

## 5. Diskussion

### 5.1 Allgemeiner Versuchsansatz

Die vorliegende Untersuchung liefert Informationen zum Vorkommen und zum Antibiotikaresistenzverhalten von Enterokokken aus deutschen Nutztierbeständen.

Insgesamt wurden 81 Masthähnchen, Mastschweine oder Jungrinder aus jeweils unterschiedlichen Beständen beprobt. Insgesamt 463 isolierte Stämme der Spezies *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. durans*, *E. hirae*, *E. casseliflavus* und *E. gallinarum* wurden auf ihr Resistenzverhalten gegenüber 23 verschiedenen Antibiotika getestet. Bei 71 Stämmen wurde zusätzlich ihr Verwandtschaftsgrad mittels Pulsfeldgelelektrophorese bestimmt.

Die Motivation dieser Erhebung in deutschen Nutztierbeständen liegt in der Bedeutung der Antibiotikaresistenzentwicklung für die Humanmedizin. Dort werden seit Jahrzehnten steigende Zahlen von antibiotikaresistenten Bakterien beobachtet, darunter zum Beispiel multiresistente Staphylokokken oder Tuberkelbakterien oder auch seit Beginn der neunziger Jahre glykopeptidresistente Enterokokken. KLARE et al. isolierten 1993 tierische Enterokokken mit Glykopeptidresistenz. Dieser Nachweis warf die Frage auf, ob solche antibiotikaresistenten Erreger über die Nahrungsmittelkette zum Menschen gelangen können und sich die anwachsenden Resistenzzahlen zumindest teilweise durch die Verabreichung von Antibiotika bei Nutztieren begründen lassen. Mit der vorliegenden Untersuchung wurde der Resistenzstatus der Enterokokken von Nutztieren ermittelt und gleichzeitig dem Verlauf der Glykopeptidresistenzentwicklung unter dem Aspekt nachgegangen, daß die Anwendung von Glykopeptiden seit einigen Jahren nicht mehr für Nutztiere zugelassen ist.

### 5.2 Zur Speziesverteilung

Über die Speziesverteilung der Enterokokken liegen kaum Erfahrungen vor. DEVRIESE und POT (1995) publizierten zwar einige Daten zum Vorkommen bei verschiedenen Tierarten, aber diese Angaben beziehen sich auf eine anaerobe Bebrütung und einen anderen Selektivnährboden. Lediglich RICHTER (1999) konnte mit dem gleichen Selektivnährboden unter aerober Bebrütung aus Masthähnchenproben *E. faecium*-Stämme anzüchten. Die Autorin isolierte allerdings ausschließlich *E. faecium*-Stämme, da der Nährboden mit 50 µg/ml Vancomycin versetzt war und somit nur hochgradig vancomycinresistente Enterokokken, die meist zur Spezies *E. faecium* gehören, erfasst wurden. In der vorliegenden Studie bildete beim Jungrind *E. casseliflavus* die vorherrschende

Enterokokkenspezies. Diese Art wurde ursprünglich als pflanzenassoziiert beschrieben. Aufgrund ihres besonderen Verdauungssystems und als reine Pflanzenfresser treten die *E. casseliflavus*-Stämme eventuell beim Wiederkäuer nur als Passanten auf. Dagegen stellten beim Masthähnchen die *E. faecalis*-Stämme die vorherrschende Enterokokkenspezies dar. Somit konnten die Ergebnisse der Untersuchung von DEVRIESE et al. (1991), wonach bei älterem Geflügel kaum noch *E. faecalis*-Stämme vorhanden sind, nicht bestätigt werden. Auch das häufige Vorkommen von *E. faecium*-Stämmen bei Jungrindern überraschte, weil sich nach der Erhebung von DEVRIESE et al. (1992a) bei ruminierenden Kälbern und Milchkühen keine *E. faecium*-Isolate erwarten ließen. In der vorliegenden Untersuchung machten sie immerhin 23 % der isolierten Enterokokkenspezies aus. Die Art *E. gallinarum* wurde in der vorliegenden Studie hauptsächlich aus den Mastschweinproben isoliert, was den Ergebnissen von KLEIN et al. (1998) und LEMCKE sowie BÜLTE (2000) entspricht, die in Hackfleischproben *E. gallinarum* nachgewiesen haben. Aus den Masthähnchenproben war die Spezies *E. gallinarum* in Übereinstimmung mit DEVRIESE et al. (1991) nur selten zu isolieren.

### **5.3 Resistenz der Enterokokken für die Glykopeptide Vancomycin, Avoparcin und Teicoplanin**

Weltweit wurden mittlerweile umfangreiche Untersuchungen zur Vancomycinresistenz der Enterokokken in humanmedizinischen Proben, in Lebensmitteln sowie in Nutztierbeständen durchgeführt. Dieses große Interesse erklärte sich aus der Relevanz des von KLARE et al. (1995) vermuteten Weges der glykopeptidresistenten Enterokokken von den Nutztierbeständen via Nahrungsmittelkette zum Menschen. Aufgrund verschiedener Studien, wie zum Beispiel von AARESTRUP (1995), BATES et al. (1994), BUTAYE et al. (1999), WEGENER et al. (1997), steht eindeutig fest, daß glykopeptidresistente Enterokokken in den Nutztierbeständen vorkommen. Gleiches gilt für Lebensmittel. Inwiefern eine *in vivo*- oder *in vitro*-Übertragung der Glykopeptidresistenz von Enterokokken isoliert aus Tieren auf Enterokokken im menschlichen Darmtrakt erfolgen kann, ist derzeit Gegenstand zahlreicher Forschungsvorhaben. Überprüft wird daneben die Weitergabe dieser Eigenschaft an andere gefährliche Erreger. Hier konnten NOBLE et al. (1992) die Weitergabe der Glykopeptidresistenz an *Staphylococcus aureus* im Labor nachweisen und VAUDAUX et al. (2001) den *in vivo*-Erwerb der Glykopeptidresistenz von methicillinresistenten *Staphylococcus aureus*. Die vorliegende Studie ging hauptsächlich der Frage nach, welche prozentuale Verteilung von VRE bei den deutschen Nutztierbeständen besteht und in welchen Enterokokkenspezies diese Eigenschaft vorkommt. Bei der Gegenüberstellung der Resultate mit anderen Veröffentlichungen bestehen folgende Schwierigkeiten:

1. unterschiedliche MHK-Grenzwerte, die zugrundegelegt werden,
2. unterschiedliche Isolierungsmethoden in Bezug auf Anreicherung und Selektivnährböden,
3. anaerobe oder aerobe Bebrütung,
4. letztendlich der nicht immer sichere Ausschluß der Erfassung von *E. casseliflavus*- und *E. gallinarum*-Stämmen in den Untersuchungen, die anhand ihrer natürlichen low-level-Resistenz leicht mit zu den VRE gezählt werden können.

