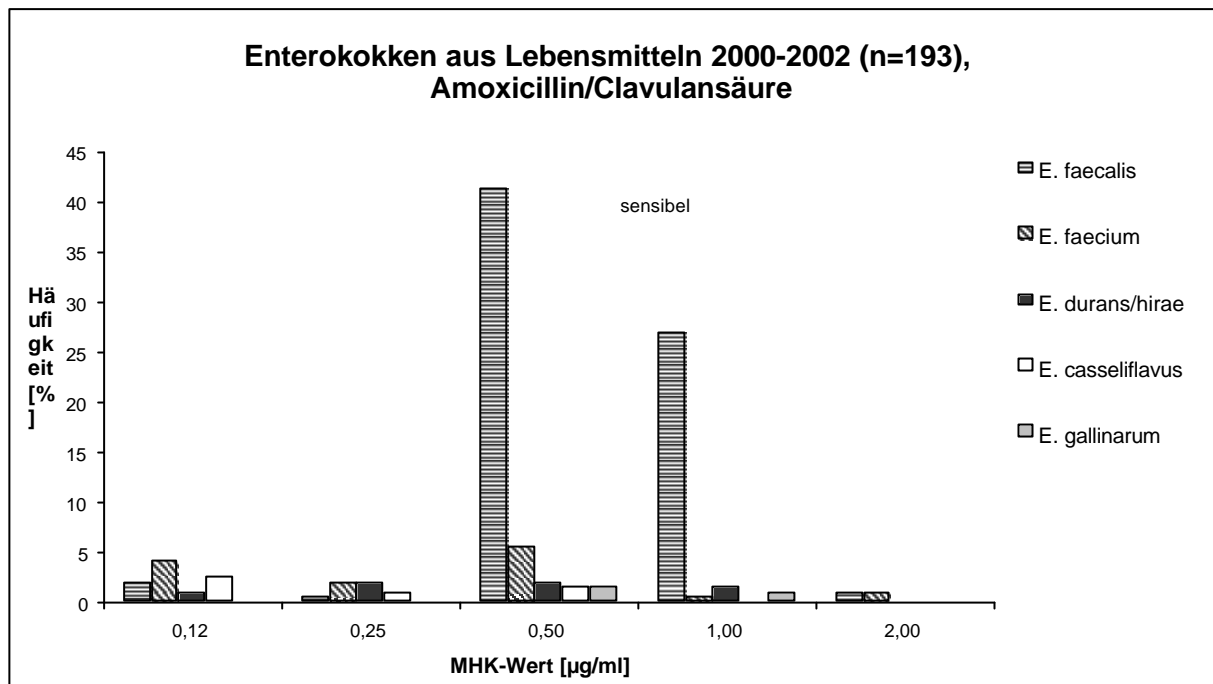
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 7: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=289) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Geflügel gegenüber der Wirkstoffkombination Amoxicillin/Clavulansäure



Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 8: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=193) isoliert aus Lebensmitteln gegenüber der Wirkstoffkombination Amoxicillin/Clavulansäure



Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

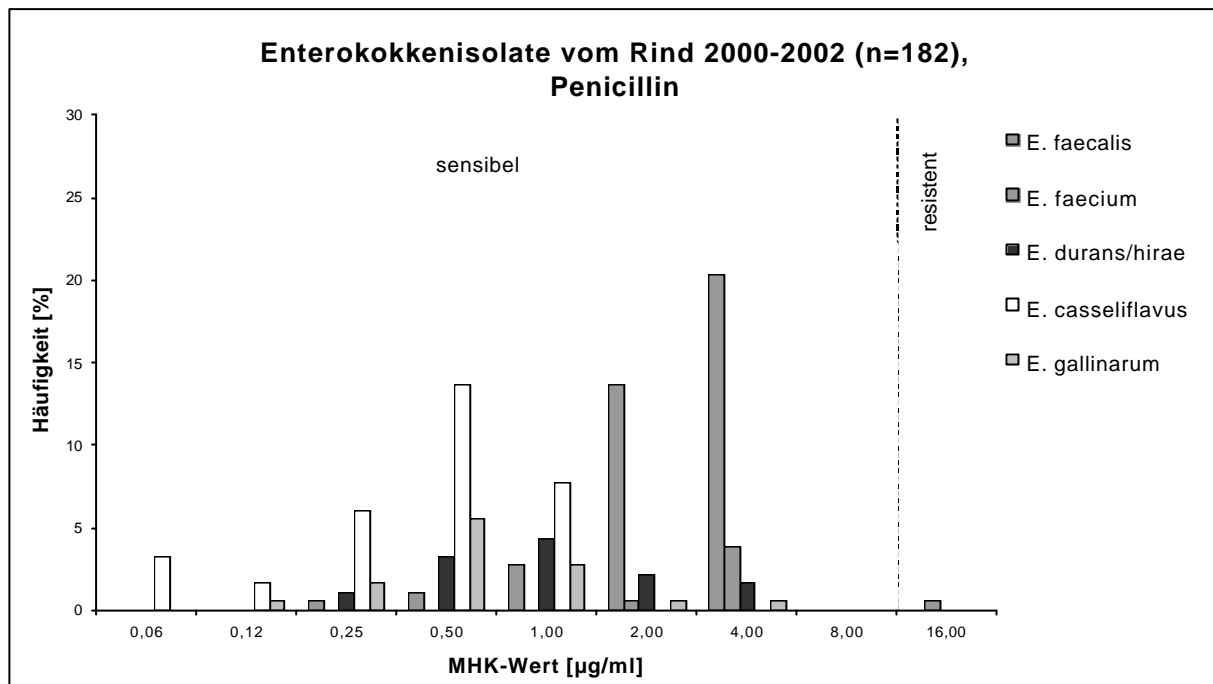
3.3.1.3 Penicillin

Die Abbildungen 9 bis 12 geben das Resistenzverhalten der untersuchten Enterokokken-Feldstämme gegenüber Penicillin grafisch wieder, während Abbildung 13 das Resistenzverhalten aller Penicillin-resistenten Stämme zusammenfasst.

Eine Penicillinresistenz wurde bei 54 (6,3%) Enterokokken-Feldstämmen nachgewiesen, die in fast allen Fällen zur Spezies *E. faecium* (n=48) und in geringerem Umfang zur Spezies *E. durans/hirae* (n=6) gehörten. Da *E. faecium*-Stämme am häufigsten aus Geflügelproben isoliert werden konnten und viel seltener in den anderen Probenmaterialien vorkamen, dominierten hier Enterokokken-Stämme vom Geflügel. Im Jahr 2002 wurde vergleichsweise nur ein einziger Penicillin-resistenter *E. faecium*-Stamm vom Rind isoliert, während im selben Jahr 16 Penicillin-resistente Enterokokken-Stämme bei Probenmaterialien vom Geflügel nachgewiesen wurden.

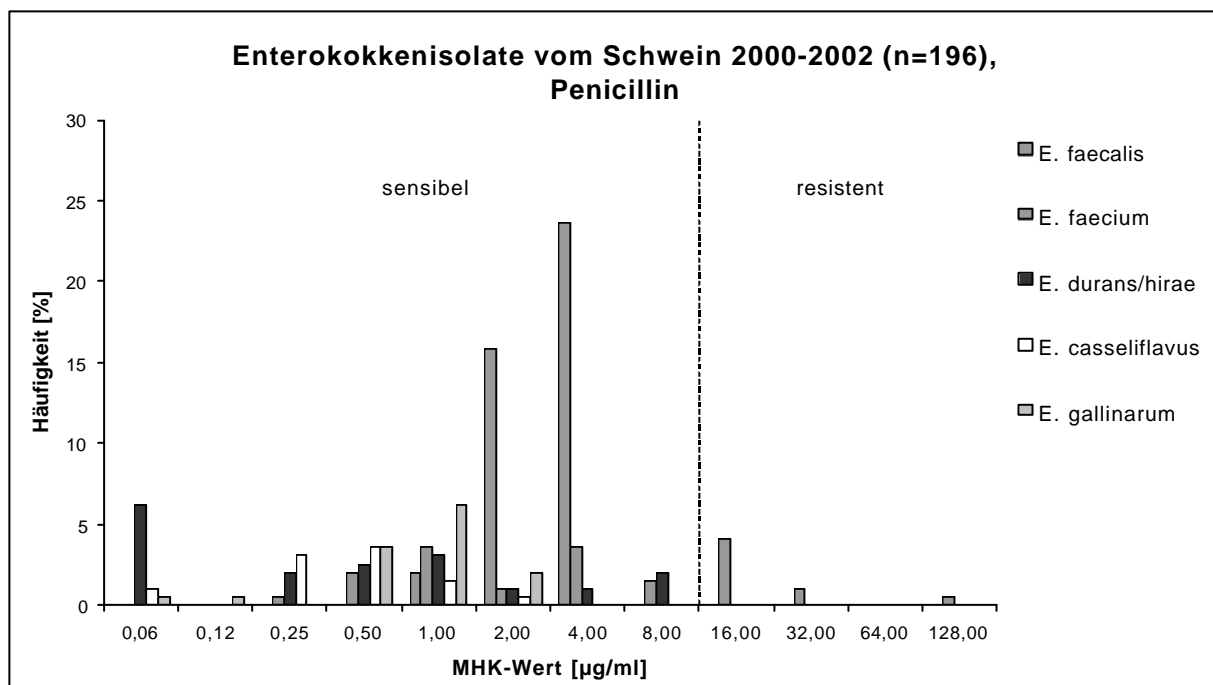
Resistente Enterokokkenstämmen vom Rind und aus Lebensmitteln unterschieden sich durch ihre niedrigen MHK-Werte (16-32 µg/ml) von den resistenten Stämmen, die aus Proben vom Schwein und Geflügel (16 bis über 128 µg/ml) isoliert werden konnten.

Abbildung 9: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=182) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Rind gegenüber Penicillin



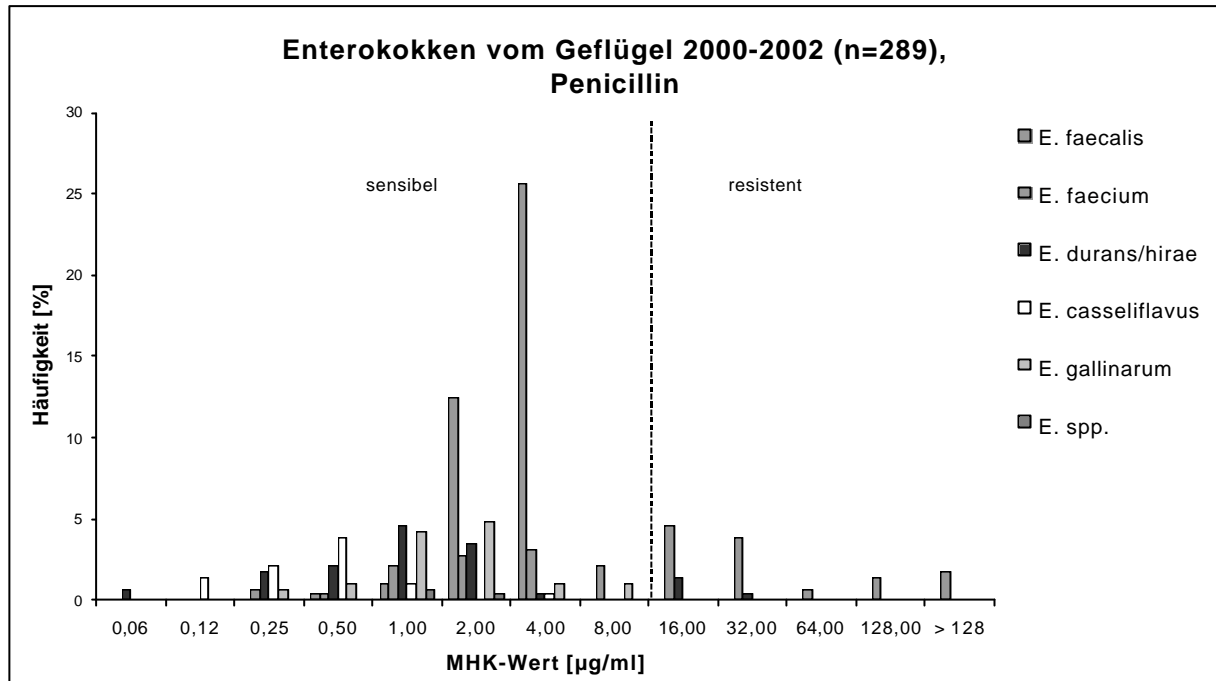
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 10: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=196) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Schwein gegenüber Penicillin



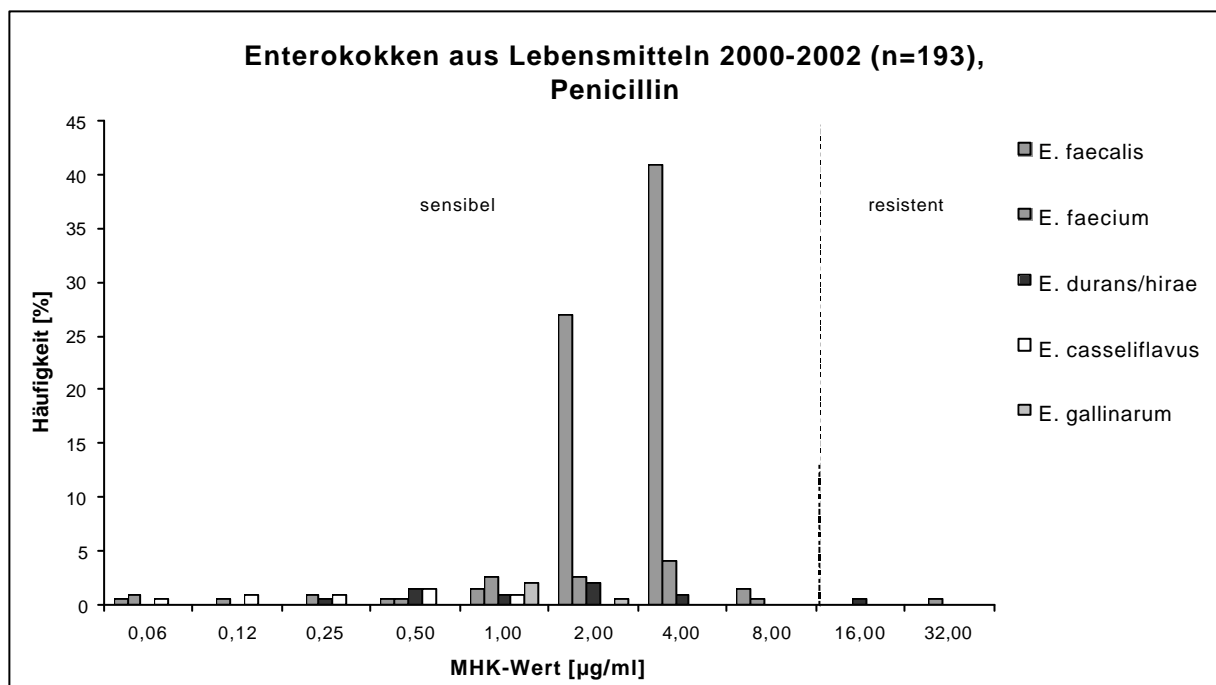
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 11: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=289) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Geflügel gegenüber Penicillin



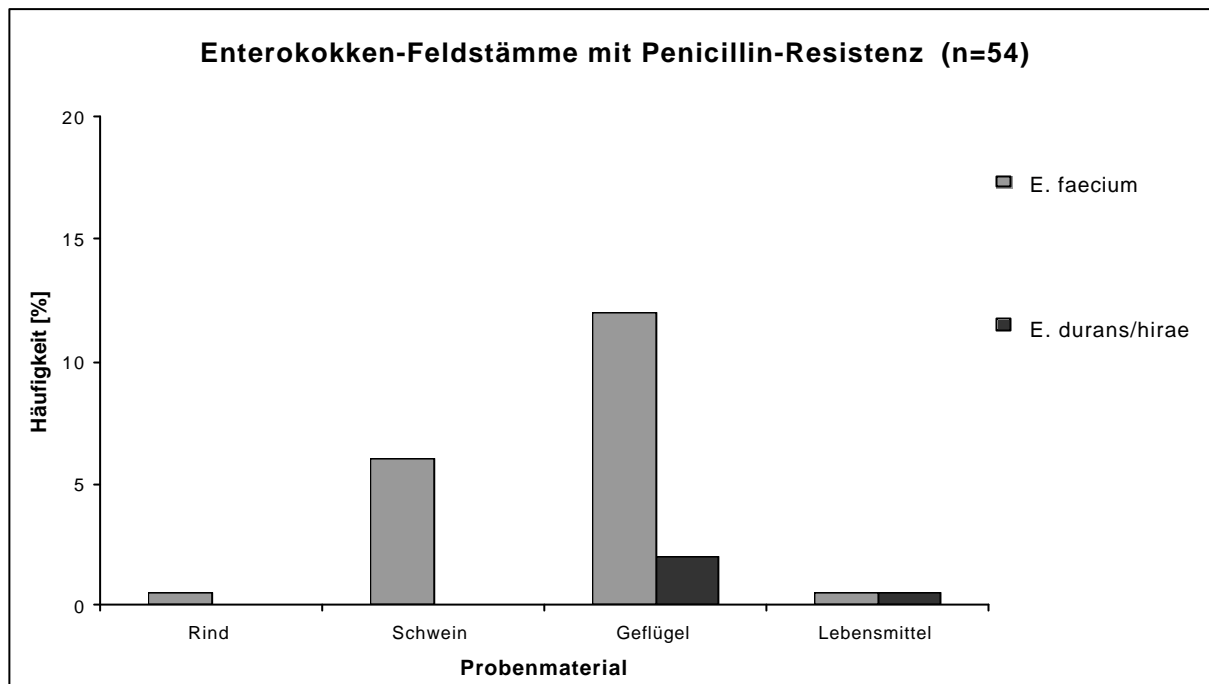
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 12: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=193) isoliert aus Lebensmittelproben gegenüber Penicillin



Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 13: Häufigkeit der Penicillinresistenz bei Enterokokken-Feldstämmen vom Rind, Schwein, Geflügel und aus Lebensmitteln im Untersuchungszeitraum 2000-2002



Die Prozentangaben beziehen sich auf die Gesamtzahl an untersuchten Stämmen isoliert aus den jeweiligen Probenmaterialien.

3.3.2 Avilamycin

Die Abbildungen 14 bis 17 geben das Resistenzverhalten von Enterokokken-Feldstämmen vom Rind, Schwein, Geflügel sowie aus Lebensmitteln gegenüber Avilamycin wieder. Die Abbildung 18 fasst alle Avilamycin-resistenten Enterokokkenstämme zusammen, die aus den einzelnen Probenmaterialien im Untersuchungszeitraum 2000-2002 isoliert wurden.

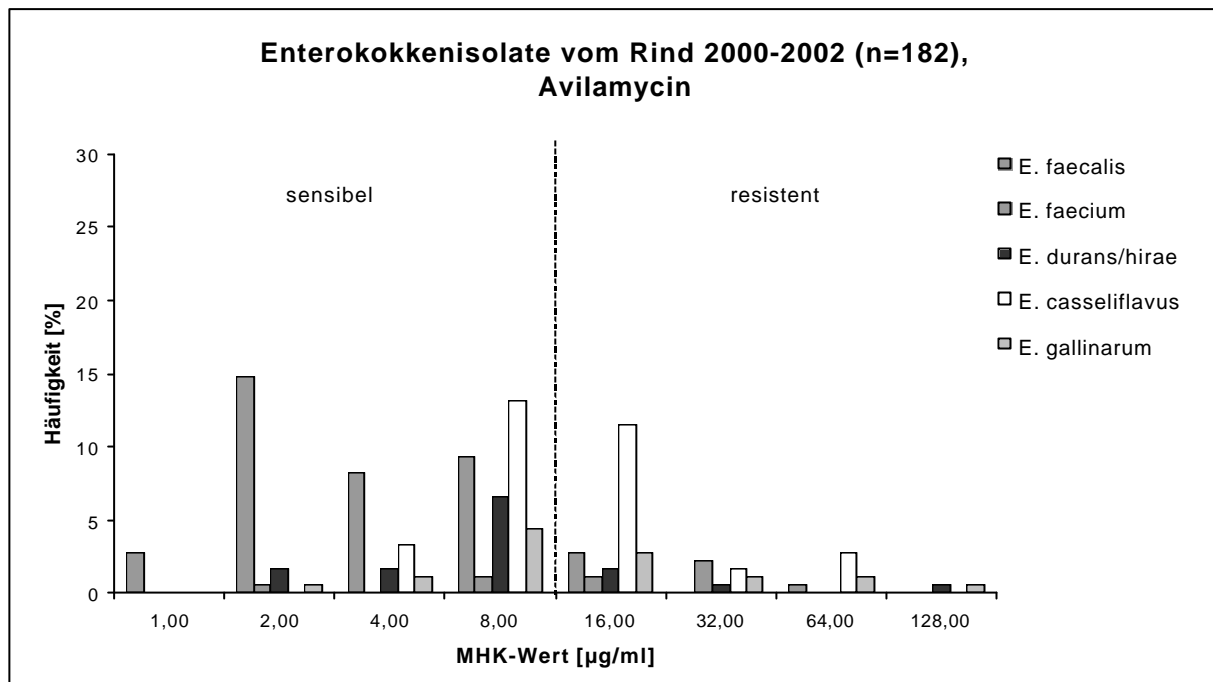
Insgesamt zeigten 255 Enterokokken-Stämme eine Resistenz gegenüber dem Leistungsförderer Avilamycin (30% aller untersuchten Stämme). Bei den Stämmen aus Geflügel- und Schweineproben zeigten vor allem die Stämme der *E. faecium*-Gruppe (*E. faecium*, *E. durans* und *E. hirae*) ein resistentes Verhalten gegen Avilamycin. Die Resistenzrate dieser zusammengefassten Spezies lag bei den genannten Probenmaterialien zwischen 20-21%.

Bei Stämmen aus Rinderproben stach die Spezies *E. casseliflavus* (n=29, 16% aller Isolate) mit einer Resistenz gegen diesen Wirkstoff hervor.

Unter den aus Lebensmittelproben isolierten Stämmen dominierten Avilamycin-sensible Stämme (n=170, 88%).

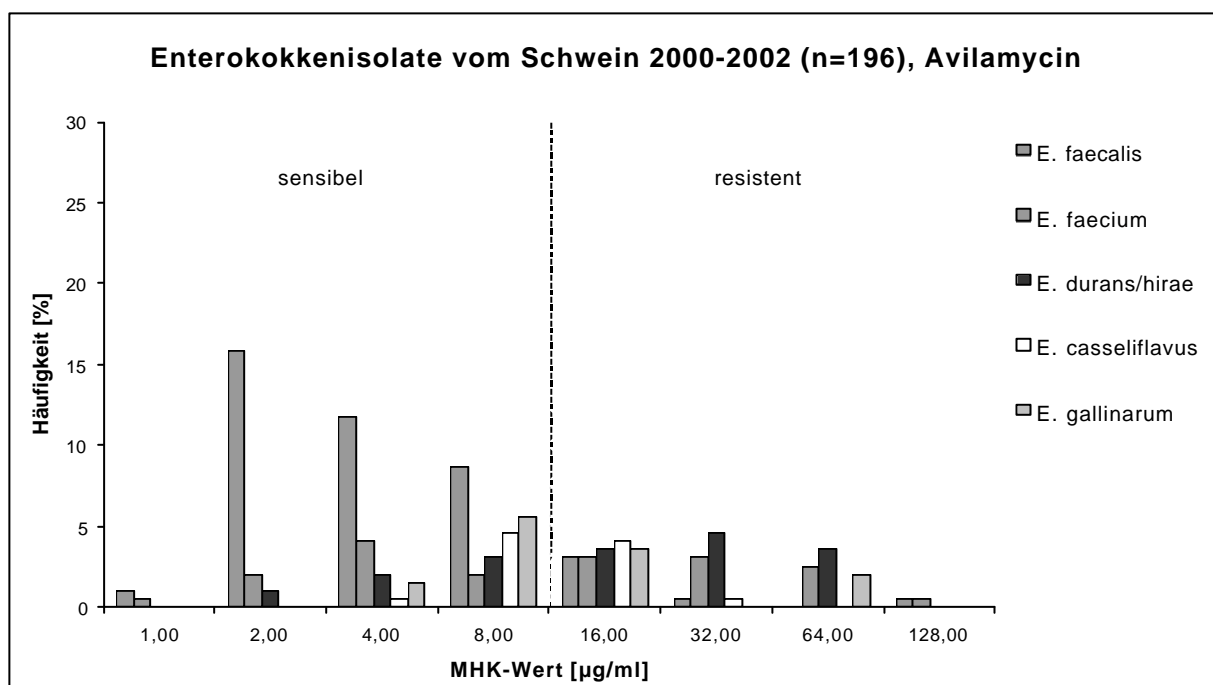
Insgesamt lag die Resistenzrate von *E. gallinarum*-Stämmen bei den einzelnen Probenmaterialien zwischen 2-5%.

Abbildung 14: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=182) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Rind gegenüber Avilamycin



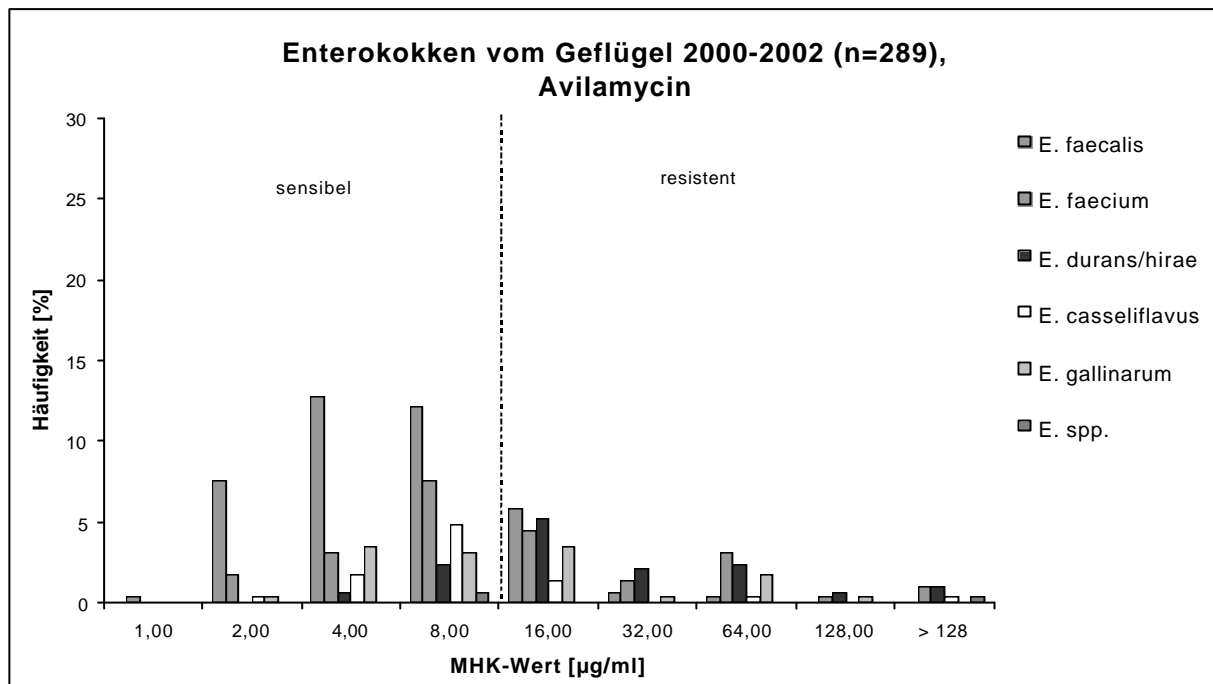
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 15: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=196) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Schwein gegenüber Avilamycin



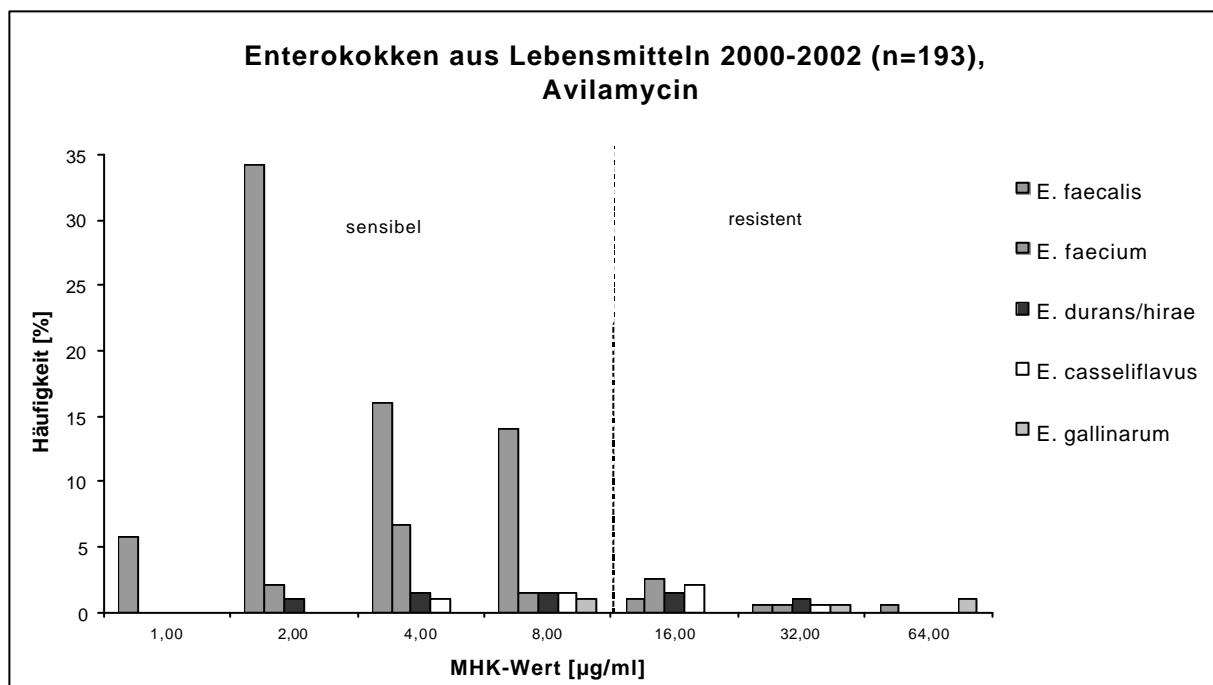
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 16: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=289) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Geflügel gegenüber Avilamycin



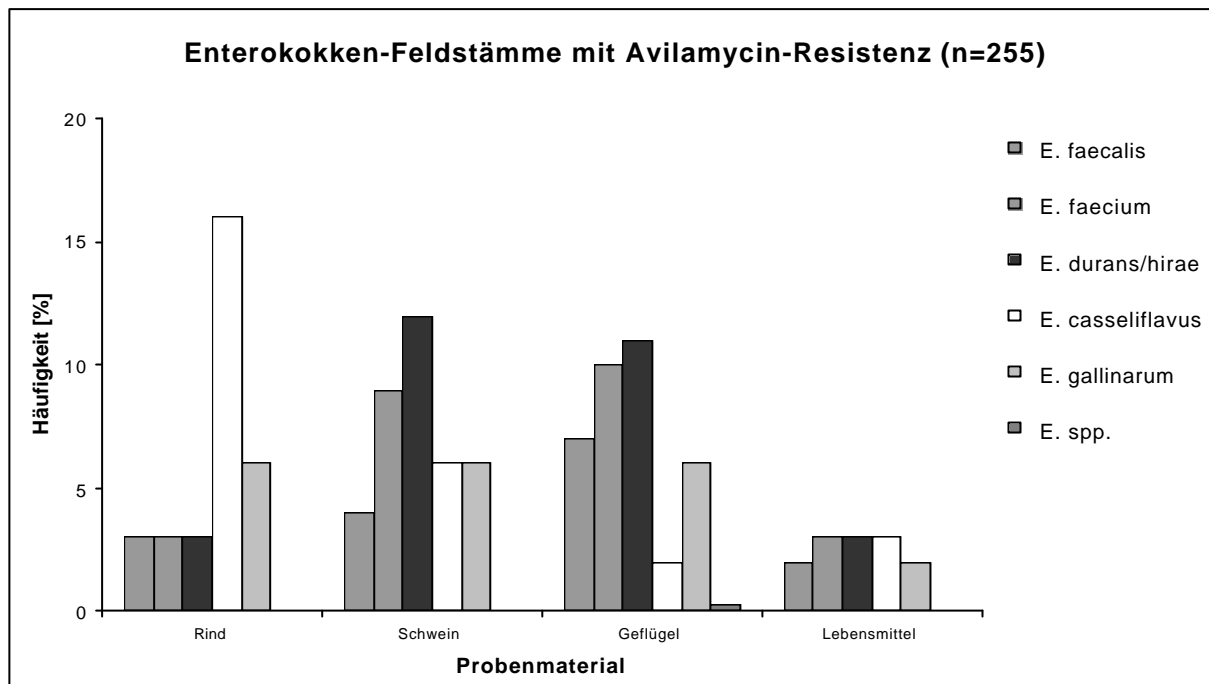
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 17: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=193) isoliert aus Lebensmitteln gegenüber Avilamycin



Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 18: Häufigkeit der Avilamycin-Resistenz bei Enterokokken-Feldstämmen vom Rind, Schwein, Geflügel und aus Lebensmitteln im Untersuchungszeitraum 2000-2002



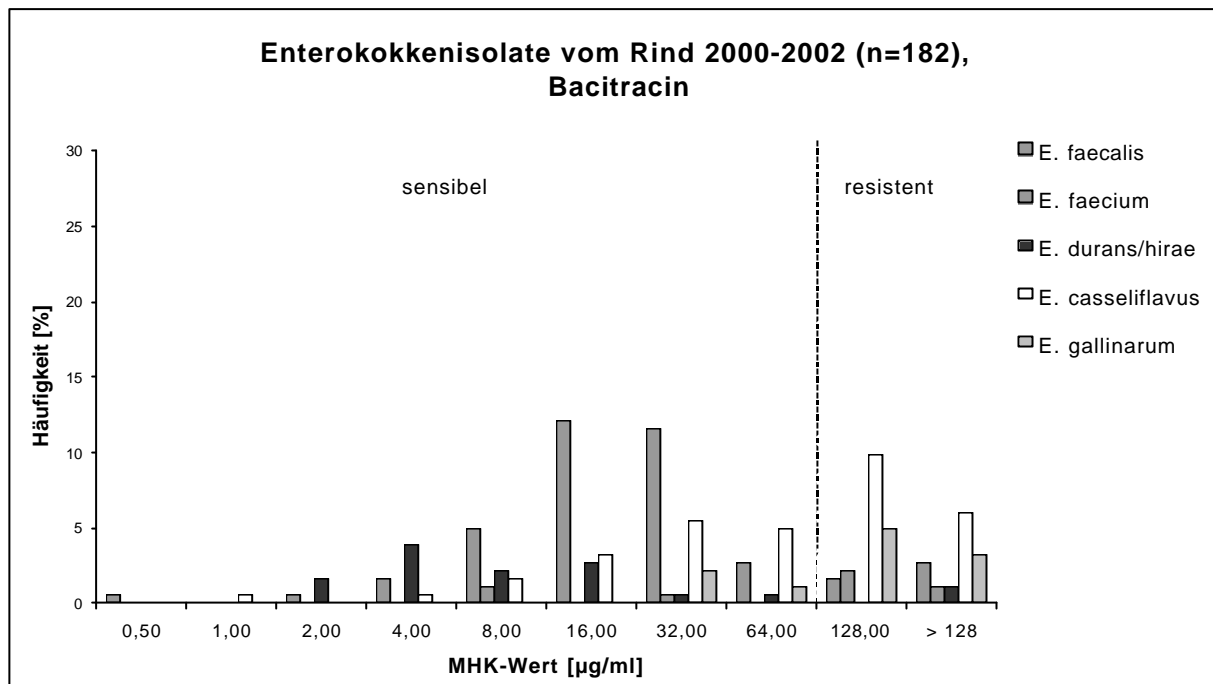
Die Prozentangaben beziehen sich auf die Gesamtzahl aller untersuchten Stämme isoliert aus den jeweiligen Probenmaterialien.

3.3.3 Bacitracin

Die MHK-Wertverteilungen der untersuchten Enterokokken-Feldstämmen gegenüber dem Wirkstoff Bacitracin sind in den Abbildungen 19 bis 22 wiedergegeben, während Abbildung 23 alle Bacitracin-resistenten Stämme zusammenfasst.

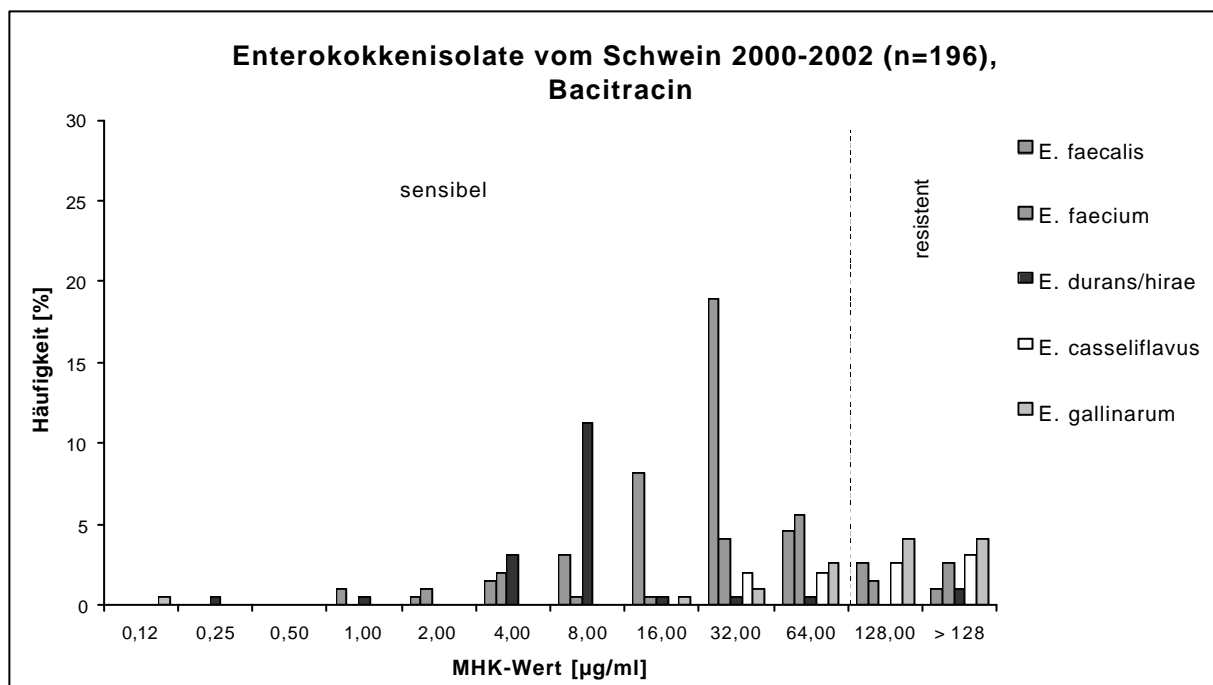
Aus allen Probenmaterialien konnten Bacitracin-resistente Stämme isoliert werden, die jeweils unterschiedlichen Spezies zugeordnet wurden. Resistente Stämme wurden am häufigsten in Geflügelproben gefunden (n=185, 64% aller Isolate), wobei hier *E. faecium*- und *E. faecalis*-Stämme überwogen (n=58, 20% aller Isolate bzw. n=54, 18,7% aller Isolate). Aus anderen Probenmaterialien konnten seltener Bacitracin-resistente Stämme nachgewiesen werden. Die niedrigste Bacitracin-Resistenzrate wurde bei Enterokokken-Stämmen aus Lebensmittelproben gefunden (n=22, 11,4% aller Stämme).

