

Aktuelle Daten zur Antibiotikaresistenz der wichtigsten bovinen Mastitiserreger in der Schweiz

S. Corti¹, D. Sicher², W. Regli³, R. Stephan¹

¹Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene der Universität Zürich, ²Veterinaria AG, Zürich, ³DIAVET AG, Bäch

Zusammenfassung:

Je 100 Stämme *Staphylococcus (S.) aureus*, koagulase-negative Staphylokokken (CNS), *Streptococcus* spp. und *Escherichia (E.) coli*, isoliert aus bovinen Mastitismilchproben, wurden mittels Agardiffusionsmethode auf ihre Empfindlichkeit gegenüber verschiedenen Antibiotika untersucht. Die Auswahl der Antibiotika erfolgte aufgrund ihrer Zulassung zur intramammären Anwendung in der Schweiz (www.vetpharm.unizh.ch). 91% der *S. aureus*-Stämme waren vollemmpfindlich. 9% der Stämme waren gegenüber Penicillin G und 7% gegenüber Ampicillin resistent. 53% der CNS-Stämme waren vollemmpfindlich. 31% zeigten eine Resistenz gegenüber Penicillin G, 26% gegenüber Ampicillin, 16% gegenüber Cloxacillin und 14% gegenüber Lincomycin. 30% der *Streptococcus* spp.-Stämme waren vollemmpfindlich. 4% zeigten eine Resistenz gegenüber Penicillin G, 4% gegenüber Amoxicillin/Clavulansäure, 1% gegenüber Cefoperazon, 2% gegenüber Cefquinom, 35% gegenüber Neomycin, 22% gegenüber Gentamicin, 61% gegenüber Kanamycin und 11% gegenüber Lincomycin, wobei bei 43% der Stämme Mehrfachresistenz beobachtet wurde. 79% der *E. coli*-Stämme waren vollemmpfindlich. 20% zeigten eine Resistenz gegenüber Ampicillin, 9% gegenüber Neomycin und 10% gegenüber Kanamycin. Ein Vergleich der eigenen Ergebnisse mit Daten anderer Arbeiten aus der Schweiz zeigte keine grossen Veränderungen in der Antibiotikaresistenz während den letzten 20 Jahren. Mit Ausnahme von zwei Stämmen (*Streptococcus* spp.) waren alle getesteten Isolate gegenüber Cefquinom, welches erst kürzlich eingeführt wurde, empfindlich.

Schlüsselwörter: Antibiotikaresistenz – bovine Mastitiserreger – Schweiz – Agardiffusion – Cefquinom

Current drug resistance data on the most important bovine mastitis pathogens in Switzerland

100 strains of *Staphylococcus aureus (S. aureus)*, 100 strains of coagulase-negative staphylococci (CNS), 100 strains of *Streptococcus* spp. and 100 strains of *Escherichia coli (E. coli)*, isolated from bovine mastitis milk samples between November 2002 and April 2003, were tested for their sensitivity to various antibiotics by means of the agar diffusion method. The antibiotics were chosen on the basis of their licenses for intramammary application in Switzerland (www.vetpharm.unizh.ch). 91% of the *S. aureus* strains were sensitive to all the antibiotics tested. Only 9% of the strains were resistant to Penicillin G and 7% to Ampicillin. 53% of the CNS strains were sensitive to all the antibiotics tested. 31% exhibited resistance to Penicillin G, 26% to Ampicillin, 16% to Cloxacillin and 14% to Lincomycin. 30% of the *Streptococcus* spp. strains were sensitive to all the antibiotics tested. 4% were resistant to Penicillin G, 4% to Amoxicillin/clavulanic acid, 1% to Cefoperazone, 2% to Cefquinome, 35% to Neomycin, 22% to Gentamicin, 61% to Kanamycin and 11% to Lincomycin. 43% of the strains showed multiple resistance. 79% of the *E. coli* strains were sensitive to all the antibiotics tested. 20% exhibited resistance to Ampicillin, 9% to Neomycin and 10% to Kanamycin. A comparison of the own results with data of other authors in Switzerland shows no important changes in the resistance situation during the last 20 years. With the exception of two strains (*Streptococcus* spp.), all tested isolates were sensible against Cefquinome.

