

Aus dem Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin
und
dem Bundesamt für
Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL)

**Epidemiologische Untersuchungen zur minimalen
Hemmkonzentration von tierpathogenen Bakterien der
Krankheitskomplexe "Mastitis des Milchrindes" und
"respiratorische Erkrankungen des Mastschweines"**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Kathrin Schröter
Tierärztin aus Bielefeld

Berlin 2003

Journal-Nr.: 2760

Gedruckt mit Genehmigung
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

| | |
|--------------------|------------------------------|
| Dekan: | Univ.-Prof. Dr. L. Brunnberg |
| Erster Gutachter: | Univ.-Prof. Dr. L.H. Wieler |
| Zweiter Gutachter: | Univ.-Prof. Dr. W. Heuwieser |
| Dritter Prüfer: | Univ.-Prof. Dr. W. Müller |

Deskriptoren: Antibiotikaresistenz; Resistenzmonitoring; minimale Hemmkonzentration;
veterinärpathogene Bakterien; Grenzwertfestlegung

Tag der Promotion: 24.10.2003

Für meine Familie

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|------------|--|----|
| 1. | Einleitung | 1 |
| 2. | Literaturübersicht | 2 |
| 2.1. | Resistenz von Bakterien gegen antimikrobielle Wirkstoffe | 2 |
| 2.1.1. | Begriffsbestimmungen | 2 |
| 2.1.1.1. | Antibiotika | 2 |
| 2.1.1.2. | Resistenz | 2 |
| 2.1.1.3. | Kreuzresistenz | 2 |
| 2.1.1.4. | Co-Resistenz | 3 |
| 2.1.1.5. | Resistenzarten | 3 |
| 2.1.1.5.1. | Intrinsische Resistenz | 3 |
| 2.1.1.5.2. | Erworbene Resistenz | 4 |
| 2.1.1.6. | Chromosomale Mutation | 4 |
| 2.1.1.7. | Resistenzvermittelnde Elemente | 6 |
| 2.1.1.7.1. | Plasmide | 6 |
| 2.1.1.7.2. | Transposons | 6 |
| 2.1.1.7.3. | Integrans und Genkassetten | 7 |
| 2.1.1.8. | Übertragbare Resistenz | 7 |
| 2.1.1.8.1. | Transduktion | 8 |
| 2.1.1.8.2. | Transformation | 8 |
| 2.1.1.8.3. | Konjugation | 9 |
| 2.1.1.9. | Grenzen des Gentransfers | 9 |
| 2.2. | Molekulare Mechanismen der Resistenz gegen antimikrobielle Wirkstoffe | 10 |
| 2.2.1. | Enzymatische Inaktivierung des Antibiotikums | 10 |
| 2.2.2. | Verminderung der Affinität zum Zielmolekül | 11 |
| 2.2.3. | Verminderung der Konzentration am Wirkort | 11 |
| 2.2.3.1. | Verminderte Aufnahme von Wirkstoffen | 12 |
| 2.2.3.2. | Aktive Ausschleusung | 12 |
| 2.2.4. | Ausbildung eines alternativen Stoffwechselweges | 13 |

II

| | | |
|----------|---|----|
| 2.3. | Methoden zur Bestimmung der Resistenz gegen antimikrobielle Wirkstoffe | 13 |
| 2.3.1. | Quantitative Verfahren | 13 |
| 2.3.1.1. | Agar-Dilutionstest | 14 |
| 2.3.1.2. | Bouillon-Dilutionstest | 14 |
| 2.3.2. | Qualitative Verfahren | 15 |
| 2.3.2.1. | Agar-Diffusionstest | 15 |
| 2.3.2.2. | Epsilon-Test (E-Test) | 16 |
| 2.3.3. | Qualitätssicherung | 16 |
| 2.3.4. | Interpretation der Daten der Empfindlichkeitstestung | 17 |
| 2.3.5. | Grenzwert | 18 |
| 2.3.5.1. | Klinischer Grenzwert | 18 |
| 2.3.5.2. | Biologischer Grenzwert | 18 |
| 2.3.6. | Festlegung von Grenzwerten und Übertragbarkeit der Ergebnisse | 19 |
| 2.4. | Anwendung antimikrobieller Wirkstoffe bei Tieren | 20 |
| 2.4.1. | Allgemeine Bedeutung von Antibiotika | 20 |
| 2.4.2. | Einsatz antimikrobieller Wirkstoffe | 20 |
| 2.4.3. | Leistungsförderer | 21 |
| 2.4.4. | Verfügbarkeit und Verbrauch von Antibiotika | 22 |
| 2.4.5. | Einfluß des Einsatzes antimikrobieller Wirkstoffe in der Tierhaltung auf die Resistenzentstehung und -ausbreitung | 23 |
| 2.4.5.1. | Zooanthroponose-Erreger | 23 |
| 2.4.5.2. | Kommensalen | 27 |
| 2.4.5.3. | Primär pathogene Erreger | 29 |
| 2.4.6. | Nachweis der Übertragung von Resistenzen gegen antimikrobielle Wirkstoffe mit molekularbiologischen Verfahren | 30 |
| 2.4.7. | Rückstandsrisiko durch den Einsatz antimikrobieller Wirkstoffe | 30 |
| 2.4.8. | Gefahrenminimierung der Resistenzentstehung und -ausbreitung | 30 |
| 2.4.9. | Verantwortungsbewusster Umgang mit antimikrobiellen Wirkstoffen | 31 |
| 2.4.9.1. | Indikation | 31 |
| 2.4.9.2. | Dosierung | 32 |
| 2.4.9.3. | Applikationsart | 34 |
| 2.4.9.4. | Infektionskontrolle und Alternativen zum Einsatz antimikrobieller Wirkstoffe | 34 |

III

| | | |
|----------|---|----|
| 2.5. | Molekulare Epidemiologie der Resistenz gegen antimikrobielle Wirkstoffe | 35 |
| 2.5.1. | Resistenzselektion | 35 |
| 2.5.2. | Ausbreitung von Resistenz | 37 |
| 2.5.3. | Persistenz beziehungsweise Eliminierung von antimikrobieller Resistenz | 40 |
| 2.6. | Epidemiologischer Nachweis der Resistenz gegen antimikrobielle Wirkstoffe | 41 |
| 2.6.1. | Risikoanalyse | 41 |
| 2.6.2. | Monitoring | 42 |
| 2.6.3. | Studienplanung | 43 |
| 2.6.3.1. | Probenauswahl und Studiendurchführung | 43 |
| 2.6.3.2. | Erregerauswahl | 44 |
| 2.6.3.3. | Erregeridentifizierung | 44 |
| 2.6.3.4. | Auswahl der zu prüfenden Antibiotika | 44 |
| 2.6.3.5. | Tierart und Alter | 45 |
| 2.6.3.6. | Indikation und Probenmaterial | 45 |
| 2.6.3.7. | Regionale und zeitliche Verteilung der Proben | 47 |
| 2.6.3.8. | Schichtung der Grundgesamtheit der Proben nach Einflussvariablen | 47 |
| 2.6.3.9. | Statistik | 48 |
| 2.6.4. | Möglichkeiten zur Darstellung von Ergebnissen | 48 |
| 2.6.5. | Auswertung der Ergebnisse | 49 |
| 2.6.6. | Praktische Umsetzung von Monitoring-Programmen | 49 |
| 2.6.7. | Erfassung der Resistenzsituation bei tierpathogenen Erregern in Deutschland | 50 |
| 3. | Material und Methoden | 52 |
| 3.1. | Studienumfang und Stichprobenplan | 52 |
| 3.2. | Teilnehmende Kooperationseinrichtungen | 53 |
| 3.3. | Herkunft der Proben | 53 |
| 3.4. | Regionale Verteilung der Bakterienisolate | 53 |
| 3.5. | Begleitbogen für die Bakterienisolate | 54 |
| 3.6. | Stammmaterial | 54 |

IV

| | | |
|---------|---|----|
| 3.7. | Bearbeitung der Proben im BVL | 55 |
| 3.8. | Kultivierung der eingesandten Bakterienisolate | 55 |
| 3.9. | Identifizierungsmerkmale für die eingesandten Bakterienisolate | 55 |
| 3.9.1. | <i>Escherichia coli</i> | 55 |
| 3.9.2. | <i>Staphylococcus</i> -Spezies | 56 |
| 3.9.3. | <i>Streptococcus</i> -Spezies | 56 |
| 3.9.4. | <i>Pasteurella multocida</i> und <i>Mannheimia haemolytica</i> | 57 |
| 3.10. | Bestimmung der Antibiotikaempfindlichkeit | 60 |
| 3.10.1. | Mikro-Bouillondilutionsmethode | 60 |
| 3.10.2. | Qualitätssicherung zur Methodendurchführung | 61 |
| 3.10.3. | Auswahl der geprüften Antibiotika | 62 |
| 3.10.4. | Eingruppierung der Empfindlichkeit der untersuchten Bakterienisolate | 64 |
| 4. | Ergebnisse | 66 |
| 4.1. | Anzahl und Verteilung der von den Kooperationseinrichtungen an das BVL eingesandten Bakterienkulturen | 66 |
| 4.2. | Identifizierung und biochemische Charakterisierung der Bakterienisolate | 66 |
| 4.2.1. | <i>Escherichia coli</i> | 66 |
| 4.2.2. | <i>Staphylococcus</i> -Spezies | 67 |
| 4.2.3. | <i>Streptococcus</i> -Spezies | 68 |
| 4.2.4. | <i>Pasteurella multocida</i> und <i>Mannheimia haemolytica</i> | 69 |
| 4.3. | Anzahl und geographische Verteilung der für die Empfindlichkeitsbestimmung verwendeten Bakterienstämme | 69 |
| 4.4. | Ergebnisse der Qualitätssicherung zur Methodendurchführung bei der Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration | 73 |
| 4.5. | Minimale Hemmkonzentration von Bakterienstämmen aus Mastitismilchproben des Rindes | 73 |
| 4.5.1. | <i>Escherichia coli</i> | 74 |
| 4.5.2. | <i>Staphylococcus aureus</i> | 74 |
| 4.5.3. | Koagulase negative <i>Staphylococcus</i> -Spezies | 75 |
| 4.5.4. | <i>Streptococcus</i> -Spezies | 76 |

| | | |
|---------|---|-----|
| 4.6. | Vergleichende Gegenüberstellung der prozentualen Anteile resistenter Keime für das Bundesgebiet, die alten und neuen Bundesländer sowie für einige ausgewählte Bundesländer | 81 |
| 4.6.1. | <i>Escherichia coli</i> | 81 |
| 4.6.2. | <i>Staphylococcus aureus</i> | 81 |
| 4.6.3. | Koagulasenegative <i>Staphylococcus</i> -Spezies | 82 |
| 4.6.4. | <i>Streptococcus</i> -Spezies | 82 |
| 4.7. | Vergleich der prozentualen Anteile resistenter Keime für ausgewählte Spezies innerhalb der Gattung <i>Staphylococcus</i> und <i>Streptococcus</i> | 87 |
| 4.7.1. | <i>Staphylococcus</i> -Spezies | 87 |
| 4.7.2. | <i>Streptococcus</i> -Spezies | 89 |
| 4.8. | Minimale Hemmkonzentration von Bakterien von Mastschweinen mit respiratorischen Erkrankungen | 90 |
| 4.8.1. | <i>Pasteurella multocida</i> | 90 |
| 4.8.2. | <i>Mannheimia haemolytica</i> | 91 |
| 4.9. | Vergleichende Gegenüberstellung der prozentualen Anteile resistenter <i>Pasteurella multocida</i> -Stämme im Bundesgebiet, in den alten und neuen Bundesländern sowie in einigen ausgewählten Bundesländern | 94 |
| 4.10. | Vergleich der errechneten MHK ₅₀ und MHK ₉₀ bei Bakterienstämmen aus Mastitismilchproben des Rindes | 97 |
| 4.10.1. | <i>Escherichia coli</i> | 97 |
| 4.10.2. | <i>Staphylococcus aureus</i> | 98 |
| 4.10.3. | Koagulasenegative <i>Staphylococcus</i> -Spezies | 99 |
| 4.10.4. | <i>Streptococcus</i> -Spezies | 99 |
| 4.11. | Vergleich der errechneten MHK ₅₀ und MHK ₉₀ bei Bakterienstämmen von Mastschweinen mit respiratorischen Erkrankungen | 101 |
| 4.11.1. | <i>Pasteurella multocida</i> | 101 |
| 4.11.2. | <i>Mannheimia haemolytica</i> | 102 |
| 4.12. | Vergleich der prozentualen Anteile resistenter Keime und der jeweils errechneten MHK ₅₀ und MHK ₉₀ bei verschiedenen Herdengrößen | 103 |
| 4.13. | Vergleichende Darstellung von klinischen und biologischen Grenzwerten | 104 |
| 4.13.1. | <i>Escherichia coli</i> | 104 |
| 4.13.2. | <i>Staphylococcus aureus</i> | 105 |

VI

| | | |
|---------|--|-----|
| 4.13.3. | Koagulasenegative <i>Staphylococcus</i> -Spezies | 106 |
| 4.13.4. | <i>Streptococcus</i> -Spezies | 107 |
| 4.13.5. | <i>Pasteurella multocida</i> | 107 |
| 4.13.6. | <i>Mannheimia haemolytica</i> | 108 |
| 4.14. | Einzel- und Parallelresistenzen | 109 |
| 4.14.1. | <i>Escherichia coli</i> | 109 |
| 4.14.2. | <i>Staphylococcus aureus</i> | 110 |
| 4.14.3. | Koagulasenegative <i>Staphylococcus</i> -Spezies | 111 |
| 4.14.4. | <i>Streptococcus</i> -Spezies | 112 |
| 4.14.5. | <i>Pasteurella multocida</i> und <i>Mannheimia haemolytica</i> | 113 |
| 5. | Diskussion | 114 |
| 5.1. | Durchführung der Resistenzmonitoringstudie | 115 |
| 5.2. | Methode der Empfindlichkeitstestung | 116 |
| 5.3. | Qualitätssicherung bei der Methodendurchführung zur Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration | 118 |
| 5.4. | Auswahlmerkmale und verwendete Konzentrationsbereiche der geprüften antimikrobiellen Wirkstoffe | 119 |
| 5.5. | Festlegung und Anwendung von Grenzwerten | 123 |
| 5.6. | Resistenz von Bakterien gegen antimikrobielle Wirkstoffe und Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration | 124 |
| 5.6.1. | Plausibilitätskontrollen bei der Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration | 124 |
| 5.6.2. | Resistenz der geprüften <i>E. coli</i> -Stämme | 125 |
| 5.6.3. | Resistenz der geprüften <i>Staphylococcus</i> -Spezies-Stämme | 129 |
| 5.6.4. | Resistenz der geprüften <i>Streptococcus</i> -Spezies-Stämme | 132 |
| 5.7. | Gegenüberstellung der für die ausgewählten Bundesländer ermittelten Ergebnisse | 134 |
| 5.8. | Gegenüberstellung der für die ausgewählten Spezies der Gattung <i>Staphylococcus</i> und <i>Streptococcus</i> ermittelten Ergebnisse | 135 |
| 5.9. | Resistenz der geprüften <i>Pasteurella multocida</i> - und <i>Mannheimia haemolytica</i> -Stämme | 135 |
| 5.10. | Vergleich der errechneten MHK_{50} und MHK_{90} | 138 |

VII

| | | |
|---------|---|-----|
| 5.10.1. | <i>Escherichia coli</i> | 139 |
| 5.10.2. | <i>Staphylococcus</i> -Spezies | 139 |
| 5.10.3. | <i>Streptococcus</i> -Spezies | 139 |
| 5.10.4. | <i>Pasteurella multocida</i> und <i>Mannheimia haemolytica</i> | 140 |
| 5.11. | Bedeutung der klinischen und der biologischen Resistenz | 140 |
| 5.11.1. | Klinische und biologische Resistenz bei Bakterienstämmen aus Mastitismilchproben | 141 |
| 5.11.2. | Klinische und biologische Resistenz bei Bakterien von Mastschweinen mit respiratorischen Erkrankungen | 142 |
| 5.12. | Untersuchung der Parallelresistenz | 142 |
| 5.13. | Nutzen der ermittelten Resistenzdaten und Ausblick | 143 |
| 6. | Zusammenfassung | 146 |
| 7. | Summary | 149 |
| 8. | Literaturverzeichnis | 152 |

VIII

Verzeichnis häufig verwendeter Abkürzungen

| | |
|----------------------------|---|
| AMP | Ampicillin |
| API | Analytical Product Index |
| <i>A. pleuropneumoniae</i> | <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> |
| ATCC | American Type Culture Collection, Rockville, Md., USA |
| AUG | Amoxicillin/Clavulansäure |
| AVID | Arbeitskreis für veterinärmedizinische Infektionsdiagnostik im Arbeitsgebiet "Mikrobiologie, Parasitologie und Hygiene" der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft |
| AVL | Avilamycin |
| <i>B. bronchiseptica</i> | <i>Bordetella bronchiseptica</i> |
| BgVV | Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin |
| BHI | Hirn-Herz-Bouillon (engl. brain heart infusion broth) |
| BSAC | British Society for Antimicrobial Chemotherapy |
| BVL | Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit |
| CEP | Cephalothin |
| CHL | Chloramphenicol |
| <i>C. jejuni</i> | <i>Campylobacter jejuni</i> |
| CLI | Clindamycin |
| DANMAP | Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme |
| DDR | Deutsche Demokratische Republik |
| DIN | Deutsches Institut für Normung, Berlin |
| DNA | Desoxyribonukleinsäure (engl. desoxyribonucleic acid) |
| DVG | Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft |
| <i>E. coli</i> | <i>Escherichia coli</i> |
| <i>E. faecium</i> | <i>Enterococcus faecium</i> |
| EMEA | European Agency for Evaluation of Medicinal Products |
| ENRO | Enrofloxacin |
| ERY | Erythromycin |
| E-Test | Epsilon-Test |

IX

| | |
|-------------------------|--|
| EU | Europäische Union |
| FFN | Florfenicol |
| GEN | Gentamicin |
| IFAH | International Federation for Animal Health |
| <i>K. pneumoniae</i> | <i>Klebsiella pneumoniae</i> |
| <i>M. haemolytica</i> | <i>Mannheimia haemolytica</i> |
| MHK | minimale Hemmkonzentration |
| MLS-Antibiotika | Makrolid-, Lincosamid- und Streptogramin-Antibiotika |
| MRSA | Methicillin-resistente <i>Staphylococcus aureus</i> |
| NCCLS | National Committee for Clinical Laboratory Standards |
| NEO | Neomycin |
| NMC | National Mastitis Council |
| OIE | Office International des Epizooties |
| OXA | Oxacillin |
| <i>P. aeruginosa</i> | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| PEN | Penicillin |
| <i>P. multocida</i> | <i>Pasteurella multocida</i> |
| RNA | Ribonukleinsäure (engl. ribonucleic acid) |
| <i>S. agalactiae</i> | <i>Streptococcus agalactiae</i> |
| <i>S. aureus</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> |
| <i>S. chromogenes</i> | <i>Staphylococcus chromogenes</i> |
| <i>S. dysgalactiae</i> | <i>Streptococcus dysgalactiae</i> |
| <i>S. enteritidis</i> | <i>Salmonella enteritidis</i> |
| <i>S. epidermidis</i> | <i>Staphylococcus epidermidis</i> |
| <i>S. equorum</i> | <i>Staphylococcus equorum</i> |
| SFM | Societe Francais de Microbiologie |
| <i>S. gallinarum</i> | <i>Staphylococcus gallinarum</i> |
| <i>S. haemolyticus</i> | <i>Staphylococcus haemolyticus</i> |
| <i>S. intermedius</i> | <i>Staphylococcus intermedius</i> |
| <i>S. lentus</i> | <i>Staphylococcus lentus</i> |
| Spp. | Subspezies |
| <i>S. saprophyticus</i> | <i>Staphylococcus saprophyticus</i> |
| <i>S. sciuri</i> | <i>Staphylococcus sciuri</i> |

| | |
|-----------------------|---|
| <i>S. simulans</i> | <i>Staphylococcus simulans</i> |
| SRG | Swedish Reference Group for Antibiotics |
| STR | Streptomycin |
| <i>S. typhimurium</i> | <i>Salmonella typhimurium</i> |
| <i>S. uberis</i> | <i>Streptococcus uberis</i> |
| <i>S. warneri</i> | <i>Staphylococcus warneri</i> |
| SXT | Trimethoprim/Sulfamethoxazol |
| <i>S. xylosus</i> | <i>Staphylococcus xylosus</i> |
| SYN | Quinopristin/Dalfopristin |
| TET | Tetracyclin |
| USA | United States of America |
| VAN | Vancomycin |
| WHO | World Health Organisation |
| WRG | Werkgroep Richtlijnen Gevoeligheidsbepalingen |
| XNL | Ceftiofur |

1. Einleitung

In jüngster Zeit wird sowohl in den allgemeinen Medien als auch in der Fachpresse immer häufiger auf die Problematik der Resistenzentwicklung bei bakteriellen Infektionserregern gegenüber antimikrobiell wirksamen Substanzen hingewiesen. Da scheinbar die Resistenz bei der Behandlung von Infektionskrankheiten in der Human- und Veterinärmedizin zunehmend ein Problem darstellt, ist die Datenerhebung zur Resistenzsituation dringend geboten.

Jeder Einsatz von Antibiotika hat zur Konsequenz, dass das Risiko einer Resistenzselektion erhöht wird. Weiterhin trägt ein Transfer von Resistenzgenen zwischen Bakterienstämmen sowie die Übertragung resistenter Erreger auf neue Wirtsorganismen zur Ausbreitung und Anreicherung von Resistenzen bei. Eine Bearbeitung des Problems der Resistenzentwicklung und -ausbreitung ist jedoch nur auf der Basis fundierter Daten über die Resistenzsituation der Mikroorganismen möglich, anhand derer wirkungsvolle Konzepte für Interventionsmaßnahmen zur Reduzierung des Resistenzentwicklungs- und Ausbreitungsrisikos erarbeitet werden können. Aufgrund fehlender verlässlicher Daten aus Resistenzmonitoringprogrammen, speziell auch für den Bereich der Veterinärmedizin, sind in den letzten Jahren zahlreiche Empfehlungen internationaler Organisationen für zu implementierende nationale Monitoringprogramme erarbeitet worden (WHO, 1997; House of Lords Selected Committee on Science and Technology, 1998; Rosendahl und Pedersen, 1998; EMEA, 1999; OIE, 2001).

Vor diesem Hintergrund hat das Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL), ehemals Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV), unter Berücksichtigung der Empfehlungen nationaler und internationaler Gremien, mit der Implementierung eines passiven nationalen Resistenzmonitorings bei ausgewählten Bakterien von zwei erkrankten Lebensmittel liefernden Tierarten begonnen. Im Rahmen dieser Bemühungen war es Ziel der vorliegenden Arbeit, die Resistenzsituation für das Jahr 2001 bei den ausgewählten Bakterien darzustellen und die Ergebnisse eigener Untersuchungen mit den bisherigen Literaturangaben zur Resistenzsituation der letzten Jahre zu vergleichen. Weiterhin wird in dieser Arbeit die Anwendbarkeit der im Rahmen des Resistenzmonitorings ermittelten Daten überprüft und diskutiert.

2. Literaturübersicht

2.1. Resistenz von Bakterien gegen antimikrobielle Wirkstoffe

2.1.1. Begriffsbestimmungen

2.1.1.1. Antibiotika

Als Antibiotika im engeren Sinn werden von Pilzen oder Bakterien gebildete Stoffe bezeichnet, die schon in geringer Menge das Wachstum anderer Mikroorganismen hemmen oder diese abtöten. Dagegen sind Chemotherapeutika beziehungsweise Antiinfektiva Stoffe mit antimikrobieller Wirkung, die in der Natur nicht vorkommen, sondern synthetisch hergestellt werden (Simon und Stille, 2000). Dem allgemeinen Sprachgebrauch folgend werden im Weiteren sowohl die Antibiotika als auch die antibakteriell wirksamen Chemotherapeutika als Antibiotika bezeichnet.

2.1.1.2. Resistenz

Bakterien sind in der Lage, aufgrund vielfältiger Mechanismen der Wirkung von Antibiotika zu entgehen. Diese Unempfindlichkeit von Bakterien gegenüber einem Antibiotikum wird als Resistenz bezeichnet (Acar und Röstel, 2001). Grundsätzlich wird zwischen biologischer und klinischer Resistenz unterschieden. Die biologische Resistenz zeichnet sich durch das Vorhandensein von Resistenzgenen und Resistenzmechanismen aus, die zu einer graduell variierenden Unempfindlichkeit des Bakteriums gegenüber einem Antibiotikum führen. Im Gegensatz dazu orientiert sich die klinische Resistenz am Therapieerfolg. Ein Bakterium wird dann als resistent bezeichnet, wenn es der Wirkung eines Antibiotikums widersteht und somit auf eine Therapie nicht anspricht (EMEA, 1999; Acar und Röstel, 2001).

2.1.1.3. Kreuzresistenz

Als Kreuzresistenz wird das gleichzeitige Auftreten einer Bakterienresistenz gegen Antibiotika der gleichen Klasse bezeichnet. Der Mechanismus der Resistenz gegen die Wirkstoffe ist dabei in der Regel identisch. Bei einseitiger Kreuzresistenz besteht bei

Unempfindlichkeit gegen das Antibiotikum A stets auch eine solche gegen das Antibiotikum B, jedoch sind die Bakterien bei Resistenz gegen das Antibiotikum B immer oder teilweise noch gegen das Antibiotikum A empfindlich. Bei beidseitiger Kreuzresistenz ist dagegen die Resistenz gegen ein Antibiotikum immer mit der Resistenz gegen ein anderes Antibiotikum der gleichen Klasse verbunden (Simon und Stille, 2000). Bei Aminoglykosiden ist beispielsweise die Resistenz gegen eine später entwickelte Substanz wie Gentamicin häufig mit einer Resistenz gegen ein älteres Antibiotikum, z.B. Streptomycin, kombiniert (Prescott et al., 2000). Die bakterielle Resistenz gegenüber diesen Wirkstoffen beruht im Wesentlichen auf der enzymatischen Inaktivierung durch O-Adenylattransferasen mit unterschiedlichen Wirkspektra. Während die Adenylattransferase 6 eine Resistenz ausschließlich gegenüber Streptomycin vermittelt, bewirkt die Expression der Adenylattransferase 2'' eine kombinierte Resistenz gegenüber Streptomycin und Gentamicin. Die entsprechenden *ant*-Gene sind meistens Bestandteile von Plasmiden oder Transposons (Shaw et al., 1993).

2.1.1.4. Co-Resistenz

Das gleichzeitige Auftreten einer Resistenz gegen Antibiotika unterschiedlicher Klassen auf der Basis unterschiedlicher Resistenzmechanismen bei einem Bakterium wird als Co-Resistenz bezeichnet (Acar und Röstel, 2001). Die genetischen Resistenzinformationen sind in aller Regel auf dem gleichen übertragbaren Element lokalisiert, beispielsweise einem Transposon oder Plasmid. Bei Bakterien der Gattungen *Streptococcus* und *Enterococcus* wurden Plasmide isoliert, auf denen neben dem Gen für eine Tetracyclinresistenz (*tetL*) auch solche für eine Erythromycin- (*ermB*) und eine Aminoglykosidresistenz (*aadA*) nachgewiesen wurden (Schwarz und Trolldenier, 2000).

2.1.1.5. Resistenzarten

Auf molekularer Ebene wird grundsätzlich zwischen intrinsischer und erworbener Resistenz unterschieden (Leclercq und Courvalin, 1991; Neu, 1992; Helmuth, 1999).

2.1.1.5.1. Intrinsische Resistenz

Die intrinsische oder natürliche Resistenz bezeichnet eine stets vorhandene Unempfindlichkeit eines Mikroorganismus gegen einen bestimmten Wirkstoff (Neu, 1989;

Smith und Lewin, 1993). Sie beruht auf dem Vorhandensein der Resistenzeigenschaften beim Wildtyp und ist somit eine vererbte, speziesspezifische Eigenschaft. Ursachen sind das Fehlen der Angriffsstelle im Bakterium, die Unzugänglichkeit des Wirkortes aufgrund der Undurchlässigkeit der Bakterienzellmembran (Nikaido, 1994) oder der Besitz von Enzymen, die das Antibiotikum inaktivieren (Neu, 1992). Bakterienspezies der Familie der *Enterobacteriaceae* und der Genera *Pseudomonas* und *Acinetobacter* besitzen beispielsweise eine natürliche Resistenz gegenüber Makroliden, Lincosamiden und Streptograminen (MLS-Resistenz), da Wirkstoffe dieser Klassen aufgrund ihres hydrophoben Charakters die Bakterienzellwände nur sehr begrenzt passieren können (Leclercq und Courvalin, 1991). Bei *Acinetobacter* spp. wurden zudem bei bisher allen untersuchten Stämmen Strukturgene für die 6'-Aminoglykosid-Acetyltransferase nachgewiesen (Rudant et al., 1994), deren Substrat ein Peptidoglykan ist, dessen dreidimensionale Struktur der von Aminoglykosiden gleicht (Rather et al., 1993). Da das Gen jedoch nur in geringem Maße exprimiert wird und somit nur eine begrenzte Anzahl von Enzymen gebildet wird, handelt es sich bei der Aminoglykosidresistenz von *Acinetobacter* spp. um eine sogenannte "low-level" Resistenz (Ploy et al., 1994).

2.1.1.5.2. Erworbene Resistenz

Die erworbene Resistenz ist eine stammspezifische Eigenschaft, die auf resistenzvermittelnden Mutationen chromosomaler Gene oder auf dem Erwerb resistenzvermittelnder mobiler genetischer Elemente beruht (Davies, 1980; Neu, 1992). Die im Zusammenhang mit erworbener Resistenz maßgeblichen mobilen genetischen Elemente sind u.a. Plasmide, Transposons, Integrons und Genkassetten (Schwarz und Werckenthin, 1999). Eine erworbene Resistenz wird sowohl bei pathogenen Bakterien als auch bei Kommensalen beobachtet, wobei jedoch die Fähigkeit zum Erwerb von Resistenzen zwischen den einzelnen Bakterienspezies erheblich variiert. Viele grampositive Bakterien, ausgenommen *Staphylococcus* spp. und *Enterococcus* spp., sind beispielsweise nicht in der Lage, resistenztragende Plasmide aufzunehmen (EMEA, 1999; Prescott et al., 2000).

2.1.1.6. Chromosomale Mutation

Resistenzvermittelnde Mutationen chromosomaler Gene beruhen auf dem Austausch eines oder mehrerer Basenpaare (Tenover und McGowan, 1996; Morris et al., 1998). Die oft nur geringfügigen Veränderungen in der Aminosäuresequenz haben kaum Einfluss auf die

biologische Aktivität der Genprodukte, schützen diese aber vor den inhibitorischen Einflüssen der Antibiotika (Schwarz und Werckenthin, 1999). Die durch Mutation erworbene Resistenz verleiht einem Bakterium bei antimikrobieller Exposition gegenüber dem Wildtyp einen entscheidenden Selektionsvorteil. Während der Wildtyp durch die Einwirkung des Antibiotikums im Wachstum gehemmt beziehungsweise abgetötet wird, können die Mutanten aufgrund ihrer durch die Mutation erworbenen Widerstandsfähigkeit überleben (Davies, 1980). Hierbei muss zwischen spontaner und adaptiver Mutation unterschieden werden (Morris et al., 1998). Spontanmutationen ereignen sich rein zufällig, adaptive Mutationen hingegen sind das Ergebnis eines Selektionsdruckes. Durch sie entstehen die Phänotypen, die unter den gegebenen Bedingungen, beispielsweise unter der Einwirkung von Antibiotika, zum Wachstum befähigt sind. Spontanmutationen treten in der Regel nur während der Zellteilung mit einer Häufigkeit von 0 bis 5 Mutanten pro 10^8 Bakterienzellen auf (LeClerc et al., 1996). Adaptive Mutationen dagegen ereignen sich vorwiegend in Bakterienzellen, die sich nicht in der Vermehrungsphase befinden. Einen Beweis für die These, dass in Anwesenheit von Antibiotika adaptive Mutationen Ursache für die Entstehung von Resistenzen sein können, lieferten zum Beispiel Riesenfeld et al. (1997). In einer Studie behandelten sie empfindliche *Escherichia (E.) coli*-Stämme mit einer geringen Dosis Ciprofloxacin ($< 0,5$ mg/l). Ein Teil der Population wurde bei dieser Dosierung abgetötet und bei der restlichen Population bewirkte das Antibiotikum eine Wachstumshemmung. Während einer Periode von sieben Tagen konnten aus der im Wachstum gehemmten *E. coli*-Population Ciprofloxacin-resistente Mutanten mit einer Häufigkeit von $2,5 \times 10^8$ bis $6,8 \times 10^5$ isoliert werden. Ein weiteres Beispiel für die Resistenzbildung aufgrund chromosomaler Mutationen ist die Entstehung von β -Lactamasen mit erweitertem Spektrum. Roy et al. (1985) verglichen den genetischen Kode von Wildtyp- β -Lactamasen und solchen mit erweitertem Spektrum und stellten fest, dass an nur drei Basen Veränderungen in Form von Punktmutationen stattfanden.

Die Ausbildung von Resistenzen in einer dem Selektionsdruck ausgesetzten Population ist in der Regel Folge mehrerer aufeinander folgender Mutationen, weshalb diese Resistenzen auch als Mehrschritt-Resistenzen bezeichnet werden. Führt hingegen eine einzige Mutation zur Ausbildung einer Resistenz, wird diese als Einschritt-Resistenz bezeichnet (EMEA, 1999).

2.1.1.7. Resistenzvermittelnde Elemente

2.1.1.7.1. Plasmide

Plasmide stellen extrachromosomale, doppelsträngige, meist ringförmige DNA-Moleküle dar, die zu einer von der chromosomalen DNA unabhängigen Replikation befähigt sind (Davies, 1980). Diese wird von einer Plasmidregion gesteuert, die als origin of replication (*oriV*) bezeichnet wird (Saunders, 1984). Die Größe der Plasmide variiert in der Regel zwischen 2 und 400 Kilobasenpaaren. Neben Resistenzgenen können auch Gene für den Selbsttransfer in andere Bakterienzellen, Virulenzgene oder Gene für metabolische Eigenschaften vorkommen (Tenover und Schaberg, 1998; Schwarz und Werckenthin, 1999).

Die Klassifizierung von Plasmiden erfolgt anhand der Einteilung in Inkompatibilitätsgruppen oder aufgrund ihrer Fähigkeit zum Selbsttransfer. Eine Inkompatibilität, die wahrscheinlich auf einer engen genetischen Verwandtschaft der jeweiligen Replikationssysteme beruht, liegt vor, wenn zwei Plasmide nicht nebeneinander in einer Bakterienzelle existieren können. Anhand der Fähigkeit zum Selbsttransfer wird zwischen konjugativen und nicht konjugativen Plasmiden unterschieden (Saunders, 1984). Neben den Möglichkeiten zur Replikation und zum Transfer sind Plasmide auch befähigt, ihre extrachromosomale Lage aufzugeben und in die chromosomale DNA zu integrieren oder mit anderen Plasmiden zu fusionieren (Werckenthin und Schwarz, 1997).

2.1.1.7.2. Transposons

Transposons sind aus doppelsträngiger DNA bestehende mobile Elemente, die prinzipiell zum Ortswechsel von Plasmid zu Plasmid, von Plasmid zu Chromosom oder vice versa befähigt sind (Prescott et al., 2000). Unter Verwendung der transposonkodierten Transposase- und Resolvase-Funktionen kann die Übertragung erfolgen, ohne dass ausgeprägte Homologieregionen oder intakte Rekombinationssysteme des Wirtsbakteriums beteiligt sein müssen (Lyon und Skurray, 1987).

Transposons können sich nicht autonom replizieren. Für ihre Vermehrung sind sie auf ein replikationsfähiges Vektormolekül angewiesen. Je nach Größe und Aufbau tragen sie ein oder mehrere Resistenzgene (Schwarz und Werckenthin, 1999). Ein gut erforschtes Transposon ist

zum Beispiel Tn3, welches für eine TEM- β -Lactamase kodiert. An beiden Enden des Transposons befinden sich repetitive DNA-Sequenzen mit einer Größe von 38 Basenpaaren, die der Transposase als Erkennungsregion dienen. Dieses Enzym, dessen genetischer Kode auf dem Transposon lokalisiert ist, schneidet sowohl die Spender- als auch die Empfänger-DNA und katalysiert die Bildung eines Co-Integrates. Dieses wird dann von der Resolvase, deren genetische Information ebenfalls auf dem Transposon kodiert ist, an spezifischen Stellen eingefügt (Saunders, 1984). Nach ihrer Fähigkeit zum Selbsttransfer können Transposons ebenfalls in konjugative und nicht konjugative Transposons eingeteilt werden.

2.1.1.7.3. Integrons und Genkassetten

Integrons sind mobile Elemente, die ortsspezifische Rekombinationsprozesse katalysieren. Sie bestehen aus zwei konservierten DNA-Segmenten und einer variablen Region, die eine oder mehrere Genkassetten enthalten kann (Levesque et al., 1995; Morris et al., 1998). Als Genkassetten werden kleine mobile genetische Einheiten bezeichnet, die meist nur ein Resistenzgen und eine spezifische Rekombinationsstelle besitzen (Recchia und Hall, 1995). Sie haben keine Fähigkeit zur Replikation oder Transposition. Ihre Mobilität wird dadurch garantiert, dass sie in einem Integron integriert sind, dessen ortsspezifische Rekombinationsprozesse von einer Integrase katalysiert werden (Salyers und Amabile-Cuevas, 1997). Auch die Transkription erfolgt von dem Promotor im jeweiligen Integron aus (Stokes und Hall, 1989). Der Grad der Expression von Genkassetten wird dabei durch ihre Lage zum Promoter des Integrons bestimmt. Proximal gelegene Gene werden häufig, distal gelegene dagegen nur selten exprimiert (Tenover und Schaberg, 1998).

2.1.1.8. Übertragbare Resistenz

Die Ausbreitung von Antibiotikaresistenzen ist durch vertikalen und horizontalen Gentransfer möglich (Acar und Röstel, 2001). Durch chromosomale Mutationen erworbene Resistenzeigenschaften werden vertikal an die Tochterzellen weitergegeben (Piddock, 1996), weshalb die Verbreitung dieser Resistenz innerhalb einer Spezies begrenzt bleibt (Smith und Lewin, 1993). Dagegen kommt es beim horizontalen Gentransfer zum Austausch von resistenzvermittelnden mobilen genetischen Elementen zwischen einzelnen Bakterienspezies der gleichen Generation. Es findet der Austausch von Informationen nicht nur innerhalb einer Bakterienspezies, sondern auch über Spezies- und Gengrenzen hinweg statt, deren Folge

eine weite Verbreitung von Resistenzgenen ist (Saunders, 1984; Courvalin, 1996; Tenover und Hughes, 1996; Morris et al., 1998). Einen Beweis für den horizontalen Gentransfer liefert der Nachweis nahezu identischer Kopien von Resistenzgenen bei verschiedenen, teils nur sehr wenig verwandten Bakterienspezies. Beispiele sind das Vorkommen des identischen Erythromycin-Resistenzgens *ermG* sowohl in Kolonien von *Bacteroides* spp. als auch in Kolonien von *Bacillus* sp. (Salyers und Shoemaker, 1996) sowie der Nachweis des Tetracyclin-Resistenzgens *tetM* bei einer Vielzahl grampositiver und gramnegativer Bakterienspezies wie *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Actinomyces* spp., *Campylobacter* spp., *Haemophilus* spp. und *Neisseria* spp. (Salyers et al., 1995; Roberts et al., 1996; Salyers und Shoemaker, 1996).

2.1.1.8.1. Transduktion

Transduktion beschreibt die Übertragung von chromosomaler oder extrachromosomaler DNA durch Bakteriophagen von einer Bakterienzelle auf eine andere (Morris et al., 1998). Voraussetzung für eine erfolgreiche Transduktion ist die Infektion mit einem Phagen und dessen Vermehrung in der Spenderzelle. Während der Multiplikation werden in einige Phagen anstelle ihrer eigenen DNA resistenztragende Plasmide beziehungsweise Gene eingebaut und nach Lyse der Spenderzelle und Infektion einer neuen Empfängerzelle in diese übertragen (Saunders, 1984). Die Infektion einer neuen Wirtszelle ist jedoch von geeigneten Rezeptoren auf deren Zelloberfläche abhängig (Reanny, 1976), und die Menge der übertragbaren DNA wird durch das Fassungsvermögen des Phagenkopfes begrenzt. Dieser Mechanismus ist demnach für die Resistenzausbreitung relativ unbedeutend (Prescott et al., 2000), obwohl er vor allem bei grampositiven Erregern nachgewiesen wurde und somit eine gewisse epidemiologische Rolle spielt (Lacey, 1975).

2.1.1.8.2. Transformation

Die Transformation ist ein Mechanismus, bei dem freie DNA in kompetente, das heißt für die Aufnahme von Fremd-DNA bereite Empfängerzellen übertragen wird (Saunders, 1984; Lyon und Skurray, 1987; Morris et al., 1998). Voraussetzung für die Übertragung ist ein zumindest teilweiser Verlust der bakteriellen Zellwand (Werckenthin und Schwarz, 1997). Bei Bakterienspezies mit einer hohen natürlichen Transformationsrate, wie bei einigen *Streptococcus* spp., wird dieser Mechanismus häufig beobachtet (Bonafede und Rice, 1997;

Prescott et al., 2000). *In vivo* spielt dieser Übertragungsweg jedoch eine eher untergeordnete Rolle, da der teilweise Verlust der Zellwand zu einer erhöhten Empfindlichkeit gegenüber Umwelteinflüssen jeglicher Art führt (Werckenthin und Schwarz, 1997).

2.1.1.8.3. Konjugation

Die Konjugation beschreibt den gerichteten Gentransfer von Plasmiden oder Transposons aus einer Spenderzelle in eine entsprechende Empfängerzelle mittels zytoplasmatischer Brücken (Saunders, 1984; Morris et al., 1998; Schwarz und Werckenthin, 1999). Besitzen die mobilen Elemente den genetischen Kode für die Strukturen, die zum Transfer notwendig sind, werden sie als konjugativ bezeichnet (Saunders, 1984). Der genetische Kode der für den Transfer notwendigen Strukturen ist im *tra*-Genkomplex lokalisiert. Weiterhin verfügen konjugative Elemente über Mobilisierungsgene (*mob*) und den origin of transfer (*oriT*)-Bereich, an dem die Mobilisierungsproteine binden und den für die Übertragung notwendigen Einzelstrangbruch durchführen. Nicht konjugative Plasmide und Transposons können dagegen nur im Co-Transfer übertragen werden. Voraussetzung für diese Mobilisierung ist das Vorkommen eines konjugativen Elementes in derselben Zelle, durch welches die für die Übertragung notwendigen Strukturen zur Verfügung gestellt werden. Dieser Austauschmechanismus findet zwischen Bakterien der gleichen Spezies, des gleichen Genus, aber auch zwischen Bakterien unterschiedlicher Genera statt (Salyers und Amabile-Cuevas, 1997; Prescott et al., 2000).

2.1.1.9. Grenzen des Gentransfers

Trotz der verschiedenen Transfermöglichkeiten bestehen für die Ausbreitung von Resistenzgenen gewisse Grenzen. Beispielsweise kann die effiziente Vermehrung der übertragenen Resistenzplasmide durch Replikationsdefizienzen verhindert werden, da diese oft nur in phylogenetisch eng mit dem ursprünglichen Wirt verwandten Bakterien möglich ist. Weiterhin verfügen viele Bakterien über Restriktions- und Modifikationssysteme, die die eigene DNA chemisch modifizieren und gleichzeitig ein Restriktionsenzym bilden, welches nicht-modifizierte Fremd-DNA abbaut (Werckenthin und Schwarz, 1997). Dieser Mechanismus ist jedoch nur dann wirksam, wenn in der übertragenen Fremd-DNA Erkennungssequenzen vorkommen, an denen das Restriktionsenzym die DNA schneidet. Sind in der Fremd-DNA keine solchen Sequenzen enthalten, kann diese im neuen Wirt exprimiert

werden. Eine weitere Schwierigkeit stellt die Inkompatibilität von Plasmiden dar. Diese kann jedoch überwunden werden, indem eines der Plasmide seine extrachromosomale Lage aufgibt oder beide Plasmide eine interplasmidäre Rekombination eingehen. Weiterhin werden Resistenzen nur dann ausgebildet, wenn im neuen Wirtsbakterium eine geregelte Transkription und Translation stattfindet und die Resistenzprodukte funktionell aktiv sind.

2.2. Molekulare Mechanismen der Resistenz gegen antimikrobielle Wirkstoffe

Insgesamt können vier Mechanismen unterschieden werden, die zu einer Resistenz gegenüber Antibiotika führen. Dies sind die Inaktivierung des Antibiotikums, die Verminderung der Affinität zum Zielmolekül, die Reduktion der Konzentration am Wirkort und die Ausbildung eines alternativen Stoffwechselweges.

2.2.1. Enzymatische Inaktivierung des Antibiotikums

Der Resistenzmechanismus beruht auf einer enzymatischen Inaktivierung mittels hydrolytischer Spaltung, Acetylierung, Adenylierung oder Phosphorylierung (Werckenthin und Schwarz, 1997), durch die das Molekül der antimikrobiellen Substanz biochemisch verändert und somit unwirksam gemacht wird (Neu, 1989; Smith und Lewin, 1993). Dazu gehören unter anderem die von grampositiven und gramnegativen Bakterien gebildeten plasmidkodierten β -Lactamasen, die den β -Lactamring der entsprechenden Antibiotika hydrolysieren und damit deren Wirkung aufheben (Bush et al., 1995). Auch die Chloramphenicolresistenz beruht auf der enzymatischen Inaktivierung des Wirkstoffmoleküls durch Chloramphenicol-Acetyltransferasen. Diese übertragen Acetylgruppen an die C1- und C3-Position des Chloramphenicolmoleküls, wodurch dieses nicht mehr an seinen ribosomalen Wirkort binden kann (Roberts et al., 1985). Die Aminoglykosidresistenz wird unter anderem durch Acetyl-, Adenyl- oder Phosphotransferasen vermittelt. Während die Acetyltransferasen die Aminogruppen an den Positionen 1, 3, 2' oder 6' der Aminoglykoside acetylieren, bewirken die Adenyltransferasen eine Modifikation der Hydroxylgruppen in Position 6, 9, 4', 2'' oder 3''. Die Aktivität der Phosphotransferasen dagegen führt zu einer Phosphorylierung von Hydroxylgruppen in Position 4, 6, 3', 2'' oder 3''. Durch die entsprechenden Veränderungen am Wirkstoffmolekül wird dessen Bindung an die 30S Untereinheit der Ribosomen verhindert und somit die Wirksamkeit aufgehoben (Shaw et al., 1993).

2.2.2. Verminderung der Affinität zum Zielmolekül

Bei der Verminderung der Affinität zum Zielmolekül wird im Bakterium die für das Antibiotikum empfindliche Zielstruktur durch eine solche mit reduzierter Sensitivität oder Affinität zu den entsprechenden Wirkstoffmolekülen ersetzt. Dabei kommt es entweder zu einer Überproduktion der nativen Zielstruktur oder zu chemischen Veränderungen an der Angriffsstelle beziehungsweise zu Mutationen in deren genetischem Kode (Neu, 1989; Spratt, 1994). Bei grampositiven und gramnegativen Bakterien wird zum Beispiel die Resistenz gegenüber Makroliden, Lincosamiden und Streptograminen durch eine chemische Modifizierung der 23S RNA des 50S Ribosoms mittels rRNA-Methylasen verursacht (Arthur et al., 1987). Dagegen beruht die Streptomycinresistenz auf Mutationen im bakteriellen Gen für das ribosomale Protein S12 (LaCoste et al., 1977), und bei Mykobakterien wird die Streptomycinresistenz durch Mutationen in der 16S rRNA verursacht (Schwarz und Trolldenier, 2000). Die Fluorchinolonresistenz bei grampositiven und gramnegativen Bakterien wird durch Mutationen im genetischen Kode für DNA-Gyrasen und Topoisomerasen vermittelt. Dabei basiert diese Resistenzentstehung auf schrittweisen Mutationen der primären und sekundären Zielstrukturen. Einzelmutationen im Gen *gyrA* (S83 → L83) bewirken zwar einen Anstieg der minimalen Hemmkonzentration, erzeugen aber keine klinische Resistenz. Eine zusätzliche Einzelmutation in dem Gen *parC* (S80 → I80) erhöht die minimale Hemmkonzentration in den Grenzbereich für klinische Resistenz, doch erst die Doppelmutation im Gen *gyrA* (S83 → L83 und D87 → G87) in Kombination mit der Einzelmutation im Gen *parC* (S80 → I80) verleihen dem Bakterium eine ausgeprägte klinische Resistenz (Neu, 1988; Nakamura et al., 1989; Neu, 1989). Im Zusammenhang mit der Tetracyclinresistenz sind zusätzlich Schutzproteine untersucht worden, die die Angriffsstelle vor den inhibitorischen Effekten des Wirkstoffes schützen (Schwarz und Trolldenier, 2000).

2.2.3. Verminderung der Konzentration am Wirkort

Die verminderte intrazelluläre Anhäufung der Wirkstoffe basiert entweder auf einer verminderten Aufnahme der Wirkstoffe oder einem gesteigerten aktiven Transport der Substanzen aus der Bakterienzelle hinaus (Smith und Lewin, 1993).

2.2.3.1. Verminderte Aufnahme von Wirkstoffen

Bakterien, die ursprünglich gegenüber einem Wirkstoff empfindlich sind, erwerben Resistenzeigenschaften aufgrund eines Permeabilitätsrückganges der Bakterienzellmembran (Neu, 1989; Nikaido, 1994). Dieser kann zum einen auf einer reduzierten Expression der Gene für entsprechende Porine beruhen, die einigen Wirkstoffen als Eintrittspforte in das Bakterium dienen, zum anderen kann durch die Änderung der elektrischen Ladungen in der äußeren Zellmembran von einer negativen in eine elektrisch neutrale Form das Eindringen stark positiv geladener Wirkstoffe verhindert werden. Bei *Pseudomonas* spp. wird beispielsweise die Imipenemresistenz durch den Verlust spezifischer Porine der äußeren Membran, die Aminoglykosidresistenz dagegen durch eine Ladungsänderung der Lipopolysaccharide in der Zellmembran verursacht (Schwarz und Trolldenier, 2000). Die Makrolidresistenz bei gramnegativen Bakterien beruht auf der allgemein niedrigen Permeabilität der äußeren Bakterienzellmembran dieser Spezies für die entsprechenden Wirkstoffe (Nikaido, 1994).

2.2.3.2. Aktive Ausschleusung

Um der Einwirkung von Antibiotika zu entgehen, haben einige Bakterien Transportmechanismen entwickelt, mit deren Hilfe der Wirkstoff aktiv aus der Zelle ausgeschleust wird (Smith und Lewin, 1993; Nikaido, 1994). Zu unterscheiden sind membranständige Transportproteine, die sich durch ein relativ enges Substratspektrum auszeichnen und unspezifische Transportsysteme, sogenannte "Multidrug-Transporter", die in der Lage sind, eine große Anzahl strukturell unterschiedlicher Substanzen zu transportieren. Während die genetische Information für Transportproteine vorwiegend auf mobilen Elementen lokalisiert ist, sind die Gene für "Multidrug-Transporter" in der Regel auf Chromosomen nachzuweisen (Schwarz und Trolldenier, 2000). Effluxsysteme mit begrenztem Substratspektrum sind bei der Tetracyclinresistenz grampositiver und gramnegativer Bakterien (McMurry et al., 1980), bei der Makrolid- und Streptograminresistenz von *Staphylococcus* spp. (Eady et al., 1993) sowie bei der Chloramphenicol- und Fluorfenicolresistenz von *Pseudomonas* spp., *Rhodococcus* spp. und *Salmonella* spp. nachzuweisen (Schwarz und Trolldenier, 2000). Dagegen wird bei *Bacillus* sp. und *Staphylococcus* spp. die Chloramphenicol- und Fluorchinololonresistenz durch sogenannte 12-TMS "Multidrug-Effluxproteine" bedingt. Bei *Escherichia* sp. sind kleine 4-

TMS "Multidrug-Effluxproteine" zu finden, die eine Resistenz gegenüber Tetracyclinen und nukleinsäurebindenden Substanzen vermitteln (Levy, 1992; Nikaido, 1994).

2.2.4. Ausbildung eines alternativen Stoffwechselweges

Bei der Ausbildung eines alternativen Stoffwechselweges werden bakterielle Enzyme, die durch das Antibiotikum gehemmt werden, durch funktionell analoge, jedoch unempfindliche Strukturen ersetzt. Durch Sulfonamide und Trimethoprim werden enzymatische Schritte in der bakteriellen Folsäuresynthese blockiert. Sulfonamide bewirken als Strukturanaloga zur p-Aminobenzoesäure eine kompetitive Hemmung der Dihydropteroinsäure-Synthetase, und Trimethoprim hemmt ebenfalls kompetitiv die Dihydrofolat-Reduktase. Eine Resistenz gegenüber diesen Wirkstoffen wird durch den Ersatz der genannten Enzyme vermittelt. Von der Dihydropteroinsäure-Synthetase sind bei gramnegativen Bakterien zwei resistente Grundtypen bekannt, die durch die Gene *suII* beziehungsweise *suIII* kodiert werden (Wise und Abou-Donia, 1975; Radström und Swedberg, 1988). Dihydrofolat-Reduktasen, die durch die Gene *dhfrI-XII* und *dhfrA* kodiert werden, kommen sowohl bei *Enterobacteriaceae* als auch bei *Staphylococcus* spp. vor (Amyes und Towner, 1990). Der Ersatz dieser Enzyme bewirkt eine hochgradige Resistenz.

2.3. Methoden zur Bestimmung der Resistenz gegen antimikrobielle Wirkstoffe

Ziel der *in vitro*-Resistenzbestimmung ist es, das Ausmaß der Empfindlichkeit eines Erregers gegenüber einem Antibiotikum zu ermitteln. Als Verfahren stehen sowohl quantitative als auch qualitative Verfahren zur Verfügung.

2.3.1. Quantitative Verfahren

Bei der Anwendung quantitativer Empfindlichkeitsbestimmungsmethoden wird auf festen Nährböden oder in flüssigen Nährmedien das Wachstum eines Bakterienstammes in Anwesenheit unterschiedlicher Konzentrationen eines Antibiotikums geprüft (Stammel, 1984; Norpoth und Petersen, 1986; Linzenmeier, 1990; DIN 58940, 1992-1996; Wiedemann, 1998; AVID, 1999; NCCLS M 31-A2, 2002). Dabei ist die minimale Hemmkonzentration (MHK)

definiert als die niedrigste Konzentration des Antibiotikums, gemessen in mg/l, die zur kompletten Wachstumshemmung des Organismus führt und mit bloßem Auge abzulesen ist.

2.3.1.1. Agar-Dilutionstest

Bei der Agar-Dilution erfolgt die Testdurchführung auf festen Nährböden. Dazu werden Agarplatten mit abnehmenden Konzentrationen eines Antibiotikums vorbereitet und mit einer geeigneten, standardisierten Suspension des Testorganismus beimpft und inkubiert. Die minimale Hemmkonzentration entspricht der Konzentration, bei der auf der entsprechenden Agarplatte das Keimwachstum gehemmt wird.

2.3.1.2. Bouillon-Dilutionstest

Als Verfahren im Flüssigmedium werden der Makro- und der Mikro-Bouillondilutionstest eingesetzt. Bei der Makro-Bouillondilution wird eine Nährbouillon mit unterschiedlichen Konzentrationen eines antimikrobiellen Wirkstoffes in Reagenzröhrchen verwendet. Dagegen kommen bei der Mikro-Bouillondilution vorbereitete Mikrotiterplatten zur Anwendung, in deren Vertiefungen unterschiedliche Konzentrationen der zu prüfenden Antibiotika in lyophilisierter Form enthalten sind. Zur Sensitivitätsbestimmung erfolgt die Beimpfung und Inkubation der Reagenzröhrchen beziehungsweise der Vertiefungen der Mikrotiterplatten mit einer geeigneten, standardisierten Suspension des Testorganismus. Die minimale Hemmkonzentration entspricht der Konzentration des Antibiotikums, die geeignet ist, sichtbares Wachstum zu unterbinden. Der Vorteil der Empfindlichkeitsbestimmung anhand quantitativer Verfahren besteht in der Möglichkeit, Trends in der Empfindlichkeit unterschiedlicher Erregerpopulationen über eine Zeitspanne beobachten und auch minimale Veränderungen frühzeitig feststellen zu können (Gould, 2000). Die quantitativen Verfahren bieten eine gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse, wenn standardisierte Methoden verwendet werden, die Vorgaben zu Parametern wie Nährmedien und Inokulumdichte enthalten (Jorgensen und Ferraro, 1998). Werden jedoch die Testbedingungen abweichend von standardisierten Methoden verändert, kann die Empfindlichkeitstestung einer Bakterienspezies gegen einige Antibiotika nahezu jeden beliebigen Wert ergeben (Medeiros et al., 1971; Kenny et al., 1980; Mühlenberg, 1985).

2.3.2. Qualitative Verfahren

2.3.2.1. Agar-Diffusionstest

Beim Agar-Diffusionstest werden auf eine mit dem zu testenden Bakterienstamm beimpfte Agarplatte antibiotikahaltige Papierplättchen aufgelegt. Während der Inkubation kommt es zu einer radiären Diffusion des Antibiotikums in den Nähragar. Sensible Stämme werden in ihrem Wachstum gehemmt, so dass um die Antibiotikaplättchen ein Hemmhof unterschiedlicher Größe entsteht (Norpoth und Petersen, 1986; DIN 58940, 1992-1996; AVID, 1999; Simon und Stille, 2000; NCCLS M 31-A2, 2002). Eine Aussage über die Empfindlichkeit von Bakterien ergibt sich auf der Basis des jeweiligen Hemmhofdurchmessers. Für die Interpretation der Ergebnisse sind Hemmhof-Grenzdurchmesser erforderlich, die von den Testplättchenherstellern mitgeteilt werden. Über einen statistischen Vergleich können von den Hemmhofdurchmessern minimale Hemmkonzentrationen abgeleitet werden (Waitz, 1973; Metzler und DeHaan, 1974; Grimm, 1976; Grimm, 1978; D'Amato et al., 1985). Es ist beschrieben, dass bei guter Korrelation von Hemmhofdurchmessern und minimalen Hemmkonzentrationen ($r > 0,85$) diese mit Hilfe der in der DIN 58940 Teil 9 (1996) beschriebenen Regressionsanalyse in Relation gebracht werden können.

Die Anwendbarkeit des Agar-Diffusionstestes beschränkt sich jedoch auf anspruchslose, schnell wachsende Mikroorganismen, da bei der Testung langsam wachsender, anspruchsvoller Keime die Wirkstoffaktivität durch die Inkubationsatmosphäre, die verlängerte Inkubation und durch notwendige Nährstoffsupplemente unterschiedlich beeinflusst wird und damit eine Ermittlung verlässlicher Ergebnisse nicht möglich ist (Acar, 1991). Jedoch wird auch bei der Empfindlichkeitsbestimmung anspruchsloser, schnell wachsender Keime das Messergebnis durch Parameter wie verwendete Nährmedien, den pH-Wert, die Schichtdicke des Nähragars und das verwendete Keiminokulum derart beeinflusst, dass auch unter Verwendung standardisierter Methoden nur in geringem Maße reproduzierbare und vergleichbare Ergebnisse erzielt werden (Hedges, 1999; Witte und Klare, 1999). Beispielsweise ergab eine von der Paul-Ehrlich-Gesellschaft durchgeführte Studie zur Reproduzierbarkeit und Vergleichbarkeit von Messergebnissen in unterschiedlichen Laboren für die Hemmhofdurchmesser bei gleichen Bakterienstämmen eine Streubreite von 0-36 mm zwischen den teilnehmenden Instituten (Wiedemann et al., 1983). Als Testmethode im

Rahmen von Monitoringstudien ist der Agar-Diffusionstest ungeeignet, da keine quantitativen Daten erhoben werden können (Altreuther et al., 1997; White et al., 2001).

