

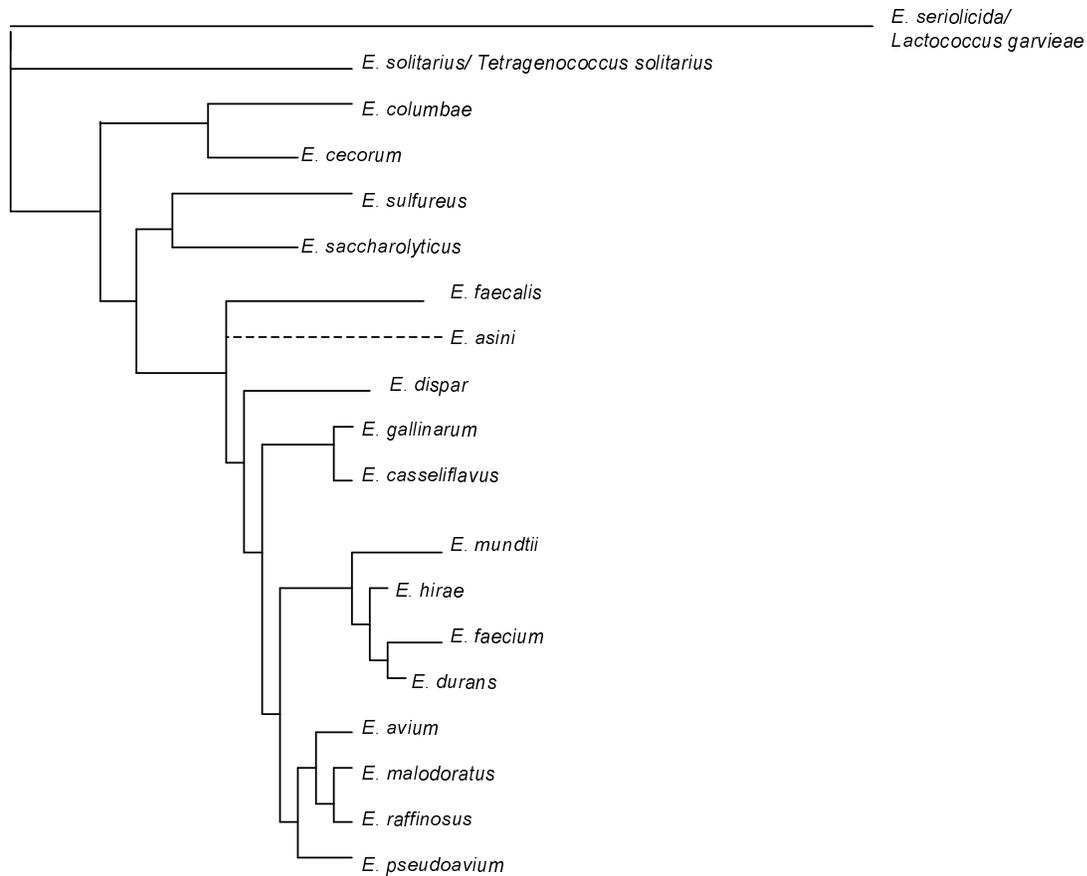
2. Literaturübersicht

2.1 Taxonomie der Enterokokken

Die Bezeichnung *Enterococcus* beruht auf einer Untersuchung von THIERCELIN (1899) sowie THIERCELIN und JOUHAUD (1903), in der er einen neuen grampositiven *Diplococcus* beschrieb und diesen Keim später als *Enterococcus proteiformis* bezeichnete. 1906 wurde der Mikroorganismus von ANDREWS und HORDER aufgrund seiner Eigenschaft, kurze und längere Ketten zu formen, in *Streptococcus faecalis* umbenannt. Erst seit kurzem sind Enterokokken einem eigenen Genus zugeordnet worden. BERGEY'S MANUAL OF DETERMINATIVE BACTERIOLOGY (1994) erwähnte dieses Genus erstmals in der 9. Ausgabe von 1994. Früher wurden sie aufgrund physiologischer und serologischer Eigenschaften dem Typ D-Streptokokken zugerechnet. SCHLEIFER und KILPPER-BÄLZ (1984) belegten mittels DNA-DNA- und DNA-rRNA-Hybridisation die grundsätzlichen Unterschiede zwischen Enterokokken und Streptokokken, weshalb 1984 eine eigene Gattung für Enterokokken eingeführt wurde. Von ihnen wurden als erste Genusmitglieder *Streptococcus (S.) faecalis* und *S. faecium* genannt und somit in *Enterococcus (E.) faecalis* und *E. faecium* umbenannt. *Streptococcus avium* und *S. gallinarum* wurden als nächste aufgrund einer Untersuchung von COLLINS et al. (1984) dem neuen Genus zugeordnet. Insgesamt zählen Enterokokken aber weiterhin in die Gruppe der Milchsäurebakterien gemeinsam mit den Genera *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Tetragenococcus*, *Aerococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Bifidobacterium* und *Carnobacterium*. Zur Zeit gehören 21 Spezies dem Genus *Enterococcus* an. Als letzte Mitglieder wurden *E. asini* (DE VAUX et al., 1998), *E. villorum* (VANGANNEYT et al., 2001), *E. haemoperoxidus* und *E. moraviensis* (SVEC et al., 2001) in das Genus aufgenommen.

Andererseits wurden einige Bakterien nach anfänglicher Eingruppierung unter die Enterokokken wieder aus dem Genus entfernt, wie zum Beispiel *E. solitarius*, der als *Tetragenococcus solitarius* nunmehr zum Genus *Tetragenococcus* gehört oder *Enterococcus seriolicida*, der mit *Lactococcus garvieae* identisch zu sein scheint (TEIXEIRA et al., 1996).

Abbildung 1: Stammbaum der Enterokokken aufgrund von Sequenzhomologiebestimmung von 16S rRNA mit dem Außenseiter *E. seriolicida* als Basis (PATEL et al., 1998)



----- Vermutlich in diesem Zweig des Stammbaumes (DE VAUX et al., 1998)

2.2 Eigenschaften der Enterokokken

Enterokokken sind grampositive, katalase-negative kokkoide Bakterien, die einzeln, paarweise oder kurzkettig mit einer Größe von 0,6 - 2,0 x 0,6 - 2,5 µm auftreten.

Generell besitzen Enterokokken nach DEVRIESE und POT (1995) folgende Eigenschaften:

- Sie bilden keine Endosporen aus.
- Sie sind fakultativ anaerob - *E. columbae* und *E. cecorum* sind anaerob.
- Sie sind bis auf drei Spezies, *E. casseliflavus*, *E. flavescens* und *E. gallinarum*, unbeweglich.
- Folgende Spezies bilden gelbes Pigment: *E. mundtii*, *E. sulfureus*, *E. flavescens* und *E. casseliflavus*.

- Sie besitzen das Lancefield Gruppe D- Antigen - den Spezies *E. cecorum*, *E. columbae*, *E. dispar* und *E. saccharolyticus* fehlt es.
- Sie wachsen in Gegenwart von 6,5 % Kochsalz - *E. cecorum*, *E. columbae*, *E. avium* und Mitglieder der *E. avium*-Gruppe vermehren sich nicht in der Gegenwart von 6,5 % Kochsalz.
- Sie wachsen bis zu einem pH-Wert von 9,6 - schwach wächst bei diesem pH-Wert lediglich *E. cecorum*.
- Sie vermehren sich bei 10°C und 45°C - *E. dispar* und *E. sulfureus* wachsen nicht bei 45°C, während *E. cecorum* und *E. columbae* nicht bei 10°C wachsen.
- Sie besitzen eine Pyrrolidonylarylamidase - *E. saccharolyticus*, *E. cecorum* und *E. columbae* fehlt dieses Enzym.
- Sie zeigen eine Galletoleranz bis zu 40 %.
- Sie führen zu einer positiven Voges-Proskauer-Reaktion - *E. saccharolyticus* zeigt diese Reaktion nicht.
- Ihr Metabolismus ist fermentativ. Sie haben eine homofermentative Milchsäureproduktion und sie bilden als vorherrschendes Endprodukt der Glucoseverdauung Milchsäure.
- Sie können Ribose verstoffwechseln.
- Sie benötigen zum Wachstum nährstoffreiche Medien mit verschiedenen Vitaminen, Biotin, Pyridoxin, Riboflavin, Nicotinat, Panthothensäure und einigen Aminosäuren.

Vorkommen und Bedeutung

Enterokokken sind Bewohner sowohl des Dünndarms als auch des Dickdarms von Mensch und Tier. Sie bewohnen weiterhin auch den Urogenitaltrakt; 17 % der vaginalen Routineproben enthalten Enterokokken. Ihr Vorkommen konnte im Boden, im Lebensmittel, im Wasser, in Insekten und auf Pflanzen nachgewiesen werden (DEVRIESE et al., 1992a; DUTKA und KWAN, 1978; KIBBEY et al., 1978; MUNDT et al., 1967). Auf trockenen Oberflächen können sie lange überleben, speziell für *E. faecium* ist eine Überlebensdauer von über 90 Tage beschrieben (NEELY und MALEY, 2000).

Humanmedizinische Relevanz besitzen Enterokokken als Erreger von nosokomialen Infektionen. Sie sind mittlerweile Verursacher von einem Drittel der nosokomialen Infektionen in den USA (IWEN et al. 1997). In Deutschland stehen sie laut der NIPED-Studie sogar an zweiter Stelle. Enterokokken stellen somit für immungeschwächte Patienten in Krankenhäusern ein erhebliches Risiko dar. Als Erreger von Endokarditiden mit Befall der Aorten- und Mitralklappe verursachen sie 5 – 15 % der bakteriellen Endokarditiden. Sie führen zu oftmals tödlichen Bakteriämien nach Infektionen im Urogenitaltrakt, von Wunden und Bauchfellentzündungen. Die Keime können auch bei Neugeborenen Bakteriämien verursachen (LUGINBUHL et al., 1987) und Infektionen des Zentralen Nervensystems auslösen.

Aber auch positive Wirkungen auf den Organismus werden den Enterokokken zugeschrieben. So werden mehrere *E. faecium*-Stämme (zum Beispiel: SF68, BR88, NCIMB 40371, M74) mittlerweile als Probiotika bei Mensch und Tier eingesetzt und zwar mit Konzentrationen in einer Höhe von $0,5 \times 10^9$ KbE pro kg Futter. Probiotika dienen dem Zweck im positiven Sinne regulativ in die Besiedlung des Darmes mit Mikroorganismen und in die Stabilisierung der vorhandenen Flora einzugreifen. Diese mikrobiellen Zusatzstoffe reduzieren die Lactose-Intoleranz, verhindern antibiotikainduzierte Diarrhoe, verringern das Darmkrebsrisiko und stimulieren das Immunsystem.

Bei Lebensmittelhygienikern galten die Enterokokken bisher lediglich als Indikatorkeime für eine Fäkalverunreinigung und als ein Hinweis auf die Qualität von Reinigungsmaßnahmen. KNUDTSON und HARTMANN (1993) schlugen Enterokokkenkeimzahlen als nützliche Indikatoren für die Hygiene des Schlachtprozesses bei Schweinen und zur Festlegung von Critical Control Points im Rahmen von HACCP-Konzepten vor. Sie gelten auch als Indikator für fäkale Verunreinigungen von Trinkwasser.

Andererseits sind Enterokokken in einigen biologisch gereiften Lebensmitteln erwünscht. Sie finden Einsatz als Starterkulturen für Milchprodukte, wie zur Herstellung von Käse, Sauerrahmbutter und Sauermilcherzeugnissen. Als Milchsäurebakterien werden sie zur normalen Reifungsflora von Käse gerechnet. Sie produzieren im Käse typische Geschmackskomponenten, wie Acetaldehyde, Acetoin und Diacetyl (TROVATELLI und SCHIESSER, 1987; CENTENO et al., 1996). Außer den proteolytischen Eigenschaften, die für die Reifung benötigt werden, können sie mit Hilfe ihrer Esterasen Milchfett gut hydrolysieren. TEUBER et al. (1996) konnten Enterokokkenkeimkonzentrationen in verschiedenen Käsesorten von 10^4 - 10^7 KbE/g nachweisen, wobei die Werte beim Käse je nach Sorte, Reifungszeit und Jahreszeit variieren.