In der vorliegenden Studie wurden aus 44 % der Darmproben vom Masthähnchen VRE isoliert. Das Vorkommen von VRE bei Masthähnchen wurde in Dänemark, den Niederlanden, Norwegen, Belgien und Deutschland beschrieben. Lediglich in den USA fanden COQUE et al. (1996) bei Masthähnchen keine VRE. In den USA war allerdings niemals ein Vertreter der Glykopeptide zur Anwendung bei Nutztieren zugelassen. In der EU wurden die Glykopeptide erst Dezember 1996 verboten und in Dänemark Mai 1995. Da die vorliegende Studie sehr gut mit den Ergebnissen von RICHTER (1999) aufgrund der gleichen Isolierungsmethodik verglichen werden kann, ist die Aussage berechtigt, daß eine Abnahme der VRE von 88 % im Februar – Juli 1997 zu 44 % im November 1998 – Juli 1999 bei konventionellen Masthähnchenbeständen erfolgte. Diese Abnahme läßt sich durch das Verbot der Anwendung von Avoparcin als Leistungsförderer und dem damit sinkenden Selektionsdruck erklären. Der deutliche Rückgang der vancomycinresistenten Enterokokken in knapp zwei Jahren ist sicherlich durch die kurze Generationszeit der Enterokokken bedingt. Ebenso dürfte die geringe Lebensdauer der Masthähnchen von 32 - 39 Tagen sowie auch das Rein-Raus-Verfahren der Geflügelbetriebe eine Rolle spielen. RICHTER (1999) isolierte ausschließlich vancomycinresistente *E. faecium*-Stämme, während sich bei der vorliegenden Untersuchung die *E. durans*-Stämme als am stärksten vancomycinresistent qualitativ wie quantitativ darstellten. Im europäischen Vergleich sind die dänischen Masthähnchenbestände in geringem Umfang mit VRE belastet, während in den Niederlanden und in Belgien ähnlich hohe VRE-Vorkommen wie bei RICHTER (1999) gefunden wurden.

Für Mastrinder liegt nur eine einzige VRE-Untersuchung vor und zwar von WEGENER et al. (1997), bei der keine VRE nachgewiesen wurden. In der vorliegenden Studie konnten immerhin aus einer Probe 3 vancomycinresistente *E. faecium*-Stämme angezüchtet werden, dies bedeutet ein Vorkommen von 3 %. KRABISCH et al. (1999) fanden in Viertelvorgemelkproben laktierender Milchkühe in Bayern VRE, nämlich 5 vancomycinresistente *E. faecium*-Stämme und 3 vancomycinresistente *E. faecalis*-Stämme. Damit liegt die Prävalenz in der gleichen Größenordnung wie bei der eigenen Erhebung. Da Avoparcin auch als Leistungsförderer bei Mastrindern eingesetzt werden durfte, ist ein seltenes Vorkommen von VRE bei Rindern plausibel. Allerdings wurde für

Mastrinder häufiger Monensin als Leistungsförderer verwendet, weshalb sich Glykopeptidresistenzen nur vereinzelt ausprägten.

AARESTRUP (1995) fand bei dänischen Mastschweinen in 66 % der Proben VRE, während zwei Jahre später nach dem Verbot von Avoparcin WEGENER et al. (1997) mittels Anreicherung aus 15 % des Materials VRE isolierten. In Deutschland vermochten LEMCKE und BÜLTE (2000) keine VRE beim Mastschwein nachzuweisen. Dagegen wurden in der vorliegenden Studie zu 12,5 % VRE in Proben vom Mastschwein ermittelt. Diese Differenzen im Vorkommen der VRE in Deutschland lassen sich durch das unterschiedliche Probenmaterial erklären: LEMCKE und BÜLTE (2000) untersuchten Schweinefleisch, während in der vorliegenden Erhebung Tupferproben aus dem dicht besiedelten Darm genommen wurden. Mit den Ergebnissen der neueren dänischen Untersuchung gehen die Ergebnisse der hier vorgestellten Untersuchung konform. Auch für Mastschweine war Avoparcin als Leistungsförderer zugelassen und somit ist ein Vorkommen von VRE in Mastschweinen aufgrund des Selektionsdruckes im Darm zu erwarten.

## **5.4 Empfindlichkeitsprüfung**

### **5.4.1 Avilamycinresistenz**

Avilamycin ist ausschließlich für die Anwendung beim Schwein als Leistungsförderer zugelassen. Es ist somit erstaunlich, wie ähnlich die Ergebnisse bei den Tierarten ausfallen, denn der Avilamycinresistenzgrad der *E. faecium*-Stämme ähnelt sich mit 42 % beim Masthähnchen und 45 % beim Mastschwein außerordentlich und mit 26 % beim Jungrind unterscheidet er sich auch nicht bedeutend. Soweit bekannt, ist Avilamycin mit keinem Antibiotikum einer anderen Substanzklasse kreuzresistent. Die untersuchten *E. faecium*-Stämme besitzen einen deutlich höheren  $MHK_{90}$ -Wert als die aus Schweinen isolierten dänischen, finnischen und belgischen *E. faecium*-Stämme (Aarestrup 1995, Butaye 2001). Bei *E. faecalis*-Stämmen liegt die Resistenzrate beim Masthähnchen sogar knapp mit 20 % über der vom Mastschwein mit 17 %, wohingegen sich die *E. faecalis*-Stämme vom Jungrind nur zu 8 % resistent verhalten. Alle anderen untersuchten Enterokokkenarten weisen ebenfalls Avilamycinresistenzen auf und zeigen keine deutlichen Unterschiede zwischen den isolierten Stämmen vom Mastschwein und den anderen Tierarten. Auch die Literaturangaben geben keinen Anhaltspunkt für eine höhere Resistenzlage des Avilamycin beim Mastschwein als bei den übrigen Haustierarten. Diese noch unerklärlichen Avilamycinresistenzen, die in keinem Zusammenhang mit dem Einsatz von Leistungsförderern stehen, sollten weiter

untersucht werden, da im Moment Everninomicin, ein weiterer Vertreter der Gruppe der Orthosomycine, als mögliches erfolgreiches Therapeutikum gegen vancomycinresistente Enterokokken in der Diskussion steht.