2.3.2.2. Epsilon-Test (E-Test)

Der E-Test stellt eine Kombination aus Dilutionstest und Agar-Diffusionstest dar (Bolmström et al., 1988). Er besteht aus einem 0,5 x 5 cm großen Teststreifen, auf dessen Unterseite ein Antibiotikum in abnehmender Konzentration aufgebracht ist. Auf der Oberseite ist eine Skala mit minimalen Hemmkonzentrationen abgedruckt. Analog zum Diffusionstest diffundiert das Antibiotikum beim Auflegen des Streifens auf eine Agarplatte in kurzer Zeit (ca. 30 Minuten) auf die Oberfläche der beimpften Platte. Nach der Inkubation entsteht ein ellipsoider Hemmhof, der je nach Empfindlichkeit des zu prüfenden Bakterienstammes bei der entsprechenden Antibiotikakonzentration eine Schnittstelle mit dem Teststreifen bildet. An dieser Stelle wird die minimale Hemmkonzentration auf der Skala abgelesen (Jorgensen et al., 1991). Neben einer guten Reproduzierbarkeit, auch bei nicht optimaler Standardisierung kritischer Parameter wie den verwendeten Nährmedien und Inokulumdichten, konnten Brown und Brown (1991) sowie Jorgensen et al. (1991) eine gute Korrelation zwischen den ermittelten minimalen Hemmkonzentrationen des E-Testes und klassischer Dilutionsverfahren feststellen. Zudem können mit dem E-Test auch langsam wachsende, anspruchsvolle Keime zuverlässig getestet werden.

2.3.3. Qualitätssicherung

Die Ergebnisse der Empfindlichkeitsbestimmung werden durch verschiedene Einflussfaktoren des angewendeten Verfahrens wie Prädifusionszeit, Inokulumdichte und Wachstumsphase des Bakteriums beeinflusst (Greenwood et al., 1986; Hayward, 1986; Smith et al., 1988; Liebers et al., 1989; Collignon und Turnidge, 1999). Nicht selten unterscheiden sich die Ergebnisse gleicher Bakterienspezies bei einer Reihe von Antibiotika in Abhängigkeit der gewählten Methode (Kibsey et al., 1994). Um reproduzierbare und vergleichbare Ergebnisse innerhalb eines Labores und zwischen verschiedenen Laboren zu erzielen, ist eine Methodenstandardisierung notwendig (Sahm und Tenover, 1997; Bywater, 2000; Gould, 2000; Acar und Röstel, 2001; Stock et al., 2001; White et al., 2001). Die Effekte der Empfindlichkeitsbestimmung und Interpretation der Ergebnisse auf der Grundlage unterschiedlicher Normen konnten Simpson et al. (1998) für *E. coli* gegenüber Augmentin

nachweisen. Unter Anwendung der Vorgaben des National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) wurden 86,5 % der 185 untersuchten Stämme als sensibel und 4,3 % als resistent eingestuft. Die Testung entsprechend den Angaben des Deutschen Institutes für Normung (DIN) ergab dagegen einen Anteil sensibler Stämme von 43,8 % und resistenter Stämme von 21,1 %.

Angaben zu den Referenzmethoden für die Empfindlichkeitsbestimmung sind in verschiedenen Normen zu finden: Deutsches Institut für Normung e. V. (DIN 58940, 1992-1996), Arbeitskreis für veterinärmedizinische Infektionsdiagnostik im Arbeitsgebiet "Mikrobiologie, Parasitologie und Hygiene" der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (AVID, 1999), National Committee for Clinical Laboratory Standards, USA (NCCLS, 2002), British Society for Antimicrobial Chemotherapy (BSAC, 1988), Societe Francais de Microbiologie (SFM, 1993), Swedish Reference Group for Antibiotics (SRG, 1981), Werkgroep Richtlijnen Gevoeligheidsbepalingen (WRG, 1981), Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme (DANMAP, 2000) und International Collaborative Study (Ericsson und Sherris, 1971).

Das Ziel der Qualitätskontrolle ist es, die Präzision und Genauigkeit der Empfindlichkeitsprüfung, die Leistung der Reagenzien, die Lebensfähigkeit der getesteten Mikroorganismen sowie die Leistungsfähigkeit des Laborpersonals zu überprüfen. Die Qualität der Ergebnisse kann unter anderem durch das Mitführen von Referenzstämmen beurteilt werden, die sich aufgrund ihrer genetischen Spezifität und Stabilität zur Kontrolle spezieller Methoden eignen (Linzenmeier, 1990). Zusätzlich sollten für jeden Test Wachstums- und Reinheitskontrollen durchgeführt werden. Die Dichte des verwendeten Inokulums ist in regelmäßigen Abständen durch Keimzahlbestimmungen zu überprüfen. Für die quantitativen Verfahren ist außerdem die Endpunktinterpretation durch das Laborpersonal anhand des Vergleiches der Ergebnisse unterschiedlicher Ableser periodisch zu überwachen.

2.3.4. Interpretation der Daten der Empfindlichkeitstestung

Ziel der *in vitro*-Empfindlichkeitsprüfung ist die Zuordnung des geprüften Keimes in eine der drei Kategorien "sensibel", "intermediär" oder "resistent", welche in Relation zu festgelegten Grenzkonzentrationen (Breakpoints) erfolgt (Altreuther et al., 1997; Hamilton-Miller, 1997; Caprioli et al., 2000).

2.3.5. Grenzwert

2.3.5.1. Klinischer Grenzwert

Klinische Grenzwerte orientieren sich am jeweils möglichen Therapieerfolg und beziehen sich auf die im Körper zu erreichenden Blutserumkonzentrationen. Dabei wird vorausgesetzt, dass die durchschnittlichen Serumkonzentrationen in der Mitte des Applikationsintervalles ein Maß für die therapeutische Konzentration im Serum und im Gewebe darstellen (Kresken und Wiedemann, 1990). Erreger werden als sensibel eingestuft, wenn die *in vitro* ermittelte minimale Hemmkonzentration so niedrig ist, dass mit der üblichen Dosierung Blutserumspiegel oberhalb dieser Konzentration erreicht werden können und damit ein Therapieerfolg zu erwarten ist. Liegt bei Verwendung der zugelassenen Höchstdosierung der zu erreichende Blutserumspiegel unterhalb der *in vitro* ermittelten minimalen Hemmkonzentration, so ist der Erreger als resistent einzustufen. Als intermediär werden Erreger bezeichnet, wenn bei einer Dosiserhöhung oder der Verwendung eines Antibiotikums, welches sich am Wirkort anreichert, ein Therapieerfolg zu erwarten ist (Linzenmeier, 1990).

2.3.5.2. Biologischer Grenzwert

Die Festlegung biologischer oder natürlicher Grenzwerte erfolgt ausschließlich anhand der MHK-Verteilung in einer Erregerpopulation. Wird diese graphisch dargestellt, ergibt sich zumeist das Bild einer bimodalen Verteilung (Stock et al., 2001). Dabei sind die biologisch sensiblen Isolate in einem Bereich niedriger minimaler Hemmkonzentrationen unter einem Peak zusammengefasst. Mikroorganismen, die durch den Erwerb genetisch fixierter Determinanten eine verminderte Empfindlichkeit gegenüber dem getesteten Antibiotikum aufweisen, sind im Bereich höherer minimaler Hemmkonzentrationen ebenfalls unter einem Peak zusammengefasst. Die Festlegung des biologischen Grenzwertes erfolgt im Bereich der minimalen Hemmkonzentration, die beide Populationen voneinander trennt (Kresken und Hafner, 2002). Zeigen Erregerpopulationen überlappende Verteilungen, wie es beispielsweise bei der MHK-Verteilung von *E. coli* gegenüber Streptomycin der Fall ist, ist eine Festlegung des biologischen Grenzwertes nicht möglich. Die überlappende Verteilung lässt sich unter anderem durch die unterschiedliche, zum Teil sehr schwache Aktivität der durch Resistenzplasmide kodierte Enzyme erklären (Wiedemann und Weppelmann, 1981). Anhand der MHK-Verteilung in bestimmten Erregerpopulationen können zum einen diejenigen

Substanzen ermittelt werden, deren zu erreichende Blutserumspiegel unterhalb des natürlichen Grenzwertes liegen und die somit für den klinischen Einsatz ungeeignet sind (Stock und Wiedemann, 1998), zum anderen können mit Hilfe der biologischen Grenzwerte epidemiologische Untersuchungen zur Ausbreitung von Resistenzgenen erfolgen, da sich Veränderungen im Empfindlichkeitsmuster einer Population in der Verschiebung gegenüber dem biologischen Grenzwert manifestieren (Kresken und Wiedemann, 1990). So kann beispielsweise die Ceftazidimresistenz von *E. coli*, die zum einen durch Mutationen im chromosomalen Resistenzgen, zum anderen durch die Ausprägung der β -Lactamase SHV-2 verursacht wird, unter Zugrundelegung des biologischen, nicht aber des klinischen Grenzwertes erkannt werden, da in dem beschriebenen Fall auch biologisch resistente Erreger minimale Hemmkonzentrationen unterhalb des klinischen Grenzwertes aufweisen (Bergström und Normark, 1979; Kliebe et al., 1985).

2.3.6. Festlegung von Grenzwerten und Übertragbarkeit der Ergebnisse

Um die Sensitivität eines Bakteriums *in vivo* richtig einschätzen zu können, muss die Festlegung von Grenzwerten anhand gut definierter Kriterien erfolgen (Altreuther et al., 1997). Idealerweise sind die MHK-Verteilung verschiedener Bakterienspezies gegenüber dem Antibiotikum, die Pharmakokinetik der Substanz und Ergebnisse klinischer Studien zu berücksichtigen (Baquero, 1990; Witte und Klare, 1999; Bywater, 2000). Eine Verwendung humanspezifischer Grenzkonzentrationen für veterinärmedizinische Fragestellungen erscheint nicht sinnvoll, da signifikante, zum Teil sogar tierartspezifische Unterschiede bezüglich Bioverfügbarkeit, Pharmakokinetik und Plasmaproteinbindung bestimmter Wirkstoffe sowie Dosierungsunterschiede, Applikationsarten, spezifische Erregerspektren, Infektlokalisationen und Pathogenesemechanismen bestehen (Altreuther et al., 1997; Bywater, 2000; Caprioli et al., 2000). Da weltweit kein Konsens über die Festlegung von Grenzwerten besteht, ist ein internationaler Vergleich ermittelter Daten nur unter Verwendung vergleichbarer Grenzwerte zulässig. Eine Standardisierung und Harmonisierung wird von internationalen Organisationen angestrebt (Baquero, 1990; White et al., 2001).

Die Übertragung der *in vitro* ermittelten Ergebnisse der Empfindlichkeitstestung auf den Organismus ist grundsätzlich unter Beachtung einiger Einschränkungen möglich. Während *in vitro* eine relativ geringe und exakt definierte Anzahl an Bakterien einer konstanten Menge an Antibiotikum unter standardisierten Prüfbedingungen ausgesetzt ist, variieren im Körper

sowohl die Bakterienanzahl und die Antibiotikakonzentration als auch andere Parameter wie pH-Wert, Sauerstoffpartialdruck und die körpereigene Immunabwehr (Greenwood, 1981; Blaser, 1995; Keil und Wiedemann, 1995). Die MHK-Endpunktbestimmung wird damit in ihrer Definition weder der Wirkungsweise bakterizid wirkender Antibiotika noch der Zeitabhängigkeit bei der Wirkung bakterizider und bakteriostatischer Antibiotika gerecht (Dallhoff, 1990). Trotz dieser Einflussfaktoren konnten Lorian und Burns (1990) und Craig (1993) die klinische Relevanz der *in vitro*-Empfindlichkeitstestung in der Humanmedizin nachweisen.

2.4. Anwendung antimikrobieller Wirkstoffe bei Tieren

2.4.1. Allgemeine Bedeutung von Antibiotika

Die Bedeutung der Antibiotika liegt in ihrer Fähigkeit, empfindliche Bakterien in ihrem Wachstum zu hemmen beziehungsweise abzutöten und damit eine Bekämpfung bakterieller Infektionskrankheiten zu ermöglichen (O'Brien, 1997). Mit der Entdeckung des Penicillin G durch Fleming 1929 (Fleming, 1929) begann somit einer der wichtigsten Fortschritte der Medizin (Helmuth, 1989). In den Industrieländern wurde dadurch die Grundlage für eine drastische Reduzierung der Häufigkeit bedeutender Infektionskrankheiten wie beispielsweise bei der Säuglingssterblichkeit, der Meningitis, der Tuberkulose sowie der Pest und Cholera geschaffen (Teuber, 2000). Die Möglichkeit, eine Vielzahl von Infektionskrankheiten beherrschen zu können, wird jedoch durch das Auftreten von Resistenzen eingeschränkt (Heilig et al., 2002). Dies führt zu einer teilweise nicht unerheblichen Gefährdung der Gesundheit des Menschen und der Tiere (Holmberg et al., 1984; Font et al., 1997; Khachatourians, 1998; Bower und Daeschel, 1999; Schwarz und Werckenthin, 2001).

2.4.2. Einsatz antimikrobieller Wirkstoffe

Antibiotika werden bei Haus- und Nutztieren einerseits als Therapeutika, andererseits als Futterzusatzstoffe eingesetzt. Als Therapeutika dienen sie zur Prophylaxe, Methaphylaxe oder zur Therapie bakterieller Infektionserkrankungen, während Leistungsförderer mit dem Ziel der Mastleistungssteigerung in Kälber-, Rinder-, Geflügel- und Schweinemastbeständen eingesetzt werden (Aarestrup und Wegener, 1999; Mevius et al., 1999; Schwarz und Werckenthin, 2001; Smith et al., 2002). Der therapeutische Antibiotikaeinsatz ist definiert als

die Behandlung von Tieren, die Symptome einer durch bakterielle Erreger verursachten Infektionskrankheit zeigen (Ungemach, 1999; Schwarz und Werckenthin, 2001). Bei der prophylaktischen Anwendung dagegen werden Antibiotika verabreicht, um einer bakteriellen Infektion vorzubeugen. Beispiele hierfür sind die Verwendung eines Antibiotikums beim "Trockenstellen" von Kühen, postoperative Antibiotikabehandlungen und der Einsatz sogenannter Einstallprophylaxen bei neu eingestellten sowie aus verschiedenen Beständen zusammengestellten Tieren. Als Metaphylaxe wird die Verwendung von Antibiotika in Tiergruppen bezeichnet, die sowohl aus bereits erkrankten als auch aus noch gesunden Tieren bestehen (Helmuth, 1999; MacKinnon und McMullin, 2001). Durch diesen Antibiotikaeinsatz sollen Tierverluste gemindert und die Kosten für einen späteren therapeutischen Einsatz von Antibiotika reduziert werden (Schwarz und Werckenthin, 2001).

2.4.3. Leistungsförderer

Leistungsförderer sind Antibiotika, die als Ernährungsfaktoren dem Futter in geringen Dosen zugefügt werden. Die eingesetzte Menge entspricht dabei etwa einem Hundertstel der entsprechenden therapeutischen Dosis. Das Ziel des Einsatzes von Leistungsförderern in der Tiermast ist vor allem in einem wirtschaftlichen Nutzen zu sehen (Beutin, 1981), der durch eine Verbesserung der Leistung aufgrund höherer Gewichtszunahmen bei gleichzeitig geringerem Futteraufwand für den Zuwachs hervorgerufen wird (Kamphues, 1999; van den Bogaard und Stobberingh, 2000). Durch die verringerte Anfälligkeit der Tiere für Verdauungsstörungen soll zudem der Antibiotikaeinsatz zu pro- und metaphylaktischen sowie therapeutischen Zwecken vermindert werden. Die von Best (1996) beschriebenen Erfahrungen aus Schweden belegen die protektive Wirkung der Leistungsförderer. Nach deren Verbot war dort vor allem in Schweinebeständen zunächst ein gehäuftes Auftreten von Durchfallerkrankungen zu beobachten.

Diesen positiven Effekten der Leistungsförderer steht jedoch das Potential zur Resistenzentwicklung gegenüber (Beutin, 1981; Khachatourians, 1998; Mevius et al., 1999; Threlfall et al., 2000; van den Bogaard und Stobberingh, 2000; Smith et al., 2002). Linton et al. (1985) zeigten, dass durch den Einsatz von Tylosin und Bacitracin als Leistungsförderer in Schweine- und Geflügelbeständen der Anteil der gegen diese Antibiotika resistenten *Enterococcus* spp. aus Kotproben behandelter Tiere signifikant anstieg. Beim Einsatz von Virginiamycin konnte dagegen keine Resistenzzunahme bei *Enterococcus* spp. festgestellt

werden. Anhand der Ergebnisse von Bates et al. (1994) und van den Bogaard et al. (1997d) wurde zudem die Selektion Vankomycin-resistenter *Enterococcus* spp. aufgrund des Einsatzes von Avoparcin zur Leistungsförderung gezeigt. Von der Vielzahl der bis 1997 als Futterzusatzstoffe verwendeten Antibiotika sind derzeit nur noch vier Substanzen (Flavophospholipol, Monensin-Natrium, Salinomycin-Natrium, Avilamycin) zugelassen. Für alle anderen Wirkstoffe erfolgte 1997 (Avoparcin) bzw. 1999 (Virginiamycin, Tylosin, Bacitracin, Spiramycin) ein Verbot der Anwendung als Futterzusatzstoff beziehungsweise der Widerruf der Zulassung (Teale, 2002). Primäre Gründe hierfür waren toxikologische Bedenken, die Fähigkeit zur Ausbildung von Kreuzresistenzen zu therapeutisch wichtigen Antibiotika sowie im Falle von Zink-Bacitracin die Sicherung der Substanz als Reserveantibiotikum für die Humanmedizin (Schwarz und Werckenthin, 2001).

2.4.4. Verfügbarkeit und Verbrauch von Antibiotika

Für die Anwendung bei landwirtschaftlichen Nutztieren, Haus- und Heimtieren sind in Deutschland derzeit etwa 1000 Tierarzneimittel mit antimikrobieller Wirkung zugelassen, die insgesamt ca. fünfundvierzig Wirkstoffe beziehungsweise Wirkstoffgruppen repräsentieren (Trolldenier und Kroker, 1998). In der Human- und Veterinärmedizin werden im Wesentlichen Vertreter der gleichen Wirkstoffgruppen eingesetzt, wobei im veterinärmedizinischen Bereich aus Kostengründen oft den älteren Wirkstoffen der Vorzug gegeben wird (Ungemach, 1999; Wagner und Hahn, 1999). Aussagekräftige Verbrauchszahlen für antimikrobielle Wirkstoffe in der Europäischen Union (EU) liegen nur sehr begrenzt vor, da Daten systematisch bisher nur in den skandinavischen Ländern und Dänemark gesammelt werden. Einige weitere Daten wurden von der International Federation for Animal Health (IFAH) auf Anfrage der EU-Kommission zusammengestellt (Ungemach, 2000). Demnach wurden im Jahr 1999 in der EU insgesamt 13216 t aktiver Substanzen eingesetzt, davon 8528 t (64,5 %) in der Humanmedizin, 3902 t (29,5 %) in der Veterinärmedizin und 786 t (6 %) als Leistungsförderer. Die absoluten Verbrauchszahlen, aber auch die Zahlen bezogen auf das einzelne Individuum bzw. auf die Körpermasse lassen auf einen höheren Antibiotikaverbrauch in der Humanmedizin schließen (Schwarz und Werckenthin, 2001).

2.4.5. Einfluß des Einsatzes antimikrobieller Wirkstoffe in der Tierhaltung auf die Resistenzentstehung und -ausbreitung

Voraussetzung für die Erkennung und Beurteilung epidemiologischer Zusammenhänge bezüglich der Resistenzentstehung und -ausbreitung ist die Kenntnis der Resistenzsituation und -entwicklung sowohl bei Zooanthroponose-Erregern und Kommensalen als auch bei primär human- und tierpathogenen Erregern (Mevius et al., 1999; van den Bogaard und Stobberingh, 2000).

Dass jede Anwendung antimikrobieller Wirkstoffe die Gefahr der Entwicklung resistenter Bakterien birgt, ist allgemein anerkannt. Weitgehend unbekannt ist jedoch bisher, in welchem Maß der Antibiotikaeinsatz in der Veterinärmedizin zur Entstehung resistenter Bakterien beiträgt (Helmuth, 1989; Salyers und Amabile-Cuevas, 1997; Mevius et al., 1999; van den Bogaard und Stobberingh, 2000; Heilig et al., 2002; Marre et al., 2002; Teale, 2002). Für die Resistenzentstehung bei humanpathogenen Erregern wird in erster Linie der Antibiotikaeinsatz in der Humanmedizin verantwortlich gemacht. Die Resistenzentstehung bei Zooanthroponose-Erregern und Kommensalen wird dagegen auf den Antibiotikaeinsatz sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin zurückgeführt (Witte, 1998; Aarestrup und Wegener, 1999). Für eine Resistenzzunahme bei tierpathogenen Erregern ist in der Regel die Anwendung von Antibiotika in der Tierhaltung entscheidend. Es wird angenommen, dass ein enger Zusammenhang zwischen der eingesetzten Antibiotikamenge und der Entstehung von Resistenzen besteht (Smith, 1967; McGowan, 1983; Teale, 2002). Bei der Suche nach den Ursachen für die hohen Resistenzraten bei Pneumokokken in Spanien stellte Baquero (1996) fest, dass ein ursächlicher Zusammenhang mit einem hohen Antibiotika-pro-Kopf-Verbrauch nicht auszuschließen ist. Er zeigte, dass in Ländern mit Penicillinresistenzen zwischen 20 und 50 % bei Pneumokokken (Dowsen et al., 1994) der Verbrauch im humanmedizinischen Bereich deutlich höher lag als in Deutschland, wo die Häufigkeit resistenter Pneumokokken mit 2 % (Felmingham et al., 1999) bemerkenswert geringer ist.

2.4.5.1. Zooanthroponose-Erreger

Als Zooanthroponose-Erreger werden Bakterien bezeichnet, die sowohl beim Tier als auch beim Menschen eine Infektion hervorrufen. Wichtige Erreger dieser Gruppe sind zum

Beispiel *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *E. coli*, *Yersinia* spp., *Clostridia* spp. und *Listeria* spp. (Aarestrup und Wegener, 1999). Neben der direkten Übertragung dieser Bakterien findet eine Infektion des Menschen vor allem über kontaminiertes Trinkwasser und/oder verunreinigte Lebensmittel statt.

Die meisten Daten zur Resistenzausprägung und –entwicklung sowie deren Verbreitung liegen für *Salmonella* spp. vor, da diese in vielen Ländern im Rahmen von Überwachungsprogrammen gesammelt worden sind. Dass eine Übertragung der Zooanthroponose-Erreger vom Tier auf den Menschen stattfindet, lässt sich am Beispiel des Nachweises von *Salmonella (S.) enteritidis*-Isolaten belegen. Aufgrund der weiten Verbreitung des Serovars in Geflügelbeständen wird aus den meisten durch *Salmonella* spp. hervorgerufenen Infektionen des Menschen ebenfalls dieses Serovar isoliert. Da jedoch eine *S. enteritidis*-Infektion beim Tier in der Regel keine Symptome hervorruft, wird der Erreger selten mit Antibiotika bekämpft und ist somit gegen die meisten Wirkstoffe empfindlich (van den Boogard und Stobberingh, 2000). Neben Infektionen mit *S. enteritidis* treten jedoch sporadisch beim Tier auch durch *S. typhimurium* hervorgerufene Infektionen auf, die zum Teil schwere Erkrankungen hervorrufen. Da entsprechend infizierte Tiere antibiotisch behandelt werden, besitzen diese Stämme zum Teil ein umfangreiches Resistenzmuster. Bisher konnten bei allen Ausbrüchen gleiche Phagentypen mit identischen Resistenzprofilen sowohl bei infizierten Tieren als auch beim Menschen nachgewiesen werden (Cherubin, 1984). Seit 1994 werden Ausbrüche vor allem durch den Phagentyp *S. typhimurium* DT 104 beobachtet. Die untersuchten Bakterienstämme weisen häufig unabhängig von ihrer Herkunft aus dem Human- oder Veterinärbereich Resistenzen gegen Ampicillin, Tetracyclin, Streptomycin, Chloramphenicol und Sulfonamide auf, die insgesamt chromosomal lokalisiert sind (Ridley und Threllfall, 1998; Witte, 1998). Der Ursprung des beschriebenen Phagentyps DT 104 ist bisher nicht genau bekannt, jedoch weist das Ampicillinresistenzgen *bla*-PSE-1 Ähnlichkeiten zu einem bei *Pseudomonas (P.) aeruginosa* nachgewiesenen Carbenicillinresistenzgen auf, wobei eine Nutzung von Carbenicillin in der Tierproduktion bisher jedoch nicht bekannt ist. Zwei weitere Resistenzgene, die die Tetracyclin- und Chloramphenicolresistenz kodieren, sind denen bei einigen Fischpathogenen sehr ähnlich. Diese Feststellung führte zu der Annahme, dass auch die in der Aquakultur eingesetzten Antibiotika zur Resistenzentwicklung beitragen (Chaslus-Dancla et al., 2000). Zusätzlich werden bei *S. typhimurium* DT 104 in neuerer Zeit auch Resistenzen gegen Trimethoprim und Fluorchinolone nachgewiesen, deren Entstehungsursache im Einsatz dieser Antibiotika auch zur Bekämpfung von Salmonellen

vor allem in der Tierhaltung gesehen wird (Angulo, 1997; Wray, 1997). Dass der Ursprung resistenter Salmonellen, die Infektionen beim Menschen hervorrufen, unter anderem in der Tierhaltung liegt, konnte durch einen neuerlichen Infektionsausbruch beim Menschen in Dänemark gezeigt werden. Dort erkrankten fünfundzwanzig Menschen an einer Infektion mit einem *S. typhimurium* DT 104 Phagentyp, dessen Ursprung aufgrund einer seltenen Mutation des Gyrasegenes eindeutig auf einen Schweinemastbestand zurückgeführt werden konnte (Molbak et al., 1999).

Auch anhand der Resistenzsituation bei *Campylobacter* spp., deren Reservoir für Infektionen des Menschen vor allem die Geflügelhaltung darstellt, kann die Auswirkung des Antibiotikaeinsatzes auf die Resistenzentstehung und eine mögliche Übertragung auf den Menschen belegt werden. Eine von Jacobs-Reitsma et al. (1994) durchgeführte Studie zum Einfluß der Enrofloxacintherapie auf die Resistenzentwicklung von *Campylobacter (C.) jejuni* zeigte, dass in Geflügelbeständen, in denen zuvor nur Enrofloxacin-empfindliche Erreger isoliert werden konnten, nach der Antibiotikatherapie ein Anstieg resistenter Bakterien festzustellen war. Auch in Großbritannien konnte nach der Zulassung von Enrofloxacin 1993 ein Anstieg Fluorchinolon-resistenter *C. jejuni* festgestellt werden. Betrugen die Resistenzquoten im Jahr 1993 noch um 1 % (Gaunt und Piddock, 1996), konnte bis 1997 ein Anstieg auf ca. 10 % verzeichnet werden (van den Bogaard und Stobberingh, 2000). Endtz et al. (1991) stellten fest, dass in den Niederlanden nach der Zulassung von Fluorchinolonen für die Therapie beim Geflügel ein Anstieg der durch Fluorchinolon-resistente *C. jejuni* verursachten Infektionen auch beim Menschen zu verzeichnen war. Gleiche Entwicklungen waren sowohl in Spanien (Sanchez et al., 1994) als auch in den USA (Smith et al., 1988) zu beobachten. Dies weist auf einen Zusammenhang zwischen einem Antibiotikaeinsatz und einer Resistenzzunahme hin. Ein Anstieg der Fluorchinolonresistenz bei Bakterien ist auch deshalb bedenklich, weil neben Makroliden diese - vor allem in den USA - in der Humanmedizin zur Behandlung von durch *Campylobacter* spp. hervorgerufenen Infektionen eingesetzt werden (Aarestrup und Wegener, 1999; Heilig et al., 2002).

Neben *Salmonella* spp. und *Campylobacter* spp. ist auch *E. coli* als Zooanthroponose-Erreger für Erkrankungen sowohl beim Tier als auch beim Menschen verantwortlich. Die auftretenden Erkrankungsbilder werden durch verschiedene, teils wirtsspezifische Serotypen hervorgerufen. Daneben kommen auch apathogene Serotypen vor, die als Kommensalen den Intestinaltrakt von Tier und Mensch besiedeln (Aarestrup und Wegener, 1999).

Untersuchungen zum Resistenzverhalten von *E. coli* O157:H7 haben gezeigt, dass die Verabreichung von Penicillin, Sulfamethazin, Chlor- und Oxytetracyclin sowie Neomycin in subtherapeutischen Dosen wie auch die Anwendung von Sulfamethazin in therapeutischen Dosen zur Bekämpfung von Durchfallerkrankungen zu einem Resistenzanstieg bei dem genannten Serotyp geführt haben (Shere et al., 1998). Anhand des Resistenzverhaltens von *E. coli*, *Salmonella* spp. und *Klebsiella* spp. wurden weiterhin die Co-Selektion der Resistenz gegen Apramycin, einem ausschließlich in der Veterinärmedizin eingesetzten Antibiotikum, und Gentamicin, welches sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin Verwendung findet, gezeigt und auch eine mögliche Übertragung auf den Menschen belegt. Nach der Einführung 1980 von Apramycin in der Veterinärmedizin in Frankreich konnten im Jahr 1984 bei *E. coli*-Isolaten von an Durchfall erkrankten Kälbern Resistenzen sowohl gegen Apramycin als auch gegen Gentamicin nachgewiesen werden. 1985 wurde auch für *S. typhimurium*-Isolate diese Resistenzkombination beschrieben und Chaslus-Dancla et al. (1986) berichteten, dass es sich um eine plasmidkodierte Resistenz handelt, die durch die Expression des Enzyms Aminoglykosid-Acetyltransferase AAC(3)IV vermittelt wird. Von 1985-1988 konnten in belgischen Krankenhäusern ebenfalls *E. coli*, *Salmonella* spp. und *Klebsiella* spp. mit Resistenzen gegen Apramycin und Gentamicin gefunden werden, deren genetischer Kode für die AAC(3)IV Aminoglykosid-Acetyltransferase ein hohes Maß an Homologien zu den von Tieren isolierten Erregern aufwies (Chaslus-Dancla et al., 1989). Hunter et al. (1992) zeigten zudem in Experimenten, dass eine Übertragung des Resistenzplasmids von *E. coli* auf *S. thyphimurium* möglich ist. Unklar blieb jedoch, ob die Verbreitung der Resistenz vorwiegend durch den Apramycineinsatz in der Veterinärmedizin oder durch den Gentamicineinsatz in der Humanmedizin verursacht wurde. Hinweise darauf, dass eine Verbreitung auf die Nutzung in der Veterinärmedizin zurückzuführen ist, geben die Inzidenzen des Resistenzplasmids in Human- und Tierpopulationen sowie das seltene Vorkommen der AAC(3)IV Aminoglykosid-Acetyltransferase bei anderen Enterobacteriaceae humaner Herkunft. Auch die Entdeckung, dass auf dem Plasmid zusätzlich eine durch das *hphB* Gen codierte Resistenz gegen Hygromycin B vorkommt, welches in der Tiermedizin unter anderem als Anthelmintikum, nicht aber in der Humanmedizin eingesetzt wird, deutet auf eine Resistenzausbreitung aufgrund des tiermedizinischen Antibiotikaeinsatzes hin (Salauze et al., 1990).

2.4.5.2. Kommensalen

Durch den Antibiotikaeinsatz wird auch die körpereigene, nichtpathogene Bakterienflora beeinflusst. Die Kommensalen stellen damit zum einen ein Reservoir für eine Vielzahl an Resistenzdeterminanten dar, zum anderen dienen sie als Indikatoren für den auf das jeweilige polymikrobielle Umfeld wirkenden Selektionsdruck (Murray, 1992) und für die Resistenzquoten, die durch Weitergabe resistenzdeterminierender Gene an pathogene Mikroorganismen bei diesen zu erwarten sind (Lester et al., 1990).

Die Kommensalen, die die natürliche Darmflora der Tiere repräsentieren, werden mit dem Kot ausgeschieden und können in erster Linie über kontaminierte Lebensmittel auf den Menschen übertragen werden. Anhand der Untersuchung typischer Indikatorbakterien wie *E. coli* und *Enterococcus* spp. aus unterschiedlichen Mensch- und Tierpopulationen können Aussagen über möglicherweise zu erwartende Resistenzquoten gemacht und Übertragungswege vom Tier auf den Menschen und vice versa aufgezeigt werden. Dass die über die Nahrung aufgenommenen Keime die Resistenzraten der mit dem Stuhl ausgeschiedenen Indikatorbakterien beeinflussen, zeigt die Untersuchung von Corpet (1988). Er wies nach, dass die Resistenzquoten von *E. coli* aus Stuhlproben von Menschen, die sich ausschließlich von sterilisierter Nahrung ernährten, wesentlich niedriger lagen als bei solchen, die sich normal ernährten.

Auch die Auswirkungen des Antibiotikaeinsatzes beim Tier auf das Resistenzniveau der Indikatorbakterien von sowohl in engem als auch in weiterem Kontakt zu diesen Tieren stehenden Personen wurden vielfach untersucht. Nijsten et al. (1994) konnten beispielsweise in fäkalen *E. coli* von Schweinemästern signifikant höhere Resistenzraten nachweisen als bei solchen von Schlachtern und der Allgemeinbevölkerung; jedoch war auch der Antibiotikagebrauch in der Gruppe der Mäster wesentlich höher. Ergänzende Untersuchungen zur Resistenz bei *E. coli* vom Geflügel und von Geflügelmästern sowie von Schweinen und deren Mästern gegenüber Ciprofloxacin und Tetracyclin führten van den Boogard et al. (1997b) in den Niederlanden durch. Enrofloxacin, welches eine vollständige Kreuzresistenz zu Ciprofloxacin selektiert, wird dort in Geflügelbeständen, jedoch nicht in Schweinebeständen eingesetzt. Tetracyclin ist dagegen in den Niederlanden für die Verwendung bei beiden Tierarten zugelassen. Im Vergleich zu den aus der Gruppe der Schweinemäster untersuchten Bakterienstämmen mit Resistenzquoten gegen Ciprofloxacin

von ca. 1 % lagen die der von Geflügelmästern isolierten Bakterienstämme mit 29 % deutlich höher. Zudem konnte anhand von Untersuchungen mittels Pulsfeldgelelektrophorese gezeigt werden, dass es sich bei den vom Geflügel und deren Mästern isolierten Stämmen um eng verwandte Isolate handelte. Im Gegensatz dazu lagen die Resistenzquoten gegenüber Tetracyclin in allen untersuchten Gruppen im Bereich zwischen 80 und 100 %. Ähnliche Ergebnisse wurden in verschiedenen Untersuchungen zu den Resistenzraten von Enterokokken mitgeteilt. Besondere Aufmerksamkeit gilt dabei der durch Avoparcin verursachten Resistenzzunahme bei Enterokokken, da dieses Antibiotikum eine Kreuzresistenz zu Vankomycin selektiert, welches in der Humanmedizin als Reserveantibiotikum bei enterokokkenbedingten Septikämien und durch Oxacillin-resistente Staphylokokken verursachten Infektionen angesehen wird (Wagner und Hahn, 1999; Jank und Rath, 2002). In Schweden und den USA, wo Avoparcin weder als Leistungsförderer noch als Antibiotikum zur Therapie zugelassen ist, wurden aus Kotproben von Tieren und der gesunden Allgemeinbevölkerung kaum Vancomycin-resistente Enterokokken isoliert (Coque et al., 1996; van den Bogaard et al., 1997c). Dagegen ermittelten Bager et al. (1997) für die Niederlande, wo Avoparcin als Leistungsförderer eingesetzt wird, eine enge Korrelation zwischen dem Einsatz und der Prävalenz Vancomycin-resistenter Enterokokken in der Intestinalflora behandelter Tiere. Nach dem Verbot von Avoparcin in Dänemark wurde dort ein signifikanter Rückgang resistenter *Enterococcus (E.) faecium*-Stämme von 80 % im Jahr 1995 auf weniger als 5 % im Jahr 1998 festgestellt (van den Bogaard und Stobberingh, 2000). Dass eine Übertragung Vancomycin-resistenter Enterokokken auf den Menschen erfolgt, zeigen Untersuchungen aus dem Geflügelmastbereich (van den Bogaard et al., 1997d). Beim Vergleich des Genotyps mittels Pulsfeldgelelektrophorese konnten identische Vankomycin-resistente Enterokokken sowohl beim Geflügel als auch bei dessen Mästern nachgewiesen werden. In allen Stämmen war zudem bei dem für die Resistenz verantwortlichen *vanA* Gen eine einheitliche, selten auftretende Mutation festzustellen.

Gegen die Hypothese, dass landwirtschaftliche Nutztiere die alleinige Quelle der Vankomycin-resistenten Enterokokken sind, spricht allerdings die Tatsache, dass der Anteil der in amerikanischen Krankenhäusern nachgewiesenen resistenten Bakterienstämme deutlich über dem in Deutschland liegt. Die Ursache wird in einem deutlich ausgeprägteren Einsatz von Vancomycin zur Behandlung von Enteritiden in der Humanmedizin gesehen (Wagner und Hahn, 1999). Da die Vankomycinresistenz bei *Enterococcus* spp. auf einem konjugativen Transposon kodiert ist (Murray, 1998), kann sie leicht an pathogene Erreger wie

beispielsweise *Staphylococcus (S.) aureus* weitergegeben werden (Khachatourians, 1998; Witte, 1998). Dass auch ein Transfer von Resistenzen vom Menschen auf das Tier möglich ist, zeigt der Nachweis der Rifampicin- und Fusidinsäureresistenz bei einem aus einer Schweinekotprobe isolierten *Enterococcus*-Stamm. Die genannten Antibiotika werden in Deutschland in der Humanmedizin, nicht aber in der Veterinärmedizin angewandt (Klare et al., 1995).

2.4.5.3. Primär pathogene Erreger

In der Humanmedizin sind die MRSA ein besonderes Problem. Die Organismen tragen Resistenzen gegen β -Lactam-Antibiotika wie Penicilline und Cephalosporine sowie Aminoglykoside, Imipenem, Erythromycin, Clindamycin, Tetracyclin und Chloramphenicol. Der Resistenzmechanismus gegen β -Lactam-Antibiotika beruht auf der Ausprägung eines veränderten penicillinbindenden Proteins PBP2a, welches die Angriffsstelle für das Antibiotikum darstellt (Tesch et al., 1988). Durch die verminderte Affinität des PBP2a wird auch in Anwesenheit von β -Lactam-Antibiotika das Bakterienwachstum nicht gehemmt. Wie die *in vitro*-Übertragung der Glykopeptidresistenz auf MRSA zeigt, ist grundsätzlich ein Austausch von Resistenzdeterminanten zwischen tier- und humanpathogenen Erregern möglich. Hinweise darauf, dass eine solche Übertragung auch über Lebensmittel stattfinden könnte, gibt es jedoch bisher nicht (Hiramatsu et al., 1997).

Studien zur Antibiotikaresistenz boviner *S. aureus*-Isolate zeigten, dass die Resistenzmuster sich deutlich von denen humaner Stämme unterscheiden und die Resistenzraten in einigen europäischen Ländern in den letzten Jahren rückläufig sind (Aarestrup und Jensen, 1998). Die in Lebensmitteln vorkommenden *S. aureus*-Stämme tragen üblicherweise nur sehr wenige Resistenzen, dies sind insbesondere solche gegen klassische β -Lactame (Jablonski und Bohach, 1997). In den wenigen Fällen, in denen auch bei bovinen *S. aureus*-Isolaten Methicillinresistenzen nachgewiesen werden konnten, scheint zuvor eine Übertragung vom Menschen auf das Tier stattgefunden zu haben (Devriese und Hommez, 1975), so dass ein Beitrag animaler *S. aureus*-Isolate zur Resistenzentwicklung bei humanen Isolaten als relativ unbedeutend eingeschätzt werden kann (Teale, 2002). Einen weiteren Beleg für den Austausch von Resistenzdeterminanten zwischen tier- und humanpathogenen Erregern lieferten Medeiros et al. (1986). Sie konnten sowohl aus *Haemophilus (H.) influenza*-Stämmen aus dem Humanbereich als auch aus *Actinobacillus (A.) pleuropneumoniae*-

Stämmen vom Schwein plasmidkodierte β -Lactamasen isolieren, deren genetische Struktur in hohem Maße Homologien aufwiesen. Fraglich bleibt jedoch, in welcher Richtung der Transfer verläuft.

2.4.6. Nachweis der Übertragung von Resistenzen gegen antimikrobielle Wirkstoffe mit molekularbiologischen Verfahren

Zum Nachweis der Übertragung sowohl von resistenten Bakterien als auch deren Resistenzgenen zwischen Tier und Mensch stellen unter anderem molekularbiologische Verfahren eine Methode der Wahl dar (Werckenthin und Schwarz, 1998; Wichelhausen et al., 2000). Ein Problem bereitet jedoch mitunter die Analyse und Interpretation der erzielten Ergebnisse, da sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin weitgehend die gleichen Antibiotika eingesetzt werden. Der Nachweis von Resistenzgenen gleicher Struktur gibt zwar Hinweise auf den Austausch von Resistenzdeterminanten, lässt aber keine Aussage darüber zu, in welcher Richtung der Transfer von Resistenzgenen vollzogen wird (Werckenthin und Schwarz, 1997; Aarestrup und Wegener, 1999; Acar und Röstel, 2001).

2.4.7. Rückstandsrisiko durch den Einsatz antimikrobieller Wirkstoffe

Die Anwendung von Antibiotika sowohl im Veterinär- als auch im Humanbereich ist mit der Gefahr des Vorkommens von Antibiotikarückständen verbunden (Levy, 2002). Antibiotikarückstände finden sich zum einen in Lebensmitteln tierischen Ursprungs (Klein, 1999), zum anderen gelangen sie als Ausscheidungsprodukte in die Umwelt. Dort können sie eine Resistenzselektion bei Umweltkeimen bewirken oder über die Nahrungskette wieder in den Körper gelangen und dort einen Selektionsdruck ausüben. Für den Menschen wird jedoch die Gefahr, Rückstände über Lebensmittel tierischen Ursprungs aufzunehmen, aufgrund der gesetzlich festgelegten Rückstandshöchstmengen in einem sehr niedrigen Bereich als eher gering eingestuft (Klein, 1999; Ungemach, 1999; Wagner und Hahn, 1999).

2.4.8. Gefahrenminimierung der Resistenzentstehung und -ausbreitung

Die Minderung der Gefahr der Resistenzentstehung und -ausbreitung kann zum einen durch die Verlangsamung der Resistenzentwicklung aufgrund einer Verminderung des Selektionsdruckes, zum anderen durch eine Infektionskontrolle mittels eines effektiven

Hygienemanagements bewirkt werden (Bryan, 1989; Tenover und McGowan, 1996; O'Brien, 1997; Levin et al., 1998; Aarestrup und Wegener, 1999; Witte und Klare, 1999; Sax, 2002). Neben einem verantwortungsbewussten Umgang mit antimikrobiell wirksamen Stoffen trägt auch die Entwicklung von Alternativen zur Chemotherapie, wie zum Beispiel die Immunisierung, zu einer Minimierung des Selektionsdruckes bei.

2.4.9. Verantwortungsbewusster Umgang mit antimikrobiellen Wirkstoffen

Dass die antimikrobielle Chemotherapie in der Veterinärmedizin einen wichtigen therapeutischen Ansatz darstellt, ist allgemein anerkannt (Werckenthin und Schwarz, 1997; Ungemach, 2000; Heilig et al., 2002). Gründe für den Einsatz sind neben dem Tierschutz (Mevius et al., 1999) eine Verhinderung der Ausbreitung von Krankheiten, eine höhere Effizienz in der tierischen Produktion, eine Vermeidung der Übertragung von Zoonosen auf den Menschen sowie die Produktion hochwertiger und sicherer Lebensmittel und damit die Verhütung ernährungsbedingter Krankheiten (Ungemach, 1999; MacKinnon und McMullin, 2001; Teale, 2002). Da jedoch jeder Antibiotikaeinsatz und insbesondere der Missbrauch von Antibiotika das Risiko einer Resistenzselektion erhöht (Khachatourians, 1998), sind Prinzipien zum verantwortungsbewussten Umgang einzuhalten, mit deren Hilfe das Risiko reduziert werden kann (Aarestrup und Wegener, 1999; Mevius et al., 1999; Ungemach, 1999). Diese Prinzipien umfassen eine exakte Diagnosestellung, die Auswahl entsprechend geeigneter Wirkstoffe, die volle therapeutische Dosierung bei ausreichender Therapiedauer wie auch Modelle für eine kalkulierte Chemotherapie.

2.4.9.1. Indikation

Voraussetzung für den gerechtfertigten Einsatz von Antibiotika ist das Vorliegen einer systemischen, mit Fieber einhergehenden bakteriellen Infektionskrankheit sowie von lokalen Infekten, bei denen vorausgesetzt werden kann, dass eine systemische Komplikation im Fortgang des Krankheitsgeschehens auftreten wird (Mevius et al., 1999). Für eine effiziente Therapie sind dabei Kenntnisse über den verursachenden Erreger und dessen Sensitivität notwendig, da nur durch die Auswahl eines wirksamen Antibiotikums letztendlich eine Bekämpfung aller Infektionserreger möglich ist und somit die Selektion resistenter Keime verhindert werden kann (Werckenthin und Schwarz, 1997; Levin et al., 1998). Da akute Erkrankungen in vielen Fällen eine sofortige Behandlung erforderlich machen und

Untersuchungsergebnisse erst nach einigen Tagen vorliegen, werden zu Beginn der Behandlung meist Substanzen mit einem breiten Wirkspektrum eingesetzt. Vor Therapiebeginn sollte jedoch in jedem Fall Probenmaterial für die Diagnose des ursächlichen Agens und dessen Empfindlichkeitsbestimmung entnommen werden. Nach Erhalt der Ergebnisse sollte die Behandlung, wenn möglich, mit einem Schmalspektrumantibiotikum weitergeführt oder ein Therapiewechsel vorgenommen werden (Sax, 2002). Gegen den Einsatz von Breitspektrumantibiotika spricht zum einen deren resistenzfördernde Wirkung auf ein breites Keimspektrum, die auch eine Ausbildung von Resistenzen innerhalb der körpereigenen Flora zur Folge hat (Guggenbichler, 1998; Sax, 2002), zum anderen führt er zu einer negativen Beeinflussung der durch die körpereigene Bakterienflora ausgeübten protektiven Wirkung (Vollaard et al., 1990). Der Einsatz von Antibiotika ohne Indikation wird in der Literatur allgemein kritisch betrachtet und von vielen Autoren als Hauptursache für die Resistenzentwicklung angesehen (Khachatourians, 1998).

Gegen den metaphylaktischen Einsatz ist einzuwenden, dass Antibiotika zeitgleich auch an nicht erkrankte Tiere verabreicht werden und damit an Tiere ohne Indikation. Zudem handelt es sich bei diesem Problemkreis häufig um infektiöse Faktoren- oder Komplexkrankheiten, bei denen die Bestimmung des ursächlichen Agens kaum möglich beziehungsweise eine bakterielle Beteiligung am Infektionsgeschehen nicht gegeben ist.

Der prophylaktische Einsatz bei der Einstallung beziehungsweise bei der Zusammenlegung von Tieren erscheint nur dann gerechtfertigt, wenn ein möglicher Problemkeim und dessen Resistenzlage durch regelmäßige Untersuchungen bekannt ist und andere Maßnahmen, wie die Beseitigung von Hygienemängeln, erfolglos bleiben (Richter, 1999).

2.4.9.2. Dosierung

Einen wichtigen Einfluss auf die Resistenzentwicklung hat die auf den Erreger einwirkende Antibiotikakonzentration (Salyers und Amabile-Cuevas, 1997; Jank und Rath, 2002). Wird die spezifische Dosierung so gewählt, dass im Infektionsgebiet Konzentrationen erreicht werden, die oberhalb der minimalen Hemmkonzentration für alle Erreger der Population liegen, kann ein Therapieerfolg erwartet werden. Liegt die Konzentration jedoch niedriger, werden die Bakterien selektiert, deren minimale Hemmkonzentration sich oberhalb der erreichten Konzentration befindet (Baquero et al., 1997). Da die minimalen

Hemmkonzentrationen in einer Erregerpopulation in der Regel normalverteilt sind, nimmt die Zahl der selektierten Erreger bei abnehmenden Antibiotikakonzentrationen zu. Einen Beleg hierfür lieferten Guillemot et al. (1998) mit ihrer Studie zur Verbindung zwischen dem oralen β -Lactam-Einsatz und dem Auftreten Penicillin-resistenter Streptokokken. In einer Gruppe von 941 Kindern, die mit unterschiedlichen Dosen oral applizierter β -Lactam-Antibiotika behandelt wurden, untersuchten sie das Auftreten von Penicillin-resistenten Streptokokken im Pharynx und stellten fest, dass bei Kindern, die über einen längeren Zeitraum mit niedrigen Dosierungen behandelt wurden, häufiger resistente Keime nachgewiesen werden konnten als bei solchen, denen höhere Dosierungen verabreicht worden waren. In diesem Zusammenhang hatten zuvor Salyers und Shoemaker (1996) bei *Bacteroides* spp. eine Stimulation des Transfers eines resistenztragenden konjugativen Plasmids durch niedrige Tetracyclinkonzentrationen gezeigt. Zu niedrige Dosierungen tragen somit in besonderem Maß zur Resistenzentwicklung bei. Um Infektionen erfolgreich zu bekämpfen und die Selektion resistenter Stämme weitgehend zu verhindern, muss daher eine ausreichend hohe Konzentration des Antibiotikums am Ort der Infektion erreicht werden. Dabei hängt diese nicht nur von der absoluten Dosis, sondern auch von pharmakokinetischen Eigenschaften der Substanz wie Resorption, Verteilung und Elimination ab. Zusätzlich müssen tierartliche Unterschiede bezüglich der Physiologie berücksichtigt werden.

Ein weiteres wichtiges Prinzip beim Antibiotikaeinsatz ist die Einhaltung einer genügend langen Behandlungsdauer, da bei einem zu frühen Absetzen des Antibiotikums die Gefahr besteht, dass in ihrer Proliferation gehemmte Bakterien nicht abgetötet werden und sich nach dem Absetzen des Antibiotikums ungehemmt vermehren. Dass eine unregelmäßige Therapie, Unterdosierungen und Therapieunterbrechungen zur raschen Resistenzzunahme führen, zeigen die Erfahrungen seit Ende der 80er Jahre in der Tuberkulosetherapie bei Obdachlosen in New York. Bei Personen, die sich in unterschiedlichen Krankenhäusern nur so lange therapieren ließen, bis das eigene, subjektive Wohlbefinden wieder hergestellt war, konnten bei den von diesen Personen isolierten Mykobakterien bis zu Vier- und Fünffachresistenzen nachgewiesen werden. Eine Normalisierung der Situation wurde jedoch durch ein über alle Behandlungsstationen verzweigtes Informationsnetz und eine Betreuung der Patienten auch nach der Entlassung erreicht (Frieden et al., 1993). Es ist aber auch eine über den für die Erregerabtötung notwendigen Zeitraum hinausgehende Behandlungsdauer, wie beispielsweise die mehrwöchige Antibiotikagabe im Rahmen der Einstallprophylaxe, abzulehnen, weil ein wesentlicher Beitrag zur Resistenzselektion in der Langzeitexposition von Erregern mit

Antibiotika gesehen wird (Werckenthin und Schwarz, 1997; Cunha, 1998; Heilig et al., 2002). Je länger Bakterien der Einwirkung von Antibiotika ausgesetzt sind, desto mehr Zeit steht ihnen zur Verfügung, sich durch Veränderungen des Genotyps an die veränderten Milieubedingungen anzupassen und so Resistenzen auszubilden und zu konservieren (Salyers und Amabile-Cuevas, 1997).

2.4.9.3. Applikationsart

Der Einfluss der Antibiotikaapplikationsart auf die Resistenzentstehung muss ebenfalls betrachtet werden. Eine kontrollierte Dosierung ist nur bei individueller Verabreichung von Wirkstoffen an Einzeltiere möglich. Diese ist jedoch in der Massentierhaltung, in der häufig die Behandlung ganzer Tierbestände erforderlich ist, aufgrund der hohen Tierzahlen nicht praktikabel. Eine mögliche Alternative scheint die Gabe der Medikamente über das Futter beziehungsweise Trinkwasser zu sein. Diese Applikationsart ist jedoch mit Problemen wie inhomogener Vermischung beziehungsweise Entmischung des Fütterungsarzneimittels, Inkompatibilität der Antibiotika mit Futterbestandteilen und unregelmäßiger und unzureichender Wirkstoffaufnahme durch kranke und/oder geschwächte Tiere und aufgrund fehlender Geschmacksneutralität verbunden. Die Folge sind unerwünschte subinhibitorische Antibiotikakonzentrationen im Organismus, die eine Resistenzselektion begünstigen (Helmuth, 1999). Unter den derzeitigen Produktionsbedingungen in der Landwirtschaft wird die Antibiotikaapplikation über das Futter oder die Tränke jedoch als unverzichtbar angesehen (Schwarz und Werckenthin, 2001).

2.4.9.4. Infektionskontrolle und Alternativen zum Einsatz antimikrobieller Wirkstoffe

In den Tierarztpraxen und Kliniken vollzieht sich die Infektionskontrolle vor allem durch die Isolation infizierter Patienten und die intensive Reinigung und Desinfektion von Geräten und Personal (Levin et al., 1998), da eine Übertragung resistenter Mikroorganismen in diesen Einrichtungen in erster Linie über die Hände des Personals stattfindet (Sax, 2002). Auch in der Tierhaltung kann eine Ausbreitung von Bakterien durch hygienische Maßnahmen wie die Reinigung und Desinfektion von Geräten, beispielsweise der Melkgeschirre, oder die gründliche Säuberung der Ställe nach jedem Mastdurchgang verhindert werden.

Alternativen, die zu einer Minimierung des Antibiotikaeinsatzes führen, betreffen vor allem die Unterstützung der körpereigenen Abwehr. In der Tierhaltung kann dies zum einen durch die Verbesserung der Haltungsbedingungen, zum anderen durch den Einsatz von Vakzinen erreicht werden. Erfahrungen aus Schweden zeigen, dass eine effektive Produktion in der Landwirtschaft auch ohne den Einsatz von Leistungsförderern möglich ist. Rückschritte in der Produktivität nach dem Verbot von Leistungsförderern 1986 konnten durch Verbesserungen in der Haltung, vor allem in Bezug auf den gesamten Hygienestatus, ausgeglichen werden (Government Official Reports, 1997).

2.5. Molekulare Epidemiologie der Resistenz gegen antimikrobielle Wirkstoffe

Das erste Auftreten von Resistenzen bei Bakterien liegt schon weit vor der Entdeckung und Anwendung der Antibiotika durch den Menschen (Foster, 1983; Saunders, 1984). Bezüglich der Evolution dieser antimikrobiellen Resistenzen sind heute zwei Theorien allgemein anerkannt. Zum einen wird angenommen, dass Bakterien, die selbst Antibiotika produzieren, Schutzsysteme entwickelt haben, um sich vor den inhibitorischen Effekten ihrer eigenen Stoffwechselprodukte zu schützen und demnach eine Quelle für antibiotische Resistenzdeterminanten darstellen (Chopra et al., 1992; Levy, 2002). Entsprechend verfügen einige Streptomycceten neben den Genen für die Synthese von Antibiotika auch über zugehörige Resistenzgene (Nakano et al., 1984). Zum anderen haben sich Resistenzdeterminanten über einen langen Zeitraum aufgrund schrittweiser Mutationen bereits vorhandener chromosomaler Gene entwickelt. Ein Beispiel hierfür ist die Entwicklung von Genen für β -Lactamasen und solchen, die für Penicillin-bindende Proteine kodieren, aus gemeinsamen Ursprungsgenen (Spratt, 1983). Aufgrund des kurzen Zeitraumes, in dem nach Einführung neuer Antibiotika gegenüber einigen von diesen ein Resistenzanstieg zu verzeichnen war, wird vermutet, dass die entsprechenden Resistenzgene schon vor dem Antibiotikaeinsatz in der Natur vorhanden waren (Murray, 1992).

2.5.1. Resistenzselektion

Obwohl Resistenzgene bereits vor dem klinischen Einsatz von Antibiotika in bestimmten Bakterienpopulationen nachgewiesen wurden, hat dieser doch einen entscheidenden Einfluß auf die Resistenzentstehung und -anreicherung (Gold und Moellering, 1996; Baquero et al., 1997; Levy, 2002; Randall und Woodward, 2002). Ursachen hierfür sind der in Anwesenheit

von Antibiotika entstehende Selektionsdruck (Tenover und McGowan, 1996) und das Vorhandensein resistenzdeterminierender genetischer Elemente (Khachatourians, 1998; Witte und Klare, 1999; Levy, 2002). Durch den Prozeß der Selektion werden bestimmte Genotypen aus einer Population ausgelesen, indem die anderen Bakterienstämme an der Vermehrung gehindert oder aber abgetötet werden beziehungsweise die selektierten Genotypen durch die veränderten Milieubedingungen einen Vermehrungsvorteil erhalten (O'Brien, 1997). Unter der Voraussetzung, dass in einer Population, die der Einwirkung eines Antibiotikums ausgesetzt ist, Bakterienstämme mit resistenzdeterminierenden genetischen Elementen gegen den jeweiligen Wirkstoff vorhanden sind, werden diese selektiert. Außerdem bewirkt der Selektionsdruck die Entstehung neuer Genotypen durch Mutationen und den Austausch mobiler genetischer Elemente (Cohen et al., 1982; Hadorn et al., 1994; Acar und Röstel, 2001).

Bei Cephalosporinen mit erweitertem Wirkspektrum fördert der Einsatz eine Ausbildung von Genotypen, die Resistenzen gegen diese Substanzen tragen. Die Resistenz wird durch Mutationen des Gens verursacht, welches für β -Lactamasen kodiert. Die bei den meisten gramnegativen Bakterien vorkommende β -Lactamase ist ein als TEM-1 benanntes Enzym, welches für die Ampicillinresistenz bei *E. coli* und für die Penicillin- und Cephalothinresistenz vieler *Klebsiella (K.) pneumoniae*-Stämme verantwortlich ist. Die verminderte Wirksamkeit von Ampicillin aufgrund des vermehrten Auftretens TEM-1-produzierender Bakterien führte in den 70er Jahren zur Entwicklung und folgend zum Einsatz von Cephalosporinen mit erweitertem Wirkspektrum, die zunächst gegen alle β -Lactamase-produzierenden Bakterienstämme wirkten. Es folgte jedoch schon bald das erste Auftreten von Bakterien mit einem veränderten Enzym, welches im Vergleich zu TEM-1 gegenüber Cefotaxim, einem Cephalosporin der 3. Generation, zu einem leichten Anstieg der minimalen Hemmkonzentration von 0,03 mg/l auf 0,06-0,12 mg/l führte. Analysen zeigten, dass sich der genetische Code des neuen, als TEM-12 bezeichneten Enzymes im Vergleich zu dem von TEM-1 durch den Austausch von nur einer Aminosäure unterschied. Durch den weiteren Einsatz von Cephalosporinen wurde eine kontinuierliche Zunahme der Resistenz gegenüber diesen Antibiotika verzeichnet. Aus Bakterienstämmen, deren minimale Hemmkonzentration gegenüber Cefotaxim 1 mg/l betrug, wurden als TEM-10 bezeichnete β -Lactamasen isoliert. Der genetische Code dieser Enzyme unterscheidet sich gegenüber dem von TEM-12 wiederum nur durch eine Mutation. Anhand dieser Abfolge von Mutationen wurde gezeigt, dass der durch den Antibiotikaeinsatz verursachte Selektionsdruck zur Ausbildung neuer

Resistenzen führt (Rice et al., 1991; Bush et al., 1995; Du Bois et al., 1995; Karas et al., 1996; Baquero et al., 1997).

