

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

Vorkommen und Bedeutung von Antibiotikaresistenzen und
Extended-Spectrum Beta-Lactamasen (ESBL) bei
Escherichia coli aus Wildvögeln mit Kontakt zu Menschen
aus Südbayern

von Carolin Emmi Gerhofer, geb. Tauber

aus München

München 2015

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen
Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Klinik für Vögel, Reptilien, Amphibien und Zierfische

Arbeit angefertigt unter Leitung von:
Univ.-Prof. Dr. Rüdiger Korb

Mitbetreuung durch:
PD Dr. Monika Rinder

**Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Rüdiger T. Korbelt

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Manfred Stangassinger

Tag der Promotion: 18. Juli 2015

*Für meinen Ehemann Wolfgang
und
im Gedenken an meinen Vater*

INHALTSVERZEICHNIS

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

1.	EINLEITUNG	1
2.	LITERATURÜBERSICHT	4
2.1.	<i>Escherichia coli</i> als Krankheitserreger	4
2.1.1.	Serotypen	4
2.1.2.	Pathotypen	6
2.1.3.	Tenazität	7
2.1.4.	Phylogenetische Gruppen	8
2.2.	Antibiotika zur Bekämpfung von <i>E. coli</i>	9
2.2.1.	Antibiotikaeinsatz bei Mensch und Tier	9
2.2.1.1.	Antibiotikaverbrauch in der Humanmedizin	9
2.2.1.2.	Antibiotikaverbrauch in der Tiermedizin	12
2.2.2.	Antibiotika	15
2.2.2.1	Beta-Lactam-Antibiotika	16
2.2.2.1.1.	Grundstrukturen der Beta-Lactam-Antibiotika	17
2.2.2.1.2.	Wirkmechanismus der Beta-Lactam-Antibiotika	17
2.2.2.1.3.	Penicilline	18
2.2.2.1.4.	Cephalosporine	21
2.3.	Antibiotikaresistenzmechanismen bei <i>E. coli</i>	24
2.3.1.	Beta-Lactamasen und Extended-Spectrum Beta-Lactamasen (ESBL)	25
2.3.1.1.	Einteilung der Beta-Lactamasen und ESBL	27
2.3.1.1.1.	Gruppeneinteilung nach Ambler	27
2.3.1.1.2.	Gruppeneinteilung nach Bush, Jacoby & Medeiros	27
2.3.1.2.	Nachweisverfahren für die Bildung von Beta-Lactamasen und ESBL	29
2.4.	Nachweise von Antibiotikaresistenzen und ESBL bei <i>E. coli</i> aus Mensch, Tier und Umwelt	31
2.4.1.	Nachweise und Bedeutung in der Humanmedizin	31
2.4.2.	Nachweise und Bedeutung in der Tiermedizin	36
2.4.2.1.	Lebensmittelliefernde Tiere inclusive Wirtschaftsgeflügel	37
2.4.2.2.	Begleittiere inclusive Ziervögel	41
2.4.2.3.	Wildsäugetiere	46
2.4.2.4.	Wildvögel	47
2.4.3.	Nachweise und Bedeutung in der Umwelt	51
3.	MATERIAL UND METHODEN	53

3.1.	Patienten	53
3.2.	Isolation und phänotypische Differenzierung von <i>E. coli</i>	54
3.3.	Phänotypische Bestimmung der Empfindlichkeit von <i>E. coli</i> gegenüber verschiedenen Antibiotika	57
3.4.	Phänotypische Untersuchung der <i>E. coli</i> auf ESBL-Produktion	59
3.4.1.	Aufbewahrung und Konservierung von Bakterien	60
3.5.	Genotypische Differenzierung der ESBL-produzierenden <i>E. coli</i>	61
3.5.1.	DNA-Extraktion	61
3.5.2.	PCR	62
3.5.2.1.	PCRs zur Charakterisierung der Resistenzgene	62
3.5.2.2.	PCRs zur Charakterisierung der <i>E. coli</i>	63
3.5.3.	Herstellung eines Master-Mix und Vorbereiten der einzelnen Proben nach PCR-Protokoll	66
3.5.4.	Agarose-Gelelektrophorese	67
3.5.5.	Extraktion der DNA, Sequenzierung und Sequenzanalyse	68
3.6.	Serologische Bestimmung des O-Serotyps und Untersuchung auf Virulenzfaktoren bei <i>E. coli</i>	69
4.	ERGEBNISSE	70
4.1.	Antibiotikaresistenzen bei <i>E. coli</i> aus Wildvögeln	70
4.2.	Antibiotikaresistenzen bei <i>E. coli</i> aus Wildvögeln im Bezug auf die Ordnung	73
4.2.1.	Falconiformes	73
4.2.2.	Accipitriformes	74
4.2.3.	Passeriformes	75
4.2.4.	Strigiformes	76
4.2.5.	Anseriformes und Gruiformes	77
4.2.6.	Columbiformes	78
4.3.	ESBL-produzierende <i>E. coli</i>-Isolate aus Wildvögeln	79
5.	DISKUSSION	83
5.1.	Auswahl der einbezogenen Wildvogelgruppen	83
5.2.	Methodik	90
5.3.	Antibiotikaresistenzen und ESBL bei <i>E. coli</i> aus Wildvögeln	92
5.3.1.	Antibiotikaresistenzen und ESBL bei <i>E. coli</i> aus Passeriformes	95
5.3.2.	Antibiotikaresistenzen und ESBL bei <i>E. coli</i> aus Columbiformes	96

5.3.3.	Antibiotikaresistenzen und ESBL bei <i>E. coli</i> aus Falconiformes, Accipitriformes und Strigiformes	98
5.3.4.	Antibiotikaresistenzen und ESBL bei <i>E. coli</i> aus Anseriformes und Gruiformes	101
5.4.	Charakterisierung des ESBL-bildenden <i>E. coli</i> aus einem Blesshuhn (<i>Fulica atra</i>)	103
5.5.	Mögliche Zoonosegefahr durch multiresistente <i>E. coli</i> und ESBL-Bildner	109
6.	ZUSAMMENFASSUNG	111
7.	SUMMARY	113
8.	RESUMEN	115
9.	LITERATURVERZEICHNIS	118
10.	ANHANG	147
11.	DANKSAGUNG	168

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AB	Allgemeinbefinden
Abb.	Abbildung
ADKA-if-RKI	Bundesverband Deutscher Krankenhausapotheker e.V.- Infektiologie Freiburg - Robert Koch Institut
Ala	Alanin
AMC	Amoxicillin-Clavulansäure
AMP	Ampicillin
AmpC	Ampicillinase C
APEC	Aviär-pathogene <i>E. coli</i> (avian pathogenic <i>E. coli</i>)
ARS	Antibiotika Resistenz Surveillance
Asp	Asparaginsäure
bds.	beidseits
BLAST	Basic local alignment search tool
BVL	Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit
bzw.	beziehungsweise
CA	Clavulansäure (clavulanic acid)
CAZ	Ceftazidim
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
COL-Agar	Columbia-Agar mit Schafsblut
CTX	Cefotaxim
CTX-M	Cefotaximase
DART	Deutsche Antibiotika Resistenzstrategie
DDD	Defined daily doses
DIN	Deutsches Industrie Norm
DNA	Desoxyribonukleinsäure (desoxyribonucleic acid)
DOX	Doxycyclin
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EEA	European Economic Area
EARS-Net	European Antimicrobial Resistance Surveillance Network
EARSS	European Antimicrobial Resistance Surveillance System
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EHEC	Enterohaemorrhagische <i>E. coli</i>

ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EMB-Agar	Eosin-Methylenblau-Agar
ENR	Enrofloxacin
EPEC	Enteropathogene <i>E. coli</i>
ESBL	Extended-Spectrum Beta-Lactamase
<i>et al.</i>	<i>et alii</i>
ETEC	Enterotoxische <i>E. coli</i>
EU	European Union
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
ExPEC	Extraintestinal pathogene <i>E. coli</i>
EZ	Ernährungszustand
GENARS	German Network for Antimicrobial Resistance Surveillance
GERMVet	German Resistance Monitoring Veterinär
ggr.	geringgradig
Gly	Glycin
hgr.	hochgradig
Htk.	Hämatokrit
HUS	Hämolytisch urämisches Syndrom
InPEC / IPEC	Intestinal pathogene <i>E. coli</i>
kb	Kilo Basen
kg	Kilogramm
LPS	Lipopolysaccharide
m-RNA	messenger ribonucleic acid
MABUSE	Medical Antibiotic Use Surveillance and Evaluation
MAR	Marbofloxacin
mgr.	mittelgradig
MH-Agar	Müller-Hinton-Agar
MIC	minimal inhibitory concentration
min.	Minute (n)
Mio.	Millionen
MLST	Multi-locus Sequence-typing
mm	Millimeter
MPN	most propable number

MRSA	Methicillin-resistente <i>Staphylococcus aureus</i>
neg.	negativ
Nr.	Nummer
NTEC	Nekrotoxische <i>E. coli</i>
obB.	ohne besonderen Befund
OD	oculus dexter
OS	oculus sinister
OXA	Oxacillinase gene
PBP	Penicillin-bindendes Protein
PCR	Polymerase-Kettenreaktion (polymerase chain reaction)
PEG	Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e. V.
PFGE	Pulse-field Gelelektrophorese
PIT	Piperacillin-Tazobactam
pos.	positiv
red.	reduziert
Ref.	Referenz
RESET	Resistenzen bei Tier und Mensch – gemeinsame Forschung in Deutschland
RKI	Robert-Koch-Institut
RNA	Ribonukleinsäure (ribonucleic acid)
SARI	Surveillance der Antibiotikaaanwendung und bakteriellen Resistenzentwicklung auf deutschen Intensivstationen
sec.	Sekunde (n)
Ser	Serin
SGF	Schultergürtelfraktur
SHV	sulfhydryl variable
S-I-R	Sensibel-Intermediär-Resistent
SMART	Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends
spp.	Spezies (Mehrzahl)
STEC	Shiga-Toxin bildende <i>E. coli</i>
Stx	Shigatoxine
SXT	Sulfamethoxazol-Trimethoprim
Tab.	Tabelle
TEM	Temoniera
t-RNA	transfer ribonucleic acid

TZB	Tazobactam
u. a.	unter anderem
UPEC	Uropathogene <i>E. coli</i>
V. a.	Verdacht auf
VetCAb	Veterinary Consumption of Antibiotics
VRE	Vancomycin-resistente Enterokokken
vs.	Versus
WHO	World Health Organization
z. B.	zum Beispiel
ZNS	Zentrales Nervensystem
µg	Mikrogramm

1. EINLEITUNG

Der Einsatz von Antibiotika bei bakteriellen Infektionen von Mensch und Tier ist derzeit Gegenstand intensiver Diskussionen, da die Entwicklung bakterieller Resistenzen, zu denen auch die Bildung von Extended-Spectrum Beta-Lactamasen (ESBL) zählt, in kausalem Zusammenhang mit der Anwendung von Antibiotika in der Human- und Tiermedizin gesehen wird (VAN DEN BOGAARD & STOBBERINGH 2000, MARSHALL & LEVY 2011, KROKER et al 2002, VALENTIN-WEIGAND 2011). Aus diesem Grund wird aktuell nicht nur der Antibiotikaeinsatz kritisch hinterfragt, sondern auch weitere Überwachungs- und Monitoring-Programme zur Anwendung und zum Verbrauch von Antibiotika und dem Vorkommen bakterieller Erreger bei Menschen und Tieren gefordert (PFEIFER et al 2010, CARATTOLI 2008, MØELLER AERESTRUP 1999).

ESBL-bildende Bakterien der Familie Enterobacteriaceae, insbesondere *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. und *Klebsiella pneumoniae*, führen wegen ihrer Resistenz gegenüber Penizillinen und Cephalosporinen der dritten und vierten Generation weltweit zu ernsthaften, da schwer zu behandelnden Erkrankungen bei Mensch (RKI 2007) und Tier (WIELER et al 2011). Bei diesen Bakterien ist die ESBL-Bildung häufig mit der Resistenz gegenüber anderen Antibiotika verbunden, und dies verstärkt noch die Probleme bei der Therapie (RKI 2007, SMET et al 2010).

Escherichia coli sind Teil der normalen Darmflora bei Menschen und Tieren, sie sind aber auch der häufigste Verursacher von Harnwegs- und Niereninfektionen. Ebenso ist eine Verbindung mit Meningitis bei Neugeborenen nachgewiesen. Laut WHO „Antimicrobial Resistance Global Report on Surveillance 2014“ zählen *Escherichia coli* mit Resistenz gegen Cephalosporine der 3. Generation zu jenen Krankheitserregern, die Auswirkung auf die öffentliche Gesundheit haben und deshalb von internationalem Interesse sind (WHO 2014).

ESBLs sind häufig Plasmid-kodiert, und diese Plasmide werden horizontal zwischen Bakterien, und dabei auch zwischen Bakterien unterschiedlicher Arten übertragen (WITTE & MIELKE 2003, RKI 2007). Resistenzen können sich daher sehr rasch ausbreiten. In den frühen 1980er Jahren wurden ESBL-bildende Bakterien erstmals beschrieben (KNOTHE et al 1983), und damals wurden vor allem Resistenzgene der Temoniera (TEM)- und „Sulfhydryl Variable“ (SHV)-Typen nachgewiesen. Mittlerweile

dominieren jedoch die sogenannten Cefotaximase (CTX)-M-Typen, die durch eine hohe genetische Variabilität gekennzeichnet sind (LIVERMORE et al 2007, BONNET 2004, CANTON et al 2008). So wurden bislang mehr als 140 Varianten beschrieben (www.lahey.org/studies/). In den letzten Jahren wurden CTX-M-Enzyme produzierende *E. coli*, nicht nur beim Menschen, sondern auch bei landwirtschaftlichen Nutztieren (BÜCHTER 2010), in Lebensmitteln (KOLA et al 2012) und bei Haustieren nachgewiesen (EWERS et al 2010, EWERS et al 2012, EWERS et al 2014a).

Wildtiere spielen möglicherweise nicht nur als Vektoren oder Reservoirs ESBL-produzierender *E. coli*, sondern auch von *E. coli* mit Resistenzen gegenüber anderen Antibiotika eine wichtige Rolle (RADHOUANI et al 2014, GUENTHER et al 2011). Vor allem Wildvögel könnten in diesem Zusammenhang eine große Bedeutung besitzen und infolge ihrer hohen Mobilität und ihres häufigen Kontaktes mit menschlichen Siedlungen solche Erreger verbreiten und auf den Menschen oder seine Haustiere übertragen (LITERAK et al 2010b, GUENTHER et al 2011, GUENTHER 2010a, GUENTHER et al 2012b). Wildvögel könnten darüber hinaus als Bioindikatoren für das Vorkommen von Antibiotikaresistenzen und ESBL-Bildung bei Bakterien in der Umwelt dienen. Die Prävalenz von solchen Bakterien bei Wildvögeln ist aber weitgehend unbekannt, und insbesondere in Deutschland gibt es nur wenige Studien (GUENTHER et al 2010a, GUENTHER et al 2010b, GUENTHER et al 2012b). Deshalb fehlen fundierte Kenntnisse, die aber notwendig sind, um ein von Wildvögeln ausgehendes Risiko abzuschätzen. Für die Tiermedizin ist ein Wissen über vorkommende Antibiotikaresistenzen bei Bakterien aus Wildvögeln zusätzlich für die Behandlung von erkrankten aufgefundenen Vögeln von großer Relevanz, da in der Vogelmedizin häufig eine schnelle antibiotische Therapie lebensrettend ist (BERGS & KORBEL 2012, GERLACH 1990).

In der vorliegenden Arbeit sollte das Vorkommen von ESBL-Bildung und weiterer Antibiotikaresistenzen bei *E. coli*-Isolaten aus Wildvögeln untersucht werden. Um ein von diesen Vögeln ausgehendes Risiko der Übertragung dieser Bakterien auf Mensch und Haustier abzuschätzen, wurden Wildvögel untersucht, die tatsächlich in Kontakt mit dem Menschen gekommen sind. Es wurden daher Wildvögel, die von Menschen aus unterschiedlichen Gründen aufgefunden und an die Klinik für Vögel, Reptilien, Amphibien und Zierfische der LMU München gebracht wurden, auf das Vorkommen von *E. coli* mit Resistenzen gegenüber gängigen Antibiotika und ESBL-Bildung

untersucht. In die Studie wurden Wildvögel der Ordnungen Passeriformes, Columbiformes, Accipitriformes, Falconiformes, Strigiformes sowie Anseri- und Gruiformes unterschiedlicher Spezies- und Altersgruppen, und zwar Amseln, Tauben, verschiedene Wasservögel, Falken sowie andere tag- und nachtaktive Greifvögel einbezogen. Nachgewiesene ESBL-Bildner wurden zudem mittels serologischer und molekularbiologischer Methoden weiter charakterisiert.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1. *Escherichia coli* als Krankheitserreger

E. coli wurde erstmals im Jahr 1885 von Theodor Escherich im Stuhl von Säuglingen beschrieben. Heute werden viele Stämme mit unterschiedlichen Eigenschaften differenziert, die sowohl als harmlose Kommensalen Bestandteil der physiologischen Darmflora als auch wichtige Krankheitserreger bei Mensch und Tier sein können (SELBITZ 2002).

Bei *E. coli* handelt es sich um gram-negative, fakultativ anaerobe Stäbchenbakterien von 1,1 – 1,5 µm Breite und 2,0 – 6,0 µm Länge. Viele Stämme bilden Kapseln oder Mikrokapselformen aus, sind durch Flagellen beweglich oder bilden Enterotoxine oder andere Virulenzfaktoren. Die optimale Temperatur für Wachstum und Teilung liegt bei 37°C. Der Nachweis von *E. coli* basiert auf dem Vorliegen bestimmter biochemischer Eigenschaften. So werden D-Glucose und andere Kohlenhydrate unter Säure- und Gasbildung abgebaut. Bakterien der Art *E. coli* sind Oxidase-negativ, Katalase-positiv und reduzieren Nitrat. Sie können Natriumthiosulfat nicht zu H₂S umbilden und Harnstoff nicht hydrolysieren (HOLT et al 1994). Zur eindeutigen Identifizierung von *E. coli* und Abgrenzung von nahe verwandten Taxa wie *Shigella* spp. sind Analysen weiterer Stoffwechselreaktionen nötig (EWING 1986). So verwendet ein kommerziell erhältliches Test-Kit (API® 20E™, bioMérieux) zur Identifikation von *E. coli* ein standardisiertes System, das auf 20 biochemischen Reaktionen basiert, die über eine Identifikationssoftware und Vergleich mit einer Datenbank ausgewertet werden.

2.1.1. Serotypen

Die Art *E. coli* umfasst sowohl apathogene, kommensalische Stämme als auch Varianten mit unterschiedlichem pathogenem Potential. Bedeutend für die Differenzierung von *E. coli*-Stämmen ist eine Charakterisierung der wichtigsten Antigene, insbesondere der O- und H-Antigene (SELBITZ 2002). O (Oberflächen)-Antigene sind hitzestabile, somatische Antigene, die Bestandteile des Lipopolysaccharid (LPS)-Komplexes der Zellwand bilden. H (flagellar)-Antigene sind Proteine, die nur von den Geißeln beweglicher Zellen exprimiert werden. Häufig werden auch K-Antigene charakterisiert (SELBITZ 2002). K (capsular)-Antigene sind Kapselantigene,

Polysaccharide, die je nach Hitzeempfindlichkeit in A- und B-Antigene unterschieden werden können. Zusätzlich können F (Fimbrien)-Antigene, das sind hitzelabile Proteine der Fimbrien, und M (mucoid)-Antigene, von den Makrokapseln mukoider Coli-Stämme gebildete Antigene, bestimmt werden (SELBITZ 2002).

Eine Serotypisierung eines Stamms beinhaltet die Identifikation der detektierbaren Antigene über spezifische Antiseren. Dabei werden in der Regel die O- und H-Antigene angegeben. Gelegentlich werden aber auch die K-Antigene und weitere Antigen-Komponenten ermittelt (ØRSKOV & ØRSKOV 1984). Insbesondere zur Bestimmung der H-Antigene werden auch molekularbiologische Methoden (PCR und Sequenzierung) eingesetzt (FIELDS et al 1997). Ein 1977 veröffentlichtes Schema beinhaltete bereits über 160 verschiedene *E. coli* O-Antigene, die in verschiedenen Kombinationen mit H- und/ oder K-Antigenen schon annähernd 250 *E. coli*-Serotypen bezeichneten (ØRSKOV et al 1977). Inzwischen gibt es Hunderte von Serotypen, wobei laufend neue Kombinationen identifiziert werden.

Insbesondere der Nachweis eines bestimmten O-Antigens oder eines Serovars bzw. Serotyps erlaubt oft Rückschlüsse auf die Virulenz eines Stammes, da einzelne O-Gruppen häufig mit bestimmten Virulenzmerkmalen assoziiert auftreten (SELBITZ 2002). Beispielsweise gehören Erreger der Coliseptikämie bei Küken und adulten Hühnern häufig den Serovaren O1, O2, O111 und O78 an, während Erreger der Coligranulomatose gewöhnlich den Serovaren O8 und O9 zuzuordnen sind (HOOP & GLÜNDER 2012). Die vermutlich bekanntesten Serotypen, die weltweit für große Ausbrüche beim Menschen mit Todesfällen verantwortlich gemacht werden, sind O157:H7 und O104:H4. Der letztgenannte Serotyp war für das bisher größte Ausbruchsgeschehen von hämorrhagischer Gastroenteritis und hämolytisch-urämischem Syndrom (HUS) in Deutschland im Jahr 2011 verantwortlich (BfR 2011a, FRANK et al 2011). Als Reservoir für O157:H7 werden gesunde Rinder und andere Wiederkäuer gesehen (PIÉRARD et al 2012, NGUYEN & SPERANDIO 2012).

2.1.2. Pathotypen

Die pathogenen Wirkungen von *E. coli* beruhen vor allem auf der Bildung von Endo-, Entero- und Cytotoxinen (v. a. Hämolsine und Shigatoxine (Stx1, Stx2)) sowie Adhäsionsfaktoren (SELBITZ 2002). Verschiedene Varianten von *E. coli* unterscheiden sich sehr deutlich in ihrer Fähigkeit zur Bildung dieser Substanzen. So kommen diese Virulenzfaktoren bei kommensalischen Stämmen von *E. coli* im Allgemeinen nicht vor, während sich die pathogenen Varianten je nach Ausstattung mit einzelnen Virulenzfaktoren verschiedenen intestinalen (IPEC) und extraintestinalen (ExPEC) Pathotypen zuordnen lassen (KÖHLER & DOBRINTH 2011). Genetische Elemente wie zum Beispiel Plasmide oder Bakteriophagen, die diese Faktoren tragen, wurden durch horizontalen Gentransfer bei einigen *E. coli*-Varianten verbreitet. Diese Pathotypen lassen sich also durch molekularen Nachweis der unterschiedlichen Virulenzgene identifizieren (TSCHÄPE et al 2009).

Sieben *E. coli*-Pathotypen sind als Erreger verschiedener intestinaler und extraintestinaler Infektionskrankheiten bei Menschen und verschiedenen Tierarten bekannt (WIELER & EWERS 2011). Innerhalb der Gruppe der intestinal pathogenen *E. coli* (IPEC bzw. InPEC) lassen sich Enterotoxische *E. coli* (ETEC), Enteropathogene *E. coli* (EPEC), Enterohaemorrhagische *E. coli* (EHEC) und Enteroinvasive *E. coli* (EIEC) unterscheiden. In der Gruppe der extraintestinal pathogenen *E. coli* (ExPEC) werden uropathogene *E. coli* (UPEC) und Sepsis verursachende *E. coli* (SEPEC) voneinander abgegrenzt. Zusätzlich werden bei Vögeln noch für systemische Infektionen verantwortliche avian pathogenic *E. coli* (APEC) differenziert (KÖHLER & DOBRINTH 2011).

Durch extraintestinal pathogene *E. coli* (ExPEC) hervorgerufene relevante Erkrankungen spielen in der Tiermedizin eine große Rolle. Hier sind zum Beispiel Harnwegsinfektionen durch uropathogene *E. coli* (UPEC) bei Hund und Katze sowie Fruchtbarkeitsstörungen und Vaginitis bei Pferden, die coliforme Mastitis (Synonym: Metritis-Mastitis-Agalaktie (MMA)-Syndrom) und die Ödemkrankheit bei Schweinen, die *E. coli* Septikämie bei Rind und Lamm sowie Mastitis beim Rind von Bedeutung (SELBITZ 2002, WIELER & EWERS 2011).

Beispiele für durch intestinal pathogene *E. coli* (InPEC) hervorgerufene Infektionskrankheiten bei Säugetieren sind die *E. coli*-Diarrhoe der Kälber sowie der Saug- und Absetzferkel, die durch Enterotoxische *E. coli* (ETEC) hervorgerufen werden (WIELER & EWERS 2011). Als EPEC (Enteropathogene *E. coli*) bezeichnete Varianten der InPEC verursachen durch Veränderungen des Darmepithels, insbesondere dem Verlust der Mikrovilli, Durchfallerkrankungen bei Kaninchen. NTEC (Nekrotoxische *E. coli*), charakterisiert durch die Bildung von Zytonekrosefaktoren (CNF), wurden bei Kälbern mit Durchfällen und Septikämien nachgewiesen (SELBITZ 2002).

Die bei Vögeln pathogenen *E. coli*-Stämme (APEC) sind nicht nur als Auslöser von Coliseptikämien und Coligranulomatosen relevant, sie verursachen auch Eileiterentzündungen, Arthritiden und Luftsackentzündungen (SELBITZ 2002) und besitzen deshalb insbesondere beim Wirtschaftsgeflügel große wirtschaftliche Bedeutung.

2.1.3. Tenazität

Verschiedene Studien belegen eine hohe Tenazität von *E. coli*. So blieb bei Schutz vor UV-Licht und einer Temperatur von 20 °C die Vermehrungsfähigkeit eines *E. coli*-Wildtyps nach Aufbringung auf Glas über 40 Tage und auf Holz mehr als ein Jahr erhalten. Shigatoxine von EHEC-Stämmen waren mittels ELISA und/oder PCR bis zu 430 Tage auf Holz nachweisbar (ROTH 2004). Praktisch relevant sind diese Untersuchungen vor allem, weil *E. coli* zusätzlich zu ihrer Umweltresistenz eine ausgeprägte Fähigkeit zur Resistenzentwicklung besitzen und daher wie auch *Klebsiella pneumoniae* und *Pseudomonas aeruginosa* typische Hospitalismuskeme darstellen (TSCHÄPE et al 2009). Daraus ergibt sich die Notwendigkeit eines adäquaten Hygienemanagements insbesondere im Praxis- und Klinikalltag, damit diese Bakterien nicht durch unbeabsichtigte und unbemerkte Schmierinfektionen von einem Patienten auf einen anderen übertragen werden.

2.1.4. Phylogenetische Gruppen

Pathogenität und Virulenz der verschiedenen *E. coli*-Infektionen stehen im Zusammenhang mit der phylogenetischen Gruppe. Momentan werden die Erreger in vier phylogenetische Hauptgruppen (A, B1, B2, D) (CLERMONT et al 2000, GORDON et al 2008) und weitere Subgruppen (A0, A1, B1, B2₂, B2₃, D1, D2) (ESCOBAR-PARAMO et al 2004) eingeteilt, die sich nicht nur durch die Tendenz, verschiedene Krankheiten zu verursachen, sondern auch in anderen phänotypischen Eigenschaften wie z. B. dem Temperaturoptimum für Wachstum und im Antibiotikaresistenzprofil unterscheiden. Virulente Stämme, unter anderem die Verursacher von ExPEC-Infektionen bei Menschen, gehören vor allem den Gruppen B2 und D an, während die meisten kommensalischen *E. coli*-Stämme den Gruppen A und B1 zuzuordnen sind (PICARD et al 1999, GORDON et al 2008, CLERMONT et al 2000, CARLOS et al 2010). Die phylogenetische Gruppe kann durch Multi-Locus Sequenz-Typisierung (MLST) ermittelt werden. Dabei werden die Sequenzen von einer ganzen Reihe von Genen bestimmt, und zwar in einem sogenannten deutschen System von sieben Genen, nämlich *adk*, *fumC*, *gyrB*, *icd*, *mdh*, *purA* und *recA*, und in einem sogenannte französischen System von sechs Genen, und zwar *icd*, *pabB*, *polB*, *putB*, *trpA* und *trpB*. Die Gensequenzen werden mit Datenbanken verglichen und so die phylogenetische Gruppe bestimmt. Je nachdem, welches Schema benutzt wird, können zusätzlich weitere phylogenetische Gruppen (D1, D2, B1-1, B1-2, E1 und E2) bestimmt werden (GORDON et al 2008). Eine vereinfachte Methode, die von Clermont et al (2000) entwickelt wurde, stützt sich auf eine Triplex-PCR. Diese basiert auf dem PCR-basierten Nachweis des Vorhandenseins oder Fehlens von zwei Genfragmenten (*chuA*, *yjaA*) und einem weiteren DNA-Fragment eines nichtcodierenden Genes (TSPE4.C2) unter Anwendung einer einfachen Agarosegel-Elektrophorese. Durch die verschiedenen Kombinationen von Vorhandensein oder Fehlen von *chuA*, *yjaA* und TSPE4.C2 wird die phylogenetische Hauptgruppe bestimmt. Hierbei ist das Gen *chuA* in allen B2- und D-Stämmen nachweisbar, *yjaA* in B2- und TSPE4.C2 in B1-Stämmen (CLERMONT et al 2000, GORDON et al 2008, HIGGINS et al 2007). In einem umfangreichen Methodenvergleich zeigte sich, dass mit der Methode von Clermont et al (2000), die phylogenetischen Gruppen B1 und B2 in 95 % der Fälle korrekt identifiziert wurden. Insgesamt wurden mit beiden Methoden in 80-85 % der Fälle die identische Gruppe ermittelt (GORDON et al. 2008).

2.2. Antibiotika zur Bekämpfung von *E. coli*

2.2.1. Antibiotikaeinsatz bei Mensch und Tier

2.2.1.1. Antibiotikaverbrauch in der Humanmedizin

Im Rahmen einer Initiative des Bundesamtes für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL), der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie und der Abteilung für Infektiologie an der Medizinischen Universitätsklinik Freiburg wurde eine Arbeitsgruppe (GERMAP) zur Erfassung des Antibiotikaverbrauchs und der Verbreitung von Antibiotikaresistenzen in der Humanmedizin und Tiermedizin in Deutschland gegründet. In diesem Zusammenhang wurden bislang drei Berichte publiziert, und zwar in den Jahren 2008 und 2011 und zuletzt im Jahr 2014. Demnach wurden in der Humanmedizin im Jahr 2009 im ambulanten Bereich fast 40 Millionen Antibiotika-Verordnungen registriert. Die Verordnungsdichte gibt den Antibiotikaverbrauch im ambulanten Bereich an, sie bezieht sich auf die Antibiotikaverordnungen pro 1000 Versicherte pro Tag und wird in DDD (defined daily doses)/1000 Versicherte angegeben. Nach Angaben der gesetzlichen Krankenkassen wurden im Jahr 2009 14,9 DDD/1000 Versicherte erreicht. Allerdings wurden in Deutschland große regionale Unterschiede mit einem niedrigen Verbrauch in den östlichen Bundesländern (z.B. 10,1 DDD im Jahr 2008 in Brandenburg), und einem hohen Verbrauch in den westlichen Bundesländern (z.B. 17 DDD im Jahr 2008 im Saarland und in Nordrhein-Westfalen) registriert (GERMAP 2011).

Die 2008 in Deutschland am häufigsten verordneten Antibiotika waren Basispenicilline (105,3 Mio. DDD), Tetracycline (82,5 Mio. DDD) sowie Oralcephalosporine, Aminopenicillin mit Beta-Lactamase-Inhibitor und Flucloxacillin (56,3 Mio. DDD). Dabei stieg der Anteil der eingesetzten sogenannten „Reserveantibiotika“. Im Zeitraum von 2003 bis 2008 war bei Cephalosporinen eine Zunahme von 62 % und bei Chinolonen von 34 % festzustellen. Deutschland liegt mit einer Verordnungsdichte im ambulanten Bereich von knapp 15 DDD/1000 Versicherte im Vergleich zu anderen Ländern im unteren Drittel. Griechenland, Zypern, Frankreich, Italien, Belgien und Luxemburg lagen 2006 und 2008 mit fast doppelt so vielen DDD in der Spitzengruppe, die Niederlande und die Schweiz wiesen die niedrigste Verordnungsdichte (ca. 10 DDD/1000 Versicherte) auf (GERMAP 2011). Nach Angaben des aktuellen Reports,

GERMAP 2012, der momentan noch in einer Korrekturversion vorliegt, ist die Verordnungsdichte (defined daily doses DDD/1000 Versicherte) im ambulanten Bereich geringfügig gesunken und lag für das Jahr 2011 bei 14,1 DDD, allerdings hat auch 2011 der Anteil der sogenannten „Reserveantibiotika“ weiter zugenommen (GERMAP 2014).

Der Antibiotikaverbrauch im stationären Bereich ist schwieriger einzuschätzen. Die durchschnittliche Verweildauer im Krankenhaus hat sich in den letzten Jahren deutlich reduziert, da die Zahl der Krankenhäuser und Betten sinkt, während die Zahl der stationären Aufnahmen zunimmt. Laut GERMAP 2010 war alleine deshalb ein Anstieg der Verbrauchsdichte im stationären Bereich zu erklären. Im stationären Bereich wird die (Antibiotika)-Verbrauchsdichte in DDD (defined daily doses)/100 Pflage tage oder DDD/Krankenhausfall angegeben (GERMAP 2011). Die Verbrauchsdichte für Krankenhauspatienten in deutschen Krankenhäusern lag für das Jahr 2004 bei durchschnittlichen 50 DDD/100 Pflage tage bzw. 3,5 DDD/Krankenhausfall, wobei die (Antibiotika-) Verbrauchsdichte mit der Bettenzahl und der Größe des Krankenhauses anstieg. Eine Analyse der Daten für 2004 zeigte, dass unabhängig von der Krankenhausgröße auch hier Beta-Lactame (30-36 DDD/100) und Fluorchinolone (6-8 DDD/100) die am häufigsten verwendeten Antibiotika waren. (GERMAP 2011). Nach dem Vorliegen aktueller Daten aus dem GERMAP 2012 Bericht lag die Verbrauchsdichte in deutschen Krankenhäusern in der Akutversorgung im Jahr 2011 bei durchschnittlich 57 DDD/100 (GERMAP 2014).

Bei dem MABUSE (Medical Antibiotic Use Surveillance and Evaluation)-Netzwerk handelt es sich um ein Projekt der Infektiologie Freiburg (iF) und des Bundesverbands Deutscher Krankenhausapotheker (ADKA), das einen Modellversuch zur Sammlung von Antibiotikaverbrauchsdaten in Krankenhäusern (stationär) darstellt. Das Pilotprojekt MABUSE wurde 2010 als ADKA-iF-RKI-Projekt mit Unterstützung des Robert-Koch-Institutes fortgeführt. SARI (Surveillance der Antibiotika-Anwendung und der bakteriellen Resistenzen auf Intensivstationen) sammelt seit dem Jahr 2000 Daten zur Antibiotikaanwendung und zur Resistenzsituation auf inzwischen 60 Intensivstationen. Auf deutschen Intensivstationen blieben die Verbrauchszahlen insgesamt über 2001 – 2008 nahezu konstant. Allerdings verdoppelte sich die Verwendung von Carbapenem, vermutlich verursacht durch einen Anstieg der gegen Cephalosporine der 3. Generation resistenten *E. coli* (1,2 % im Jahr 2001 und 19,7 %

im Jahr 2008) und *Klebsiella pneumoniae* (3,8 % vs. 25,5 %). Für das Jahr 2008 wurde ebenfalls ein starker Anstieg der Verbrauchsdichte bei Chinolonen (163/1000 Patienten-Tage) und Cephalosporinen der 3. und 4. Generation (117/1000 Patienten-Tage) festgestellt (MEYER et al 2006, MEYER et al 2010).

Seit 2007 wurden in Deutschland weitere Projekte zu Überwachung der Antibiotika-Anwendung und des Antibiotika-Verbrauchs insbesondere in Krankenhäusern initiiert. Beispiele sind das ARS-(Antibiotika Resistenz Surveillance) Projekt, das 2007 gestartet und bis 2010 durch das Bundesministerium für Gesundheit gefördert wurde. Seit 2010 wird ARS als eigenständiges Projekt des Robert-Koch-Instituts <https://ars.rki.de/> weitergeführt und sammelt aktuelle Daten zur Resistenzlage und zum Antibiotikaverbrauch. Das ADKA-if-RKI (Bundesverband Deutscher Krankenhausapotheker e.V. - Infektiologie Freiburg - Robert-Koch-Institut)-Projekt <http://www.antiinfektiva-surveillance.de/> sammelt seit 2010 Antibiotikaverbrauchsdaten aus Krankenhäusern.

Nach dem § 23 Abs. 3 des Infektionsschutzgesetzes von 2000 müssen Leiter von Krankenhäusern und ambulanten Operationseinrichtungen Maßnahmen einleiten, um nosokomiale Infektionen und die Verbreitung von Resistenzen zu verhindern. In § 23 Abs. 4 wird gefordert, den Antibiotika-Verbrauch zu überwachen und aufzuzeichnen. Art und Umfang der zu erhebenden Daten werden durch das Robert-Koch-Institut festgelegt (ANONYMUS 2000). Bei der Durchführung dieser Antibiotika-Verbrauchs-Surveillance soll die Verbrauchsanalyse mindestens einmal jährlich durchgeführt werden und im Idealfall in Form einer Zusammenarbeit von behandelnden Ärzten und Vertretern der Bereiche Infektiologie, Mikrobiologie, Hygiene, „Antibiotic Stewardship“ und Apotheke erfolgen. Durch kontinuierliche Überwachung des Antibiotikaverbrauchs, Auswertung der Surveillance-Daten, Identifikation problematischer Bereiche und ggf. Maßnahmen zur Verbesserung soll ein wichtiger Beitrag zur Eindämmung der Resistenzproblematik und Verbesserung der Behandlung geleistet werden (SCHWEIKERT et al 2013).

2.2.1.2. Antibiotikaverbrauch in der Tiermedizin

Der Antibiotikaverbrauch in der Tiermedizin wurde im Gegensatz zur Humanmedizin vor 2007 in Deutschland nicht kontinuierlich und öffentlich dokumentiert. Nachdem in den letzten Jahren Antibiotikaresistenzen und multiresistente Keime auch bei Tieren deutlich zugenommen haben und weiter zunehmen, wie zahlreiche Nachweise, insbesondere bei lebensmittelliefernden Tieren zeigen, wird nicht nur von der Öffentlichkeit, sondern auch von Seiten der Regierung eine stärkere Überwachung des Antibiotikaverbrauchs auch für die Nutztierhaltung gefordert (DART 2011).

Die Zoonoserichtlinie 2003/99/EG impliziert die Überwachung von Antibiotikaresistenzen bei Zoonoseerregern in den Mitgliedsländern in Kapitel III, Artikel 7 (ANONYMUS 2003). DART (Deutsche Antibiotika Resistenzstrategie), ein Projekt des Bundesministerium für Gesundheit, des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz und des Bundesministeriums für Bildung und Forschung, mit dem Ziel, antimikrobielle Resistenzen zu bekämpfen, forderte als zukünftige nationale Maßnahme zur Minimierung von Antibiotikaresistenzen u. a. eine Antibiotika-Abgabemengenerfassung und eine Antibiotika-Verbrauchsmengenerfassung in Deutschland (DART 2011). Dementsprechend wurden erste Erhebungen zum Antibiotikaverbrauch in Deutschland durch das Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) http://www.bvl.bund.de/DE/08_PresseInfothek/01_FuerJournalisten/01_Presse_und_Hintergrundinformationen/05_Tierarzneimittel/2013/2013_07_30_hi_Antibiotikaabgabe.html?nn=1401276 und eine Antibiotikaverbrauchsstudie VetCAb (Veterinary Consumption of Antibiotics) http://www.vetcab.de/fachinformation_vetcab_20130709.pdf durchgeführt. Von beiden Studien sind inzwischen erste Ergebnisse verfügbar. Die Auswertung der durch das BVL erstmals im Jahr 2011 über die Pharmaunternehmen erhobenen und ausgewerteten Daten zur Abgabemengenerfassung antimikrobiell wirksamer Stoffe ergab eine Menge von insgesamt rund 1706 Tonnen Antibiotika, die an Tierärzte in Deutschland abgegeben wurden, wobei der Hauptanteil auf Tetracycline (564 Tonnen) und Penicilline (527,5 Tonnen) entfiel. Von den 5,5 Tonnen abgegebenen Cephalosporinen entfielen 3,5 Tonnen auf Cephalosporine der 3. und 4. Generation.