Abbildung 19: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=182) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Rind gegenüber Bacitracin



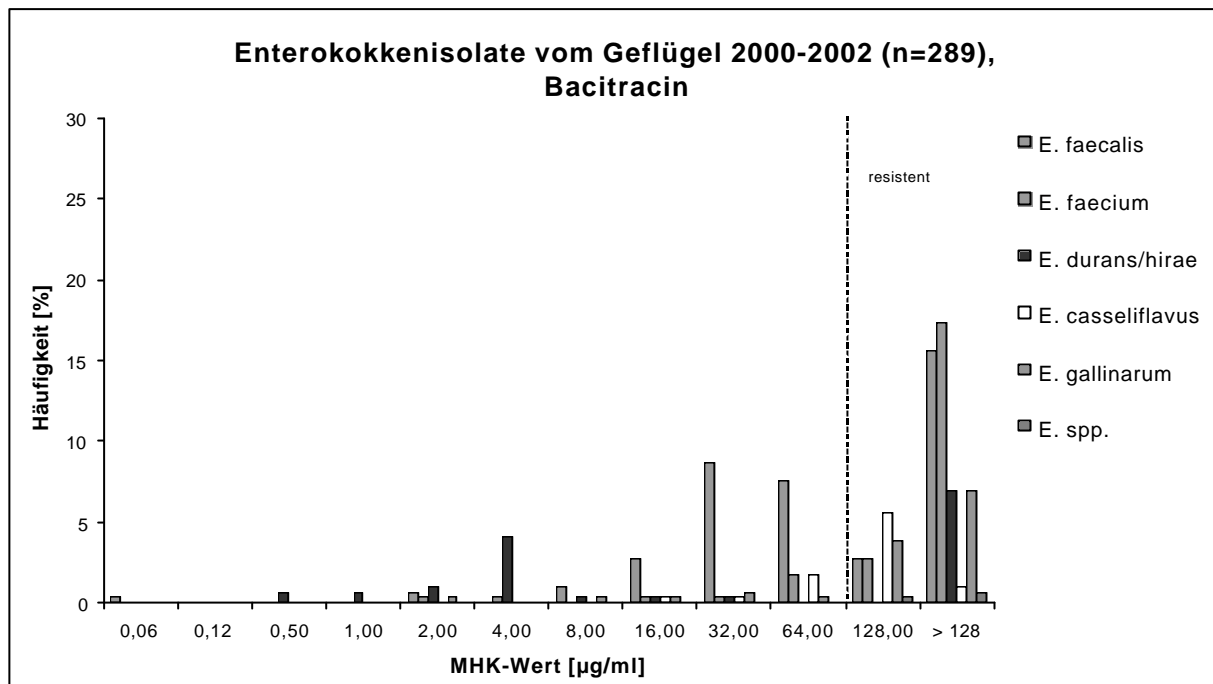
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 20: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=196) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Schwein gegenüber Bacitracin



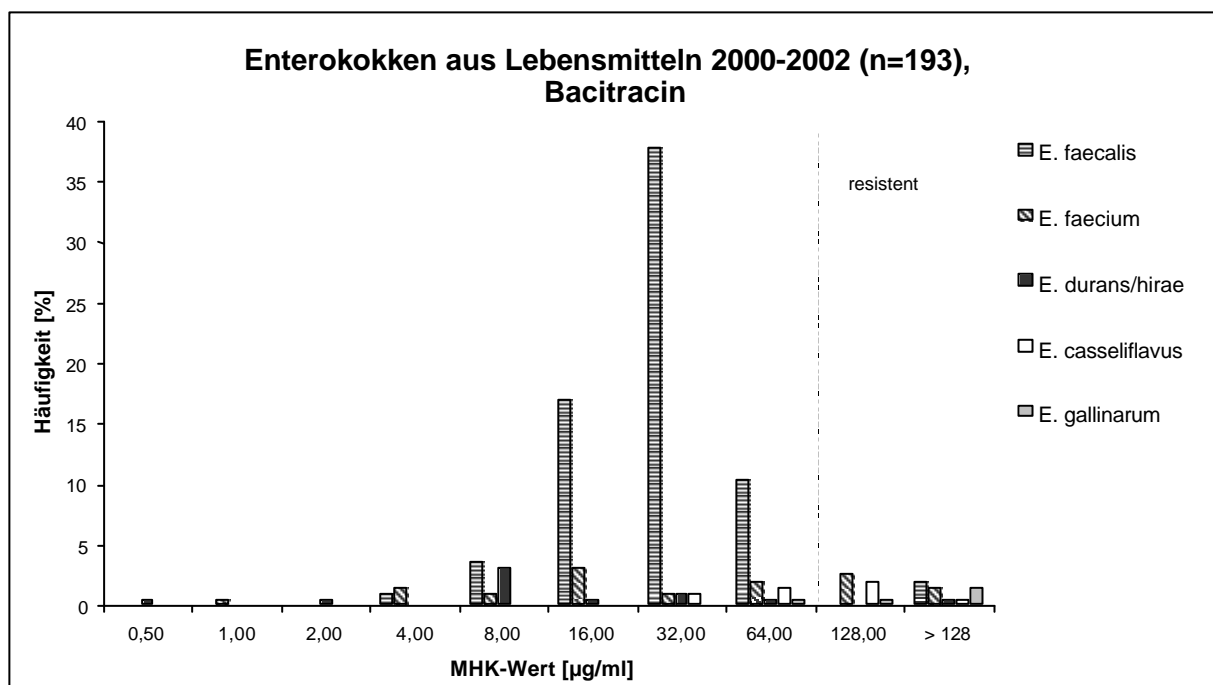
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 21: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=289) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Geflügel gegenüber Bacitracin



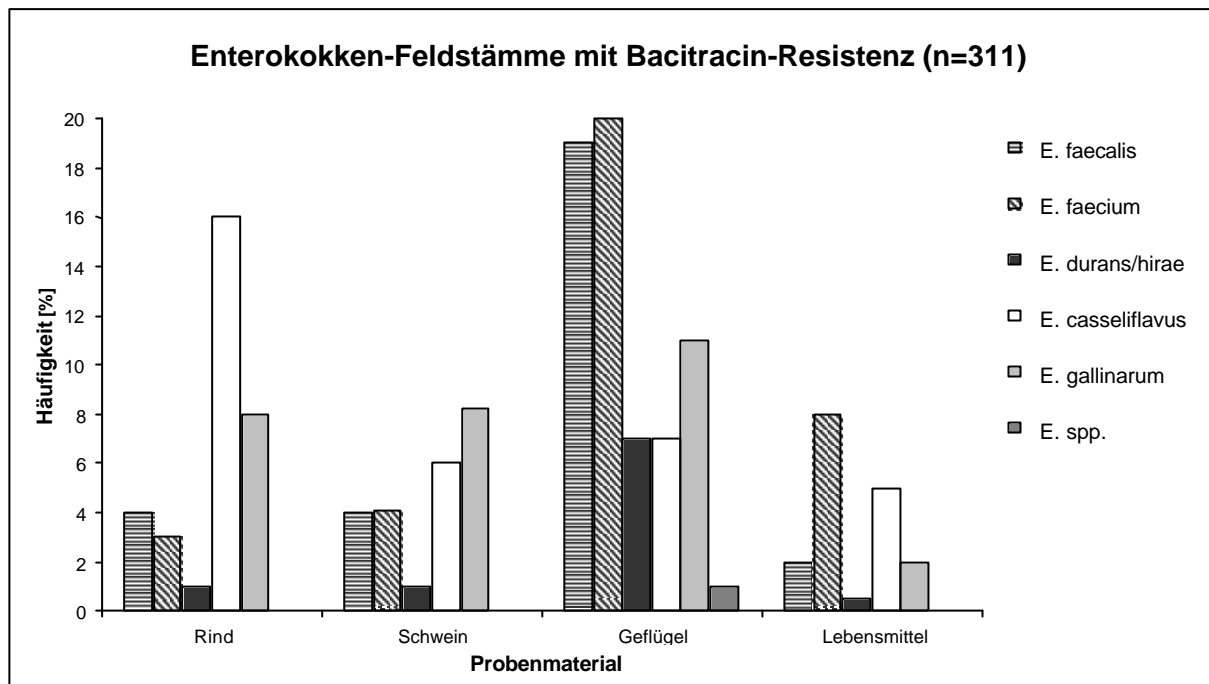
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 22: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=193) isoliert aus Lebensmitteln gegenüber Bacitracin



Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 23: Häufigkeit der Bacitracin-Resistenz bei Enterokokken-Feldstämmen vom Rind, Schwein, Geflügel und von Lebensmitteln im Untersuchungszeitraum 2000-2002



Die Prozentangaben beziehen sich auf die Gesamtzahl an untersuchten Stämmen isoliert aus den jeweiligen Probenmaterialien.

3.3.4 Chloramphenicol

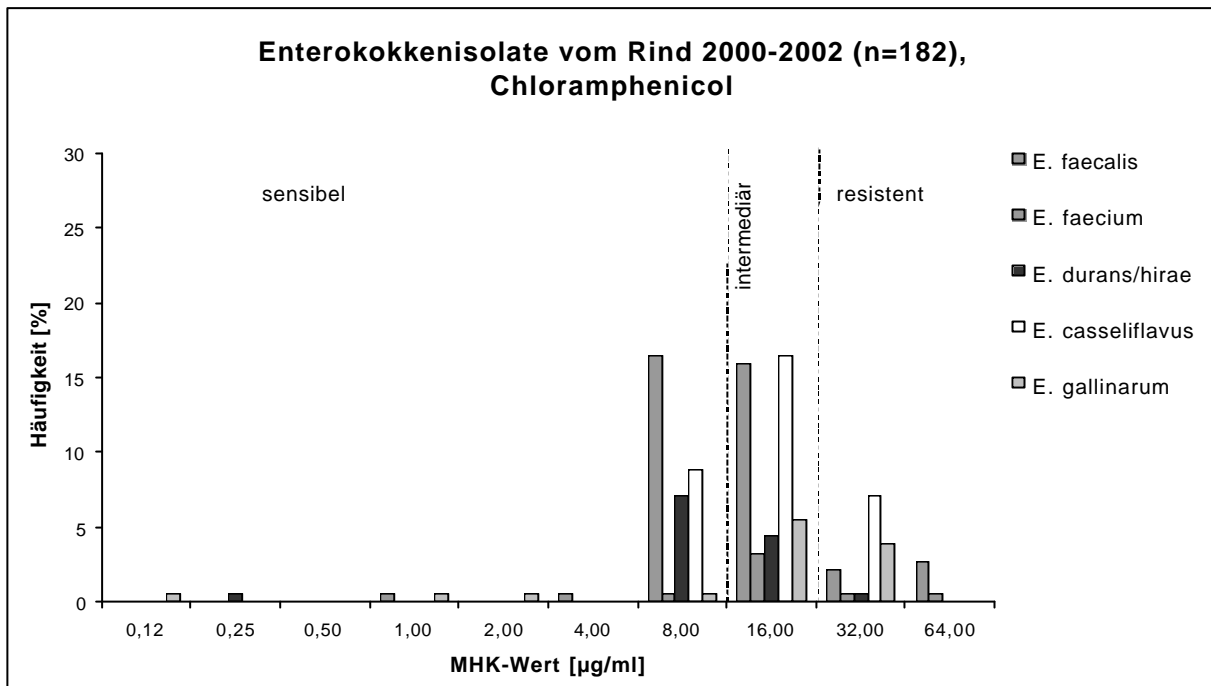
Das Resistenzverhalten der untersuchten Enterokokken-Feldstämmen gegenüber dem Wirkstoff Chloramphenicol ist in den Abbildungen 24 bis 26 dargestellt; die Abbildung 27 gibt alle Chloramphenicol-resistenten Stämme aus den einzelnen Probenmaterialien wieder.

Insgesamt wurden aus den Proben 153 (17,8% aller Isolate) Chloramphenicol-resistente Enterokokken-Feldstämmen nachgewiesen. Die dominierende Chloramphenicol-resistente Spezies sowohl bei allen Tierarten als auch bei Lebensmitteln war *E. faecalis* (10% in Geflügelproben, 7,1% in Schweineproben, 6,7% in Lebensmittelproben, 4,9% in Rinderproben).

Die höchste Chloramphenicol-Resistenzrate für die Spezies *E. faecium* und *E. durans/hirae* wurde bei Geflügelproben bestimmt (6-7%). Bei den Stämmen aus Rinderproben überwogen hingegen die Chloramphenicol-resistenten *E. casseliflavus*-Stämme (n=13, 7%).

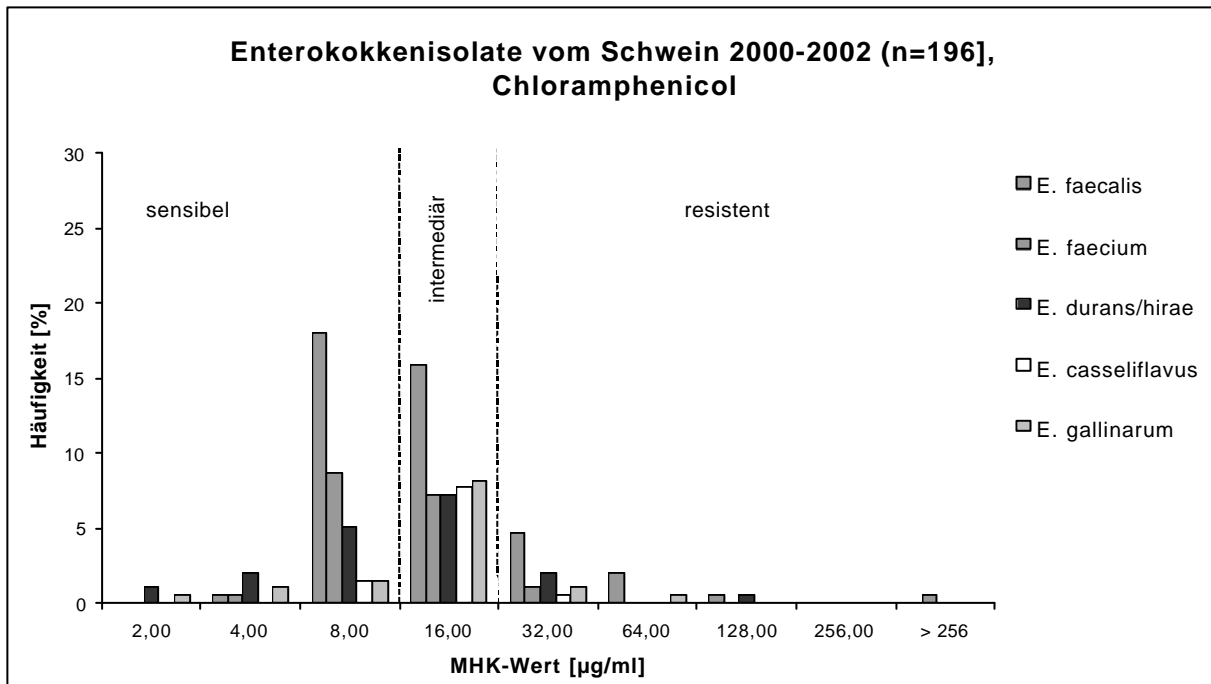
Überwiegend waren die MHK-Werte der untersuchten Enterokokken in allen Probenmaterialien im intermediären Resistenzbereich wiederzufinden.

Abbildung 24: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=182) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Rind gegenüber Chloramphenicol



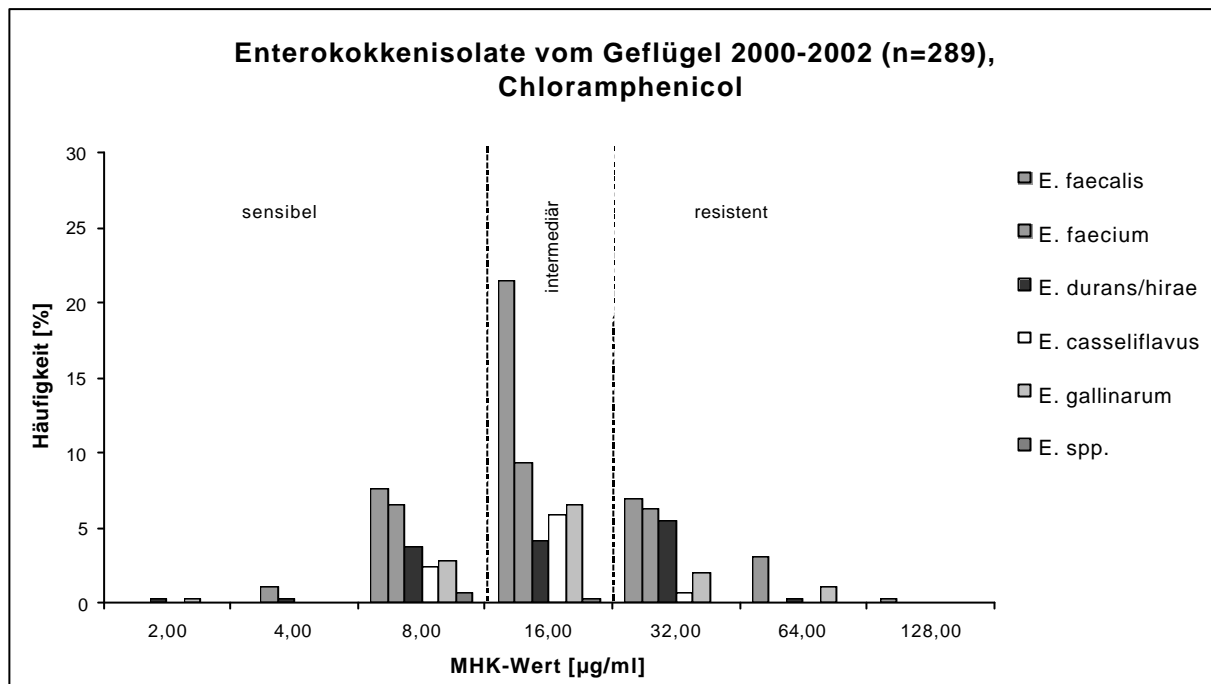
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 25: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=196) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Schwein gegenüber Chloramphenicol



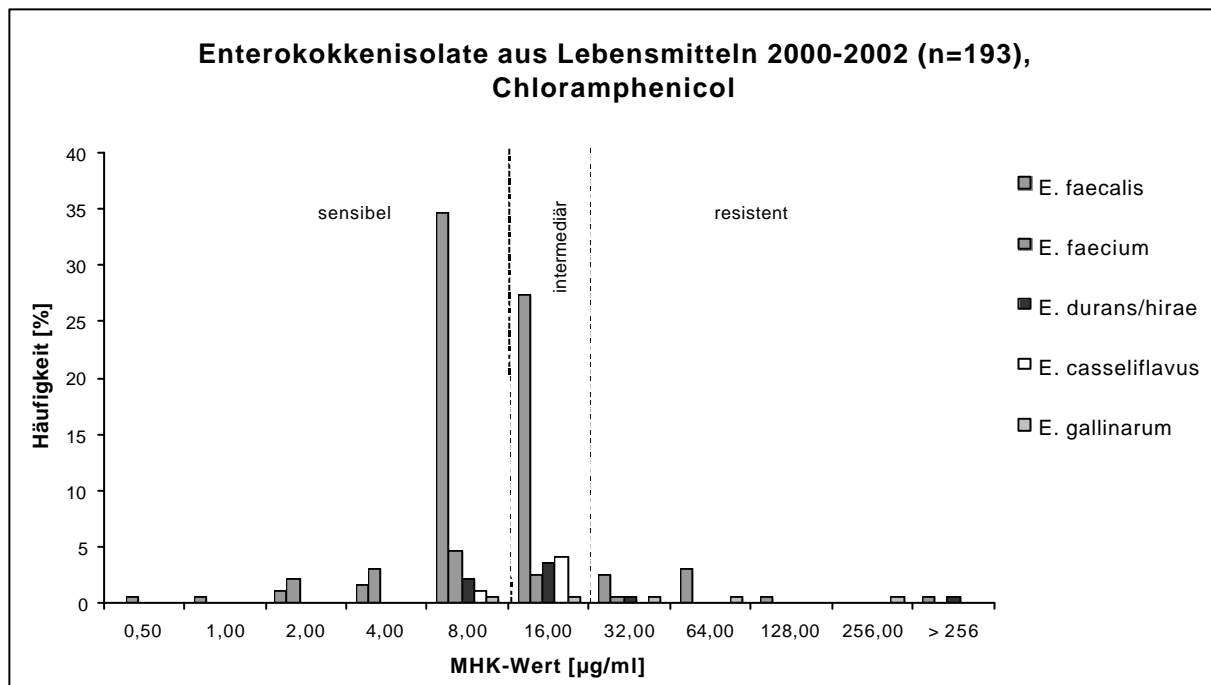
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 26: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=289) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Geflügel gegenüber Chloramphenicol



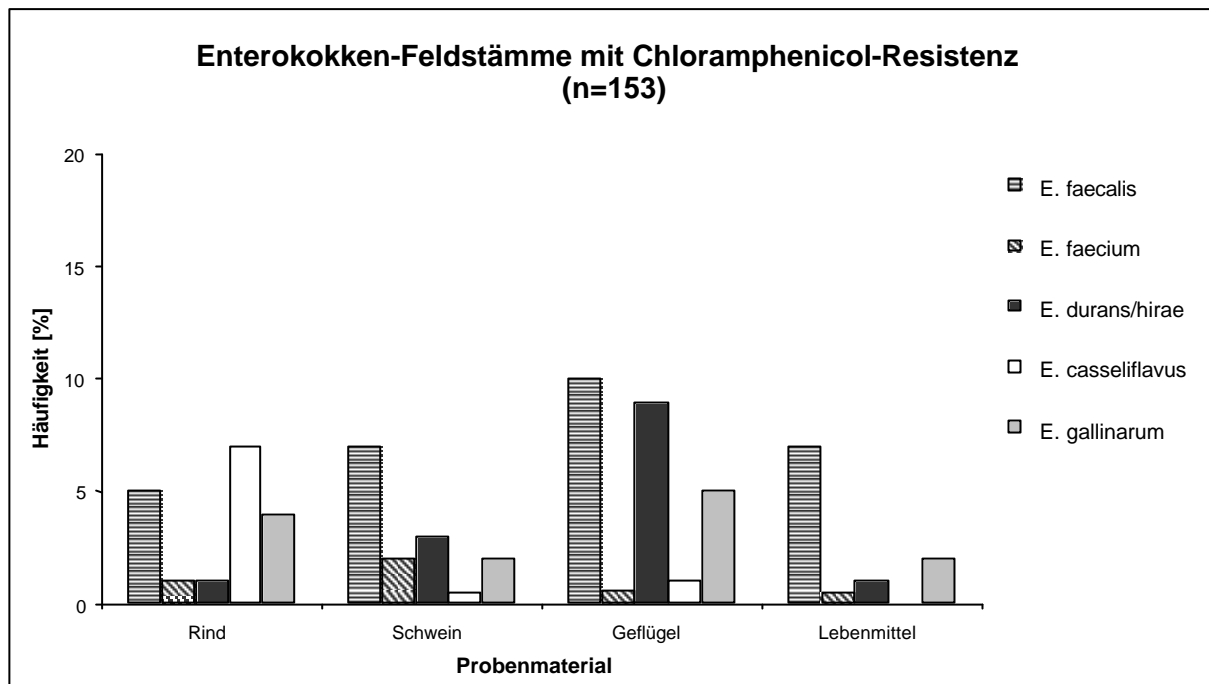
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 27: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=193) isoliert aus Lebensmitteln gegenüber Chloramphenicol



Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 28: Häufigkeit der Chloramphenicol-Resistenz bei Enterokokken-Feldstämmen vom Rind, Schwein, Geflügel und von Lebensmitteln im Untersuchungszeitraum 2000-2002



Die Prozentangaben beziehen sich auf die Gesamtzahl aller Stämme isoliert aus den einzelnen Probenmaterialien.

3.3.5 Enrofloxacin

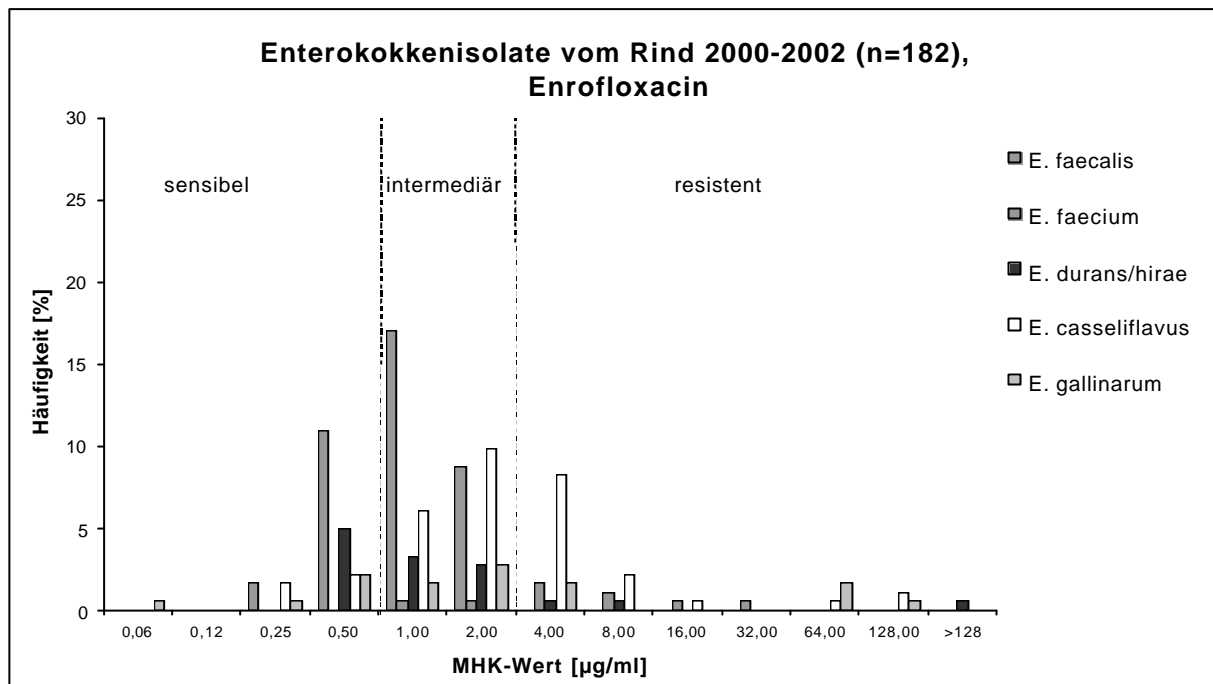
Die Abbildungen 29 bis 32 geben das Resistenzverhalten von Enterokokken-Feldstämmen isoliert vom Rind, Schwein, Geflügel sowie aus Lebensmitteln gegenüber Enrofloxacin wieder. Das Vorkommen Enrofloxacin-resistenter Enterokokkenstämmen bei den einzelnen Probenmaterialien ist in Abbildung 33 dargestellt.

Eine Enrofloxacin-Resistenz wurde bei 208 (24%) Enterokokken-Stämmen nachgewiesen, die Mehrzahl der Stämme besaß ein sensibles bis intermediäres Resistenzverhalten.

Die Spezies *E. faecium* war bezüglich der Resistenzhäufigkeit bei allen Probenmaterialien dominierend (78% in Rinder-, 84% in Geflügel-, 60% in Schweine-, 54% in Lebensmittelproben). Diese Werte beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten *E. faecium*-Stämmen des jeweiligen Probenmaterials.

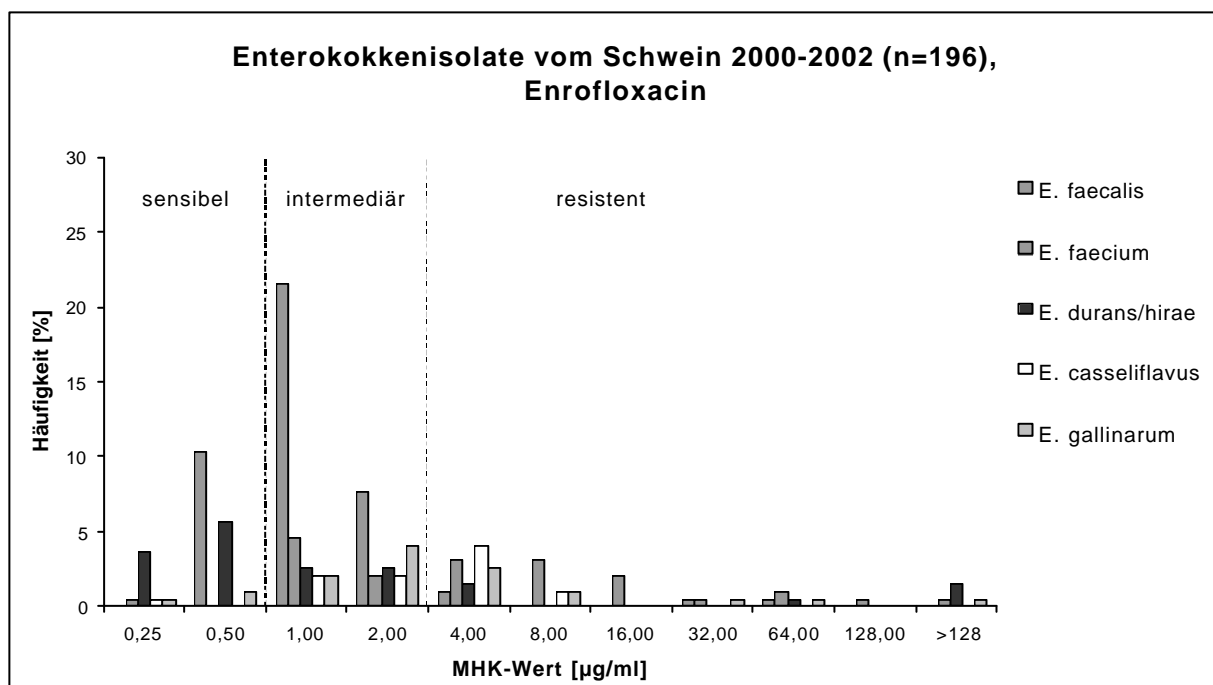
In Rinderproben waren weiterhin *E. casseliflavus*-Stämme (n=23, 39% der Stämme dieser Spezies bei diesem Probenmaterial) resistent gegenüber Enrofloxacin, wohingegen bei Geflügelproben keine resistenten Stämme dieser Spezies gefunden wurden.

Abbildung 29: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=182) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Rind gegenüber Enrofloxacin



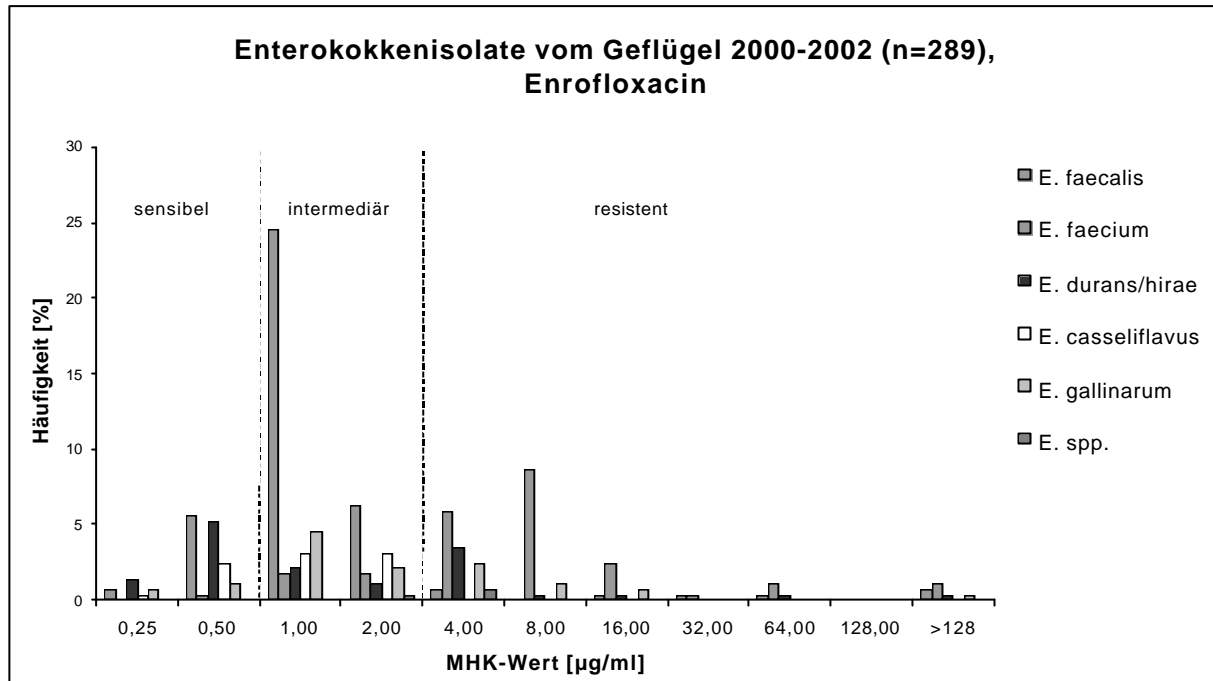
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 30: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=196) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Schwein gegenüber Enrofloxacin



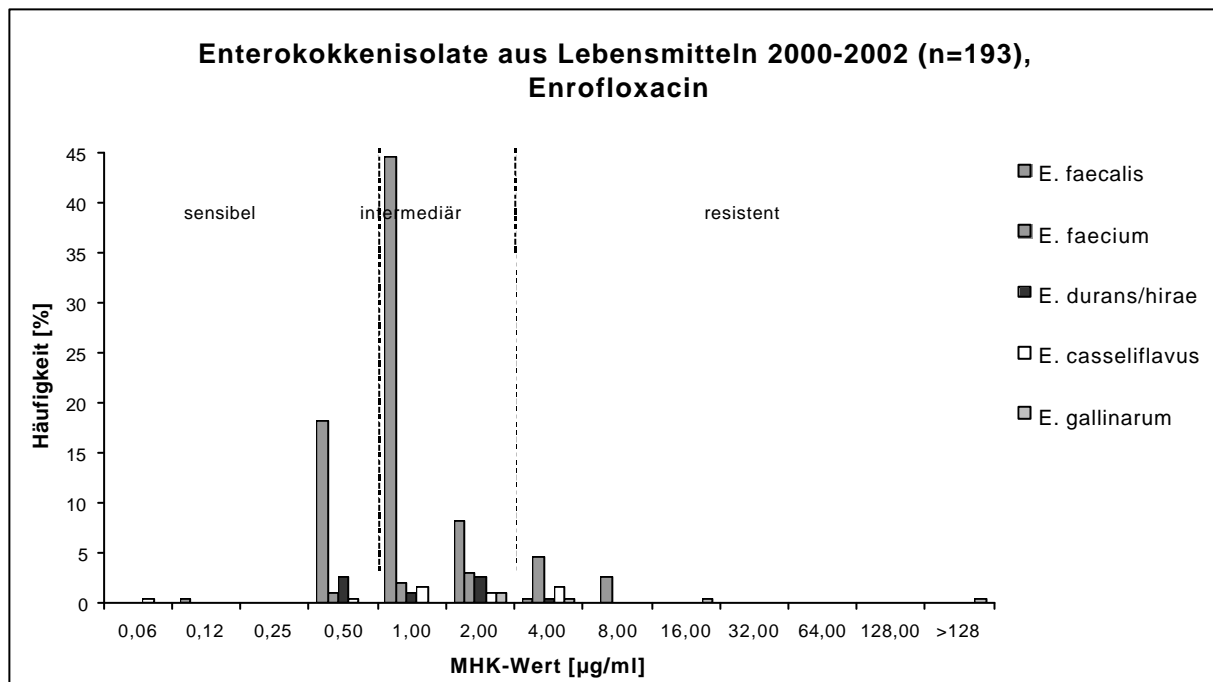
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 31: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=289) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Geflügel gegenüber Enrofloxacin



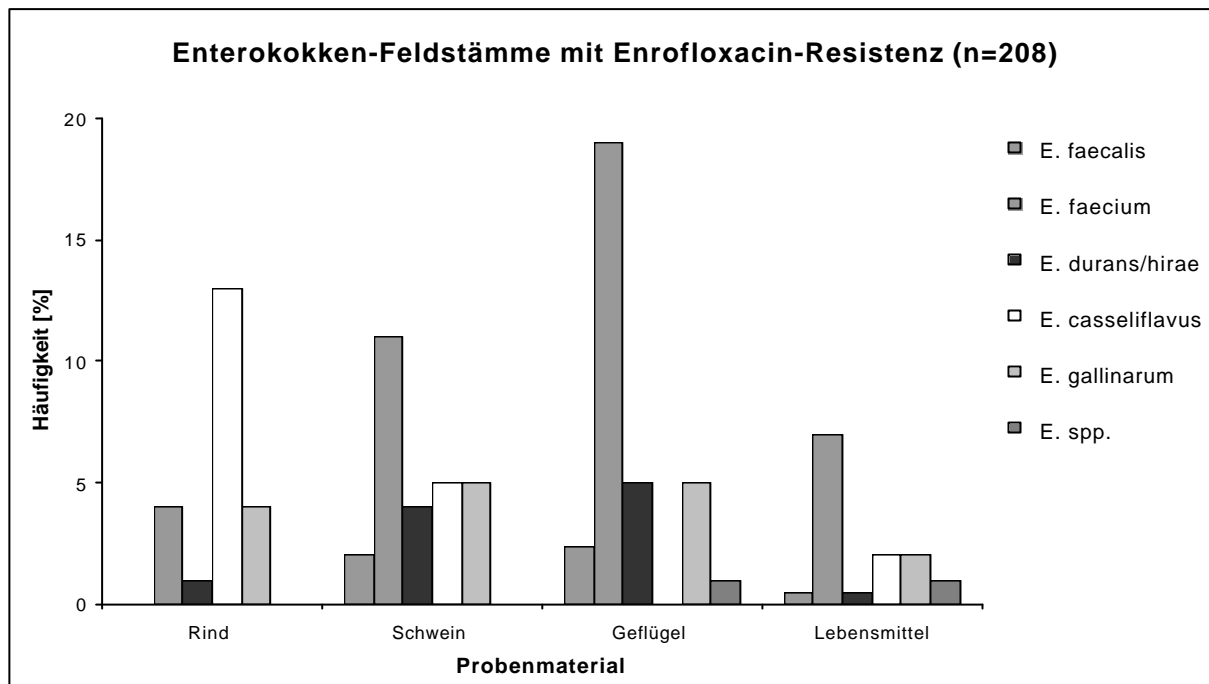
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 32: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=193) isoliert aus Lebensmitteln gegenüber Enrofloxacin



Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 33: Häufigkeit der Enrofloxacin-Resistenz bei Enterokokken-Feldstämmen vom Rind, Schwein, Geflügel und aus Lebensmitteln im Untersuchungszeitraum 2000-2002



Die Prozentangaben beziehen sich auf die Gesamtzahl an untersuchten Stämmen aus den jeweiligen Probenmaterialien.

3.3.6 Flavomycin

Die MHK-Wertverteilungen der untersuchten Enterokokken-Feldstämmen gegenüber Flavomycin sind in den Abbildungen 34 bis 37 dargestellt; Flavomycin-resistente Stämme sind in der Abbildung 38 wiedergegeben.

