

Material und Methoden

2.1 Studienumfang und Stichprobenplan

Die Isolate wurden vom 01.01.2008 bis 12.12.2008 von den teilnehmenden Laboren eingesandt. An der Studie waren 31 Labore aus 13 Bundesländern (Baden-Württemberg, Bayern, Berlin, Brandenburg, Hessen, Mecklenburg-Vorpommern, Niedersachsen, Nordrhein-Westfalen, Sachsen, Sachsen-Anhalt, Schleswig-Holstein, Rheinland-Pfalz, Thüringen) beteiligt. Es handelte sich um staatliche und private Labore sowie um universitäre Einrichtungen (s. Anhang, Tab. 1, Liste der Labore).

Die Labore sammelten Bakterienstämme entsprechend des Stichprobenplans. Es wurden ausschließlich Isolate von klinisch erkrankten, nicht antibiotisch vorbehandelten Tieren berücksichtigt.

2.2 Identifizierung der Bakterienstämme

Die Diagnostik der Bakterienstämme erfolgte in den externen, an der Studie beteiligten Laboren nach den dort

Tab. 2.1 Bakterienspezies vom Rind (Kalb, Jungrind, Mastrind, Milchrind)

Indikation	Altersstufe	Bakterienspezies
Respiratorische Erkrankungen	Kalb Jungrind Mastrind Milchrind	<i>Mannheimia haemolytica</i> <i>Pasteurella multocida</i>
Mastitis	Milchrind	<i>Klebsiella</i> spp. <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterococcus faecium</i>
Enteritis	Kalb	<i>E. coli</i> <i>Salmonella</i> spp.
Genitaltraktinfektionen	alle	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>
Septikämie	alle	<i>S. aureus</i> <i>E. coli</i>

Tab. 2.2 Bakterienspezies vom Schwein (Ferkel, Läufer, Mastschwein, Zuchtschwein)

Indikation	Altersstufe	Bakterienspezies
Respiratorische Erkrankungen	Ferkel Läufer Mastschwein	<i>P. multocida</i> <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> (APP) <i>Bordetella bronchiseptica</i> <i>Streptococcus suis</i> <i>Actinobacillus suis</i>
Enteritis	Ferkel Läufer Mastschwein	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i> <i>Salmonella</i> spp.
Genitaltraktinfektionen	alle	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>
Septikämie	alle	<i>E. coli</i>

Tab. 2.3 Bakterienspezies von Tauben

Indikation	Bakterienspezies
alle	<i>E. coli</i> <i>Staphylococcus</i> spp. <i>Salmonella</i> spp.

Tab. 2.4 Bakterienspezies von Süßwasserfischen (Nutz- und Zierfische)

Indikation	Bakterienspezies
alle	<i>Aeromonas</i> spp. <i>Pseudomonas</i> spp. <i>Yersinia ruckeri</i> <i>Vibrio</i> spp.

gültigen Differenzierungsmethoden. Zur Qualitätssicherung wurde im BVL eine zufällige Stichprobe von 10 % der Isolate einer Überprüfung unterzogen. Die Stämme wurden unter Berücksichtigung der Koloniemorphologie, der mikroskopischen, biochemischen bzw. serologischen Eigenschaften nach den im BVL etablierten Methoden differenziert. Zusätzlich erfolgte eine Differenzierung im BVL bei unstimulierter Koloniemorphologie, bzw. wenn die Isolate von den Laboren nicht bis

Tab. 2.5 Bakterienspezies vom Geflügel (Pute, Huhn, Ente, Gans)

Indikation	Tierart/ Altersstufe	Bakterienspezies
Respiratorische Erkrankungen	Masthahn Legehennen Pute Ente Gans	<i>P. multocida</i> <i>E. coli</i> <i>B. avium</i> <i>B. bronchiseptica</i>
Urogenital-traktinfektionen	Masthahn Legehennen Pute Ente Gans	<i>E. coli</i> <i>Staphylococcus</i> spp. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Nabel- und Dottersackentzündung	Pute Huhn Ente Gans	<i>E. coli</i> <i>Staphylococcus</i> spp. <i>Ps. aeruginosa</i>
Septikämie	Pute Huhn Ente Gans	<i>E. coli</i> <i>Staphylococcus</i> spp. <i>Ps. aeruginosa</i>
Gastritis, Enteritis	Masthahn Legehennen Pute Ente Gans	<i>E. coli</i> <i>Salmonella</i> spp. <i>Ps. aeruginosa</i>
Arthritis	alle	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i> <i>Streptococcus</i> spp.
Polyserositis	alle	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i> <i>Streptococcus</i> spp.