#### **5.4.2 Bacitracinresistenz**

Im Fall des Bacitracin liegen die Resistenzraten von *E. faecium*-Stämmen und *E. faecalis*-Stämmen bei 76 % bzw. 94 % für Masthähnchen, während sie für Jungrinder und Mastschweine niedrigere Prozentsätze erreichen. Bei den vorliegenden Daten aus Dänemark, Norwegen, Finnland und Belgien (siehe Tabellen 7 – 18) ergaben sich gleichfalls sehr hohe MHK<sub>90</sub>-Werte für die aus Masthähnchen isolierten Stämme. Die MHK<sub>90</sub>-Werte für *E. faecium*-Stämme bei Rindern fallen in Dänemark sehr hoch aus, während sie nach BUTAYE et al. (2001) in etwa auf dem niedrigen Niveau der vorliegenden Untersuchung liegen. Bei *E. faecalis*-Stämmen von Rindern sind nach Literaturangaben die MHK<sub>90</sub>-Werte deutlich höher als in der eigenen Arbeit. Bei Enterokokken aus Schweinen sind die referierten MHK<sub>90</sub>-Werte hoch, lediglich BUTAYE et al. (2001) konnten bei den *E. faecalis*-Stämmen einen MHK<sub>90</sub>-Wert von 8 mg/l feststellen, der in etwa dem der eigenen *E. faecalis*-Stämme von 2 mg/l entspricht. Die Resistenzsituation für Bacitracin bei Enterokokken zeigte beim Masthähnchen sowohl nach Literaturangaben wie nach der vorliegenden Untersuchung ein hohes Maß an Unempfindlichkeit an. Die vorliegende Untersuchung hat allerdings gezeigt, daß die MHK-Werte von Bacitracin bei den Enterokokken für die anderen Tierarten nicht so hoch ausfallen, wie es die Erfahrungen anderer Autoren vermuten ließen. Eine intrinsische Resistenz der Enterokokken für Bacitracin kann man anhand der vorliegenden Daten ebenfalls verneinen, da sie bei allen Enterokokkenspezies auftreten müßte und nicht abhängig von der jeweiligen Tierart sein darf. Für die Humanmedizin besitzen die hier gewonnenen Resistenzdaten kaum Bedeutung, da dort Bacitracin nur lokal am Auge angewandt wird und die Ansiedlung resistenter aus Tieren stammender Enterokokken dort höchst unwahrscheinlich ist.

#### **5.4.3 Flavophospholipolresistenz**

Laut BUTAYE et al. (2001) besitzen eine Reihe von Enterokokkenspezies eine natürliche Resistenz gegen Flavophospholipol. Dazu gehören *E. faecium*, *E. hirae*, *E. casseliflavus*, *E. gallinarum*. Anhand der Daten von DANMAP, DUTTA und DEVRIESE (1982), AARESTRUP (2000a) sowie der Resultate der vorliegenden Untersuchung muß für die

*E. faecium*-Stämme aller untersuchten Tierarten das Vorliegen einer natürlichen hohen Resistenz bestätigt werden. Die oben genannten Studien weisen auf eine Empfindlichkeit der *E. faecalis*-Stämme für Flavophospholipol hin, lediglich einige wenige Isolate zeigten sich in der vorliegenden Untersuchung als resistent. Die überprüften *E. hirae*-, *E. casseliflavus*- und *E. gallinarum*-Stämme verhielten sich in hohem Maße gegen Flavophospholipol resistent, ein Befund, der zu den Ergebnissen von BUTAYE et al. (2001) paßt. Eine ausgeprägte Resistenzrate für Flavophospholipol erbrachten allerdings auch die *E. durans*-Stämme von Jungrinder und Mastschweinen, während die Resistenzrate mit 9 % für Masthähnchen niedrige Werte annahm. In der vorliegenden Studie konnten nur wenige *E. durans*-Stämme isoliert und untersucht werden, daher wären für eine definitive Aussage über eine natürliche Resistenz für Flavophospholipol weitere Erhebungen notwendig. Die *E. faecium*-Stämme besaßen eine recht unterschiedliche Resistenz gegen Flavophospholipol, daher ist bei ihnen von einer erworbenen statt natürlichen Resistenz auszugehen.

#### **5.4.4 Resistenz für die Ionophore Monensin und Salinomycin**

Bei den Substanzen Monensin und Salinomycin aus der Gruppe der Ionophore ergibt sich ein uneinheitliches Bild. Monensin zeigte bei allen untersuchten Enterokokkenspezies mit sehr hohen Resistenzraten von 50 – 100 % vertreten; dies entspricht der von DUTTA und DEVRIESE (1984) festgestellten natürlichen Resistenz für Monensin aller Enterokokkenspezies. Allerdings reichten die Werte nicht für eine natürliche Resistenz bei den Spezies *E. hirae* und *E. durans* aus. Gegenüber Salinomycin waren die *E. faecalis*-Stämme sehr empfindlich, auch *E. gallinarum*-Stämme und *E. casseliflavus*-Stämme zeichneten sich durch eine geringe Resistenzrate aus, während die Mitglieder der *E. faecium*-Gruppe (*E. faecium*, *E. durans* und *E. hirae*) eine Resistenzquote bis 42 % aufwiesen. In den dänischen, belgischen und norwegischen Studien (siehe Tabellen 7 – 18) fehlen Hinweise auf salinomycinresistente Stämme.

Für die Humanmedizin ist das Vorkommen von Ionophorresistenzen irrelevant, da kein Antibiotikum dieser Substanzklasse beim Menschen zum Einsatz kommt.

#### **5.4.5 Resistenz für die Streptogramine Virginiamycin und Synercid (Quinupristin/Dalfopristin)**

In der vorliegenden Untersuchung wurde die Empfindlichkeit der Enterokokken sowohl für Virginiamycin als auch für Synercid (Quinupristin/Dalfopristin) überprüft, obwohl sie beide der

gleichen Antibiotikaklasse angehören. Dabei stellte sich heraus, daß die einzelnen getesteten Enterokokkenstämme höchstens um eine Stufe beim MHK-Wert nach oben oder unten abwichen und somit die beiden Substanzen als 100 % kreuzresistent gelten dürfen. Virginiamycin war für alle drei Nutztierarten als Leistungsförderer zugelassen. Die *E. faecium*-Stämme zeigten hier eine Resistenz von circa 35 % bei Masthähnchen und Mastschweinen, während die Rate beim Jungrind nur 17 % betrug. Eine ähnliche Tendenz ergab sich bei den untersuchten *E. durans*-, *E. hirae*-, *E. casseliflavus*- und *E. gallinarum*-Stämmen in Bezug auf die drei Nutztierarten bei einer etwas höheren generellen Resistenzrate. Die *E. faecalis*-Stämme waren zu mehr als 86 % virginiamycinresistent, auch bei DANMAP sowie DUTTA und DEVRIESE (1982) liegen die  $MHK_{90}$ -Werte über 4 mg/l. Somit trifft die Annahme von einer natürlichen Resistenz von *E. faecalis* für Virginiamycin (DUTTA und DEVRIESE 1984) zu. Der  $MHK_{90}$ -Wert für die *E. faecium*-Stämme vom Masthähnchen lag auf der gleichen hohen Stufe wie in DANMAP 1998 und bei BUTAYE et al. (2001), auch beim Vergleich der erhobenen Daten mit den Literaturangaben für *E. faecium*-Stämme von Rind und Schwein bestehen keine deutlichen Unterschiede. Die humanmedizinische Bedeutung der Empfindlichkeit von Enterokokken für Virginiamycin liegt in der Diskussion um das Antibiotikum Synercid begründet. Dieses Präparat sollte als Reserveantibiotikum gegen vancomycinresistente Enterokokken eingesetzt werden. Angesichts der natürlichen Resistenz der *E. faecalis*-Spezies in Verbindung mit der low-level-Resistenz von *E. casseliflavus*- und *E. gallinarum* sowie der bereits recht hohen Resistenzraten bei Enterokokken isoliert aus landwirtschaftlichen Nutztieren dürfte Synercid langfristig keine große Wirksamkeit erlangen.