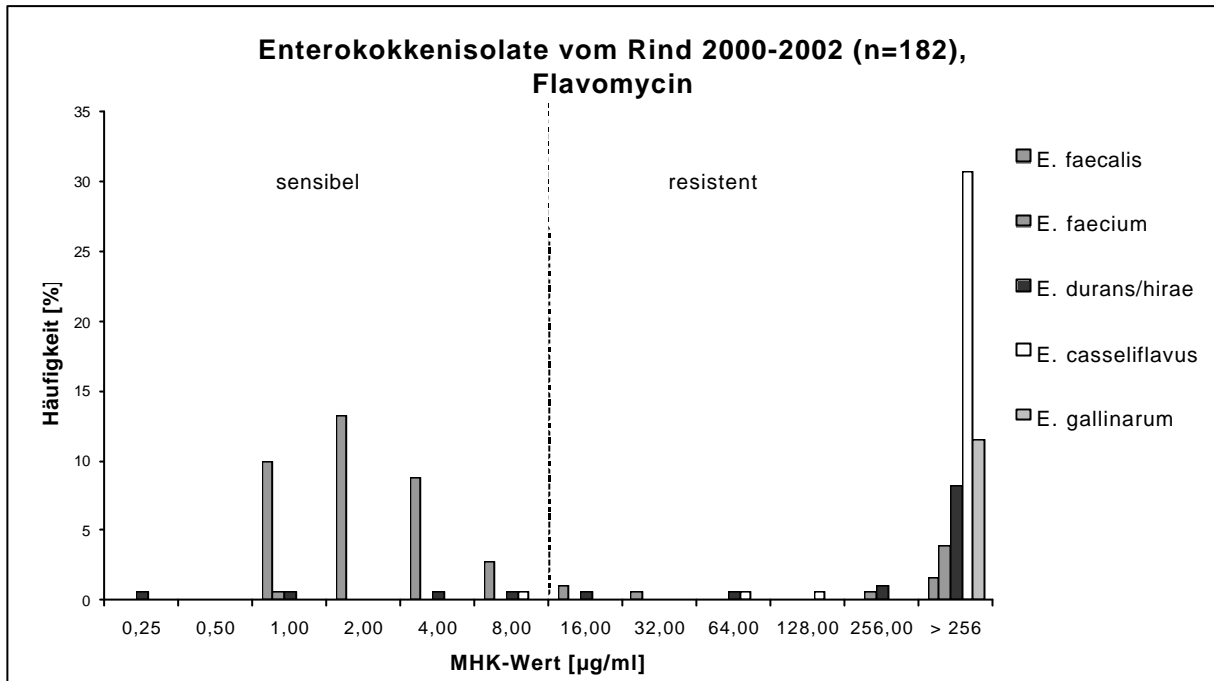
426 (49,5%) der getesteten Enterokokken-Stämme waren resistent gegenüber dem als Leistungsförderer zugelassenen Wirkstoff Flavomycin.

Der überwiegende Anteil an Flavomycin-resistenten Stämmen unterschiedlicher Spezies wies einen MHK-Wert von über 256 µg/ml auf. Flavomycin-resistente Enterokokkenstämme kamen bei allen Probenmaterialien gleichmäßig verteilt vor.

32% der resistenten Stämme in Rinderproben gehörten zur Spezies *E. casseliflavus*. In Bezug auf die Gesamtzahl an untersuchten *E. casseliflavus*-Stämmen bei diesem Probenmaterial waren 98% der *E. casseliflavus*-Isolate Flavomycin-resistent.

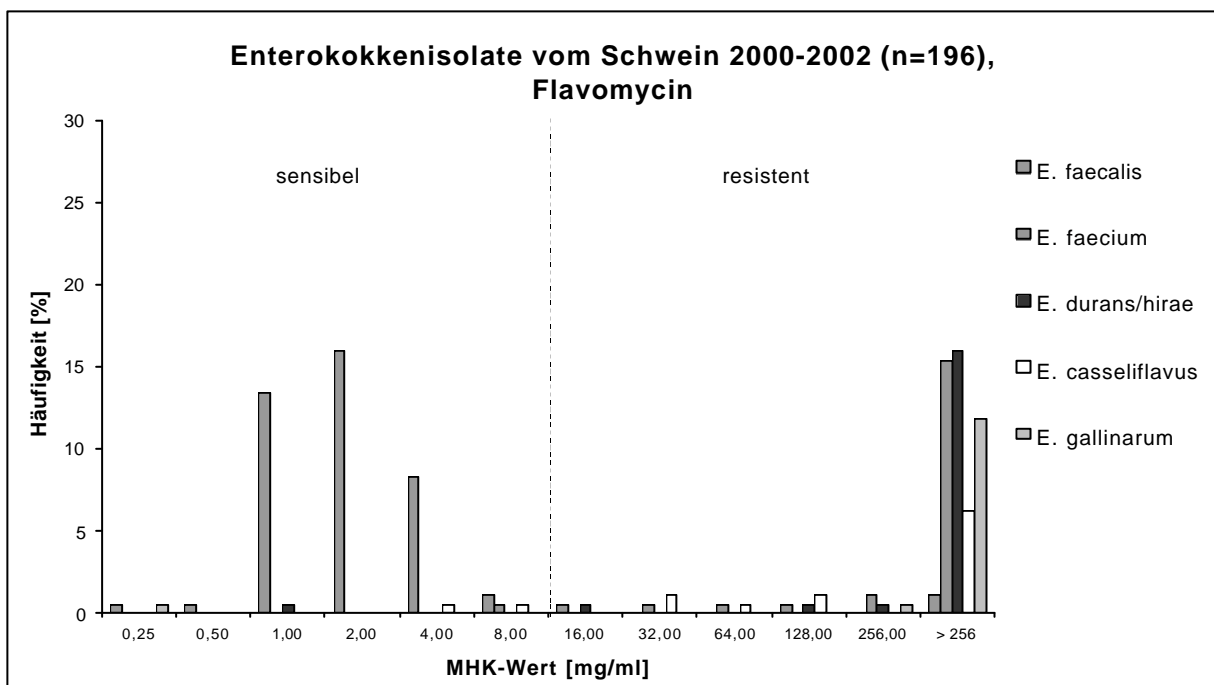
Während in Schweine- und Geflügelproben resistente Stämme vor allem der *E. faecium*-Gruppe bestehend aus den Spezies *E. faecium*, *E. durans* und *E. hirae* (34 bzw. 30%) zugeordnet wurden, kamen unter den aus Lebensmittelproben isolierten Flavomycin-resistenten Stämmen überwiegend die Spezies *E. durans/hirae* und *E. casseliflavus* (jeweils 5%) vor.

Abbildung 34: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=182) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Rind gegenüber Flavomycin



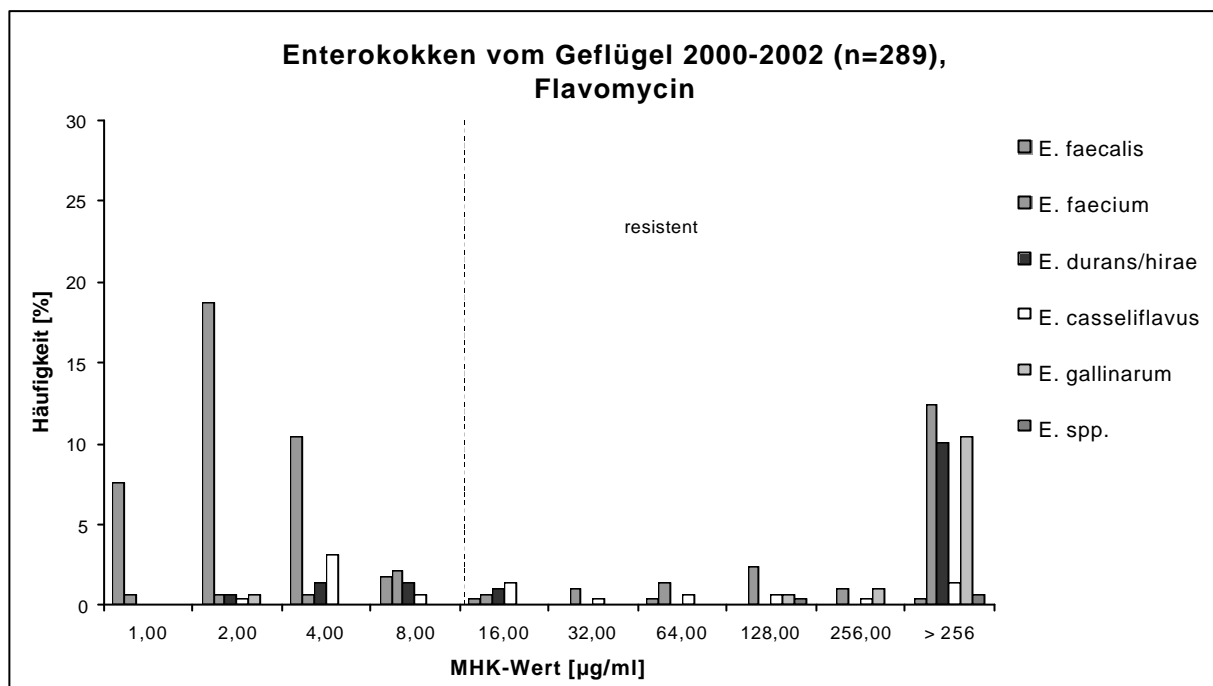
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 35: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=196) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Schwein gegenüber Flavomycin



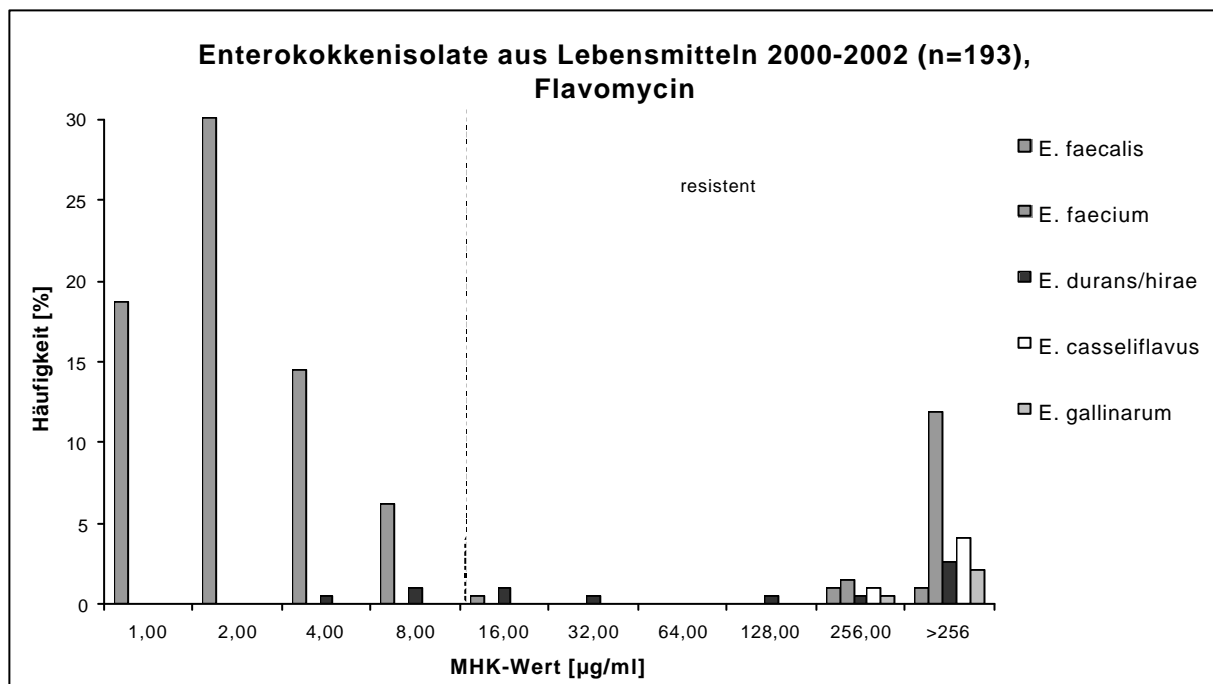
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 36: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=289) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Geflügel gegenüber Flavomycin



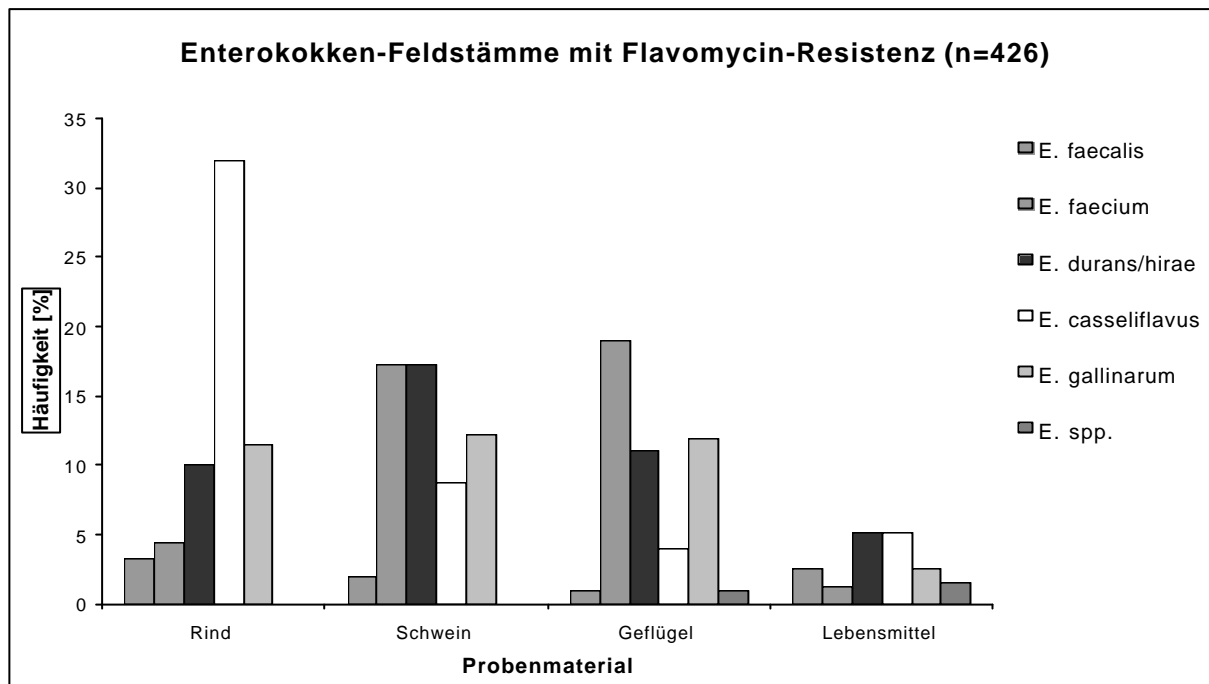
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 37: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=193) isoliert aus Lebensmitteln gegenüber Flavomycin



Die Prozentangaben beziehen sich auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die jeweils aus den Probenmaterialien isoliert wurden.

Abbildung 38: Häufigkeit der Flavomycin-Resistenz bei Enterokokken-Feldstämmen vom Rind, Schwein, Geflügel und von Lebensmitteln im Untersuchungszeitraum 2000-2002



Die Prozentangaben beziehen sich auf die Gesamtanzahl an untersuchten Stämmen aus den jeweiligen Probenmaterialien.

3.3.7 Gentamicin

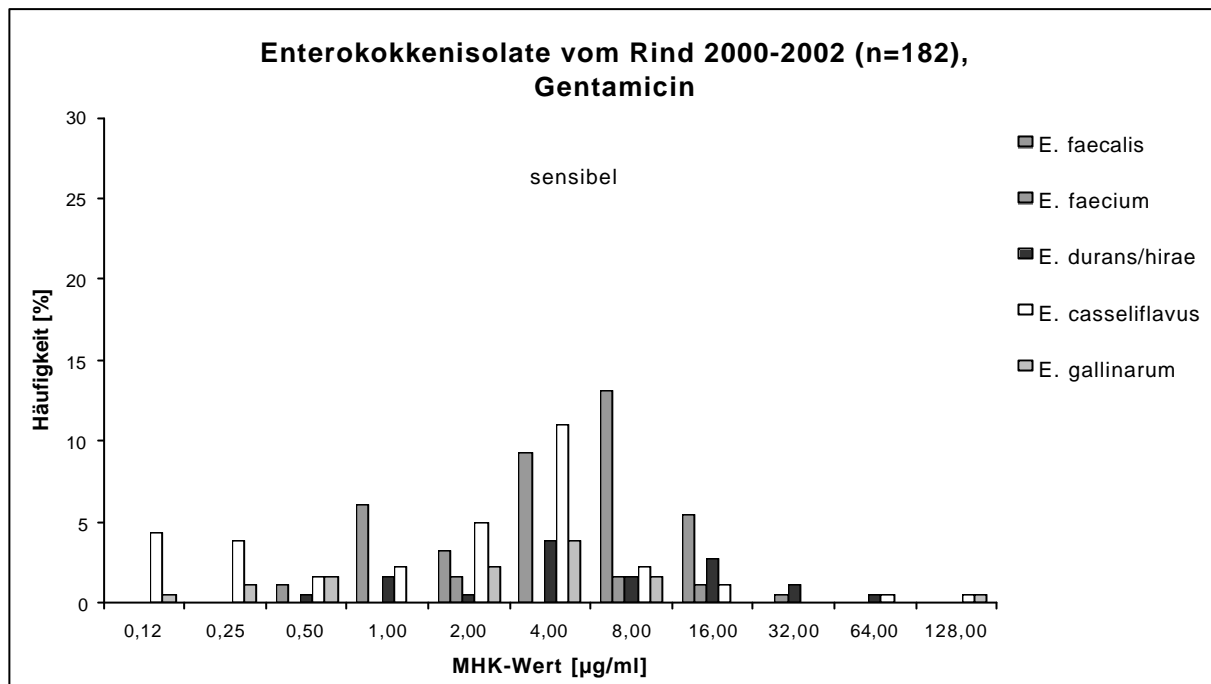
In den Abbildungen 39 bis 42 sind die MHK-Wertverteilungen der getesteten Enterokokken-Feldstämmen vom Rind, Schwein, Geflügel und aus Lebensmitteln gegenüber Gentamicin wiedergegeben. Die Tabelle 5 stellt die Stämme mit einer Gentamicin-Hochresistenz und ihre dazugehörigen Resistenzmuster dar.

Enterokokken besitzen eine intrinsische low-level Resistenz gegenüber Aminoglykosid-Antibiotika. Bei den Untersuchungen wurden nur hochresistente Stämme mit einer MHK von über 500 µg/ml (NCCLS-Grenzwert) berücksichtigt. Die high-level Resistenz (über 1024 µg/ml) wurde bei fünf *E. gallinarum* und vier *E. faecalis* Stämmen nachgewiesen. Diese Stämme wurden aus Probenmaterial vom Schwein (n=5, 3%), aus Lebensmitteln (n=2, 1%) und vom Geflügel (n=1, 0,3%) nachgewiesen. Die Gentamicin hochresistenten Stämme in Schweineproben wurden überwiegend aus Probenmaterial von einem Schlachtbetrieb in Baden-Württemberg isoliert. Die übrigen Stämme wurden in Proben aus der Region Berlin/Brandenburg nachgewiesen.

Alle resistenten Stämme einer Spezies hatten vergleichbare Resistenzmuster, was auf eine Kopplung der Resistenzgene hinweist. So waren z.B. alle *E. faecalis*-Stämme gleichzeitig gegenüber Erythromycin, Tetracyclin und Synercid® resistent, während die *E. gallinarum*-Stämme gegen weitere sieben Wirkstoffe Antibiotika-Resistenzen zeigten.

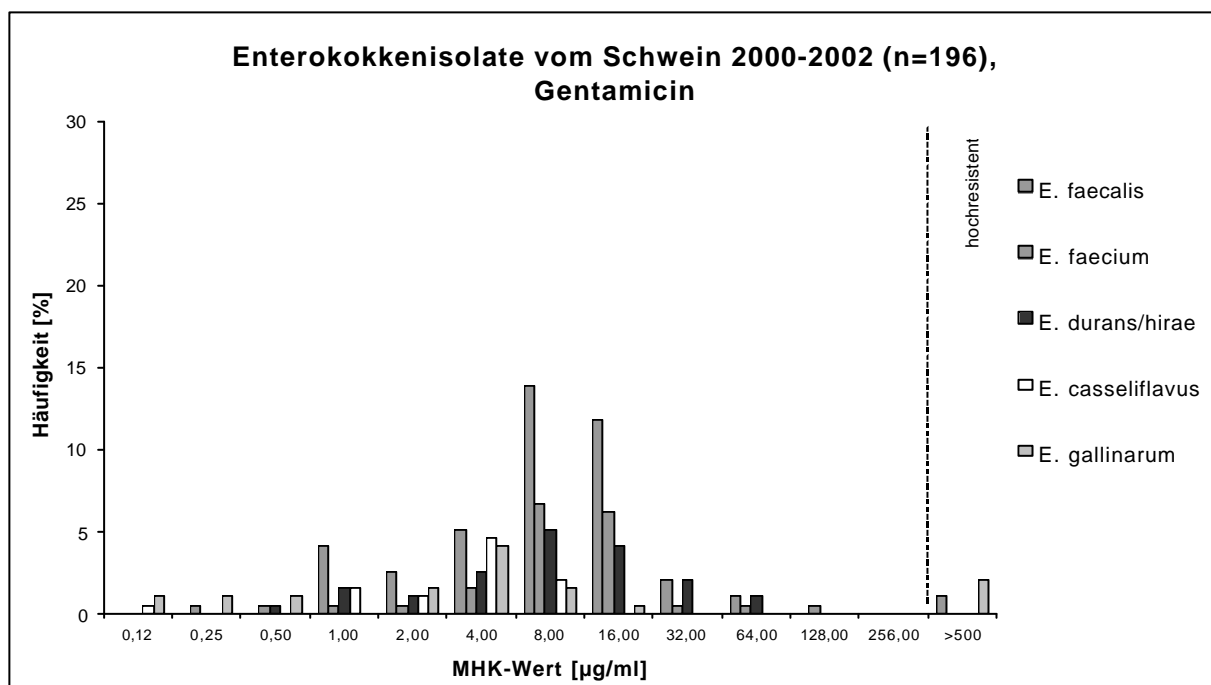
Alle Gentamicin high-level resistenten Enterokokken-Stämme wurden zusätzlich mittels E-test® untersucht, wodurch das Vorliegen einer Hochresistenz gegenüber Gentamicin bestätigt werden konnte.

Abbildung 39: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=182) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Rind gegenüber Gentamicin



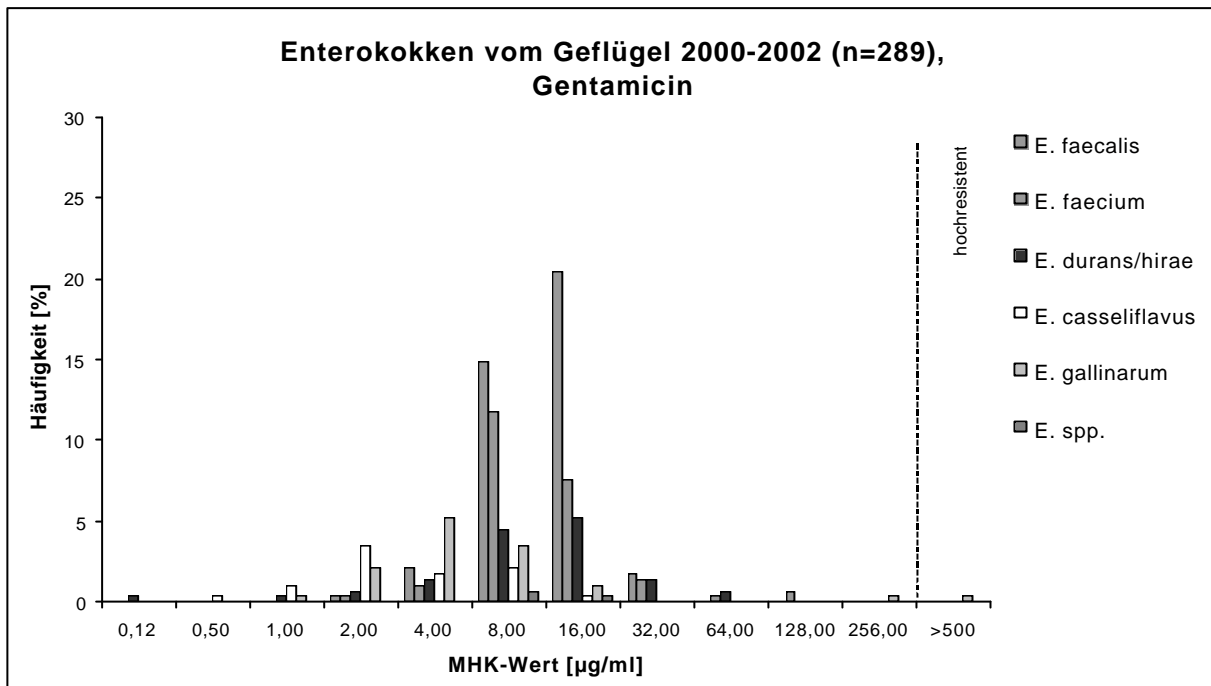
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 40: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=196) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Schwein gegenüber Gentamicin



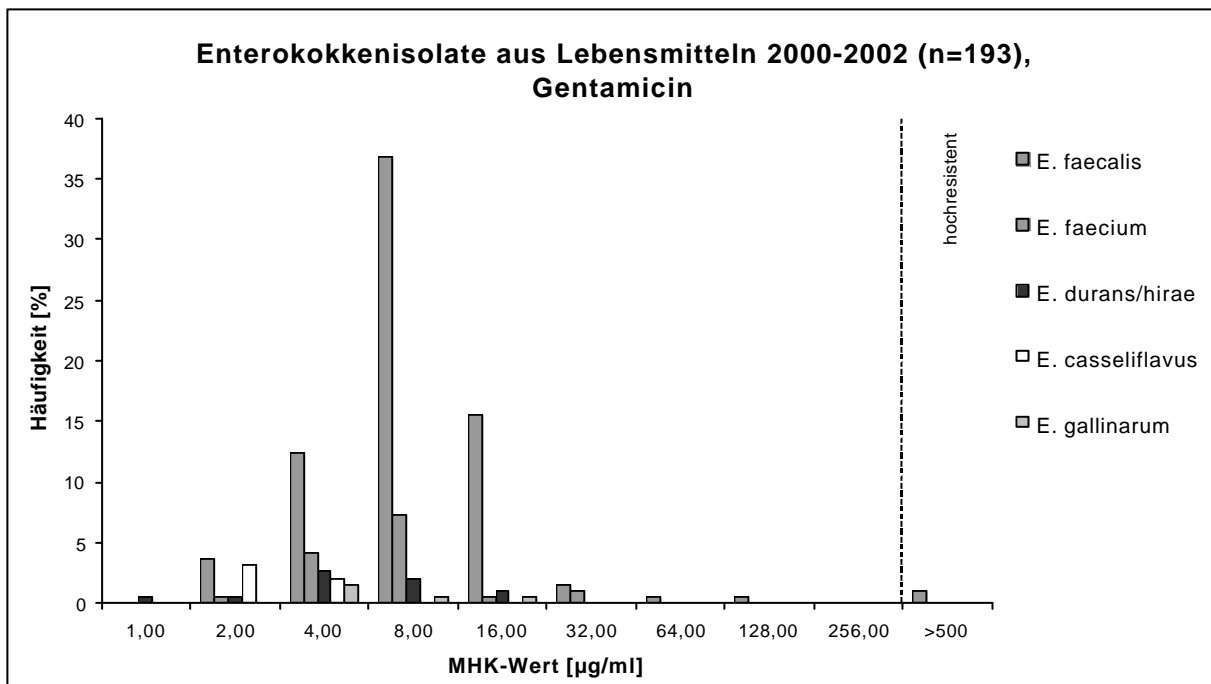
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 41: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=289) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Geflügel gegenüber Gentamicin



Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 42: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=193) isoliert aus Lebensmitteln gegenüber Gentamicin



Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesen Probenmaterialien isoliert wurden.

Auf eine grafische Darstellung von Gentamicin hochresistenten Stämmen wird hier verzichtet, da diese Stämme nur aus Probenmaterial vom Schwein, Geflügel und aus Lebensmitteln isoliert wurden. Ihre Anzahl ist gering im Vergleich zur Resistenzhäufigkeit von Enterokokken-Stämmen gegenüber anderen Wirkstoffen.

Tabelle 5: Gentamicin high-level resistente Enterokokken

Stamm*	Spezies	Region	Resistenzmuster
G4KCvc	<i>E. gallinarum</i>	BRB	BAC, ENRO, ERY, FLV, GEN, SYN, TET
S3Ka	<i>E. faecalis</i>	BRB	ERY, GEN, SYN, TET
L34Aa	<i>E. faecalis</i>	BRB	ERY, GEN, SYN, TET
S61Hca	<i>E. gallinarum</i>	BW	AVL, BAC, ENRO, ERY, FLV, GEN, SYN, TET
S61Hcva	<i>E. gallinarum</i>	BW	AVL, BAC, CHL, ERY, FLV, GEN, SYN, TET
S66Hva	<i>E. gallinarum</i>	BW	AVL, BAC, ENRO, ERY, FLV, GEN, SYN, TET
S66Kva	<i>E. gallinarum</i>	BW	AVL, BAC, ENRO, ERY, FLV, GEN, SYN, TET
L141Aa	<i>E. faecalis</i>	B	CHL, ERY, GEN, SYN, TET
S95Ha	<i>E. faecalis</i>	BW	CHL, ERY, GEN, SYN, TET

Feldstämmen vom Schwein, Geflügel und aus Lebensmitteln und ihre Antibiotika-Resistenzmuster

* Stammbezeichnung siehe Anhang 1

AVL: Avilamycin BAC: Bacitracin CHL: Chloramphenicol
 ENRO: Enrofloxacin ERY: Erythromycin FLV: Flavomycin
 GEN: Gentamicin SYN: Synercid® TET: Tetrazyklin

B: Berlin BW: Baden-Württemberg BRB: Berlin/Brandenburg

3.3.8 Makrolide

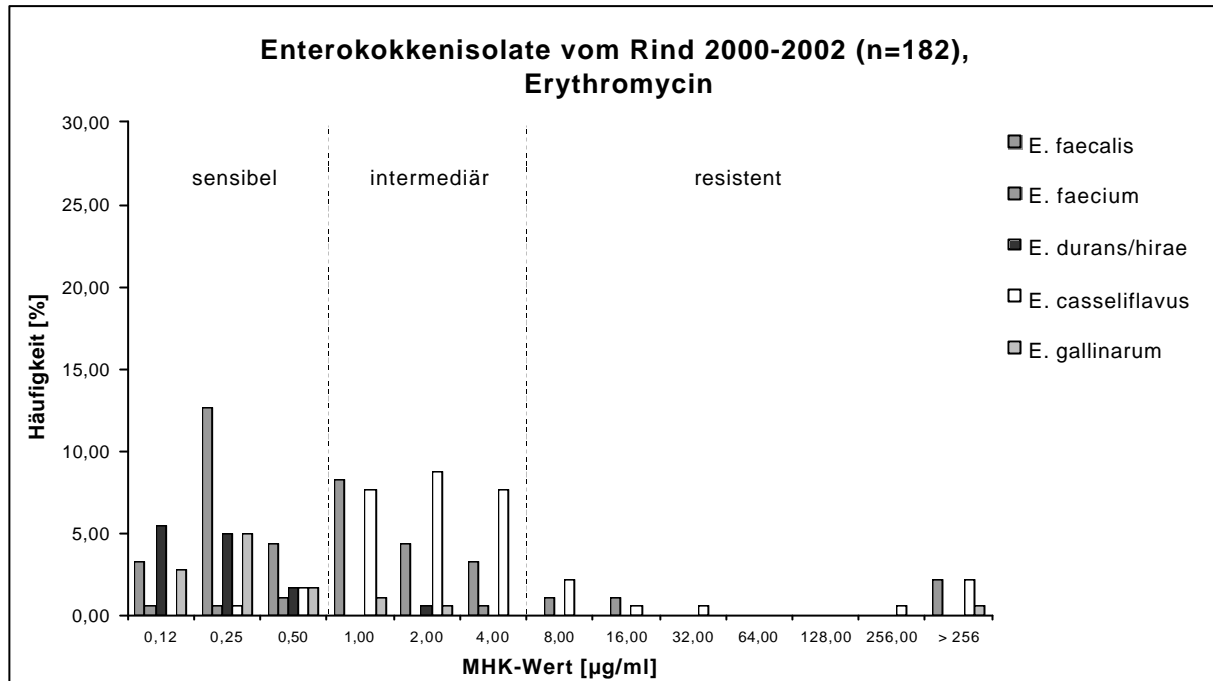
3.3.8.1 Erythromycin

Die Abbildungen 43 bis 46 geben die MHK-Wertverteilungen der untersuchten Enterokokken-Feldstämmen gegenüber Erythromycin wieder, während Abbildung 47 alle Erythromycin-resistenten Stämme zusammenfasst.

Eine Erythromycin-Resistenz wurde bei insgesamt 206 (24%) Enterokokken-Stämmen nachgewiesen, die überwiegend in Geflügelproben gefunden wurden (39% aller resistenten Stämme).

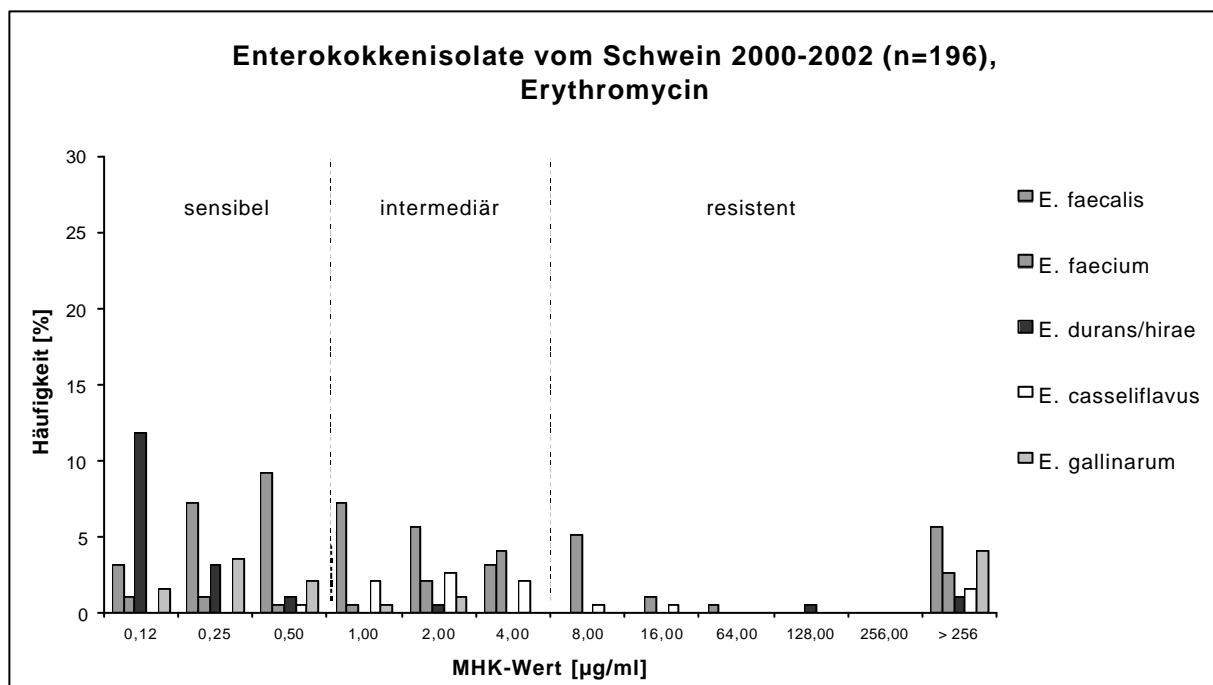
Der überwiegende Teil Erythromycin-resistenter Stämme wurde den Spezies *E. faecium* und *E. faecalis* zugeordnet, während im Vergleich dazu die Häufigkeit von resistenten Stämmen der Spezies *E. casseliflavus*, *E. gallinarum* sowie *E. durans/hirae* gering war. Beispielsweise waren 29% der resistenten Stämme vom Geflügel den erstgenannten Spezies zugeordnet worden. Resistente Stämme der restlichen Spezies aus dem gleichen Probenmaterial wurden hingegen nur in einer Häufigkeit von weniger als 10% nachgewiesen.