Die Häufigkeit des Auftretens von Mutationen, die unter anderem zur Ausbildung einer Resistenz führen können, ist von der Größe einer Bakterienpopulation und deren Vermehrungszyklus abhängig. Mit zunehmender Populationsgröße und einer Verkürzung des Vermehrungszyklus steigt die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer resistenzdeterminierenden Mutation in einer definierten Zeiteinheit. Voraussetzung für die Ausbildung der Resistenzeigenschaft ist jedoch die Dominanz des mutierten gegenüber dem Wild-Typ-Allel. Resistenzen, die durch Mutationen entstanden sind, werden vor allem bei Bakterienspezies wie Mykobakterien beobachtet, bei denen unter natürlichen Bedingungen kein Austausch von Resistenzgenen stattfindet. Im Vergleich dazu tritt die Ausbildung neuer Genotypen durch den Austausch mobiler genetischer Elemente aufgrund der Vielzahl dieser Elemente und der verschiedenen Gentransferwege wesentlich häufiger auf (Courvalin, 1996). In dem Prozess der Resistenzentstehung ist weiterhin zu berücksichtigen, dass ein eingesetztes Antibiotikum nicht nur auf den jeweils zu eliminierenden Zielerreger, sondern auch auf die insgesamt vorhandene natürliche Bakterienflora wirkt und dort ebenfalls zu einer Resistenzentwicklung beiträgt. Da resistente Bakterien der normalen Flora jedoch durch die Antibiotikaaanwendung nicht in jedem Fall eliminiert werden, bilden sie ein ständiges Resistenzreservoir (Smith und Lewin, 1993; Witte und Klare, 1999; van den Bogaard und Stobberingh, 2000).

2.5.2. Ausbreitung von Resistenz

Die Ausbreitung von Resistenzen findet zum einen durch den Austausch von Resistenzgenen zwischen unterschiedlichen Bakterienstämmen statt, zum anderen werden resistenztragende Mikroorganismen vom Ursprungswirt auf einen neuen Wirt übertragen (Tenover und McGowan, 1996). Um Resistenzdeterminanten austauschen zu können, müssen unterschiedliche Bakterienstämme zumindest zeitweise das gleiche Milieu besiedeln (Werckenthin und Schwarz, 1997). Ein solches polymikrobielles Umfeld, in dem eine Vielzahl von Bakterienstämmen vorkommen und in dem Austauschvorgänge stattfinden können, befindet sich auf der äußeren Haut oder den Schleimhäuten zum Beispiel des Respirations- und Intestinaltraktes von Mensch und Tier (Smith und Lewin, 1993; Teuber, 2000; Schwarz und Werckenthin, 2001).

Für den Transfer resistenztragender Mikroorganismen vom Ursprungswirt auf einen neuen Wirtsorganismus und dessen Infektion sind nicht nur das Eindringen und Haften, sondern auch die Vermehrung der Bakterien im neuen Wirt notwendig. Voraussetzungen dafür sind eine reduzierte Wirtsspezifität des Mikroorganismus, geeignete Milieubedingungen im neuen Wirt und ein Durchsetzungsvermögen der übertragenen Bakterienart gegenüber der Infektionsabwehr und der natürlich vorhandenen Bakterienflora des neuen Wirtes (Schwarz und Werkenthin, 2001). Eine Infektion realisiert sich nach Guggenbichler (1998), Levy (1998) und Morris et al. (1998) unter anderem dann, wenn durch den Einsatz von Antibiotika die natürlich vorhandene Bakterienflora teilweise abgetötet wird und so ihre protektive Wirkung verloren geht. Eine solche Wirkung konnte für die meisten Breitspektrumantibiotika wie Ampicillin, Amoxicillin, Tetracycline und einige Cephalosporine (Vollaard et al., 1990) sowie für die Leistungsförderer Avoparcin, Virginiamycin und Tylosin (Abou-Youssef et al., 1979; Gustafson et al., 1981; George et al., 1982; Barrow et al., 1984; Barrow, 1989) nachgewiesen werden. Grundsätzlich führt aber auch die Schwächung des Immunsystems durch eine medikamentelle Immunsuppression oder eine Erkrankung zu einer erhöhten Infektionsempfänglichkeit des Wirtsorganismus (Levy, 2002).

Nach der Besiedlung eines neuen Wirtes durch pathogene, resistenztragende Bakterien ist der Transfer von Resistenzdeterminanten an dessen physiologische Bakterienflora möglich, die damit auch nach der Eliminierung des infektiösen Erregers ein Reservoir für Resistenzgene darstellt. Solche Resistenzdeterminanten können nach einer erneuten Infektion des Wirtes mit pathogenen, antibiotikaempfindlichen Bakterien wiederum an diese weitergegeben werden (Smith und Lewin, 1993). Eine solche Übertragung von Resistenzgenen kann beispielhaft an der in der ehemaligen Deutschen Demokratischen Republik (DDR) beobachteten Ausbreitung des Resistenzgens gezeigt werden, welches eine Nourseotricinresistenz vermittelt. Nourseotricin gehört zur Gruppe der Streptotricin-Antibiotika, welche in der Humanmedizin nicht eingesetzt werden und für die keine Kreuzresistenzen zu anderen Antibiotika nachgewiesen sind. Ein Jahr nach der Einführung von Nourseotricin als Futterzusatzstoff 1982 konnten aus Kotproben von Schweinen, deren Futter das Antibiotikum zugesetzt wurde, resistente *E. coli* nachgewiesen werden. Als resistenzdeterminierendes Element wurde das Transposon Tn 1825 identifiziert. Zwei Jahre später wurde dieses Transposon nicht nur bei fäkalen *E. coli* der Mäster, sondern auch bei denen der Allgemeinbevölkerung und bei einigen aus Infektionen des Harntraktes isolierten *E. coli* nachgewiesen. Schließlich gelang die Isolierung des Transposons auch aus pathogenen Erregern, und zwar nicht nur aus

Zoonose-Erregern wie *Salmonella* spp., sondern auch aus weiteren humanpathogenen Erregern wie *Shigella* spp. Außerhalb der DDR konnten Nourseotricinresistenzen nicht nachgewiesen werden (Tschäpe et al., 1984; Hummel et al., 1986; van den Bogaard und Stobberingh, 2000). Anhand der Verbreitung des Apramycinresistenzgens *aacC4* und des Hygromycinresistenzgens *hphB* lässt sich die Ausbreitung von Resistenzgenen ebenfalls verfolgen. Trotz der Tatsache, dass die genannten Antibiotika nur in der Veterinärmedizin zugelassen sind, konnten die Resistenzgene nicht nur bei tierpathogenen Bakterien, sondern auch bei Zoonose- und primär humanpathogenen Erregern sowie der humanintestinalen Keimflora nachgewiesen werden (Chaslus-Dancla et al., 1986; Threlfall et al., 1986; Chaslus-Dancla et al., 1989; Chaslus-Dancla et al., 1991; Hunter et al., 1994). Mögliche Übertragungswege für resistente Mikroorganismen zwischen Mensch und Tier als Donatoren sind in Abbildung 1 dargestellt.

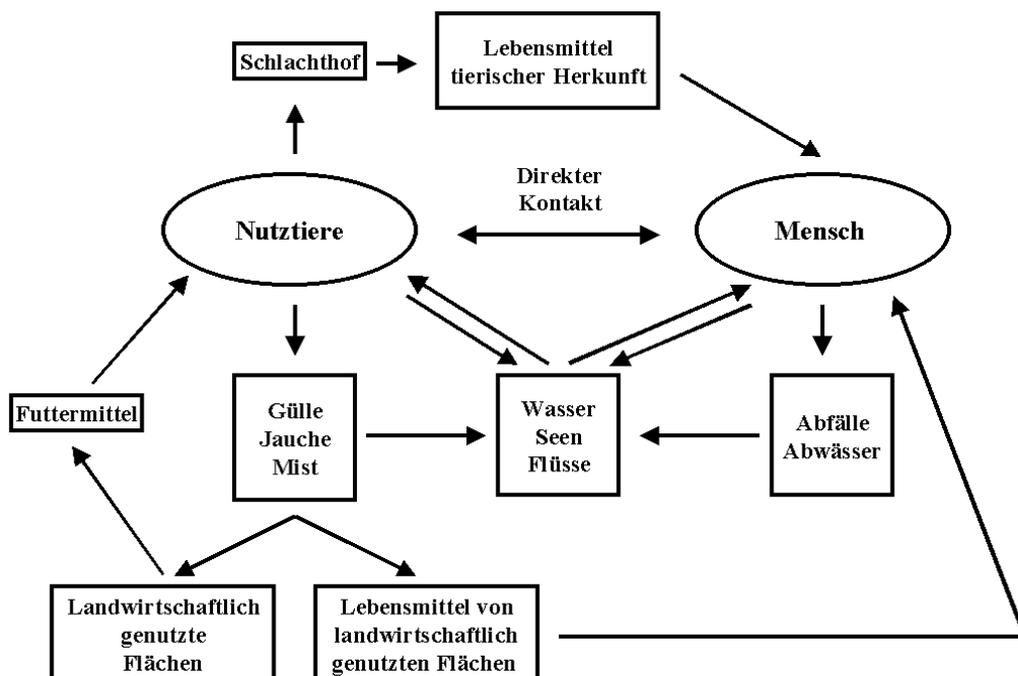


Abb. 1: Übertragungswege resistenztragender Mikroorganismen zwischen Mensch und Nutztier. Modifiziert nach Linton, 1977; Young, 1993; Witte, 1998

2.5.3. Persistenz beziehungsweise Eliminierung von antimikrobieller Resistenz

Ist bei Bakterien das Auftreten einer Resistenzeigenschaft gegen ein Antibiotikum mit einem Nachteil, beispielsweise einer verlängerten Vermehrungsdauer oder dem Verlust der Virulenz verbunden (Saunders, 1984; Björkman et al., 1998), so führt eine Verringerung des Selektionsdruckes durch antimikrobielle Substanzen zum Rückgang der Resistenz (Schrag et al., 1997; Morris et al., 1998). Diese Kenntnis führte zu dem Versuch, Resistenzen durch Verminderung des Antibiotikaeinsatzes zu eliminieren. In Finnland bewirkte entsprechend die Minimierung des Makrolideinsatzes einen deutlichen Rückgang der antimikrobiellen Resistenz gegenüber Erythromycin (Seppälä et al., 1997).

Salyers und Amabile-Cuevas (1997) stellten aber gleichzeitig fest, dass vorhandene Resistenzeigenschaften auch in Abwesenheit eines Selektionsdruckes erhalten bleiben. Dieses ist unter anderem dann der Fall, wenn durch Mutationen die Nachteile, die dem Bakterium durch den Besitz der Resistenzdeterminanten entstehen, kompensiert werden. Schrag et al. (1997) zeigten dies am Beispiel der Streptomycinresistenz bei *E. coli*. Die durch die Streptomycinresistenz verursachten Nachteile in der Vermehrungsfähigkeit wurden in den Versuchen durch Folgemutationen ausgeglichen, die keinen Einfluss auf die Resistenzeigenschaft hatten. Sind die Resistenzdeterminanten mit Genen verknüpft, die dem Bakterium einen zusätzlichen anderen Selektionsvorteil bieten, können sie ebenfalls erhalten bleiben. Dieses wiesen Hasman und Aarestrup (2002) bei Plasmid-tragenden *E. faecium* nach, auf deren Plasmid neben Genen für die Makrolid- und Glykopeptidresistenzen auch ein solches für die Kupferresistenz lokalisiert war.

Zum Erhalt von Resistenzdeterminanten tragen auch Mutationen bei, die eine erhöhte Stabilität der Resistenzgene im Wirtsbakterium zur Folge haben. Lenski et al. (1994) beschrieben, dass bei wiederholter Subkultivierung Plasmid-tragender Bakterienstämme in Anwesenheit von Antibiotika Plasmidvarianten entstanden, die im Gegensatz zu den Ausgangsvarianten auch nach dem Absetzen des Antibiotikums stabil im Wirtsbakterium erhalten blieben.

Einige Bakterienspezies sind außerdem in der Lage, durch Repressorproteine die Ausbildung der für die Resistenz verantwortlichen Strukturen in Abwesenheit des entsprechenden Antibiotikums zu unterdrücken. Bei gramnegativen Keimen, die Tetracyclin-Effluxproteine

bilden, kommen zusätzlich Repressorproteine vor, die in Abwesenheit von Tetracyclin die Transkription sowohl des Gens für das Effluxprotein als auch für das Repressorprotein blockieren. Bei grampositiven Keimen wird dagegen in Abwesenheit von Tetracyclin die reduzierte Expression der Gene für Tetracyclin-Effluxproteine und Proteine, die bakterielle Ribosomen vor der Einwirkung von Tetracyclinen schützen, durch eine Verminderung der Transkription der mRNA bewirkt (Roberts, 1996).

Aufgrund dieser Möglichkeiten der Bakterien, Resistenzeigenschaften auch in der Abwesenheit von Antibiotika aufrechtzuerhalten, ist davon auszugehen, dass auch bei einem verminderten Selektionsdruck die etablierte Resistenz nicht auf den "Nullpunkt" zurückgeführt werden kann (Witte und Klare, 1999) und bei einem erneuten Einsatz korrespondierender Wirkstoffe ein schneller Anstieg resistenter Bakterienstämme zu erwarten ist (Salysers und Amabile-Cuevas, 1997).

2.6. Epidemiologischer Nachweis der Resistenz gegen antimikrobielle Wirkstoffe

2.6.1. Risikoanalyse

Die Risikoanalyse definiert einen Prozess zur Abschätzung der Auswirkungen, die aufgrund des Vorkommens eines bestimmten Risikos zu erwarten sind (Wooldridge, 2001). Sie setzt sich, basierend auf dem Covello-Merkhofer-Modell (Arnold, 2001), aus den vier Komponenten Risikoidentifizierung, Risikoassessment, Risikomanagement und Risikokommunikation zusammen. Die Risikoidentifizierung legt fest, welche Faktoren eine Gefährdung darstellen und worin die Ursachen für die Gefahrenentstehung zu sehen sind. In Bezug auf den Einsatz antimikrobieller Wirkstoffe ist nach den Vorgaben des Arzneimittelgesetzes und seiner Verwaltungsvorschriften (Bundesanzeiger, 1990) die Resistenz als Arzneimittelrisiko zu bewerten. Dieses Risiko besteht vor allem in der Zunahme von Resistenzen (Arnold, 2001). Es hat zur Folge, dass Infektionen von Mensch und Tier, die durch resistenztragende Mikroorganismen verursacht werden, nicht in jedem Fall sicher therapiert werden können. Die resultierenden Konsequenzen sind neben der Bedrohung des Lebens von Mensch und Tier auch wirtschaftliche Nachteile, die durch verlängerte Krankenhausaufenthalte, die Verlängerung der Therapie und durch den Einsatz neuerer, teurer Präparate zustande kommen.

Nach erfolgter Risikoidentifizierung schließt sich der Prozess des Risikoassessments an, in dem die Folgen des Risikos und deren Ausmaß abgeschätzt werden (Cox, 2001). Um die Gefährdung, die durch eine Resistenzzunahme verursacht wird, abschätzen zu können, sind valide Daten zur derzeitigen Resistenzsituation und -entwicklung notwendig. Diese Daten können unter anderem mit Hilfe von Monitoringstudien bereitgestellt werden (Caprioli et al., 2000).

Die Aufgabe des Risikomanagements besteht in der Erarbeitung von Maßnahmen, anhand derer eine Risikominimierung erreicht werden kann. Unter Verwendung ermittelter Resistenzdaten können unter anderem Empfehlungen und gesetzliche Bestimmungen, die den Einsatz von Antibiotika regeln, entwickelt werden (WHO, 1997).

Die Risikokommunikation beschreibt den Austausch von Informationen zur Resistenzsituation in Fachkreisen sowie die Darstellung der Ergebnisse in der Öffentlichkeit (Vose et al., 2001).

2.6.2. Monitoring

Als Monitoring wird die Beobachtung eines Ablaufes und die Erhebung von Daten über eine festgelegte Zeitspanne bezeichnet. Das Ziel des Resistenzmonitorings ist es, die Resistenzsituation und deren Veränderungen in verschiedenen Erregerpopulationen zu messen (Sahm und Tenover, 1997). Hauptzielkriterium ist dabei die Ermittlung valider Daten zur Resistenzentstehung, -anreicherung und -ausbreitung. Bei der Vorbereitung und Durchführung von Monitoringstudien ist es notwendig, durch eine sorgfältige Studienplanung und die Einhaltung der Vorgaben mögliche Fehlerquellen, die die Qualität der erhobenen Daten und die Relevanz der darauf basierenden Aussagen beeinträchtigen, weitestgehend auszuschließen (Altreuther et al., 1997). Neben dem Resistenzmonitoring werden für eine Risikoanalyse auch Daten über die quantitativ eingesetzten Mengen verschiedener Antibiotika benötigt. Ein Vergleich von Antibiotikaverbrauchsmengen und Veränderungen in der Resistenzsituation lässt unter anderem Aussagen über die Korrelation dieser beiden Parameter zu. Dabei sollten zumindest Daten über den regionalen Verbrauch, die zugehörige Indikation und die Tierart sowie den Applikationsweg des verwendeten Antibiotikums erhoben werden (Nicholls et al., 2001).

2.6.3. Studienplanung

2.6.3.1. Probenauswahl und Studiendurchführung

Die Auswahl des Untersuchungsmaterials im Rahmen von Monitoringstudien hat so zu erfolgen, dass die ausgewählten Erreger eine repräsentative Stichprobe aus der zu erfassenden Grundgesamtheit darstellen (Altreuther et al., 1997). Dabei sind durch die Vorgaben im Stichprobenplan Faktoren, die die Repräsentativität der Stichprobe negativ beeinflussen, weitestgehend auszuschließen.

Da sich die Resistenzeigenschaften einzelner Bakterien unter dem Einsatz von Antibiotika aufgrund des Selektionsdruckes verändern, sollten in das Resistenzmonitoring nur Erreger einbezogen werden, die aus Probenmaterial von nicht antibiotisch vorbehandelten Tieren stammen. Die antibiotische Behandlung bezieht sich dabei nur auf die aus dem jeweils vorliegenden Erkrankungsprozess isolierten Erreger und nicht auf weiter zurückliegende Erkrankungen und eventuell erfolgte Therapien (Bywater, 2000). Im Rahmen der üblichen Infektionsdiagnostik gewonnene Daten führen in aller Regel zu einer Überzeichnung der Prävalenz der Antibiotikaresistenz, da Untersuchungsmaterialien von Patienten mit Infektionsproblemen und Therapieversagen in der Stichprobe überrepräsentiert sind (Marre et al., 2002). Eine wiederholte Empfindlichkeitsbestimmung gleicher Bakterienisolate (Copy-Stämme) kann durch die Auswahl nur eines Bakterienstammes einer Bakterienspezies aus dem jeweiligen Erkrankungsprozess vermieden werden (Bywater, 2000). Als Probennahmeverfahren werden die aktive und die passive Probensammlung unterschieden. Da die aktive, gezielte Probennahme mit einem teilweise nicht unerheblichen Arbeits- und Kostenaufwand verbunden ist, wird in vielen Studien auf Proben zurückgegriffen, die aufgrund mikrobiologischer Untersuchungen in diagnostischen Laboren vorhanden sind. Dieses Verfahren wird als passives Probennahmeverfahren bezeichnet (Franklin et al., 2001). Als Methoden der Durchführung werden Multicenterstudien und zentrale Studien unterschieden. Während bei der Multicenterstudie sowohl die Probensammlung als auch die Empfindlichkeitsbestimmung jeweils in den teilnehmenden Untersuchungseinrichtungen erfolgt, werden bei zentralen Studien alle Untersuchungen von einem Institut durchgeführt. Daneben sind auch Kombinationen, wie beispielsweise eine dezentrale Probensammlung und anschließende Empfindlichkeitsbestimmung in einer zentralen Einrichtung relevant.

2.6.3.2. Erregerauswahl

Bakterien können den Gruppen tierpathogene Erreger, Zooanthroponose-Erreger und Kommensalen zugeordnet werden. Um umfassende Erkenntnisse über die tatsächlich existierende Resistenzsituation zu erhalten, sollten Bakterienspezies aus allen drei Gruppen getestet werden (WHO, 1997; Anthony et al., 2001). Caprioli et al. (2000) nennen als wichtigste Vertreter aus der Gruppe der tierpathogenen Erreger *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., Enterobacteriaceae und Pasteurellaceae. Bei den Zooanthroponose-Erregern schlagen sie die Untersuchung von *Salmonella* spp. sowie *Campylobacter* spp. vor, und von den Kommensalen sollten nach der Meinung der Autoren *E. coli* und *Enterococcus* spp. in die Untersuchungen einbezogen werden.

2.6.3.3. Erregeridentifizierung

Da die Empfindlichkeitsprofile unterschiedlicher Bakterienspezies teilweise erheblich differieren, sind Aussagen über die Resistenzlage in verschiedenen Populationen nur dann zulässig, wenn die Erreger bis zur Speziesebene differenziert werden und für die Empfindlichkeitsbestimmung in Reinkultur vorliegen (Altreuther et al., 1997; Sahn und Tenover, 1997; White et al., 2001). Bei *Salmonella* spp. sollte zusätzlich eine Phänotypisierung vorgenommen werden, da die Resistenzeigenschaften auch zwischen den einzelnen Phänotypen zum Teil erheblich variieren (Sahn und Tenover, 1997; WHO, 1997; Franklin et al., 2001). Um die Reproduzierbarkeit und Vergleichbarkeit der Erregeridentifikation zu gewährleisten, sollte diese anhand einer festgelegten, allgemein anerkannten Methodik erfolgen (Stock et al., 2001). Vorgaben sind in den Normen und Arbeitsanweisungen wie beispielsweise des DIN und des AVID zu finden (DIN 58940, 1992-1996; AVID, 1999).

2.6.3.4. Auswahl der zu prüfenden Antibiotika

Die Einteilung der Antibiotika ist nach verschiedenen Gesichtspunkten möglich. Antibiotikagruppen lassen sich aufgrund ihrer chemischen Struktur, ihrer biologischen Herkunft oder anhand der therapeutischen Anwendung bilden. Antibiotika der gleichen Gruppe, beispielsweise Aminoglykoside, ähneln sich in ihrem Wirkungsmechanismus, haben ein ähnliches Wirkungsspektrum, führen häufig zu einer partiellen Kreuzresistenz und

besitzen ein ähnliches Toxizitätspotential. Für die meisten Antibiotikagruppen sind Vertretersubstanzen beschrieben, deren Charakteristika mit denen anderer Antibiotika der Gruppe vergleichbar sind.

Damit Aussagen zur Resistenz für ein möglichst breites Antibiotikaspektrum formuliert werden können, sind zur Prüfung zumindest die Vertretersubstanzen der einzelnen Gruppen auszuwählen. Als weitere Auswahlkriterien der zu prüfenden Antibiotika können deren Zulassung in der Veterinär- und Humanmedizin dienen (WHO, 1997). Das Spektrum der zu testenden Antibiotika ist außerdem anhand des vorgesehenen Bakterienspektrums auszuwählen (Franklin et al., 2001).

2.6.3.5. Tierart und Alter

Grundsätzlich sind in ein Resistenzmonitoring alle Tierarten einzuschließen, denen für die Resistenzentwicklung und -übertragung eine Bedeutung zukommt. Ist dies aufgrund des Untersuchungsumfanges nicht möglich, sollten zumindest die wichtigsten Lebensmittel liefernden Tierarten Rind, Schwein und Geflügel beprobt werden (WHO, 1997; Franklin et al., 2001). Weitere, nicht unwichtige Tierarten sind kleine Wiederkäuer, Kaninchen und Fische (Caprioli et al., 2000). Die Beprobung von Pferden und nicht Lebensmittel liefernden Tieren wie Hunden, Katzen und Heimtieren erscheint ebenfalls sinnvoll, wird aber aus Kostengründen in Monitoringstudien meistens vernachlässigt. Weiterhin sollten bei der Probensammlung Informationen über das Alter der Tiere erhoben werden, da die Ausprägung der bakteriellen Resistenz von Erregern aus Tiergruppen unterschiedlichen Alters variieren kann. Martel und Coudert (1993) konnten entsprechend bei Bakterienstämmen aus Kotproben von Kälbern höhere Resistenzquoten als bei älteren Tieren nachweisen. Moro et al. (1998) teilten vergleichbare Ergebnisse aus der Untersuchung von Schweinekotproben mit. Als Grund wird unter anderem ein mit zunehmendem Alter effektiverer Schutz durch die Magensäure angenommen, die mit der Nahrung aufgenommene Erreger angreift und deren Passage in den Darm verhindert.

2.6.3.6. Indikation und Probenmaterial

Da zwischen der Art der Erkrankung und der Resistenzausprägung der isolierten Erreger eine Abhängigkeit besteht, sollte die Zuordnung der Probennahme unter Berücksichtigung der

Indikation erfolgen. Auch ist das Probenmaterial derart auszuwählen, dass die für die Erkrankung ursächlichen Erreger in der Mehrzahl darin enthalten sind und eine Kontamination mit Begleitkeimen gering gehalten wird. Grundsätzlich eignet sich daher Probenmaterial vom Ort der Infektion. Sind zur Sektion Tierkörper vorhanden, ist die fachgerechte Probennahme in der Regel ohne Schwierigkeiten durchzuführen. Anders stellt sich die Situation beim lebenden Tier dar, da der Ort der Infektion nicht in jedem Fall zugänglich ist. In dieser Situation müssen entsprechend der Indikation Blut-, Kot-, Milch-, Spül- oder Tupferproben verwendet werden. Bei respiratorischen Erkrankungen von Rind und Schwein erfolgt die Erregerisolierung häufig aus Nasentupferproben. Entsprechend ist zu beobachten, dass die durch die Proben erfassten Erreger nicht in jedem Fall die für die Erkrankung ursächlichen sind. Eine von Schöss und Alt (1995) durchgeführte Studie zum Vergleich der Ergebnisse bakteriologischer Untersuchungen von Lungengewebe und Nasentupferproben vom Schwein zeigte, dass nur bei *Pasteurella (P.) multocida*, dem am häufigsten aus der Lunge isolierten Erreger, signifikante Übereinstimmungen von Lungengewebs- und Nasentupferproben zu finden waren. Für weitere Erreger wie *Mannheimia (M.) haemolytica*, *Bordetella (B.) bronchiseptica*, *A. pleuropneumoniae*, *S. aureus*, *Streptococcus* spp. und *E. coli* erschien die Untersuchung von Lungengewebe in jedem Fall verlässlicher. DeRosa et al. (2000) stellten dagegen bei einem Vergleich von aus Nasentupferproben und transtrachealen Tupferproben des Rindes isolierten *P. multocida*- und *M. haemolytica*-Isolaten eine gute Übereinstimmung der Keime sowohl hinsichtlich der Prüfung des Resistenzverhaltens als auch bei der Ribotypisierung fest.

Als Probenmaterial zur Isolierung von Kommensalen dienen im allgemeinen Kotproben, die in der Regel während des Schlachtvorganges entnommen werden (Franklin et al., 2001). Diesem Vorgehen liegt die Annahme zugrunde, dass das aus der Kotprobe isolierte Bakterienspektrum die beim Tier vorhandene Intestinalflora repräsentiert. Bywater (2000) schlussfolgert daraus, dass bei der Probennahme aus dem Kot in einem zeitlichen Abstand ähnliche Ergebnisse erzielt werden müssten. Untersuchungen von Corpet (1993) zeigten jedoch, dass das Erregerspektrum in Stuhlproben unter anderem durch die Nahrung beeinflusst wird. Bei Probanden, deren Nahrung sterilisiert wurde, konnte beispielsweise im Verlauf der Diät ein deutlicher Rückgang Tetracyclin-resistenter *E. coli* in den untersuchten Stuhlproben festgestellt werden. Nach Hinton et al. (1985) wiesen Kotproben von Kälbern, die in einem zeitlichen Abstand genommen wurden, ebenfalls starke Variationen im Keimspektrum auf, auch wenn bei den beprobten Tieren keine Antibiotikabehandlung

erfolgte. Ähnliche Beobachtungen konnten auch Lloyd et al. (1996) über die Prüfung caniner Staphylokokken aus Kotproben mitteilen. Die Ergebnisse lassen vermuten, dass sich das Erregerspektrum in Kotproben zum einen aus den für die intestinale Flora repräsentativen Bakterien, zum anderen aber auch aus Bakterien zusammensetzt, die über die Nahrung aufgenommen werden und den Intestinaltrakt lediglich passieren. Infolgedessen repräsentieren auch die im Schlachthof genommenen Kotproben nicht immer die natürlich vorhandene Intestinalflora, da das Keimspektrum durch Parameter wie Bildung neuer Tiergruppen, Umstellungen und Futterumstellungen beeinflusst wird. Eine Untersuchung der aus Kotproben vom Schlachthof isolierten Kommensalen im Rahmen des Resistenzmonitoring erscheint jedoch notwendig, da diese Keime zu einer Kontamination der Lebensmittel im Verarbeitungsprozess führen und somit als Überträger von Resistenzen fungieren können (Bywater, 2000).

2.6.3.7. Regionale und zeitliche Verteilung der Proben

Da angenommen wird, dass regionale und zeitliche Schwankungen die Resistenzlage beeinflussen, ist entsprechend eine über den Untersuchungszeitraum und das gesamte regionale Untersuchungsgebiet gleichmäßige Verteilung der Proben notwendig (Franklin et al., 2001). Die regionale Verteilung der in die Prüfung eingehenden Probenanzahl sollte sich dabei an den Tierbestandszahlen beziehungsweise an der regionalen Prävalenz einer Erkrankung orientieren. Eine Überprüfung der geographischen Probenverteilung kann unter anderem anhand von Adressenangaben der Herkunftsbetriebe gewährleistet werden. Auf der Basis der Angaben zur Identität des Tieres ist dann eine Beurteilung der Resistenzausbreitung durch Tierbewegungen möglich.

2.6.3.8. Schichtung der Grundgesamtheit der Proben nach Einflussvariablen

Um die Bedeutung epidemiologischer Parameter wie Herdengröße und Haltungsform auf die Resistenzentwicklung beurteilen zu können, ist ein Vergleich der Resistenzergebnisse in Bezug auf die einzelnen Parameter über einen längeren Zeitraum notwendig. Bei der Planung der Probensammlung ist entsprechend eine Schichtung der Grundgesamtheit nach solchen Variablen vorzunehmen, bei denen ein Einfluss auf die Resistenzsituation zu erwarten ist (Böttner et al., 2000).

2.6.3.9. Statistik

Bei der Planung einer Monitoringstudie müssen aus biometrischer Sicht zumindest der Hauptzielparameter und der Stichprobenumfang festgelegt werden (Glaser et al., 2002). Die Stichprobe bezeichnet die Anzahl von Proben aus einer Grundgesamtheit, anhand derer der Istzustand in der Grundgesamtheit möglichst genau beschrieben werden kann (Böttner et al., 2000). Unter der Annahme, dass der Zielparameter der Grundgesamtheit normalverteilt und die Varianz homogen ist, kann der Einfluss des Stichprobenumfanges auf die Aussagekraft der Ergebnisse berechnet werden. Der Stichprobenumfang ist dabei so zu wählen, dass die ermittelten Ergebnisse den wahren Wert in der Grundgesamtheit möglichst mit 90–95 %iger Sicherheit darstellen. Mit dem Wert des Stichprobenumfanges funktional verknüpft sind als statistische Kenngrößen das Signifikanzniveau, die Teststärke und die Effektgröße einer Studie. Das Signifikanzniveau und die Teststärke werden in der Wissenschaft per Konvention festgelegt, ($\alpha = 0,05$ und $1-\beta = 0,80$). Eine ähnliche Normierung zeichnet sich für die Vergabe von Effektgrößen ab (klein, mittel, groß). In der Varianzanalyse werden für kleine Effekte $f = 0,1$, für mittlere $f = 0,25$ und für große Effekte $f = 0,4$ festgelegt. Die Effektgröße bezeichnet z. B. den Unterschied der minimalen Hemmkonzentration von Jahr zu Jahr, der mindestens bestehen muss, um bedeutsam zu sein (Bock, 1998).

2.6.4. Möglichkeiten zur Darstellung von Ergebnissen

In wissenschaftlichen Veröffentlichungen erfolgt die Darstellung von Daten zur quantitativen Empfindlichkeitsbestimmung von Bakterien meist als Angabe der MHK_{50} beziehungsweise der MHK_{90} . Als MHK_{50} und MHK_{90} werden die Antibiotikakonzentrationen in mg/l angegeben, bei denen 50 % beziehungsweise 90 % der untersuchten Keime in ihrem Wachstum gehemmt werden. Der Vorteil dieser Art der Darstellung liegt in der Übersichtlichkeit und guten Vergleichbarkeit von Daten aus verschiedenen Studien (Wiedemann, 1998). Wird dagegen der prozentuale oder zahlenmäßige Anteil resistenter Stämme einer Population angegeben, ist ein Vergleich von Daten nur dann möglich, wenn der Beurteilung gleiche Grenzwerte zugrunde liegen (Witte und Klare, 1999). Sollen die Empfindlichkeitsverteilungen der Bakterienstämme innerhalb einer Population dargestellt werden, eignen sich Histogramme oder Tabellen mit Häufigkeitsverteilungen der minimalen Hemmkonzentrationen. Anhand dieser Darstellungsform sind die Veränderungen des Resistenzniveaus einer Erregerpopulation erkennbar (Wiedemann, 1998; O.I.E., 2001). Bei

der Darstellung der im Rahmen von Monitoringuntersuchungen ermittelten Daten sollten weiterhin Angaben über die Struktur der Monitoringstudie, über die verwendeten Labormethoden sowie über Parameter zur Charakterisierung des Untersuchungsmaterials gemacht werden (O.I.E., 2001).

2.6.5. Auswertung der Ergebnisse

Die in Monitoringstudien erhobenen Daten müssen geeignet sein:

- Die Resistenzlage bei Mikroorganismen und deren Veränderung zu erfassen.
- Resistenzmechanismen zu erkennen und regionale Resistenzunterschiede darzustellen.
- Epidemiologische Zusammenhänge über den Stand, die Entwicklung und die Ausbreitung bakterieller Resistenzen abzuleiten.
- Eine Informationsgrundlage zu bilden, anhand derer soziale, rechtliche, ethische und wirtschaftliche Konsequenzen der Bildung von Antibiotikaresistenzen abzuschätzen sind.
- Eine Basis für ein effizientes Risikomanagement im Sinne eines vorbeugenden gesundheitlichen Verbraucherschutzes zu bilden.
- Die Notwendigkeit einer Neubewertung des Antibiotikaeinsatzes zu beurteilen (Sahm und Tenover, 1997; WHO, 1997; Caprioli et al., 2000; Franklin et al., 2001).

2.6.6. Praktische Umsetzung von Monitoring-Programmen

Trotz der zahlreichen Konferenzen und Berichte zum Resistenzproblem und den Empfehlungen zu diesem Thema sowohl von politischen als auch politisch unabhängigen Organisationen auf nationaler und internationaler Ebene (WHO, 1997; House of Lords, 1998; Rosendahl und Pedersen, 1998; EMEA, 1999; Europäische Kommission, 1999; O.I.E., 2001), in denen die Bedeutung von Monitoring-Programmen zur Resistenzsituation und der Datensammlung zu den eingesetzten Antibiotikamengen als wesentlicher Bestandteil des Risikoassessments hervorgehoben werden, erfolgt die praktische Umsetzung aufgrund eines teilweise sehr umfassenden Organisations- und Kostenaufwandes bisher nur sehr begrenzt (Caprioli et al., 2000; Gould, 2000).

2.6.7. Erfassung der Resistenzsituation bei tierpathogenen Erregern in Deutschland

Für den Bereich der tierpathogenen Erreger existiert in Deutschland bisher kein offizielles Monitoring-Programm. Lediglich wurden einige zum Teil bundesweite, zum Teil regional begrenzte Resistenzstudien mit einer geringen Anzahl von Erregern durchgeführt.

Nach den Mitteilungen von Trolldenier (2001) sowie Trolldenier und Wagner (2001) und Trolldenier und Kempf (2001) wurden in deren Studien insgesamt 259 *E. coli*-Stämme, 246 *S. aureus*- und *S. intermedius*-Stämme sowie 172 *P. multocida*- und *M. haemolytica*-Stämme aus 24 veterinärdiagnostischen Laboren Deutschlands im BgVV auf ihre Empfindlichkeit gegen 16 Antibiotika geprüft. Parallel zur Bestimmung der Hemmhofdurchmesser mit Hilfe des Agar-Diffusionstestes wurden auch die minimalen Hemmkonzentrationen mit der Methode der Mikro-Bouillonverdünnung ermittelt. Die Bewertung erfolgte nach der in der Arbeitsanweisung zur Resistenzbestimmung schnell wachsender Bakterien sowohl für die Hemmhofdurchmesser als auch für die minimale Hemmkonzentration angegebenen Grenzwerte des AVID und den Angaben des DIN (DIN, 1992-1996; AVID, 1999). Angaben zur Herkunft der Erreger, zur Bestandsgröße, zum Alter der Tiere, zur Art der Erkrankung und zum Probenmaterial wurden, soweit sie den Laboren bekannt waren, auf einem Erfassungsbogen vermerkt, jedoch in den Publikationen nicht veröffentlicht.

Ergebnisse einer bundesweiten Studie zur Erregerverteilung und *in vitro*-Resistenz euterpathogener Bakterien aus subklinischen Mastitiden teilten auch Sorbiraj et al. (1997) mit. Insgesamt wurde bei 1644 Viertelgemelksproben der Zellgehalt überprüft und eine bakteriologische Untersuchung durchgeführt. Die Empfindlichkeit der isolierten Erreger wurde anschließend mit der Agar-Diffusionsmethode ermittelt. Die Bewertung der Ergebnisse erfolgte nach den in den DIN- und den WHO-Vorschriften angegebenen Grenzwerten.

In der Region Weser-Ems, einem Gebiet mit intensiver Tierproduktion, wurden von Lotthammer und Klarmann (1999) in den Jahren 1994-1997 Resistenzraten im Untersuchungsmaterial von Rindern und Schweinen mit Hilfe der Mikro-Bouillondilution ermittelt. Es wurden unter anderem die Prozentsätze resistenter *Streptococcus (Sc.) agalactiae* und *S. aureus*-Stämme aus Milchproben vom Rind sowie resistenter *P. multocida* aus

Nasentupferproben vom Schwein für die Jahre 1994 bis 1997 dargestellt, jedoch finden sich keine Angaben zu den verwendeten Grenzwerten.

In den Untersuchungen von Krabisch et al. (1999) wurden bayrische Milchviehherden von August 1997 bis April 1998 beprobt und insgesamt 2544 Bakterienstämme isoliert, identifiziert und mit der MHK-Bestimmung auf ihre Sensibilität geprüft. Die Proben stammten von Tieren aus 685 randomisiert ausgewählten Herden beziehungsweise wurden in 295 weiteren Herden Milchproben von Tieren mit Mastitisproblemen gewonnen.

Eine vergleichende Darstellung der Ergebnisse der beschriebenen Studien ist unter anderem deshalb nicht sinnvoll, weil die Untersuchungen auf der Basis unterschiedlicher Methoden durchgeführt und die zur Beurteilung herangezogenen Grenzwerte zum Teil nicht angegeben wurden beziehungsweise zwischen den unterschiedlichen Studien differieren.

3. Material und Methoden

(Die Zusammensetzung der verwendeten Nähr- und Testmedien sowie die Bezugsquellen der Testsysteme und Reagenzien sind im Anhang erläutert)

3.1. Studienumfang und Stichprobenplan

Die Studie zur Erfassung der *in vitro*-Empfindlichkeit tierpathogener Bakterien von landwirtschaftlichen Nutztieren in Deutschland wurde vom Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL), ehemals Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV), durchgeführt. In der Studie sollten tierpathogene Erreger bei den Erkrankungen "akute Mastitis des Rindes" und "respiratorische Erkrankungen des Mastschweines" untersucht werden.

Als Zielkeime bei der akuten Mastitis wurden *E. coli*, *S. aureus*, koagulasenegative *Staphylococcus* (KNS) spp. und *Streptococcus* spp. (zumindest *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* und *S. uberis*) festgelegt. Das entsprechende Probenmaterial sollte aus Sekret von grobsinnlich veränderten Viertelgemelksproben zu Beginn der Erkrankung isoliert worden sein.

Als Zielbakterien bei den respiratorischen Erkrankungen des Mastschweines wurden *P. multocida* und *M. haemolytica* ausgewählt. Die Keime sollten aus Lungengewebe oder Nasentupferproben von akut erkrankten Mastschweinen stammen.

Nach den Vorgaben im Stichprobenplan war von den teilnehmenden Kooperationsinstitutionen in jeder Monitoring-Kalenderwoche jeweils eine Bakterienkultur für jede(n) Zielkeim(-gruppe) einzusenden. Wurden bei der "akuten Mastitis des Rindes" aus einer Viertelgemelksprobe verschiedene koagulasenegative *Staphylococcus* spp. beziehungsweise *Streptococcus* spp. isoliert, so sollten diese insgesamt in das Monitoring eingeschlossen werden. Rechnerisch wurden sie als "ein Isolat" der Zielkeimgruppe koagulasenegative *Staphylococcus* spp. beziehungsweise *Streptococcus* spp. gewertet. Grundsätzlich war festgelegt worden, dass in jeder Monitoring-Kalenderwoche die erste positive Probe bezogen auf den Zielkeim für das Resistenzmonitoring auszuwählen ist. Bei

mehreren positiven Viertelgemelksproben einer Kuh sollte die Festlegung der einzubeziehenden Probe grundsätzlich in der Reihenfolge: 1. Euterviertel vorne links, 2. Euterviertel vorne rechts, 3. Euterviertel hinten rechts und 4. Euterviertel hinten links erfolgen. War die Isolierung des(der) Zielkeimes(e) in einer Kalenderwoche nicht möglich, sollte auch in der folgenden Woche ausschließlich nur die erste positive Probe bezogen auf den(die) Zielkeim(e) für das Resistenzmonitoring ausgewählt werden. Bakterienstämme aus Milchproben mit mehr als zwei unterschiedlichen Bakterienspezies sollten nicht eingesandt werden, da bei Bakterienwachstum von mehr als zwei unterschiedlichen Bakterienspezies aus einer Viertelgemelksprobe nach der Definition des National Mastitis Council (NMC) eine Kontamination der Milchprobe vorliegt (NMC, 1999). Bakterienkulturen von in dem jeweiligen Erkrankungsprozess antibiotisch vorbehandelten Tieren sollten ebenfalls ausgeschlossen werden. Um mögliche weitere Selektionsverzerrungen, sogenannte "Bias", weitestgehend zu vermeiden, wurden im Stichprobenplan weitere Vorgaben zur Herkunft der Proben und zur regionalen Verteilung der Proben festgelegt.

3.2. Teilnehmende Kooperationseinrichtungen

Im Rahmen der Studienplanung wurden Veterinäruntersuchungsämter und Tiergesundheitsdienste aller Bundesländer angeschrieben und um die freiwillige, kostenneutrale Mithilfe bei der Umsetzung des Projektes gebeten. Aufgrund mangelnden Probenaufkommens beziehungsweise durch Strukturveränderungen in den Ländern nahmen jedoch nicht alle angesprochenen Institute an der Studie teil. Die externen Projektteilnehmer sind in Tabelle 1 (Anhang) aufgelistet.

3.3. Herkunft der Proben

Um die Prüfung sogenannter "Copy-Stämme" auszuschließen, sollte während der Studie aus jeder Herde nur jeweils ein Bakterienisolat der gleichen Spezies eingesandt werden.

3.4. Regionale Verteilung der Bakterienisolate

Eine gleichmäßige regionale Verteilung der Bakterienisolate war durch die Festlegung zu der aus jedem Bundesland beziehungsweise aus jedem Regierungsbezirk einzusendenden Probenanzahl gewährleistet. Im vorgegebenen Studienzeitraum von sieben Monaten sollten je

Bundesland insgesamt 25 Bakterienkulturen jeder Zielkeimgruppe eingesandt werden. Die Anzahl der jeweils aus den Regierungsbezirken eines Bundeslandes einzusendenden Bakterienkulturen wurde entsprechend des Anteiles an Milchkühen beziehungsweise Mastschweinen (Statistisches Bundesamt, 1999), bezogen auf die Gesamtzahl der gehaltenen Milchkühe oder Mastschweine des entsprechenden Bundeslandes, errechnet.

3.5. Begleitbogen für die Bakterienisolate

Zu jeder Bakterienkultur wurden, wie im Studiendesign beschrieben, zusätzlich zum Ergebnis der Erregeridentifizierung von den Kooperationseinrichtungen weitere Angaben zu dem jeweiligen Bakterienstamm in einem Begleitbogen eingetragen (Abb. 2, Anhang). Folgende Mitteilungen waren in diesem Zusammenhang als "knock-out" Parameter definiert worden: (1) Anschrift des Labors, (2) externe Probenidentifizierungsnummer, (3) Datum der Isolierung, (4) Ortsangabe des Herkunftsbetriebes, (5) Bestandsnummer, (6) Tierart, (7) Indikation und (8) Probenmaterial. Ein Fehlen dieser Informationen führte im BVL automatisch zum Ausschluss der entsprechenden Bakterienkultur aus der Studie. Aufgrund der Tatsache, dass die Bestandsnummer der Herkunftsherde den Kooperationseinrichtungen häufig nicht bekannt war, wurde für diese Fälle eine Sonderregelung getroffen. Es wurden danach auch die Bakterienkulturen in die Studie einbezogen, wenn durch die vollständige Adressenangabe ein Ausschluss von "Copy-Stämmen" gewährleistet werden konnte. Die Angaben zur Herdengröße, zur Haltungsform, zum Alter und zum Gewicht der Tiere, zum klinischen Vorbericht, zu postmortalen Befunden sowie Mitteilungen zur generellen Anwendung von Antibiotika bei den beprobten Tieren beziehungsweise zum Einsatz von antimikrobiell wirksamen Substanzen im entsprechenden Bestand konnten von den Kooperationseinrichtungen auf freiwilliger Basis gemacht werden.

3.6. Stammmaterial

Die in dieser Arbeit verwendeten Bakterienstämme wurden im Rahmen der vom BVL durchgeführten Studie gesammelt und untersucht.

3.7. **Bearbeitung der Proben im BVL**

Nach dem Eingang der Proben im BVL wurde zunächst jede Bakterienkultur mit einer fortlaufenden Eingangsnummer versehen, in der zusätzlich das Eingangsdatum enthalten war. Anhand der auf dem Erfassungsbogen vorhandenen Angaben zu Postleitzahl und Ort der Herkunftsherde der Bakterienkultur wurde jeder eingesandten Probe zusätzlich eine Schlüsselnummer zugeordnet. Diese Identifizierungsnummer kodiert das Bundesland, den Regierungsbezirk, den Kreis und den Ort und wurde dem Gemeindeverzeichnis des Statistischen Bundesamtes (Ausgabe 2000) entnommen.

3.8. **Kultivierung der eingesandten Bakterienisolate**

Die auf unterschiedlichen Transportmedien eingesandten Bakterienkulturen wurden im BVL auf Standard-I-Nähragar mit Zusatz von 5 % defibriniertem Schafblut im Verdünnungsausstrich kultiviert. Bei Anzucht von Mischkulturen erfolgte eine weitere Subkultivierung der nach den Angaben des Einsenders morphologisch infrage kommenden Bakterienkolonien bis zur Reinkultivierung. Mit diesen Bakterienreinkulturen wurde anschließend die biochemische Identifizierung durchgeführt. Für die Aufbewahrung und die spätere MHK-Bestimmung dienten Stammkulturen, die unter Verwendung des Cryobank-Systems (Mast Diagnostica) bei -80°C eingefroren wurden.

3.9. **Identifizierungsmerkmale für die eingesandten Bakterienisolate**

Die Spezieszugehörigkeit der Bakterienstämme wurde nach den Angaben von Sneath und Stevens (1990) und Quinn et al. (1999) überprüft. Für eine Beurteilung von Koloniemorphologie und Hämolysemuster wurden jeweils Einzelkolonien der Bakterien auf Standard-I-Nähragar mit 5 % defibriniertem Schafblut bewertet. Die Zellmorphologie der Bakterien wurde anhand der mikroskopischen Darstellung gramgefärbter Präparate beurteilt.

3.9.1. ***Escherichia coli***

E. coli-Stämme wachsen auf Standard-I-Nähragar mit 5 % defibriniertem Schafblut unter Ausbildung einer β - oder γ -Hämolyse. Im gramgefärbten Präparat stellen sie sich als gramnegative Stäbchen dar. Zum Nachweis der Lactoseverwertung wurde das Wachstum der

Bakterienkultur auf Gassner-Agar beurteilt. *E. coli*-Stämme zeichnen sich durch die Fähigkeit der Säurebildung beim Abbau des Zuckers aus. Dieser wird durch den Farbumschlag des Indikators nach gelb angezeigt. Die biochemische Speziesdifferenzierung erfolgte unter Verwendung des kommerziell erhältlichen Identifizierungssystems ID 32 E (bio-Merieux). Die Auswertung wurde anhand der vom Hersteller zur Verfügung gestellten Computersoftware vorgenommen.

3.9.2. *Staphylococcus*-Spezies

Auf Standard-I-Nähragar mit 5 % defibriniertem Schafblut bilden die *Staphylococcus* spp. eine β - oder γ -Hämolyse aus und stellen sich im Grampräparat als grampositive Kokken dar. Zum Katalasenachweis wurden auf einem sauberen Objektträger ca. 3-5 Bakterienkolonien in 3 %iger H_2O_2 -Lösung verrieben. Bei positiver Katalasereaktion zeigt Gasbildung die Spaltung von H_2O_2 in Wasser und Sauerstoff an. Die Aktivität der freien Koagulase wurde mit Hilfe eines Staphylase-Testsystems (Oxoid) gemäß den Angaben des Herstellers überprüft. Das Vorhandensein freier Koagulase bewirkt eine Koagulation der Testsubstanz. Zum Nachweis der zellgebundenen Koagulase wurden ca. 3-5 Bakterienkolonien in 0,3 ml citratstabilisiertem Humanplasma (DRK) suspendiert und 24 Stunden bebrütet. Die Aktivität der zellgebundenen Koagulase bewirkt die Koagulation des Blutplasmas. Zur Abgrenzung von *S. equorum*, *S. gallinarum*, *S. lentus*, *S. saprophyticus* und *S. sciuri* wurde die Empfindlichkeit gegenüber Novobiocin mit Hilfe des Agar-Diffusionstestes überprüft. Ein Hemmhofdurchmesser kleiner 15 mm zeigt Resistenz und somit Zugehörigkeit zu einer der oben genannten Spezies an. Für die biochemische Speziesdifferenzierung wurde das kommerziell erhältliche Identifizierungssystem ID 20 STAPH (bio-Merieux) verwendet. Die Auswertung erfolgte anhand der vom Hersteller zur Verfügung gestellten Computersoftware.

3.9.3. *Streptococcus*-Spezies

Bakterien der Gattung *Streptococcus* wachsen auf Standard-I-Nähragar mit 5 % defibriniertem Schafblut unter Ausbildung einer α -, β - oder γ -Hämolyse. Im gramgefärbten Präparat stellen sie sich als grampositive Kokken dar. Zum Katalasenachweis wurden ca. 3-5 Bakterienkolonien in 3 %iger H_2O_2 -Lösung verrieben. Bei positiver Katalasereaktion zeigt Gasbildung die Spaltung von H_2O_2 in Wasser und Sauerstoff an. Die serologische Zugehörigkeit zu einer Lancefield-Gruppe wurde mit Hilfe eines Streptokokken-Grouping-

Kits (Oxoid) gemäß den Angaben des Herstellers bestimmt. Für die biochemische Speziesdifferenzierung wurde das kommerziell erhältliche Identifizierungssystem rapid-ID 32 Strep (bio-Merieux) eingesetzt. Die Auswertung erfolgte anhand der vom Hersteller zur Verfügung gestellten Computersoftware.

3.9.4. *Pasteurella multocida* und *Mannheimia haemolytica*

Auf Standard-I-Nähragar mit 5 % defibriniertem Schafblut bilden *P. multocida*-Stämme eine γ -Hämolyse und die *M. haemolytica*-Stämme eine β -Hämolyse aus. Im Grampräparat stellen sie sich als gramnegative, teils kokkoide Stäbchen dar. Für den Katalasenachweis wurden auf einem sauberen Objektträger ca. 3-5 Bakterienkolonien in 3 %iger H_2O_2 -Lösung verrieben. Bei positiver Katalasereaktion zeigt Gasbildung die Spaltung von H_2O_2 in Wasser und Sauerstoff an. Die Aktivität bakterieller Oxidasen wurde mit Hilfe des Bactident-Oxidase-Testsystems (Merck) gemäß den Angaben des Herstellers überprüft. Bakterielle Cytochromoxidasen sind in der Lage, in Anwesenheit von molekularem Sauerstoff eine Reihe von organischen Substanzen zu reduzieren, unter anderem ein Reagenz aus 1-Naphtol und Dimethylparaphenylendiamin. Das bei der Reaktion entstehende Kondensationsmolekül Indophenolblau färbt die Reaktionszone des Teststäbchens blau und zeigt damit eine positive Reaktion an. Zur Abgrenzung von *M. haemolytica* wurde die Fähigkeit der Bakterien zum Wachstum auf McConkey-Agar, das heißt in Anwesenheit von Gallensalzen und Lactose, kontrolliert. Das Wachstum auf den Platten wurde nach 24 und 36 Stunden Bebrütungsdauer ausgewertet. Positives Bakterienwachstum zeigt die Zugehörigkeit zu der oben genannten Bakterienspezies an. Die biochemische Speziesdifferenzierung wurde zunächst mit Hilfe der kommerziell erhältlichen Identifizierungssysteme ID 32 E und API 20 N (bio-Merieux) durchgeführt. Da die Ergebnisse jedoch nicht in jedem zu prüfenden Fall als eindeutig beurteilt werden konnten, wurde die Speziesbestimmung der Bakterienkulturen zudem mit Hilfe einer modifizierten "Bunten Reihe" vorgenommen. Die Fähigkeit der Bakterien zur Reduktion von Nitrat zu Nitrit wurde durch den Nitratreduktionstest bestimmt. Hierzu wurden 3 ml einer Nitratbouillon mit 3-5 Bakterienkolonien beimpft, über 24 Stunden bebrütet und anschließend mit 0,1 ml Gries-Ilosvay-Reagenz versetzt. Die positive Reaktion zeigt sich durch eine Rotfärbung des Mediums. Sofern sich keine Verfärbung einstellt, kann dies für eine negative Reaktion sprechen oder aber bedeuten, dass die Nitrate zu anderen Produkten als Nitriten reduziert wurden, wie beispielsweise NH_3 , NO , N_2O oder Hydroxylamin. Da das Testreagenz nur Nitrite detektiert, ist es notwendig, die vermeintlich in ihrer Reaktion

negativen Ansätze mit einer kleinen Menge Zinkstaub zu versetzen. Zinkionen reduzieren Nitrate zu Nitriten. Eine Rotfärbung nach Zugabe von Zinkstaub zeigt die Präsenz von Nitraten und bestätigt somit eine negative Reaktion. Für eine Prüfung der Indolbildung, das beim bakteriellen Abbau von Tryptophan entsteht, wurden 3 ml einer Indol-Hottinger-Bouillon mit 3-5 Bakterienkolonien beimpft und über 24 Stunden bebrütet. Nach Zugabe von einem Tropfen Kovacs-Reagenz zeigt ein roter Ring eine positive Reaktion an. Durch die Beimpfung von Harnstoff-Dextrose-Schrägagar-Röhrchen wurde die Harnstoffspaltung (Ureasebildung) nachgewiesen. Bei hydrolytischer Spaltung von Harnstoff entsteht Ammoniumcarbonat, wodurch sich der pH-Wert zur alkalischen Seite hin verschiebt. Ein Farbumschlag des durch den Indikator grün gefärbten Mediums nach blau bestätigt die positive Reaktion. Die Möglichkeit der Bakterien, die Aminosäure L-Ornithin zu decarboxylieren, wurde durch den Ornithindecaboxylase-Test ermittelt. Dazu wurden 5 ml einer Ornithindecaboxylase-Testbouillon mit 3-5 Bakterienkolonien beimpft und mit Paraffin 1,5 cm hoch überschichtet. Die bei der Spaltung als Produkte entstehenden Amine und CO₂ führen zu einer Erhöhung des pH-Wertes und damit zu einem Farbumschlag des Mediums nach rosa. Eine negative Reaktion wird durch Gelbfärbung der Bouillon angezeigt. Für den Nachweis einer Äskulinhydrolyse in die Spaltprodukte Glukose und Äskuletin wurden zwei Tropfen einer 10 %igen Eisen(III)-citratlösung zu 3 ml einer mit 3-5 Bakterienkolonien beimpften und 24 Stunden bebrüteten Äskulin-Bouillon pipettiert. Im Falle einer positiven Reaktion reagiert das Äskuletin mit Eisencitrat zu einem schwarzen Komplex. Zum Nachweis der Säurebildung beim Umsetzen verschiedener Kohlenhydrate wurden 3 ml einer Hottinger-Bouillon, die mit 1 % des jeweils zu testenden Kohlenhydrates versetzt worden war, mit 3-5 Bakterienkolonien beimpft und 18-24 Stunden bebrütet. Die bei einem Abbau der Kohlenhydrate entstehenden Säuren führen zu einem Farbumschlag des Indikators Bromthymolblau nach gelb. Diese Reaktion wird als positiv bewertet. In die Auswertung der biochemischen Reaktionen wurde die Säurebildung aus L-Arabinose, Dulcitol, Galaktose, Laktose, Maltose, Mannose, Melibiose, Salicin, D-Sorbitol, Trehalose und D-Xylose einbezogen. Die Fähigkeit der Bakterien zum fermentativen Glukoseabbau wurde geprüft, indem ein Röhrchen mit glukosehaltiger Hottinger-Bouillon nach der Beimpfung mit 3-5 Bakterienkolonien mit Paraffin überschichtet wurde (O/F-Test). Der Nachweis der Gasbildung beim Abbau von Glukose erfolgte durch ein in das kohlenhydrathaltige Medium eingebrachtes Glasröhrchen nach Durham (Merck). Eine Auswertung der Reaktionen erfolgte, falls im Text nicht anders angegeben, nach einer Bebrütungsdauer von 24 und 48 Stunden bei einer Inkubationstemperatur von 37°C.

Tab. 2: Charakteristika von *P. multocida* und *M. haemolytica*

| Eigenschaft | <i>P. multocida</i> , <i>M. haemolytica</i> | |
|----------------------------------|---|-----------------------|
| | gramnegative, kokkoide Stäbchen | |
| | <i>P. multocida</i> | <i>M. haemolytica</i> |
| Zellmorphologie/Gramverhalten | gramnegative, kokkoide Stäbchen | |
| Hämolyse | γ | α, γ |
| Katalase | + | + |
| Oxidasebildung | + | + |
| Wachstum auf McConkey-Agar | d | + |
| Nitratreduktion | + | + |
| Indolbildung | (+) | - |
| Ureasebildung | - | - |
| Ornithindecaboxylasebildung | d | - |
| Äskulinhydrolyse | - | d |
| Säurebildung aus: | | |
| L-Arabinose | d | d |
| Dulcitol | - | (-) |
| Galaktose | + | + |
| Laktose | - | d |
| Maltose | (-) | + |
| Mannitol | (+) | + |
| Mannose | + | (-) |
| Melibiose | (-) | - |
| Salicin | - | (-) |
| D-Sorbitol | d | + |
| Trehalose | d | - |
| D-Xylose | d | + |
| Fermentative Glukosespaltung | + | + |
| Gasbildung durch Glukosespaltung | - | - |

+: ≥ 90 % der Isolate reagieren positiv; (+): 80-89 % der Isolate reagieren positiv; d: 21-79 % der Isolate reagieren positiv; (-): 11-20 % der Isolate reagieren positiv; -: ≤ 10 % reagieren positiv

3.10. Bestimmung der Antibiotikaempfindlichkeit

Die Empfindlichkeitsbestimmung der Bakterienstämme gegenüber verschiedenen Antibiotika wurde unter Verwendung der Mikro-Bouillondilutionsmethode durchgeführt. Als Testsystem dienten kommerziell erhältliche Mikrotiterplatten (MCS Diagnostics), die mit den antimikrobiellen Wirkstoffen in lyophilisierter Form beschichtet waren. Die Ablesung der Mikrotiterplatten erfolgte makroskopisch mit Hilfe eines halbautomatischen Systems (SensiTouch, MCS Diagnostics).