Key words: drug resistance – bovine udder pathogens – Switzerland – agar diffusion – Cefquinome

Einleitung

Akute und chronische Mastitiden stellen für Milchproduzenten ein grosses wirtschaftliches Problem dar, da sie zu erheblichen Verlusten durch geringere Milchleistung, unverwertbare Milch, Behandlungskosten und, bedingt durch ungenügende Behandlungserfolge, auch zum Ausmerzen von Tieren führen (Bradley, 2002; Esslemont und Kossaibati, 2002). Koagulase-negative Staphylokokken (CNS), *Staphylococcus (S.) aureus*, *Streptococcus* spp. und *Escherichia (E.) coli* sind dabei in der Schweiz die wichtigsten bovinen Mastitiserreger (Schällibaum, 1996).

Bei der Mastitistherapie wird in der täglichen Praxis die Wahl des Antibiotikums häufig empirisch getroffen. Die in der Schweiz zur intramammären Anwendung zugelassenen Antibiotika sind im Arzneimittelkompendium des Instituts für Veterinärpharmakologie der Universität Zürich (www.vetpharm.unizh.ch) aufgeführt. In den häufig verwendeten Euterthera-

peutika sind Penicillin G, Amoxicillin/Clavulansäure, Ampicillin, Cloxacillin, Cefoperazon, Neomycin, Gentamicin, Kanamycin, Lincomycin und Colistin enthalten. Penicillin G und Cloxacillin sind gegenüber gram-positiven Erregern wirksam. Amoxicillin/Clavulansäure, Ampicillin und Cefoperazon wirken gegen gram-positive und gram-negative Erreger. Die antimikrobielle Aktivität von Neomycin, Gentamicin und Kanamycin ist hauptsächlich gegen Staphylokokken und *E. coli* gerichtet. Lincomycin ist gegen gram-positive Erreger wirksam, während Colistin spezifisch gegen gram-negative Erreger wirkt.

Cefquinom, ein bakterizid wirkendes Cephalosporinderivat der vierten Generation, welches bereits in verschiedenen Ländern der Europäischen Union für die Behandlung von Mastitiden bei Kühen verwendet wird (Shpigel und Schmid, 1997; Hornish und Kotarski, 2002), ist in der Schweiz für die intramammäre Anwendung erst seit kurzer Zeit zugelassen. Das

Tabelle 1: Verwendete Antibiotikaplättchen und Beurteilung der Hemmhöfe

Gruppe	Wirkstoff		R	I	E
			≤	=	≥
			(in mm)		
β-Laktame	Penicillin G ¹	10 IE			
	<i>Staphylococcus</i> spp.		28	–	29
	<i>Streptococcus</i> spp.		19	20–27	28
	Amoxicillin/Clavulansäure ^{1,2}	20 µg/			
	<i>Staphylococcus</i> spp.	10 µg/	19	–	20
	<i>E. coli</i>		13	14–17	18
	Ampicillin ¹	10 µg/			
	<i>Staphylococcus</i> spp.		28	–	29
	<i>Streptococcus</i> spp.		18	19–25	26
	<i>E. coli</i>		13	14–16	17
	Cloxacillin ^{1,3}	1 µg/			
	<i>Staphylococcus aureus</i>		10	11–12	13
	Koagulase-negative Staphylokokken		17	–	18
Cefoperazon ^{4,5}	30 µg/	14	15–20	21	
Cefquinom ^{4,6}	10 µg/	18	–	19	
Aminoglykoside	Neomycin ^{4,7}	30 µg/	12	13–16	17
	Gentamicin ^{1,4}	10 µg/	12	13–14	15
	Kanamycin ^{1,4}	30 µg/	13	14–17	18
Lincosamide	Lincomycin ^{1,4}	15 µg/	17	18–20	21
Polypeptide	Colistin ⁷	10 µg/	8	9–10	11

R: resistent I: intermediär E: empfindlich

¹ Beurteilung der Hemmhöfe nach den Empfehlungen des National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) M 100-S12, Vol. 22, No. 1–2002

