

## **5. Schlußfolgerungen**

1. Glykopeptidresistente Enterokokken des *vanA*-Resistenztypes kamen bei Mastrindern und in Lebensmitteln, die von Rind und Schwein gewonnen worden waren, nicht vor. Bei Mastschweinen zeigten nur 9% der *E. faecium*-Isolate diesen Resistenztyp (bei geringer Probenzahl [n=35]). Ein Zusammenhang mit dem 1996 erfolgten Verbot des Leistungsförderers Avoparcin erscheint wahrscheinlich.
2. Resistenzen gegen die in der Humanmedizin bei Enterokokkeninfektionen bewährten Antibiotika Ampicillin, Amoxicillin/Clavulansäure und Gentamicin traten bei Enterokokken vom Rind nicht und bei Enterokokken vom Schwein und aus Lebensmitteln nur in sehr geringem Umfang auf. Die Gefahr für den Verbraucher kann in dieser Hinsicht als gering eingeschätzt werden.
3. Ein großer Anteil der *E. faecium*-Isolate von Rind, Schwein und aus Lebensmitteln verhielt sich resistent gegenüber Quinupristin/Dalfopristin. Dies ist aus Sicht des Verbraucherschutzes problematisch. Es besteht möglicherweise ein Zusammenhang zu dem Leistungsförderer Virginiamycin, dessen Zulassung jedoch widerrufen wurde.
4. Insbesondere *E. faecium*-Isolate sowohl von Rind und Schwein als auch aus Lebensmitteln tragen oftmals Resistenzen gegen eine Vielzahl von antimikrobiell wirksamen Substanzen.
5. Das Mikrodilutionsverfahren im Sensititre-System erzielt gut reproduzierbare Ergebnisse, die einen Vergleich mit anderen Untersuchungen ermöglichen.
6. Das Risiko für den Verbraucher, über Enterokokken in Lebensmitteln Antibiotikaresistenzen aufzunehmen, kann für die bei Enterokokkeninfektionen in erster Linie eingesetzten Antibiotika als gering, für andere therapeutisch wichtige Antibiotika (Erythromycin, Tetrazyklin) jedoch im Vergleich dazu als größer eingeschätzt werden.

## **6. Zusammenfassung**

Innerhalb der letzten Jahre ist eine Zunahme der Infektionen mit *Enterococcus* spp., insbesondere *E. faecalis* und *E. faecium*, in der Humanmedizin zu beobachten. Gleichzeitig kommen Resistenzen gegen wichtige Antibiotika bei dieser Bakteriengattung mit steigender Häufigkeit vor. Ein Zusammenhang mit dem Einsatz von Antibiotika in der Haltung landwirtschaftlicher Nutztiere wird diskutiert.

Vor diesem Hintergrund sollte in der vorliegenden Arbeit das Resistenzverhalten von Enterokokkenstämmen untersucht werden, die von Rind und Schwein sowie aus von diesen Tierarten gewonnenen Lebensmitteln isoliert wurden. Als Lebensmittel wurden für die Untersuchung insbesondere Hackfleisch, Rohwurst, Schinken und Weichkäse ausgewählt, da in diesen ein Vorkommen von Enterokokken tierischen Ursprungs theoretisch möglich ist und diese zum Rohverzehr bestimmt sind. Bundesweit wurden 60 Rinderherden (Jungbullen und Kälber), 97 Schweineherden sowie 166 Lebensmittelproben untersucht. Daraus wurden 1257 Enterokokkenstämmen isoliert und deren Spezies bestimmt. Zur Gattungsdiagnose wurden die Katalase- und Pyrrolidonylarylamidase-Aktivität sowie die Fähigkeit zum Wachstum in Gegenwart von 6,5% NaCl überprüft. Die Speziesdiagnose erfolgte anhand des Hämolyseverhaltens, der Pigmentproduktion, der Beweglichkeit, Fähigkeit zur Tetrazoliumreduktion, Vorhandensein der Arginindihydrolase und einer Reihe von Kohlenhydratspaltungstests. Von 569 ausgewählten Isolaten wurde das Resistenzverhalten gegenüber Penicillin, Ampicillin, Amoxicillin/Clavulansäure, Gentamicin, Tetrazyklin, Erythromycin, Tylosin, Vancomycin, Teicoplanin, Enrofloxacin, Quinupristin/Dalfopristin, Chloramphenicol, Bacitracin, Flavomycin und Avilamycin im Mikrodilutionsverfahren überprüft. Bei Stämmen mit einer MHK gegenüber Gentamicin von  $\geq 256$  mg/l wurde im Etest-Verfahren das Vorkommen der Hochresistenz überprüft. Glykopeptidresistente Stämme wurden mit Hilfe der Polymerasekettenreaktion auf das Vorkommen der Resistenzgene *vanA*, *vanB*, *vanC1* und *vanC2* untersucht.