3.10.1. Mikro-Bouillondilutionsmethode

Die Durchführung des Mikro-Bouillondilutionstestes erfolgte entsprechend den Angaben des National Committee for Clinical Laboratory Standards, Approved Standard M31-A2 (NCCLS, 2002).

Die zu prüfenden Bakterienkulturen wurden rekultiviert, indem aus den entsprechenden Stammröhrchen der Cryobank jeweils ein bakterienbeladenes Plastikkügelchen entnommen und auf Standard-I-Nähragar mit Zusatz von 5 % defibriniertem Schafblut ausgestrichen wurde. Um das Auftauen der Cryobank-Röhrchen weitgehend zu verhindern, wurden diese außerhalb des Gefrierschranks in einem auf -80°C gekühlten Metallblock transportiert und aufbewahrt. Nach 18-24stündiger Bebrütung des rekultivierten Bakterienstammes bei 37°C wurde eine zweite Subkultur im Verdünnungsausstrich angelegt, um die Vitalität der Bakterienkulturen zu verbessern und die Reinheit der Bakterienkulturen zu überprüfen.

Zur Herstellung des Inokulums für die Mikrotiterplatten wurden von der zweiten Subkultur 3-5 gleichartige, einzeln wachsende Kolonien mit der Platinöse abgenommen und in 3 ml physiologischer Kochsalzlösung gleichmäßig suspendiert. Die Dichte der Keimsuspension wurde auf McFarland Standard 0,5 eingestellt und nachfolgend mit dem Densimat (bio-Merieux) kontrolliert. Von dieser Keimsuspension wurden, um ein Inokulum mit einer Bakterienkonzentration von 5×10^5 KBE/ml zu erhalten, 50 µl in 10-11 ml kationenausgeglichene Mueller-Hinton-II-Bouillon pipettiert und anschließend gut homogenisiert. Um Fehler durch ein Bewachsen des Inokulums zu vermeiden, erfolgte die Beschickung der Mikrotiterplatte zur Sensibilitätsprüfung innerhalb von 15 Minuten. Mit einer elektronischen Pipette (Eppendorf) wurden in jede Vertiefung der Mikrotiterplatte 50 µl

des Inokulums pipettiert. Nach Beschickung der Mikrotiterplatten wurden diese mit einer Klebefolie verschlossen und die Platten bei 35°C 16-20 Stunden bebrütet. Die Auswertung von Oxacillin für *Staphylococcus* spp. erfolgte nach 24- und 48stündiger Bebrütungszeit.

Positives Bakterienwachstum zeigte sich als Ansammlung von Zellen auf dem Boden der Vertiefungen der Mikrotiterplatten. Die minimale Hemmkonzentration wurde entsprechend der Definition bei der niedrigsten Konzentrationsstufe des Antibiotikums festgelegt, die sichtbares Wachstum verhindert. Bei Sulfonamiden entspricht die minimale Hemmkonzentration der Konzentrationsstufe, bei der das Wachstum im Vergleich zur Positivkontrolle um 80-90 % verringert ist.

3.10.2. Qualitätssicherung zur Methodendurchführung

Im Rahmen der Qualitätssicherung bei der Durchführung der Mikro-Bouillonverdünnungsmethode wurden das Wachstum der Bakterienstämme sowie die Reinheit und die Keimdichte des Inokulums überprüft. Zusätzlich wurden bei jedem Testdurchlauf neben den Prüfstämmen zwei Referenzstämme mitgeführt.

Zur Wachstumskontrolle dienten auf jeder Mikrotiterplatte zwei Vertiefungen, in denen kein Antibiotikum enthalten war. Der jeweilige Test wurde nur dann als gültig gewertet, wenn nach der Inkubation in diesen Vertiefungen ein deutliches Bakterienwachstum erkennbar war. Um die Reinheit des Inokulums zu überprüfen, wurde nach der Beschickung jeder Mikrotiterplatte ein Tropfen des Inokulums mit der Platinöse aufgenommen, auf Standard-I-Nähragar mit Zusatz von 5 % defibriniertem Schafblut ausgestrichen und 18-24 Stunden bebrütet.

Die Keimdichte der Keimlösung wurde anhand von Keimzahlbestimmungen überprüft. Dazu wurde bei jedem fünften Test eine 1:1000 Verdünnung des Inokulums angelegt und 100 µl dieser Verdünnung auf Standard-I-Nähragar mit Zusatz von 5 % defibriniertem Schafblut ausgespatelt, 18-24 Stunden bebrütet und anschließend durch die Auszählung der gewachsenen Bakterienkolonien die Inokulumkeimkonzentration ermittelt. Des Weiteren wurde bei jedem Testdurchlauf eine 1:4 Verdünnungsreihe über 10 Stufen angelegt und ausgewertet.

Eine Bewertung aller im jeweiligen Testdurchlauf geprüften Bakterienstämme wurde nur dann vorgenommen, wenn die minimale Hemmkonzentration der jeweiligen Referenzstämme in dem vom Plattenhersteller angegebenen Referenzbereich lag. Als Referenzstämme für die Resistenzbewertung dienten: *E. coli* ATCC 25922 und *S. aureus* ATCC 25923.

Nach Abschluß der Untersuchungen im Rahmen dieser Monitoringstudie nahm der Laborbereich "Nationales Resistenzmonitoring bei tierpathogenen Erregern" des BVL im Rahmen der Qualitätsprüfung an einem von der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG) initiierten Ringversuch teil, bei dem die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse der Empfindlichkeitsprüfung bei der Verwendung des Mikro-Bouillondilutionstestes überprüft wurde. Die Methodendurchführung erfolgte dabei nach Angaben des NCCLS, Approved Standard M31-A2 (NCCLS, 2002).

3.10.3. Auswahl der geprüften Antibiotika

Die Auswahl der zu prüfenden Antibiotika erfolgte zum einen anhand der Zulassung der Substanzen in der Veterinärmedizin und der therapeutischen Anwendung, zum anderen wurden auch ausschließlich für die Humanmedizin zugelassene Antibiotika einbezogen. Für Gruppen von Antibiotika mit ähnlichem Wirkungsmechanismus und Wirkspektrum wurden jeweils Vertretersubstanzen geprüft. Im übrigen wurden Antibiotika ausgewählt, die Kreuzresistenzen zu therapeutisch genutzten Wirkstoffen selektieren. Die gegenüber dem jeweiligen Zielkeim geprüften Antibiotika sind in Tabelle 3 dargestellt. Die Belegung der Mikrotiterplatten mit den entsprechenden Antibiotika sowie die für jedes Antibiotikum zu prüfenden Verdünnungsstufen wurden in der Studienvorbereitung festgelegt. Zulassungsangaben der geprüften Antibiotika in der Human- und/oder Veterinärmedizin in Deutschland sowie weitere Zulassungseigenschaften der Wirkstoffe sind in Tabelle 4 aufgelistet.

Tab. 3: Geprüfte Antibiotika mit Zuordnung der Zielkeime

| Zielkeim | Antibiotika |
|---|---|
| <i>E. coli</i> | AUG, AMP, XNL, CEP, COL, ENRO, FFN, FLUQ, GEN, NAL, NEO, NIT, STR, TET, SXT |
| <i>Staphylococcus</i> -Spezies | AUG, AMP, AVL, CEP, CHL, CLI, ENRO, ERY, GEN, OXA, PEN, SYN, STR, TET, SXT, VAN |
| <i>Streptococcus</i> -Spezies | AMP, AVL, CHL, ERY, PEN, TET, SXT, VAN |
| <i>P. multocida</i> , <i>M. haemolytica</i> | AUG, AMP, CQN, XNL, CEP, ENRO, FFN, FLUQ, GEN, NAL, OXA, STR, TET, SXT |

Tab. 4: Zulassungsstatus der geprüften Antibiotika in der Human- und/oder Veterinärmedizin in Deutschland (Stand: Dezember 2002)

| Wirkstoffgruppe | Geprüftes Antibiotikum | Zulassung in der Veterinärmedizin | Zulassung in der Humanmedizin | Anmerkung |
|-----------------|-----------------------------|--------------------------------------|-------------------------------|---|
| Aminoglykoside | Gentamicin | Rind: O,I,U Schwein: O,I | zugelassen | Vertreter für neuere Aminoglykoside |
| | Neomycin | Rind: O,I,T Schwein: O,I,T | zugelassen | |
| | Streptomycin | Rind: I Schwein: I | zugelassen | Vertreter für ältere Aminoglykoside |
| Amphenicole | Chloramphenicol | nicht zugelassen (Rind, Schwein) | zugelassen | |
| | Florfenicol | Rind: I Schwein: I | nicht zugelassen | |
| β-Lactame | Amoxicillin / Clavulansäure | Rind: O,I Schwein: I | zugelassen | Vertreter der Kombination h, v |
| | Ampicillin | Rind: O,I,M Schwein: O,I | zugelassen | Vertreter Aminobenzyl-Penicilline |
| | Oxacillin | Rind: M Schwein: nicht zugelassen | zugelassen | Vertreter Isoxazolyl-Penicilline |
| | Penicillin | Rind: I,M Schwein: I | zugelassen | Vertreter Benzyl-Penicilline |
| | Ceftiofur | Rind: I Schwein: I | nicht zugelassen | 3. Generation-Cephalosporin |
| | Cefquinom | Rind: I, M Schwein: I | nicht zugelassen | 4. Generation-Cephalosporin |
| | Cephalothin | nicht zugelassen (Rind, Schwein) | nicht zugelassen | Cefalexin-Gruppe, 1. Generation-Cephalosporin |
| Fluorchinolone | Enrofloxacin | Rind: O,I Schwein: O,I | nicht zugelassen | Vertretersubstanz |
| Chinolone | Flumequin | nicht zugelassen | nicht zugelassen | |
| | Nalidixinsäure | nicht zugelassen | nicht zugelassen | |

Tab. 4: Fortsetzung

| | | | | |
|---|-------------------------------|---------------------------------------|------------------|--|
| Glykopeptide | Vancomycin | nicht zugelassen (Rind, Schwein) | zugelassen | VanA und VanB durch Avoparcin ehemals als Leistungsförderer zugelassen, Verbot 1997 |
| Lincosamide | Clindamycin | nicht zugelassen (Rind, Schwein) | zugelassen | |
| Makrolide | Erythromycin | Rind: O,I,M Schwein: I | zugelassen | Vertretersubstanz |
| Nitrofurane | Nitrofurantoin | nicht zugelassen | zugelassen | |
| Orthosomycine | Avilamycin | nicht zugelassen | nicht zugelassen | |
| Polymyxine | Colistin | Rind: O,I Schwein: O,I | zugelassen | |
| Streptogramine | Quinupristin/ Dalfopristin | nicht zugelassen | zugelassen | Virginiamycin ehemals als Leistungsförderer zugelassen, Verbot 1999 |
| Sulfonamid- Trimethoprim- Kombination | Sulfonamide / TMP | Rind: O,I Schwein: O,I | zugelassen | |
| Tetracycline | Tetracyclin | Rind: O,I,M,U,T Schwein: O,I,M,U,T | zugelassen | |

O= orale Applikation; I= Injektion; U= intrauterine Applikation; M= intramammäre Applikation; T= topische Anwendung

3.10.4. Eingruppierung der Empfindlichkeit der untersuchten Bakterienisolate

Für die Beurteilung der Ergebnisse wurden als Grenzwerte die des National Committee for Clinical Laboratory Standards verwendet. Waren dort für die entsprechenden Antibiotika keine veterinärspezifischen Grenzwerte angegeben, wurde auf Angaben vom Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme zurückgegriffen. Aktuell ist nicht bekannt, auf welcher Datenbasis die im DANMAP zur Klassifizierung der veterinärmedizinischen MHK-Ergebnisse mitgeteilten Grenzwerte festgelegt worden sind. Eine Aufstellung der Wirkstoffe, bei denen in den entsprechenden Normen für die Bakterienspezies und/oder Indikation sowie für die Tierart keine validen Grenzwerte angegeben sind, zeigt Tabelle 5.

Tab. 5: Geprüfte Antibiotika, bei denen für die Bakterienspezies und die Tierart in der Durchführungsvorschrift des NCCLS und des DANMAP keine validen Grenzwerte angegeben sind

| Wirkstoff | Indikation | Tierart |
|------------------|-------------------------------------|----------------|
| Ampicillin | <i>P. multocida, M. haemolytica</i> | Schwein |
| Cefquinom | <i>P. multocida, M. haemolytica</i> | Schwein |
| Ceftiofur | <i>M. haemolytica</i> | Schwein |
| Enrofloxacin | <i>P. multocida, M. haemolytica</i> | Schwein |
| Flumequin | <i>P. multocida, M. haemolytica</i> | Schwein |
| Nalidixinsäure | <i>P. multocida, M. haemolytica</i> | Schwein |
| Oxacillin | <i>P. multocida, M. haemolytica</i> | Schwein |
| Streptomycin | <i>P. multocida, M. haemolytica</i> | Schwein |
| Flumequin | <i>E. coli</i> | Rind |
| Nitrofurantoin | <i>E. coli</i> | Rind |
| Avilamycin | <i>Streptococcus</i> spp. | Rind |

4. Ergebnisse

4.1. Anzahl und Verteilung der von den Kooperationseinrichtungen an das BVL eingesandten Bakterienkulturen

Von den teilnehmenden Kooperationseinrichtungen wurden vom 20.06.01 bis zum 20.01.02 insgesamt 1118 Bakterienkulturen eingesandt. Tabelle 6 (S. 70) zeigt die Verteilung der eingesandten Bakterienkulturen auf Bundesländerebene. Die Einordnung der Isolate in die jeweilige Zielkeimspezies/-gruppe ergab sich durch die Angaben der Kooperationseinrichtungen im Begleitbogen. Von den 1118 eingesandten Bakterienkulturen wurden 35 Isolate ausgeschlossen, weil anhand der Angaben im Begleitbogen nicht zweifelsfrei nachgewiesen werden konnte, dass es sich bei diesen Keimen nicht um sogenannte "Copy-Stämme" handelte. 9 weitere Bakterienisolate waren nicht in dem im Studienprotokoll vorgegebenen Untersuchungszeitraum isoliert worden und wurden deshalb ausgeschlossen. Jedes eingesandte Bakterienisolat wurde im BVL rekultiviert und auf seine Spezieszugehörigkeit hin überprüft. Bei 10 der eingesandten Proben wurden bei der Kultivierung im BVL zwei morphologisch unterschiedliche Bakterienkulturen isoliert und in 5 Fällen konnten aus dem eingesandten Probenmaterial im BVL keine Bakterienkulturen angezüchtet werden. Bei den 1079 verbleibenden Bakterienisolaten wurde die Speziesdifferenzierung anhand morphologischer und biochemischer Charakteristika vorgenommen.

4.2. Identifizierung und biochemische Charakterisierung der Bakterienisolate

4.2.1. *Escherichia coli*

214 der von den externen Kooperationseinrichtungen als *E. coli* identifizierten Bakterienisolate zeigten morphologisch speziestypische Charakteristika. Von diesen wuchsen 25 auf Standard-I-Nähragar mit Zusatz von 5 % defibriniertem Schafblut unter Ausbildung einer β -Hämolyse. In der Gramfärbung stellten sich die 214 Bakterienisolate als gramnegative Stäbchen dar. Anhand des Wachstums auf Gassner-Agar konnte durch den Farbumschlag des Indikators nach gelb bei allen Keimen eine Lactoseverwertung nachgewiesen werden. Die biochemische Speziesdifferenzierung mit Hilfe des kommerziell erhältlichen

Identifizierungssystem ID 32 E (bio-Merieux) ergab für 214 Stämme die Zugehörigkeit zur Spezies *E. coli*. 5 der von den externen Kooperationseinrichtungen als *E. coli* identifizierten Bakterienstämme wurden anhand der biochemischen Speziesdifferenzierung anderen Spezies der Familie der *Enterobacteriaceae* zugeordnet.

4.2.2. *Staphylococcus*-Spezies

404 der von den externen Kooperationseinrichtungen als *Staphylococcus* spp. identifizierten Bakterienisolate zeigten morphologisch speziestypische Charakteristika. Die *S. aureus*-Isolate (221) und 40 Isolate der Gruppe der koagulasenegativen *Staphylococcus* spp. bildeten beim Wachstum auf Standard-I-Nähragar mit Zusatz von 5 % defibriniertem Schafblut eine β -Hämolyse aus. Im Grampräparat stellten sich die Keime als grampositive Kokken dar. Alle Isolate verhielten sich katalasepositiv. Die Spezies *S. aureus* konnte von den koagulasenegativen *Staphylococcus* spp. aufgrund des Vorkommens der zellgebundenen Koagulase abgegrenzt werden. Die freie Koagulase wurde sowohl bei den *S. aureus*-Isolaten als auch bei den *S. sciuri*-Isolaten nachgewiesen. Bei der Prüfung der Resistenz gegenüber Novobiocin zeigten die *S. equorum*-, *S. gallinarum*-, *S. lentus*-, *S. saprophyticus*- und *S. sciuri*-Isolate insgesamt Unempfindlichkeit. Für die biochemische Speziesdifferenzierung wurde das kommerziell erhältliche Identifizierungssystem ID 20 STAPH (bio-Merieux) verwendet. Drei der von den externen Kooperationseinrichtungen als koagulasenegative *Staphylococcus* spp. identifizierten Bakterienstämme wurden anhand der biochemischen Differenzierung gattungsfremden Spezies zugeordnet. Die Speziesverteilung der mehrheitlich differenzierten Stämme der Gruppe der koagulasenegativen *Staphylococcus* spp. ist in Tabelle 7 dargestellt. Neben den in der Tabelle aufgeführten Spezies wurden außerdem *S. capitis* (1), *S. coohnii* (3), *S. equorum* (1), *S. gallinarum* (1), *S. hominis* (3), *S. hyicus* (5), *S. intermedius* (2), *S. kloosii* (1), *S. lentus* (3) und *S. saprophyticus* (7) identifiziert.

Tab. 7: Verteilung der mehrheitlich differenzierten koagulasenegativen *Staphylococcus*-Spezies

| Koagulasenegative <i>Staphylococcus</i> -Spezies | Anzahl Isolate |
|--|----------------|
| <i>S. chromogenes</i> | 46 |
| <i>S. epidermidis</i> | 17 |
| <i>S. haemolyticus</i> | 16 |
| <i>S. sciuri</i> | 16 |
| <i>S. simulans</i> | 35 |
| <i>S. warneri</i> | 14 |
| <i>S. xylosus</i> | 27 |

4.2.3. *Streptococcus*-Spezies

Von den von den externen Kooperationseinrichtungen als *Streptococcus* spp. identifizierten Bakterienisolate zeigten 243 morphologisch speziestypische Charakteristika. Beim Wachstum auf Standard-I-Nähragar mit Zusatz von 5 % defibriniertem Schafblut wuchsen 51 Isolate der Spezies *S. agalactiae* unter Ausbildung einer β -Hämolyse, wohingegen die anderen *Streptococcus*-Isolate die Ausprägung einer α -Hämolyse zeigten. Im Grampräparat stellten sich die Keime als grampositive Kokken dar. Alle Isolate verhielten sich katalasenegativ. Eine Abgrenzung der Spezies *S. acidominus*, *S. agalactiae*, *S. bovis*, *S. dysgalactiae*, *S. mitis* und *S. uberis* erfolgte anhand der serologischen Zugehörigkeitsprüfung zur jeweiligen Lancefield-Gruppe und aufgrund der Ergebnisse der biochemischen Speziesdifferenzierung mit dem kommerziell erhältlichen Identifizierungssystem rapid-ID 32 Strep (bio-Merieux). Elf der von den externen Kooperationseinrichtungen als *Streptococcus* spp. beschriebenen Bakterienstämme wurden anhand der biochemischen Speziesdifferenzierung gattungsfremden Spezies zugeordnet.

Die Speziesverteilung der differenzierten *Streptococcus*-Stämme ist in Tabelle 8 wiedergegeben. Neben den in der Tabelle aufgeführten Spezies wurden in den Untersuchungen weiterhin *S. acidominus* (3), *S. bovis* (5) und *S. mitis* (1) isoliert.

Tab. 8: Verteilung der mehrheitlich differenzierten *Streptococcus*-Spezies

| <i>Streptococcus</i> -Spezies | Anzahl Stämme |
|-------------------------------|---------------|
| <i>S. agalactiae</i> | 51 |
| <i>S. dysgalactiae</i> | 71 |
| <i>S. uberis</i> | 120 |

4.2.4. *Pasteurella multocida* und *Mannheimia haemolytica*

177 der von den externen Kooperationseinrichtungen als *P. multocida* und 21 als *M. haemolytica* identifizierten Isolate zeigten morphologisch speziestypische Charakteristika. In der Gramfärbung stellten sie sich als kleine, gramnegative, teils kokkoide Stäbchen dar. Die Keime verhielten sich insgesamt oxidase- und katalasepositiv, reduzierten Nitrat, verwerteten Glukose fermentativ, zeigten keine Gasbildung bei der Laktosespaltung und spalteten keinen Harnstoff. *M. haemolytica* konnte von der Spezies *P. multocida* aufgrund der Koloniemorphologie, der Hämolysebildung, des Wachstums auf McConkey-Agar, einer fehlenden Indolbildung, der Maltosefermentation und einer fehlenden Mannosefermentation abgegrenzt werden. Ein Bakterienstamm wurde anhand der biochemischen Speziesdifferenzierung einer gattungsfremden Spezies zugeordnet.

4.3. **Anzahl und geographische Verteilung der für die Empfindlichkeitsbestimmung verwendeten Bakterienstämme**

Für die MHK-Bestimmung wurden von den 1079 im BVL rekultivierten Bakterienstämmen insgesamt 20 ausgeschlossen, da die identifizierte Bakterienspezies nicht den Vorgaben im Studienprotokoll entsprach. Ein weiterer Stamm konnte nicht aus der Mikrobank rekultiviert werden. Die Ergebnisse zur Auswertung der von den Untersuchungseinrichtungen der Bundesländer im Studienzeitraum (20.06.01-20.01.02) an das BVL eingesandten Bakterienkulturen bezüglich der Vorgaben im Studienprotokoll und der bakteriologischen Identifizierung ist in Tabelle 9 (S. 71) dargestellt. Die Verteilung der 1058 Bakterienstämme auf Bundesländerebene, mit denen die MHK-Bestimmung durchgeführt wurde, ist in Tabelle 10 (S. 72) dokumentiert.

Tab. 6: Anzahl und Verteilung der Bakterienkulturen, die von den Untersuchungseinrichtungen der Bundesländer an das BVL eingesandt wurden

| Bundesland | Zielkeimspezies/-gruppe | | | | | | | Anzahl (n) |
|--|-------------------------|-----------------------|----------------|------------------|-----------------------|---------------------------|-------------|------------|
| | <i>P. multocida</i> | <i>M. haemolytica</i> | <i>E. coli</i> | <i>S. aureus</i> | KNS ¹ spp. | <i>Streptococcus</i> spp. | | |
| Baden-Württemberg | 11 | 1 | 10 | 20 | 10 | 11 | 63 | |
| Bayern | 9 | 0 | 33 | 33 | 25 | 33 | 133 | |
| Brandenburg | 19 | 2 | 29 | 28 | 26 | 35 | 139 | |
| Hessen | 5 | 0 | 6 | 4 | 9 | 6 | 30 | |
| Mecklenburg-Vorpommern | 11 | 0 | 9 | 6 | 3 | 12 | 41 | |
| Niedersachsen | 34 | 14 | 31 | 29 | 28 | 45 | 181 | |
| Nordrhein-Westfalen | 32 | 2 | 6 | 13 | 7 | 8 | 68 | |
| Rheinland-Pfalz | 15 | 0 | 24 | 13 | 15 | 31 | 98 | |
| Sachsen | 6 | 0 | 25 | 25 | 25 | 27 | 108 | |
| Sachsen-Anhalt | 13 | 3 | 25 | 25 | 25 | 26 | 117 | |
| Thüringen | 26 | 0 | 25 | 25 | 23 | 25 | 124 | |
| Schleswig-Holstein | 16 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 16 | |
| Anzahl eingesandter Bakterienkulturen | 197 | 22 | 223 | 221 | 196 | 259 | 1118 | |

¹koagulasenegative *Staphylococcus*-Spezies

Tab. 9: Auswertungsergebnisse entsprechend der Studienprotokollvorgaben und der bakteriologischen Identifizierung der von den Untersuchungseinrichtungen der Bundesländer an das BVL eingesandten Bakterienkulturen

| Studienprotokollbezogene und bakteriologische Auswertungsergebnisse | Zielkeimspezies/-gruppe | | | | | | Anzahl (n) |
|---|-------------------------|-----------------------|----------------|------------------|-----------------------|---------------------------|-------------|
| | <i>P. multocida</i> | <i>M. haemolytica</i> | <i>E. coli</i> | <i>S. aureus</i> | KNS ¹ spp. | <i>Streptococcus</i> spp. | |
| Anzahl eingesandte Bakterienkulturen | 197 | 22 | 223 | 221 | 196 | 259 | 1118 |
| Copy-Isolate ² | 15 | 1 | 5 | 5 | 1 | 8 | 35 |
| Isolation außerhalb des vorgegebenen Untersuchungszeitraumes | | | | 4 | 5 | | 9 |
| Proben mit zwei morphologisch unterschiedlichen Bakterienkulturen | | | 1 | | 5 | 4 | 10 |
| Kein Wachstum | 4 | | | | | 1 | 5 |
| Anzahl rekultivierbare Bakterienisolate | 178 | 21 | 219 | 212 | 195 | 254 | 1079 |
| Identifizierte Spezies nicht im Studiendesign | 1 | | 5 | | 3 | 11 | 20 |
| Aus der Stammsammlung nicht rekultivierbare Bakterien | 1 | | | | | | 1 |
| Anzahl Bakterienstämme zur Empfindlichkeitsbestimmung | 176 | 21 | 214 | 212 | 192 | 243 | 1058 |

¹koagulasenegative *Staphylococcus*-Spezies

²Copy-Isolate: Isolate aus der gleichen Herde beziehungsweise dem gleichen Erkrankungsprozess

Tab. 10: Verteilung der im BVL identifizierten Bakterienspezies nach Bundesländern, mit denen die MHK-Bestimmung durchgeführt wurde

| Bundesland | Zielkeimspezies/-gruppe | | | | | | | | Anzahl (n) |
|--|-------------------------|-----------------------|----------------|------------------|-----------------------|----------------------|--|--|-------------|
| | <i>P. multocida</i> | <i>M. haemolytica</i> | <i>E. coli</i> | <i>S. aureus</i> | KNS ¹ spp. | <i>Streptococcus</i> | | | |
| Baden-Württemberg | 11 | 1 | 10 | 12 | 9 | 8 | | | 51 |
| Bayern | 8 | 0 | 33 | 33 | 26 | 34 | | | 134 |
| Brandenburg | 18 | 2 | 29 | 29 | 28 | 32 | | | 138 |
| Hessen | 5 | 0 | 6 | 5 | 9 | 6 | | | 31 |
| Mecklenburg-Vorpommern | 9 | 0 | 7 | 5 | 0 | 7 | | | 28 |
| Niedersachsen | 32 | 9 | 26 | 30 | 27 | 41 | | | 165 |
| Nordrhein-Westfalen | 24 | 2 | 6 | 10 | 8 | 8 | | | 58 |
| Rheinland-Pfalz | 8 | 0 | 24 | 14 | 11 | 30 | | | 87 |
| Saarland | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | | | 1 |
| Sachsen | 7 | 0 | 26 | 26 | 26 | 28 | | | 113 |
| Sachsen-Anhalt | 13 | 2 | 25 | 25 | 27 | 26 | | | 118 |
| Thüringen | 26 | 2 | 22 | 23 | 19 | 22 | | | 114 |
| Schleswig-Holstein | 15 | 3 | 0 | 0 | 1 | 1 | | | 20 |
| Anzahl Bakterienstämme zur Empfindlichkeitsbestimmung | 176 | 21 | 214 | 212 | 192 | 243 | | | 1058 |

¹koagulasenegative *Staphylococcus*-Spezies

4.4. Ergebnisse der Qualitätssicherung zur Methodendurchführung bei der Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration

Im Rahmen der Qualitätssicherung bei der Durchführung der Mikro-Bouillonverdünnungsmethode wurden das Wachstum der Bakterienstämme sowie die Reinheit und die Keimdichte des Inokulums überprüft. Zusätzlich wurden bei jedem Testdurchlauf neben den Prüfstämmen zwei Referenzstämme mitgeführt. Bei den als gültig gewerteten Tests war nach der Inkubation in den Wachstumskontrollvertiefungen der Mikrotiterplatten ein deutliches Bakterienwachstum erkennbar. Die Kontrolle der Reinheit des Inokulums zeigte sich für die geprüften Bakterienstämme durch eine identische Koloniemorphologie, die der des Prüfstammes entsprach. Weiterhin wurden nur die Tests ausgewertet, wenn anhand der 1:1000 Verdünnung und der 1:4 Verdünnungsreihen eine Keimdichte des Inokulums mit einer Schwankungsbreite von nicht mehr als $\log \pm 0,45$ ($1,77 \times 10^5$ – 14×10^5) koloniebildenden Einheiten (KBE) um den zu erzielenden Sollwert von $\log 5,69$ (5×10^5) ermittelt wurde. Die minimalen Hemmkonzentrationen der bei jedem Testdurchlauf mitgeführten Referenzstämme lagen jeweils in dem vom Plattenhersteller angegebenen Referenzbereich.

4.5. Minimale Hemmkonzentration von Bakterienstämmen aus Mastitismilchproben des Rindes

Das Profil der für die geprüften Bakterienstämme ermittelten minimalen Hemmkonzentrationen sowie die verwendeten Grenzwerte und die Anzahl der entsprechend als resistent beurteilten Infektionserreger gegenüber den ausgewählten Antibiotika sind in den Tabellen 11-14 dargestellt. Die Prozentangaben wurden dabei jeweils auf die erste Kommastelle gerundet. Für die Antibiotika, für die sowohl in den Normen des National Committee for Clinical Laboratory Standards als auch des Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme keine Grenzwerte angegeben sind, können in dieser Arbeit zum Resistenzniveau gegenüber dem entsprechenden Wirkstoff keine Aussagen formuliert werden.

4.5.1. *Escherichia coli*

Die 214 *E. coli*-Stämme zeigten gegenüber den geprüften Antibiotika die in Tabelle 11 dargestellten MHK-Profile. Die MHK-Verteilung der Keime gegenüber Amoxicillin/Clavulansäure, Cephalothin, Colistin, Enrofloxacin, Florfenicol, Flumequin, Nalidixinsäure und Nitrofurantoin stellte sich annähernd in einer Normalverteilung dar. Eine Trennung zwischen biologisch empfindlicher und resistenter Population war deshalb nicht möglich. Bei der MHK-Verteilung gegenüber den übrigen Antibiotika (Ampicillin, Ceftiofur, Gentamicin, Neomycin, Streptomycin, Tetracyclin und Trimethoprim/Sulfamethoxazol) war dagegen die empfindliche Population mit Werten im niedrigen Konzentrationsbereich von der biologisch resistenten Population mit entsprechend höheren minimalen Hemmkonzentrationen deutlich getrennt.

Von den 214 *E. coli*-Stämmen zeigten gegenüber dem β -Lactam-Antibiotikum Ampicillin 8,9 % der geprüften Stämme eine Resistenz, gegenüber Amoxicillin/Clavulansäure wurden dagegen keine Resistenzen festgestellt. Der Prozentanteil resistenter Keime gegenüber dem getesteten Cephalosporin der ersten Generation betrug 8,4 %. Eine Unempfindlichkeit gegenüber dem getesteten Cephalosporin der dritten Generation wurde dagegen nur in einem Fall (0,5 %) nachgewiesen. Für die geprüften Aminoglykoside wurden absteigende Resistenzquoten ermittelt (Streptomycin 10,2 %, Neomycin 5,1 % und Gentamicin 1,8 %). Gegenüber Tetracyclin erwiesen sich 11,2 % der Stämme als resistent, gegenüber Florfenicol 7,5 % und gegenüber der Wirkstoffkombination Trimethoprim/Sulfamethoxazol zeigten 4,7 % der geprüften Stämme eine Unempfindlichkeit. Gegen die übrigen Antibiotika (Colistin, Enrofloxacin Flumequin, Nalidixinsäure und Nitrofurantoin) konnten bei den 214 geprüften *E. coli*-Stämmen keine Resistenzen nachgewiesen werden.

4.5.2. *Staphylococcus aureus*

Die ermittelten MHK-Verteilungen gegenüber den geprüften Antibiotika stellten sich wie bei *E. coli* als zwei unterschiedliche Profile dar (Tab. 12). Während die 212 geprüften *S. aureus*-Stämme gegenüber Avilamycin, Cephalothin, Gentamicin, Oxacillin, Quinupristin/Dalfopristin und Vancomycin in einer annähernd normalverteilten Einzelpopulation zusammengefasst waren, wurden gegenüber den anderen geprüften Antibiotika (Amoxicillin/Clavulansäure, Ampicillin, Chloramphenicol, Clindamycin,

Enrofloxacin, Erythromycin, Penicillin, Streptomycin, Tetracyclin und Trimethoprim/Sulfamethoxazol) anhand der MHK-Verteilung zwei Populationen ermittelt. Dabei wurden gegenüber Clindamycin und Erythromycin deutlich von der empfindlichen Population getrennte, hochresistente Stämme festgestellt.

Von den *S. aureus*-Stämmen erwiesen sich gegenüber Penicillin 23,5 % und gegenüber Ampicillin 22,6 % als klinisch resistent. Cephalosporinresistenzen wurden dagegen nicht nachgewiesen. Gegenüber den zwei geprüften Aminoglykosiden kam lediglich eine Streptomycinresistenz (7,6 %) vor. Die Chloramphenicolresistenz war mit 1,0 % ähnlich gering wie die Resistenzausprägung gegenüber Tetracyclin (2,8 %), Erythromycin (1,4 %) und Clindamycin (1,4 %). Sehr gering war der Prozentanteil enrofloxacinresistenter Stämme (0,5 %). Einen deutlich hohen Resistenzanteil zeigten die geprüften *S. aureus*-Stämme gegenüber Avilamycin mit 46,2 %. Gegen die anderen geprüften Antibiotika (Amoxicillin/Clavulansäure, Oxacillin, Quinupristin/Dalfopristin, Trimethoprim/Sulfamethoxazol und Vancomycin) konnten keine Resistenzen ermittelt werden.

4.5.3. Koagulasenegative *Staphylococcus*-Spezies

Das jeweilige MHK-Profil der 192 geprüften koagulasenegativen *Staphylococcus* spp. stellte sich gegenüber Amoxicillin/Clavulansäure, Avilamycin, Enrofloxacin, Oxacillin, Quinupristin/Dalfopristin und Vancomycin als annähernd normalverteilte Einzelpopulation dar (Tab. 13). Dagegen zeigten die für die übrigen Antibiotika (Ampicillin, Cephalothin, Chloramphenicol, Clindamycin, Erythromycin, Gentamicin, Penicillin, Streptomycin, Tetracyclin und Trimethoprim/Sulfamethoxazol) ermittelten MHK-Verteilungen zwei abgegrenzte Populationen.

Während der Prozentanteil Penicillin-resistenter Stämme mit 23,8 % dem bei *S. aureus* ermittelten Ergebnis glich, wiesen nur 11,4 % der koagulasenegativen *Staphylococcus* spp. eine Ampicillinresistenz auf, wohingegen bei *S. aureus* 22,6 % der Stämme eine Unempfindlichkeit gegen diesen Wirkstoff zeigten. Resistenzen gegenüber dem geprüften Cephalosporin wurden nicht nachgewiesen. Bei den geprüften Aminoglykosiden wurde lediglich eine Streptomycinresistenz (6,8 %) ermittelt. Während die Avilamycinresistenz mit 46,4 % den bei *S. aureus* ermittelten Ergebnissen entsprach, lagen die Resistenzen der

koagulasen negativen *Staphylococcus* spp. gegenüber Chloramphenicol (3,7 %), Tetracyclin (11,9 %), Erythromycin (9,4 %) und Clindamycin (4,6 %) im Vergleich höher. Eine Enrofloxacinresistenz sowie Resistenzen gegen die weiteren geprüften Antibiotika (Amoxicillin/Clavulansäure, Gentamicin und Vancomycin) wurden nicht nachgewiesen.

4.5.4. *Streptococcus*-Spezies

Die minimalen Hemmkonzentrationen der 243 geprüften *Streptococcus* spp. erwiesen sich gegenüber Ampicillin und Vancomycin als in einer Population annähernd normalverteilt (Tab. 14). Gegenüber den anderen geprüften Antibiotika (Avilamycin, Chloramphenicol, Erythromycin, Penicillin, Tetracyclin und Trimethoprim/Sulfamethoxazol) zeigte sich dagegen ein Profil, bei dem die biologisch resistente Population zum Teil deutlich von der empfindlichen Population getrennt war.

Im Gegensatz zu den geprüften *Staphylococcus* spp. wurden für die *Streptococcus* spp. gegenüber den β -Lactam-Antibiotika Penicillin und Ampicillin keine Resistenzen nachgewiesen. Während gegenüber Chloramphenicol mit 0,8 % ähnlich niedrige Resistenzquoten wie bei den *Staphylococcus* spp. gemessen wurden, war die Erythromycinresistenz mit 16,4 % und die Tetracyclinresistenz mit 29,2 % deutlich ausgeprägt. Die Trimethoprim/Sulfamethoxazolresistenz war mit 0,8 % als gering zu bezeichnen. Gegenüber Avilamycin und Vancomycin konnten keine Resistenzen nachgewiesen werden.

Tab. 11: Verteilung der minimalen Hemmkonzentrationen (MHK) und prozentualer Anteil resistenter *Escherichia coli*-Stämme (n = 214) von Milchkühen mit akuter Mastitis in Deutschland im Jahr 2001

| Antimikrobieller Wirkstoff | Grenzwert resistenter (mg/l) | resistent [%] | minimale Hemmkonzentration (mg/l) ¹ / [%] ² | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|------------------------------|---------------|---|------|------|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|-----|-----|------|--|-----|
| | | | ≤0,03 | 0,06 | 0,12 | 0,25 | 0,5 | 1 | 2 | 4 | 8 | 16 | 32 | 64 | 128 | ≥256 | | |
| Amoxicillin/Clavulansäure ³ | ≥ 32/16 | 0 | | | | 0,5 | 10,3 | 54,7 | 25,7 | 7,5 | 1,4 | | | | | | | |
| Ampicillin | ≥ 32 | 8,9 | | | 0,5 | 4,7 | 52,8 | 29,9 | 3,3 | | | | | | | | | 8,9 |
| Ceftiofur | ≥ 4 ⁶ | 0,5 | 0,9 | 1,4 | 32,7 | 63,1 | 1,4 | | | | | | | | | | | 0,5 |
| Cephalothin | ≥ 32 | 8,4 | | | | 0,5 | 0,5 | 10,7 | 46,3 | 33,6 | 6,5 | 0,9 | 0,5 | 0,5 | | | | |
| Colistin | ≥ 8 ⁶ | 0,0 | | 1,4 | 42,1 | 52,8 | 3,3 | 0,5 | | | | | | | | | | |
| Enrofloxacin | ≥ 2 ^{6,7} | 0,0 | 73,8 | 25,2 | 0,9 | | | | | | | | | | | | | |
| Florfenicol | ≥ 16 ⁶ | 7,5 | | | | | | 37,4 | 55,1 | 7,5 | | | | | | | | |
| Flumequin | - ⁸ | - | | | 3,3 | 71,0 | 24,8 | 0,9 | | | | | | | | | | |
| Gentamicin | ≥ 16 | 1,8 | | | 9,3 | 65,0 | 20,6 | 3,3 | | 0,9 | | | | | | | | 0,9 |
| Nalidixinsäure | ≥ 16 ⁶ | 0,0 | | 0,5 | | | | 24,8 | 73,8 | 0,9 | | | | | | | | |
| Neomycin | ≥ 8 ⁶ | 5,1 | | | | 2,8 | 36,9 | 49,1 | 6,1 | 0,5 | 0,9 | 2,3 | 1,4 | | | | | |
| Nitrofurantoin | - ⁸ | - | | | | | | 1,9 | 45,3 | 50,9 | 1,9 | | | | | | | |
| Streptomycin | ≥ 16 ⁶ | 10,2 | | | | | | 4,7 | 70,1 | 15,0 | 1,9 | 0,9 | 2,3 | 2,3 | 2,8 | | | |
| Tetracyclin | ≥ 16 | 11,2 | | | | 4,7 | 33,6 | 36,4 | 13,1 | 0,9 | 0,5 | 5,6 | 5,1 | | | | | |
| Trimethoprim/Sulfamethoxazol ⁵ | ≥ 4/76 | 4,7 | 92,1 | 2,3 | 0,5 | | | 0,5 | | | | | | | | | | |

*Die Legende zu den in der Tabelle angegebenen Fußnoten findet sich auf Seite 80

Tab. 12: Verteilung der minimalen Hemmkonzentrationen (MHK) und prozentualer Anteil resistenter *Staphylococcus aureus*-Stämme (n = 212) von Milchkühen mit akuter Mastitis in Deutschland im Jahr 2001

| Antimikrobieller Wirkstoff | Grenzwert resistenter (mg/l) | resistent [%] | minimale Hemmkonzentration (mg/l) ¹ / [%] ² | | | | | | | | | | | | | | |
|---|------------------------------|---------------|---|------|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|-----|----|-----|------|-----|
| | | | ≤0,03 | 0,06 | 0,12 | 0,25 | 0,5 | 1 | 2 | 4 | 8 | 16 | 32 | 64 | 128 | ≥256 | |
| Amoxicillin/Clavulansäure ³ | ≥ 8/4 | 0,0 | 56,6 | 22,2 | 8,0 | 12,7 | 0,5 | | | | | | | | | | |
| Ampicillin | ≥ 0,5 | 22,6 | 50,0 | 25,0 | 2,4 | 1,9 | 4,2 | 11,3 | 5,2 | | | | | | | | |
| Avilamycin | ≥ 8 ⁶ | 46,2 | | | | 3,3 | 21,2 | 29,2 | 44,3 | 1,9 | | | | | | | |
| Benzyl-Penicillin | ≥ 0,25 | 23,5 | 75,0 | 1,4 | 0,9 | 1,9 | 4,7 | 7,5 | 6,1 | 2,4 | | | | | | | |
| Cephalothin | ≥ 32 | 0,0 | 44,3 | 35,4 | 19,8 | 0,5 | | | | | | | | | | | |
| Chloramphenicol | ≥ 32 | 1,0 | | | | 1,4 | 12,7 | 76,9 | 8,0 | 0,5 | 0,5 | | | | | | |
| Clindamycin | ≥ 4 | 1,4 | 93,9 | 2,8 | 1,4 | 0,5 | | | | | | | | | | | 1,4 |
| Enrofloxacin | ≥ 2 ^{6;7} | 0,5 | 1,9 | 9,9 | 53,3 | 33,0 | 0,5 | 0,9 | 0,5 | | | | | | | | |
| Erythromycin | ≥ 8 | 1,4 | 3,8 | 49,5 | 43,4 | 1,9 | | | | | | | | | | | 1,4 |
| Gentamicin | ≥ 16 | 0,0 | 20,8 | 50,5 | 23,6 | 4,7 | 0,5 | | | | | | | | | | |
| Oxacillin | ≥ 4 | 0,0 | 4,2 | 20,3 | 36,8 | 34,4 | 2,8 | 1,4 | | | | | | | | | |
| Quinupristin/Dalfopristin ⁴ | ≥ 2 ⁶ | 0,0 | 0,9 | 9,0 | 75,5 | 13,7 | 0,9 | | | | | | | | | | |
| Streptomycin | ≥ 16 ⁶ | 7,6 | | | | 5,7 | 13,7 | 40,6 | 32,5 | 6,1 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | | | | 0,5 |
| Tetracyclin | ≥ 16 | 2,8 | 9,0 | 26,9 | 52,8 | 8,5 | | | | | | | | | | | 1,4 |
| Trimethoprim/Sulfamethoxazol ⁵ | ≥ 4/76 | 0,0 | 95,8 | 3,8 | 0,5 | | | | | | | | | | | | |
| Vancomycin | ≥ 32 | 0,0 | | | 1,4 | 78,8 | 19,3 | 0,5 | | | | | | | | | |

*Die Legende zu den in der Tabelle angegebenen Fußnoten findet sich auf Seite 80

Tab. 13: Verteilung der minimalen Hemmkonzentrationen (MHK) und prozentualer Anteil resistenter koagulasenegativer *Staphylococcus*-Spezies (n = 192) von Milchkühen mit akuter Mastitis in Deutschland im Jahr 2001

| Antimikrobieller Wirkstoff | Grenzwert resistenter (mg/l) | resistent [%] | minimale Hemmkonzentration (mg/l) ¹ / [%] ² | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|------------------------------|---------------|---|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|------|--|-----|-----|-----|
| | | | ≤0,03 | 0,06 | 0,12 | 0,25 | 0,5 | 1 | 2 | 4 | 8 | 16 | 32 | 64 | 128 | ≥256 | | | | |
| Amoxicillin/Clavulansäure ³ | ≥ 8/4 | 0,0 | | | 68,8 | 26,6 | 3,6 | 0,5 | 0,5 | | | | | | | | | | | |
| Ampicillin | ≥ 0,5 | 11,4 | | 52,1 | 22,4 | 14,1 | 5,7 | 2,6 | 2,1 | 1,0 | | | | | | | | | | |
| Avilamycin | ≥ 8 ⁷ | 46,4 | | 0,5 | | | | 1,0 | 17,2 | 34,9 | 29,2 | 14,1 | 2,6 | 0,5 | | | | | | |
| Benzyl-Penicillin | ≥ 0,25 | 23,8 | | 71,4 | 4,7 | 10,4 | 5,7 | 3,6 | 2,1 | | | | | | | | | | | |
| Cephalothin | ≥ 32 | 0,0 | | | 31,3 | 40,6 | 22,4 | 5,2 | | 0,5 | | | | | | | | | | |
| Chloramphenicol | ≥ 32 | 3,7 | | | | | | | 4,2 | 39,1 | 47,4 | 5,7 | 1,6 | 2,1 | | | | | | |
| Clindamycin | ≥ 4 | 4,6 | | | 61,5 | 19,8 | 8,9 | 4,2 | 1,0 | 0,5 | | | | | | | | | 3,6 | |
| Enrofloxacin | ≥ 2 ^{6;7} | 0,0 | 1,6 | 4,7 | 45,3 | 38,0 | 8,3 | 2,1 | | | | | | | | | | | | |
| Erythromycin | ≥ 8 | 9,4 | | | 7,3 | 38,5 | 40,1 | 3,1 | 1,0 | 0,5 | 1,6 | | | | | | | 1,6 | 1,0 | 5,2 |
| Gentamicin | ≥ 16 | 0,0 | | | 88,0 | 8,3 | 1,6 | 0,5 | | 1,0 | 0,5 | | | | | | | | | |
| Oxacillin | ≥ 4 | 1,0 | | 8,3 | 21,9 | 42,7 | 18,2 | 5,2 | 2,6 | 0,5 | | | | | | | | | | |
| Quinupristin/Dalfopristin ⁴ | ≥ 2 ⁶ | 8,9 | | | 3,6 | 41,7 | 32,3 | 13,5 | 8,9 | | | | | | | | | | | |
| Streptomycin | ≥ 16 ⁵ | 6,8 | | | | 0,5 | 7,3 | 25,0 | 26,0 | 30,2 | 4,2 | 1,6 | 1,6 | 2,1 | 0,5 | 1,0 | | | | |
| Tetracyclin | ≥ 16 | 11,9 | | | 12,5 | 25,5 | 42,2 | 6,8 | 0,5 | 0,5 | | | | | | | | | | |
| Trimethoprim/Sulfamethoxazol ⁵ | ≥ 4/76 | 0,5 | | | 72,9 | 19,3 | 7,3 | | | | | | | | | | | | 0,5 | |
| Vancomycin | ≥ 32 | 0,0 | | | 0,5 | 3,6 | 30,7 | 56,8 | 8,3 | | | | | | | | | | | |

*Die Legende zu den in der Tabelle angegebenen Fußnoten findet sich auf Seite 80

Tab. 14: Verteilung der minimalen Hemmkonzentrationen (MHK) und prozentualer Anteil resistenter *Streptococcus*-Spezies (n = 243) von Milchkühen mit akuter Mastitis in Deutschland im Jahr 2001

| Antimikrobieller Wirkstoff | Grenzwert resistenter (mg/l) | resistent [%] | minimale Hemmkonzentration (mg/l) ¹ / [%] ² | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|------------------------------|---------------|---|------|------|------|------|------|------|-----|------|-----|-----|----|-----|------|--|------|
| | | | ≤0,03 | 0,06 | 0,12 | 0,25 | 0,5 | 1 | 2 | 4 | 8 | 16 | 32 | 64 | 128 | ≥256 | | |
| Ampicillin | ≥ 8 | 0,0 | 74,1 | 15,2 | 8,6 | 1,6 | 0,4 | | | | | | | | | | | |
| Avilamycin | - ⁸ | - | 1,6 | 10,3 | 25,9 | 14,4 | 12,3 | 21,8 | 11,5 | 2,1 | | | | | | | | |
| Benzyll-Penicillin | ≥ 4 | 0,0 | 82,7 | 7,4 | 7,8 | 1,6 | 0,4 | | | | | | | | | | | |
| Chloramphenicol | ≥ 16 | 0,8 | 0,4 | 0,4 | 1,6 | 10,3 | 32,9 | 32,5 | 21,4 | 0,4 | | | | | | | | 0,4 |
| Erythromycin | ≥ 1 | 16,4 | 74,5 | 5,8 | 3,3 | 0,8 | 0,4 | | | | | | | | | | | 15,2 |
| Tetracyclin | ≥ 8 | 29,2 | 7,0 | 20,2 | 18,5 | 12,8 | 9,1 | 3,3 | 1,2 | 5,8 | 14,8 | 3,7 | 3,7 | | | | | |
| Trimethoprim/Sulfamethoxazol ⁵ | ≥ 4/76 | 0,8 | 83,1 | 10,7 | 4,9 | 0,4 | 0,4 | | | | | | | | | | | 0,4 |
| Vancomycin | ≥ 1 | 0,0 | 0,8 | 36,6 | 59,7 | 2,9 | | | | | | | | | | | | |

¹ minimale Hemmkonzentrationen oberhalb der höchsten beziehungsweise unterhalb der niedrigsten geprüften Konzentration sind entsprechend der höchsten beziehungsweise niedrigsten getesteten Konzentration zugeordnet

² Prozentangaben sind auf die erste Kommastelle gerundet

³ Amoxicillin und Clavulansäure in einem Konzentrationsverhältnis von 2/1 geprüft (Handelsname Augmentan^R)

⁴ Quinopristin und Dalfopristin in einem Konzentrationsverhältnis 1/1 geprüft

⁵ Trimethoprim und Sulfamethoxazol in einem Konzentrationsverhältnis 1/19 geprüft

⁶ Grenzwerte entsprechen dem Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme (DANMAP)

⁷ Grenzwert gilt für alle Fluorchinolone

⁸ Ein gesicherter Grenzwert existiert nicht

4.6. Vergleichende Gegenüberstellung der prozentualen Anteile resistenter Keime für das Bundesgebiet, die alten und neuen Bundesländer sowie für einige ausgewählte Bundesländer

Die Anzahl und der prozentuale Anteil resistenter Keime an der Gesamtzahl der geprüften Bakterienstämme der jeweiligen Spezies sind für das Bundesgebiet, die alten und neuen Bundesländer sowie für einige ausgewählte Bundesländer in den Tabellen 15-18 wiedergegeben. Für die vergleichende Darstellung der Daten wurden die Bundesländer ausgewählt, aus denen mehr als 12 (50 %) der 25 im Stichprobenplan vorgesehenen Stämme der jeweiligen Zielkeimspezies/-gruppe eingesandt wurden. Die Prozentangaben der jeweiligen Anteile resistenter Stämme wurden dabei auf die erste Kommastelle gerundet. Beim Vergleich der Werte wurden insgesamt nur sehr geringgradige Abweichungen ermittelt. Die wenigen deutlicheren Abweichungen werden im Folgenden beschrieben.

4.6.1. *Escherichia coli*

Beim Vergleich der prozentualen Anteile resistenter *E. coli* zeigte sich, dass für die neuen Bundesländer insgesamt mit etwas niedrigeren und für die alten Bundesländer mit leicht höheren Prozentanteilen resistenter Stämme in Bezug auf den Bundesdurchschnitt zu rechnen ist (Tab. 15). Als Beispiel sei die Neomycinresistenz genannt, die in den alten Bundesländern 7,6 %, in den neuen Bundesländern dagegen nur 2,8 % betrug. Die aus Brandenburg geprüften Stämme wiesen im Vergleich zu den anderen Bundesländern insgesamt die niedrigsten Unempfindlichkeitswerte auf, während für Niedersachsen zum Teil deutlich höhere Resistenzquoten ermittelt wurden. Bei den aus Rheinland-Pfalz geprüften Stämmen wurde keine Cephalothinresistenz gemessen, wogegen die aus Sachsen eingesandten Bakterienstämme mit 15,4 % einen deutlich hohen Resistenzanteil zeigten.

4.6.2. *Staphylococcus aureus*

Der Vergleich der für die alten und neuen Bundesländer ermittelten Prozentanteile resistenter *S. aureus*-Stämme ergab gegenüber den β -Lactam-Antibiotika Ampicillin und Penicillin die in Tabelle 16 aufgeführten deutlichen Abweichungen. Dabei waren die für die alten Bundesländer gemessenen Prozentanteile unempfindlicher Stämme mit 31,7 % für beide Wirkstoffe zumindest doppelt so hoch wie die für die neuen Bundesländer ermittelten Anteile

mit 13,9 % und 15,7 %. Dieses Verhältnis ergab sich mit Ausnahme von Sachsen-Anhalt (jeweils 24 %) auch für die hier ausgewählten Bundesländer. Die aus Niedersachsen eingesandten Stämme zeigten im Vergleich zu den anderen Bundesländern für die meisten der geprüften Wirkstoffe insgesamt höhere prozentuale Anteile resistenter Keime.

4.6.3. Koagulasenegative *Staphylococcus*-Spezies

Der Vergleich der Resistenzausprägung bei *S. aureus* und bei den koagulasenegativen *Staphylococcus* spp. zeigte, dass anders als bei *S. aureus* bei den koagulasenegativen *Staphylococcus* spp. aus den neuen Bundesländern insgesamt mit höheren Resistenzquoten als bei den aus den alten Bundesländern eingesandten Stämmen zu rechnen ist (Tab. 17). Beispielsweise betrug der Anteil Chloramphenicol- beziehungsweise Erythromycin-resistenter Stämme in den alten Bundesländern 1,1 % und 5,4 %, wogegen er in den neuen Bundesländern bei 6,0 % und 13,0 % lag.

4.6.4. *Streptococcus*-Spezies

Beim Vergleich der prozentualen Anteile resistenter Stämme waren gegenüber Erythromycin die in Tabelle 18 aufgeführten Abweichungen zwischen den alten und neuen Bundesländern zu erkennen. Während aus den neuen Bundesländern weniger resistente Stämme (11,3 %) eingesandt wurden, war der Anteil dieser Stämme in den alten Bundesländern mit 21,1 % erhöht. Bei den aus Thüringen eingesandten Stämmen konnte keine Erythromycinresistenz gemessen werden. Die Tetracyclinresistenz war im Vergleich zum Bundesdurchschnitt bei den aus Bayern und Sachsen-Anhalt eingesandten Stämmen mit 38,2 % beziehungsweise 38,5 % erhöht.