Abbildung 43: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=182) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Rind gegenüber Erythromycin



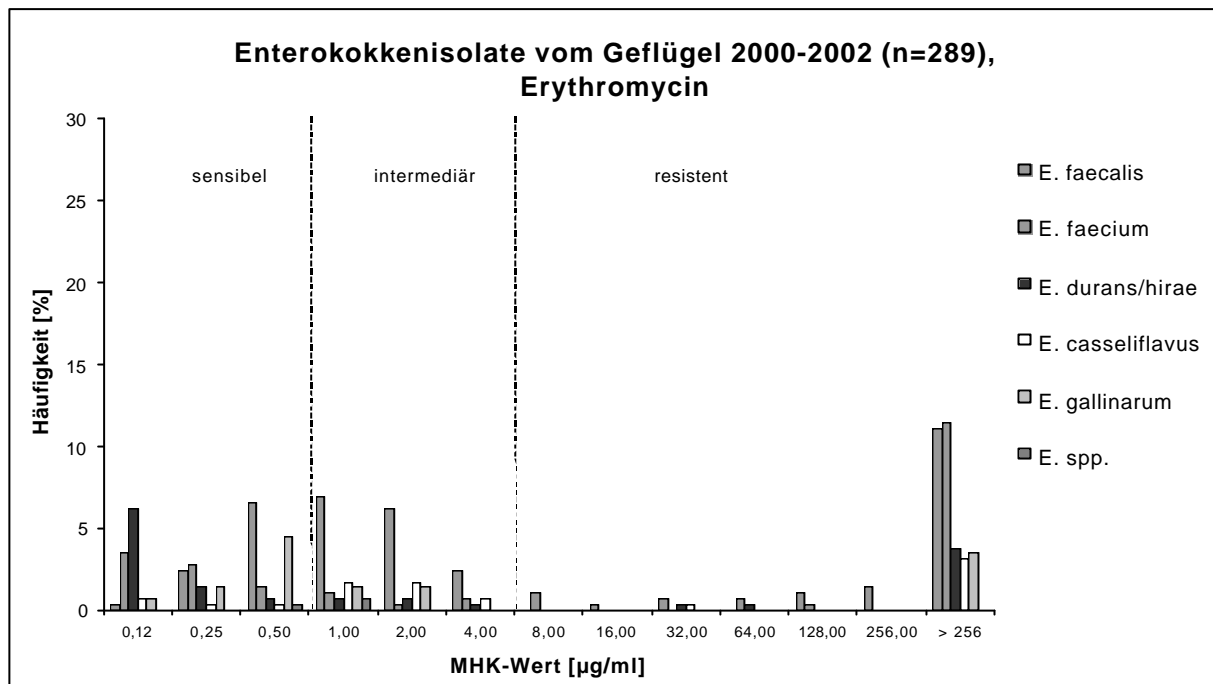
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 44: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=196) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Schwein gegenüber Erythromycin



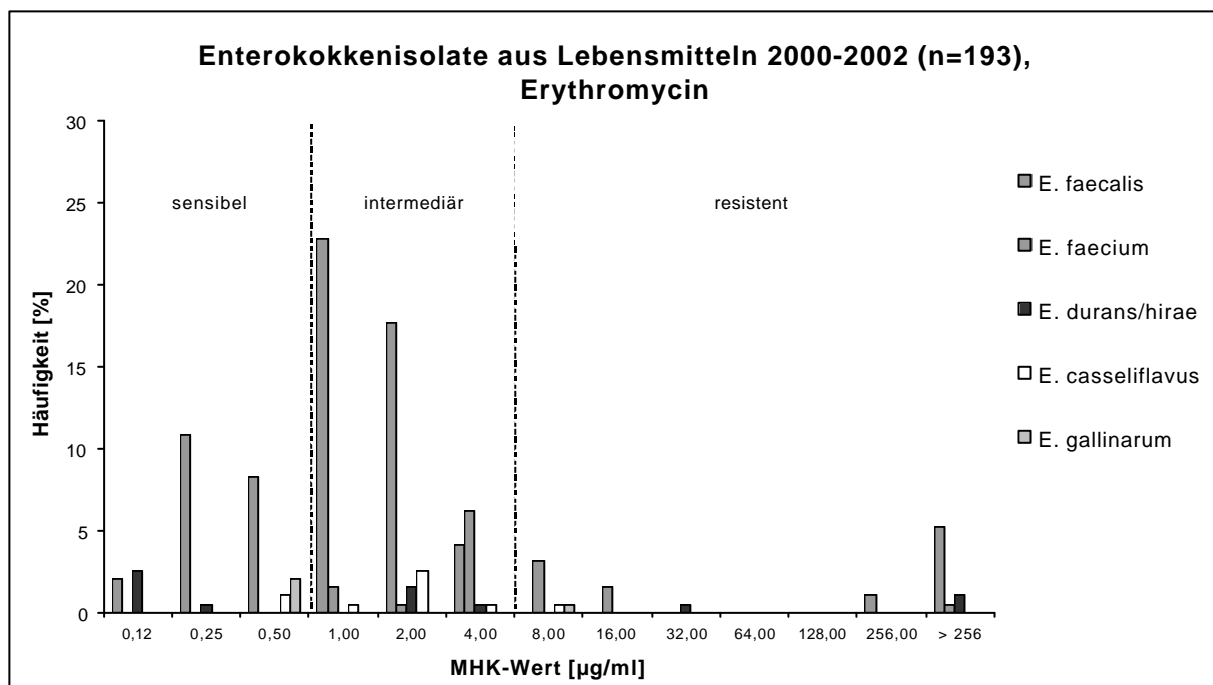
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 45: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=289) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Geflügel gegenüber Erythromycin



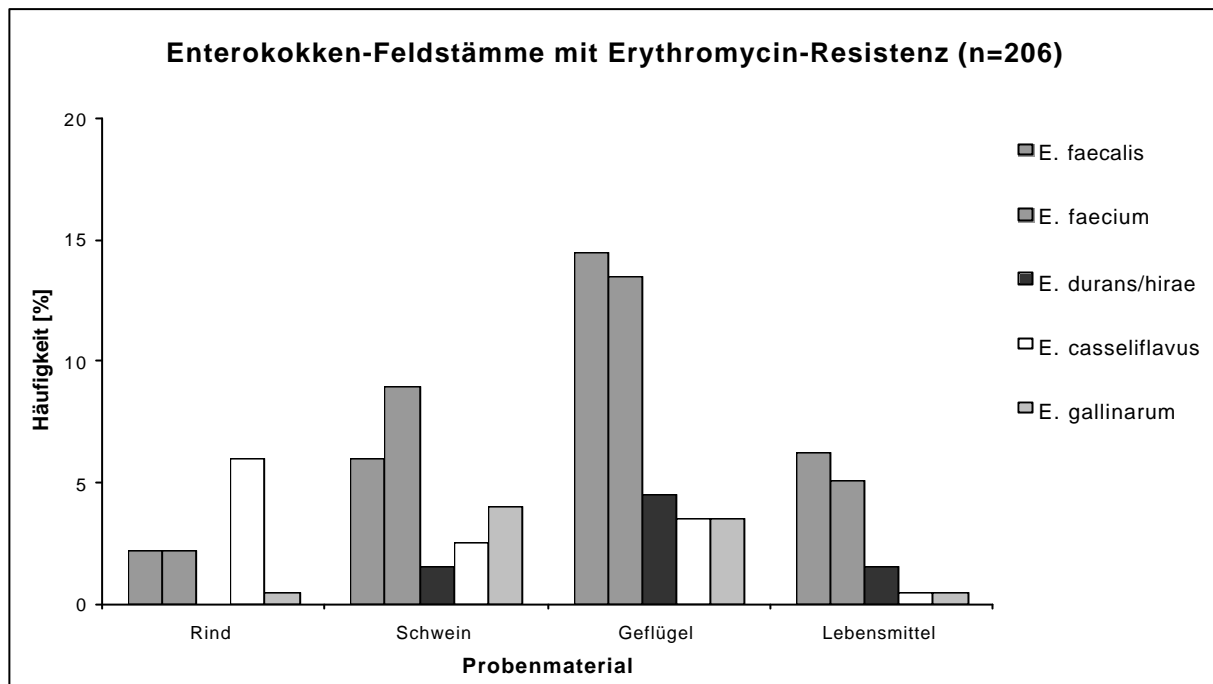
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 46: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=193) isoliert aus Lebensmitteln gegenüber Erythromycin



Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 47: Häufigkeit der Erythromycin-Resistenz bei Enterokokken-Feldstämmen vom Rind, Schwein, Geflügel und von Lebensmitteln im Untersuchungszeitraum 2000-2002



Die Prozentangaben beziehen sich auf die Gesamtzahl aller untersuchten Stämme aus den jeweiligen Probenmaterialien.

3.3.8.2 Tylosin

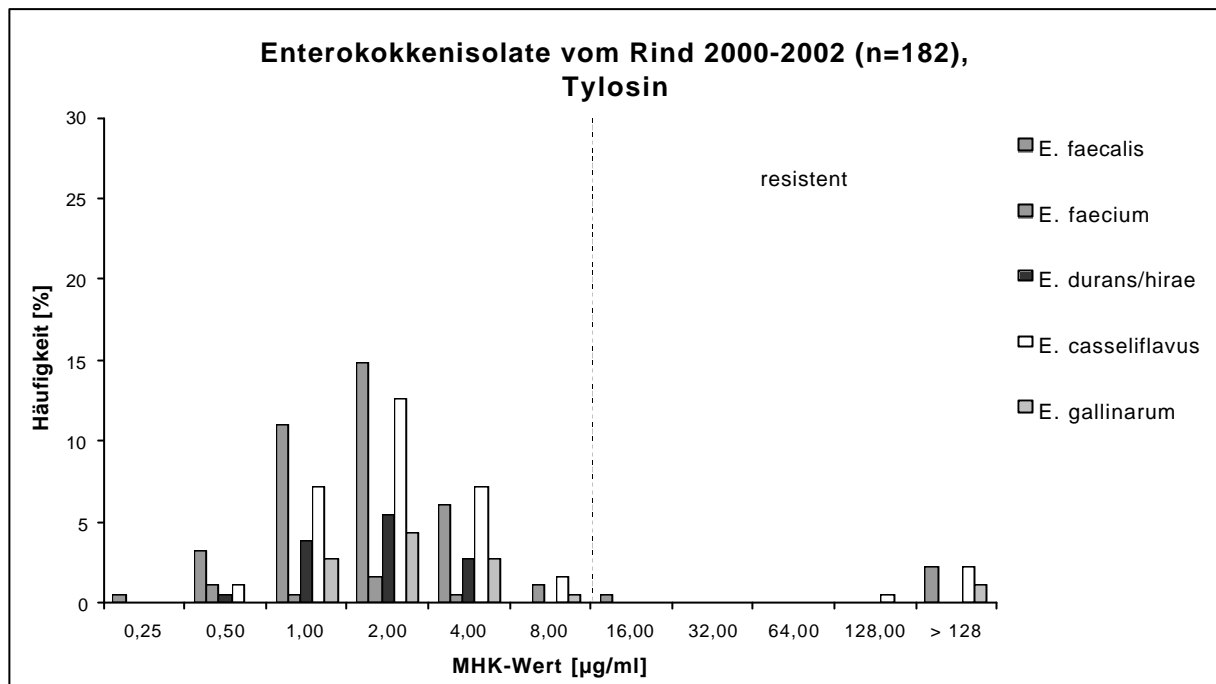
Die MHK-Wertverteilung der untersuchten Enterokokken-Feldstämmen gegenüber Tylosin sind in den Abbildungen 48 bis 51 wiedergegeben. Abbildung 52 fasst alle Tylosin-resistenten Stämme zusammen.

Der Grenzwert für die Empfindlichkeitsbeurteilung von Enterokokken gegenüber Tylosin (über 8 µg/ml=resistent) wurde einer Veröffentlichung von Aarestrup et al. (2000) entnommen.

Die isolierten Enterokokkenstämme vom Rind, Schwein, Geflügel und aus Lebensmitteln unterlagen einer deutlichen bimodalen Häufigkeitsverteilung. Gegenüber dem Wirkstoff Tylosin, der bis Juli 1999 als Leistungsförderer in der Tiermast eingesetzt wurde, erwiesen sich insgesamt 170 (19,7%) Enterokokken-Stämme als unempfindlich. Unter den resistenten Stämmen waren dies vor allem Stämme der Spezies *E. faecalis* (n=76, 45% aller resistenten Stämme). 15% der resistenten Stämme vom Geflügel gehörten zur Spezies *E. faecalis*.

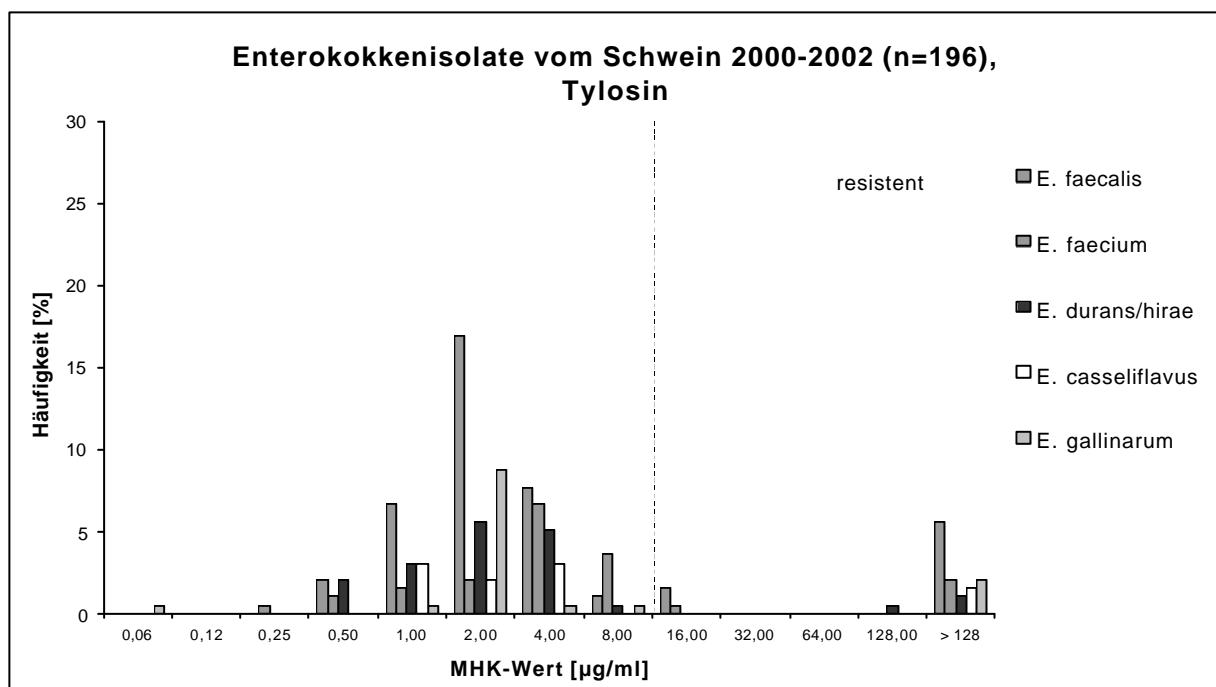
Tylosin-resistente Stämme, die häufig MHK-Werte von über 128 µg/ml besaßen, konnten vor allem aus Geflügel- und Schweineproben isoliert werden.

Abbildung 48: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=182) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Rind gegenüber Tylosin



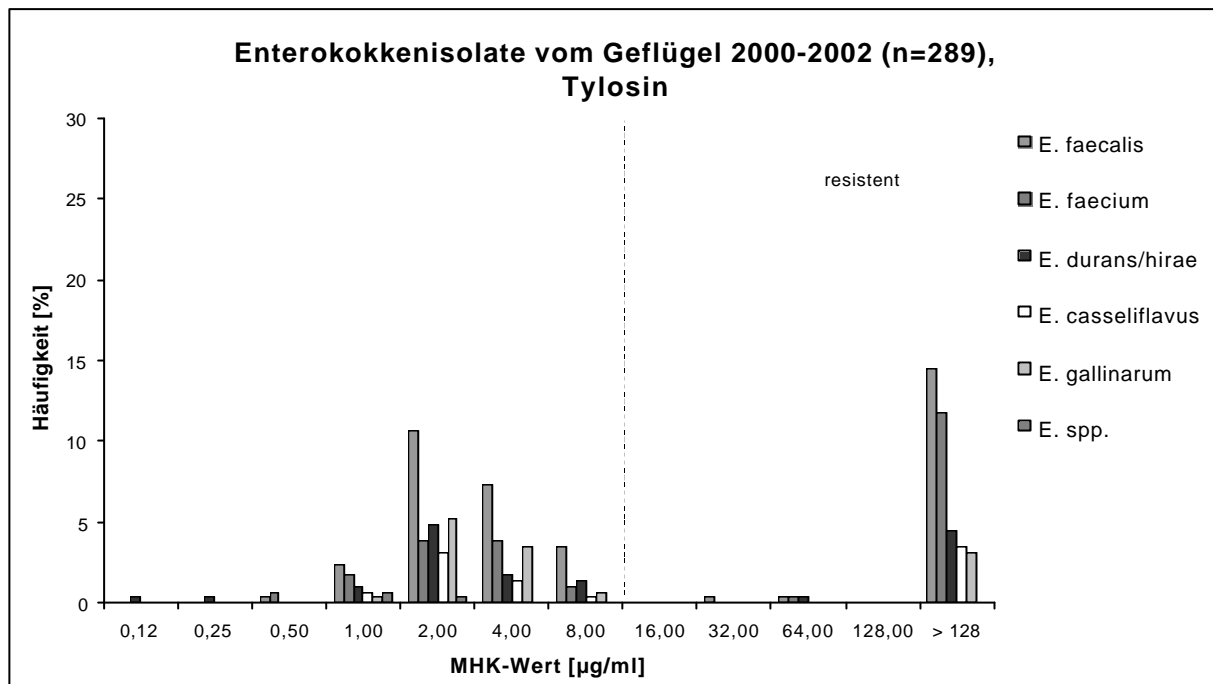
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 49: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=196) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Schwein gegenüber Tylosin



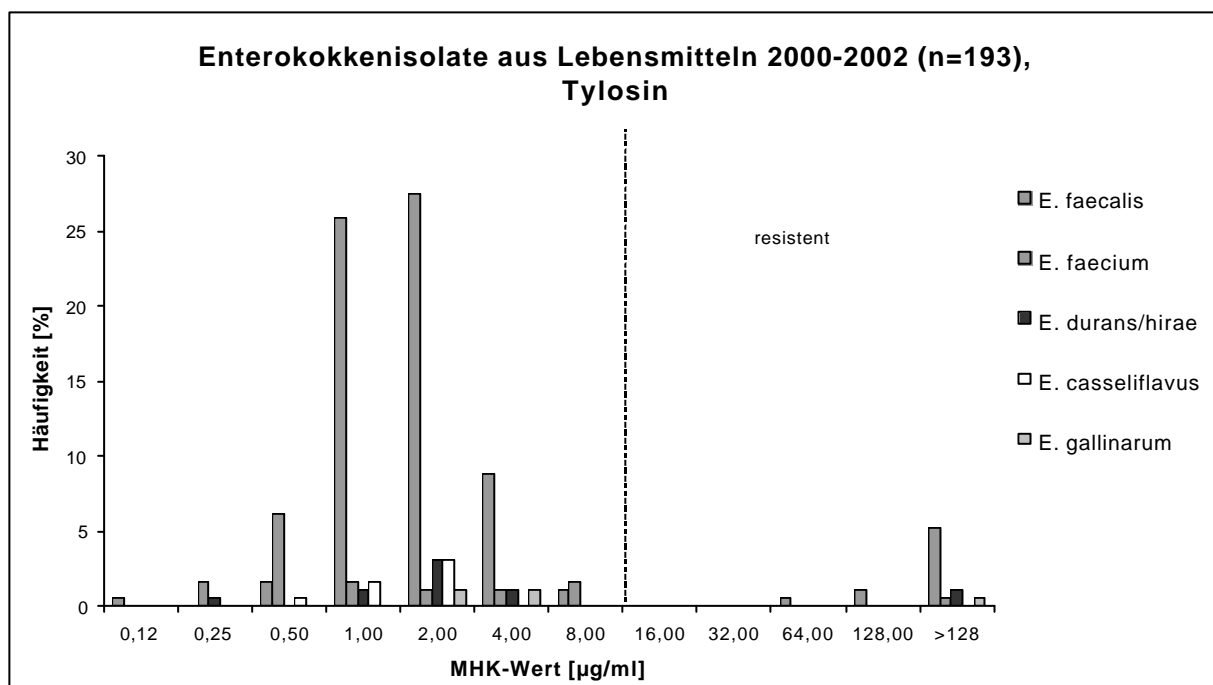
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 50: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=289) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Geflügel gegenüber Tylosin



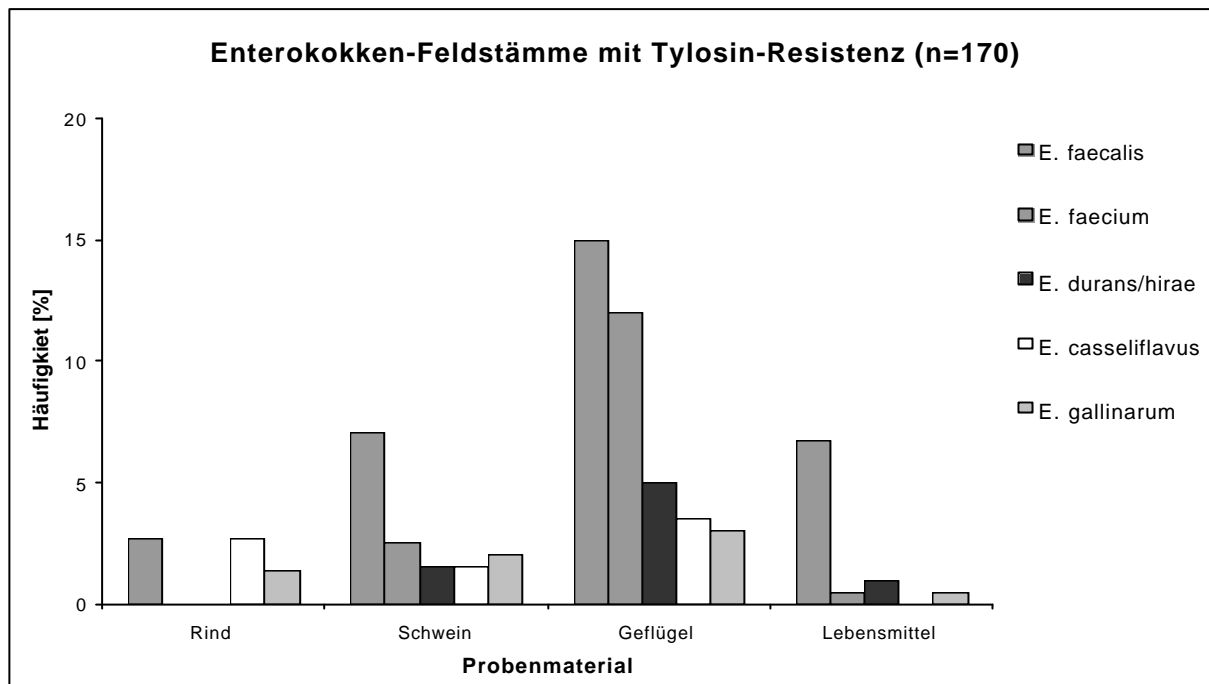
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 51: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=193) isoliert aus Lebensmittelproben gegenüber Tylosin



Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 52: Häufigkeit der Tylosin-Resistenz bei Enterokokken-Feldstämmen vom Rind, Schwein, Geflügel und von Lebensmitteln im Untersuchungszeitraum 2000-2002



Die Prozentangaben beziehen sich auf die Gesamtzahl der Stämme, die aus den jeweiligen Probenmaterialien isoliert wurden.

3.3.9 Glykopeptide

3.3.9.1 Teicoplanin

Die MHK-Wertverteilungen der untersuchten Enterokokken-Feldstämmen gegenüber Teicoplanin sind in den Abbildungen 54 bis 57 wiedergegeben.

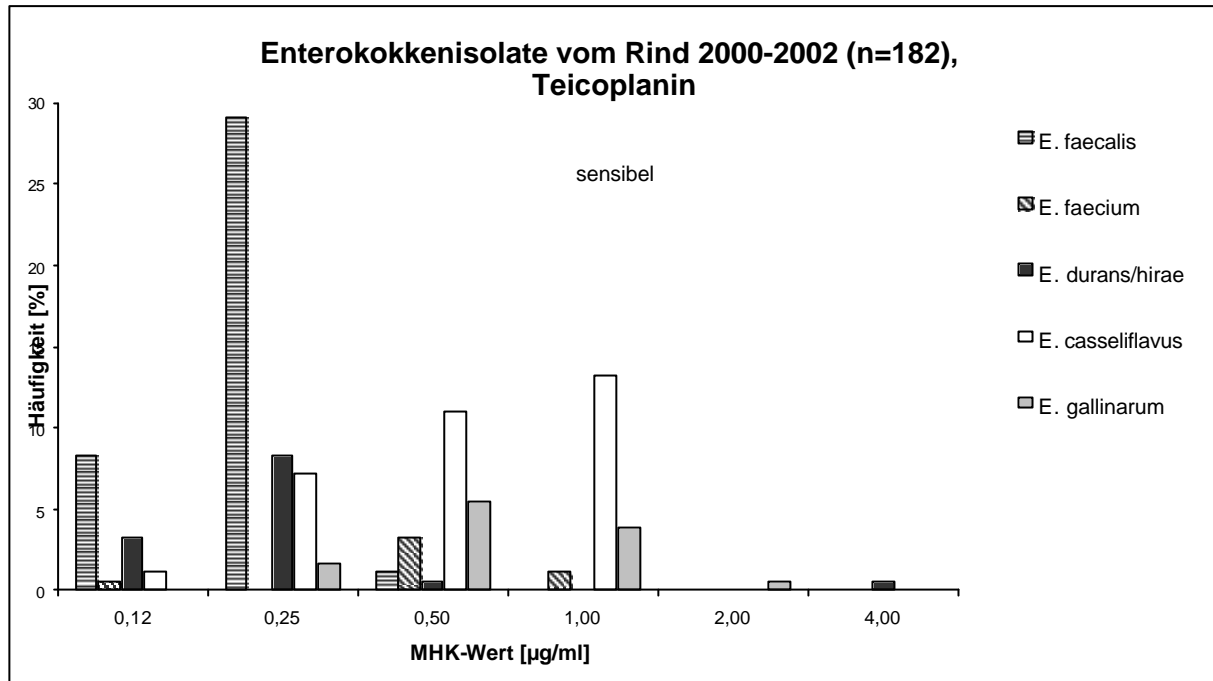
Alle aus Proben vom Rind und aus Lebensmitteln isolierten Enterokokkenstämmen waren gegenüber Teicoplanin sensibel, während aus Geflügel- und Schweineproben eine geringe Anzahl an Teicoplanin-resistenten Stämmen isoliert werden konnte.

Im Untersuchungszeitraum wurden insgesamt 11 Teicoplanin-resistente Enterokokkenstämmen gefunden. Überwiegend handelte es sich um Stämme aus Geflügelproben, die zur Spezies *E. faecium* und *E. durans/hirae* gehörten (n=8). Die entsprechenden Herden stammten aus Mastbetrieben in Bayern (n=2), Niedersachsen (n=2) und aus der Region Berlin/Brandenburg (n=4).

Darüber hinaus wurden im Jahre 2000 drei Teicoplanin-resistente Enterokokken-Stämme der Spezies *E. faecium* aus drei Schweineherden isoliert, die aus einem Schlachtbetrieb in Schleswig-Holstein stammten. Die MHK-Werte dieser Stämme betrugen 64-128µg/ml.

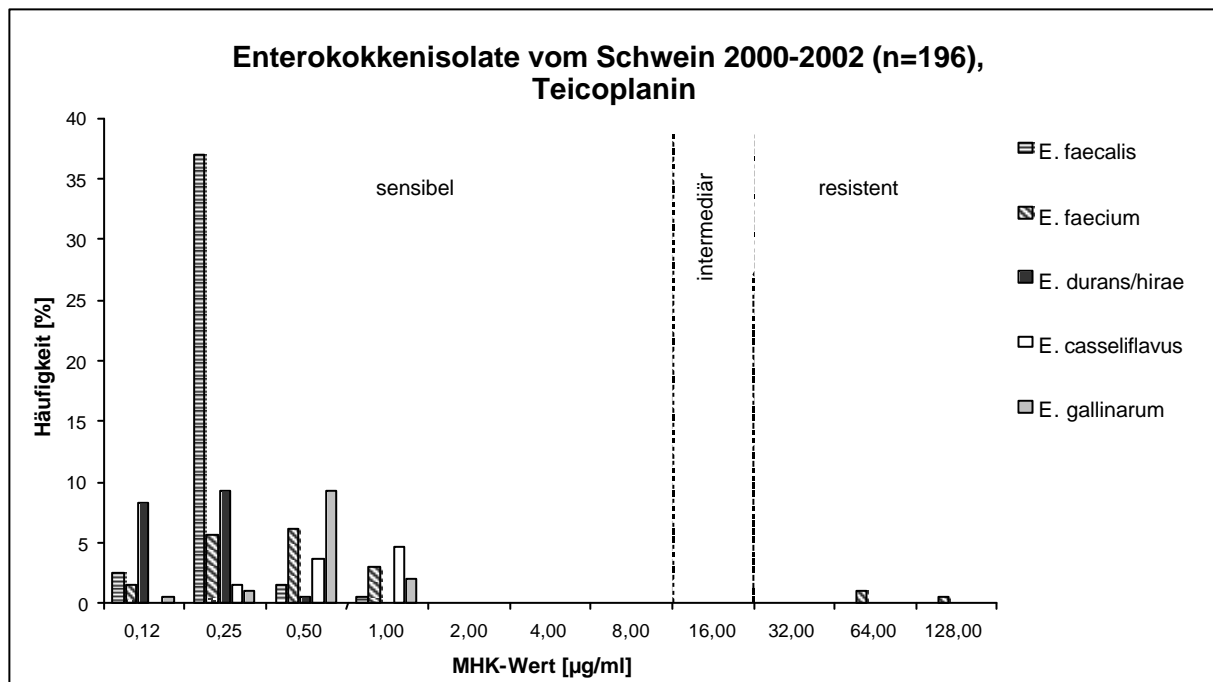
Auf eine grafische Darstellung Teicoplanin-resistenter Stämme wird hier verzichtet, da diese Stämme nur aus Probenmaterial vom Geflügel und Schwein isoliert wurden. Alle Teicoplanin-resistenten Stämme waren zusätzlich Vancomycin-resistent und besaßen darüber hinaus ein breitgefächertes Resistenzspektrum (siehe auch Tabelle 6, Kap. 3.3.9.2 „Vancomycin“).

Abbildung 53: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=182) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Rind gegenüber Teicoplanin



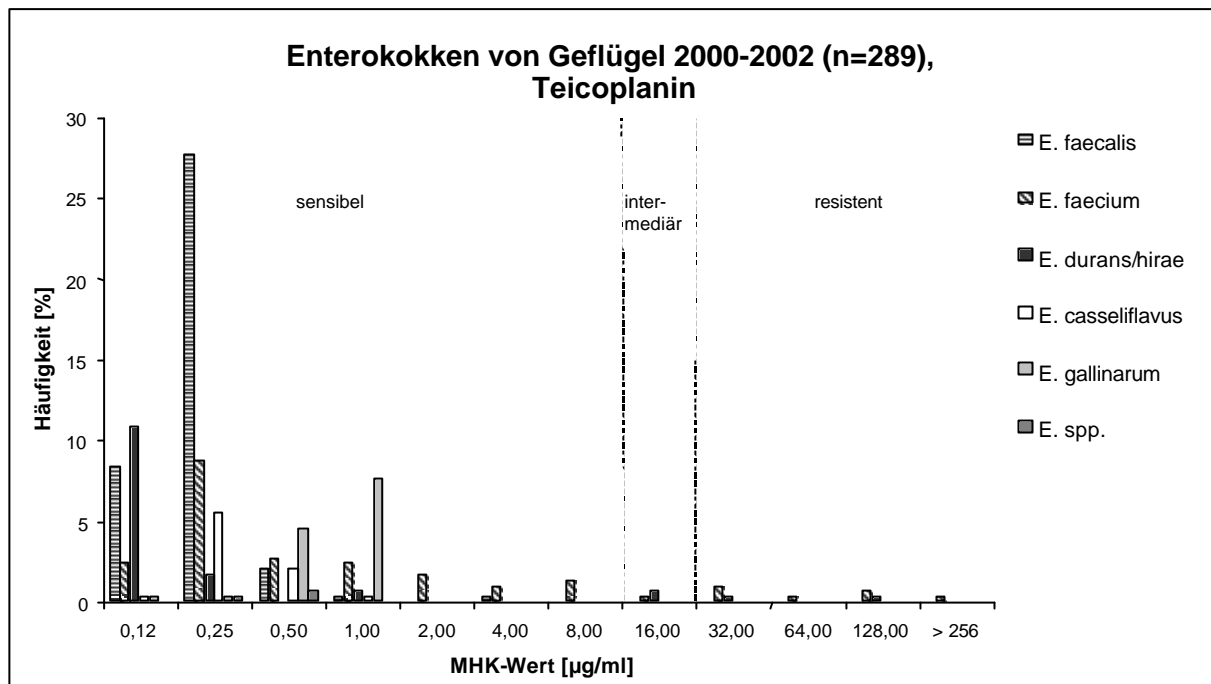
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 54: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=196) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Schwein gegenüber Teicoplanin



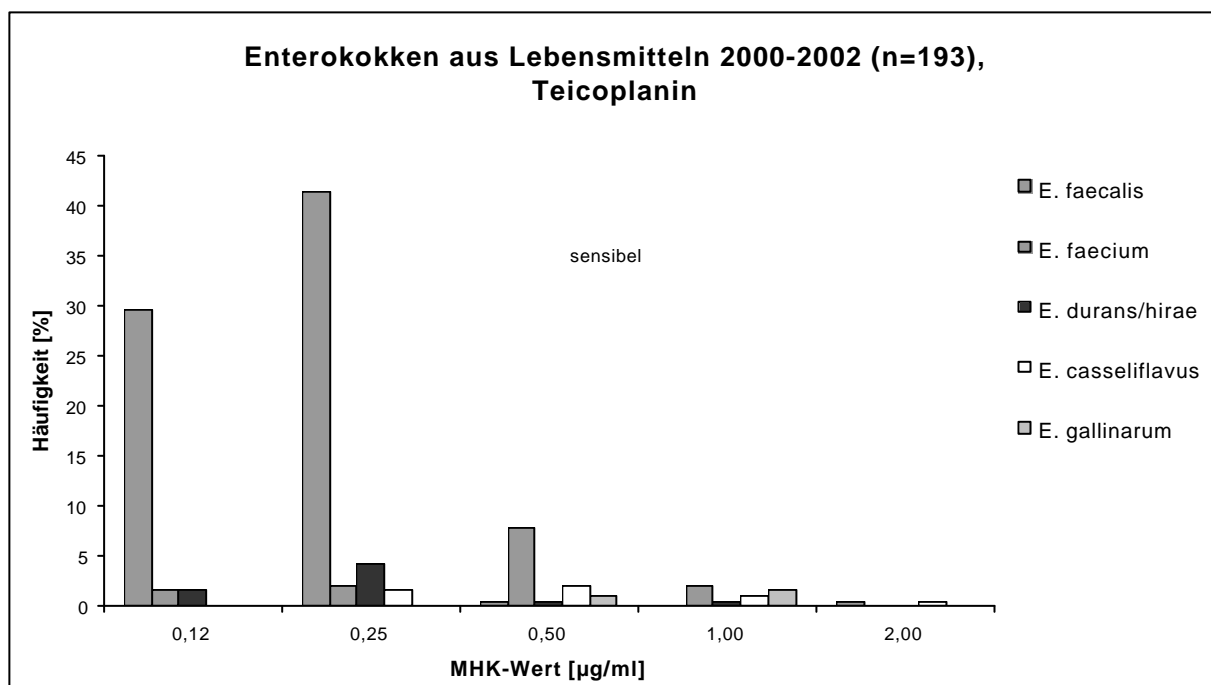
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 55: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=289) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Geflügel gegenüber Teicoplanin



Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 56: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=193) isoliert aus Lebensmitteln gegenüber Teicoplanin



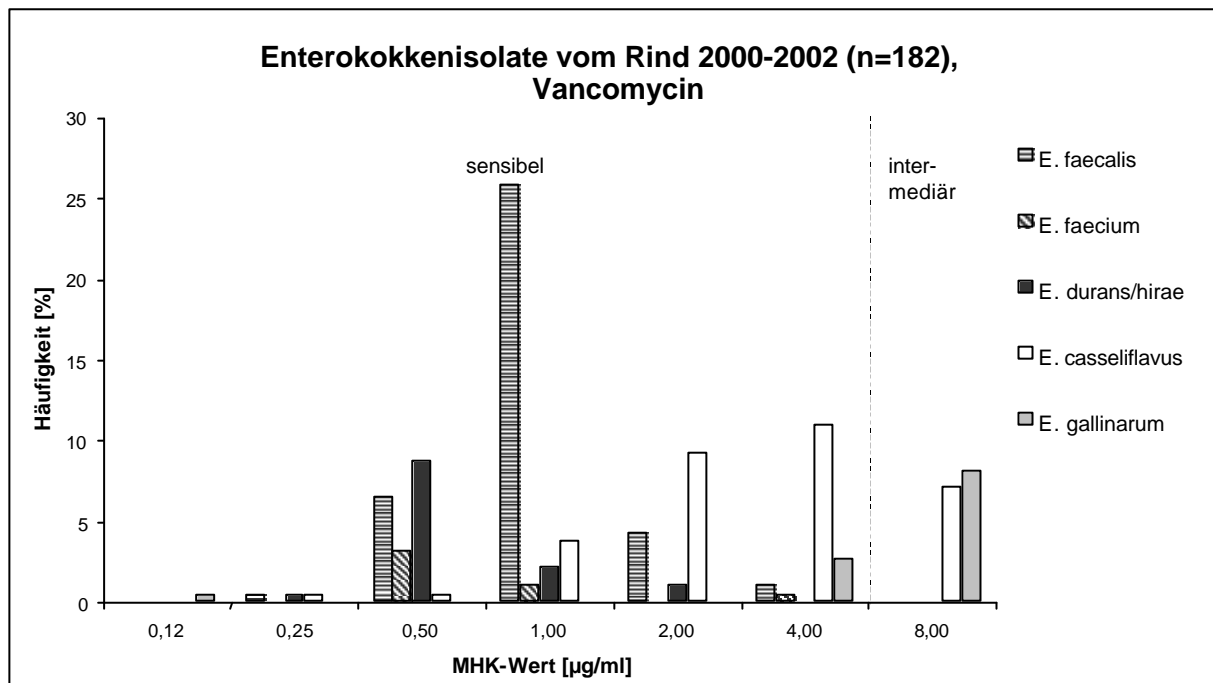
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

3.3.9.2 Vancomycin

Die Abbildungen 58 bis 61 geben die MHK-Wertverteilungen der untersuchten Enterokokken-Feldstämme vom Rind, Schwein, Geflügel und aus Lebensmitteln gegenüber dem Wirkstoff Vancomycin wieder. Tabelle 6 fasst alle Vancomycin-resistenten Enterokokken zusammen und stellt ebenfalls die dazugehörigen Resistenzmuster dar.

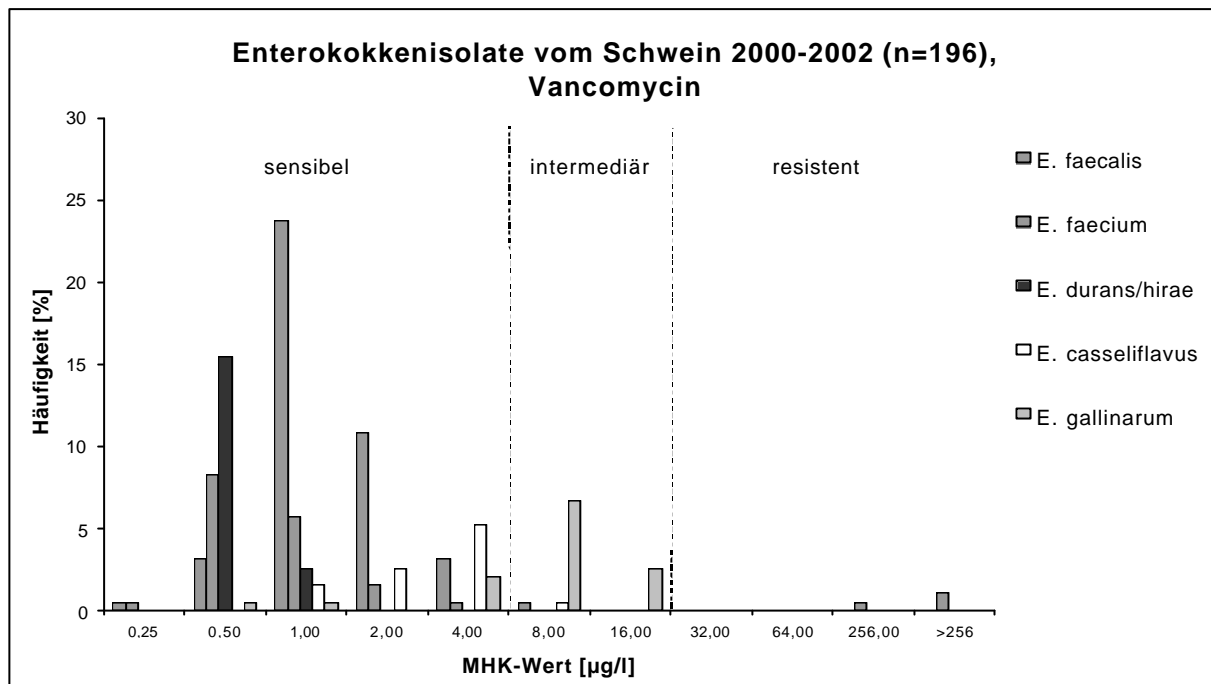
Alle Enterokokkenstämme vom Rind und aus Lebensmitteln zeigten nur ein sensibles bzw. intermediäres Resistenzverhalten gegenüber diesem Wirkstoff. Insgesamt 27 Enterokokkenstämme (3%) zeigten eine Vancomycin-Resistenz. Diese Stämme wurden vorwiegend aus Geflügelproben (n=24) isoliert. Die Mehrzahl von ihnen (n=22) konnten der Spezies *E. faecium* zugeordnet werden.