Penicillinresistenz trat bei 11%, 31% und 4% der *E. faecium*-Isolate vom Rind, Schwein und aus Lebensmitteln auf. Ampicillin- und Amoxicillin/Clavulansäureresistenz kam bei 3% der *E. faecium*-Isolate vom

Schwein vor. Mit Ausnahme eines *E. durans/hirae*-Stammes verhielten sich alle anderen Isolate gegenüber diesen  $\beta$ -Laktam-Antibiotika sensibel. Gegenüber Gentamicin verhielten sich 2% der *E. faecalis*-Isolate vom Schwein und 1% der *E. faecalis*-Isolate aus Lebensmitteln hochresistent, darüber hinaus trat diese Resistenzform bei *E. faecalis* und *E. faecium* nicht auf. *vanA*-vermittelte Glykopeptidhochresistenz wurde bei 3 *E. faecium*-Isolaten vom Schwein festgestellt, andere Stämme zeigten diese Resistenzform nicht.

Quinupristin/Dalfopristin-Resistenz kam bei 56%, 57% und 23% der *E. faecium*-Isolate jeweils vom Rind, Schwein und Lebensmittel vor.

Gegenüber Tetrazyklin lagen die Resistenzraten von *E. faecalis* und *E. faecium* zwischen 16% (*E. faecalis* vom Rind) und 37% (*E. faecalis* vom Schwein), gegenüber Erythromycin zwischen 6% (*E. faecalis* vom Rind) und 49% (*E. faecium* vom Schwein) und gegenüber Chloramphenicol zwischen 4% (*E. faecium* aus Lebensmitteln) und 22% (*E. faecium* vom Rind). Gegenüber Enrofloxacin verhielt sich *E. faecalis* (33% sensible Isolate beim Rind) empfindlicher als *E. faecium* (0% sensible Isolate beim Rind). Gegenüber den Leistungsförderern bewegten sich die Resistenzen zwischen 0% (*E. faecium* vom Rind gegen Tylosin) und 100% (*E. faecium* aus Lebensmitteln gegen Flavomycin).

Rinder- und Schweinebestände scheinen als Reservoir für Enterokokken mit Resistenzen gegen die humanmedizinisch bei Enterokokkeninfektionen in erster Linie eingesetzten Antibiotika (Ampicillin, Gentamicin und die Glykopeptide) nur eine sehr untergeordnete Rolle zu spielen. Auch scheint die Gefahr für den Verbraucher, solcherart resistente Enterokokken über Lebensmittel aufzunehmen, gering. Demgegenüber sind die Resistenzraten gegenüber dem neuzugelassenen humanmedizinischen Therapeutikum Quinupristin/Dalfopristin sowohl in Rinder- und Schweinebeständen als auch in den Lebensmitteln bedenklich hoch, wobei die wahrscheinliche Ursache dafür durch das Verbot des Einsatzes von Virginiamycin beseitigt worden sein dürfte.

Resistenzen gegenüber human- und veterinärmedizinisch wichtigen Antibiotika, die bei Enterokokkeninfektionen nicht das Mittel der ersten Wahl darstellen, wie beispielsweise Tetrazyklin oder Erythromycin, traten zum Teil relativ häufig auf. Hier ist nicht auszuschließen, daß eine Übertragung auf andere Bakteriengattungen stattfinden kann. Darin liegt zwar möglicherweise eine

Gefahr für den Verbraucher, andererseits erscheint der Einsatz einer gewissen Zahl wirksamer Antibiotika zu therapeutischen Zwecken auch bei lebensmittelliefernden Tieren unverzichtbar.

Insgesamt kann das Risiko für den Verbraucher, über Lebensmittel Enterokokken aufzunehmen, die gegen die bei Enterokokkeninfektionen in erster Linie eingesetzten Antibiotika resistent sind, als gering eingeschätzt werden.

## **7. Summary**

### **Antibiotic resistance of enterococci from farm animals and food of animal origin**

The quantity of infections caused by enterococci, in particular *E. faecalis* and *E. faecium*, has been increasing in the field of human medicine within the last years. Resistances to important antimicrobial agents have been increasing in this genus simultaneously. A connection with the application of antimicrobial agents in livestock farming is supposed.