Tab. 15: Vergleichende Darstellung der Anzahl und des prozentualen Anteiles resistenter Keime an der Gesamtzahl der geprüften *Escherichia coli*-Stämme (n = 214) von Milchkühen mit akuter Mastitis im Bundesgebiet, in den alten und neuen Bundesländern sowie in ausgewählten Bundesländern, Deutschland, 2001

| Antimikrobieller Wirkstoff | Anteil resistenter <i>Escherichia coli</i> -Stämme | | | | | | | | | |
|---|--|----------------------------|----------------------------|-----------------|----------------------|------------------------|--------------------------|------------------|-------------------------|--------------------|
| | Bundesgebiet insgesamt (n = 214) | Bundesländer alt (n = 105) | Bundesländer neu (n = 109) | Bayern (n = 33) | Brandenburg (n = 29) | Niedersachsen (n = 26) | Rheinland-Pfalz (n = 24) | Sachsen (n = 26) | Sachsen-Anhalt (n = 25) | Thüringen (n = 22) |
| Amoxicillin/Clavulansäure ¹ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Ampicillin | 19 (8,9) | 11 (10,5) | 8 (7,3) | 2 (6,1) | 1 (3,4) | 4 (15,4) | 3 (12,5) | 3 (11,5) | 2 (8,0) | 2 (9,1) |
| Ceftiofur | 1 (0,5) | 0 | 1 (0,9) | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 (3,8) | 0 | 0 |
| Cephalothin | 18 (8,4) | 6 (5,8) | 12 (11,0) | 2 (6,0) | 1 (3,4) | 2 (7,7) | 0 | 4 (15,4) | 3 (12,0) | 3 (13,6) |
| Colistin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Enrofloxacin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Florfenicol | 16 (7,5) | 6 (5,7) | 10 (9,2) | 2 (6,1) | 2 (6,9) | 2 (7,7) | 1 (4,2) | 2 (7,7) | 3 (12,0) | 3 (13,6) |
| Flumequin | - ⁴ | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Gentamicin | 4 (1,8) | 3 (2,9) | 1 (0,9) | 1 (3,0) | 0 | 2 (7,7) | 0 | 1 (3,8) | 0 | 0 |
| Nalidixinsäure | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Neomycin | 11 (5,1) | 8 (7,6) | 3 (2,8) | 2 (6,1) | 1 (3,4) | 3 (11,5) | 2 (8,3) | 2 (7,7) | 0 | 0 |
| Nitrofurantoin | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Streptomycin | 22 (10,2) | 13 (12,4) | 9 (8,3) | 3 (9,1) | 0 | 5 (19,2) | 3 (12,5) | 4 (15,4) | 3 (12,0) | 1 (4,5) |
| Tetracyclin | 24 (11,2) | 13 (12,4) | 11 (10,1) | 3 (9,1) | 2 (6,9) | 5 (19,2) | 3 (12,5) | 4 (15,4) | 3 (12,0) | 2 (9,1) |
| Trimethoprim/Sulfamethoxazol ³ | 10 (4,7) | 6 (5,7) | 4 (3,7) | 2 (6,1) | 0 | 3 (11,5) | 1 (4,2) | 3 (11,5) | 1 (4,0) | 0 |

*Die Legende zu den in der Tabelle angegebenen Fußnoten findet sich auf Seite 86

Tab. 16: Vergleichende Darstellung der Anzahl und des prozentualen Anteiles resistenter Keime an der Gesamtzahl der geprüften *Staphylococcus aureus*-Stämme (n = 212) von Milchkühen mit akuter Mastitis im Bundesgebiet, in den alten und neuen Bundesländern sowie in ausgewählten Bundesländern, Deutschland, 2001

| Antimikrobieller Wirkstoff | Anteil resistenter <i>Staphylococcus aureus</i> -Stämme | | | | | | | | | |
|---|---|----------------------------|----------------------------|-----------------|----------------------|------------------------|--------------------------|------------------|-------------------------|--------------------|
| | Bundesgebiet insgesamt (n = 212) | Bundesländer alt (n = 104) | Bundesländer neu (n = 108) | Bayern (n = 33) | Brandenburg (n = 29) | Niedersachsen (n = 30) | Rheinland-Pfalz (n = 14) | Sachsen (n = 26) | Sachsen-Anhalt (n = 25) | Thüringen (n = 23) |
| Amoxicillin/Clavulansäure ¹ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Ampicillin | 48 (22,6) | 33 (31,7) | 15 (13,9) | 10 (30,3) | 2 (6,9) | 8 (26,7) | 5 (35,7) | 2 (7,7) | 6 (24,0) | 2 (8,7) |
| Avilamycin | 98 (46,2) | 46 (44,2) | 52 (48,1) | 18 (54,5) | 15 (51,7) | 15 | 5 (35,7) | 14 (53,8) | 12 (48,0) | 11 (47,8) |
| Benzyl-Penicillin | 50 (23,5) | 33 (31,7) | 17 (15,7) | 10 (30,3) | 2 (6,9) | 8 (26,7) | 5 (35,7) | 3 (11,5) | 6 (24,0) | 3 (13,0) |
| Cephalothin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Chloramphenicol | 2 (1,0) | 1 (1,0) | 1 (0,9) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 (4,0) | 0 |
| Clindamycin | 3 (1,4) | 2 (1,9) | 1 (0,9) | 0 | 1 (3,4) | 1 (3,3) | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Enrofloxacin | 1 (0,5) | 1 (1,0) | 0 | 0 | 0 | 1 (3,3) | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Erythromycin | 3 (1,4) | 2 (1,9) | 1 (0,9) | 0 | 1 (3,4) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Gentamicin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Oxacillin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Quinupristin/Dalfopristin ² | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Streptomycin | 16 (7,6) | 7 (6,7) | 9 (8,3) | 0 | 3 (10,3) | 3 (10,0) | 0 | 2 (7,7) | 3 (12,0) | 1 (4,3) |
| Tetracyclin | 6 (2,8) | 5 (4,8) | 1 (0,9) | 1 (3,0) | 1 (3,4) | 2 (6,7) | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Trimethoprim/Sulfamethoxazol ³ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Vancomycin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

*Die Legende zu den in der Tabelle angegebenen Fußnoten findet sich auf Seite 86

Tab. 17: Vergleichende Darstellung der Anzahl und des prozentualen Anteiles resistenter Keime an der Gesamtzahl der geprüften koagulasen negativen *Staphylococcus*-Spezies-Stämme (n = 192) von Milchkühen mit akuter Mastitis im Bundesgebiet, in den alten und neuen Bundesländern sowie in ausgewählten Bundesländern, Deutschland, 2001

| Antimikrobieller Wirkstoff | Anteil resistenter koagulasen negativer <i>Staphylococcus</i> -Spezies-Stämme | | | | | | | | | |
|---|---|---------------------------|----------------------------|-----------------|----------------------|------------------------|------------------|-------------------------|--------------------|----------|
| | Bundesgebiet insgesamt (n = 192) | Bundesländer alt (n = 92) | Bundesländer neu (n = 100) | Bayern (n = 26) | Brandenburg (n = 28) | Niedersachsen (n = 27) | Sachsen (n = 26) | Sachsen-Anhalt (n = 27) | Thüringen (n = 19) | |
| | n (%) ⁵ | | | | | | | | | |
| Amoxicillin/Clavulansäure ¹ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Ampicillin | 22 (11,4) | 12 (13,0) | 10 (10,0) | 1 (3,8) | 3 (10,7) | 3 (11,1) | 2 (7,7) | 3 (11,1) | 2 (10,5) | 2 (10,5) |
| Avilamycin | 89 (46,4) | 43 (46,7) | 46 (46,0) | 15 (57,7) | 14 (50,0) | 7 (25,9) | 10 (38,5) | 16 (59,3) | 6 (31,6) | 6 (31,6) |
| Benzylo-Penicillin | 46 (23,8) | 24 (26,1) | 22 (22,0) | 6 (23,1) | 8 (28,6) | 6 (22,2) | 4 (15,4) | 5 (18,5) | 5 (26,3) | 5 (26,3) |
| Cephalothin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Chloramphenicol | 7 (3,7) | 1 (1,1) | 6 (6,0) | 0 | 2 (7,1) | 0 | 0 | 1 (3,7) | 3 (15,8) | 3 (15,8) |
| Clindamycin | 9 (4,6) | 1 (1,1) | 7 (7,0) | 0 | 1 (3,6) | 0 | 2 (7,7) | 2 (7,4) | 2 (10,5) | 2 (10,5) |
| Enrofloxacin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Erythromycin | 18 (9,4) | 5 (5,4) | 13 (13,0) | 1 (3,8) | 2 (7,1) | 2 (7,1) | 5 (19,2) | 2 (7,4) | 3 (15,8) | 3 (15,8) |
| Gentamicin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Oxacillin | 2 (1,0) | 0 | 2 (2,0) | 0 | 0 | 0 | 2 (7,7) | 0 | 0 | 0 |
| Quinupristin/Dalfopristin ² | 17 (8,9) | 8 (8,7) | 9 (9,0) | 3 (11,5) | 3 (10,7) | 3 (11,1) | 1 (3,8) | 2 (7,4) | 3 (15,8) | 3 (15,8) |
| Streptomycin | 13 (6,8) | 7 (7,6) | 6 (6,0) | 0 | 2 (7,1) | 1 (3,7) | 2 (7,7) | 1 (3,7) | 1 (5,3) | 1 (5,3) |
| Tetracyclin | 23 (11,9) | 12 (13,0) | 11 (11,0) | 2 (7,7) | 4 (14,3) | 3 (11,1) | 3 (11,5) | 1 (3,7) | 3 (15,8) | 3 (15,8) |
| Trimethoprim/Sulfamethoxazol ³ | 1 (0,5) | 0 | 1 (1,0) | 0 | 1 (3,6) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Vancomycin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

*Die Legende zu den in der Tabelle angegebenen Fußnoten findet sich auf Seite 86

Tab. 18: Vergleichende Darstellung der Anzahl und des prozentualen Anteiles resistenter Keime an der Gesamtzahl der geprüften *Streptococcus*-Spezies-Stämme (n = 243) von Milchkühen mit akuter Mastitis im Bundesgebiet, in den alten und neuen Bundesländern sowie in ausgewählten Bundesländern, Deutschland, 2001

| Antimikrobieller Wirkstoff | Anteil resistenter <i>Streptococcus</i> -Spezies-Stämme | | | | | | | | | |
|---|---|----------------------------|----------------------------|-----------------|----------------------|------------------------|--------------------------|------------------|-------------------------|--------------------|
| | Bundesgebiet insgesamt (n = 243) | Bundesländer alt (n = 128) | Bundesländer neu (n = 115) | Bayern (n = 34) | Brandenburg (n = 32) | Niedersachsen (n = 41) | Rheinland-Pfalz (n = 29) | Sachsen (n = 28) | Sachsen-Anhalt (n = 26) | Thüringen (n = 22) |
| Ampicillin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Avilamycin ⁴ | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Benzyl-Penicillin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Chloramphenicol | 2 (0,8) | 0 | 2 (1,8) | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 (3,6) | 1 (3,8) | 0 |
| Erythromycin | 40 (16,4) | 27 (21,1) | 13 (11,3) | 9 (26,5) | 4 (12,5) | 7 (17,1) | 7 (23,3) | 5 (17,9) | 4 (15,4) | 0 |
| Tetracyclin | 71 (29,2) | 38 (29,8) | 33 (28,7) | 13 (38,2) | 8 (25,0) | 7 (17,1) | 10 (34,8) | 10 (35,8) | 10 (38,5) | 5 (22,6) |
| Trimethoprim/Sulfamethoxazol ³ | 2 (0,8) | 0 | 2 (1,7) | 0 | 1 (3,1) | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 (4,5) |
| Vancomycin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

¹Amoxicillin und Clavulansäure in einem Konzentrationsverhältnis von 2/1 geprüft (Handelsname Augmentan^R)

²Quinopristin und Dalfopristin in einem Konzentrationsverhältnis 1/1 geprüft

³Trimethoprim und Sulfamethoxazol in einem Konzentrationsverhältnis 1/19 geprüft

⁴Ein gesicherter Grenzwert existiert nicht

⁵Prozentangaben resistenter Stämme sind auf die erste Kommastelle gerundet

4.7. Vergleich der prozentualen Anteile resistenter Keime für ausgewählte Spezies innerhalb der Gattung *Staphylococcus* und *Streptococcus*

Die Anzahl und der prozentuale Anteil resistenter Keime der ausgewählten Spezies an der Gesamtzahl der geprüften Bakterienstämme sind in den Tabellen 19 und 20 vergleichend wiedergegeben. Für die Darstellung wurden die Spezies ausgewählt, von denen jeweils mindestens 13 Stämme geprüft wurden. Die Prozentangaben der jeweiligen Anteile resistenter Stämme wurden dabei auf die erste Kommastelle gerundet.

4.7.1. *Staphylococcus*-Spezies

Im Vergleich zu den für *S. aureus* ermittelten Prozentanteilen resistenter Keime wiesen die koagulasenegativen *Staphylococcus* spp. mit Ausnahme von Ampicillin, Penicillin und Streptomycin insgesamt höhere Resistenzquoten auf (Tab. 19). Die *S. epidermidis*-Stämme zeigten eine deutlich ausgeprägte Resistenz gegenüber Penicillin (62,5 %) und Tetracyclin (37,5 %). Im Vergleich zu den für die anderen Spezies ermittelten Werten wiesen die geprüften *S. haemolyticus*-Stämme insgesamt höhere Resistenzquoten auf. Die *S. sciuri*-Stämme zeigten hohe Prozentanteile resistenter Keime gegenüber Clindamycin mit 12,5 % und Quinupristin/Dalfopristin mit 18,8 %, während bei den geprüften *S. simulans*-Stämmen eine deutlich hohe Avilamycinresistenz (82,4 %) nachgewiesen wurde. Auch für die *S. warneri*-Stämme wurde neben der im Vergleich zu anderen Spezies erhöhten Resistenz gegenüber Penicillin (38,5 %), Streptomycin (23,1 %) und Tetracyclin (30,8 %) eine hohe Avilamycinresistenz mit 69,2 % ermittelt. Die untersuchten *S. xylosus*-Stämme zeigten dagegen hohe Unempfindlichkeitsquoten gegenüber Erythromycin (19,2 %) und Quinupristin/Dalfopristin (23,1 %).

Tab. 19: Vergleichende Darstellung der Anzahl und des prozentualen Anteiles resistenter Keime an der Gesamtzahl der geprüften *Staphylococcus*-Spezies-Stämme (n = 404) von Milchkühen mit akuter Mastitis, Deutschland, 2001

| Antimikrobieller Wirkstoff | Anteil resistenter <i>Staphylococcus</i> -Spezies-Stämme | | | | | | | | |
|---|--|-----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | KNS (n = 192) | <i>S. chromogenes</i> (n = 45) | <i>S. epidermidis</i> (n = 16) | <i>S. haemolyticus</i> (n = 15) | <i>S. sciuri</i> (n = 16) | <i>S. simulans</i> (n = 34) | <i>S. warneri</i> (n = 13) | <i>S. xylosus</i> (n = 26) | <i>S. aureus</i> (n = 212) |
| | | | | | n (%) ⁵ | | | | |
| Amoxicillin/Clavulansäure ¹ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Ampicillin | 22 (11,4) | 7 (15,6) | 5 (31,3) | 5 (33,3) | 0 | 0 | 4 (30,8) | 0 | 48 (22,6) |
| Avilamycin | 89 (46,4) | 15 (33,3) | 3 (18,8) | 4 (26,7) | 2 (12,5) | 28 (82,4) | 9 (69,2) | 11 (42,3) | 98 (46,2) |
| Benzyl-Penicillin | 46 (23,8) | 8 (17,8) | 10 (62,5) | 5 (33,3) | 1 (6,3) | 1 (2,9) | 5 (38,5) | 8 (30,8) | 50 (23,5) |
| Cephalothin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Chloramphenicol | 7 (3,7) | 0 | 1 (6,3) | 0 | 1 (6,3) | 1 (2,9) | 0 | 2 (7,6) | 2 (1,0) |
| Clindamycin | 9 (4,6) | 1 (2,2) | 0 | 2 (13,3) | 2 (12,5) | 1 (2,9) | 0 | 1 (3,8) | 3 (1,4) |
| Enrofloxacin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 (0,5) |
| Erythromycin | 18 (9,4) | 1 (2,2) | 2 (12,5) | 3 (20,0) | 1 (6,3) | 1 (2,9) | 0 | 5 (19,2) | 3 (1,4) |
| Gentamicin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Oxacillin | 2 (1,0) | 0 | 1 (6,3) | 1 (6,7) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Quinupristin/Dalfopristin ² | 17 (8,9) | 0 | 0 | 0 | 3 (18,8) | 0 | 0 | 6 (23,1) | 0 |
| Streptomycin | 13 (6,8) | 2 (4,4) | 2 (12,5) | 0 | 2 (12,5) | 1 (2,9) | 3 (23,1) | 1 (3,8) | 16 (7,6) |
| Tetracyclin | 23 (11,9) | 1 (2,2) | 6 (37,5) | 1 (6,7) | 2 (12,5) | 1 (2,9) | 4 (30,8) | 1 (3,8) | 6 (2,8) |
| Trimethoprim/Sulfamethoxazol ³ | 1 (0,5) | 0 | 1 (6,3) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Vancomycin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

*Die Legende zu den in der Tabelle angegebenen Fußnoten findet sich auf Seite 89

4.7.2. *Streptococcus*-Spezies

Im Vergleich zu den bei *S. agalactiae* und *S. dysgalactiae* gegenüber Erythromycin gemessenen Resistenzraten von 6,3 % beziehungsweise 11,5 % lagen die Prozentanteile unempfindlicher *S. uberis* mit 23,9 % deutlich darüber (Tab. 20). Demgegenüber war bei den *S. agalactiae*-Stämmen der Anteil Tetracyclin-resistenter Stämme mit 37,5 % leicht höher als bei den Stämmen der Spezies *S. uberis* (32,4 %) und *S. dysgalactiae* (20,2 %).

Tab. 20: Vergleichende Darstellung der Anzahl und des prozentualen Anteiles resistenter Keime an der Gesamtzahl der geprüften *Streptococcus*-Spezies-Stämme (n = 234) von Milchkühen mit akuter Mastitis, Deutschland, 2001

| Antimikrobieller Wirkstoff | Anteil resistenter <i>Streptococcus</i> -Spezies-Stämme | | |
|---|---|------------------------------------|----------------------------------|
| | <i>S. uberis</i> (n = 117) | <i>S. dysgalactiae</i> (n = 69) | <i>S. agalactiae</i> (n = 48) |
| | n (%) ⁵ | | |
| Ampicillin | 0 | 0 | 0 |
| Avilamycin | - ⁴ | - | - |
| Benzyl-Penicillin | 0 | 0 | 0 |
| Chloramphenicol | 0 | 1 (1,4) | 0 |
| Erythromycin | 28 (23,9) | 8 (11,5) | 3 (6,3) |
| Tetracyclin | 38 (32,4) | 14 (20,2) | 18 (37,5) |
| Trimethoprim/ Sulfamethoxazol ³ | 1 (0,9) | 0 | 0 |
| Vancomycin | 0 | 0 | 0 |

¹Amoxicillin und Clavulansäure in einem Konzentrationsverhältnis von 2/1 geprüft (Handelsname Augmentan^R)

²Quinopristin und Dalfopristin in einem Konzentrationsverhältnis 1/1 geprüft

³Trimethoprim und Sulfamethoxazol in einem Konzentrationsverhältnis 1/19 geprüft

⁴Ein gesicherter Grenzwert existiert nicht

⁵Prozentangaben resistenter Stämme sind auf die erste Kommastelle gerundet

4.8. Minimale Hemmkonzentration von Bakterien von Mastschweinen mit respiratorischen Erkrankungen

Das Profil der ermittelten minimalen Hemmkonzentrationen der geprüften Bakterienstämme von Mastschweinen mit respiratorischen Erkrankungen sowie die verwendeten Grenzwerte und die Anzahl der entsprechend als resistent klassifizierten Infektionserreger gegenüber den ausgewählten Antibiotika sind in den Tabellen 21 und 22 dargestellt. Die Prozentangaben wurden dabei jeweils auf die erste Kommastelle gerundet. Für die Antibiotika, für die sowohl in den Normen des National Committee for Clinical Laboratory Standards als auch des Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme keine Grenzwerte angegeben sind, können in dieser Arbeit zum Resistenzniveau gegenüber dem entsprechenden Wirkstoff keine Aussagen formuliert werden.

4.8.1. *Pasteurella multocida*

Die 176 geprüften *P. multocida*-Stämme zeigten gegenüber den geprüften Antibiotika die in Tabelle 21 dargestellten Profile der ermittelten minimalen Hemmkonzentrationen. Während sich diese gegenüber Amoxicillin/Clavulansäure, Ceftiofur, Florfenicol und Gentamicin annähernd normalverteilt in nur einer Population darstellten, zeigten die minimalen Hemmkonzentrationen gegenüber den übrigen geprüften Antibiotika (Ampicillin, Cefquinom, Cephalothin, Enrofloxacin, Flumequin, Nalidixinsäure, Oxacillin, Streptomycin, Tetracyclin und Trimethoprim/Sulfamethoxazol) eine bimodale Verteilung.

Gegenüber dem geprüften Cephalosporin der ersten Generation wurde ein geringer Prozentanteil resistenter Stämme von 1,7 % ermittelt. Erwartungsgemäß waren die geprüften Stämme gegenüber dem getesteten Cephalosporin der dritten Generation empfindlich. Eine vollständige Sensibilität der *P. multocida*-Stämme war auch gegenüber Florfenicol messbar. Die Tetracyclinresistenz lag mit 7,4 % unter der Trimethoprim/Sulfamethoxazolresistenz von 13,7 %. Gegenüber den anderen Wirkstoffen (Amoxicillin/Clavulansäure, Ampicillin, Cefquinom, Enrofloxacin, Flumequin, Nalidixinsäure, Oxacillin und Streptomycin) konnte aufgrund fehlender Grenzwerte eine Klassifizierung der ermittelten minimalen Hemmkonzentrationen nicht durchgeführt werden.

4.8.2. *Mannheimia haemolytica*

Ähnlich wie bei den geprüften *P. multocida*-Stämme stellten sich auch die für die 21 untersuchten *M. haemolytica*-Stämme ermittelten minimalen Hemmkonzentrationen gegenüber Ceftiofur, Florfenicol und Gentamicin in einer annähernd normalverteilten Einzelpopulation dar (Tab. 22). Dagegen folgten die gegenüber den weiteren geprüften Antibiotika ermittelten minimalen Hemmkonzentrationen einer bimodalen Verteilung.

Insgesamt wurde bei den *M. haemolytica*-Stämmen ein etwas höheres Resistenzniveau festgestellt als bei den *P. multocida*-Stämmen. Der Prozentanteil resistenter Stämme gegenüber dem geprüften Cephalosporin der ersten Generation lag bei *M. haemolytica* bei 4,8 %, während dieser Wert für *P. multocida* 1,7 % betrug. Deutlich ausgeprägter als bei den *P. multocida*-Stämmen war die Tetracyclinresistenz mit 14,3 % und die Trimethoprim/Sulfamethoxazolresistenz mit 14,4 %. Eine Florfenicolresistenz konnte nicht ermittelt werden. Gegenüber den anderen Wirkstoffen konnte aufgrund fehlender Grenzwerte eine Klassifizierung der ermittelten minimalen Hemmkonzentrationen nicht durchgeführt werden.

Tab. 21: Verteilung der minimalen Hemmkonzentrationen (MHK) und prozentualer Anteil resistenter *Pasteurella multocida*-Stämme (n = 176) von Mastschweinen mit akuten respiratorischen Erkrankungen in Deutschland im Jahr 2001

| Antimikrobieller Wirkstoff | Grenzwert resistenter (mg/l) | resistent [%] | minimale Hemmkonzentration (mg/l) ¹ / [%] ² | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|------------------------------|---------------|---|-------|------|------|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|----|----|-----|------|
| | | | ≤0,008 | 0,015 | 0,03 | 0,06 | 0,12 | 0,25 | 0,5 | 1 | 2 | 4 | 8 | 16 | 32 | 64 | 128 | ≥256 |
| Amoxicillin/Clavulansäure ³ | ≥ 32/16 | 0,0 | | | | 28,4 | 66,5 | 5,1 | | | | | | | | | | |
| Ampicillin | - ⁵ | - | | 1,7 | 9,7 | 63,1 | 22,2 | 0,6 | 0,6 | | | | | | | | | 2,3 |
| Cefquinom | - ⁵ | - | 9,1 | 13,1 | 27,3 | 34,7 | 8,0 | 1,1 | 4,0 | 2,8 | | | | | | | | |
| Ceftiofur | ≥ 8 | 0,0 | | | | 85,8 | 11,9 | 2,3 | | | | | | | | | | |
| Cephalothin | ≥ 32 | 1,7 | | | | 1,7 | 38,1 | 51,1 | 6,8 | | | | 0,6 | 1,7 | | | | |
| Enrofloxacin | - ⁵ | - | | | 97,7 | 1,1 | | | | | | | | | | | | |
| Florfenicol | ≥ 8 ⁶ | 0,0 | | | | | | 2,3 | 92,6 | 5,1 | | | | | | | | |
| Flumequin | - ⁵ | - | | | | 7,4 | 55,7 | 22,2 | 10,8 | 1,7 | 0,6 | 0,6 | 0,6 | 0,6 | | | | |
| Gentamicin | ≥ 16 | 0,0 | | | | 0,6 | | 2,8 | 17,6 | 64,2 | 14,8 | | | | | | | |
| Nalidixinsäure | - ⁵ | - | | | | | | 1,7 | 36,9 | 35,8 | 13,6 | 8,0 | 2,3 | 0,6 | | | | 0,6 |
| Oxacillin | - ⁵ | - | | | | 13,6 | 4,0 | 6,8 | 8,5 | 23,3 | 32,4 | 8,0 | 2,8 | 0,6 | | | | |
| Streptomycin | - ⁵ | - | | | | | | 0,6 | | | | | | | | | | 0,6 |
| Tetracyclin | ≥ 16 | 7,4 | | | | | | 41,5 | 36,4 | 11,9 | 1,7 | 1,1 | 3,4 | 4,0 | | | | |
| Trimethoprim/Sulfamethoxazol ⁴ | ≥ 4/76 | 13,7 | | | | 56,3 | 13,6 | 4,5 | 7,4 | 4,5 | 6,3 | 3,4 | 2,3 | 1,7 | | | | |

*Die Legende zu den in der Tabelle angegebenen Fußnoten findet sich auf Seite 93

4.9. Vergleichende Gegenüberstellung der prozentualen Anteile resistenter *Pasteurella multocida*-Stämme im Bundesgebiet, in den alten und neuen Bundesländern sowie in einigen ausgewählten Bundesländern

Die Anzahl und der prozentuale Anteil resistenter Keime an der Gesamtzahl der geprüften Bakterienstämme der jeweiligen Bakterienspezies sind für das Bundesgebiet, die alten und neuen Bundesländer sowie für einige ausgewählte Bundesländer in der Tabelle 23 wiedergegeben. Die vergleichende Darstellung der Daten erfolgte für die Bundesländer, aus denen mehr als 12 (50 %) der 25 im Stichprobenplan vorgesehenen Stämme der Zielkeimspezies eingesandt wurden. Die Prozentangaben der jeweiligen Anteile resistenter Stämme wurden jeweils auf die erste Kommastelle gerundet. Beim Vergleich der Werte wurden insgesamt nur sehr geringgradige Abweichungen ermittelt.

Der Vergleich der prozentualen Anteile resistenter *P. multocida*-Stämme auf Bundesländerebene erbrachte mit Ausnahme des erhöhten Anteils Tetracyclin-resistenter Stämme (20,0 %) aus Schleswig-Holstein keine eindeutigen Abweichungen zu den Ergebnissen der anderen Bundesländer.

Tab. 23: Vergleichende Darstellung der Anzahl und des prozentualen Anteiles resistenter Keime an der Gesamtzahl der geprüften *Pasteurella multocida*-Stämme (n = 176) von Mastschweinen mit respiratorischen Erkrankungen im Bundesgebiet, in den alten und neuen Bundesländern sowie in ausgewählten Bundesländern, Deutschland, 2001

| Antimikrobieller Wirkstoff | Anteil resistenter <i>Pasteurella multocida</i> -Stämme | | | | | | | | | |
|---|---|----------------------------|---------------------------|----------------------|------------------------|------------------------------|-------------------------|--------------------|-----------------------------|--------------------|
| | Bundesgebiet insgesamt (n = 176) | Bundesländer alt (n = 103) | Bundesländer neu (n = 73) | Brandenburg (n = 18) | Niedersachsen (n = 32) | Nordrhein-Westfalen (n = 24) | Sachsen-Anhalt (n = 13) | Thüringen (n = 26) | Schleswig-Holstein (n = 15) | |
| | | | | | | | | | | n (%) ⁴ |
| Amoxicillin/ Clavulansäure ¹ | 3 (1,7) | 0 | 3 (4,1) | 1 (5,6) | 0 | 0 | 1 (7,7) | 1 (3,8) | 0 | |
| Ampicillin | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| Cefquinom | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| Ceftiofur | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Cephalothin | 3 (1,7) | 0 | 3 (4,1) | 1 (5,6) | 0 | 0 | 1 (7,7) | 1 (3,8) | 0 | |
| Enrofloxacin | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| Florfenicol | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| Flumequin | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| Gentamicin | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| Nalidixinsäure | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| Oxacillin | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| Streptomycin | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| Tetracyclin | 13 (7,4) | 10 (9,7) | 5 (6,8) | 0 | 2 (6,3) | 1 (4,2) | 0 | 3 (11,5) | 3 (20,0) | |
| Trimethoprim/ Sulfamethoxazol ² | 24 (13,7) | 13 (12,6) | 11 (15,1) | 1 (5,6) | 3 (9,4) | 2 (8,3) | 2 (15,4) | 3 (11,5) | 2 (13,3) | |

¹Amoxicillin und Clavulansäure in einem Konzentrationsverhältnis von 2/1 geprüft
(Handelsname Augmentan^R)

²Trimethoprim und Sulfamethoxazol in einem Konzentrationsverhältnis 1/19 geprüft

³Ein gesicherter Grenzwert existiert nicht

⁴Prozentangaben resistenter Stämme sind auf die erste Kommastelle gerundet

4.10. Vergleich der errechneten MHK_{50} und MHK_{90} bei Bakterienstämmen aus Mastitismilchproben des Rindes

4.10.1. *Escherichia coli*

Für die 214 geprüften *E. coli*-Stämme differierten die errechneten MHK_{50} und MHK_{90} gegenüber Ampicillin, Cephalothin, Streptomycin und Tetracyclin um zwei und mehr Verdünnungsstufen voneinander, und die MHK_{90} der drei zuletzt genannten Wirkstoffe lag oberhalb des Grenzwertes für eine klinische Resistenz (Cephalothin ≥ 16 mg/l, Streptomycin und Tetracyclin ≥ 8 mg/l) (Tab. 24). Die jeweiligen MHK_{50} und MHK_{90} der anderen Wirkstoffe (Amoxicillin/Clavulansäure, Ceftiofur, Colistin, Enrofloxacin, Florfenicol, Flumequin, Gentamicin, Nalidixinsäure, Neomycin, Nitrofurantoin, und Trimethoprim/Sulfamethoxazol) entsprachen dagegen der gleichen Wirkstoffkonzentration beziehungsweise wichen um nur eine Verdünnungsstufe voneinander ab und lagen mit Ausnahme der Konzentrationen für Nitrofurantoin deutlich unter den Wirkstoffkonzentrationen, bei denen eine klinische Resistenz gegenüber dem jeweiligen Antibiotikum zu erwarten ist.

Tab. 24: Errechnete MHK_{50} und MHK_{90} bei *Escherichia coli*-Stämmen (n = 214) von Milchkühen mit akuter Mastitis, Deutschland, 2001

| Antimikrobieller Wirkstoff | <i>Escherichia coli</i> | |
|----------------------------------|-------------------------|-------------------|
| | MHK_{50} (mg/l) | MHK_{90} (mg/l) |
| Amoxicillin/ Clavulansäure | 2/1 | 4/2 |
| Ampicillin | 2 | 8 |
| Ceftiofur | 0,5 | 0,5 |
| Cephalothin | 8 | 16 |
| Colistin | 0,5 | 0,5 |
| Enrofloxacin | 0,03 | 0,06 |
| Florfenicol | 8 | 8 |
| Flumequin | 0,5 | 1 |
| Gentamicin | 0,5 | 1 |
| Nalidixinsäure | 4 | 4 |
| Neomycin | 2 | 4 |
| Nitrofurantoin | 16 | 16 |
| Streptomycin | 4 | 16 |
| Tetracyclin | 2 | 64 |
| Trimethoprim/ Sulfamethoxazol | 0,12/2,38 | 0,12/2,38 |

4.10.2. *Staphylococcus aureus*

Die bei den 212 *S. aureus*-Stämmen gegenüber Amoxicillin/Clavulansäure, Ampicillin und Penicillin ermittelten MHK_{90} lagen drei beziehungsweise fünf Konzentrationsstufen über den jeweils kalkulierten MHK_{50} und bei Ampicillin und Penicillin auch gleichzeitig deutlich über den Grenzwerten (Ampicillin $\geq 0,5$ mg/l, Penicillin $\geq 0,25$ mg/l) für eine klinische Resistenz (Tab. 25). Abweichend waren die für die übrigen Wirkstoffe (Avilamycin, Cephalothin, Chloramphenicol, Clindamycin, Enrofloxacin, Erythromycin, Gentamicin, Oxacillin, Quinupristin/Dalfopristin, Streptomycin, Tetracyclin, Trimethoprim/Sulfamethoxazol und Vancomycin) ermittelten Konzentrationen um höchstens jeweils eine Verdünnungsstufe voneinander getrennt und lagen mit Ausnahme von Avilamycin, dessen MHK_{90} dem Grenzwert von ≥ 8 mg/l entsprach, deutlich unterhalb des jeweiligen Grenzwertes für eine klinische Resistenz.

Tab. 25: Errechnete MHK_{50} und MHK_{90} bei *S. aureus*-Stämmen (n = 212) von Milchkühen mit akuter Mastitis, Deutschland, 2001

| Antimikrobieller Wirkstoff | <i>Staphylococcus aureus</i> | |
|----------------------------------|------------------------------|-------------------|
| | MHK_{50} (mg/l) | MHK_{90} (mg/l) |
| Amoxicillin/ Clavulansäure | 0,12/0,06 | 1/0,5 |
| Ampicillin | 0,06 | 2 |
| Avilamycin | 4 | 8 |
| Benzyl-Penicillin | 0,06 | 2 |
| Cephalothin | 0,25 | 0,5 |
| Chloramphenicol | 8 | 8 |
| Clindamycin | 0,12 | 0,12 |
| Enrofloxacin | 0,12 | 0,25 |
| Erythromycin | 0,25 | 0,5 |
| Gentamicin | 0,25 | 0,5 |
| Oxacillin | 0,25 | 0,5 |
| Quinupristin/ Dalfopristin | 0,25 | 0,5 |
| Streptomycin | 4 | 8 |
| Tetracyclin | 0,5 | 1 |
| Trimethoprim/ Sulfamethoxazol | 0,12/2,38 | 0,12/2,38 |
| Vancomycin | 0,5 | 1 |

4.10.3. Koagulasenegative *Staphylococcus*-Spezies

Bei den koagulasenegativen *Staphylococcus* spp. zeigten die MHK_{50} und MHK_{90} für die meisten Wirkstoffe (Amoxicillin/Clavulansäure, Cephalothin, Chloramphenicol, Clindamycin, Enrofloxacin, Gentamicin, Oxacillin, Quinupristin/Dalfopristin, Streptomycin, Trimethoprim/Sulfamethoxazol und Vancomycin) eine Differenz von ein bis zwei Konzentrationsstufen und befanden sich deutlich unter dem jeweiligen Grenzwert für eine klinische Resistenz. Für Ampicillin, Avilamycin, Erythromycin, Penicillin und Tetracyclin wurden von den MHK_{50} deutlich abweichende MHK_{90} im Bereich des Grenzwertes für klinische Resistenz beziehungsweise auch darüber errechnet (Tab. 26).

Tab. 26: Errechnete MHK_{50} und MHK_{90} bei koagulasenegativen *Staphylococcus*-Spezies (n = 196) von Milchkühen mit akuter Mastitis, Deutschland, 2001

| Antimikrobieller Wirkstoff | koagulasenegative <i>Staphylococcus</i> -Spezies | |
|----------------------------------|--|-------------------|
| | MHK_{50} (mg/l) | MHK_{90} (mg/l) |
| Amoxicillin/ Clavulansäure | 0,12/0,06 | 0,25/0,12 |
| Ampicillin | 0,06 | 0,5 |
| Avilamycin | 4 | 16 |
| Benzyl-Penicillin | 0,06 | 0,5 |
| Cephalothin | 0,25 | 0,5 |
| Chloramphenicol | 8 | 8 |
| Clindamycin | 0,12 | 0,5 |
| Enrofloxacin | 0,12 | 0,5 |
| Erythromycin | 0,5 | 2 |
| Gentamicin | 0,12 | 0,25 |
| Oxacillin | 0,25 | 0,5 |
| Quinupristin/ Dalfopristin | 0,5 | 1 |
| Streptomycin | 2 | 8 |
| Tetracyclin | 0,5 | 32 |
| Trimethoprim/ Sulfamethoxazol | 0,12/2,38 | 0,25/4,75 |
| Vancomycin | 1 | 1 |

4.10.4. *Streptococcus*-Spezies

Bei den 243 Stämmen der Spezies *Streptococcus* wurden für Ampicillin, Penicillin, Trimethoprim/Sulfamethoxazol und Vancomycin in einem Abstand von ein bis zwei

Konzentrationsstufen und unterhalb des jeweiligen Grenzwertes für eine klinische Resistenz liegende MHK_{50} und MHK_{90} errechnet (Tab. 27). Dagegen lagen für Chloramphenicol, Erythromycin und Tetracyclin die MHK_{50} jeweils unterhalb des Grenzwertes, die MHK_{90} waren jedoch im Bereich des Grenzwertes beziehungsweise darüber angeordnet. Entsprechend erstreckte sich für diese Wirkstoffe wie auch für Avilamycin der Bereich zwischen den beiden MHK -Parametern auf bis zu fünf Konzentrationsstufen.

Tab. 27: Errechnete MHK_{50} und MHK_{90} bei *Streptococcus*-Spezies (n = 243) von Milchkühen mit akuter Mastitis, Deutschland, 2001

| Antimikrobieller Wirkstoff | <i>Streptococcus</i> -Spezies | |
|----------------------------------|-------------------------------|-------------------|
| | MHK_{50} (mg/l) | MHK_{90} (mg/l) |
| Ampicillin | 0,06 | 0,25 |
| Avilamycin | 0,5 | 4 |
| Benzyl-Penicillin | 0,06 | 0,12 |
| Chloramphenicol | 4 | 8 |
| Erythromycin | 0,12 | 256 |
| Tetracyclin | 1 | 32 |
| Trimethoprim/ Sulfamethoxazol | 0,12/2,38 | 0,25/4,75 |
| Vancomycin | 0,5 | 1 |

4.11. Vergleich der errechneten MHK_{50} und MHK_{90} bei Bakterienstämmen von Mastschweinen mit respiratorischen Erkrankungen

4.11.1. *Pasteurella multocida*

Die für die 176 geprüften *P. multocida*-Stämme gegenüber Amoxicillin/Clavulansäure, Ampicillin, Cefquinom, Ceftiofur, Cephalothin, Enrofloxacin, Florfenicol und Flumequin ermittelten MHK_{50} und MHK_{90} wichen um jeweils nicht mehr als zwei Verdünnungsstufen voneinander ab und befanden sich für die genannten Stoffe unterhalb der Konzentration von 1 mg/l (Tab. 28). Für die übrigen Wirkstoffe (Gentamicin, Nalidixinsäure, Oxacillin und Tetracyclin) wurden dagegen mit Ausnahme des niedrigen MHK_{50} gegenüber Trimethoprim/Sulfamethoxazol (0,12/2,38 mg/l) Konzentrationen zwischen 1 und 8 mg/l gemessen. Die gegenüber Streptomycin ermittelten MHK_{50} und MHK_{90} lagen mit 16 und 32 mg/l in einem hohen Wirkstoffkonzentrationsbereich.

Tab. 28: Errechnete MHK_{50} und MHK_{90} bei *Pasteurella multocida*-Stämmen (n = 176) von Mastschweinen mit akuten respiratorischen Erkrankungen, Deutschland, 2001

| Antimikrobieller Wirkstoff | <i>Pasteurella multocida</i> | |
|----------------------------------|------------------------------|-------------------|
| | MHK_{50} (mg/l) | MHK_{90} (mg/l) |
| Amoxicillin/ Clavulansäure | 0,25/0,12 | 0,25/0,12 |
| Ampicillin | 0,12 | 0,25 |
| Cefquinom | 0,06 | 0,12 |
| Ceftiofur | 0,06 | 0,12 |
| Cephalothin | 0,5 | 0,5 |
| Enrofloxacin | 0,03 | 0,03 |
| Florfenicol | 0,5 | 0,5 |
| Flumequin | 0,12 | 0,5 |
| Gentamicin | 2 | 4 |
| Nalidixinsäure | 2 | 8 |
| Oxacillin | 1 | 4 |
| Streptomycin | 16 | 32 |
| Tetracyclin | 1 | 4 |
| Trimethoprim/ Sulfamethoxazol | 0,12/2,38 | 4/76 |

4.11.2. *Mannheimia haemolytica*

Für die geprüften *M. haemolytica*-Stämme konnten gegenüber den meisten Wirkstoffen (Amoxicillin/Clavulansäure, Ampicillin, Cefquinom, Ceftiofur, Cephalothin, Enrofloxacin, Florfenicol, Flumequin und Gentamicin) eng zusammenliegende MHK₅₀ und MHK₉₀ im niedrigen Konzentrationsbereich von bis zu 2 mg/l gemessen werden. Die gegenüber Tetracyclin (16 mg/l) und Trimethoprim/Sulfamethoxazol (4/76 mg/l) ermittelten MHK₉₀ wichen um fünf Verdünnungsstufen von den jeweiligen MHK₅₀ (0,5 mg/l und 0,12/2,38 mg/l) ab und lagen ebenso wie die Konzentrationen für Nalidixinsäure und Oxacillin in mittleren gemessenen Bereichen. Gegenüber Streptomycin wurden dagegen hohe MHK₅₀ und MHK₉₀ von 32 und 256 mg/l ermittelt (Tab. 29).

Tab. 29: Errechnete MHK₅₀ und MHK₉₀ bei *Mannheimia haemolytica*-Stämmen (n = 21) von Mastschweinen mit akuten respiratorischen Erkrankungen, Deutschland, 2001

| Antimikrobieller Wirkstoff | <i>Mannheimia haemolytica</i> | |
|----------------------------------|-------------------------------|--------------------------|
| | MHK ₅₀ (mg/l) | MHK ₉₀ (mg/l) |
| Amoxicillin/ Clavulansäure | 0,25/0,12 | 0,25/0,12 |
| Ampicillin | 0,06 | 0,12 |
| Cefquinom | 0,008 | 0,03 |
| Ceftiofur | 0,06 | 0,06 |
| Cephalothin | 0,5 | 2 |
| Enrofloxacin | 0,03 | 0,06 |
| Florfenicol | 0,25 | 0,5 |
| Flumequin | 0,25 | 1 |
| Gentamicin | 0,25 | 0,5 |
| Nalidixinsäure | 2 | 16 |
| Oxacillin | 4 | 8 |
| Streptomycin | 32 | 256 |
| Tetracyclin | 0,5 | 16 |
| Trimethoprim/ Sulfamethoxazol | 0,12/2,38 | 4/76 |

4.12. Vergleich der prozentualen Anteile resistenter Keime und der jeweils errechneten MHK_{50} und MHK_{90} bei verschiedenen Herdengrößen

Als Herdengrößen wurden sowohl bei den Rinder- als auch bei den beprobten Schweinebeständen solche mit 1-10 Tieren, 11-100 Tieren, 101-1000 Tieren und mehr als 1000 Tieren unterschieden. Der bei jeder Zielkeimgruppe durchgeführte Vergleich der für die jeweilige Herdengröße ermittelten prozentualen Anteile resistenter Keime und der jeweils errechneten MHK_{50} und MHK_{90} ergab in keinem der geprüften Fälle deutliche Abweichungen vom jeweils ermittelten Durchschnitt für den Einzelparameter.

4.13. Vergleichende Darstellung von klinischen und biologischen Grenzwerten

Die in den Tabellen 30-35 aufgeführten klinischen Grenzwerte sind den Normen des NCCLS und des DANMAP entnommen. Die biologischen Grenzwerte wurden anhand der in den eigenen Untersuchungen für die jeweilige Spezies ermittelten MHK-Verteilung festgelegt.

4.13.1. *Escherichia coli*

Für die untersuchten *E. coli*-Stämme wurden zwischen dem Grenzwert für klinische und biologische Resistenz insgesamt nur geringe Abweichungen festgestellt (Tab. 30). Während für Ampicillin, Neomycin und Tetracyclin identische Werte und somit auch identische Prozentanteile resistenter Stämme ermittelt wurden, lagen für Ceftiofur und Gentamicin die biologischen Grenzwerte ein bis zwei Titerstufen unter und für Streptomycin eine Titerstufe über den jeweiligen klinischen Grenzwerten. Lediglich für den letztgenannten Wirkstoff war dadurch der Prozentanteil biologisch resistenter Stämme gegenüber dem klinisch resistenten Anteil um ca. 1 % geringer. Auch für Trimethoprim/Sulfamethoxazol wurden trotz der Differenz von zwei Titerstufen zwischen den jeweiligen Grenzwerten nur geringe Prozentabweichungen zwischen der klinisch und der biologisch resistenten Population ermittelt.

Tab. 30: Vergleichende Darstellung der ermittelten biologischen mit anerkannten klinischen Grenzwerten und entsprechend prozentualer Anteil resistenter *Escherichia coli*-Stämme (n = 214) von Milchkühen mit akuter Mastitis, Deutschland, 2001

| Antimikrobieller Wirkstoff | <i>Escherichia coli</i> | | | |
|----------------------------------|-------------------------------------|------|---------------------------------------|------|
| | Grenzwert resistent klinisch (mg/l) | [%] | Grenzwert resistent biologisch (mg/l) | [%] |
| Ampicillin | ≥ 32 | 8,9 | ≥ 16 | 8,9 |
| Ceftiofur | ≥ 4 ¹ | 0,5 | ≥ 2 | 0,5 |
| Gentamicin | ≥ 16 | 1,8 | ≥ 4 | 1,8 |
| Neomycin | ≥ 8 ¹ | 5,1 | ≥ 8 | 5,1 |
| Streptomycin | ≥ 16 ¹ | 10,2 | ≥ 32 | 9,3 |
| Tetracyclin | ≥ 16 | 11,2 | ≥ 16 | 11,2 |
| Trimethoprim/ Sulfamethoxazol | ≥ 4/76 | 4,7 | ≥ 1/9 | 5,2 |

¹Grenzwerte entsprechen dem Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme (DANMAP)

4.13.2. *Staphylococcus aureus*

Für einige der überprüften Wirkstoffe (Ampicillin, Chloramphenicol und Penicillin) wurden identische klinische und biologische Grenzwerte und somit auch identische Anteile jeweils resistenter Stämme ermittelt (Tab. 31). Auch bei einer Abweichung des biologischen vom klinischen Grenzwert um ein bis zwei Titerstufen nach unten, wie sie für Clindamycin, Enrofloxacin, Erythromycin, Tetracyclin und Trimethoprim/Sulfamethoxazol festgestellt wurde, ist eine nur geringgradige Differenz zwischen der klinisch und der biologisch resistenten Population zu erkennen. Deutliche Abweichungen zwischen klinisch und biologisch resistenter Population aufgrund differierender Grenzwerte ergaben sich lediglich für Amoxicillin/Clavulansäure und Streptomycin.

Tab. 31: Vergleichende Darstellung der ermittelten biologischen mit anerkannten klinischen Grenzwerten und entsprechend prozentualer Anteil resistenter *Staphylococcus aureus*-Stämme (n = 212) von Milchkühen mit akuter Mastitis, Deutschland, 2001

| Antimikrobieller Wirkstoff | <i>Staphylococcus aureus</i> | | | |
|----------------------------------|-------------------------------------|------|---------------------------------------|------|
| | Grenzwert resistent klinisch (mg/l) | [%] | Grenzwert resistent biologisch (mg/l) | [%] |
| Amoxicillin/ Clavulansäure | ≥ 8/4 | 0,0 | ≥ 0,5/0,25 | 21,2 |
| Ampicillin | ≥ 0,5 | 22,6 | ≥ 0,5 | 22,6 |
| Chloramphenicol | ≥ 32 | 1,0 | ≥ 32 | 1,0 |
| Clindamycin | ≥ 4 | 1,4 | ≥ 2 | 1,4 |
| Enrofloxacin | ≥ 2 ^{1;2} | 0,5 | ≥ 0,5 | 1,4 |
| Erythromycin | ≥ 8 | 1,4 | ≥ 2 | 1,4 |
| Benzyl-Penicillin | ≥ 0,25 | 23,5 | ≥ 0,25 | 23,5 |
| Streptomycin | ≥ 16 ¹ | 7,6 | ≥ 128 | 0,5 |
| Tetracyclin | ≥ 16 | 2,8 | ≥ 2 | 2,8 |
| Trimethoprim/ Sulfamethoxazol | ≥ 4/76 | 0,0 | ≥ 0,5/4,5 | 0,5 |

¹Grenzwerte entsprechen dem Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme (DANMAP)

²Grenzwert gilt für alle Fluorchinolone

4.13.3. Koagulasenegative *Staphylococcus*-Spezies

Bei den koagulasenegativen *Staphylococcus*-Stämmen zeigte sich, dass trotz eines vom klinischen Grenzwert zum Teil deutlich abweichenden biologischen Grenzwertes nur geringgradige Varianzen zwischen klinisch und biologisch resistenter Population auftraten. Dies war beispielsweise bei Cephalothin, Clindamycin, Erythromycin, Gentamicin, Penicillin und Trimethoprim/Sulfamethoxazol der Fall. Eine gegenüber der klinisch resistenten deutlich geringere biologisch resistente Population wurde lediglich für Ampicillin festgestellt (Tab. 32).

Tab. 32: Vergleichende Darstellung der ermittelten biologischen mit anerkannten klinischen Grenzwerten und entsprechend prozentualer Anteil resistenter koagulasenegativer *Staphylococcus*-Spezies (n = 192) von Milchkühen mit akuter Mastitis, Deutschland, 2001

| Antimikrobieller Wirkstoff | koagulasenegative <i>Staphylococcus</i> -Spezies | | | |
|----------------------------------|--|------|---------------------------------------|------|
| | Grenzwert resistent klinisch (mg/l) | [%] | Grenzwert resistent biologisch (mg/l) | [%] |
| Ampicillin | ≥ 0,5 | 11,4 | ≥ 4 | 1,0 |
| Cephalothin | ≥ 32 | 0,0 | ≥ 2 | 0,5 |
| Chloramphenicol | ≥ 32 | 3,7 | ≥ 32 | 3,7 |
| Clindamycin | ≥ 4 | 4,6 | ≥ 8 | 4,1 |
| Erythromycin | ≥ 8 | 9,4 | ≥ 4 | 9,9 |
| Gentamicin | ≥ 16 | 0,0 | ≥ 2 | 1,5 |
| Benzyl-Penicillin | ≥ 0,25 | 23,8 | ≥ 0,12 | 28,5 |
| Streptomycin | ≥ 16 ¹ | 6,8 | ≥ 16 | 6,8 |
| Tetracyclin | ≥ 16 | 11,9 | ≥ 8 | 11,9 |
| Trimethoprim/ Sulfamethoxazol | ≥ 4/76 | 0,5 | ≥ 1/9 | 0,5 |

¹Grenzwerte entsprechen dem Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme (DANMAP)

4.13.4. *Streptococcus*-Spezies

Bei den *Streptococcus* spp. wurden mit Ausnahme von Avilamycin trotz differierender klinischer und biologischer Grenzwerte weitestgehend identische klinisch und biologisch resistente Populationen ermittelt (Tab. 33).

Tab. 33: Vergleichende Darstellung der ermittelten biologischen mit anerkannten klinischen Grenzwerten und entsprechend prozentualer Anteil resistenter *Streptococcus*-Spezies (n = 243) von Milchkühen mit akuter Mastitis, Deutschland, 2001

| Antimikrobieller Wirkstoff | <i>Streptococcus</i> -Spezies | | | |
|----------------------------------|-------------------------------------|------|---------------------------------------|------|
| | Grenzwert resistent klinisch (mg/l) | [%] | Grenzwert resistent biologisch (mg/l) | [%] |
| Avilamycin | ¹ | - | ≥ 1 | 47,4 |
| Chloramphenicol | ≥ 16 | 0,8 | ≥ 32 | 0,4 |
| Erythromycin | ≥ 1 | 16,4 | ≥ 2 | 15,6 |
| Benzyl-Penicillin | ≥ 4 | 0 | ≥ 1 | 0,4 |
| Tetracyclin | ≥ 8 | 29,2 | ≥ 8 | 29,2 |
| Trimethoprim/ Sulfamethoxazol | ≥ 4/76 | 0,8 | ≥ 2/18 | 0,8 |

¹Ein gesicherter Grenzwert existiert nicht

4.13.5. *Pasteurella multocida*

Bei dem Vergleich von klinischem und biologischem Grenzwert und den jeweils ermittelten Prozentanteilen resistenter Stämme wurden bei den getesteten *P. multocida*-Stämmen für Cephalothin und Trimethoprim/Sulfamethoxazol deutlich unterhalb des Grenzwertes für klinische Resistenz liegende biologische Grenzwerte festgelegt (Tab. 34). Während trotz dieser Varianz bei Cephalothin eine im Umfang nahezu identische klinisch und biologisch resistente Population festzustellen war, waren bei Trimethoprim/Sulfamethoxazol Bakterienstämme der klinisch als empfindlich beurteilten Population biologisch resistent. Mit Ausnahme von Nalidixinsäure und Streptomycin mit einem biologischen Grenzwert von 64 mg/l sowie Flumequin und Tetracyclin mit einem Grenzwert von 8 mg/l wurden für die weiteren Wirkstoffe Werte im Bereich sehr niedriger Wirkstoffkonzentrationen von bis zu 2 mg/l ermittelt. Der Prozentanteil der danach als biologisch resistent beurteilten Erreger lag in

den meisten Fällen unter 10 %, lediglich gegenüber Trimethoprim/Sulfamethoxazol mit 25,6 % und Oxacillin mit 82,4 % wurden deutlich mehr Stämme als biologisch resistent beurteilt.

Tab. 34: Vergleichende Darstellung der ermittelten biologischen mit anerkannten klinischen Grenzwerten und entsprechend prozentualer Anteil resistenter *Pasteurella multocida*-Stämme (n = 176) von Mastschweinen mit akuten respiratorischen Erkrankungen, Deutschland, 2001

| Antimikrobieller Wirkstoff | <i>Pasteurella multocida</i> | | | |
|----------------------------------|-------------------------------------|------|---------------------------------------|------|
| | Grenzwert resistent klinisch (mg/l) | [%] | Grenzwert resistent biologisch (mg/l) | [%] |
| Ampicillin | ¹ | - | ≥ 1 | 2,9 |
| Cefquinom | - | - | ≥ 0,25 | 7,9 |
| Cephalothin | ≥ 32 | 1,7 | ≥ 2 | 2,3 |
| Enrofloxacin | - | - | ≥ 0,12 | 1,2 |
| Flumequin | - | - | ≥ 8 | 1,2 |
| Nalidixinsäure | - | - | ≥ 64 | 1,2 |
| Oxacillin | - | - | ≥ 0,25 | 82,4 |
| Streptomycin | - | - | ≥ 64 | 9,7 |
| Tetracyclin | ≥ 8 | 7,4 | ≥ 8 | 8,5 |
| Trimethoprim/ Sulfamethoxazol | ≥ 4/76 | 13,7 | ≥ 0,5/4,5 | 25,6 |

¹Ein gesicherter Grenzwert existiert nicht

4.13.6. *Mannheimia haemolytica*

Die *M. haemolytica*-Stämme zeigten ähnlich wie die *P. multocida*-Stämme gegenüber Cephalothin eine mit der klinisch resistenten Population nahezu identische biologisch resistente Population (Tab. 35). Dagegen war gegenüber Tetracyclin und Trimethoprim/Sulfamethoxazol aufgrund eines im Vergleich zum klinischen Grenzwert deutlich niedrigeren biologischen Grenzwertes ein Teil der klinisch empfindlichen Population biologisch resistent. Mit Ausnahme von Nalidixinsäure und Streptomycin mit biologischen Grenzwerten von 64 mg/l wurden für die weiteren Wirkstoffe Werte im Bereich niedriger Wirkstoffkonzentrationen von bis zu 4 mg/l ermittelt. Mehr als 10 % biologisch resistenter Isolate wurden gegenüber Cefquinom (14,3 %), Oxacillin (76,3 %), Streptomycin (38,0 %), Tetracyclin (23,8 %) und Trimethoprim/Sulfamethoxazol (23,9 %) gemessen.

Tab. 35: Vergleichende Darstellung der ermittelten biologischen mit anerkannten klinischen Grenzwerten und entsprechend prozentualer Anteil resistenter *Mannheimia haemolytica*-Stämme (n = 21) von Mastschweinen mit akuten respiratorischen Erkrankungen, Deutschland, 2001

| Antimikrobieller Wirkstoff | <i>Mannheimia haemolytica</i> | | | |
|----------------------------------|-------------------------------------|------|---------------------------------------|------|
| | Grenzwert resistent klinisch (mg/l) | [%] | Grenzwert resistent biologisch (mg/l) | [%] |
| Amoxicillin/ Clavulansäure | ≥ 16/8 | 0,0 | ≥ 1/0,5 | 4,8 |
| Ampicillin | - ¹ | - | ≥ 0,25 | 9,6 |
| Cefquinom | - | - | ≥ 0,015 | 14,3 |
| Cephalothin | ≥ 32 | 4,8 | ≥ 4 | 4,8 |
| Enrofloxacin | - | - | ≥ 0,25 | 4,8 |
| Flumequin | - | - | ≥ 2 | 4,8 |
| Nalidixinsäure | - | - | ≥ 64 | 4,8 |
| Oxacillin | - | - | ≥ 0,12 | 76,3 |
| Streptomycin | - | - | ≥ 64 | 38,0 |
| Tetracyclin | ≥ 16 | 14,3 | ≥ 4 | 23,8 |
| Trimethoprim/ Sulfamethoxazol | ≥ 4/76 | 14,4 | ≥ 0,25/2,25 | 23,9 |

¹Ein gesicherter Grenzwert existiert nicht

4.14. Einzel- und Parallelresistenzen

Die Darstellung der Anzahl der bei den untersuchten Bakterienspezies festgestellten Einzel- und Parallelresistenzen in den Tabellen 36-39 erfolgte, wenn diese mehr als einmal auftraten. Die gleichzeitige Unempfindlichkeit gegen mehrere Wirkstoffe ist nur dann als Parallelresistenz beziehungsweise Mehrfachresistenz zu bezeichnen, wenn unterschiedliche Resistenzmechanismen zugrunde liegen. Entsprechend wurden Resistenzen gegen mehrere Wirkstoffe aufgrund des gleichen Resistenzmechanismus, die als Kreuzresistenzen zu bezeichnen sind, grau unterlegt.

4.14.1. *Escherichia coli*

Die bei *E. coli*-Stämmen determinierte Resistenz gegen ein oder mehrere Antibiotika umfasste acht Wirkstoffe. Bei den auftretenden Parallelresistenzen zeigte sich ein relativ einheitliches Bild, so dass nur wenige unterschiedliche Kombinationen von Antibiotika

auftraten (Tab. 36). Eine Erweiterung der Mehrfachresistenz bei den *E. coli*-Stämmen um jeweils den nächsten Wirkstoff zeigte sich in der Regel ohne Änderung der bereits bestehenden Kombination der Wirkstoffe. Eine Einfachresistenz wurde bei 22 der geprüften *E. coli*-Stämmen nachgewiesen. Primär waren diese gegenüber Florfenicol resistent (13 Stämme). Als Resistenz gegenüber zwei Wirkstoffen wurden bei jeweils zwei Stämmen die Kombination Cephalothin und Florfenicol sowie die Kombination Cephalothin und Tetracyclin ermittelt. Als weitere Konstellationen für Zweifachresistenzen kamen Kombinationen der Wirkstoffe vor, bei denen auch eine Einfachresistenz ausgeprägt war. Dies galt im Wesentlichen auch bei einer gleichzeitigen Resistenz gegenüber drei und mehr Wirkstoffen. Zusätzliche Antibiotika, bei denen in Kombination Resistenzen festgestellt wurden, waren Streptomycin, Tetracyclin, Ampicillin, die Aminoglykoside Neomycin und Gentamicin sowie die Wirkstoffkombination Trimethoprim/Sulfamethoxazol. Die Florfenicolresistenz trat bei der gleichzeitigen Resistenz gegenüber mehr als zwei Wirkstoffen nicht mehr auf.

Tab. 36: Einzel- und Parallelresistenzprofil bei *Escherichia coli*-Stämmen (n = 214) von Milchkühen mit akuter Mastitis, Deutschland, 2001

| Anzahl Antibiotika | FFN | CEP | STR | TET | AMP | SXT | NEO | GEN | Anzahl Bakterienstämme |
|--------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------------------------|
| 1 | x | | | | | | | | 13 |
| | | x | | | | | | | 5 |
| | | | x | | | | | | 2 |
| | | | | x | | | | | 2 |
| 2 | x | x | | | | | | | 2 |
| | | x | | x | | | | | 2 |
| 4 | | | x | x | x | x | | | 3 |
| | | x | x | x | x | | | | 2 |
| | | x | x | | x | | x | | 2 |
| 6 | | | x | x | x | x | x | x | 3 |
| | | x | x | x | x | x | x | | 2 |

AMP: Ampicillin; CEP: Cephalothin; FFN: Fluorfenicol; GEN: Gentamicin; NEO: Neomycin; STR: Streptomycin; SXT: Trimethoprim/Sulfamethoxazol; TET: Tetracyclin

4.14.2. *Staphylococcus aureus*

Ein annähernd einheitliches Bild mehrfach auftretender Parallelresistenzen zeigte sich auch bei den für die *S. aureus*-Stämme ermittelten Ergebnissen. 80 der 212 geprüften *S. aureus*-

Stämme wiesen eine Einfachresistenz gegenüber Avilamycin auf (Tab. 37). Die Resistenzkombination gegen die Wirkstoffe Ampicillin und Penicillin wurde insgesamt 33-mal nachgewiesen. Mit Ausnahme von zwei Fällen wurde bei der Unempfindlichkeit gegenüber Penicillin immer auch eine solche gegenüber Ampicillin ermittelt. Ein weiteres Antibiotikum, gegenüber dem Parallelresistenzen ermittelt wurden, war Streptomycin.

Tab. 37: Einzel- und Parallelresistenzprofil bei *Staphylococcus aureus*-Stämmen (n = 212) von Milchkühen mit akuter Mastitis, Deutschland, 2001

| Anzahl Antibiotika | AVL | STR | PEN | AMP | Anzahl Bakterienstämme |
|--------------------|-----|-----|-----|-----|------------------------|
| 1 | x | | | | 80 |
| | | x | | | 3 |
| | | | x | | 2 |
| 2 | | | x | x | 33 |
| | x | x | | | 8 |
| 3 | x | | x | x | 6 |
| | | x | x | x | 2 |

AMP: Ampicillin; AVL: Avilamycin; PEN: Penicillin; STR: Streptomycin

4.14.3. Koagulasenegative *Staphylococcus*-Spezies

Im Unterschied zu den bei *S. aureus*-Stämmen vorkommenden Parallelresistenzen zeigte sich das Bild bei den koagulasenegativen *Staphylococcus* spp. insgesamt uneinheitlicher (Tab. 38). Als Einfachresistenzen kamen neben der primären Unempfindlichkeit gegenüber Avilamycin auch eine solche gegenüber Penicillin und Erythromycin vor, welche dann bei der Kombination von Resistenzen gegenüber zwei und mehr Wirkstoffen in verschiedenen Profilen nachgewiesen wurden. Weitere Antibiotika, gegenüber denen Parallelresistenzen ermittelt wurden, waren Tetracyclin, Streptomycin, Quinupristin/Dalfopristin, Chloramphenicol, Ampicillin und Clindamycin. Die Unempfindlichkeit gegenüber Ampicillin war immer mit einer solchen gegenüber Penicillin kombiniert, jedoch wurde in 6 Fällen eine Unempfindlichkeit gegenüber Penicillin, nicht jedoch gegenüber Ampicillin ermittelt.