Tab. 2.6 Bakterienspezies von Hund und Katze

Indikation	Tierart	Bakterienspezies
Respiratorische Erkrankungen	Hund Katze	<i>P. multocida</i> <i>B. bronchiseptica</i>
Enteritis	Hund Katze	<i>E. coli</i>
Genitaltraktinfektionen	Hund Katze	<i>E. coli</i> <i>Ps. aeruginosa</i>
Haut-, Schleimhautinfektionen	Hund Katze	<i>S. aureus</i> <i>P. multocida</i> <i>Staphylococcus</i> spp.

zur Speziesebene ausdifferenziert waren. Konnte eine Diagnose bei den überprüften Isolaten nicht bestätigt werden, wurde das Isolat aus der Studie ausgeschlossen.

Tab. 2.7 Bakterienspezies von Schaf und Ziege

Indikation	Tierart	Bakterienspezies
Respiratorische Erkrankungen	Schaf Ziege	<i>P. multocida</i> <i>M. haemolytica</i>
Septikämie	Schaf Ziege	<i>E. coli</i> <i>M. haemolytica</i>
Mastitis	Schaf Ziege	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> <i>M. haemolytica</i>

Tab. 2.8 Bakterienspezies vom Pferd

Indikation	Tierart	Bakterienspezies
Urogenital-traktinfektionen	Pferd	<i>E. coli</i>
alle	Pferd	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> <i>P. multocida</i> <i>B. bronchiseptica</i> <i>Pseudomonas</i> spp. <i>Klebsiella</i> spp.

2.3 Empfindlichkeitsprüfungen

Die Überprüfung der Empfindlichkeit der Bakterienstämme gegenüber den verschiedenen antibakteriellen Wirkstoffen (Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration, MHK) erfolgte mittels Bouillon-Mikrodilution nach den Vorgaben des Dokuments „Approved Standard M31–A3“ des Clinical Laboratory and Standards Institute (CLSI, 2008)¹.

Die Auswahl der getesteten Antibiotika orientierte sich an veterinär- und humanmedizinischen Therapieansätzen. Da aus technischen Gründen für grampositive und gramnegative Bakterien gleiche Plattenlayouts verwendet wurden, wurden teilweise auch Wirkstoffe überprüft, die für die jeweiligen Bakterienspezies keine Bedeutung haben. Es wurden industriell gefertigte Mikrotiterplatten verwendet, die die Wirkstoffe in vakuumgetrockneter Form enthielten (Trek Diagnostics).

Zur Herstellung des Inoculums wurde kationen- ausgeglichene Müller-Hinton Bouillon verwendet, zur Empfindlichkeitstestung von *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *P. multocida* und *M. haemolytica* wurde 2 % lysiertes Pferdeblut supplementiert. Die Testung von *Actinobacillus* spp. erfolgte mit Veterinary Fastidious Medium (VFM).

¹ **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI):** Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; approved standard. 3rd Edition. CLSI document M31–A3. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA, USA, 2008

Tab. 2.9 Eingesetzte Wirkstoffe und Wirkstoffkombinationen

Wirkstoffklasse	Wirkstoff	Abkürzung	Testbereich (mg/L)
Penicilline	Amoxicillin/Clavulansäure 2 : 1	AUG	0,03/0,015–64/32
	Ampicillin	AMP	0,03–64
	Oxacillin + 2 % NaCl	OXA	0,015–8
	Penicillin G	PEN	0,015–32
Cephalosporine	Cefoperazon	FOP	0,06–32
	Cefotaxim	FOT	0,015–32
	Cefquinom	CEQ	0,015–32
	Ceftiofur	XNL	0,03–64
	Cephalothin	CEP	0,06–128
Tetracycline	Tetracyclin	TET	0,12–256
	Doxycyclin	DOX	0,06–128
Makrolide	Erythromycin	ERY	0,015–32
	Tilmicosin	TIL	0,06–128
	Tylosintartrat	TYL	0,06–128
	Spiramycin	SPI	0,06–128
	Tulathromycin	TUL	0,03–64
Lincosamide	Clindamycin	CLI	0,03–64
	Pirlimycin	PIR	0,03–64
Aminoglykoside	Gentamicin	GEN	0,12–256
	Apramycin	APR	0,03–64
	Spectinomycin	SPE	0,12–256
Phenicole	Florfenicol	FFN	0,12–256
	Chloramphenicol	CHL	0,5–256
(Fluor)chinolone	Enrofloxacin	ENR	0,008–16
	Nalidixinsäure	NAL	0,06–128
Diaminopyrimidine	Trimethoprim	TMP	0,06–128
Polypeptide	Colistin	COL	0,03–16
Glykopeptide	Vancomycin	VAN	0,015–32
Streptogramine	Quinupristin/Dalfopristin	SYN	0,015–32
Pleuromutiline	Tiamulin	TIA	0,03–64
potenzierte Sulfonamide	Trimethoprim/Sulfamethoxazol	SXT	0,015/0,29–32/608