Auch als Starterkulturen für die Rohwurstherstellung finden Enterokokken Verwendung. LEVETZOW (1972) stellte fest, daß die Enterokokken zur normalen Flora von Frischfleisch sowie von gepökelten, gereiften und geräucherten Fleischerzeugnissen gehören. Enterokokken konnten von TEUBER et al. (1996) in Salami und Landjägern mit Keimzahlen von 10^2 - $2,6 \times 10^5$ KbE/g nachgewiesen werden.

Generell kommen Enterokokken in Käse, Käsefleischkombinationen, Fleisch, Fleischprodukten, Fisch und Schalentieren vor (DEVRIESE et al., 1995). Ihre Rolle im Rahmen von Lebensmittelinfektionen ist noch nicht abschließend geklärt.

Im veterinärmedizinisch-klinischen Bereich besitzen Enterokokken als Krankheitserreger nur geringe Bedeutung. Sie scheinen eine Rolle bei der bovinen Mastitis zu spielen, denn

JAYARAO und OLIVER (1992) konnten *E. faecalis* und *E. faecium* bei Euterentzündungen nachweisen. Weiterhin rufen sie Endometritis, amyloide Arthropathie beim Geflügel und Urogenitalinfektionen von Sauen hervor.

Auch für Untersuchungen der Empfindlichkeit von Bakterien auf Antibiotika werden Enterokokken herangezogen. Sie sind als Darmbewohner dem selektiven Druck der verschiedensten Antibiotika auf die Darmflora ausgesetzt und gelten deshalb neben *E. coli* als Indikatorbakterien für Antibiotikaresistenzen.

Vorkommen von *Enterococcus faecalis*

Enterococcus faecalis ist die dominierende Enterokokkenspezies im menschlichen Darm, gefolgt von *E. faecium* (MURRAY, 1990). RUOFF et al. (1990) konnten ein Verhältnis bei klinischen Isolaten von 87,7 % *E. faecalis* zu 8,6 % *E. faecium* nachweisen. NOBLE (1978) ermittelte eine durchschnittliche Zahl von $10^5 - 10^7$ KbE *E. faecalis*/g. Nach einer Untersuchung von MEAD (1978) herrschte allerdings *E. faecium* vor. Bei Tieren scheint das Vorkommen von *E. faecalis* altersabhängig zu sein. So trat diese Spezies bei Eintagsküken im Blinddarm zu 64 % auf, in einem Alter von 3 - 4 Wochen war sie nicht mehr nachweisbar und nach 12 Wochen machte sie 4 % der isolierten Enterokokken und Streptokokken aus (DEVRIESE et al., 1991). Bei präruminierenden Kälbern bildete *E. faecalis* die häufigste Enterokokkenspezies, während die Prävalenz schon bei ruminierenden Kälbern von 48 % auf 7 % abgesunken ist und bei Milchkühen nur noch mit einer Häufigkeit von 2 % auftrat (DEVRIESE et al., 1992a). Im Darm von Schweinen unterschiedlichen Alters konnte *E. faecalis* als häufigste Enterokokkenspezies nachgewiesen werden, während er nur selten auf den Mandeln und noch vereinzelt im Kot nachweisbar war (DEVRIESE et al., 1994).

Eine Studie über die Verteilung von Enterokokken in Lebensmitteln tierischen Ursprungs (DEVRIESE et al., 1995) ergab, daß *E. faecalis* häufig aus Schalentieren und aus Fleischprodukten isoliert wird. BERTRAND et al. (2000) wies *E. faecalis* in französischen Rohmilchkäsen, die ohne den Zusatz von Enterokokken als Starterkultur erzeugt worden waren, in einer Höhe von $1,5 \times 10^3 - 1,6 \times 10^5$ KbE/g nach.

Vorkommen von *E. faecium*

E. faecium kommt regelmäßig im Gastro-Intestinaltrakt des Menschen vor. Auch im Darm von 3 - 4 Wochen alten Küken dominierte *E. faecium* (DEVRIESE et al., 1991), während bei Eintagsküken *E. faecalis* noch gleich häufig auftrat. Bei Masthähnchen im Alter von 12 Wochen besaß *E. faecium* einen Anteil von 12 % der im Blinddarm isolierten Enterokokken und Streptokokken. Der Keim ließ sich bei präruminierenden Kälbern nachweisen, während er bei ruminierenden Kälbern und Milchkühen nicht mehr nachweisbar

war (DEVRIESE et al., 1992a). Aus oralen Tupfern vom Hund isolierte *E. faecium*-Stämme zeigten nach DEVRIESE et al. (1992b) die Besonderheit, daß sie Sorbitol fermentieren konnten, obwohl diese positive Reaktion bei *E. faecium*-Stämmen sonst nicht zu verzeichnen ist. Bei Hund und Katze erreichte *E. faecium* einen Anteil von ca. 15 % an den isolierten Enterokokkenstämmen. Bei Schweinen bildet *E. faecium* die im Kot vorherrschende Enterokokkenspezies, ließ sich aber auch von den Mandeln und aus dem Darm isolieren (DEVRIESE et al., 1994). *E. faecium*-Stämme fanden sich in Hartkäse und Käse-Fleischkombinationen sowie Fleischprodukten (DEVRIESE et al., 1995).

Vorkommen von *E. durans*

E. durans wurde erstmals aus Milch und Molkereiprodukten angezüchtet (SHERMAN und WING, 1937). Auch aus Fleischprodukten konnte *E. durans* isoliert werden (DEVRIESE et al., 1995; LEMCKE und BÜLTE, 2000). Im Darm von präruminierenden Kälbern (DEVRIESE et al., 1992a) und bei jungen Hühnern (DEVRIESE et al., 1991) war er nur in geringer Menge nachzuweisen. Auch aus menschlichem Infektionsmaterial konnte *E. durans* isoliert werden (IWEN et al., 1997).

Vorkommen von *E. hirae*

E. hirae fand sich im Darm von Schweinen (DEVRIESE et al., 1994) sowie von Rindern aller Altersgruppen (DEVRIESE et al., 1992a) und in menschlichem Infektionsmaterial (IWEN et al., 1997). Bei 3 - 4 Wochen alten Hühnern kam er als zweithäufigste Enterokokkenspezies vor (DEVRIESE et al., 1991). Auch in Käse und Fleischprodukten konnte er festgestellt werden (DEVRIESE et al., 1995; LEMCKE und BÜLTE, 2000).

Vorkommen von *E. casseliflavus*

E. casseliflavus wurde ursprünglich als pflanzenassoziiert beschrieben. Später konnte er darüber hinaus aus menschlichem Infektionsmaterial und Stuhl isoliert werden (IWEN et al., 1997; DUTKA-MALEN et al., 1994). In Hackfleischproben war er ebenfalls nachweisbar (DAZO, 1996; KLEIN et al., 1998; LEMCKE und BÜLTE, 2000).

Vorkommen von *E. gallinarum*

E. gallinarum wurde seinem Speziesnamen gemäß zuerst im Geflügel nachgewiesen (BRIDGE und SNEATH, 1982). DEVRIESE et al. (1991) vermochten allerdings nur einige wenige Stämme aus Hühnern zu isolieren. Die Spezies kommt auch in Produkten, die Pute enthalten (DEVRIESE et al., 1995), sowie in Hackfleisch (KLEIN et al., 1998; LEMCKE und BÜLTE, 2000) vor. Auch aus menschlichem Infektionsmaterial und Stuhlproben konnte *E. gallinarum* isoliert werden (IWEN et al., 1997; DUKTA-MALEN et al., 1994).

2.3 Verfahren zur Prüfung der Empfindlichkeit gegenüber Antibiotika bei Enterokokken

Die Prüfung der Empfindlichkeit der Bakterien gegenüber Antibiotika wird durchgeführt, um die Empfindlichkeit eines bestimmten Bakterienstammes gegenüber einem oder mehreren Antibiotika zu charakterisieren und daraus therapeutische Hinweise zur Behandlung der durch diese Erreger verursachten Erkrankung zu finden.

Für die Untersuchung der in-vitro-Empfindlichkeit von Bakterien gegenüber verschiedenen Antibiotika gibt es im wesentlichen 4 standardisierte Verfahren:

- Agardiffusion
- Agardilution
- Mikrodilution
- Makrodilution.

Die Agardiffusion ist das älteste Verfahren und als „Plättchentest“ bekannt. Es werden auf einem hemmstofffreien Nährboden die zu untersuchenden Bakterien in bestimmter Menge aufgetragen und ein antibiotikahaltiges Plättchen aufgelegt. Nach der Bebrütung entsteht ein Hemmhof, dessen Durchmesser zur Ermittlung der bakteriellen Empfindlichkeit herangezogen wird. Dieser Hemmhofdurchmesser (HHD) kann in Korrelation zur minimalen Hemmkonzentration (MHK) gesetzt werden, die bei den anderen drei Verfahren direkt ermittelt wird. Die minimale Hemmkonzentration ist laut DIN 58940 definiert als die niedrigste Konzentration eines Antibiotikums (angegeben in $\mu\text{g/ml}$ bzw. mg/l), bei der unter definierten in-vitro-Bedingungen die Vermehrung von Bakterien innerhalb einer festgelegten Zeitspanne verhindert wird.

Bei der Agardilutionsmethode wird das Antibiotikum in geometrisch abgestuften Konzentrationen in das Nährmedium noch vor dem Erstarren des Agars eingemischt und die Erreger punktförmig auf den antibiotikahaltigen Nährboden aufgetragen und bebrütet. Am fehlenden Koloniewachstum des Erregers auf den Nährböden wird die Konzentrationsstufe des Antibiotikums ermittelt, bei welcher der MHK-Wert liegt.

Die beiden Flüssigdilutionsmethoden unterscheiden sich voneinander durch das eingesetzte antibiotikahaltige Bouillonvolumen, nämlich die Makrodilution mit einem Bouillonvolumen von $\geq 2 \text{ ml}$ in Röhrchen und die Mikrodilution mit einem Volumen von $\leq 500 \mu\text{l}$ in Mikrotiterplatten. Bei der Flüssigdilutionsmethode enthält die Bouillon in geometrischen Abstufungen unterschiedliche Konzentrationen des Antibiotikums bei gleichbleibendem Volumen der Bouillon und definierter Erregereinsaat. Diese Erregereinsaat wird als Inokulum bezeichnet

und ist eine auf ein Volumen berechnete Anzahl vermehrungsfähiger Mikroorganismen aus einer Keimsuspension.

Seit geraumer Zeit wird an der Standardisierung der oben genannten vier Empfindlichkeitsprüfungsverfahren gearbeitet. In Deutschland hat das deutsche Institut für Normung (DIN) hierzu DIN-Normen verabschiedet. Auch in vielen anderen Ländern wurden Normen formuliert, so hat zum Beispiel das NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS) in den USA sehr detaillierte Vorschriften zur Empfindlichkeitsprüfung entwickelt. Zum einen sind in diesen Normen Ausführungsanweisungen enthalten, zum anderen Definitionen für Einteilung der Empfindlichkeit der Bakterien in antibiotikaresistent oder sensibel für die jeweiligen Antibiotika. Die in diesen Normen aufgeführten Antibiotika sind zu großen Teilen Testsubstanzen, die für eine ganze Gruppe von Antibiotika aus ähnlichen chemischen Verbindungen mit gleichem Wirkungsspektrum stehen und gegen die die Erreger eine Kreuzresistenz besitzen können.