Die zweite Datenerhebung aus dem Jahr 2012 ergab zwar insgesamt eine Senkung der Antibiotikaabgabe um 87 Tonnen auf 1619 Tonnen, hier entfielen aber 4 Tonnen (+ 0,5 Tonnen) auf Cephalosporine der 3. und 4. Generation, sowie 10 Tonnen (+ 2 Tonnen) auf Fluorchinolone, die „Reserveantibiotika“ der Humanmedizin. Eine Zuordnung zu Tierarten war bei diesen Erhebungen nicht möglich, da die Mehrzahl der Wirkstoffe für verschiedene Tierarten zugelassen ist (WALLMANN et al 2014).

Eine „Machbarkeitsstudie VetCAb“ im Auftrag des Bundesinstituts für Risikobewertung (BfR) sollte klären, ob die in der Zoonoserichtlinie 2003/99/EG und vom BVL (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit) geforderte Verbrauchsmengenerfassung an Nutztiere in Deutschland verabreichter Antibiotika durchführbar ist. In den Jahren 2007/2008 stellten für die Studie 24 tierärztliche Praxen und 66 landwirtschaftliche Betriebe freiwillig ihre Aufzeichnungen zur Verfügung, welche dann in eine Datenbank eingegeben und ausgewertet wurden. Die jeweiligen Mengen der Wirkstoffe (kg) und die Zahl der Einzelgaben (Tierzahl, Behandlungsdauer) wurden analysiert und den Wirkstoffgruppen zugeordnet. Die Studie zeigte, dass Tetracycline die häufigsten bei Schwein und Rind eingesetzten Wirkstoffe waren, gefolgt von Beta-Lactamen bei Schweinen und Sulfonamid-Trimethoprim-Kombinationen bei Rindern. Die Auswertung der Daten kann auch nach Altersgruppen oder Nutzungsrichtung der Tierarten durchgeführt oder z. B. die Therapiedichte (Einzelgaben/Anzahl betreuter Tiere) ermittelt werden. Diese „Machbarkeitsstudie“ kam zu dem Fazit, dass Daten zu den Verbrauchsmengen in Deutschland mit wenig zusätzlichem Aufwand zuverlässig erfasst werden können (HAJEK et al 2010).

Basierend auf den Erfahrungen der „Machbarkeitsstudie VetCAb“ wurde eine Folgestudie mit dem Namen „VetCAb-Pilot“ durchgeführt, für die erste Ergebnisse seit Juli 2013 verfügbar sind. Die Teilnahme an dieser Studie war freiwillig. Je nach Tierart wurden bis zu 3,8 % aller Nutztiere in Deutschland erfasst. Dabei ergab sich, dass im Jahr 2011 von den teilnehmenden Betrieben 25,6 Tonnen Antibiotika eingesetzt wurden, die sich auf 3,6 Tonnen bei Broйлern, 1,6 Tonnen bei Rindern und 20,4 Tonnen bei Schweinen verteilten. Insgesamt entfielen die größten Mengen auf Beta-Lactame und Tetracycline. Die verwendeten Substanzgruppen unterschieden sich jedoch bei den Tierarten. Beim Broiler wurden mengenmäßig am häufigsten Polypeptide, gefolgt von Beta-Lactamen, verwendet. Dies bezieht sich auch auf Einzelgaben, also die

Anwendung eines Wirkstoffes an einem Tag und bei einem Tier. Bei Schweinen waren Tetracycline die am häufigsten verwendeten Antibiotika, gefolgt von Beta-Lactamen und potenzierten Sulfonamiden. Bezogen auf die Einzelgaben standen Beta-Lactame an erster Stelle. Bei Rindern wurden mengenmäßig am häufigsten Beta-Lactame eingesetzt, auch als Einzelgaben. Hier folgen Tetracycline und Sulfonamide.

Die Berechnung der Therapiehäufigkeit (durchschnittliche Antibiotika-Behandlungstage pro Tier in einem Bestand) stellt eine Möglichkeit dar, den Antibiotikaeinsatz zwischen Betrieben oder Regionen zu vergleichen. Die standardisierte Therapiehäufigkeit (z. B. bezogen auf 100 (Tier-) Tage) erlaubt zudem einen Vergleich zwischen den Tierarten. Dabei bezieht sich die Therapiehäufigkeit stets auf Einzelwirkstoffe, bei Kombinationspräparaten wurde in dieser Studie die Anzahl der Wirkstoffe als Faktor in die Berechnung mit einbezogen (z. B. 1 Wirkstoff über 4 Tage verabreicht ist gleichwertig mit der Verabreichung eines Kombinationspräparates aus 2 Wirkstoffen über 2 Tage). Bei der Auswertung der Daten zeigte sich, dass ein Mastschwein während der Mastdauer (115 Tage) durchschnittlich an 4,2 Tagen und ein Broiler während der Mastdauer (39 Tage) durchschnittlich an 10,1 Tagen mit Antibiotika behandelt wurden. Bei der Berechnung der standardisierten Therapiehäufigkeit für den Zeitraum von 100 Tagen ergab sich für die in dieser Studie erfassten Betriebe eine Therapiehäufigkeit antibiotischer Behandlungen für Broiler von 25,8 Tagen, für Mastschweine von 3,7 Tagen, für Kälber von 0,3 Tagen und für Milchkühe von 1 Tag (VAN RENNINGS et al 2013).

In der 16. Novelle des Arzneimittelgesetzes, die im Frühjahr 2014 in Kraft getreten ist, wurden in den §§ 56, 57 und 58 Ermächtigungen zur Minimierung des Antibiotikaverbrauchs in der Tiermedizin ausgesprochen. Bestimmte Antibiotika, und zwar Cephalosporine der 3. und 4. Generation, Fluorchinolone (Gyrasehemmer), die in der Humanmedizin als Reserveantibiotika gelten, und ihre Anwendung bei Tieren wurden stärker berücksichtigt. So sollte z. B. die Zulassungsbestimmung (Applikationsart und Tierart) berücksichtigt und ein Antibiogramm bei Umwidmung oder Wechsel des Antibiotikums verpflichtend werden. Weiter wurde festgelegt, dass Tierhalter lebensmittelliefernder Tiere halbjährlich ihre Bestandszahlen, den Antibiotikaverbrauch ihrer Betriebe und die Therapiehäufigkeit in Datenbanken eingeben und diesen mit nationalen Kennzahlen zum Antibiotikaeinsatz vergleichen müssen. Bei Überschreiten dieser Kennzahlen, also einem erhöhten Einsatz, wurden

die Landwirte dazu verpflichtet, zusammen mit ihrem Tierarzt Maßnahmen zur Antibiotikaminimierung ergreifen. Bei Nichtbeachtung wurden Strafen bis zum Haltungsverbot festgelegt (ANONYMUS 2005).

2.2.2. Antibiotika

Antibiotika im engeren Sinne sind von Pilzen oder Bakterien produzierte Stoffe, die entweder das Wachstum von Bakterien hemmen (bakteriostatische Wirkung) oder diese abtöten (bakterizide Wirkung). Chemotherapeutika sind synthetisch hergestellte Stoffe vergleichbarer Wirkung (KROKER 2006). Der Begriff Antibiotika wird mittlerweile aber weiter gefasst und umfasst sowohl die Antibiotika sensu stricto als auch die Chemotherapeutika.

Paul Ehrlich (1854 – 1915) und sein Mitarbeiter Sahachiro Hata (1873 – 1938) legten durch die Entdeckung des Salvarsans 1910 den wissenschaftlichen Grundstein für die gezielte Chemotherapie und erreichten einen Durchbruch für die gezielte Therapie von Infektionskrankheiten. Die Entdeckung des ersten Antibiotikums Penicillin durch Sir Alexander Fleming (1881 – 1955) und dessen spätere Einführung in die Therapie erlaubten eine erfolgreiche Kontrolle von gram-positiven Erregern wie Streptokokken und Clostridien. (VALENTIN-WEIGAND 2011).

Die verschiedenen Antibiotika besitzen bei ihrer Wirkung gegen Bakterien spezifische Angriffspunkte, wobei entweder das Wachstum der Bakterien gehemmt (bakteriostatische Wirkung) oder die Bakterienzellen durch Schädigung essentieller Strukturen abgetötet (bakterizide Wirkung) werden. Die Wirkungsmechanismen der Antibiotika können nach Kroker (2006) in acht Kategorien eingeteilt werden:

Bakterizide Wirkungen:

1. Lysis der Bakterienzelle durch direkte Interaktion mit Lipidregionen der Zellmembran (Vorkommen z. B. bei Polypeptidantibiotika)
2. Lysis der Bakterienzelle durch Synthesestörung des Peptidoglykangerüsts der Bakterienzelle (Vorkommen z. B. bei Beta-Lactamen)
3. Angriff reaktiver Intermediärprodukte auf zelluläre Makromoleküle (Vorkommen z. B. bei Nitroimidazolen)

4. Hemmung der DNA-abhängigen RNA-Polymerase, (Vorkommen z. B. bei Asamycinen) oder durch Hemmung der Gyrase, des DNA-Supercoiling oder der DNA-Synthese (Vorkommen z. B. bei Chinolonen)

Bakteriostatische Wirkungen:

5. Angriff auf die 30 S-Untereinheit der bakteriellen Ribosomen mit der Folge einer Hemmung des Andockens des t-RNA-Aminosäurenkomplexes (Vorkommen z. B. bei Tetracyclinen)

6. Interaktion mit der 30 S-Untereinheit mit Ablesefehlern an der m-RNA und Bildung von „Nonsense“-Proteinen (Vorkommen z. B. bei Aminoglykosiden)

7. Interferenz mit Peptidyltransferase und ihren Substraten und Translokation eines neugebildeten Aminosäure-t-RNA-Komplexes (Vorkommen z. B. bei Makroliden)

8. Beeinflussung des Bakterienstoffwechsels bei der Folsäure- oder Purin-Bildung (Vorkommen z. B. bei Sulfonamiden) (KROKER 2006)

2.2.2.1. Beta-Lactam-Antibiotika

Die Entdeckung von Penicillin durch Alexander Fleming 1929 aus *Penicillium notatum* gab den Anstoß zu weiteren Forschungen auf dem Gebiet der Antibiotika. Florey und Chain entwickelten im folgenden Jahrzehnt Methoden zur Penicillingewinnung aus *Penicillium*-Kulturen, dies erlaubte den breiten Einsatz von Penicillin im 2. Weltkrieg (KROKER et al 2002).

Die Gruppe der Beta-Lactam-Antibiotika setzt sich aus den Penicillinen, also den Abkömmlingen der 6-Aminopenicillansäure, und den Cephalosporinen, Cephamycinen und Oxacephemen, die Abkömmlinge der 7-Aminocephalosporansäure sind, zusammen (KROKER et al 2002). Sie besitzen einen viergliedrigen Lactam-Ring (siehe Abbildung 1 und 2). Carbapeneme und Monobactame als weitere Substanzgruppen der Beta-Lactame werden nur in der Humanmedizin eingesetzt und spielen in der Tiermedizin keine Rolle (KROKER 2006).

2.2.2.1.1. Grundstrukturen der Beta-Lactam-Antibiotika

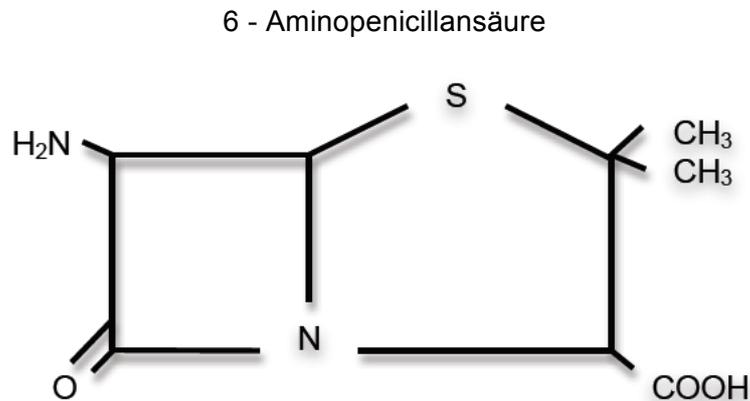


Abbildung 1: Grundstruktur der Penicilline

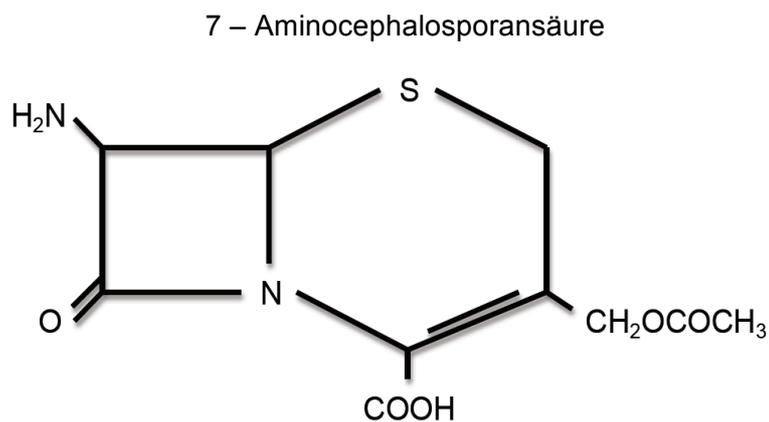


Abbildung 2: Grundstruktur der Cephalosporine

2.2.2.1.2. Wirkmechanismus der Beta-Lactam-Antibiotika

Die Wirkungsweise aller Beta-Lactam-Antibiotika beruht auf zwei Mechanismen. Erstens wird die Synthese des Peptidoglykans gehemmt, eines Bestandteils der Zellwand von Bakterien. Transpeptidasen, die am letzten Syntheseschritt des Peptidoglykans beteiligt sind, werden nach Spaltung des Beta-Lactamringes der Antibiotika acetyliert und damit inaktiviert. Dadurch wird die Entstehung des Mureins, das der Bakterienzelle physikalische Stabilität gibt, gestört. Zweitens gehen Beta-Lactame kovalente Bindungen mit sogenannten „Penicillin-bindenden Proteinen“ ein. Diese haben verschiedene enzymatische Eigenschaften und sind an

Zellteilungsvorgängen beteiligt. So können sie auch zur Lysis der Bakterienzelle führen (KROKER 2006). Trotz der zunehmenden Resistenzbildung sind Beta-Lactam-Antibiotika aufgrund ihrer bakteriziden Wirksamkeit und geringer Toxizität bei sensiblen Erregern immer noch Mittel der Wahl (KROKER 2006).

2.2.2.1.3. Penicilline

Die Penicilline sind eine Gruppe natürlicher (von verschiedenen *Penicillium* spp. produzierter) und halbsynthetischer Antibiotika, die 6-Aminopenicillansäure als chemischen Kern enthalten. Dieser besteht aus einem Beta-Lactam- und einem Thiazolidinring. Die Penicilline unterscheiden sich durch verschiedene Substitutionen an Position 6, dadurch bedingte unterschiedliche Pharmakokinetiken und unterschiedliche antibakterielle Eigenschaften (YAO & MOELLERING 2007).

Benzylpenicillin (Penicillin G) als erstes Antibiotikum überhaupt ist säurelabil, wird also nach oraler Applikation im sauren Magenmilieu zerstört und kann somit bei Säugetieren nur parenteral verabreicht werden. Aufgrund der kurzen Halbwertszeit (z. B. Pferd 0,6 Stunden) sind parenterale Applikationen alle 4 – 6 Stunden nötig. Das Wirkungsspektrum richtet sich überwiegend gegen grampositive Erreger. Bei *E. coli* kommen häufig durch Penicillinase-Bildung bedingte Resistenzen vor (KROKER 2006).

Phenoxyphenicilline sind Oralpenicilline, gut wasserlöslich und relativ säurestabil. Nach parenteral eingeleiteter Penicillintherapie können diese Präparate zur Weiterbehandlung eingesetzt werden. Monopräparate sind für die Tiermedizin allerdings nicht verfügbar (KROKER 2006).

Penicillinase-feste Penicilline sind gegenüber Staphylokokken-Beta-Lactamase um 50 – 250 – fach stabiler als Benzylpenicillin. In der Tiermedizin werden Cloxa- und Oxacillin in der Mastitistherapie eingesetzt (KROKER 2006).

Die Aminopenicilline als Breitspektrumpenicilline mit den in der Tiermedizin wichtigsten Vertretern Ampicillin und Amoxicillin sind oral anwendbar und besonders gut verträglich, dadurch haben sie große Bedeutung in der Tiermedizin, insbesondere bei

der Behandlung von Erkrankungen des Respirations-, Gastrointestinal- und Urogenitaltraktes. Die Wirksamkeit gegenüber gram-negativen Bakterien wie *E. coli* ist 4 – 10 mal stärker als die von Benzylpenicillin (KROKER 2006).

Carboxylpenicilline wurden früher in der Humanmedizin zur Behandlung von Pseudomonasinfektionen eingesetzt. Tiermedizinische Anwendungsgebiete sind Pseudomonas- und Proteusinfektionen bei Hunden. Hier wird parenterale Anwendung 4 – 6 mal täglich empfohlen (KROKER 2006).

Ureidopenicilline, bzw. Acylaminopenicilline mit den Vertretern Piperacillin und Azlozillin haben keine Beta-Lactamasenstabilität, wirken aber auch gegen *Pseudomonas aeruginosa*, Enterobakterien und –kokken. Tiermedizinische Präparate sind nicht verfügbar (KROKER 2006).

Penicillin und Beta-Lactamase-Inhibitor-Kombinationen, z. B. Amoxicillin-Clavulansäure, ermöglichen eine Behandlung von Infektionen mit Beta-Lactamasen bildenden Bakterien. Der Beta-Lactamasen-Hemmer Clavulansäure enthält selbst einen Beta-Lactam-Ring und blockt durch direkte Bindung an deren aktive Zentren die Wirkung der Beta-Lactamasen (KROKER 2006).

Beispiele für momentan in der Tiermedizin zugelassene Penicilline sind laut VETIDATA (Stand: Juli 2014) das für Schweine, Hühner und Puten zugelassene Aviapen 250mg/g Pulver® und das für Pferde, Rinder, Schafe, Ziegen, Hunde und Katzen zugelassene Procain Penicillin Susp. 300mg/ml®, die Benzylpenicillin enthalten. Für Hühner zugelassen ist BayCubis 325 mg/g Pulver® und Phenoxipen WSP®, ein Phenoxymethylpenicillin. Vetoscon 166,6 mg/g®, mit Cloxacillin als Wirkstoff, ist als Augensalbe für Pferde, Rinder, Schafe, Hunde und Katzen zugelassen. Ampicillin und Amoxicillin sind in vielen Präparaten für verschiedene Tierarten in Deutschland verfügbar. Beispiele sind das für Hunde und Katzen zugelassene Amoxicillin 40 mg Tabletten® und das für Hühner zugelassene Octacillin 800 mg/g Pulver®. Präparate mit Ampicillin als Wirkstoff sind das für Hunde und Katzen zugelassene Ampicillin-125 mg Tabletten® und das für Rinder, Schweine, Hühner, Brieftauben und Hunde zugelassene Ampicillin P 1000 mg/g Pulver®. Amoxicillin-Clavulansäure-Kombinationen sind als Amoxiclav 40/10 mg Tabletten® für Hunde und Katzen, und als Synulox RTU 140/35 mg/ml Injektionssuspension® für Rinder, Schweine, Hunde und

Katzen verfügbar (VETIDATA 2014). Im Folgenden sind die Penicilline in einer Übersicht dargestellt (Tabelle 1).

Tabelle 1: Übersicht über die Penicilline (mod. nach YAO & MOELLERING 2007)

1. Natürliche Penicilline:

1.1. Benzylpenicillin (Penicillin G)

1.2. Phenoxymethyl Penicillin (Penicillin V)

2. Halbsynthetische Penicilline

2.1. Penicillinase resistente Penicilline

2.1.1. Methicillin

2.1.2. Nafcillin

2.1.3. Cloxacillin

2.1.4. Dicloxacillin

2.1.5. Oxacillin

2.2. Extended-Spectrum Penicilline

2.2.1. Aminopenicilline

2.2.1.1. Ampicillin

2.2.1.2. Amoxicillin

2.2.1.3. Bacampicillin

2.2.1.4. Pivampicillin

2.2.2. Carboxypenicilline

2.2.2.1. Carbenicillin

2.2.2.2. Ticarcillin

2.2.3. Ureidopenicilline

2.2.3.1. Azlocillin

2.2.3.2. Mezlocillin

2.2.3.3. Piperacillin

3. Penicillin und Beta-Lactamase Inhibitor-Kombinationen

3.1. Ampicillin-Sulbactam

3.2. Ticarcillin-Clavulansäure

3.3. Amoxicillin-Clavulansäure

3.4. Piperacillin-Tazobactam

2.2.2.1.4. Cephalosporine

Cephalosporine sind Derivate der Fermentationsprodukte von *Cephalosporium acremonium* (auch als *Acremonium chrysogenum* bezeichnet). Sie enthalten 7-Aminocephalosporansäure, welche aus einem Beta-Lactam- und einem Dihydrothiazinring besteht. Verschiedene Substitutionen an den Positionen 3 und 7 verändern die Pharmakokinetik und die antibakteriellen Eigenschaften (YAO & MOELLERING 2007).

Der Wirkungsmechanismus der Cephalosporine ist fast identisch mit dem der Penicilline. Das Wirkungsspektrum ist abhängig von der verwendeten Substanz, allerdings unterscheiden sich die Cephalosporine von den Penicillinen durch nephrotoxisches Potential. Insbesondere Kombinationen mit Aminoglykosiden und Diuretika wie Furosemid sollten nur nach strenger Nutzen-Risiko-Abwägung eingesetzt werden (KROKER 2006).

Meist werden die Cephalosporine nach ihrem Wirkungsspektrum und ihrer Stabilität gegenüber Beta-Lactamasen in Substanzen der 1. – 4. Generation eingeteilt. Kroker (2006) erscheint eine zusätzliche Berücksichtigung der Darreichungsform sinnvoller, er teilt die Cephalosporine in parenteral anwendbare Stoffe mit geringer oder mit stärkerer Beta-Lactamasenstabilität und oral anwendbare Stoffe ein (KROKER 2006).

Zu den parenteral anwendbaren Cephalosporinen mit geringer Beta-Lactamasenstabilität zählen z. B. Cefalotin und Cefazolin. Das Wirkungsspektrum ist vergleichbar, allerdings soll Cefalotin gegenüber *E. coli* weniger wirksam sein (KROKER 2006). Mögliche Anwendungsgebiete dieser Stoffe sind Harnwegsinfektionen und Septikämien bei Hund und Katze.

Als erstes oral anwendbares Cephalosporin war Cefalexin, das auch für die Tiermedizin zugelassen ist, kommerziell verfügbar. Es wird oral sehr gut resorbiert, kaum metabolisiert und zu 90 % über die Nieren ausgeschieden. Später wurden Cefaclor, Cefradin und Cefadroxil auf den Markt eingeführt. Die Wirksamkeit ist bei oral anzuwendenden Stoffen allerdings weniger gut als bei parenteral zu verabreichenden Cephalosporinen. Empfohlene Dosierungen von 20 mg/kg sind gegenüber den meisten Streptokokken und Staphylokokken wirksam. Verschiedene *E. coli*-Stämme benötigen

allerdings höhere Wirkstoffkonzentrationen. Cefalexin zeigt eine gute Wirksamkeit bei bakteriellen Hauterkrankungen wie z. B. Follikulitis und Furunkulose beim Hund. Ein weiteres Anwendungsgebiet für Cefalexin stellt die Behandlung klinischer Mastitiden in Form einer Eutersuspension beim Rind dar (KROKER 2006).

Die Hauptvertreter der Gruppe parenteral anwendbarer Cephalosporine mit erhöhter Beta-Lactamasenstabilität sind Cefotaxim und Cefoxitin. Durch diese Substanzen wird eine Vielzahl von Enterobakterien, darunter auch *E. coli*, Klebsiellen und *Proteus* erfasst. Cefotaxim ist zusätzlich begrenzt gegenüber *Pseudomonas* aktiv. Das in der Tiermedizin als Mastitispräparat zugelassene Cefaperazon wird bei Infektionen mit Strepto- und Staphylokokken und mit *E. coli* während der Laktation verwendet. Ceftiofur, ein Cephalosporin der 3. Generation, ist u. a. zur Behandlung von Atemwegserkrankungen bei Kälbern und Schweinen zugelassen (KROKER 2006).

Ein Vertreter der 4. Generation, Cefquinom, weist ein breites Wirkungsspektrum und eine sichere Beta-Lactamasenstabilität auf. Cefquinom wirkt sehr gut gegen Pasteurellen und ist u. a. zur Behandlung bakterieller Infektionen der Lunge und der Atemwege bei Rindern und Schweinen zugelassen (KROKER 2006).

Laut VETIDATA ist momentan (Stand: Juli 2014) für die Tiermedizin Cefalexin als Wirkstoff der 1. Generation beispielsweise für Hunde und Katzen als Rilexine 75 mg Tabletten® und für Rinder als Rilexine 200 LC® zugelassen. Auch die Wirkstoffe Cefalonium (Cepravin Dry Cow 250 mg®), Cefapirin (Masti-Safe 300 mg®) und Cefazolin (Celidocin L®) sind für Rinder verfügbar. Wirkstoffe der 2. Generation sind in Deutschland nicht im Handel. Als Cephalosporine der 3. Generation werden Cefoperazon als Pathozone 250 mg® bei Rindern und Ceftiofur als Actionis 50 mg/ml® bei Rindern und Schweinen eingesetzt. Cefovecin ist unter dem Handelsnamen Convenia 80 mg/ml® für Hunde und Katzen zugelassen. Cefquinom (Cobactan 2,5% w/v und 4,5% w/v®) als einziger Vertreter der 4. Generation ist für Pferde, Rinder und Schweine verfügbar. Für Geflügel sind in Deutschland momentan keine Cephalosporine im Handel (VETIDATA 2014). Im Folgenden sind die Cephalosporine in einer Übersicht dargestellt (Tabelle 2).

Tabelle 2: Übersicht über die Cephalosporine (mod. nach YAO & MOELLERING 2007, VETIDATA 2014)

1. Erste Generation (eingeschränktes Spektrum)

- 1.1. Cefadroxil
- 1.2. Cefazolin
- 1.3. Cephalexin
- 1.4. Cephaloridine
- 1.5. Cephalotin
- 1.6. Cephapirin
- 1.7. Cephradine

2. Zweite Generation ("Expanded Spectrum")

- 2.1. Cefaclor
- 2.2. Cefamandole
- 2.3. Cefuroxime
- 2.4. Cefprozil
- 2.5. Loracarbef
- 2.6. Cefmetazole
- 2.7. Cefotetan
- 2.8. Cefoxitin

3. Dritte Generation (Breitspektrum)

- 3.1. Cefdinir
- 3.2. Cefditoren
- 3.3. Cefixime
- 3.4. Cefoperazone
- 3.5. Cefotaxime
- 3.6. Ceftibuten
- 3.7. Ceftizoxime
- 3.8. Ceftriaxone
- 3.9. Ceftiofur
- 3.10. Cefovecin

4. Vierte Generation („Extended Spectrum“)

- 4.1. Cefepime
- 4.2. Cefpirome
- 4.3. Cefquinom

2.3. Antibiotikaresistenzmechanismen bei *E. coli*

Die Entwicklung von Resistenzen gegenüber Antibiotika bei bakteriellen Krankheitserregern wird in der Human- und in der Tiermedizin als ein wachsendes Problem angesehen. In den letzten Jahren wird dabei zunehmend der Antibiotikaeinsatz in der Tiermedizin, insbesondere in der Nutztierhaltung, für die sich verschlechternde Resistenzsituation verantwortlich gemacht (MARSHALL & LEVY 2011, BUNDESTIERÄRZTEKAMMER 2012).

Antibiotikaresistenzen entwickeln sich, wenn entweder bestimmte Gene natürlich in der Bakterien-DNA vorhanden sind, die eine Resistenzsteigerung ermöglichen, oder wenn entsprechende Fremdgene neu aufgenommen und dann exprimiert werden. Unter dem Selektionsdruck von Chemotherapeutika besitzen diese resistenten Krankheitserreger Wachstumsvorteile und können sich verstärkt vermehren und ausbreiten. Somit fördert jede Antibiotikabehandlung die Resistenzentwicklung. Bei der Ausbreitung resistenter Keime können Mensch und Tier, Lebensmittel und Abwässer als belebte oder unbelebte Vektoren fungieren (KROKER et al 2002).

Bezüglich der Antibiotikaresistenzen lassen sich zwei Typen unterscheiden (KROKER et al 2002). Die sogenannte natürliche Resistenz ist eine spezifische Eigenschaft eines bestimmten Erregers, der dadurch vom Chemotherapeutikum nicht angegriffen werden kann. So passiert beispielsweise Benzylpenicillin die äußere Zellmembran gram-negativer Bakterien nicht und ist dadurch kaum wirksam (KROKER et al 2002). Ein weiteres Beispiel ist die natürliche Resistenz einiger *Enterococcus*- und *Lactobacillus*-Stämme gegen Sulfonamide. Sulfonamide blockieren Stoffwechselwege der bakteriellen Folsäuresynthese, die zur DNA- und RNA-Synthese benötigt wird. Diese Bakterien haben die Fähigkeit, exogene Folsäure zu verwerten und sind deshalb nicht auf eine eigene Folsäureproduktion angewiesen (KEHRENBURG 2002).

Eine sogenannte erworbene Resistenz beruht auf Veränderung des genetischen Materials ehemals sensibler Bakterien, wobei auch Spontanmutation bei der Zellteilung ohne Einwirkung eines Chemotherapeutikums möglich ist. Unter dem Selektionsdruck einer antimikrobiellen Therapie kann sich diese durch Mutation erworbene Resistenz ausbreiten (KROKER et al 2002).

Ein besonderes Problem wird in der „übertragbaren Resistenz“ gesehen, die auf dem Erwerb zusätzlicher Erbinformation beruht, die außerhalb des bakteriellen Chromosoms auf Plasmiden lokalisiert ist. Diese Plasmide tragen häufig mehrere Resistenzgene und können direkt von einem Bakterium auf ein anderes übertragen werden, und zwar durch Konjugation (Zell-Zell-Kontakt), Transduktion (durch Bakteriophagen), Transformation (DNA-Transfer nach Auflösung der Zelle) und Transposons („springende Gene“). Plasmide mit Resistenzgenen können auch zwischen Bakterien unterschiedlicher Arten ausgetauscht werden, und ein Gentransfer von Bakterien aus Haus- und Nutztieren auf humanpathogene Erreger und umgekehrt ist möglich (KROKER 2006).

2.3.1. Beta-Lactamasen und Extended-Spectrum Beta-Lactamasen (ESBL)

Die Bildung von Beta-Lactamasen ist einer der am weitesten verbreiteten Resistenzmechanismen bei Bakterien. Bei einigen Bakterienarten handelt es sich um eine natürliche Resistenz, das heißt, diese Bakterien bilden die Beta-Lactamasen und sind dadurch in der Lage, den Beta-Lactamring, der die Grundstruktur aller Penicilline und Cephalosporine darstellt, zu hydrolysieren und das Antibiotikum dadurch zu inaktivieren. So können chromosomal verankerte Beta-Lactamasen unter anderem von *Klebsiella pneumoniae* und *Pseudomonas aeruginosa* bei Bedarf exprimiert werden (LIVERMORE 1995). Weit verbreitet ist die Fähigkeit zur Bildung von Beta-Lactamasen jedoch als eine Form der erworbenen Resistenz, bei der Gene für die Bildung dieser Enzyme erworben wurden. Neben Penicillinasen, die durch Clavulansäure hemmbar sind, wurden inzwischen auch Cephalosporinasen, Carbenicillinasen und Carbapenemasen als Resistenzfaktoren bei Bakterien identifiziert (KROKER et al 2002).

Extended-Spectrum Beta-Lactamasen (ESBL) sind Beta-Lactamasen, die durch Substitution von Aminosäuren ihr Substratprofil erweitert oder verändert haben. Mutationen der Enzyme wurden schon 1989 als Ursache für einen Wechsel des Substratspektrums bei Beta-Lactamasen angenommen (PHILLIPON et al 1989). So ist beispielsweise der Austausch von Glycin (Gly) zu Serin (Ser), Alanin (Ala) oder Asparaginsäure (Asp) an Position 238 eine häufige Mutation in den Temoniera (TEM)- und „Sulfhydryl Variable“ (SHV)-ESBL (RICE & BONOMO 2007). Aus

Sequenzierungen der TEM- und SHV-Gene ist inzwischen bekannt, dass wichtige Mutationen, die zur Erweiterung der Beta-Lactam-Bindungsstelle führen und damit das Substratspektrum erweitern, für TEM an der Position 164 und für SHV an der Position 179 liegen (WITTE & MIELKE 2003). Bei den CTX-M-Enzymen werden Aminosäuresubstitutionen an den Positionen 240 und 167 für eine verstärkte Hydrolyseaktivität gegenüber Ceftazidim verantwortlich gemacht. CTX-M-15, CTX-M-16 und CTX-M-27 besitzen eine Gly240Asp Substitution (BONNET 2004). So ermöglichen Mutationen bestimmter Aminosäuren die Hydrolyse von Extended-Spectrum-Cephalosporinen, extrem potenten Beta-Lactam-Antibiotika (RICE & BONOMO 2007). Plasmid-kodierte Extended-Spectrum Beta-Lactamasen, die in der Lage sind, Breitspektrum-Cephalosporine zu hydrolisieren, wurden dabei erstmals bei bakteriellen Isolaten von *Klebsiella pneumoniae* und *Serratia marcescens* in Deutschland entdeckt (KNOTHE et al 1983).

Nach den damals schon bekannten ESBLs, den SHV (Sulphydryl Variable)-Enzymen, die nach ihrer strukturellen Eigenschaft so benannt wurden (BÜCHTER 2010) und den TEM (Temoniera)-Enzymen, die den Namen des ersten Patienten, Temoniera, erhielten, bei dem diese Enzyme isoliert wurden (HERITAGE et al 1999), wurde 1990 die erste CTX-M (Cefotaximase), so genannt aufgrund ihrer verstärkten Aktivität gegenüber Cefotaxim, ebenfalls in Deutschland, aus dem Ohrexsudat eines Neugeborenen isoliert (BAUERNFEIND et al 1990).

Die CTX-M-Enzyme sind gewöhnlich auf Plasmiden von 7 kb bis 160 kb lokalisiert, die leicht durch Konjugation auf andere Enterobacteriaceae übertragbar sind. Zusätzlich werden oft TEM-1 und verschiedene andere Antibiotikaresistenzgene auf dem gleichen Plasmid gefunden. Basierend auf phylogenetischen Studien wurden die CTX-M-Enzyme in fünf Hauptgruppen, und zwar in die Gruppen 1, 2, 8, 9 und 25/26, eingeteilt. Aufgrund einer Ähnlichkeit in der Aminosäuresequenz zu natürlichen, chromosomal-kodierten Beta-Lactamasen einiger *Kluyvera* spp. wird angenommen, dass sie aus diesen Bakterien stammen (BONNET 2004). Die CTX-M-Enzyme sind inzwischen die meist verbreiteten ESBLs in Europa (LIVERMORE et al 2007, BONNET 2004, CANTON et al 2008, COQUE et al 2008).

2.3.1.1. Einteilung der Beta-Lactamasen und ESBL

Inzwischen sind über 800 verschiedene Beta-Lactamasen bekannt (www.lahey.org/studies), die sich in verschiedene Gruppen (TEM, SHV, CTX-M, und weitere) und Untergruppen einteilen lassen.

2.3.1.1.1. Gruppeneinteilung nach Ambler

Die erste Einteilung der Beta-Lactamasen wurde 1980 durch R. P. Ambler vorgenommen. Diese Einteilung in Molekular-Klassen A – D basierte auf der Aminosäuresequenz der bis 1980 bekannten Beta-Lactamasen (AMBLER 1980). Eine Übersicht findet sich in Tabelle 3.

2.3.1.1.2. Gruppeneinteilung nach Bush, Jacoby & Medeiros

Eine weitere Einteilung der Beta-Lactamasen nach dem Substrat-Spektrum der Enzyme in die Gruppen 1 – 4 und verschiedene Untergruppen erfolgte 1995 durch Bush, Jacoby und Medeiros (BUSH et al 1995). Diese Untergliederung wurde 2010 noch einmal modifiziert, (BUSH & JACOBY 2010), wobei die ursprüngliche Gruppe 4 auf die anderen Gruppen aufgeteilt wurde (Tabelle 3).

Tabelle 3: Einteilung der Beta-Lactamasen (nach BUSH & JACOBY 2010, modifiziert)

Bush-Jacoby Gruppe	Molekular Klasse nach Ambler	Hemmung durch Clavulansäure und Tazobactam (CA/TZB) oder EDTA	Bevorzugtes Substrat-spektrum	Charakteristische Eigenschaften	Beispiele
1	C	Keine Hemmung	Cephalosporine	Höhere Hydrolysefähigkeit von Cephalosporinen und Cephamecin als von Benzylpenicillin	AmpC (<i>E. coli</i>), CMY-2
1e	C	Keine Hemmung	Cephalosporine	Gesteigerte Hydrolyse von Cefazidim und oft Oximino- β -Lactamen	CMY-10, CMY-37 (Extended-Spectrum AmpC Enzyme)
2a	A	Hemmung durch CA/TZB, nicht durch EDTA	Penicilline	Höhere Hydrolysefähigkeit von Benzylpenicillin als von Cephalosporinen	PC1 (chromosomal-kodiert in gram-positiven Kokken)
2b	A	Hemmung durch CA/TZB, nicht durch EDTA	Penicilline, frühe Cephalosporine wie Cefalotin	Gleiche Hydrolyseaktivität gegen Benzylpenicillin und Cephalosporine	TEM-1, TEM-2, SHV-1 (meist Plasmid-kodiert)
2be	A	Hemmung durch CA/TZB, nicht durch EDTA	Extended-Spectrum Cephalosporine, Monobactame	Gesteigerte Hydrolyse von Oximino-Beta-Lactamen	TEM-3, SHV-2, CTX-M-15 (ESBL-Enzyme)
2br	A	Keine Hemmung	Penicilline	Resistenz gegen CA/TZB und Sulbactam	TEM-30, TEM-31, SHV-10
2ber	A	Keine Hemmung	Extended-Spectrum Cephalosporine, Monobactame	Gesteigerte Hydrolyse von Oximino-Beta-Lactamen Kombiniert mit Resistenz gegen CA/TZB und Sulbactam	TEM-50
2c	A	Hemmung durch CA/TZB, nicht durch EDTA	Carbenicillin	Gesteigerte Hydrolyse von Carbenicillin	PSE-1
2ce	A	CA/TZB, nicht durch EDTA	Carbenicillin, Cefepim	Gesteigerte Hydrolyse von Carbenicillin, Cefepim, Cefpirom	RTG-4 (CARB-10)
2d	D	Hemmung durch CA/TZB variabel, nicht durch EDTA	Cloxacillin	Gesteigerte Hydrolyse von Oxacillin und Cloxacillin	OXA-1, OXA-10
2de	D	Hemmung durch CA/TZB variabel, nicht durch EDTA	Extended-Spectrum Cephalosporine	Hydrolyse von Oxacillin/ Cloxacillin und Oximino-Beta-Lactamen	OXA-11, OXA-15 (oft in <i>P. aeruginosa</i>)
2df	D	Hemmung durch CA/TZB variabel, nicht durch EDTA	Carbapeneme	Hydrolyse von Oxacillin/ Cloxacillin und Carbapeneme	OXA-23, OXA-48 (oft in <i>Acinetobacter baumannii</i>)
2e	A	Hemmung durch CA/TZB, nicht durch EDTA	Extended-Spectrum Cephalosporine	Hydrolyse von Cephalosporinen, Resistenz gegen Aztreonam	CepA (chromosomal kodiert in <i>Protea sp.</i>)
2f	A	Hemmung durch CA/TZB variabel, nicht durch EDTA	Carbapeneme	Gesteigerte Hydrolyse von Oximino- β -Lactamen, Carbapenemen, Cefamycin	NMC-1, KPC-2, IMI-1
3a	B (B1/3)	Hemmung durch EDTA, nicht durch CA/TZB	Carbapeneme	Breit-Spektrum Hydrolyse einschließlich Carbapeneme, nicht Monobactame	IMP1-26, VIM1-23 (chromosomal kodiert in <i>Bacteroides fragilis</i>)
3b	B (B3)	Hemmung durch EDTA, nicht durch CA/TZB	Carbapeneme	Bevorzugte Hydrolyse von Carbapenemen	IND-1, IND-2, CphA

Die im Schema von Bush, Jacoby & Medeiros (1995) aufgeführte Gruppe 4 wurde 2010 nicht mehr abgegrenzt, die ursprünglichen dort gelisteten Enzyme wurden auf die anderen Gruppen aufgeteilt

2.3.1.2. Nachweisverfahren für die Bildung von Beta-Lactamasen und ESBL

Ein erster Verdacht auf das Vorliegen eines ESBL-bildenden Keimes zeigt sich bei Resistenz gegen Beta-Lactam-Antibiotika im klinischen Routine-Resistenztest (CLSI 2006, CLSI 2008, CLSI 2010). Ein phänotypischer Nachweis der ESBL-Bildung ist durch verschiedene, auch kommerziell erhältliche Systeme möglich (z.B. MAST Diagnostica, Reinfeld). Alle diese Tests verwenden eine Kombination verschiedener Cephalosporine mit und ohne Clavulansäure, um einen ersten Verdacht auf ESBL zu bestätigen. Richtlinien und Breakpoints für phänotypische ESBL-Screening- und Bestätigungstests sind sowohl vom amerikanischen „Clinical and Laboratory Standard Institute“ (CLSI 2008), als auch vom „European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing“ (EUCAST 2012) herausgegeben worden.