Die Inokulumsdichte von $2-8 \times 10^5$ CFU/ml wurde nach CLSI Vorschrift eingestellt und regelmäßig durch Keimzahlbestimmung überprüft.

Die inokulierten Mikrotiterplatten wurden mit einer Folie verschlossen, 18–24 h aerob bei 34–38 °C (Inkubation von fischpathogenen Bakterienspezies bei 22 °C, Inkubation von *Actinobacillus* spp. unter 5 % CO₂) inkubiert und danach halbautomatisch abgelesen.

Zur Qualitätssicherung wurden folgende Referenzstämme mit in die Empfindlichkeitsprüfung einbezogen: *Escherichia coli* DSM 1103, *Staphylococcus aureus* DSM 2569, *Enterococcus faecalis* DSM 2570. Die in der Studie

2008 verwendeten Antibiotika und der jeweils geprüfte Konzentrationsbereich sind in Tab. 2.9 aufgeführt.

2.4 Grenzwerte

Die Einstufung der Bakterien als „empfindlich“, „intermediär empfindlich“ oder „resistent“ erfolgte ausschließlich anhand der klinischen Grenzwerte des CLSI. Im Dokument M31-A3 sind veterinärspezifische Grenzwerte für zahlreiche Tierarten/Erkrankungen/Bakte-

Tab. 2.10 MHK-Grenzwerte für veterinärpathogene Bakterien nach CLSI

Wirkstoff	Tierart/ Bakterienspezies	MHK-Grenzwerte (mg/L)			Anmerkung
		empfindlich (S)	intermediär (I)	resistent (R)	
Ampicillin	<i>Enterobacteriaceae</i>	≤ 8	16	≥ 32	
	<i>Staphylococcus</i> spp.	$\leq 0,25$		$\geq 0,5$	
	<i>Streptococcus</i> spp.	$\leq 0,25$	0,5–4	≥ 8	
	<i>Enterococcus</i> spp.	≤ 8		≥ 16	
	Hund				
	<i>S. intermedius</i>	$\leq 0,25$		$\geq 0,5$	
	<i>E. coli</i>	$\leq 0,25$	0,5	≥ 1	
Amoxicillin/ Clavulansäure	<i>Staphylococcus</i> spp.	$\leq 4/2$		$\geq 8/4$	
	andere Bakterien	$\leq 8/4$	16/8	$\geq 32/16$	
Apramycin					kein Grenzwert verfügbar
Cefoperazon					kein Grenzwert verfügbar
Cefotaxim					kein Grenzwert verfügbar
Cefquinom					kein Grenzwert verfügbar
Ceftiofur	Rind				
	<i>M. haemolytica</i>	≤ 2	4	≥ 8	
	<i>P. multocida</i>				
	Mastitis				
	<i>S. aureus</i>	≤ 2	4	≥ 8	
	<i>E. coli</i>				
	Schwein				
	APP	≤ 2	4	≥ 8	
	<i>P. multocida</i>				
	<i>Sc. suis</i>				
Cephalothin		≤ 8	16	≥ 32	
Chloramphenicol	<i>Streptococcus</i> spp.	≤ 4	8	≥ 16	
	andere Bakterien	≤ 8	16	≥ 32	
Clindamycin					kein Grenzwert verfügbar
Colistin					kein Grenzwert verfügbar
Doxycyclin					kein Grenzwert verfügbar
Enrofloxacin	Hühner/Puten				
	<i>P. multocida</i>	$\leq 0,25$	0,5–1	≥ 2	
	<i>E. coli</i>				
	Rind				
	<i>M. haemolytica</i>	$\leq 0,25$	0,5–1	≥ 2	
	<i>P. multocida</i>				
Erythromycin	<i>Enterococcus</i> spp.	$\leq 0,5$	1–4	≥ 8	
	<i>Staphylococcus</i> spp.				
	<i>Streptococcus</i> spp.	$\leq 0,25$	0,5	≥ 1	
Florfenicol	Rind				
	<i>M. haemolytica</i>	≤ 2	4	≥ 8	
	<i>P. multocida</i>				
	Schwein				
	APP	≤ 2	4	≥ 8	
	<i>B. bronchiseptica</i>				
	<i>P. multocida</i>				
	<i>Sc. suis</i>				