#### **5.4.6 Resistenz für die Makrolide Tylosin, Spiramycin und Erythromycin**

Erythromycin wird als Therapeutikum in der Veterinär- und Humanmedizin eingesetzt. Tylosin und Spiramycin sind dagegen Leistungsförderer für alle drei Nutztierarten. Untereinander verhalten sie sich alle kreuzresistent, denn die einzelnen getesteten Enterokokkenstämme wichen höchstens um eine Stufe beim MHK-Wert für die drei Antibiotika nach oben oder unten ab. Als Vertreter der Antibiotikasubstanzklasse der Makrolide braucht daher nur Erythromycin weiter betrachtet zu werden. Auffälligerweise bestand ein deutlich tierartenbestimmtes Resistenzverhalten. Bei Masthähnchen erreichten alle Spezies Resistenzraten von 54 – 95 %, während es beim Mastschwein 25 - 53 % und beim Jungrind sogar nur 24 - <1 % war. Diese Differenzen beruhen sicherlich auf unterschiedliche Fütterungs- und Verabreichungsmodalitäten für Makrolide bei den verschiedenen Nutztierarten. Ein Vergleich der gewonnenen Erythromycindaten für die

*E. faecium*- und *E. faecalis*-Stämme aus Masthähnchen mit den  $MHK_{50}$ -Werten von >256 mg/l gegenüber den  $MHK_{50}$ -Werten von DANMAP 1999 mit 1 mg/l und 2 mg/l zeigt, wie viel höher das deutsche Resistenzniveau lag. Daten von belgischem Geflügel existieren nur für Tylosin, hier liegt der  $MHK_{50}$ -Wert für *E. faecium*-Stämme und für *E. faecalis*-Stämme bei 32 mg/l, somit auf mittlerem Niveau. Die von der Paul-Ehrlich-Gesellschaft 1998 (siehe Tabelle 19) bei humanen Populationen ermittelten  $MHK_{50}$ -Werte für Erythromycin betragen für die *E. faecium*-Stämme 64 mg/l und für die *E. faecalis*-Stämme 4 mg/l. Die Werte der Enterokokken liegen unter denen der von den Enterokokken aus Masthähnchen gewonnenen Stämme, somit sind bei den untersuchten menschlichen Patienten ausgeprägte Resistenzen für Makrolide vorhanden, die aber deutlich von denen aus Masthähnchenbeständen übertroffen wurden und nahe bei denen aus Jungrindern- und Schweinebeständen lagen.

Eine besondere Eigenschaft der Makrolide ist ihre Kreuzresistenz mit den Streptograminen, die sich auch in den gewonnenen Daten nachvollziehen lässt. Daneben besteht eine teilweise Kreuzresistenz mit den Glykopeptiden sowie eine Kreuzresistenz mit den Lincosamiden.

#### **5.4.7 Resistenz für einige Antibiotika der $\beta$ -Lactam-Gruppe**

Die untersuchten *E. faecalis*-Stämme reagierten bei allen drei Tierarten empfindlich auf Ampicillin, Penicillin und Augmentan. Diese Ergebnisse entsprachen den Angaben der  $MHK_{90}$ -Werte für Ampicillin und Penicillin von DANMAP und BUTAYE et al. (2001). Im Unterschied zu den genannten Quellen wurden bei den *E. faecalis*-Stämme der vorliegenden Untersuchung jedoch überhaupt keine resistenten Stämme gefunden. Für Augmentan liegen aus Dänemark und Belgien allerdings keine Daten vor. Die Sensibilität der untersuchten *E. faecalis*-Stämme für Augmentan (Amoxicillin/Clavulansäure) und Ampicillin stimmte mit den Ergebnissen der Untersuchung der Paul-Ehrlich-Gesellschaft aus dem Jahr 1998 (siehe Tabelle 19) überein.

Völlig anders als bei den *E. faecalis*-Stämmen stellte sich die Resistenzsituation bei den untersuchten *E. faecium*-Stämmen für die drei Antibiotika dar. Beim Mastschwein lag der  $MHK_{90}$ -Wert für Penicillin bei 64 mg/l, 33 % waren hier resistent, während in der Untersuchung von DANMAP 2000 der  $MHK_{90}$ -Wert 16 mg/l lautete. Somit fiel der Grad der Penicillinresistenz für die *E. faecium*-Stämme aus Mastschweinen in Deutschland deutlich höher als in Dänemark aus. Auch die  $MHK_{90}$ -Werte der untersuchten *E. faecium*-Stämme

lagen mit 16 mg/l höher als die Daten von DANMAP 1997 sowie BUTAYE et al. (2001). Diese Unterschiede lassen sich wahrscheinlich mit einer anderen Medikationspraxis in deutschen Schweinebeständen im Gegensatz zu dänischen oder belgischen Betrieben erklären. Die untersuchten aus Jungrindern isolierten *E. faecium*-Stämme wiesen den gleichen Grad an Penicillinresistenz auf, wie er in der Untersuchung von DANMAP 1998 festgestellt wurde. Einen weiteren Anstieg der Penicillinresistenz, welcher in der dänischen *E. faecium*-Population zwischen 1997 und 2000 festgestellt wurde, lassen die in der vorliegenden Studie gewonnenen Daten nicht erkennen, hier ist vielmehr von einer konstanten Situation auszugehen. Bei den von Jungrindern gewonnenen *E. faecium*-Stämmen erreichte das Niveau der Penicillin- und Ampicillinresistenz die gleiche Höhe wie die der untersuchten dänischen und belgischen Bestände. Anders lagen die Verhältnisse bei den Stämmen aus Mastgeflügel: die untersuchten *E. faecium*-Stämme waren zu 76 % penicillinresistent mit einem  $MHK_{90}$ -Wert bei 64 mg/l. DANMAP gab im Verlauf der Untersuchungen einen  $MHK_{90}$ -Wert von zuerst 16 und später 32 mg/l an. Generell existierte eine klar ausgeprägte Penicillinresistenz bei den untersuchten *E. faecium*-Stämmen für alle drei Tierarten, am stärksten war sie bei Masthähnchen ausgeprägt. Diese Resistenzsituation läßt sich sicherlich auf die breite Anwendung von der  $\beta$ -Lactamgruppe als Therapeutikum zurückführen. Unerklärlich bleibt der große Unterschied zwischen der Resistenz für die  $\beta$ -Lactamgruppe bei den *E. faecium*- und *E. faecalis*-Stämme. Einzig mögliche Begründung wäre, daß die *E. faecalis*-Stämme nicht so schnell in der Lage sind, eine Resistenz gegen die  $\beta$ -Lactamgruppe aufzubauen. Diesem Denkansatz widerspricht aber der fehlende Resistenzanstieg bei den *E. faecium*-Stämmen.

