

2. Schrifttum

2.1. Vorkommen und Bedeutung

Enterokokken sind Gram-positive Bakterien und als natürliche Besiedler des Gastrointestinaltraktes von Mensch und Tier anzusehen. Im Darm des erwachsenen Menschen stellt im allgemeinen *E. faecalis* die dominierende Enterokokkenspezies mit Keimzahlen im Kot von 10^5 bis 10^7 KbE/g dar, *E. faecium* wird seltener und nur in Keimzahlen von 10^4 bis 10^5 KbE/g gefunden. Dieses Verhältnis wird auch durch Ernährungsgewohnheiten mitbestimmt, so daß individuelle und regionale Unterschiede möglich sind (CHENOWETH und SCHABERG, 1990). Im Darm von Neugeborenen konnte *E. faecalis*, nicht aber *E. faecium* nachgewiesen werden (NOBLE, 1978; MURRAY, 1990). Auch im tierischen Darm sind *E. faecalis* und *E. faecium* oft die häufigsten Enterokokkenspezies (DEVRIESE et al., 1987), beide Arten werden jedoch nur bei maximal 7% der Jungrinder und 2% der Milchkühe gefunden (DEVRIESE et al., 1992d). Im Allgemeinen scheinen sie bei Tieren weniger weit verbreitet zu sein, als beim Menschen (LECLERC et al., 1996).

Darüber hinaus wurden sie beim Menschen auch im Harntrakt, in der Vaginalflora, in den Gallengängen und in der Mundhöhle (CHENOWETH und SCHABERG, 1990; MURRAY, 1990), bei Tieren auch auf den Tonsillen (DEVRIESE et al., 1992e; DEVRIESE et al., 1994) gefunden.

Ein gemeinsames Merkmal der meisten Enterokokkenspezies ist ihre hohe Widerstandsfähigkeit gegen zahlreiche Umweltfaktoren. Bereits in einem 1937 von SHERMAN vorgeschlagenen Klassifikationsschema für Streptokokken wurden diejenigen Organismen zur Gruppe *Enterococcus* gerechnet, die bei einer Konzentration von 6,5% Kochsalz im Nährmedium, bei pH 9,6 und bei 10 und 45°C wachsen sowie 30 Minuten bei 60°C überleben. Auch ein Wachstum in Medien mit >40% Rindergalle ist eine typische Eigenschaft des Genus *Enterococcus*.

Aufgrund dieser Widerstandsfähigkeit sind Enterokokken auch in der Umwelt weit verbreitet. So konnten sie aus pflanzlichen Materialien (DEVRIESE et al., 1992a), Oberflächenwasser (SVEC et al., 2001), Bodenproben, Insekten, Geräten zur Milchverarbeitung, Einstreu, Tierhäuten, etc. isoliert werden (WESSELS et al., 1990; NIEMI et al., 1993; DEVRIESE und POT, 1995).

Auch in Lebensmitteln sind Enterokokken regelmäßig zu finden. So enthalten bis zu 99 % der Proben bei roher Milch, 46% bei pasteurisierter Milch, 34% bei Sauermilch, Joghurt und Kefir, 53% bei Butter und 59 bis 92% bei Käse (je nach Käsesorte) Enterokokken (KIELWEIN, 1978). In ungereiftem Käse variieren die Enterokokkengehalte von 10^4 bis 10^6 KbE/g, in voll ausgereiftem Käse von 10^5 bis 10^7 KbE/g (FRANZ et al., 1999). Auf 100 cm^2 der Schlachtkörperoberfläche von Schweinen fanden sich 10^4 bis 10^8 KbE Enterokokken, in Salami und Landjäger von 10^2 bis $2,6 \times 10^5$ KbE/g (FRANZ et al., 1999). BAUMGARTNER et al. (2001) fanden in 100% der untersuchten Proben von Rohmilchweichkäse und Schabzigerkäse (ein Weichkäse, der aus einem Gemisch roher und pasteurisierter Milch hergestellt wird) Enterokokken in Größenordnungen von jeweils 1×10^1 bis $6,5 \times 10^7$ beziehungsweise 2×10^2 bis $3,3 \times 10^4$ KbE/g. In 80% der untersuchten Rohwurstproben sowie in 40% der Rinderhackfleischproben wiesen dieselben Autoren Enterokokken in Keimzahlen von 1×10^1 - 7×10^5 beziehungsweise 1×10^1 KbE/g nach. Auch in Lebensmitteln sind *E. faecalis* und *E. faecium* die überwiegenden Enterokokkenspezies (DEVRIESE et al., 1995).

Die Bedeutung des Vorkommens von Enterokokken in Lebensmitteln wird nicht einheitlich beurteilt. Während einige Autoren in Enterokokken Indikatorkeime für eine faekale Verunreinigung bzw. mangelhafte Hygienestandards in der Lebensmittelherstellung sehen (siehe auch KIELWEIN, 1978; TROVATELLI und SCHIESSER, 1987; FRANZ et al., 1999; TEUBER et al., 1999), konnten andere keinen Zusammenhang zwischen den Bakterienpopulationen im Rinderkot und in der Milch feststellen (GELSOMINO et al., 2002) bzw. Enterokokken als Indikatoren für die Hygiene in der Lebensmittelherstellung nicht empfehlen (INGHAM et al., 2000). BAUMGART (1996) zählt Enterokokken zur Normalflora insbesondere fermentierter Lebensmittel (wie Sauermilchkäse, Rohwürste, Pökelwaren) und sieht in ihnen kein Zeichen einer faekalen Verunreinigung.

In Fleischwaren sind Enterokokken im allgemeinen unerwünscht, da sie hier bei höherer Keimzahl eine Verderbnis bewirken (siehe Tabelle 1 sowie FRANZ et al., 1999; GIRAFFA, 2002). In Milchprodukten hingegen spielen sie zur Entwicklung erwünschter organoleptischer Eigenschaften bei der Reifung eine wichtige Rolle und werden auch als Bestandteile von Starterkulturen verwendet

Tab.1: Vorkommen und Bedeutung von *Enterococcus* spp.
in Lebensmittelgruppen

Lebensmittel- gruppe	Spezies	Bedeutung	Autor
Fleisch und Fleischwaren			
Frühstücks- fleisch	<i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i>	Verderbnis- erreger	BELL und GILL (1982)
Schinken- konserven	<i>E. faecium</i>	Verderbnis- erreger	HOUBEN (1982)
Frühstücks- fleisch	<i>E. faecium</i>	Verderbnis- erreger	BELL und DELACEY (1984)
Rinder- hackfleisch	<i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i> , <i>E. gallinarum</i> , <i>E. durans</i> , <i>E. hirae</i>		KLEIN et al. (1998)
Schweine- hackfleisch	<i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i> , <i>E. casseliflavus</i> , <i>E. galli- narum</i> , <i>E. durans</i> , <i>E. avium</i>		KLEIN et al. (1998)
Milch und Milchprodukte			
Rohmilchkäse	<i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i> , <i>E. durans</i>	Reifungsflora, Aromabildung	TROVATELLI und SCHIESSER (1987)
Labneh (ägypt. Joghurtprodukt)	<i>E. faecalis</i>	Starterkultur	EL- SAMRAGY et al. (1988)
Rohmilchkäse	<i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i> , <i>E. durans</i> , <i>Enterococcus</i> spp.	Reifungsflora, Aromabildung	CENTENO et al. (1996)
Rohmilchkäse	<i>E. casseliflavus</i> , <i>E. faecalis</i>		GELSOMINO et al. (2002)
griech.Feta- Käse	<i>E. faecium</i>	Starterkultur	SARANTINO- POULOS et al. (2002)

Tab.2: Bakteriozine von *Enterococcus* spp. mit Wirksamkeit gegen *Listeria* spp.

Spezies	Bakteriozin	wirksam gegen	Autor
<i>E. faecalis</i>	ohne Bezeichnung	<i>L. monocytogenes</i>	ARIHARA et al. (1991)
	Enterocin 226NWC	<i>L. monocytogenes</i> , <i>L. innocua</i>	VILLANI et al. (1993)
<i>E. faecium</i>	Enterocin 1146	<i>L. monocytogenes</i> , <i>L. innocua</i>	PARENTE und HILL (1992a und b)
	ohne Bezeichnung	<i>L. monocytogenes</i>	ARIHARA et al. (1993)
	ohne Bezeichnung	<i>L. monocytogenes</i>	VLAEMYNCK et al. (1994)
	ohne Bezeichnung	<i>L. innocua</i>	GIRAFFA et al. (1995)
	Enterocin EL1	<i>L. ivanovii</i> , <i>L. monocytogenes</i>	LYON et al. (1995)
	Enterocin A	<i>L. innocua</i> , <i>L. monocytogenes</i>	AYMERICH et al. (1996)
	Enterocin P	<i>L. innocua</i>	CINTAS et al. (1997)
	Enterocin A und B	<i>L. innocua</i>	AYMERICH et al. (2000)
	ohne Bezeichnung	<i>Listeria</i> spp.	CALLEWAERT et al. (2000)
	ohne Bezeichnung	<i>L. innocua</i>	LAUKOVA und MAREKOVA (2002)
<i>E. casseliflavus</i>	Enterocin 416K1	<i>L. monocytogenes</i> , <i>L. ivanovii</i> , <i>L. seeligeri</i> , <i>L. welshimeri</i> , <i>L. innocua</i>	SABIA et al. (2002)
<i>E. mundtii</i>	Mundtacin KS	<i>L. monocytogenes</i>	KAWAMOTO et al. (2002)

(siehe Tabelle 1 sowie ORDONEZ et al., 1978; WESSELS et al., 1990; FREITAS et al., 1995; MACEDO et al., 1995; CENTENO et al., 1999; GIRAFFA, 2002). Enterokokken tragen möglicherweise auch zur Erhöhung der

Lebensmittelsicherheit bei, da viele Stämme Bakteriozine produzieren, die gegen Listerien (in erster Linie *L. monocytogenes*) wirksam sind (siehe Tabelle 2).

Im humanmedizinisch-klinischen Bereich wurde in den letzten Jahren eine deutliche Zunahme der Enterokokkeninfektionen registriert. Obwohl Enterokokken hier als Erreger mit verhältnismäßig geringer Pathogenität gelten, sind sie doch (nach Staphylokokken und *Escherichia coli*) heutzutage die zweit- bis dritt wichtigste Gattung bakterieller Erreger von Krankenhausinfektionen, sogenannten nosokomialen Infektionen. An erster Stelle stehen dabei Harnwegs- und Wundinfektionen, daneben können Enterokokken auch Bakteriämien, Endokarditiden, Sepsis (einschließlich Neugeborenen-sepsis), Meningitiden, Haut- und Weichteilinfektionen sowie mit Prothesen und Fremdkörpern assoziierte Infektionen hervorrufen (CHENOWETH und SCHABERG, 1990; KLARE, unveröffentl. Mitteilung, 2001). Enterokokken wurden darüber hinaus als Erreger bei Peritonitis (DE BAERE et al., 2000), ZNS-Infektionen (KURUP et al., 2001) und Osteomyelitis (SANDOE et al., 2001) isoliert.

Von den 24 bisher beschriebenen Enterokokkenspezies besitzen *E. faecalis* mit 80 -90% der Isolierungshäufigkeit und *E. faecium* mit 10 - 20% die größte klinische Bedeutung. Die höhere Pathogenität von *E. faecalis* gegenüber *E. faecium* hat ihre Ursache in dem weit häufigeren Vorkommen von Virulenzfaktoren, wie Gelatinase, Hämolysin, aggregation substance und enterococcus surface protein bei erstgenannter Spezies, während *E. faecium* mit Ausnahme weniger Stämme weitgehend frei von Virulenzfaktoren ist (EATON und GASSON, 2001; FRANZ et al., 2001; HOLZAPFEL und FRANZ, 2002). Einige *E. faecium*-Stämme sind jedoch möglicherweise in der Lage, Hyaluronidase zu produzieren (RICE et al., 2003).

Ein besonderes Problem bei der Therapie von Enterokokkeninfektionen in der Humanmedizin ist die breite Palette an natürlichen und erworbenen Antibiotikaresistenzen, die diese Erreger besitzen. Natürliche Resistenzen bestehen gegen Cephalosporine, Aminoglykoside (low-level-Typ), Polymyxine, Lincomycin und (zumeist) Clindamycin. Chinolone, wie Enrofloxacin, besitzen nur eine geringe Wirksamkeit gegen Enterokokken. Erworbene Resistenzen, insbesondere gegen Makrolide und Tetracykline, sind mittlerweile weit

verbreitet; darüber hinaus sind Resistenzen gegen Penicilline, Aminoglykoside (high-level-Typ), Chloramphenicol, Trimethoprim/ Sulfamethoxazol, Rifampicin und Fusidinsäure beschrieben (KLARE und WITTE, 1997a; WALLRAUCH et al., 1997).

Nachdem 1988 die ersten Berichte über Resistenzen gegen die zur Gruppe der Glykopeptide gehörenden Reserveantibiotika Vancomycin und Teicoplanin veröffentlicht wurden (UTTLEY et al., 1988), haben sich glykopeptidresistente Enterokokken (GRE) zu einem ernsthaften therapeutischen Problem entwickelt. Bei einem gleichzeitigen Vorliegen von Resistenzen gegen andere wichtige Antibiotika, insbesondere gegen Ampicillin und/oder bei Aminoglykosid-Hochresistenz, sowie bei einer Penicillinallergie von Seiten des Patienten, sind Infektionen mit solchen Stämmen kaum noch zu behandeln. Quinupristin/Dalfopristin, eine neuentwickelte Kombination zweier Wirkstoffe aus der Klasse der Streptogramine, ist zwar prinzipiell gegen glykopeptidresistente *Enterococcus faecium* wirksam, erworbene Resistenzen traten aber bereits vor der klinischen Einführung dieses Antibiotikums auf (WERNER et al., 1998).

2. 2. Spezies des Genus *Enterococcus*

Die Gattung *Enterococcus* umfaßt bislang 24 Spezies. Anhand der Ergebnisse von Sequenzanalysen der 16S rRNA teilt man 13 davon in 4 Speziesgruppen ein (WILLIAMS et al., 1991). Daneben existieren *E. faecalis* als stammesgeschichtlich getrennt zu betrachtende Art sowie eine Reihe von noch weniger gut untersuchten Spezies. Eine ursprünglich als *Enterococcus solitarius* beschriebene Art wurde später als *Tetragenococcus solitarius* reklassifiziert (DEVRIESE und POT, 1995).

2.2.1. Die *E. faecium* – Speziesgruppe

Dieser Gruppe ordnet man die Spezies *E. faecium*, *E. durans*, *E. hirae*, *E. mundtii* und *E. villorum* zu.

Enterococcus faecium ist, mit einem Anteil von 5-10%, nach *E. faecalis* der zweithäufigste Erreger von Enterokokkeninfektionen beim Menschen (WALLRAUCH et al., 1997). Ein besonderes Problem ist die bei dieser Spezies zu beobachtende Resistenzentwicklung. Innerhalb der letzten 20 Jahre erwarb

die Mehrzahl der klinischen Isolate Ampicillinresistenz (WATANAKUNAKORN, 1990; GRAYSON et al., 1991; WATANAKUNAKORN, 1993; HENWOOD et al., 2000), weit verbreitet ist ebenfalls die Gentamicin-Hochresistenz (KRESKEN et al., 1999). Auch Glykopeptidresistenz wird im allgemeinen viel häufiger bei *E. faecium* als bei *E. faecalis* gefunden (KLARE und WITTE, 1997b; KRESKEN et al., 1999).

In Lebensmitteln ist *E. faecium* neben *E. faecalis* die dominierende Enterokokkenspezies (WESSELS et al., 1990; DEVRIESE et al., 1995; FREITAS et al., 1995; FRANZ et al., 1999). Insbesondere bei der Herstellung von Milchprodukten besitzt *E. faecium* eine große technologische Bedeutung. So zeichnet sich dieser Keim durch eine hohe proteolytische Aktivität, auch bei niedrigen Temperaturen, aus (WESSELS et al., 1990) und trägt dadurch in wesentlichem Maße zum Abbau vor allem der α_{S1} - und β -Kasein-Fractionen bei (SARANTINOPOULOS et al., 2002). Darüber hinaus werden der Geschmack, das Aroma (vor allem durch die Bildung flüchtiger Substanzen wie Ethanol, Azetat, Azeton, Azetaldehyd, Azetoin und Diazetyl), Farbe, Struktur sowie das allgemeine sensorische Profil von Milchprodukten durch *E. faecium* positiv beeinflusst (SARANTINOPOULOS et al., 2002). Eine Reihe von *E. faecium*-Stämmen bilden Bakteriozine, die das Wachstum von *Listeria monocytogenes* hemmen und die damit die Gefahr, die durch diesen Erreger im Lebensmittel ausgeht, begrenzen (ARIHARA et al., 1993; VLAEMYNCK et al., 1994; LYON et al., 1995; AYMERICH et al., 1996; CALLEWAERT et al., 2000; ENNAHAR et al., 2001).