Laut DIN 58940 wird ein Erreger als sensibel eingestuft, wenn die für ein entsprechendes Antibiotikum ermittelte minimale Hemmkonzentration (MHK) so gering ist (kleiner oder gleich einer geeignet gewählten Grenzkonzentration), daß bei einer Therapie mit der üblichen Dosierung und bei einer geeigneten Indikation im allgemeinen ein Therapieerfolg zu erwarten steht. Als intermediär werden Bakterien eingestuft, wenn der für ein entsprechendes Antibiotikum ermittelte MHK-Wert in einem Bereich liegt (zwischen zwei Grenzkonzentrationen), für den ohne zusätzliche Berücksichtigung weiterer Kriterien keine Beurteilung hinsichtlich des zu erwartenden Therapieerfolges möglich ist. Der Erreger gilt als antibiotikaresistent, wenn der für ein entsprechendes Antibiotikum ermittelte MHK-Wert so hoch ist (über einer Grenzkonzentration liegt), daß auch bei Verwendung der zugelassenen Höchstdosierung ein therapeutischer Erfolg ausbleibt.

Tabelle 1: Bewertungstabelle für die Empfindlichkeit der Enterokokken gegen bestimmte Antibiotika nach DIN 58940 Teil 4 Beiblatt 1 Januar 2000; NCCLS M7-A5 January 2000 Table 2D und NCCLS M31-A June 1999 Table 2

Antibiotika µg/ml	DIN			NCCLS			NCCLS-A		
	S ≤	I	R ≥	S ≤	I	R ≥	S ≤	I	R ≥
Penicillin	0,125	0,25-1	2	8	./.	16	8	./.	16
Ampicillin	2	4-8	16	8	./.	16	8	./.	16
Amoxicillin	1	2	4	8	./.	16	8/4	16/8	8/4
Enrofloxacin	./.	./.	./.	1	2	4	0,25	0,5-1	2
Gentamicin	1	2-4	8	./.	./.	./.	4	8	16
Tetracyclin	1	2-4	8	4	8	16	4	8	16
Erythromycin	1	2-4	8	0,5	1-4	8	0,5	1-4	8
TMP/ Sulfamethoxazol	16	32-64	128	./.	./.	./.	2/38	./.	4/76
Chloramphenicol	8	./.	16	8	16	32	8	16	32
Vancomycin	4	8	16	4	8-16	32	4	8-16	32
Teicoplanin	./.	./.	./.	8	16	32	./.	./.	./.
Quinupristin/ Dalfopristin	./.	./.	./.	1	2	4	./.	./.	./.
Tiamulin	./.	./.	./.	./.	./.	./.	8	./.	16

S = sensibel, I = intermediär, R = antibiotikaresistent, ./. = keine Angaben

Ursprünglich wurden Grenzwerte ausschließlich für therapeutische Fragestellungen der Humanmedizin festgelegt. Dies geschah nach verbindlichen Richtlinien (Tabelle 1), wie DIN 58940, Teil 10, (1998) oder NCCLS, M23-A, (1994). Da sich Mensch und Tier sowohl im Erregerspektrum als auch hinsichtlich der Verteilung und dem Stoffwechsel von Antibiotika im Körper unterscheiden, ist eine Übertragung der aus der Humanmedizin stammenden Grenzwerte in die Veterinärmedizin nicht ungeprüft möglich. Seit kurzem liegen Richtlinien (Tabelle 1) zur Festlegung von veterinärmedizinischen Grenzwerten vor (NCCLS, M37-A, 1999). Nach diesen Richtlinien müssen die Grenzwerte für die Veterinärmedizin erst erarbeitet werden, einige sind allerdings schon aus der Humanmedizin übernommen worden. Solange noch nicht für alle veterinärmedizinischen Antibiotika Grenzwerte vorliegen, bleibt nur der Bezug zu den humanmedizinischen Vorgaben sowie zu den im Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Program (DANMAP) angewandten Grenzwerten.

Bei DANMAP wurden für Antibiotika, für die keine klinischen Interpretationsdaten festgelegt waren, epidemiologische Informationen für die Bakterienspezies eingeholt und daraus epidemiologische Grenzwerte abgeleitet. Nach DANMAP werden diejenigen Isolate als

antibiotikaresistent betrachtet, deren MHK-Werte deutlich höher als die anderer Isolate derselben Bakterienspezies ausfallen.

Nach TROLLDENIER (1999) sollte auf die in der Humanmedizin gebräuchlichen Grenzwerte, nämlich von sensibel zu intermediär und intermediär zu antibiotikaresistent, in der Veterinärmedizin verzichtet und lediglich die Beurteilung sensibel und antibiotikaresistent angewandt werden.

Um die Empfindlichkeit von Bakterien gegen ein bestimmtes Antibiotikum darzustellen, empfiehlt sich die Auflistung der bisher bekannten MHK-Werte gegen dieses Antibiotikum für eine Bakterienspezies. Die daraus resultierenden Verteilungen variieren von Population zu Population. So gibt es unimodale Verteilungen, bei der sämtliche MHK-Werte in einem engen Bereich nahe beieinanderliegen. Andere Verteilung einer Population sind bimodal mit einem definierten Cluster von antibiotikaresistenten Stämmen mit hohen MHK-Werten und einen zweiten Cluster von empfindlichen Stämmen mit niedrigen MHK-Werten. Zwischen diesen beiden Clustern befinden sich manchmal nur wenige Stämme, während bei anderen bimodalen Populationen mehrere Stämme dazwischen liegen können.

TROLLDENIER (1999) weist weiterhin auf die Möglichkeit einer besseren Charakterisierung einer Bakterienpopulation anhand von Perzentilen wie dem MHK_{50} (MHK-Grenzwert von den unteren 50 % der getesteten Stämme) und MHK_{90} (MHK-Grenzwert von 90 % der getesteten Stämme) hin. Liegen der MHK_{50} - und der MHK_{90} -Wert eng beieinander, so ist kaum ein Resistenzanstieg in der Population zu verzeichnen. Dagegen deutet eine weite Spanne zwischen den MHK_{50} - und MHK_{90} -Wert auf einen Resistenzanstieg in der Population hin.

Ermittelte Resistenzdaten können in Datenpools aufgenommen werden, die sich bei Standardisierung der Prüfverfahren zu Verlaufsuntersuchungen über Antibiotikaresistenzentwicklungen nutzen lassen.

In der Tabelle 2 findet sich eine Aufstellung derjenigen Wirkstoffe, auf welche die Enterokokken in der vorliegenden Studie untersucht wurden. Sie wurden unterteilt in Leistungsförderer und Therapeutika. Leistungsförderer sind Futterzusatzstoffe, die bei klinisch gesunden Tieren und bei ausreichender Versorgung mit allen lebensnotwendigen Stoffen die Leistungen verbessern und darüber hinaus eine gesundheitsprophylaktische Wirkung besitzen. Ihre Anwendung steigert somit die Effizienz der Tierproduktion. Im engeren Sinne gelten sie als Leistungsförderer antibiotischer Futterzusatzstoffe, die nach Anlage 3 der Futtermittelverordnung zugelassen sind. Antimikrobielle Leistungsförderer werden seit circa 50 Jahren in der Tierproduktion eingesetzt. In letzter Zeit wurden einer

Reihe von Leistungsförderer die Zulassung als Futtermittelzusatzstoffe entzogen, nämlich Avoparcin, Bacitracin, Spiramycin, Tylosin und Virginiamycin. Die Gruppe der Therapeutika sind Antibiotika, die zur klinischen Behandlung in der Veterinärmedizin eingesetzt werden.

Tabelle 2 : Aufstellung der Wirkstoffe nach FORTH et al. (1992), SCHADEWINKEL-SCHERKL und SCHERKL (1995), LÖSCHER et al. (1994), ESTLER (1992), LORIAN (1996), GREKO (1999)

Wirkstoffgruppe	Substanz	Beispiele anderer Substanzen der gleichen Gruppe	Wirkungsweise	bekannter Resistenzmechanismus	bekannte genetische Anlage der Resistenz	Kreuzresistenzen (zu anderen Substanzen als denen aus derselben Gruppe)	Spektrum	Wirktyp	Zulassung
Leistungsförderer									
Glykopeptide	Avoparcin Ardacin	Vancomycin Teicoplanin Daptomycin	Behinderung der Zellwandsynthese durch Verhinderung der Transglykosilierung	Veränderung des Rezeptors (Peptidoglykan)	Van-Gene	keine Information	grampos.	bakteriostatisch	Masthühner Ferkel, Schweine, Kälber, Mastrinder
Ionophore	Monensin Salinomycin	andere Ionophore	Disaggregation der zytoplasmatischen Membran			keine Information	grampos. & Anaerobier	bakterizid	Mastrinder Ferkel, Schwein
Makrolide	Tylosin Spiramycin	Erythromycin Azithromycin, Clarithromycin	Inhibition der Proteinsynthese bei Behinderung des Ribosoms	Modifikation des Bindungsstelle (Methylation der 23S rRNA), Inaktivierung der Makrolide, aktiver Efflux	erm-Gene Punktmutation MLSB	Lincosamide Streptogramine	grampos. & Mycoplasmen	bakteriostatisch	Ferkel, Schweine Masthähnchen Kälber, Ferkel,
Orthosomycine	Avilamycin	Everninomycin	Inhibition der Proteinsynthese durch Behinderung der Elongation		3 mögliche Mutationen des Gens für das ribosomale Protein L16	keine Information	grampos.	bakterizid	Ferkel, Schweine
Phosphoglycolipide	Flavomycin (Bambermycin, Flavophospholipol, Moenemycin)		Behinderung der Zellwandsynthese durch Verhinderung der Transglykosilierung			keine Informationen	grampos. & Pasteurellen & Brucellen	bakteriostatisch	Legehennen Masthähnchen Ferkel, Schweine, Kälber, Mastrinder
Polypeptide	Bacitracin		Behinderung der Zellwandsynthese durch Verhinderung der Transpeptidierung	Aktiver Efflux, Modifikation der Bindungsstelle (IPP), Reduzierung der Permeabilität	bcr-Gene, bacA	keine Informationen	grampos.	bakterizid	Legehennen, Masthähnchen Ferkel, Schweine, Kälber

Tabelle 2 : Aufstellung der Wirkstoffe nach FORTH et al. (1992), SCHADEWINKEL-SCHERKL und SCHERKL (1995), LÖSCHER et al. (1994), ESTLER (1992), LORIAN (1996), GREKO (1999)

Wirkstoffgruppe	Substanz	Beispiele anderer Substanzen der gleichen Gruppe	Wirkungsweise	bekannter Resistenzmechanismus	bekannte genetische Anlage der Resistenz	Kreuzresistenzen (zu anderen Substanzen als denen aus derselben Gruppe)	Spektrum	Wirktyp	Zulassung
Leistungsförderer									
Streptogramine	Virginiamycin	Pristinamycin, Quinupristindalfopristin	Inhibition der Proteinsynthese durch Behinderung des Ribosoms	Modifikation des Bindungsstelle (Methylierung der 23S rRNA), Inaktivierung der Streptogramine aktiver Efflux	erm, sat, vat, vga, sbh-Gene	Makrolide Lincosamide	grampos.	bakteriostatisch bakterizid	Masthähnchen Ferkel, Schweine, Kälber, Mastrinder
Therapeutika									
Aminoglykoside	Gentamicin Streptomycin	Apramycin Kanamycin Neomycin Spectinomycin Dihydrostreptomycin	Inhibition der Proteinsynthese durch Bindung an die 30S-Untereinheit der Ribosomen	sterische Behinderung, enzymatische Modifikation durch Adenylyl-, Phospho- und Nucleotidyltransferasen	AAC, APH, ANT	keine Information	gramneg. & z. T. grampos.	bakterizid	Rind, Schwein, Geflügel
Amphenicole	Chloramphenicol	Florfenicol	Hemmung der Peptidyltransferasenaktivität durch Bindung an die 50S-UE der 70S Ribosomen	enzymatische Modifikation durch Acetyltransferasen	CAT	keine Information	grampos. & gramneg.	bakteriostatisch	nicht für lebensmittel-liefernden Tiere
Beta-Lactame Penicilline	Ampicillin Clavulansäure Benzylpenicillin	Aminopenicilline Amoxicillin Cloxacillin Oxacillin	Hemmung der Zellwandsynthese durch Blockierung der Mureintranspeptidase	direkte Inaktivierung durch β -Lactamaseproduktion, Modifikation des PB-Proteins, Impermeabilität, Modifikation der Zellwandsynthese	PBP 1-6 bla-Plasmid	keine Information	grampos.	bakterizid	Rind, Schwein, Geflügel
Chinolone	Enrofloxacin	Danofloxacin Difloxacin Marbofloxacin Orbifloxacin Ciprofloxacin	Hemmung der DNA-Gyrase	Mutation der DNA-Gyrase, Veränderung der Permeabilität	gyrA, gyrB, norA	keine Information	grampos. & gramneg. & Mykoplasmen	bakterizid bakteriostatisch	Rind, Schwein, Geflügel