Dabei zeigte sich bei der Durchführung der Screening-Tests, dass die Verwendung eines einzigen Antibiotikums zum Überprüfen auf ESBL zwar relativ sensitiv, aber nur wenig spezifisch ist. So wurden bei Anwendung der Screening-Breakpoints nach CLSI-Kriterien und bei alleiniger Verwendung von Cefotaxim (CTX) zur ESBL-Detektion bei Enterobacteriaceae eine Sensitivität von 99,2 % und eine Spezifität von nur 40,7 % erreicht. Die alleinige Anwendung von Ceftazidim (CAZ) erreichte eine Sensitivität von 65,3 % und eine Spezifität von 55,9 % (POLSFUSS et al 2011). Bei einer Auswertung nach EUCAST-Kriterien, welche für beide Antibiotika jeweils niedrigere Wirkstoffkonzentrationen und geringere Hemmhof-Grenzwerte vorschreiben, sowie bei Auswertung der resistenten und intermediären Isolate, erreichte die Sensitivität bei der Verwendung von Cefotaxim (CTX) ebenfalls 99,2 %, die Spezifität war mit 44,9 % geringfügig höher als nach CLSI-Kriterien. Bei der Anwendung von Ceftazidim (CAZ) wurden lediglich eine Sensitivität von 77,1 % und eine Spezifität von 44,1 % erreicht (POLSFUSS et al 2011). Durch Kombination von Cefotaxim (CTX) mit Ceftazidim (CAZ) im Kombinations-Plättchen-Diffusionstest nach CLSI-Kriterien wurde die Spezifität auf 86 % verbessert, bei einer Sensitivität von 97 % (GARREC et al 2011).

Für ESBL-Bestätigungstests wird neben Cefotaxim (CTX) und Ceftazidim (CAZ), bzw. anderen Antibiotikakombinationen, zusätzlich Clavulansäure eingesetzt. Ein gängiges Verfahren, das auch in dieser Arbeit verwendet wurde, ist der phänotypische ESBL-Bestätigungstest nach CLSI-Kriterien (ESBL Confirmatory Test), der verlangt, Antibiotikablättchen mit Cefotaxim (CTX) (30 µg pro Blättchen) und Ceftazidim (CAZ)

(30 µg pro Blättchen) sowie Antibiotikablättchen beider Wirkstoffe jeweils in Kombination mit Clavulansäure (30 µg CTX oder CAZ und zusätzlich 10 µg Clavulansäure pro Blättchen) auf einer mit dem Erreger bestrichenen Müller-Hinton-Agarplatte aufzulegen und nach Herstellerangaben zu bebrüten. Der Test ist positiv, wenn der Hemmhof eines der verwendeten Antibiotika in Kombination mit Clavulansäure um mindestens 5 mm größer im Durchmesser ist als der des entsprechenden Wirkstoffes alleine (CLSI 2008).

Auch bei Vorliegen eines positiven ESBL-Bestätigungstests ist es sinnvoll, das Ergebnis mittels genotypischer Untersuchung zu bestätigen, da die Spezifität des Tests nicht 100 % beträgt. Ebenfalls kann nur mit molekularbiologischen Methoden das vorliegende *bla*-Gen identifiziert werden. Dies kann zum Beispiel durch Amplifizierung von DNA-Fragmenten der verschiedenen Resistenzgene mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) und Sequenzierung erfolgen (XU et al 2005, COQUE et al 2002, GRIMM et al 2004).

2.4. Nachweise von Antibiotikaresistenzen und ESBL bei *E. coli* aus Mensch, Tier und Umwelt

2.4.1. Nachweise und Bedeutung in der Humanmedizin

Extended-Spectrum Beta-Lactamasen werden seit Jahren fast weltweit, meist in *E. coli* oder *Klebsiella pneumoniae* gefunden. Allerdings sind die Prävalenzen je nach Kontinent sehr unterschiedlich. Eine erste Auswertung von SMART (Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends)-Daten aus dem Jahr 2003, damals unter Einbeziehung von 23 Ländern, zeigte ESBL-Prävalenzen bei klinischen *E. coli*-Isolaten von Patienten mit abdominalen Infektionen von 3 % (USA) bis 17 % (Region Asien/Pazifik). In Europa lag die ESBL-Prävalenz für *E. coli* im Jahr 2003 bei 5 % und für *Klebsiella* bei 11 %. Im SMART Projekt wurden auch Resistenzen gegen andere Antibiotika analysiert. Hier zeigten sich grundsätzlich höhere Resistenzraten bei ESBL-bildenden Bakterien als bei gram-negativen Bakterien ohne ESBL-Bildung (PATERSON et al 2005).

Eine Auswertung der SMART-Daten der Jahre 2008 - 2010, inzwischen von 39 Ländern, bei Patienten mit Blinddarmentzündungen, ergab eine globale ESBL-Rate bei *E. coli* von 16,6 %. Dabei wurden Unterschiede zwischen verschiedenen Altersgruppen deutlich (18,2 % der adulten und 11,6 % der juvenilen Patienten) (LOB et al 2013).

Antibiotika-Resistenzen bei Enterobacteriaceae bei nosokomialen Infektionen, insbesondere die Resistenzen gegen Cephalosporine der 3. und 4. Generation, haben in den letzten 15 Jahren deutlich zugenommen und sind weltweit zu einem ersten Problem geworden. Ein Resistenz-Monitoring und molekulare Analysen gram-negativer Pathogene werden deshalb dringend gefordert (PFEIFER et al 2010).

Das „European Centre for Disease Prevention and Control“ (ECDC) sammelt durch das „European Antimicrobial Resistance Surveillance Network“ (EARS-Net), früher „European Antimicrobial Resistance Surveillance System“ (EARSS), seit 1998 Antibiotikaresistenz-Daten aus 30 Mitgliedsstaaten der Europäischen Union (EU) und der „European Economic Area“ (EEA). Diese Daten basieren auf der Untersuchung von klinischen Isolaten aus Blut oder Cerebrospinalflüssigkeit verschiedener Laboratorien, Kliniken, Institute und Organisationen. EARS-Net überwacht die

Antibiotikaresistenz bei acht für die öffentliche Gesundheit wichtigen bakteriellen Mikroorganismen (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* und *E. faecium*). Die Untersuchungen werden je nach Land oder Labor durch Disk-Diffusions-Test oder Mikrodilutions-Verfahren (Erfassung der Minimalen Inhibitorischen Konzentration; MIC) nach CLSI- oder EUCAST-Kriterien durchgeführt. Bei der Auswertung werden die Isolate in sensitiv, intermediär oder resistent eingestuft.

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Antibiotikaresistenzen nach ECDC für *E. coli* für das Jahr 2012 zusammengefasst. Dabei lag der europaweite Durchschnitt Aminopenicillin-resistenter *E. coli* bei 57,4 % und variierte von 39,7 % (Finnland) bis 71,0 % (Bulgarien), wobei Deutschland mit 49,6 % im Mittelfeld lag. Bei den Fluorchinolonen lagen die Resistenzraten durchschnittlich bei 22,3 %, mit einer Variationsbreite von 9,7 % (Island) bis 42,0 % (Zypern und Italien). In Deutschland wurde eine Resistenzrate von 21,1 % festgestellt. Für Aminoglycoside wurden Resistenzraten zwischen 3,6 % (Island) und 26,5 % (Bulgarien) und für Deutschland 7,1 % ermittelt (Durchschnitt 10,3 %). Die durchschnittliche europaweite Resistenzrate gegen Cephalosporine der 3. Generation lag bei 11,8 % und reichte von 4,4 % (Schweden) bis 38,1 % (Bulgarien). Deutschland lag hier mit 8,8 % im unteren Drittel. Je nach Land waren zwischen 85 % und 100 % dieser Isolate ESBL-positiv. Der Anteil an multiresistenten Isolaten (Resistenz gegen mindestens drei Antibiotikagruppen) lag durchschnittlich bei 4,4 % der *E. coli*-Isolate, er variierte von 0,7 % (Island) bis 16,1 % (Bulgarien). Insbesondere der Anstieg der Resistenzen gegen Cephalosporine und Aminoglycoside und der Anteil multiresistenter Isolate wurden mit Besorgnis gesehen (ECDC 2012, ECDC 2013).

Antibiotikaresistenzen spielen insbesondere im klinischen Bereich, also bei Vorkommen in Erregern in Kliniken oder Arztpraxen eine wichtige Rolle. So wurde nachgewiesen, dass bei Patienten, die an einer Sepsis, die durch gegen Cephalosporine der dritten Generation resistente *E. coli* verursacht wurde, im Vergleich zu Sepsispatienten mit entsprechend sensiblen *E. coli* die 30-Tage-Mortalität deutlich (32 % zu 17 %) erhöht war. Ebenso verlängerte sich der Krankenhausaufenthalt (DE KRAKER et al 2011). Daher befassen sich einige Überwachungsprogramme in Deutschland gezielt mit dieser Problematik der Resistenzen bei Bakterien im Krankenhausbereich.

In den Berichten GERMAP 2008, GERMAP 2010 und einem aktuellen, momentan nur in einer Korrekturversion vorliegendem Bericht GERMAP 2012, wurden Daten aus verschiedenen Studien über Antibiotikaresistenzen und Antibiotikaverbrauch in Deutschland für die Humanmedizin zusammengefasst. Dort einbezogen wurden unter anderem Resistenzdaten aus der PEG-Resistenzstudie (Paul Ehrlich Gesellschaft), dem SARI-Projekt (Surveillance der Antibiotikaaanwendung und bakteriellen Resistenzentwicklung auf deutschen Intensivstationen) und dem GENARS (German network for antimicrobial resistance surveillance)-/ARS (Antibiotika Resistenz Surveillance)-Projekt. Die Resistenzdaten für *E. coli* stammten aus dem Hospitalbereich von UPEC (Urinkulturen) und Isolaten aus Blutkulturen (GERMAP 2008, GERMAP 2011, GERMAP 2014). In der PEG-Resistenzstudie wurde ein Anstieg der Resistenz gegen Ampicillin von 50,7 % (2004) auf 54,9 % (2007) und gegen Fluorchinolone von 22,3 % (2004) auf 26,4 % (2007) festgestellt. Der Anteil ESBL-bildender *E. coli*-Isolate stieg von 5,1 % (2004) auf 10,3 % (2007) (KRESKEN et al 2009). Im SARI-Projekt wurde bereits in den ersten 4 Projektjahren ein signifikanter Anstieg der Cephalosporin- und Ciprofloxacinresistenz bei *E. coli*-Isolaten festgestellt (MEYER et al 2006). Dieser Anstieg setzte sich weiter fort mit *E. coli*-Resistenzraten für Cephalosporine der 3. Generation von 1,2 % (2001) auf 10,5 % (2008) (MEYER et al 2010). Im Bericht GERMAP 2010 wurde zusammenfassend gefolgert, dass insbesondere eine Zunahme der Resistenzen im Hospitalbereich gegen Breitspektrum-Antibiotika (Breitspektrum-Penicilline, Cephalosporine, Fluorchinolone und Trimethoprim-Sulfamethoxazol) festzustellen ist (GERMAP 2008, GERMAP 2011). Zusätzlich stieg der Anteil der ESBL-bildenden *E. coli*-Isolate im Hospitalbereich von 1,0 % in 1995 auf 17,4 % in 2010 (GERMAP 2014).

Das Robert-Koch-Institut (RKI) erfasst seit 2007 im Rahmen eines Projektes zur Antibiotika-Resistenz-Surveillance (ARS) Daten über Antibiotikaresistenzen aus dem stationären und ambulanten Bereich und wertet sie aus. Inzwischen sind Resistenzdaten für die Jahre 2008 bis 2011 verfügbar. Im ARS-Projekt wurden über diese 4 Jahre in allen Bereichen stetige Zunahmen der Resistenzhäufigkeit gegen Cefotaxim verzeichnet. So stieg die *E. coli*-Resistenzrate (einschließlich intermediärer Isolate) im stationären Bereich von 7,0 % (2008) auf 9,8 % (2011) und auf Intensivstationen von 10,8 % (2008) auf 14,0 % (2011). *E. coli*-Isolate aus Blutkulturen zeigten Resistenzzunahmen von 8,1 % (2008) auf 10,3 % (2011) und im ambulanten

Bereich stieg die Cefotaxim-Resistenzrate von 3,0 % (2008) auf 4,9 % (2011) (NOLL et al 2012).

Eine Untersuchung von 366 ESBL-produzierenden bakteriellen Isolaten, darunter 200 *E. coli*, aus dem Zeitraum 2003 – 2007 von verschiedenen, nicht selektierten Patienten eines Tübinger Krankenhauses (Deutschland) zeigten trotz einer insgesamt geringen ESBL-Prävalenzrate (1,6 %) einen deutlichen Anstieg ESBL-bildender *E. coli* von 0,5 % in 2003 auf 3,8 % in 2007 (GRÖBNER et al 2009).

Neben Klinikpatienten, deren Immunsystem oft durch invasive Eingriffe, längeren Krankenhausaufenthalt und multiple Erkrankungen beeinträchtigt ist, gelten auch ältere und pflegebedürftige Menschen als Risikogruppen für Infektionen mit ESBL-bildenden Bakterien. So wurden in der Vergangenheit in Pflegeheimen häufig ESBL-bildende Enterobacteriaceae detektiert. Bei Patienten aus 5 Rehabilitationszentren in 4 Ländern (Frankreich, Italien, Spanien und Israel) wurden AmpC- und ESBL-Enzyme, meist vom Typ CTX-M-15, in gegen Breitspektrum-Cephalosporine resistenten *E. coli* nachgewiesen (IZEDEBSKI et al 2013). Auch bei Patienten eines Pflegeheimes in Belfast (UK) konnten Fluorchinolon-resistente und CTX-M-ESBL-bildende *E. coli* festgestellt werden (DHANJI et al 2011a).

In Hessen in Deutschland wurden bei einer Untersuchung von Stuhlproben von 240 Bewohnern aus 11 verschiedenen Pflegeheimen 9,6 % (23/240) gegen Cephalosporine der 3. Generation resistente *E. coli* oder *Klebsiella pneumoniae* nachgewiesen, wobei bei drei Bewohnern sogar zwei unterschiedliche ESBL-positive *E. coli* detektiert wurden. Bei 24 der 25 *E. coli* wurden CTX-M-Beta-Lactamasen nachgewiesen, und dabei am häufigsten Typ-CTX-M-15 (62,5 %) (ARVAND et al 2013).

Generell ist die Prävalenz multiresistenter Bakterien in Kliniken aber deutlich höher. In Frankfurt am Main (Deutschland) wurden mehrfachresistente Bakterien wie methicillinresistente *Staphylococcus aureus* (MRSA), vancomycinresistente Enterokokken (VRE) und ESBL-bildende Enterobacteriaceae bei 32,6 % der Patienten von zwei geriatrischen Kliniken, bei 18,5 % der Bewohner aus acht Pflegeheimen und bei 15,6 % der Patienten aus zwei ambulanten Betreuungseinrichtungen gefunden,

während bei gesundem Personal der oben genannten Einrichtungen lediglich eine Prävalenz von 6,3 % nachzuweisen war (GRUBER et al 2013).

ESBL-bildende Bakterien spielen aber nicht nur bei Krankenhauspatienten oder im ambulanten Bereich eine Rolle, sondern werden auch bei gesunden Menschen ohne klinische Symptome oder vorherige Antibiotikabehandlung gefunden. So wurde in mehreren Studien über eine steigende Prävalenz ESBL-produzierender Enterobacteriaceae in Europa berichtet (CANTON et al 2008, COQUE et al 2008). Bei sogenannten „Community-acquired“, also außerhalb von Krankenhäusern erworbenen Infektionen wurden häufig ESBL-bildende *E. coli*, insbesondere mit CTX-M-Enzymen, nachgewiesen. Oft besaßen diese Bakterien zusätzlich weitere Antibiotikaresistenzen (COQUE et al 2008).

In Portugal wurden bei gesunden Erwachsenen ESBL-produzierende Enterobacteriaceae in einer Prävalenz von 1,8 % (2/113) detektiert (MACHADO et al 2013). In Paris (Frankreich) wurde von 2006 bis 2010 ein 10-facher Anstieg der Nachweise von ESBL-produzierenden *E. coli* von 0,6 % auf 6 % bei gesunden Erwachsenen nachgewiesen. Auch hier dominierte mit 86 % der Typ CTX-M (NICOLAS-CHANOINE et al 2013). Auch in Bayern wurde in Stuhlproben gesunder Menschen ESBL-*E. coli* nachgewiesen. Die Prävalenz betrug 6,7 % (175/2609). Über 90 % der molekularbiologisch charakterisierten ESBL-bildenden *E. coli* exprimierten ein *bla*_{CTX-M}-Gen (VALENZA et al 2012). Auch bei gesunden Kindern wurden ESBL-bildende *E. coli* gefunden. Eine Untersuchung von 112 Stuhlproben gesunder Kinder zwischen 1 und 14 Jahren aus Portugal zeigte ESBL-bildende *E. coli* in 2,7 % der Proben (3/112) (GUIMARAES et al 2009).

2.4.2. Nachweise und Bedeutung in der Tiermedizin

Der Antibiotikaeinsatz in der Tiermedizin, und hier insbesondere in der Nutztierhaltung, wurde in der Vergangenheit häufig für die allgemein zunehmende Antibiotikaresistenzentwicklung bei Bakterien verantwortlich gemacht (MARSHALL & LEVY 2011, BUNDESTIERÄRZTEKAMMER 2012). Die Zoonose-Richtlinie 2003/99/EG des Europäischen Parlaments verlangt seit 2003 in Kapitel III, Artikel 7 eine Überwachung von Antibiotikaresistenzen in den Mitgliedsstaaten. Die in Kapitel V, Artikel 9 geforderte Bewertung der Entwicklungstendenzen und Quellen von Zoonosen, Zoonoseerregern und Antibiotikaresistenzen, sowie der Übermittlung dieser Bewertung an die Kommission, impliziert auch die Erfassung der Antibiotika-Abgabemengen (ANONYMUS 2003).

Bereits im Vorfeld, im Jahr 2000, wurde von der Bundestierärztekammer in Deutschland die erste Fassung der „Leitlinien für den sorgfältigen Umgang mit antibakteriell wirksamen Tierarzneimitteln“ herausgegeben. Diese Leitlinien liegen mittlerweile in einer zweiten Fassung vor. Die Leitlinien fordern von Tierärzten u. a. neben einer exakten Diagnosestellung eine strenge Nutzen- und Risikoabwägung für Mensch, Tier und Umwelt vor dem Einsatz von Antibiotika bei Einzeltieren und Tiergruppen. Wichtig ist die richtige Auswahl und gerechtfertigte Anwendung des geeigneten Antibiotikums unter Berücksichtigung der Erregersituation und der Resistenzlage. So soll ein ungerechtfertigter und ungezielter Einsatz von Antibiotika bei Tieren verhindert und dadurch weiterer Resistenzentwicklung entgegenwirkt werden (BUNDESTIERÄRZTEKAMMER 2010).

Im Jahr 2008 wurde vom Bundesministerium für Gesundheit, dem Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz und dem Bundesministerium für Bildung und Forschung die Deutsche Antibiotika Resistenzstrategie (DART) in Leben gerufen, um in Human- und Tiermedizin geplante und koordinierte Aktionen zur Bekämpfung der Entwicklung antimikrobieller Resistenzen zu entwickeln (DART 2011).

Seit im Jahr 1988 die erste Plasmid-kodierte Oxyimino-Cephalosporinase (CTX-M) bei einem *E. coli*-Isolat aus einem Tier, einem Laborhund in Japan, nachgewiesen wurde (MATSUMOTO et al 1988), gibt es nahezu weltweit Studien über das Vorkommen von multiresistenten Keimen und ESBL-Bildnern bei Tieren (SMET et al 2010, CARATTOLI

2008). In vielen Ländern, auch in Deutschland, sind daraufhin Resistenz-Monitoring-Projekte bei Haus- und Nutztieren entstanden. Im Folgenden wird nur auf nationale Monitoring-Programme und Studien aus Deutschland und Europa eingegangen.

2.4.2.1 Lebensmittelliefernde Tiere inklusive Wirtschaftsgeflügel

Dass Bakterien mit Plasmid-kodierten Resistenzgenen von Nutztieren auf Menschen übergehen können, wurde erstmalig 1976 nachgewiesen (LEVY et al 1976). Später wurden in vielen weiteren Studien bei Menschen und Nutztieren Bakterien mit gleichen Resistenzgenen und ESBL-Typen gefunden (MORA et al 2010, LEVERSTEIN VAN HALL et al 2011, MADEC et al 2012).

Lebensmittelliefernde Tiere werden derzeit als Hauptreservoir für Pathogene mit zoonotischem Potential gesehen und die Nachweisraten ESBL-produzierender *E. coli* und *Salmonella* spp. bei Nutztieren steigen seit Jahren an (CARATTOLI 2008). Insbesondere seit dem Aufkommen der ersten *bla*_{CTX-M}-Gene (BAUERNFEIND et al 1990) verbreiten sich diese über Europa, Asien und Amerika bei Menschen und Tieren. Einige CTX-M-Typen wie z. B. CTX-M-15 werden auf jedem dieser Kontinente bei Menschen und Tieren in unterschiedlicher Prävalenz gefunden, andere wie CTX-M-1 überwiegend bei Tieren in Europa (EWERS et al 2012).

In Deutschland wurden im Rahmen eines nationalen Resistenzmonitoring-Programmes (BfT-GermVet) Antibiotikaresistenzen bei von erkrankten Nutztieren stammenden Bakterien analysiert. *E. coli*-Isolate von Schweinen (87), die im BfT-GermVet-Programm von 2004 bis 2006 untersucht wurden, stammten von Infektionen des Urogenitaltrakts incl. Mastitis-Metritis-Agalaktie-Komplex von Tieren verschiedener Altersstufen. Dabei wurden die höchsten Resistenzraten für Sulfamethoxazol (59 %), Tetracyclin (54 %), potenzierte Sulfonamide (Trimethoprim-Sulfamethoxazol) (41 %) und Ampicillin (38 %) nachgewiesen. Die Resistenzrate für Cephalotin lag bei 14 %, die für Cefazolin bei 2 %. Die equinen *E. coli*-Isolate (102) stammten aus dem Genitaltrakt, hier wurden die höchsten Resistenzraten mit annähernd 28 % für Sulfamethoxazol und Cephalotin detektiert. Mittlere Resistenzraten lagen für Ampicillin (18 %), Tetracyclin (17 %) und potenzierte Sulfonamide (16 %) vor. Bei Pferden war

zusätzlich ein hoher Anteil intermediärer Isolate gegen Cephalotin (40 %) feststellbar (GROBBEL et al 2007).

Inzwischen sind auch neuere Daten aus dem BfT-GermVet-Programm verfügbar, die über den Zeitraum von 2006 bis 2007 erhoben wurden. Bei einer Untersuchung von 1378 *E. coli*-Isolaten auf ESBL-Produktion wurde bei 27 (1,96 %) der Isolate eine ESBL-Bildung nachgewiesen, (12 Isolate aus Schweinen, 12 aus Rindern/Kälbern, 2 aus Geflügel, 1 aus einem Pferd). Die am häufigsten detektierten ESBL-Gene waren *bla*_{CTX-M-1}, aber es wurde auch ein *bla*_{CTX-M-15} bei einem *E. coli* von einem Kalb mit einer Infektion des Gastrointestinaltraktes nachgewiesen (SCHINK et al 2013).

In einem nationalen Resistenz-Monitoring des Bundesinstitut für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) aus den Jahren 2004/2005 wurden Resistenzraten für verschiedene Bakterien, darunter auch für *E. coli*, bei erkranktem Nutzgeflügel, und zwar beim Huhn (Indikation: Dottersackentzündung und Septikämie) und Truthuhn (Indikation: Septikämie), jeweils Küken und adulte Tiere, ermittelt. Die Auswertung der Ergebnisse zeigte bei *E. coli* aus Broilerküken hohe Resistenzraten für Tetracyclin (34,8 %), Ampicillin (38,3 %), Doxycyclin (23,5 %) und Trimethoprim-Sulfamethoxazol (15,6 %). Die Resistenzrate für Cephalotin lag bei 27,7 %, zusätzlich zeigten bei Cephalotin 42,5 % der Isolate intermediäre Ergebnisse. Die Resistenzlage von *E. coli* aus adulten Broilern war vergleichbar, dort wurden ebenfalls hohe Resistenzraten für Tetracyclin (34,9 %), Ampicillin (39,5 %), Doxycyclin (37,0 %) und Trimethoprim-Sulfamethoxazol (18,6 %) festgestellt. Die Resistenzrate für Cephalotin lag bei 26,7 %, mit 41,9 % der Isolate im intermediären Bereich. Die Antibiotikaresistenzen bei *E. coli* aus Truthühnern lagen generell höher, mit deutlichen Unterschieden zwischen Küken und adulten Tieren. Die Resistenzraten für Tetracyclin (66,7 % vs. 75,3 %), Ampicillin (47,6 % vs. 59,8 %), Trimethoprim-Sulfamethoxazol (4,8 % vs. 34,0 %) und Cephalotin (28,6 % vs. 48,5 %) lagen bei allen getesteten Wirkstoffen bei den *E. coli* aus adulten Tieren über denen der aus Küken (WALLMANN et al 2007).

Im Forschungsverbund „RESET: ESBL und (fluoro)quinolone resistance in Enterobacteriaceae“ (Stand: 25.01.2012) werden Resistenzdaten aus mehreren noch laufenden Querschnitts- und Longitudinalstudien ausgewertet. Dort wurden beispielsweise bei 23 einbezogenen Zuchtschweinbeständen 65 %, und bei 8 untersuchten Geflügelbeständen 100 % ESBL-verdächtige, in diesem Fall Cefotaxim-

resistente *E. coli* nachgewiesen. Eine Untersuchung von Einzeltierkotproben in vier Hähnchenmastbeständen zu verschiedenen Zeiten der Mastperiode ergab 76 % (152/200) ESBL-verdächtige *E. coli*. Eine weitere Charakterisierung von bisher 58 *E. coli*-Isolaten konnte den ESBL-Verdacht bestätigen und verschiedene, auch bei Menschen vorkommende ESBL- oder AmpC-Gene nachweisen (RESET 2012).

Es existieren zahlreiche Publikationen in wissenschaftlichen Zeitschriften über Antibiotikaresistenzen und ESBL-bildende Enterobacteriaceae bei Nutztieren mit dem Hintergrund, dass einer Besiedelung des Gastrointestinaltraktes des Menschen durch Verzehr kontaminierter Lebensmittel oder durch Kontakt mit infizierten Tieren eine Bedeutung zukommt (BfR 2011b). Gestützt wird diese Annahme durch den Nachweis von Bakterien mit gleichen ESBL-Genen aus dem Menschen und Hähnchenfleisch (OVERDEVEST et al 2011) sowie in gesunden Hühnern und in deren Haltern (DIERIKX et al 2013). Multiple Antibiotikaresistenzen wurden in *E. coli*-Isolaten bei krankem Geflügel in Amerika (BASS et al 1999), Antibiotikaresistenzen und ESBL-Bildung bei *E. coli* aus Enten in China (MA et al 2012) und bei gesundem Geflügel in Nigeria (CHAH & OBOEGBULEM 2007) detektiert.

Zahlreiche Publikationen belegen eine Bedeutung auch in Europa. ESBL-bildende Bakterien wurden bei gesunden lebensmittelliefernden Tieren in England (HORTON et al 2011) und in der Schweiz (WANG et al 2013), bei Geflügel in Dänemark (BORTOLAIA et al 2011), Kälbern in den Niederlanden (HORDJIK et al 2013a), Schweinen in Portugal (RODRIGUEZ et al 2013) und bei Schweinen und Hühnern in Portugal (MACHADO et al 2008) und Spanien (CORTEZ et al 2010) gefunden.

In Deutschland stammen erste Nachweise von Bakterien mit Antibiotikaresistenzen bei lebensmittelliefernden Tieren aus den Jahren 1993-1999, und zwar von *E. coli*- und *Salmonella*-Isolaten aus erkranktem Geflügel (JODAS & HAFEZ 2003). In den Jahren 1999 bis 2001 wurden *E. coli*-Isolate von Geflügel, Rindern und Schweinen untersucht und bei 32,0 % der Isolate Multiresistenz nachgewiesen (GUERRA et al 2003).

Das Vorkommen von ESBL-bildenden *E. coli* bei erkrankten Hühnern, Schweinen und Rindern (SCHINK et al 2013) sowie ESBL- und zusätzliche Shiga-Toxin-Produktion bei *E. coli*-Isolaten von an Diarrhoe erkrankten Kälbern (EWERS et al 2014b) wurde auch in neueren Publikationen belegt.

Insbesondere viele aktuelle Arbeiten dokumentieren die Bedeutung von Geflügel und Geflügelfleisch als Träger von Bakterien mit Antibiotikaresistenzen. So wurden antibiotikaresistente *E. coli* und Salmonellen in Schlachthofproben von Hühnern und Schweinen (SCHWAIGER et al 2012), und ESBL-bildende *E. coli* bei Hähnchenfleischproben (KOLA et al 2012) detektiert. Eine Untersuchung der Schlachtkörper deutscher Broiler aus vier verschiedenen Geflügelherden zeigte ESBL-bildende Enterobacteriaceae in 88,6 % der Tiere (REICH et al 2013). Aber auch bei lebenden Tieren im Bestand wurden hohe Nachweisraten publiziert. Die Untersuchung von Kotproben von Geflügel aus verschiedenen Betrieben in Deutschland, genommen zu drei verschiedenen Zeiten der Mastperiode und beginnend bei den Eintagsküken, ergab steigende ESBL- und AmpC-Prävalenzen im Laufe der Mastperiode. In dieser Studie wurden bei durchschnittlich 51 %, 75 % und 76 % der Tiere ESBL- und/ oder AmpC-bildende Bakterien festgestellt. (LAUBE et al 2013). Bei einer Untersuchung gesunder Nutztierherden in Deutschland wurde ESBL-/AmpC-Produktion in *E. coli*-Isolaten aus allen einbezogenen Broiler-Farmen (8/8), 56,3 % (9/16) Zuchtschweinbetrieben, 43,8 % (7/16) Mastschweinehaltungen und 60,0 % (6/10) der Milchkuhherden detektiert (FRIESE et al 2013).

Eine bundesweite Untersuchung unter Einbeziehung von insgesamt 2352 lebensmittelliefernden Tieren (Rind, Schwein, Geflügel) ergab für das Untersuchungsjahr 2005/2006 eine *E. coli*-ESBL-Prävalenz von 1,7 % bei erkrankten Nutztieren. Im Rahmen dieser Untersuchung wurden 40 ESBL-bildende *E. coli* isoliert, die hauptsächlich von Tieren mit Enteritis (Rind, Schwein), Mastitis (Rind) und Sepsis (Geflügel, Rind) stammten. Einzelne Isolate wurden auch bei Pneumonie (Rind), Arthritis (Rind) und Polyserositis (Schwein) festgestellt. Bei Geflügel, Schweinen und adulten Rindern wurde ausschließlich CTX-M-1 nachgewiesen, bei Kälbern CTX-M-1 und CTX-M-15 (BÜCHTER 2010).

Bei insgesamt 1325 *E. coli*-Isolaten, die aus Kot- und Tupferproben von Hühnern, Puten, Peking- und Moschusenten stammten, wurden Resistenzen gegen eine ganze Reihe von Antibiotika nachgewiesen. Diese Proben waren in den Jahren 2006 bis 2008 zur bakteriellen Diagnostik an ein Labor eingesandt worden und stammten aus verschiedenen Geflügelbeständen vor allem aus Bayern und wurden mittels Agardiffusionstest und Bouillon-Mikrodilutionstest untersucht. Von den 1325 durch Agardiffusionstest untersuchten *E. coli*-Isolaten zeigten 49,4 % (654/1325) Resistenz

gegen Ampicillin, 6,7 % (89/1325) Resistenz gegen Enrofloxacin und 39,9 % (529/1325) Resistenz gegen Tetracyclin. Die Untersuchung von 212 *E. coli*-Isolaten mittels Mikrodilutionstest zeigte ähnliche Resistenzraten mit Ausnahme der Resistenzrate für Tetracyclin, die bei 47,6 %, und damit deutlich höher (101/212) lag (KRONTHALER 2009).

Unveröffentlichte Daten aus der Klinik für Vögel, Reptilien, Amphibien und Zierfische der LMU München aus dem Jahr 2013 zeigten für 82 untersuchte *E. coli*-Isolate von Wirtschaftsgeflügel (Hühner, Puten) Resistenzraten von 39,0 % (32/82) für Ampicillin, 7,3 % (6/82) für Enrofloxacin, 13,4 % (11/82) für Sulfamethoxazol-Trimethoprim und 29,3 % (24/82) für Tetracyclin (KORBEL & STEIN, unveröffentlicht).

Eine Studie aus Südbayern belegt, dass ESBL-Bildung bei *E. coli* in bayerischen Rinderbeständen weit verbreitet ist und Kälber, vermutlich aufgrund häufiger Antibiotikabehandlungen, ein Reservoir für ESBL-bildende *E. coli* darstellen (SCHMID et al 2012). So wurden in 32,8 % von 598 Umgebungs- und Kotproben bayerischer Rinder ESBL-bildende *E. coli* nachgewiesen, wobei in 93,4 % (183/196) der ESBL-positiven Proben CTX-M-Enzyme, meist CTX-M-1 gefunden wurde (SCHMID et al 2013).

2.4.2.2. Begleittiere inklusive Ziervögel

Im Rahmen des oben für die Nutztiere bereits erwähnten nationalen BfT-GermVet-Programmes 2004/2006 und 2006/2007 wurden auch Antibiotikaresistenzen bei Bakterien aus Hunden und Katzen untersucht und u. a. im GERMAP 2010 Report veröffentlicht. Die Häufigkeit von Resistenzen tierpathogener Bakterien bei Hunden und Katzen gegen 22 Antibiotika lag deutlich unter der bei lebensmittelliefernden Tieren (GERMAP 2011). Alle Bakterien stammten dabei aus der Routinediagnostik von akut erkrankten Tieren und waren nur von Tieren genommen worden, die seit mindestens 4 Wochen keine antibakteriellen Wirkstoffe erhalten hatten (SCHWARZ et al 2007). Von Hunden und Katzen mit Infektionen des Respirationstrakts wurden in den Jahren 2004 - 2006 lediglich 28 *E. coli*-Isolate untersucht. Hier waren die Resistenzraten am höchsten für Sulfamethoxazol (43 %), Ampicillin (39 %) und Cephalotin (21 %). Die Cefalozin-Resistenzrate lag bei 11 %. Allerdings zeigten eine

hohe Zahl der Isolate intermediäre Ergebnisse für Cephalotin (46 %) und Amoxicillin-Clavulansäure (7 %) (GROBBEL et al 2007). Von Infektionen des Urogenital- und Genitaltraktes entstammten 100 *E. coli*-Isolate. Die höchste Resistenzrate wurde für Ampicillin (24 %) ermittelt, gefolgt von Sulfamethoxazol (18 %), Tetracyclin (16 %), Cephalotin (11 %) und potenzierten Sulfonamiden (11 %). Die Resistenzrate gegen Enrofloxacin lag bei 7 %. Auch hier zeigte ein hoher Anteil der Isolate intermediäre Ergebnisse gegen Cephalotin (39 %). Weitere 100 untersuchte Isolate stammten von Gastrointestinaltrakt-Infektionen und zeigten Resistenzraten für Tetracyclin von 18 %, für Sulfamethoxazol von 15 %, für Ampicillin von 14 % und für Cephalotin von 9 %. Auch hier wurden viele intermediäre Ergebnisse gegen Cephalotin (43 %) festgestellt. Da für *E. coli* bei den untersuchten Indikationen keine CLSI-Grenzwerte für Cephalosporine der 3. Generation (Cefoperazon) und 4. Generation (Ceftiofur und Cefquinom) verfügbar waren, erfolgte bezüglich einer Resistenz gegen diese Antibiotika keine Beurteilung (GROBBEL et al 2007).

Im GERMAP 2010 Report wurden zudem die Resistenzdaten aus den BfT-GermVet-Programmen von 2004 bis 2006 mit denen von 2006 bis 2007 verglichen und ein Anstieg der Antibiotikaresistenzen festgestellt. Für *E. coli*, den häufigsten bei Urogenitaltrakt-Infektionen von Hunden und Katzen isolierten Erreger, lag die Resistenzrate gegen Ampicillin 2004/2006 bei 24 % und 2006/2007 bei 27 %. Ähnliche Ergebnisse wurden für Tetracyclin (17 % in den Jahren 2004/06 vs. 21 % in den Jahren 2006/07) und Trimethoprim-Sulfamethoxazol (11 % in 2004/06 vs. 16 % in 2006/07) dokumentiert. Ein deutlicher Anstieg der Resistenzrate war bei Cephalotin (1. Generation Cephalosporin) zu verzeichnen. Dort verdoppelte sich die Resistenzrate von 11 % (2004/06) auf 22 % (2006/07) (GERMAP 2011).

Der zunehmend engere Kontakt zwischen Menschen und ihren Haustieren zeigt sich unter anderem an einer intensiveren medizinischen Betreuung von Begleittieren wie Hunden und Katzen und einer wachsenden Zahl von Intensivpatienten in Tierkliniken (WIELER et al 2011). Bestimmte, häufig ESBL-produzierende *E. coli*-Varianten wie ST131 und ST648 werden bei Menschen und Begleittieren gefunden (WIELER et al 2011, EWERS et al 2010, VAN DER BIJ et al 2011). Der enge Kontakt von Mensch und Tier ermöglicht neue Infektionswege dieser Bakterien und wird als Gefahr gesehen, die konsequente Hygienemaßnahmen, effektive Infektionsverhütung und Kontroll-Strategien, insbesondere in Universitätstierkliniken nötig macht (WIELER et al

2011). Vor dem Hintergrund des zunehmenden Auftretens Extended-Spectrum Beta-Lactamasen bildender Enterobacteriaceae bei Haustieren (WIELER et al 2011, EWERS et al 2011) und dem Nachweis, dass das Halten von Haustieren für Menschen ein 7-fach höheres Risiko birgt, eine Besiedelung mit ESBL-produzierenden Enterobacteriaceae, in diesem Fall *E. coli*, zu erlangen (MEYER et al 2012), wird dringend die Einführung eines „Antibiotic Stewardship“ und neuer Strategien zur Überwachung multiresistenter Erreger, insbesondere hinsichtlich neuer, mutmaßlicher Infektionswege zwischen Menschen und ihren Haustieren gefordert (EWERS et al 2011).