E. faecium ist unbeweglich, bildet kein Pigment und verstoffwechselt L-Arabinose und gewöhnlich auch Mannitol und Melibiose unter Säurebildung. D-Raffinose wird von den meisten Stämmen nicht abgebaut, eine Ausnahme bilden Isolate vom Geflügel (DEVRIESE et al., 1987). Ein nützlicher Test, um *E. faecium* von den biochemisch ähnlich reagierenden Spezies *E. gallinarum* und *E. casseliflavus* zu unterscheiden, ist der Abbau von α -D-Methyl-Glucopyranosid: die beiden letzteren Spezies spalten diesen Zucker unter Säurebildung, wogegen *E. faecium* dazu nicht in der Lage ist (DEVRIESE et al., 1996).

Enterococcus durans spielt als Erreger von Infektionskrankheiten beim Tier keine und beim Menschen nur eine sehr untergeordnete Rolle. In einer 1997 in

Frankreich durchgeführten Studie gehörten vier von 471 untersuchten Enterokokkenisolaten aus Krankenhäusern dieser Spezies an (PANGON et al., 1999).

In Lebensmitteln stellt *E. durans* nach *E. faecium* und *E. faecalis* die dritthäufigste Enterokokkenspezies dar und trägt in Milchprodukten möglicherweise zum Reifungsprozeß und zur Aromabildung bei (WESSELS et al., 1990; FREITAS et al., 1995; FRANZ et al., 1999). Da *E. durans* im Vergleich zu anderen Enterokokken sehr hohe Anforderungen an das Nährsubstrat (Vorhandensein freier Aminosäuren) stellt, findet er insbesondere in Käse günstige Vermehrungsbedingungen (KIELWEIN, 1978). Auch in Fleischprodukten, wie Hackfleisch vom Rind und Schwein, ist *E. durans* nachweisbar (KLEIN et al., 1998).

Der Keim ist unbeweglich, bildet kein Pigment und ist nicht in der Lage, L-Arabinose und Mannitol unter Säurebildung abzubauen. Die meisten Stämme bilden auch aus D-Raffinose und Melibiose keine Säure. Die biochemische Abgrenzung gegenüber *E. hirae* ist nicht einfach, in der Literatur finden sich widersprüchliche Angaben. FARROW und COLLINS (1985) stellten fest, daß *E. hirae* Säure aus Melibiose und Saccharose bildet und mit Raffinose verschiedene Ergebnisse erzielt, wogegen *E. durans* in all diesen Tests negativ reagiert. FACKLAM und COLLINS (1989) fanden dagegen sowohl Melibiose-positive *E. durans* als auch Melibiose-negative *E. hirae*. DEVRIESE et al. (1995) konnten sich mit ihren Ergebnissen keiner der Ansichten eindeutig anschließen und unterschieden zwischen beiden Spezies nicht.

Enterococcus hirae wurde am häufigsten im Darm von Hunden gefunden (DEVRIESE et al., 1992b), kommt aber auch bei Geflügel, Rindern, Schweinen, Pferden, Schafen, Ziegen und Kaninchen vor (DEVRIESE et al., 1987). Die Speziesbeschreibung von FARROW und COLLINS (1985) basierte auf Stämmen, die ursprünglich als *E. faecium* beschrieben worden waren und eine Wachstumsdepression bei Hühnern hervorriefen (FULLER et al., 1979). Die dieser Wachstumsdepression zugrundeliegenden Mechanismen sind noch unbekannt. Bei Papageien wurde *E. hirae* bei Fällen von Septikämien gefunden (DEVRIESE et al., 1992c). Der Keim besitzt enteropathogene Eigenschaften mit einer charakteristischen Affinität zum Bürstensaum des Dünndarmes von säugenden Jungtieren, wie Ratten (ETHERIDGE et al., 1988), Fohlen (TZIPORI

et al., 1984) und Hundewelpen (COLLINS et al., 1988). Die beiden letztgenannten Autoren identifizierten den ursächlichen Erreger erst als *E. durans*, DEVRIESE und HAESEBROUCK (1991) wiesen aber nach, daß es sich um *E. hirae* handelte.

In der Humanmedizin sind Infektionen mit *E. hirae* ein seltenes Ereignis. In der bereits oben erwähnten Studie von PANGON et al. (1999) wurden zwei von 471 klinischen Enterokokkenisolaten als *E. hirae* identifiziert. POYART et al. (2002) berichten von dem Fall einer durch *E. hirae* verursachten Endokarditis mit Beteiligung der Aortenklappen, GILAD et al. (1998) beschreiben eine *E. hirae*-Septikämie bei einem Patienten mit Nierenversagen.

Der Keim ist unbeweglich und bildet kein Pigment, die biochemische Abgrenzung von *E. durans* ist, wie erwähnt, nicht immer einfach. DEVRIESE et al. (1995), die beide Spezies nicht trennten, fanden *E. hirae*/*E. durans* in Käse, Fleisch und Fleisch-Käse-Kombinationen. KLEIN et al. (1998) isolierten *E. hirae* aus Rinder-, nicht aber aus Schweinehackfleisch.

Enterococcus mundtii ist ein offenbar pflanzenassoziiertes Keim, der als Infektionserreger bei Tieren keine Rolle spielt. In seltenen Fällen wurde von einem Vorkommen beim Menschen berichtet (KAUFHOLD und FERRIERI, 1991).

DEVRIESE et al. (1995) gelang es, *E. mundtii* aus Seefisch, Krustentieren und Fleisch zu isolieren. Auch bei diesem Keim ist die Bildung eines gegen *Listeria monocytogenes* wirksamen Bakteriozins (Mundticin KS) bekannt (KAWAMOTO et al., 2002).

E. mundtii bildet ein gelbes Pigment und ist (im Gegensatz zum ebenfalls pigmentbildenden *E. casseliflavus*) unbeweglich. L-Arabinose, Mannitol und Melibiose werden zuverlässig, D-Raffinose für gewöhnlich unter Säurebildung abgebaut. α -D-Methyl-Glucopyranosid wird nicht verstoffwechselt.

Enterococcus villorum ist eine erst vor kurzem neu beschriebene Spezies (VANCANNEYT et al., 2001), die aus dem Darm von Schweinen isoliert und aufgrund der Ergebnisse von Sequenzanalysen der 16S rRNA in die *E. faecium*-Speziesgruppe eingeordnet wurde (98,8-99,1% Ähnlichkeit mit den Sequenzen von Referenzstämmen dieser Gruppe). Von den bis jetzt beschriebenen fünf Isolaten wurden zwei von Ferkeln in Kanada und Korea und ein dritter aus dem Dünndarm einer Muttersau in den USA gewonnen. Die

beiden übrigen Isolate stammen ebenfalls von Schweinen, nähere Informationen dazu liegen nicht vor.

E. villorum ist unbeweglich, bildet kein Pigment und ist im Unterschied zu *E. durans* und *E. hirae* nicht in der Lage, β -D-Methyl-Glucopyranosid zu verstoffwechseln. Der Keim wächst in Anwesenheit von 6,5% NaCl, zeigt α -Hämolyse auf Blutagar, besitzt die Enzyme Pyrrolidonylarylamidase und Arginindihydrolase und baut Melibiose und Ribose, nicht aber D- und L-Arabinose, Mannitol, Melezitose und Raffinose unter Säurebildung ab. Der Keim scheint eine gewisse Affinität zu Enterozyten zu besitzen, der natürliche Standort ist wahrscheinlich der Schweinedarm. Zwei der fünf bisher isolierten Stämme wurden im Zusammenhang mit neonatalen Diarrhöen bei Ferkeln gefunden (VANCANNEYT et al., 2001). Berichte über Erkrankungen beim Menschen oder ein Vorkommen in Lebensmitteln liegen nicht vor.

2.2.2. Die *Enterococcus avium* – Speziesgruppe

Zu dieser Gruppe rechnet man *E. avium*, *E. pseudoavium*, *E. malodoratus* und *E. raffinosus*.

Enterococcus avium wurde ursprünglich aus Geflügelkot isoliert und erhielt daher auch seine Bezeichnung (NOWLAN und DEIBEL, 1967). DEVRIESE et al. (1991a) fanden dagegen im Darm von Eintagsküken und drei bis vier Wochen alten Masthähnchen keine sowie bei über zwölf Wochen alten Legehennen und Elterntieren nur sehr vereinzelt *E. avium*. Dagegen wurde dieser Keim aus Rindern und Schweinen (DEVRIESE et al., 1987), präruminierenden Kälbern (DEVRIESE et al., 1992d) und der Analgegend von Hunden (DEVRIESE et al., 1992e) isoliert.

E. avium-Infektionen beim Menschen kommen vor, sind aber selten. KAUFHOLD und KLEIN (1995) fanden unter 315 von Krankenhauspatienten gewonnenen Enterokokkenisolaten 3 *E. avium* – Stämme, JONES et al. (1997) identifizierten 2 von 557 Enterokokkenisolaten, die Bakteriämien verursacht hatten, als *E. avium* und PANGON et al. (1999) bestimmten von 471 Enterokokkenisolaten aus französischen Krankenhäusern 3 als zu dieser Spezies gehörend.

KLEIN et al. (1998) gelang die Isolation von *E. avium* aus Schweine-, nicht aber aus Rinderhackfleisch.

E. avium ist unbeweglich, bildet kein Pigment und zeigt gehemmtes Wachstum in Gegenwart von 6,5% NaCl. Alle Mitglieder der *Enterococcus avium*-Speziesgruppe zeigen eine typische breite, scharf abgesetzte vergrünende Hämolyse mit einer inneren, die Kolonien umgebenden dunklen Zone und einem schmalen, hellen äußeren Saum (DEVRIESE et al., 1992e). Dieses Merkmal wird besonders deutlich, wenn die Blutagarplatten länger inkubiert oder bei Raumtemperatur nachinkubiert wurden.

Enterococcus pseudoavium ist ein sehr selten vorkommender Vertreter der Gattung *Enterococcus*, COLLINS et al. (1989) isolierten einen Stamm aus dem Euter einer Kuh mit Mastitis. Dieses Isolat zeigte kein Wachstum in Gegenwart von 6,5% NaCl.

Enterococcus malodoratus ist ebenfalls eine seltene Spezies, die vor allem an den Menschen gebunden zu sein scheint. Die erste Isolation erfolgte aus Goudakäse (PETTE, 1955), trotzdem scheint diese Art nur selten in Milchprodukten oder anderen Lebensmitteln vorzukommen. Bei Haustieren wurde *E. malodoratus* von Katzentonsillen isoliert (DEVRIESE et al., 1992e), diese Stämme wurden allerdings fälschlicherweise erst der Spezies *E. raffinosus* zugeordnet und erst später als *E. malodoratus* identifiziert (DEVRIESE und POT, 1995). Weitere Isolationen gelangen aus dem Darm und dem Kot von Schweinen (DEVRIESE et al., 1994). Über die Pathogenität dieser Spezies ist nichts bekannt.

Enterococcus raffinosus wurde aus Krankenhauspatienten isoliert (COLLINS et al., 1989), der natürliche Standort ist nicht bekannt. JONES et al. (1997) fanden *E. raffinosus* bei humanen Bakteriämien, ein Großteil der Stämme war glykopeptidresistent. SANDOE et al. (2001) beschreiben den Fall einer durch *E. raffinosus* verursachten vertebrealen Osteomyelitis bei einer 73-jährigen Patientin. Die Spezies zeigt bei 10°C nur ein geringes oder kein Wachstum und ist biochemisch schwer von *E. avium* zu unterscheiden. Über ein Vorkommen in Lebensmitteln ist nichts bekannt.

2.2.3. Die *Enterococcus gallinarum* - Speziesgruppe

Diese Gruppe umfaßt die beiden Spezies *E. gallinarum* und *E. casseliflavus*. Früher wurde ihr auch die Spezies *E. flavescens* zugeordnet, neuere Untersuchungen weisen jedoch darauf hin, daß es sich bei *E. casseliflavus* und

E. flavescens um eine Art handelt. Die Stämme haben identische Gesamtzellproteinprofile und einen hohen Verwandtschaftsgrad der DNA. Da *E. casseliflavus* zuerst beschrieben wurde, sollte dies die Bezeichnung für die gemeinsame Art bleiben (TEIXEIRA et al., 1997).

Enterococcus gallinarum wurde ursprünglich aus Geflügel isoliert (BRIDGE und SNEATH, 1982). DEVRIESE et al. (1992e) fanden darüber hinaus einige wenige Stämme auf den Tonsillen und in der Analgegend von Katzen. Der natürliche Standort dieses Keimes ist nicht bekannt.

DEVRIESE et al. (1995) gelang die Isolation von *E. gallinarum* aus Fisch, Putenfleisch und einer Putenfleisch-Käse-Kombination, wobei drei von vier Stämmen im Zusammenhang mit Putenfleisch isoliert wurden. KLEIN et al. (1998) isolierten *E. gallinarum* aus Hackfleisch vom Rind und vom Schwein.

E. gallinarum bildet kein Pigment, die meisten Stämme sind beweglich. Die Spezies zeigt eine intrinsische low-level-Resistenz gegenüber Vancomycin mit Minimalen Hemmstoffkonzentrationen von 8-16 mg/l (KLARE und WITTE, 1997b). Diese Resistenz ist eine konstitutive Eigenschaft und hat ihre genetische Grundlage im *vanC1*-Gen, welches im Chromosom dieser Spezies lokalisiert und nicht übertragbar ist. Das *vanC1*-Gen kann zur Speziesbestimmung herangezogen werden.

Infektionen des Menschen mit *E. gallinarum* sind ein relativ seltenes Ereignis. KURUP et al. (2001) beschreiben den Fall einer Infektion des ZNS im Zusammenhang mit ventriculoperitonealen Shunts bei einem Hydrocephalus nach einer komplizierten Meningitis. RUOFF et al. (1990) untersuchten 302 humanmedizinisch-klinische Enterokokkenisolate und identifizierten 0,5% der Isolate, die aus Urin gewonnen waren, 2% der Isolate aus Wunden sowie 4% der Isolate aus anderen Körperflüssigkeiten als *E. gallinarum*.

Enterococcus casseliflavus ist ein pflanzenassoziierter Keim. Die meisten Stämme sind beweglich und bilden ein gelbes Pigment, es kommen aber auch unbewegliche und unpigmentierte Stämme vor (DEVRIESE et al., 1993). Speziespezifisch ist das *vanC2*-Gen, welches (analog zum *vanC1*-Gen bei *E. gallinarum*) stabil im Chromosom von *E. casseliflavus* lokalisiert und nicht übertragbar ist. Dieses Gen ist Ursache der natürlichen Resistenz dieser Spezies gegen Vancomycin mit Minimalen Hemmstoffkonzentrationen von 2-32 mg/l (KLARE und WITTE, 1997a).

Obwohl *E. faecalis* und *E. faecium* als die häufigsten Enterokokkenspezies in Milchprodukten gelten (ARIZCUN et al., 1997; FRANZ et al., 1999), fanden GELSOMINO et al. (2002) in irischem Cheddar-Käse und in der zu seiner Herstellung verwendeten Milch *E. casseliflavus* als dominierende Spezies. Auch BAUMGARTNER et al. (2001) konnten in einer breiten Palette verzehrfertiger Lebensmittel *E. casseliflavus* nachweisen. KLEIN et al. (1998) gelang die Isolation von *E. casseliflavus* aus Schweinehackfleisch. SABIA et al. (2002) isolierten aus italienischen Rohwürsten einen *E. casseliflavus*-Stamm, welcher ein Bakteriozin mit einer hohen Aktivität gegen *Listeria monocytogenes* bildet. Bei ca. 1% der bei menschlichen Infektionen gewonnenen Enterokokkenisolate handelt es sich um *E. casseliflavus* (RUOFF et al., 1990).

2.2.4. Die *Enterococcus cecorum* – Speziesgruppe

Sie umfaßt die beiden Arten *E. cecorum* und *E. columbae*.

Enterococcus cecorum wurde ursprünglich aus dem Darm von Hühnern isoliert und als *Streptococcus cecorum* beschrieben (DEVRIESE et al., 1983). Dieser Keim wurde bei 68% von über 12 Wochen alten Hühnern (Legehennen und Elterntiere) im Blinddarm gefunden, er umfaßt in diesem Bereich etwa 50% aller Enterokokkenisolate (DEVRIESE et al., 1991a). Darüber hinaus gelang die Isolation aus Darminhalt von Schweinen, Rindern, Pferden und Kanarienvögeln (DEVRIESE et al., 1991b) sowie von den Tonsillen und aus dem Analbereich von Hund und Katze (DEVRIESE et al., 1992b).