Tabelle 2 : Aufstellung der Wirkstoffe nach FORTH et al. (1992), SCHADEWINKEL-SCHERKL und SCHERKL (1995), LÖSCHER et al. (1994), ESTLER (1992), LORIAN (1996), GREKO (1999)

Wirkstoffgruppe	Substanz	Beispiele anderer Substanzen der gleichen Gruppe	Wirkungsweise	bekannter Resistenzmechanismus	bekannte genetische Anlage der Resistenz	Kreuzresistenzen (zu anderen Substanzen als denen aus derselben Gruppe)	Spektrum	Wirktyp	Zulassung
Therapeutika Makrolide	Erythromycin Spiramycin Tylosin	Tilmicosin Oleandomycin	Inhibition der Proteinsynthese bei Behinderung des Ribosoms	Modifikation des Bindungsstelle(Methylierung der 23S rRNA), Inaktivierung der Makrolide aktiver Efflux	erm-Gene Punktmutation MLSB	Lincosamide Streptogramine	grampos. & Pasteurellen & Mykoplasmen	bakteriostatisch	Rind, Schwein, Geflügel
Pleuromutiline	Tiamulin Valnemulin		50S Untereinheit der Ribosomen			keine Information	grampos. & Mykoplasmen	bakteriostatisch	Schwein, Legehennen
Sulfonamide Kombination mit Trimethoprim	Sulfadiazin Sulfadoxin Sulfadimidin		Synthesehemmung der bakteriellen Folsäure, Hemmung der Reduktion der Dihydro-Folsäure, Hemmung der Nucleinsäuresynthese	Bildung eines kompetitiven Antagonisten Veränderung der Dihydropterinsäure-Synthetase		keine Information	grampos. & gramneg.	bakteriostatisch, bakterizid	Rind, Schwein, Geflügel
Tetracycline	Tetracyclin	Chlortetracyclin, Oxytetracyclin, Doxycyclin	Hemmung der Proteinsynthese durch Bindung an die 50S Untereinheit der 70 S-Ribosomen	Ribosomale Schutzproteine, enzymatische Modifikation, aktiver Efflux	tetA-F, tetK, tetL tetM, tetN, tetO tet X tet P,G,N	keine Information	grampos. & gramneg. & Mykoplasmen & Chlamydien	bakteriostatisch	Rind, Schwein, Geflügel

2.4 Antibiotikaresistenzen von Enterokokken

Man unterscheidet zwischen natürlicher Antibiotikaresistenz und erworbener Antibiotikaresistenz von Bakterien. Die natürliche Resistenz stellt die angeborene, stets vorhandene Unempfindlichkeit sämtlicher Stämme einer Erregerart gegenüber einem Antibiotikum dar. Die vorherrschende Ausprägung der natürlichen (intrinsischen) Resistenz wird durch die Form und Beschaffenheit der Zellwand vermittelt. Diese Barriere verhindert das Eindringen des Antibiotikums in die Erregerzelle.

Die erworbene Resistenz gegen ein Antibiotikum besteht in einer Adaption des Erregers unter biochemischem Streß. Die Information hierzu wird bewahrt und kann an andere Bakterien weitergegeben werden. Im wesentlichen geschieht diese Adaption in Form von chromosomalen Mutationen und DNA-Transfer. Die Beurteilung, ob eine Resistenz gegen ein Chemotherapeutikum natürlich oder erworben ist, läßt sich nach BAGER et al. (1999) aufgrund der Verteilung der Empfindlichkeit in der Bakterienpopulation erfolgen. Handelt es sich um eine bimodale Verteilung der MHK-Werte, dann wäre ein Teil der Stämme als resistent anzusehen, während der andere Teil empfindlich ist, weshalb es sich im Falle der bimodalen Verteilung um eine erworbene Resistenz handelt. Zeigen die MHK-Werte der Bakterienspezies eine unimodale Verteilung auf einem Niveau, welches als resistent eingestuft wird (DUTTA und DEVRIESE, 1984), besteht eine natürliche Resistenz. Enterokokken besitzen eine Vielzahl natürlicher Antibiotikaresistenzen. Zusätzlich dazu sind sie in der bemerkenswerten Lage, in kurzer Zeit neue Resistenzen zu erwerben. Tabelle 3 stellt die Antibiotikaresistenz des Enterokokkengenus dar und Tabelle 4 beinhaltet die natürlichen Antibiotikaresistenzen einiger Enterokokkenspezies.

Tabelle 3 : Übersicht von Resistenzen und Empfindlichkeiten von Enterokokken gegenüber Chemotherapeutika

Art der Resistenz bzw. Empfindlichkeit	Betroffene Chemotherapeutikagruppen bzw. Einzelchemotherapeutika	Quelle
Natürliche Resistenz	Cephalosporine	MURRAY (1990)
	Aminoglykoside (low-level)	MURRAY (1990)
	Polymyxine	HALLE et al. (1986)
	Lincomycin, Clindamycin	MURRAY (1990)
	β-Lactame	MURRAY (1990)
	Monensin	DUTTA und DEVRIESE (1984)
	Erworbene Resistenz	Makrolide
Tetracycline		MURRAY (1990)
Chloramphenicol		MURRAY (1990)
Trimethoprim-/Sulfonamid-Kombination		NAJJAR und MURRAY (1987)
Bacitracin		DUTTA und DEVRIESE (1984)
Penicillin und Ampicillin (β-Lactamase)		MOELLERING (1991)
Aminoglykoside (high-level)		MURRAY (1990)
Glykopeptide		UTTLEY (1988)
Mäßig empfindlich	Chinolone	MURRAY (1990)
Gut empfindlich	Nitrofurane	MURRAY (1990)
	Rifampicin	MURRAY (1990)
	Glykopeptide	MURRAY (1990)

Tabelle 4 : Übersicht weiterer natürlicher Antibiotikaresistenzen einzelner Enterokokkenspezies gegenüber Chemotherapeutika

Enterokokkenspezies	Natürliche Resistenz gegen	Quelle
<i>E. faecium</i>		
	Flavophospholipol	BUTAYE et al. (2000a)
<i>E. faecalis</i>		
	Virginiamycin	DUTTA und DEVRIESE (1984)
<i>E. casseliflavus,</i> <i>E. gallinarum</i>		
	Vancomycin (low-level)	LECLERCQ et al. (1992)
	Flavophospholipol	BUTAYE et al. (2000b)
<i>E. hirae</i>		
	Flavophospholipol	BUTAYE et al. (2000b)

Tabelle 5: Aufstellung der verschiedenen Typen von glykopeptidresistenten Enterokokken nach KLARE und WITTE (1997), ARTHUR et al. (1993), PERICHON et al. (1997), CARIAS et al. (1998), LIASSINE et al. (1998), FINES et al. (1999), MCKESSAR et al. (2000) und SCHOONEVELDT et al. (2000)

Eigenschaften	VanA	VanB B-1,B-2,B-3	VanC C-1,C-2,C-3	VanD	VanE	VanG
Resistenztyp	erworben	erworben	natürlich	erworben	erworben	
MHK (mg/l): VAN	64->1000	4-1000	2-32	16-64->256	16	12-16
MHK (mg/l): TPL	16-512	0,5-1	0,5-1	2-4-64	0,5	0,5
Lokalisation des Resistenzgens	Plasmid Chromosom	Chromosom Plasmid	Chromosom	Chromosom		Chromosom
Transposon	Tn1546	Tn1547 Tn5382	kein	?		
Konjugative Übertragbarkeit	+	(+)	-	nicht untersucht	-	-
Induktion durch VAN	+	+	konstitutiv	konstitutiv		
TPL	+	-				
Resistenzprotein (kD)	39,0	39,5				
Modifiziertes Target	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Ser	D-Ala-D-Lac	D-Ala-D-Ser	
Vorkommen in Enterokokken-spezies	<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. casseli-flavus</i> <i>E. gallinarum</i>	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i> <i>E. durans</i> <i>E. gallinarum</i>	VanC-1 <i>E. gallinarum</i> VanC-2 <i>E. casseli-flavus</i> VanC-3 <i>E. flavescens</i>	<i>E. faecium</i> <i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>

Erklärung der Zeichen: VAN = Vancomycin; TPL = Teicoplanin; kD = kilodalton; TN = Transposon; MHK = Minimale Hemmkonzentration

2.5 Glykopeptidresistente Enterokokken

Erstmals wurde 1988 über das Auftreten vancomycinresistenter Enterokokken bei Krankenhauspatienten aus England (UTTLEY et al., 1988) und aus Frankreich (LECLERCQ et al., 1987) berichtet. Inzwischen sind 6 verschiedene Typen der Glykopeptidresistenz bei Enterokokken bekannt: VanA, VanB, VanC, VanD, VanE und VanG. Der VanA-Typ besitzt ein hohes Unempfindlichkeitsspektrum von über 64 mg/l für Vancomycin und eine Kreuzresistenz zu Teicoplanin; der VanB-Typ ist mit einer Resistenz für Vancomycin von über 8 mg/l und einer Sensibilität für Teicoplanin ausgestattet. Darüber hinaus existiert die natürlich vorkommende VanC-Resistenz, die sich im mittleren Resistenzbereich für Vancomycin befindet und sensibel ist für Teicoplanin. 1997 wurden von PERICHON et al. (1997) die VanD-Resistenz an einem *E. faecium*-Stamm entdeckt. Dieser zeichnet sich durch eine Resistenz gegenüber Vancomycin von 64 mg/l aus und gegenüber Teicoplanin von 4 mg/l. Zwei Jahre später wurde die VanE-Resistenz von FINES et al. (1999) beschrieben mit einer niedrigen Unempfindlichkeit gegenüber Vancomycin (low-level) und einer vollen Empfindlichkeit für Teicoplanin. So zeigte der *E. faecalis*-Stamm BM 4405 eine Vancomycinresistenz von 16 mg/l, während Teicoplanin bei 0,5 mg/l hemmte. In Australien wurden im Jahre 2000 vier *E. faecalis*-Stämme mit einem neuen Vancomycinresistenztyp isoliert, der als VanG-Typ bezeichnet wird und zur Ausprägung einer moderaten Unempfindlichkeit gegenüber Vancomycin und einer Empfindlichkeit für Teicoplanin führt (MCKESSAR et al., 2000).