Zahlreiche Untersuchungen belegen das Vorkommen von ESBL-bildenden Bakterien bei Begleittieren. So wurden 2700 Isolate von Enterobacteriaceae, die in den Jahren 2007 bis 2009 bei klinisch manifesten Infektionen von Haustieren gesammelt wurden, auf ESBL- und/oder AmpC-Vorkommen untersucht. Die Proben stammten aus 37 Tierkliniken aus 11 Gebieten der Niederlande. Dabei wurden 29 ESBL-bildende *E. coli*, 22 AmpC-bildende *E. coli*, *E. cloacae* und *C. freundii* sowie 6 ESBL- und AmpC-bildende *E. cloacae* detektiert. 74 % dieser Isolate zeigten Multiresistenz gegen mindestens drei Antibiotika (DIRIKX et al 2012). In Österreich wurden ESBL-bildende *E. coli* bei Hunden und Katzen, und zwar in 12 (5,3 %) von 228 Kotproben, gefunden (FRANIEK et al 2012).

Insgesamt scheinen erkrankte Tiere eine höhere ESBL- *E. coli*-Prävalenz aufzuweisen als gesunde, wie es auch bei Menschen festgestellt wurde. Eine Untersuchung gesunder und an Diarrhoe erkrankter Haustiere aus verschiedenen Gegenden der Niederlande auf das Vorkommen von ESBL- und/oder AmpC-bildender Enterobacteriaceae zeigte bei 55 % der erkrankten Hunde und 25 % der erkrankten Katzen ESBL-/AmpC-bildende *E. coli*, aber lediglich bei 45 % der gesunden Hunde und 0 % der gesunden Katzen. Die am häufigsten detektierten ESBL-Gene waren *bla*_{CTX-M-1}, es wurde aber auch ein *bla*_{CTX-M-15} nachgewiesen (HORDIJK et al 2013b). Zwischen 2006 und 2010 wurden ESBL-bildende *E. coli* bei erkrankten Begleittieren (Hund, Katze, Ziege, Pferd) in Frankreich detektiert, einige der Isolate exprimierten zusätzlich zu *bla*_{CTX-M-1} weitere Resistenzgene wie *bla*_{TEM-1} oder *bla*_{OXA-1}. Alle diese Isolate zeigten Multiresistenz gegen verschiedene Antibiotika, wobei die Resistenz gegen Tetracyclin und Sulfonamide immer vertreten war (DAHMEN et al 2012).

In humanen ESBL-bildenden Bakterien-Isolaten aus deutschen Kliniken ist momentan CTX-M-15 der am häufigsten detektierte ESBL-Typ. Die Ausbreitung von CTX-M-15 wird in enger Relation zur weiten Verbreitung von Stämmen der klonalen Linie O25b-ST131 gesehen (GERMAP 2014). So wurde O25b-ST131 mit CTX-M-15-Bildung häufig bei ExPEC-Infektionen des Menschen nachgewiesen (ROGERS et al 2011). In neueren Publikationen wurde dieser Klon auch in *E. coli*-Isolaten von Begleittieren nachgewiesen. In 177 ESBL-bildenden Isolaten von erkrankten Haustieren (v. a. Hunde mit Harntrakt- und Wundinfektionen) konnten 5,6 % (10/177) der *E. coli*-Isolate als B2-O25b-ST131 identifiziert werden. Durch Pulsfeld-Gelelektrophorese (PFGE)-Profil wurde eine Übereinstimmung mit einem humanen Kontrollstamm von über 85 % nachgewiesen (EWERS et al 2010).

Auch bei Begleittieren sind Kombinationen einzelner *E. coli*-Pathotypen wie ExPEC mit zusätzlicher ESBL-Bildung nachgewiesen worden. Dabei wurde insbesondere den Sequenztypen ST131 und ST648, die den Phylogruppen B2 und D angehören, Bedeutung zugemessen. ST648 wird ebenso wie ST131 in Blutkulturen bei Sepsispatienten gefunden (VAN DER BJI et al 2011). In einer aktuellen Untersuchung wurden bei 1152 ESBL-produzierenden *E. coli*-Isolaten von klinisch erkrankten Hunden, Katzen und Pferden aus 11 europäischen Ländern 2,8 % der Isolate als B2-ST131 und 3,5 % der Isolate als D-ST648 determiniert. Die Verbindung mit CTX-M-15 war dabei am häufigsten vertreten. Bei beiden Typen wurden eine Vielzahl von extraintestinalen Resistenzfaktorgenen nachgewiesen, so dass nicht nur ST131, sondern auch ST648 Multiresistenz, extraintestinale Virulenz und zoonotisches Potential kombiniert (EWERS et al 2014a).

Über Antibiotikaresistenzen bei Bakterien aus Ziervögeln liegen bislang nur wenige Publikationen vor. Keines der nationalen Resistenz-Monitoring-Programme schließt Ziervögel mit ein. Lediglich in einigen Studien, die sich primär mit der Untersuchung von Vogelpatienten in Tierkliniken befassen, wurden Resistenzdaten für verschiedene Erreger, häufig für Zier- und Wildvögel sowie Wirtschaftsgeflügel gemeinsam, ausgewertet.

Wissenschaftler aus Japan beschäftigen sich schon seit über 30 Jahren mit Antibiotikaresistenz und übertragbaren Resistenz-Plasmiden bei Bakterien von Ziervögeln sowie Zier- und Rassegeflügel. Bei einer zwischen 1975 und 1977

durchgeführten Untersuchung von Haustauben (und anderen Vögeln) wurden bei 23 % (20/87) der domestizierten Tauben Antibiotika-resistente *E. coli* nachgewiesen (SATO et al 1978). Etwa zur gleichen Zeit wurden Antibiotikaresistenzen und konjugative Resistenz-Plasmide bei *E. coli* von nach Japan importierten Ziervögeln (Wildfängen) untersucht. Von 309 *E. coli*-Isolaten zeigten 232 (75,1 %) Resistenzen gegen mindestens ein Antibiotikum, und 63,8 % der resistenten Isolate (148/232) trugen konjugative Resistenz-Plasmide. Die Autoren sahen als Ursache für die hohe, bei *E. coli*-Isolaten gefundene Resistenzrate den prophylaktischen Antibiotikaeinsatz bei Importvögeln (NAKAMURA et al 1980).

Für Deutschland liegen bisher nur wenige Publikationen zur Antibiotikaresistenz bei Bakterien unter Einbeziehung von Ziervögeln vor. Bei einer Untersuchung von 846 Bakterienisolaten aus Organ- und Tupferproben von verschiedenen Vogelspezies, darunter auch Isolate von 289 Papageien in den Jahren 1996 bis 1998 auf das Vorliegen von Resistenzen gegen verschiedene Antibiotika wurden insgesamt 140 *E. coli*-Isolate detektiert. Von diesen zeigten 57,6 % (80/139) Resistenzen gegen Doxycyclin, 63,3 % (57/90) Resistenzen gegen Amoxicillin und 7,1 % (10/140) Resistenzen gegen Enrofloxacin. Dabei wurde bei der Auswertung der Daten nicht zwischen unterschiedlichen Vogelspezies differenziert (RAVELHOFER-ROTHENEDER 1999). Eine aktuelle Untersuchung aus dem Jahr 2012 zeigte bei verschiedenen Enterobacteriaceae-Isolaten aus Vogelpatienten, darunter 104 Psittaziden, eine Sensitivitätsrate für Colistin von über 99 % (BERGS & KORBEL 2012).

Bisher unveröffentlichte Daten aus der Klinik für Vögel, Reptilien, Amphibien und Zierfische, LMU, Oberschleißheim, aus dem Jahr 2013 zeigten bei *E. coli*-Isolaten von Ziervögeln, hauptsächlich von Psittaziden, am häufigsten Resistenzen gegen Ampicillin mit 17,4 % und Amoxicillin-Clavulansäure mit 8,7 %. Die Resistenzraten gegen Doxycyclin, Enro- und Marbofloxacin sowie Sulfamethoxazol-Trimethoprim lagen unter 5 %. Dies zeigte, dass das Ausmaß der Antibiotikaresistenzen bei *E. coli* aus Ziervögeln zwar deutlich geringer als bei Wirtschaftsgeflügel war, aber trotzdem zu Problemen bei der Therapie führen kann (KORBEL & STEIN, unveröffentlicht). Diese Zahlen belegen die Bedeutung der Kenntnis der aktuellen bakteriellen Resistenzlage bei Vogelpatienten, und die hier ermittelten Daten zur aktuellen Resistenzsituation können auch als Entscheidungshilfe dienen, wenn Ziervogelpatienten im Notfall

antibiotisch versorgt werden müssen, bevor die Ergebnisse eines Antibiogramms vorliegen (BERGS & KORBEL 2012).

2.4.2.3. Wildsäugetiere

Im Zusammenhang mit der zunehmenden Detektion multiresistenter und ESBL-bildender Keime bei Menschen, Haus- und Nutztieren stellt sich die Frage nach Quellen und Reservoirs dieser Bakterien, die möglicherweise in der Umwelt und in Wildtieren zu finden sind. Eine erste Publikation über das Vorkommen antibiotikaresistenter gram-negativer Bakterien in unberührter, antibiotikafreier Umwelt stammt aus dem Jahr 1968. In dieser Studie wurden Wildtiere und Buschmänner aus dem Kruger Nationalpark (Südafrika) und aus dem Pohwe-River-Valley (Rhodesien) untersucht. 8 % der Bakterien von Wildtieren aus dem Pohwe-River-Valley, und 19 % der Bakterien aus Buschmännern zeigten Resistenz gegen Ampicillin. Bei 9 % der Bakterien von Wildtieren aus dem Kruger Nationalpark wurden Resistenzen gegen mindestens ein Antibiotikum nachgewiesen. Resistenz-Plasmide, für deren Erhalt der Selektionsdruck durch Antibiotika eine wichtige Rolle spielt, wurden nicht gefunden (MARE 1968). Fast 20 Jahre später wurden, ebenfalls in Afrika, wilde Primaten, und zwar Steppenpaviane (*Papio cynocephalus*) in Kenia mit und ohne Menschenkontakt auf das Vorkommen Antibiotika-resistenter Bakterien untersucht. Dabei wurden erheblich weniger Resistenzen bei der Population, die völlig abgeschieden ohne Kontakt zu Touristen und deren Abfällen lebten, detektiert (ROLLAND et al 1985).

Für Europa liegen bisher einzelne Untersuchungen zu ESBL-bildenden Bakterien bei Wildtieren vor. So wurden in Kotproben von Schwarzwild aus Portugal ESBL-bildende *E. coli* bei 10,4 % (8/77) der Tiere detektiert, alle vom CTX-M-1-Typ, alleine oder in Kombination mit *bla*_{TEM-1b} (POETA et al 2009). In einer anderen Studie aus Portugal wurden bei 5,5 % von 237 Iberischen Wölfen ESBL-produzierende *E. coli* festgestellt (GONÇALVES et al 2012). Auch in Tschechien und in der Slowakei wurden antibiotikaresistente und ESBL-bildende *E. coli* in Kotproben verschiedener Wildtiere gefunden. Resistente *E. coli* wurden bei 2 % der Nagetiere und Insektenfresser, 12 % der Wildwiederkäuer und Füchse, 0 % der Braunbären und 6 % des Schwarzwildes nachgewiesen. Fünf (2 %) der 293 *E. coli*-Isolate aus Schwarzwild wiesen ESBL der Typen CTX-M-1 und TEM-52b auf (LITERAK et al 2010a).

Wildtiere, die nahe bei menschlichen Siedlungen leben, scheinen ein erhöhtes Risiko für einen Erwerb von antibiotikaresistenten Keimen zu besitzen. Eine Untersuchung von Ratten aus Berlin (Deutschland) auf das Vorkommen von multiresistenten Bakterien und ESBL zeigte einen hohen Resistenzlevel gegenüber den in der Humanmedizin als Reserveantibiotika geltenden Fluorchinolonen und Beta-Lactamen. Bei 13,6 % der 236 untersuchten Isolate, wobei drei Isolate pro Tier beurteilt wurden, wurden Multiresistenzen gefunden, davon ein ESBL-CTX-M-9-bildender *E. coli* (GUENTHER et al 2012a).

2.4.2.4. Wildvögel

Auf der Suche nach möglichen Quellen und Reservoiren übertragbarer Pathogene mit zoonotischem Potential und Antibiotikaresistenzen wurden, insbesondere in den letzten Jahren, auch Studien bei Wildvögeln verschiedener Spezies durchgeführt. Es ist anzunehmen, dass Vögel, die durch ihren teilweise erheblichen Aktionsradius Bakterien über weite Strecken verbreiten können, als Reservoir agieren und bei der Ausbreitung von antibiotikaresistenten Bakterien eine wichtige Rolle spielen.

Eine erste Publikation über Antibiotikaresistenz bei Bakterien aus wildlebenden Vögeln kommt aus Japan. Dort wurden von 1975 – 1977 Straßentauben (*Columba livia*) und Krähen (*Corvus* spp.) auf antibiotikaresistente *E. coli* und das Vorkommen von Resistenz-Plasmiden untersucht. Antibiotikaresistenzen, und dabei am häufigsten Resistenzen gegen Chloramphenicol, wurden bei 21,2 % (39/184) der Straßentauben und der Hälfte der Krähen gefunden. 73,3 % aller multiresistenten *E. coli*-Isolate trugen konjugative Resistenz-Plasmide (SATO et al 1978). Ebenfalls in Japan wurden einige Jahre später 30 Wildvögel aus sechs verschiedenen Spezies auf *E. coli* mit Antibiotikaresistenzen untersucht. Bei 18,7 % der 230 untersuchten *E. coli* aus drei verschiedenen Spezies (*Corvus marcorhynchos japonensis*, *Sturnus cineraceus*, *Bamusicola thoracica*) wurden Resistenzen gegen mindestens ein Antibiotikum festgestellt. Resistenz-Plasmide wurden in 5 (14,7 %) der 34 resistenten Isolate aus Dschungelkrähen (*Corvus marorhynchos japonensis*) gefunden (NAKAMURA et al 1982). Im Zeitraum zwischen 1983 und 1986 wurden 1819 Kotproben von verschiedenen Wasservögeln aus Japan untersucht und 554 *E. coli* von 121 Vögeln isoliert. Alle Isolate waren gegen Sulfadimethoxine resistent. In dieser Studie wurden

Resistenz-Plasmide in 128 (55 %) der 233 antibiotikaresistenten Isolate gefunden (TSUBOKURA et al 1995).

In den letzten 5 Jahren wurden, verstärkt in Europa, aber auch in anderen Kontinenten Wildvögel, insbesondere Wasservögel und Greifvögel, auf das Vorkommen multiresistenter- und ESBL-bildender Bakterien untersucht. Antibiotikaresistente und ESBL-bildende *E. coli* wurden bei Wasservögeln in Frankreich (BONNEDAHL et al 2009), Polen (LITERAK et al 2010b), Tschechien (TAUSOVA et al 2012), Schweden (BONNEDAHL et al 2010, WALLENSTEN et al 2011), Russland (HERNANDEZ et al 2010), und Portugal (POETA et al 2008, SIMOES et al 2010) gefunden. Auch in kaum bewohnten Gegenden, wie den im pazifischen Ozean liegenden Oster-Inseln, konnten bei Wasservögeln verschiedene ESBL-bildende Bakterien, darunter auch *E. coli*, nachgewiesen werden (ARDILES-VILLEGAS et al 2011). Insbesondere Zugvögel wie Wildgänse wurden trotz geringer Prävalenzen ESBL-bildender *E. coli* wegen ihres großen Aktionsradius als Risikofaktor bei der Verbreitung angesehen (GARMYN et al 2011).

Dennoch scheint auch bei Vögeln die räumliche Entfernung des Aufenthaltsortes zu menschlichen Siedlungen oder Nutztierhaltungen einen Einfluss auf die Wahrscheinlichkeit zu haben, Träger antibiotikaresistenter Bakterien zu sein. Kanadagänse (*Branta canadensis*) aus zwei verschiedenen Gegenden in den USA wiesen deutlich unterschiedliche Resistenzraten auf. Vögel aus Regionen ohne Vorkommen von Nutztierfarmen trugen Bakterien mit geringeren Resistenzraten als Vögel, die sich in der Nähe von Nutztierhaltungen aufhielten (19 % vs. 72 %) (COLE et al 2005).

In Portugal wurden bei verschiedenen Greifvogelspezies ESBL-bildende *E. coli* gefunden (PINTO et al 2010, COSTA et al 2006, COSTA et al 2008). Bei Mäusebussarden (*Buteo buteo*) aus Portugal wurde, allerdings unter Einbeziehung von nur 33 Kotproben, eine hohe Rate von 15,2 % (5/33) ESBL-bildender *E. coli* nachgewiesen (RADHOUANI et al 2010). Dieses Ergebnis konnte aber in einer Folgestudie der gleichen Autoren zwei Jahre später nicht bestätigt werden. Es wurden zwar hohe Prävalenzen (97,2 %) resistenter Bakterien in 36 *E. coli*-Isolaten aus 42 Kotproben nachgewiesen, aber keine ESBL-Bildner. Insbesondere Resistenzen gegen

Tetracyclin (75,0 %) und Ampicillin (61,1 %) wurden häufig detektiert (RADHOUANI et al 2012).

Straßentauben (verwilderte Haustauben, *Columba livia f. domestica*) wurden wegen des engen Kontakts zu Menschen in ihrem Lebensraum ebenfalls als bedeutendes Reservoir antibiotikaresistenter Bakterien angesehen. Bei 12,1 % von in Brasilien untersuchten Straßentauben wurden pathogene, Diarrhoe verursachende *E. coli*-Stämme unterschiedlicher Pathotypen wie EIEC, STEC, EPEC und ETEC entdeckt. 37,9 % der Isolate waren gegen mindestens ein Antibiotikum resistent (SILVA et al 2009). Dagegen wurde bei Tauben in Tschechien eine sehr geringe *E. coli*-Resistenzrate von nur 1,5 % (3/203) detektiert. ESBL-bildende *E. coli* wurden nicht gefunden (RADIMERSKY et al 2010).

Auch bei der Untersuchung kleiner Singvögel wurden unterschiedliche Antibiotikaresistenz- und ESBL-Raten ihrer Bakterien festgestellt. So wurde bei einer von 220 Kotproben (0,5 %) von verschiedenen Wildvögeln (verschiedene Sperlingsvögel und Wildgeflügel) auf den Azoren ESBL-bildende *E. coli* entdeckt. Das CTX-M-14- und SHV-12-bildende *E. coli*-Isolat stammte von einer Mönchsgrasmücke (*Sylvia atricapilla*) (SILVA et al 2011). Dagegen konnten bei 300 untersuchten Halsbandschnäppern (*Ficedula albicollis*) aus Schweden keine ESBL-bildenden Bakterien nachgewiesen werden (JÄHRHULT et al 2013).

Die Ursache für diese unterschiedlichen Resistenzraten von *E. coli* aus gleichen oder ähnlichen Vogelspezies aus verschiedenen Ländern wurde bislang nicht geklärt. Als Ursache ist neben einem unzureichenden Stichprobenumfang und damit ungenauen Befallsraten auch anzunehmen, dass die Resistenz- und ESBL-Rate der *E. coli* der Wildvögel ähnlich wie die bei Menschen und Nutztieren geographisch variiert. Gestützt wird diese Annahme durch eine aktuelle Studie, bei der 3159 Kotproben von brütenden Möwen (*Larus fuscus*, *L. argentatus*, *L. michaellis*) aus 9 europäischen Ländern auf antibiotikaresistente *E. coli* untersucht wurden. Bei 31,5 % der *E. coli*-Isolate der Vögel wurden Resistenzen gegen mindestens ein Antibiotikum festgestellt, wobei die Resistenzraten sich zwischen den Ländern unterschieden und die höchste Resistenzrate in Spanien (61,2 %) und die niedrigste Resistenzrate in Dänemark (8,3 %) ermittelt wurde (STEDT et al 2014). In Deutschland sind bisher nur wenige Publikationen über die Verbreitung multiresistenter- und ESBL-produzierender

Bakterien in der Wildvogelpopulation verfügbar. In einer im Jahr 2010 veröffentlichten Studie wurden Wildvögel aus 55 gesunden und erkrankten Wildvogelspezies aus Deutschland einbezogen. Dabei wurden aus 40 Spezies *E. coli* isoliert. 4,8 % (9/187) der Isolate zeigten Multiresistenzen. Da Wildvögel durch ihren Kot über Wasser und Umwelt antibiotikaresistente Bakterien verbreiten können, folgerten die Autoren eine von diesen Vögeln ausgehende Gesundheitsgefährdung für Menschen und Tiere (GUENTHER et al 2010a). In einer zweiten Publikation dieser Arbeitsgruppe aus dem selben Jahr wurden in 2,3 % der *E. coli*-Isolate (4/172) aus 172 Wildvögeln (99 Sperlingsvögel, 10 Wasservögel, 63 Greifvögel) CTX-M-15-ESBL nachgewiesen. Die bislang hauptsächlich beim Menschen nachgewiesenen CTX-M-15 stammten von zwei Amseln (*Turdus merula*), einer Felsentaube (*Columba livia*) und einer Blessgans (*Anser albifrons*) (GUENTHER et al 2010b).

Während in vielen Studien ein Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von Antibiotikaresistenzen und der Herkunft sowie dem Lebensraum der Vögel erkennbar war (COLE et al 2005, STEDT et al 2014), scheint in anderen Studien dieser Zusammenhang unklar. Eine Untersuchung verschiedener Greifvögel aus Deutschland und der Mongolei auf das Vorkommen ESBL-bildender *E. coli* detektierte nahezu gleiche Prävalenzen (13,8 % vs. 10,8 %) trotz großen Unterschieden im Lebensraum, auch in Bezug auf die offensichtliche Nähe zu menschlichen Siedlungen oder Nutztieren. Während es sich bei den in der Mongolei nachgewiesenen ESBL meist um CTX-M-9 handelte, bildeten alle aus Deutschland stammenden *E. coli*-Isolate CTX-M-1-Enzyme (GUENTHER et al 2012b).

Antibiotikaresistenzen und ESBL wurden bei Wildtieren, und dabei auch bei Wildvögeln gefunden. ESBL-bildende *E. coli* scheinen insbesondere bei Wassergeflügel, Greifvögeln und bei Nagetieren verbreitet zu sein. Diese könnten als potentielles Reservoir und Schmelztiegel für resistente Bakterien dienen, die den Menschen infizieren (GUENTHER et al 2011). So wurde gefolgert, dass Wildtierpopulationen als potentielles Reservoir und Sammelbecken für resistente Bakterien fungieren und so Einfluss auf die menschliche Gesundheit und Umwelt haben (RADHOUANI et al 2014).

2.4.3. Nachweise und Bedeutung in der Umwelt

Da Antibiotikaresistenzen und ESBL-bildende Bakterien immer häufiger auch in unbewohnten Gegenden und bei Wildtieren ohne offensichtlichen direkten Kontakt zu Menschen und Antibiotika gefunden werden, liegt der Verdacht nahe, dass diese Bakterien durch Menschen, Nutz- und Haustiere oder durch unbelebte Vektoren in die Umwelt gelangen, sich aufgrund ihrer beachtlichen Tenazität weiter verbreiten können, und ihre Resistenzgene auch auf andere Umweltkeime übertragen können.

Untersuchungen der Abwässer in Kläranlagen einiger großer europäischer Städte stützen die Auffassung des Vorkommens antibiotikaresistenter Bakterien in der Umwelt. So wurden ESBL-bildende Enterobacteriaceae in teilweiser hoher Prävalenz in Abwässern nachgewiesen. In Barcelona (Spanien) wurden in 5 von 5 Abwasserproben ESBL-produzierende *E. coli* detektiert. Diese Abwässer stammten aus zwei verschiedenen Kläranlagen und wurden vor der Aufbereitung durch die Anlagen entnommen (MESA et al 2006). In Graz (Österreich) wurden ESBL-bildende *E. coli*, meist Typ CTX-M-15 und Typ CTX-M-1, in unbehandeltem Klärschlamm nachgewiesen. Die Autoren vermuteten den Eintrag dieser Bakterien durch Menschen und Tiere und sahen eine Nutzung unbehandelter Abwasserschlämme ohne effektive *E. coli*-Elimination kritisch (ZARFEL et al 2013).

Nicht nur in unbehandelten Abwässern wurden pathogene Bakterien gefunden, CTX-M-15-produzierende *E. coli* wurden in Wasserproben einer Kläranlage in Tschechien nach der Behandlung nachgewiesen, dies bewies deutlich einen ungenügenden Aufbereitungsprozess (DOLEJESKA et al 2011). Auch in Irland wurden in Abwasser unterschiedlicher Herkunft, darunter auch in Abwässern einer Klinik, ESBL-bildende und Fluorchinolon-resistente *E. coli* an verschiedenen Stufen des Aufbereitungsprozesses nachgewiesen (GAVIN et al 2010). In Studien wurde belegt, dass *E. coli* einige der in Kläranlagen üblichen Prozeduren der Aufbereitung unter Erhalt der Infektiosität überstehen kann (REINTHALER et al 2010).

Große Relevanz hinsichtlich der Ausbreitung antibiotikaresistenter Keime besitzen auch Nachweise ESBL-bildender Enterobacteriaceae in Oberflächengewässern wie Flüssen und Badeseen. Im Wasser der Themse in London (UK) wurden gegen Fluorchinolone resistente *E. coli* der O25b:H4-ST131-Linie mit CTX-M-14-Beta-

Lactamase Bildung nachgewiesen. Der in humanen, klinischen Isolaten häufigste CTX-M-Typ, CTX-M-15, wurde allerdings nicht detektiert (DHANJI et al 2011b). Auch in 36,2 % der Wasserproben (21/58) von verschiedenen Flüssen und Seen der Schweiz wurden ESBL-bildende Enterobacteriaceae gefunden (ZURFUH et al 2013). Studien belegen, dass verschiedene *E. coli*-Stämme in unbehandeltem Oberflächenwasser 7 bis 47 Tage überleben konnten (ROTH 2004).

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1. Patienten

Zur Untersuchung von Antibiotikaresistenzen bei *E. coli* wurden im Zeitraum Mai 2012 bis Mai 2013 insgesamt 257 Wildvögel einbezogen. Diese Wildvögel wurden aus unterschiedlichen Gründen von Privatpersonen, Polizei, Feuerwehr oder Institutionen wie der Münchner Tierrettung in die Klinik für Vögel, Reptilien, Amphibien und Zierfische der LMU München gebracht. Wie in Tabelle 5 detailliert aufgelistet ist, gehörten die Vögel insgesamt 23 Arten aus sieben verschiedenen Ordnungen an. Aus der Ordnung der Passeriformes (Sperlingsvögel) wurden 39 Amseln (*Turdus merula*) einbezogen. Die Bakterien stammten außerdem von 73 Tauben der Arten *Columba livia f. domestica* (verwilderte Haustauben) und *Streptopelia decaocto* (Türkentauben). Aus den beiden Ordnungen Anseriformes und Gruiformes (Gänsevögel, Kraniche und Rallen) stammten 46 Wasservögel der neun Arten Blesshuhn (*Fulica atra*), Stockente (*Anas platyrhynchos*), Graugans (*Anser anser*), Höckerschwan (*Cygnus olor*), Zwergtaucher (*Tachybaptus ruficollis*), Brautente (*Aix sponsa*), Teichhuhn (*Gallinula chloropus*), Kanadagans (*Branta canadensis*) und Reiherente (*Aythya fuligula*). Von den Falconiformes (Falkenvögel) wurden 33 Vögel, nämlich Turmfalken (*Falco tinnunculus*) und Wanderfalken (*Falco peregrinus*) beprobt. Aus der Ordnung Accipitriformes (Habichtartige) wurden 51 Vögel der Arten Wespenbussard (*Pernis apivorus*), Mäusebussard (*Buteo buteo*), Sperber (*Accipiter nisus*), Habicht (*Accipiter gentilis*) und Rohrweihe (*Circus aeruginosus*) untersucht. Weitere 15 Proben stammten von Vögeln der Ordnung Strigiformes (Eulenvögel), dort wurden die Arten Waldkauz (*Strix aluco*), Waldohreule (*Asio otus*), Schleiereule (*Tyto alba*) und Steinkauz (*Athene noctua*) in die Untersuchung einbezogen.

Von jedem Vogel wurde sofort bei der Einlieferung in die Klinik für Vögel, Reptilien, Amphibien und Zierfische der LMU München in Oberschleißheim, Deutschland, noch vor einer eventuellen antibiotischen Therapie, mit einem sterilen Tupfer aus der Kloake eine Abstrichprobe entnommen.

3.2. Isolation und phänotypische Differenzierung von *E. coli*

Die Tupfer wurden auf kommerziell erhältliche und industriell gefertigte Eosin-Methylenblau Agarplatten (EMB-Agar, Oxoid, Wesel, Deutschland) ausgestrichen. Dabei handelt es sich um einen Selektivagar zur Isolation von Enterobacteriaceae. Die weitere Bearbeitung der Platten erfolgte in der Abteilung Bakteriologie der Klinik für Vögel, Reptilien, Amphibien und Zierfische unter sterilen Bedingungen an einer Sicherheitswerkbank (LaminAir HB2472, Hereus Instruments, Hanau, Deutschland). Zur Erzeugung von Einzelkolonien wurde ein Dreiösenausstrich angefertigt. Die beimpften Platten wurden über Nacht (für 18 bis 24 Stunden) im Brutschrank (Memmert Typ: BM600, Schwabach, Deutschland) bei 37 °C bebrütet, bevor eine Auswertung der Platten am nächsten Tag erfolgte. Wenn auf den Platten bakterielles Wachstum zu erkennen war, erfolgte eine erste visuelle Einstufung möglicher *E. coli* nach Farbe, Form und Hämolyse. Viele *E. coli* sind auf EMB-Agarplatten als grün-metallisch schimmernde Kolonien gut zu erkennen.

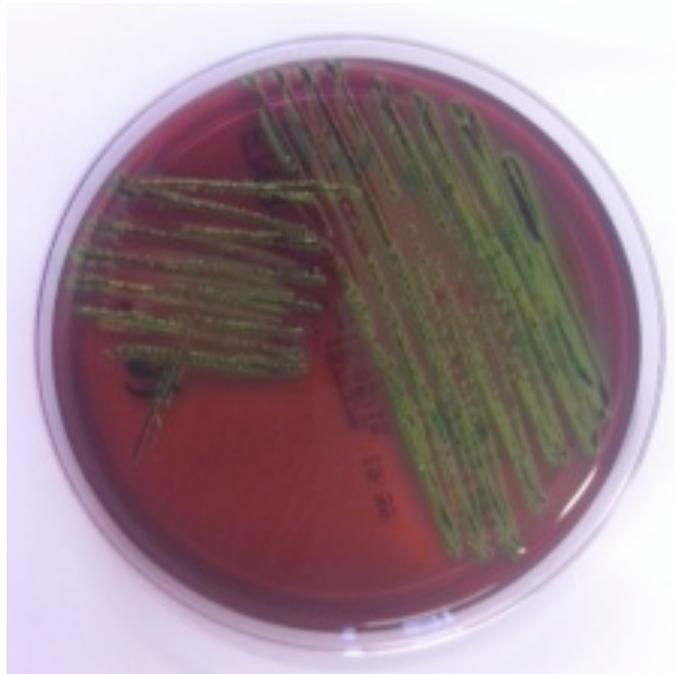


Abbildung 3: Darstellung von typischen metallisch-grünen Kolonien von *E. coli* nach Durchführung eines Dreiösenausstriches und Wachstum über Nacht bei 37 °C auf auf EMB-Agar.

Grundsätzlich wurde aber nicht nur bei Wachstum von Bakterien mit typischer *E. coli*-Morphologie, sondern auch bei zweifelhaftem Ergebnis immer eine biochemische Spezies-Differenzierung der isolierten Bakterien durchgeführt.

Dazu wurde zunächst eine Vereinzelnung der gewachsenen Keime mit sterilen Ösen im Dreiösenausstrich auf Columbia Agar mit Schafblut (COL-Agar, Oxoid, Wesel, Deutschland) vorgenommen, um reine Subkulturen anzuzüchten. Diese Agarplatten wurden anschließend ebenfalls im Brutschrank bei 37 °C für 18 bis 24 Stunden inkubiert.



Abbildung 4: Darstellung des Wachstums von *E. coli* auf COL-Agar. Dieses Vorgehen ist nötig, um einzelne *E. coli*-Kolonien ohne Kontamination durch andere Enterobacteriaceae zu erhalten.

Die endgültige Identifikation der Bakterienspezies wurde mit einem biochemischen Standardtest nach den Angaben und mit den Materialien des Herstellers (API® 20E™ System, bioMérieux, Nuerthingen, Deutschland), sowie einer anschließenden Auswertung der Ergebnisse mit dem Computerprogramm ApiWeb (bioMérieux, Nuerthingen, Deutschland) durchgeführt. Nur eindeutig als *Escherichia coli* differenzierte Bakterien wurden in die weiteren Tests einbezogen.



Abbildung 5: Darstellung eines *E. coli* im API® 20E™ nach der Inkubationszeit. Der Teststreifen enthält in 20 Reaktionsgefäßen verschiedene Reagenzien, die mit *E. coli*, die in einer Suspension zugegeben werden, verschiedene biochemische Reaktionen eingehen und diese durch Farbumschlag kenntlich machen.

3.3. Phänotypische Bestimmung der Empfindlichkeit von *E. coli* gegenüber verschiedenen Antibiotika

Alle bestätigten *E. coli*-Isolate wurden auf ihre Empfindlichkeit gegenüber acht verschiedenen, in der Tiermedizin verwendeten Antibiotika getestet. Alle Empfindlichkeitstests erfolgten mit standardisierten Blättchendiffusionsmethoden- (Agardiffusionstest) auf Mueller-Hinton-Agar (MH-Agar, Oxoid, Wesel, Deutschland) nach CLSI- und DIN-Vorgaben (CLSI 2006, 2008, DIN 2000). Bei den verwendeten Antibiotika handelte es sich um Ampicillin (AMP), Amoxicillin-Clavulansäure (AMC), Ceftazidim (CAZ), Piperacillin-Tazobactam (PIT), Doxycyclin (DOX), Enro (ENR)- und Marbofloxacin (MAR), sowie Sulfamethoxazol-Trimethoprim (SXT) (Oxoid, Wesel, Deutschland und Bayer, Leverkusen, Deutschland). Die verwendeten Antibiotika und deren Konzentrationen finden sich im Anhang, Tabelle A1.

Ab Januar 2013 wurden zur Auswertung der Ceftazidim (CAZ)-Resistenz aktualisierte Hemmhof-Grenzwerte für Cephalosporine aus dem aktuellen CLSI Dokument M100-S20 (2010) herangezogen. In diesem Dokument werden CAZ-Hemmhöfe von über 21 mm als sensibel, Werte zwischen 18 und 20 mm als intermediär, und Werte unter 17 mm als resistent gewertet (CLSI 2010).

Zuerst wurde die Vorbereitung und Herstellung einer Suspension bakterieller Kolonien als Inokulum für die Durchführung des Empfindlichkeitstestes vorgenommen. Dazu wurden von der 18 bis 24 Stunden alten Bakterienreinkultur (Subkultur) einige Kolonien mit einer sterilen Öse entnommen und in 5 ml einer 0,9 %-igen, sterilen Kochsalzlösung suspendiert. Nach mehrmaligem vollständigen Durchmischen der Bakteriensuspension wurde visuell mit Hilfe geeichter Standardröhrchen (McFarland Standard, Artikel Nr. 70900, bioMérieux, Nuerthingen, Deutschland) eine Trübung entsprechend dem McFarland-Standard 0,5 eingestellt.

Spätestens nach 15 Minuten wurden 100 µl der Suspension mit einer Pipette (pipetman X 65502C, Gilson, Frankreich) auf eine Mueller-Hinton-Agarplatte (Oxoid, Wesel, Deutschland) aufgebracht und mit einem sterilen Drigalskispatel gleichmäßig verstrichen. Nach etwa 5 Minuten Antrocknungszeit wurden alle acht Antibiotikablättchen gleichzeitig mit Hilfe eines Handandruckdispensers (Disc dispenser 20117728, Oxoid, Wesel, Deutschland) in gleichmäßigem Abstand auf die

Agarplatte aufgebracht. Die mit Antibiotikablättchen bestückten Platten wurden innerhalb von 15 Minuten in den Brutschrank verbracht und bei 37°C 18 bis 24 Stunden bebrütet.

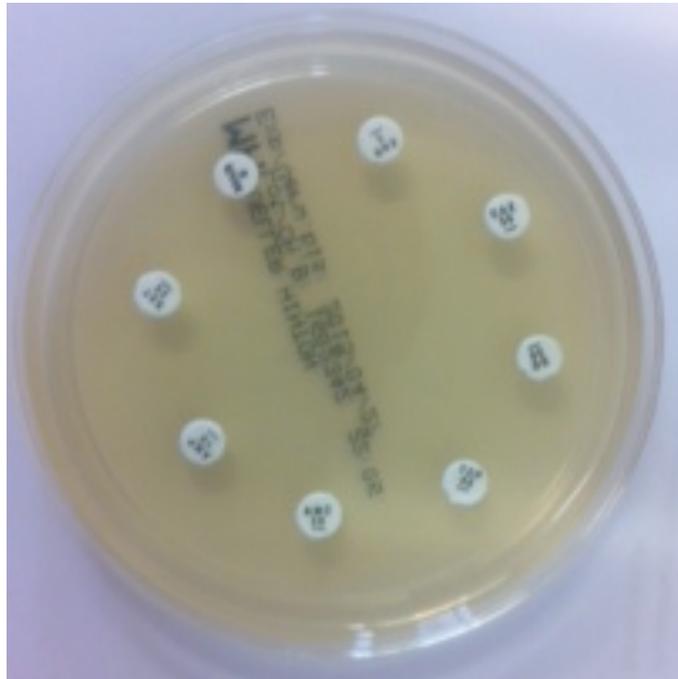


Abbildung 6: Durchführung des Empfindlichkeitstests auf Müller-Hinton-Agar mit acht Antibiotikablättchen, die in gleichmäßigem Abstand mit dem Disc dispenser (Oxoid) auf die Agarplatte gestempelt wurden.

Wenn nach der Inkubation ein konfluierender (oder fast konfluierender) Bakterienrasen vorlag, wurden die Durchmesser der um die Antibiotikablättchen entstandenen Hemmhöfe mit Hilfe einer Schublehre ermittelt und die *E. coli* nach CLSI- und DIN-Kriterien (CLSI 2006, 2008, 2010, DIN 2000) in sensibel, intermediär und resistent eingeteilt. Als Hemmhof bezeichnet man eine klare Zone um das Antibiotikablättchen, in dem durch die Hemmwirkung der in den Agar diffundierten antibiotischen Substanz kein Bakterienwachstum stattfindet. Bei ungleichmäßigem Bakterienrasen um die Antibiotikablättchen oder Verunreinigung der Agarplatte durch andere Bakterien oder Pilze wurde der Test wiederholt. Ein Kontrollstamm, *E. coli* DSM 1103, wurde einmal pro Woche als Qualitätstest mitgeführt. Alle bei der Auswertung der Hemmhöfe verwendeten Grenzwerte sind im Anhang, Tabelle A1, aufgelistet.

3.4. Phänotypische Untersuchung der *E. coli* auf ESBL-Produktion

Alle *E. coli* Isolate mit resistenten oder intermediären Ergebnissen gegenüber einem der im Empfindlichkeitstest verwendeten Penicilline oder Cephalosporine wurden auf die Produktion von „Extended-Spectrum Beta-Lactamasen“ untersucht. Vorgabe hierfür war der „ESBL Phenotypic Confirmatory Test“ aus dem CLSI Dokument M31-A3 (2008) unter Verwendung von Testblättchen mit Cefotaxim (30 µg) und Ceftazidim (30 µg) sowie mit beiden Wirkstoffen jeweils in Kombination mit Clavulansäure (10 µg).

Die Vorbereitung der Bakteriensuspension für diesen Test geschah analog der Vorbereitung zur Empfindlichkeitstestung. Dazu wurde zuvor noch einmal eine frische Subkultur des zu bestimmenden *E. coli* auf COL-Agarplatten hergestellt. Nach dem Aufbringen und Verteilen der vorbereiteten Bakteriensuspension auf Mueller-Hinton-Agarplatten wurden jeweils zwei Antibiotikablättchen (CTX und CTX/CV; CAZ und CAZ/CV) in gleichmäßigem, genügend großem Abstand mit einer sterilen Pinzette unter leichtem Druck auf die Platten aufgebracht und nach kurzer Antrocknungsphase bei 37 °C im Brutschrank 18 - 24 Stunden inkubiert.