Einige für Enterokokken typische Eigenschaften fehlen *E. cecorum*. So überlebt dieser Keim eine 30-minütige Erhitzung auf 60°C nicht, besitzt keine Pyrrolidonylarylamidase-Aktivität und wächst nicht bei 10°C und nur schwach in Anwesenheit von 6,5% NaCl. Hingegen wächst er, wie andere Enterokokken auch, bei 45 °C und in Anwesenheit von 40% Galle. Analysen des genetischen Materials beweisen in jedem Falle die Zugehörigkeit zum Genus *Enterococcus* (WILLIAMS et al., 1989).

Über ein Vorkommen in Lebensmitteln ist nichts bekannt.

Der Keim scheint für Tiere nicht pathogen zu sein. Bei Menschen sind bislang nur wenige Fälle einer *E. cecorum*-Infektion beschrieben. Diese Infektionen verliefen als Peritonitis bzw. Septikämie, ihnen gingen jeweils schwere Grunderkrankungen voraus. Die Septikämie entwickelte sich bei einer 44-

jährigen, wegen einer hochgradigen Adipositas stationär behandelten Patientin und konnte durch intravenöse Gaben von Imipenem und Ciprofloxacin erfolgreich behandelt werden (GREUB et al., 1997). Zwei weitere Fälle verliefen als Peritonitis, wobei in einem Fall eine Peritonealdialyse wegen eines Ascites aufgrund alkoholbedingter Leberzirrhose vorausging (DE BAERE et al., 2000), in dem anderen Fall die Infektion ohne Perforation der Bauchwand bei einem Patienten mit Hepatitis-B-Virus bedingter Leberzirrhose auftrat (HSUEH et al., 2000).

Enterococcus columbae wurde bislang nur aus Haustauben isoliert. Der Keim wird bei dieser Tierart regelmäßig im Darminhalt angetroffen und ist auch aus Wundsekret isoliert worden. Trotzdem scheint er nicht primär pathogen für diese oder andere Tierarten zu sein (DEVRIESE und POT, 1995). Berichte über Infektionen des Menschen mit *E. columbae* oder ein Vorkommen in Lebensmitteln konnten in der zugänglichen Literatur nicht gefunden werden.

2.2.5. *Enterococcus faecalis*

Enterococcus faecalis ist zumeist die häufigste Enterokokkenspezies im menschlichen Darm, nur bei wenigen Menschen überwiegt *E. faecium* (CHENOWETH und SCHABERG, 1990). Darüber hinaus wurde *E. faecalis* im Darm und auf den Tonsillen von Schweinen (DEVRIESE et al., 1994), im Kot zu etwa 50% bei präruminierenden Kälbern aber nur zu 2% bei Milchkühen (DEVRIESE et al., 1992d), auf den Tonsillen und in der Analgegend bei Hund und Katze (DEVRIESE et al., 1992e), im Darm von Hühnern aller Altersstufen (DEVRIESE et al., 1991a) sowie im Darm von Pferden, Schafen, Ziegen und Kaninchen (DEVRIESE et al., 1987) gefunden. Trotz dieser weiten Verbreitung spielt er als Krankheitserreger beim Tier kaum eine Rolle.

In der Humanmedizin ist *E. faecalis* der mit Abstand am häufigsten isolierte Vertreter der Gattung *Enterococcus*. 80–90% der dort gefundenen Enterokokkenstämme gehören dieser Spezies an. Eine Ursache dafür dürfte der im Vergleich zu anderen Enterokokkenspezies hohe Gehalt an Virulenzfaktoren sein. 60% der klinischen *E. faecalis*-Isolate verursachen Hämolyse (IKE et al., 1987), 64% produzieren Gelatinase (KÜHNEN et al., 1988), 52% der Isolate aus Endokarditiden und 72% der Isolate aus anderen Infektionen bilden aggregation substance (COQUE et al., 1995). Nach

Untersuchungen von SINGH et al. (1998) wird Gelatinase von 54% der *E. faecalis*-Isolate aus Endokarditiden, von 58% klinischer Isolate aus Krankenhäusern und von 62% der Isolate aus Stuhlproben aus Krankenhäusern gebildet. Während DUPONT et al. (1998) abhängig von der Versuchstierart und dem Versuchsmodell sehr unterschiedliche Ergebnisse über den Einfluß der Virulenzfaktoren Cytolysin, Gelatinase und aggregation substance auf die Pathogenität von *E. faecalis*-Stämmen fanden, konnten CHOW et al. (1993) nachweisen, daß die Kombination von Haemolysin und aggregation substance die Virulenz eines *E. faecalis*-Stammes in einer experimentell herbeigeführten Endokarditis signifikant erhöht. Virulenzfaktoren sind häufiger bei *E. faecalis* als bei *E. faecium* zu finden (FRANZ et al., 2001; HOLZAPFEL und FRANZ, 2002), im Gegensatz dazu kommen Resistenzen gegen wichtige Antibiotika häufiger bei *E. faecium* als bei *E. faecalis* vor (KRESKEN et al., 1999). Tabelle 3 gibt einen Überblick über die klinische Bedeutung von *E. faecalis* sowie weiterer Enterokokkenspezies in der Humanmedizin.

In Lebensmitteln tritt *E. faecalis* regelmäßig auf (DEVRIESE et al., 1995; FRANZ et al., 1999; BAUMGARTNER et al., 2001) und trägt in Milchprodukten durch die Bildung von Aromastoffen, wie Azetaldehyd, Azetoin, Diazetyl und flüchtigen Fettsäuren, zum Reifungsprozeß bei (TROVATELLI und SCHIESSER, 1987; CENTENO et al., 1996). CENTENO et al. (1999) fanden, daß die unter Einsatz von *E. faecalis*-Stämmen hergestellten Partien einer traditionellen galizischen Käsesorte (Cebreiro) gegenüber den Kontrollpartien ohne *E. faecalis* einen höheren Trockenmassegehalt der Molke und damit geringere Käseausbeute, einen stärkeren α_{s1} - und β -Kaseinabbau, einen höheren Gehalt an flüchtigen und langkettigen freien Fettsäuren, höhere Diazetyl- und Azetoingehalte sowie eine größere Ähnlichkeit zum Originalprodukt aufwiesen.

Auch *E. faecalis* ist in der Lage, gegen *Listeria monocytogenes* wirksame Bakteriozine zu bilden und damit das Wachstum dieses aus lebensmittelhygienischer Sicht problematischen Keimes zu unterbinden (ARIHARA et al., 1991).

E. faecalis ist unbeweglich und bildet kein Pigment. Eine wichtige Eigenschaft, die auch zur Speziesdiagnose herangezogen werden kann, ist die Fähigkeit,

farbloses Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) zu rotem Formazan zu reduzieren. L-Arabinose, D-Raffinose und Melibiose werden nicht verstoffwechselt, wogegen Mannitol unter Säurebildung abgebaut wird.

Tab.3: Klinische Bedeutung von *Enterococcus* spp. in der Humanmedizin

Spezies	Häufigkeit	Bedeutung / klinisches Bild	Autoren
<i>E. faecalis</i>	mit 80-90% Isolierungs- häufigkeit häufigster Vertreter der Gattung <i>Enterococcus</i> in der Humanmedizin	Infektionen des Urogenital- und Respirationstraktes, Wundinfektionen, Bakteri- ämien, Endokarditis, intra- abdominale Infektionen, Meningitis	MURRAY (1990), KAUFHOLD und KLEIN (1995), JONES et al. (1997), WALL- RAUCH et al. (1997)
<i>E. faecium</i>	nach <i>E. faecalis</i> zweithäufigste Enterokokken- spezies in der Humanmedizin (5-10%)	häufiger Träger von Anti- biotikaresistenzen, klinische Bilder wie <i>E.</i> <i>faecalis</i>	wie <i>E. faecalis</i> sowie KRESKEN et al. (1999)
<i>E. durans</i>	0,6% der <i>E.</i> -isolate 0,4% der <i>E.</i> -isolate aus Krankenhäusern 0,8% der <i>E.</i> -isolate aus Krankenhäusern	Bakteriämien keine Angaben keine Angaben	JONES et al. (1997) WALLRAUCH et al. (1997) PANGON et al. (1999)
<i>E. hirae</i>	2,3% der <i>E.</i> -isolate 0,4% der <i>E.</i> -isolate aus Krankenhäusern	Infektionen des Respirationstraktes keine Angaben	KAUFHOLD und KLEIN (1995) PANGON et al. (1999)
<i>E. mundtii</i>	0,2% der <i>E.</i> -isolate aus Krankenhäusern	keine Angaben	WALLRAUCH et al. (1997)

Tab.3 (Fortsetzung): Klinische Bedeutung von *Enterococcus* spp. in der Humanmedizin

Spezies	Häufigkeit	Bedeutung / klinisches Bild	Autoren
<i>E. avium</i>	0,4% der <i>E.</i> -isolate	Bakteriämien	JONES et al. (1997)
	1,2% der <i>E.</i> -isolate	Infektionen des Urogenitaltraktes	KAUFHOLD und KLEIN (1995)
<i>E. raffi- nosus</i>	1,5% der <i>E.</i> -isolate	Bakteriämien	JONES et al. (1997)
	Einzelfall	Osteomyelitis	SANDOE et al. (2001)
<i>E. galli- narum</i>	0,6% der <i>E.</i> -isolate	Infektionen des Urogenitaltraktes	KAUFHOLD und KLEIN (1995)
	Einzelfall	Endokarditis	DARGERRE et al. (2002)
<i>E. casseli- flavus</i>	0,6% der <i>E.</i> -isolate	Infektionen des Urogenitaltraktes	KAUFHOLD und KLEIN (1995)
<i>E. ceco- rum</i>	Einzelfall	Septikämie	GREUB et al. (1997)
	Einzelfall	Peritonitis	HSUEH et al. (2000)
	Einzelfall	Peritonitis	DE BAERE et al. (2000)
<i>E. gilvus</i>	Einzelfall	Cholecystitis	TYRRELL et al. (2002)
<i>E. pallens</i>	Einzelfall	Peritonitis	TYRRELL et al. (2002)
<i>E. dispar</i>	Einzelfall	aus Synovialflüssigkeit bzw. Stuhlproben isoliert	COLLINS et al. (1991)

2.2.6. Weitere Enterokokkenspezies

Enterococcus haemoperoxidus und ***Enterococcus moraviensis*** sind zwei aus Oberflächenwasser isolierte Enterokokkenspezies. SVEC et al. (2001) schlugen die Aufnahme dieser beiden neuen Spezies in das Genus *Enterococcus* vor. Ergebnisse von 16S rRNA Sequenzanalysen zeigten einen hohen Verwandtschaftsgrad zwischen beiden Arten (99,7% Ähnlichkeit

zwischen den Typ-Stämmen). Die phylogenetisch am nächsten stehende Art ist *E. faecalis* mit einer Ähnlichkeit der 16S rRNA Sequenz von 97,4%.

Enterococcus haemoperoxidus ist unbeweglich, einige Stämme produzieren ein gelbliches Pigment. Eine Besonderheit ist die intensiv ausgeprägte Katalase-positive Reaktion von Kolonien, die von bluthaltigen Nährmedien stammen, Kolonien von blutfreien Medien sind Katalase-negativ. Der Keim besitzt das Enzym Arginindihydrolase und ist in der Lage, Melezitose, nicht aber L-Arabinose, Melibiose oder Raffinose unter Säurebildung abzubauen.

Enterococcus moraviensis ist unbeweglich, Katalase-negativ und bildet kein Pigment. Dem Keim fehlt die Arginindihydrolaseaktivität; er baut Melezitose und L-Arabinose, nicht aber Melibiose und (in den meisten Fällen) Raffinose ab (SVEC et al., 2001).

Berichte über einen Zusammenhang mit Erkrankungen bei Mensch oder Tier bzw. über ein Vorkommen in Lebensmitteln liegen nicht vor.

Enterococcus porcinus und ***Enterococcus ratti*** sind zwei bei Durchfallerkrankungen von Schweinen bzw. Ratten isolierte Spezies, die Bezeichnungen wurden von TEIXEIRA et al. (2001) vorgeschlagen. Beide Arten ähneln in ihrem biochemischen Verhalten *E. dispar*, *E. durans* und *E. hirae*: alle besitzen Arginindihydrolase und sind unfähig, Säure aus Mannitol, Sorbitol und Sorbose zu bilden. *E. porcinus* und *E. ratti* produzieren Pyrrolidonylarylamidase, wachsen bei 10 und 45°C und in Gegenwart von 6,5% NaCl (bei *E. ratti* sind diese Reaktionen schwach oder verzögert) . Beide Arten sind unbeweglich und bilden kein Pigment. Säure wird aus Maltose und D-Ribose, nicht aber aus L-Arabinose, α -D-Methyl-Glucopyranosid und D-Raffinose gebildet.

Ergebnisse von DNA-DNA Verwandtschaftsanalysen ergaben, daß alle Stämme von *E. porcinus* und *E. ratti* nur eine geringe Verwandtschaft zu den Typ-Stämmen aller bekannten Enterokokkenarten besitzen. Auch untereinander sind beide Spezies nicht verwandt (TEIXEIRA et al., 2001). Ergebnisse von Analysen der 16S rRNA zur Einordnung dieser Arten in die bekannten Speziesgruppen liegen nicht vor.

Enterococcus gilvus und ***Enterococcus pallens*** wurden in der Humanmedizin isoliert und von TYRRELL et al. (2002) erstmalig beschrieben. Von beiden Spezies existiert bis jetzt je ein Isolat. *E. gilvus* wurde aus der Galle

eines Patienten mit Cholecystitis gewonnen, *E. pallens* aus der Peritonealflüssigkeit eines Patienten mit Peritonitis.

E. gilvus zeigt in der Sequenz der 16S rRNA eine 99,8%ige Verwandtschaft zu *E. raffinosus* und *E. malodoratus* sowie eine 99,5%ige Identität mit *E. avium* und *E. pseudoavium*. Dies deutet auf eine enge Beziehung zur *E. avium* – Speziesgruppe hin. Der Keim bildet ein gelbliches Pigment, ist unbeweglich, wächst bei 10°C und (verzögert) auch bei 45°C sowie in Gegenwart von 6,5% NaCl.

Er bildet Säure aus Mannitol, Melibiose, Raffinose und Ribose, nicht aber aus Arabinose, Xylose und α -D-Methyl-Glucopyranosid und besitzt das Enzym Pyrrolidonylarylamidase, wogegen ihm eine Arginindihydrolase fehlt.

E. pallens zeigt eine 98,7%ige Identität der 16S rRNA mit *E. malodoratus* und eine 98,6%ige Verwandtschaft zu *E. raffinosus*, *E. avium* und *E. pseudoavium*. Das einzige Isolat, das von dieser Art bis jetzt existiert, produziert ein gelbes Pigment, ist unbeweglich und wächst bei 10°C und 45°C und in Anwesenheit von 6,5% NaCl. Es baut Arabinose, Mannitol, Melibiose, Raffinose und Ribose, nicht aber α -D-Methyl-Glucopyranosid unter Säurebildung ab (TYRRELL et al, 2002).

Enterococcus saccharolyticus wurde aus Einstreu und von der Haut von Rindern isoliert. Der Keim erhielt seinen Namen aufgrund des Vermögens, aus einer Vielzahl von Kohlenhydraten Säure bilden zu können. Trotzdem fehlen ihm eine Reihe von Eigenschaften, die für Enterokokken typisch sind: so besitzt er keine Pyrrolidonylarylamidase und zeigt in Anwesenheit von 6,5% NaCl nur ein schwaches Wachstum. *E. saccharolyticus* wurde ursprünglich in die Gattung *Streptococcus* eingeordnet, später jedoch aufgrund der Ergebnisse von Sequenzanalysen der 16S rRNA dem Genus *Enterococcus* zugeordnet (FARROW et al., 1984; RODRIGUES und COLLINS, 1990). Über eine mögliche Pathogenität oder ein Auftreten in Lebensmitteln ist nichts bekannt.

Enterococcus dispar wurde aus menschlichem Material isoliert. Der Keim ist unbeweglich, bildet kein Pigment, wächst bei 10°C und in Anwesenheit von 6,5% NaCl, nicht aber bei 45°C. Untersuchungen der 16S rRNA belegen eine eigene phylogenetische Abstammungslinie innerhalb des Genus *Enterococcus* (COLLINS et al., 1991; DEVRIESE und POT, 1995).

Enterococcus sulfureus ist ein pflanzenassoziierter Keim. Er bildet ein gelbes Pigment, ist unbeweglich und wächst bei 10°C, nicht aber bei 45°C (MARTINEZ-MURCIA, A. J. und COLLINS, M. D., 1991). Über eine mögliche Pathogenität bei Mensch oder Tier bzw. ein Vorkommen in Lebensmitteln liegen keine Berichte vor.