The target of this study was to determine the resistance behaviour of strains of enterococci isolated from cattle, pigs and food made of these animal species. Minced meat, raw sausages, ham and soft cheese were chosen for the analysis in particular since these could contain enterococci of animal origin and are intended to be consumed uncooked. Sixty herds of cattle (young bulls and calves), ninety seven herds of pigs and one hundred and sixty-six food samples from different regions of Germany were investigated. 1257 strains of enterococci were isolated out of them and identified to the species level. The genus *Enterococcus* was confirmed using the catalase test, pyrrolidonylarylamidase test and testing for growth in BHI broth with 6.5% NaCl. The species was diagnosed by examining haemolysis behaviour, pigment production, motility, the ability to reduce tetrazolium, the presence of arginine dihydrolase and a series of hydrocarbonate splitting tests. The resistance of five hundred and sixty-nine selected strains was determined to penicillin, ampicillin, amoxicillin/clavulanic acid, gentamicin, tetracycline, erythromycin, tylosin, vancomycin, teicoplanin, enrofloxacin, quinupristin/dalfopristin, chloramphenicol, bacitracin, flavomycin and avilamycin using the microbroth dilution method. Strains possessing a minimal inhibitory concentration (MIC) to gentamicin higher than or equal to 256 mg/l were checked for high-level resistance with the Etest method. Glycopeptide-resistant strains were tested for the resistance genes *vanA*, *vanB*, *vanC1* and *vanC2* using the polymerase chain reaction (PCR).

Resistance to penicillin occurred in 11%, 31% and 4% of the *E. faecium* strains isolated from cattle, pigs and food, respectively. Resistance to ampicillin and

amoxicillin/clavulanic acid was found in 3% of the *E. faecium* isolates from pigs. The remaining strains (with the exception of one *E. durans/hirae* isolate) were susceptible to these beta-lactam antibiotics. High-level resistance to gentamicin was restricted to 2% of the *E. faecalis* strains isolated from pigs and 1% of the *E. faecalis* strains isolated from food. *VanA* mediated high-level resistance to glycopeptide antibiotics was found exclusively in three *E. faecium* strains isolated from pigs.

Resistance to quinupristin/dalfopristin was observed in 56%, 57% and 23% of the *E. faecium* strains isolated from cattle, pigs and food, respectively.

The resistance rates of *E. faecalis* and *E. faecium* to tetracycline ranged between 16% (*E. faecalis* isolated from cattle) and 37% (*E. faecalis* isolated from pigs), to erythromycin between 6% (*E. faecalis* isolated from cattle) and 49% (*E. faecium* isolated from pigs) and to chloramphenicol between 4% (*E. faecium* isolated from food) and 22% (*E. faecium* isolated from cattle). *E. faecalis* (33% susceptible strains isolated from cattle) was more susceptible to enrofloxacin than *E. faecium* (0% susceptible strains isolated from cattle). The resistances to the antimicrobial growth promoters ranged from 0% (*E. faecium* isolated from cattle to tylosin) to 100% (*E. faecium* isolated from food to flavomycin).

Cattle and pigs seem to have only little importance as a reservoir of enterococci with resistances to ampicillin, gentamicin and the glycopeptide antibiotics, which are the agents of choice for the treatment of enterococcal infections in human medicine. The risk for the consumers to acquire such resistant enterococci via the food chain seems to be very small. Compared with this the resistance rate to the recently approved antimicrobial agent quinupristin/dalfopristin is rather high in *E. faecium* isolated from cattle, pigs and food. This problem is probably caused by the former use of the antimicrobial growth promoter virginiamycin in conventional animal fattening. Virginiamycin causes cross-resistances to quinupristin/dalfopristin in enterococci and has been banned in the EU since 1999. This ban is probably followed by a decrease of resistances to quinupristin/ dalfopristin.

Resistances to antimicrobial agents, which have importance in veterinary and human medicine but only a low significance in the treatment of enterococcal infections, e.g. tetracycline or erythromycin, were partly found quite frequently.

A transfer of resistance genes to other genera of bacteria cannot be ruled out. This may imply a risk for the consumers, on the other hand the use of a certain quantity of antimicrobial active agents for the treatment of bacterial infections in farm animals seems to be indispensable.

The risk for the consumers to acquire enterococci, which are resistant to the agents of choice for the treatment of enterococcal infections, via the food chain seems to be very small.