² *Streptococcus* spp., welche gegenüber Penicillin empfindlich sind, sind auch gegenüber Amoxicillin/Clavulansäure empfindlich

³ Beurteilung der Hemmhöfe nach den Werten des Oxacillins

⁴ *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. und *E. coli* wurden getestet

⁵ Beurteilung der Hemmhöfe nach den Empfehlungen des Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie, Communiqué 1996, Extrait de Pathologie Biologie, 1996, 44, n° 8, I–VIII

⁶ Beurteilung der Hemmhöfe nach den Empfehlungen von Intervet, Wien, Österreich

⁷ Beurteilung der Hemmhöfe nach den Empfehlungen von BBL, Becton Dickinson, Sparks, USA

Wirkungsspektrum umfasst die wichtigsten gram-negativen und gram-positiven Mastitiserreger.

Um auf mögliche Veränderungen in der Antibiotikaresistenz frühzeitig reagieren zu können, ist es notwendig, im Rahmen eines Monitorings Resistenzdaten zu den wichtigsten Mastitiserregern periodisch zu erheben.

Ziel dieser Untersuchungen war es, aktuelle Resistenzdaten zu den wichtigsten bovinen Mastitiserregern gegenüber ausgewählten Antibiotika, welche zur intramammären Anwendung zugelassen und in der Schweiz in kommerziell erhältlichen Präparaten zur intramammären Anwendung häufig enthalten sind, zu erheben. Dabei sollte auch die Resistenzsituation gegenüber dem zur intramammären Anwendung neu zugelassenen Wirkstoff Cefquinom erfasst werden.

Material und Methoden

Stämme

Im Zeitraum zwischen November 2002 und April 2003 wurden je 100 Stämme CNS (100 Kühe aus 64 Betrieben), *S. aureus* (100 Kühe aus 63 Betrieben), *Streptococcus* spp., davon 24 *S. dysgalactiae* und 76 *S. uberis*, und *E. coli* (je 91 Kühe aus 100 Betrieben),

isoliert aus Viertelsgemelkproben von Kühen mit klinischer oder subklinischer Mastitis aus dem Raum Nordostschweiz, gesammelt.

Die Milchproben wurden im Rahmen der Routinediagnostik des Institutes für Lebensmittelsicherheit und der DIAVET AG auf Mastitiserreger untersucht. Staphylokokken, gram-positive katalase-positive Kokken, wurden auf RPF-Agar (Rabbit Plasma Fibrinogen, Baird Parker Medium, Oxoid No. CM 275, R.P.F. Supplement, Sedia 2000–0100, Oxoid Ltd., Hampshire, UK) auf ihre Koagulasereaktion überprüft. Koagulase-positive Stämme wurden als *S. aureus* identifiziert, die übrigen als koagulase-negative Staphylokokken (CNS). Streptokokken, gram-positive katalase-negative Kokken, wurden biochemisch mittels API 20 Strept (bioMérieux, Genf, Schweiz) und *E. coli* mittels API 32 E identifiziert.

Prüfung der Antibiotikaresistenz

Die Prüfung der Antibiotikaresistenz erfolgte mittels Agardiffusionsmethode, wie sie durch das NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2001) beschrieben ist. Die verwendeten Antibiotikaplättchen (bioMérieux SA, Marcy l'étoile, Frankreich) und die Daten zur Beurteilung der Hemmhöfe sind in Tabelle 1 aufgelistet.

Tabelle 2: Prozentsätze resistenter Stämme isoliert aus Mastitismilchproben ($n = je\ 100$) zwischen November 2002 und April 2003 in der Schweiz.