#### **5.4.8 Chloramphenicolresistenz**

Erstaunen muß die Chloramphenicolresistenzrate bei Enterokokken in Höhe von 2 – 22 % für die untersuchten Stämme der drei Tierarten. Chloramphenicol ist seit mehr als einem Jahrzehnt für die Anwendung bei Nutztieren nicht mehr zugelassen, auch keine andere Substanz der gleichen Antibiotikaklasse steht derzeit für lebensmittelliefernde Tiere zur Verfügung. In der Literatur wird auch nicht von einer natürlichen Resistenz gesprochen, vielmehr wird lediglich eine erworbene Resistenz (MURRAY 1990) beschrieben. Die Populationen der verschiedenen Enterokokkenspezies zeigten für diese Resistenz mehrheitlich ein konstantes Niveau beim Masthähnchen sogar steigend. Antibiotikaresistenzen, die nicht mehr von den Bakterien benötigt werden, verschwinden normalerweise nach einigen Generationen wieder aus dem Genpool der Keime. In den Antibiotikaresistenz-erhebungen von DANMAP lagen die  $MHK_{90}$ -Werte für Chloramphenicol auf einem

niedrigeren Niveau als in der vorliegenden Untersuchung, und zwar auch unter dem festgelegten Grenzwert für Resistenz. Nach mehr als einem Jahrzehnt des Verlustes der Zulassung von Chloramphenicol und dem Fehlen einer Kreuzresistenz hätte diese Eigenschaft verloren gehen müssen, es sei denn, man muß von illegaler Verwendung in der Tiermast ausgehen. Hierzu könnte der nationale Antibiotikarückstandskontrollplan Aufschluß geben.

#### **5.4.9 Tetracyclinresistenz**

Die Resistenzrate von den *E. faecium*-, *E. durans*-, *E. hirae*-, *E. gallinarum*-, *E. casseliflavus*-Stämmen für Tetracyclin fiel beim Masthähnchen mit mehr als 91 % der untersuchten Stämme sehr hoch aus, bei den anderen untersuchten Nutztierarten lagen sie im mittleren Bereich. Bei den *E. faecalis*-Stämmen erreichte die Resistenzrate für Tetracyclin 20 – 41 %. Dieses hohe Niveau der Tetracyclinresistenz stimmte mit den durch DANMAP erfassten *E. faecium*-Stämmen beim Masthähnchen nicht überein. Ähnlich wie die vorliegenden Resistenzraten für Tetracyclin verhielten sich aber die belgischen Daten von BUTAYE et al. (2001). Hieraus lassen sich Unterschiede in der Applikationspraxis von deutschen und belgischen zu dänischen Beständen ableiten. Die bovinen *E. faecium*-Stämme von DANMAP bewegten sich mit den vorliegenden Daten auf gleichem Niveau, während die belgischen Stämme im Resistenzniveau höher lagen, allerdings war hier die Population mit 10 überprüften Stämme auch sehr klein. Anders stellte sich das Bild bei den isolierten *E. faecium*-Stämmen aus Schweinen dar, denn der  $MHK_{50}$ -Wert lag in den vorliegenden Untersuchungen bei 0,5 mg/l, bei den von DANMAP untersuchten Stämme bei 32 mg/l und bei den Isolaten von BUTAYE et al. (2001) 128 mg/l. Möglicherweise wird in Deutschland weniger Tetracyclin verabreicht.

#### **5.4.10 Chinolonresistenz (Enrofloxacinresistenz)**

Zur Gruppe der Chinolone zählt Enrofloxacin, das ausschließlich in der Veterinärmedizin eingesetzt wird. Es verhält sich kreuzresistent mit dem in der Humanmedizin verwendeten Ciprofloxacin. Bei Enrofloxacin fiel auf, daß die Resistenzraten der einzelnen Spezies sich auf einem etwa gleichen Niveau für die verschiedenen Nutztierarten bewegten und daß generell die Resistenzraten um die 50 % lagen. Eine Ausnahme bildeten die relativ empfindlichen *E. casseliflavus*-Stämme. Bei den untersuchten *E. faecalis*-Stämmen betrug der  $MHK_{50}$ -Wert für alle Tierarten 1 mg/l und war somit in etwa vergleichbar mit den Daten von BUTAYE et al. (2001). Ähnliches galt für das Verhältnis bei den untersuchten

*E. faecium*-Stämmen mit den  $MHK_{50}$ -Werten für alle Tierarten bei 4 mg/l. Generell ist die Resistenzsituation bei Enterokokken aus Nutztieren nicht günstig einzuschätzen und lässt sich nach den Angaben der Paul-Ehrlich-Gesellschaft (siehe Tabelle 19) mit der Situation in der deutschen Humanmedizin vergleichen.

#### **5.4.11 Resistenz für die Aminoglykoside Streptomycin und Gentamicin**

Die untersuchten Enterokokken waren beinahe unempfindlich gegenüber Streptomycin. Allerdings wurde nicht auf Hochresistenz gegenüber Streptomycin überprüft. Im Vergleich zu den Angaben der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für die Enterokokken aus der deutschen Humanmedizin zeigten die Daten der vorliegenden Erhebung eine geringe Resistenz der Enterokokken an, da bei den Human-Stämmen sowohl für Streptomycin wie auch für Gentamicin nur noch nach hochresistenten Stämmen mit einem  $MHK$ -Wert von über 500 mg/l gesucht wird. Der festgestellte  $MHK_{50}$ -Wert für Streptomycin der untersuchten *E. faecium*-Stämme mit 128 mg/l beim Masthähnchen sowie 16 mg/l bei Mastschwein und Jungrind entsprach in etwa dem  $MHK_{50}$ -Wert von DANMAP mit 128 mg/l, während BUTAYE et al. (2001) einen wesentlich höheren  $MHK_{50}$ -Wert für Streptomycin mit 1.000 mg/l beim Schwein feststellten. Somit lag das Resistenzniveau für die untersuchten *E. faecium*-Stämme von Mastschwein und Jungrind unter dem der genannten Studien. Bei den überprüften *E. faecalis*-Stämmen ergaben sich keine großen Resistenzunterschiede zwischen den Isolaten aus den verschiedenen Tierarten. Der  $MHK_{50}$ -Wert der untersuchten *E. faecalis*-Stämme lag bei 16 - 32 mg/l, wohingegen er bei DANMAP 1999 bei 128 mg/l lag, und BUTAYE et al. (2001) einen noch wesentlich höheren  $MHK_{50}$ -Wert für Streptomycin mit 1.000 – 2000 mg/l feststellten. Somit lässt das niedrige Resistenzniveau der deutschen Enterokokken-Stämme auf eine zurückhaltende Verabreichungspraxis der Veterinäre für Streptomycin schließen.