Enterococcus asini wurde im Blinddarminhalt von Eseln gefunden (DE VAUX et al., 1998). Der Keim ist unbeweglich, unpigmentiert und besitzt das enterokokkentypische Enzym Pyrrolidonylarylamidase. Er wächst nicht in Anwesenheit von 6,5% NaCl und ist nicht in der Lage, eine Reihe von wichtigen Kohlenhydraten (Ribose, L-Arabinose, D-Raffinose, Melibiose, Melezitose sowie L-Sorbose) zu verstoffwechseln. Über ein Vorkommen in Lebensmitteln oder ein Zusammenhang mit Erkrankungen bei Mensch oder Tier ist nichts bekannt.

Tabelle 4 gibt einen Überblick über einige, zur Artbestimmung wichtige Eigenschaften von Enterokokkenspezies.

Tab. 4: Eigenschaften von Enterokokken-Spezies (modifiziert nach FACKLAM und COLLINS, 1989; DEVRIESE et al., 1993; DEVRIESE et al., 1995; DEVRIESE et al., 1996; DE VAUX et al., 1998; CHEN et al., 2000; SANDOE et al., 2001; SVEC et al., 2001; TEIXEIRA et al., 2001; VANCANNEYT et al., 2001; TYRELL et al., 2002)

Spezies	Pig	Pyr	Bew	TTC	NaCl	Meth	Arg	Rib	Ara	Raf	Man	Melib	Pyruv	Melez	Sorbit	L-Sorb	D-Xyl	Glc
<i>E. asini</i>	-	+	-	ND	-	-	-	-	-	-	-	-	ND	-	-	-	+	
<i>E. avium</i>	-	+	-	D	D	D	-	+	V+	-	+	D	(+)	+	+	+	D-	D
<i>E. casseliflavus</i>	D+	+	D+	D	+	+	D	+	+	D+	+	+	D	D-	D-	-	+	D
<i>E. cecorum</i>	-	-	-	ND	-	-	-	+	-	+	D-	+	+	D+	D-	-	-	
<i>E. columbae</i>	-	-	-	ND	-	D	-	+	D+	+	+	+	+	D-	+	-	+	
<i>E. dispar</i>	-	+	-	ND	+	+	+	+	-	+	-	D	+	-	-	-	-	+
<i>E. durans</i>	-	+	-	-	+	-	+	+	-	D-	-	D-	-	-	-	-	-	-
<i>E. faecalis</i>	-	+	-	+	+	D	+	+	-	-	+	-	+	D+	D+	D-	-	D
<i>E. faecium</i>	-	+	-	-	+	-	+	+	+	D-	D+	D+	-	-	D-	-	D-	-
<i>E. gallinarum</i>	-	+	D+	+	+	+	D	+	+	D+	+	D+	-	D-	D	-	+	
<i>E. gilvus</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	ND	+	+	-	+
<i>E. haemoperoxidus</i>	(+)	+	-	+	+	+	+	+	-	-	D	-	ND	+	-	-	-	
<i>E. hirae</i>	-	+	-	ND	+	-	+	+	-	D-	-	+	-	-	-	-	-	-

+ = positive Reaktion; D+ = gewöhnlich positiv; (+) = schwach positiv; - = negative Reaktion; D- = gewöhnlich negativ; D = variabel; V+ = Reaktion verzögert; ND = keine Daten

Pig = gelbes Pigment; Pyr = Pyrrolidonylarylamidase; Bew = Beweglichkeit; TTC = Tetrazoliumreduktion; NaCl = Wachstum in Gegenwart von 6,5% NaCl; Säurebildung aus Meth = alpha-D-Methyl-Glucopyranosid; Rib = Ribose; Ara = L-Arabinose; Raf = D-Raffinose; Man = Mannitol; Melib = Melibiose; Melez = Melezitose; Sorbit = Sorbitol; L-Sorb = L- Sorbose; D-Xyl = D-Xylose; Abbau von Arg = Arginin; Pyruv = Pyruvat

Tab. 4 (Fortsetzung): Eigenschaften von Enterokokken-Spezies

Spezies	Pig	Pyr	Bew	TTC	NaCl	Meth	Arg	Rib	Ara	Raf	Man	Melib	Pyruv	Melez	Sorbit	L-Sorb	D-Xyl	Glc
<i>E. malodoratus</i>	-	+	-	-	D	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	D-	D
<i>E. moraviensis</i>	-	D	-	+	+	+	-	+	+	D-	+	-	ND	+	-	D-	-	
<i>E. mundtii</i>	+	+	-	D	+	-	+	+	+	D+	+	+	-	-	D	-	+	-
<i>E. pallens</i>	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	ND	+	+	-	+
<i>E. porcinus</i>	-	+	-	ND	+	-	+	+	-	-	-	+	-	ND	-	-	+	-
<i>E. pseudoavium</i>	-	+	-	-	D	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	D-	-
<i>E. raffinosus</i>	-	+	-	D	D	D	-	+	+	+	+	+	+	D+	+	+	D-	+
<i>E. ratti</i>	-	+	-	ND	+	-	+	+	-	-	D-	D	-	ND	-	-	-	-
<i>E. saccharolyticus</i>	-	-	-	ND	+	+	-	ND	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-
<i>E. sulfureus</i>	+	+	-	ND	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-
<i>E. villorum</i>	-	+	-	ND	+	ND	+	+	-	-	-	+	ND	-	-	-	D+	
<i>E. flavescens</i> *	+	+	+	D+	ND	+	+	-	+	+	+	+		D-	-	-	+	

*: *E. flavescens* ist vermutlich mit *E. casseliflavus* identisch (TEIXEIRA et al., 1997)

+ = positive Reaktion; D+ = gewöhnlich positiv; (+) = schwach positiv; - = negative Reaktion; D- = gewöhnlich negativ; D = variabel; V+ = Reaktion verzögert; ND = keine Daten

Pig = gelbes Pigment; Pyr = Pyrrolidonylarylamidase; Bew = Beweglichkeit; TTC = Tetrazoliumreduktion; NaCl = Wachstum in Gegenwart von 6,5% NaCl; Säurebildung aus Meth = alpha-D-Methyl-Glucopyranosid, Rib = Ribose, Ara = L-Arabinose, Raf = D-Raffinose, Man = Mannitol, Melib = Melibiose, Melez = Melezitose, Sorbit = Sorbitol, L-Sorb = L- Sorbose, D-Xyl = D-Xylose; Abbau von Arg = Arginin, Pyruv = Pyruvat

2.3. Resistenzmechanismen von Enterokokken gegen ausgewählte antimikrobiell wirksame Substanzen

Die heute angewendeten antimikrobiell wirksamen Substanzen greifen die Bakterienzelle im Prinzip durch:

1. Hemmung der Zellwandsynthese,
2. Veränderung der Permeabilität der Zytoplasmamembran,
3. Störung der Proteinsynthese und
4. Blockierung der Nukleinsäuresynthese an.

Zu den nach dem ersten Prinzip wirkenden Antibiotika gehören unter anderem die β -Laktame (Penicilline, Cephalosporine, Carbapeneme und Monobactame) und die Glykopeptide (Vancomycin, Teicoplanin, Avoparcin). Die Permeabilität der Zytoplasmamembran wird durch Polypeptidantibiotika, wie z.B. Polymyxine, verändert. Die Proteinsynthese stören Lincosamide, Makrolide, Chloramphenicol, Tetrazykline und Aminoglykoside. Nach dem vierten Prinzip schließlich arbeiten Sulfonamide und Chinolone.

Die Bakterien haben hauptsächlich drei Mechanismen entwickelt, sich der Wirkung von Antibiotika zu entziehen:

1. das Antibiotikum selbst wird enzymatisch verändert,
2. es wird aktiv aus der Zelle heraustransportiert oder
3. der Angriffsort des Antibiotikums in- oder außerhalb der Zelle wird so modifiziert, daß das Antibiotikum seine Wirksamkeit verliert.

Die Resistenz kann entweder intrinsisch sein, das heißt, sie ist chromosomal verankert, nicht übertragbar und tritt bei allen oder den meisten Stämmen dieser Spezies auf (MOELLERING und KROGSTADT, 1979), oder sie ist erworben, wobei sie auf mobilen genetischen Elementen wie Plasmiden oder Transposons lokalisiert ist, und von der Bakterienzelle abgegeben oder aufgenommen werden kann.

Im Folgenden soll dargestellt werden, wie wichtige Antibiotikagruppen wirken und welche Resistenzmechanismen Enterokokken dagegen entwickelt haben.

2.3.1. β -Laktam-Antibiotika

Die teilweise oder vollständige Resistenz gegen die Mehrzahl der β -Laktam-Antibiotika ist ein charakteristisches Merkmal der Enterokokken. Die Hauptursache dafür dürfte in der geringen Affinität der Penicillin-bindenden Proteine (PBP's, siehe unten) liegen. Selbst von Naturvölkern, die kaum oder nie mit Antibiotika als Medikament in Kontakt gekommen sind, wurden Enterokokkenstämme isoliert, die (wie auch Stämme aus der Frühzeit der Antibiotika) diese Resistenz besaßen (MOELLERING und KROGSTADT, 1979; WILLIAMSON et al., 1985; MURRAY, 1990).

Struktur, Wirkungsspektrum und Wirkungstyp

Die β -Laktame erhielten ihren Namen nach dem ihre Grundstruktur bildenden viergliedrigen β -Laktamring. Dieser ist im Falle der Penicilline einem Thiazolring, bei den Cephalosporinen einem Dihydrothiazinring benachbart. Durch weitere Substituenten an diesen Ringen werden die Applikationsart (Oralpenicilline und β -cephalosporine), die Stabilität gegen β -Laktamasen (Penicillinase-stabile Penicilline) und das Wirkungsspektrum (Breitspektrumpenicilline, Anaerobiercephalosporine) verändert.

Die Mehrzahl der β -Laktam-Antibiotika (einschließlich Cephalosporine und Monobactame) sind gegen Enterokokken praktisch unwirksam. Eine Ausnahme bilden einige Penicilline; Aminopenicilline (wie Ampicillin und Amoxicillin) stellen in Verbindung mit einem Aminoglykosid sogar das Mittel der ersten Wahl bei Enterokokkeninfektionen dar. β -Laktame wirken bakterizid, es werden jedoch nur proliferierende Keime abgetötet (siehe unten).

Wirkungsmechanismus

β -Laktamantibiotika wirken über eine Hemmung der bakteriellen Zellwandsynthese. Murein (das Grundgerüst der bakteriellen Zellwand) besteht aus Glykanketten, die abwechselnd aus N-Azetylglukosamin und N-Azetylmuraminsäure zusammengesetzt sind und die durch Oligopeptide (deren Aufbau für die jeweilige Bakterienart spezifisch ist) zu einem Makromolekül quervernetzt werden. Die Synthese (s. Abb. 1) erfolgt, indem zuerst im Zytoplasma einzelne Aminosäuren und zum Schluß das Dipeptid D-Alanyl-D-alanin an Uridindiphosphat-N-Azetylmuraminsäure angelagert werden. In der

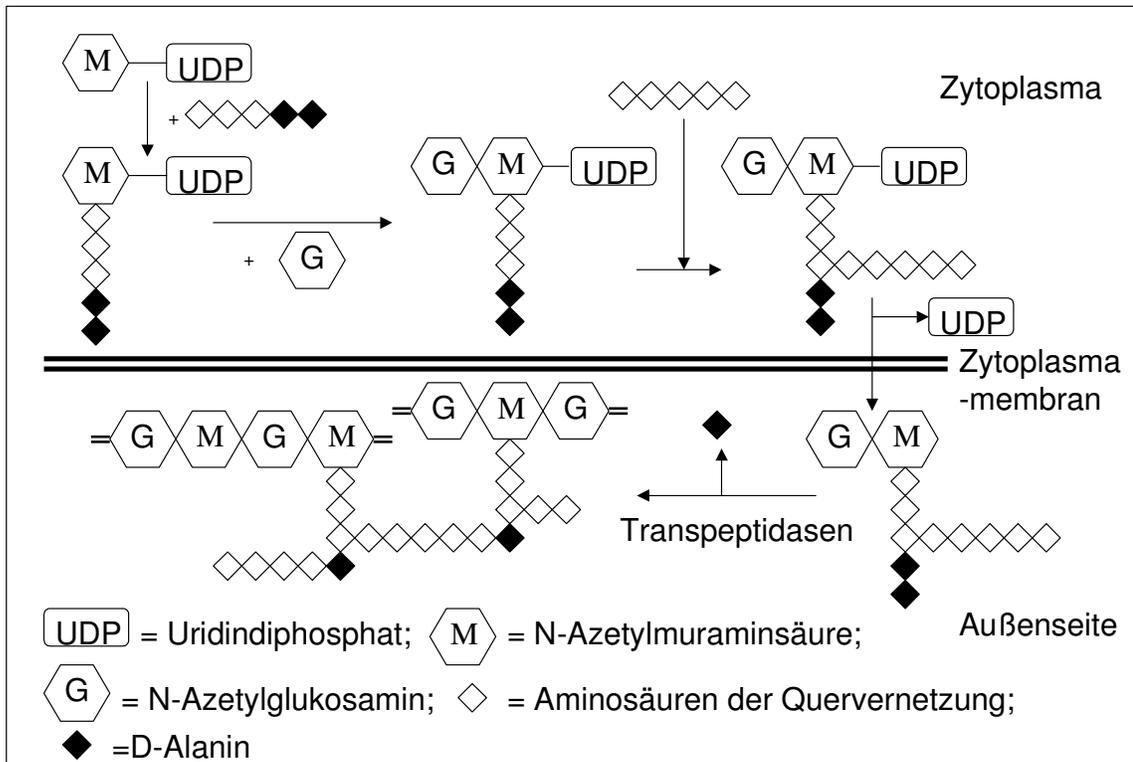


Abb. 1. Mureinsynthese (modifiziert nach MUTSCHLER, 1996)

Zellmembran wird der Grundbaustein des Mureins durch Anheftung von N-Acetylglukosamin an die UDP-N-Acetylmuraminsäure gebildet. Außerdem werden weitere Aminosäuren an einer Verzweigungsstelle des bereits bestehenden Oligopeptides gebunden, die beiden endständigen Aminosäuren bleiben D-Alanyl-D-alanin. Mit Hilfe eines Carriers wird anschließend der Baustein an die Außenseite der Zytoplasmamembran transportiert. Dort entstehen durch Wirkung des Enzyms Transglykosylase (in Abb. 1 nicht dargestellt) die Glykanketten. Im letzten Schritt werden die einzelnen Peptidoglykanstränge mit Hilfe von Transpeptidasen durch Abspaltung des endständigen D-Alanins quervernetzt.

Der Wirkungsmechanismus der β -Laktame besteht darin, daß sie kovalent an das aktive Zentrum der D-Alanin-Transpeptidase binden und dieses Enzym dadurch irreversibel blockieren. Die Quervernetzung der Peptidoglykanstränge wird dadurch gestört und eine Öffnung dieser Stränge im Rahmen der Zellteilung führt zur Bakteriolyse. Aus diesem Grund töten β -Laktam-Antibiotika nur Bakterien ab, die sich gerade vermehren.

Die Enzyme, die durch die Bindung der β -Laktame irreversibel blockiert werden, bezeichnet man als Penicillin-bindende Proteine (PBP). Sie bilden den Angriffspunkt dieser Antibiotika. Bisher ist die Existenz von mindestens sieben solcher Proteine bekannt, dabei handelt es sich um vier Transpeptidasen und drei Carboxypeptidasen (Enzyme, die durch Abspaltung des terminalen D-Alanins den Grad der Quervernetzung verändern), die an unterschiedlichen Punkten der Mureinsynthese angreifen (MUTSCHLER, 1996).

Resistenzmechanismen der Enterokokken

Enterokokken verfügen über zwei Mechanismen der Resistenz gegenüber β -Laktam-Antibiotika: eine verminderte Affinität der Penicillin-bindenden Proteine und Bildung von β -Laktamasen (FONTANA et al., 1990).

β -Laktamasen sind bakterielle Enzyme, die in der Lage sind, β -Laktamringe zu spalten. Dadurch werden Antibiotika, die diese Struktur besitzen, unwirksam. Heutzutage sind über 190 klinisch relevante β -Laktamasen bekannt, die nach ihrer Funktionalität (Hydrolyse von Penicillinen und/oder Cephalosporinen und/oder Carbapenemen sowie Hemmbarkeit durch β -Laktamase-Inhibitoren) oder nach ihrer Molekülstruktur (Serin- oder Metalloenzyme) eingeteilt werden (THEURETZBACHER, 1998).