Tab. 38: Einzel- und Parallelresistenzprofil bei koagulase negativen *Staphylococcus*-Stämmen (n = 192) von Milchkühen mit akuter Mastitis, Deutschland, 2001

| Anzahl Antibiotika | AVL | PEN | ERY | TET | STR | SYN | CHL | AMP | CLI | Anzahl Bakterienstämme |
|--------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------------------------|
| 1 | x | | | | | | | | | 52 |
| | | x | | | | | | | | 6 |
| | | | x | | | | | | | 2 |
| 2 | | x | | | | | | x | | 10 |
| | x | x | | | | | | | | 5 |
| | x | | | x | | | | | | 4 |
| | x | | x | | | | | | | 3 |
| | x | | | | | x | | | | 2 |
| | x | | | | | | | x | | 2 |
| 3 | x | x | | | | | | | | 3 |
| | x | | | x | | | | | | 2 |
| | x | | x | | | | | | x | 2 |

AMP: Ampicillin; AVL: Avilamycin; CHL: Chloramphenicol; CLI: Clindamycin; ERY: Erythromycin; PEN: Penicillin; STR: Streptomycin; SYN: Quinupristin/Dalfopristin; TET: Tetracyclin

4.14.4. *Streptococcus*-Spezies

38 der 243 geprüften *Streptococcus* spp.-Stämme zeigten eine Einfachresistenz gegenüber Tetracyclin (Tab. 39). Ebenfalls häufig wurde eine Einfachresistenz gegenüber Erythromycin nachgewiesen. Die Parallelresistenz gegenüber zwei Wirkstoffen war eine Kombination aus den oben genannten Antibiotika.

Tab. 39: Einzel- und Parallelresistenzprofil bei *Streptococcus*-Stämmen (n = 243) von Milchkühen mit akuter Mastitis, Deutschland, 2001

| Anzahl Antibiotika | TET | ERY | SXT | Anzahl Bakterienstämme |
|--------------------|-----|-----|-----|------------------------|
| 1 | x | | | 38 |
| | | x | | 8 |
| | | | x | 2 |
| 2 | x | x | | 31 |

ERY: Erythromycin; SXT: Trimethoprim/Sulfamethoxazol; TET: Tetracyclin

4.14.5. *Pasteurella multocida* und *Mannheimia haemolytica*

Da für die meisten gegenüber den beiden Spezies *P. multocida* und *M. haemolytica* geprüften Antibiotika keine validen Grenzwerte verfügbar sind und somit keine Aussagen zur Resistenzausprägung gemacht werden können, wurde auf eine Auflistung entsprechender Daten verzichtet.

5. Diskussion

Seit einigen Jahren wird die Zunahme der Antibiotikaresistenzen sowohl in den allgemeinen Medien als auch in der Fachpresse diskutiert. Dabei wurden wiederholt Zusammenhänge zwischen der unkritischen Verwendung antibiotisch wirksamer Stoffe als Futterzusatzstoffe und zur Pro- und Metaphylaxe in der Nutztierhaltung und einer Zunahme von Resistenzen bei Wirkstoffen, die für die Therapie von Erkrankungen beim Menschen eingesetzt werden, vermutet. Als Beispiele für diese mögliche kausale Kette werden der Antibiotikaeinsatz zur Bekämpfung der durch *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. und weiterer Erreger hervorgerufenen Zooanthroponosen (Endtz et al., 1991; Angulo, 1997; van den Boogard und Stobberingh, 2000) sowie der Einsatz des Futterzusatzstoffes Avoparcin angeführt, der eine Kreuzresistenz zu dem humanspezifisch eingesetzten Vancomycin selektieren kann (Bager et al., 1997; Wagner und Hahn, 1999). Die aus dieser Diskussion resultierenden politischen Maßnahmen, die zu einem EU-weiten Verbot der meisten antibiotisch wirksamen Futterzusatzstoffe geführt haben, lassen zwar die Aktualität der Problematik erkennen, ersetzen aber keinesfalls die wissenschaftliche Bestandsaufnahme. Diese beinhaltet Themenbereiche wie die Erfassung des aktuellen Resistenzniveaus, die Molekularbiologie der Resistenzentwicklung, die Verbreitung von Resistenzen bei bakteriellen Infektionserregern in der Veterinärmedizin, den Einsatz von Antibiotika bei landwirtschaftlichen Nutztieren und nicht zuletzt die Abschätzung möglicher Konsequenzen für die Gesundheit des Menschen. In jüngster Zeit führten Berichte über eine ungünstige Resistenzsituation der Erreger der "akuten Mastitis des Rindes" und der "respiratorischen Erkrankungen des Mastschweines" gegenüber vielen Wirkstoffen zu einer Verunsicherung vor allem bei Landwirten und Tierärzten (Lotthammer und Klarmann, 1999; Trolldenier, 2001; Trolldenier und Kempf, 2001; Trolldenier und Wagner, 2001). Die zitierten Untersuchungen beruhen jedoch ausschließlich auf Ergebnissen, die auf der Analyse klinischer Bakterienisolate fußen. Deshalb sind die jeweiligen Ergebnisse nicht repräsentativ, denn die Probengewinnung entspricht keinem wissenschaftlich-epidemiologischen Probenschlüssel. Dieser mangelnden wissenschaftlichen Datenerhebung steht die vorliegende Promotionsschrift entgegen, in der repräsentative Daten gewonnen wurden. Die Tatsache, dass die vorliegenden eigenen Untersuchungen die zitierten Berichte eines ausgeprägten Sensibilitätsverlustes der Bakterien gegenüber antimikrobiellen Substanzen nicht bestätigen, verdeutlicht einmal mehr, dass die Ergebnisse epidemiologischer Studien unmittelbar mit dem Studiendesign zusammenhängen. Die hier erarbeiteten Daten

repräsentieren somit das tatsächliche Resistenzgeschehen in Deutschland „wahrer“ als die o.g. Publikationen – entsprechend kritisch müssen die Ergebnisse von Trollenier und Mitarbeitern sowie Lotthammer und Klarmann analysiert werden.

5.1. Durchführung der Resistenzmonitoringstudie

Das Ziel der vorliegenden Resistenzmonitoringstudie war es, die Resistenzsituation in den ausgewählten Erregerpopulationen zu messen. Durch eine Studienplanung nach epidemiologischen Gesichtspunkten und die Einhaltung festgelegter Vorgaben wurde versucht, mögliche Fehlerquellen, die die Qualität der erhobenen Daten und die Relevanz der darauf basierenden Aussagen beeinträchtigen, weitestgehend auszuschließen. Wichtigster Parameter war dabei die Erfassung einer für die empfindliche Erregerpopulation repräsentativen Stichprobe. Dies wurde umgesetzt, indem den an der Studie beteiligten Kooperationseinrichtungen vorgegeben wurde, ausschließlich Isolate aus Probenmaterial von nicht antibiotisch vorbehandelten Tieren einzusenden. Nachteilig wirkte sich aus, dass den Kooperationseinrichtungen nicht zu allen ihnen zur Untersuchung eingesandten Proben ein Vorbericht mit den entsprechenden Informationen zur Verfügung stand. Eine Empfindlichkeitsbestimmung gleicher Bakterienstämme, sogenannter "Copy-Stämme", wurde ausgeschlossen, da aus jeder Herde pro untersuchter Bakterienspezies nur jeweils ein Bakterienstamm in die Empfindlichkeitsprüfung eingeschlossen wurde. Als Probennahmeverfahren wurde die passive Probensammlung gewählt.

Grundsätzlich birgt das Verfahren den Nachteil einer gewissen Selektion, die im vorliegenden Fall dadurch zustande kam, dass nur ein bestimmter Anteil von Mastitismilchproben den staatlichen Veterinäruntersuchungsämtern zur Untersuchung zugesandt wird. Bakterienstämme aus Probenmaterial, welches in privaten Laboren oder vom behandelnden Tierarzt selbst untersucht wird, sind dementsprechend im Untersuchungsgut nicht enthalten. Um die Repräsentativität der Stichprobe zu optimieren, müssten deshalb weitere Untersuchungseinrichtungen wie private Labore und Hochschuleinrichtungen in die Probensammlung eingebunden werden. Da es sich bei der durchgeführten Studie um ein Pilotprojekt handelte, dessen Zweck neben der Datenermittlung vor allem auch dem Aufbau der für die Durchführung notwendigen Strukturen diene, wurde auf eine Einbindung der zuletzt genannten Einrichtungen in dieser Studie verzichtet.

Im Vergleich zum passiven bietet das aktive Probennahmeverfahren den Vorteil einer gezielten Probenauswahl. Da das Verfahren jedoch mit einem sehr hohen Arbeits- und

Kostenaufwand verbunden ist, war die aktive Probennahme für die vorliegende Studie nicht möglich. Die zu prüfenden Erreger wurden aus der Gruppe der tierpathogenen Bakterien ausgewählt. Als Indikationen und Tierarten wurden die "akute Mastitis des Rindes" und die "respiratorischen Erkrankungen des Mastschweines" vorgegeben, da die ausgewählten Tierarten zu den wichtigsten Lebensmittel liefernden Tieren gehören und die genannten Erkrankungen bei diesen Tieren häufig auftreten und dementsprechend oft mit antimikrobiellen Wirkstoffen bekämpft werden. Um regionale Schwankungen zu berücksichtigen, die einen Einfluss auf die Resistenzlage haben könnten, wurde den einsendenden Kooperationseinrichtungen ein detaillierter Stichprobenplan vorgegeben, anhand dessen die Isolate ihrer geographischen Herkunft nach ausgewählt werden sollten. Die Vorgaben wurden durch die engagierte Mitarbeit der teilnehmenden Kooperationseinrichtungen weitestgehend erfüllt, so dass eine gleichmäßige regionale und auch zeitliche Verteilung der geprüften Bakterienstämme gewährleistet war. Um Empfindlichkeitsprofile spezifisch für die ausgewählten Bakterienspezies zu ermitteln, wurden die eingesandten Bakterienisolate in Reinkultur angezüchtet und nach Angaben in der Literatur identifiziert (Sneath und Stevens, 1990; Quinn et al., 1999).

5.2. Methode der Empfindlichkeitstestung

Zur Empfindlichkeitsbestimmung von Bakterien stehen als qualitatives Verfahren der Agar-Diffusionstest und als quantitatives Verfahren der Dilutionstest auf festen Nährböden oder in Flüssignährmedien zur Verfügung. Für die Bestimmung der Antibiotikaempfindlichkeit der in der Studie gesammelten Bakterienstämme wurde das Mikro-Bouillondilutionsverfahren ausgewählt. Die Durchführung des Testes erfolgte entsprechend den Angaben des NCCLS, Approved Standard M31-A2 (NCCLS, 2002). Bei Verwendung standardisierter Methoden bieten die quantitativen Verfahren eine gute Reproduzierbarkeit und Vergleichbarkeit der Ergebnisse. Dieses konnte unter anderem auch durch die Ergebnisse des von der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG) initiierten Ringversuches belegt werden, an dem der Laborbereich "Nationales Resistenzmonitoring bei tierpathogenen Erregern" des BVL im Rahmen der Qualitätsprüfung teilnahm. Die Ergebnisse des Ringversuches zeigten, dass bei Einhaltung der Durchführungsvorschriften des NCCLS nicht nur innerhalb eines Laboratoriums, sondern in gleicher Weise auch zwischen den Laboren eine gute Übereinstimmung der jeweils ermittelten Werte gegeben war. Während im Ringversuch für die meisten Antibiotika sowohl für die Referenz- als auch für die Prüfstämme ein relativ

enges Spektrum der minimalen Hemmkonzentrationen ermittelt wurde, zeigten die gegenüber den Aminoglykosiden ermittelten Werte eine größere Variationsbreite. Dementsprechend scheint die Übereinstimmung der ermittelten Werte nicht nur von der verwendeten Methode, sondern auch von dem jeweils geprüften Wirkstoff abhängig zu sein. Darüber hinaus wurde anhand der Ringversuchergebnisse bestätigt, dass die Abweichung um eine MHK-Stufe von einem Soll-Wert als eine der Methode inhärente Streuung und damit als Übereinstimmung angesehen werden kann.

Die Verfahren zur Darstellung von minimalen Hemmkonzentrationen bieten zusätzlich den Vorteil, dass quantitative Daten ermittelt werden. Dem praktizierenden Tierarzt stehen somit Daten zur Verfügung, anhand derer das Therapieregime im Hinblick auf die Dosis und die Dosierungsintervalle individuell gestaltet werden kann (Craig, 1993). Zusätzlich sind quantitative Daten geeignet, Trends in der Sensibilität unterschiedlicher Erregerpopulationen über eine Zeitspanne zu beobachten und minimale Veränderungen frühzeitig zu erkennen (Gould, 2000). Im Übrigen sind die Kosten für die Durchführung der Empfindlichkeitsbestimmung mit quantitativen Verfahren kaum höher als die für die qualitativen Methoden. Lediglich die Anschaffung der antibiotikabeschichteten Mikrotiterplatten ist aktuell noch relativ kostenaufwendig, wenn nur eine geringe Stückzahl benötigt wird. Diese Situation kann allerdings beeinflusst werden, wenn, wie beispielsweise von der Arbeitsgruppe Antibiotikaresistenz der DVG initiiert, eine Abstimmung über Antibiotika-Layouts von Mikrotiterplatten zwischen mehreren Laboren erzielt werden kann. Als Nachteil einer entsprechenden Vereinbarung wird diskutiert, dass aufgrund der festgelegten Platten-Layouts die Flexibilität in der Auswahl der jeweils zu prüfenden Wirkstoffe über einen gewissen Zeitraum eingeschränkt ist und somit nicht immer die individuell gewünschte Wirkstoffpalette getestet werden kann.

Bei einem Vergleich verschiedener quantitativer Verfahren zeigt auch der E-Test einige Vorteile. Neben einer guten Reproduzierbarkeit der Ergebnisse wurde von Brown und Brown (1991) und Jorgensen et al. (1991) eine gute Korrelation zwischen den ermittelten minimalen Hemmkonzentrationen des E-Testes und klassischer Dilutionsverfahren festgestellt. Des Weiteren können mit dem E-Test auch langsam wachsende, anspruchsvolle Keime zuverlässig getestet werden. Nachteilig wirkt sich aus, dass zwar die zu prüfende Wirkstoffpalette jeweils individuell zusammengestellt werden kann, jedoch die Auswahl der als E-Teststreifen kommerziell zur Verfügung stehenden Wirkstoffe beschränkt ist.

Demgegenüber erweist sich der Agar-Diffusionstest als Methode der Empfindlichkeitsbestimmung sowohl für Monitoringstudien als auch in der Diagnostik als weitestgehend ungeeignet, da auch bei standardisierter Anwendung nur in geringem Maß reproduzierbare und vergleichbare Ergebnisse erzielt werden (Hedges, 1999; Witte und Klare, 1999) und die erhobenen Daten lediglich qualitative Aussagen zulassen (Altreuther et al., 1997; White et al., 2001). Ein weiterer Nachteil besteht darin, dass die Empfindlichkeitsbestimmung mit Hilfe des Agar-Diffusionstestes für einige Wirkstoffe, wie beispielsweise den Polymyxinen oder Vancomycin, aufgrund deren geringem Diffusionsvermögen als ungeeignet angesehen wird (DIN 58940, 1992-1996). Zudem zeigten Studien, dass anhand des Agar-Diffusionstestes gegenüber dem entsprechenden Wirkstoff als empfindlich oder intermediär beurteilte Erreger durchaus deutlich im Bereich der klinischen Resistenz liegende minimale Hemmkonzentrationen aufweisen können (Krabisch und Gangl, 2002). Das bedeutet, dass eine Beurteilung der Empfindlichkeit eines Erregers anhand der Ergebnisse des Agar-Diffusionstestes durchaus zu falschen Einschätzungen der Empfindlichkeit und damit entsprechend zum Therapieversagen führen kann. Dies begünstigt zum einen die Ausbildung von Resistenzen, zum anderen werden dadurch die Kosten einer Therapie zum Teil deutlich erhöht.

5.3. Qualitätssicherung bei der Methodendurchführung zur Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration

In den Durchführungsvorschriften des NCCLS werden zur Qualitätssicherung bezüglich der Kontrolle des Wachstums der Bakterienstämme, zur Überprüfung der Reinheit und zur Keimdichte des Inokulums sowie zur Verwendung von Kontrollstämmen präzise Angaben gemacht, anhand derer die Qualität der Methodendurchführung befriedigend beurteilt werden kann. Ein Problem bei der Durchführung der Qualitätssicherung besteht jedoch darin, dass in der Durchführungsvorschrift keine Angaben über zulässige Abweichungen der Inokulumkeimdichte vom Sollwert zu finden sind. Deshalb wurde in dieser Arbeit bei der Durchführung bezüglich der zulässigen Abweichungen vom Sollwert der Keimdichte auf die Angaben von Klarmann (2001) zurückgegriffen.

Ein weiteres Problem bei der Qualitätssicherung entsteht, wenn diese anhand unterschiedlicher Durchführungsvorschriften vorgenommen wird, da die Angaben zur Qualitätssicherung ähnlich wie die zur Methodendurchführung in den unterschiedlichen

Normen zum Teil variieren. Eine zufriedenstellende Qualität der Daten kann somit nur gewährleistet werden, wenn sowohl die Durchführung der Methode als auch die Qualitätssicherung anhand einer Norm vorgenommen wird.

Ein untypisches Bakterienwachstum bei hohen Antibiotikakonzentrationen, sogenannte Springer (spots), traten bei der Testdurchführung bei ca. 3 % der geprüften Bakterienstämme auf. Die MHK der entsprechenden Wirkstoffe für diese Bakterienstämme lag dabei in der Regel bei Antibiotikakonzentrationen im für die jeweilige Spezies bei den übrigen Bakterien ermittelten Bereich, zusätzlich war jedoch in einer weiteren Vertiefung im Bereich sehr hoher Antibiotikakonzentrationen ebenfalls Bakterienwachstum sichtbar. Über das Auftreten dieses Phänomens wurde auch von anderen Untersuchern berichtet, eine eindeutige Erklärung für mögliche Ursachen konnte jedoch nicht angegeben werden. Bei den eigenen Untersuchungen wurden die Bakterienstämme, bei denen Springer auftraten, erneut geprüft. Bei der wiederholten Empfindlichkeitsbestimmung war in keinem Fall das Phänomen "spots" bei hohen Wirkstoffkonzentrationen evident. Ermittelt wurde zudem, dass die Ausbildung von "spots" bei hohen Antibiotikakonzentrationen deutlich reduziert werden konnte, wenn zum Befüllen der Mikrotiterplatten statt der geeichten manuellen Mehrkanalpipette eine elektronische Mehrkanalpipette verwendet wurde.

5.4. Auswahlmerkmale und verwendete Konzentrationsbereiche der geprüften antimikrobiellen Wirkstoffe

Für die Empfindlichkeitsbestimmung der in der Studie gesammelten Bakterienstämme wurde das Resistenzverhalten gegenüber 24 antimikrobiell wirksamen Stoffen aus 13 Antibiotikagruppen geprüft. Als Kriterien für die Auswahl geeigneter Antibiotika für die Empfindlichkeitsbestimmung wurde festgelegt, dass entweder die ausschließliche Zulassung und Anwendung in der Veterinär- oder der Humanmedizin sowie auch der gleichzeitige Einsatz im Human- und Veterinärbereich zu berücksichtigen ist. Aus der Klasse der β -Lactam-Antibiotika wurden sieben Wirkstoffe ausgewählt und zwar Amoxicillin/Clavulansäure, Ampicillin, Oxacillin, Penicillin, Ceftiofur, Cefquinom und Cephalothin, da es sich jeweils um einen Vertreter der zugehörigen Stoffgruppen handelt. Ampicillin und Penicillin sowie die Cephalosporine werden unter anderem häufig zur Therapie von Atemwegsinfektionen beim Schwein und Mastitiden beim Rind angewendet. Bei Mastitiden kommt zusätzlich auch Oxacillin zum Einsatz. Das Kombinationsantibiotikum

Amoxicillin/Clavulansäure, bei dem resistenzvermittelnde β -Lactamasen durch die Clavulansäure gehemmt werden, sowie die weitgehend β -Lactamase-festen Cephalosporine der dritten (Ceftiofur) und der vierten Generation (Cefquinom) stellen eine denkbare Behandlungsalternative beim Auftreten resistenzvermittelnder TEM-1- und TEM-12- β -Lactamasen dar. Als Vertreter der Aminoglykoside wurden als älterer Wirkstoff dieser Gruppe Streptomycin und als Repräsentanten der neueren Aminoglykoside Gentamicin und Neomycin geprüft. Anhand der Ergebnisse kann unter anderem das Auftreten von Kreuzresistenzen zwischen den Wirkstoffen beurteilt und somit das Vorkommen von inaktivierenden Enzymen und deren jeweiligem Substratspektrum abgeschätzt werden. Aus der Gruppe der Amphenicole wurde die Resistenzausprägung gegenüber Chloramphenicol und Florfenicol überprüft. Chloramphenicol ist seit 1994 zur Anwendung bei Lebensmittel liefernden Tieren nicht mehr zugelassen, da der Wirkstoff beim Menschen das Auftreten der aplastischen Anämie fördert. Das Resistenzniveau gegenüber Chloramphenicol wurde kontrolliert um abschätzen zu können, ob durch die Verminderung des Selektionsdruckes eine Resistenzabnahme gegenüber Chloramphenicol erreicht werden konnte. Florfenicol wird vor allem zur Therapie von Infektionen des Respirationstraktes bei Rind und Schwein genutzt. Als Vertretersubstanz der Fluorchinolone wurde das in der Veterinärmedizin zugelassene Enrofloxacin ausgewählt, da es als Breitspektrumantibiotikum mit geringer Toxizität als Alternative bei der Behandlung respiratorischer Erkrankungen des Schweines in Frage kommt. Als zur Gruppe der Chinolone zugehörige Stoffe wurden zudem Flumequin und Nalidixinsäure geprüft, von denen Nalidixinsäure als Resistenzindikator für die Ciprofloxacinresistenz beschrieben wird (Kapil und Renuka, 2002). Aus der Gruppe der zur Zeit noch zugelassenen Futterzusatzstoffe wurde Avilamycin in die Resistenzprüfung eingeschlossen. Um die Resistenzausprägung gegenüber den Glykopeptiden zu ermitteln, wurde Vancomycin ausgewählt, welches ausschließlich in der Humanmedizin zugelassen ist und dort als Reserveantibiotikum bei durch Enterokokken verursachten Septikämien und bei durch Oxacillin-resistente Staphylokokken bedingten Infektionen eingesetzt wird. Wiederholt wird in der Literatur ein Zusammenhang zwischen den Resistenzquoten gegenüber Vancomycin und dem Einsatz von Avoparcin hergestellt, welches eine Kreuzresistenz zu Vancomycin selektiert und bis 1997 als Futterzusatzstoff zugelassen war (Jank und Rath, 2002). Ähnliche Überlegungen liegen der Auswahl des Kombinationsantibiotikums Quinupristin/Dalfopristin aus der Gruppe der Streptogramin-Antibiotika zugrunde, da von Virginiamycin, einem ehemals ebenfalls eingesetzten Futterzusatzstoff (Verbot 1999), eine Kreuzresistenz selektiert wird. Ergänzend wird in der Literatur eine Kreuzresistenz zwischen

Streptograminen, Lincosamiden und Makroliden beschrieben (Leclercq und Courvalin, 1991). Als Vertreter der Lincosamide wurde Clindamycin als Nachfolgesubstanz des bei der Colitis, Dysenterie und der enzootischen Pneumonie des Schweines häufig eingesetzten Lincomycins getestet. Die Resistenz gegenüber Erythromycin, einem Wirkstoff aus der Gruppe der Makrolide, wurde untersucht, da dieser Wirkstoff unter anderem zur Mastitisbehandlung eingesetzt wird. Eine Prüfung der Resistenzausprägung gegenüber den Wirkstoffen aus den drei letztgenannten Gruppen wurde lediglich bei den grampositiven Erregern vorgenommen, da vor allem *Enterobacteriaceae*, aber auch andere gramnegative Erreger, eine intrinsische Resistenz gegenüber diesen Wirkstoffen aufweisen. Nitrofurantoin aus der Gruppe der Nitrofurane, das lediglich in der Humanmedizin zugelassen ist, wurde geprüft, damit auch Daten zum Resistenzverhalten tierpathogener Keime zu humanspezifisch eingesetzten Wirkstoffen zur Verfügung stehen. Als Vertreter der Polymyxine wurde zur Prüfung Colistin ausgewählt, da dieser Wirkstoff häufig zur Bekämpfung von durch *E. coli* und *Salmonella* spp. hervorgerufenen Dysenterien eingesetzt wird. Eine Zulassung zur intramammären Anwendung bei Mastitiden besteht in Deutschland nicht. Während die Sulfonamide aufgrund zunehmender Resistenzen als Einzelwirkstoffe seltener Verwendung finden, werden sie in Kombination mit Diaminopyrimidinen wie Trimethoprim zur Behandlung von Durchfällen und respiratorischen Erkrankungen bei Rind und Schwein genutzt. Als weiteres Breitspektrumantibiotikum wurde stellvertretend für die Gruppe der Tetracycline der Wirkstoff Tetracyclin in die Testung einbezogen. Durch den intensiven Einsatz dieser Substanz zur Bekämpfung respiratorischer Erkrankungen beim Schwein konnte vor allem bei den untersuchten *P. multocida*- und *M. haemolytica*-Stämmen mit hohen Resistenzquoten gerechnet werden.

Die Festlegung des jeweils zu prüfenden Konzentrationsbereiches hatte als Ziel, die Wirkstoffkonzentrationen derart auszuwählen, dass die Streuung der minimalen Hemmkonzentrationen sowohl für die empfindliche als auch für die resistente Population umfassend dargestellt werden kann. Um diese Verteilung, die innerhalb der empfindlichen Bakterienpopulation einer Normalverteilung folgt und innerhalb der resistenten Population eher die Charakteristika einer Verteilung nach Poisson aufweist (Kresken und Wiedemann, 1990), möglichst vollständig darzustellen, wurden jeweils zehn bis zwölf Konzentrationsstufen geprüft. Entsprechende Angaben zu den Konzentrationsbereichen wurden der Literatur entnommen. Anhand der MHK-Verteilungen sind zum einen Aussagen über die klinische und/oder die biologische Empfindlichkeit innerhalb einer

Bakterienpopulation möglich, zum anderen bietet aber auch der Vergleich der in einem bestimmten zeitlichen Abstand ermittelten MHK-Verteilungen die Möglichkeit, Aussagen zur Veränderung der Resistenzsituation in einer Erregerpopulation abzuleiten. Diese Änderungen stellen sich als MHK-Verschiebungen innerhalb der Population dar. Da für Resistenzmonitoring-Studien vor allem Resistenzveränderungen innerhalb der empfindlichen Population von Interesse sind, wurden Verdünnungsstufen mit Konzentrationen ab 0,008 mg/l geprüft.

Bei der Auswertung der für die Prüfung vorgesehenen und der tatsächlich ermittelten Konzentrationsbereiche zeigte sich für *E. coli*, dass sich mit Ausnahme für Enrofloxacin und Trimethoprim/Sulfamethoxazol die Verteilung der minimalen Hemmkonzentrationen innerhalb der Population weitestgehend als Normalverteilung darstellte. Gegenüber Enrofloxacin und Trimethoprim/Sulfamethoxazol wurden dagegen bei der jeweiligen niedrigsten geprüften Wirkstoffkonzentration (0,03 mg/l; 0,12/2,38 mg/l) 73,8 % beziehungsweise 92,1 % der geprüften Keime in ihrem Wachstum gehemmt. Dementsprechend zeigte sich die Verteilung der minimalen Hemmkonzentrationen gegenüber diesen beiden Wirkstoffen derart, dass der linke, aufsteigende Schenkel einer Normalverteilung nicht entsprechend dargestellt werden konnte. Da jedoch die minimalen Hemmkonzentrationen innerhalb einer sensitiven Population stets normalverteilt sind ist anzunehmen, dass zahlreiche dieser Stämme minimale Hemmkonzentrationen deutlich unterhalb der niedrigsten geprüften Wirkstoffkonzentration aufweisen. Zum Beleg, dass die minimalen Hemmkonzentrationen in der untersuchten Population auch gegenüber Enrofloxacin und Trimethoprim/Sulfamethoxazol normalverteilt sind, müssten für diese Wirkstoffe weit niedrigere Wirkstoffkonzentrationen geprüft werden. Ähnlich wie bei den *E. coli*-Stämmen stellte sich die Situation bei den *Staphylococcus* spp. gegenüber den getesteten β -Lactam-Antibiotika Amoxicillin/Clavulansäure, Ampicillin und Penicillin sowie gegenüber Clindamycin und Trimethoprim/Sulfamethoxazol und bei den koagulasenegativen *Staphylococcus* spp. zusätzlich gegenüber Gentamicin dar. 50-90 % der geprüften Bakterienstämme wurden schon bei der niedrigsten eingesetzten Wirkstoffkonzentration in ihrem Wachstum gehemmt. Gleiches gilt für die *Streptococcus* spp. gegenüber Ampicillin, Penicillin und Trimethoprim/Sulfamethoxazol sowie gegenüber Erythromycin. Mehr als 70 % der Stämme wurden bei der niedrigsten geprüften Wirkstoffkonzentration in ihrem Wachstum gehemmt. Aufgrund der MHK-Ergebnisse bei *P. multocida* und *M. haemolytica* müssten für Ceftiofur, Enrofloxacin und Trimethoprim/Sulfamethoxazol sowie bei *M. haemolytica*

zusätzlich für Cefquinom niedrigere als die in der durchgeführten Studie festgelegten Konzentrationsstufen getestet werden, um die de facto MHK-Verteilung im unteren Konzentrationsbereich der Wirkstoffe in der empfindlichen Population vollständig darzustellen.

5.5. Festlegung und Anwendung von Grenzwerten

Ziel der *in vitro*-Empfindlichkeitsprüfung ist es, anhand der Ergebnisse Aussagen über die Empfindlichkeit beziehungsweise Resistenz der untersuchten Erreger treffen zu können. Anhand der Ergebnisse kann sowohl die klinische Wirksamkeit eines Antibiotikums abgeschätzt als auch die Resistenzsituation in einer Erregerpopulation beurteilt werden. Die Einordnung der Prüfergebnisse in die Kategorien sensibel, intermediär oder resistent erfolgt dabei anhand festgelegter Grenzwertkonzentrationen (Altreuther et al., 1997). Entsprechend ist es von Bedeutung, dass die Grenzwertkonzentrationen derart festgelegt werden, dass bei der Klassifizierung eines Bakterienstammes als empfindlich der entsprechende Konzentrationswert eines Antibiotikums in der zugelassenen Dosierung für die Indikation und Tierart weitestgehend erreicht werden kann. Es müssen jedoch Einschränkungen bei der Übertragung der *in vitro* ermittelten Ergebnisse der Empfindlichkeitstestung auf den Organismus beachtet werden. Diese ergeben sich beispielsweise durch abweichende Voraussetzungen zwischen standardisierten Prüfbedingungen im Labor und den im Körper variierenden Verhältnissen bezüglich pH-Wert, Sauerstoffpartialdruck und der körpereigenen Immunabwehr (Greenwood, 1981; Blaser, 1995). Um die Wirksamkeit eines Antibiotikums dennoch möglichst sicher abschätzen zu können, erfolgt die Festlegung von Grenzwerten deshalb idealerweise tierartspezifisch und indikationsbezogen unter Beachtung der MHK-Verteilung infrage kommender Bakterienspezies gegenüber einem Wirkstoff, dessen Pharmakokinetik und -dynamik sowie auf der Basis von Ergebnissen klinischer Studien. Ein Problem stellt jedoch die Festlegung und die Anwendung entsprechend einheitlicher Grenzwerte dar. Es muss unter anderem ein Vergleich der in unterschiedlichen Studien zur Resistenz ermittelten Ergebnisse möglich sein. Dieses ist aber nur gewährleistet, sofern prozentuale oder zahlenmäßige Angaben der Anteile resistenter Keime auf der Grundlage der gleichen Grenzwerte beurteilt worden sind. Eine Vereinheitlichung der Grenzwerte ist deshalb nicht nur auf nationaler Ebene anzustreben (Baquero, 1990). Aufgrund dieser Ausgangssituation wurden für die Beurteilung der Ergebnisse der eigenen Untersuchungen

die in den Leitlinien des NCCLS beziehungsweise des DANMAP angegebenen Grenzwerte verwendet, da es sich um veterinärspezifische Grenzwerte handelt.

5.6. Resistenz von Bakterien gegen antimikrobielle Wirkstoffe und Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration

Die bakterielle Resistenz ist ein relativer Begriff, der die Unempfindlichkeit von Bakterien gegenüber einem antimikrobiell wirksamen Stoff beschreibt. Während die intrinsische oder natürliche Resistenz die genetisch fixierte, stets vorhandene Unempfindlichkeit eines Bakteriums beschreibt, können natürlich empfindliche Bakterienstämme Resistenzen infolge von Mutationen oder der Übertragung mobiler genetischer Elemente erwerben (Smith und Lewin, 1993). Ursache für die Resistenzentstehung und -ausbreitung ist unter anderem der durch die Anwesenheit von Antibiotika entstehende Selektionsdruck. Insbesondere tragen eine nicht ausreichende Diagnostik sowie zu niedrige Dosierungen der Wirkstoffe und eine lange Behandlungsdauer zur Resistenzentwicklung bei (Werckenthin und Schwarz, 1997).

5.6.1. Plausibilitätskontrollen bei der Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration

Um die Qualität und damit die Aussagekraft der eigenen Ergebnisse zu überprüfen, wurde zunächst deren Plausibilität kontrolliert. Dazu diente zum einen die MHK-Verteilung und zum anderen das Verhalten der Stämme gegenüber verschiedenen Wirkstoffen der gleichen Gruppe. Die minimalen Hemmkonzentrationen der geprüften Bakterien gegenüber den jeweiligen Antibiotika waren für die sensible Population entsprechend den Angaben in der Literatur (Kresken und Wiedemann, 1990; Stock und Wiedemann, 1998) in einer annähernd normalverteilten Population zusammengefasst oder zeigten beim Auftreten einer empfindlichen und resistenten Population eine bimodale Verteilung. Beim Vergleich des Resistenzverhaltens gegenüber Wirkstoffen der gleichen Gruppe, die eine Kreuzresistenz selektieren, zeigte sich, dass gegen solche Wirkstoffe jeweils ähnliche Resistenzquoten ermittelt wurden.

Ein Vergleich der eigenen Untersuchungsergebnisse mit anderen Mitteilungen zur Resistenz erscheint nur sinnvoll, wenn den Untersuchungen die gleiche Methodik, die gleichen Grenzwerte und ein Untersuchungskollektiv vergleichbarer Zusammensetzung zugrunde liegt.

Da jedoch solche Berichte für Deutschland nur sehr eingeschränkt vorliegen, wurden unter Beachtung der oben genannten Kriterien dennoch die Untersuchungen von Trolldenier (2001) sowie Trolldenier und Kempf (2001) und Trolldenier und Wagner (2001) zum Vergleich herangezogen. Eine Gegenüberstellung dieser Ergebnisse mit den eigenen Untersuchungen ist aber nur eingeschränkt möglich, da von den oben genannten Untersuchern weitestgehend auf Probenmaterial aus den Veterinäruntersuchungsämtern zurückgegriffen wurde, dessen Auswahl keine festgelegten Parameter zugrunde lagen. Demzufolge besteht die Gefahr, dass in dem Untersuchungsgut Probenmaterial von Tieren aus gleichen Herden beziehungsweise aus Herden mit Infektionsproblemen und Therapieversagen überrepräsentiert ist. Da die Erreger aus derartigen Proben häufig Resistenzen erworben haben, ergibt die Einschätzung des Resistenzniveaus anhand solcher Proben ein falsches Bild der Situation. In den Arbeiten von Trolldenier und seinen Kollegen wurde als Methode der Empfindlichkeitsbestimmung neben dem Mikro-Bouillondilutionsverfahren auch der Agar-Diffusionstest verwandt. Letzterer verfügt aber unter anderem nicht über die für allgemeine Aussagen zur Resistenzsituation erforderliche Präzision. Weiterhin wird die Vergleichbarkeit der Daten erschwert, da die Durchführung der Tests zum Teil nach abweichenden Standards erfolgte und für die Ergebnisinterpretation Grenzwerte nach AVID, die zum Teil von denen des NCCLS differieren, verwandt wurden.

Die eigenen Ergebnisse zeigen im Vergleich zu Studien (Krabisch et al., 1999), die weitestgehend die gleiche Methodik einsetzten, bei der Mehrzahl der untersuchten Antibiotika analoge Resistenzquoten. Dagegen konnten bei der Gegenüberstellung der Daten von Trolldenier und seinen Kollegen und Ergebnissen dieser Arbeit zum Teil deutlich niedrigere Werte in den eigenen Tests ermittelt werden. Dies wird vor allem auf die jeweils verwendete Probenauswahl zurückgeführt. Während sowohl in den eigenen Untersuchungen als auch in der von Krabisch et al. (1999) durchgeführten Studie im Wesentlichen nur Bakterienstämme von nicht antibiotisch vorbehandelten Tieren ausgewertet wurden, finden sich bei Trolldenier und seinen Kollegen keine Angaben zu den Auswahlkriterien des Probenmaterials.

5.6.2. Resistenz der geprüften *E. coli*-Stämme

Beim Vergleich der Resistenzquoten gegenüber β -Lactam-Antibiotika fiel bei den untersuchten *E. coli*-Stämmen eine im Vergleich zur Ampicillinresistenz ähnlich ausgeprägte Cephalothinresistenz auf. Dieses Ergebnis erklärt sich durch die Tatsache, dass gramnegative Bakterien von Natur aus einige speziesspezifische, chromosomal vermittelte Enzyme

exprimieren, die sensible Cephalosporine schnell hydrolysieren (Prescott et al., 2000). Resistenzen gegenüber Amoxicillin/Clavulansäure konnten nicht festgestellt werden. Dies lässt sich durch die gute synergistische Wirkung der beiden Komponenten der Wirkstoffkombination erklären. Durch die Clavulansäure, die selbst nur eine geringe antibakterielle Wirkung hat, werden bakterielle β -Lactamasen effektiv gehemmt und somit der enzymatische Abbau des Amoxicillin verhindert, welches dadurch seine antibakterielle Wirkung entfalten kann (Amyes und Miles, 1998). Gegenüber dem geprüften Cefotiofur, einem Cephalosporin der dritten Generation, wurden keine Resistenzen ermittelt, da die neueren Cephalosporine weitestgehend β -Lactamase-stabil sind und deshalb durch bakterielle Enzyme nur in geringem Maß abgebaut werden (Caprile, 1988).

Abweichend zu den Ergebnissen von Trollenier (2001), der gegenüber Colistin eine Verteilung der minimalen Hemmkonzentrationen von 0,5-8 mg/l ermittelte, von denen 75,8 % der Werte bei 1 und 2 mg/l lagen, war der in den eigenen Untersuchungen ermittelte Konzentrationsbereich von 0,12-2 mg/l und mit ca. 95 % der Werte bei 0,25 und 0,5 mg/l deutlich niedriger. Resistenzen gegenüber Colistin wurden in den eigenen Untersuchungen nicht nachgewiesen. Dies ist darauf zurückzuführen, dass zum einen Resistenzen gegenüber Polymyxinen mit Ausnahme der bei *P. aeruginosa* beobachteten Unempfindlichkeit selten entstehen (Prescott et al., 2000) und zum anderen Colistin kaum zur Behandlung der durch coliforme Keime hervorgerufenen Mastitiden beim Rind angewendet wird und somit die Keime einem nur sehr geringen Selektionsdruck ausgesetzt sind. Der Vergleich der Ergebnisse zu *E. coli* gegenüber Colistin dokumentiert anschaulich die Notwendigkeit, das Untersuchungsmaterial nach Indikationen getrennt zu beurteilen. Bei einer Resistenzprüfung von aus Kotproben des Rindes isolierten *E. coli*-Stämmen ist entsprechend des Einsatzes von Colistin mit einem höheren Anteil resistenter Stämme zu rechnen.

Obwohl Enrofloxacin nicht zur Anwendung bei der laktierenden Kuh zugelassen ist, ist die Sensibilität von euterpathogenen *E. coli* gegenüber diesem Wirkstoff als dem Vertreter der Fluorchinolone durchaus von Interesse, da Enrofloxacin als Breitspektrumantibiotikum mit geringer Toxizität bei anderen Tierarten und Indikationen, wie respiratorischen Erkrankungen des Geflügels und Magen-Darm-Trakt-Erkrankungen der Kleintiere, häufig eingesetzt wird. Während Trollenier (2001) bei drei der von ihm untersuchten 99 *E. coli*-Stämme mit minimalen Hemmkonzentrationen von 4 mg/l eine Resistenz gegenüber Enrofloxacin ermitteln konnte, wurde in den eigenen Prüfungen keine Unempfindlichkeit gegenüber

Enrofloxacin nachgewiesen. Insgesamt lagen die minimalen Hemmkonzentrationen mit $\leq 0,03-0,12$ mg/l in einem sehr niedrigen Konzentrationsbereich. Auch gegenüber dem verwandten Wirkstoff Nalidixinsäure aus der Gruppe der Chinolone konnten keine Resistenzen gefunden werden, jedoch lag die Mehrzahl der ermittelten minimalen Hemmkonzentrationen mit 4 mg/l deutlich näher am Grenzwert für klinische Resistenz. Resistenzquoten gegenüber Flumequin, einem weiteren Wirkstoff aus der Gruppe der Chinolone, konnten aufgrund fehlender klinischer Grenzwerte nicht festgelegt werden. Anhand der gemessenen minimalen Hemmkonzentrationen wurde das Vorkommen einer einheitlichen Population dargestellt. Der enge Konzentrationsbereich bei relativ niedrigen Wirkstoffkonzentrationen von 0,25–2 mg/l und die annähernde Normalverteilung der Population lassen darauf schließen, dass es sich bei den untersuchten Bakterienstämmen ausschließlich um die gegenüber diesem Wirkstoff biologisch empfindliche Population handelt.

Bei der in 7,5 % der Fälle nachgewiesenen Florfenicolresistenz handelt es sich um eine geringgradige Resistenz, da die gemessene minimale Hemmkonzentration der unempfindlichen Stämme dem Grenzwert für klinische Resistenz entspricht. Die Resistenzeigenschaft wird dabei vermutlich durch die aktive Ausschleusung des Wirkstoffes mittels membranständiger Exportproteine mit einem auf Chloramphenicol und Florfenicol beschränkten Substratspektrum vermittelt.

Für die Wirkstoffe aus der Gruppe der Aminoglykoside wurden mit 10,2 % die höchsten Resistenzquoten gegenüber Streptomycin ermittelt. Dies erklärt sich daraus, dass viele bakterielle Enzyme, die eine Aminoglykosidresistenz vermitteln, in der Lage sind, Streptomycin zu modifizieren. Zudem ist der Wirkstoff als Vertreter der älteren Aminoglykoside schon über einen langen Zeitraum im Einsatz und wird in Kombination mit Penicillin vor allem zur Behandlung und Prophylaxe von bakteriellen Infektionen beim Pferd häufig genutzt. Gegenüber den neueren Wirkstoffen der Gruppe wurden dementsprechend geringere Resistenzquoten festgestellt. Vergleichend zu den von Trolldenier (2001) veröffentlichten Ergebnissen wurden für Neomycin (5,1 %) und Gentamicin (1,8 %) etwa gleiche Prozentanteile resistenter Keime gemessen, jedoch lagen die in den eigenen Untersuchungen ermittelten Konzentrationsbereiche sowohl für Neomycin mit 0,5-4 mg/l als auch für Gentamicin mit 0,25-2 mg/l unter dem von Trolldenier ermittelten Bereich von 1-4 beziehungsweise 1-8 mg/l. Die im Vergleich zu Neomycin geringere Resistenz gegenüber

Gentamicin ist ebenfalls mit dem differierenden Substratspektrum bakterieller Enzyme zu erklären. Während einige Enzyme in der Lage sind beide Wirkstoffe zu inaktivieren, wird von anderen Enzymen lediglich Neomycin abgebaut (Shaw et al., 1993).

Die Ausprägung des klinischen Resistenzniveaus gegenüber Nitrofurantoin konnte aufgrund fehlender Grenzwerte in der vorliegenden Arbeit nicht beurteilt werden. Ähnlich den Verhältnissen bei Flumequin ist jedoch aufgrund des engen Konzentrationsbereiches und der annähernden Normalverteilung der gemessenen minimalen Hemmkonzentrationen davon auszugehen, dass es sich bei den untersuchten Bakterienstämmen ausschließlich um die gegenüber diesem Wirkstoff biologisch empfindliche Population handelt. Dieses kann zudem angenommen werden, da die Resistenz gegenüber Nitrofurantoin in erster Linie durch das Fehlen bakterieller Nitroreduktasen vermittelt wird, die bei empfindlichen Bakterienstämmen das Wirkstoffmolekül in seine aktive, bakterizide Form überführen. Dementsprechend wird sich eine biologische Resistenz in einer deutlichen Erhöhung der minimalen Hemmkonzentrationen ausdrücken und nicht wie bei anderen Resistenzen, die beispielsweise durch schrittweise Mutationen verursacht werden, in einem nur geringgradigen Anstieg der minimalen Hemmkonzentration im Vergleich zur sensitiven Population.

Vergleichbar den von Trolldenier (2001) ermittelten Ergebnissen lagen die minimalen Hemmkonzentrationen der meisten *E. coli*-Stämme gegenüber Tetracyclin in den eigenen Untersuchungen ebenfalls in einem Konzentrationsbereich von 0,5-4 mg/l und damit im Bereich einer klinischen Empfindlichkeit. Der gegenüber Tetracyclin ermittelte Prozentanteil resistenter Stämme war mit 11,2 % wider Erwarten relativ gering. Da Tetracyclin als Breitspektrumantibiotikum mit geringer Toxizität häufig eingesetzt wird und die Resistenz bei *E. coli* durch verschiedene Mechanismen wie Tetracyclineffluxproteine, ribosomale Schutzproteine, membranständige Multidrugtransporter und eine verminderte Permeabilität der Bakterienmembran vermittelt wird, wurde zunächst von höheren Resistenzquoten ausgegangen.

Gegenüber Trimethoprim/Sulfamethoxazol wurden 4,7 % der Bakterien als klinisch resistent beurteilt. Die minimale Hemmkonzentration dieser Stämme betrug jeweils 64/1216 mg/l und war damit deutlich von den minimalen Hemmkonzentrationen der empfindlichen Population von bis zu 2/38 mg/l getrennt. Aufgrund der ausgeprägten Resistenz ist anzunehmen, dass diese nicht durch eine vermehrte Bildung oder die verminderte Affinität der an der bakteriellen Folsäuresynthese beteiligten Enzyme, die durch das Antibiotikum gehemmt

werden, hervorgerufen wird, da sich diese eher als geringgradige Resistenz ausprägen würde. Vielmehr wird vermutet, dass die Bildung von Enzymen, die von den Wirkstoffen nicht gehemmt werden, die Wirkung des Antibiotikums verhindert.

5.6.3. Resistenz der geprüften *Staphylococcus*-Spezies-Stämme

Gegenüber den β -Lactam-Antibiotika wurden bei den untersuchten *Staphylococcus*-Spezies hauptsächlich Resistenzen gegenüber Ampicillin und Penicillin festgestellt. Während für *S. aureus* die Resistenzquote für beide Wirkstoffe bei etwas über 20 % lag, wurde für die koagulasenegative *Staphylococcus* spp. gegenüber Penicillin eine vergleichbar hohe, gegenüber Ampicillin jedoch eine Resistenzquote von nur ca. 10 % gemessen. Diese Differenz ist mit der unterschiedlichen Empfindlichkeit der beiden Wirkstoffe gegenüber bakteriellen β -Lactamasen zu erklären. Während von den untersuchten *S. aureus*-Stämmen Enzyme gebildet werden können, die Ampicillin und Penicillin in gleicher Weise inaktivieren, wird für die untersuchten koagulasenegative *Staphylococcus* spp. das Vorkommen verschiedener Enzyme angenommen, von denen einige beide Wirkstoffe, andere jedoch lediglich Penicillin enzymatisch umsetzen. Im Vergleich wurden von Trolldenier und Wagner (2001) gegenüber den beiden genannten Antibiotika für *S. aureus* deutlich höhere Resistenzquoten von 35,3 % für Penicillin und 67 % für Ampicillin ermittelt. Auch die Verteilung der ermittelten minimalen Hemmkonzentrationen differiert deutlich. Während in den eigenen Untersuchungen für die resistente Population minimale Hemmkonzentrationen im Konzentrationsbereich von 0,5-8 mg/l gemessen wurden, konnten Trolldenier und Wagner (2001) für beide Wirkstoffe bei jeweils ca. 20 % der von ihnen untersuchten Stämme hohe minimale Hemmkonzentrationen im Bereich von 16 mg/l und darüber nachweisen. Gegenüber Cephalothin und Amoxicillin/Clavulansäure konnten in den eigenen Untersuchungen keine Resistenzen nachgewiesen werden, was vermutlich auf die weitgehende β -Lactamase-Festigkeit der Substanzen zurückzuführen ist. Gegenüber Oxacillin wurde lediglich bei den koagulasenegative *Staphylococcus* spp. eine geringe Resistenz von 1 % ermittelt, die vermutlich auf der Präsenz veränderter Penicillinbindungsproteine beruht, wie sie von Bryan und Godfrey (1991) beschrieben wurden.

Ein sehr hoher Prozentanteil resistenter *Staphylococcus* spp. wurde gegenüber Avilamycin mit ca. 46 % festgestellt. Ein Erklärungsansatz für diese hohe Resistenzquote könnte in dem Einsatz des Antibiotikums als Futterzusatzstoff und einem dementsprechend ausgeprägten

Selektionsdruck auf die physiologisch vorhandene Darmbakterienflora zu sehen sein. Um jedoch diesen Zusammenhang zu belegen, ist der Nachweis hoher Resistenzraten beispielsweise bei *Enterococcus* spp. und *E. coli* sowie eine mögliche Übertragung resistenzvermittelnder Determinanten auf andere Bakterienspezies zu führen.

Trotz des 1994 ausgesprochenen Verbotes zum Einsatz bei Lebensmittel liefernden Tieren wurde gegenüber Chloramphenicol für die *Staphylococcus* spp. eine Resistenzquote von bis zu 3,7 % festgestellt. Da für die vergangenen Jahre keine Daten zur Ausprägung der Resistenz vorliegen, kann eine mögliche Veränderung der Resistenzausprägung erst beurteilt werden, wenn Ergebnisse für weitere, in einem bestimmten zeitlichen Abstand isolierte Bakterienstämme vorliegen. Mit einem Resistenzrückgang ist jedoch nur bedingt zu rechnen, da der genetische Kode der resistenzvermittelnden Chloramphenicoltransferasen zwar plasmidlokalisiert ist, jedoch bei *Listeria monocytogenes* ein solches nachgewiesen wurde, auf dem neben dem genetischen Kode für die Chloramphenicoltransferase auch solche für tetracyclin-, makrolid-, lincosamid- und streptograminresistenzvermittelnde Elemente nachgewiesen werden konnten. Zusätzlich wurde dieses Plasmid erfolgreich in *S. epidermidis*-Stämme transformiert (Hadorn et al., 1994). Somit muss mit einer Co-Selektion der Chloramphenicolresistenz und der damit korrelierenden Persistenz gerechnet werden.

Aus der Gruppe der Makrolid-, Lincosamid- und Streptogramin- (MLS) Antibiotika wurden bei *S. aureus* lediglich geringe Resistenzquoten gegenüber den geprüften Wirkstoffen aus den genannten Gruppen nachgewiesen. Dagegen lagen bei den koagulasenegativen *Staphylococcus* spp. gegen alle aus den drei Gruppen geprüften Antibiotika Resistenzausprägungen von bis zu 10 % vor. Diese für die drei Vertreter Clindamycin, Erythromycin und Quinupristin/Dalfopristin in etwa gleich hohen Resistenzquoten sind durch den zugrunde liegenden resistenzvermittelnden Mechanismus zu erklären. Die Resistenz beruht in erster Linie auf der Modifikation der zellulären Angriffsstelle im Bakterium in Form einer Dimethylierung eines spezifischen Adeninrestes in der 23S rRNA und bewirkt eine Kreuzresistenz zu allen therapeutisch verfügbaren Makrolid- und Lincosamid-Antibiotika sowie zur B-Komponente der Streptogramin-Antibiotika (Arthur et al., 1987). Die geringfügigen Differenzen in der Resistenzausprägung können mit den zusätzlich vorkommenden Antibiotika-Effluxsystemen und bakteriellen, wirkstoffabbauenden Enzymen mit jeweils unterschiedlichen Substratspektren erklärt werden. Abweichend zu den von Trollenier und Wagner (2001) ermittelten Ergebnissen wurden bei *S. aureus* gegenüber

Erythromycin geringere Resistenzquoten und insgesamt niedrigere minimale Hemmkonzentrationen ermittelt. Gleiches gilt für den Vergleich der eigenen Ergebnisse für Clindamycin mit den von Trolldenier und Wagner (2001) festgestellten Werten für Lincomycin.

Für die Aminoglykosid-Antibiotika wurden bei *Staphylococcus* spp. lediglich Resistenzen gegenüber dem älteren Wirkstoff Streptomycin nachgewiesen, eine Resistenz gegenüber Gentamicin wurde nicht ermittelt. Dieses Verhältnis erklärt sich wie bei den *E. coli*-Stämmen aus dem unterschiedlichen Substratspektrum der resistenzvermittelnden bakteriellen Enzyme. Dass die Resistenzquoten im Gegensatz zu den für *E. coli* ermittelten Werten bei den *Staphylococcus* spp. etwas niedriger liegen, kann dadurch bedingt sein, dass die Mehrzahl aminoglykosid-modifizierender N-Acetyltransferasen bei gramnegativen Bakterien vorkommt (Shaw et al., 1993). Vergleichbar mit den Ergebnissen von Trolldenier und Wagner (2001) lagen die minimalen Hemmkonzentrationen der geprüften *S. aureus*-Stämme in einem Konzentrationsbereich von 0,012-2 mg/l, das Vorkommen von Stämmen mit minimalen Hemmkonzentrationen von 8-128 mg/l konnte jedoch durch die eigenen Ergebnisse nicht bestätigt werden.

Während bei den *E. coli*-Stämmen gegenüber Enrofloxacin minimale Hemmkonzentrationen in einem sehr niedrigen Konzentrationsbereich von $\leq 0,03$ -0,12 mg/l determiniert wurden, lagen im Vergleich die für die *Staphylococcus* spp. ermittelten minimalen Hemmkonzentrationen in einem Konzentrationsbereich von $\leq 0,03$ -1 mg/l. Bei einem *S. aureus*-Stamm wurde eine minimale Hemmkonzentration von 4 mg/l gemessen, die damit im Bereich klinischer Resistenz lag. Da die Enrofloxacinresistenz auf schrittweisen Mutationen der primären und sekundären Zielstrukturen beruht (Nakamura et al., 1989) ist anzunehmen, dass diese anders als bei *E. coli* bei den *Staphylococcus* spp. schon mehrfach vorgekommen sind. Auch Trolldenier und Wagner (2001) wiesen für *S. aureus* minimale Hemmkonzentrationen in einem Konzentrationsbereich von bis zu 1 mg/l nach, zusätzlich wurden jedoch bei fünf Stämmen minimale Hemmkonzentrationen von 4-16 mg/l ermittelt und damit im Vergleich zu den eigenen Untersuchungen über einen etwas höheren Anteil resistenter Stämme berichtet.

Abweichend von den *E. coli*-Stämmen wiesen die *S. aureus*-Stämme noch überwiegend eine Empfindlichkeit gegenüber Tetracyclin auf. Bei den koagulasenegativen *Staphylococcus* spp. wurde dagegen eine ähnlich ausgeprägte Resistenz wie bei *E. coli* nachgewiesen. Bei *Staphylococcus* spp. wird die Tetracyclinresistenz vorwiegend auch durch Tetracyclin-Effluxproteine vermittelt, die sich jedoch von denen der gramnegativen Bakterien unterscheiden. Zusätzlich kommen bei grampositiven Bakterien auch resistenzvermittelnde ribosomale Schutzproteine vor, die die Ribosomen vor der inhibitorischen Wirkung des Antibiotikums schützen (Chopra et al., 1992).

S. aureus-Stämme aus Mastitismilchproben sind insgesamt als empfindlich gegenüber der Kombination Trimethoprim/Sulfamethoxazol zu bewerten. Bei den koagulasenegativen *Staphylococcus* spp. stellt sich die Situation ähnlich dar, lediglich 0,5 % der Stämme wiesen mit einer minimalen Hemmkonzentration von 8/152 mg/l eine geringgradige Resistenz auf. Auch die von Trollenier und Wagner (2001) untersuchten *S. aureus*-Stämme erwiesen sich als insgesamt empfindlich gegenüber Trimethoprim/Sulfamethoxazol, jedoch lagen die mitgeteilten minimalen Hemmkonzentrationen insgesamt in einem Bereich höherer Wirkstoffkonzentrationen.

Gegenüber Vancomycin konnten bei den *Staphylococcus* spp. keine Resistenzen nachgewiesen werden. Zudem weist die annähernde Normalverteilung der ermittelten minimalen Hemmkonzentrationen in der untersuchten Population auf eine einheitliche, auch biologisch vollständig sensible Population hin.

5.6.4. Resistenz der geprüften *Streptococcus*-Spezies-Stämme

Aus der Gruppe der β -Lactam-Antibiotika wurde bei den *Streptococcus*-Spezies die Empfindlichkeit gegenüber Penicillin und Ampicillin getestet. Resistenzen gegen diese Wirkstoffe konnten trotz des häufigen Einsatzes bei durch grampositive Bakterien verursachten Infektionen nicht festgestellt werden.

Da ein valider Grenzwert für Avilamycin nicht bekannt ist, konnten in dieser Arbeit zur Ausprägung der Resistenz keine Angaben gemacht werden. Anhand der MHK-Verteilung konnte jedoch eine von der biologisch empfindlichen Population getrennte biologisch resistente Population abgegrenzt werden, deren Prozentanteil mit 47,4 % als durchaus

bedeutend bewertet wurde und in etwa dem bei den *Staphylococcus* spp. ermittelten Anteil klinisch resistenter Stämme entspricht.

Gegenüber Chloramphenicol wurde ein sehr geringer Resistenzprozentwert von 0,8 % ermittelt, der unter anderem auf das 1994 ausgesprochene Verbot des Einsatzes bei Lebensmittel liefernden Tieren zurückzuführen ist. Eine mögliche Erklärung für das Vorkommen resistenter Stämme ist, wie für die *Staphylococcus* spp. beschrieben, in der Co-Selektion der Chloramphenicolresistenz zu sehen.

Im Vergleich zu dem für die *Staphylococcus* spp. ermittelten Prozentanteil Erythromycin-resistenter Stämme mit 1,4 % für *S. aureus* und 9,4 % für die koagulasen negativen *Staphylococcus* spp. wurden bei den *Streptococcus* spp. mit 16,4 % deutlich mehr resistente Stämme festgestellt. Da dieser Wirkstoff zur intramammären Anwendung für die Mastitisbehandlung zugelassen ist, ist eine fortschreitende Resistenzentwicklung aufgrund des vorhandenen Selektionsdruckes anzunehmen.

Die bei den *Streptococcus* spp. festgestellte Tetracyclinresistenz liegt mit 29,2 % ebenfalls deutlich über dem für *E. coli* und die *Staphylococcus* spp. ermittelten Resistenzniveau von ca. 10 % und darunter. Dies kann auf ein bei *Streptococcus* spp. nachgewiesenes Plasmid zurückgeführt werden, auf dem neben dem genetischen Kode für das Tetracyclineffluxprotein TetK auch das Resistenzgen *ermB* für eine Erythromycinresistenz nachgewiesen wurde (Schwarz und Trolldenier, 2000). Dieser Zusammenhang würde gleichfalls auch die bei den *Streptococcus* spp. gemessenen Resistenzquoten gegenüber Erythromycin erklären. Der genetische Kode des bei den *Staphylococcus* spp. vorkommenden Effluxproteins TetL wird dagegen auf einem Plasmid detektiert, das in der Regel keine anderen Resistenzgene trägt.