Für Gentamicin ergab sich sowohl bei den eigenen Enterokokkenstämmen als auch im Verlaufe der DANMAP-Studie eine andere Resistenzsituation als für Streptomycin. Die  $MHK_{50}$ -Werte haben sich bei allen Enterokokken und bei sämtlich untersuchten Tierarten vom Berichtsjahr von DANMAP 1997 zu 2000 um bis zu vier Stufen nach oben auf einen  $MHK_{50}$ -Wert von 128 mg/l gesteigert. Bei der vorliegenden Untersuchung betragen die  $MHK_{50}$ -Werte von Gentamicin bei den *E. faecium*-Stämmen 1 mg/l und bei den *E. faecalis*-Stämmen 2 - 4 mg/l. Hieraus kann eine sehr zurückhaltende Verabreichungspraxis der Veterinäre für Gentamicin abgeleitet werden.

#### **5.4.12 Resistenz für die Sulfonamid-Trimethoprim-Verbindung Cotrimoxazol**

Die untersuchten *E. faecalis*-Stämme wiesen gegenüber Cotrimoxazol Resistenzraten von 10 – 24 % auf, während die *E. faecium*-Stämme eine Resistenzquote von 27 – 50 % besaßen. Allgemein war bei den Enterokokken die Resistenzsituation für Sulfonamid-Trimethoprimverbindungen als günstig zu beurteilen, obgleich leider keine Vergleichsdaten aus tierischen Beständen existierten. Beim Vergleich mit den Daten der Paul-Ehrlich-Gesellschaft stellt sich für die *E. faecalis*-Stämme die Resistenzlage für alle Tierarten ähnlich dar, während bei den untersuchten *E. faecium*-Stämme isoliert aus Mastschweinen das Resistenzniveau wesentlich höher ausfiel als bei den Enterokokken aus der Humanmedizin. Schwierig zu bewerten ist die Empfindlichkeit bei Cotrimoxazol, weil die Resistenz invitro meist niedrig ist, aber invivo hohe Werte annimmt, da die Enterokokken mittels Folsäure von exogenen Quellen die Wirkung von Cotrimoxazol abschwächen können (MOELLERING, 1992).

#### **5.4.13 Tiamulinresistenz**

Tiamulin wird ausschließlich in der Veterinärmedizin eingesetzt und die Enterokokken besaßen einen hohen Grad an Resistenz gegenüber dieser Substanz. Vergleichsdaten aus der Literatur lagen nicht vor. Bei Tiamulin ist von einer natürlichen Resistenz der Enterokokken auszugehen.

### **5.5 Zusammenfassung der Chemotherapeutikaresistenz der untersuchten Enterokokkenisolate**

Aufgrund der vorliegenden Daten zur Empfindlichkeit gegenüber einigen Chemotherapeutika ergaben sich für Enterokokken einige Umgruppierungen in bezug auf natürliches und erworbenes Resistenzverhalten (siehe Tabellen 38 und 39). Zum einen beziehen sich diese Umgruppierungen auf den gesamten Genus der Enterokokken, wobei in der vorliegenden Untersuchung nur die Spezies *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. durans*, *E. hirae*, *E. gallinarum* und *E. casseliflavus* untersucht wurden. Zum anderen waren nur einzelne Spezies betroffen. Als natürlich resistent wird eine unimodale Population angesehen, die mit 90 % der Stämme über dem Grenzwert liegt.

**Tabelle 38: Übersicht von Resistenzen und Empfindlichkeiten der untersuchten Enterokokken gegenüber Chemotherapeutika**

<b>Art der Resistenz bzw. Empfindlichkeit</b>	<b>Betroffene Chemotherapeutikagruppen bzw. Einzelchemotherapeutika nach Literaturangabe (siehe Tabelle 3)</b>	<b>Betroffene Chemotherapeutikagruppen bzw. Einzelchemotherapeutika nach vorliegender Untersuchung</b>
<b>Natürliche Resistenz</b>	Cephalosporine	nicht untersucht
	Aminoglykoside (low-level)	Aminoglykoside (low-level)
	Polymyxine	nicht untersucht
	Lincomycin, Clindamycin	nicht untersucht
	β-Lactame	nicht festgestellt
	Monensin	außer <i>E. hirae</i> und <i>E. durans</i>
		Tiamulin
<b>Erworbene Resistenz</b>	Makrolide	Makrolide
	Tetrazykline	Tetrazykline
	Chloramphenicol	Chloramphenicol
	Trimethoprim-/Sulfonamid-Kombination	Trimethoprim-/Sulfonamid-Kombination
	Bacitracin	Bacitracin
	Penicillin und Ampicillin (β-Lactamase)	Penicillin und Ampicillin (β-Lactamase)
	Aminoglykoside (high-level)	nicht festgestellt
	Glykopeptide	Glykopeptide
		Avilamycin
		Chinolone

**Tabelle 39: Übersicht von zusätzlichen natürlichen Antibiotikaresistenzen einzelner Enterokokkenspezies gegenüber Chemotherapeutika**

<b>Enterokokkenspezies mit zusätzlicher natürlicher Resistenz</b>	<b>Betroffene Chemotherapeutikagruppen bzw. Einzelchemotherapeutika nach Literaturangabe (siehe Tabelle 4)</b>	<b>Betroffene Chemotherapeutikagruppen bzw. Einzelchemotherapeutika nach vorliegender Untersuchung</b>
<b><i>E. faecium</i></b>		
	Flavophospholipol	erworben
<b><i>E. faecalis</i></b>		
	Virginiamycin	Virginiamycin
<b><i>E. casseliflavus</i>, <i>E. gallinarum</i></b>		
	Vancomycin (low-level)	Vancomycin (low-level)
	Flavophospholipol	Flavophospholipol
		Virginiamycin (low-level)
<b><i>E. hirae</i></b>		
	Flavophospholipol	Flavophospholipol
	Monensin	erworben
<b><i>E. durans</i></b>		
	Monensin	erworben

## 5.6 Zur Verwendung von antimikrobiellen Leistungsförderern in der Tierproduktion

Die Gabe von antimikrobiellen Leistungsförderern bezweckt zum einen besseres Wachstum von ca. 2 - 20 % in Abhängigkeit von Alter und Art der Nutztiere und zum anderen eine Steigerung der Futtermittelverwertung von 3 – 8 %. Folglich besteht ein starkes wirtschaftliches Interesse am Einsatz von Leistungsförderern in der Tierproduktion. Aufgrund des Einsatzes von Antibiotika als Leistungsförderer entstehen jedoch bei den Bakterien gegen diese Substanzen Resistenzen. Dieses Problem wurde am Beginn des Einsatzes der Leistungsförderer vor ca. 50 Jahren vernachlässigt, zumal man damals glaubte, immer neue wirksame Antibiotikaklassen nutzbar machen zu können. In den letzten zwanzig Jahren hat sich herausgestellt, daß hier eine Fehleinschätzung vorliegt. Mit dem Auftreten multiantibiotikaresistenter Keime, z. B. wie den methicillin-resistenten Staphylokokken in der Humanmedizin, wurde die Gefahr der Resistenzentwicklungen immer bedrohlicher. Mittlerweile sind alle Antibiotika, die als Chemotherapeutika beim Menschen eingesetzt werden oder für die Kreuzresistenz gegen beim Menschen verwendete Therapeutika besteht, nicht mehr in dieser Indikation als Leistungsförderer in der EU zugelassen. Avoparcin ist seit April 1997 in der EU verboten, Virginiamycin, Bacitracin, Spiramycin und Tylosin seit Juli 1999.