Die Verteilung der Antibiotikablättchen auf zwei verschiedene Agarplatten wurde deshalb gewählt, da der größere Abstand der Blättchen voneinander eine bessere Auswertbarkeit gewährleistete. Der Test wurde positiv bewertet, wenn der Hemmhof eines der Antibiotikablättchen in Kombination mit Clavulansäure mindestens 5 mm größer war als der des jeweiligen Wirkstoffes alleine. Die Auswertung der Hemmhöfe erfolgte visuell mit Hilfe einer Schublehre. Ein ESBL-positiver *E. coli* Stamm, DSM 22664, wurde einmal wöchentlich zur Kontrolle mitgeführt.



Abbildung 7: Durchführung des „ESBL Phenotypic Confirmatory Test“ nach CLSI (2008). Cephalosporinblättchen (hier CTX und CAZ) mit und ohne Clavulansäure (CV) wurden auf Müller-Hinton-Agar mit Bakteriensuspension aufgebracht und im Brutschrank bei 37°C bebrütet.

3.4.1. Aufbewahrung und Konservierung von Bakterien

Drei bis fünf Kolonien von *E. coli*-Isolaten mit positivem (oder intermediärem) Ergebnis im „ESBL Phenotypic Confirmatory Test“ wurden mit einer sterilen Öse von der Agarplatte abgenommen und durch vorsichtiges Einrühren in ein Cryobank-Röhrchen (Cryobank System, MAST Diagnostica, Reinfeld, Deutschland) mit Keramikkügelchen und Medium überführt (entsprechend McFarland Standard 3 – 4). Nach vorsichtigem Schütteln und zwei Minuten Wartezeit wurde das flüssige Medium mit Hilfe einer sterilen Pipette entfernt und das Cryobank-Röhrchen bis zur weiteren Differenzierung bei –80 °C tiefgefroren (Herafreeze Basic, Thermo Fisher Scientific, Deutschland).

3.5. Genotypische Differenzierung der ESBL-produzierenden *E. coli*

Zur genauen Differenzierung aufgefundener ESBL-*E. coli* wurden mehrere Polymeraseketten-Reaktionen (PCRs) durchgeführt. Dabei wurde zunächst ermittelt, welche Resistenzgene vorliegen und anschließend der vorliegende Typ über die Nukleotidsequenz des Gens mittels PCR und Sequenzierung bestimmt (XU et al 2005, COQUE et al 2002, GRIMM et al 2004, JOUINI et al 2007). Außerdem wurden die auf dem Resistenzplasmid benachbart liegenden Regionen („genetic environment“) mittels PCR und Sequenzierung charakterisiert (DHANJI et al 2011c, SALADIN et al 2002).

Weitere molekularbiologische Untersuchungen bezogen sich auf die Charakterisierung der beteiligten *E. coli*. So wurde die phylogenetische Gruppe mittels Triplex-PCR (CLERMONT et al 2000, HIGGINS et al 2007, GORDON et al 2008) bestimmt und das vorliegende H-Oberflächenantigen durch Sequenzierung eines Fragments des *fliC*-Gens ermittelt (FIELDS et al 1997).

3.5.1. DNA-Extraktion

Um die Bakterien-DNA aus den bei -80 °C tiefgefrorenen Proben zu isolieren, musste zuerst erneut eine Subkultur der *E. coli* auf Blutplatten (COL) hergestellt werden. Dazu wurde eines der Keramikkügelchen aus dem Cryobank-Röhrchen mit einer sterilen Pinzette entnommen und in ein steriles, mit 7 ml Herz-Boullion (Heart-Infusion (HI)-Broth) gefülltes Röhrchen (Oxoid, Wesel, Deutschland oder Becton Dickinson, Heidelberg, Deutschland) gegeben. Die Öffnung des HI-Röhrchens wurde steril verschlossen und danach für 24 Stunden im Brutschrank bei 37 °C bebrütet, bevor am nächsten Tag mit einer sterilen Öse etwas Medium entnommen und eine Subkultur auf Blutplatten (COL) analog der oben genannten Vorgehensweise hergestellt und bebrütet werden konnte.

Die Isolierung der bakteriellen DNA erfolgte mit einem kommerziell erhältlichen System, dem DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, Hilden, Deutschland) nach Angaben des Herstellers. Dazu wurden einige Bakterienkulturen der COL-Agarplatte entnommen und in $180\text{ }\mu\text{l}$ ATL-Puffer (Lyse-Puffer) suspendiert. Nach Zugabe von $20\text{ }\mu\text{l}$ Proteinase K wurden die Bakterien bei 56 °C mindestens 10 Minuten inkubiert, um die DNA

freizusetzen. Zellreste wurden abzentrifugiert und danach wurde durch Zugabe von 200 µl 96 %-igem Ethanol die Löslichkeit der DNA herabgesetzt und anschließend die DNA an eine sich in Säulchen befindende Silikamembran gebunden. Nach mehreren Waschschritten unter Zugabe verschiedener Puffer (AW1, AW2) und Zentrifugation (8000 – 13000 rpm) wurde die DNA durch Zugabe von 200 µl AE-Puffer und nochmaligem Zentrifugieren bei 8000 rpm aus den Säulchen eluiert.

Als Extraktionskontrolle (Negativkontrolle) wurde eine Pufferlösung ohne Zugabe von Bakterienkulturen mitgeführt.

3.5.2. PCR

Die PCR ist ein etabliertes Verfahren zur gezielten Vermehrung ausgewählter DNA-Fragmente mittels spezifischer Primer und einer hitzestabilen DNA-Polymerase (*Taq*-Polymerase). Bei einer Temperatur von circa 95 °C schmelzen (denaturieren) die vorliegenden DNA-Doppelstränge, bei danach erniedrigter Temperatur von circa 50-64 °C, die je nach verwendeten Primern gewählt wird, lagern sich die im Gemisch vorliegenden, für das zu vervielfältigende DNA-Fragment spezifischen Primer, an die Einzelstränge an (Annealing). Bei Erhöhung der Temperatur auf circa 72 °C beginnt die hitzestabile *Taq*-DNA-Polymerase, Nukleotide an das 3`- Ende der Primer anzulagern und bildet dadurch Kopien der vorliegenden DNA (Elongation). Bei jedem Vorgang verdoppelt sich theoretisch die Menge der amplifizierten DNA, so dass nach 30-45 Wiederholungen (Zyklen) Hunderte von Millionen Kopien des DNA-Fragments vorliegen, die danach z. B. durch Gelelektrophorese sichtbar gemacht werden können.

3.5.2.1. PCRs zur Charakterisierung der Resistenzgene

Die für die verschiedenen ESBL-Enzyme kodierenden Resistenzgene lassen sich in Gruppen (CTX-M, TEM, SHV und weitere) und Untergruppen einteilen (siehe Tabelle 3). Daher wurden zur Identifizierung der Gruppe zunächst mehrere PCRs mit gruppenspezifischen Primern durchgeführt (XU et al 2005, COQUE et al 2002, GRIMM et al 2004). Mit für die CTX-M-Gruppe-1 spezifischen Primern (siehe Tabelle 4) wurde dann ein PCR-Produkt amplifiziert, das durch Sequenzanalyse nicht eindeutig einem CTX-M-Typ zugeordnet werden konnte. Deshalb wurde anschließend eine weitere

PCR zur Amplifikation eines größeren Stücks des ESBL-Gens, das 1041 bp umfasst, durchgeführt (JOUINI et al 2007).

Um die Umgebung des für CTX-M-15-kodierenden Gens auf dem Plasmid („genetic environment“) weiter zu charakterisieren, wurde eine PCR zur Determination der Insertionssequenz (IS, siehe Abbildung 15) und des offenen Leserahmens (ORF), die vor („upstream“) und hinter („downstream“) dem *bla*_{CTX-M}-Gen liegen, durchgeführt. Auf diese Weise sollte das ESBL-kodierende Gen einem der sog. Gen-Umfeld-Typen nach Dhanji et al (2011c) zugeordnet werden (DHANJI et al 2011c, SALADIN et al 2002).

3.5.2.2. PCRs zur Charakterisierung der *E. coli*

E. coli Bakterien können verschiedenen phylogenetischen Gruppen (A, B1, B2, D) (CLERMONT et al 2000, HIGGINS et al 2007) und weiteren Untergruppen (ESCOBAR-PÁRAMO et al 2004) zugeordnet werden. Die vorliegende phylogenetische Gruppe wurde in einer Triplex-PCR nach Clermont et al (2000) durch Amplifikation von zwei Genen (*chuA*, *yjaA*) und eines DNA-Fragmentes (TSPE4.C2) bestimmt (CLERMONT et al 2000, GORDON et al 2008, HIGGINS et al 2007).

Die bei *E. coli* vorliegenden O- und H-Antigene werden üblicherweise mit spezifischen Antisera serologisch bestimmt. Diese Untersuchung wurde durch das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR, Berlin, Deutschland) nach von Ewing (1986) und Ørskow et al (1977, 1984) beschriebenen Methoden durchgeführt. Das H-Antigen, das nur von beweglichen *E. coli* exprimiert wird (SELBITZ 2002), konnte serologisch nicht ermittelt werden, deshalb wurde eine weitere PCR zur partiellen Amplifikation des für das H-Antigen-kodierenden *fliC*-Gens nach Fields et al (1997) durchgeführt.

Die verwendeten Primer für alle durchgeführten PCRs finden sich in Tabelle 4 – 4b. Alle Primer wurden von Metabion International AG, Martinsried, Deutschland, angefertigt. Eine Auflistung der PCR-Thermalprofile befindet sich im Anhang in Tabelle A3 und die Pipettierschemata mit den Mengen der einzelnen Ansätze in Tabelle A4 – A4e im Anhang. Die dort aufgeführten Mengenangaben (Tabelle A4 – A4e) der einzelnen PCRs entsprechen jeweils den Ansatzmengen für einen Ansatz. Wenn z. B.

für die Determination der ESBL-Gruppe oder des genetischen Umfelds des *bla*_{CTX-M-15}-Gens verschiedene Primer nötig waren, wurden jeweils mehrere PCRs durchgeführt.

Tabelle 4: In dieser Arbeit verwendete Primer für den Nachweis der ESBL-kodierenden Gene (TEM, SHV, CTX-M) und für den Nachweis des kompletten *bla*_{CTX-M-15}-Genes.

ESBL-Gen	Primer	Referenz
<i>bla</i> _{TEM}	5'-ATGAGTATTCAACATTTCCG-3' 5'-TTAATCAGTGAGGCACCTAT-3	Grimm et al. 2004
<i>bla</i> _{SHV}	5'-GGGTTATTCTTATTTGTCGC-3' 5'-TTAGCGTTGCCAGTGCTC-3	Coque et al 2002
CTX-M group 1 (CTX-M 7/8)	5'-GCGTGATACCACTTCACCTC-3' 5'-TGAAGTAAGTGACCAGAATC-3	Xu et al 2005
CTX-M group 2 (CTX-M 17/18)	5'-TGATACCACCACGCCGCTC-3' 5'-TATTGCATCAGAAACCGTGGG-3	Xu et al 2005
CTX-M group 9 (CTX-M 11/12)	5'-ATCAAGCCTGCCGATCTGGTTA-3' 5'-GTAAGCTGACGCAACGTCTGC-3	Xu et al 2005
CTX-M group 8/25/26 (CTX-M 19/20)	5'-CAATCTGACGTTGGGCAATG-3' 5'-ATAACCGTCGGTGACAATT-3	Xu et al 2005
CTX-M group 1 complete gene, 1041 bp)	F: 5'-GTTACAATGTGTGAGAAGCAG-3' R: 5'-CCGTTTCCGCTATTACAAAC-3'	Jouini et al 2007

Tabelle 4a: In dieser Arbeit verwendete Primer für den Nachweis des genetischen Umfelds des *bla*_{CTX-M-15}-Genes (S: G or C; Y: C or T; R: A or G).

Zielsequenz	Primer	Referenz
ISEcp1U2 MA3; CTX-M consensus rev.	5'-AATACTACCTTGCTTTCTGA -3' 5'-ACYTTACTGGTRCTGCACAT-3'	Saladin et al 2002
IS26b MA3; CTX-M consensus rev.	5'-ATGAACCCATTCAAAGGCCG-3' 5'-ACYTTACTGGTRCTGCACAT-3'	Dhanji et al 2011c Saladin et al 2002
ISE26U MA3; CTX-M consensus rev.	5'-AGCGGTAAATCGTGGAGTGA-3' 5'-ACYTTACTGGTRCTGCACAT-3'	Saladin et al 2002

Tabelle 4b: In dieser Arbeit verwendete Primer zur Bestimmung der phylogenetischen Gruppe und des für das H-Antigen kodierenden *fliC*-Gens

Zielsequenz	Primer	Referenz
ChuA.1 ChuA.2	5'-GACGAACCAACGGTCAGGAT-3' 5'-TGCCGCCAGTACCAAAGACA-3'	Clermont et al 2000 Gordon et al 2008 Higgins et al 2007
YjaA.1 YjaA.2	5'-TGAAGTGTCAGGAGACGCTG-3' 5'-ATGGAGAATGCGTTCCTCAAC-3'	Clermont et al 2000 Gordon et al 2008 Higgins et al 2007
TspE4C2.1 TspE4C2.2	5'-GAGTAATGTCGGGGCATTCA-3' 5'-CGCGCCAACAAAGTATTACG-3'	Clermont et al 2000 Gordon et al 2008 Higgins et al 2007
F-FLIC1 R-FLIC2	5'-ATGGCACAAGTCATTAATACCCAAAC-3' 5'-CTAACCCCTGCAGCAGAGACA-3'	Fields et al 1997

Als Positivkontrollen wurden *E. coli* DSM 22664 (für CTX-M-15), *E. coli* NCTC 13351 (TEM-3), und *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (SHV-18), die uns von Frau Dr. N. Drees, LMU München, sowie *E. coli* ref. 42032, *E. coli* ref. 0516, *E. coli* ref. H042680216 und *Enterobacter* sp. ref. E395 (BIRKETT et al 2007), die uns von Frau Dr. U. Messelhäuser, LGL, Oberschleißheim zur Verfügung gestellt wurden, für die verschiedenen PCRs verwendet.

3.5.3. Herstellung eines Master-Mix und Vorbereiten der einzelnen Proben nach PCR-Protokoll

Alle benötigten Materialien für den Master-Mix wurden bei -20 °C aufbewahrt und erst zur Verarbeitung aus dem Gefrierschrank (Arctis Electronic, AEG, Deutschland), genommen und aufgetaut. Die Herstellung des Master-Mix laut Protokoll wurde in räumlicher Trennung von der Durchführung der PCR und Gelelektrophorese an einer Werkbank (TL 2448, Hereus Instruments, Hanau, Deutschland) durchgeführt, um mögliche Kontaminationen zu vermeiden. Alle im jeweiligen Pipettier-Protokoll (Tabellen A4 – A4e im Anhang) aufgeführten Reagenzien (Primer siehe Tabelle 4 – 4b, Metabion, Martinsried, Deutschland; HotStar *Taq*-Polymerase, Qiagen, Hilden, Deutschland; peq GOLD dNTP-Set, Peqlab, Erlangen, Deutschland) mit Ausnahme der DNA wurden zunächst als Mastermix in ein Eppendorf-Reaktionsgefäß pipettiert, gemischt und anzentrifugiert und dann Aliquots in PCR-Reaktionsgefäße überführt (PCR-Tubes, Kisker Biotech GmbH, Steinfurt, Deutschland).

Die aus Bakterien extrahierte DNA, die Extraktionskontrollen und die zu verwendenden PCR-Positivkontrollen, die in einem zweiten Laborraum in einem anderen -20 °C Gefrierschrank (Bosch, München, Deutschland) gelagert worden waren, wurden dort an einem zweiten Arbeitsplatz (LaminAir HB 2448, Hereus Instruments, Hanau, Deutschland) nach dem Auftauen den vorbereiteten PCR-Tubes zugegeben. Nach beendeter Vorbereitung aller PCR-Tubes wurden diese nochmals durchgemischt, anzentrifugiert und in einem Thermocycler (SensoQuest Labcycler, SensoQuest GmbH, Göttingen, Deutschland) nach Einstellen der jeweiligen PCR-Bedingungen (Thermalprofile siehe Tabelle A3 im Anhang), den verschiedenen PCRs unterzogen.

Danach wurden die PCR-Tubes dem Thermocycler entnommen und zum Sichtbarmachen einer erfolgten Amplifikation einer Gelelektrophorese unterzogen.

3.5.4. Agarose-Gelelektrophorese

Hierbei handelt es sich um ein Verfahren, bei dem DNA-Fragmente in einem elektrischen Feld nach ihrer Größe aufgetrennt werden. Zuvor durch PCR amplifizierte DNA-Fragmente wandern aufgrund negativ geladener Phosphatgruppen zur Anode. Hierbei können sich kleinere Moleküle schneller durch das Gel, das wie ein Sieb wirkt, bewegen. Die DNA-Fragmente können anschließend mittels Ethidiumbromid, das sich in doppelsträngige DNA einlagert, im UV-Licht sichtbar gemacht werden.

Zur Herstellung des Agarosegels wurde 1 g Agarose mit 70 ml TBE-Puffer (Tris-Borat EDTA) in einem Erlenmeyerkolben in einer Mikrowelle (Intellowave, LG, Ratingen, Deutschland) unter vorsichtigem, mehrmaligem Schwenken bis zur Klärung erhitzt. Nach Abkühlung auf ca. 50 °C wurde der noch flüssigen Agarose 1 µl (0,1 µg/ml) Ethidiumbromid (Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland) zugegeben und der Kolben nochmals vorsichtig geschwenkt. Anschließend wurde das noch flüssige Gel vorsichtig blasenfrei in eine Gelkammer (Perfect Blue Mini Gel System Mini M, Peqlab, Erlangen, Deutschland) gegossen und ein Probenaschenkamm mit 14 Taschen eingesetzt. Nach vollständiger Abkühlung und Aushärtung wurde das Gel in der Elektrophoresekammer mit TBE-Puffer überschichtet und die Probenkämme entfernt. Danach wurden 10 µl der PCR-Produkte nach Zugabe von 2 µl 6x Gel-Ladepuffer (Roti(R)-Load DNA, Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland) vorsichtig in die Taschen pipettiert und ein elektrisches Feld von 100 Volt, 100 mA, 15 Watt für eine Stunde angelegt. Ein 100 bp Marker (Invitrogen, Kiefersfelden, Deutschland) wurde als Größenstandard mitgeführt.

Anschließend wurde das Gel aus der Kammer entnommen, die DNA-Banden unter UV-Licht sichtbar gemacht und fotografiert. Dazu wurde der Gel-Jet-Imager 2000/2003 der Firma Intas UV-Systeme, Göttingen, Deutschland genutzt. Ethidiumbromid lagert sich an doppelsträngige DNA an, deshalb können die entstandenen Banden im UV-Licht durch die zugehörige Computersoftware „Intas“ detektiert und fotografiert werden.

Zur Sequenzierung wurden PCR-Produkte der erwarteten Größe aus dem Agarosegel ausgeschnitten und bis zur weiteren Verwendung bei -20 °C gelagert.

3.5.5. Extraktion der DNA, Sequenzierung und Sequenzanalyse

Zur Extraktion der DNA der PCR-Produkte aus dem Gel wurde das QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen, Hilden, Deutschland) nach Anleitung des Herstellers verwendet. Das ausgeschnittene Gel-Stück wurde abgewogen und nach Zugabe von QG-Puffer 10 Minuten bei 50 °C aufgelöst. Nach der Zugabe von Isopropanol wurde die DNA durch Zentrifugation (10000 rpm) an eine sich in Säulchen befindende QIAquick-Silikamembran gebunden. Nach zweimaligem Waschen unter Pufferzugabe (QG, PE) und Zentrifugation wurden 35 µl Elutions-Puffer zugegeben, nochmals 1 min. bei 10000 rpm zentrifugiert und das Eluat mit der DNA und den entsprechenden PCR-Primern zur Sequenzierung eingeschickt (GATC Biotech, Konstanz, Deutschland). Die Identität der erhaltenen Sequenzen wurde durch BLAST Analyse bestimmt (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Die für das CTX-M-15-Gen und das auf dem Plasmid benachbarte genetisch Umfeld ermittelte Nucleotid-Sequenz wurde unter der Zugangsnummer KF891471 und die partielle Sequenz des für das H-Antigen kodierende *fliC*-Gen wurde unter der Zugangsnummer KF807830 bei der NCBI-GenBank hinterlegt (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

3.6. Serologische Bestimmung des O-Serotyps und Untersuchung auf Virulenzfaktoren bei *E. coli*

Die Bestimmung des Serotyps (O- und H-Antigen) wurde vom Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR, Berlin, Deutschland) mit serologischen Methoden nach Ewing (1986) und Ørskow (1977, 1984) durchgeführt. Zusätzlich wurde durch serologische und genotypische Methoden nach ASU § 64, LMFG nach dem Vorhandensein verschiedener Virulenzfaktoren (Shigatoxine Stx1 und Stx2, EHEC Enterohämolysin (*e-hly*), *eae/nleB* Gene (Intimin)) gesucht.

4. ERGEBNISSE

4.1. Antibiotikaresistenzen bei *E. coli* aus Wildvögeln

Bei der Untersuchung von insgesamt 257 Kloakentupferproben von 257 Wildvögeln wurden aus 193 (75,1 %) Vögeln *E. coli* isoliert, deren artliche Identität mittels biochemischer Reaktionen bestätigt wurde. Von jedem Wildvogel wurde nur eine Kolonie weiter analysiert. Bei insgesamt 33 (17,1 %) dieser *E. coli*-Isolate wurde Resistenz gegenüber mindestens einem der verwendeten antibiotischen Wirkstoffe festgestellt, bei 23 (11,9 %) der Isolate ergaben sich intermediäre Ergebnisse. Volle Sensibilität gegenüber allen verwendeten Antibiotika zeigten 137 (71,0 %) der *E. coli*-Isolate.

18 (9,3 %) Isolate besaßen Resistenz gegenüber einem antibiotischen Wirkstoff und 15 Isolate (7,8 %) gegenüber zwei oder mehreren der verwendeten Wirkstoffe, wobei bei einem *E. coli*-Isolat aus einem Blesshuhn (*Fulica atra*) Resistenzen gegen sieben und bei einem *E. coli*-Isolat aus einer Stockente (*Anas platyrhynchos*) gegen sechs Antibiotika festgestellt wurden.

Die häufigsten Resistenzen von *E. coli* aus Wildvögeln wurden gegen Sulfamethoxazol-Trimethoprim (23 Isolate, 11,9 %) festgestellt, darauf folgten Resistenzen gegen Ampicillin (14 Isolate, 7,3 %) und Doxycyclin (13 Isolate, 6,7 %). Die niedrigsten *E. coli* Resistenzraten wurden für Amoxicillin-Clavulansäure (2 Isolate, 1,0 %), Cephalosporin (1 Isolat, 0,5 %) und Piperacillin-Tazobactam (0 Isolate) detektiert.

Enro- und Marbofloxacin-Resistenz wurde nur in *E. coli* vom Wassergeflügel gefunden (4 Isolate), damit entspricht die Resistenzrate bezogen auf alle *E. coli*-Isolate aus Wildvögeln 2,1 % (n=193) und bezogen auf *E. coli*-Isolate aus Wassergeflügel 10,3 % (n=39).

In Tabelle 5 sowie den Tabellen A2 und A5 im Anhang findet sich eine Zusammenfassung aller bei Wildvögeln genommenen Kloakentupferproben, der aufgefundenen *E. coli* und der detektierten Resistenzen.

Tabelle 5: Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung einschließlich Resistenztests von Kloakentupferproben der in dieser Arbeit einbezogenen Wildvögel (n=257)

Ordnung	Spezies	Anzahl der Vögel	Anzahl der <i>E. coli</i> -Isolate	Anzahl der sensiblen Isolate	Phänotypische Resistenz (Anzahl der Isolate)	Phänotypisch intermediär (Anzahl der Isolate)
Passeriformes	Total	39	22	17 (77,3%)	3 (13,6%)	2 (9,1%)
	Amsel (<i>Turdus merula</i>)	39	22	17	SXT (3) -	- AMP (2)
Columbiformes	Total	73	52	35 (67,3%)	10 (19,2%)	7 (13,5%)
	Verwilderte Haustaube (<i>Columba livia f. domestica</i>)	70	49	34	AMP (1) SXT (2) AMP, DOX (2) AMP, DOX, SXT (1) AMP, DOX, SXT (1) AMP, DOX, SXT (1) - - -	- - - AMC ENR AMC, ENR, PIT AMP (5) SXT (1) AMP, SXT (1)
	Türkentaube (<i>Streptopelia decaocto</i>)	3	3	1	SXT (1) SXT (1)	- AMP, AMC
Anseriformes und Gruiformes	Total	46	39	27 (69,2%)	9 (23,1%)	3 (7,7%)
	Blesshuhn (<i>Fulica atra</i>)	7	6	5	AMP, DOX, ENR/MAR, SXT, CTX/CAZ (1)	-
	Stockente (<i>Anas platyrhynchos</i>)	9	8	4	SXT (2) ENR/MAR (1) AMP, AMC, DOX, ENR/MAR, SXT (1)	AMP, PIT AMP -
	Graugans (<i>Anser anser</i>)	5	3	1	SXT (1) AMP, ENR/MAR (1)	- AMC
	Höckerschwan (<i>Cygnus olor</i>)	19	18	14	AMP (1) SXT (1) - -	AMC AMP, PIT DOX (1) AMP, AMC (1)
	Zwergtaucher (<i>Tachybaptus ruficollis</i>)	1	1	-	-	AMP (1)
	Brautente (<i>Aix sponsa</i>)	1	1	1	-	-
	Teichhuhn (<i>Gallinula chloropus</i>)	2	1	1	-	-
	Kanadagans (<i>Branta canadensis</i>)	1	1	1	-	-
	Reiherente (<i>Aythya fuligula</i>)	1	-	-	-	-
Falconiformes	Total	33	25	15 (60,0%)	7 (28,0%)	3 (12,0%)
	Turmfalke (<i>Falco tinnunculus</i>)	28	21	12	SXT (1) DOX (1) AMP, DOX (1) AMP, SXT (1) DOX (1) SXT, DOX (1) - -	- - AMC AMC AMP - AMP (2) AMP, AMC (1)
	Wanderfalke (<i>Falco peregrinus</i>)	5	4	4	SXT, DOX (1)	AMP

Accipitriformes	Total	51	43	35 (81,4%)	3 (7,0%)	5 (11,6%)
	Wespen- bussard (<i>Pernis apivorus</i>)	2	2	2	-	-
	Mäusebussard (<i>Buteo buteo</i>)	31	28	24	SXT (2)	-
	Sperber (<i>Accipiter nisus</i>)	14	9	7	-	AMP (2)
	Habicht (<i>Accipiter gentilis</i>)	3	3	1	AMP, DOX, SXT (1) -	- AMP, AMC (1)
	Rohrweihe (<i>Circus aeruginosus</i>)	1	1	1	-	-
Strigiformes	Total	15	12	8 (66,7%)	1 (8,3%)	3 (25,0%)
	Waldkauz (<i>Strix aluco</i>)	9	9	5	AMP, AMC (1) -	- AMP (3)
	Waldohreule (<i>Asia otus</i>)	4	2	2	-	-
	Schleiereule (<i>Tyto alba</i>)	1	1	1	-	-
	Steinkauz (<i>Athene noctua</i>)	1	-	-	-	-

* AMP: Ampicillin; AMC: Amoxicillin-Clavulansäure; SXT: Sulfamethoxazol-Trimethoprim; DOX: Doxycyclin; ENR: Enrofloxacin; MAR: Marbofloxacin; PIT: Piperacillin-Tazobactam; CAZ: Ceftazidime.

** *E.coli*-Isolate mit resistenten und intermediären Ergebnissen sind in einer Zeile aufgeführt

4.2. Antibiotikaresistenzen bei *E. coli* aus Wildvögeln im Bezug auf die Ordnung

4.2.1. Falconiformes

Bei Vergleich der verschiedenen Vogelgruppen zeigte sich die niedrigste *E. coli*-Sensibilitätsrate (60,0 %, 15/25) bei den Falconiformes (n=33).

In dieser Gruppe wurden bei 28,0 % (7/25) der *E. coli*-Isolate Resistenzen und bei 12,0 % (3/25) der *E. coli*-Isolate intermediäre Ergebnisse festgestellt (Abbildung 8). Resistenz gegen Doxycyclin (DOX, alleine oder in Kombination) war dabei am häufigsten vertreten (20,0 %, 5/25), gefolgt von Resistenz gegen Sulfamethoxazol-Trimethoprim (SXT, 16,0 %, 4/25). Verminderte Sensibilität gegenüber Ampicillin (AMP) zeigte sich in dieser Gruppe ebenfalls häufig.

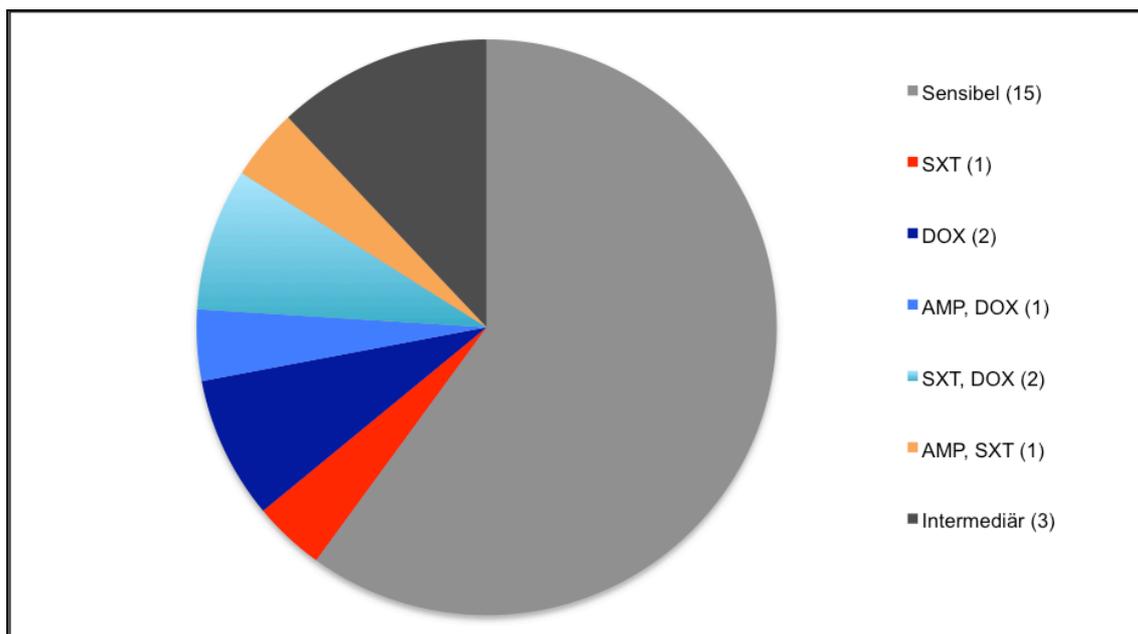


Abbildung 8: Übersicht über nachgewiesene Antibiotikaresistenzen bei 25 *E. coli*-Isolaten aus 33 Falconiformes

4.2.2. Accipitriformes

Die höchste Sensibilitätsrate (81,4 %, 35/43) wurde in *E. coli*-Isolaten von Accipitriformes (n=51) festgestellt. Antibiotikaresistenz wurde bei 7,0 % (3/43) und verminderte Sensibilität bei 11,6 % (5/43) der Isolate detektiert. Alle drei nachgewiesenen resistenten Isolate zeigten Resistenz gegen Sulfamethoxazol-Trimethoprim (alleine oder in Kombination, siehe Abbildung 9) und alle fünf intermediären Isolate zeigten verminderte Sensibilität gegenüber Ampicillin.

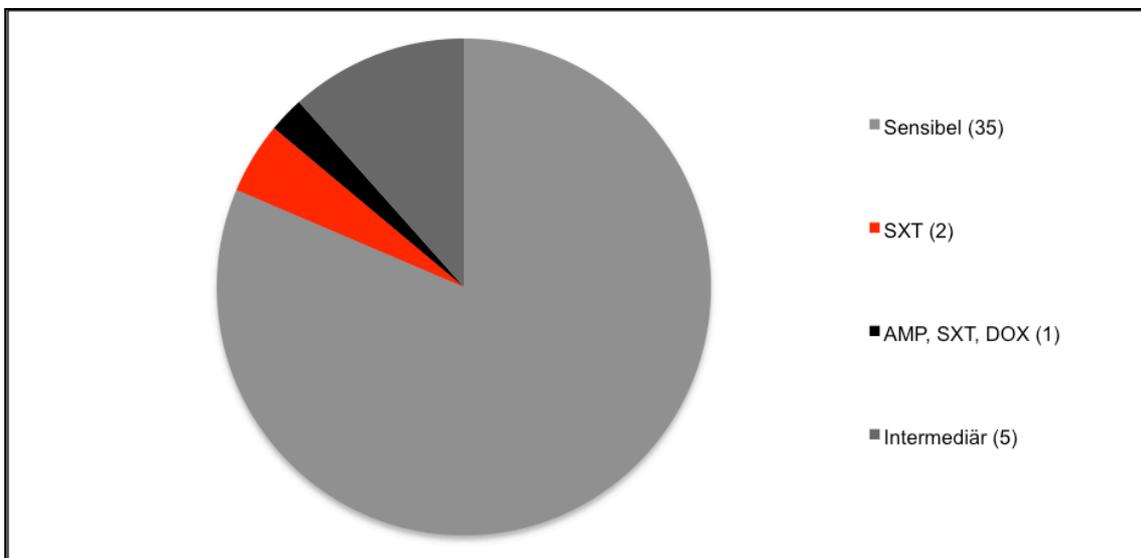


Abbildung 9: Übersicht über nachgewiesene Antibiotikaresistenzen bei 43 *E. coli*-Isolaten aus 51 Accipitriformes

4.2.3. Passeriformes

In *E. coli*-Isolaten von Passeriformes (n=39) wurde bei einer relativ hohen Sensibilitätsrate von 77,3 % (17/22) ausschließlich Resistenz gegenüber Sulfamethoxazol-Trimethoprim festgestellt (13,6 %, 3/22), zwei weitere *E. coli*-Isolate (9,1 %) zeigten verminderte Sensibilität gegen Ampicillin (siehe Abbildung 10).

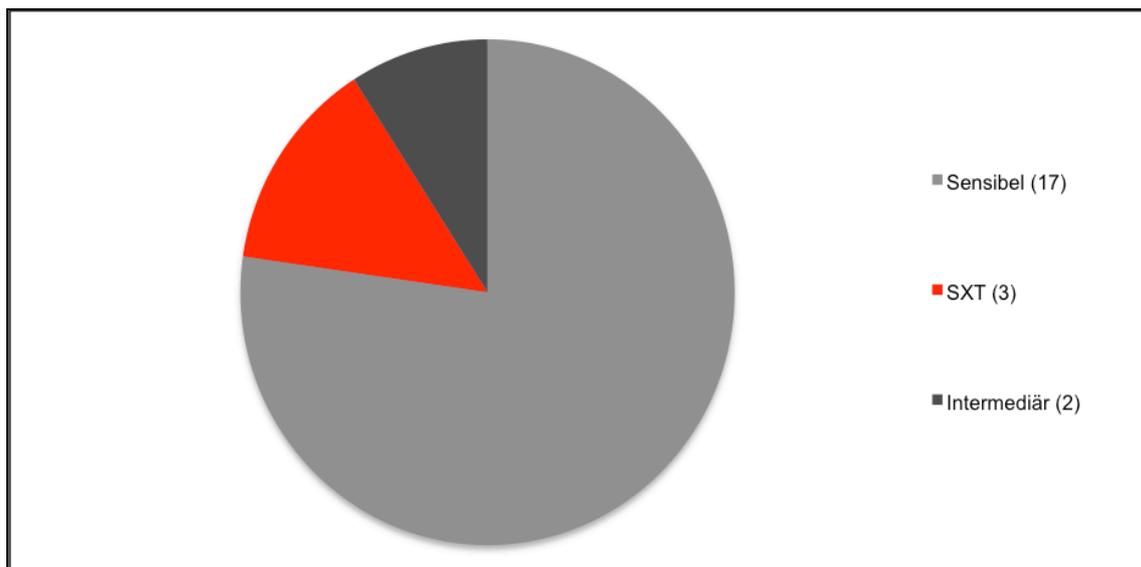


Abbildung 10: Übersicht über nachgewiesene Antibiotikaresistenzen bei 22 *E. coli*-Isolaten aus 33 Passeriformes

4.2.4. Strigiformes

In der Gruppe der Strigiformes (n=15) wurde bei einer *E. coli*-Sensibilitätsrate von 66,7 % (8/12) ausschließlich gegenüber Ampicillin Resistenz (8,3 %, 1/12, in Kombination mit AMC) und verminderte Sensibilität (25,0 %, 3/12) festgestellt (Abbildung 11).

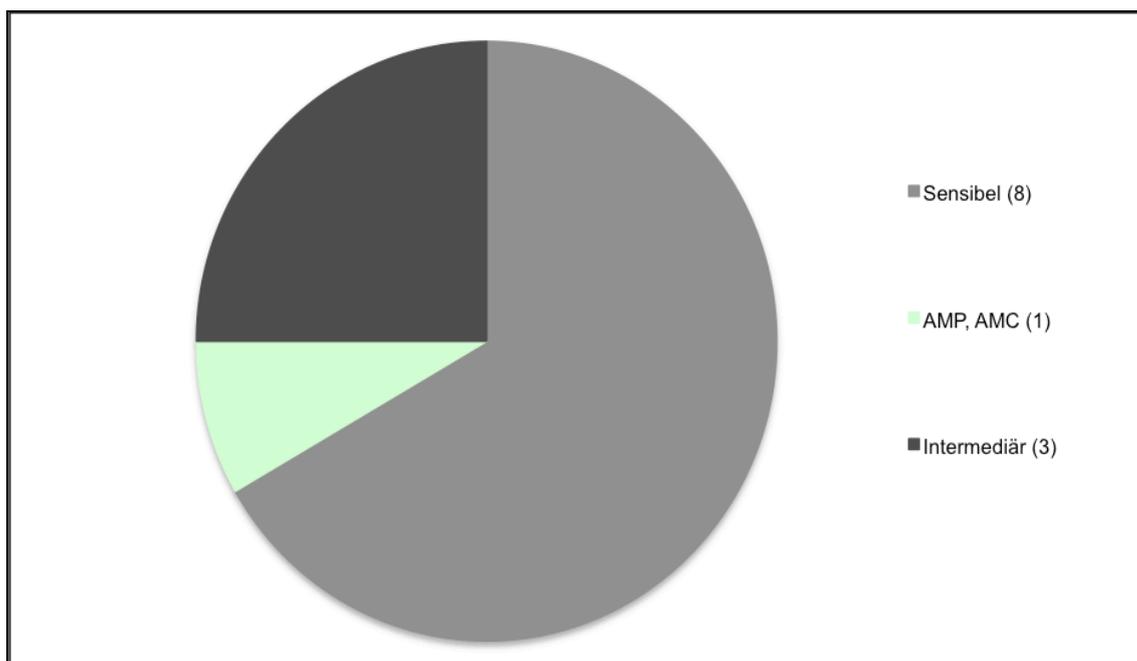


Abbildung 11: Übersicht über nachgewiesene Antibiotikaresistenzen bei 12 *E. coli*-Isolaten aus 15 Strigiformes

4.2.5. Anseriformes und Gruiformes

Resistenzen gegen Enro- und Marbofloxacin wurden insbesondere bei *E. coli* aus Anseriformes und Gruiformes (n= 46) festgestellt. Von 39 isolierten *E. coli* zeigten neun (23,1 %) Antibiotikaresistenz, davon vier (10,3 %) gegen beide getesteten Fluorchinolone Enro- und Marbofloxacin (ENR/MAR alleine oder in Kombination mit anderen Resistenzen). In dieser Gruppe zeigten drei *E. coli*-Isolate (7,7 %) intermediäre Ergebnisse (siehe Abbildung 12). Multiresistenz gegenüber drei und mehr Antibiotika (wobei ENR/MAR und CTX/CAZ als ein Antibiotikum gezählt wurden) wurde in der Gruppe des Wassergeflügels in 5,1 % (2/39) der *E. coli*-Isolate detektiert (Abbildung 12).