Abbildung 57: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=182) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Rind gegenüber Vancomycin



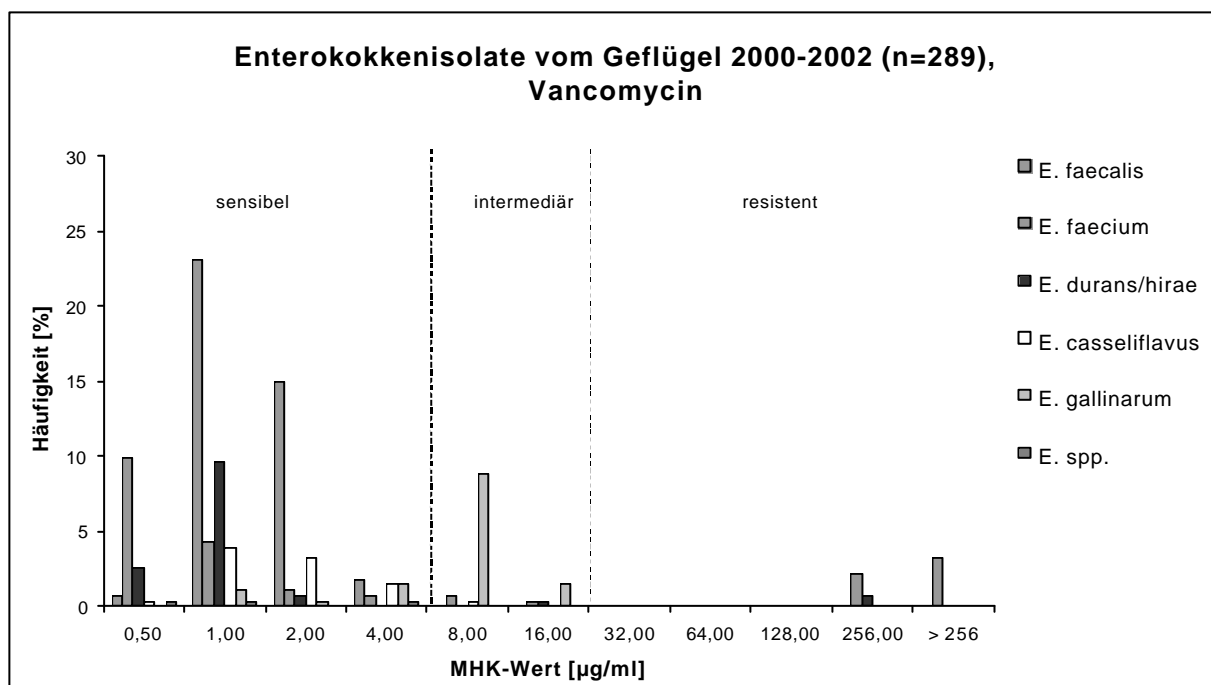
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 58: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=196) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Schwein gegenüber Vancomycin



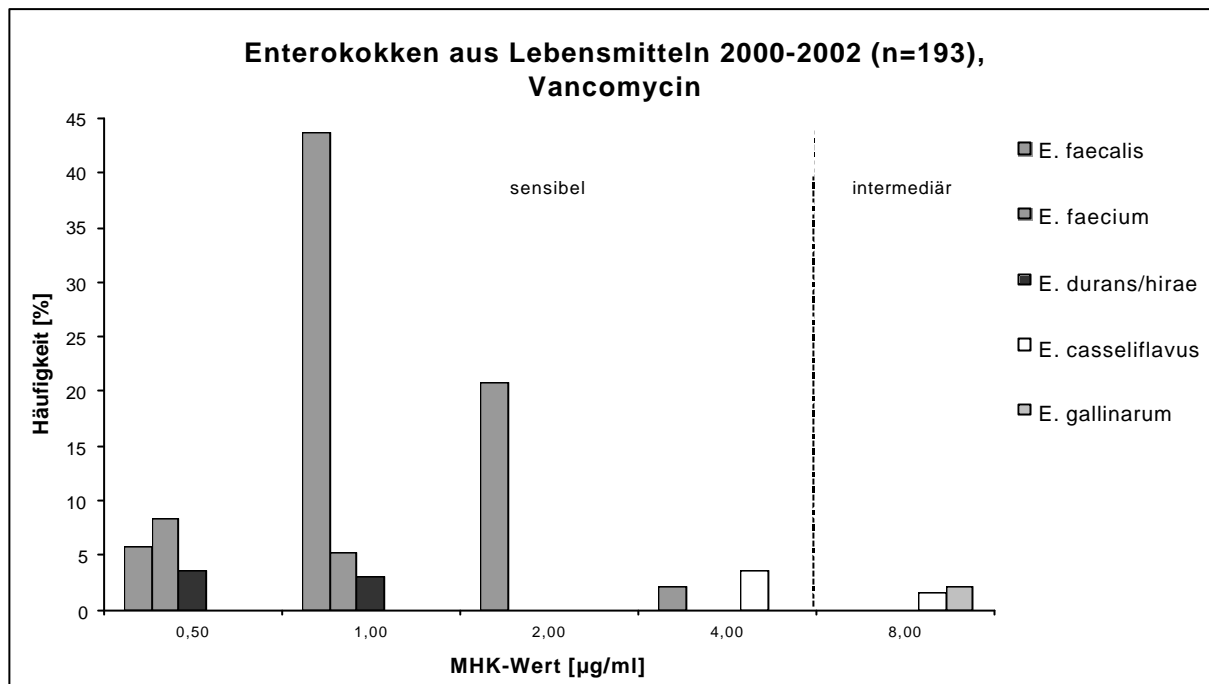
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 59: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=289) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Geflügel gegenüber Vancomycin



Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 60: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=193) isoliert aus Lebensmitteln gegenüber Teicoplanin



Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Auf eine grafische Darstellung der Vancomycin-resistenten Stämme wird hier verzichtet, da diese Stämme nur aus Probenmaterial vom Geflügel und vom Schwein nachgewiesen wurden. Sie werden hingegen tabellarisch aufgelistet (Tabelle 6). Die Ergebnisse in Tabelle 6 lassen erkennen, dass eine Kopplung der Resistenz gegenüber den beiden Glykopeptiden Vancomycin und Teicoplanin nur bei 11 Stämmen vorlag. Bei allen Vancomycin-resistenten Enterokokken (VRE) -Stämmen konnte das *vanA*-Gen mittels PCR nachgewiesen werden.

VRE-Stämme, die aus der gleichen Region (bzw. dem gleichen Schlachtbetrieb) isoliert wurden, besaßen in den meisten Fällen ein gleiches Resistenzmuster (z.B. G46KCva und G50HCva). Es traten jedoch auch vereinzelt geringfügige Unterschiede innerhalb eines Schlachtbetriebes (z.B. G23Kva und G24Kva) und einer Herde (z.B. G48Hc und G48Kva) auf. Im Resistenzmuster waren diese Unterschiede häufig nur durch eine Resistenz gegenüber einem zusätzlichen Wirkstoff erkennbar.

Tabelle 6: Vancomycin-resistente Enterokokken

Stamm	Spezies	Region	Resistenzmuster
G23Kva	<i>E. faecium</i>	BRB	AVL, BAC, ENRO, FLV, GEN, PEN, SYN, TEI, TET, VAN
G24Kva	<i>E. faecium</i>	BRB	AVL, BAC, CHL, ENRO, ERY, FLV, GEN, SYN, TET, VAN
G26Kva	<i>E. faecium</i>	BRB	BAC, ENRO, ERY, GEN, PEN, TET, VAN
G27Kva	<i>E. faecium</i>	NI	AMP, AUG, ENRO, FLV, GEN, PEN, TET, VAN
G27KCvb	<i>E. faecium</i>	NI	AMP, AUG, ENRO, FLV, GEN, PEN, TET, VAN
G29KCvb	<i>E. faecium</i>	NI	AMP, AUG, ENRO, FLV, GEN, PEN, SYN, TET, VAN
G30Kcva	<i>E. dur./ E. hir</i>	NI	AVL, FLV, GEN, TET, VAN
G32HCvb	<i>E. dur./ E. hir.</i>	NI	AVL, FLV, GEN, TEI, TET, VAN
G4Kcva	<i>E. faecium</i>	BRB	AVL, BAC, CHL, ENRO, FLV, GEN, PEN, TEI, TET, VAN
G5Kcva	<i>E. faecium</i>	BRB	AVL, BAC, CHL, ENRO, FLV, GEN, PEN, TEI, TET, VAN
S27Hcva	<i>E. faecium</i>	SH	ERY, FLV, PEN, SYN, TEI, TET, VAN
S23Kva	<i>E. faecium</i>	SH	AVL, ENRO, ERY, FLV, GEN, PEN, SYN, TEI, TET, VAN
S24Kvb	<i>E. faecium</i>	SH	AVL, ERY, FLV, GEN, PEN, SYN, TEI, TET, VAN
G48Hc	<i>E. faecium</i>	NI	BAC, ENRO, FLV, GEN, PEN, TET, VAN
G48Kva	<i>E. faecium</i>	NI	AVL, BAC, ENRO, FLV, GEN, PEN, TET, VAN
G50Hva	<i>E. faecium</i>	NI	AVL, BAC, ENRO, FLV, GEN, PEN, TET, VAN
G50Kva	<i>E. faecium</i>	NI	BAC, ENRO, FLV, GEN, PEN, TET, VAN
G50HCva	<i>E. faecium</i>	NI	BAC, ENRO, FLV, GEN, PEN, TET, VAN
G46KCva	<i>E. faecium</i>	NI	BAC, ENRO, FLV, GEN, PEN, TET, VAN
G49HCva	<i>E. faecium</i>	NI	BAC, ENRO, FLV, GEN, PEN, TET, VAN
G50KCvb	<i>E. faecium</i>	NI	BAC, ENRO, FLV, GEN, PEN, TET, VAN
G51KCva	<i>E. faecium</i>	NI	BAC, CHL, ENRO, ERY, TEI, TET, VAN,
G54Kva	<i>E. faecium</i>	BY	AVL, BAC, FLV, GEN, PEN, TEI, TET, VAN
G56Kva	<i>E. faecium</i>	BY	AVL, BAC, FLV, GEN, PEN, TEI, TET, VAN

Feldstämmen aus Probenmaterial vom Geflügel (G) und Schwein (S) und ihre Antibiotika-Resistenzmuster

E. dur./ E. hir. :

E. durans/E. hirae

AMP: Ampicillin

AUG: Amoxicillin/Clavulansäure

AVL: Avilamycin

BAC: Bacitracin

CHL: Chloramphenicol

ENRO: Enrofloxacin

ERY: Erythromycin

FLV: Flavomycin

GEN: Gentamicin

PEN: Penicillin

SYN: Synercid®

TET: Tetrazyklin

TEI: Teicoplanin

VAN: Vancomycin

NI: Niedersachsen

BY: Bayern

SH: Schleswig-Holstein

BRB: Berlin/Brandenburg

* Stammbezeichnung siehe Anhang 1

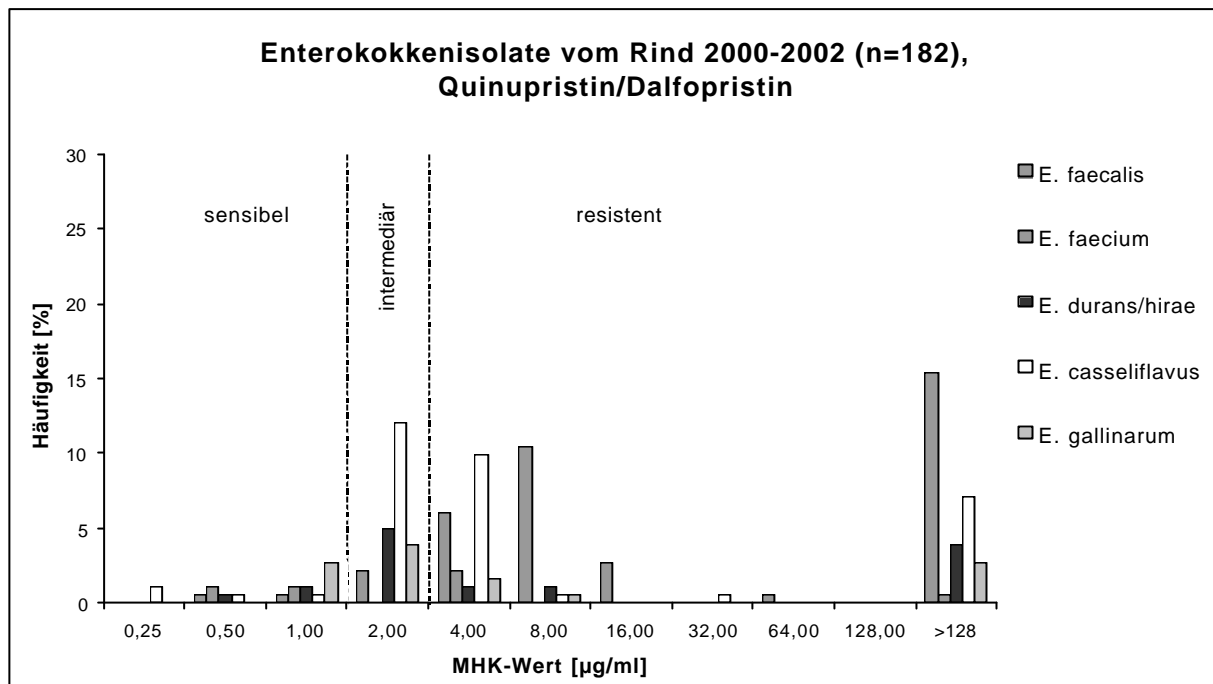
3.3.10 Quinupristin/Dalfopristin (Synercid®)

Die MHK-Wertverteilungen aller untersuchten Enterokokkenstämmen vom Rind, Schwein, Geflügel und aus Lebensmitteln gegen die Wirkstoffkombination Quinupristin/Dalfopristin sind in den Abbildungen 62 bis 65 dargestellt, während Abbildung 66 alle Quinupristin/Dalfopristin-resistenten Stämme zusammenfasst.

E. faecalis-Stämme zeigten gegen diese Wirkstoffkombination eine natürlich verminderte Empfindlichkeit. Dies wurde auch in der vorliegenden Untersuchung deutlich.

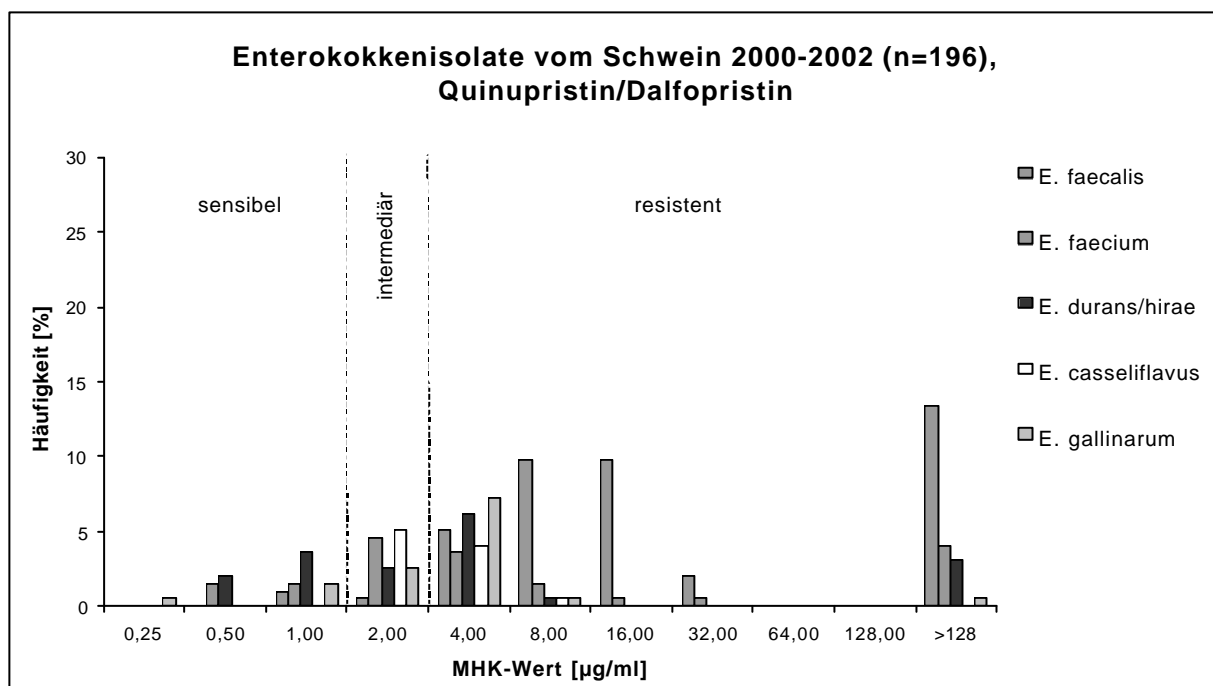
Die aus Proben vom Rind isolierten *E. casseliflavus*-Stämme zeigten in der Mehrzahl ein intermediäres bis resistentes Verhalten. Die Antibiotika-Resistenz von Enterokokkenstämmen aus anderen Probenmaterialien ist dagegen vergleichbar gering, was aus Abbildung 66 zu erkennen ist.

Abbildung 61: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=182) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Rind gegenüber Quinupristin/Dalfopristin



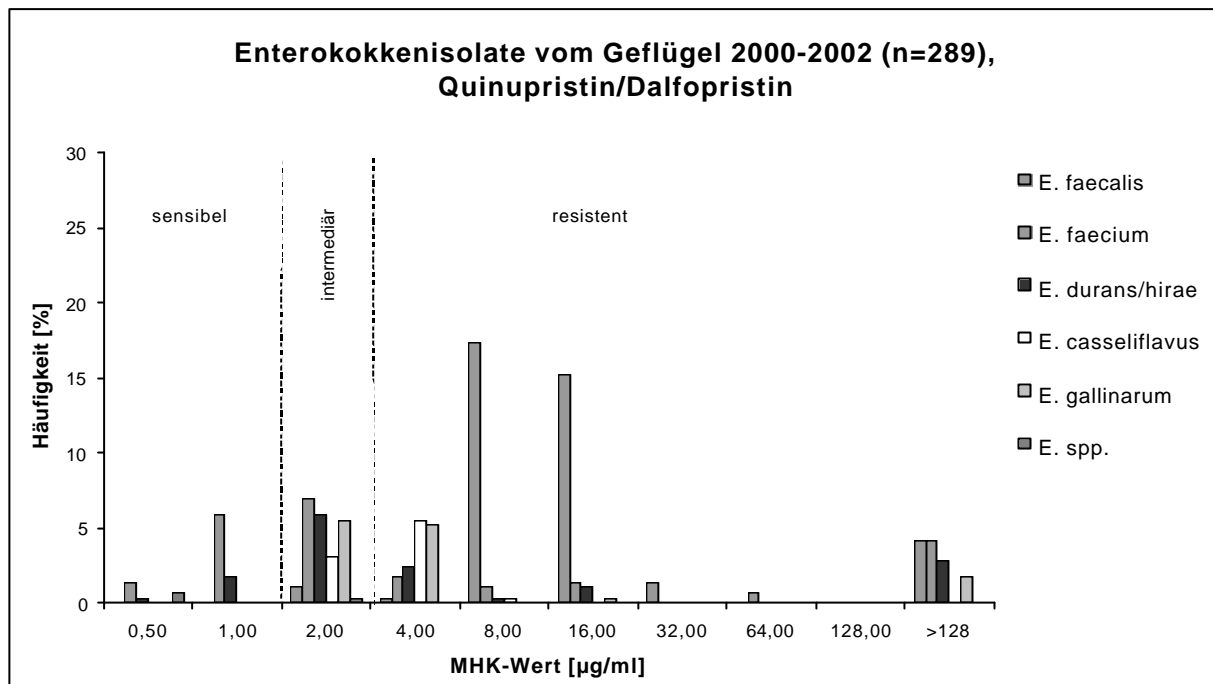
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 62: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=196) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Schwein gegenüber Quinupristin/ Dalfopristin



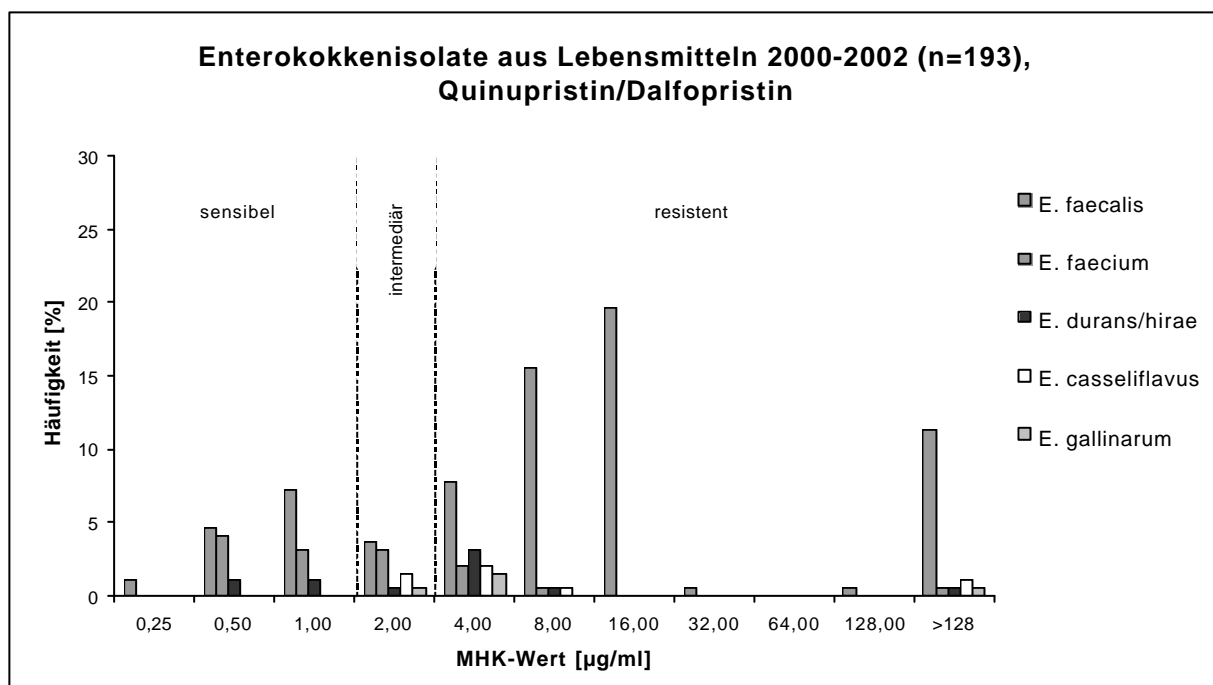
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 63: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=289) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Geflügel gegenüber Quinupristin/Dalfopristin



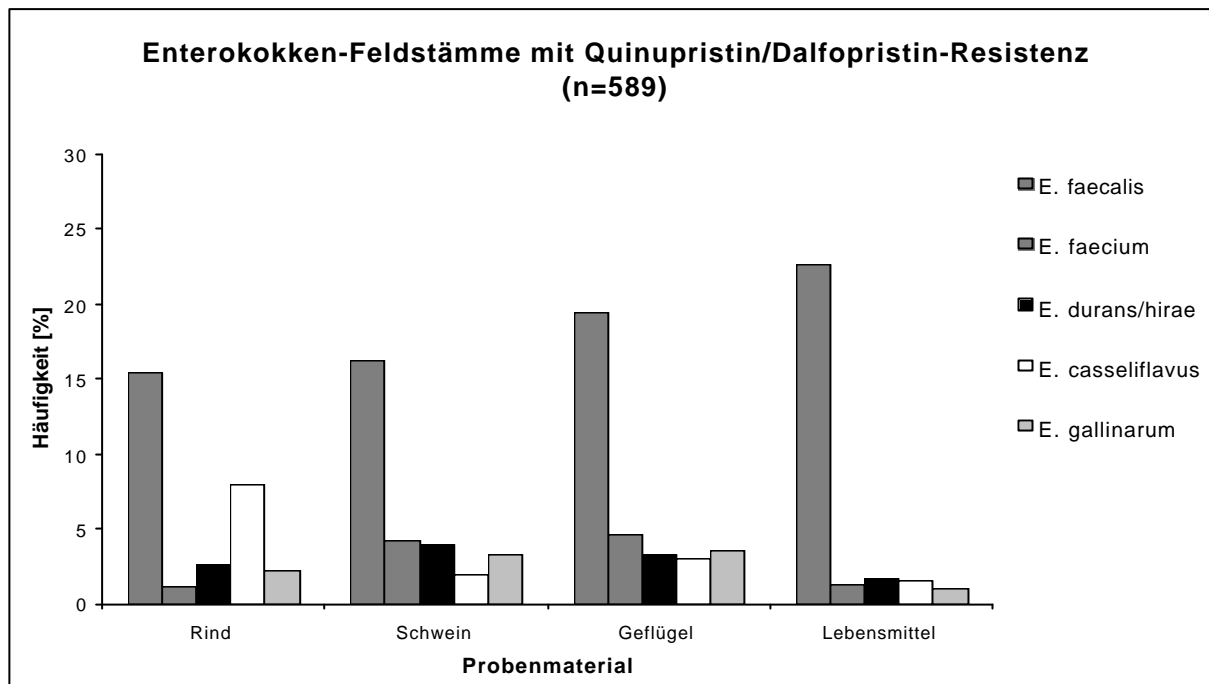
Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 64: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=289) isoliert aus Lebensmitteln gegenüber Quinupristin/Dalfopristin



Die Prozentangaben beziehen sich jeweils auf die Gesamtzahl an untersuchten Enterokokkenstämmen, die aus diesem Probenmaterial isoliert wurden.

Abbildung 65: Häufigkeit der Quinupristin/Dalfopristin-Resistenz bei Enterokokken-Feldstämmen vom Rind, Schwein, Geflügel und aus Lebensmitteln im Untersuchungszeitraum 2000-2002



Die Prozentangaben beziehen sich auf die Gesamtzahl der Stämme, die aus den jeweiligen Probenmaterialien isoliert wurden.

3.3.11 Trimethoprim/Sulfamethoxazol

Eine Trimethoprim/Sulfonamid-Resistenzbestimmung *in-vitro* wurde wegen der *in-vivo* Resistenz als nicht sinnvoll angesehen, so dass hier auf eine Darstellung der Resistenztestung verzichtet wurde.

3.4 Antibiotika-Resistenzen der untersuchten *E. faecalis*- und *E. faecium*-Stämmen

Die Antibiotika-Resistenzen der beiden für die Humanmedizin interessanten Spezies *E. faecalis* und *E. faecium* sollen im Folgenden dargestellt werden, um eine Resistenzentwicklung dieser beiden Spezies im Untersuchungszeitraum 2000-2002 bewerten zu können. Hierfür wurden alle Stämme dieser Spezies sowohl in Abhängigkeit vom Probenmaterial als auch von der Zeit betrachtet. Hingegen wurden Stämme dieser beiden Spezies aus Lebensmittelproben lediglich in Abhängigkeit vom Probenmaterial (verschiedene Hackfleischsorten sowie Weichkäsesorten) betrachtet.

3.4.1 Antibiotika-Resistenzen von *E. faecalis*-Stämmen

In den Tabellen 8 bis 12 sind die Empfindlichkeiten und Resistenzen (in %) für die Stämme der Spezies *E. faecalis* aus allen Probenmaterialien dargestellt.

E. faecalis-Stämme wurden aus allen Probenmaterialien am häufigsten isoliert. Bei allen Probenmaterialien konnte die natürliche Resistenz dieser Spezies gegenüber Quinupristin/Dalfopristin festgestellt werden. Die Resistenzrate gegenüber dieser Wirkstoffkombination schwankt zwischen 73 und 100%.

E. faecalis-Stämme, die aus Probenmaterial vom Rind isoliert wurden, zeigten im betrachteten Zeitraum eine deutliche Ausweitung des Resistenzspektrums im Jahre 2001, während die Stämme aus den Jahren 2000 und 2002 ein vergleichbares Resistenzniveau besaßen (Tabelle 7).

Bei den *E. faecalis*-Stämmen isoliert aus Probenmaterial vom Schwein hingegen konnte eine Abnahme des Resistenzspektrums während des Projektzeitraumes beobachtet werden (Tabelle 8).

Die Stämme von Geflügelproben besaßen das größte Resistenzspektrum im Vergleich zu Stämmen anderer Probenmaterialien. Im betrachteten Zeitraum hat sich das Resistenzniveau der vom Geflügel isolierten *E. faecalis*-Stämme kaum verändert (Tabelle 9).

Tabelle 7: Empfindlichkeiten und Vorkommen von Resistenzen (%) bei E. faecalis-Stämmen

Wirkstoff	2000 (n =25)					2001 (n =29)					2002 (n =16)				
	MHK (min)	MHK (max)	MHK 50%	MHK 90%	res. (%)	MHK (min)	MHK (max)	MHK 50%	MHK 90%	res. (%)	MHK (min)	MHK (max)	MHK 50%	MHK 90%	res. (%)
Ampicillin ^b	0,25	1	1	1	0	0,5	2	1	1	0	0,5	2	2	2	0
Amox. /Clavulan. ^b	0,12/0,06	1/0,5	0,5/0,25	0,5/0,25	0	0,25/0,12	4,0/2,0	0,5/0,25	1/0,5	0	0,25/0,12	1/0,5	1/0,5	1/0,5	0
Avilamycin ^a	2	16	4	8	4	1	64	4	16	10,3	1	16	2	16	12,5
Bacitracin ^a	0,5	64	16	32	0	4	> 128	32	> 128	13,8	8	> 128	32	128	25
Chloramphenicol ^b	1	64	16	32	8	8	64	16	64	24,1	4	16	8	16	0
Enrofloxacin ^c	0,25	2	0,5	1	0	0,5	2	1	2	24,1	0,25	2	1	2	0
Erythromycin ^b	0,12	4	1	4	0	0,25	> 256	0,5	> 256	13,8	0,12	2	0,5	1	0
Flavomycin ^a	1	> 256	2	128	8	1	32	2	8	6,9	1	> 256	4	64	12,5
Gentamicin ^d	0,5	16	1	12	0**	4	16	8	16	0**	4	16	8	8	0**
Penicillin ^b	0,25	4	4	4	0	1	4	2	4	0	0,5	4	4	4	0
Sulf./Trimethopr.	0,12/2,38	0,25/4,75	0,12/2,38	0,12/2,38	0	0,12/2,38	0,12/2,38	0,12/2,38	0,12/2,38	0	0,12/2,38	0,12/2,38	0,12/2,38	0,12/2,38	0
Synercid* ^b	0,5	16	8	16	84	64	> 128	> 128	> 128	100	2	8	8	8	87,5
Teicoplanin ^b	0,12	0,5	0,25	0,25	0	0,12	0,25	0,25	0,25	0	0,12	0,5	0,25	0,25	0
Tetracyclin ^b	0,12	128	1	128	20	0,5	128	1	128	13,8	0,5	> 256	2	128	12,5
Tylosin ^e	0,5	4	2	4	0	0,5	> 128	2	> 128	17,2	0,25	4	2	4	0
Vancomycin ^b	0,25	1	1	1	0	1	2	1	2	0	0,5	4	1	4	0

aus Probenmaterial vom Rind in den Jahren 2000-2002 gegenüber ausgewählten antimikrobiellen Wirkstoffen

a = Grenzwerte nach DANMAP 1999
 b = Grenzwerte nach NCCLS 2000
 c = Grenzwerte wie Ciprofloxacin

d = Grenzwerte nach DIN 58940 (2000)
 e = Grenzwerte nach Aarestrup et al. (2000)
 * = besteht aus Quinupristin/Dalfopristin

res. = resistent
 0** = keine Gentamicin Hochresistenz

Tabelle 8: Empfindlichkeiten und Vorkommen von Resistenzen (%) bei E. faecalis-Stämmen

Wirkstoff	2000 (n =29)					2001 (n =31)					2002 (n =21)				
	MHK (min)	MHK (max)	MHK 50%	MHK 90%	res. (%)	MHK (min)	MHK (max)	MHK 50%	MHK 90%	res. (%)	MHK (min)	MHK (max)	MHK 50%	MHK 90%	res. (%)
Ampicillin ^b	0,5	2	1	1	0	0,5	2	1	2	0	0,25	2	1	2	0
Amox. /Clavulan. ^b	0,25/0,12	1/0,5	0,5/0,25	1/0,5	0	0,25/0,12	1/0,5	0,5/0,25	1/0,5	0	0,12/0,06	1/0,5	1/0,5	1/0,5	0
Avilamycin ^a	2	16	4	16	10,3	1	128	4	16	16,1	1	8	2	8	0
Bacitracin ^a	2	64	32	32	0	4	> 128	32	128	16,1	1	128	16	128	9,5
Chloramphenicol ^b	8	64	16	64	20,7	8	128	16	32	22,6	4	64	8	16	4,8
Enrofloxacin ^c	0,5	4	1	2	6,9	0,5	64	1	2	6,5	0,5	2	1	2	23,8
Erythromycin ^b	0,12	> 256	2	> 256	27,6	0,25	> 256	0,5	128	9,7	0,12	> 256	0,5	2	4,8
Flavomycin ^a	1	> 256	2	4	6,9	1	> 256	2	8	6,5	0,25	8	2	4	0
Gentamicin ^b	1	1025	8	16	3,4	4	64	16	32	0**	2	1025	8	16	4,8
Penicillin ^b	1	4	4	4	0	2	4	4	4	0	1	4	4	4	0
Sulf./Trimetho. ^d	0,12/2,38	2,0/38	0,12/2,38	0,5/9,5	0	0,12/2,38	0,25/4,75	0,12/2,38	0,12/2,38	0	0,12/2,38	0,12/2,38	0,12/2,38	0,12/2,38	0
Synercid* ^b	1	32	8	16	93,1	16	> 128	> 128	> 128	100	1	16	8	16	95,2
Teicoplanin ^b	0,12	0,5	0,25	0,25	0	0,25	0,25	0,25	0,25	0	0,12	1	0,25	0,5	0
Tetracyclin ^b	0,5	256	64	128	58,6	0,5	128	2	128	29	0,12	> 256	1	128	19
Tylosin ^e	0,5	> 128	2	> 128	24,1	0,5	> 128	2	128	19,4	0,5	> 128	2	4	4,8
Vancomycin ^b	0,25	2	1	2	0	1	4	1	4	0	1	8	2	4	4,8

aus Probenmaterial vom Schwein in den Jahren 2000-2002 gegenüber ausgewählten antimikrobiellen Wirkstoffen

a = Grenzwerte nach DANMAP 1999

b = Grenzwerte nach NCCLS 2000

c = Grenzwerte wie Ciprofloxacin

d = Grenzwerte nach DIN 58940 (2000)

e = Grenzwerte nach Aarestrup et al. (2000)

* besteht aus Quinupristin/Dalfopristin

res. = resistent

0** = keine Gentamicin Hochresistenz

Tabelle 9: Empfindlichkeiten und Vorkommen von Resistenzen (%) bei E. faecalis-Stämmen

Wirkstoff	2000 (n =50)					2001 (n =36)					2002 (n =28)				
	MHK (min)	MHK (max)	MHK 50%	MHK 90%	res. (%)	MHK (min)	MHK (max)	MHK 50%	MHK 90%	res. (%)	MHK (min)	MHK (max)	MHK 50%	MHK 90%	res. (%)
Ampicillin ^b	0,5	2	1	1	0	0,25	2	1	2	0	0,5	2	1	2	0
Amox. /Clavulan. ^b	0,25/0,12	1/0,5	0,5/0,25	1/0,5	0	0,12/0,06	1/0,5	0,5/0,25	1/0,5	0	0,25/0,12	2,0/1,0	1/0,5	2,0/1,0	0
Avilamycin ^a	2	16	8	16	18	2	64	8	16	22,2	2	32	4	16	10,7
Bacitracin ^a	2	> 128	> 128	> 128	28	8	> 128	64	> 128	36,1	0,06	> 128	64	> 128	46,4
Chloramphenicol ^b	8	64	16	32	26	8	128	16	64	38,9	8	64	16	64	10,7
Enrofloxacin ^c	0,25	4	1	2	2	0,25	> 128	1	16	13,9	0,5	64	1	1	3,6
Erythromycin ^b	0,25	> 256	2	> 256	42	0,5	> 256	2	> 256	33,3	0,12	> 256	2	> 256	32,1
Flavomycin ^a	1	64	2	8	2	1	> 256	42	4	2,8	1	16	2	4	3,6
Gentamicin ^b	2	32	16	16	0**	4	32	16	16	0**	4	16	8	16	0**
Penicillin ^b	1	4	4	4	0	0,5	4	4	4	0	2	4	4	4	0
Sulf./Trimetho. ^d	0,12/2,38	1,0/19	0,12/2,38	0,25/4,75	0	0,12/2,38	0,25/4,75	0,12/2,38	0,12/2,38	0	0,12/2,38	0,12/2,38	0,12/2,38	0,12/2,38	0
Synercid* ^b	2	32	16	16	96	8	> 128	16	> 128	100	2	16	8	16	96,4
Teicoplanin ^b	0,12	4	0,25	0,25	0	0,12	1	0,25	0,25	0	0,12	0,5	0,25	0,5	0
Tetracyclin ^b	0,5	128	64	128	74	1	128	64	128	61,1	1	> 256	32	128	53,6
Tylosin ^e	0,5	> 128	6	> 128	42	1	> 128	8	> 128	38,9	1	> 128	4	> 128	32,1
Vancomycin ^b	0,5	4	1	2	0	0,5	4	1	2	0	1	4	1	2	0

aus Probenmaterial vom Geflügel in den Jahren 2000-2002 gegenüber ausgewählten antimikrobiellen Wirkstoffen

a = Grenzwerte nach DANMAP 1999

b = Grenzwerte nach NCCLS 2000

c = Grenzwerte wie Ciprofloxacin

d = Grenzwerte nach DIN 58940 (2000)

e = Grenzwerte nach Aarestrup et al. (2000)

* besteht aus Quinupristin/Dalfopristin

res. = resistent

0** keine Gentamicin Hochresistenz

Tabelle 10: Empfindlichkeiten und Vorkommen von Resistenzen (%) bei E. faecalis-Stämmen

Probenmaterial	Riderhackfleisch (n =55)					Schweinehackfleisch (n =65)					gemischtes Hackfleisch (n =16)				
	MHK (min)	MHK (max)	MHK 50%	MHK 90%	res. (%)	MHK (min)	MHK (max)	MHK 50%	MHK 90%	res. (%)	MHK (min)	MHK (max)	MHK 50%	MHK 90%	res. (%)
Ampicillin ^b	0,06	2	1	2	0	0,5	2	1	2	0	0,25	2	1	2	0
Amox. /Clavulan. ^b	0,12/0,06	1/0,5	0,5/0,25	1/0,5	0	0,5/0,25	2,0/1,0	0,5/0,25	1/0,5	0	0,12/0,06	1/0,5	0,5/0,25	1/0,5	0
Avilamycin ^a	1	64	2	8	5,5	1	16	2	8	1,5	1	8	2	4	0
Bacitracin ^a	8	> 128	32	64	5,5	4	64	32	64	0	4	> 128	32	64	6,3
Chloramphenicol ^b	1	>256	8	64	12,7	2	64	16	16	7,7	8	64	8	32	6,3
Enrofloxacin ^c	0,12	4	1	2	1,8	0,5	2	1	1	0	0,5	2	1	2	0
Erythromycin ^b	0,12	> 256	1	> 256	10,9	0,12	> 256	1	4	6,2	0,12	> 256	2	> 256	12,5
Flavomycin ^a	1	256	2	8	1,8	1	> 256	2	8	6,2	1	8	2	4	0
Gentamicin ^b	2	1025	8	16	1,8	2	1025	8	16	1,5	4	16	8	16	0**
Penicillin ^b	0,06	8	4	4	0	0,5	8	4	4	0	1	4	4	4	0
Sulf./Trimetho. ^d	0,12/2,38	0,25/4,75	0,12/2,38	0,12/2,38	0	0,12/2,38	1,0/19	0,12/2,38	0,12/2,38	0	0,12/2,38	0,12/2,38	0,12/2,38	0,12/2,38	0
Synercid* ^b	0,5	> 128	8	> 128	78,2	0,25	> 128	8	16	73,8	0,25	> 128	8	> 128	81,3
Teicoplanin ^b	0,12	2	0,25	0,25	0	0,12	0,5	0,25	0,25	0	0,12	0,25	0,12	0,25	0
Tetracyclin ^b	0,25	256	8	128	49,1	0,5	128	2	128	29,2	0,25	128	1	64	25
Tylosin ^e	0,5	> 128	2	> 128	10,9	0,5	> 128	2	4	6,2	0,12	> 128	2	> 128	18,8
Vancomycin ^b	0,5	4	1	2	0	0,5	4	1	2	0	0,5	2	1	2	0

aus Lebensmittelproben (Hackfleisch vom Rind, Schwein sowie Rind/Schwein gemischt) in den Jahren 2000-2002 gegenüber ausgewählten antimikrobiellen Wirkstoffen

Hier fand eine Betrachtung in Abhängigkeit des Probenmaterials statt, während die Tabellen 8 bis 10 eine zeitliche Entwicklung der Antibiotika-Resistenzen darstellen.

a = Grenzwerte nach DANMAP 1999

b = Grenzwerte nach NCCLS 2000

c = Grenzwerte wie Ciprofloxacin

d = Grenzwerte nach DIN 58940 (2000)

e = Grenzwerte nach Aarestrup et al. (2000)

res. = resistent

* besteht aus Quinupristin/Dalfopristin

0** keine Gentamicin Hochresistenz

In Tabelle 11 ist das Resistenzverhalten von ausgewählten *E. faecalis*-Stämmen isoliert aus Weichkäseproben dargestellt. Das Resistenzniveau dieser Stämme ist niedriger im Vergleich zu den Stämmen aus anderen Materialien. Es wurden keine Resistenzen gegenüber den geprüften Penicillinen (Ampicillin, Amoxicillin/Clavulansäure, Penicillin G) sowie den Glykopeptiden (Teicoplanin, Vancomycin) nachgewiesen. Auch zeigten die Stämme keine high-level Resistenz gegenüber Gentamicin. Nur mäßige Empfindlichkeit wurde gegenüber Bacitracin und Chloramphenicol (jeweils 16,7%) sowie dem Leistungsförderer Avilamycin (11,1%) festgestellt.