Obwohl die Bildung von β -Laktamasen im Allgemeinen den häufigsten Resistenzmechanismus gegenüber β -Laktam-Antibiotika darstellt, spielen sie bei Enterokokken nur eine sehr geringe Rolle. Im Gegensatz zu *Staphylococcus aureus*, bei dem schon seit den frühen vierziger Jahren eine β -Laktamase-Bildung bekannt ist, wurde der erste Fall einer Produktion dieses Enzyms bei Enterokokken erst 1983 beschrieben. Es handelte sich dabei um einen 1981 in den USA isolierten *E. faecalis*-Stamm (MURRAY, 1992). Seitdem wurde von einigen Fällen β -Laktamase-bildender (Bla^+) Enterokokken aus den USA, Argentinien, Australien und dem Libanon berichtet (PATTERSON und ZERVOS, 1989; MURRAY, 1992; McALISTER, 1999). Dabei handelte es sich in der Mehrzahl um *E. faecalis*, nur in Ausnahmefällen bildet auch *E. faecium* dieses Enzym (COUDRON et al., 1992). Das β -Laktamase-Gen der Enterokokken stammt möglicherweise von *Staphylococcus aureus*, da nachgewiesen werden konnte, daß die dieses Enzym kodierenden Gene von

Staph. aureus denen einer Vielzahl Bla⁺- Enterokokken sehr ähnlich sind (MURRAY, 1992).

Die Bildung **Penicillin-bindender Proteine (PBP) mit verminderter Affinität** ist dementsprechend der Hauptmechanismus der Resistenz bzw. geringen Empfindlichkeit von Enterokokken gegen β -Laktam-Antibiotika. Dabei zeigen sich Unterschiede hinsichtlich der Affinität dieser Proteine gegenüber verschiedenen Substanzen. Die höhere Affinität gegenüber einigen Penicillinen, wie z.B. Penicillin G oder Aminopenicillinen, erklärt die höhere Empfindlichkeit von Enterokokken gegenüber diesen Stoffen. Die extrem geringe Affinität gegenüber Cephalosporinen (2 mg/ml ist die minimale Konzentration, die nötig ist, um ein low-affinity PBP von *Enterococcus faecium* zu sättigen) findet ihren Ausdruck in der Unwirksamkeit dieser Substanzen gegen Enterokokken (FONTANA et al., 1990).

Innerhalb der letzten Jahre hat sich die Ampicillinresistenz, insbesondere bei *E. faecium*, zu einem bedeutenden Problem entwickelt. Heute sind 48,7% der *E. faecium*-Stämme in Deutschland (KRESKEN et al., 1999) bzw. 91% in Großbritannien (HENWOOD et al., 2000) ampicillinresistent. Grundlage dieser und auch der Resistenz gegen Benzylpenicillin ist die Bildung von Varianten des PBP 5 mit verminderter Affinität gegenüber diesen Substanzen. Schon die ursprüngliche Variante des PBP 5 zeigt eine geringe Affinität zu Penicillinen (FONTANA et al., 1990). *E. faecium*-Stämme, denen dieses Protein fehlt, sind hochempfindlich gegen Ampicillin (RICE et al., 2001), Überproduktion führt zu einer moderaten Resistenz mit Minimalen Hemmstoffkonzentrationen von etwa 32 mg/l (FONTANA et al., 1994). Diese Autoren beschreiben weiterhin die Entwicklung von Hochresistenz bei *E. faecium*-Stämmen mit MHK-Werten von über 128 mg/l durch die Überproduktion einer Variante des PBP 5 mit erniedrigter Affinität (FONTANA et al., 1994). Daneben sind Modifikationen dieses Proteins bekannt (very-low-affinity PBP5fm, bei *E. faecium*), die bereits in geringer Menge eine Hochresistenz gegen Penicilline bewirken. Als Beispiele für solche Modifikationen sind der Austausch der in Position 485 befindlichen Aminosäure Methionin gegen Alanin (MHK für Benzylpenicillin: 512 mg/l; ZORZI et al., 1996) bzw. das Auftreten eines zusätzlichen Serinrestes nach Ser-466 (MHK für Ampicillin: 256 mg/l; RYBKINE et al., 1998) beschrieben.

2.3.2. Aminoglykoside

Enterokokken besitzen eine intrinsische low-level-Resistenz gegenüber Aminoglykosiden mit MHK-Werten (*E. faecalis*) von etwa 250 mg/l für Streptomycin und Kanamycin sowie 8-64 mg/l für Gentamicin und Tobramycin. Diese Resistenz beruht auf einer geringen Aufnahme dieser Antibiotika durch die Bakterienzelle (HEALY und ZERVOS, 1995). Trotzdem ist die Kombination eines Aminoglykosides (meist Gentamicin) mit einem zellwandaktiven Antibiotikum (Aminopenicillin oder Glykopeptid) in der Humanmedizin die Therapie der ersten Wahl bei Enterokokkeninfektionen. Der Synergismus besteht darin, daß das Aminopenicillin oder Glykopeptid die Zellwand schädigt und damit das Aminoglykosid leichter eindringen und in der Zelle tödliche Konzentrationen erreichen kann. Dieser Synergismus funktioniert allerdings nur, wenn jedes der beteiligten Antibiotika wirksam ist; er versagt bei Aminopenicillin- oder Glykopeptidresistenz (wobei natürlich noch auf die jeweils andere Substanzgruppe zurückgegriffen werden kann, wenn gegen sie keine Resistenz besteht) sowie bei Aminoglykosid-Hochresistenz. Letztere ist bei Enterokokken in den meisten Fällen eine erworbene Resistenz, eine Ausnahme bildet *E. faecium* (siehe unten).

Struktur, Wirkungsspektrum und Wirkungstyp

Aminoglykoside sind Tri- oder Tetrasaccharide, deren gemeinsamer Bestandteil Streptamin oder Streptamin-Derivate, in erster Linie 2-Desoxystreptamin, darstellt (MUTSCHLER, 1996). Aminoglykoside besitzen ein sehr breites Wirkungsspektrum sowohl im Gram-positiven als auch im Gram-negativen Bereich. Sie wirken bakterizid.

Wirkungsmechanismus

Aminoglykoside stören in komplexer Weise die Proteinsynthese in der Bakterienzelle. Nach dem Eindringen und der Anreicherung in der Zelle binden sie an die 30S-Untereinheit der Ribosomen. Sie verhindern zum einen den Beginn der Proteinsynthese, indem sie die Akzeptorstelle an der 30S-Untereinheit blockieren und damit die Bindung der Formylmethionyl-tRNA unmöglich machen, zum anderen kann auch die Aminoacyl-tRNA nicht an das Ribosom binden und bereits bestehende Peptidketten werden nicht verlängert.

Darüber hinaus bewirken Aminoglykoside Störungen der Anlagerung des Antikodons der tRNA an das Kodon der mRNA und damit Ablesefehler bei der Translation. Die Folge davon ist eine Synthese fehlerhafter Proteine, sogenannter Nonsense-Proteine. Da die Ribosomen der Eukaryonten einen anderen Aufbau als die der Prokaryonten besitzen (Sedimentationskonstante der kleinen Untereinheit 40S statt 30S), wird bei jenen die Proteinsynthese durch Aminoglykoside nicht gestört.

Resistenzmechanismen der Enterokokken

Im Gegensatz zur β -Laktam-Resistenz der Enterokokken, die in der Hauptsache auf einer Veränderung des Zielortes (target) des Antibiotikums beruht, wird bei der Aminoglykosidresistenz in erster Linie das Antibiotikum selbst enzymatisch modifiziert und damit inaktiviert. Es sind mehrere Enzyme bekannt, die dies vermögen.

Die MHK-Werte von *E. faecium* für Tobramycin, Netilmycin, Kanamycin und Sisomicin sind höher als die von *E. faecalis*. Die Ursache dafür ist das Enzym Aminoglykosid-6'-Azetyltransferase (6'-AAC), das von *E. faecium* in geringem Maße gebildet wird und dessen genetische Information nicht übertragbar und damit höchstwahrscheinlich chromosomal verankert ist. Eine Kombinationstherapie dieser Aminoglykoside mit Penicillin ist gegen *E. faecium* in den meisten Fällen wirkungslos (MURRAY, 1990; GRAY und PEDLER, 1992; HEALY und ZERVOS, 1995).

Hochresistenz gegen Streptomycin (MHK >2000 mg/l) beruht in erster Linie auf der Bildung des Enzyms Streptomycin-Adenyltransferase, welches plasmidkodiert und damit übertragbar ist. Diese Resistenzform ist bei *E. faecalis* und *E. faecium* mittlerweile weit verbreitet (GRAY und PEDLER, 1992). So fanden sie WALLRAUCH et al. (1997) bei 22% der *E. faecalis*- und 55% der *E. faecium*-Isolate. Daneben ist eine ribosomale Streptomycinresistenz bei Enterokokken bekannt, bei der selbst Streptomycinkonzentrationen von 128.000 mg/l unwirksam sind (HERMAN und GERDING, 1991). Sie ist durch eine Veränderung des Proteins S12 in der 30S Untereinheit des Ribosomes bedingt (GRAY und PEDLER, 1992).

Die Produktion des Enzyms Aminoglykosid-3'-Phosphotransferase bewirkt eine Hochresistenz gegen Kanamycin und (in geringerem Maße) gegen Amikacin.

Die Wirkung von Gentamicin wird durch dieses Enzym nicht beeinträchtigt (MURRAY, 1990).

Eine sehr große klinische Bedeutung kommt der Hochresistenz gegen Gentamicin (MHK >500 mg/l) zu. Ihre Ursache ist das plasmidkodierte und damit übertragbare bifunktionelle Enzym 6'-Aminoglykosid-Azetyltransferase-2''- Aminoglykosid-Phosphotransferase (AAC6'-APH2''). Dieses Enzym bewirkt eine Resistenz gegen alle Aminoglykoside mit der Ausnahme von Streptomycin (HERMAN und GERDING, 1991).

Die beschriebenen Enzyme können einzeln, aber auch in Kombinationen auftreten. So bewirkt beispielsweise eine gleichzeitige Bildung der Streptomycin-Adenyltransferase und der AAC6'-APH2'' eine Resistenz gegenüber allen bekannten Aminoglykosiden.

2.3.3. Tetrazykline

Resistenzen gegen Tetrazykline sind bei Enterokokken weit verbreitet. KNUDTSON und HARTMAN (1993) fanden in den USA bei 56% klinischer Enterokokkenisolate Tetrazyklinresistenz, KRESKEN et al. (1999) berichten für 1995 von einer Doxyzyklinresistenz bei 64% der humanmedizinischen *E. faecalis*-Isolate. Aus diesem Grund stellen Tetrazykline in der Humanmedizin kein Mittel der Wahl bei Enterokokkeninfektionen dar.

In der Veterinärmedizin besteht eine ähnliche Situation. In einer von BUTAYE et al. (2001) veröffentlichten Studie waren nur 3% der *E. faecium*-Isolate vom Schwein und 20% von Wiederkäuern Oxytetracyklin-empfindlich, bei *E. faecalis* waren es 0% beziehungsweise 29%. Aarestrup et al. (2002) fanden Tetrazyklinresistenz bei etwa 65% der in Dänemark und Schweden von Schweinen isolierten *E. faecalis*- und zu 94% der bei den von derselben Tierart in Spanien isolierten *E. faecium*-Stämme. Auch aus Lebensmitteln konnten tetrazyklinresistente Enterokokken, mit einem Anteil von 45% bei *E. faecalis* und 6% bei *E. faecium*, gewonnen werden (FRANZ et al., 2001). KLEIN et al. (1998) fanden bei 20,1% von aus Rinder- und Schweinehackfleischproben isolierten Enterokokkenstämmen Tetrazyklinresistenz.

Struktur, Wirkungsspektrum und Wirkungstyp

Alle Tetracykline sind gleichartig aus vier Kohlenwasserstoffsechsringen zusammengesetzt und unterscheiden sich durch verschiedene Ringssubstituenten. Das Wirkungsspektrum der Tetracykline ist breit. Es erfaßt zahlreiche Gram-positive und Gram-negative Keime, Spirochäten, Mykoplasmen, intrazelluläre Keime, wie Chlamydien und Rickettsien, und teilweise Einzeller wie Amöben (nur in hohen Dosen) oder *Plasmodium falciparum* (Doxyzyklin). *Proteus*-Arten, *Pseudomonas aeruginosa*, Klebsiellen und Enterokokken sind oftmals resistent. Der Wirkungstyp ist bakteriostatisch.

Wirkungsmechanismus

Tetracykline greifen in die Proteinsynthese der Bakterienzelle ein. Sie verhindern die Bindung der Aminoacyl-t-RNA an die 30S Untereinheit des Ribosoms und damit die Translation. Die meisten Bakterienzellen reichern Tetracykline in ihrem Zytoplasma aktiv an, dies ist für die Wirkung notwendig.

Resistenzmechanismen der Enterokokken

Enterokokken bedienen sich zweier Mechanismen, um sich der Wirkung von Tetracyklinen zu entziehen: aktiver Auswärtstransport und Schutz des Ribosoms.

Die morphologische Grundlage des **aktiven Auswärtstransportes** bilden membranassoziierte Proteine, die Tetracykline unter Energieaufwand aus der Zelle befördern. Dieser Auswärtstransport reduziert die intrazelluläre Tetracyklinkonzentration und hebt damit deren Wirkung auf. Für Enterokokken sind die Resistenzgene *tetK* und *tetL* beschrieben, die diese Transportproteine kodieren.

Die Transportproteine selbst besitzen eine Größe von etwa 46 kDa und durchziehen mit (bei Gram-positiven Keimen) 14 hydrophoben α -Helices die Zellmembran. Die hydrophoben Bereiche sind durch hydrophile Abschnitte unterbrochen, welche in den intrazellulären und periplasmatischen Raum der Bakterienzelle ragen. Der Auswärtstransport eines Tetracyklin-Kation-Komplexes geschieht gegen einen Konzentrationsgradienten im Austausch gegen ein Proton.

Die Resistenzgene *tetK* und *tetL* sind in etwa 60% ihrer DNA-Sequenz identisch. Sie kodieren Proteine, die eine Resistenz gegen Tetrazyklin und

Tab. 5: Vorkommen und Funktion der *tet*-Gene bei Gram-positiven Bakterien (modifiziert nach ROBERTS, 1996; AMINOV et al., 2001; SCHMITZ et al., 2001 und GEVERS, 2002)

Gen	Funktion	vorkommend bei
<i>tetK</i>	aktiver Auswärts-transport	<i>Bacillus, Eubacterium, Clostridium, Listeria, Staphylococcus, Peptostreptococcus, Enterococcus, Streptococcus</i>
<i>tetL</i>	aktiver Auswärts-transport	<i>Arcanobacterium, Bacillus, Clostridium, Listeria, Staphylococcus, Peptostreptococcus, Enterococcus, Streptococcus</i>
<i>tetM</i>	Schutz des Ribosomes	<i>Bifidobacterium, Corynebacterium, Gardnerella, Gemella, Bacterionema, Arcanobacterium, Aerococcus, Eubacterium, Clostridium, Listeria, Staphylococcus, Peptostreptococcus, Enterococcus, Streptococcus, Lactobacillus</i>
<i>tetO</i>	Schutz des Ribosomes	<i>Aerococcus, Lactobacillus, Mobiluncus, Staphylococcus, Peptostreptococcus, Enterococcus, Streptococcus</i>
<i>tetP</i>	Schutz des Ribosomes	<i>Clostridium</i>
<i>tetQ</i>	Schutz des Ribosomes	<i>Lactobacillus, Mobiluncus, Eubacterium, Peptostreptococcus, Streptococcus</i>
<i>tetS</i>	Schutz des Ribosomes	<i>Listeria, Enterococcus, Lactococcus</i>
<i>tetT</i>	Schutz des Ribosomes	<i>Streptococcus</i>

Chlortetrazyklin, nicht aber gegen Minozyklin bewirken. *tetK* und *tetL* befinden sich meist auf kleinen übertragbaren Plasmiden (ROBERTS, 1996).

Ein **Schutz des Ribosoms** erfolgt durch im Zytoplasma befindliche Proteine mit einer Masse von etwa 72 kDa. Sie ähneln in ihrer N-terminalen Aminosäuresequenz den Elongationsfaktoren Tu (wird für die Besetzung der Akzeptorstelle des Ribosomes mit der Aminoacyl-tRNA benötigt) und G (dient der Translokation der mit der Peptidkette beladenen tRNA von der Akzeptorstelle zur Peptidbindungsstelle des Ribosomes). Durch diese Ribosomen-Schutz-Proteine wird eine Resistenz gegen Tetrazyklin, Doxyzyklin und Minozyklin vermittelt. Sie werden bei Enterokokken durch die Resistenzgene *tetM*, *tetO* und *tetS* kodiert. Die genaue Wirkungsweise dieser

Proteine ist noch nicht bekannt. Denkbar wäre zum einen eine Blockade der Tetrazyklinbindungsstelle an der 30S Untereinheit des Ribosoms, zum anderen (aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit zu den Elongationsfaktoren) eine Funktion als tetrazyklinresistenter Elongationsfaktor (ROBERTS, 1996).