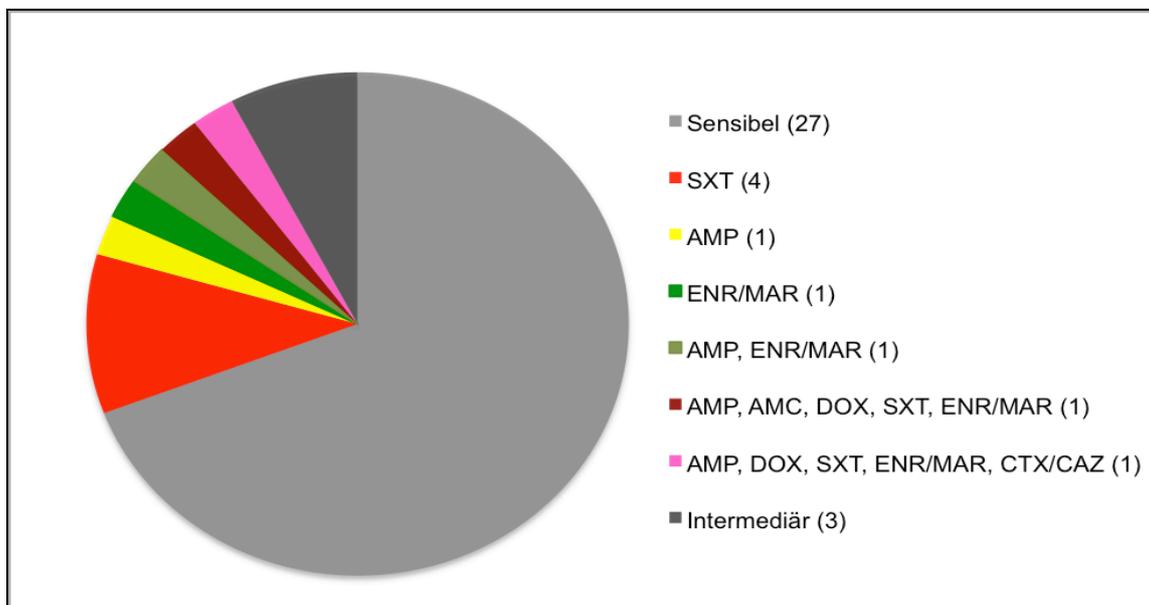


Abbildung 12: Übersicht über nachgewiesene Antibiotikaresistenzen bei 39 *E. coli*-Isolaten aus 46 Anseriformes und Gruiformes

4.2.6. Columbiformes

In der Gruppe der Columbiformes (n=73) wurden bei einer *E. coli* Sensibilitätsrate von 67,3 % (35/52) die häufigsten Multiresistenzen festgestellt (5,8 %, 3/52), dabei immer in der Kombination AMP, DOX, SXT. Von den untersuchten *E. coli* aus Taubenvögeln zeigten zehn (19,2 %) Resistenzen und sieben (13,5 %) verminderte Sensibilität gegenüber den verwendeten Wirkstoffen (Abbildung 13).

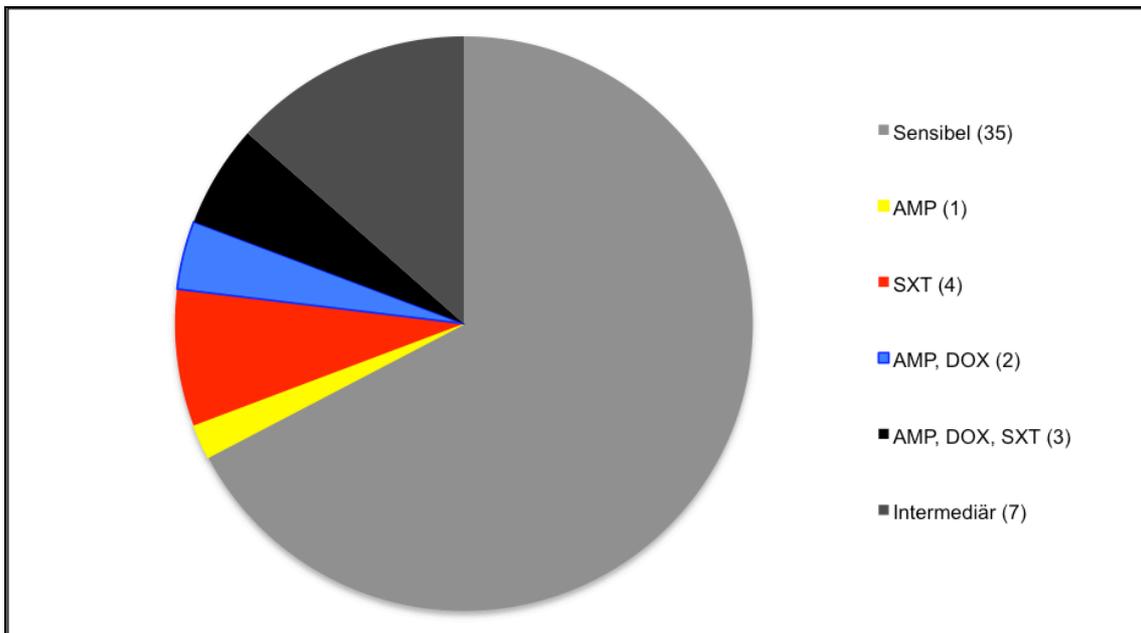


Abbildung 13: Übersicht über nachgewiesene Antibiotikaresistenzen bei 52 *E. coli*-Isolaten von 73 Columbiformes

4.3. ESBL-produzierende *E. coli*-Isolate aus Wildvögeln

Im „ESBL Phenotypic Confirmatory Test“ konnte ein *E. coli*-Isolat als ESBL-Bildner nachgewiesen werden. Dieses Isolat (# 25104) stammte von einem adulten Blesshuhn (*Fulica atra*), das mit einer Fraktur eingeliefert wurde. Die Resistenz des *E. coli*-Isolates gegen Cefotaxim (CTX) und Ceftazidim (CAZ) trat zusätzlich zu fünf weiteren Antibiotikaresistenzen (AMP, DOX, SXT, ENR/MAR) auf.

Im phänotypischen ESBL-Test ergaben sich Hemmhofdurchmesser für CTX von 0 mm, für CTX/CV von 13 mm sowie für CAZ von 13 mm und für CAZ/CV von 24 mm. Dadurch konnte dieser Test eindeutig visuell als positiv beurteilt werden (Abbildung 14a und 14b).

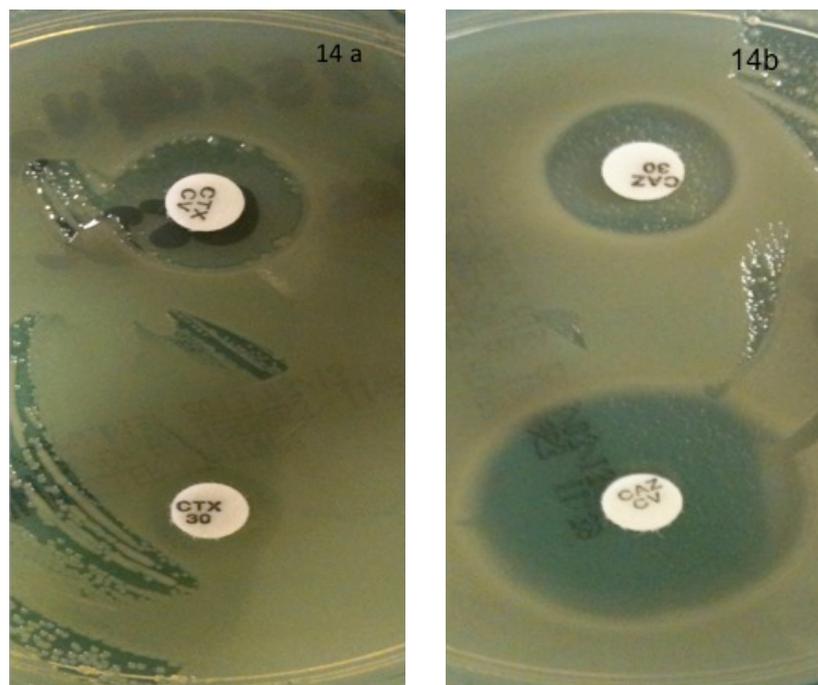


Abbildung 14a und 14b: „ESBL Phenotypic Confirmatory Test“ bei *E. coli*-Isolat # 25104. Die Abbildungen zeigen Hemmhofdurchmesser von 0 mm für CTX und 13 mm für CTX/CV (Abbildung 14a) sowie 13 mm für CAZ und 24 mm für CAZ/CV (Abbildung 14b).

Bei den PCR-Tests zur Detektion des ESBL-kodierenden Gens wurden Gene für die ESBL-Gruppen TEM, SHV und die CTX-M-Gruppen 2, 8, 9 und 25/26 nicht

nachgewiesen. Mit spezifischen Primern für die CTX-M-Gruppe 1 wurde jedoch ein Produkt in erwarteter Größe amplifiziert.

Die Sequenzierung dieses Produktes unter Verwendung der Primer nach Xu et al (2005) ergab kein eindeutiges Ergebnis, da sich im amplifizierten DNA-Fragment CTX-M-15 und CTX-M-55 nicht unterschieden. Durch eine weitere PCR mit Amplifikation eines größeren Fragments des *bla*_{CTX-M}-kodierenden Gens nach Jouini et al (2007) konnte das in dem *E. coli*-Isolat vorliegende ESBL-Gen als *bla*_{CTX-M-15} typisiert werden.

Die Untersuchung der genetischen Umgebung des ESBL-Genes auf dem Plasmid (DHANJI et al 2011c, SALADIN et al 2002) zeigte eine intakte Insertionssequenz *ISEcp1* in der Region vor dem *bla*_{CTX-M-15}-Gen („upstream“) in der gleichen Orientierung wie das *bla*_{CTX-M-15}-Gen (Abbildung 15). Innerhalb des 3`nicht-kodierenden Bereiches des *ISEcp1*-Gens wurde die Promoter-Region (-10 TACAAT) (-35 TTGAA) identifiziert. Basierend auf der Sequenzanalyse der Regionen vor und nach dem *bla*_{CTX-M-15}-Gen wurde die Umgebung des detektierten Genes nach Dhanji et al (2011c) dem „environment type 2a“ zugeordnet (siehe Abbildung 15).

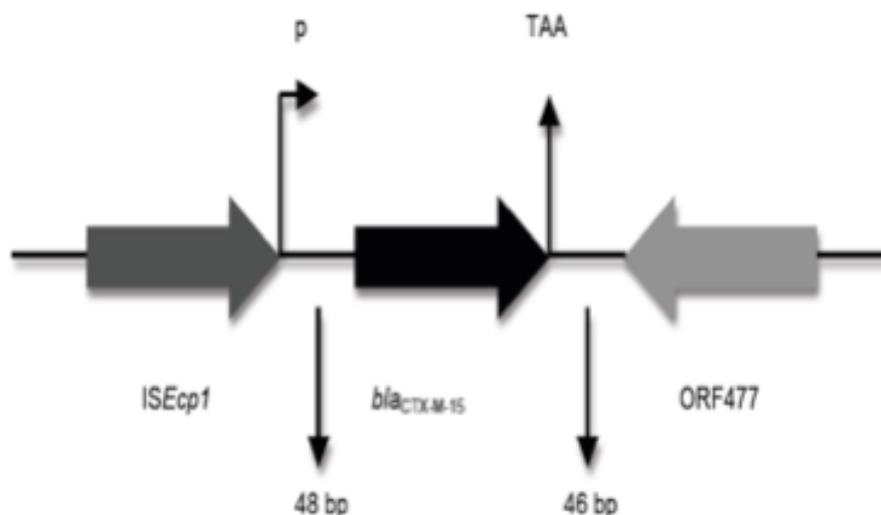


Abbildung 15: Schema des nach Dhanji et al (2011c) vorliegenden „genetic environment type 2a“ (p: promoter; TAA: stop codon).

Die PCR zur Erfassung der phylogenetischen Gruppe des ESBL-produzierenden *E. coli* (CLERMONT et al 2000, HIGGINS et al 2007, GORDON et al 2008) ergab basierend auf dem Vorliegen oder Fehlen der Gene *chuA*, *yjaA* oder TSPE4.C2 die Zugehörigkeit zu Gruppe B1, da nur TSPE4.C2 detektiert wurde. (Abbildung 16).

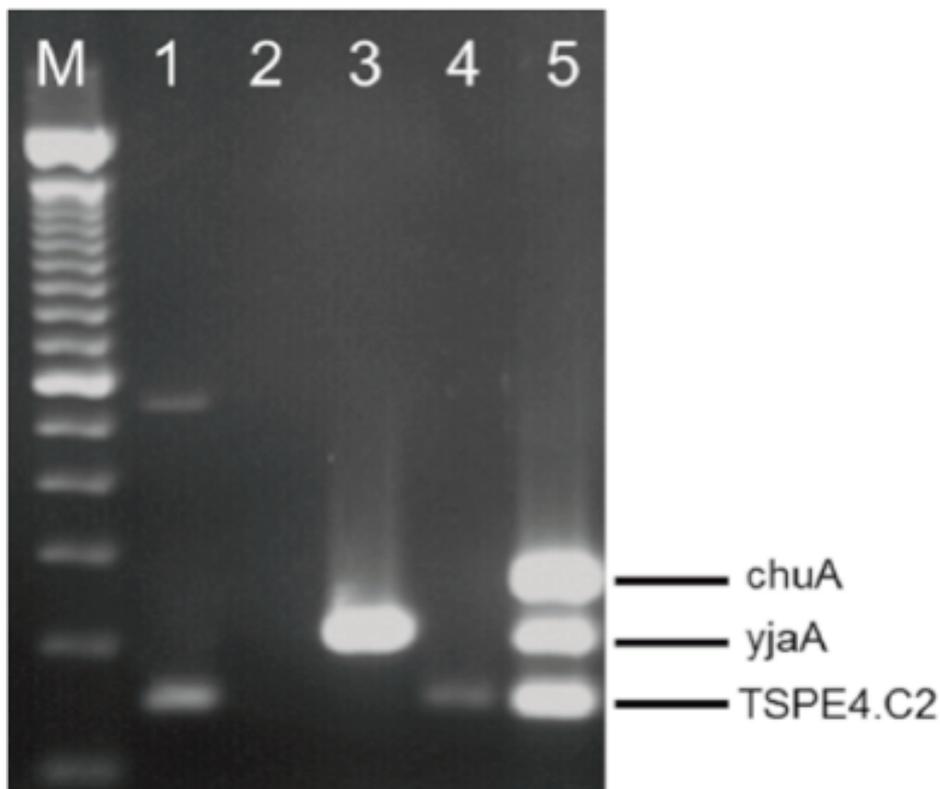


Abbildung 16: Gelelektrophorese mit Darstellung der PCR-Produkte (CLERMONT et al 2000, HIGGINS et al 2007, GORDON et al 2008) zur Ermittlung der phylogenetischen Gruppe des *E. coli*-Isolates # 25104 (M: 100 bp Marker; 1: *E. coli* isolate # 25104; 2: *E. coli* ref. 0516 (Gruppe A); 3: *E. coli* ref. H 042680216 (Gruppe A); 4: *E. coli* ref. 42032 (Gruppe B1); 5: *E. coli* DSM22664 (Gruppe B2)).

Die serologische Untersuchung des vorliegenden ESBL-*E. coli* durch das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR, Berlin, Deutschland) ergab das Vorliegen eines Serotyp O8. Ein H-Antigentyp konnte serologisch nicht bestimmt werden.

Virulenzfaktoren wie Shigatoxin (Stx1, Stx2), Hämolysin (*e-hly*) und Intimin (*eae*, *nleB*) wurden am BfR bei diesem *E. coli*-Isolat nicht nachgewiesen.

Die PCR und Sequenzierung zur Erfassung des für die H-Antigene codierenden Genes nach Fields et al (1997) ergab ein 1665 bp umfassendes Fragment des *fliC*-Genes. Bei

der BLAST-Analyse zeigte sich eine 98 %-ige Übereinstimmung auf Nukleinsäureebene zu einer bereits bekannten H23-Sequenz (Accession number AY250005). Vergleiche der Aminosäuresequenz ergaben eine 99 %-ige Übereinstimmung zu Serotyp H23, zu anderen H-Antigentypen konnte lediglich eine Übereinstimmung von unter 70 % gefunden werden.

5. DISKUSSION

5.1. Auswahl der einbezogenen Wildvogelgruppen

In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, ob und welche Antibiotikaresistenzen bei *E. coli*-Isolaten aus in Südbayern aufgefundenen, verletzten oder erkrankten Wildvögeln vorhanden sind. Ein besonderer Fokus wurde dabei auf das Vorkommen von Extended-Spectrum Beta-Lactamasen (ESBL) gelegt. ESBL-bildende Bakterien, die oft in gram-negativen Enterobacteriaceae wie *E. coli* und *Klebsiella pneumoniae* vorkommen (RKI 2007), sind annähernd weltweit verbreitet und durch das Vorliegen einer Resistenz gegen Cephalosporine der 3. und 4. Generation, sowie oft weiterer (multipler) Resistenzen schwer zu bekämpfen (CANTON et al 2008, COQUE et al 2008). Sowohl gesetzliche Regelungen als auch Strategien bezüglich der Anwendung von Medikamenten und bei Auftreten von Resistenzen gegen Medikamente unterscheiden sich weltweit, das Problem der Antibiotikaresistenzen existiert aber länderübergreifend und insbesondere mit Nutztieren wird weltweit gehandelt, so dass sich resistente Bakterien auch grenzüberschreitend ausbreiten (MØLLER AARESTRUP 1999).

ESBL-bildende Bakterien kommen bei Menschen und Tieren vor (EWERS et al 2012, MESA et al 2006), und sie könnten sowohl über Kontakt, als auch über kontaminierte Lebensmittel zwischen Menschen und Tieren übertragen werden (CARATOLI 2008, BfR 2011a, BfR 2011b). In diesem Sinne kann es sich bei einer Infektion mit ESBL-bildenden *E. coli* also auch um eine Zoonose handeln. ESBL-*E. coli* wurden auch in Deutschland bereits aus Wildvögeln isoliert (GUENTHER et al 2010b, GUENTHER et al 2012b), und die Vermutung liegt nahe, dass Wildvögel, die durch Krankheiten oder Unfälle in nahen Kontakt zu Menschen kommen, ein besonderes Risiko darstellen.

Vor dem Hintergrund der aktuellen Diskussion über Antibiotikaresistenzen bei Mensch und Tier und der daraus entstandenen Debatte über den Antibiotikaeinsatz bei Tieren, insbesondere bei Nutztieren, bestand ein Ziel der vorliegenden Arbeit darin, die aktuelle Antibiotikaresistenzsituation bei *E. coli* aus bayerischen Wildvögeln zu ermitteln. Kenntnisse über die am häufigsten vorkommenden Resistenzen erleichtern behandelnden Tierärzten in Notfallsituationen, also vor Vorliegen eines Antibiogrammes, die Entscheidung über die Wahl eines geeigneten Antibiotikums.

Ein weiteres Ziel war die Prävalenz ESBL-bildender *E. coli* in verschiedenen in Südbayern häufig anzutreffenden Wildvogelgruppen festzustellen, die durch Erkrankungen in engen Kontakt zu Menschen und anderen Tieren kommen, um ein eventuelles Risiko für andere (Vogel-) Patienten, medizinisches Personal und Privatpersonen abschätzen zu können.

Alle in dieser Arbeit einbezogenen Wildvögel wurden zwischen Mai 2012 und Mai 2013 mit unterschiedlichen Krankheitssymptomen in die Klinik für Vögel, Reptilien, Amphibien und Zierfische der LMU gebracht. Die einliefernden Personen waren teilweise Privatpersonen, häufig in Begleitung von Kindern, teilweise Mitarbeiter/innen von Tierhilfeorganisationen wie der Münchner Tierrettung oder öffentlicher Institutionen wie der Feuerwehr und Polizei, denen die verletzten oder pflegebedürftigen Vögel übergeben worden waren. In der vorliegenden Studie wurden die Daten der eingelieferten Vögel nicht nach den jeweiligen Überbringern ausgewertet, jedoch kann ein Verteilungsmuster der Personengruppen für Wildvogel-Einlieferungen in die Klinik für Vögel, Reptilien, Amphibien und Zierfische basierend auf einer Studie von Bergs (2009) aus dem Jahr 2006/2007 vermutet werden. Dort wurden 60 % der Wildvögel von Privatpersonen, 21 % von Feuerwehr, 10 % von Tierrettung sowie insgesamt 4 % von Polizei, Tierheim, Tierkliniken und Veterinärämtern eingeliefert. 5 % der Einlieferer wurden nicht erfasst (BERGS 2009).

Die einbezogenen Vogelarten wurden in der vorliegenden Untersuchung so gewählt, dass sie im Patientengut der Klinik in der Vergangenheit in ausreichender Zahl vorhanden waren. Entscheidend für die Auswahl war allerdings auch, dass sowohl Spezies mit nahem Kontakt zu Menschen und deren Lebensraum, wie die Münchner Stadttauben (*Columba livia f. domestica*), als auch Spezies mit wenig bis keinem Kontakt zu menschlichen Siedlungen, wie z. B. die Mäusebussarde (*Buteo buteo*) aus dem Münchner Umland enthalten waren.

Die beprobten Spezies wurden für die Auswertung in fünf verschiedene Gruppen eingeteilt, und zwar nach Gemeinsamkeiten in ihrem Habitat, ihrer Ernährung und damit auch in dem Kontakt zu Menschen bzw. dem Kontakt zu menschlicher Nahrung. Im Folgenden werden die einzelnen Spezies bzw. Speziesgruppen näher beschrieben.

Amseln (*Turdus merula*)

Die Amsel (*Turdus merula*) ist ein sehr häufiger Brut- und Jahresvogel mit einem Mindestbestand von 6300000 Brutpaaren in Deutschland. Die Ernährungsweise ist omnivor, wobei hauptsächlich Regenwürmer, aber auch Beeren und Früchte gefressen werden (BRENDDEL 1998). Allerdings lernen in den Städten lebende Vögel auch, menschliche Speisen zu verzehren und füttern ihre Jungen z. B. mit Brot oder gekochten Kartoffeln (WÜST 1986). Der Lebensraum der Amsel war ursprünglich in dichten, unterholzreichen Wäldern zu finden. In den letzten Jahren ist eine Verstädterung der Vögel festzustellen. Die Amseln halten sich in Parks und Gärten der Städte auf und brüten häufig an Gebäuden (BRENDDEL 1998).

Verwilderte Haustauben (*Columba livia forma domestica*) und Türkentauben (*Streptopelia decaocto*)

Die auch als Stadtauben oder Straßentauben bezeichneten verwilderten Haustauben (*Columba livia forma domestica*), die ursprünglich von der Felsentaube abstammen, sind Standvögel und Gebäudebrüter, deren zahlenmäßige Zunahme in den Städten hauptsächlich durch das teilweise exzessive Füttern der Tiere durch Menschen verursacht wurde (WÜST 1986, HAAG-WACKERNAGEL 1997). Im Stadtbereich fördern der leichte Zugang zu ausreichend Futter, warmes Klima und viele Nistmöglichkeiten eine ganzjährige Reproduktion, die bei Stadtauben aus bis zu sieben Bruten im Jahr bestehen kann (KÖSTERS & KORBEL 1997). Die Straßentaube ist also ein sehr häufiger Kulturfolger, insbesondere in den Großstädten, deshalb wurde nach zunehmender Verschmutzung der Gebäude in vielen Städten das Füttern der Tiere verboten. Die Nahrung der Tauben besteht u. a. aus verschiedenen Samen, Getreide, Brot und Abfällen (SINGER 2006). Wie viele Tauben heute die großen Städte bewohnen, ist unbekannt (WÜST 1986). In der Klinik für Vögel gehörten sie in den Jahren 2006 und 2007 zu den am häufigsten eingelieferten Vogelspezies (BERGS 2009).

Verwilderte Haustauben können auch verschiedene Krankheitserreger beherbergen. In einem Review beschreiben Haag-Wackernagel & Moch (2004) 60 verschiedene human-pathogene Erreger bei Straßentauben, darunter neun verschiedene Bakterienarten. Insbesondere Risikogruppen (Kinder, sowie ältere oder

immunsupprimierte Menschen) können durch Zoonoseerreger (z. B. Salmonellen) oder durch Allergene im Federstaub und Kot erkranken (KÖSTERS & KORBEL 1997).

Türkentauben (*Streptopelia decaocto*) wurden nur sehr wenige, insgesamt drei, im Untersuchungszeitraum in die Klinik eingeliefert. Sie wurden in diese Gruppe mit einbezogen, da inzwischen auch Türkentauben ganzjährig in den Städten, insbesondere in Städten mit günstigem Nahrungsangebot, leben. Türkentauben ernähren sich von Samen und Früchten, aber auch von Brot (SINGER 2006).

Falkenvögel (*Falco tinnunculus*, *Falco peregrinus*)

In diese Arbeit wurden hauptsächlich Turmfalken (*Falco tinnunculus*) (28) und lediglich vereinzelt Wanderfalken (*Falco peregrinus*) (5) einbezogen, da letztere in dem Jahr der Untersuchung weniger häufig als Patienten eingeliefert wurden.

Mit einem geschätzten Bestand von 22000 Brutpaaren in Deutschland sind Turmfalken (*Falco tinnunculus*) häufige Brutvögel der Alpen (BRENDDEL 1998), besiedeln aber auch Dörfer und Städte (WÜST 1982). Turmfalken brüten an Felswänden, Bäumen und Gebäuden (BRENDDEL 1998). Sie sind sehr anpassungsfähig, wenn ihnen genügend freie Fläche zur Jagd zur Verfügung steht. So brüten die Turmfalken in den Städten gern an hochragenden Bauten wie Kirchtürmen und Hochhäusern, und jagen einige Kilometer weiter (WÜST 1982). Turmfalken ernähren sich carnivor, die Nahrung besteht überwiegend (90 %) aus Mäusen (BRENDDEL 1998).

Wanderfalken (*Falco peregrinus*) sind eher seltene Brutvögel in den Alpen (BRENDDEL 1998). Die Ernährung besteht aus anderen Vögeln, v. a. aus Tauben, Raben- und Singvögeln. Umweltgifte wurden dafür verantwortlich gemacht, dass der Wanderfalkenbestand in Europa stark zurückgegangen ist und er erholt sich erst in den letzten Jahren wieder (SINGER 2006).

Sonstige Greifvögel und Eulen (*Accipiter nisus*, *Buteo buteo*, *Pernis apivorus*, *Circus aeruginosus*, *Accipiter gentilis*, *Strix aluco*, *Athene noctua*, *Asio otus*, *Tyto alba*)

Greifvögel und Eulen, die weiteren Arten zuzuordnen waren, wurden in eine getrennte Speziesgruppe eingeordnet, da die Ernährungsweise vergleichbar ist. Alle hier beprobten Greif- und Eulenvögel ernähren sich zumindest teilweise von Kleinsäugetieren wie z. B. Mäusen oder erbeuten Vögel (SINGER 2006). In dieser Arbeit umfasste diese Gruppe hauptsächlich Mäusebussarde (*Buteo buteo*), in geringerer Zahl Sperber (*Accipiter nisus*) und Waldkauz (*Strix aluco*). Weitere Greif- und Eulenvögel wie Habicht (*Accipiter gentilis*), Wespenbussard (*Pernis apivorus*), Rohrweihe (*Circus aeruginosus*), Waldohreule (*Asio otus*), Steinkauz (*Athene noctua*) und Schleiereule (*Tyto alba*) wurden im Untersuchungszeitraum nur vereinzelt in die Klinik für Vögel, Reptilien, Amphibien und Zierfische eingeliefert.

Der Mäusebussard (*Buteo buteo*) ist in Deutschland mit einem Mindestbestand von 140000 Brutpaaren vertreten. Er benötigt Wald als Brutplatz und brütet in größeren, geschlossenen Baumbeständen, bevorzugt am Waldrand. Da die Ernährung des carnivoren Mäusebussards überwiegend aus Feldmäusen besteht, braucht er zur Jagd offenes Gebiet mit geringem Pflanzenwuchs und einer ausreichend großen Nagerpopulation (BRENDDEL 1998). Der Mäusebussard jagt auf Feldern, Wiesen, Teichlandschaften und Lichtungen, sucht aber auch stark befahrene Straßen und Autobahnen nach Beutetieren ab (WÜST 1982).

Der Sperber (*Accipiter nisus*) ist nach den Turmfalken und Mäusebussarden der zahlreichste Greifvogel in Bayern. Als Lebensraum bevorzugt er Landschaften mit Wald, halboffenem und offenem Gelände im Wechsel. Im Winter jagt er regelmäßig in den Städten. Für München und einige andere Städte sind auch Brutplätze innerhalb der Stadt nachgewiesen. Die Nahrung des Sperbers besteht hauptsächlich aus kleinen Singvögeln, aber auch Haus- und Ringeltauben werden erbeutet (WÜST 1982).

Der Waldkauz (*Strix aluco*) brütet in Laub- und Mischwäldern, die an offenes Gelände oder Gewässer angrenzen, aber auch in Parks oder Friedhöfen. Die Nistplätze befinden sich meist in Baumhöhlen. Die Nahrung ist vielseitig. Es werden Kleinsäugetiere, hauptsächlich verschiedene Mäuse, aber auch Vögel, Amphibien, Fische und Insekten gefressen (SINGER 2006).

Vertreter der weiteren oben genannten Greif- und Eulenvogelarten wurden im Untersuchungszeitraum Mai 2012 bis Mai 2013 nur vereinzelt (ein bis vier Vögel/Spezies) in die Klinik für Vögel, Reptilien, Amphibien und Zierfische der LMU eingeliefert. Von 66 beprobten Greifvögeln und Eulen konnten 54 den drei aufgeführten Spezies Mäusebussard, Sperber und Waldkauz zugeordnet werden. Die übrigen verteilten sich in geringen Zahlen auf die oben genannten und werden daher hier nicht im Einzelnen beschrieben. Sie ernähren sich zumindest gelegentlich von Kleinsäugetern, hauptsächlich Mäusen oder erbeuten andere Vögel (SINGER 2006). Eine vollständige Auflistung der beprobten Spezies findet sich in Tabelle 5.

Wasservögel (*Cygnus olor*, *Anas platyrhynchos*, *Fulica atra*, *Anser anser*, *Aythya fuligula*, *Gallinula chloropus*, *Tachybaptus ruficollis*, *Branta canadensis*)

In dieser Arbeit wurden hauptsächlich Höckerschwan (*Cygnus olor*), Stockente (*Anas platyrhynchos*) und Blesshuhn (*Fulica atra*) beprobt. Einzelne Proben stammten von Graugans (*Anser anser*), Reiherente (*Aythya fuligula*), Teichhuhn (*Gallinula chloropus*), Zwergtaucher (*Tachybaptus ruficollis*) und Kanadagans (*Branta canadensis*). Einer der 46 Wasservögel, eine Ente, konnte keiner definitiven Spezies zugeordnet werden.

Der Höckerschwan (*Cygnus olor*) ist ein ursprünglich aus Südamerika und Afrika stammender Vogel, der beispielsweise in München im Nymphenburger Park und am Kleinhesseloher See seit Jahrhunderten von Menschen gehalten wurde und, da er nicht immer flugunfähig gemacht wurde, verwilderte und sich vermehrte. Schwäne nisten an Gewässerrändern, Stadtschwäne auch in einiger Entfernung vom Wasser. Der Aufenthaltsort nichtbrütender Schwäne richtet sich nach dem Nahrungsangebot. Die Ernährung besteht aus verschiedenen Algen und Pflanzen (WÜST 1982). Schwäne fressen verschiedene Wasser- und Sumpfpflanzen, aber auch Gras und junge Saatzpflanzen (SINGER 2006). Im Winter ernähren sich die in der Stadt lebenden Schwäne hauptsächlich von dem Futter, das sie von Menschen erhalten (WÜST 1982).

Die Stockente, auch Wildente (*Anas platyrhynchos*) bezeichnet, ist als Brut- und Jahresvogel in Bayern weit verbreitet. Ringfunde zeigten, dass bayerische Enten oft in Südfrankreich überwintern, während die hier im Winter lebenden Tiere meistens aus der Umgebung der Ostsee stammen und in Bayern überwintern. Stockenten brüten meist an Gewässern, vereinzelt aber auch im Wald und auf Wiesen. Die Nester

befinden sich am Boden, seltener auf Bäumen. Infolge einer hohen Lern- und Anpassungsfähigkeit nistet die Stockente auch mitten in Großstädten und lässt sich von Menschen füttern (WÜST 1982). Die Nahrung der Stockenten, die zu den Gründelenten gezählt werden, ist vielseitig, es werden Wasserpflanzen, Samen, Schnecken und Würmer ebenso wie verschiedene Insekten und Brot gefressen (SINGER 2006).

Das Blesshuhn (*Fulica atra*), von dem das in dieser Arbeit nachgewiesene ESBL-bildende *E. coli*-Isolat stammt, ist ein mäßig häufiger Stand-, Strich- und Zugvogel, der im Winter häufig in Südbayern anzutreffen ist. Blesshühner nisten normalerweise an stehenden oder langsam fließenden Gewässern mit vegetationsreichen Ufern. Die Ernährung besteht aus Muscheln (*Dreissena polymorpha*), außerhalb der Brutzeit auch aus Pflanzen von Wiesen und Feldern. Blesshühner sind sehr lern- und anpassungsfähig, sie erbeuten auch Möweneier oder fressen von Menschen verfüttertes Brot und andere Lebensmittel (WÜST 1982).

Die weiteren oben genannten Vogelarten wurden im Untersuchungszeitraum Mai 2012 bis Mai 2013 nur in sehr geringer Zahl (ein bis fünf Vögel/Spezies) eingeliefert und werden deshalb hier nicht einzeln aufgeführt. Alle in dieser Gruppe beprobten Vögel leben im Wasser oder in Gewässernähe und ernähren sich hauptsächlich von pflanzlicher Nahrung wie Gräsern, Samen und Früchten. Zusätzlich werden zumindest gelegentlich Würmer, Schnecken und Muscheln gefressen (SINGER 2006). Eine Auflistung aller beprobten Spezies findet sich in Tabelle 5.

5.2. Methodik

Alle in diese Arbeit einbezogenen Wildvögel wurden sofort nach ihrem Eintreffen in der Klinik beprobt. Ausschlusskriterien für die Probennahme waren ein längerer Aufenthalt bei den Findern oder in der Klinik, insbesondere, wenn der Vogel dort schon gefüttert worden war, sowie vorherige Antibiotikabehandlung. Es sollte dadurch sichergestellt werden, dass mittels Kloakentupfer nur Keime isoliert wurden, die beim Vogel schon in Freiheit vorhanden waren, jedoch keine, mit denen die Vögel erst in menschlicher Obhut oder in der Klinik in Kontakt gekommen waren. Von jedem Wildvogel wurde eine Probe mit einem sterilen Tupfer direkt aus der Kloake entnommen. Wenn nach Anzucht auf EMB-Agarplatten, Subkultivierung und Bestätigung durch API 20 E aus diesem Tupfer *E. coli* isoliert werden konnte, wurde jeweils nur ein Isolat pro Vogel in Resistenztests weiter charakterisiert. Falls mehrere unterschiedliche *E. coli*-Klone in einem Wirt vorlagen, wurden sie mit diesem Vorgehen somit nicht erfasst.

Die in dieser Arbeit verwendeten Antibiotika Ampicillin (AMP), Amoxicillin-Clavulansäure (AMC), Cefprozid (CAZ), Piperacillin-Tazobactam (PIT), Doxycyclin (DOX), Enrofloxacin (ENR), Marbofloxacin (MAR) und Sulfamethoxazol-Trimethoprim (SXT) wurden ausgewählt, da sie verschiedene Antibiotika(gruppen) vertreten, die in der Tiermedizin häufig verwendet werden und/oder ein ESBL-Screening ermöglichen. Einige dieser Antibiotika, und zwar Enrofloxacin, Amoxicillin-Clavulansäure und Doxycyclin, werden aufgrund ihrer guten Wirksamkeit oder besonders langer Wirkdauer bei Zier- und Wildvögeln häufig verwendet. Zusätzlich beinhalteten diese acht Antibiotika sowohl die sogenannten „Reserveantibiotika“, Fluorchinolone (Enro- und Marbofloxacin) und Cephalosporine der 3. Generation (Cefprozid), als auch mehrere Penicilline, die zum ESBL-Screening eingesetzt wurden. Eine Zusammenfassung der verwendeten Wirkstoffkonzentrationen sowie der Hemmhof-Grenzwerte findet sich im Anhang, Tabelle A1.

Als Testverfahren zur Ermittlung von Resistenzen wurde in der vorliegenden Arbeit der Agar-Disk-Diffusions-Test eingesetzt. Dieser Test gilt als weniger sensibel als die Bouillon-Mikrodilutions-Methode, bei der die minimale Hemmkonzentration (MHK) ermittelt wird (KRONTHALER 2009). Der Blättchen-Diffusionstest wurde gewählt, da er manuell einfach durchzuführen ist, hinsichtlich der auf die Agarplatten aufgetragenen Bakterienmengen und Inkubationsbedingungen bei exakter Durchführung gut

reproduzierbar ist und für die Bestimmung von Antibiotikaresistenzen ebenfalls als Standardtest anerkannt ist. Zudem sollte in dieser Arbeit lediglich die aktuelle Resistenzsituation sowie eine mögliche ESBL-Bildung bei Wildvögeln detektiert werden, und eine Quantifizierung der Resistenz auch in Bezug auf eine Therapie einer eventuellen Infektion stand nicht im Vordergrund.

Für die Screeningtests auf ESBL-Bildung ist relevant, dass die Grenzwerte für die Durchmesser der Hemmhöfe für das in dieser Arbeit verwendete Cephalosporin Ceftazidim bis 2012 aus dem CLSI Dokument M31-A3 aus dem Jahr 2008 stammten. Die dort aufgeführten Grenzwerte für die Hemmhofdurchmesser für Cephalosporine betragen ≥ 18 mm (sensibel), 15-17 mm (intermediär) und ≤ 14 mm (resistent). Ab 2013 wurden die Grenzwerte der Hemmhofdurchmesser für Ceftazidim auf die im CLSI Dokument M100-S20 aus dem Jahr 2010 enthaltenen Werte von ≥ 21 mm (sensibel), 18-20 mm (intermediär) und ≤ 17 mm (resistent) umgestellt (CLSI 2010) und seit diesem Zeitpunkt auch für diese Arbeit verwendet. Die Grenzwerte für alle anderen verwendeten Antibiotika wurden nicht geändert und stammten weiter aus den oben genannten CLSI und DIN Dokumenten (CLSI 2006, CLSI 2008, DIN 2000).

Grundsätzlich wurden in der vorliegenden Untersuchung alle *E. coli*, die im Plattendiffusionstest gegenüber Ampicillin, Ceftazidim und den anderen verwendeten Penicillinen und Cephalosporinen als intermediär oder als resistent eingestuft wurden, einem phänotypischen Bestätigungstest (ESBL-Phenotypic-Confirmatory-Test) unterzogen (CLSI 2008). Die Möglichkeit, dass das Vorkommen von ESBL-*E. coli* von Mai bis Dezember 2012 unterschätzt wurde, besteht daher, wird aber als wenig wahrscheinlich eingestuft.

Der geringste Hemmhofdurchmesser der ab Januar 2013 getesteten Wildvögel betrug 23 mm für Ceftazidim (siehe Anhang: Tabelle A5), damit waren alle im Jahr 2013 untersuchten *E. coli* als sensibel einzustufen.

5.3. Antibiotikaresistenzen und ESBL bei *E. coli* aus Wildvögeln

Bei einer übergreifenden Betrachtung ohne Berücksichtigung der beteiligten Vogelspezies ist festzustellen, dass bei *E. coli* aus Wildvögeln häufig Antibiotikaresistenzen vorkamen. Dabei waren vor allem Resistenzen gegen drei Antibiotika oder gängige Kombinationspräparate, und zwar für Sulfamethoxazol-Trimethoprim, Ampicillin und Doxycyclin, weit verbreitet.