Aufgrund der Aufhebung der Zulassung für die oben genannten Leistungsförderer wird nunmehr ein Rückgang der resistenten Bakterien erwartet. Am Fall von Avoparcin konnte die vorliegende Studie mit einer Glykopeptidresistenz von 44 % bei den Masthähnchen zu ehemals 88 % in der Studie von RICHTER (1999) die Abnahme des Vorkommens im Zeitraum von anderthalb Jahren klar belegen. Für die anderen nicht mehr zugelassenen Leistungsförderer ließ sich in der vorliegenden Studie nur der Status der Resistenzlage vor dem Ende der Zulassung erfassen. Mit einer Abnahme der erworbenen Antibiotikaresistenzen ist bei Wegfall des Selektionsdruckes zu rechnen, allerdings ist der Zeitfaktor unbekannt. In Schweden hat man sich bereits 1986 entschlossen, völlig auf die Zugabe von antimikrobiellen Leistungsförderern zu verzichten, um keine unnötigen Antibiotikaresistenzen zu provozieren. Im Gegensatz dazu sind in der EU noch einige Antibiotika als Leistungsförderer zugelassen, weil sie im Moment nicht als für therapeutisch wichtig beim Menschen erachtet werden. Zu diesen Pharmaka zählt auch Avilamycin, aus der gleichen Substanzklasse wie Everninomicin. Da Everninomicin mittlerweile als Reserveantibiotikum für die Humanmedizin vorgehalten wird, müsste somit Avilamycin gleichfalls die Zulassung als Leistungsförderer entzogen werden.

Angesichts der deutlichen Resistenzen der untersuchten Enterokokken für die Leistungsförderer und der nicht zu prognostizierenden Entwicklung neuer Antibiotikaklassen ist sicherlich mit den vorhandenen Therapeutika schonend umzugehen, d. h. sie sind

generell nicht mehr als Leistungsförderer einzusetzen. Die deutlichen wirtschaftlichen Nachteile für die Tierproduktion müssen folglich in Kauf genommen werden. Am Beispiel Schweden läßt sich indessen ablesen, daß auf Leistungsförderer in der Tierproduktion verzichtet werden kann, sofern die Haltungsbedingungen und Besatzdichte der Tiere verbessert werden.

### **5.7 Zur Verwendung von Antibiotika für therapeutische Zwecke für Nutztiere**

Im Rahmen des Verbotes der Leistungsförderer für die Tierproduktion erhebt sich die weitergehende Frage, ob überhaupt Antibiotika an Nutztiere verabreicht werden sollen. Das Fleisch von Rind, Schwein und Geflügel dient dem menschlichen Verzehr. Über die Nahrungsmittelkette können dabei Bakterien mit Antibiotikaresistenzen zum Menschen gelangen, sich in der Darmflora des Menschen ansiedeln und entweder ihre Antibiotikaresistenz an pathogene Keime abgeben oder im Falle einer Immunschwäche selber eine Gefahr für den Menschen werden. In der vorliegenden Studie ist das Vorhandensein multiresistenter *E. faecium*-Stämme (Tabelle 31) im Darm von Masthähnchen, Jungrind und Mastschwein nachgewiesen. Hier müßte sicherlich eine Risikobewertung durchgeführt werden, und zwar zur Wahrscheinlichkeit der Übertragung über die Nahrungsmittelkette vom Tier zum Menschen sowie zur Häufigkeit der Weitergabe der Information zur Antibiotikaresistenz an andere pathogene Bakterienspezies des Menschen. Die Möglichkeit der Weitergabe der Glykopeptidresistenz von Enterokokken an methicillin-resistente Staphylokokken ist sowohl invitro (NOBLE et al., 1992) wie invivo (VAUDAUX et al., 2001) nachgewiesen worden, die Wahrscheinlichkeit hierzu konnte aber nicht quantifiziert werden. Weiterhin stellten VAN DEN BOGAARD et al. (1997) in den Niederlanden fest, daß derselbe vancomycinresistente *E. faecium*-Stamm im Intestinum von Puten und im Darm des Farmers vorkam, was die Möglichkeit einer Übertragung beweist. Die Aufnahme antibiotikaresistenter Enterokokken über die Nahrungsmittelkette konnte bisher nicht konkret erfaßt werden. Hinweise hierzu gibt aber die Studie von SCHOUTEN et al. (1997), die bei Vegetariern im Gegensatz zu Fleischessern keine glykopeptidresistenten Enterokokken fanden. Daß die Wahrscheinlichkeit der Aufnahme glykopeptidresistenter Enterokokken über das Fleisch nicht sehr groß ist, illustriert die doch andere Antibiotikaresistenzverteilung beim Menschen einerseits und der Nutztiere in der vorliegenden Studie andererseits. Bei Würdigung der geringen Zahlen von Enterokokken, die von der Schlachtkörperoberfläche des Jungrindes und des Mastschweines isoliert wurden, dürfte sicherlich auch durch eine gute Schlachthygiene schon einiges an Gefahren beseitigt worden sein. Zur endgültigen Risikobewertung gehört sicherlich auch ein umfassendes

Monitoring der vorhandenen Antibiotikaresistenzen in den Nutztierbeständen, wozu die vorliegende Studie als Grundlage genutzt werden kann.

### **5.8 Zur Verwendung von Enterokokken als Probiotika und Starterkulturen für die Wurst-, Käse- und Joghurtherstellung**

Enterokokken werden sowohl als Probiotika für die Tierproduktion als auch beim Menschen eingesetzt. Sie gelangen somit zum Teil direkt und bewußt in den menschlichen Verdauungstrakt. Für Probiotika sind sicherlich die Zulassungskriterien in Richtung auf Antibiotikaresistenzen zu verbessern. Selbstverständlich bedarf es auch eine laufende Kontrolle der im Einsatz befindlichen Probiotika unter Berücksichtigung der schon lange eingeführten Stämme. Die Starterkulturen für Wurst-, Käse- und Joghurtherstellung gelangen gleichfalls unmittelbar in den menschlichen Verdauungstrakt und bilden somit auch potentielle Gefahrenquellen für die Weitergabe von Antibiotikaresistenzen. Folglich benötigen auch sie eine ständige Überwachung.