Erreger Wirkstoff	<i>S. aureus</i> ¹	CNS ²	<i>Streptococcus</i> spp. ³	<i>E. coli</i> ⁴
Penicillin G	9	31	4	n.u.
Ampicillin	7	26	0	20
Amoxicillin/ Clavulansäure	0	0	4	0
Cloxacillin	0	16	n.u.	n.u.
Cefoperazon	0	0	1	0
Cefquinom	0	0	2	0
Neomycin	0	0	35	9
Gentamicin	0	0	22	0
Kanamycin	0	0	61	10
Lincomycin	0	14	11	n.u.
Colistin	n.u.	n.u.	n.u.	0

n.u.: nicht untersucht

¹ 91% der Stämme vollempfindlich, 7% zweifach resistent

² 53% der Stämme vollempfindlich, 32% zwei- bis dreifach resistent

³ 30% der Stämme vollempfindlich, 43% zwei- bis fünffach resistent

⁴ 79% der Stämme vollempfindlich, 10% zwei- bis dreifach resistent

Ergebnisse und Diskussion

Die Resistenzhäufigkeiten gegenüber den einzelnen Antibiotika sind in Tabelle 2 dargestellt.

91% der *S. aureus*-Stämme waren gegenüber allen getesteten Antibiotika empfindlich. 2% waren nur gegenüber Penicillin G und 7% gleichzeitig gegenüber Penicillin G und Ampicillin resistent.

53% der CNS-Stämme waren gegenüber allen getesteten Antibiotika empfindlich. 9% der Stämme waren einfachresistent gegenüber Cloxacillin, 5% gegenüber Penicillin G, 5% gegenüber Lincomycin und 1% gegenüber Ampicillin. Eine Mehrfachresistenz wurde bei 20% der Stämme gegenüber Penicillin G und Ampicillin, 6% gegenüber Cloxacillin und Lincomycin, 1% gegenüber Penicillin G und Cloxacillin, 3% gegenüber Penicillin G, Ampicillin und Lincomycin und 2% gegenüber Penicillin G, Ampicillin und Cloxacillin beobachtet. CNS waren signifikant häufiger gegenüber Penicillin G resistent ($P < 0.01$; χ^2 -Test) als *S. aureus*.

Vergleichsdaten für die Resistenz von *S. aureus*- und CNS-Stämmen sind nur spärlich vorhanden. Obwohl nach Aussage von Praktikern der Einsatz von Penicillin G in der Mastitistherapie nicht zurückgegangen ist, lag in dieser Studie die Häufigkeit der Penicillinresistenz bei den *S. aureus*-Stämmen mit 9% scheinbar deutlich tiefer als diejenige, die in einer älteren

Schweizer Arbeit (47.8%) erhoben wurde (Schifferli et al., 1984). Allerdings haben diese Autoren die Koagulasereaktion nicht untersucht. Ohne Berücksichtigung dieses Parameters würde in unserer Studie der Prozentsatz Penicillin G resistenter *S. aureus*- + CNS-Stämme 40% betragen, was mit dem Resultat von Schifferli et al. (1984) vergleichbar ist. Auffallend ist auch die gegenüber eigenen Ergebnissen (16%) deutlich tiefere Cloxacillinresistenz, welche in der Arbeit von Hartmann (1990) für *Staphylococcus* spp. (0%) beschrieben ist, was vermuten lässt, dass die Wirksamkeit von Cloxacillin gegenüber CNS schlechter ist.

30% der *Streptococcus* spp.-Stämme waren gegenüber allen getesteten Antibiotika empfindlich. Bei 43% der Stämme wurde eine Mehrfachresistenz beobachtet. Gleichzeitig resistent waren die Stämme am häufigsten gegenüber Neomycin, Gentamicin und Kanamycin. Die zwei Stämme, welche eine Cefquinomresistenz aufwiesen, waren ebenfalls gegenüber Penicillin G, Amoxicillin/Clavulansäure, Lincomycin und Kanamycin resistent.

Vergleichsdaten zu den eigenen Ergebnissen für die *Streptococcus* spp.-Stämme sind ebenfalls spärlich vorhanden. Hartmann (1990) fand ähnliche Resistenzdaten zu Penicillin G (2%), Cloxacillin (12.2%) und Neomycin (46.7%). Einzig die Gentamicinresistenz lag mit 4% deutlich tiefer als diejenige der eigenen Ergebnisse (22%), was eine Zunahme vermuten lässt. Die bereits von Rossitto et al. (2002) und Guérin-Faubleé et al. (2003) festgestellte Tatsache, dass *S. ube-*

ris-Stämme häufiger Resistenzen aufweisen als *S. dysgalactiae*-Stämme, stimmt mit unseren Ergebnissen überein. In unserer Studie waren die *S. uberis*-Stämme signifikant häufiger gegenüber Kanamycin, Neomycin, Gentamicin und Lincomycin resistent als die *S. dysgalactiae*-Stämme ($P < 0.05$; χ^2 -Test).