Gegenüber der Wirkstoffkombination Trimethoprim/Sulfamethoxazol wurde bei den *Streptococcus* spp. ein sehr geringer Anteil resistenter Sämme gemessen. Diese trennten sich zu gleichen Teilen in eine Population mit minimalen Hemmkonzentrationen in einem Konzentrationsbereich verteilt um den klinischen Grenzwert von $\geq 4/76$ und in eine weitere Population mit minimalen Hemmkonzentrationen im Bereich einer hohen Wirkstoffkonzentration von 64/1216 mg/l.

Wie bei den *Staphylococcus* spp. stellten sich auch die für die *Streptococcus* spp. ermittelten minimalen Hemmkonzentrationen für Vancomycin als eine einheitliche, biologisch vollständig sensible Population dar. Resistenzen gegenüber dem Wirkstoff wurden nicht nachgewiesen.

5.7. Gegenüberstellung der für die ausgewählten Bundesländer ermittelten Ergebnisse

Bei der Gegenüberstellung der für die ausgewählten Bundesländer ermittelten Prozentanteile resistenter Stämme in den untersuchten Bakterienpopulationen ergaben sich insgesamt nur sehr geringgradige Abweichungen. Dementsprechend kann durch die eigenen Untersuchungen ein eindeutiger Zusammenhang zwischen der durch den Tierbesatz definierten Intensität der Tierhaltung und der Häufigkeit resistenter Stämme nicht belegt werden. Dies entspricht auch den von Lotthammer und Klarmann (1999) ermittelten Ergebnissen, die beim Vergleich der Resistenzlage im Weser-Ems-Gebiet mit intensiver Tierproduktion und dem für das Bundesgebiet von Trollenier und seinen Mitarbeitern ermittelten Daten ebenfalls keine belegten Abweichungen feststellen konnten. Vielmehr führten die Untersucher geringgradige Unterschiede in der Resistenzlage auf eine regional bedingte unterschiedliche Auswahl und Sorgfalt beim Einsatz von Antibiotika zur Prophylaxe und Therapie zurück.

In den eigenen Untersuchungen wurden insbesondere für die Bakterien aus Mastitismilchproben mit Ausnahme der koagulasenegativen *Staphylococcus* spp. für die alten Bundesländer jeweils geringgradig höhere Prozentanteile resistenter Keime als für die neuen Bundesländer dokumentiert. Dieses kann auf den unterschiedlich intensiven Einsatz von Antibiotika zurückgeführt werden. In gleicher Weise gilt dies bei den für die ausgewählten Bundesländer ermittelten deutlicheren Abweichungen. Im Vergleich zu den von Lotthammer und Klarmann (1999) für das Jahr 1997 im Weser-Ems-Gebiet ermittelten Prozentanteilen resistenter *S. aureus*-Stämme aus Mastitismilchproben sowie resistenter *P. multocida*-Stämme aus Nasentupferproben von Schweinen wurden in den eigenen Untersuchungen insgesamt deutlich niedrigere Resistenzprägungen gesehen. Beispielsweise wurden im Gegensatz zu den von Lotthammer und Klarmann (1999) ermittelten 14 % Cephalothin-resistenten, 55 % Gentamicin-resistenten und 11 % Oxacillin-resistenten *S. aureus*-Stämmen bei den in den eigenen Untersuchungen geprüften *S. aureus*-Stämmen keine Resistenzen gegenüber diesen

Wirkstoffen festgestellt. Dagegen stimmten die von Krabisch et al. (1999) für Bakterienstämme aus Mastitismilchproben in Bayern ermittelten Resistenzwerte weitestgehend mit denen aus den eigenen Untersuchungen überein.

5.8. Gegenüberstellung der für die ausgewählten Spezies der Gattung *Staphylococcus* und *Streptococcus* ermittelten Ergebnisse

Die Gegenüberstellung der für die Spezies innerhalb der Gattung *Staphylococcus* ermittelten Resistenzquoten zeigt, dass zwischen den jeweiligen Spezies zum Teil deutliche Unterschiede im Resistenzverhalten vorliegen. Die *S. aureus*-Stämme wiesen, anders als die der Gruppe der koagulasenegativen *Staphylococcus* spp., insgesamt niedrigere Resistenzquoten auf. Hohe Resistenzraten für die meisten der geprüften Wirkstoffe wurden bei *S. epidermidis* und *S. haemolyticus* festgestellt, dagegen waren bei den anderen koagulasenegativen *Staphylococcus* spp. zumeist für nur einen oder zwei Wirkstoffe deutlich höhere Prozentanteile resistenter Stämme zu messen. So war eine deutlich hohe Avilamycinresistenz bei *S. simulans* und *S. warneri* festzustellen, wohingegen die *S. sciuri*- und *S. xylosus*-Stämme eine deutlich hohe Resistenz gegenüber Quinupristin/Dalfopristin zeigten. Bei den untersuchten Spezies der Gattung *Streptococcus* zeigte sich, dass die *S. agalactiae*- und *S. dysgalactiae*-Stämme im Vergleich zu den *S. uberis*-Stämmen insgesamt niedrigere Resistenzwerte aufwiesen. Die Ergebnisse dieser Untersuchung verdeutlichen, dass sich das Resistenzprofil von Spezies zu Spezies unterscheidet und darum zur Ermittlung des Resistenzverhaltens in einer Population die Bestimmung der Bakterienspezies unerlässlich ist.

5.9. Resistenz der geprüften *Pasteurella multocida*- und *Mannheimia haemolytica*-Stämme

Für die *P. multocida*-Stämme von Mastschweinen mit respiratorischen Erkrankungen wurden aus der Gruppe der β -Lactam-Antibiotika die MHK-Verteilungen für Amoxicillin/Clavulansäure, Ampicillin und Oxacillin sowie für die Cephalosporine Cephalothin, Ceftiofur und Cefquinom ermittelt. Für Amoxicillin/Clavulansäure stellte sich eine einheitliche, annähernd normalverteilte Population dar, von der angenommen wird, dass es sich um die biologisch empfindliche Population handelt. Dagegen wurden für Ampicillin und Oxacillin jeweils zwei Populationen ermittelt, von denen die zweite, biologisch resistente Population bei Ampicillin durch 2,9 % der Stämme, bei Oxacillin dagegen durch ca. 80 % der

Stämme gebildet wurde. Während die Resistenz bei *Pasteurella* spp., soweit bekannt, auf der Bildung der ROB1- β -Lactamase beruht (Bush et al., 1995), lässt sich die Oxacillinresistenz nicht auf das Vorkommen derartiger Enzyme zurückführen, da Isoxazolympenicilline durch die ROB1- β -Lactamase kaum hydrolysiert werden (Livrelli et al., 1988). Vielmehr wird berichtet, dass die ausgeprägte biologische Resistenz durch das Vorkommen veränderter Penicillinbindungsproteine verursacht wird, wie sie von Bryan und Godfrey (1991) bei *Staphylococcus* spp. nachgewiesen wurden. Ein Selektionsdruck, der die Resistenzentwicklung begünstigen könnte, fehlt weitgehend, da Isoxazolympenicilline zur Anwendung bei Atemwegsinfektionen von Schwein und Rind nicht zugelassen sind. Abweichend zu den von Trolldenier und Kempf (2001) dargestellten minimalen Hemmkonzentrationen für *P. multocida*-Stämme gegenüber Ampicillin, bei denen für 26,6 % der Stämme minimale Hemmkonzentrationen von ≥ 4 mg/l gemessen wurden, war dieser Anteil in den eigenen Untersuchungen auf 2,3 % beschränkt. Für die Cephalosporine wurde aktuell lediglich gegenüber Cephalothin eine geringe Resistenzquote von 1,7 % ermittelt, während gegenüber Ceftiofur die Stämme als insgesamt empfindlich beurteilt wurden. Es zeigten gegenüber dem letztgenannten Wirkstoff 90 % der untersuchten Stämme minimale Hemmkonzentrationen von bis zu 0,12 mg/l, von denen 50 % bereits bei einer Konzentration von 0,03 mg/l vollständig im Wachstum gehemmt wurden. Eine Aussage zur Ausprägung der klinischen Resistenz gegenüber Cefquinom ist aufgrund fehlender valider Grenzwerte nicht möglich. Es wird jedoch postuliert, dass die Stämme auch gegenüber diesem Wirkstoff insgesamt empfindlich sind, da Cefquinom als Vertreter der Cephalosporine der 4. Generation eine Nachfolgesubstanz von Ceftiofur ist und damit eine verbesserte β -Lactamase-Festigkeit besitzt. Den eigenen Untersuchungen widersprechend wurden von Trolldenier und Kempf (2001) demgegenüber für Cefoperazon, einem Cephalosporine der 3. Generation, welches damit vergleichbare Eigenschaften wie Ceftiofur aufweist, 7,4 % der untersuchten Stämme mit minimalen Hemmkonzentrationen von ≥ 16 mg/l als resistent mitgeteilt.

Für Enrofloxacin wurden sowohl für *P. multocida* als auch für *M. haemolytica* jeweils zwei unterschiedliche Populationen ermittelt, von denen die biologisch resistente Population bei *M. haemolytica* mit 4,8 % der Stämme etwas größer war als die bei *P. multocida* mit 1,2 %. Obwohl Enrofloxacin bei Lebensmittel liefernden Tieren durchaus häufig eingesetzt wird und die Bakterien damit einem entsprechenden Selektionsdruck ausgesetzt sind, ist der Anteil biologisch resistenter Stämme als gering zu bezeichnen. Dies ist vermutlich dadurch zu erklären, dass gegenüber Fluorchinolonen offenbar lediglich chromosomal determinierte

Resistenzen ausgebildet werden (Petzinger, 1991), die entsprechend nur vertikal weitergegeben werden können. Somit findet die Resistenzausbreitung langsamer statt, als es bei einem horizontalen Austausch von mobilen genetischen Elementen der Fall ist. Auch gegenüber den beiden anderen, dem Enrofloxacin verwandten Stoffen Flumequin und Nalidixinsäure, wurden für beide Spezies jeweils zwei getrennte Populationen ermittelt, von denen entsprechend den Ergebnissen für Enrofloxacin die biologisch resistente Population bei *M. haemolytica* mit 4,8 % etwas größer war als die bei *P. multocida* mit 1,2 %.

Andererseits erwiesen sich die *P. multocida* und *M. haemolytica*-Stämme gegenüber Florfenicol insgesamt als sensibel. Anders als bei den untersuchten *E. coli*-Stämmen wurden minimale Hemmkonzentrationen ausschließlich im niedrigen Konzentrationsbereich von 0,25–1 mg/l gemessen. Vergleichbare minimale Hemmkonzentrationen wurden auch von Trolldenier und Kempf (2001) für die von ihnen untersuchten *P. multocida*-Stämme gesehen, zusätzlich konnten sie jedoch bei 8 % der Stämme minimale Hemmkonzentrationen ≥ 1 mg/l nachweisen.

Bei dem Vergleich der MHK-Verteilung gegenüber den beiden geprüften Aminoglykosiden fallen für beide geprüften Spezies insgesamt hohe minimale Hemmkonzentrationen gegenüber Streptomycin auf. Als Ursache für diese hohen minimalen Hemmkonzentrationen und dem damit verbundenen Anteil Streptomycin-resistenter Stämme ist unter anderem die rasche Entwicklung dieser Resistenz als Ein-Schritt-Mutation anzusehen (Shaw et al., 1993). Die minimalen Hemmkonzentrationen für Gentamicin überschreiten dagegen Konzentrationen von 4 mg/l nicht. Da beim Schwein derartige Blutserumkonzentrationen erreichbar sind, ist dementsprechend mit einer klinischen Therapierbarkeit zu rechnen.

Wie auch für einige andere Wirkstoffe wurden gegenüber Tetracyclin bei *M. haemolytica* mit 14,3 % mehr resistente Stämme nachgewiesen als bei *P. multocida* mit 7,4 %. Da Tetracycline sehr häufig zur Therapie respiratorischer Erkrankungen beim Schwein eingesetzt werden, wurde aufgrund des damit zusammenhängenden Selektionsdruckes mit deutlich höheren Resistenzquoten gerechnet. Hinzu kommt, dass Tetracycline zur oralen Applikation zugelassen sind. Die bekanntermaßen mit dieser Applikationsart verbundenen Unsicherheiten führen häufig zu einer Unterdosierung des Wirkstoffes, die die Resistenzentstehung in besonderer Weise fördert.

Wider Erwarten ausgeprägt ist die für beide Spezies ermittelte Resistenzrate gegenüber Trimethoprim/Sulfamethoxazol von ca. 14 %. Anders als bei *E. coli*, wo ein Teil der biologisch resistenten Stämme erst durch deutlich hohe Antibiotikakonzentrationen gehemmt werden, befindet sich bei *P. multocida* und *M. haemolytica* die biologisch resistente Population im Konzentrationsbereich dicht oberhalb der biologisch empfindlichen Population. Dementsprechend ist anzunehmen, dass die Resistenz nicht durch vollständig gegen das Antibiotikum unempfindliche Enzyme sondern vielmehr durch die vermehrte Bildung und die verminderte Affinität der gebildeten Enzyme vermittelt wird.

5.10. Vergleich der errechneten MHK_{50} und MHK_{90}

Die errechneten MHK_{50} und MHK_{90} ermöglichen es, den Resistenzgrad in einer Population auszudrücken und durch den Vergleich der in einem bestimmten zeitlichen Abstand für eine Bakterienpopulation kalkulierten MHK_{50} und MHK_{90} Veränderungen des Resistenzverhaltens zu erfassen. Die MHK_{50} und MHK_{90} geben die Antibiotikakonzentrationen in mg/l an, bei denen jeweils 50 % beziehungsweise 90 % der untersuchten Keime in ihrem Wachstum gehemmt werden (Wiedemann, 1998). Eine enge Spanne zwischen MHK_{50} und MHK_{90} deutet darauf hin, dass es sich bezüglich der Antibiotikaempfindlichkeit um eine weitestgehend einheitliche Population handelt. Eine durch den Anstieg der MHK_{90} oder eine Verminderung der MHK_{50} verursachte breitere Spanne zwischen den Werten weist dagegen auf eine größere Streuung der minimalen Hemmkonzentrationen hin. Liegt bei einem Teil der Stämme, der mehr als 10 % aber noch nicht 50 % der Population umfasst, eine verminderte Empfindlichkeit vor, so drückt sich diese in der entsprechend erhöhten MHK_{90} aus. Umfasst der Teil der Stämme mit einer verminderten Empfindlichkeit jedoch mehr als 50 % der Population, so steigt die MHK_{50} gleichfalls an. Da in den eigenen Untersuchungen das Resistenzverhalten in den Bakterienpopulationen nur für den in der Studienplanung festgelegten Zeitraum untersucht wurde und in einem bestimmten zeitlichen Abstand gemessene Vergleichswerte nicht vorliegen, können Resistenzveränderungen in den untersuchten Bakterienpopulationen anhand der eigenen Untersuchungen nicht beurteilt werden.

5.10.1. *Escherichia coli*

Für die meisten geprüften Wirkstoffe (Amoxicillin/Clavulansäure, Ceftiofur, Colistin, Enrofloxacin, Florfenicol, Flumequin, Gentamicin, Nalidixinsäure, Neomycin, Nitrofurantoin und Trimethoprim/Sulfamethoxazol) lagen die für die *E. coli*-Stämme errechneten MHK₅₀ und MHK₉₀ in einer engen Konzentrationsspanne und mit Ausnahme der Werte für Nitrofurantoin deutlich unterhalb des klinischen Grenzwertes, was auf eine weitestgehend einheitliche, gegenüber diesen Wirkstoffen klinisch empfindliche Population hinweist. Die gegenüber Ampicillin, Cephalothin, Streptomycin und Tetracyclin festgestellten, um mehrere Konzentrationsstufen differierenden Werte zeigten dagegen, dass in der *E. coli*-Population Stämme mit einer verminderten Empfindlichkeit gegenüber diesen Wirkstoffen vorkommen.

5.10.2. *Staphylococcus*-Spezies

Bei den *S. aureus*-Stämmen wurde lediglich für die β -Lactam-Antibiotika Amoxicillin/Clavulansäure, Ampicillin und Penicillin eine Konzentrationsspanne von mehr als zwei Stufen zwischen den jeweiligen MHK₅₀ und MHK₉₀ festgestellt, was auf eine unterschiedliche Empfindlichkeit innerhalb der Population gegenüber diesen Wirkstoffen hinweist. Zusätzlich zu den oben genannten Wirkstoffen wurden mit Ausnahme für Amoxicillin/Clavulansäure bei den koagulasenegativen *Staphylococcus* spp. auch für Avilamycin, Erythromycin und Tetracyclin eine von der MHK₅₀ deutlich abweichende MHK₉₀ nachgewiesen. Dementsprechend liegt bei den koagulasenegativen *Staphylococcus* spp. gegenüber diesen Wirkstoffen ebenfalls eine Resistenzzunahme vor.

5.10.3. *Streptococcus*-Spezies

Bei den *Streptococcus* spp. wurde eine Resistenzzunahme gegenüber Avilamycin, Erythromycin und Tetracyclin durch deutlich von den MHK₅₀ abweichende MHK₉₀ angezeigt. Die für Chloramphenicol in einer engen Konzentrationsspanne in einem Bereich relativ hoher Wirkstoffkonzentrationen liegenden Werte deuten auf eine Resistenzzunahme hin, die bereits mehr als 50 % der Population umfasst.

5.10.4. *Pasteurella multocida* und *Mannheimia haemolytica*

Eine weite Konzentrationsspanne wurde sowohl in der *P. multocida*- als auch bei der *M. haemolytica*-Population bei den MHK_{50} und MHK_{90} für Trimethoprim/Sulfamethoxazol und in der *M. haemolytica*-Population zusätzlich für Tetracyclin errechnet. Dieses deutet auf die Resistenzzunahme bei einem Teil der Stämme in der jeweiligen Population hin. Dagegen wurden für Nalidixinsäure, Oxacillin und Streptomycin sowie bei *P. multocida* zusätzlich für Gentamicin und Tetracyclin eng zusammenliegende MHK_{50} und MHK_{90} in einem Bereich insgesamt hoher Wirkstoffkonzentrationen gemessen. Besonders hoch waren die für Streptomycin festgestellten Werte mit 16 und 32 mg/l für *P. multocida* beziehungsweise 32 und 256 mg/l für *M. haemolytica*. Dieses Ergebnis lässt eine Resistenzzunahme gegenüber den genannten Wirkstoffen bei mehr als 50 % der untersuchten Populationen vermuten.

5.11. Bedeutung der klinischen und der biologischen Resistenz

Bei der Beurteilung der Empfindlichkeit von Bakterien gegenüber Chemotherapeutika kann eine Unterscheidung der klinischen und der biologischen Resistenz vorgenommen werden. Biologisch resistente Isolate weisen durch genetisch fixierte Resistenzdeterminanten eine verminderte Empfindlichkeit gegenüber einem entsprechenden Antibiotikum auf und sind bei der Häufigkeitsverteilung im Bereich höherer Wirkstoffkonzentrationen zusammengefasst (Kresken und Hafner, 2002). Diese biologisch resistenten Isolate müssen aber nicht zwangsläufig auch klinisch resistent sein, da sich die klinische Resistenz am Therapieerfolg orientiert. Ebenso müssen biologisch empfindliche Stämme nicht zwangsläufig klinisch empfindlich reagieren. Sollen die Ergebnisse der Empfindlichkeitsprüfung von Nutzen für den Therapeuten sein, hat die Auswertung auf der Grundlage der klinischen Grenzwerte zu erfolgen, sofern diese vorhanden sind. Für weitere Problembereiche, wie der Frage nach der Ausbreitung von resistenzdeterminierenden Elementen, ist es jedoch notwendig, eine Beurteilung nach biologischen Grenzwerten vorzunehmen, da sich die Resistenzentwicklung in einer Population als Zunahme der Prozentanteile biologisch resistenter Stämme darstellt. Wird eine Abschätzung der Resistenzentwicklung dagegen ausschließlich anhand klinischer Grenzwerte vorgenommen, so wird in den Fällen, in denen der klinische Grenzwert im Bereich der biologisch resistenten Population liegt, eine Resistenzzunahme nicht wahrgenommen, solange die minimalen Hemmkonzentrationen der Bakterien, die neuerlich eine Resistenz erwerben, unterhalb dieses klinischen Grenzwertes liegen.

5.11.1. Klinische und biologische Resistenz bei Bakterienstämmen aus Mastitismilchproben

Die für *E. coli* anhand der in den eigenen Untersuchungen ermittelten MHK-Verteilung festgestellten biologischen Grenzwerte zeigten mit Ausnahme für Trimethoprim/Sulfamethoxazol kaum Abweichungen von den jeweiligen anerkannten klinischen Grenzwerten. Entsprechend zeigten sich vergleichbare prozentuale Anteile biologisch und klinisch resistenter Stämme. Das bedeutet, dass die biologisch empfindliche Bakterienpopulation der klinisch empfindlichen in etwa entspricht. Bei den grampositiven Erregern waren ebenfalls für nur wenige Wirkstoffe deutliche Abweichungen zwischen der klinischen und der biologischen Resistenz nachweisbar. Für *S. aureus* zeigten die gegenüber Ampicillin, Chloramphenicol, Clindamycin und Penicillin ermittelten biologischen und klinischen Grenzwerte Abweichungen von höchstens einer Titerstufe, was in einer annähernd identischen klinisch und biologisch empfindlichen Population resultierte. Für Streptomycin wurde dagegen die biologisch empfindliche Population durch den klinischen Grenzwert geteilt. Folglich waren ca. 7 % der biologisch empfindlichen Stämme klinisch resistent, da die minimalen Hemmkonzentrationen der entsprechenden Stämme oberhalb der Wirkstoffkonzentrationen lagen, bei denen ein Therapieerfolg zu erwarten ist. Für Enrofloxacin, Erythromycin, Tetracyclin und Trimethoprim/Sulfamethoxazol lagen hingegen die ermittelten biologischen Grenzwerte deutlich unter denen für eine klinische Resistenz. Da jedoch in der klinisch empfindlichen Population kaum Stämme mit einer geringgradigen biologischen Resistenz festgestellt wurden, entsprachen sich die Anteile biologisch und klinisch resistenter Stämme gegenüber den genannten Wirkstoffen weitestgehend. Bei den koagulasenegativen *Staphylococcus* spp. zeigte sich, mit Ausnahme von Ampicillin, trotz teilweise deutlich abweichender klinischer und mikrobiologischer Grenzwerte ein einheitliches Bild der jeweiligen Anteile resistenter Stämme. Bei den für *Streptococcus* spp. ermittelten Ergebnissen zeigte sich, dass für Chloramphenicol und Erythromycin der klinische Grenzwert jeweils innerhalb der biologisch empfindlichen Population lag. Entsprechend kann ein Teil der als biologisch empfindlich beurteilten Stämme nicht erfolgreich therapiert werden. Liegt dagegen wie beispielsweise bei Penicillin der biologische Grenzwert über dem klinischen Grenzwert, würde bei der ausschließlichen Betrachtung der klinischen Resistenz auf der Basis klinischer Grenzwerte als Beurteilungskriterium zunächst eine Resistenzzunahme innerhalb der Population unbemerkt bleiben, solange die minimalen

Hemmkonzentrationen der entsprechenden Bakterienstämme unterhalb des klinischen Grenzwertes liegen.

5.11.2. Klinische und biologische Resistenz bei Bakterien von Mastschweinen mit respiratorischen Erkrankungen

Bei *P. multocida* und *M. haemolytica* lagen die für Cephalothin und Trimethoprim/Sulfamethoxazol angegebenen klinischen Grenzwerte im Bereich der biologisch resistenten Population. Während gegenüber Cephalothin trotz abweichender Grenzwerte annähernd gleiche Anteile biologisch und klinisch resistenter Isolate erfasst wurden, können gegenüber Trimethoprim/Sulfamethoxazol ca. 10 % der biologisch resistenten Isolate durchaus erfolgreich therapiert werden. Bei ausschließlicher Betrachtung der klinischen Resistenz als Beurteilungskriterium einer Resistenzzunahme bei diesen Bakterien würden Veränderungen innerhalb der Population unbemerkt bleiben, solange die minimalen Hemmkonzentrationen der entsprechenden Stämme unterhalb des klinischen Grenzwertes liegen. Auffallend hoch sind die prozentualen Anteile biologisch resistenter Isolate gegenüber Oxacillin, die nicht mit den gegenüber den anderen β -Lactam-Antibiotika Ampicillin und Amoxicillin/Clavulansäure ermittelten Werten korrelieren. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass Isoxazolympenicilline kaum durch β -Lactamasen hydrolysiert werden, sondern die Resistenzeigenschaft wie bei *Staphylococcus* spp. nachgewiesen, auf der Präsenz veränderter Penicillinbindungsproteine beruht (Bryan und Godfrey, 1991). Der trotz des hohen biologischen Grenzwertes bei Streptomycin mit ≥ 64 mg/l hohe Anteil biologisch resistenter Stämme lässt auf eine ausgeprägte Resistenz der Bakterien gegenüber diesem Wirkstoff schließen.

5.12. Untersuchung der Parallelresistenz

Als Parallel- beziehungsweise Mehrfachresistenz wird die bei einem Bakterienstamm auftretende gleichzeitige Unempfindlichkeit gegen mehrere Wirkstoffe bezeichnet, wenn dieser unterschiedliche Resistenzmechanismen zugrunde liegen. Von besonderem Interesse ist es in diesem Zusammenhang festzustellen, welche dieser Parallelresistenzen als Co-Resistenzen auftreten. Co-Resistenz bedeutet, dass die kodierenden Gene für die resistenzvermittelnden Elemente auf demselben mobilen genetischen Element lokalisiert sind und dementsprechend bei der Selektion der Resistenz gegen einen Wirkstoff co-selektiert

werden. Dieser Umstand hat eine Selektion von Resistenzdeterminanten zur Folge, ohne dass ein Selektionsdruck vorhanden ist. Das Vorkommen von Co-Resistenzen kann jedoch nur durch molekularbiologische Untersuchungen bestätigt werden, die phänotypische Ausprägung von Parallelresistenzen lässt hingegen lediglich Vermutungen zu.

In den eigenen Untersuchungen wurde festgestellt, dass bei den Bakterienstämmen aus Mastitismilchproben nur wenige unterschiedliche Kombinationen von Wirkstoffen als Parallelresistenzen auftraten. Der Wirkstoff, gegen den am häufigsten eine Einfachresistenz festgestellt wurde, kam auch bei den Parallelresistenzen am häufigsten vor. Für *E. coli* waren dies Florfenicol und Cephalothin, für die *Staphylococcus* spp. Avilamycin und für die *Streptococcus* spp. Tetracyclin. Eine Verknüpfung der Resistenzen gegenüber verschiedenen Wirkstoffen ließ das Vorkommen von Co-Resistenzen jedoch nicht ableiten.

5.13. Nutzen der ermittelten Resistenzdaten und Ausblick

Der Erhalt wirksamer Antibiotika, deren Fähigkeit es ist, empfindliche Bakterien in ihrem Wachstum zu hemmen beziehungsweise abzutöten, versetzt den Menschen in die Lage, bakterielle Infektionskrankheiten erfolgreich zu therapieren und damit einen erheblichen Beitrag zur Gesundheit von Mensch und Tier zu leisten. Vor allem durch einen nicht sachgemäßen Gebrauch von Antibiotika findet jedoch eine Selektion resistenter Bakterien statt, die die Gefahr birgt, bakterielle Erkrankungen von Mensch und Tier in Zukunft nicht mehr adäquat behandeln zu können. Daher ist es dringend geboten, die Resistenzentwicklung in der Human- und Veterinärmedizin so weit wie möglich zu verhindern und dadurch die Wirksamkeit der Antibiotika zu erhalten. Im Rahmen einer dazu notwendigen Risikoanalyse dient die Erfassung valider Daten zur derzeitigen Resistenzsituation und -entwicklung der Abschätzung von Auswirkungen, die der Einsatz antimikrobieller Wirkstoffe mit sich bringt. Qualitativ gute Daten zur Antibiotikaresistenzentwicklung sind eine wesentliche Voraussetzung für die Entwicklung wirksamer Maßnahmen zur Eindämmung des Fortschreitens der Resistenz und zur Entwicklung von Richtlinien zum Einsatz antimikrobieller Substanzen. Die Daten bilden damit eine Basis für ein effizientes Risikomanagement im Sinne eines vorbeugenden gesundheitlichen Verbraucherschutzes.

Eine Verringerung der Resistenzentwicklung und -ausbreitung kann beispielsweise bewirkt werden, indem das Therapieregime an vorliegenden Resistenzdaten ausgerichtet wird. Dies

bedeutet, dass bei der Kenntnis über den verursachenden Erreger einer bakteriellen Erkrankung nicht in jedem Fall dessen Sensitivität überprüft werden muss, sondern anhand des aktuell bekannten Resistenzverhaltens in der Population der entsprechenden Bakterienspezies ein für die Therapie geeigneter Wirkstoff ausgewählt werden kann. Dies ist jedoch nur möglich, wenn für den betreffenden Bestand repräsentative Daten vorliegen. Anhand der in der durchgeführten Studie ermittelten Daten können auf der Basis der geprüften Bakterienstämme jedoch nur Tendenzen abgeleitet werden. Für ein kalkuliertes Therapieregime werden dagegen wesentlich umfangreichere Daten benötigt, die Aufschluss über die Resistenzlage in einer bestimmten Region oder auch in einer bestimmten Herde geben. Die zusätzliche Datensammlung ist beispielsweise im Rahmen eines aktiven Probennahmeverfahrens in der kurativen Praxis umsetzbar, anhand dessen aus jeder Herde in einem bestimmten zeitlichen Abstand für eine definierte Indikation die Empfindlichkeit der ursächlich infrage kommenden Erreger bestimmt wird. Die somit dem behandelnden Tierarzt zur Verfügung stehenden Daten sind geeignet, einen für die Therapie der jeweiligen Erkrankung wirksamen Wirkstoff für eine Herde auszuwählen und so die Behandlung von Erkrankungen mit teilweise kostenaufwendigen Breitspektrumantibiotika oder das Auftreten von Therapieversagern weitestgehend zu vermeiden. Diese Daten könnten neben der Verringerung der Resistenzentwicklung auch einen Beitrag zum kosteneffektiveren Einsatz von Antibiotika leisten. Zusätzlich können durch den Vergleich der in einem gewissen zeitlichen Abstand erhobenen Daten Veränderungen in der Resistenzsituation festgestellt und bei einem Resistenzanstieg Interventionsmaßnahmen ergriffen werden. Beispielsweise ist bei Erreichen eines bestimmten, im Rahmen des Risikomanagements festzulegenden Resistenzniveaus das Verbot des Einsatzes eines entsprechenden Antibiotikums insgesamt oder lediglich für ausgewählte Indikationen und/oder Tierarten denkbar. Eine Umsetzung dieser Art der Datensammlung und -aufbereitung beinhaltet jedoch einen nicht unerheblichen Kostenaufwand, der von den Tierhaltern zu tragen wäre. Auch eine Sammlung und Auswertung der Daten im diagnostischen Labor wäre denkbar, da dort im Rahmen der Routinediagnostik Empfindlichkeitsbestimmungen durchgeführt werden. Allerdings ist dabei immer eine gewisse Selektion durch das jeweils eingesandte Probenmaterial gegeben, da in vielen Fällen von den behandelnden Tierärzten Probenmaterial erst eingesandt wird, wenn die zuvor durchgeführte Behandlung nicht anspricht. Möglicherweise ist auch eine Zusammenarbeit mit den Arzneimittelherstellern denkbar. Diese sind nach der 1997 für die Humanmedizin in Kraft getretenen "Note for Guidance on the Pharmacodynamic Section of the SPC for Anti-Bacterial Medicinal Products, CPMP/EWP/520/96" (CPMP, 1997) und der

seit Januar 2003 für den Veterinärbereich gültigen Richtlinie "Guideline on pre-authorisation studies to assess the potential for resistance resulting from the use of antimicrobial veterinary medicinal products, EMEA/CVMP/244" (CVMP, 2003) dazu aufgefordert, für die Zulassung antimikrobiell wirksamer Substanzen aktuelle Resistenzdaten zu ermitteln und diese in Abständen von fünf Jahren zu aktualisieren. Hierfür sind die in Resistenzmonitoringstudien ermittelten Daten geeignet, wenn die entsprechenden Wirkstoffe in die Prüfung einbezogen werden. In Absprache mit der pharmazeutischen Industrie könnten dementsprechend Studien durch Nutzung von Synergieeffekten durchgeführt werden. Neben der Datenerhebung trägt jedoch auch der verantwortungsbewusste Einsatz von Antibiotika durch den Tierarzt und den Tierhalter wesentlich zur Minimierung der Resistenzentwicklung bei. Dieser umfasst eine exakte Diagnosestellung, die die Erregeridentifizierung und Empfindlichkeitsbestimmung einschließt, sowie die Auswahl entsprechend geeigneter Wirkstoffe, die volle therapeutische Ausdosierung bei ausreichender Therapiedauer wie auch Modelle für eine kalkulierte Therapie. Auch unter Berücksichtigung der realen Gegebenheiten der ambulanten Praxis, in der der Erregernachweis häufig nicht möglich ist beziehungsweise auch nicht nötig ist, muss dennoch die ungezielte Therapie als nicht sachgemäß bezeichnet werden. Für eine Umsetzung des verantwortungsbewussten Einsatzes von Antibiotika sind ein Problembewusstsein bei Tierärzten und Tierhaltern sowie Kenntnisse über die Ursachen der Entstehung, Ausbreitung und Persistenz von Resistenzen notwendig. Chancen für die Umsetzung sind deshalb weniger in der Ausarbeitung von Kontrollmaßnahmen zum Antibiotikaeinsatz als vielmehr in der Aus- und Weiterbildung der Tierärzte, der Bereitstellung von Daten zur Resistenzentwicklung sowie in der Erarbeitung von Leitlinien zu sehen, wie sie von der WHO sowie der Bundestierärztekammer in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgemeinschaft der Leitenden Veterinärbeamten erstellt worden sind. Primäres Ziel des verantwortungsbewussten Antibiotikaeinsatzes sollte dabei die Erhaltung der Antibiotika auch für die Tiermedizin sein, da die Erzeugung hochwertiger und sicherer Lebensmittel sowie eine Effizienz in der Tierproduktion unter Gewährleistung eines adäquaten Tierschutzes nur durch den therapeutischen Einsatz von Antibiotika gesichert werden kann. Demgegenüber ist jedoch der Einsatz von Antibiotika außerhalb der klassischen Therapieformen, beispielsweise zur Aufstallungsprophylaxe, zu überdenken. Hier erscheint der Ersatz des Antibiotikaeinsatzes durch alternative Maßnahmen wie bessere Stallhygiene, Impfprogramme, Einsatz von Probiotika und die Zucht resistenter Rassen sinnvoll.

6. Zusammenfassung

Um einen Datenbeitrag als Grundlage zur Bearbeitung des Problems der Resistenzentwicklung und -ausbreitung bereitzustellen, wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit die Resistenzsituation bei ausgewählten Bakterienspezies von erkrankten Lebensmittel liefernden Tierarten durchgeführt. In die Studie 2001 wurden für die Indikation "akute Mastitis des Milchrindes" die Bakterienspezies/-gattungen *Escherichia (E.) coli*, *Staphylococcus (S.) aureus*, koagulasenegative *Staphylococcus* spp. und *Streptococcus* spp. eingeschlossen. Für die Indikation "respiratorische Erkrankungen des Mastschweines" wurden die Spezies *Pasteurella (P.) multocida* sowie *Mannheimia (M.) haemolytica* ausgewählt.

Zur Gewährleistung der Repräsentativität der untersuchten Bakterienstämme wurde den kooperierenden externen Einrichtungen die Auswahl der Bakterienisolate in einem Stichprobenplan vorgegeben. Je Herde wurde nur jeweils ein entsprechender Bakterienstamm jeder Spezies in die Untersuchungen einbezogen. Die in den teilnehmenden Institutionen gesammelten Bakterienstämme wurden an das Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL), ehemals BgVV gesandt, damit dort zentral die Spezieszugehörigkeit der Bakterienstämme überprüft werden konnte. Ebenso wurde dort die Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MHK) im Mikro-Bouillonverdünnungsverfahren entsprechend den Angaben des National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) durchgeführt. Die Einordnung der ermittelten MHK in die Kategorien sensibel beziehungsweise resistent erfolgte anhand von Grenzwerten aus den Normen des NCCLS und des Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme (DANMAP). Die zur Prüfung eingesetzten antimikrobiellen Stoffe wurden nach den drei Kriterien Zulassung für die Veterinärmedizin, Zulassung für die Humanmedizin sowie entsprechend des zu testenden Bakterienspektrums ausgewählt. Maximal wurden 14 Substanzen und zwei Wirkstoffkombinationen in jeweils 10-12 Verdünnungsstufen geprüft.

An der Studie 2001 nahmen 39 Labore aus 12 Bundesländern in Deutschland teil. Insgesamt wurde die Empfindlichkeit von 1.058 Bakterienstämmen bestimmt, von denen 214 der Spezies *E. coli*, 404 der Gattung *Staphylococcus*, 243 der Gattung *Streptococcus*, 176 der Spezies *P. multocida* und 21 der Spezies *M. haemolytica* zugehörig waren.

Bei den *E. coli*-Stämmen wurden ähnliche Resistenzquoten gegenüber Ampicillin (8,9 %) und dem Cephalosporin der ersten Generation (8,4 %) gemessen. Nur einer der geprüften Stämme

erwies sich auch gegenüber Ceftiofur, einem Cephalosporin der dritten Generation, als resistent. Für die Aminoglykoside wurden entsprechend des Zeitraumes seit der Zulassung der Substanzen absteigende Resistenzquoten (Streptomycin 10,2 %, Neomycin 5,1 % und Gentamicin 1,8 %) dokumentiert. Prozentanteile resistenter Stämme von 5-10 % wurden gegenüber Florfenicol, Tetracyclin und Trimethoprim/Sulfamethoxazol festgestellt. Für die weiteren geprüften Wirkstoffe (Amoxicillin/Clavulansäure, Colistin, Enrofloxacin, Flumequin, Nalidixinsäure und Nitrofurantoin) konnten dagegen keine Resistenzen nachgewiesen werden.

Von den *Staphylococcus* spp. aus Mastitismilchproben erwiesen sich ca. 24 % der Stämme als resistent gegenüber dem geprüften Penicillin. Gegenüber Ampicillin zeigten ca. 21 % der *S. aureus*-Stämme, aber nur 12 % der koagulasenegativen *Staphylococcus* spp. eine klinische Resistenz, was auf eine unterschiedliche Aktivität der bakteriellen β -Lactamasen zurückzuführen ist. Während die *S. aureus*-Stämme gegenüber Oxacillin vollständig empfindlich waren, wurde bei den koagulasenegativen *Staphylococcus* spp. mit 0,5 % eine geringe Resistenzausprägung gemessen. Eine Unempfindlichkeit gegenüber den Wirkstoffkombinationen Amoxicillin/Clavulansäure und Trimethoprim/Sulfamethoxazol sowie gegenüber dem Cephalosporin der ersten Generation und den Glycopeptiden (Vancomycin) wurde nicht nachgewiesen. Die Fluorchinolon- und die Aminoglycosidresistenz ist mit bis zu 0,6 % als gering zu bezeichnen. Eine Ausnahme stellt das ältere Aminoglycosid Streptomycin mit Resistenzquoten von ca. 7 % dar. Einen hohen Resistenzanteil zeigten hingegen die Stämme gegenüber Avilamycin mit ca. 46 %. Während für Chloramphenicol für alle *Staphylococcus* spp. Resistenzquoten von ca. 3 % nachgewiesen wurden, lagen die für Tetracyclin und die Wirkstoffe aus der Gruppe der MLS-Antibiotika ermittelten Quoten bei *S. aureus* niedriger als bei den koagulasenegativen *Staphylococcus* spp.

Von den 243 in die Studie eingeschlossenen *Streptococcus* spp.-Stämmen wurden 117 Stämme der Spezies *S. uberis*, 69 der Spezies *S. dysgalatae* und 48 Stämme der Spezies *S. agalactiae* zugeordnet. Die übrigen 9 Stämme gehörten den Spezies *S. bovis*, *S. mitis* und *S. acidominus* an. Die geprüften *Streptococcus* spp. erwiesen sich, im Unterschied zu den *Staphylococcus* spp. aus Mastitismilchproben, als resistenter gegenüber den Tetracyclinen mit 29,2 % und gegenüber dem Makrolid Erythromycin mit 16,4 %. Gegenüber den β -Lactam-Antibiotika Penicillin und Ampicillin wurden keine Resistenzen notiert.

Bei den aus dem Infektionsgeschehen "respiratorische Erkrankungen" geprüften Bakterienspezies *P. multocida* und *M. haemolytica* wurde bei den *M. haemolytica*-Stämmen

insgesamt ein höheres Resistenzniveau festgestellt als bei den *P. multocida*-Stämmen. Resistenzen gegenüber Ceftiofur, Florfenicol, Gentamicin und der Kombination Amoxicillin/Clavulansäure wurden nicht nachgewiesen. Für die Wirkstoffe Ampicillin, Cefquinom, Enrofloxacin, Flumequin, Nalidixinsäure, Oxacillin und Streptomycin können aufgrund fehlender valider Grenzwerte in der vorliegenden Arbeit keine Aussagen zum Resistenzverhalten formuliert werden.

Im Vergleich zu anderen Berichten zur Resistenzsituation in Deutschland für die vergangenen Jahre zeigte sich, dass in den eigenen Untersuchungen zum Teil deutlich niedrigere Resistenzausprägungen ermittelt wurden. Die von den bisher veröffentlichten Berichten zum Teil stark divergierenden Ergebnisse dieser Studie sind unter anderem auf eine unterschiedliche Zusammensetzung des Untersuchungsgutes, auf die Anwendung unterschiedlicher Testmethoden und auf eine Einordnung der ermittelten MHK anhand unterschiedlicher Normen zurückzuführen. Die auf der Grundlage standardisierter Methoden ermittelten Ergebnisse zeigen eine relativ geringe Resistenzprävalenz bei den untersuchten Bakterienspezies gegenüber den getesteten Wirkstoffen. Dies bedeutet, dass für die untersuchten Indikationen mit der Therapierbarkeit der durch bakterielle Infektionserreger hervorgerufenen Erkrankungen durch Antibiotika zur Zeit gerechnet werden kann. Um dies jedoch auch weiterhin zu gewährleisten, erscheint eine umfassende Datenerhebung und -auswertung im Rahmen eines nationalen Resistenzmonitorings auf der Grundlage standardisierter Methoden notwendig. Zum einen können anhand des Vergleiches der in einem bestimmten zeitlichen Abstand erhobenen Daten Veränderungen der Resistenzsituation beurteilt und bei einem Resistenzanstieg entsprechende Interventionsmaßnahmen durchgeführt werden. Weiterhin stünden dem praktizierenden Tierarzt Daten zur Verfügung, mittels derer eine kalkulierte Antibiotikatherapie im Sinne eines verantwortungsbewussten Antibiotikaeinsatzes ermöglicht wird. Dementsprechend können die erarbeiteten Daten zu einem Erhalt der Antibiotika auch für die Tiermedizin beitragen.

Epidemiological investigations on the minimum inhibiting concentration of veterinary pathogens for the indications "acute mastitis of dairy cattle" and "respiratory disease of fattening pigs"

7. Summary

A cross-sectional study to investigate the sensitivity of selected pathogenic bacteria isolated from food-producing animals (dairy cows, fattened pigs) against antimicrobial substances was performed. The hereby established database will be the rational to tackle the problem of development and spread of resistance in the future. In the year 2001, the bacterial species/genera *Escherichia (E.) coli*, *Staphylococcus (S.) aureus*, coagulase-negative *Staphylococcus* spp. (CNS) and *Streptococcus* spp. (at least *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis*) were selected as organisms for the indication "acute mastitis of dairy cattle" and *P. multocida* as well as *M. haemolytica* for the indication "respiratory disease of fattening pigs".

To guarantee a representative data set, the cooperating institutions involved in the sample collection and the isolation of bacteria, had to stick to a randomized sampling plan. Thus, only one representative bacterial isolate per each animal herd was collected by the participating institutions and then investigated in the Bundesinstitut für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL), former BgVV. Bacterial species were identified, and the minimum inhibiting concentration (MIC) was determined by the microbroth dilution method in line with recommendations of the National Committee for Laboratory Standards (NCCLS). Evaluating the MIC values as sensitive or resistant was determined according to veterinary breakpoints given by the NCCLS and the Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme (DANMAP). The examined antibiotics were selected based on three criteria: substances authorised for the veterinary field, substances authorised for the medical field (or equivalent in veterinary medicine), and substances corresponding to the bacterial spectrum to be tested. A maximum of 14 substances and two dual active substance combinations were examined in 12 dilution steps.

A total of 39 laboratories in 13 different German federal states took part in this nationwide monitoring study. 1058 bacterial strains were investigated, including 214 of the species *E. coli*, 404 of the genus *Staphylococcus*, 243 of the genus *Streptococcus*, 176 of the species *P. multocida* and 21 of the species *M. haemolytica*.

Regarding *E. coli* strains from mastitis milk samples, similar resistance rates were determined for ampicillin (8.9 %) and first generation cephalosporins (8.4 %). Only one *E. coli* strain was found to be resistant to ceftiofur, a third generation cephalosporin. Resistance rates against aminoglycoside antibiotics decreased in relation to the time period since the permission of the respective antibiotics (streptomycin 10.2 %, neomycin 5.1 % and gentamicin 1.8 %). 5-10 % of the bacterial strains were resistant against tetracycline, trimethoprim/sulfamethoxazole and florfenicol. No resistances were found against amoxicillin/clavulanic acid, colistin, enrofloxacin, flumequine, nalidixic acid or nitrofurantoin.

24 % of the *Staphylococcus* strains from mastitis milk samples proved to be resistant against penicillin. Some 21 % of the *S. aureus* strains, but only 12 % of the CNS, showed clinical resistance against ampicillin, respectively. This was due to the different activities of bacterial β -lactamases. While the *S. aureus* strains showed complete sensitivity against oxacillin, within the CNS species only a small resistance development of 0,5 % was measured. None of the staphylococcal strains was found resistant against active substance combinations such as amoxicillin/clavulanic acid, trimethoprim/sulfamethoxazole, or against cephalosporin (first generation) and glycopeptides (vancomycin). Fluoroquinolone and aminoglycoside (gentamicin) resistance rates up to 0.2 % are judged as insignificant. An exception was the older aminoglycoside, streptomycin, with a resistance rate of approx. 7 %. By contrast, the staphylococcal strains from mastitis milk samples showed far higher resistance rates of around 46 % to avilamycin. While all *Staphylococcus* strains showed resistance against chloramphenicol of approx. 3 %, the rates against tetracycline and the active substances of the MLS antibiotics were lower in *S. aureus* than in the CNS species.

117 of the 243 Streptococci investigated were assigned to the species *S. uberis*, 69 to the species *S. dysgalactiae* and 48 strains to the species *S. agalactiae*. The other 9 strains belonged to the species *S. bovis*, *S. mitis* and *S. acidominus*. In contrast to the *Staphylococcus* spp. from mastitis milk samples, the tested *Streptococcus* spp. proved to be far more resistant to tetracycline (32 %) and to the macrolide erythromycin (16 %). All streptococci were completely sensitive against penicillin and ampicillin.

Regarding the bacterial species *P. multocida* (n = 176) and *M. haemolytica* (n = 21), investigated as model organisms for the indication of "respiratory disease", *M. haemolytica* strains in general expressed higher resistance levels than *P. multocida* species. Both bacterial species displayed no resistance against ceftiofur, florfenicol, gentamicin or the combination, amoxicillin/clavulanic acid. Due to the lack of valid recommended MIC values concerning

the resistance against ampicillin, cefquinom, enrofloxacin, flumequine, nalidixic acid, oxacillin and streptomycin, those resistance rates can not be defined in this thesis.

The quantitative sensitivity results (MIC) from the tested bacterial species determined in this study revealed that in comparison to data previously published on the resistance rates of bacteria in Germany, a lower resistance prevalence is to be expected. Reasons for major differences between this study and those published previously amongst other details are, a) investigation of a representative sample collection, b) a different method of resistance determination (MIC), c) an evaluation based on different criteria (NCCLS, DANMAP).

These data obtained here by standardised methods indicate that the prevalences of resistances against antibiotics of the examined bacterial species against the tested substances is relatively low. Therefore, the therapeutical use of antibiotics to treat bacterial infections with these pathogens is presumably still highly effective. However, to confirm this assumption, further data have to be generated and evaluated. The need of a national resistance monitoring based on standardized methods is emphasized. Such a monitoring is useful both to determine changes in the resistance situation over time and to readily implement intervention strategies when increasing resistances are detected. In addition, the data should become available to practising veterinary surgeons enabling a more calculated and responsible antibiotic therapy. Consequently the acquired data will ensure continues use of antibiotics in veterinary medicine.

8. Literaturverzeichnis

Aarestrup, F.M. und N.E. Jensen (1998)

Development of penicillin resistance among *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Denmark and other countries. *Microbial Drug Resistance* 4, 247-256

Aarestrup, F.M. und H.C. Wegener (1999)

The effects of antibiotic usage in food animals on the development of antimicrobial resistance of importance for humans in *Campylobacter* and *Escherichia coli*. *Microbes Infect.* 1, 639-644

Abou-Youssef, M.H., C.J. DiCuollo, C.R. Miller und G.C. Scott (1979)

Influence of a sub-therapeutic level of virginiamycin in feed on the incidence and persistence of *Salmonella typhimurium* in experimentally infected swine. *J. Animal Sci.* 49, 128-133

Acar, J.F. (1991)

The disk susceptibility test. In: antibiotics in laboratory medicine. third edition. chapter 1, pp. 24-54, ed: Lorian V., Baltimore Williams & Wilkins Co

Acar, J. und B. Röstel (2001)

Antimicrobial resistance: an overview. In: OIE Scientific and Technical Review, Volume 20(3). Second OIE International Conference on Antimicrobial Resistance: Use of Antimicrobials and Protection of Public Health, Paris, 2-4 October 2001

Altreuther, P., A. Böttner, M. Scheer, W. Traeder und S. Weiskopf (1997)

Anmerkungen zum Resistenzmonitoring in der Tiergesundheit. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 110, 418-421

Amyes, S.G.B. und K.J. Towner (1990)

Trimethoprim resistance; epidemiology and molecular aspects. *J. Med. Microbiol.* 31, 1-19

Amyes, S.G.B. und R.S. Miles (1998)

Extended-spectrum β -lactamases: the role of inhibitors in therapy. *J. Antimicrob. Chemother.* 42, 415-417

Angulo, F.J. (1997)

Multidrug-resistant *Salmonella typhimurium* definitive type 104. *Emerg. Infect. Dis.* 3, 414

Anthony, F., J. Acar, A. Franklin, R. Gupta, T. Nicholls, Y. Tamura, S. Thompson, J.E. Threlfall, D. Vose, M. van Vuuren, D.G. White, H. Wegener und L. Costarrica (2001)

Antimicrobial Resistance: Responsible and prudent use of antimicrobial agents in veterinary medicine. In: OIE Scientific and Technical Review, Volume 20(3). Second OIE International Conference on Antimicrobial Resistance: Use of Antimicrobials and Protection of Public Health, Paris, 2-4 October 2001

Arnold, D. (2001)

Risk management. Proceedings of the Second OIE International Conference on Antimicrobial Resistance: Use of Antimicrobials and Protection of Public Health, Paris, 2-4 October 2001

Arthur, M., A. Brisson-Noel und P. Courvalin (1987)

Origin and evolution of genes specifying resistance to makrolide, lincosamide, and streptogramin antibiotics: data and hypotheses. *J. Antimicrob. Chemother.* 20, 783-802

AVID (1999)

Arbeitskreis für veterinärmedizinische Infektionsdiagnostik im Arbeitsgebiet "Mikrobiologie, Parasitologie und Hygiene" der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft – Loseblattsammlung, Methoden der Infektionsdiagnostik XII, 1999

Bager, F., M. Madsen, J. Christensen und F.M. Aarestrup (1997)

Avoparcin used as growth promoter is associated with the occurrence of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* on Danish poultry and pig farms. *Prev. Vet. Med.* 31, 95-112

Baquero, F. (1990)

European standards for antibiotic susceptibility testing: Towards a theoretical consensus. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 9 (7), 492-495

Baquero, F. (1996)

Trends in antibiotic resistance of respiratory pathogens: an analysis and commentary on a collaborative surveillance study. *J. Antimicrob. Chemother.* 38, 117-132

Baquero, F., M.C. Negri, M.I. Morosini und J. Blazquez (1997)

The antibiotic selective process: concentration-specific amplification of low level resistant populations. In: Ciba Foundation Symposium 207; Antibiotic Resistance: origins, evolution, selection and spread. Wiley, Chichester, 93-111

Barrow, P.A., H. Williams Smith und J.F. Tucker (1984)

The effect of feeding diets containing avoparcin on the excretion of salmonellas by chickens experimentally infected with natural sources of Salmonella organisms. *J. Hyg. Camb.* 93, 439-444

Barrow, P.A. (1989)

Further observations on the effect of feeding diets containing avoparcin on the excretion of salmonellas by experimentally infected chickens. *Epidemiol. Infect.* 102, 239-252

Bates, J., J.Z. Jordens und D.T. Griffith (1994)

Farm animals as a putative reservoir for vancomycin-resistant enterococcal infection in man. *J. Antimicrob. Chemother.* 34, 507-516

Bergström, S. und S. Normark (1979)

β -lactam-resistance in clinical isolates of *Escherichia coli* caused by elevated production of the *ampC*-mediated chromosomal β -lactamase. *Antimicrob. Agents Chemother.* 16, 427-433

Best, P. (1996)

Production without antibiotics: The Swedish experience. *Feed Intern.* 4, 8-12

Beutin, L. (1981)

Antibiotika und chemische Wirkstoffe in der Tierernährung. *Biologie in unserer Zeit* 5, 129-134

Björkman, J., D. Hughes und D.I. Andersson (1998)

Virulence of antibiotic-resistant *Salmonella typhimurium*. Proc. Natl. Acad. Sci. 95, 3949-3953

Blaser, J. (1995)

In vitro-und *in vivo*-Untersuchungen von Antibiotika. Chemother. J. 4, 18-24

Bock, J. (1998)

Voraussetzungen, Sicherheit und Genauigkeit. In: Bestimmung des Stichprobenumfangs für biologische Experimente und kontrollierte klinische Studien. Erste Auflage, pp. 10-21, ed: J. Bock, R. Oldenbourg Verlag, München, Deutschland

Böttner, A., F. Pirro, P. Schmid, W. Traeder, S. Weiskopf, H. Weiß und E. Zschiesche (2000)

Leitfaden zur Planung von Studien zur Erfassung der Resistenzsituation bei veterinärmedizinisch relevanten Infektionserregern. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr 113, 299-305

Bolmström, A., S. Arvidson, M. Ericsson und A. Karlsson (1988)

A novel technique for direct quantification of antimicrobial susceptibility of microorganisms. In: programm and abstracts of 28th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC), Los Angeles, Kalifornien, USA, 23-26 October 1988, ASM, Washington DC, USA, Abstract 1209, p. 325

Bonafede, M. und L.B. Rice (1997)

Emerging antibiotic resistance. J. Lab. Clin. Med. 130, 558-566

Bower, C.K. und M.A. Daeschel (1999)

Resistance responses of microorganisms in food environments. Int. J. Food Microbiol. 50, 33-44

Brown, D.F.J. und L. Brown (1991)

Evaluation of the E Test, a novel method of quantifying antimicrobial activity. J. Antimicrob. Chemother. 27, 185-190

Bryan, L.E. (1989)

Two forms of antimicrobial resistance: bacterial persistence and positive function resistance. J. Antimicrob. Chemother. 23, 817-823

Bryan, L.E. und A.J. Godfrey (1991)

β -lactam-antibiotics: mode of action and bacterial resistance. In: Antibiotics in laboratory medicine. third edition, chapter 16, pp. 600-663. ed: V. Lorian, Baltimore Williams & Wilkins Co

BSAC (1988)

British Society for Antimicrobial Chemotherapy: Breakpoints in *in vitro*-antibiotic sensitivity testing. Report by a Working Party of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy. J. Antimicrob. Chemother. 21, 701-710

Bundesanzeiger (1990)

Bekanntmachung der Neufassung der allgemeinen Verwaltungsvorschrift zur Beobachtung, Sammlung und Auswertung von Arzneimittelrisiken (Stufenplan) nach § 63 AMG, B. Anz. Nr. 91 v. 16.5.1990

Bush, K., G.A. Jacoby und A.A. Medeiros (1995)

A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob. Agents Chemother.* 39, 1211-1233

Bywater, R.J. (2000)

Sense and nonsense in surveillance programmes. *Acta Vet. Scand.* 93, 119-127

Caprile, K.A. (1988)

The cephalosporin antimicrobial agents: a comprehensive review. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 11, 1-32

Caprioli, A., L. Busani, J.L. Martel und R. Helmuth (2000)

Monitoring of antibiotic resistance in bacteria of animal origin: epidemiological and microbiological methodologies. *Int. J. Antimicrob. Agents* 14, 295-301

Chalus-Dancla, E., J.L. Martel, C. Carlier, J.P. Lafont und P. Courvalin (1986)

Emergence of aminoglykoside 3-N-acetyltransferase IV in *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* isolated from animals in France. *Antimicrob. Agents Chemother.* 29, 239-243

Chalus-Dancla, E., Y. Glupczynski, G. Gerbaud, M. Lagorce, J.P. Lafont und P. Courvalin (1989)

Detection of apramycin resistant *Enterobacteriaceae* in hospital isolate. *FEMS Microbiology. Letter* 52, 261-265

Chalus-Dancla, E., P. Pohl, M. Meurisse, M. Marin und J.P. Lafont (1991)

High genetic homology between plasmids of human and animal origins conferring resistance to the aminoglycosides gentamicin and apramycin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 35, 590-593

Chalus-Dancla, E., J.P. Lafont und J.L. Martel (2000)

Spread of resistance from food animal to man: The French experience. *Acta Vet. Scand.* 93, 53-61

Cherubin, C.E. (1984)

Epidemiological assessments of antibiotic resistance in *Salmonella*. In: *CRC Handbook Series in Zoonoses*. pp. 173-200, ed: J.H. Steel und G.W. Beran, CRC Press, Boca Raton, Florida, USA

Chopra, I., P.M. Hawkey und M. Hinton (1992)

Tetracyclines, molecular and clinical aspects. *J. Antimicrob. Chemother.* 29, 245-277

Cohen, M.L., E.S. Wong und S. Falkow (1982)

Common R-Plasmids in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* during a nosocomial *Staphylococcus aureus* outbreak. *Antimicrob. Agents Chemother.* 21, 210-215

Collignon, P. und J. Turnidge (1999)

Fusidic acid *in vitro*-activity. Int. J. Antimicrob. Agents 12, 45-58

Coque, T.M., J.F. Tomayko, S.C. Ricke, P.C. Okhyusen und B.E. Murray (1996)

Vancomycin-resistant Enterococci from nosocomial, community, and animals sources in the United States. Antimicrob. Agents Chemother. 40, 2605-2609

Corpet, D.E. (1988)

Antibiotic resistance from food. New Engl. J. Med. 318, 1206-1207

Corpet, D.E. (1993)

An evaluation of methods to assess the effect of antimicrobial residues on the human gut flora. Vet. Microbiol. 35, 199-212

Courvalin, P. (1996)

The Garrod Lecture. Evasion of antibiotic action by bacteria. J. Antimicrob. Chemother. 37, 855-869

Cox, L.A. (2001)

Risikoanalyse Campylobacter. Eine Ursache-Wirkungs-Betrachtung. Proceedings of the Second OIE International Conference on Antimicrobial Resistance: Use of Antimicrobials and Protection of Public Health, Paris, 2-4 October 2001

CPMP (1997)

Committee for proprietary medicinal products: Note for guidance on the pharmacodynamic section of the SPC for anti-bacterial medicinal products (CPMP/EWP/520/96). EMEA, the European agency for the evaluation of medicinal products, London 18. June 1997, 7 Westferry Circus, Canary Wharf, London E 14 4 HB, UK