Fortsetzung

Wirkstoff	Tierart/ Bakterienspezies	MHK-Grenzwerte (mg/L)			Anmerkung
		empfindlich (S)	intermediär (I)	resistent (R)	
Gentamicin		≤ 4	8	≥ 16	
	Hund <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Ps. aeruginosa</i>	≤ 2	4	≥ 8	
Nalidixinsäure					kein Grenzwert verfügbar
Oxacillin	<i>S. aureus</i>	≤ 2		≥ 4	
	<i>Staphylococcus</i> spp.	$\leq 0,25$		$\geq 0,5$	
Penicillin	<i>Staphylococcus</i> spp.	$\leq 0,12$	0,25–2	$\geq 0,25$	
	<i>Streptococcus</i> spp.	$\leq 0,12$		≥ 4	
	<i>Enterococcus</i> spp.	≤ 8		≥ 16	
Pirlimycin	Rind, Mastitis				
	<i>S. aureus</i>	≤ 2		≥ 4	
	<i>Sc. agalactiae</i>				
	<i>Sc. dysgalactiae</i> <i>Sc. uberis</i>				
Quinupristin/ Dalfopristin		≤ 1	2	≥ 4	humanmedizinischer Grenzwert
Spectinomycin	Rind				
	<i>M. haemolytica</i> <i>P. multocida</i>	≤ 32	64	≥ 128	
Spiramycin					kein Grenzwert verfügbar
Tetracyclin	Bakterien außer Streptokokken	≤ 4	8	≥ 16	
	<i>Streptococcus</i> spp. außer <i>Sc. pneumoniae</i>	≤ 2	4	≥ 8	
	Rind <i>M. haemolytica</i> <i>P. multocida</i>	≤ 2	4	≥ 8	
	Schwein APP <i>P. multocida</i> <i>Sc. suis</i>	$\leq 0,5$	1	≥ 2	
Tiamulin	Schwein				
	APP	≤ 16		≥ 32	
Tilmicosin	Rind				
	<i>M. haemolytica</i>	≤ 8	16	≥ 32	
	Schwein <i>P. multocida</i> APP	≤ 16		≥ 32	
Trimethoprim					kein Grenzwert verfügbar
Trimethoprim/ Sulfamethoxazol	<i>Staphylococcus</i> spp. <i>Enterobacteriaceae</i>	$\leq 2/38$		$\geq 4/76$	
Tulathromycin	Rind				
	<i>M. haemolytica</i> <i>P. multocida</i>	≤ 16	32	≥ 64	

Fortsetzung

Wirkstoff	Tierart/ Bakterienspezies	MHK-Grenzwerte (mg/L)			Anmerkung
		empfindlich (S)	intermediär (I)	resistent (R)	
Tylosin					kein Grenzwert verfügbar
Vancomycin	<i>Enterococcus</i> spp.	≤ 4	8–16	≥ 32	
	<i>Streptococcus</i> spp.	≤ 1			
	<i>Staphylococcus</i> spp.	≤ 4	8–16	≥ 32	

rienspezies aufgeführt. Dennoch ist für viele Kombinationen kein veterinärspezifischer Grenzwert verfügbar. Stand kein Grenzwert aus diesem Dokument zur Verfügung, wurde auf eine Einstufung verzichtet. In diesen Fällen erlaubt der MHK_{90} -Wert eine Beurteilung der Empfindlichkeitslage sowie eine Einschätzung der therapeutischen Wirksamkeit. Die verwendeten Grenzwerte sind in Tab. 2.10 aufgeführt. Der

klinische Grenzwert wurde hier verwendet, um Behandlungshinweise für die praktizierenden Tierärzte zu geben und eine Aussage über die Therapierbarkeit einer Infektionskrankheit zu treffen. Der epidemiologische Cut-off hingegen dient dazu, eine sensible Wildtyp-Population von einer veränderten Population mit einer möglichen Resistenzentwicklung zu unterscheiden.

Berichte zur Resistenzmonitoringstudie 2008
Resistenzsituation bei klinisch wichtigen
tierpathogenen Bakterien Berichte gemäß § 77 Abs. 3
AMG
Dombrowski, S. (Hrsg.)
2012, XII, 127 S. 33 Abb. in Farbe., Softcover
ISBN: 978-3-0348-0422-6