Die in dieser Studie detektierte Resistenzrate (ohne intermediäre Isolate) von *E. coli* aus in Südbayern aufgefundenen Wildvögeln betrug 17,1 %. Resistenz gegen mindestens ein Antibiotikum wurde also bei 33 von 193 *E. coli* festgestellt (in Tabelle 5 und Tabelle A2 im Anhang findet sich eine Übersicht über alle aufgefundenen resistenten und intermediären *E. coli*-Isolate). Am häufigsten wurden Resistenzen gegen Sulfamethoxazol-Trimethoprim (11,9 % der Isolate), Ampicillin (7,3 % der Isolate) und Doxycyclin (6,7 % der Isolate) festgestellt. Resistenzen gegen die anderen verwendeten Antibiotika, also Resistenzen gegen Amoxicillin-Clavulansäure, Enro- und Marbofloxacin, Piperacillin-Tazobactam und Ceftazidim kamen nur vereinzelt vor.

Die in der vorliegenden Arbeit detektierte generelle Resistenzrate von *E. coli* bei Wildvögeln entspricht exakt der Resistenzrate in einer kürzlich publizierten Studie, bei der 55 verschiedene Wildvogelspezies, und dabei insgesamt 226 kranke und gesunde Wildvögel, aus Deutschland, und zwar aus Hessen und Thüringen, einbezogen wurden (GUENTHER et al 2010a). Hier wurde ebenfalls eine *E. coli*-Resistenzrate von 17,1 % (32/187 Isolate) festgestellt. Resistenzen gegen Ampicillin wurden dort bei 15 (8,0 %) und gegen Tetracyclin bei 16 (8,6 %) der *E. coli*-Isolate detektiert. Allerdings sind die Ergebnisse beider Studien nicht völlig vergleichbar, da bei Guenther et al (2010a) die 187 Isolate zunächst nur gegen sechs Antibiotika, nämlich Ampicillin, Streptomycin, Spectinomycin, Chloramphenicol, Gentamycin und Tetracyclin, getestet wurden. Lediglich bei 15 selektierten Isolaten wurden noch weitere Antibiotika, insgesamt 30, getestet, und basierend auf diesen weiteren Untersuchungen wurden 9 der 15 Isolate als multiresistent bezeichnet. Die isolierten 187 *E. coli* stammten vor allem aus Kot, aber auch aus inneren Organen der Vögel. Bei Guenther et al (2010a) wurde zudem eine Vielzahl von Vogelarten, insgesamt 55 Spezies, und dabei von vielen Spezies nur ein Isolat, untersucht, die sich nicht in die in unserer Studie etablierten Gruppen einordnen lassen.

In der vorliegenden Arbeit wurde eine problematische Resistenzsituation vor allem für Sulfamethoxazol-Trimethoprim, Ampicillin und Doxycyclin ermittelt. Ähnliche Ergebnisse liegen auch für den Wirtschaftsgeflügelbereich vor. So wurden in Geflügelfleischproben aus bayerischen Schlachthöfen ebenfalls hohe *E. coli*-Resistenzraten für diese drei Antibiotika detektiert, allerdings lagen die dort detektierten Resistenzraten deutlich höher (43,2 % für Ampicillin; 36,6 % für Doxycyclin; 51,4 % für Sulfamethoxazol-Trimethoprim) (SCHWAIGER et al 2012). Generell scheint die Resistenzlage zumindest gegen Sulfonamide und Ampicillin auch im restlichen Nutztier- und im Pferdebereich problematisch zu sein. So wurden bei erkrankten Schweinen und Pferden aus Deutschland hohe Resistenzraten gegen Sulfamethoxazol (59 % bzw. 28 %), und Ampicillin (38 % bzw. 18 %) und zusätzlich auch gegen Tetracyclin (54 % bzw. 17 %) nachgewiesen (GROBBEL et al 2007). Ähnlich wie beim Wirtschaftsgeflügel lagen bei *E. coli* aus Schweinen und Pferden die Resistenzraten deutlich über denen aus Wildvögeln.

Penicilline und Tetracycline werden in Deutschland in der Nutztierhaltung relativ häufig eingesetzt (VAN RENNINGS et al 2013), dadurch könnten die hohen Resistenzraten gegen diese Wirkstoffe erklärt werden. Da jede Anwendung von Chemotherapeutika einen Selektionsdruck auf Bakterien ausübt, wird insbesondere die Resistenzentwicklung gegen häufig verwendete Antibiotika gefördert (KROKER et al 2002).

Dass Resistenzen gegen die gleichen Antibiotika auch bei *E. coli* aus Wildvögeln, bei denen eine Antibiotikabehandlung in der Vergangenheit praktisch auszuschließen war, vorkamen, wäre durch einen Transfer der Keime von Nutztieren oder Menschen auf Wildvögel erklärbar. Resistente Darmkeime wie *E. coli* könnten im Kot ausgeschieden werden, in die Umwelt gelangen und von Wildvögeln aufgenommen und weiterverbreitet werden. Viele Wildvögel, insbesondere Wasservögel und Tauben, leben in nahem Kontakt zu Menschen und ernähren sich teilweise von Lebensmitteln, auch tierischer Herkunft, und von Abfällen (WÜST 1986, WÜST 1982). So könnten resistente Keime ebenfalls auf Vögel übertragen werden.

Der Begriff „Multiresistenz“ bei Bakterien, also die Resistenz gegen verschiedene Antibiotika bzw. Antibiotikagruppen, wird in der Literatur nicht einheitlich verwendet. Durch das Vorkommen vielfältiger Resistenzgene und Resistenzenzyme wird

üblicherweise keine genetische, sondern eine phänotypische Klassifizierung vorgenommen. Je nach beschriebenem Erreger (z. B. ESBL-*E. coli*, MRSA) werden dieser Definition andere Antibiotika (Gruppen) zugrunde gelegt. Für in der Humanmedizin detektierte, klinisch relevante, „multiresistente, gram-negative Stäbchen“ wurden deshalb von der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) andere Begriffe vorgeschlagen. Relevant war hierbei nur die Resistenz gegen Antibiotika, die zur Therapie schwerer Infektionen bei Menschen eingesetzt werden, nämlich Acylureidopenicilline, Cephalosporine der 3. und 4. Generation, Carbapeneme und Fluorchinolone. Die KRINKO schlägt „3MRGN“ (multiresistente gram-negative Stäbchen mit Resistenz gegen 3 der 4 Antibiotikagruppen) und „4MRGN“ (multiresistente gram-negative Stäbchen mit Resistenz gegen 4 der 4 Antibiotikagruppen vor (RKI 2012, RKI 2011). Diese Einteilung ist allerdings für Untersuchungen tierpathogener Erreger nicht sinnvoll, da zwei dieser Antibiotikagruppen üblicherweise nicht bei Tieren eingesetzt werden.

Die meisten Autoren tiermedizinisch relevanter Studien verwenden den Begriff „Multiresistenz“ für bakterielle Resistenz gegenüber mindestens drei oder mehr verschiedenen Antibiotika, bzw. Antibiotikagruppen (GUENTHER et al 2010a, GUENTHER et al 2012a, EWERS et al 2010). Aus diesem Grund wird hier in dieser Studie der Begriff Multiresistenz für das Vorkommen einer *E. coli*-Resistenz gegen mindestens drei verschiedene Antibiotikagruppen verwendet. Als Gruppe werden dabei verschiedene Antibiotika der gleichen Wirkstoffklasse gesehen. In dieser Arbeit beispielsweise die beiden verwendeten Fluorchinolone Enro- und Marbofloxacin, ebenso wie die Penicillin-Beta-Lactamasenhemmer-Kombinationen (Piperacillin-Tazobactam und Amoxicillin-Clavulansäure) und die Cephalosporine (Ceftazidim und Cefotaxim).

Multiresistenzen wurden in der vorliegenden Studie bei sechs (3,1 %) der 193 *E. coli*-Isolate detektiert, wobei Enro- und Marbofloxacin sowie Ceftazidim und Cefotaxim jeweils als eine Antibiotikagruppe gezählt, also jeweilige Resistenzen nicht als Mehrfachresistenz bewertet wurden. Bei den Multiresistenzen war die Kombination von Ampicillin-, Doxycyclin- und Sulfonamidresistenz am häufigsten vertreten.

5.3.1. Antibiotikaresistenzen und ESBL bei *E. coli* aus Passeriformes

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigten eine *E. coli*-Resistenzrate von 13,6 % bei bayerischen Amseln (*Turdus merula*, n=39). Mehrfachresistenzen wurden nicht festgestellt. Obwohl davon auszugehen ist, dass in den Städten lebende Amseln zu Menschen und ihren Nahrungsmitteln einen engen Kontakt haben, eine Übertragung resistenter Bakterien aus dem Einflussbereich des Menschen auf Amseln also vermutet werden könnte, wurden in dieser Studie lediglich Resistenzen gegen Sulfamethoxazol-Trimethoprim, und zwar bei drei von 22 Isolaten, detektiert. Zusätzlich zeigten zwei *E. coli*-Isolate intermediäre Ergebnisse für Ampicillin.

Ähnlich niedrige Resistenzraten wurden auch in der Vergangenheit bei Amseln aus Deutschland detektiert, und zwar von 10 %, bei zwei von 20 *E. coli* aus 28 Amseln (GUENTHER et al 2010a). Auch wenn in beiden Studien relativ geringe Amselzahlen einbezogen waren, weist dies auf eine generell geringe Resistenzrate bei *E. coli* aus Amseln in Deutschland hin.

In unserer Arbeit wurden keine ESBL-bildenden *E. coli* bei Amseln festgestellt, während in einer früheren Untersuchung bei zwei Amseln aus Mitteldeutschland (Hessen) ESBL-bildende *E. coli* vom CTX-M-15-Typ detektiert wurden. Die beiden *E. coli* stammten aus der Untersuchung von 99 Sperlingsvögeln, 10 Wasservögeln und 63 Greifvögeln, die genaue Zahl der einbezogenen Amseln, bzw. der aus Amseln isolierten *E. coli* wurde nicht angegeben (GUENTHER et al 2010b). Beide ESBL-bildenden *E. coli* sowie zwei weitere in dieser Studie bei anderen Vogelspezies gefundene CTX-M-15-Bildner gehörten dem gleichen Multi-Locus-Sequenztyp, und zwar ST648, an. Zusätzlich zeigten sich in der Pulsfeld-Gelelektrophorese (PFGE) bei allen vier Isolaten identische Banden. Die Autoren deuteten dies als einen Hinweis auf eine klonale Verwandtschaft der vier *E. coli*-Isolate, obwohl diese von vier verschiedenen Vögeln stammen und die Proben an verschiedenen Lokalisationen gesammelt wurden (GUENTHER et al 2010b). Nachdem in der erstgenannten deutschen Studie (GUENTHER et al 2010a) mehrere phänotypisch positive ESBL-Bildner nicht weiter differenziert wurden und in der zweitgenannten Studie (GUENTHER et al 2010b) die beprobten Vogelspezies nicht exakt aufgeführt wurden, bleibt unklar, ob es sich in beiden Studien um das gleiche Probengut handelte.

5.3.2. Antibiotikaresistenzen und ESBL bei *E. coli* aus Columbiformes

Die in dieser Arbeit festgestellte Resistenzrate bei *E. coli* aus 73 einbezogenen Tauben (*Columba livia f. domestica*) betrug 19,2 % (10 von 52 *E. coli*). Die Tauben stammten im Wesentlichen aus dem Großraum München und zeigen hauptsächlich *E. coli*-Resistenzen gegen Sulfamethoxazol-Trimethoprim (13,5 %), Ampicillin (11,5 %) und Doxycyclin (9,6 %). Mehrfachresistenz gegen mindestens drei Antibiotikagruppen war bei 5,8 % (3/52) der *E. coli*-Isolate festzustellen. ESBL-bildende *E. coli* konnten nicht gefunden werden.

In einer früheren Studie aus Deutschland wurde bei *E. coli* aus Tauben eine Resistenzrate von 27,8 % (5/18) nachgewiesen, wobei hier ebenfalls häufig Resistenzen gegen Ampicillin (4/18) detektiert wurden (GUENTHER et al 2010a). Auch wenn die Zahl der einbezogenen Tauben in der Studie von Guenther et al (2010a) mit 18 Tieren relativ gering war, lag die *E. coli*-Resistenzrate mit 27,8 % in ähnlicher Höhe wie in der vorliegenden Untersuchung mit 19,2 % und damit deutlich höher als bei einer vergleichbaren Studie aus Brno (Tschechien), in der eine *E. coli*-Resistenzrate von lediglich 1,5 % (3/203) bei Stadtauben nachgewiesen wurde (RADIMERSKY et al 2010). Über Ursachen kann lediglich spekuliert werden. Nach Angaben des ECDC-Reports 2012 entsprach in Tschechien die Prozentrate der gegen Cephalosporine der 3. Generation resistenten *E. coli* aus humanen, klinisch relevanten Isolaten 11,5 %, diese Resistenzrate lag in Deutschland bei 8,8 %. Die Prozentrate der gegen Aminopenicilline resistenten *E. coli* lag bei 56,8 % in Tschechien und bei 49,6 % in Deutschland. Die in Tschechien detektierten Resistenzraten lagen also nur geringfügig über den in Deutschland detektierten (ECDC 2013).

Aktuelle Studien aus Tschechien bei Wildvögeln fokussieren meist auf dem Nachweis ESBL-bildender Bakterien durch selektive Kultivierung der Proben, deshalb ist die generelle Resistenzrate bei *E. coli* daraus nicht ableitbar. In einer Studie bei Wasservögeln wurden 10 ESBL-bildende *E. coli* bei acht von 499 Kotproben von großen Kormoranen (349 Proben aus Tschechien, 150 aus der Slowakei) gefunden (TAUSOVA et al 2012). Auch in Abwasserproben aus Brno (Tschechien) wurden 68 ESBL-produzierende Enterobacteriaceae aus 45 Wasserproben nachgewiesen (DOLEJSKA et al 2012). Diese Nachweise lassen vermuten, dass eine Belastung der Umwelt durch (multi)resistente Bakterien in Tschechien durchaus angenommen

werden muss. Ob die untersuchte Zahl an Proben aus Tauben in den deutschen Studien (18 bei GUENTHER et al 2010a, 73 in dieser Arbeit) für ein repräsentatives Ergebnis zu gering war, oder ob die beprobten Straßentauben in Tschechien weniger von Menschen angebotenes Futter fressen und dadurch weniger resistente Bakterien aufnehmen, bleibt unklar. Insbesondere bei Tauben sollten deshalb weitere Studien durchgeführt werden.

In dieser Arbeit konnte kein ESBL-bildendes *E. coli*-Isolat bei Tauben gefunden werden, während in einer früheren Studie bei einer Felsentaube (*Columba livia*) aus der Stadt Gießen in Hessen (Deutschland) ein ESBL-bildendes *E. coli*-Isolat vom Typ CTX-M-15 in einer Organtupferprobe aus dem Herzen nachgewiesen wurde. Die Anzahl der untersuchten Tauben beziehungsweise die Anzahl der aus Tauben isolierten *E. coli* wurde dabei aber nicht angegeben (GUENTHER et al 2010b). Nachweise ESBL-bildender *E. coli* bei Tauben aus anderen Ländern liegen bisher nicht vor.

5.3.3. Antibiotikaresistenzen und ESBL bei *E. coli* aus Falconiformes, Accipitriformes und Strigiformes

Die höchsten in dieser Arbeit detektierten Antibiotikaresistenzraten stammten von *E. coli*, die aus 33 Falkenvögeln isoliert wurden. Bei den Vögeln, die in Südbayern aufgefunden worden waren, handelte es sich hauptsächlich um Turmfalken (*Falco tinnunculus*, n=28). Von den 25 *E. coli*-Isolaten, die aus den 33 Falken gewonnen werden konnten, waren nur 60 % als sensibel gegenüber allen acht getesteten Antibiotika einzustufen. Antibiotikaresistente *E. coli*-Isolate wurden bei 28 % der Isolate (7/25) gefunden. Zusätzlich zeigten 12 % (3/25) intermediäre Ergebnisse. Die häufigste Resistenz war gegen Doxycyclin (20 %) festzustellen, gefolgt von Sulfamethoxazol-Trimethoprim (16 %).

Dieses Ergebnis der hohen Nachweisrate von Doxycyclin-resistenten *E. coli* ist insbesondere für die tägliche tierärztliche Praxis von großer Relevanz, da Doxycyclin aufgrund seiner langen Wirkungsdauer oft zur Behandlung antibakterieller Erkrankungen bei schwer zu handhabenden Wildvögeln eingesetzt wird. Der Wirkstoff muss bei Vögeln nur alle sieben Tage injiziert werden und reduziert so die Stressbelastung der Wildvögel, da sie für die Antibiotikaapplikation nicht täglich, sondern nur einmal pro Woche eingefangen werden müssen.

Im deutlichen Gegensatz zur in dieser Studie ermittelten höchsten Resistenzrate der *E. coli* aus Falken steht die niedrigste Resistenzrate von 7,3 % (4/55 *E. coli*), die bei den restlichen Greif- und Eulenvögeln festgestellt wurde (31 Mäusebussarde, 14 Sperber, 15 Eulen und Kauze, 6 andere tagaktive Greifvögel), die genaue Artenzusammensetzung ist in Tabelle 5 dargestellt. 78,2 % der *E. coli* Isolate waren voll sensibel, 14,5 % zeigten intermediäre Ergebnisse, wobei hier hauptsächlich eine verminderte Sensibilität gegen Ampicillin vorlag. ESBL-bildende *E. coli* wurden in beiden Gruppen nicht gefunden.

Publikationen zu Antibiotikaresistenzen bei *E. coli* aus Falken, insbesondere aus Turmfalken, liegen bislang nicht vor, so dass keine vergleichenden Beurteilungen und Einstufungen der vorliegenden Ergebnisse möglich sind. Bei *E. coli* aus Bussarden in Portugal wurden sehr hohe *E. coli*-Resistenzraten gefunden. Insbesondere die Resistenzen gegen Ampicillin (61,1 %; 22/36) und Tetracyclin (75 %; 27/36) waren

annähernd zehnmal höher als die in dieser Arbeit detektierten Resistenzraten (RADHOUANI et al 2012).

Bemerkenswert, aber derzeit nicht abschließend zu klären sind die deutlichen Resistenzunterschiede zwischen den *E. coli* aus einbezogenen Falken einerseits und den restlichen Greifvögeln und Eulen andererseits, die in der vorliegenden Untersuchung festgestellt wurden. Über mögliche Ursachen kann nur spekuliert werden. Vergleicht man insbesondere die Resistenzrate bei Turmfalken (28,6 % von 21 *E. coli*-Isolaten) und Mäusebussarden (7,1 % von 28 *E. coli*-Isolaten), werden die Unterschiede besonders deutlich. Zufallseffekte sind bei dem gegebenen Stichprobenumfang natürlich nicht sicher auszuschließen, vor allem, da unbekannt ist, wie stark die erfassten Merkmale in einer Population oder über die Zeit variieren. Beide Greifvogelarten haben ähnliche Futtergewohnheiten (BRENDDEL 1998), zeigen aber Unterschiede im Lebensraum und den Brutgewohnheiten. Turmfalken leben und brüten im Vergleich zu Mäusebussarden häufiger in Städten und halten sich näher an menschlichen Siedlungen auf (BRENDDEL 1998, WÜST 1982). Dass Greifvögel multiresistente Bakterien über ihre Beute aufnehmen können, wurde bereits vermutet (MARROW et al 2009). Zudem ist belegt, dass kleine Säugetiere, die in der Nähe zu landwirtschaftlichen Nutztieren lebten, deutlich höhere Resistenzraten aufweisen als jene, die in unbewohnten Gegenden lebten (KOZAK et al 2009). Gegen einen Einfluss der Nähe des Lebensraumes zu menschlichen Siedlungen sprechen aber Ergebnisse von Untersuchungen mit Möwen (BONNEDAHL et al 2009) und Greifvögeln (GUENTHER et al 2012b), bei denen sich die Antibiotikaresistenzmuster bzw. die ESBL-Prävalenzen in entsprechend unterschiedlichen Populationen nicht wesentlich unterschieden.

Zum Vorkommen von ESBL-bildenden *E. coli* bei Greifvögeln wurden bisher sehr unterschiedliche Ergebnisse dokumentiert. So wurden in 26,9 % von 119 Kotproben, die von einer ganzen Reihe unterschiedlicher Greifvogelarten in einer Auffangstation in einem Naturschutzgebiet in Portugal stammten, ESBL-*E. coli* nachgewiesen, vor allem mit *bla*_{CTX-M-1}-Genen, aber auch Genen des Typs *bla*_{TEM-1}, *bla*_{TEM-20} und *bla*_{SHV-5}, (PINTO et al 2010). Das Vorkommen von ESBL-*E. coli* scheint aber auch stark zu variieren. So wurden in einer Auffangstation ebenfalls in Portugal, aber in einem anderen Naturschutzgebiet, zunächst in fünf von 33 Kotproben (15,2 %) von Bussarden (*Buteo buteo*), die Ende 2007 bis Anfang 2008 gesammelt worden waren, ESBL-bildende *E.*

coli nachgewiesen (RADHOUANI et al 2010). In einer weiteren Untersuchung am gleichen Standort im gleichen Zeitraum, aber mit Beprobung offensichtlich anderer Bussarde, und zwar 42 Vögel, von denen 37 *E. coli*-Isolate gewonnen werden konnten, wurden keine ESBL-Bildner nachgewiesen (RADHOUANI et al 2012).

In einer Studie von Guenther et al (2012b) wurden bei juvenilen Greifvögeln in Sachsen-Anhalt (Deutschland) ESBL-bildende *E. coli* vom CTX-M-1-Typ in einer Prävalenz von 13,8 % nachgewiesen (GUENTHER 2012b). Diese werden in Deutschland hauptsächlich bei Nutztieren (BÜCHTER 2010, SCHINK et al 2013) und insbesondere in Geflügelprodukten gefunden (KOLA et al 2012). Dies lässt den Eintrag dieser multiresistenten Bakterien in die Wildvogelpopulation durch die Nutztierhaltung vermuten.

5.3.4. Antibiotikaresistenzen und ESBL bei *E. coli* aus Anseriformes und Gruiformes

Aus den 46 in dieser Arbeit untersuchten Wasservögeln unterschiedlicher Spezies, die genaue artliche Zusammensetzung ist in Tabelle 5 dargestellt, wurden 39 *E. coli* isoliert. Bei der Untersuchung auf Resistenzen gegen Antibiotika ergaben sich generell hohe Resistenzraten und ein relativ häufiges Vorkommen von Mehrfachresistenzen.

So wurden Antibiotikaresistenzen bei 23,1 % (9/39) der *E. coli*-Isolate festgestellt, drei weitere *E. coli*-Isolate (7,7 %) zeigten intermediäre Ergebnisse. Bei Wassergeflügel waren Resistenzen gegen Sulfamethoxazol-Trimethoprim am häufigsten (15,4 %; 6/39), gefolgt von Ampicillin und Enro-/Marbofloxacin (jeweils 10,3 %; 4/39). Insbesondere die Resistenz gegen Enro- und Marbofloxacin (nur in Kombination festgestellt), wurde in keiner der anderen Vogelgruppen detektiert. Fluorchinolone gelten wie die Cephalosporine der 3. und 4. Generation in der Humanmedizin als Reserveantibiotika.

Bei je einem *E. coli*-Isolat aus Wasservögeln wurden Multiresistenzen gegen sechs (AMP, AMC, DOX, ENR/MAR, SXT) und sieben (AMP, DOX, ENR/MAR, SXT, CTX/CAZ) Antibiotika festgestellt. Zusätzlich wurde das zweitgenannte Isolat, das gegen sieben Antibiotika phänotypische Resistenz zeigte, genotypisch als ESBL-bildendes *E. coli*-Isolat vom Typ CTX-M-15 determiniert. Dieses multiresistente *E. coli*-Isolat stammte von einem adulten Blesshuhn (*Fulica atra*) mit Flügelfraktur.

Bei *E. coli* aus Wassergeflügel wurden auch in anderen Untersuchungen hohe Antibiotikaresistenzraten dokumentiert (LITERAK et al 2010b, COLE et al 2005). Bei Möwen, für die bislang relativ viele Untersuchungen publiziert wurden, zeigten *E. coli* mit Raten von 24,8 % für Ampicillin (38/153) und 38,6 % für Tetracyclin (59/153) extrem hohe Resistenzwerte (BONNEDAHL et al 2009). Bemerkenswerterweise unterschieden sich die Resistenzen kaum zwischen Möwen in verschiedenen Lebensräumen, also in einem Bereich in der Nähe menschlicher Siedlungen mit menschlichen Abfällen im Vergleich zu einem isolierteren naturnahen Lebensraum (BONNEDAHL et al 2009).

Allerdings scheinen die Resistenzraten je nach Land sehr unterschiedlich zu sein. Eine Untersuchung von *E. coli* aus Möwen aus neun verschiedenen europäischen Ländern

auf Resistenzen gegen verschiedene Antibiotika ergab Resistenzraten bei *E. coli*, die zwischen 61,2 % in Spanien und 8,3 % in Dänemark variierten (STEDT et al 2014). Interessanterweise wurden ähnliche geographische Unterschiede in den Antibiotikaresistenzraten auch bei Infektionen mit *E. coli* aus dem Menschen dokumentiert. Laut Angaben von ECDC betrug die Resistenzrate invasiver *E. coli*-Isolate im Jahr 2012 gegen Aminopenicilline in Spanien 65,4 % und in Dänemark nur 45,2 %. Ein ähnliches Bild zeigte sich bei den *E. coli* Resistenzen gegen Cephalosporine der 3. Generation (13,5 % in Spanien vs. 7,9 % in Dänemark) und gegen Fluorochinolone (33,9 % in Spanien vs. 14,1 % in Dänemark) (ECDC 2013). Die in den unterschiedlichen Ländern detektierten Resistenzraten von Menschen und Wasservögeln lassen also durchaus vermuten, dass zwischen der Prävalenz resistenter Bakterien bei Menschen dieser Länder und der Prävalenz in den dort aufgefundenen Wasservögeln ein Zusammenhang besteht.

In der hier vorliegenden Arbeit wurde lediglich ein einziges *E. coli*-Isolat mit ESBL-Bildung detektiert, dies entspricht einer Nachweisrate von 0,5 % bezogen auf alle *E. coli*-Isolate und einer Nachweisrate von 2,6 % bezogen auf *E. coli*-Isolate von Wassergeflügel. Extended-Spectrum Beta-Lactamasen wurden in verschiedenen europäischen Ländern in sehr unterschiedlicher Prävalenz in *E. coli* aus Wassergeflügel nachgewiesen, so zum Beispiel aus Möwen in Frankreich zu 5,9 % (9/153) (BONNEDAHL et al 2009), aus Schweden zu 3,6 % (3/83) (BONNEDAHL et al 2010) und aus Portugal zu 32 % (45/139) (SIMOES et al 2010). Weitere Untersuchungen detektierten in 11 von 57 Kotproben von Möwen aus Portugal ESBL-bildende *E. coli* (POETA et al 2008), und bei Möwen aus Russland wurden aus 145 *E. coli* vier CTX-M-ESBL-Bildner identifiziert, wobei in einer Kotprobe zwei verschiedene *E. coli* gefunden wurden (HERNANDEZ et al 2010).

In Deutschland wurde vor dieser Studie erst einmal ein ESBL in einem Wasservogel nachgewiesen, und zwar bei der Untersuchung von verschiedenen Wildvögeln, darunter auch 10 Wasservögeln, bei der ein ESBL-bildendes *E. coli*-Isolat vom Typ CTX-M-15 bei einer Blessgans (*Anser albifrons*) gefunden wurde (GUENTHER et al 2010b). Die ESBL-Nachweisrate in der vorliegenden Untersuchung ist innerhalb des Prävalenz-Spektrums in europäischen Ländern somit im unteren Bereich einzuordnen.

5.4. Charakterisierung des ESBL-bildenden *E. coli* aus einem Blesshuhn (*Fulica atra*)

Das in dieser Arbeit nachgewiesene ESBL-bildende *E. coli*-Isolat vom Typ CTX-M-15 stammte aus einem Wasservogel, einem Blesshuhn (*Fulica atra*). Dieser Vogel wurde aufgrund einer frischen Fraktur, vermutlich durch ein Trauma, in die Klinik für Vögel, Reptilien, Amphibien und Zierfische der LMU eingeliefert. Der allgemeine, nicht auf das Trauma zurückzuführende, Gesundheits- und Ernährungszustand wies nicht auf eine länger andauernde Krankheitsgeschichte, bzw. *E. coli*-Infektion hin. Deshalb liegt die Vermutung nahe, dass es sich bei dem hier detektierten ESBL nicht um einen primär pathogenen Keim, sondern um einen kommensalischen *E. coli*-Stamm ohne besonderen Krankheitswert für den Vogel handelte. Diese Vermutung wird durch die Detektion der phylogenetische Gruppe B1 und dem fehlenden Nachweis weiterer Virulenzfaktoren gestützt.

Nach dem Nachweis der ESBL-Bildung im phänotypischen ESBL-Bestätigungstest (CLSI 2008), der bei dem hier beschriebenen ESBL-bildenden *E. coli* deutlich positiv mit Werten von 13 mm (CAZ) zu 24 mm (CAZ/CV) und 0 mm (CTX) zu 13 mm (CTX/CV) ausfiel, wurden zuerst mehrere PCR-basierte Tests zur Detektion des ESBL-produzierenden *bla*-Genes durchgeführt (XU et al 2005, COQUE et al 2002, GRIMM et al 2004). Mittels Gruppen-spezifischer Primer (siehe Tabelle 4) können die verschiedenen CTX-M-Gruppen (1, 2, 8, 9, 25/26) (XU et al 2005), eine 930 bp umfassende Sequenz des *bla*_{SHV}-Genes (COQUE et al 2002) und eine 861 bp umfassende Sequenz des *bla*_{TEM}-Genes (GRIMM et al 2004) detektiert werden. Nur bei Einsatz der Primer nach Xu et al (2005) und Verwendung eines modifizierten PCR-Protokolles (95°C für 15 min./ 35 Zyklen mit jeweils 94°C für 30 sec., 55°C für 30 sec., 72°C für 1 min./ 72°C für 7 min.) wurde ein spezifisches PCR-Produkt einer Größe von 260 bp amplifiziert und durch Agarose-Gel-Elektrophorese isoliert. Bei Sequenzierung der amplifizierten DNA und Sequenzvergleichen mittels BLAST-Analyse (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) ergab sich eine Zuordnung des ESBL-Gens zu *bla*_{CTX-M-15} oder *bla*_{CTX-M-55}, das heißt, die eindeutige Identifizierung des CTX-M-Typs war zunächst nicht möglich.

CTX-M-15 ist annähernd weltweit bei *E. coli* aus Menschen und Tieren verbreitet, während CTX-M-55 bisher nur in geringen Fallzahlen bei *E. coli* aus Begleittieren und

Geflügel in Asien nachgewiesen wurde (EWERS et al 2012). Um das *bla*_{CTX-M}-Gen jedoch zweifelsfrei zuordnen zu können, wurde eine weitere PCR zur Amplifikation eines größeren Fragments des ESBL-Genes nach Jouini et al. (2007) durchgeführt. Hierbei wurde ein 1041 bp großes PCR-Produkt durch modifizierte PCR-Bedingungen (95°C für 15 min./ 50 Zyklen mit jeweils 94°C für 30 sec., 62°C für 30 sec., 72°C für 1 min./ 72°C für 7 min., die verwendeten Primer befinden sich in Tabelle 4), amplifiziert. Basierend auf der Sequenz des PCR-Produktes wurde das ESBL-Gen anschließend eindeutig als *bla*_{CTX-M-15} identifiziert.

Zur näheren genotypischen Charakterisierung der vorliegenden Resistenz wurden anschließend weitere Untersuchungen durchgeführt, die Gene und DNA-Sequenzabschnitte vor („upstream“) und hinter („downstream“) der CTX-M-15-Sequenz erfassen sollten. In der Vergangenheit wurden sieben verschiedene genetische Umgebungen des *bla*_{CTX-M-15}-Genes auf Plasmiden beschrieben. (DHANJI et al 2011c). Dabei wurde das Vorliegen mobiler Insertionssequenzen (IS26, *ISEcp1*) in verschiedenen Variationen und Orientierungen oberhalb („upstream“) des ESBL-Genes dokumentiert (SALADIN et al 2002). Die *ISEcp1* kommt bei allen sieben Plasmidtypen vor, allerdings in variablen Längen und bei manchen Typen mit integrierten IS26-Sequenzen. Alle *ISEcp1* Insertionssequenzen liegen in dem gleichen Abstand (48 bp) vor dem *bla*-Gen. Unterhalb („downstream“) des *bla*_{CTX-M-15}-Genes folgt ebenfalls bei allen sieben Typen ein offener Leserahmen (ORF 477) (DHANJI et al 2011c).

Um weitere Merkmale des Plasmids in dem hier beschriebenen *E. coli*-Isolat erfassen zu können, also um es nach Dhanji et al (2011c) typisieren zu können, wurde durch mehrere PCR's mit anschließender Sequenzanalyse die Umgebung, das heißt die DNA-Regionen oberhalb und unterhalb des vorliegenden *bla*_{CTX-M-15}-Genes untersucht. Für diese PCRs wurden verschiedene spezifische Primer (siehe Tabelle 4a) und modifizierte PCR-Bedingungen (95°C für 15 min./ 40 Zyklen mit jeweils 94°C für 30 sec., 55°C für 30 sec., 72°C für 1 min./ 72°C für 7 min.) verwendet (DHANJI et al 2011c, SALADIN et al 2002). Das in dieser Arbeit detektierte Plasmid besaß eine intakte Insertionssequenz (*ISEcp1*), die in der gleichen Orientierung wie das *bla*_{CTX-M-15}-Gen vorlag. Am 3'-Ende des *ISEcp1* wurde eine typische Promoter-Region (-10 TACAAT) (-35 TTGAA) identifiziert. „Downstream“ des *bla*_{CTX-M-15}-Genes lag der sogenannte ORF 477 (eine Skizze zur Struktur findet sich im Ergebnisteil, Abbildung 15). Die ermittelte Sequenz der ESBL-Region des in dieser Untersuchung

charakterisierten Plasmids wurde in der NCBI Gen-Bank unter der Nummer KF891471 hinterlegt.

Nach der Umgebung des *bla*_{CTX-M-15}-Genes entspricht das hier nachgewiesene Resistenzplasmid daher dem Typ 2a nach Dhanji et al (2011c), also einem sehr bedeutenden Typ, der bisher am häufigsten bei ESBL-Erregern aus dem Menschen nachgewiesen wurde. Die nachgewiesene Laktamase-Promotor-Region lässt zudem eine starke Expression des Enzyms vermuten (DHANJI et al. 2011c). Dieser Typ 2a wurde bei aus verschiedenen Ländern nach London (UK) zurückgekehrten Urlaubern bei 108 von 174 CTX-M-15-produzierenden ESBL-*E. coli* detektiert (DHANJI et al 2011c).

Die Eigenschaften des ESBL-*E. coli* hängen aber nicht nur vom Typ des Resistenzplasmids, sondern auch von weiteren Eigenschaften des Erregers ab. So lassen sich anhand der phylogenetischen Gruppe, in die sich ein Isolat einordnen lässt, gewisse Rückschlüsse auf die Virulenz oder Pathogenität des *E. coli*-Stammes ziehen. Während bei pathogenen Stämmen aus Menschen und Tieren oft die phylogenetischen Gruppen B2 und D identifiziert wurden, lassen sich kommensalische *E. coli*-Stämme meist den Gruppen A oder B1 zuordnen (CLERMONT et al 2000, GORDON et al 2008, PICARD et al 1999).

Aus diesem Grund wurde eine weitere PCR (CLERMONT et al 2000, HIGGINS et al 2007) (mod. Bedingungen: 95°C für 15 min./ 35 Zyklen mit jeweils 94°C für 30 sec., 60°C für 30 sec., 72°C für 45 sec./ 72°C für 7 min.) mit spezifischen Primern (siehe Tabelle 4b) und eine anschließende Agarose-Gel-Elektrophorese durchgeführt. Bei diesem PCR-Protokoll nach Clermont et al (2000) werden zwei Gene, *chuA* und *yjaA*, sowie ein nichtkodierendes Gensegment, TSPE4.C2, amplifiziert. Der Nachweis bzw. das Fehlen dieser DNA-Sequenzen in verschiedenen Kombinationen geben Aufschluss über die Zugehörigkeit zu einer der phylogenetischen Hauptgruppen (A, B1, B2, D) (CLERMONT et al 2000, GORDON et al 2008, HIGGINS et al 2007). Bei dem in dieser Arbeit gefundenen *E. coli*-Isolat war nur TSPE4.C2 nachweisbar (siehe Abbildung 16). Daher wurde das Isolat der Gruppe B1 zugeordnet, die häufig bei nicht primär pathogenen, kommensalischen Darmbakterien gefunden wird (PICARD et al 1999, GORDON et al 2008, HIGGINS et al 2007).

Um den in dieser Arbeit gefundenen *E. coli*-Stamm genauer zu differenzieren und zu charakterisieren, erfolgte zudem eine Serotypisierung (EWING 1986, ØRSKOV & ØRSKOV 1984, ØRSKOV et al 1977), die vom Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) in Berlin durchgeführt wurde. Für die Serotypisierung werden Antigen-spezifische (in diesem Fall O- und H-Antigen-spezifische) Antiseren verwendet, die durch Agglutinationsreaktionen die Antigene detektieren. Bei dem hier vorliegenden Isolat konnte allerdings nur das O-Antigen serologisch determiniert werden, es wurde als O8 identifiziert. Der H-Antigen-Typ war nach Angabe des BfR nicht typisierbar, da mit den vorhandenen Antiseren von H1 bis H56 keine Reaktion erfolgte.

H-Antigene sind Geißelantigene, deshalb werden diese Proteine nur von beweglichen Bakterienzellen exprimiert (SELBITZ 2002). Klinische *E. coli*-Isolate sind oft nicht beweglich und exprimieren deshalb kein H-Antigen (FIELDS et al 1997). Möglicherweise handelte es sich bei dem in dieser Arbeit gefundenen *E. coli*-Isolat also um einen unbeweglichen Stamm. Zur Ermittlung des H-Serotyps wurden daher in der vorliegenden Studie molekularbiologische Methoden angewandt. Mittels PCR wurde das *fliC*-Gen partiell amplifiziert und sequenziert, also das Gen, das für die H-Antigene in *E. coli* kodiert (FIELDS et al 1997). Das hier durch PCR (mod. Bedingungen: 95°C für 15 min./ 50 Zyklen mit jeweils 94°C für 30 sec., 60°C für 1 min., 72°C für 2 min./ 72°C für 7 min.) unter Verwendung von spezifischen Primern (siehe Tabelle 4b) und anschließende Sequenz-Analyse nachgewiesene 1665 bp lange Sequenzfragment des *fliC*-Genes, (die Sequenz wurde in der NCBI Gen-Bank unter der Nummer KF807830 hinterlegt) wies eine 98 %-ige Sequenzidentität auf Nukleinsäureebene zu einer anderen, in der Gen Bank hinterlegten Sequenz eines H23 auf (AY250005). Vergleiche der abgeleiteten Aminosäuresequenz mit anderen H-Antigenen zeigten eine Übereinstimmung von 99 % mit H23, zu anderen H-Typen betrug die Übereinstimmung lediglich maximal 70 %.

Eine Untersuchung auf das Vorliegen weiterer Virulenzfaktoren, nämlich auf die Shigatoxine Stx1 und Stx2, das *e-hly* (Haemolysin) und das *eae*-Gen/ *nleB* (Intimin) mit geno- und phänotypischen Nachweismethoden, basierend auf der „Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren (ASU) nach §64 LFGB“ durch das BfR verlief negativ. Diese Virulenzfaktoren, die häufig bei EHEC- und STEC-Isolaten gefunden werden, waren also in dem in dieser Arbeit detektierten ESBL-bildenden *E. coli*-Isolat nicht vorhanden.