Einen Überblick über die Funktion und das Vorkommen der *tet*-Gene bei Gram-positiven Bakterien gibt Tabelle 5.

2.3.4. Makrolide

Makrolide werden sowohl in der Human-, als auch in der Veterinärmedizin verwendet. In der Veterinärmedizin erfolgte neben dem therapeutischen Einsatz einiger Vertreter dieser Gruppe, wie z.B. Erythromycin, Tylosin (keine Verwendung in der Humanmedizin) oder Spiramycin auch der Einsatz von Tylosin und Spiramycin als Leistungsförderer in der Tierernährung. Tylosin selektiert resistente Enterokokken, die kreuzresistent gegen Erythromycin (ein wichtiges humanmedizinisches Therapeutikum) sind, Spiramycin fördert möglicherweise Resistenzen und wird auch in der humanmedizinischen Therapie verwendet. Aus diesen Gründen wurde die Zulassung dieser beiden Antibiotika in der Indikation als Leistungsförderer zum 01.07.1999 in der Europäischen Union widerrufen (KAMPHUES, 1999). Einen Überblick über die in der EU nicht mehr als Futterzusatzstoffe zugelassenen Leistungsförderer gibt Tabelle 6.

Struktur, Wirkungsspektrum und Wirkungstyp

Makrolide bestehen aus 14 (Erythromycin und Clarithromycin), 15 (Azithromycin) oder 16 (Spiramycin, Josamycin und Tylosin) -gliedrigen Laktonringen, an welche Amino- und/oder neutrale Zucker glykosidisch gebunden sind (ROBERTS et al., 1999). Diese Antibiotikagruppe wirkt generell auf Gram-positive Keime, Gram-negative Kokken und Mykoplasmen. Der Wirkungstyp ist bakteriostatisch.

Wirkungsmechanismus

Makrolide binden reversibel an die 50S Untereinheit des bakteriellen Ribosoms und hemmen dort die Translokation der Peptidyl-tRNA von der Akzeptor- zur

Donorseite. Damit wird die Verlängerung der Peptidkette und die Proteinsynthese beendet.

Tabelle 6: Nicht mehr als Futterzusatzstoffe zugelassene Leistungsförderer (modifiziert nach KAMPHUES, 1999)

Datum des Verbotes bzw. des Widerrufs der Zulassung*	Substanz	Ursache des Verbotes bzw. des Widerrufs der Zulassung
11.01.1996	Avoparcin	mögliche Kreuzresistenzen gegenüber Vancomycin und Teicoplanin
01.07.1999	Virginiamycin	Kreuzresistenzen gegenüber Pristinamycin und Quinupristin/Dalfopristin
01.07.1999	Zn-Bacitracin	Erhalt der Wirksamkeit in der humanmedizinischen Therapie
01.07.1999	Spiramycin	Erhalt der Wirksamkeit in der humanmedizinischen Therapie
01.07.1999	Tylosin	Entwicklung von Kreuzresistenzen gegenüber Erythromycin
01.09.1999	Carbadox und Olaquinox	toxikologische Bedenken

*: Ein generelles Verbot aller Leistungsförderer ist in der EU ab Januar 2006 geplant (KOMMISSION DER EUROPÄISCHEN GEMEINSCHAFTEN, 2001).

Resistenzmechanismen der Enterokokken

Enterokokken besitzen im Wesentlichen zwei Mechanismen der Resistenz gegen Makrolide: eine Modifizierung der 50S Untereinheit des Ribosomes und einen aktiven Auswärtstransport.

Die **Modifizierung** der großen Untereinheit des bakteriellen Ribosomes war der erste beschriebene Mechanismus der Makrolidresistenz. Sie beruht auf einer posttranskriptionellen Methylierung eines Adeninrestes der 23S rRNA dieser Untereinheit durch Adenin-N⁶-Methyltransferasen. In den letzten Jahren ist eine Vielzahl dieser Enzyme beschrieben worden (LECLERCQ und COURVALIN, 1991; ROBERTS et al., 1999). Die Gene, die diese Enzyme kodieren, werden als *erm* (erythromycin ribosome methylation) bezeichnet (WEISBLUM, 1995). Bei Enterokokken ist das Vorkommen des *ermB*-Genes bekannt.

Die Methylierung der rRNA behindert die Bindung der Makrolidmoleküle an das Ribosom. Da sich die Bindungsstellen für Makrolide und die der (strukturell nicht näher verwandten) Lincosamide und Streptogramin B-Antibiotika auf der

50S Untereinheit überschneiden, führt die Methylierung dieser Untereinheit zu einer gleichzeitigen Resistenz gegen diese drei Antibiotikaklassen. Dieser Resistenztyp wird als Makrolid-Lincosamid-Streptogramin B (MLS_B) –Typ bezeichnet.

Der zweite bei Enterokokken bekannte Resistenzmechanismus gegen Makrolide ist ein **aktiver Auswärtstransport**. Dies geschieht durch membranständige Proteine, die durch ein Herauspumpen des Antibiotikums aus der Zelle die Konzentration innerhalb der Zelle niedrig halten, und so eine Störung der Proteinsynthese verhindern. Für Enterokokken ist ein solches Transportsystem beschrieben, welches durch das *mef* (macrolide efflux) -A-Gen kodiert wird (ROBERTS et al., 1999).

2.3.5. Glykopeptide

Aufgrund des breiten Spektrums an natürlichen und erworbenen Resistenzen kommen zur Behandlung von humanen Enterokokkeninfektionen nur eine begrenzte Anzahl von Antibiotika in Frage. Ist die Therapie der ersten Wahl, die Kombination aus Ampicillin und einem Aminoglykosid, aufgrund einer Ampicillinresistenz und/oder einer Hochresistenz gegen Aminoglykoside unwirksam, oder kommt eine Therapie mit Penicillinen wegen einer Allergie des Patienten nicht in Frage, sind Glykopeptide, wie Vancomycin und Teicoplanin das Mittel der Wahl. Vor der Entwicklung neuer Antibiotika (wie der Wirkstoffkombination Quinupristin/Dalfopristin, die gegen *E. faecium*, nicht aber *E. faecalis* wirksam ist) waren Glykopeptide oft die letzte therapeutische Möglichkeit. Als gegen Ende der achtziger Jahre die ersten glykopeptidresistenten Enterokokken (GRE) auftraten, waren Infektionen mit diesen Stämmen in vielen Fällen nicht mehr behandelbar.

Ein weiteres Glykopeptidantibiotikum, Avoparcin, wurde in Europa als Leistungsförderer in der Tierfütterung eingesetzt. Da es bei Enterokokken möglicherweise Resistenzen selektiert, die sich auch auf die humanmedizinisch wichtigen Glykopeptide Vancomycin und Teicoplanin erstrecken können, wurde sein Einsatz zum 11.01.1996 verboten.

Struktur, Wirkungsspektrum und Wirkungstyp

Glykopeptide sind komplex gebaute Makromoleküle mit einem Molekulargewicht von etwa 3500. Teicoplanin ist eine Mischung aus sechs verschiedenen Stoffen, die sich durch ihre Fettsäurereste unterscheiden (MUTSCHLER, 1996). Das Wirkungsspektrum der Glykopeptide umfaßt Gram-positive Kokken und Stäbchen, vor allem Staphylokokken (auch methicillinresistente *Staphylococcus aureus*, MRSA), Streptokokken und *Clostridium difficile*. Die Bedeutung bei Enterokokkeninfektionen wurde oben bereits angedeutet. Gram-negative Bakterien und Mykobakterien sind resistent. Glykopeptide wirken bakterizid.

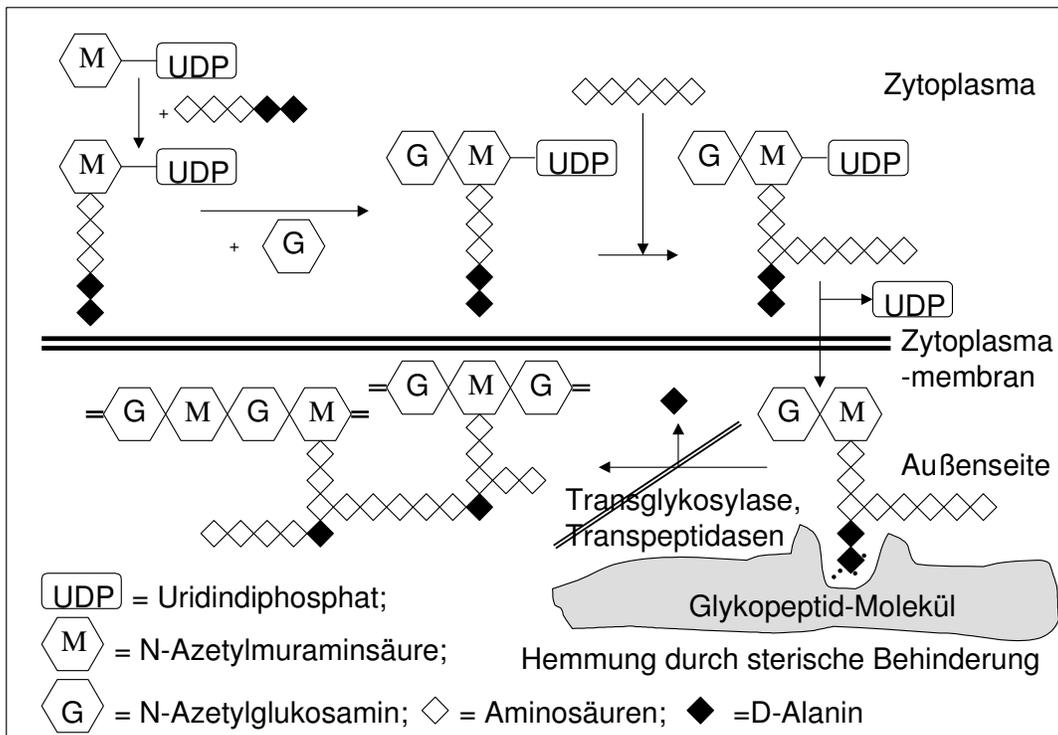


Abb. 2. Wirkungsmechanismus der Glykopeptide

Wirkungsmechanismus

Glykopeptide wirken auf die Zellwandsynthese (s. Abb. 2). Durch die Ausbildung von Wasserstoffbrücken zwischen dem terminalen D-Alanin des Peptidoglykanbausteines und dem Glykopeptid kommt es zu einer Verbindung zwischen beiden Molekülen. Das große, taschenartige Glykopeptidmolekül

behindert sterisch die Transglykosilierungs- und Transpeptidierungsreaktionen, die Zellwandsynthese wird blockiert.

Resistenzmechanismen der Enterokokken

Grundlage der Glykopeptidresistenz bei Enterokokken ist der Ersatz des terminalen D-Alanins des Peptidoglykanbausteines durch D-Laktat (bei *vanA*, *vanB*, *vanD*) oder D-Serin (bei *vanC1*, *vanC2* und *vanE*). Das Glykopeptid kann nicht mehr (oder nur noch sehr eingeschränkt) an den Peptidoglykanprekursor binden, die Zellwandsynthese läuft ungestört ab. Es sind verschiedene Resistenzgencluster bekannt.

Der ***vanA*-Genotyp** bewirkt eine Hochresistenz sowohl gegen Vancomycin (mit MHK-Werten im Bereich von etwa 32 bis 1024 mg/l) als auch gegen Teicoplanin (MHK: 16-512 mg/l). Der Gencluster befindet sich auf konjugativ übertragbaren Plasmiden und kodiert für ein 39 kDa-Resistenzprotein.

Der Cluster enthält drei Gene, die für seine Funktion entscheidend sind. Ihr Ursprung liegt wahrscheinlich in glykopeptidbildenden Bakterien. Diese Gene kodieren für eine Dehydrogenase (VanH), die Pyruvat zu D-Laktat reduziert, für eine D,D-Dipeptidase (VanX), die D-Ala-D-Ala spaltet und für eine Ligase (VanA), die D-Alanin und D-Laktat zu D-Ala-D-Lak verbindet. Darüber hinaus enthält dieser Cluster eine D, D-Carboxypeptidase (VanY), welche das endständige D-Alanin von Peptidoglykanbausteinen abspaltet. *VanZ* schließlich ist ein Gen des *vanA*-Clusters, das eine low-level Resistenz gegen Teicoplanin überträgt, seine genaue Funktion ist jedoch noch nicht bekannt (ARTHUR und QUINTILIANI, 2001).

Glykopeptidresistenz vom *vanA*-Typ kommt am häufigsten bei *E. faecium* und seltener bei *E. faecalis* vor. Daneben ist dieser Typ noch bei anderen Enterokokkenspezies beschrieben, auch *E. gallinarum* und *E. casseliflavus* können neben dem *vanC1*- bzw. *vanC2*-Gen das *vanA*-Gen tragen (DUTKA-MALEN et al., 1994; BIAVASCO et al., 2001).

Der ***vanB*-Genotyp** vermittelt nur eine Resistenz gegen Vancomycin (MHK-Werte im Bereich von 16-32 mg/l, in extremen Fällen 4-1024 mg/l) bei gleichzeitiger Empfindlichkeit gegen Teicoplanin. Er kodiert für ein 39,5 kDa Resistenzprotein, befindet sich zumeist mit geringer Übertragungshäufigkeit im

Chromosom und wurde bei *E. faecium* und *E. faecalis* gefunden (KLARE und WITTE, 1997a).

Dieser Gencluster kodiert, analog dem *vanA*-Cluster, für eine Dehydrogenase (VanH_B), eine D,D-Dipeptidase (VanX_B), eine Ligase (VanB) und eine D,D-Carboxypeptidase (VanY_B).

VanC1 und **vanC2** sind zwei nicht übertragbare, chromosomal lokalisierte Resistenzgene, die speziesspezifisch für *E. casseliflavus* (*vanC2*) und *E. gallinarum* (*vanC1*) sind. Sie bewirken die natürliche low-level-Resistenz beider Spezies gegen Vancomycin (MHK: 8-16 mg/l), nicht aber gegen Teicoplanin.

Die Gencluster kodieren für VanT, eine membrangebundene Serin-Razemase, welche L-Serin in D-Serin umwandelt, für VanXYc, eine DD-Dipeptidase, welche das Dipeptid D-Ala-D-Ala hydrolysiert, für zwei D-Alanin-D-Alanin-Ligasen (Ddl und Ddl2, nur bei *E. gallinarum*; AMBUR et al., 2002), welche das Dipeptid D-Ala-D-Ala produzieren, sowie für eine weitere Ligase (VanC1 bzw. VanC2), welche D-Ala-D-Ser bildet. Auf diese Art und Weise werden Peptidoglykanprekursoren gebildet, die mit der Aminosäurekombination D-Alanyl-D-Serin enden. Da die Produktion von D-Alanyl-D-Alanin aufrechterhalten wird, besteht nur eine low-level-Resistenz gegenüber Vancomycin (CLARK et al., 1998; GROHS et al., 2000; SHEPARD und GILMORE, 2002). Diese beiden Resistenzformen stellen meist kein therapeutisches Problem dar.

Weitere Genotypen (*vanD*, *vanE*, *vanG*) sind in Einzelfällen beschrieben worden (MCKESSAR et al., 2000; BOYD et al., 2002). Eine zusammenfassende Darstellung der Glykopeptidresistenztypen bei Enterokokken gibt Tabelle 7.

2.3.6. Gyrasehemmer

Die Gyrasehemmer, speziell die Fluorchinolone (wie der veterinärmedizinisch zugelassene Wirkstoff Enrofloxacin oder die in der Humanmedizin eingesetzten Substanzen Norfloxacin, Ofloxacin oder Ciprofloxacin) gehören zu den wichtigsten Entwicklungen der antibakteriellen Chemotherapie der letzten Jahre. Sie zeigen allerdings nur eine mäßige Wirkung gegen Enterokokken.