Die verschiedenen Resistenztypen und die Enterokokkenspezies, in denen diese nachweisbar waren, sind in der Tabelle 5 aufgeführt. Die biochemische bzw. genetische Basis der Glykopeptidresistenz verhält sich bei 5 der 6 Resistenztypen ähnlich. Sowohl Vancomycin als auch Teicoplanin binden an die D-alanyl-D-alanin-Gruppe am Ende des Peptidoglycanrezeptors. Bei Veränderung dieser Gruppe kann die Affinität zum Rezeptor für die Glykopeptide bis zu 1000fach abnehmen. Bei VanA-, VanB- und VanD-Phänotypen wird das Rezeptorende in ein Depsipeptid D-Alanyl-D-Laktat umgewandelt (PERICHON et al., 1997; ARTHUR et al., 1992; ALLEN et al., 1992), während es beim VanC-Phänotyp in ein D-Alanyl-D-Serin Dipeptid verändert wird. Die vom VanC-Phänotyp hervorgerufene Änderung des Rezeptors führt zu einer Abnahme der Affinität gegenüber Vancomycin um das fünffache, somit entsteht hier eine schwache Resistenz. Die Affinität der Rezeptors zu Teicoplanin bleibt hingegen unberührt und das Antibiotikum bleibt weiterhin wirksam.

Alle genannten Veränderungen erfolgen über Ligasen, nämlich D-ala-D-ala-Ligasen, deren Exprimierung in den VanA-, VanB-, VanC-, VanD-, VanE-Genen begründet liegt.

Diese genetische Basis wurde am besten für die VanA- und VanB-Phänotypen charakterisiert. Sie ist dort auf Transposons lokalisiert, nämlich auf Tn 1546 (VanA-Gencluster) 10,8 kb groß und Tn 1547 (VanB-Gencluster) 64 kb groß. Der VanG-Typ besitzt

wenig Ähnlichkeit mit den anderen Van-Typen, die Übereinstimmung seiner Aminosäuresequenzen mit den anderen Typen beläuft sich auf weniger als 50 %, was auf eine andere evolutionäre Entwicklung hindeutet.

Die Eigenschaft der Vancomycinresistenz eines *E. faecium*-Stammes kann auch wieder verloren gehen. MORRISON et al. (1999) beschrieben einen Stamm der nach 40facher Subkultivierung auf Blutagar sensibel für Vancomycin wurde. Weiterhin wurden auch von WOODFORD et al. (1997) nachgewiesen, daß ein glykopeptidresistenter *E. faecium*-Stamm während eines Ausbruches in einem Krankenhaus sich von einem VanB-Gentragenden zu einem VanA-Gentragenden Stamm entwickelte.

2.6 Verbreitung der Glykopeptidresistenz bei Enterokokken von Nutztieren

1993 wurden zum ersten Male aus landwirtschaftlichen Nutztieren vancomycinresistente Enterokokken isoliert (BATES et al., 1994). In Deutschland, Dänemark, Belgien und Norwegen (KLARE et al., 1995; AARESTRUP, 1995; DEVRIESE et al., 1996a und KRUSE, 1999) konnten 1995 vancomycinresistente Enterokokken bei Geflügel nachgewiesen werden. 1995 wurde in Belgien eine Studie zur Verbreitung der Vancomycinresistenz bei Nutz- und Heimtieren (DEVRIESE et al., 1996a) anhand von Kot- und Darmproben durchgeführt. Dabei ließen sich VanA-Gentragende *E. faecium*-Stämme bei 8 % der untersuchten Pferde und Hunde, bei 7 % der untersuchten Hühner und bei 6 % der untersuchten Schweine feststellen. Zwei VanA-Gentragende *E. durans* kamen bei Hühnern und einer bei einem Fasan vor. Ein vancomycinresistenter *E. faecalis*-Stamm wurde beim Pferd ermittelt und ein VanC-Gentragender *E. gallinarum*-Stamm beim Fasan. Überhaupt keine vancomycinresistenten Enterokokken fanden sich bei Rindern und Tauben.

AARESTRUP (1995) untersuchte 8 konventionelle und 6 ökologische Hühnerfarmen auf das Vorkommen von Glykopeptidresistenzen. Hierbei isolierte er aus Kotproben von Masthähnchen der konventionellen Haltung in fünf Fällen vancomycinresistente *E. faecium*-Stämme, während aus der ökologischen Legehennenhaltung keine vancomycinresistenten Enterokokken angezüchtet werden konnten.

Mittlerweile wurden eine Reihe von Studien durchgeführt, um der Verbreitung der Glykopeptidresistenz in Nutztierbeständen, speziell im Zusammenhang mit der Verfütterung von Avoparcin als Leistungsförderer, nachzugehen. Diese Studien sind in der Tabelle 6 zusammengetragen.

Tabelle 6: Ergebnisse der Untersuchungen auf vancomycinresistenten Enterokokken (VRE) bei Nutztieren

Tierart	VRE Anzahl/ Probenzahl	VRE in Prozent	Einsatz von Avoparcin	Land	Quelle	
Mast- schweine	15/36	42	nicht bekannt	UK	BATES et al., 1994	
	8/12	66	ja	Dänemark	AARESTRUP, 1995	
	2/10	20	nein	Dänemark	AARESTRUP, 1995	
	2/eine Herde	./.	ja	Deutschland	KLARE et al., 1995	
	5/85	6	nicht bekannt	Belgien	DEVRIESE et al., 1996a	
	0/50	< 1	nicht bekannt	Deutschland	LEMCKE und BÜLTE, 2000	
	0/124	< 1	nicht bekannt	Dänemark	WEGENER et al., 1997	
	A 4/26	15	nicht bekannt	Dänemark	WEGENER et al., 1997	
	0/60	< 1	nein	Belgien	BUTAYE et al., 1999a	
	A 11/60	18	nein	Belgien	BUTAYE et al., 1999a	
	A 64/900	7	nein	Spanien	HERRERO et al., 2000	
	Mastrinder	0/128	< 1	nicht bekannt	Dänemark	WEGENER et al., 1997
		8/980	1	nicht bekannt	Deutschland	KRABISCH et al. 1999
Mast- hähnchen	2/eine Herde	./.	ja	Deutschland	KLARE et al., 1995	
	5/8	63	ja	Dänemark	AARESTRUP, 1995	
	0/49	< 1	nein	USA, Texas	COQUE et al., 1996	
	12/540	2	nicht bekannt	Dänemark	WEGENER et al., 1997	
	2/90	2	nicht bekannt	Dänemark	WEGENER et al., 1997	
	A 26/160	16	nicht bekannt	Dänemark	WEGENER et al., 1997	
	215/305	70	nicht bekannt	Niederlande	VAN DEN BRAAK et al., 1998	
	67/225	30	ja	Norwegen	KRUSE, 1999	
	76/80	95	nein	Belgien	BUTAYE et al., 1999a	
	101/115	88	nein	Deutschland	RICHTER, 1999	
	33/108	31	nein	Deutschland	RICHTER, 1999	
8/50	16	nein	Spanien	ROBREDO et al., 2000		

Tierart	VRE Anzahl/ Probenzahl	VRE in Prozent	Einsatz von Avoparcin	Land	Quelle
Mast- hähnchen	14/61	23	nicht bekannt	Deutschland	LEMCKE und BÜLTE, 2000
	30/100	30	nein	Norwegen	BORGEN et al., 2001
	A81/100	81	nein	Norwegen	BORGEN et al., 2001
	5/27	18,5	nein	Nordirland	WILSON und MCAFEE (2002)
	9/9	100	nein	Frankreich	GAMBAROTTO et al., (2001)
Legehennen	0/6	< 1	nein	Dänemark	AARESTRUP, 1995
	0/eine Herde	< 1	nein	Deutschland	KLARE et al., 1995
	0/50	< 1	nein	Norwegen	BORGEN et al., 2001
	A9/50	18	nein	Norwegen	BORGEN et al., 2001
Puten	0/3	< 1	nein	USA, Texas	COQUE et al., 1996
	23/47	50	nicht bekannt	Niederlande	VAN DEN BOGAARD et al., 1997
	21/35	60	ja	Niederlande	VAN DEN BOGAARD et al., 1997
Puten	12	8	nein	Niederlande	VAN DEN BOGAARD et al., 1997

A = Anreicherung

Mittlerweile gelang es in einer Reihe von Untersuchungen, vancomycinresistente Enterokokken auch in Lebensmitteln nachzuweisen. Dazu gehören Hackfleischproben vom Schwein und Geflügel, Fertiggerichte und ähnliches (CHADWICK et al., 1996; KIRK et al., 1997; WEGENER et al., 1997; KLEIN et al., 1998; QUEDNAU et al., 1998; VAN DEN BRAAK et al., 1998; LEMCKE und BÜLTE, 2000).

2.7 Antibiotikaresistenzdaten und Resistenzentwicklung von Enterokokken nach Literaturangaben

Seit einigen Jahren wird erheblich um die Vereinheitlichung und Vergleichbarkeit von Antibiotikaresistenzdaten gerungen. Hierbei hat sich als Methodik der Resistenzprüfung mittlerweile das Mikrodilutionsverfahren durchgesetzt. Die ermittelten MHK_{50} - und MHK_{90} -Daten ermöglichen einen direkten Vergleich der Ergebnisse aus verschiedenen Studien sowie eine Aussage über die Resistenzentwicklung einer Bakterienpopulation.

Auch hat sich mittlerweile für die Enterokokken eine Aufgliederung nach den verschiedenen Arten durchgesetzt, da erhebliche Speziesunterschiede im Antibiotikaresistenzverhalten bestehen. Die vorhandenen Daten beziehen sich fast ausschließlich auf die beiden Spezies *E. faecium* und *E. faecalis*, da diese vorwiegend Bedeutung als humane Krankheitserreger besitzen, für die übrigen Enterokokkenspezies liegen nur sporadisch Resultate vor.

Problematisch bei der Beurteilung der Resistenzdaten erweist sich allerdings die differierende Probenahme mit eventueller Anreicherung und die unterschiedliche Anzahl der Isolate pro Probe, die jeweils in die Datenerhebung aufgenommen werden. Im Bereich der Veterinärmedizin wird angestrebt, Proben von Schlachttieren zu nehmen, um bereits an einem frühen Punkt der Nahrungsmittelkette die Resistenzeigenschaften zu erfassen. BÖTTNER et al. (2000b) fordern hingegen den Aufbau eines Resistenzmonitoring aus dem Probenmaterial akut erkrankter, noch nicht vorbehandelter Tiere, um Resistenzinformationen für die veterinärmedizinische Therapie zu gewinnen. Als anerkanntes Resistenzmonitoring, nach der die meisten anderen europäischen Länder ihre Untersuchungen ausrichten, gilt mittlerweile das Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Program, DANMAP, für das bereits seit 1995 Daten erhoben werden. In Deutschland gibt es bisher keinen vergleichbaren nationalen veterinärmedizinischen Ansatz. Von TROLLDENIER (1995a, 1995b, 1996) wurden die Resistenzdaten tierärztlich bedeutsamer bakterieller Erreger national in Deutschland von klinischen Isolaten erfaßt. Zugleich werden im humanmedizinischen Bereich von der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie Resistenzdaten für Enterokokken erhoben, die aus klinischen Isolaten vom Menschen stammen.

Es ist allgemein bekannt, daß der Einsatz von Antibiotika zur Selektion antibiotikaresistenter Bakterien führen kann (WORLD HEALTH ORGANISATION, 1997). Stets ist die Resistenzlage von Bakterien dabei auch regionalen und zeitlichen Einflüssen unterworfen. So zeigen die im folgenden aufgeführten Ergebnisse von Sensibilitätsprüfungen bei Enterokokken nach Literaturangaben (Tabelle 7 - 19) ein zeitlich, regional- und tierartspezifisches Bild. Die Unterschiede in Abhängigkeit von der Tierart lassen sich dadurch erklären, dass nicht alle Antibiotika und Leistungsförderer für sämtliche Tierarten und jede Altersgruppe dieser Tierarten zugelassen sind.