79% der *E. coli*-Stämme waren gegenüber allen getesteten Antibiotika empfindlich. 10% der Stämme waren einfachresistent gegenüber Ampicillin und 1% gegenüber Neomycin. 2% zeigten eine Mehrfachresistenz gegenüber Ampicillin und Kanamycin und 8% gegenüber Ampicillin, Neomycin und Kanamycin. Vergleichsdaten aus der Schweiz für *E. coli*-Stämme zeigen über den Zeitraum der letzten 20 Jahre keine grossen Unterschiede in der Resistenzhäufigkeit (Lanz et al., 2003, Stephan und Rüschi, 1997, Schifferli et al., 1984).

Unsere Arbeit hat gezeigt, dass die Resistenzsituation der aktuell wichtigsten bovinen Mastitiserreger gegenüber den getesteten Antibiotika in den letzten 20 Jahren konstant geblieben ist, was eine Überprüfung der Antibiotikaresistenz in kurzen Abständen nicht notwendig macht. Die in der Schweiz zur intramammären Applikation zugelassenen Wirkstoffe bieten dem Praktiker eine gute Palette zur Mastitisbehandlung, wobei der neu zugelassene Wirkstoff Cefquinom eine zusätzliche Alternative zu den bisher verwendeten Eutertherapeutika darstellt. Allerdings ist der Behandlungserfolg dieser in vitro getesteten Antibiotika unter Praxisbedingungen zu relativieren.

Données actuelles sur l'antibiorésistance des principaux germes de la mastite bovine en Suisse

100 souches de staphylocoques à coagulase négative (CNS), 100 de *S. aureus*, 100 de *Streptococcus* spp. et 100 de *E. coli* ont été isolées à partir de laits de bovins atteints de mastite, et testées du point de vue de leur sensibilité à différents antibiotiques à l'aide de la méthode de diffusion en gélose. Les antibiotiques ont été choisis en fonction de l'autorisation de leur utilisation intramammaire en Suisse (www.vetpharm.unizh.ch). 91% des souches de *S. aureus* étaient sensibles à tous les antibiotiques testés. Seulement 9% des souches étaient résistantes à la pénicilline G et 7% à l'ampicilline. 53% des souches de CNS étaient sensibles à tous les antibiotiques testés. 31% étaient résistants à la pénicilline G, 26% à l'ampicilline, 16% à la cloxacilline et 14% à la lincomycine.

30% des souches de *Streptococcus* spp. étaient sensibles à tous les antibiotiques testés. 4% des souches

Dati di resistenza attuali sui principali agenti patogeni della mastite bovina in Svizzera

Tra il Novembre 2002 e l'Aprile 2003 sono stati sottoposti ad analisi con metodo di diffusione dell'agar allo scopo di verificare la loro sensibilità ai vari antibiotici 100 ceppi di stafilococchi coagulasi-negativi (CNS), 100 di *Stafilococcus aureus*, 100 di *Streptococcus* spp. e 100 di *Escherichia coli* isolati da campioni di latte affetti da mastite bovina. La selezione degli antibiotici è avvenuta in base all'omologazione per uso intramammario in Svizzera (www.vetpharm.unizh.ch). 91% dei ceppi di *S. aureus* hanno mostrato sensibilità a tutti gli antibiotici testati. Soltanto il 9% dei ceppi, infatti, è risultato resistente alla penicillina G e il 7% all'ampicillina. 53% dei ceppi di CNS hanno mostrato sensibilità a tutti gli antibiotici testati. 31% ha evidenziato una resistenza alla penicillina G, il 26% all'ampicillina, il 16% alla cloxacillina e il 14% alla lincomicina. 30% dei ceppi di *Streptococcus* spp. hanno mostrato