Tab. 7: Glykopeptidresistenz-Gene bei Enterokokken (modifiziert nach DUTKA-MALEN et al., 1994; KLARE und WITTE, 1997b; PERICHON et al., 1997; FINES et al., 1999; MCKESSAR et al., 2000; BOYD et al., 2002)

Gen-cluster	MHK-Bereich (mg/l)		Lokal. des Resist.-genes	konjugative Übertragbarkeit	Induktion durch		Res.-prot. (kDa)	Target	beschrieben für
	Van*	Tei**			Van	Tei			
vanA	32-1024	16-512	Plasmid (Chromosom)	ja	ja	ja	39	D-Ala-D-Lak	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i> <i>E. avium</i> <i>E. raffinosus</i> <i>E. durans</i> <i>E. hirae</i> <i>E. mundtii</i> <i>E. gallinarum</i> <i>E. casseliflavus</i>
vanB	(4-16-32 (-1024))	0,5-1	Chromosom (Plasmid)	selten	ja	nein	39,5	D-Ala-D-Lak	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>
vanC1	8-16	0,5-1	Chromosom	nein	konstitutiv	n.b.***	D-Ala-D-Ser	<i>E. gallinarum</i>	
vanC2	8-16	0,5-1	Chromosom	nein	konstitutiv	n.b.	D-Ala-D-Ser	<i>E. casseliflavus</i>	
vanD	64	4	Chromosom	nein	konstitutiv	n.b.	D-Ala-D-Lak	<i>E. faecium</i>	
vanE	16-24	0,5	Chromosom	nein	ja	nein	n.b. D-Ala-D-Ser	<i>E. faecalis</i>	
vanG	12-16	0,5	Chromosom	nein	n.b.	n.b.	n.b.	<i>E. faecalis</i>	

*: Vancomycin, **: Teicoplanin, ***: nicht bekannt

Die Bezeichnung *vanF* ist einem *vanA*-ähnlichen Gencluster bei *Paenibacillus popilliae* vorbehalten (PATEL et al., 2000).

Struktur, Wirkungsspektrum und Wirkungstyp

Gyrasehemmer sind Chinolin-4-on-3-carbonsäuren und deren Aza-Analoga. Durch Fluorierung in der 6-Stellung des Grundgerüsts und Einführung eines Piperazinsubstituenten in der 7-Stellung entstanden die Fluochinolone, welche

sich durch eine verbesserte Pharmakokinetik, erhöhte Wirkstärke und ein breiteres Wirkungsspektrum auszeichnen (KROKER, 1991; MUTSCHLER, 1996). Fluochinolone haben ein sehr breites Wirkungsspektrum gegen fast alle Gram-negativen und Gram-positiven Bakterien, eine Ausnahme bilden Streptokokken, Enterokokken und Gram-positiv Anaerobier, gegen die diese Antibiotika nur eine mäßige Aktivität besitzen. Der Wirkungstyp dieser Substanzen ist bakterizid.

Wirkungsmechanismus

Gyrasehemmer wirken auf die bakterielle Nukleinsäuresynthese, indem sie, wie der Name schon sagt, das Enzym DNA-Gyrase hemmen. Diese gehört zur Gruppe der Topoisomerasen II, die an der Replikation, Transkription, Rekombination und Reparatur der DNA beteiligt sind. Speziell die DNA-Gyrase bewirkt eine Spiralisierung (supercoiling) der DNA, damit der lange DNA-Strang seine spezifische Raumstruktur einnehmen und bei der Replikation richtig abgelesen werden kann.

Die DNA-Gyrase ist ein Tetramer aus je zwei A- und B-Untereinheiten. Durch Bindung der Untereinheit A an eine Phosphatgruppe der DNA wird der DNA-Strang zuerst geöffnet. Anschließend erfolgt die Verdrillung, für die die Untereinheit B (eine ATPase) die notwendige Energie liefert. Schließlich wird der DNA-Strang von der Untereinheit A wieder verschlossen.

Man nimmt an, daß Gyrasehemmer auf den letzten Schritt, das Wiederverschließen der DNA-Stränge, wirken (MUTSCHLER, 1996).

Resistenzmechanismen der Enterokokken

Für die Resistenz der Enterokokken gegen Chinolone sind in erster Linie Veränderungen an den beiden Genen *gyrA* und *parC* verantwortlich.

gyrA kodiert für die Untereinheit A der DNA-Gyrase (Gyr A). Veränderungen an diesem Gen bzw. an diesem Enzym bewirken eine Resistenz gegen Fluochinolone. Daneben muß für die Wirkung der Gyrasehemmer auch die Topoisomerase IV eine Rolle spielen, da Veränderungen an der Untereinheit C dieses Enzyms (ParC), kodiert durch das Gen *parC*, zur Resistenz gegen diese Antibiotika beitragen. Im Allgemeinen führen bei Gram-negativen Bakterien Mutationen nur am *gyrA*-Gen zu einer low-level-Resistenz und erst Mutationen

sowohl am *gyrA*- als auch am *parC*-Gen zu verstärkten Resistenzen gegen Chinolone. Dies deutet darauf hin, daß bei ihnen die DNA-Gyrase das erste Zielenzym dieser Antibiotika ist. Bei Gram-positiven Bakterien scheint es genau entgegengesetzt zu sein, Mutationen am *parC*-Gen bewirken eine low-level-Resistenz und gehen denen an *gyrA* voran. Die bei Enterokokken erhaltenen Ergebnisse lassen bis jetzt noch keine eindeutige Aussage zu, ob die DNA-Gyrase oder die Topoisomerase IV das eigentliche Zielenzym der Chinolone ist und welches der beiden Gene in erster Linie Mutationen zeigen muß, um Enterokokken chinolonresistent werden zu lassen (NAKANISHI et al., 1991; KANEMATSU et al., 1998; BRISSE et al., 1999; EL AMIN et al., 1999; ONODERA et al., 2002).

2.3.7. Streptogramine

Die natürlichen Vertreter der Streptogramine, wie Streptogramin, Virginiamycin, Pristinamycin oder Synergistin, werden von *Streptomyces*-Arten gebildet. Sie werden in einigen europäischen Ländern und Algerien, in erster Linie gegen Staphylokokkeninfektionen, eingesetzt. Virginiamycin wurde in der Europäischen Union als Leistungsförderer in der Tierernährung verwendet, da es jedoch bei Enterokokken Kreuzresistenzen gegen die humanmedizinisch benutzten Streptogramine Pristinamycin und Quinupristin/Dalfopristin (siehe unten) selektiert, wurde seine Zulassung zum 01.07.1999 widerrufen (KAMPHUES, 1999; HAROCHE et al., 2000).

Von besonderer Bedeutung ist die halbsynthetische Wirkstoffkombination Quinupristin/Dalfopristin, die erst vor wenigen Jahren in den USA und Europa als humanmedizinisches Therapeutikum zugelassen wurde. Sie ist insbesondere gegen glykopeptidresistente *E. faecium* (GREF) wirksam und bildet unter Umständen die einzige Behandlungsmöglichkeit für Infektionen mit diesem Erreger.

Struktur, Wirkungsspektrum und Wirkungstyp

Alle Streptogramine sind aus den synergistisch wirkenden, chemisch völlig verschiedenen Komponenten A und B zusammengesetzt. Die A-Komponente, wie zum Beispiel Streptogramin A, Pristinamycin IIA, Virginiamycin M oder Dalfopristin, wird aus mehrfach ungesättigten, zyklischen Makrolaktonen

gebildet. Die B-Komponente, wie Streptogramin B, Pristinamycin IA, Virginiamycin S oder Quinupristin, sind zyklische Depsipeptide (RENDE-FOURNIER et al., 1993). Quinupristin/Dalfopristin besteht zu 30% aus der B- und zu 70% aus der A-Komponente.

Streptogramine haben ein enges Wirkungsspektrum, das Gram-positive Bakterien (insbesondere Staphylokokken und Streptokokken), Gram-negative Kokken, Mykoplasmen, *Ureaplasma* spp., Chlamydien und Rickettsien umfaßt (RENDE-FOURNIER et al., 1993). Von besonderer Bedeutung ist ihre Wirkung gegen *E. faecium*, wogegen *E. faecalis* eine natürliche Resistenz gegenüber dieser Wirkstoffgruppe besitzt. Streptogramine wirken bakterizid (LIVERMORE, 2000).

Wirkungsmechanismus

Streptogramine stören die Proteinsynthese der Bakterienzelle, dabei wirken die A- und die B-Komponente zusammen. Die A-Komponente (Dalfopristin) bindet an die Peptidyltransferase der 50S Untereinheit des bakteriellen Ribosoms und unterbindet auf diese Weise die Transpeptidierungsreaktion. Die bestehende Aminosäurekette an der Peptidyl-tRNA wird nicht verlängert. Gleichzeitig bewirkt diese Komponente eine Konformationsänderung innerhalb des Ribosomes, die dazu führt, daß die B-Komponente (Quinupristin) dort mit stärkerer Affinität bindet. Letztere verhindert den Zutritt der Aminoacyl-tRNA zur Akzeptorseite des Ribosomes. Auf diese Art und Weise werden zwei Stadien der Proteinsynthese blockiert.

Resistenzmechanismen der Enterokokken

Da die A- und die B-Komponente der Streptogramine in ihrer chemischen Struktur verschieden sind und auch unterschiedliche Bindungsstellen am bakteriellen Ribosom besetzen, existieren für beide Komponenten getrennte Resistenzmechanismen.

Die Resistenz gegenüber der **A-Komponente** beruht bei Enterokokken in der Hauptsache auf einer Azetylierung dieser Substanzen. Die dafür verantwortlichen Enzyme zeigen in der Struktur ihres aktiven Zentrums eine Verwandtschaft zu einer neuen Familie von Chloramphenicol-Azetyltransferasen (s. auch Kap. 2.3.9. „Chloramphenicol“). Die sie kodierenden

Gene wurden zuerst als *satA* (streptogramin acetyltransferase A; RENDE-FOURNIER et al., 1993) und *satG* (streptogramin acetyltransferase G; WERNER und WITTE, 1999) bezeichnet. Aufgrund ihrer strukturellen und funktionellen Ähnlichkeit zu einer bei Staphylokokken vorkommenden Gengruppe, *vat* (virginiamycin factor A acetylation), *vatB* und *vatC*, und zur Vereinfachung der Nomenklatur wurde später *satA* in *vatD* (beziehungsweise VatD für das Enzym) und *satG* in *vatE* (VatE für das Enzym) umbenannt (ROBERTS et al., 1999; WERNER et al., 2000).

Weitere, bei Staphylokokken vorkommende Resistenzgene gegen die Streptogramin-A-Komponente, wie die für einen ATP-abhängigen Auswärtstransport kodierenden Gene *vga* und *vgaB*, sind bei Enterokokken bis jetzt noch nicht beschrieben worden. Trotzdem ist die Existenz weiterer Resistenzmechanismen gegen die A-Komponente bei Enterokokken wahrscheinlich, da *E. faecium*-Stämme isoliert wurden, bei denen trotz phänotypischer Dalfopristin (Komponente A)-Resistenz keine bis dato bekannten Resistenzgene nachgewiesen werden konnten (BOZDOGAN und LECLERCQ, 1999).

Die Resistenz gegenüber der **B-Komponente** beruht neben dem schon bei den Makroliden (Kapitel 2.3.4.) beschriebenen, weitverbreiteten *ermB*-Gencluster, der über eine Methylierung der 23S rRNA eine gleichzeitige Resistenz gegen Makrolide, Lincosamide und Streptogramin B-Komponenten (MLS_B-Phänotyp) hervorruft, auf dem *vgb*-Gen. Dieses Gen, das auch bei Staphylokokken vorkommt, kodiert für ein die Streptogramin B-Komponente hydrolysierendes Enzym (virginiamycin factor B hydrolase; ROBERTS et al., 1999).

Eine alleinige Resistenz gegen die B-Komponente (*ermB* oder *vgb*) bewirkt noch keine Resistenz gegen die Kombination. Erst eine Resistenz gegen die A-Komponente bzw. gegen A und B hat auch eine Resistenz gegen Quinupristin/Dalfopristin zur Folge (RENDE-FOURNIER, 1993; BOZDOGAN und LECLERCQ, 1999).

2.3.8. Lincosamide

Die Resistenz gegen die zu den Lincosamiden gehörenden Antibiotika Lincomycin und Clindamycin ist eine charakteristische Eigenschaft der Enterokokken. Die MHK-Werte für die meisten Stämme liegen zwischen 12,5

und 100 mg/l, einige Stämme können auch eine (erworbene) Hochresistenz mit MHK-Werten >1000 mg/l zeigen (MURRAY, 1990).

Struktur, Wirkungsspektrum und Wirkungstyp

Die Grundstruktur der Lincosamide besteht aus einer schwefelhaltigen Oktose, die an die Aminosäure Prolin gebunden ist. Während Lincomycin die natürliche, von *Streptomyces lincolensis* gewonnene Substanz ist, stellt Clindamycin dessen partialsynthetisches Abwandlungsprodukt dar (MUTSCHLER, 1996). Lincosamide wirken, ähnlich den Makroliden, in erster Linie auf Gram-positive Kokken, Gram-negative Anaerobier und Mykoplasmen. Ihr Wirkungstyp ist bakteriostatisch.

Wirkungsmechanismus

Lincosamide wirken über eine reversible Bindung an die 50S Untereinheit des bakteriellen Ribosomes, ähnlich wie die Makrolide oder Chloramphenicol, hemmend auf die Peptidyltransferase und damit auf die Proteinsynthese.

Resistenzmechanismen der Enterokokken

Neben der bereits erwähnten natürlichen low-level-Resistenz der Enterokokken gegen Lincosamide und dem bei den Makroliden (Kap. 2.3.4.) beschriebenen Makrolid-Lincosamid-Streptogramin B (MLS_B)-Phänotyp sind bei Enterokokken zwei Mechanismen der Resistenz gegen Lincosamide bekannt.

Der eine ist eine **natürliche Eigenschaft von *E. faecalis*** und erstreckt sich über die beiden Antibiotika Clindamycin und Dalfopristin. Die Grundlage ist das *Isa* (lincosamide and streptogramin A resistance)-Gen, welches den bei *Staphylococcus aureus* vorkommenden *vga*- (virginiamycin factor A) und *vgaB*-Genen sehr ähnlich ist. Diese sind ATP-abhängige Transportsysteme für Streptogramin-A-Komponenten, weshalb man annimmt, daß auch das *Isa*-Gen für ein solches Efflux-Protein kodiert. In jedem Fall erklärt dieses Gen die speziesspezifische Resistenz von *E. faecalis* gegen Clindamycin und Quinupristin/Dalfopristin (SINGH et al., 2002).

Der zweite Resistenzmechanismus ist bei ***E. faecium*** beschrieben worden und beruht auf einem zuerst als *linB* (lincosamide inactivation nucleotidylation) bezeichneten Gen. Dieses ist plasmidgebunden und verantwortlich für die

Bildung der Lincosamid-Nukleotidyltransferase. Dieses Enzym katalysiert die Adenylierung einer Hydroxylgruppe in Position 3 der Lincomycin- und Clindamycinmoleküle, wodurch beide Antibiotika ihre Aktivität verlieren (BOZDOGAN et al., 1999). Da die Bezeichnung *lin* bereits für die Gene der Gamma-BHC-Dehydrochlorinase und Cyclohexadien-Hydrolase verwendet wurden, schlugen ROBERTS et al. (1999) eine Umbenennung von *linB* in *InuB* (lincomycin nucleotidyltransferase) vor.

2.3.9. Chloramphenicol

Das ursprünglich aus *Streptomyces venezuelae*, heute aber vollsynthetisch hergestellte Chloramphenicol dient in der Humanmedizin als Reserveantibiotikum zur Therapie von Typhus, Paratyphus und bakterieller Meningitis, sofern keine besser verträglichen Antibiotika zur Verfügung stehen. Als besonders schwerwiegende Nebenwirkung tritt in seltenen Fällen eine möglicherweise allergisch bedingte und zumeist irreversible Störung des gesamten Knochenmarks (Panmyelopathie) auf, die mit Letalitätsraten von 50-60% einhergeht (KROKER, 1991; MUTSCHLER, 1996). Da das Auftreten dieser Panmyelopathie nicht streng dosisabhängig ist und damit keine als unbedenklich zu betrachtenden Rückstandsobergrenzen bei lebensmittelliefernden Tieren festgelegt werden können, ist die Verwendung von Chloramphenicol bei solchen Tieren in der Europäischen Union verboten. Außerhalb der EU wird dieses Antibiotikum unter Umständen noch eingesetzt, so gelangten Ende 2001 27,5 Tonnen mit Chloramphenicol behandelte Shrimps aus Fernost über die Niederlande als Futtermittel nach Deutschland (BMVEL, 2002).

Struktur, Wirkungsspektrum und Wirkungstyp

Chloramphenicol ist chemisch gesehen ein p-Nitrophenyl-dichloracetylaminopropandiol (KROKER, 1991). Das Wirkungsspektrum erstreckt sich über die meisten Gram-positiven und Gram-negativen Bakterien, Leptospiren, Mykoplasmen, Chlamydien und Rickettsien. Von besonderer Bedeutung ist bis heute seine Wirkung gegen *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis* und Typ-B-Streptokokken (Erreger der humanen bakteriellen Meningitis), sowie gegen *Salmonella typhi* und *paratyphi* und Rickettsien (MUTSCHLER, 1996).