Auch bestehen erhebliche regionale Unterschiede in der Verabreichungspraxis von Antibiotika. So können bereits regionale Erfahrungen über die nachlassende Wirksamkeit einzelner Antibiotika vorliegen, die sich nicht ohne weiteres auf andere Regionen übertragen lassen. Das gleiche gilt für die Möglichkeit der Wiederherstellung der Wirksamkeit eines Antibiotikums bei nachlassendem Selektionsdruck.

BAGER et al. (1999) postulierten eine komplette Kreuzresistenz zwischen Tylosin, Spiramycin und Erythromycin, eine komplette Kreuzresistenz zwischen Monensin und Salinomycin und eine komplette Kreuzresistenz zwischen Avoparcin und Vancomycin. Daher werden in den folgenden Tabellen auch kreuzresistente Daten herangezogen, in solchen Fällen sind die Felder grau hinterlegt. Diese Kreuzresistenzen ließen in den DANMAP-Studien bestätigen, weshalb die zu untersuchenden Antibiotika in der Erhebung 1999 entsprechend vermindert werden konnten. BUTAYE et al. (2000a) stellten eine komplette Kreuzresistenz von Narasin zu Salinomycin fest, daher sind in den folgenden Tabellen auch diese Daten entsprechend vermerkt.

Tabelle 7: Minimale Hemmkonzentration von Leistungsförderern bei *E. faecium* vom Geflügel nach Literaturangaben (die grau unterlegten Felder beziehen sich auf den kursivgeschriebenen Leistungsförderer)

		DUTTA1982	AARESTRUP 2000	AARESTRUP 2000	AARESTRUP 2000	AARESTRUP 2000	DANMAP1997
Anzahl / Land		15 Belgien	211 Dänemark	52 Finnland	55 Norwegen	55 Norwegen	207 Dänemark
Avoparcin/ <i>Vancomycin</i>	MHK ₅₀	1	2	2	64	64	2
	MHK ₉₀	1	128	32	128	128	128
	Range	0,5-1	1->128	0,5->128	2->128	2->128	1-256
Monensin/ <i>Salinomycin</i>	MHK ₅₀		4	4	4	4	4
	MHK ₉₀		8	4	4	4	4
	Range		0,5-16	0,5-4	0,5-4	0,5-4	0,5-16
Salinomycin	MHK ₅₀		4	2	4	4	4
	MHK ₉₀		4	4	4	4	4
	Range		<0,25-32	0,5-8	1-8	1-8	0,25-8
Tylosin/ <i>Erythromycin</i>	MHK ₅₀	>128	64	2	1	1	32
	MHK ₉₀	>128	64	64	2	2	32
	Range	1->128	0,5-64	<0,25-64	0,5-64	0,5-64	0,5-32
Spiramycin/ <i>Erythromycin</i>	MHK ₅₀	>128					32
	MHK ₉₀	>128					32
	Range	1->128					0,5-32
Avilamycin	MHK ₅₀		32	0,5	0,5	0,5	32
	MHK ₉₀		128	1	1	1	128
	Range		0,5->128	<0,25-1	0,5-2	0,5-2	0,5-256
Flavomycin	MHK ₅₀	>128	64	16	8	8	128
	MHK ₉₀	>128	>128	>128	>128	>128	256
	Range	2->128	0,5->128	1->128	<0,25->128	<0,25->128	1-256
Virginiamycin	MHK ₅₀	1	16	2	2	2	16
	MHK ₉₀	2	64	16	4	4	32
	Range	<0,25-2	0,5-64	<0,25-64	<0,25-4	<0,25-4	0,5-256
Bacitracin	MHK ₅₀	16	128	8	16	16	128
	MHK ₉₀	128	128	>128	>128	>128	128
	Range	<0,25-128	2-128	1->128	0,5->128	0,5->128	2-128

		DANMAP1998	DANMAP1999	DANMAP2000	BUTAYE2001
Anzahl/Land		151 Dänemark	189 Dänemark	189 Dänemark	31 Belgien
Avoparcin/ <i>Vancomycin</i>	MHK ₅₀	4	1	1	1
	MHK ₉₀	4	4	2	4
	Range	0,25-256	1->32	1->32	0,5-64
Monensin/ <i>Salinomycin</i>	MHK ₅₀	2	8	8	4
	MHK ₉₀	2	8	8	8
	Range	0,25-4	1-8	1-8	0,12-4
Salinomycin/ <i>Narasin</i>	MHK ₅₀	1	8	8	2
	MHK ₉₀	2	8	8	4
	Range	0,25-4	1-8	1-8	0,12.4
Tylosin/ <i>Erythromycin</i>	MHK ₅₀	32	1	1	32
	MHK ₉₀	32	>32	32	>256
	Range	0,25-32	1->32	1->32	1->256
Spiramycin/ <i>Erythromycin</i>	MHK ₅₀	32	1	1	
	MHK ₉₀	32	>32	32	
	Range	0,25-32	1->32	1->32	
Avilamycin	MHK ₅₀	2	8	4	0,5
	MHK ₉₀	32	>32	8	32
	Range	0,5-256	1->32	1->32	0,12->256
Flavomycin	MHK ₅₀	8			128
	MHK ₉₀	256			>256
	Range	0,125-256			8->256
Virginiamycin	MHK ₅₀	16	2	1	32
	MHK ₉₀	64	16	8	64
	Range	1-128	0,5->32	0,5-32	0,5-64
Bacitracin	MHK ₅₀	128	>256	>256	32
	MHK ₉₀	128	>256	>256	256
	Range	2-128	8->256	8->256	2-256

Tabelle 8: Minimale Hemmkonzentration von Leistungsförderern bei *E. faecium* vom Rind nach Literaturangaben (die grau unterlegten Felder beziehen sich auf den kursivgeschriebenen Leistungsförderer)

		DANMAP1997	DANMAP1998	DANMAP1999	DANMAP2000	BUTAYE2001	KRABISCH1999
Anzahl/Land		15 Dänemark	22 Dänemark	32 Dänemark	48 Dänemark	10 Belgien	109 Deutschl.
Avoparcin/ <i>Vancomycin</i>	MHK ₅₀	2	4	1	2	1	<0,5
	MHK ₉₀	4	4	2	2	1	<0,5
	Range	2-8	1-8	1-4	1-8	0,5-64	<0,5->32
Monensin/ <i>Salinomycin</i>	MHK ₅₀	4	4	1	1	2	
	MHK ₉₀	8	4	2	1	8	
	Range	4-8	2-4	1-4	1-1	0,12-4	
Salinomycin/ <i>Narasin</i>	MHK ₅₀	0,5	0,5	1	1	0,25	
	MHK ₉₀	1	0,5	2	1	0,25	
	Range	0,5-2	0,5-0,5	1-4	1-1	0,12-0,25	
Tylosin/ <i>Erythromycin</i>	MHK ₅₀	4	2	2	2	>256	
	MHK ₉₀	32	8	4	>32	>256	
	Range	2-32	0,25-16	1->32	1->32	1->256	
Spiramycin/ <i>Erythromycin</i>	MHK ₅₀	2	2	2	2		
	MHK ₉₀	32	8	4	>32		
	Range	1-32	0,25-16	1->32	1->32		
Avilamycin	MHK ₅₀	2	2	4	2	0,25	
	MHK ₉₀	4	2	8	4	0,25	
	Range	2-64	0,5-2	1-8	1-4	0,25-1	
Flavomycin	MHK ₅₀	256	128			>256	
	MHK ₉₀	256	256			>256	
	Range	0,5-256	4-256			128->256	
Virginiamycin	MHK ₅₀	2	4	1	1	1	
	MHK ₉₀	16	32	2	>32	1	
	Range	0,5-32	2-32	0,5-4	0,5->32	0,25-8	
Bacitracin	MHK ₅₀	128	64	128	128	2	
	MHK ₉₀	128	128	>256	>256	16	
	Range	1-128	16-128	8->256	32->256	2-16	

Tabelle 9: Minimale Hemmkonzentration von Leistungsförderern bei *E. faecium* vom Schwein nach Literaturangaben (die grau unterlegten Felder beziehen sich auf den kursivgeschriebenen Leistungsförderer)

		AARESTRUP 2000	AARESTRUP 2000	BUTAYE 2001	DANMAP 1997	DANMAP 1998	DANMAP 1999	DANMAP 2000
Anzahl/Land		55 Dänemark	43 Finnland	33 Belgien	54 Dänemark	156 Dänemark	202 Dänemark	182 Dänemark
Avoparcin/ <i>Vancomycin</i>	MHK ₅₀	2	1	1	2	4	1	1
	MHK ₉₀	128	2	2	128	64	4	2
	Range	0,5->128	1-32	0,5-2	0,5-256	0,125-256	1->32	1->32
Monensin/ <i>Salinomycin</i>	MHK ₅₀	4	4	4	4	2	1	1
	MHK ₉₀	4	4	8	4	2	2	1
	Range	2-4	2-4	0,12-4	2-4	0,125-4	1->32	1-2
Salinomycin/ <i>Narasin</i>	MHK ₅₀	0,5	0,5	0,25	0,5	0,5	1	1
	MHK ₉₀	1	1	2	1	0,5	2	1
	Range	<0,25-2	0,5-2	0,06-8	0,25-2	0,125-2	1->32	1-2
Tylosin/ <i>Erythromycin</i>	MHK ₅₀	64	1	256	32	32	4	4
	MHK ₉₀	64	2	>256	32	32	>32	>32
	Range	2-64	0,5-4	0,5->256	2-32	0,25-64	1->32	1->32
Spiramycin/ <i>Erythromycin</i>	MHK ₅₀				32	32	4	4
	MHK ₉₀				32	32	>32	>32
	Range				1-32	0,25-64	1->32	1->32
Avilamycin	MHK ₅₀	2	1	0,5	2	1	4	2
	MHK ₉₀	2	1	16	2	2	8	2
	Range	1-4	0,5-1	0,25->256	1-32	0,125-2	1-32	1-4
Flavomycin	MHK ₅₀	>128	>128	>256	256	128		
	MHK ₉₀	>128	>128	>256	256	256		
	Range	<0,25->128	1->128	32->256	0,25-256	0,25-256		
Virginiamycin	MHK ₅₀	4	1	2	2	8	2	1
	MHK ₉₀	16	2	8	16	16	4	32
	Range	<0,25-128	<0,25-2	0,5-32	0,25-64	1-128	0,5-32	0,5->32
Bacitracin	MHK ₅₀	32	32	4	32	64	128	128
	MHK ₉₀	128	>128	128	128	128	>256	>256
	Range	1-128	8->128	0,12->256	1-128	2-256	8->256	8->256

Tabelle 10: Minimale Hemmkonzentration von Leistungsförderern bei *E. faecalis* vom Geflügel nach Literaturangaben (die grau unterlegten Felder beziehen sich auf den kursivgeschriebenen Leistungsförderer)

		DUTTA1982	BUTAYE2001	DANMAP1998	DANMAP1999	DANMAP2000
N		31 Belgien	35 Belgien	168 Dänemark	201 Dänemark	93 Dänemark
Avoparcin/ <i>Vancomycin</i>	MHK ₅₀	2	1	4	1	1
	MHK ₉₀	2	2	4	2	2
	Range	1-2	0,5-2	0,25-8	1-4	1-4
Monensin/ <i>Salinomycin</i>	MHK ₅₀		4	2	1	1
	MHK ₉₀		8	2	4	4
	Range		1-8	0,250-4	1-8	1-8
Salinomycin/ <i>Narasin</i>	MHK ₅₀		0,25	0,25	1	1
	MHK ₉₀		2	0,5	4	4
	Range		0,06-4	0,125-2	1-8	1-8
Tylosin/ <i>Erythromycin</i>	MHK ₅₀	>128	32	4	2	1
	MHK ₉₀	>128	>256	32	>32	>32
	Range	2->128	0,5->256	0,25-32	1->32	1->32
Spiramycin/ <i>Erythromycin</i>	MHK ₅₀	>128		4	2	1
	MHK ₉₀	>128		32	>32	>32
	Range	2->128		0,25-32	1->32	1->32
Avilamycin	MHK ₅₀		0,5	1	2	2
	MHK ₉₀		1	2	4	2
	Range		0,12-32	0,125-4	1->32	1-4
Flavomycin	MHK ₅₀	<0,5	0,25	0,25	2	1
	MHK ₉₀	1	0,5	0,5	4	4
	Range	<0,5-1	0,12-2	0,125-16	0,5->32	0,5->32
Virginiamycin	MHK ₅₀	8	4			
	MHK ₉₀	16	16			
	Range	1-16	1-32			
Bacitracin	MHK ₅₀	16	64	128	256	>256
	MHK ₉₀	>128	>256	128	>256	>256
	Range	4->128	0,5->256	2-128	8->256	8->256