étaient résistantes à la pénicilline, 4% à l'amoxicilline/acide clavulanique, 1% à la cefoperazone, 2% à la cefquinome, 35% à la néomycine, 22% à la gentamicine, 61% à la kanamycine et 11% à la lincomycine. 43% des souches étaient résistantes à plus d'un antibiotique. 79% des souches de *E. coli* étaient sensibles à tous les antibiotiques testés. 20% étaient résistantes in vitro à l'ampicilline, 9% à la néomycine et 10% à la kanamycine. Ces résultats montrent que la résistance des souches testées à certains antibiotiques n'a pas beaucoup changé durant les 20 dernières années. À l'exception de 2 souches de *Streptococcus* spp., toutes les autres souches étaient sensibles à la cefquinome nouvellement introduite en Suisse.

sensibilità a tutti gli antibiotici testati. Il 4% dei ceppi è risultato invece resistente alla penicillina G, il 4% all'amoxicillina/acido clavulanico, il 2% al cefquinom, il 35% alla neomicina, il 22% alla gentamicina, il 61% alla kanamicina e l'11% alla lincomicina. 43% dei ceppi hanno mostrato una resistenza a più di un antibiotico. 79% dei ceppi di *E. coli* hanno mostrato sensibilità a tutti gli antibiotici testati. 20% ha evidenziato una resistenza all'ampicillina, il 9% alla neomicina e il 10% alla kanamicina. I risultati mostrano che la resistenza dei ceppi testati agli antibiotici selezionati non ha cambiato durante gli ultimi 20 anni. Soltanto 2 ceppi di *Streptococcus* spp. hanno mostrato una resistenza al cefquinom, che è nuovamente omologato per uso intramammario in Svizzera.

Literatur

Bradley A.J.: Bovine mastitis: an evolving disease. *The Vet. J.* 2002, 164: 116–128.

Esslemont E., Kossabati M.: Mastitis: How to get out of the dark ages. *The Vet. J.* 2002, 164: 85–86.

Guérin-Faubleé V., Carret G., Houffschmitt P.: In vitro activity of 10 antimicrobial agents against bacteria isolated from cows with clinical mastitis. *Vet. Rec.* 2003, 152: 466–471.

Hartmann H.: Resistenzverhältnisse bei Mastitiserregern von Kühen in der Schweiz. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 1990, 132: 325–329.

Hornish R.E., Kotarski S.F.: Cephalosporins in veterinary medicine – ceftiofur use in food animals. *Curr. Top. Med. Chem.* 2002, 2: 717–731.

Lanz R., Kuhnert P., Boerlin P.: Antimicrobial resistance and resistance gene determinants in clinical *Escherichia coli* from different animal species in Switzerland. *Vet. Microbiol.* 2003, 91: 73–84.

National Committee of Clinical Laboratory Standards (NCCLS): Performance standards for antimicrobial suscep-

tibility testing. M100–S11, vol. 21, No. 1. 2001, NCCLS, Wayne, Pa.

Rossitto P.V., Ruiz L., Kikuchi Y., Glenn K., Luiz K., Watts J.L., Cullor J.S.: Antibiotic susceptibility patterns for environmental streptococci isolated from bovine mastitis in central California Dairies. *J. Dairy Sci.* 2002, 85: 132–138.

Schällibaum M.: Mastitis pathogens in Switzerland (1988–1993). *IDF Mastitis Newsletter* 20. 1996.

Schiffnerli D., Schällibaum M., Nicolet J.: Bestimmungen der Minimalhemmkonzentration bei Mastitiserregern beim Rind. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 1984, 126: 23–34.

Shpigel N.Y., Schmid P.: Efficacy of cefquinome (INN) for the treatment of bovine mastitis. *Tierarztl. Prax.* 1997, 25: 200–206.

Stephan R., Rüschi P.: Aktuelle Resistenzsituation von *Escherichia coli*-Stämmen aus bovinen Mastitismilchproben. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 1997, 39: 459–499.

Korrespondenzadresse

R. Stephan, Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Zürich, Winterthurerstr. 270, CH-8057 Zürich, Tel. 01 635 86 57, Fax 01 635 89 08
E-Mail: stephanr@fsafety.unizh.ch

Manuskripteingang: 12. August 2003

In vorliegender Form angenommen: 10. Oktober 2003