Aufgrund der obengenannten Nebenwirkungen und der ungünstigen Resistenzlage ist Chloramphenicol bei Enterokokkeninfektionen nicht das Mittel der Wahl. Der Wirkungstyp ist bakteriostatisch.

Wirkungsmechanismus

Chloramphenicol bindet an die 50S Untereinheit des bakteriellen Ribosomes und hemmt dort die Peptidyltransferase. Die Transpeptidierungsreaktion und damit die Proteinsynthese werden gestört.

Resistenzmechanismen der Enterokokken

Schon 1964 zeigten RAYCROFT und ZIMMERMANN die Übertragbarkeit von Resistenzen bei Enterokokken am Beispiel von Chloramphenicol (zitiert nach MURRAY, 1990). Diese plasmidgebundene Resistenz wirkt über die Enzymgruppe der Chloramphenicol-Azetyltransferasen (CAT), die seit dem schon über vierzig Jahre dauernden Einsatz von Chloramphenicol in Human- und Veterinärmedizin immer noch den Hauptresistenzmechanismus gegen dieses Antibiotikum darstellen. Die Struktur und der Wirkungsmechanismus dieser Enzyme ist inzwischen gut untersucht worden.

Die Enzyme der CAT-Gruppe sind Polypeptide in der Größe von 24-26 kDa, die normalerweise aus drei gleichartigen Untereinheiten zusammengesetzt sind. Von entscheidender Bedeutung ist ein in Position 195 befindlicher Histidinrest, der die C3-Hydroxylgruppe des Chloramphenicols deprotoniert. Daraufhin laufen folgende Reaktionen ab:

1. Chloramphenicol + Azetyl-CoenzymA \rightarrow 3-Azetyl-Chloramphenicol + CoA
 2. 3-Azetyl-Chloramphenicol \leftrightarrow 1-Azetyl-Chloramphenicol
 3. 1-Azetyl-Chloramphenicol + Azetyl-CoA \rightarrow 1,3-Diazetyl-Chloramphenicol + CoA.
- Beide Monoazetyl- und das Diazetylderivat des Chloramphenicols zeigen keine antimikrobielle Aktivität (MURRAY und SHAW, 1997). Die von diesen beiden Autoren zur Gruppe der xenobiotischen Azetyltransferasen (XAT) gerechnete Streptogramin Azetyltransferase A (SatA, jetzt VatD, siehe Kap. 2.3.7. „Streptogramine“) ist nicht in der Lage, Chloramphenicol zu azetylieren (MURRAY und SHAW, 1997).

2.3.10. Sulfonamid-Trimethoprim-Kombinationen

Sulfonamide sind seit langem bekannte Chemotherapeutika. Schon 1935 wurde ein Vertreter dieser Gruppe (Sulfachrysoidin) von DOMAGK in die Therapie eingeführt (MUTSCHLER, 1996). Die synergistische Wirkung von Trimethoprim-Sulfonamid-Kombinationen wurde während der Entwicklung des Trimethoprims in den sechziger Jahren erkannt (BUSHBY und HITCHINGS, 1968).

Struktur, Wirkungsspektrum und Wirkungstyp

Sulfonamide sind Derivate des p-Amino-Benzoe-Sulfonamids (Sulfanilamid). Sie bestehen aus einem Benzolkern mit einer Amino- und einer ihr gegenüberliegenden Sulfonamidgruppe, an die verschiedene, Wirkung und Pharmakokinetik beeinflussende Substituenten gebunden sein können (KROKER, 1991). Trimethoprim ist ein 2,4-Diamino-5-(3,4,5-trimethoxybenzyl)-Pyrimidin.

Sulfonamide haben ein sehr breites, neben zahlreichen Gram-positiven und Gram-negativen Keimen auch Chlamydien und einige Protozoenarten umfassendes Wirkungsspektrum. Der Wirkungstyp ist bakteriostatisch, bei hohen Konzentrationen auch bakterizid.

Durch die Kombination mit Trimethoprim wird das Wirkungsspektrum verbreitert und es tritt bei einem Konzentrationsverhältnis von einem Teil Trimethoprim zu zwanzig Teilen Sulfonamid am Wirkort auch bei niedrigeren Sulfonamidkonzentrationen ein bakterizider Effekt ein (KROKER, 1991). Ob dieser bakterizide Effekt *in vitro* (s.u.) auch bei Enterokokken besteht, ist zweifelhaft (NAJJAR und MURRAY, 1987).

Wirkungsmechanismus

Aufgrund ihrer ähnlichen chemischen Struktur verdrängen Sulfonamide kompetitiv die p-Aminobenzoessäure bei der Synthese der bakteriellen Dihydrofolsäure. Trimethoprim hemmt in niedrigen Konzentrationen spezifisch die bakterielle Dihydrofolsäurereductase, ein Enzym, das die Bildung von Tetrahydrofolsäure aus Dihydrofolsäure katalysiert (MUTSCHLER, 1996). Die Folsäuresynthese wird so auf zwei aufeinanderfolgenden Stufen gehemmt, was den Synergismus (den sogenannten Sequentialeffekt [KROKER, 1991]) zwischen beiden Substanzen begründet.

Tetrahydrofolsäure ist für die Übertragung von Einkohlenstofffragmenten im Rahmen der Synthese von Thymin und Purinen notwendig. Steht sie nicht in ausreichendem Maße zur Verfügung, ist die Bildung dieser Basen und damit der Nukleinsäurestoffwechsel der Bakterienzelle gestört.

Resistenzmechanismen der Enterokokken

Obwohl Trimethoprim-Sulfonamid-Kombinationen *in vitro* eine gute Wirksamkeit gegen Enterokokken besitzen (CRIDER und COLBY, 1985), scheinen diese Keime *in vivo* resistent gegenüber der Kombination zu sein. Dies wurde sowohl im humanmedizinisch-klinischen Bereich (PITFALL, 1984) als auch im Tierversuch (CHENOWETH et al., 1990; GRAYSON et al., 1990) beobachtet.

Die Ursache für die *in vivo*-Resistenz liegt darin, daß Enterokokken in der Lage sind, Folsäure, Thymidin und Thymin aus dem umgebenden Medium (Serum, Urin, etc.) aufzunehmen und dem eigenen Stoffwechsel zuzuführen. So stehen diese Metaboliten unter Umgehung der eigenen Folsäuresynthese dem bakteriellen Nukleinsäurestoffwechsel zur Verfügung (ZERVOS und SCHABERG, 1985). Dieser Effekt ist schon lange bekannt: BUSHBY und HITCHINGS konnten bereits 1968 nachweisen, daß die Supplementierung des Nährmediums mit Folsäure das Wachstum von *E. faecalis* in Anwesenheit von Trimethoprim ermöglicht (siehe dort).

Weiterhin wurde die Existenz eines *dfrF*-Genes bei *E. faecalis* beschrieben, welches auch *in vitro* Hochresistenz gegenüber Trimethoprim mit MHK-Werten über 1024 mg/l bewirkt. Dieses Gen ist erworben und wahrscheinlich im Chromosom lokalisiert. Es ist Grundlage für die Synthese einer trimethoprimresistenten Dihydrofolsäurereduktase (COQUE et al., 1999).

2.3.11. Polypeptidantibiotika

Zu den Polypeptidantibiotika gehören Polymyxin B, Colistin (= Polymyxin E), Tyrothricin und Bacitracin. Alle Substanzen werden sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin therapeutisch eingesetzt, Bacitracin wurde darüber hinaus als Leistungsförderer verwendet.

Um die humanmedizinische Therapie nicht zu gefährden, wurde die Zulassung von Bacitracin als Leistungsförderer in der Europäischen Union zum 01.07.1999 widerrufen, obwohl es in der Humanmedizin nur in wenigen, zur lokalen

Behandlung geeigneten Zubereitungen (Salben, Sprays) im Handel ist (KAMPHUES, 1999; PHILLIPS, 1999).

Struktur, Wirkungsspektrum und Wirkungstyp

Polymyxin B und Colistin sind verzweigte, zyklische Dekapeptide, die als charakteristische Aminosäure α,γ - Diaminobuttersäure enthalten. Durch diese Aminogruppen erhalten die Polymyxine polare und durch endständige Fettsäurereste auch hydrophobe Bereiche, was den Einbau in die bakterielle Zellmembran ermöglicht (KROKER, 1991). Bacitracin ist ein Gemisch von hochmolekularen Polypeptiden, in erster Linie Bacitracin A, B und C (PHILLIPS, 1999). Tyrothricin besteht zu etwa 20% aus Gramicidinen und zu etwa 80% aus Tyrocidinen, bei welchen es sich um monozyklische Dekapeptide handelt (MUTSCHLER, 1996).

Polymyxine wirken nur bei Gram-negativen Erregern, Tyrothricin hauptsächlich auf Gram-positive Bakterien und einige Pilze (KROKER, 1991). Bacitracin wirkt auf Gram-positive und Gram-negative Kokken, *Haemophilus*-Arten, Spirochäten und Amöben (MUTSCHLER, 1996). Alle Polypeptidantibiotika sind bakterizid.

Wirkungsmechanismus

Die Polymyxine und Tyrothricin werden aufgrund ihrer Struktur (s.o.) in die bakterielle Zellmembran eingelagert und verändern deren Permeabilität. Bacitracin bindet und blockiert den Lipidcarrier, der den Peptidoglykanbaustein im Rahmen der bakteriellen Mureinsynthese aus dem Zellinneren durch die Zellmembran nach außen befördert (s. Kap. 2.3.1. „ β -Laktam-Antibiotika“) (PHILLIPS, 1999).

Resistenzmechanismen der Enterokokken

Über konkrete Resistenzmechanismen von Enterokokken gegen die gegen sie wirksamen Polypeptidantibiotika, insbesondere Bacitracin, liegen keine Daten vor (ANONYMUS, 1997; PHILLIPS, 1999).

2.3.12. Flavomycin

Flavomycin (weitere Bezeichnungen sind Bambermycin, Flavophospholipol und Moenomycin) ist in der Europäischen Union als Leistungsförderer in der

Tierernährung bei Geflügel, Schweinen und Masttieren zugelassen (KAMPHUES, 1999), ein Verbot ist allerdings ab Januar 2006 geplant (KOMMISSION DER EUROPÄISCHEN GEMEINSCHAFTEN, 2001). Weder Flavophospholipol noch verwandte Substanzen werden zur Zeit in der human- oder veterinärmedizinischen Therapie eingesetzt (VAN DEN BOGAARD et al., 2002).

Struktur, Wirkungsspektrum und Wirkungstyp

Flavophospholipol ist ein phosphorhaltiges Glykolipid, dessen Lipidanteil (Moenocinol) ein C-25-Strukturanaloges des Undecaprenylphosphates darstellt (VAN DEN BOGAARD et al., 2002). Flavomycin ist hauptsächlich gegen Gram-positive Bakterien wirksam, da es nicht in der Lage ist, die äußere Membran Gram-negativer Bakterien zu durchdringen (VAN DEN BOGAARD et al., 2002). Trotzdem wurde in seltenen Fällen von einer Wirksamkeit gegen Gram-negative Bakterien, wie Salmonellen und *E. coli*, berichtet (ANONYMUS, 1997). Über den Wirkungstyp konnten in der zugänglichen Literatur keine Angaben gefunden werden. Da der Wirkungsmechanismus jedoch dem der β -Laktam-Antibiotika gleicht, wäre eine Bakterizidie proliferierender Keime anzunehmen.

Wirkungsmechanismus

Flavophospholipol hemmt die bakterielle Zellwandsynthese. Es stört als kompetitiver Enzyminhibitor die Transglykosylaseaktivität der Penicillin-bindenden Proteine und damit die Polymerisation der Peptidoglykanbausteine zu Peptidoglykansträngen (s. auch Kap. 2.3.1. „ β -Laktam-Antibiotika“; ANONYMUS, 1997; BUTAYE et al., 2000a).

Resistenzmechanismen der Enterokokken

Über konkrete Resistenzmechanismen gegen Flavomycin konnten keine Hinweise gefunden werden (s. auch ANONYMUS, 1997).

2.3.13. Oligosaccharide

Die beiden bedeutendsten Vertreter der Gruppe der Oligosaccharide sind Avilamycin und Evernimicin. Avilamycin wird in der Europäischen Union ausschließlich als Leistungsförderer bei Schweinen und Geflügel verwendet, ein

Verbot ist hier ab Januar 2006 geplant (KOMMISSION DER EUROPÄISCHEN GEMEINSCHAFTEN, 2001). Ein Einsatz zu therapeutischen Zwecken in Human- oder Veterinärmedizin erfolgte nie (ANONYMUS, 1997). Die Entwicklung des strukturell sehr ähnliche Antibiotikums Evernimicin (SCH 27899) wurde in der Humanmedizin zur Behandlung von Infektionen mit Problemkeimen, wie glykopeptidresistenten Enterokokken oder methicillinresistenten Staphylokokken, begonnen. Bei *E. faecalis* und *E. faecium* geht eine Resistenz gegen Avilamycin auch immer mit einer verminderten Empfindlichkeit gegenüber Evernimicin einher (s.u.). Aus diesem Grund war durch den Einsatz von Avilamycin bei Schweinen und Geflügel ein Reservoir dieser Keime mit reduzierter Empfindlichkeit gegen Evernimicin schon entstanden, bevor die Entwicklung dieses Antibiotikums für den Einsatz beim Menschen abgeschlossen war (AARESTRUP, 1998). Jegliche klinische Weiterentwicklung dieser Substanz wurde von dem verantwortlichen Unternehmen abgebrochen (AARESTRUP und JENSEN, 2000).

Struktur, Wirkungsspektrum und Wirkungstyp

Avilamycin besteht aus einem Gemisch von Oligosacchariden der Orthosomycingruppe, die von *Streptomyces viridochromogenes* gebildet werden (ANONYMUS, 1997). Evernimicin gehört zur Gruppe der von *Micromonospora carbonaceae* produzierten Evernimicin-Antibiotika (MCNICHOLAS et al., 2000). Es besteht ebenfalls aus Orthosomycin-Oligosacchariden und ist strukturell Avilamycin sehr ähnlich (ANONYMUS, 1997). Avilamycin und Evernimicin sind in erster Linie gegen Gram-positive Bakterien wirksam. Besonders hervorzuheben ist die Aktivität von Evernimicin gegen glykopeptidresistente Enterokokken, methicillinresistente *Staphylococcus aureus* und penicillinresistente Streptokokken (AARESTRUP und MCNICHOLAS, 2002).

Wirkungsmechanismus

Evernimicin und Avilamycin besetzen einander überschneidende Bindungsstellen an der 50S Untereinheit des bakteriellen Ribosomes und hemmen dort die Elongationsphase der Translation. Mit hoher Wahrscheinlichkeit binden sie dort an das Protein L16 und interferieren mit

dessen Aufgaben in der Aminoacyl-tRNA-Bindung und als Peptidyltransferase (AARESTRUP und JENSEN, 2000; MCNICHOLAS et al., 2000).

Resistenzmechanismen der Enterokokken

Avilamycinresistenz (MHK >64 mg/l) bei gleichzeitiger **low-level-Resistenz gegen Evernimicin** (MHK <12 mg/l) wird bei *E. faecalis* und *E. faecium* durch Punktmutationen auf dem Gen (*rplP*) hervorgerufen, welches für das ribosomale Protein L16 (s.o.) kodiert. Dieser Resistenzmechanismus ist sehr verbreitet und dürfte mit dem Einsatz von Avilamycin als Leistungsförderer in der Tierernährung in Zusammenhang stehen.

Darüber hinaus wurde bei *E. faecium* **Avilamycinresistenz** bei gleichzeitiger **Hochresistenz gegen Evernimicin** (MHK >256 mg/l) festgestellt. Dieser Resistenztyp wird durch das *emt* (evernimicin methyltransferase) A-Gen hervorgerufen, das für eine rRNA-Methyltransferase (EmtA) kodiert. Dieses Enzym methyliert die 23S rRNA des bakteriellen Ribosomes (offensichtlich eine weitere Bindungsstelle der Oligosaccharide) und reduziert auf diese Weise die Affinität des Evernimicins zur 50S Untereinheit (MANN et al., 2001). Das *emtA*-Gen ist übertragbar, kommt aber nicht sehr häufig vor. So fanden es AARESTRUP und MCNICHOLAS (2002) nur bei vier von 304 avilamycinresistenten *E. faecium*-Isolaten aus Tiermaterial und bei einem von insgesamt 404 menschlichen Stuhlproben isolierten *E. faecium*-Stamm.