Tabelle 11: Minimale Hemmkonzentration von Leistungsförderern bei *E. faecalis* vom Rind nach Literaturangaben (die grau unterlegten Felder beziehen sich auf den kursivgeschriebenen Leistungsförderer)

		DANMAP2000	KRABISCH1999	BUTAYE2001
N		33 Dänemark	132 Deutschland	25 Belgien
Avoparcin/ <i>Vancomycin</i>	MHK ₅₀	1	2	0,12
	MHK ₉₀	2	2	0,25
	Range	1-4	<0,5->32	0,12-0,25
Monensin/ <i>Salinomycin</i>	MHK ₅₀	1		8
	MHK ₉₀	1		8
	Range	1-1		2-8
Salinomycin/ <i>Narasin</i>	MHK ₅₀	1		0,25
	MHK ₉₀	1		0,25
	Range	1-1		0,06-2
Tylosin/ <i>Erythromycin</i>	MHK ₅₀	1		>256
	MHK ₉₀	>32		>256
	Range	1->32		1->256
Spiramycin/ <i>Erythromycin</i>	MHK ₅₀	1		
	MHK ₉₀	>32		
	Range	1->32		
Avilamycin	MHK ₅₀	1		1
	MHK ₉₀	2		1
	Range	1-2		0,25-1
Flavomycin	MHK ₅₀	1		0,12
	MHK ₉₀	2		0,25
	Range	0,5->32		0,12-0,25
Virginiamycin	MHK ₅₀			2
	MHK ₉₀			4
	Range			0,5-4
Bacitracin	MHK ₅₀	64		4
	MHK ₉₀	>256		256
	Range	8->256		1->256

Tabelle 12: Minimale Hemmkonzentration von Leistungsförderern bei *E. faecalis* vom Schwein nach Literaturangaben (die grau unterlegten Felder beziehen sich auf den kursivgeschriebenen Leistungsförderer)

		DANMAP1997	DANMAP1998	DANMAP1999	DANMAP2000	BUTAYE2001
N		247 Dänemark	136 Dänemark	200 Dänemark	196 Dänemark	36 Belgien
Avoparcin/ <i>Vancomycin</i>	MHK ₅₀	2	4	1	1	1
	MHK ₉₀	4	4	2	2	2
	Range	0,5-8	0,125-8	1-2	1-4	0,5-2
Monensin/ <i>Salinomycin</i>	MHK ₅₀	4	2	1	1	4
	MHK ₉₀	4	2	2	1	8
	Range	1-32	0,125-2	1-2	1-8	2-8
Salinomycin/ <i>Narasin</i>	MHK ₅₀	0,5	0,5	1	1	0,25
	MHK ₉₀	1	0,5	2	1	0,25
	Range	0,25-64	0,125-0,5	1-2	1-8	0,06-2
Tylosin/ <i>Erythromycin</i>	MHK ₅₀	32	32	2	1	256
	MHK ₉₀	32	32	>32	>32	>256
	Range	1-32	0,25-32	1->32	1->32	2->256
Spiramycin/ <i>Erythromycin</i>	MHK ₅₀	32	32	2	1	
	MHK ₉₀	32	32	>32	>32	
	Range	1-32	0,25-32	1->32	1->32	
Avilamycin	MHK ₅₀	2	2	2	2	0,5
	MHK ₉₀	4	2	4	2	1
	Range	0,5-256	0,125-128	1->32	1->32	0,25-32
Flavomycin	MHK ₅₀	0,5	0,25	2	1	0,25
	MHK ₉₀	1	0,5	4	2	0,5
	Range	0,25-256	0,125-128	0,5-16	0,5->32	0,12-1
Virginiamycin	MHK ₅₀	32				4
	MHK ₉₀	64				16
	Range	0,25-64				2-32
Bacitracin	MHK ₅₀	32	32	64	64	4
	MHK ₉₀	64	128	128	128	8
	Range	1-128	2-128	8->256	8->256	2->256

Tabelle 13: Minimale Hemmkonzentration von Antibiotika bei *E. faecium* vom Geflügel nach Literaturangaben (die grau unterlegten Felder beziehen sich auf den kursivgeschriebenen Leistungsförderer)

		DANMAP1997	DANMAP1998	DANMAP1999	DANMAP2000	BUTAYE2001
n		207 Dänemark	151 Dänemark	189 Dänemark	189 Dänemark	31 Belgien
Ampicillin	MHK ₅₀	1				1
	MHK ₉₀	4				4
	Range	0,25-32				0,06-32
Penicillin	MHK ₅₀	2	4	16	32	
	MHK ₉₀	16	16	32	32	
	Range	1-64	1-32	2-128	2->128	
Erythromycin	MHK ₅₀	32	32	1	1	
	MHK ₉₀	32	32	>32	32	
	Range	0,25-32	0,25-32	1->32	1->32	
Chloramphenicol	MHK ₅₀	8	8	8	8	
	MHK ₉₀	8	8	8	8	
	Range	2-32	2-32	4-32	2-32	
Tetracyclin/ <i>Oxytetracyclin</i>	MHK ₅₀	0,5	0,5	1	1	64
	MHK ₉₀	32	32	4	1	>256
	Range	0,25-32	0,25-32	1->32	1->32	0,12->256
Enrofloxacin/ <i>Ciprofloxacin</i>	MHK ₅₀					4
	MHK ₉₀					8
	Range					0,5-8
Streptomycin	MHK ₅₀	64	128	128	128	<500
	MHK ₉₀	128	256	128	128	>2.000
	Range	16-2048	32-2048	128->2048	128->2048	<500->2.000
Gentamicin	MHK ₅₀	8	16	128	128	<500
	MHK ₉₀	16	16	128	128	<500
	Range	1-1024	16-16	128-256	128-128	<500->2.000
Pristinamycin	MHK ₅₀	8				
	MHK ₉₀	16				
	Range	0,25-32				
Teicoplanin	MHK ₅₀	0,5	0,5			
	MHK ₉₀	32	2			
	Range	0,5-32	0,5-32			
Vancomycin	MHK ₅₀	1	1	1	1	
	MHK ₉₀	64	2	4	2	
	Range	0,5-64	0,5-32	1->32	1->32	

Tabelle 14: Minimale Hemmkonzentration von Antibiotika bei *E. faecium* vom Rind nach Literaturangaben (die grau unterlegten Felder beziehen sich auf den kursivgeschriebenen Leistungsförderer)

		DANMAP1997	DANMAP1998	DANMAP1999	DANMAP2000	BUTAYE2001
n		15 Dänemark	22 Dänemark	32 Dänemark	48 Dänemark	10 Belgien
Ampicillin	MHK ₅₀	2				4
	MHK ₉₀	2				4
	Range	0,25-4				1-32
Penicillin	MHK ₅₀	4	2	4	4	
	MHK ₉₀	16	4	8	16	
	Range	1-16	1-8	2-16	2-16	
Erythromycin	MHK ₅₀	4	2	2	2	
	MHK ₉₀	32	8	4	>32	
	Range	0,25-32	0,25-16	1->32	1->32	
Chloramphenicol	MHK ₅₀	8	8	8	8	
	MHK ₉₀	8	8	8	8	
	Range	4-8	4-8	4-16	2-8	
Tetracyclin/ <i>Oxytetracyclin</i>	MHK ₅₀	0,5	0,5	1	1	>256
	MHK ₉₀	32	1	1	>32	>256
	Range	0,5-32	0,25-16	1->32	1->32	0,5->256

		DANMAP1997	DANMAP1998	DANMAP1999	DANMAP2000	BUTAYE2001
n		15 Dänemark	22 Dänemark	32 Dänemark	48 Dänemark	10 Belgien
Enrofloxacin/ <i>Ciprofloxacin</i>	MHK ₅₀					4
	MHK ₉₀					8
	Range					0,5-8
Streptomycin	MHK ₅₀	64	128	128	128	<500
	MHK ₉₀	2048	256	128	2.048	1.000
	Range	32-2048	32-256	128->2048	128->2.048	<500
Gentamicin	MHK ₅₀	16	16	128	128	<500
	MHK ₉₀	16	16	128	128	<500
	Range	8-16	16-32	128-128	128-128	<500-2.000
Pristinamycin	MHK ₅₀	1				
	MHK ₉₀	4				
	Range	0,25-8				
Teicoplanin	MHK ₅₀	0,5	1			
	MHK ₉₀	2	1			
	Range	0,5-4	0,5-1			
Vancomycin	MHK ₅₀	1	1	1	2	
	MHK ₉₀	2	2	2	2	
	Range	0,5-4	0,5-4	1-4	1-8	

Tabelle 15: Minimale Hemmkonzentration von Antibiotika bei *E. faecium* vom Schwein nach Literaturangaben (die grau unterlegten Felder beziehen sich auf den kursivgeschriebenen Leistungsförderer)

		DANMAP1997	DANMAP1998	DANMAP1999	DANMAP2000	BUTAYE2001
n		54 Dänemark	156 Dänemark	202 Dänemark	182 Dänemark	33 Belgien
Ampicillin	MHK ₅₀	2				1
	MHK ₉₀	8				8
	Range	0,25-8				0,12-128
Penicillin	MHK ₅₀	8	4	4	8	
	MHK ₉₀	32	16	16	16	
	Range	1-64	1-32	2-32	2-16	
Erythromycin	MHK ₅₀	32	32	4	4	
	MHK ₉₀	32	32	>32	>32	
	Range	1-32	0,25-64	1->32	1->32	
Chloramphenicol	MHK ₅₀	8	8	8	8	
	MHK ₉₀	16	8	16	8	
	Range	4-32	1-64	4-64	2-64	
Tetracyclin/ <i>Oxytetracyclin</i>	MHK ₅₀	32	32	32	>32	128
	MHK ₉₀	32	32	>32	>32	>256
	Range	0,25-32	0,25-64	1->32	1->32	0,25->256
Enrofloxacin/ <i>Ciprofloxacin</i>	MHK ₅₀					2
	MHK ₉₀					8
	Range					0,5-16
Streptomycin	MHK ₅₀	128	128	128	128	1.000
	MHK ₉₀	2048	2048	>2048	>2.048	>2.000
	Range	32-2048	32-2048	128->2048	128->2.048	<500->2.000
Gentamicin	MHK ₅₀	8	16	128	128	<500
	MHK ₉₀	16	16	128	128	2.000
	Range	2-128	16-32	128-512	128-128	<500-2.000
Pristinamycin	MHK ₅₀	2				
	MHK ₉₀	4				
	Range	0,25-32				
Teicoplanin	MHK ₅₀	0,5	0,5			
	MHK ₉₀	32	32			
	Range	0,5-32	0,5-32			
Vancomycin	MHK ₅₀	1	1	1	1	
	MHK ₉₀	64	32	4	2	
	Range	0,5-64	0,5-32	1->32	1->32	

Tabelle 16: Minimale Hemmkonzentration von Antibiotika bei *E. faecalis* vom Geflügel nach Literaturangaben (die grau unterlegten Felder beziehen sich auf den kursivgeschriebenen Leistungsförderer)