### **5.9 Ergebnisse der Untersuchung von Enterokokken mittels PFGE**

Die Untersuchung der Enterokokken mittels Pulsfeldgelelektrophorese zielte in zwei Richtungen: zum einen sollte den Speziesunterschieden, wie sie sich bei dieser Methode manifestieren, im Pulsfeld nachgegangen werden. Zum anderen war der Verwandtschaftsgrad der mit einer Vancomycinresistenz versehenen *E. faecium*-Stämme zu überprüfen. Diese beiden Aufgaben konnten mit der angewandten Methodik der Pulsfeldgelelektrophorese gelöst werden.

Die *E. faecalis*-Stämme besaßen von den untersuchten Enterokokken die schwersten DNAfragmente und zwar meist bei 488 kb. Dieser Befund entsprach den Feststellungen von DONABEDIAN et al. (1995), während MURRAY et al. (1990) mit der Angabe von einem Kilobasenbereich 30 - 400 für die untersuchten *E. faecalis*-Stämme sehr niedrig lagen.

Kleiner als 339,5 kb erwiesen sich die DNAfragmente der *E. faecium*-Stämme, was sich mit den Angaben von DONABEDIAN et al. (1995) deckt.

Die untersuchten *E. durans*-Isolate besaßen DNAfragmente im Kilobasenbereich von 388 bis < 48,5. Die fünf *E. hirae*-Isolate bewegten sich mit Ihren Banden in einem Kilobasenintervall von 388 bis 23,1 kb. Die *E. durans*-Stämme und die *E. hirae*-Stämme

lagen somit nicht in der von DESCHEEMAEKER et al. (1997) beschriebenen Größenordnung mit einem Maximum über 400 kb, sondern nur bis 388 kb. Damit waren sie doch deutlich von den Spezies *E. faecalis* und *E. faecium* unterscheidbar. Eine Speziesdifferenzierung zwischen *E. durans* und *E. hirae* ließ sich allerdings aufgrund der Bandenunterschiede mittels Pulsfeldgelelektrophorese nicht treffen.

Die *E. gallinarum*-Stämme zeigten in der vorliegenden Untersuchung mehrheitlich keine DNAfragmente größer als 200 kb, wie auch von DONABEDIAN et al. (1995) und DESCHEEMAEKER et al. (1997) festgestellt. Die *E. gallinarum*-Stämme liefen nicht günstig im vorhandenen Pulsfeld, hier ist eine Änderung der Methodik sicherlich empfehlenswert, wie auch schon von DONABEDIAN et al. (1995) und DESCHEEMAEKER et al. (1997) vorgeschlagen. Wenn man sich nicht von der Pulsfeldmethodik trennen will, kann vielleicht über eine erhöhte DNAMasse im Blöckchen eine Verbesserung erreicht werden.

Für die untersuchten *E. casseliflavus*-Stämme ergab sich ein uneinheitliches Bild, weil hier die Größenbereiche innerhalb der Spezies stark schwankten. Von den untersuchten sechs Stämmen lagen drei unter 200 kb und drei bei 300 kb. Die Werte deckten sich mit den Untersuchungsergebnissen von DONABEDIAN et al. (1995). Wegen der starken Streuung wären weitere Untersuchungen erforderlich. Charakteristisch ist anscheinend die hohe Anzahl der Banden der *E. casseliflavus*-Stämme.

Aufgrund der unterschiedlichen Kilobasenbereiche der verschiedenen Enterokokkenspezies und der charakteristisch hohen Anzahl der Banden der *E. casseliflavus*-Stämme ermöglichte die Pulsfeldgelelektrophorese eine gute Speziesdifferenzierung, wie auch von DONABEDIAN et al. (1995) konstatierten. Als Ersatz für die biochemische Differenzierung eignet sich das Verfahren aber nicht, da die Aufbereitung der Stämme und die Materialien hohe Kosten verursachen. Für Fragenstellungen, die Informationen zum Verwandtschaftsgrad der Enterokokkenisolate benötigen, bietet sicherlich die Speziesdifferenzierung ein wertvolles Zusatzergebnis.

Die vorliegenden vancomycinresistenten *E. faecium*-Isolate erwiesen sich mehrheitlich als sehr heterogen. Diese Erfahrung machten auch LEMCKE und BÜLTE (2000). Lediglich die Stämme G051vb und G051vc erwiesen sich mit 86 % als verwandt. Allerdings stammten sie auch aus der gleichen Probe aus dem Darm vom gleichen Masthähnchen. Die Stämme CVS211a und CS191vc zeigten sich als zu 88 % verwandt. Sie wurden vom Darm zweier unterschiedlicher Mastschweine isoliert, die Proben wurden jedoch auf dem gleichen Schlachthof am selben Tag genommen. Um die Verwandtschaft weiter abzusichern, wäre für

diese beiden Stämme sicherlich die zusätzliche Untersuchung mit einer andersschneidenden Restriktionsendonuclease empfehlenswert. Mögliche Erklärungen bei erhärtetem Nachweis der Verwandtschaft wäre eine Schlachthofkontamination oder eine gemeinsame Ferkelaufzucht für diese beiden Mastschweine aus unterschiedlichen Mastbetrieben.

## 6. Schlußfolgerungen

1. Die Zugabe antimikrobieller Leistungsförderer zum Tierfutter ist aufgrund der nachgewiesenen Antibiotikaresistenzen der Enterokokken aus deutschen Nutztierbeständen abzulehnen.
2. Dem Einsatz von Antibiotika im Krankheitsfall bei Nutztieren ist bei einer Risikoabwägung und unter Tierschutzaspekten weiter zuzustimmen. Hier muß aber die weitere Durchsetzung der Leitlinien für den sorgfältigen Umgang mit antimikrobiell wirksamen Tierarzneimitteln (BUNDESTIERÄRZTEKAMMER, 2000) gefordert werden. Im Bereich der Masthähnchenproduktion sollte die Menge des Einsatzes von Antibiotika angesichts der in dieser Studie festgestellten besonders hohen Antibiotikaresistenzraten sofort auf ihre Notwendigkeit überprüft werden.
3. Die Gefahr der Aufnahme von multiresistenten Enterokokken durch den Menschen über die Nahrungsmittelkette ist zu beachten. Speziell immungeschwächten Menschen wäre u. a. vom Verzehr nicht durchgegarter Fleischprodukte abzuraten.
4. Beim Einsatz von Enterokokken als Starterkulturen in der Käse-, Joghurt- oder Wurstherstellung sowie als Probiotika sind die Antibiotikaresistenzeigenschaften dieser Enterokokken laufend zu überwachen.
5. Der Aufbau eines nationalen Antibiotikaresistenzmonitorings nicht nur für pathogene Mikroorganismen sondern auch für Indikatorkeime, wie die Enterokokken, nach international vergleichbaren Kriterien ist zu fordern, da nur so die nötige Lenkung des Antibiotikaeinsatzes erfolgen kann.