Eine erworbene, übertragbare Resistenz gegenüber Tetracyclin wurde allerdings unabhängig von der Herkunft der Käsesorten bei der Hälfte der untersuchten Isolate festgestellt und trat damit im Vergleich zu den Enterokokkenstämmen aus Tiermaterial auffallend häufig auf. Ähnlich hohe Resistenzraten wurden im Rahmen dieses Forschungsvorhabens nur bei Enterokokkenstämmen isoliert aus Probenmaterial vom Schwein und von Masthähnchen gefunden (siehe Tabellen 8 und 9).

Unterschiede im Resistenzverhalten von Enterokokkenstämmen aus Rohmilchweichkäse und aus pasteurisierter Milch hergestelltem Weichkäse wurden nicht beobachtet.

Tabelle 11: Empfindlichkeiten und Resistenzen (%) von 18 *E. faecalis*-Stämmen

Anzahl untersuchter Stämme: n=18					
Wirkstoff	MHK (min)	MHK (max)	MHK 50%	MHK 90%	resistent (%)
Ampicillin ^b	0,06	2	1	2	0
Amox. /Clavulan. ^b	0,5/0,25	1/0,5	0,5/0,25	1/0,5	0
Avilamycin ^a	1	64	4	36	11,1
Bacitracin ^a	16	> 128	32	> 128	16,7
Chloramphenicol ^b	2	> 256	16	64	16,7
Enrofloxacin ^c	0,12	4	1	2	5,6
Erythromycin ^b	0,25	> 256	1	> 257	11,1
Flavomycin ^a	1	> 257	2	32	5,6
Gentamicin ^d	4	32	16	32	0**
Penicillin ^b	0,06	8	2	4	0
Sulf./Trimethopr.	0,12/2,38	0,25/4,75	0,25/4,75	0,25/4,75	0
Quinupristin/Dalfop. ^b	2	> 128	> 128	> 128	83,3
Teicoplanin ^b	0,12	2	0,12	0,25	0
Tetracyclin ^b	0,25	256	32	256	50
Tylosin ^e	0,5	> 128	2	> 128	11,1
Vancomycin ^b	0,5	4	2	4	0

Isoliert aus 21 verschiedenen Weichkäseproben hergestellt aus Rohmilch und pasteurisierte Milch im Jahre 2001 (Herkunft: Berliner Lebensmittelgeschäfte) gegenüber 16 ausgewählten antimikrobiellen Wirkstoffen

a = Grenzwerte nach DANMAP 1999

b = Grenzwerte nach NCCLS 2000

c = Grenzwerte wie Ciprofloxacin

d = Grenzwerte nach DIN 58940 (2000)

e = Grenzwerte nach Aarestrup et al. (2000)

0** keine Gentamicin Hochresistenz

3.4.2 Antibiotika-Resistenzen von *E. faecium*-Stämmen

In den Tabellen 12 bis 14 sind die Antibiotika-Resistenzen der untersuchten *E. faecium*-Stämme isoliert aus Tiermaterial sowie aus Lebensmittelproben dargestellt.

Insgesamt wurden *E. faecium*-Stämme häufiger aus Probenmaterial vom Geflügel als vom Schwein und seltener aus Probenmaterial vom Rind isoliert. Bei den Lebensmittelproben konnten *E. faecium*-Stämme vor allem aus Schweinehackfleisch nachgewiesen werden, während in Proben von Weichkäse nur ein einziger Stamm dieser Spezies isoliert werden konnte. Ein resistentes Verhalten zeigte dieser Stamm nur gegenüber den Wirkstoffen Flavomycin (über 256 µg/ml) und Quinupristin/Dalfopristin (über 128 µg/ml).

Eine Beurteilung des Resistenzverhaltens von *E. faecium*-Stämmen vom Rind ist angesichts des geringen Vorkommens dieser Spezies bei diesem Probenmaterial nicht sinnvoll. Für eine vollständige Darstellung der Resultate sind die MHK-Ergebnisse dieser neun *E. faecium*-Stämme dennoch in Tabelle 12 aufgenommen worden.

Die aus Probenmaterial vom Schwein isolierten *E. faecium*-Stämme waren mit einer einzigen Ausnahme Flavomycin-resistent. Weiterhin konnte eine Zunahme der Resistenzraten gegen Ampicillin, Avilamycin, Bacitracin sowie Enrofloxacin bei diesen Enterokokkenstämmen im Verlauf des Untersuchungszeitraumes festgestellt werden. Eine gleichbleibende Resistenzrate wurde gegenüber Erythromycin, Penicillin sowie Tylosin nachgewiesen, während ein Rückgang der Resistenz gegenüber den Glykopeptiden Teicoplanin und Vancomycin, sowie Tetracyclin und Tylosin registriert werden konnte. Diese Resultate sind in Tabelle 13 dargestellt.

In Tabelle 14 sind die Ergebnisse der MHK-Bestimmung für die *E. faecium*-Stämme isoliert aus Probenmaterial vom Geflügel dargestellt. Im Vergleich zu Stämmen anderer Materialien konnten höhere Resistenzraten gegenüber allen untersuchten Wirkstoffen nachgewiesen werden. Eine Zunahme der Vancomycin-Resistenzrate von 14,3% auf 50% ist hier gekoppelt mit einer gleichbleibend geringen Teicoplanin-Resistenzrate (um 14%). Gleichbleibend hohe Resistenzraten dieser *E. faecium*-Stämme sind weiterhin gegenüber den Wirkstoffen Avilamycin, Bacitracin, Enrofloxacin, Erythromycin, Flavomycin sowie Tetracyclin festgestellt worden. Ein Rückgang der Resistenzrate konnte hingegen gegenüber dem Wirkstoff Tylosin nachgewiesen werden.

Die Ergebnisse der MHK-Untersuchungen für *E. faecium*-Stämme aus den verschiedenen Hackfleischsorten sind in der Tabelle 15 dargestellt. Hier zeigten vor allem die Stämme aus Rinderhackfleisch höhere Resistenzraten gegenüber verschiedenen Wirkstoffen wie z.B. Enrofloxacin, Synercid® und Tetrazyklin. Auffällig waren die vergleichbaren Sensibilitäten dieser Stämme gegenüber den Wirkstoffen Ampicillin, Amoxicillin/Clavulansäure, Gentamicin (keine high-level Resistenz), Penicillin, Teicoplanin, Tylosin und Vancomycin.

Tabelle 12: Empfindlichkeiten und Vorkommen von Resistenzen (%) bei E. feacium-Stämmen

Wirkstoff	2000 (n =3)					2001 (n =1)					2002 (n =5)				
	MHK (min)	MHK (max)	MHK 50%	MHK 90%	res. (%)	MHK (min)	MHK (max)	MHK 50%	MHK 90%	res. (%)	MHK (min)	MHK (max)	MHK 50%	MHK 90%	res. (%)
Ampicillin ^b	0,5	1,0	1,0	1,0	0,0	1,0					1,0	8,0	2,0	8,0	0,0
Amox. /Clavulan. ^b	0,25/0,12	0,5/0,25	0,5/0,25	0,5/0,25	0,0	0,5/0,25					0,5/0,25	4,0/2	1/0,5	4,0/2	0,0
Avilamycin ^a	2,0	32,0	32,0	32,0	66,7	8,0					8,0	32,0	16,0	32,0	80,0
Bacitracin ^a	8,0	128,0	32,0	128,0	33,3	128,0					8,0	> 128	128,0	> 128	80,0
Chloramphenicol ^b	16,0	16,0	16,0	16,0	0,0	16,0					8,0	64,0	16,0	64,0	10,0
Enrofloxacin ^c	1,0	4,0	4,0	4,0	66,7	32,0					2,0	16,0	8,0	16,0	80,0
Erythromycin ^b	0,3	16,0	0,5	16,0	33,3	8,0					0,1	16,0	4,0	16,0	40,0
Flavomycin ^a	1,0	> 256	> 256	> 256	66,7	> 256					256,0	> 256	> 256	> 256	100,0
Gentamicin ^b	2,0	2,0	2,0	2,0	0**	32,0					8,0	16,0	8,0	16,0	0**
Penicillin ^b	2,0	4,0	4,0	4,0	0,0	4,0					4,0	16,0	4,0	16,0	20,0
Sulf./Trimetho. ^d	0,12/2,38	0,25/4,75	0,25/4,75	0,25/4,75	0,0	0,12/2,38					0,12/2,38	32/608	0,25/4,75	32/608	20,0
Synercid* ^b	0,5	4,0	4,0	4,0	66,7	> 128					0,5	4,0	1,0	4,0	40,0
Teicoplanin ^b	0,1	0,5	0,5	0,5	0,0	0,5					0,5	1,0	0,5	1,0	0,0
Tetracyclin ^b	1,0	1,0	1,0	1,0	0,0	0,5					1,0	>256	2,0	> 256	10,0
Tylosin ^e	0,5	8,0	4,0	8,0	0,0	2,0					0,5	8,0	2,0	8,0	0,0
Vancomycin ^b	0,5	1,0	0,5	1,0	0,0	0,5					0,5	4,0	0,5	4,0	0,0

aus Probenmaterial vom Rind in den Jahren 2000-2002 gegenüber ausgewählten antimikrobiellen Wirkstoffen

a = Grenzwerte nach DANMAP 1999

b = Grenzwerte nach NCCLS 2000

c = Grenzwerte wie Ciprofloxacin

d = Grenzwerte nach DIN 58940 (2000)

e = Grenzwerte nach Aarestrup et al. (2000)

* besteht aus Quinupristin/Dalfopristin

res. = resistent

0** keine Gentamicin Hochresistenz

Tabelle 13: Empfindlichkeiten und Vorkommen von Resistenzen (%) bei E. faecium-Stämmen

Wirkstoff	2000 (n =15)					2001 (n =14)					2002 (n =21)				
	MHK (min)	MHK (max)	MHK 50%	MHK 90%	res. (%)	MHK (min)	MHK (max)	MHK 50%	MHK 90%	res. (%)	MHK (min)	MHK (max)	MHK 50%	MHK 90%	res. (%)
Ampicillin ^b	0,06	8,0	2,0	4,0	0,0	0,25	8,0	0,5	6,0	0,0	0,25	64,0	2,0	64,0	19,1
Amox. /Clavulan. ^b	0,12/0,06	4,0/2	1/0,5	2,0/1,0	0,0	0,12/0,06	2,0/1	0,12/0,06	2,0/1	0,0	0,25/0,12	64/32	0,5/0,25	64/32	19,1
Avilamycin ^a	1,0	32,0	4,0	32,0	33,3	2,0	128,0	32,0	96,0	64,3	4,0	32,0	16,0	32,0	66,7
Bacitracin ^a	4,0	> 128	64,0	> 128	13,3	2,0	128,0	32,0	128,0	21,4	4,0	> 128	96,0	> 128	52,4
Chloramphenicol ^b	4,0	32,0	8,0	32,0	13,3	8,0	> 256	16,0	128,0	7,1	8,0	16,0	16,0	16,0	0,0
Enrofloxacin ^c	0,25	16,0	1,0	16,0	33,3	1,0	> 128	8,0	128,0	85,7	2,0	16,0	8,0	16,0	66,7
Erythromycin ^b	0,12	> 256	8,0	> 256	53,3	0,12	> 256	4,0	128,0	42,9	2,0	> 256	6,0	> 256	52,4
Flavomycin ^a	8,0	> 256	>256	> 256	93,3	32,0	> 256	>256	>256	100,0	256,0	> 256	> 256	> 256	100,0
Gentamicin ^d	0,25	32,0	8,0	16,0	0**	4,0	128,0	16,0	96,0	0**	8,0	16,0	8,0	16,0	0**
Penicillin ^b	1,0	32,0	4,0	32,0	40,0	0,25	16,0	1,0	16,0	21,4	1,0	128,0	2,0	128,0	33,3
Sulf./Trimethopr.	0,12/2,38	4,0/76	0,12/2,38	2,0/38	0,0	0,12/2,38	0,25/4,75	0,25/4,75	0,25/4,75	0,0	0,12/2,38	0,12/2,38	0,12/2,38	0,12/2,38	0,0
Synercid* ^b	0,5	32,0	4,0	16,0	53,3	1,0	> 128	> 128	> 128	64,3	0,5	8,0	2,5	8,0	52,4
Teicoplanin ^b	0,12	128,0	0,5	64,0	20,0	0,12	1,0	0,5	1,0	0,0	0,12	0,5	0,3	0,5	0,0
Tetracyclin ^b	0,5	256,0	1,0	256,0	46,7	0,5	128,0	1,5	128,0	28,6	1,0	> 256	1,0	> 256	19,1
Tylosin ^e	0,5	> 128	4,0	> 128	20,0	0,5	16,0	4,0	12,0	7,1	0,25	> 128	2,0	> 128	19,1
Vancomycin ^b	0,25	> 256	1,0	> 256	20,0	0,5	4,0	0,5	2,0	0,0	0,5	1,0	0,8	1,0	0,0

aus Probenmaterial vom Schwein in den Jahren 2000-2002 gegenüber ausgewählten antimikrobiellen Wirkstoffen

a = Grenzwerte nach DANMAP 1999

b = Grenzwerte nach NCCLS 2000

c = Grenzwerte wie Ciprofloxacin

d = Grenzwerte nach DIN 58940 (2000)

e = Grenzwerte nach Aarestrup et al. (2000)

* besteht aus Quinupristin/Dalfopristin

res. = resistent

0** keine Gentamicin Hochresistenz

Tabelle 14 : Empfindlichkeiten und Vorkommen von Resistenzen (%) bei E. faecium-Stämmen

Wirkstoff	2000 (n =14)					2001 (n =31)					2002 (n =22)				
	MHK (min)	MHK (max)	MHK 50%	MHK 90%	res. (%)	MHK (min)	MHK (max)	MHK 50%	MHK 90%	res. (%)	MHK (min)	MHK (max)	MHK 50%	MHK 90%	res. (%)
Ampicillin ^b	0,12	32	1	32	14,1	0,12	128	4	128	22,6	0,25	16	4	16	13,6
Amox. /Clavulan. ^b	0,12/0,06	16,0/8	0,5/0,25	16,0/8	14,3	0,12/0,06	64/32	1/0,5	32/16	22,6	0,12/0,06	16,0/8	2,0/1	8,0/4	4,5
Avilamycin ^a	4	> 128	16	64	57,1	2	128	16	64	51,6	1	> 128	8	64	27,3
Bacitracin ^a	4	> 128	> 128	> 128	71,4	2	>128	> 128	> 128	87,1	64	> 128	>128	> 128	95,5
Chloramphenicol ^b	8	32	16	32	21,4	4	32	16	32	41,9	4	32	8	32	9,1
Enrofloxacin ^c	0,5	32	6	24	64,3	1	> 128	8	128	90,3	1	8	4	8	86,4
Erythromycin ^b	0,5	> 256	36	> 256	64,3	0,12	> 256	> 256	> 256	74,2	0,12	> 256	0,25	> 256	31,8
Flavomycin ^a	1	> 256	> 256	> 256	78,6	4	128	16	32	77,4	4	> 256	128	>256	90,9
Gentamicin ^b	8	64	16	32	0	4	128	16	32	0	2	16	8	16	0
Penicillin ^b	0,5	128	4	128	42,9	0,25	> 128	8	> 128	48,4	0,25	64	32	32	63,6
Sulf./Trimetho. ^d	0,12/2,38	0,12/2,38	0,12/2,38	0,12/2,38	0	0,12/2,38	32/608	0,12/2,38	8/152	9,7	0,12/2,38	0,5/9,5	0,12/2,38	0,12/2,38	0
Synercid* ^b	1	16	4	16	50	0,5	> 128	4	> 128	54,8	0,5	8	1	4	9,1
Teicoplanin ^b	0,12	128	0,25	128	14,3	0,12	> 256	0,25	16	3,2	0,12	64	2	32	13,6
Tetracyclin ^b	1	256	64	192	85,7	0,5	> 256	128	257	90,3	0,5	128	64	128	90,9
Tylosin ^e	0,5	> 128	36	> 128	50	1	> 128	> 128	> 128	71	0,5	> 128	4	> 128	27,3
Vancomycin ^b	0,5	> 256	1	> 256	14,3	0,5	> 256	0,5	> 256	19,4	0,5	> 256	8	> 256	50

aus Probenmaterial vom Geflügel in den Jahren 2000-2002 gegenüber ausgewählten antimikrobiellen Wirkstoffen

a = Grenzwerte nach DANMAP 1999
 b = Grenzwerte nach NCCLS 2000
 c = Grenzwerte wie Ciprofloxacin

d = Grenzwerte nach DIN 58940 (2000)
 e = Grenzwerte nach Aarestrup et al. (2000)
 * besteht aus Quinupristin/Dalfopristin

res. = resistent
 0** keine Gentamicin Hochresistenz

Tabelle 15: Empfindlichkeiten und Vorkommen von Resistenzen (%) bei E. faecium-Stämmen

Anzahl <i>E. faecium</i>	aus Hackfleisch vom Rind					aus Hackfleisch vom Schwein					aus Hackfleisch Rind/Schwein				
			n=7					n=11					n=7		
Wirkstoff	MHK (min)	MHK (max)	MHK 50%	MHK 90%	res. (%)	MHK (min)	MHK (max)	MHK 50%	MHK 90%	res. (%)	MHK (min)	MHK (max)	MHK 50%	MHK 90%	res. (%)
Ampicillin ^b	0,5	4,0	1,0	4,0	0,0	0,1	2,0	0,5	2,0	0,0	0,1	8,0	0,5	8,0	0,0
Amox. /Clavulan. ^b	0,25/0,12	2,0/1	0,5/0,25	2,0/1	0,0	0,12/0,06	0,5/0,25	0,5/0,25	0,5/0,25	0,0	0,12/0,06	2,0/1	0,12/0,06	2,0/1	0,0
Avilamycin ^a	2,0	16,0	4,0	16,0	28,6	2,0	32,0	4,0	32,0	27,3	4,0	16,0	4,0	16,0	14,3
Bacitracin ^a	4,0	>128	128,0	> 128	57,1	4,0	> 128	16,0	128,0	27,3	4,0	> 128	16,0	>128	14,3
Chloramphenicol ^b	2,0	32,0	8,0	32,0	14,3	0,5	16,0	8,0	16,0	18,2	2,0	16,0	4,0	16,0	0,0
Enrofloxacin ^c	0,5	8,0	4,0	8,0	57,1	1,0	8,0	2,0	8,0	45,5	2,0	8,0	4,0	8,0	71,4
Erythromycin ^b	4,0	16,0	8,0	16,0	57,1	1,0	8,0	4,0	8,0	27,3	4,0	> 256	4,0	> 256	42,9
Flavomycin ^a	256,0	> 256	>256	> 256	100,0	256,0	> 256	> 256	> 256	100,0	256,0	> 256	>256	>256	100,0
Gentamicin ^d	4,0	16,0	8,0	16,0	0,0	2,0	32,0	8,0	32,0	0,0	4,0	8,0	8,0	8,0	0,0
Penicillin ^b	1,0	8,0	4,0	8,0	0,0	0,1	4,0	2,0	4,0	0,0	0,1	32,0	1,0	32,0	14,3
Sulf./Trimethopr.	0,12/2,38	0,25/4,75	0,12/2,38	0,25/4,75	0,0	0,12/2,38	0,25/4,75	0,12/2,38	0,25/4,75	0,0	0,12/2,38	0,25/4,75	0,12/2,38	0,25/4,75	0,0
Synercid ^{*b}	1,0	8,0	2,0	8,0	42,9	0,5	4,0	1,0	4,0	9,1	0,5	4,0	1,0	4,0	14,3
Teicoplanin ^b	0,3	1,0	0,5	1,0	0,0	0,1	1,0	0,5	1,0	0,0	0,1	0,5	0,3	0,5	0,0
Tetracyclin ^b	0,3	> 256	2,0	> 256	42,9	0,3	128,0	0,5	128,0	18,2	0,1	128,0	1,0	128,0	28,6
Tylosin ^e	0,5	4,0	1,0	4,0	0,0	0,3	8,0	0,5	8,0	0,0	0,5	> 128	0,5	> 128	14,3
Vancomycin ^b	0,5	1,0	1,0	1,0	0,0	0,5	1,0	0,5	1,0	0,0	0,5	1,0	0,5	1,0	0,0

aus verschiedenen Hackfleischsorten in den Jahren 2000-2002 gegenüber ausgewählten antimikrobiellen Wirkstoffen

a = Grenzwerte nach DANMAP 1999
b = Grenzwerte nach NCCLS 2000
c = Grenzwerte wie Ciprofloxacin

d = Grenzwerte nach DIN 58940 (2000)
e = Grenzwerte nach Aarestrup et al. (2000)
* besteht aus Quinupristin/Dalfopristin

res. = resistent
0** keine Gentamicin Hochresistenz

3.5 Molekularbiologische Charakterisierung von Enterokokken-Feldstämmen

3.5.1 Nachweis von Vancomycin-Resistenzgenen und Bestimmung der Spezies mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Im ersten Untersuchungszeitraum 2000 wurden die Vancomycin-Resistenzgene *vanA*, *vanB*, *vanC1* sowie *vanC2* mittels Einzel-PCR-Untersuchung bei ausgewählten Enterokokkenstämmen bestimmt.

Im weiteren Verlaufe des Projektes wurde in den Jahren 2001/2002 die Einzel-PCR zu einer Multiplex-PCR (MPCR) erweitert, um damit zusätzlich weitere für die Antibiotika-Resistenz relevante Genfragmente von Enterokokken zu detektieren. Zunächst wurden einzelne MPCR-Parameter wie die Annealingtemperatur, die Magnesiumchlorid(MgCl₂)-Konzentration sowie die Primerkombination und -konzentration anhand von Referenzstämmen (siehe Anhang B) optimiert und an 522 Enterokokken-Feldstämmen getestet.

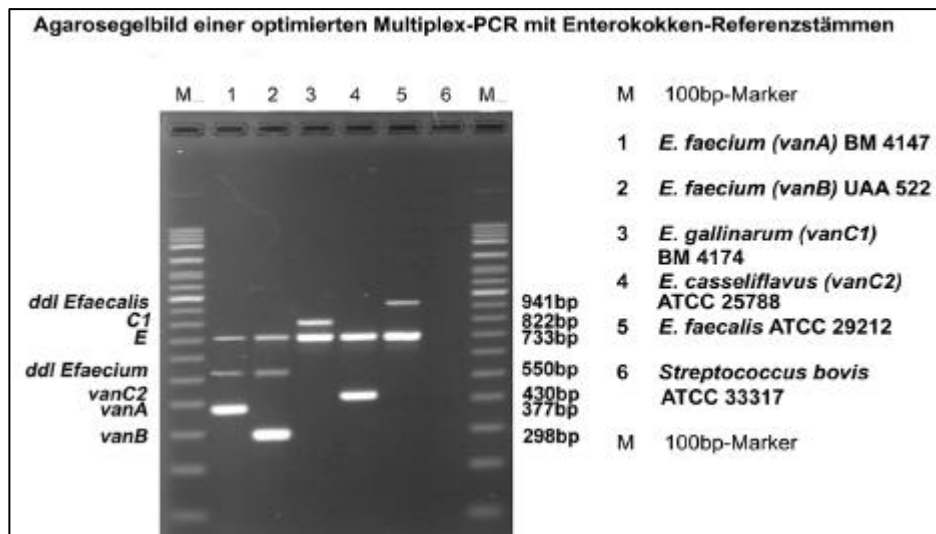
Bei dem Einsatz aller zur Genus- und Speziesdifferenzierung sowie zum Nachweis der Vancomycinresistenzgene verwendeten Primer in der MPCR wurden keine unspezifischen Fragmente nachgewiesen, es trat jedoch eine gegenseitige Inhibierung auf. Aufgrund dessen wurde die Primeranzahl von insgesamt 11 auf sieben reduziert.

Vor allem der Einsatz der "Ent"-Primer (Ke et al., 1999), der für die Genusbestimmung vorgesehen war, wirkte sich negativ auf das Ergebnis aus. Ein Einsatz dieser Primer bleibt daher der Einzel-PCR vorbehalten. Diese Vorgehensweise hatte den Vorteil, dass das wesentlich kleinere "Ent"-Fragment (112bp) auf einem separaten Agarose-Gel (2,4%ig) dargestellt werden konnte, während die restlichen Fragmente auf einem 2%igen Gel bereits gute Signale lieferten.

Das Konzentrationsoptimum für die *vanB*-, *vanC2*- sowie die *ddl_{E. faecium}*-Primer lag bei 50pmol/μl. Die *vanA*- sowie die "E"-Primerkonzentrationen wurden auf 25pmol/μl reduziert, wohingegen die *ddl_{E. faecalis}*- und die "C1"-Primer ein Optimum bei 200pmol/μl besaßen.

Die Abbildung 67 zeigt ein Gelbild einer optimierten MPCR. Auf der linken Seite sind die PCR-Fragmente mit den Primer-Namen aufgelistet, rechts sind die dazugehörigen Fragmentgrößen beschrieben. Das Gel ist flankiert von zwei 100bp-Markern. Alle gesuchten Signale sind deutlich, jedoch mit unterschiedlicher Intensität (z. B. schwächeres *ddl_{E. faecium}* Signal) zu erkennen.

Abbildung 66: PCR-Gelbild der optimierten Multiplex-PCR für Enterokokken-Referenzstämme und einer Negativ-Kontrolle (*Streptococcus bovis* ATCC 33317)



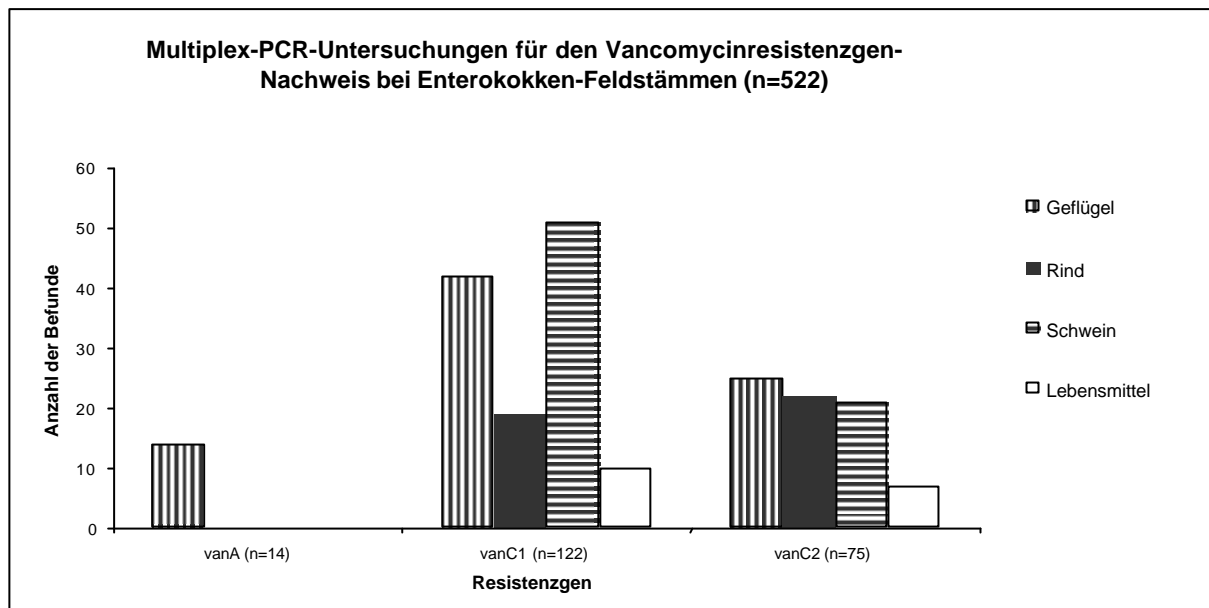
Bei der Anwendung aller optimierten Parameter für die MPCR-Untersuchungen auf die im Untersuchungszeitraum isolierten Enterokokken-Feldstämme waren die Vancomycin-Resistenzgene *vanA*, *vanC1* und *vanC2* eindeutig bestimmbar.

Das *vanB*-Gen konnte bei keiner Probe detektiert werden, obwohl die MHK-Untersuchung einiger VRE-Stämme eine Teicoplanin-Sensibilität mit gleichzeitiger Vancomycin-Resistenz zeigte.

In Abbildung 68 sind alle Ergebnisse des Vancomycinresistenzgen-Nachweises für alle 522 genannten Enterokokken-Feldstämme dargestellt. 14 *vanA*-Stämme wurden ausschließlich bei Geflügelproben nachgewiesen, während beide *vanC*-Gene bei allen Probenmaterialien zu finden waren. Hier sollte daraufhin gewiesen werden, dass alle bei der MPCR untersuchten Stämme aus den Jahren 2001 und 2002 stammten, so dass die drei VRE-Stämme vom Schwein isoliert aus dem Jahre 2000 nicht erfasst wurden.

Der molekularbiologische Nachweis einer high-level (*vanA*)- sowie der low-level (*vanC*)-Resistenzen bei den untersuchten Enterokokkenstämme konnte durch die MHK-Bestimmung bestätigt werden.

Abbildung 67: Vancomycinresistenzgen-Nachweis bei ausgewählten Enterokokken-Feldstämmen



Probenmaterial vom Rind, Schwein, Geflügel und aus Lebensmitteln mittels optimierter Multiplex-PCR (MPCR), isoliert aus den Jahren 2001 und 2002.

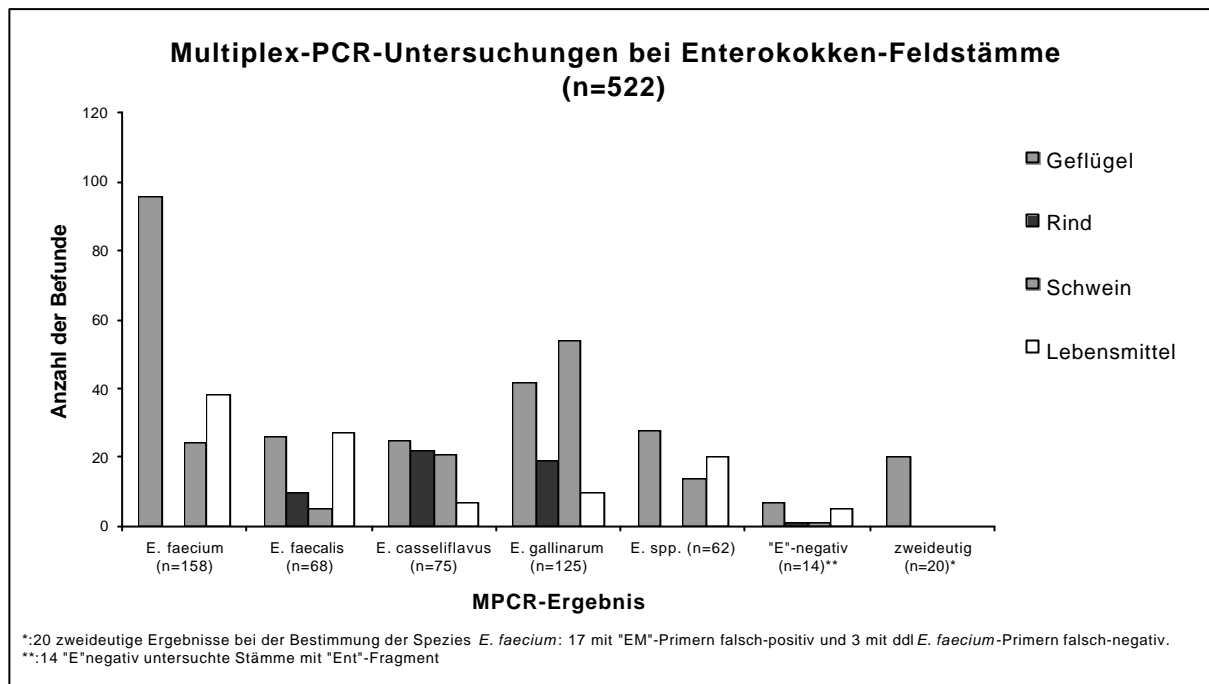
Aufgrund der Speziespezifität beider *vanC*-Gene für die Spezies *E. gallinarum* (*vanC1*) und *E. casseliflavus* (*vanC2*) gelang der MPCR-Nachweis beider Spezies in einem Ansatz.

Während die *E. faecalis*-Stämme mit den $ddl_{E. faecalis}$ -Primern (Dutka-Malen et al., 1995) eindeutig nachgewiesen wurden, traten Unterschiede bei der *E. faecium*-Bestimmung zwischen den verwendeten "EM"- und den $ddl_{E. faecium}$ -Primern (Cheng et al., 1997, Dutka-Malen et al., 1995) auf. Die erstgenannten Primer zeigten eine geringere Spezifität (17 falsch-positive Ergebnisse), während drei biochemisch eindeutig als *E. faecium* detektierte Stämme von den $ddl_{E. faecium}$ -Primern nicht nachgewiesen wurden. Alle 20 genannten zweifelhaften Fälle wurden nur bei Isolaten aus Geflügelproben beobachtet.

Bezüglich der Genusbestimmung wurde der Einsatz der "Ent"-Primer aufgrund der größeren Spezifität im Vergleich zu den "E"-Primern vorgezogen. 14 Stämme, die eindeutig als dem Genus *Enterococcus* zugeordnet wurden, konnten nur mit den "Ent"-Primern nachgewiesen werden. Dennoch wurden die „E“-Primer im MPCR-Ansatz verwendet, da sie keine Inhibierung der anderen Primer verursachten und diese Vorgehensweise eine erste Bestimmung von Enterokokken ermöglichte.

Die Abbildung 68 gibt alle MPCR-Ergebnisse für 522 untersuchten Enterokokkenstämme wieder.

Abbildung 68: Speziesdifferenzierung bei 522 ausgewählten Enterokokken-Feldstämmen



von Rind, Schwein, Geflügel und aus Lebensmitteln mittels optimierter Multiplex-PCR (MPCR) aus den Jahren 2001 und 2002

3.5.2 Stammdifferenzierung von Enterokokken-Feldstämmen mittels Pulsfeldgelelektrophorese (PFGE)

18 der 27 Vancomycin-resistenten Stämme wurden ausgewählt, um sie im Hinblick auf ihre klonale Verwandtschaft zu untersuchen. Die Methode der Wahl stellte hier die PFGE dar.

Die Auswertung der PFGE-Gelbilder erfolgte mittels eines Analyseprogrammes (GelCompar II, Applied Maths, Sint-Martens-Latem, Belgien). Folgende mathematische Parameter wurden eingestellt, um das in Abbildung 70 dargestellte Dendrogramm zu berechnen:

- Dendrogramm nach "Dice" (Banden-abhängige Berechnung)
- Dendrogramm-Typ: UPGMA
- Positionstoleranz-Einstellungen: Optimization (1%), Positionstoleranz (1%)

Zur genaueren Erläuterung dieser Parameter wird hier auf die umfangreiche Bedienungsanleitung für dieses Analyse-/Statistik-Programm hingewiesen.

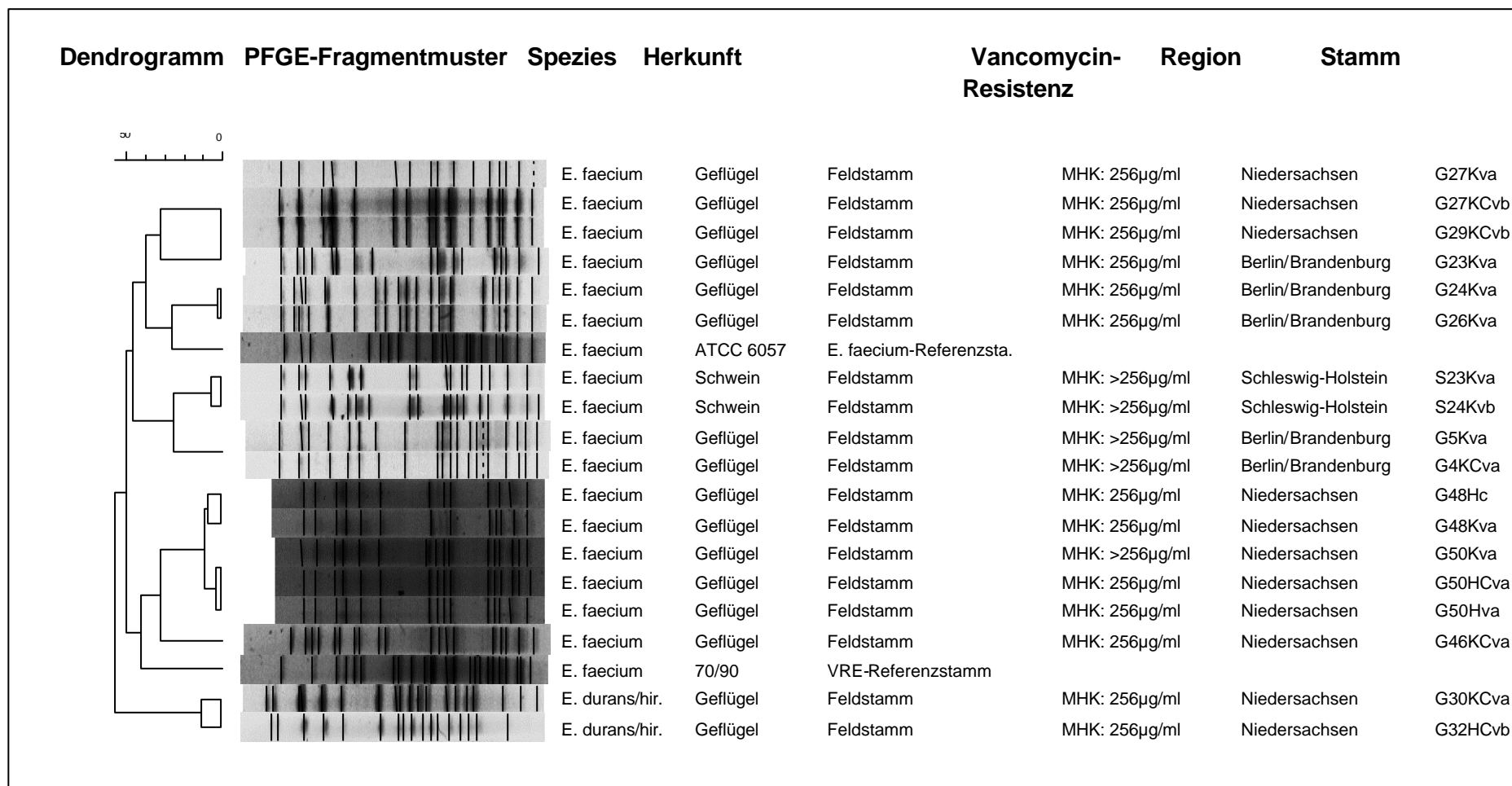
Die Auswertung der PFGE-Ergebnisse zeigte ein Dendrogramm für die ausgewählten Vancomycin-resistente Enterokokken-Feldstämmen. Die beiden *E. faecium*-Stämme 70/90 (Vancomycin-resistent) und ATCC 6057 (Vancomycin-sensibel) dienten hierbei als Referenzstämme.