Craig, W.A. (1993)

Qualitative susceptibility tests versus quantitative MIC tests. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 16, 231-236

Cunha, B.A. (1998)

Antibiotic resistance. Drugs today 34, 691-698

CVMP (2003)

Committee for veterinary medicinal products: Guideline on pre-authorisation studies to assess the potential for resistance resulting from the use of antimicrobial veterinary medicinal products (EMEA/CVMP/244). EMEA, the European agency for the evaluation of medicinal products, 7 Westferry Circus, Canary Wharf, London E 14 4 HB, UK

Dallhoff, A. (1990)

Aussagekraft pharmakokinetischer und pharmakodynamischer Parameter für die Wertbemessung von Chemotherapeutika. In: Parameter für die Beurteilung der Erregerempfindlichkeit. Fortschr. Antimikrob. Antineoplast. Chemother. 9, 175-189

D'Amato, R.F., L. Hochstein, J.R. Vernaleo, D.J. Cleri, A.A. Wallman, M.S. Gradus und C. Thornsberry (1985)

Evaluation of the BIOGRAM antimicrobial susceptibility test system. *J. Clin. Microbiol.* 22, 793-798

DANMAP (2000)

Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme. Consumption of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, foods and humans in Denmark. Danish Veterinary Laboratory, Copenhagen, Dänemark, ISSN 1600-2032

Davies, J.E. (1980)

Mechanisms of Antibiotic Resistance. In: Current Concepts, Upjohn Company 1980

DeRosa, D.C., G.D. Mechor, J.J. Staats, M.M. Chengappa und T.R. Shryock (2000)

Comparison of *Pasteurella* spp. simultaneously isolated from nasal and transtracheal swabs from cattle with clinical signs of bovine respiratory disease. *J. Clin. Microbiol.* 38, 327-332

Devriese, L.A. und J. Hommez (1975)

Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in dairy herds. *Res. Vet. Sci.* 19, 23-27

DIN 58940 (1992-1996)

Medizinische Mikrobiologie und Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung von bakteriellen Krankheitserregern (außer Mykobakterien) gegen Chemotherapeutika. Berlin, Beuth-Verlag, Teil 1-20

Dowsen, C.G., T.J. Coffey und B.G. Spratt (1994)

Origin and molecular epidemiology of penicillin-binding-protein-mediated resistance to β -lactam antibiotics. *Trends Microbiol.* 2, 361-371

Du Bois, S.K., M.S. Marriott und S.G.B. Amyes (1995)

TEM- and SHV-derived extended-spectrum β -lactamases: relationship between selection, structure and function. *J. Antimicrob. Chemother.* 35, 7-22

Eady, E.A., J.I. Ross, J.L. Tipper, C.E. Walters, J.H. Cove und W.C. Noble (1993)

Distribution of genes encoding erythromycin ribosomal methylases and an erythromycin efflux pump in epidemiologically distinct groups of staphylococci. *J. Antimicrob. Chemother.* 31, 211-217

EMEA (1999)

European Agency for Evaluation of Medicinal Products: Antibiotic resistance in the European Union associated with therapeutic use of veterinary medicines. Report and Quality Risk Assessment by the Committee for Veterinary Medical Products. London, 14 July, 1999

Endtz, H.P., G.J. Ruijs, B. van Klingeren, W.H. Jansen, T. van der Reyden und R.P. Mouton (1991)

Quinolone resistance in *Campylobacter* isolated from man and poultry following the introduction of fluoroquinolones in veterinary medicine. J. Antimicrob. Chemother. 27, 199-208

Ericsson, H.M. und J.C. Sherris (1971)

Antibiotic sensitivity testing. Report of an international collaborative study. Acta Path. Microbiol. Scand. (B) Microbiol. Immunol. 217, 1-90

Europäische Kommission (1999)

European Commission, DG XXIV. Opinion of the Scientific Steering Committee on Antimicrobial Resistance. Brüssel, Belgien, 28 May 1999

Felmingham, C., J. Washington, The Alexander Project Group (1999)

Trends in the antimicrobial susceptibility of bacterial respiratory tract pathogens – findings of the Alexander Project 1992-1996. J. Chemother. 11, 5-21

Fleming, A. (1929)

On the antibacterial action of cultures of a *Penicillium*, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. Brit. J. Exp. Path. 10, 226-236

Font, C., A. Cruceta, A. Moreno, O. Miro, B. Coll-Vinent, M. Almela und J. Mensa (1997)

A study of 30 patients with bacteremia due to *Campylobacter* spp. Med. Clin. (Barc) 108, 336-340

Foster, T.J. (1983)

Plasmid-determined resistance to antimicrobial drugs and toxic metal ions in bacteria. Microbiol. Rev. 47, 361-409

Franklin, A., R.J. Acar, F. Anthony, A. Gupta, T. Nicholls, Y. Tamura, S. Thompson, J.E. Threlfall, D. Vose, M. van Vuuren, H. Wegener, D.G. White and L. Costarrica (2001)

Antimicrobial resistance: Harmonisation of national antimicrobial resistance monitoring and surveillance programmes in animals and in animal-derived food. In: OIE Scientific and Technical Review, Volume 20(3). Second OIE International Conference on Antimicrobial Resistance: Use of Antimicrobials and Protection of Public Health, Paris, 2-4 October 2001

Frieden, T.R., T. Sterling, A. Pablos-Mendez, J.O. Kilburn, G.M. Cauthen und S.W. Dooley (1993)

The emergence of drug-resistant tuberculosis in New York City. New Engl. J. Med. 328, 521-526

Gaunt, P.N. und L.J.V. Piddock (1996)

Ciprofloxacin resistant *Campylobacter* spp. in humans: an epidemiological and laboratory study. J. Antimicrob. Chemother. 37, 747-757

George, B.A., D.J. Fagerberg, C.L. Quarles, J.M. Fenton und G.A. McKinley (1982)
Effect of bambamycin on quantity, prevalence, duration, and antimicrobial resistance of *Salmonella typhimurium* in experimentally infected broiler chickens. Am. J. Vet. Res. 43, 299-303

Glaser, S., S. Dahms, J. Röhmel, H. Weiß und L. Kreienbrock (2002)
Statistische Grundlagen von "Good clinical practice" in der Veterinärmedizin - ein Positionspapier zur Planung, Durchführung und Auswertung empirischer Untersuchungen. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 109 (2), 68-72

Gold, H.S. und R.C. Moellering (1996)
Antimicrobial-drug resistance. New Engl. J. Med. 335, 1445-1453

Gould, I.M. (2000)
Towards a common susceptibility testing method? J. Antimicrob. Chemother. 45, 757-762

Government Official Reports (1997)
Antimicrobial feed additives. In: Government Official Reports no. 132, Stockholm, Schweden, 1997

Greenwood, D. (1981)
In vitro veritas? Antimicrobial susceptibility tests and their clinical relevance. J. Infect. Dis. 144, 380-385

Greenwood, D., A. Jones und A. Eley (1986)
Factors influencing the activity of the trometamol salt of fosfomycin. Eur. J. Clin. Microbiol. 5, 29-34

Grimm, H. (1976)
Korrelation von Reihenverdünnungs- und Agardiffusionstesten mit Gentamicin, Tobramycin, Amikacin und Sisomicin in isotonischen Medien (Darstellung der Regressionsgeraden). 15. Tagung der österreichischen Gesellschaft f. Hygiene, Mikrobiologie und Präventivmedizin in Linz, 20. Mai 1976

Grimm, H. (1978)
Vergleichende Regressionsanalysen von verschiedenen Antibiotika auf unterschiedlichen Nährböden. Immunität und Infektion 6, 244-248

Guggenbichler, J.P. (1998)
Antibiotika nach ihrer Resistenzinduktion klassifizieren. Fortschritte der Medizin 116, 22-23

Guillemot, D., C. Carbon, B. Balkau, P. Geslin, H. Lecoœur, F. Vauzelle-Kervroedan, G. Bouvenot und E. Eschwege (1998)
Low dosage and long treatment duration of β -lactam: risk factors for carriage of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*. JAMA 279, 365-370

Gustafson, R.H., J.R. Beck und J.D. Kobland (1981)
The influence of avoparcin on the establishment of *Salmonella* in chickens. Zbl. Vet. Med. B. 29, 119-128

Hadorn K., F.H. Kayser und H. Hächler (1994)

Miniplasmid derived from *Listeria monocytogenes* multiresistance plasmid pWDB100 upon conjugal transfer into *Staphylococcus epidermidis* carries chloramphenicol resistance gene identical with staphylococcal gene. System. Appl. Microbiol. 17, 492-500

Hamilton-Miller, J.M.T. (1997)

Breakpoints in antibiotic sensitivity testing and their clinical relevance. J. Chemother. 9, 47-54

Hasman, H. und F.M. Aarestrup (2002)

tcrB, a gene conferring transferable copper resistance in *Enterococcus faecium*: occurrence, transferability, and linkage to macrolide and glycopeptide resistance. Antimicrob. Agents Chemother. 46, 1410-1416

Hayward, N.J. (1986)

Effect of inoculum size on ampicillin and amoxicillin susceptibility determined by gas-liquid chromatography for members of the family *Enterobacteriaceae*. J. Clin. Microbiol. 23, 755-759

Hedges, A.J. (1999)

The influence of factors affecting the "critical population" density of inocula on the determination of bacterial susceptibility to antibiotics by disc diffusion methods. J. Antimicrob. Chemother. 43, 313

Heilig, S., P. Lee und L. Breslow (2002)

Curtailing antibiotic use in agriculture. West. J. Med. 176, 9-11

Helmuth, R. (1989)

Zum Problem der Antibiotika-Resistenz. Bundesgesundheitsbl. Gesundheitsforsch. Gesundheitsschutz 32, 160-162

Helmuth, R. (1999)

Einsatz antimikrobiell wirksamer Substanzen in der Veterinärmedizin. Zum Stand der Diskussion. Bundesgesundheitsbl. Gesundheitsforsch. Gesundheitsschutz 42, 26-34

Hinton, M., A.J. Hedges und A.H. Linton (1985)

The ecology of *Escherichia coli* in market calves fed a milk-substitute diet. J. Appl. Bacteriol. 58, 27-35

Hiramatsu, K., N. Aritaka, H. Hanaki, S. Kawasaki, Y. Hosoda, S. Hori, Y. Fukuchi und I. Kobayashi (1997)

Dissemination in Japanese hospitals of strains of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin. Lancet 350, 1670-1673

Holmberg, S.D., J.G. Wells und M.L. Cohen (1984)

Animal-to-man transmission of antimicrobial-resistant *Salmonella*: investigations of U.S. outbreaks, 1971-1983. Sci. 225, 833-835

House of Lords Selected Committee on Science and Technology (1998)

Resistance to Antibiotics and other Antimicrobial Agents. HL Paper 81-II. The Stationery Office, London

Hummel R., H. Tschäpe und W. Witte (1986)

Spread of plasmid-mediated nourseothricin resistance due to antibiotic use in animal husbandry. J. Basic Microbiol. 26, 461-466

Hunter, J.E.B., J.C. Shelley, J.R. Walton, C.A. Hart und M. Bennett (1992)

Apramycin resistance plasmids in *Escherichia coli*: possible transfer to *Salmonella typhimurium* in calves. Epidemiol. Infect. 108, 271-278

Hunter, J.E.B., M. Bennett, C.A. Hart, J.C. Shelley und J.R. Walton (1994)

Apramycin-resistant *Escherichia coli* isolated from pigs and a stockman. Epidemiol. Infect. 112, 473-480

Jablonski, L.M. und G.A. Bohach (1997)

Staphylococcus aureus. In: Food Microbiology – Fundamentals and Frontiers. pp. 353-375, ed: P. Doyle, L.R. Beuchat und T.J. Montville, ASM Press, Washington D.C., USA

Jacobs-Reitsma, W.F., C.A. Kan und N.M. Bolder (1994)

The induction of quinolone resistance in *Campylobacter* bacteria in broilers by quinolone treatment. Letters Appl. Microb. 19, 228-231

Jank, B. und J. Rath (2002)

Antibiotic-resistance management on the farm. Trends Microbiol. 10, 11-12

Jorgensen, J.H., A.W. Howell und L.A. Maher (1991)

Quantitative antimicrobial susceptibility testing of *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae* by using the E-Test. J. Clin. Microbiol. 29, 109-114

Jorgensen, J.H. und M.J. Ferraro (1998)

Antimicrobial susceptibility testing: general principles and contemporary practices. Clin. Infect. Dis. 26, 973-980

Kamphues, J. (1999)

Leistungsförderer mit antibiotischer Wirkung aus der Sicht der Tierernährung. Antibiotikaresistenz. pp. 77-96, Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft, 23. Kongreß, Bad Nauheim, 13.-16.04.1999

Kapil, A. und D.B. Renuka (2002)

Nalidixic acid susceptibility test to screen ciprofloxacin resistance in *Salmonella typhi*. Indian J. Med. Res. 115, 49-54

Karas, J.A., D.G. Pillay, D. Muckart und A.W. Sturm (1996)

Treatment failure due to extended spectrum β -lactamase. J. Antimicrob. Chemother. 37, 203-204

Keil, S. und B. Wiedemann (1995)

Mathematical corrections for bacterial loss in pharmacodynamic *in vitro* dilution models. Antimicrob. Agents Chemother. 39, 1054-1058

Kenny, M.A., H.M. Pollock, B.H. Minshew, E. Casillas und F.D. Schoenknecht (1980)

Cation components of Mueller-Hinton agar affecting testing of *Pseudomonas aeruginosa* susceptibility to gentamicin. Antimicrob. Agents Chemother. 17, 55-62

Khachatourians, G.G. (1998)

Agricultural use of antibiotics and the evolution and transfer of antibiotic-resistant bacteria. CMAJ 159 (9), 1129-1136

Kibsey, P.C., R.P. Rennie und J.E. Rushton (1994)

Disk diffusion versus broth microdilution susceptibility testing of *Haemophilus* species and *Moraxella catarrhalis* using seven oral antimicrobial agents: application of updated susceptibility guidelines of the National Committee for Clinical Laboratory Standards. J. Clin. Microbiol. 32, 2786-2790

Kirst, E. von und H. Brandt (2001)

Mastitis des Rindes: Resistenzen erschweren die Therapie von Mastitiden. DMZ 19, 812-819

Klare, I., H. Heier, H. Claus, R. Reissbrodt und W. Witte (1995)

vanA mediated high-level glycopeptide resistance in *Enterococcus faecium* from animal husbandry. FEMS Microbiology Letters 125, 165-172

Klarmann (2001)

Mündliche Mitteilung

Klein, G. (1999)

Lebensmittel als potentielle Vektoren für Antibiotikaresistenzen, 1. Mitteilung: Bedeutung von Rückständen und ausgewählten Lebensmittelinfektions- und -intoxikationsserregern. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 112, 365-369

Kliebe, C., B.A. Nies, J.F. Meyer, R.M. Tolxdorff-Neutling und B. Wiedemann (1985)

Evolution of plasmid-coded resistance to broad-spectrum cephalosporins. Antimicrob. Agents Chemother. 28, 302-307

Krabisch, P., A. Gangl, G. Wittkowski und K. Fehlings (1999)

Prävalenz der Antibiotika-Resistenz in Milchviehherden bei Infektionserregern mit humanmedizinischer Bedeutung. Chemother. J. 6, 210-218

Krabisch, P. und A. Gangl (2002)

Actual situation of the resistance of danofloxacin-evaluation of a multicentre study in Germany. Tierärztl. Umschau 57, 501-506

Kresken, M. und B. Wiedemann (1990)

MHK-Verteilungen als Parameter für die Beurteilung der Erregerempfindlichkeit. FAC 9, 143-151

Kresken, M. und D. Hafner (2002)

Resistenzsituation bei klinisch wichtigen Infektionserregern gegenüber Fluorchinolonen (Ciprofloxacin) in Mitteleuropa. *Chemother J.* 20, 18-24

Lacey, R.W. (1975)

Antibiotic resistance plasmids of *Staphylococcus aureus* and their clinical importance. *Bacteriol. Rev.* 39, 1-32

Lacoste, L., M. Lacaille und L. Brakier-Gingras (1977)

The role of misrepair processes in the isolation of new types of streptomycin-resistant mutants of *Escherichia coli*. *Mol. Gen. Genet.* 157, 313-318

Leclercq, R. und P. Courvalin (1991)

Intrinsic and unusual resistance to Macrolide, Lincosamide, and Streptogramin antibiotics in bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* 35, 1273-1276

LeClerc, J.E., B. Li, W.L. Payne und T.A. Cebula (1996)

High mutation frequencies among *Escherichia coli* and *Salmonella* pathogens. *Science* 274, 1208-1211

Lenski, R.E., S.C. Simpson und T.T. Nguyen (1994)

Genetic analysis of a plasmid-encoded, host genotype-specific enhancement of bacterial fitness. *J. Bacteriol.* 176, 3140-3147

Lester, S.C., M. Del Pilar Pla, F. Wang, I.P. Schael, H. Jiang und T.F. O'Brien (1990)

The carriage of *Escherichia coli* resistant to antimicrobial agents by healthy children in Boston, in Caracas, Venezuela and in Qin Pu, China. *New Engl. J. Med.* 323, 285-289

Levesque, C., L. Piche, C. Larose und P.H. Roy (1995)

PCR mapping of integrons reveals several novel combinations of resistance genes. *Antimicrob. Agents Chemother.* 39, 185-191

Levin, B.R., R. Antia, E. Berliner, P. Bloland, S. Bonhoeffer, M. Cohen, T. DeRouin, P.I. Fields, H. Jafari, D. Jernigan, M. Lipsitch, J.E. McGowan Jr., P. Mead, M. Nowak, T. Porco, P. Sykora, L. Simonsen, J. Spitznagel, R. Tauxe und F. Tenover (1998)

Resistance to antimicrobial chemotherapy: a prescription for research and action. *Am. J. Med. Sci.* 315, 87-94

Levy, S.B. (1992)

Active efflux mechanisms for antimicrobial resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* 36, 695-703

Levy, S.B. (1998)

The Challenge of antibiotic resistance. *Scientific American* 3, 32-34

Levy, S.B. (2002)

The 2000 Garrod lecture. Factors impacting on the problem of antibiotic resistance. *J. Antimicrob. Chemother.* 49, 25-30

- Liebers, D.M., A.L. Baltch, R.P. Smith, M.C. Hammer und J.V. Conroy (1989)**
Susceptibility of *Legionella pneumophila* to eight antimicrobial agents including four macrolides under different assay conditions. J. Antimicrob. Chemother. 23, 37-41
- Linton, A.H., (1977)**
Antibiotic resistance: the present situation reviewed. Vet. Rec. 100, 354-360
- Linton A.H., M.H. Hinton und Z.A.M. Al-Chalaby (1985)**
Monitoring of antibiotic resistance in enterococci consequent upon feeding growth promoters active against grampositive bacteria. J. Vet. Pharmacol. Ther. 8, 62-70
- Linzenmeier, G. (1990)**
Die Empfindlichkeitsbestimmung von Bakterien gegen Chemotherapeutika. Zbl. Bakt. 273, 261-276
- Livrelli, V.O., A. Darfeuille-Richaud, C.D. Rich, B.H. Joly und H. Dabernat (1988)**
Isolation and molecular characterisation of an ROB1- β -lactamase plasmid in *Haemophilus influenzae* strain in France. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 7, 583-585
- Lloyd, D.H., A.I. Lamport und C. Feeney (1996)**
Sensitivity to antibiotics amongst cutaneous and mucosal isolates of canine pathogenic staphylococci in the UK, 1980-96. Vet. Dermatology 7, 171-175
- Lorian, V. und L. Burns (1990)**
Predictive value of susceptibility tests for the outcome of antibacterial therapy. J. Antimicrob. Chemother. 25, 175-181
- Lotthammer, K.-H. und D. Klarmann (1999)**
Auswertungen von Resistenzbestimmungen in einem Gebiet mit intensiver Tierproduktion. Tierärztl. Prax. 27, 324-328
- Lyon, B.R. und R. Skurray (1987)**
Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus*: genetic basis. Microbiol. Rev. 51, 88-134
- MacKinnon, J. und P. McMullin (2001)**
Myths, lies and scaremongering. Animal Pharm 467, 15-16
- Marre, R., I. Scheringer, A. Erb, H.-P. Zeitler, T. Stürmer und H. Brenner (2002)**
Prävalenz der *E. coli*-Antibiotikaresistenz in der Allgemeinbevölkerung. Bundesgesundheitsbl. Gesundheitsforsch. Gesundheitsschutz 45, 130-137
- Martel, J.L. und M. Coudert (1993)**
Bacterial resistance monitoring in animals: the French national experiences of surveillance schemes. Vet. Microbiol. 35, 321-338
- McGowan Jr., J.E. (1983)**
Antimicrobial resistance in hospital organisms and its relation to antibiotic use. Rev. Infect. Dis. 5, 1033-1048

McMurry, L., R.E. Petrucci Jr. und S.B. Levy (1980)

Active efflux of tetracycline encoded by four genetically different tetracycline resistance determinants in *Escherichia coli*. Proc. Natl. Acad. Sci. 77, 3974-3977

Medeiros, A.A., T.F. O'Brien, W.E.C. Wacker und N.F. Yulung (1971)

Effect of salt concentration on the apparent *in vitro*-susceptibility of *Pseudomonas* and other gramnegative bacilli to gentamicin. J. Infect. Dis. 124, 59-64

Medeiros, A.A., R. Levesque und G.A. Jacoby (1986)

An animal source for the ROB-1 β -lactamase of *Haemophilus influenzae* type b. Antimicrob. Agents Chemother. 29, 212-215

Metzler, C.M. und R.M. DeHaan (1974)

Susceptibility tests of anaerobic bacteria: statistical and clinical considerations. J. Infect. Dis. 130, 588-594

Mevius, D.J., M.J.W. Sprenger, und H.C. Wegener (1999)

EU conference "The microbial threat". Int. J. Antimicrob. Agents 11, 101-105

Molbak K., D.L. Baggesen, F.M. Aarestrup, J.M. Ebbesen, J. Engberg, K. Frydendahl, P. Gernet-Smidt, A.D. Petersen und H.C. Wegener (1999)

An outbreak of multidrug-resistant, quinolone-resistant *Salmonella enterica* serotype typhimurium DT 104. New Engl. J. Med. 341, 1420-1425

Moro, M.H., G.W. Beran, L.J. Hoffmann und R.W. Griffith (1998)

Effects of cold stress on antimicrobial drug resistance of *Escherichia coli* on the intestinal flora of swine. Letters Appl. Microbiol. 27, 251-254

Morris, A., J.D. Kellner und D.E. Low (1998)

The superbugs: evolution, dissemination and fitness. Current Opinion in Microbiology 1, 524-529

Mühlenberg, W. (1985)

Über die Auswirkung der Supplementierung erdalkaliarmer Testmedien mit Kalzium und Magnesium auf das Ergebnis des Bouillon-Verdünnungs- und des Agar-Diffusionstestes von *Pseudomonas aeruginosa*. Lab. Med. 9, 214-222

Murray, B.E. (1992)

Problems and dilemmas of antimicrobial resistance. Pharmacother. 12, 86-93

Murray, B.E. (1998)

Diversity among multidrug-resistant Enterococci. Emerg. Infect. Dis. 4, 37-47

Nakamura, S., M. Nakamura, T. Kojima und H. Yoshida (1989)

gyrA und *gyrB* mutations in quinolone-resistant strains of *Escherichia coli*. Antimicrob. Agents Chemother. 33, 254-255

Nakano, M.M., H. Mashiko und H. Ogawara (1984)

Cloning of the kanamycin resistance gene from a kanamycin-producing *Streptomyces* species. J. Bacteriol. 157, 79-83

National Committee for Clinical Laboratory Standards (2002)

Performance Standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; Approved Standard – Second Edition. NCCLS Document M31-A2. 940 West valley road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087, USA

Neu, H.C. (1988)

Bacterial resistance to fluoroquinolones. Rev. Infect. Dis. 10, 57-63

Neu, H.C. (1989)

Overview of mechanisms of bacterial resistance. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 12, 109-116

Neu, H.C. (1992)

The crisis in antibiotic resistance. Sci. 257, 1064-1073

Nicholls, T., J. Acar, F. Anthony, A. Franklin, R. Gupta, Y. Tamura, S. Thompson, J.E. Threlfall, d. Vose, M. van Vuuren, D.G. White, H. Wegener und L. Costarrica (2001)

Antimicrobial Resistance: Monitoring the quantities of antimicrobials used in animal husbandry. In: OIE Scientific and Technical Review, Volume 20(3). Second OIE International Conference on Antimicrobial Resistance: Use of Antimicrobials and Protection of Public Health, Paris, 2-4 October 2001

Nijsten, R., N. London, A. van den Bogaard und E. Stobberingh (1994)

Resistance in faecal *Escherichia coli* isolated from pigfarmers and abattoir workers. Epidemiol. Infect. 113, 45-52

Nikaido, H. (1994)

Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. Sci. 264, 382-388

NMC (1999)

Diagnostic Procedures. In: Laboratory Handbook on Bovine Mastitis. Revised edition, chapter 3, pp. 31-39. ed: National Mastitis Council, Madison, USA

Norpoth, A. und B. Petersen (1986)

Vergleich dreier Verfahren zur Resistenzbestimmung von Keimen gegenüber Antibiotika und Chemotherapeutika. Prakt. Tierarzt 12, 1069-1080

O'Brien, T.F. (1997)

The global epidemic nature of antimicrobial resistance and the need to monitor and manage it locally. Clin. Infect. Dis. 24, 2-8

Office International des Epizooties (2001)

Second OIE International Conference on Antimicrobial Resistance: Use of Antimicrobials and Protection of Public Health, Paris, 2-4 October 2001. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 20

Petzinger, E. (1991)

Gyrasehemmstoffe, eine neue Klasse von Chemotherapeutika. Tierärztl. Praxis 19, 14-20

Piddock, L.J.V. (1996)

Does the use of antimicrobial agents in veterinary medicine and animal husbandry select antibiotic-resistant bacteria that infect man and compromise antimicrobial chemotherapy? J. Antimicrob. Chemother. 38, 1-3

Ploy, M.C., H. Giamarellou, P. Bourlioux, P. Courvalin und T. Lambert (1994)

Detection of *aac(6')-I* genes in amikacin-resistant *Acinetobacter* spp. by PCR. Antimicrob. Agents Chemother. 38, 2925-2928

Prescott, J.F., J.D. Baggot und R.D. Walker (2000)

Antimicrobial Therapy, third edition. ed: J. F. Prescott, J. D. Baggot und R. D. Walker, Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA

Quinn, P.J., M.E. Carter, B. Markey und G.R. Carter (1999)

Clinical Veterinary Microbiology. ed: P.J. Quinn, M.E. Carter, B. Markey und G.R. Carter, Mosby international limited, Grafos, Spain

Radström, P. und G. Swedberg (1988)

RSF1010 and a conjugative plasmid contain *suIII*, one two known genes for plasmid-borne sulfonamide resistance dihydropteroate synthase. Antimicrob. Agents Chemother. 32, 1684-1692

Randall, L.P. und M.J. Woodward (2002)

The multiple antibiotic resistance (*mar*) locus and its significance. Res. Vet. Sci. 72, 87-93

Rather, P.N., E. Orosz, K.J. Shaw, R. Hare und G. Miller (1993)

Characterization and transcriptional regulation of the 2'-N-Acetyltransferase gene from *Providencia stuartii*. J. Bacteriol. 175, 6492-6498

Reaney, D. (1976)

Extrachromosomal elements as possible agents of adaptation and development. Bacteriol. Rev. 40, 552-590

Recchia, G.D. und R.M. Hall (1995)

Gene cassettes: a new class of mobile element. Microbiology 141, 3015-3027

Rice, L.B., J.D.C. Yao, K. Klimm, G.M. Eliopoulos und R.C. Moellering Jr. (1991)

Efficacy of different β -lactams against an extended spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* strain in the rat intra-abdominal abscess model. Antimicrob. Agents Chemother. 35, 1243-1244

Richter, A. (1999)

Pharmakologie und Toxikologie der Antibiotika: Grundsätze zum Umgang mit Antibiotika. Antibiotikaresistenz. pp. 64-76, Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft, 23. Kongreß, Bad Nauheim, 13.-16.04.1999

Ridley, A. und E.J. Threlfall (1998)

Molecular epidemiology of antibiotic resistance genes in multiresistant *Salmonella typhimurium* DT 104. Microbial Drug Resistance 4, 113-118

Riesenfeld, C., M. Everett, L.J.V. Piddock und B.G. Hall (1997)

Adaptive mutations produce resistance to ciprofloxacin. Antimicrob. Agents Chemother. 41, 2059-2060

Roberts, M.C., L.A. Actis und J.H. Crosa (1985)

Molecular characterization of chloramphenicol-resistant *Haemophilus parainfluenzae* and *Haemophilus ducreyi*. Antimicrob. Agents Chemother. 28, 176-180

Roberts, M.C. (1996)

Tetracycline resistance determinants: mechanisms of action, regulation of expression, genetic mobility, and distribution. FEMS Microbiol. Rev. 19, 1-24

Roberts, M.C., W.O. Chung und D.E. Roe (1996)

Characterisation of tetracycline and erythromycin resistance determinants in *Treponema denticola*. Antimicrob. Agents Chemother. 40, 1690-1694

Rosendahl, V.T. und K.B. Pedersen (1998)

The Copenhagen Recommendations. Report from the invitational EU Conference on: "The microbial Treat". Copenhagen, Denmark, 9-10 September 1998

Roy, C., C. Segura, M. Tirado, R. Reig, M. Hermida, D. Teruel und A. Foz (1985)

Frequency of plasmid determined β -lactamases in 680 consecutively isolated strains of *Enterobacteriaceae*. Eur. J. Clin. Microbiol. 4, 146-147

Rudant, E., P. Bourlioux, P. Courvalin und T. Lambert (1994)

Characterization of the *aac(6')*-*Ik* gene of *Acinetobacter* sp. 6. FEMS Microbiology Letters 124, 49-54

Sahm, D.F. und F.C. Tenover (1997)

Surveillance for the emergence and dissemination of antimicrobial resistance in bacteria. Infect. Dis. Clin. North America 11, 767-783

Salauze, D., I. Otal, R. Gomez-Lus und J. Davies (1990)

Aminoglycoside acetyltransferase 3-IV (*aacC4*) and hygromycin B4-I phosphotransferase (*hphB*) in bacteria isolated from human and animal sources. Antimicrob. Agents Chemother. 34, 1915-1920

Salyers, A.A., N.B. Shoemaker, A.M. Stevens und L.Y. Li (1995)

Conjugative transposons: an unusual and diverse set of integrated gene transfer elements. Microbiol. Rev. 59, 579-590

Salyers, A.A. und N.B. Shoemaker (1996)

Resistance gene transfer in anaerobes: new insights, new problems. Clin. Infect. Dis. 23, 36-43

Salyers, A.A. and C.F. Amabile-Cuevas (1997)

Why are antibiotic resistance genes so resistant to elimination? *Antimicrob. Agents Chemother.* 41, 2321-2325

Sanchez, R., V. Fernandez-Baca, M.D. Diaz, P. Munoz, M. Rodriguez-Creixems und E. Bouza (1994)

Evolution of susceptibilities of *Campylobacter* spp. to quinolones and macrolides. *Antimicrob. Agents Chemother.* 38, 1879-1882

Saunders, J.R. (1984)

Genetics and evolution of antibiotic resistance. *Brit. Med. Bull.* 40, 54-60

Sax, H. (2002)

Erfolgreiche Strategien wider die zunehmende Antibiotikaresistenz. *Therapeutische Umschau* 59, 51-55

Schöss, P. und M. Alt (1995)

Sind Nasentupfer beim Schwein zur Diagnostik bakterieller Pneumonie-Erreger geeignet? *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 102, 427-430

Schrag, S.J., V. Perrot und B.R. Levin (1997)

Adaption to the fitness costs of antibiotic resistance in *Escherichia coli*. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 264, 1287-1291

Schwarz, S. und H. Trolldenier (2000)

Resistenzen gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen. In: *Handlexikon der tierärztlichen Praxis*. pp. 712bg-712bz-2. ed: E. Wiesner, Enke Verlag Stuttgart

Schwarz, S. und C. Werckenthin (1999)

Molekularbiologische Aspekte der Ausbreitung von Antibiotikaresistenzen. *Antibiotikaresistenz*. pp. 18-34, Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft, 23. Kongreß, Bad Nauheim, 13.-16.04.1999

Schwarz, S. und C. Werckenthin (2001)

Risiken des Antibiotika-Einsatzes in Veterinärmedizin und landwirtschaftlicher Tierproduktion. *Chemother. J.* 10, 197-202

Seppälä, H., T. Klaukka, J. Vuopio-Varkila, A. Muotiala, H. Helenius, K. Lager, P. Huovinen and the Finnish study group for antimicrobial resistance (1997)

The effect of changes in the consumption of macrolide antibiotics on erythromycin resistance in group A streptococci in Finland. *New Engl. J. Med.* 337, 441-446

SFM (1993)

Recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Societe Francais de Microbiologie (CA-SFM), version 1.1 du 18/9/93. Societe Francais de Microbiologie, Paris, France

Shaw, K.J., P.N. Rather, R.S. Hare und G.H. Miller (1993)

Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. *Microbiol. Rev.* 57, 138-163

Shere, J.A., K.J. Bartlett und C.W. Kaspar (1998)

Longitudinal study of *Escherichia coli* O157:H7 dissemination on four dairy farms in Wisconsin. Appl. Environ. Microbiol. 64, 1390-1399

Simon, C. und W. Stille (2000)

Grundbegriffe der Antibiotika-Therapie. In: Antibiotikatherapie in Klinik und Praxis. 10. Auflage, pp. 1-22, ed: C. Simon und W. Stille, F.K. Schattauer Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, Deutschland

Simpson, I., J. Durodie, S. Knott, B. Shea, J. Wilson und K. Machka (1998)

Effects of following National Committee for Clinical Laboratory Standards and Deutsche Industrie Norm-Medizinische Mikrobiologie Guidelines, country of isolate origin, and site of infection on susceptibility of *Escherichia coli* to amoxicillin-clavulanate (Augmentin). J. Clin. Microbiol. 36, 1361-1365

Smith, H.W. (1967)

The effect of the use of antibacterial drugs, particularly as food additives, on the emergence of drug-resistant strains of bacteria in animals. NZ Vet. J. 15, 153-166

Smith, S.M., R.H. Eng und C.E. Cherubin (1988)

Conditions affecting the results of susceptibility testing for the quinolone compounds. Chemother. 34, 308-314

Smith, J.T. und C.S. Lewin (1993)

Mechanisms of antimicrobial resistance and implications for epidemiology. Vet. Microbiol. 35, 233-242

Smith, K.E., J.M. Besser, F. Leano, J.B. Bender, J.H. Wicklund, B. Johnson, C.W. Hedberg, K. Vought, K.L. Macdonald und M.T. Osterholm (1998)

Fluoroquinolone resistant *Campylobacter* isolated from humans and poultry in Minnesota. In: Proc. Conference on emerging Infect. Dis. pp. 69, Atlanta, GA, USA, March 8-11 1998

Smith, D.L., A.D. Harris, J.A. Johnson, E.K. Silbergeld und J.G. Morris Jr. (2002)

Animal antibiotic use has an early but important impact on the emergence of antibiotic resistance in human commensal bacteria. PNAS 99, 6434-6439

Sneath, P.H.A. und M. Stevens (1990)

Actinobacillus rossii sp. nov., *Actinobacillus seminis* sp. nov., nom. rev., *Pasteurella betii* sp. nov., *Pasteurella lymphangitidis* sp. nov., *Pasteurella mairi* sp. nov. and *Pasteurella trehalosi* sp. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 40, 148-153

Sorbiraj, A., A. Kron, U. Schollmeyer und K. Failing (1997)

Bundesweite Untersuchung zur Erregerverteilung und in-vitro-Resistenz euterpathogener Bakterien in der Milch von Kühen mit subklinischer Mastitis. Tierärztl. Prax. 25, 108-115

Spratt, B.G. (1983)

Penicillin-binding proteins and the future of β -lactam antibiotics. J. Gen. Microbiol. 129, 1247-1260

Spratt, B.G. (1994)

Resistance to antibiotics mediated by target alterations. *Sci.* 264, 388-393

SRG (1981)

The Swedish Reference Group for Antibiotics: A revised System for antibiotic sensitivity testing. *Scand. J. Infect. Dis.* 13, 148-152

Stammel, B. (1984)

Der Agar-Dilutions-Test für die Empfindlichkeitsprüfung in der Medizinischen Mikrobiologie. *Forum Mikrobiologie* 1, 24-26

Stock., I. und B. Wiedemann (1998)

Die Bestimmung der natürlichen Antibiotika-Empfindlichkeit. *Chemother. J.* 7, 127-135

Stock, I., K. Machka, A. Rodloff und B. Wiedemann (2001)

Qualitätssicherung und Qualitätskontrollen in der Antibiotika-Empfindlichkeitsbestimmung von Bakterien mit der Mikrodilution. *Chemother. J.* 10, 78-98

Stokes, H.W. und R.M. Hall (1989)

A novel family of potentially mobile DNA elements encoding site-specific gene-integration functions: integrons. *Mol. Microbiol.* 3, 1669-1683

Teale, C.J. (2002)

Antimicrobial resistance and the food chain. *J. Appl. Microbiol.* 92, 85-89

Tenover, F.C. und J.M. Hughes (1996)

The challenges of emerging infectious diseases. *JAMA* 275, 300-304

Tenover, F.C. und J.E. McGowan (1996)

Reasons for the emergence of antibiotic resistance. *Am. J. Med. Sci.* 311, 9-16

Tenover F.C. und D.R. Schaberg (1998)

Molecular biology of resistance. in: *Hospital Infections*. 4th edition, chapter 16, pp. 237-247, ed: J.V. Benett und P.S. Brachman, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, USA

Tesch, W., A. Strässle, B. Berger-Bächli, D. O'Hara, P. Reynolds und F.H. Kayser (1988)

Cloning and expression of methicillin resistance from *Staphylococcus epidermidis* in *Staphylococcus carnosus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 32, 1494-1499

Teuber, M. (2000)

Antibiotikaresistenzen – Ausbreitung und Konsequenzen. *Biologen heute* 2, 7-12

Threlfall, E.J., B. Rowe, J.L. Ferguson und L.R. Ward (1986)

Characterisation of plasmids conferring resistance to gentamicin and apramycin in strains of *Salmonella typhimurium* phage type 204c isolated in Britain. *J. Hyg. Camb.* 97, 419-426

Threlfall, E.J., L.R. Ward, J.A. Frost und G.A. Willshaw (2000)

Spread of resistance from food animals to man - the UK experience. *Acta Vet. Scand.* 93, 63-69

Trolldenier, H. und R. Kroker (1998)

Übersicht verfügbarer Chemotherapeutika in der Veterinärmedizin. Dtsch. Tierärztebl. 10, 996-997

Trolldenier, H. (2001)

Zur quantitativen Empfindlichkeit von häufig isolierten, tierpathogenen Erregern aus multizentrischen Erfassungen gegenüber veterinärmedizinisch genutzten Chemotherapeutika. Teil I: *E. coli*-Stämme von Rind und Schwein. Prakt. Tierarzt 82, 52-64

Trolldenier, H. und J. Wagner (2001)

Minimale Hemmkonzentrationen von häufig eingesetzten Chemotherapeutika bei tierpathogenen Erregern aus multizentrischen Erfassungen in Deutschland. Teil II: *Staphylococcus aureus* und *Staphylococcus intermedius*. Prakt. Tierarzt 82, 118-129

Trolldenier, H. und G. Kempf (2001)

Minimale Hemmkonzentrationen von häufig eingesetzten Chemotherapeutika bei tierpathogenen Erregern aus multizentrischen Erfassungen in Deutschland. Teil III: *Pasteurella* und *Mannheimia* spp.. Prakt. Tierarzt 82, 214-224

Tschäpe, H., E. Tietze, R. Prager, W. Voigt, E. Wolter und G. Selmann (1984)

Plasmid-born streptothricin resistance in gramnegative bacteria. Plasmid 12, 189-196

Ungemach, F.R. (1999)

Rationaler Umgang mit Antibiotika in der Veterinärmedizin: pharmakologische Aspekte. Dtsch. Tierärztebl. 3, 224-226

Ungemach, F.R. (2000)

Figures on quantities of antibacterials used for different purposes in the EU countries and interpretation. Acta Vet. Scand. 93, 89-98

Van den Bogaard, A.E., P. Mertens, N. London und E.E. Stobberingh (1997a)

High prevalence of colonisation with vancomycin- and pristinamycin-resistant enterococci in healthy humans and pigs in The Netherlands: is the addition of antibiotics to animal feeds to blame? J. Antimicrob. Chemother. 40, 454-456

Van den Bogaard, A.E., N. London und C. Driessen (1997b)

Fluoroquinolone usage in animals and resistance in human faecal *Escherichia coli*. Proceedings of the 37th ICAAC Conference, Toronto, p. C-137

Van den Bogaard, A.E., N. London und C. Driessen (1997c)

The effect of antimicrobial growth promoters on the resistance in faecal indicator bacteria of pigs. Proceedings of the 37th ICAAC Conference, Toronto, p. C-077

Van den Bogaard, A.E., L.B. Jensen und E.E. Stobberingh (1997d)

Vancomycin-resistant Enterococci in turkeys and farmers. New Engl. J. Med. 337, 1558-1559

Van den Bogaard, A.E. und E.E. Stobberingh (2000)

Epidemiology of resistance to antibiotics, links between animals and humans. Int. J. Antimicrob. Agents 14, 327-335

Vollaard, E.J., H.A.L. Clasener, H.K.F. van Saene und N.F. Muller (1990)

Effect on colonisation resistance: an important criterion in selecting antibiotics. *DICP Ann. Pharmacother.* 24, 60-66

Vose, D., J. Acar, F. Anthony, A. Franklin, R. Gupta, T. Nicholls, Y. Tamura, S. Thompson, J.E. Threlfall, M. van Vuuren, D.G. White, H. Wegener und L. Costarrica (2001)

Antimicrobial Resistance: Risk analysis methodology for potential impact on public health of antimicrobial resistant bacteria of animal origin. In: OIE Scientific and Technical Review, Volume 20(3). Second OIE International Conference on Antimicrobial Resistance: Use of Antimicrobials and Protection of Public Health, Paris, 2-4 October 2001

Wagner, J. und H. Hahn (1999)

Zunahme bakterieller Resistenz in der Humanmedizin durch Resistenzgene von Bakterien fleischliefernder Tiere? *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 112, 380-384

Waitz, J.A. (1973)

Interrelationships between disk and tube dilution sensitivity tests for the aminoglykoside antibiotics gentamicin, kanamycin, sisomicin and tobramycin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 4, 445-454

Werckenthin, C. und S. Schwarz (1997)

Resistenzen gegenüber Proteinbiosyntheseinhibitoren bei Staphylokokken: Resistenzgene und ihre Ausbreitung - Übersichtsreferat. *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.* 110, 324-332

Werckenthin, C. und S. Schwarz (1998)

Nachweismöglichkeiten, Vorkommen und Ausbreitung antibiotischer Resistenzgene bei Staphylokokken. *Tierärztl. Umschau* 53, 314-318

White, D.G., J. Acar, F. Anthony, A. Franklin, R. Gupta, T. Nicholls, Y. Tamura, S. Thompson, J.E. Threlfall, D. Vose, M. van Vuuren, H. Wegener und L. Costarrica (2001)

Antimicrobial resistance. Standardisation and harmonisation of laboratory methodologies for the detection and quantification of antimicrobial resistance. In: OIE Scientific and Technical Review, Volume 20(3). Second OIE International Conference on Antimicrobial Resistance: Use of Antimicrobials and Protection of Public Health, Paris, 2-4 October 2001

WHO (1997)

The Medical Impact of the Use of Antimicrobials in Food Animals. Report of a WHO Meeting, Berlin, Germany, 13-17 October 1997, WHO/EMC/ZOO/97.4

Wichelhausen, T.A., V. Schäfer und V. Brade (2000)

Typisierungsverfahren in der Infektionsepidemiologie. *Chemother. J.* 9, 93-98

Wiedemann, B. und G. Weppelmann (1981)

Aminoglykosidantibiotika – modifizierende Enzyme. *Imm. Inf.* 9, 106-122

Wiedemann, B., G. Hildenbrand, G. Weppelmann und W. Mannheim (1983)

Reproduzierbarkeit von Messergebnissen mit dem Agardiffusionstest bei der Empfindlichkeitsprüfung von Bakterien. *Ärztl. Lab.* 29, 363-372

Wiedemann, B. (1998)

Evaluation of data from susceptibility testing. *Int. J. Antimicrob. Agents* 10, 89-90

Wise, E.M. und M.M. Abou-Donia (1975)

Sulfonamide resistance mechanism in *Escherichia coli*: R plasmids can determine sulfonamide-resistant dihydropteroate synthases. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 72, 2621-2625

Witte, W. (1998)

Medical consequences of antibiotic use in agriculture. *Sci.* 279, 996-997

Witte, W. und I. Klare (1999)

Antibiotikaresistenz bei bakteriellen Infektionserregern. *Bundesgesundheitsbl. Gesundheitsforsch. Gesundheitsschutz* 42, 8-16

Wooldridge, M. (2001)

Risk assessment techniques – and antibiotic resistance. Proceedings of the Second OIE international conference on antimicrobial resistance: Use of antimicrobials and protection of public health. Paris, 2-4 October 2001

Wray, C. (1997)

Medical impact of antimicrobial use in food animal production: scenarios and risk assessment *Salmonella* and *Escherichia coli* in England and Wales. Proceedings of the WHO Meeting on the usage of Quinolones in animals. Berlin, Germany, 13-17 October 1997

WRG (1981)

Werkgroep Richtlijnen Govoeligheidsbepalingen Report: Standaardisatie van Govoeligheidsbepalingen. WRG, Bilthoven, 1981

Young, H.K. (1993)

Antimicrobial resistance spread in aquatic environments. *J. Antimicrob. Chemother.* 31, 627-635

Anhang

1. Tabellen und Abbildungen

Tab. 1: Teilnehmende Kooperationseinrichtungen

| Bundesland | Kooperationseinrichtung |
|------------------------|--|
| Baden–Württemberg | Staatl. Tierärztl. Untersuchungsamt Aulendorf |
| | Chem.- und Veterinäruntersuchungsamt Karlsruhe, Außenstelle Heidelberg |
| | Chem.- und Veterinäruntersuchungsamt Stuttgart |
| Bayern | Landesuntersuchungsamt f. das Gesundheitswesen Nordbayern, Abt. Vet.-Med., Nürnberg |
| | Landesuntersuchungsamt für das Gesundheitswesen Südbayern (LUA), Oberschleißheim |
| | Tiergesundheitsdienst Bayern e.V. Zentralinstitut Grub |
| Brandenburg | Staatl. Veterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt Frankfurt/Oder |
| | Landesamt für Verbraucherschutz und Landwirtschaft Potsdam |
| Hessen | Staatliches Untersuchungsamt Hessen, Gießen |
| | Staatliches Untersuchungsamt Hessen, Standort Kassel |
| Mecklenburg-Vorpommern | Landesveterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt Mecklenburg-Vorpommern, Rostock |
| | Landesveterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt Mecklenburg-Vorpommern, Außenstelle Neubrandenburg |
| | Landesveterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt Mecklenburg-Vorpommern, Außenstelle Schwerin |
| Niedersachsen | Staatliches Veterinäruntersuchungsamt Oldenburg, Außenstelle Stade |
| | Ahlemer Institut der Landwirtschaftskammer Hannover |
| | Laborbereich Tiergesundheit, Institutszentrum der LWK Weser-Ems |
| Nordrhein-Westfalen | Staatl. Veterinäruntersuchungsamt Arnsberg |
| | Staatl. Veterinäruntersuchungsamt Detmold |
| | Staatl. Veterinäruntersuchungsamt Krefeld |
| | Chem. Landes- und Staatl. Veterinäruntersuchungsamt Münster |
| | Landwirtschaftskammer Westfalen-Lippe, Tiergesundheitsdienst, Referat 32 |

Tab. 1: Fortsetzung

| | |
|--------------------|---|
| Rheinland-Pfalz | |
| | Landesuntersuchungsamt Rheinland-Pfalz, Institut f. Lebensmittel tierischer Herkunft, Koblenz |
| Sachsen | |
| | Landesuntersuchungsanstalt für das Gesundheits- und Veterinärwesen Sachsen (LUA), Standort Chemnitz |
| | Landesuntersuchungsanstalt für das Gesundheits- und Veterinärwesen Sachsen, Dresden |
| | Landesuntersuchungsanstalt für das Gesundheits- und Veterinärwesen Sachsen, Leipzig |
| Sachsen-Anhalt | |
| | Landesveterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt Sachsen-Anhalt, Halle |
| | Landesveterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt Sachsen-Anhalt, Stendal |
| Schleswig-Holstein | |
| | Lebensmittel- und Veterinäruntersuchungsamt des Landes Schleswig-Holstein |
| Thüringen | |
| | Thüringer Landesamt für Lebensmittelsicherheit und Verbraucherschutz (TLLV), Bad Langensalza |
| | Thüringer Landesamt für Lebensmittelsicherheit und Verbraucherschutz UA 23 (TLLV), Jena |
| | Tiergesundheitsdienst Thüringen e.V. |

| Begleitbogen (für jedes Isolat getrennt ausfüllen) | | | | |
|--|--|------------|-------------------------|--------|
| Anschrift des Labors: * | | | | |
| - Ansprechpartner - | | | | |
| Spezifische Angaben zum Isolat | | | | |
| Stamm ID, Isolat-Nr. (Ihr Labor)* | | | | |
| Erreger-Spezies * | | | | |
| Datum der Isolierung * | | | | |
| Herkunft des Keimes | | | | |
| Regierungs-Bezirk / PLZ Ort * | | | | |
| Identifizierungs-Nr. (Herde/Betrieb)* | | | | |
| Herdengröße ¹ | < 10 | 10 bis 100 | 100 bis 1000 | > 1000 |
| Haltungsform ¹ | Intensiv (Stallhaltung) | | Extensiv (Weidehaltung) | |
| Tierart ¹ * | Rind | | Schwein | |
| Alter des Tieres (soweit bekannt) | | | | |
| Art der Erkrankung ¹ * | pos. Schalmtest ("Mastitis") ² | | "Pneumonie" | |
| Probenmaterial (Probenart) ¹ * | Milchprobe | andere | Lungengewebe | andere |
| weitere Angaben | | | | |
| Klinischer Vorbericht: | | | | |
| Postmortale(r) Befund(e): | | | | |
| Anwendung von Antiinfektiva innerhalb von vier Wochen vor Probennahme bei dem o.g. Tier ¹ : | | bekannt | unbekannt | |
| Angaben zum Antibiotikaeinsatz im Bestand ¹ : | | bekannt | unbekannt | |
| Kommentare / zusätzliche Informationen: | | | | |
| Datum _____ Unterschrift * _____ | | | | |

Abb. 2: Begleitbogen

2. Zusammensetzung verwendeter Nähr- und Testmedien

Standard-I-Nähragar mit 5 % defibriniertem Schafblut

| | |
|--|-----------|
| Standard-I-Nähragar | 37,00 g |
| Aqua bidest. | 950,00 ml |
| Schafblut, frisch oder kommerziell, steril, defibriniert | 50,00 ml |

Gassner-Agar

| | |
|--------------|---------------|
| Gassner-Agar | 77,00 g |
| Aqua bidest. | ad 1000,00 ml |

McConkey-Agar

| | |
|---------------|---------------|
| McConkey-Agar | 50,00 g |
| Aqua bidest. | ad 1000,00 ml |

Nitratbouillon

| | |
|------------------|---------------|
| KNO ₃ | 1,00 g |
| Proteose-Pepton | 5,00 g |
| Aqua bidest. | ad 1000,00 ml |

Indol-Hottinger Bouillon

| | |
|---------------------------------|---------------|
| NaCl | 2,50 g |
| Caseinpepton, tryptisch verdaut | 10,00 g |
| K ₂ HPO ₄ | 1,25 g |
| Aqua bidest. | ad 1000,00 ml |

Harnstoff Dextrose Schrägagarrröhrchen

| | |
|---|------------|
| Aqua bidest. | 2000,00 ml |
| Caseinpepton, tryptisch verdaut | 18,00 g |
| K ₂ HPO ₄ | 2,00 g |
| Glukose | 10,00 g |
| Konzentrierte Kochsalzlösung | 40,00 ml |
| Bromthymolblaulösung, alkohol. (1,5 %ig) | 20,00 ml |
| Mit 4 %iger NaOH (ca. 4,0 ml) den pH-Wert 6,8 einstellen, die Substanzen im Dampftopf lösen und den pH-Wert erneut prüfen, die Bouillon zu 500 ml aufteilen | |
| Standard-I-Nähragar | 5,00 g |
| einwiegen und das Medium autoklavieren, anschließend die Substanzen gut durchmischen und 15 Min. im Dampftopf aufkochen, nach Abkühlung auf 55 °C | |
| Harnstoff | 5,00 g |
| zugeben, lösen und das Medium zu 7,0 ml in Röhrchen abfüllen und in Schräglage erstarren lassen; bei 4 °C aufbewahren | |

Ornithindecaboxylase-Testbouillon nach Moeller

| | |
|-------------------------------------|------------|
| Decarboxylase Base Moeller | 10,50 g |
| Aqua bidest. | 1000,00 ml |
| unter Erhitzen lösen, L-Ornithin | 10,00 g |

Äskulin-Bouillon

| | |
|-----------------|------------|
| NaCl | 0,50 g |
| Proteose-Pepton | 1,00 g |
| Äskulin | 0,10 g |
| Aqua bidest. | 1000,00 ml |

Eisen(III)-citratlösung

| | |
|---------------------------------|-----------|
| Eisen(III)-citrat ²⁷ | 50,00 g |
| Aqua bidest. | 500,00 ml |

Hottinger-Bouillon mit Kohlenhydratzusatz

| | |
|---|------------|
| NaCl | 2,50 g |
| Proteose-Pepton ¹⁹ | 10,00 g |
| K ₂ HPO ₄ | 1,25 g |
| Aqua bidest. | 1000,00 ml |
| Bromthymolblau-Lösung, wässrig (0,1 %ig) | 40,00 ml |
| Kohlenhydrat | 1 %ig |
| zum Nachweis der Gasbildung beim Abbau von Glukose ein Durham-Röhrchen vor dem Abfüllen des Mediums in das Reagenzglas einbringen | |

Bromthymolblau-Lösung, alkoholisch (1,5 %)

| | |
|-----------------|----------|
| Ethanol, 96 %ig | 76,00 ml |
| Aqua bidest. | 24,00 ml |
| Bromthymolblau | 1,50 g |

Bromthymolblau-Lösung, wässrig (0,1 %)

| | |
|---|-----------|
| Ethanol, 96 %ig | 10,00 ml |
| Bromthymolblau | 1,00 g |
| Substanzen über Nacht zum Lösen stehen lassen; anschließend | |
| Aqua bidest. | 990,00 ml |

Müller-Hinton-Bouillon

| | |
|---------------------------|---------------|
| Müller-Hinton II-Bouillon | 22,00 g |
| Aqua bidest. | ad 1000,00 ml |

3. Bezugsquellen von Geräten und Chemikalien

Becton Dickinson, Heidelberg, Deutschland

Bromthymolblau (Art.Nr.: 211731)
Decarboxylase Base Moeller (Art.Nr.: 211430)
Kovacs Reagenz (Art.Nr.: 212279)
Mueller-Hinton II-Bouillon (Art.Nr.: 212322)
Novobiocin-Tesplättchen (Art.Nr.: 231315)
Proteose Pepton Nr. 3 (Art.Nr.: 211693)

bioMerieux, Nürtingen, Deutschland

API 20 NE (Art.Nr.: 20050)
Densimat (Art.Nr.: 99234)
ID 32 E (Art.Nr.: 32400)
ID 20 STAPH (Art.Nr.: 32500)
rapid-ID 32 Strep (Art.Nr.: 32600)

DRK Blutspendedienst

Humanplasma (citratstabilisiert) (Art.Nr.: 017100)

Eppendorf, Köln, Deutschland

elektronische Pipette (Art.Nr.: 4860000577)

Mast Diagnostica, Reinfeld, Deutschland

Cryobank (Art.Nr.: 291701)

MCS Diagnostics, Swalmen, Niederlande

Mikrotiterplatten
SensiTouch-Automat

Merck, Darmstadt, Deutschland

Bactident-Oxidase-Testsystem (Art.Nr.: 1.13300)
D-Sorbitol (Art.Nr.: 1.07758)
Dulcitol (Art.Nr.: 1.05990)
D-Xylose (Art.Nr.: 1.08692)
Eisen(III)-citrat (Art.Nr.: 1.03862)
Galactose (Art.Nr.: 1.04062)
Gassner-Agar (Art.Nr.: 1.01282)
Glasröhrchen nach Durham (Art.Nr.: 1.13500)
Glukose (Art.Nr.: 1.08342)
Gries Ilosvay Reagenz (Art.Nr.: 1.09023)

Lactose (Art.Nr.: 1.07657)
L-Arabinose (Art.Nr.: 1.11492)
L-Ornithin (Art.Nr.: 1.06906)
Maltose (Art.Nr.: 1.05910)
Mannose (Art.Nr.: 1.05984)
McConkey-Agar (Art.Nr.: 1.05465)
Paraffinöl (Art.Nr.: 1.07160)
Salicin (Art.Nr.: 1.07665)
Standard-I-Nähragar (Art.Nr.: 1.07881)
Trehalose (Art.Nr.: 1.08353)

Oxoid Wesel, Deutschland

Staphylase-Testsystem (Art.Nr.: DRO 595A)
Streptokokken-Grouping-Kit (Art.Nr.: DRO 585A)

Sigma-Aldrich Chemie, Taufkirchen, Deutschland

Melibiose (Art.Nr.: M5500)

Danksagung

Herrn Professor Dr. L.H. Wieler danke ich für die Übernahme der Dissertation, für die unverzügliche Bereitschaft zur kritischen Durchsicht des Manuskriptes sowie für die freundliche Unterstützung in fachlichen Fragen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. J. Wallmann für die Überlassung des Themas, für die intensive Einarbeitung und Unterstützung bei der Durchführung der Untersuchungen sowie für die vielen weiteren Anregungen und Informationen. Sein persönliches Engagement bei der kritischen Durchsicht des Manuskriptes hat einen großen Teil zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Frau M. Allert danke ich für die unentbehrliche Hilfe im Labor, für den herzlichen Umgang und für die moralische Unterstützung.

Weiterhin gilt mein Dank Frau R. Schmitz aus dem Institut für Biometrie für die statistische Beratung der Ergebnisse.

Besonders herzlich möchte ich meiner Familie danken, deren fortwährende moralische und finanzielle Unterstützung die Erstellung dieser Arbeit erst möglich machte.

An dieser Stelle möchte ich mich auch bei der Firma Bayer für die Überlassung des Werkvertrages bedanken, durch den die Anfertigung der Arbeit ermöglicht wurde.

Bei den Mitarbeitern der teilnehmenden Kooperationseinrichtungen möchte ich mich für die engagierte Teilnahme an der Studie und die Überlassung von zahlreichen Bakterienisolaten bedanken, ohne die diese Arbeit nicht zustande gekommen wäre.

Lebenslauf

Name Kathrin Schröter

Geburtsdatum 08. Mai 1973

Schulbildung

1979 - 1983 Grundschule Halle/Ost

1983 - 1992 Kreisgymnasium Halle (Westf.)

Abitur am 11. Juni 1992

Ausbildung

1992 - 1995 Ausbildung zur Chemielaborantin an der Universität Bielefeld
Abschluß am 26. Juni 1995

Studium

1995-2001 Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin
Approbation am 17. April 2001

Weiterer Werdegang

seit Juni 2001 Beginn der Dissertation im Bundesamt für Verbraucherschutz
und Lebensmittelsicherheit, ehemals Bundesinstitut für
gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin

seit März 2003 Anstellung als Assistentztierärztin in der Praxis Dr. Kleinsorgen

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und nur unter Zuhilfenahme der angegebenen Literatur erstellt habe.

Berlin, den 10.08.2003