		BUTAYE2001	DANMAP1998	DANMAP1999	DANMAP2000
n		35 Belgien	168 Dänemark	201 Dänemark	93 Dänemark
Ampicillin	MHK ₅₀	1			
	MHK ₉₀	2			
	Range	0,25-2			
Penicillin	MHK ₅₀		2	2	2
	MHK ₉₀		2	4	4
	Range		1-128	2-8	2-32
Erythromycin	MHK ₅₀		4	2	1
	MHK ₉₀		32	>32	>32
	Range		0,25-32	1->32	1->32
Chloramphenicol	MHK ₅₀		8	8	8
	MHK ₉₀		16	16	8
	Range		2-64	2-64	2-64
Tetracyclin/ <i>Oxytetracyclin</i>	MHK ₅₀	keine Angabe	32	1	1
	MHK ₉₀	>256	32	>32	>32
	Range	0,25->256	0,25-32	1->32	1->32
Enrofloxacin/ <i>Ciprofloxacin</i>	MHK ₅₀	1			
	MHK ₉₀	2			
	Range	0,25-8			
Streptomycin	MHK ₅₀	<500	256	128	128
	MHK ₉₀	>2.000	1.024	256	256
	Range	<500->2.000	32-2048	128->2048	128->2.048
Gentamicin	MHK ₅₀	<500	16	128	128
	MHK ₉₀	<500	16	128	128
	Range	<500	16-2048	128-256	128-128
Teicoplanin	MHK ₅₀		0,5		
	MHK ₉₀		0,5		
	Range		0,5-2		
Vancomycin	MHK ₅₀		1	1	1
	MHK ₉₀		2	2	2
	Range		0,5-4	1-4	1-4

Tabelle 17: Minimale Hemmkonzentration von Antibiotika bei *E. faecalis* vom Rind nach Literaturangaben (die grau unterlegten Felder beziehen sich auf den kursivgeschriebenen Leistungsförderer)

		BUTAYE2001	DANMAP2000
n		25 Belgien	33 Dänemark
Ampicillin	MHK ₅₀	2	
	MHK ₉₀	2	
	Range	1-2	
Penicillin	MHK ₅₀		2
	MHK ₉₀		2
	Range		2-16
Erythromycin	MHK ₅₀		1
	MHK ₉₀		>32
	Range		1->32
Chloramphenicol	MHK ₅₀		8
	MHK ₉₀		64
	Range		4->64
Tetracyclin/ <i>Oxytetracyclin</i>	MHK ₅₀	keine Angabe	16
	MHK ₉₀	256	>32
	Range	0,5->256	1->32
Enrofloxacin/ <i>Ciprofloxacin</i>	MHK ₅₀	0,5	
	MHK ₉₀	16	
	Range	0,25-64	

		BUTAYE 01	DANMAP2000
n		25 Belgien	33 Dänemark
Streptomycin	MHK ₅₀	1.000	128
	MHK ₉₀	>2.000	>2.048
	Range	<500->2.000	128->2.048
Gentamicin	MHK ₅₀	>500	128
	MHK ₉₀	2.000	128
	Range	<500->2.000	128-256
Vancomycin	MHK ₅₀		1
	MHK ₉₀		2
	Range		1-4

Tabelle 18: Minimale Hemmkonzentration von Antibiotika bei *E. faecalis* vom Schwein nach Literaturangaben (die grau unterlegten Felder beziehen sich auf den kursivgeschriebenen Leistungsförderer)

		DANMAP1997	DANMAP1998	DANMAP1999	DANMAP2000	BUTAYE2001
n		247 Dänemark	136 Dänemark	200 Dänemark	196 Dänemark	36 Belgien
Ampicillin	MHK ₅₀	1				1
	MHK ₉₀	2				4
	Range	0,25-512				0,12-8
Penicillin	MHK ₅₀	2	2	4	2	
	MHK ₉₀	4	4	4	4	
	Range	1-2048	1-8	2-8	2-8	
Erythromycin	MHK ₅₀	32	32	2	1	
	MHK ₉₀	32	32	>32	>32	
	Range	0,5-32	0,25-32	1->32	1->32	
Chloramphenicol	MHK ₅₀	16	8	8	8	
	MHK ₉₀	16	16	16	8	
	Range	2-64	4-64	2-64	2-64	
Tetracyclin/ <i>Oxytetracyclin</i>	MHK ₅₀	32	32	>32	32	keine Angabe
	MHK ₉₀	32	32	>32	>32	>256
	Range	0,25-32	0,25-32	1->32	1->32	8->256
Enrofloxacin/ <i>Ciprofloxacin</i>	MHK ₅₀					0,5
	MHK ₉₀					1
	Range					0,25-2
Streptomycin	MHK ₅₀	256	256	128	128	2.000
	MHK ₉₀	2048	2048	>2048	>2048	>2.000
	Range	16-2048	64-2048	128->2048	128->2048	<500->2.000
Gentamicin	MHK ₅₀	16	16	128	128	<500
	MHK ₉₀	32	16	128	128	2.000
	Range	1-2048	16-2048	128-2048	128->2048	<500->2.000
Pristinamycin	MHK ₅₀	4				
	MHK ₉₀	8				
	Range	1-32				
Teicoplanin	MHK ₅₀	0,5	0,5			
	MHK ₉₀	1	0,5			
	Range	0,5-2	0,5-4			
Vancomycin	MHK ₅₀	2	1	1	1	
	MHK ₉₀	2	2	2	2	
	Range	0,5-8	0,5-4	1-2	1-4	

Tabelle 19: Minimale Hemmkonzentration von Antibiotika bei humanen Enterokokken nach Literaturangaben der Paul-Ehrlich-Gesellschaft 1998

		<i>E. faecium</i>	<i>E. faecalis</i>
Anzahl/Land		78 Deutschland	757 Deutschland
Amoxicillin/ Clavulansäure	MHK ₅₀	16	0,5
	MHK ₉₀	32	1
	Range	0,25-64	0,25-64
Ampicillin	MHK ₅₀	32	1
	MHK ₉₀	64	2
	Range	1->256	1->256
Ciprofloxacin	MHK ₅₀	8	1
	MHK ₉₀	16	16
	Range	0,25-16	0,125-16
Cotrimoxazol	MHK ₅₀	8	1
	MHK ₉₀	>256	>256
	Range	1->256	1->256
Erythromycin	MHK ₅₀	64	4
	MHK ₉₀	64	>256
	Range	0,25-64	0,25->256
Gentamicin	MHK ₅₀	>500	>500
	MHK ₉₀		
	Range	>500	>500
Streptomycin	MHK ₅₀	>2000	>2000
	MHK ₉₀		
	Range	>2000	>2000
Teicoplanin	MHK ₅₀	0,5	0,25
	MHK ₉₀	2	1
	Range	0,25-32	0,25-32
Vancomycin	MHK ₅₀	1	1
	MHK ₉₀	2	2
	Range	0,25-64	0,25-64

2.8 Pulsfeldgelelektrophorese zur Typisierung von Enterokokken

Die Pulsfeldgelelektrophorese (PFGE) bildet ein Verfahren zur DNA-Typisierung von Mikroorganismen und gilt als Methode der Wahl zur Charakterisierung von Enterokokkenisolaten. Die DNA-Fragmente einzelner Stämme einer Spezies werden durch diese Technik zur reproduzierbaren Unterscheidung dargestellt. Deshalb eignet sich diese Methode besser zur DNA-Typisierung für Enterokokken als die Multi-Locus-Enzym-Elektrophorese oder die RAPD-PCR (random amplified polymorphic DNA-PCR (BARBIER et al., 1996, TOMAYKO und MURRAY, 1995). Ribotyping charakterisiert die Verwandtschaftsgrade der einzelnen Enterokokkenstämme nur ungenügend (TYRRELL et al., 1997), und die Typisierung anhand der Plasmidmuster ist völlig unzureichend, da Enterokokken nur wenig Plasmide besitzen.

Selten schneidende Restriktionsenzyme zerlegen die DNA der Mikroorganismen an genau definierten Stellen. Für Enterokokken verwendet man die Typ II Restriktionsendonucleasen, die innerhalb eines DNA-Stranges schneiden. Sie erkennen jeweils andere DNA-Sequenzen, die meist aus vier bis sechs Basenpaaren bestehen. Das Enzym SmaI identifiziert die DNA-Sequenz 5'-CCCGGG-3' und schneidet zwischen CCC und GGG glatten Fragmentenden. Es bietet sich für die Typisierung von Enterokokken an, weil diese einen Basengehalt von Guanin und Cytosin von 37 - 45 mol % aufweisen (FACKLAM und SAHM, 1995). Es entstehen bei Enterokokkenspezies meist 15 - 20 Restriktionsfragmente mit einer Kilobasengröße von 5 - 400 (TENOVER et al., 1995). Für *E. faecalis*-Stämme sind von MURRAY et al. (1990b) Fragmentstücke mit einer Kilobasengröße von 30 - 400 beschrieben worden. DONABEDIAN et al. (1995) stellten dar, daß *E. faecalis*-Stämme immer ein Fragmentstück besitzen, welches größer als 400 kb ist, 78 % der von ihnen untersuchten Stämme haben sogar Fragmentstücke mit mehr als 500 kb. In der Studie von MORRISON et al. (1999) ergab sich nur bei einem von 30 *E. faecium*-Stämmen ein Fragmentstück, das größer als 291 kb war. DONABEDIAN et al. (1995) fanden für 97 % der untersuchten *E. faecium*-Stämme Fragmentstücke kleiner als 400 kb und für 85 % kleiner als 350 kb an. *E. gallinarum*-Stämme unterscheiden sich von allen anderen Enterokokkenspezies durch Restriktionsfragmente mit einer Größe stets unter 200 kb (DONABEDIAN et al., 1995). Bei *E. casseliflavus*-Stämmen konnte in der gleichen Studie für 70 % als größtes Fragmentstück ein Ausmaß von 300 kb ermittelt werden. Die untersuchten *E. durans*-Stämme und die *E. hirae*-Stämme verfügten nach DESCHEEMAERKER et al. (1997) über Fragmentstücke in einem Kilobasenbereich von über 400.

Die genannten Unterschiede in der Restriktionsfragmentgröße lassen somit eine Speziesunterscheidung zu. Die Restriktionsfragmente werden durch die Einwirkung des Pulsfeldes getrennt und nach Färbung des Gels als Banden sichtbar. Sogenannte „lambda ladder“ werden als Größenstandard mitgeführt und erlauben die Bestimmung der Kilobasengröße

der Banden. MORRISON et al. (1999) untersuchten die Stabilität der Bandenausprägung der Enterokokken im Pulsfeld und konnten feststellen, daß sie auch nach 40facher Subkultur konstant blieb.

LEMCKE und BÜLTE (2000) überprüften 203 vancomycinresistente Enterokokken vom Geflügel mittels Pulsfeldgelelektrophorese auf eine Verwandtschaft untereinander. Obwohl die Isolate alle in einem engen Zeitraum von Januar 1996 bis August 1997 und aus der gleichen Region (Giessen) stammten, erwiesen sich die Isolate als sehr heterogen. Dagegen konnten BERTRAND et al. (2000) nachweisen, daß multiresistente Enterokokken aus Rohmilchkäse in Frankreich eine genetische Verwandtschaft mit klinischen Isolaten aufweisen. Sie heben daher die Gefahr der Vermittlung von Antibiotikaresistenzen über den Käse hervor und raten generell zur Verwendung pasteurisierter Milch für die Käseproduktion. KLARE et al. (1995) konnten dahingegen keine genetische Verwandtschaft mittels PFGE zwischen Enterokokken isoliert aus Geflügel und Schwein und klinischen Isolaten feststellen. Andererseits gelang VAN DEN BOGAARD et al. (1997) der Nachweis einer genetischen Verwandtschaft zwischen einem *E. faecium*-Stamm eines Putenfarmers und seine Puten.