Bei Enterokokken-Stämmen vom gleichen Tier (G27Kav und G27KCvb; G48Hc und G48Kva; G50KCva, G50HCva und G50Hva) bzw. aus der gleichen Mastanlage aber von verschiedenen Herden (G4KCva und G5Kva; G24Kva und G26Kva; G27Kav und G29KCbv; G30Kcva und G32HCvb) konnte eine Übereinstimmung von 90-100% festgestellt werden. Klonale Unterschiede wurden nur zwischen Enterokokkenstämmen aus Herden verschiedener Regionen beobachtet. Ausnahmen hierfür stellten die beiden Stämme G23Kva und G46Kcva dar, die die größten Fragmentmuster-Unterschiede zu den anderen betrachteten Stämmen aufwiesen. Bei beiden Stämmen betrug die Übereinstimmung mit den nächst-verwandten Stämmen nur 68%.

Speziesunterschiede sind ebenfalls aus dem Dendrogramm zu erkennen. Die beiden *E. durans/hirae*-Stämme (G30Kcva und G32HCvb) besaßen eine Übereinstimmung von 89%, jedoch unterschieden sich ihre Fragmentmuster stark von denen der *E. faecium*-Stämme. Hier lag die Übereinstimmung der *E. durans/hirae*-Stämme mit den *E. faecium*-Stämmen nur bei ca. 50%.

Bei den beiden VRE-Stämmen vom Schwein (S23Kva und S24Kvb) handelte es sich um Isolate mit einer Übereinstimmung von 95%, was auf eine sehr enge Verwandtschaft schließen lässt. Sie stammten zwar aus verschiedenen Herden, wurden aber aus derselben Schlachthanlage isoliert.

Abbildung 69: Dendrogramm von 18 VRE-Stämmen und zwei Enterokokken-Referenzstämmen (70/90 und ATCC 6057) und ihre dazugehörigen PFGE-Fragmentmuster



Durch die Bildbearbeitung der entsprechenden PFGE-Bilder mittels Analyse-Programm (GelCompar II, Applied Maths, Belgien) ist die Bildschärfe der einzelnen Fragmentmuster unterschiedlich, dennoch konnte bei den meisten Stämmen ein eindeutiges Bandenmuster herausgearbeitet werden

4 Diskussion

4.1 Speziesbestimmung der Enterokokkenisolate

Nach dem biochemischen Differenzierungsschlüssel (Anhang A) konnte die Mehrzahl der isolierten Enterokokken-Feldstämme einer Spezies zugeordnet werden. Die gewählte Vorgehensweise orientiert sich an den Angaben von Devriese et al. (1993) und Murray (1990). Da sich unpigmentierte *E. casseliflavus*-Stämme biochemisch nicht von *E. gallinarum*-Stämmen unterscheiden ließen, wurde bei beweglichen, unpigmentierten Isolaten die Spezies mit Hilfe der PCR (Nachweis des vanC1- bzw. vanC2-Genes) bestimmt.

Stämme der Spezies *E. durans* und *E. hirae* konnten hingegen mit dem angewandten biochemischen Differenzierungsschlüssel in Übereinstimmung mit Devriese et al. (1995) nicht sicher unterschieden werden.

4.2 Antibiotika-Resistenzen bei Enterokokken

4.2.1 Beta-Laktame, Glykopeptide und Gentamicin

Diese Antibiotika gehören zu den wichtigsten Wirkstoffen gegen Enterokokkeninfektionen in der Humanmedizin (Klare et al., 1997a, 1997b). Eine Antibiotika-Resistenz der Enterokokken gegenüber diesen Wirkstoffen kann im Falle einer humanen Enterokokkeninfektion, aber auch durch Übertragung auf andere Bakteriengattungen, negative Auswirkungen auf die Therapie beim Menschen haben (Leclercq et al., 1991), da die gewählten Antibiotika keine Wirkung mehr zeigen.

Obwohl die Mehrzahl der β -Lactam-Antibiotika gegen Enterokokken praktisch unwirksam ist (Moellering und Krogstad, 1979; Williamson et al., 1985; Murray, 1990; Mason et al., 1996), stellen die Aminopenicilline wie Ampicillin oder Amoxicillin/Clavulansäure in Verbindung mit einem Aminoglykosid (meist Gentamicin) in der Humanmedizin die Therapie der ersten Wahl bei Enterokokkeninfektionen dar.

In der vorliegenden Studie wurde nur eine geringe Anzahl an Penicillin-resistenten Stämmen isoliert (54 Penicillin-resistente Stämme von 860 untersuchten Stämmen, 6%), die alle zur Spezies *E. faecium* und *E. durans/hirae* gehören. Prozentual gesehen konnte eine Zunahme der Penicillin-Resistenz bei *E. faecium*-Stämmen festgestellt werden. Dieser Befund ist vor allem bei den Stämmen aus Probenmaterial vom Geflügel ersichtlich (2000? 42,9%, 2001? 48,4%, 2002? 63,6%). Ähnlich hohe Resistenzraten wurden auch bei *E. faecium*-Stämmen von dänischem Geflügel gefunden (DANMAP, 2001). Dies könnte darauf hindeuten, dass der Einsatz an therapeutisch verabreichten Dosen bei Geflügel höher liegt als bei den anderen untersuchten Tierarten Rind und Schwein. Darauf weisen auch Zahlen des Bayerischen Staatsministeriums für Landesentwicklung und Umweltfragen hin (Stroh et al., 2002).

Glykopeptid-resistente Enterokokken-Stämme wurden nur in geringem Umfang im Probenmaterial vom Geflügel (9,3%) und vom Schwein (1,5%) gefunden. Aus Probenmaterialien vom Rind und aus Lebensmitteln wurden sie gar nicht isoliert. Dieser Befund steht im Einklang mit den meisten bisherigen Studien, die einen EU-weiten Rückgang Glykopeptid-resistenter Stämme nach dem Avoparcin-Verbot im Jahre 1996 zeigen (Klare et al., 1999; Bager et al., 1999; Aarestrup 2000).

Entgegen diesem Trend wurden jedoch im Jahre 2002 VRE-Stämme aus zwei Geflügel-Schlachtbetrieben unterschiedlicher Regionen (Niedersachsen und Bayern) isoliert; die Ursache für das Vorkommen dieser VRE-Stämme kann nicht eindeutig erklärt werden, da in den vorangegangenen Jahren ein ständiger Rückgang zu verzeichnen war.

Klonale Zusammenhänge der VRE-Stämme (siehe Tabelle 6 und Abbildung 71) waren nur in Abhängigkeit des Probenahme-Ortes zu erkennen, so dass hier Kreuzkontaminationen vermutet werden konnten. Im Gegensatz dazu geht die Forschungsgruppe SVARM (SVARM, 2002) von einem Persistieren eines VRE-Klons aus, da alle gefundenen VRE-Stämme dieselben Antibiogramme besitzen. Die Arbeitsgruppe konnte diese These jedoch nicht mit einer molekularbiologischen Stammdifferenzierung untermauern.

Das Vorkommen von VRE-Stämmen (phänotypisch und genotypisch) nach dem Avoparcin-Verbot wurde auch in einer norwegischen Studie (Borgen et al., 2001) beobachtet, ohne dass dieser Befund von den Autoren weiter verfolgt worden war.

Drei aus Schweinen isolierte VRE-Stämme waren klonal mit VRE-Stämmen von Tieren aus Dänemark identisch. Dies belegt der Vergleich der PFGE-Fragmentmuster mit denen aus vorangegangenen Studien (Aarestrup, 2000; Boerlin et al., 2001). Die Schweizer Forschungsgruppe um Boerlin vermutet, dass es sich hier um einen weitverbreiteten VRE-Klon handelt, der unter Schweinen in verschiedenen europäischen Ländern persistiert. Dieser Klon wurde nicht nur in Dänemark, sondern auch in der Schweiz nachgewiesen (Boerlin et al., 2001).

Die niedrige Nachweisrate (unter 1%) von Gentamicin high-level resistenten Enterokokkenstämmen stimmt mit den Ergebnissen mehrerer anderer Studien überein (Thal et al., 1995; Rice et al., 1995; Aarestrup, 1998; SVARM, 2002). Nur van den Bogaard (2002) berichtete über eine höhere Prävalenz Gentamicin high-level resistenter Stämme bei Geflügel aus den Niederlanden.

4.2.2 Tetracycline

Von zahlreichen Autoren wird eine weitverbreitete Tetracyclin-Resistenz bei Enterokokken beschrieben (Knutson und Hartman, 1993; Kresken et al., 1999; Butaye et al., 2001; Aarestrup et al., 2002). Daher stellt dieser Wirkstoff bei Enterokokkeninfektionen des Menschen kein Mittel der Wahl dar. In der vorliegenden Studie wurden vergleichbar hohe Resistenzraten gefunden, was einen häufigen Einsatz von Tetracyclinen in der veterinärmedizinischen Therapie in Deutschland vermuten lässt. Ähnliche Entwicklungen wurden aus Dänemark berichtet (Aarestrup et al., 2002).

In der vorliegenden Studie war die Tetracyclin-Resistenzrate von der Art des Probenmaterials sowie von der Spezies abhängig. Hohe Resistenzraten wurden für die Spezies *E. faecalis* in den Studien von DANMAP (2001) sowie SVARM (2002) nachgewiesen (jeweils ca. 50%). Den größten Unterschied der vorliegenden Studie zu den beiden genannten Studien konnte für die *E. faecium*-Stämme aus Probenmaterial vom Geflügel festgestellt werden. Hier wurde eine Tetracyclin-Resistenzrate von 90% im Jahre 2002 festgestellt. Diese Zahl lag weit über den Ergebnissen anderer europäischer Studien, deren Resistenzraten für diese Spezies bei 2% (DANMAP, 2001) bzw. 25% (SVARM, 2002) lagen.

Die hohe Resistenzrate kann damit begründet werden, dass eine Tetracyclin-Resistenz mit einer gleichzeitigen Bacitracin/Salinomycin-Resistenz assoziiert wird (SVARM, 2002). Dieses Resistenzmuster traf ebenfalls für die gefundenen Tetracyclin-resistenten Stämme zu.

4.2.3 Makrolide

Zu dieser Gruppe von Antibiotika gehören Tylosin und Erythromycin. Während Erythromycin sowohl in der human- als auch in der veterinärmedizinischen Therapie Anwendung findet, wurde Tylosin bis zum Jahre 1999 als Leistungsförderer in der Tiermast eingesetzt. Eine Kreuzresistenz ist daher weit verbreitet (Kaukas et al., 1986, 1988; Kresken et al., 1999). Ein Rückgang der Tylosin-Resistenz nach dem Tylosinverbot konnte bei Enterokokken in allen Probenmaterialien beobachtet werden. Dieser Rückgang war vor allem bei *E. faecium*-Stämmen vom Geflügel festgestellt worden (2000? 50%, 2001? 71%, 2002? 27,3%). Gegenüber dem Wirkstoff Erythromycin konnte eine ähnliche Entwicklung der Resistenzrate für diese Spezies bei Proben vom Geflügel nachgewiesen werden (2000? 64,3%, 2001? 74,2%, 2002? 31,8%).

Die Resistenzraten von *E. faecium* -bzw. *E. faecalis* -Stämmen vom Rind lagen bei 0-7% und damit deutlich unter den Werten von Butaye et al., 2001 (*E. faecium*: 20% und *E. faecalis* : 48%). Eine Erklärung dafür könnte darin liegen, dass die Enterokokkenstämme von Butaye et al. in den Jahren 1998-1999, und damit sicherlich zu einem großen Teil vor dem zum 1.7.1999 inkrafttretenden Widerruf der Zulassung von Tylosin als Leistungsförderer isoliert wurden, wohingegen die Stämme der vorliegenden Studie aus den Jahren 2000 bis 2002 stammten.

4.2.4 Quinupristin/Dalfopristin

Quinupristin/Dalfopristin ist wie Virginiamycin eine Kombination aus zwei Pristinamycinen, die synergistisch wirken. Virginiamycin wurde in der EU als Leistungsförderer in der Tiermast eingesetzt (Kamphues, 1999). Aufgrund der auftretenden Kreuzresistenz von Virginiamycin mit Quinupristin/Dalfopristin wurde der Einsatz von Virginiamycin als Leistungsförderer in der Tiermast 1999 verboten.

Eine Bewertung der Quinupristin/Dalfopristin-Resistenz-Häufigkeit ist vor allem für die Spezies *E. faecium* interessant. Prozentual gesehen waren 5 von 9 Stämmen isoliert aus Probenmaterial vom Rind, 57% (n=20 von 35 Stämmen) vom Schwein, 23% (n=6 von 26 Stämmen) aus Lebensmittelproben sowie 39% (n=26 von 67 Stämmen) vom Geflügel resistent. Vergleichbar hohe Quinupristin/Dalfopristin-Resistenzraten wurden für *E. faecium*-Stämme bei dänischen Schweinen (Aarestrup et al., 2002) sowie in niederländischem Geflügel (van den Bogaard et al., 2002) nachgewiesen. Die Gruppe um van den Bogaard konnte nachweisen, dass die Resistenz der *E. faecium*-Stämme gegen Quinupristin/ Dalfopristin auf das Vorliegen einer Kreuzresistenz mit Virginiamycin zurückzuführen ist. Hinzu kommt, dass die Wirkstoffkombination Quinupristin/Dalfopristin erst vor Kurzem als Therapeutikum in der Humanmedizin zugelassen wurde.

Eine molekulargenetische Erklärung für die Kreuzresistenz lieferten Studien von Johnson et al., 2000 und Werner et al., 2000, die das Entstehen von Streptogramin-resistenten, *vatD*- und *vatE*-gentragenden *E. faecium*-Stämmen auf den Einsatz von Virginiamycin zurückführten.

Einen bemerkenswerten Verlauf nimmt die Resistenzsituation der *E. faecium*-Stämme gegenüber Quinupristin/Dalfopristin bei Proben von Schwein und Geflügel. Während die Resistenzrate bei Stämmen aus Probenmaterial vom Schwein unverändert hoch blieb (ca. 50% über die drei Untersuchungsjahre), konnte vor allem ein Rückgang der Resistenz bei Stämmen aus Probenmaterial vom Geflügel festgestellt werden (2000? 50%, 2001? 54,8%, 2002? 9%). Ob es sich um Auswirkungen des Virginiamycin-Verbots in der Geflügelmast handelt, lässt sich auf Grund des kurzen Untersuchungszeitraumes nicht eindeutig klären.

4.2.5 Enrofloxacin, Chloramphenicol, Trimethoprim/Sulfamethoxazol

Diese drei Therapeutika spielen eine untergeordnete Rolle bei der Behandlung von Enterokokken-Infektionen, so dass sie hier zusammengefasst dargestellt werden.

Das zu der Gruppe der Fluorchinolone zählende Enrofloxacin hat nur eine geringe Aktivität gegen Enterokokken; es wird aber zu therapeutischen Zwecken in der Tiermast (vor allem beim Geflügel) verwendet. Deshalb ist die beobachtete hohe Resistenzrate vor allem bei *E. faecium*-Stämmen vom Geflügel nicht überraschend. Vergleichbar hohe Resistenzraten wurden auch in Lebensmittelproben von Baumgartner et al. (2001) sowie in Geflügelproben von van den Bogaard et al. (2002) beschrieben.

Die Anwendung von Chloramphenicol ist bei lebensmittelliefernden Tieren verboten, so dass die hohe Resistenzrate bei Enterokokkenstämmen aus Geflügelproben (z.B. je 27% aller *E. faecalis*- und *E. faecium*-Stämme vom Geflügel) schwer zu interpretieren sind. Vergleichbare Resistenzquoten für Rinder und Schweine wurden ebenfalls von Aarestrup et al. (2002) in Dänemark und für Lebensmittel von Baumgartner et al. (2001) in der Schweiz festgestellt. Eine mögliche Erklärung für das Persistieren der Chloramphenicol-Resistenz trotz Anwendungsverbot bei Lebensmittel liefernden Tieren könnte die räumliche Nähe des Chloramphenicol-Resistenzgens zu weiteren Resistenzgenen sein, wie dies Werner et al. (2000) bei *E. faecium*-Stämmen nachwies. Die Autoren sahen eine Verknüpfung der Resistenz von Streptograminen, Makroliden, Lincosamiden mit der Resistenz gegenüber Chloramphenicol.

Im Gegensatz zu den eigenen Ergebnissen konnte die Forschungsgruppe DANMAP (2001) nur eine geringe Chloramphenicol-Resistenzrate in ihrer Studie feststellen. Die höchste Resistenzrate (4,5%) wurde für die Spezies *E. faecalis* aus Probenmaterial vom Schwein und vom Geflügel im Jahre 2001 nachgewiesen.

Gegenüber Trimethoprim/Sulfamethoxazol besitzen Enterokokken eine *in vivo*-Resistenz, so dass eine *in vitro* Resistenzbestimmung nicht sinnvoll ist (Bushby und Hitchings, 1968; Cridder und Colby, 1985; Najjar und Murray, 1987).

4.2.6 Bacitracin, Avilamycin und Flavomycin

Alle drei Wirkstoffe zählen zu den Leistungsförderern in der Tiermast.

Der Einsatz von Bacitracin als Leistungsförderer wurde 1999 EU-weit verboten, da Zusammenhänge zwischen dem häufigen Auftreten von resistenten Enterokokken-Stämmen beim Tier und beim Menschen vermutet wurden (Aarestrup et al., 1998; Rossiter et al., 2001; DANMAP, 2001). Trotz dieses Verbotes ist jedoch die ermittelte Resistenzrate von *E. faecium*-Stämmen vom Geflügel (87%) vergleichbar mit Resistenzraten aus den Vereinigten Staaten (ebenfalls 87%, Rossiter et al., 2001), wo der Wirkstoff weiterhin als Leistungsförderer eingesetzt wird. Nach wie vor ist unklar, ob und wie schnell das Vorkommen resistenter Keime oder Resistenzgene verschwinden, wenn der Antibiotika-Einsatz reduziert wird. Es fehlen insbesondere Untersuchungen für bakterielle Mischpopulationen, die für die Weitergabe von Resistenzen über Artgrenzen hinweg eine entscheidende Rolle spielen (Stroh, 2002).

Die Forschungsgruppe SVARM in Schweden (2002) vermutet hingegen eine Kopplung der Bacitracin-Resistenz an eine gleichzeitige Tetracyclin- und vor allem Narasin-Resistenz. Narasin besitzt denselben Wirkmechanismus wie Salinomycin, das weiterhin als Leistungsförderer eingesetzt wird. Deshalb könnte es für die hohe Bacitracin-Resistenzrate verantwortlich sein.

Gegenüber Avilamycin wurden in der vorliegenden Studie häufiger Resistenzen beobachtet als in Dänemark oder Schweden (DANMAP, 2000; SVARM, 2000). Verschiedene Autoren sehen in der hohen Resistenzrate negative Auswirkungen auf eine möglicherweise bevorstehende Einführung des Wirkstoffes Evernimicin in der humanmedizinischen Therapie aufgrund einer Kreuzresistenz zwischen Avilamycin und Evernimicin (Aarestrup, 1998; Wegener et al., 1999; Courvalin, 2000). Beide Wirkstoffe gehören zur Gruppe der Oligosaccharid-Antibiotika und besitzen denselben Wirkmechanismus (Inhibierung der Translation) gegenüber einer Reihe Gram-positiver Bakterien.

Die hohe Flavomycin-Resistenzrate bei *E. faecium*-Stämmen kann durch eine natürliche Flavomycin-Resistenz dieser Spezies erklärt werden (van den Bogaard et al., 2000; European Commission, 2001). In diesen Studien wurde die Mehrzahl (95%) aller untersuchten *E. faecium*-Stämme als Flavomycin-resistent getestet.

4.3 Molekularbiologische Untersuchungen

Die im Jahre 2000 eingesetzte Einzel-PCR für Enterokokken war zwar zielführend aber in hohem Maße arbeits- und zeitaufwendig. Sie konnte einem erhöhten Probenaufkommen nicht mehr gerecht werden.

Die im Projekt angewandte MPCR (Kap. 2.4) lieferte hingegen in den meisten Fällen zuverlässige Ergebnisse zur Bestimmung sowohl von Vancomycin-Resistenzgenen als auch der Enterokokken-Spezies. Eine gleichzeitig durchgeführte Genusbestimmung war zwar nicht zwingend erforderlich, diente aber zur Bestätigung der phänotypischen Befunde.

Zweideutige Befunde der MPCR, wie sie bei der Bestimmung der Spezies *E. faecium* in Einzelfällen auftraten, konnten durch Wiederholung mittels Einzel-PCR-Untersuchungen sowie weiterführende biochemische Differenzierungsreaktionen geklärt werden. Bei Proben, die nur das "E"-Primer-Signal zeigten, erwiesen sich zusätzliche Tests (z.B. Pyrasetest) sowie eine Einzel-PCR-Untersuchung mit den "Ent"-Primern als zielführend und konnten Fehlinterpretationen verhindern.

Alle VRE-Stämme zeigten das *vanA*-Genfragment und bestätigten somit die Ergebnisse der MHK-Untersuchung. Genotypische *vanB*-Isolate wurden bei keiner Probe gefunden. Dieser Befund bestätigt bisherige Studien, in denen nachgewiesen wurde, dass Enterokokken mit einem *vanB*-Genotyp nur bei Humanisolaten vorkommen (Woodford, 1999). Weiterhin war die PCR meist unverzichtbar bei der Unterscheidung der Spezies *E. casseliflavus* und *E. gallinarum*. Die erfolgreiche Optimierung eines MPCR-Ansatzes zum Nachweis aller Genfragmente führte zu einer Zeit- und Materialersparnis gegenüber der konventionellen Differenzierungsmethodik.

Die PFGE-Untersuchungen waren vor allem für die Stammdifferenzierung notwendig. Mit ihr konnte z.B. die klonale Verwandtschaft der drei VRE-Stämme vom Schwein mit anderen Isolaten in den Studien von Aarestrup et al. (2000b) und Boerlin et al. (2001) nachgewiesen werden. Eine Erklärung für das Persistieren dieses Vancomycin-resistenten *E. faecium*-Klons in unterschiedlichen europäischen Ländern wurde durch den Nachweis der Kopplung der *ermB*- und *vanA*-Gene gefunden. Beide Gene liegen auf demselben übertragbaren DNS-Element (vermutlich ein Plasmid), so dass eine Koselektion der Glykopeptidresistenz durch die Anwendung von Makroliden (Leclercq et al., 1989; Uttley et al., 1989; Aarestrup, 2000b) beobachtet werden kann.

5 Schlussfolgerungen

- Mit den vorliegenden mikrobiologischen, biochemischen und molekularbiologischen Differenzierungsverfahren konnten Enterokokken aus allen Probenmaterialien isoliert und die Spezies fast ausnahmslos eindeutig bestimmt werden.
- Die Mikrobouillondilutionsmethode in Form des Sensititre-Systems zur MHK-Untersuchung war für die Mehrzahl der Stämme gut geeignet.
- Vancomycin-resistente Enterokokkenstämme konnten vereinzelt noch fünf Jahre nach dem EU-weiten Avoparcin-Verbot aus Probenmaterial von Geflügel und Schwein isoliert werden.
- Die Antibiotika-Resistenzmuster der untersuchten Enterokokken-Stämme verschiedener Regionen differierten und sprechen gegen eine klonale Verwandtschaft der Enterokokken.
- Insbesondere die Spezies *E. faecium* und *E. durans/E. hirae* aller Probenmaterialien waren mit einem breiten Antibiotika-Resistenzspektrum ausgestattet.
- Antibiotika-resistente Enterokokken-Stämme konnten häufiger aus Probenmaterialien vom Geflügel als aus allen anderen Probenmaterialien isoliert werden.
- Insgesamt ist der Anteil an multiresistenten Enterokokkenstämmen (resistent gegen drei und mehr Wirkstoffe) im Untersuchungsmaterial des Projektzeitraums konstant geblieben.
- Zur kontinuierlichen Überwachung der Resistenzlage bei Enterokokken-Feldstämmen ist eine Fortsetzung der Untersuchungen in Form eines Monitorings erforderlich. Dabei sollten Enterokokken aus Probenmaterial von Schlachttieren und von ausgewählten Lebensmitteln deutschlandweit isoliert und im Hinblick auf ihr Resistenzverhalten untersucht werden.

6 Zusammenfassung

In den Jahren 2000 bis 2002 wurden Probenmaterialien von Masttieren (Rind, Schwein, Geflügel) und Lebensmitteln in verschiedenen Regionen Deutschlands gesammelt. Insgesamt wurden 1956 Enterokokken-Feldstämme isoliert und deren Spezies bestimmt. Die Mehrzahl der isolierten Stämme konnte mittels mikrobiologischer, biochemischer und molekularbiologischer Methoden eindeutig identifiziert werden.

Die Bestimmung der MHK-Werte zur Beurteilung der Antibiotika-Resistenz wurde bei 860 dieser Enterokokken-Stämme unterschiedlicher Spezies (*E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*/*E. hirae*, *E. gallinarum* und *E. casseliflavus*) mittels Mikrobouillondilutionsmethode (Sensititre®) durchgeführt. Insgesamt wurden beim Geflügel häufiger resistente Enterokokken isoliert als bei den anderen Tierarten.

Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE) wurden nur selten aus Probenmaterial vom Schwein und Geflügel isoliert. Die aus diesen Materialien isolierten Enterokokken zeigten häufig Resistenzen gegen Avilamycin, Bacitracin, Chloramphenicol, Erythromycin und Tetracyclin.

Im Hinblick auf die Quinupristin/Dalfopristin-Resistenz von *E. faecium*-Stämmen konnte im Untersuchungszeitraum ein Rückgang bei Enterokokkenstämmen aus Probenmaterial vom Geflügel beobachtet werden, während eine konstant hohe Resistenzrate bei Stämmen vom Schwein nachgewiesen werden konnte.

7 Projektgebundene Arbeiten (Publikationen, Poster, Vorträge)

Bouchette, L. und L. Ellerbroek (2001): Vorkommen und Nachweis von Antibiotika-resistenten Enterokokken bei landwirtschaftlichen Nutztieren. BgVV-Seminar 08.03.2001

Deleg, E., H. Wichmann-Schauer und L. Ellerbroek (2001): Überlebensfähigkeit eines vancomycinresistenten *E. faecium*-Stammes in frischer Mettwurst. In: 42. Arbeitstagung der AG Lebensmittelhygiene der DVG, 25.9.-28.9.2001 in Garmisch-Partenkirchen, Teil 2, 467-470

Ellerbroek, L., P. Richter, L. Bouchette und G. Hildebrandt (2000): Untersuchungen zur Spezifität ausgewählter Nährböden für Enterokokken. Arch. Lebensmittelhyg. 61, 57-65

Ellerbroek, L., P. Richter, L. Bouchette und G. Hildebrandt (2000): Isolation und Identifikation glykopeptidresistenter Enterokokkenspezies aus Mastgeflügel verschiedener Haltungsformen. Arch. Geflügelk. 65, 58-67

Mac, K., H. Wichmann-Schauer und L. Ellerbroek (2001a): Zum Nachweis von Resistenzgenen mittels PCR bei Antibiotika-resistenten Enterokokken. BgVV-Seminar 08.03.2001

Mac, K., H. Wichmann-Schauer, L. Bouchette und L. Ellerbroek (2001b): Glykopeptidresistenz bei Enterokokken landwirtschaftlicher Nutztiere. In: 42. Arbeitstagung der AG Lebensmittelhygiene der DVG, 25.9.-28.9.2001 in Garmisch-Partenkirchen, Teil 2, 481-486

Mac, K., H. Wichmann-Schauer, J. Peters und L. Ellerbroek (2002a): Nachweis von Vancomycin-Resistenzgenen bei Enterokokken-Feldstämmen tierischer Herkunft mittels Multiplex-PCR. Arch. Lebensmittelhyg. 53, 49-52

Mac, K., H. Wichmann-Schauer, C. Dittmar-Gabor, J. Peters und L. Ellerbroek (2002b): Detection of species and resistance genes in enterococci of animal origin by multiplex PCR. Vortrag; International Symposium on Enterococci in Foods; 30.05.-31.05.2002 in Berlin, International Journal of Food Microbiology (im Druck)

Mac, K., H. Wichmann-Schauer, J. Peters und L. Ellerbroek (2002c): Optimierte PCR-Methodik zur Untersuchung von Enterokokken-Feldstämmen aus Tiermaterial und Lebensmitteln. Poster in: 43. Arbeitstagung der AG Lebensmittelhygiene der DVG, 24.9.-27.9.2002 in Garmisch-Partenkirchen, 664-668

Mac, K. und L. Ellerbroek (2002d): Multiplex-PCR im Rahmen eines Enterokokken-Monitoring Projektes. Vortrag in: BfR-Symposium für Molekularbiologische Methoden in der Lebensmittelmikrobiologie. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., im Druck

Peters, J., G. Klein und L. Ellerbroek (2001a): Vorkommen von Antibiotika-resistenten Enterokokken in Lebensmitteln. BgVV-Seminar 08.03.2001

Peters, J., H. Wichmann-Schauer, L. Ellerbroek und G. Klein (2001b): Vorkommen von glykopeptidresistenten Enterokokken (VRE) in Lebensmitteln tierischer Herkunft. In: 42. Arbeitstagung der AG Lebensmittelhygiene der DVG, 25.9.-28.9.2001 in Garmisch-Partenkirchen, Teil 2, 477-480

Peters, J., K. Mac, H. Wichmann-Schauer, L. Ellerbroek und G. Klein (2002a): Species distribution and antibiotic resistance patterns of enterococci isolated from food of animal origin in Germany. Vortrag; International Symposium on Enterococci in Foods; 30.05.-31.05.2002 in Berlin, International Journal of Food Microbiology (im Druck)

Peters, J., K. Mac, H. Wichmann-Schauer, G. Klein und L. Ellerbroek (2002b): Resistenzverhalten von Enterokokken aus Lebensmitteln tierischer Herkunft in Deutschland.

In: 43. Arbeitstagung der AG Lebensmittelhygiene der DVG, 24.9.-27.9.2002 in Garmisch-Partenkirchen, 206-211

Wichmann-Schauer, H. und L. Ellerbroek (2001a): Zur Entwicklung eines deutschlandweiten Antibiotikaresistenzmonitorings für Enterokokken beim Tier: Planung und Ausblick. BgVV-Seminar 08.03.2001

Wichmann-Schauer, H. und L. Ellerbroek (2001b): Entwicklung eines deutschlandweiten Antibiotikaresistenz-Monitorings für Enterokokken tierischen Ursprungs. In: 42. Arbeitstagung der AG Lebensmittelhygiene der DVG, 25.9.-28.9.2001 in Garmisch-Partenkirchen, Teil 1, 279-283

Wichmann-Schauer, H., J. Peters, K. Mac und L. Ellerbroek (2002a): Prevalences of different enterococcal species in faecal samples of cattle, pigs and broilers. Poster; International Symposium on Enterococci in Foods; 30.05.-31.05.2002 in Berlin

Wichmann-Schauer, H., J. Lukaschek, K. Mac und L. Ellerbroek (2002b): Zum Vorkommen von antibiotikaresistenten Enterokokken in Weichkäse. Poster in: 43. Arbeitstagung der AG Lebensmittelhygiene der DVG, 24.9.-27.9.2002 in Garmisch-Partenkirchen

Wichmann-Schauer, H., J. Peters, K. Mac und L. Ellerbroek (2002c): Resistenzverhalten von *E. faecium* und *E. faecalis* aus Probenmaterial deutscher Schlachttiere. Vortrag in: 43. Arbeitstagung der AG Lebensmittelhygiene der DVG, 24.9.-27.9.2002 in Garmisch-Partenkirchen, 669-674

Wichmann-Schauer, H., J. Peters, K. Mac und L. Ellerbroek (2002d): Resistenzverhalten von Enterokokken aus Proben deutscher Schlachttiere. Fleischwirtschaft 9, 132-134

8 Literatur

- Aarestrup, F. M. (1998): Association between decreased susceptibility to a new antibiotic for treatment of human diseases, everninomicin (SCH 27899), and resistance to an antibiotic used for growth promotion in animals, avilamycin. *Microb. Drug Resist.* 4, 137-141
- Aarestrup, F. M., Bager, F., Jensen, N. E., Madsen, M., Meyling, A. und Wegener, H. C. (1998): Surveillance of antimicrobial resistance in bacteria isolated from food animals to antimicrobial growth promoters and related therapeutic agents in Denmark. *APMIS* 106, 606-622
- Aarestrup, F. M., Kruse, H., Tast, E., Hammerun, A.M. und Jensen, L. B. (2000): Associations between the use of antimicrobial agents for growth promotion and the occurrence of resistance among *Enterococcus faecium* from broilers and pigs in Denmark, Finland and Norway. *Microb. Drug Resist.* 6, 63-70
- Aarestrup, F. M. (2000a): Occurrence, selection and spread of resistance to antimicrobial agents used for growth promotion for food animals in Denmark. *APMIS* 108, Suppl. 101, 5-48
- Aarestrup, F. M. (2000b): Characterization of glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium* (GRE) from broilers and pigs in Denmark: genetic evidence that persistence of GRE in pig herds is associated with coselection by resistance to macrolides. *J. Clin. Microbiol.* 38, 2774-2777
- Bager, F., Aarestrup, F. M., Madsen, M. und Wegener, H. C. (1999): Glycopeptide resistance in *E. faecium* from broilers and pigs following discontinued use of avoparcin. *Microb. Drug Resist.* 5, 53-56
- Baumgartner, A., Kueffer, M. und Rohner, P. (2001): Occurrence and antibiotic resistance of enterococci in various ready-to-eat foods. *Arch. Lebensmittelhyg.* 52, 16-19
- Boerlin, P., Wissing, A., Aarestrup, F. M., Frey, J. und Nicolet, J. (2001): Antimicrobial growth promoter ban and resistance to macrolides and vancomycin in enterococci from pigs. *J. Clin. Microbiol.* 39, 4139-4195
- Borgen, K., Sorum, M., Wasteson, Y. und Kruse, H. (2001): VanA-type vancomycin-resistant enterococci (VRE) remain prevalent in poultry carcasses 3 years after avoparcin was banned. *Int. J. Food Microbiol.* 64, 89-94
- Bushby, S. R. M. und Hitchings, G. H. (1968): Trimethoprim, a sulphonamide potentiator. *Br. J. Pharmac. Chemother.* 33, 72-90
- Butaye, P., Devriese, L. A. und Haesebrouck, F. (1999): Phenotypic distinction in *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* strains between susceptibility and resistance to growth-enhancing antibiotics. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43, 2569-2570
- Butaye, P., Devriese, L. A. und Haesebrouck, F. (2000a): Influence of different medium components on the in vitro activity of the growth-promoting antibiotic flavomycin against enterococci. *J. Antimicrob. Chemother.* 46, 713-716
- Butaye, P., van Damme, K., Devriese, L. A., Van Damme, L., Baele, M., Lauwers, S. und Haesebrouck, F. (2000b): In vitro susceptibility of *Enterococcus faecium* isolated from food to growth-promoting and therapeutic antibiotics. *Int. J. Food Microbiol.* 54, 181-187
- Butaye, P., Devriese, L. A. und Haesebrouck, F. (2001): Differences in antibiotic resistance patterns of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* strains isolated from farm and pet animals. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45, 1374-1378
- Chen, D. K., Pearce, L., McGeer, A., Low, D. E. und Willey, B. M. (2000): Evaluation of D-xylose and 1% methyl- α -D-glucopyranoside fermentation tests for distinguishing *Enterococcus gallinarum* from *Enterococcus faecium*. *J. Clin. Microbiol.* 38, 3652-3655

- Cheng, S., McCleskey, F. K., Gress, M. J., Petroziello, J. M., Liu, R., Namdari, H., Beninga, K., Salmen, A. und DelVecchio, V.G. (1997): A PCR assay for identification of *Enterococcus faecium*. J. Clin. Microbiol. 35, 1248-1250
- Courvalin, P. (2000): Will avilamycin convert ziracine into zerocine? Emerg. Infect. Dis. 6, 558
- Crider, S.R. und Colby, S. D. (1985): Susceptibility of enterococci to trimethoprim and trimethoprim-sulfamethoxazole. Antimicrob. Agents Chemother. 27, 71-75
- DANMAP- Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme (2000): Consumption of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, foods and humans in Denmark. Eigenverlag, Kopenhagen, Dänemark
- DANMAP- Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme (2001): Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, foods and humans in Denmark. Eigenverlag, Kopenhagen, Dänemark
- Dargere, S., Vergnaud, M., Verdon, R., Saloux, E., Le Page, O., Leclerq, R. und Bazin, C. (2002): *Enterococcus gallinarum* endocarditis occurring on native heart valves. J. Clin. Microbiol. 40, 2308-2310
- Deasy, B. M., Rea, M. C., Fitzgerald, G. F., Cogan, T. M. und Beresford, T.P. (2000): A rapid PCR based method to distinguish between *Lactococcus* and *Enterococcus*. System. Appl. Microbiol. 23, 510-522
- de Vaux, A., Laguerre, G., Divies, C. und Prevost, H. (1998): *Enterococcus asini* sp. nov. isolated from the caecum of donkeys (*Equus asinus*). Int. J. Syst. Bacteriol. 48, 383-387
- Devriese, L. A., Dutta, G. N., Farrow, J. A., Van de Kerckhoven, A. und Phillips, B. A. (1983): *Streptococcus cecorum*, a new species from chickens. Int. J. Syst. Bacteriol. 73, 421-425
- Devriese, L. A., van de Kerckhoven, A., Klipper-Bälz, R. und Schleifer, K. H. (1987): Characterization and identification of *Enterococcus* species isolated from the intestines of animals. Int. J. Syst. Bacteriol. 37, 257-259
- Devriese, L. A., Pot, B. und Collins, M. D. (1993): Phenotypic identification of the genus *Enterococcus* and differentiation of phylogenetically distinct enterococcal species and species groups. J. Appl. Bacteriol. 75, 399-408
- Devriese, L. A. und Haesebrouck, F. (1994): *Enterococcus hiraе* in different animal species. Vet. Record 129, 391-392
- Devriese, L. A. und Pot, B. (1995): The genus *Enterococcus*. in: Wood, B. J. B. und Holzappel, W. H. (Hrsg.): the genera of lactic acid bacteria, Vol. 2. Chapman & Hall, London, 327-367
- Devriese, L. A., Pot, B., Kertsters, K., Iauwers, S. und Haesebrouck, F. (1996): Acidification of methyl- α -D-glucopyranoside: a useful test to differentiate *Enterococcus casseliflavus* and *Enterococcus gallinarum* from *Enterococcus faecium* species group and *Enterococcus faecalis*. J. Clin. Microbiol. 34, 2607-2608
- Dutka-Malen, S., Evers, S. und Courvalin, P. (1995): Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by PCR. J. Clin. Microbiol. 33, 24-27
- EC (European Commission), Scientific Steering Committee (2001): 2nd opinion on antimicrobial resistance. 10-11 may 2001, http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/ssc/out203_en.pdf
- Facklam, R. R. und Collins, M. D. (1989): Identification of *Enterococcus* species isolated from human infections by a conventional test scheme. J. Clin. Microbiol. 27, 731-734

- Kamphues, J. (1999): Leistungsförderer mit antibiotischer Wirkung aus der Sicht der Tierernährung. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 112, 370-379
- Kaukas, A., Hinton, M. und Linton, A.H. (1988): The effect of growth-promoting antibiotics on the faecal enterococci of healthy chickens. J. Appl. Bacteriol. 64, 57-64
- Kaukas, A., Hinton, M. und Linton, A.H. (1986): Changes in the faecal enterococcal population of young chickens and its effect on the incidence of resistance to certain antibiotics. Let. Appl. Microbiol. 2, 5-8
- Ke, D., Picard, F. J., Martineau, F., Ménard, C., Roy, P. H., Ouellette, M., Bergeron, M. G. (1999): Development of a PCR assay for rapid detection of enterococci. J. Clin. Microbiol. 37, 3497-3503.
- Klare, I., Heier, H., Claus, H., Böhme, G., Marin, S., Seltsmann, G., Hakenbeck, R., Antanasova, V. und Witte, W. (1995): *Enterococcus faecium* strains with *vanA*-mediated high-level glycopeptide resistance isolated from animal foodstuffs and fecal samples of humans in the community. Microb. Drug Resist. 1, 265-272
- Klare, I., Konstabel, C. und Bastrop, R. (1997): Simple and rapid extraction of enterococcal DNA suitable for PCR of vancomycin resistance genes by use of the ion exchanger Chelex 100 Resin. In: Methodische Entwicklungen in der mikrobiologischen Nukleinsäure-Diagnostik, 3./4. Posterworkshop, Dez. 1995/Dez. 1996, Berlin. Hyg Med (Abstract-Band), pp 33-34
- Klare, I. und Witte, W. (1997): Glycopeptid-resistente Enterokokken: zur Situation in Deutschland. Hyg. Mikrob. 2, 31-38
- Kresken, M., Hafner, D. und von Rosenstiel, N. (1999): Zeitliche Entwicklung der Antibiotikaresistenz bei klinisch wichtigen Bakterienspezies in Mitteleuropa. Bundesgesundheitsbl.-Gesundheitsforsch.-Gesundheitsschutz 42, 17-25
- Knudtson, L. M. und Hartman, P. A. (1993): Antibiotic resistance among enterococcal isolates from environmental and clinical sources. J. Food Protect. 56, 489-492
- Leclercq, R., Derlot, E., Weber, M., Duval, J. und Courvalin, P. (1989): Transferable vancomycin and teicoplanin resistance in *Enterococcus faecium*. Antimicrob. Agents Chemother. 33, 10-15
- Leclercq, R., Bingen, E., Su, Q. H., Lambert-Zechovski, N., Courvalin, P. und Duval, J. (1991): Effects of combinations of beta-lactams, daptomycin, gentamicin and glycopeptides against glycopeptide-resistant enterococci. Antimicrob. Agents Chemother. 35, 92-98
- Mac, K., Wichmann-Schauer, H., Bouchette, L. und Ellerbroek, L. (2001b): Glykopeptidresistenz bei Enterokokken landwirtschaftlicher Nutztiere. In: 42. Arbeitstagung der AG Lebensmittelhygiene der DVG, 25.9.-28.9.2001 in Garmisch-Partenkirchen, Teil 2, 481-486
- Mac, K., Wichmann-Schauer, Peters, J. und Ellerbroek, L. (2002c): Optimierte PCR-Methodik zur Untersuchung von Enterokokken-Feldstämmen aus Tiermaterial und Lebensmitteln. Poster in: 43. Arbeitstagung der AG Lebensmittelhygiene der DVG, 24.9.-27.9.2002 in Garmisch-Partenkirchen, 664-668
- Manero, A. und Blanch, A. R. (1999): Identification of *Enterococcus* spp. with a biochemical key. Appl. Environ. Microbiol. 65, 4425-4430
- Mason, E. O., Jr., Lamberth, L. B. und Kaplan, S. L. (1996): In vitro activities of oxazolidones U-100592 and U-100766 against penicillin-resistant and cephalosporine-resistant strains of *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob. Agents Chemother. 40, 1039-1040
- Moellering, R. C. Jr. und Krogstadt, D. J. (1979): Antibiotic resistance in enterococci. In: Schlesinger, D. (Hrsg.): Microbiology- 1979. American Society for Microbiology, Washington, D. C., 293-298

- Murray, B. E. (1990): The life and times of the *Enterococcus*. Clin. Microbiol. Rev. 3, 46-65
- NCCLS-National Committee for Clinical Laboratory Standards (1999): Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; Approved Standard. NCCLS-Documnt M31-A, Wayne, Pennsylvania, USA.
- NCCLS-National Committee for Clinical Laboratory Standards (2000): Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved Standard-Fifth Edition. NCCLS-Documnt M7-A5, Wayne, Pennsylvania, USA.
- NCCLS-National Committee for Clinical Laboratory Standards (2001): Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; eleventh informational supplement. NCCLS-Documnt M100-S11, Wayne, Pennsylvania, USA.
- Najjar, A. und Murray, B. E. (1987): Failure to demonstrate a consistent in vitro bactericidal effect of trimethoprim-sulfamethoxazole against enterococci. Antimicrob. Agents Chemother. 31, 808-810
- Perichon, B., Reynolds, P. und Courvalin, P. (1997): VanD-type glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium* BM4339. Antimicrob. Agents Chemother. 41, 2016-2018
- Ratanasuwan, W., Iwen, P. C., Hinrichs, S. H. und Rupp, M. E. (1999): Bacteremia due to motile *Enterococcus* species: clinical features and outcomes. Clin. Infect. Dis. 18, 1175-1177
- Reid, K. C., Cockerill, F. R. und Pater, R. (2001): Clinical and epidemiological features of *E. casseliflavus/flavescens* and *Enterococcus gallinarum* bacteremia: a report of 20 cases. Clin. Infect. Dis. 32, 1540-1546
- Rice, E. W., Messer, J. W., Johnson, C. H. und Reasoner, D. J. (1995): Occurrence of high-level aminoglycoside resistance in environmental isolates of enterococci. Appl. Environ. Microbiol. 61, 374-376
- Rossiter, S., Joyce, K., Johnson, S., Gregg, C., Steiner, C., Gilbert, L., Franko, E., DeBess, E., Taylor, B., Madden, J., Angulo, F. und The Emerging Infections Program Enterococci Resistance Study Team (2001): High prevalence of bacitracin resistance among enterococci isolated from humans stools and grocery store chicken in the United States. American Society for Microbiology General Meeting. Orlando, FL, May 2001.
- Sahm, D. F., Free, L., Smith, C., Eveland, M. und Mundy, L. M. (1997): Rapid characterization schemes for surveillance isolates of vancomycin-resistant enterococci. J. Clin. Microbiol. 35, 2026-2030
- Sandoe, J. A. T., Witherden, I. R. und Settle, C. (2001): Vertebral osteomyelitis caused by *Enterococcus raffinosus*. J. Clin. Microbiol. 39, 1678-1679
- Stroh, K. (2002): Antibiotika und Antibiotika-Resistenzen in Lebensmitteln und Umwelt. Fachinformation des bayerischen Landesamtes für Umweltschutz.
Internet: <http://www.umweltministerium.bayern.de/service/umwberat/antibiot.htm>
- SVARM (2000): Svedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring; National Veterinary Institute; Uppsala, Sweden
- SVARM (2002): Svedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring; National Veterinary Institute; Uppsala, Sweden
- Svec, P., Devriese, L. A., Sedlacek, I., Baele, M., Vancanneyt, M., Haesebrouck, F., Swings, J. und Doskar, J. (2001): *Enterococcus haemoperoxidus* sp. nov. and *Enterococcus moraviensis* sp. nov. isolated from water. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 51, 1567-1574
- Teixeira, L. M., Carvalho, M. G. S., Espinola, M. M. B., Speigerwalt, A. G., Douglas, M. P., Brenner, D. J. und Acklam, R. R. (2001): *Enterococcus porcinus* sp. nov. and *Enterococcus ratti* sp. nov. associated with enteric disorders in animals: Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 51, 1737-1743

- Thal, L. A., Chow, J. W., Mahayni, R., Bonilla, H., Perri, M. B. und Donabedian, S.A. (1995): Characterization of antimicrobial resistance in enterococci of animal origin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 39, 2112-2115
- Tyrell, G. J., Turnbull, L., Teixeira, L. M., Lefevbre, J., Carvalho, M. G. S., Facklam, R. R. und Lovgren, M. (2002): *Enterococcus gilvus* sp. nov. and *Enterococcus pallens* sp. nov. isolated from human clinical specimens. *J. Clin. Microbiol.* 40, 1140-1145
- Uttley, A. H. C., George, R. C., Naidoo, J., Woodford, N., Johnson, A. P., Collins, C. H., Morrison, D., Gilfilan, A. J., Fitch, L. E. und Heptonstall, J. (1989): High-level vancomycin-resistant enterococci causing hospital infections. *Epidemiol. Infect.* 103, 173-181
- Vancanneyt, M., Snauwaert, C., Cleenwerck, I., Baele, M., Descheemaeker, P., Goosens, H., Pot, B., van Damme, P., Swings, J., Haesebrouck, F. und Devriese, L. A. (2001): *Enterococcus villorum* sp. nov., an enteroadherent bacterium associated with diarrhoea in piglets. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 51, 393-400
- van den Bogaard, A. E., Hazen, M., Hoyer, M., Oostenbach, P. und Stobberingh, E. E. (2000): The effect of flavophospholipol on the resistance in fecal *Escherichia coli* and enterococci of fattening pigs. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46, 110-118
- van den Bogaard, A. E., Willems, R., London, N., Top, J. und Stobberingh, E. E. (2002): Antibiotic resistance of faecal enterococci in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers. *J. Antimicrob. Chemother.* 49, 497-505
- van Goethem, G. F., Louwagie, B. M., Simoens, M. J., Vandeven, J. M., Verhaegen, J. L. und Boogaerts, M. A. (1994): *Enterococcus casseliflavus* septicaemia in a patient with acute myeloid leukaemia. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 13, 519-520
- Wegener, H. C., Aarestrup, F. M., Jensen, L. B., Hammerun, A. M. und Bager, F. (1999): Use of antimicrobial growth promoters in food animals and *Enterococcus faecium* resistance to therapeutic antimicrobial drugs in Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 5, 329-335
- Werner, G., Klare, I. und Witte, W. (1998): Association between quinupristin/dalfopristin resistance in glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium* and the use of additives in animal feed. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 17, 401-402
- Werner, G., Hildebrandt, B., Klare, I. und Witte, W. (2000): Linkage of determinants for streptogramin A, macrolide-lincomsamide-streptogramin B, and chloramphenicol resistance on conjugative plasmid in *Enterococcus faecium* and dissemination of this cluster among streptogramin-resistant enterococci. *Int. J. Med. Microbiol.* 290, 543-548
- Woodford, N. (1998): Glycopeptide-resistant enterococci: a decade of experience. *J. Med. Microbiol.* 47, 849-862

9 Anhänge

Anhang 1: Enterokokkenisolation und Speziesdifferenzierung

a. Probennahme

Die Isolierung der Enterokokkenstämme wurde in Anlehnung an die Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz (LMBG), Nr. L 06.00-32: Untersuchung von Lebensmitteln-Bestimmung von *E. faecalis* und *E. faecium* in Fleisch und Fleischerzeugnissen (Referenzverfahren) in der Fassung vom Juni 1992 durchgeführt.

Die Probennahme bei Rindern und Schweinen erfolgte mittels eines sterilen Tupfers. Nach Abstrich der Tierkörperoberfläche bzw. Beprobung des Kotes der frisch geschlachteten Tiere wurden diese Tupferproben in 1ml 0,1%igem NaCl-Peptonwasser aufbewahrt und unter Kühlbedingungen ins Labor gebracht.

Beim Geflügel sowie bei den Lebensmittelproben erfolgte die Probennahme direkt im Labor. Die Karkassen wurden überwiegend von den angeschriebenen Mastbetrieben zugesandt. 10g Lebensmittelprobe bzw. 10g Halshaut sowie 10g Caecum beim Geflügel wurden mit jeweils 90ml 0,1%igem NaCl-Peptonwasser gemischt und jeweils 0,1ml der unverdünnten homogenisierten Probe oder der Erstverdünnung auf Selektivnährmedien ausplattiert.

b. Speziesdifferenzierung

Die darauffolgende Isolierung und Differenzierung lief bei allen Probenmaterialien identisch ab. Die Abbildung 71 stellt das Fließschema des Untersuchungsganges dar. Zur Vermeidung von möglichen Mischkulturen wurden die Kolonien zweimal hintereinander auf Blutnährmedienplatten überimpft.

Zur Kontrolle auf das enterokokkentypische Enzym Pyrrolidonylarylamidase wurde der Pyrrolidonylarylamidase-Test (O.B.I.S. PYR Test, ID580M, Oxoid) eingesetzt. Der Katalase-Test wurde mit 3%iger Wasserstoffperoxidlösung durchgeführt. Für die Kohlenhydrat-spaltungstests wurden L-Arabinose (L[+]-Arabinose, Merck, Art.101492), D-Raffinose (Raffinose [Pentahydrat], Merck, Art. 107419), Methyl-alpha-D-Glucopyranosid (Methyl-alpha-D-Glucopyranoside, Sigma, Art. 9376), Ribose (D[-]-Ribose, Merck, Art. 107605), Melibiose (Melibiose-Monohydrat, Merck, Art. 112240), Melezitose (alpha-D-Melezitose, Serva, Art. 28550) sowie L-Sorbose (L[-]-Sorbose, Sigma, Prod.-Nr. S 2001) verwendet. Darüber hinaus wurde der Abbau von Mannitol (D[-]-Mannit, Merck, Art. 105982) und Sorbitol (D[-]-Sorbitol reinst für die Mikrobiologie, Merck, Art. 107758) untersucht.

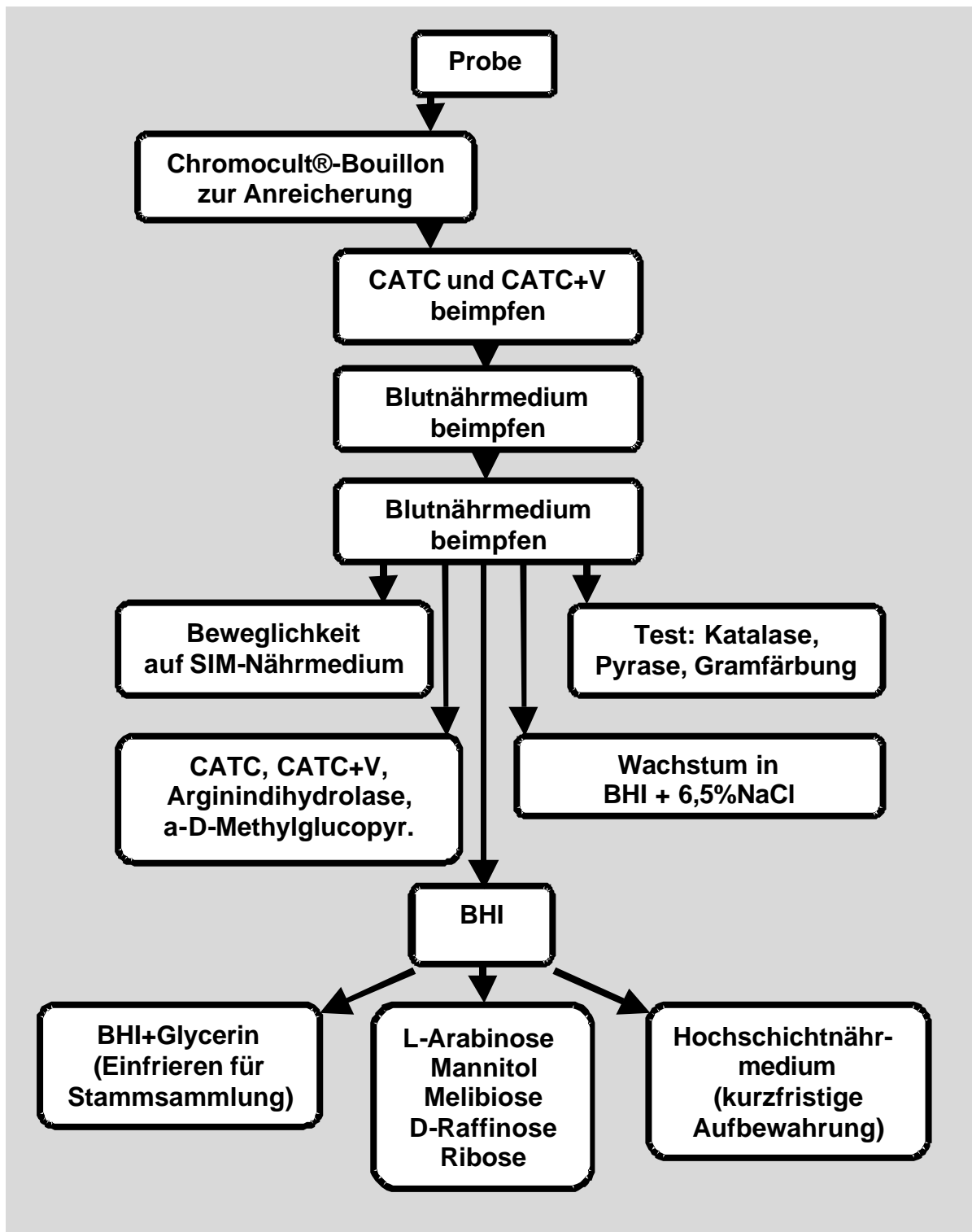
In der Tabelle 16 sind die Eigenschaften von Enterokokkenspezies dargestellt, die zur Speziesbestimmung herangezogen wurden.

Tabelle 16: Biochemischer und mikrobiologischer Spezies-Differenzierungsschlüssel von Enterokokken

Spezies	Pig	Pyr	Bew	TTC	NaCl	Meth	Arg	Rib	Ara	Raf	Man	Meli	Pyru	Mele	Sorb	L-Sor	D-Xyl	Glc
<i>E. asini</i>	-	+	-	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	ND	-	-	-	+	
<i>E. avium</i>	-	+	-	D	D	D	-	+	V+	-	+	D	(+)	+	+	+	D-	D
<i>E. casseliflavus</i>	D+	+	D+	D	+	+	D	+	+	D+	+	+	D	D-	D-	-	+	D
<i>E. cecorum</i>	-	-	-	ND	-	-	-	+	-	+	D-	+	+	D+	D-	-	-	
<i>E. columbae</i>	-	-	-	ND	-	D	-	+	D+	+	+	+	+	D-	+	-	+	
<i>E. dispar</i>	-	+	-	ND	+	+	+	+	-	+	-	D	+	-	-	-	-	+
<i>E. durans</i>	-	+	-	-	+	-	+	+	-	D-	-	D-	-	-	-	-	-	-
<i>E. faecalis</i>	-	+	-	+	+	D	+	+	-	-	+	-	+	D+	D+	D-	-	D
<i>E. faecium</i>	-	+	-	-	+	-	+	+	+	D-	D+	D+	-	-	D-	-	D-	-
<i>E. gallinarum</i>	-	+	D+	+	+	+	D	+	+	D+	+	D+	-	D-	D	-	+	
<i>E. gilvus</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	ND	+	+	-	+
<i>E. haemoperoxidus</i>	(+)	+	-	+	+	+	+	+	-	-	D	-	ND	+	-	-	-	
<i>E. hirae</i>	-	+	-	ND	+	-	+	+	-	D-	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>E. malodoratus</i>	-	+	-	-	D	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	D-	D
<i>E. moraviensis</i>	-	D	-	+	+	+	-	+	+	D-	+	-	ND	+	-	D-	-	
<i>E. mundtii</i>	+	+	-	D	+	-	+	+	+	D+	+	+	-	-	D	-	+	-
<i>E. pallens</i>	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	ND	+	+	-	+
<i>E. porcinus</i>	-	+	-	ND	+	-	+	+	-	-	-	+	-	ND	-	-	+	-
<i>E. pseudoavium</i>	-	+	-	-	D	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	D-	-
<i>E. raffinosus</i>	-	+	-	D	D	D	-	+	+	+	+	+	+	D+	+	+	D-	+
<i>E. ratti</i>	-	+	-	ND	+	-	+	+	-	-	D-	D	-	ND	-	-	-	-
<i>E. saccharolyticus</i>	-	-	-	ND	+	+	-	ND	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-
<i>E. solitarius</i>	-	+	-	ND	+	+	+	-	-	-	+	D-	ND	+	ND	ND	-	
<i>E. sulfureus</i>	+	+	-	ND	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-
<i>E. villorum</i>	-	+	-	ND	+	ND	+	+	-	-	-	+	ND	-	-	-	D+	
<i>E. flavescens</i>	+	+	+	D+	ND	+	+	-	+	+	+	+		D-	-	-	+	

modifiziert nach Facklam und Collins, 1989; Devriese et al., 1993; Devriese et al., 1995; Devriese et al., 1996; de Vaux et al., 1998; Chen et al., 2000; Sandoe et al., 2001; Svec et al., 2001; Teixeira et al., 2001; Vancanneyt et al., 2001; Tyrell et al., 2002)

Abbildung 71: Fließschema des Untersuchungsgangs zur Isolierung und Differenzierung von Enterokokken-Feldstämmen aus Tiermaterial



c. Stammbezeichnung

Die Enterokokkenstämme wurden mit einer laufenden Labornummer versehen und folgendermaßen bezeichnet:

G = Geflügel/ R = Rind/ S = Schwein für die Tierart sowie L = Lebensmittel

Herdnummer/ Lebensmittelprobennummer (fortlaufende Nummerierung)

K = Kotprobe/ H = Tierkörperoberflächenprobe

C = Chromocultanreicherung

v = auf CATC+Vancomycin-Agar gewachsen

a,b,c...= Bezeichnung der abgeimpften Kolonie

Beispiel: „G21KCva“ = erste abgeimpfte Kolonie, welche nach Anreicherung der Kotprobe von der 21. Geflügelherde auf CATC+Vancomycin-Agar gewachsen ist.

d. Referenzstämme

Zur Kontrolle aller biochemischen Reaktionen wurden bei jedem Versuchsansatz Enterokokken-Referenzstämme sowie Stämme anderer Bakteriengattungen (z.B. *Streptococcus bovis*) mitgeführt, die in der Tabelle 17 aufgelistet sind.

Tabelle 17: Verwendete Referenzstämme zur Kontrolle der biochemischen Reaktionen

Medium	Positivkontrolle	Negativkontrolle
L-Arabinose	<i>E. avium</i> ATCC 14025	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212
Arginin	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>E. avium</i> ATCC 14025
α-D-Methylglucopyranosid	<i>E. avium</i> ATCC 14025	<i>E. faecium</i> ATCC 6057
L-Sorbose	<i>E. avium</i> ATCC 14025	<i>E. casseliflavus</i> ATCC 25788
Mannitol	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>E. hirae</i> W 733
Melibiose	<i>E. casseliflavus</i> ATCC 25788	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212
Melzitose	<i>E. avium</i> ATCC 14025	<i>E. faecium</i> ATCC 6057
D-Raffinose	<i>E. avium</i> ATCC 14025	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212
Ribose	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>Str. bovis</i> 985 Gent
Sorbitol	<i>E. avium</i> ATCC 14025	<i>E. casseliflavus</i> ATCC 25788
Pyruvat	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>E. faecium</i> ATCC 6057
Glycerin	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>E. faecium</i> ATCC 6057
Sim-Agar	<i>E. gallinarum</i> BM 4174	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212
BHI + 6,5 % NaCl	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>Str. bovis</i> 985 Gent
CATC+V	<i>E. faecalis</i> 1528	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212
CATC	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>Str. bovis</i> 985 Gent

Anhang 2: Bestimmung der Minimalen-Hemmstoff-Konzentration (MHK)

Die Untersuchung des Resistenzverhaltens beruhte auf den Vorgaben der Hersteller des Sensititre^(R)- und Etest^(R)-Verfahrens.

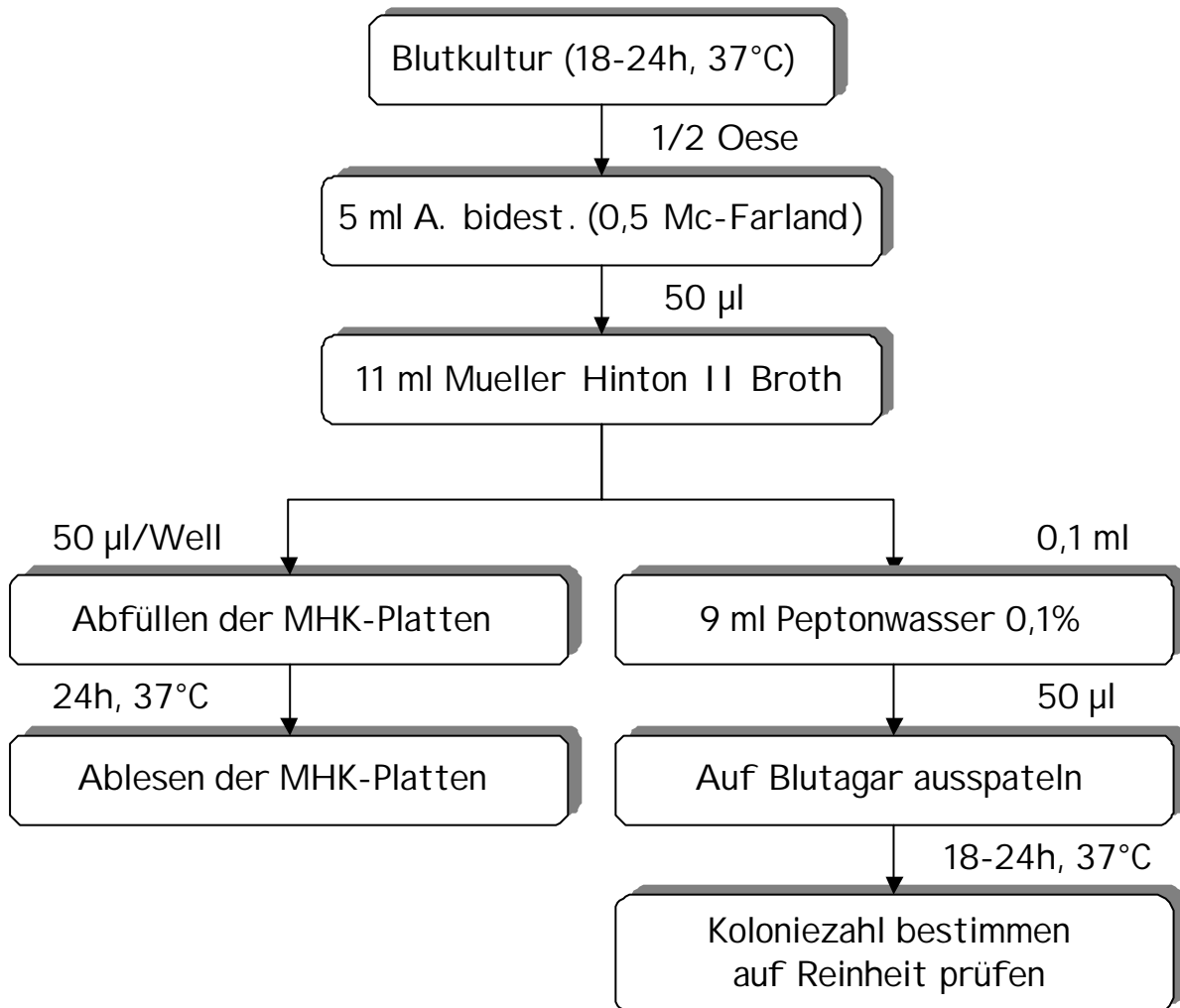
Für die Anzucht der Enterokokkenisolate aus der Stammsammlung wurde Columbia Nährmedium supplementiert mit 5% Schafblut verwendet. Mit sterilem Aqua dest. wurde anschließend eine definierte Keimdichte eingestellt. Zur Befüllung der Sensititre-Mikrotitrationsplatten diente eine Suspension der Isolate in Mueller Hinton II Broth. Das Fließschema der MHK-Untersuchung ist in der Abbildung 72 dargestellt. Zur Wachstums- und Reinheitskontrolle (Vermeidung von Mischkulturen) wurde 50µl der obengenannten Suspension auf Schafblutnährmedienplatten ausgespatelt.

Der MHK-Wert ist nicht nur stamm- bzw. speziesspezifisch, sondern auch von der Keimdichte abhängig. Je höher die Keimzahl ist, desto größer kann die Resistenz der untersuchten Bakterienpopulation gegenüber der eingesetzten Wirkstoffkonzentration sein. Deshalb wird auf den beimpften Platten die Keimzahl nach einer Inkubationszeit von 24h (37°C) bestimmt, um mögliche Fehlinterpretationen der MHK-Werte zu vermeiden.

Die eigentliche Bestimmung der Minimalen Hemmstoffkonzentrationen erfolgte mit Hilfe von Mikrotitrationsplatten im Sensititre^(R)-Verfahren. Es kamen zwei Plattenarten (Sensititre^(R)-Mikrotitrationsplatten DBMBGVE1, Lot-Nr.: B1133 und DBMBGVE2, Lot-Nr.: B1182, Trek Diagnostic Systems Ltd., West Sussex, England) zum Einsatz, deren Plattenkonfigurationen in der Abbildung 73 dargestellt sind.

Zur Bestimmung der Hochresistenz gegenüber Gentamicin wurden die entsprechenden Stämme auf Schafblutnährmedium, Standard angezüchtet, in BHI-Bouillon (Brain-Heart-Infusion-Bouillon, Rezeptur siehe oben) überimpft und bebrütet, in physiologischer Kochsalzlösung (0,9%ige NaCl-Lösung, steril) auf eine definierte Keimdichte eingestellt und auf BHI-Nährmedium ausgebracht. Die Bestimmung der Minimalen Hemmstoffkonzentration erfolgte in diesem Fall mit Etest^(R)-Streifen (Gentamicin high range, AB BIODISK, Bestell-Nr.: 16VO1278). Das Fließschema für die MHK-Untersuchung mittels Etest^(R) ist in der Abbildung 74 dargestellt. Der Etest^(R) ist kontaminationsanfälliger als das genannte Sensititre^(R)-System, so dass hier vor allem auf möglichst steriles Arbeiten geachtet wird.

Abbildung 72: Fließschema zur MHK-Bestimmung mittels Mikrobouillon-Dilutionsverfahren in Form des Sensititre®-System (MCS-Diagnostics)



10 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=182) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Rind gegenüber Ampicillin.	13
Abbildung 2: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=196) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Schwein gegenüber Ampicillin.	14
Abbildung 3: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=289) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Geflügel gegenüber Ampicillin.	14
Abbildung 4: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=193) isoliert aus Lebensmitteln gegenüber Ampicillin.	15
Abbildung 5: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=182) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Rind gegenüber der Wirkstoffkombination Amoxicillin/Clavulansäure.	16
Abbildung 6: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=196) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Schwein gegenüber der Wirkstoffkombination Amoxicillin/Clavulansäure.	17
Abbildung 7: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=289) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Geflügel gegenüber der Wirkstoffkombination Amoxicillin/Clavulansäure	17
Abbildung 8: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=193) isoliert aus Lebensmitteln gegenüber der Wirkstoffkombination Amoxicillin/Clavulansäure.	18
Abbildung 9: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=182) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Rind gegenüber Penicillin.	19
Abbildung 10: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=196) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Schwein gegenüber Penicillin.	19
Abbildung 11: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=289) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Geflügel gegenüber Penicillin.	20
Abbildung 12: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=193) isoliert aus Lebensmittelproben gegenüber Penicillin.	20
Abbildung 13: Häufigkeit der Penicillinresistenz bei Enterokokken-Feldstämmen vom Rind, Schwein, Geflügel und aus Lebensmitteln im Untersuchungszeitraum 2000-2002.	21
Abbildung 14: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=182) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Rind gegenüber Avilamycin.	22
Abbildung 15: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=196) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Schwein gegenüber Avilamycin.	22

Abbildung 16: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=289) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Geflügel gegenüber Avilamycin.	23
Abbildung 17: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=193) isoliert aus Lebensmitteln gegenüber Avilamycin.	23
Abbildung 18: Häufigkeit der Avilamycin-Resistenz bei Enterokokken-Feldstämmen vom Rind, Schwein, Geflügel und aus Lebensmitteln im Untersuchungszeitraum 2000-2002.	24
Abbildung 19: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=182) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Rind gegenüber Bacitracin.	25
Abbildung 20: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=196) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Schwein gegenüber Bacitracin.	25
Abbildung 21: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=289) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Geflügel gegenüber Bacitracin.	26
Abbildung 22: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=193) isoliert aus Lebensmitteln gegenüber Bacitracin.	26
Abbildung 23: Häufigkeit der Bacitracin-Resistenz bei Enterokokken-Feldstämmen vom Rind, Schwein, Geflügel und von Lebensmitteln im Untersuchungszeitraum 2000-2002.	27
Abbildung 24: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=182) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Rind gegenüber Chloramphenicol.	28
Abbildung 25: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=196) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Schwein gegenüber Chloramphenicol.	28
Abbildung 26: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=289) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Geflügel gegenüber Chloramphenicol.	29
Abbildung 27: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=193) isoliert aus Lebensmitteln gegenüber Chloramphenicol.	29
Abbildung 28: Häufigkeit der Chloramphenicol-Resistenz bei Enterokokken-Feldstämmen vom Rind, Schwein, Geflügel und von Lebensmitteln im Untersuchungszeitraum 2000-2002.	30
Abbildung 29: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=182) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Rind gegenüber Enrofloxacin.	31
Abbildung 30: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=196) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Schwein gegenüber Enrofloxacin.	31
Abbildung 31: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=289) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Geflügel gegenüber Enrofloxacin.	32
Abbildung 32: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=193) isoliert aus Lebensmitteln gegenüber Enrofloxacin.	32

Abbildung 33: Häufigkeit der Enrofloxacin-Resistenz bei Enterokokken-Feldstämmen vom Rind, Schwein, Geflügel und aus Lebensmitteln im Untersuchungszeitraum 2000-2002.	33
Abbildung 34: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=182) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Rind gegenüber Flavomycin.	34
Abbildung 35: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=196) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Schwein gegenüber Flavomycin.	34
Abbildung 36: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=289) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Geflügel gegenüber Flavomycin.	35
Abbildung 37: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=193) isoliert aus Lebensmitteln gegenüber Flavomycin.	35
Abbildung 38: Häufigkeit der Flavomycin-Resistenz bei Enterokokken-Feldstämmen vom Rind, Schwein, Geflügel und von Lebensmitteln im Untersuchungszeitraum 2000-2002.	36
Abbildung 39: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=182) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Rind gegenüber Gentamicin.	37
Abbildung 40: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=196) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Schwein gegenüber Gentamicin.	37
Abbildung 41: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=289) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Geflügel gegenüber Gentamicin.	38
Abbildung 42: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=193) isoliert aus Lebensmitteln gegenüber Gentamicin.	38
Abbildung 43: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=182) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Rind gegenüber Erythromycin.	40
Abbildung 44: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=196) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Schwein gegenüber Erythromycin.	40
Abbildung 45: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=289) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Geflügel gegenüber Erythromycin.	41
Abbildung 46: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=193) isoliert aus Lebensmitteln gegenüber Erythromycin.	41
Abbildung 47: Häufigkeit der Erythromycin-Resistenz bei Enterokokken-Feldstämmen vom Rind, Schwein, Geflügel und von Lebensmitteln im Untersuchungszeitraum 2000-2002.	42
Abbildung 48: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=182) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Rind gegenüber Tylosin.	43

Abbildung 49: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=196) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Schwein gegenüber Tylosin.	43
Abbildung 50: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=289) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Geflügel gegenüber Tylosin.	44
Abbildung 51: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=193) isoliert aus Lebensmittelproben gegenüber Tylosin.	44
Abbildung 52: Häufigkeit der Tylosin-Resistenz bei Enterokokken-Feldstämmen vom Rind, Schwein, Geflügel und von Lebensmitteln im Untersuchungszeitraum 2000-2002.	45
Abbildung 53: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=182) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Rind gegenüber Teicoplanin.	46
Abbildung 54: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=196) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Schwein gegenüber Teicoplanin.	46
Abbildung 55: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=289) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Geflügel gegenüber Teicoplanin.	47
Abbildung 56: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=193) isoliert aus Lebensmitteln gegenüber Teicoplanin.	47
Abbildung 57: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=182) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Rind gegenüber Vancomycin.	48
Abbildung 58: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=196) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Schwein gegenüber Vancomycin.	49
Abbildung 59: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=289) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Geflügel gegenüber Vancomycin.	49
Abbildung 60: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=193) isoliert aus Lebensmitteln gegenüber Teicoplanin.	50
Abbildung 61: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=182) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Rind gegenüber Quinupristin/Dalfopristin.	52
Abbildung 62: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=196) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Schwein gegenüber Quinupristin/ Dalfopristin.	52
Abbildung 63: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=289) isoliert aus Schlachtkörperoberflächen- und Kotproben vom Geflügel gegenüber Quinupristin/Dalfopristin.	53
Abbildung 64: Resistenzverhalten von Enterokokken (n=289) isoliert aus Lebensmitteln gegenüber Quinupristin/Dalfopristin.	53
Abbildung 65: Häufigkeit der Quinupristin/Dalfopristin-Resistenz bei Enterokokken-Feldstämmen vom Rind, Schwein, Geflügel und aus Lebensmitteln im Untersuchungszeitraum 2000-2002.	54

Abbildung 66: PCR-Gelbild der optimierten Multiplex-PCR für Enterokokken-Referenz-stämme und einer Negativ-Kontrolle (<i>Streptococcus bovis</i> ATCC 33317).	67
Abbildung 67: Vancomycinresistenzgen-Nachweis bei ausgewählten Enterokokken-Feldstämmen	68
Abbildung 68: Speziesdifferenzierung bei 522 ausgewählten Enterokokken-Feldstämmen	69
Abbildung 69: Dendrogramm von 18 VRE-Stämmen und zwei Enterokokken-Referenzstämmen (70/90 und ATCC 6057) und ihre dazugehörigen PFGE-Fragmentmuster.	71
Abbildung 71: Fließschema des Untersuchungsgangs zur Isolierung und Differenzierung von Enterokokken-Feldstämmen aus Tiermaterial	88
Abbildung 72: Fließschema zur MHK-Bestimmung mittels Mikrobouillon-Dilutionsver-fahren in Form des Sensititre®-System (MCS-Diagnostics)	91

11 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Anzahl beprobter Herden (Rinder, Schweine, Geflügel) bzw. Lebensmittelproben im Untersuchungszeitraum 2000-2002	7
Tabelle 2: Grenzwerte zur Empfindlichkeitsbeurteilung von <i>Enterococcus</i> spp. im Rahmen der Bestimmung der <u>M</u> inimalen <u>H</u> emmstoff- <u>K</u> onzentration (MHK)	8
Tabelle 3: Häufigkeiten unterschiedlicher Enterokokkenspezies in unterschiedlichen Probenmaterialien	12
Tabelle 4: Ampicillin-resistente Enterokokken-Feldstämmen von Geflügel (G) und Schwein (S) und ihre Antibiotika-Resistenzmuster	15
Tabelle 5: Gentamicin high-level resistente Enterokokken	39
Tabelle 6: Vancomycin-resistente Enterokokken	51
Tabelle 7: Empfindlichkeiten und Vorkommen von Resistenzen (%) bei <i>E. faecalis</i> -Stämmen	56
Tabelle 8: Empfindlichkeiten und Vorkommen von Resistenzen (%) bei <i>E. faecalis</i> -Stämmen	57
Tabelle 9: Empfindlichkeiten und Vorkommen von Resistenzen (%) bei <i>E. faecalis</i> -Stämmen	58
Tabelle 10: Empfindlichkeiten und Vorkommen von Resistenzen (%) bei <i>E. faecalis</i> -Stämmen	59
Tabelle 11: Empfindlichkeiten und Resistenzen (%) von 18 <i>E. faecalis</i> -Stämmen	60
Tabelle 12: Empfindlichkeiten und Vorkommen von Resistenzen (%) bei <i>E. faecium</i> -Stämmen	62
Tabelle 13: Empfindlichkeiten und Vorkommen von Resistenzen (%) bei <i>E. faecium</i> -Stämmen	63
Tabelle 14: Empfindlichkeiten und Vorkommen von Resistenzen (%) bei <i>E. faecium</i> -Stämmen	64
Tabelle 15: Empfindlichkeiten und Vorkommen von Resistenzen (%) bei <i>E. faecium</i> -Stämmen	65
Tabelle 16: Biochemischer und mikrobiologischer Spezies-Differenzierungsschlüssel von Enterokokken	87
Tabelle 17: Verwendete Referenzstämmen zur Kontrolle der biochemischen Reaktionen	89