Das ESBL-bildende *E. coli*-Isolat wurde also als Erreger des Serotyps O8:H23 und der phylogenetischen Gruppe B1 charakterisiert, bei dem Pathogenitätsfaktoren wie Stx1, Stx2, *e-hly*, *eae* oder *nleB* nicht nachweisbar waren. All dies stützt die Auffassung, dass es sich bei diesem Keim um einen vermutlich nicht primär pathogenen, kommensalischen Darmbewohner handelte (PICARD et al 1999, GORDON et al 2008, HIGGINS et al 2007). Das Blesshuhn, aus dem er isoliert wurde, wurde aufgrund einer Flügelfraktur, also eines akuten Krankheitsgeschehens vermutlich infolge eines Anflugtraumas, eingeliefert und zeigte keine klinischen Anzeichen einer *E. coli*-Infektion. Das klinische Bild bestätigt daher die aus serologischen und molekularbiologischen Untersuchungen abgeleiteten Eigenschaften. Bemerkenswert ist jedoch, dass in diesem als eigentlich harmlos zu beurteilenden Bakterium ein Plasmid identifiziert wurde, das ein ESBL-Gen des Typs CTX-M-15 trägt. Dieses Gen wird wahrscheinlich stark exprimiert. führt also vermutlich zu einer deutlich ausgeprägten Resistenz des *E. coli* gegenüber Beta-Lactam-Antibiotika. Das Plasmid ließ sich einer genetischen Variante zuordnen, die bislang sehr häufig nachgewiesen wurde, auch bei Menschen mit akuten klinischen Erkrankungen (DHANJI et al 2011c).

Wie dieses Bakterium dieses Plasmid oder das Blesshuhn das Plasmid tragende *E. coli* aufgenommen hat, darüber kann nur spekuliert werden. Viele Resistenzgene tragende Plasmide können durch Konjugation zwischen Bakterien übertragen werden, dies ermöglicht die Ausbreitung nicht nur innerhalb einer Spezies, sondern auch artübergreifend (CULLIK et al 2010). Die ESBL-Resistenzplasmide können somit über die verschiedenen Mikroorganismen auch zwischen Ökosystemen ausgetauscht werden (SMET et al 2009, SMET et al 2010). Da *bla*_{CTX-M-15}-Gene in der Vergangenheit sehr häufig bei *E. coli* aus Menschen (COQUE et al 2008, CANTON et al 2008), aber nur sporadisch aus Haus-, Nutz-, und Wildtieren isoliert wurden, und da bislang auch einige Nachweise von CTX-M-15-produzierenden Enterobacteriaceae aus Abwasser (DOLEJESKA et al 2011, GAVIN et al 2010), Klärschlamm (ZARFEL et al 2013) und Oberflächengewässern (ZURFLUH et al 2013) vorliegen, ist nicht auszuschließen, dass die Übertragung eines von Bakterien aus dem Menschen stammenden CTX-M-15-kodierenden Plasmids über Wasser auf *E. coli* und damit auf das Blesshuhn erfolgt ist. Diese Hypothese ist allerdings sehr spekulativ.

Bakterien der phylogenetischen Gruppe B1 wurden bereits in vielen Tierarten und im Menschen nachgewiesen (CARLOS et al 2010), so dass basierend auf dieser

phylogenetischen Gruppe nicht eine bestimmte Herkunft des *E. coli* gefolgert werden kann. Zudem wurden auch bei erkrankten Haus- (EWERS et al 2010, DIERIKS et al 2012, SCHINK et al 2011) und Nutztieren (SCHINK et al 2013) vereinzelt Bakterien mit CTX-M-15-Genen gefunden. Eine direkte oder indirekte Übertragung des *E. coli* von Haus- oder Nutztieren auf das Blesshuhn ist deshalb nicht völlig auszuschließen. Gestützt wird diese Auffassung auch dadurch, dass der detektierte O-Typ O8 als einer der häufigsten bei der Coligranulomatose des Geflügels isolierten Serotypen gilt (HOOP & GLÜNDER 2012). Allerdings lassen sich aus Geflügel isolierte ESBL-Bildner üblicherweise nicht dem CTX-M-15-Typ zuordnen (KOLA et al 2012, BÜCHTER 2011, DIERIKS et al 2013).

Wildvögel könnten also multiresistente Bakterien und mit ihnen auch ESBL-kodierende Plasmide als harmlose Kommensalen aufnehmen, beherbergen und in die Umwelt ausscheiden. Insbesondere bei befallenen Wasservögeln könnten multiresistente Bakterien oder ESBL-bildende *E. coli* so über das Wasser der Flüsse und Seen verbreitet werden und dann auch zum Menschen gelangen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit belegen, dass antibiotikaresistente und ESBL-bildende *E. coli* bei Wildvögeln nachweislich vorhanden sind, wenn auch bislang die Resistenzraten deutlich niedriger liegen als bei Wirtschaftsgeflügel oder anderen lebensmittelliefernden Tieren. Diese Erkenntnisse sollten auch in der kurativen Praxis bei der Behandlung von erkrankten Wildvögeln berücksichtigt werden. Im Vergleich zu Deutschland liegen die *E. coli*-Resistenzraten bei Wildvögeln in den meisten anderen europäischen Ländern zwar deutlich höher, trotzdem erscheint zur adäquaten Behandlung bakterieller Krankheiten bei Wildvögeln auch in Deutschland ein Resistenztest mit Antibiogramm zwingend nötig. Das Wissen um häufige Resistenzen bei *E. coli* der Wildvögel kann in Notfällen als Entscheidungshilfe dienen, bevor die Ergebnisse des Antibiogramms vorliegen.

5.5. Mögliche Zoonosegefahr durch multiresistente *E. coli* und ESBL-Bildner

Der bisher größte EHEC/ESBL-*E. coli* Ausbruch in Deutschland, der im Frühsommer 2011 die große Zahl von 3816 infizierten Personen, von denen 54 starben, umfasste und auf ein großes Echo in der Tagespresse gestoßen ist, war auf mit *E. coli* kontaminierte, aus Ägypten importierte Bockshornkleesamen zurückzuführen (BfR 2011a, FRANK et al 2011). Aus Lebensmitteln, insbesondere aus Fleisch und Fleischprodukten, werden seit Jahren multiresistente, potentiell pathogene Bakterien isoliert. In den Niederlanden wurden bei Untersuchungen von Geflügelfleisch in 76,8 % der Hühnerfleischproben ESBL-bildende *E. coli* gefunden. Zusätzlich zeigte die Untersuchung von Klinikpatienten aus dem gleichen Gebiet *E. coli* mit identischen ESBL-Genen (OVERDEVEST et al 2011). In Deutschland waren in 43,9 % aller untersuchten Hühnerfleischproben verschiedener Einzelhandelsketten und Metzgereien ESBL-bildende Enterobacteriaceae, meist *E. coli*, nachweisbar (KOLA et al 2011).

Die wechselseitige Übertragung antibiotikaresistenter Bakterien zwischen Tieren und Menschen wurde erstmals 1976 beschrieben (LEVY et al 1976), und seit vielen Jahren werden ESBL-bildende Enterobacteriaceae bei Nutztieren gefunden. Dass oft gleiche Resistenzgene und ESBL-Typen bei Enterobacteriaceae aus den Tierhaltern gefunden wurden, stützt die Auffassung einer Übertragung zwischen Nutztieren und Menschen (LEVERSTEIN-VAN HALL et al 2011, MADEC et al 2012, DIRIKX et al 2013).

Inwieweit Haustiere wie zum Beispiel Hund oder Katze, die oft in deutlich näherem Kontakt zu Menschen sind, als Überträger und potentielles Reservoir multiresistenter Bakterien fungieren, ist noch weitgehend unbekannt (EWERS et al 2011). Allerdings wurden in den letzten Jahren immer wieder ähnliche oder identische Resistenzgene bei Bakterien aus Haustieren wie Hunden und Katzen und aus dem Menschen beschrieben (DIRIKX et al 2012, EWERS et al 2010).

Wildtiere als potentielles Reservoir und Überträger multiresistenter Bakterien und ESBL-Bildnern werden seit einigen Jahren diskutiert (GUENTHER et al 2011). Insbesondere Wildvögel, die durch Krankheiten und Unfälle in nahen und direkten Kontakt zu Menschen kommen, dürften in diesem Zusammenhang ein großes Risiko

darstellen. Da Bakterien wie *E. coli* in der Umwelt in geeignetem Milieu teilweise sehr lange infektiös bleiben (ROTH 2004), könnten sie vom Wildvogel über unbemerkte und unbeabsichtigte Kontamination auf den Finder, der den Vogel in die Klinik oder Tierarztpraxis überbringt und später auch auf medizinisches Personal und andere (Vogel-) Patienten übertragen werden.

In dieser Arbeit wurde nur eine geringe ESBL-Prävalenzrate (0,5 %) bei *E. coli* in verletzt oder erkrankt aufgefundenen Wildvögeln nachgewiesen. Das Risiko einer vom Wildvogel ausgehenden Infektion von anderen (Zier- und Wirtschaftsgeflügel-) Patienten und Klinikpersonal scheint somit also gering. Dennoch ist ein adäquates Hygienemanagement, auch im Hinblick auf eine mögliche Zoonosegefahr, zwingend erforderlich. Überbringende Privatpersonen, insbesondere Kinder, sollten auf Hygienemaßnahmen hingewiesen werden.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Vorkommen und Bedeutung von Antibiotikaresistenzen und Extended-Spectrum Beta-Lactamasen (ESBL) bei *Escherichia coli* aus Wildvögeln mit Kontakt zu Menschen aus Südbayern

Vor dem Hintergrund der aktuellen Diskussion über Antibiotikaverbrauch, Antibiotikaeinsatz und Antibiotikaresistenzen bei Bakterien in Human- und Tiermedizin sowie Nachweisen von multiresistenten Keimen und Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)-bildenden Enterobacteriaceae bei verschiedenen Haus- und Nutztieren stellt sich die Frage nach möglichen Vektoren, Quellen und Reservoiren solcher Bakterien in wildlebenden Tieren und Umwelt. Daher wurden insgesamt 257 Wildvögel aus den Ordnungen Passeriformes (Sperlingsvögel, n=39), Columbiformes (Taubenvögel, n=73), Anseriformes und Gruiformes (Gänsevögel, Rallen und Kranichvögel, n=46), Falconiformes (Falkenvögel, n=33), Accipitriformes (Habichtartige, n=51), und Strigiformes (Eulenvögel, n=15) in die Studie einbezogen. Die Vögel wurden aufgrund verschiedener Krankheitssymptome im Zeitraum von Mai 2012 bis Mai 2013 in die Klinik für Vögel in Oberschleißheim eingeliefert und isolierte *Escherichia coli* auf Antibiotikaresistenzen und ESBL-Bildung untersucht. Aus Kloakentupfern, die den Vögeln sofort bei Einlieferung entnommen wurden, wurden 193 *E. coli*-Isolate gewonnen, die anschließend zuerst einem Agar-Disk-Diffusions-Resistenztest gegen acht, in der Tiermedizin häufig verwendete Antibiotika unterzogen wurden. Danach wurden alle gegen Penicilline und/oder Cephalosporine resistenten bzw. intermediären Isolate auf ESBL-Produktion phänotypisch getestet. Phänotypisch positive *E. coli*-Isolate wurden anschließend mit serologischen und molekularbiologischen Methoden weiter charakterisiert.

Die Resistenzrate gegen die getesteten Antibiotika bei aus Wildvögeln isolierten *E. coli* lag bei 17,1 %. 33 von 193 untersuchten *E. coli*-Isolaten zeigten Resistenzen gegen mindestens einen antibiotischen Wirkstoff. Multiresistenzen, also Resistenzen gegen drei oder mehr Antibiotikagruppen, waren bei 3,1 % (6/193) der Isolate festzustellen. Die häufigsten Resistenzen bestanden gegen Sulfamethoxazol-Trimethoprim (11,9 %), gefolgt von Ampicillin (7,3 %) und Doxycyclin (6,7 %). Insbesondere *E. coli*-Isolate von Falken (25), die mit 28 % von allen Vogelgruppen die höchste Resistenzrate aufwiesen, zeigten häufig Doxycyclinresistenz (20 %). Die niedrigste Resistenzrate von 7,3 % wurde bei *E. coli* von sonstigen Greifvögeln und Eulen detektiert (4/55).

Resistenzen gegen Enro- und Marbofloxacin waren bezogen auf alle Wildvögel gering (2,1 %) und wurden nur bei *E. coli* von Wassergeflügel (10,3 %) festgestellt.

Bei einem *E. coli*-Isolat aus einem Blesshuhn (*Fulica atra*) wurde ESBL-Bildung nachgewiesen. Bezogen auf die untersuchten *E. coli* von Wasservögeln (39) entspricht dieses Ergebnis einer ESBL-*E. coli*-Prävalenz von 2,6 % und bezogen auf alle *E. coli* einer Prävalenz von 0,5 %. Die weitere Charakterisierung des *E. coli*-Isolates durch serologische und molekularbiologische Methoden ergab das Vorliegen eines Plasmid-kodierten *bla*_{CTX-M-15}-Gens, dessen genetische Umgebung dem Typ 2a und damit einer beim Menschen häufig nachgewiesenen Variante entsprach. Das ESBL-bildende *E. coli*-Isolat konnte der phylogenetischen Gruppe B1 und dem Serotyp O8:H23 zugeordnet werden. Weitere, mit EHEC/STEC assoziierte Pathogenitätsfaktoren (Stx1, Stx2, *e-hly*, *eae/nleB*) wurden nicht nachgewiesen.

Die vorliegende Untersuchung belegt, dass Antibiotikaresistenzen in *E. coli* aus Wildvögeln in Deutschland mit nachgewiesenem Kontakt zum Menschen vorhanden sind. Allerdings lagen die Resistenzraten bei allen einbezogenen Vogelgruppen unter der von *E. coli* aus Nutztieren, insbesondere aus Wirtschaftsgeflügel. Trotzdem erscheint zur adäquaten Behandlung bakterieller Erkrankungen auch bei Wildvögeln ein Resistenztest mit Antibiogramm zwingend nötig. Das Wissen um häufige bakterielle Resistenzen bei *E. coli* aus Wildvögeln kann in Notfällen als Entscheidungshilfe für eine Behandlung dienen, bis die Ergebnisse eines Antibiogramms vorliegen.

Im Vergleich zu ESBL-Prävalenzraten aus der Humanmedizin, in Nutztieren, Begleittieren und bei Wildvögeln aus anderen Gebieten Deutschlands erscheint die detektierte Prävalenz von 0,5 % ESBL-*E. coli* niedrig. Dennoch sollte ein adäquates Hygieneprotokoll beim Handling von Wildvögeln insbesondere in Tierarztpraxen und Kliniken etabliert und eingehalten werden.

7. SUMMARY

Occurrence and importance of antibiotic resistances and extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) production of *Escherichia coli* from wild birds in contact with humans living in southern Bavaria

Carolin Emmi Gerhofer

With the ongoing debate about antibiotic usage and antibiotic resistances of bacteria in human and veterinary medicine as well as the detection of multiresistant and extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing enterobacteriaceae in different domestic and farm animals, the issue for possible vectors and sources of such bacteria in wild animals and environment rises. Therefore, a total of 257 wild birds from the orders Passeriformes (passerine birds, n=39) Columbiformes (pigeons, n=73), Anseriformes and Gruiformes (waterfowl, cranes and rails, n=46), Falconiformes (falcons, n=33), Accipitriformes (accipitrids, n=51) and Strigiformes (owls, n=15) were investigated. All birds had been submitted to the bird clinic in Oberschleißheim for different reasons between May 2012 and May 2013 and were examined for antibiotic resistances and ESBL-production in *Escherichia coli*. From cloacal samples that were taken from the birds immediately after commitment, 193 *E. coli* isolates were gathered and afterwards checked with an agar-disk-diffusion-resistance-test for eight antibiotics commonly used in veterinary medicine. After that, all isolates that were intermediate or resistant against penicillins and/or cephalosporins were phenotypically tested for ESBL-production. Subsequently, phenotypical positive *E. coli* isolates were further investigated by serological and molecular biological methods.

Thirty-three of the 193 examined *E. coli* isolates showed resistance against at least one antibiotic resulting in a resistance rate of 17.1 %. Multiresistance (resistance against three or more antibiotic groups) was found in 3.1 % (6/193) of all isolates. The most frequently detected resistance occurred against sulfamethoxazol-trimethoprim (11.9 %), followed by ampicillin (7.3 %) and doxycycline (6.7 %). Especially *E. coli* isolates of falcons (25) which showed the highest resistance rates of all birds (28 %), were most commonly resistant against doxycycline (20 %). The least frequent resistance rate of *E. coli* (7.3 %) was detected in the group of other birds of prey and owls (4/55). Resistances against enro- and marbofloxacin were very low in relation to all wild birds (2.1 %) and were only detected in *E. coli* of waterfowl (10.3 %).

One *E. coli* isolate of a Eurasian coot (*Fulica atra*) showed ESBL-production. Related to the examined *E. coli* of all waterfowl (39) this corresponds to an ESBL-*E. coli* prevalence of 2.6 % and a prevalence of 0.5 % related to all *E. coli*. A further characterization of the *E. coli* isolate by serological and biomolecular methods revealed the appearance of a plasmid encoding a *bla*_{CTX-M-15}-Gene with a genetic environment similar to type 2a, which is a type commonly found in humans. The ESBL-producing *E. coli* isolate was assigned to the phylogenetical group B1 and the serotype O8:H23. Other pathogenicity factors associated to EHEC/STEC (*stx1*, *stx2*, *e-hly*, *eae/nleB*) could not be verified.

As clearly shown in this study, antibiotic resistances in *E. coli* in German wild birds with proven contact to humans are existing. However, resistance rates of all included groups of birds were below those of *E. coli* from farm animals, especially those of poultry. For an appropriate treatment of bacterial disease a microbial sensitivity test seems nevertheless necessary. Knowledge of common bacterial resistances of wild birds can be a valuable decision guidance in emergency situations prior to having access to the results of a sensitivity test.

In comparison to ESBL prevalences known of *E. coli* in humans, farm animals, companion animals and wild birds out of other regions in Europe, the detected ESBL-*E. coli* prevalence of 0.5 % seems rather low. Nevertheless, an adequate hygienic approach when handling wild birds should be established and maintained, especially at veterinarians and in hospitals.

8. RESUMEN

Incidencia e importancia de las resistencias a los antibióticos y a las betalactamasas de amplio espectro (ESBL) producidas por *Escherichia coli* procedentes de aves silvestres con posible contacto humano en el sur de Baviera

Carolin Emmi Gerhofer

Dentro del marco del debate actual sobre el uso de antibióticos, su aplicación y la resistencia a los mismos mostrada por las bacterias tanto en medicina humana como animal, así como la detección de patógenos multirresistentes y bacterias de la familia Enterobacteriaceae productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE, en inglés extended spectrum betalactamase o ESBL) en diferentes animales domésticos y de granja, la importancia de los posibles vectores, fuentes y reservorios de dichas bacterias en animales de vida silvestre y en el medio ambiente aumenta.

Se incluyeron en el estudio un total de 257 aves silvestres de los órdenes Passeriformes (paseriformes, n=39), Columbiformes (colúmbidas, n=73), Anseriformes y Gruiformes (n=46), Falconiformes (falcónidos, n=33), Accipitriformes (accipítridos, n=51), y Strigiformes (estrígidos, n=15). El estudio comprende pacientes ingresados en la Clínica de Aves de Oberschleißheim desde mayo de 2012 hasta mayo de 2013 por diferentes causas de enfermedad, la cual se sometió en cada caso a un antibiograma y una prueba de crecimiento de *E. coli* productoras de BLEE. Inmediatamente tras el ingreso del ave se tomaron hisopos cloacales, obteniendo un total de 193 aislamientos de *E. coli*, con los cuales se llevaron a cabo pruebas de resistencia en placas de difusión en agar utilizados de forma habitual para ocho antibióticos de uso común en medicina veterinaria. Aquellas muestras que resultaron tener resistencia completa o intermedia a la penicilina y/o cefalosporina fueron sometidos a pruebas fenotípicas de producción de BLEE. Las muestras de aislamientos de *E. coli* positivas resultantes de esta prueba se caracterizaron mediante métodos serológicos y de biología molecular.

La tasa de resistencia de los antibióticos examinados de los aislados de *E. coli* procedentes de las aves silvestres supusieron un 17,1 %. 33 de los 193 aislamientos de *E. coli* investigados mostraron ser resistentes al menos a un antibiótico. Se

observaron multiresistencias (resistencias al menos a tres o más grupos antibióticos) en un 3,1 % de los aislamientos (6/193). La resistencia más frecuente se obtuvo para la combinación de sulfamethoxazole con trimetoprima (11,9 %), seguida de ampicilina (7,3 %) y doxiciclina (6,7 %). Destacan los aislados de *E. coli* procedentes de las especies de halcones (25), los cuales con un 28 % muestran la mayor tasa de resistencia de entre todos los grupos de aves investigados. En especial mostraron con frecuencia resistencia a la doxiciclina (20 %). La menor tasa de resistencia observada fue en ciertos casos otros grupos de aves rapaces (4/55), con un 7,3 %. Las resistencias a enrofloxacino y marbofloxacino observadas fueron bajas en todos los casos de aves silvestres investigados (2,1 %). En cuanto a estos dos últimos antibióticos, solo se observaron resistencias en el caso de *E. coli* procedentes de aves acuáticas (10,3 %). En un aislamiento de *E. coli* procedente de un ejemplar de focha de agua (*Fulica atra*) se observó producción de BLEE. Referido a los resultados de los exámenes de *E. coli* procedentes de las aves acuáticas supone una prevalencia de BLEE-*E. coli* del 2,6 %, y del 0,5 % respecto al total de los aislamientos del estudio. La posterior caracterización del aislamiento de este BLEE-*E. coli* a través de pruebas serológicas y de biología molecular dio como resultado un plásmido el cual codifica al gen *bla*_{CTX-M-15}, cuyo entorno genético es similar al tipo 2a, frecuentemente encontrado en humanos. Este aislamiento de *E. coli* productor de BLEE se ordena dentro del grupo filogenético B1 serotipo O8:H23. Otros factores de patogenicidad asociados a EHEC/STEC como *stx1*, *stx2*, *e-hly*, *eae/nleB* no se pudieron demostrar.

El presente estudio demuestra que *E. coli* procedentes de las aves silvestres de Alemania con contacto probado con humanos presentan resistencias a antibióticos. Las tasas de resistencia encontradas de todos los grupos de aves incluidos en el estudio fueron sin embargo menores que aquellas observadas para *E. coli* en los animales de granja. Lo cual indica que un antibiograma es necesario para realizar un adecuado tratamiento de las enfermedades bacterianas también en aves silvestres. El conocimiento previo de una frecuente resistencia a *E. coli* en aves silvestres ayuda a tomar una decisión en cuanto al tratamiento en casos de emergencia, en el caso de que los resultados del antibiograma estén por finalizar.

En comparación con la tasa de prevalencia de *E. coli* productoras de BLEE observada en la medicina humana, en animales de granja, animales de compañía y aves silvestres, el 0,5% de BLEE-*E. coli* observada en este estudio es claramente menor. A

pesar de ello, se debería establecer y mantener un protocolo de higiene adecuado en el caso de manipulación de cualquier ave silvestre, especialmente en consultorios y clínicas veterinarias.

9. LITERATURVERZEICHNIS

1. Ambler RP. The structure of β -lactamases. *Phil Trans R Soc Lond B*. 1980;289: 321-331.
2. Anonymus. Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen (Infektionsschutzgesetz - IfSG). Infektionsschutzgesetz vom 20. Juli 2000 (BGBl.IS.1045), das durch Artikel 4 Absatz 21 des Gesetzes vom 7. August 2013 (BGBl.IS.3154) geändert worden ist. 2000.
3. Anonymus. Richtlinie 2003/99/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 17. November 2003 zur Überwachung von Zoonosen und Zoonoseerregern und zur Änderung der Entscheidung 90/424/EWG des Rates sowie zur Aufhebung der Richtlinie 92/117/EWG des Rates. 2003.
4. Anonymus. Gesetz über den Verkehr mit Arzneimitteln (Arzneimittelgesetz – AMG). Arzneimittelgesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 12. Dezember 2005 (BGBl.IS.3394), das durch Artikel 2a des Gesetzes vom 27. März 2014 (BGBl.IS.261) geändert worden ist. 2005.
5. Ardiles-Villegas K, González-Acuña D, Waldenström J, Olsen B, Hernández J. Antibiotic resistance patterns in fecal bacteria isolated from Christmas shearwater (*Puffinus nativitatis*) and masked booby (*Sula dactylatra*) at Remote Easter Island. *Avian Dis*. 2011;55: 486-489.
6. Arvand M, Moser V, Pfeifer Y. Prevalence of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and spread of the epidemic clonal lineage ST131 in nursing homes in Hesse, Germany. *J Antimicrob Chemother*. 2013;68: 2686-2688.
7. Bass L, Liebert CA, Lee MD, Summers AO, White DG, Thayer SG, Maurer JJ. Incidence and characterization of integrons, genetic elements mediating multiple-drug resistance, in avian *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999;43: 2925-2929.

8. Bauernfeind A, Grimm H, Schweighart S. A new plasmidic cefotaximase in a clinical isolate of *Escherichia coli*. Infection. 1990;18: 294-298.
9. Bergs S. Der Wildvogelpatient. Statistische Untersuchungen zum medizinischen, organisatorischen und finanziellen Aufwand für die Versorgung von Wildvögeln. Inaugural-Dissertation zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München. München; 2009.
10. Bergs S, Korbel R. Zur aktuellen Resistenzlage von klinisch relevanten Bakterien beim Zier- und Wirtschaftsgeflügel. In: Tagungsband 17. DVG-Tagung über Vogelkrankheiten, München 1. bis 3. März 2012: 110-112.
11. Birkett CI, Ludlam HA, Woodford N, Brown DFJ, Brown NM, Roberts MTM, Milner N, Curran M. Real-time TaqMan PCR for rapid detection and typing of genes encoding CTX-M extended-spectrum β -lactamases. J Med Microbiol. 2007;56: 52-55.
12. Bonnedahl J, Drobni M, Gauthier-Clerc M, Hernandez J, Granholm S, Kayser Y, Melhus Å, Kahlmeter G, Waldenström J, Johansson A, Olsen B. Dissemination of *Escherichia coli* with CTX-M type ESBL between humans and yellow-legged gulls in the south of France. PLoS One. 2009;4: e5958.
13. Bonnedahl J, Drobni P, Johansson A, Hernandez J, Melhus Å, Stedt J, Olsen B, Drobni M. Characterization, and comparison, of human clinical and black-headed gull (*Larus ridibundus*) extended-spectrum β -lactamase-producing bacterial isolates from Kalmar, on the southeast coast of Sweden. J Antimicrob Chemother. 2010;65: 1939-1944.
14. Bonnet R. Growing group of extended-spectrum β -lactamases: the CTX-M enzymes. Antimicrob Agents Chemother. 2004;48: 1-14.
15. Bortolaia V, Larsen J, Damborg P, Guardabassi L. Potential pathogenicity and host range of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* isolates from healthy poultry. Appl Environ Microbiol. 2011;77: 5830-5833.

16. Brendel U. Vögel der Alpen. Stuttgart (Hohenheim): Eugen Ulmer GmbH & Co.; 1998.
17. Büchter B. Vorkommen und Charakterisierung von Extended-Spektrum-Beta-Laktamase (ESBL)-produzierenden Escherichia coli bei Lebensmittel liefernden Tieren. Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin. Berlin; 2010.
18. BfR. Bundesinstitut für Risikobewertung. EHEC-Ausbruch 2011: Aktualisierte Analyse und abgeleitete Handlungsempfehlungen. Stellungnahme Nr. 049/2011 des BfR vom 23. November 2011a.
19. BfR. Bundesinstitut für Risikobewertung. ESBL-bildende Bakterien in Lebensmitteln und deren Übertragbarkeit auf den Menschen. Stellungnahme Nr. 002/2012 des BfR vom 5. Dezember 2011b.
20. Bundestierärztekammer. Arbeitsgruppe Tierarzneimittel (AGTAM) der Länderarbeitsgemeinschaft Verbraucherschutz. Leitlinien für den sorgfältigen Umgang mit antibakteriell wirksamen Tierarzneimitteln – mit Erläuterungen. Deutsches Tierärzteblatt. 2010;10: Beilage.
21. Bundestierärztekammer. Maßnahmen zur Erfassung und Regulierung des Arzneimittelverbrauchs in der Nutztierhaltung, Konzept der Bundestierärztekammer. Deutsches Tierärzteblatt. 2012;1: 4-7.
22. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob Agents Chemother. 1995;39: 1211-1233.
23. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of β -lactamases. Antimicrob Agents Chemother. 2010;54: 969-976.

24. Cantón R, Novais A, Valverde A, Machado E, Peixe L, Baquero F, Coque TM. Prevalence and spread of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect.* 2008;14 Suppl 1: 144-153.
25. Carattoli A. Animal reservoirs for extended-spectrum β -lactamase producers. *Clin Microbiol Infect.* 2008;14 Suppl 1: 117-123.
26. Carlos C, Pires MM, Stoppe NC, Hachich EM, Sato MIZ, Gomes TAT, Amaral LA, Ottoboni LMM. *Escherichia coli* phylogenetic group determination and its application in the identification of the major animal source of fecal contamination. *BMC Microbiol.* 2010;10: 161. <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/10/161> (16.7.2014)
27. Chah KF, Oboegbulem SI. Extended-spectrum beta-lactamase production among ampicillin-resistant *Escherichia coli* strains from chicken in Enugu State, Nigeria. *Braz J Microbiol.* 2007;38: 681-686.
28. Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Appl Environ Microbiol.* 2000;66: 4555-4558.
29. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Sixteenth Informational Supplement M100-S16, CLSI, Wayne, PA, USA; 2006.
30. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals. Approved Standard M31-A3. Third Edition. CLSI, Wayne, PA, USA; 2008.
31. Clinical and Laboratory Standards Institute. Cephalosporin and Aztreonam Breakpoint Revisions Fact Sheet M100-S20. CLSI, Wayne, PA, USA; 2010.

32. Cole D, Drum DJV, Stallknecht DE, White DG, Lee MD, Ayers S, Sobsey M, Maurer JJ. Free-living Canada geese and antimicrobial resistance. *Emerg Infect Dis.* 2005;11: 935-938.
33. Coque TM, Oliver A, Pérez-Díaz JC, Baquero F, Cantón R. Genes encoding TEM-4, SHV-2, and CTX-M-10 extended-spectrum β -lactamases are carried by multiple *Klebsiella pneumoniae* clones in a single hospital (Madrid, 1989 to 2000). *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46: 500-510.
34. Coque TM, Baquero F, Cantón R. Increasing prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Euro Surveill.* 2008;13: pii19044. <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19044> (17.7.2014)
35. Cortés P, Blanc V, Mora A, Dahbi G, Blanco JE, Blanco M, López C, Andreu A, Navarro F, Alonso MP, Bou G, Blanco J, Llagostero M. Isolation and characterization of potentially pathogenic antimicrobial-resistant *Escherichia coli* strains from chicken and pig farms in Spain. *Appl Environ Microbiol.* 2010;76: 2799-2805.
36. Costa D, Poeta P, Sáenz Y, Vinué L, Rojo-Bezares B, Jouini A, Zarazaga M, Rodrigues J, Torres C. Detection of *Escherichia coli* harbouring extended-spectrum β -lactamases of the CTX-M, TEM and SHV classes in faecal samples of wild animals in Portugal. *J Antimicrob Chemother.* 2006;58: 1311-1312. doi: 10.1093/jac/dkl415.
37. Costa D, Poeta P, Sáenz Y, Vinué L, Coelho AC, Matos M, Rojo-Bezares B, Rodrigues J, Torres C. Mechanisms of antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolates recovered from wild animals. *Microb Drug Resist.* 2008;14: 71-77.
38. Cullik A, Pfeifer Y, Prager R, von Baum H, Witte W. A novel IS26 structure surrounds *bla*_{CTX-M} genes in different plasmids from German clinical *Escherichia coli* isolates. *J Med Microbiol.* 2010;59: 580-587.

39. Dahmen S, Haenni M, Madec J-Y. Inc11/ST3 plasmids contribute to the dissemination of the *bla*_{CTX-M-1} gene in *Escherichia coli* from several animal species in France. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67: 3011-3012.
40. DART. Deutsche Antibiotika-Resistenzstrategie. Bundesministerium für Gesundheit, Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz, Bundesministerium für Bildung und Forschung. Berlin, April 2011. www.bundesgesundheitsministerium.de (17.7.2014)
41. De Kraker MEA, Wolkewitz M, Davey PG, Koller W, Berger J, Nagler J, Icket C, Kalenic S, Horvatic J, Seifert H, Kaasch A, Paniara O, Argyropoulou A, Bompola M, Smyth E, Skally M, Raglio A, Dumpis U, Melbarde Kelmere A, Borg M, Xuereb D, Ghita MC, Noble M, Kolman J, Grabljevec S, Turner D, Lansbury L, Grundmann H. Burden of antimicrobial resistance in European hospitals: excess mortality and length of hospital stay associated with bloodstream infections due to *Escherichia coli* resistant to third-generation cephalosporins. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66: 398–407.
42. Dhanji H, Doumith M, Rooney PJ, O’Leary MC, Loughrey AC, Hope R, Woodford N, Livermore DM. Molecular epidemiology of fluoroquinolone-resistant ST131 *Escherichia coli* producing CTX-M extended-spectrum β -lactamases in nursing homes in Belfast, UK. *J Antimicrob Chemother.* 2011a;66: 297-303.
43. Dhanji H, Murphy NM, Akhigbe C, Doumith M, Hope R, Livermore DM, Woodford N. Isolation of fluoroquinolone-resistant O25b:H4-ST131 *Escherichia coli* with CTX-M-14 extended-spectrum β -lactamase from UK river water. *J Antimicrob Chemother.* 2011b;66: 512-516.
44. Dhanji H, Patel R, Wall R, Doumith M, Patel B, Hope R, Livermore DM, Woodford N. Variation in the genetic environments of *bla*_{CTX-M-15} in *Escherichia coli* from the faeces of travellers returning to the United Kingdom. *J Antimicrob Chemother.* 2011c;66: 1005-1012.

45. Dierikx CM, van Duijkeren E, Schoormans AHW, van Essen-Zandbergen A, Veldman K, Kant A, Huijsdens XW, van der Zwaluw K, Wagenaar JA, Mevius DJ. Occurrence and characteristics of extended-spectrum β -lactamase- and AmpC-producing clinical isolates derived from companion animals and horses. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67: 1368-1374.
46. Dierikx C, van der Goot J, Fabri T, van Essen-Zandbergen A, Smith H, Mevius D. Extended-spectrum β -lactamase- and AmpC β -lactamase-producing *Escherichia coli* in Dutch broilers and broiler farmers. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68: 60-67.
47. Deutsches Institut für Normung e.V. Medizinische Mikrobiologie – Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung von bakteriellen Krankheitserregern (außer Mykobakterien) gegen Chemotherapeutika – Teil 3; Agar-Diffusionstest; Angaben für die Bewertung der Hemmhofdurchmesser. DIN 58940-3. Beiblatt 1, Ausgabe 2000-01.
48. Dolejska M, Frolkova P, Florek M, Jamborova I, Purgertova M, Kutilova I, Cizek A, Guenther S, Literak I. CTX-M-15-producing *Escherichia coli* clone B2-O25b-ST131 and *Klebsiella* spp. isolates in municipal wastewater treatment plant effluents. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66: 2784-2790.
49. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2011. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC; 2012. <http://www.ecdc.europa.eu> (27.7.2014)
50. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2012. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC; 2013. <http://www.ecdc.europa.eu> (27.7.2014)
51. Escobar-Páramo P, Grenet K, Le Menac'h A, Rode L, Salgado E, Amorin C, Gouriou S, Picard B, Rahimy MC, Andremont A, Denamur E, Ruimy R. Large-

- scale population structure of human commensal *Escherichia coli* isolates. Appl Environ Microbiol. 2004;70: 5698-5700.
52. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Växjö, Sweden, EUCAST; 2012.
53. Ewers C, Grobbel M, Stamm I, Kopp PA, Diehl I, Semmler T, Fruth A, Beutlich J, Guerra B, Wieler LH, Guenther S. Emergence of human pandemic O25:H4-ST131 CTX-M-15 extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* among companion animals. J Antimicrob Chemother. 2010;65: 651-660.
54. Ewers C, Grobbel M, Bethe A, Wieler LH, Guenther S. Extended-spectrum beta-lactamases-producing gram-negative bacteria in companion animals: action is clearly warranted! Berl Münch Tierärztl Wochenschr. 2011;124: 94-101.
55. Ewers C, Bethe A, Semmler T, Guenther S, Wieler LH. Extended-spectrum β -lactamase-producing and AmpC-producing *Escherichia coli* from livestock and companion animals, and their putative impact on public health: a global perspective. Clin Microbiol Infect. 2012;18: 646-655.
56. Ewers C, Bethe A, Stamm I, Grobbel M, Kopp PA, Guerra B, Stubbe M, Doi Y, Zong Z, Kola A, Schaufler K, Semmler T, Fruth A, Wieler LH, Guenther S. CTX-M-15-D-ST648 *Escherichia coli* from companion animals and horses: another pandemic clone combining multiresistance and extraintestinal virulence? J Antimicrob Chemother. 2014a;69: 1224-1230. Epub January 6, 2014; doi:10.1093/jac/dkt516.
57. Ewers C, Stamm I, Stolle I, Guenther S, Kopp PA, Fruth A, Wieler LH, Scheufen S, Bauerfeind R, Bethe A, Prenger-Berninghoff E. Detection of Shiga toxin- and extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* O145:NM and Ont:NM from calves with diarrhoea. J Antimicrob Chemother. 2014b;69: 2005-2007. Epub March 4, 2014b; doi:10.1093/jac/dku042.

58. Ewing WH. Edwards and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae. 4th ed. Oxford, New York, Amsterdam: Elsevier Science Publishing Co., Inc.; 1986.
59. Fields PI, Blom K, Hughes HJ, Helsel LO, Feng P, Swaminathan B. Molecular characterization of the gene encoding H antigen in *Escherichia coli* and development of a PCR-restriction fragment length polymorphism test for identification of *E. coli* O157:H7 and O157:NM. J Clin Microbiol. 1997;35: 1066-1070.
60. Franiek N, Orth D, Grif K, Ewers C, Wieler LH, Thalhammer JG, Würzner R. ESBL-produzierende *E. coli* und EHEC bei Hunden und Katzen in Tirol als mögliche Quelle für humane Infektionen. Berl Münch Tierärztl Wochenschr. 2012;125: 469-475.
61. Frank C, Werber D, Cramer JP, Askar M, Faber M, an der Heiden M, Bernard H, Fruth A, Prager R, Spode A, Wadl M, Zoufaly A, Jordan S, Kemper MJ, Follin P, Müller L, King LA, Rosner B, Buchholz U, Stark K, Krause G. Epidemic profile of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 outbreak in Germany. N Engl J Med. 2011;365: 1771-1780.
62. Friese A, Schulz J, Laube H, von Salviati C, Hartung J, Roesler U. Faecal occurrence and emissions of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (laMRSA) and ESBL/AmpC-producing *E. coli* from animal farms in Germany. Berl Münch Tierärztl Wochenschr. 2013;126: 175-180.
63. Galvin S, Boyle F, Hickey P, Vellinga A, Morris D, Cormican M. Enumeration and characterization of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* bacteria in effluent from municipal, hospital, and secondary treatment facility sources. Appl Environ Microbiol. 2010;76: 4772-4779.
64. Garmyn A, Haesebrouck F, Hellebuyck T, Smet A, Pasmans F, Butaye P, Martel A. Presence of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* in wild geese. J Antimicrobial Chemother. 2011;66: 1643-1644.

65. Garrec H, Drieux-Rouzet L, Golmard J-L, Jarlier V, Robert J. Comparison of nine phenotypic methods for detection of extended-spectrum β -lactamase production by Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol.* 2011;49: 1048-1057.
66. Gerlach H. Zur Antibiotikaresistenz wichtiger Bakterien aus dem Klinik- und Sektionsmaterial des Instituts für Geflügelkrankheiten. *Tierärztl Prax.* 1990;18: 501-502.
67. GERMAP 2008. Antibiotika-Resistenz und -Verbrauch, Bericht über den Antibiotikaverbrauch und die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen in der Human- und Veterinärmedizin in Deutschland. Hrsg.: Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V., Infektiologie Freiburg. 1. Auflage. Rheinbach: Antiinfectives Intelligence, Gesellschaft für klinisch-mikrobiologische Forschung und Kommunikation mbH; 2008.
68. GERMAP 2010. Antibiotika-Resistenz und -Verbrauch, Bericht über den Antibiotikaverbrauch und die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen in der Human- und Veterinärmedizin in Deutschland. Hrsg.: Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V., Infektiologie Freiburg. 1. Auflage. Rheinbach: Antiinfectives Intelligence, Gesellschaft für klinisch-mikrobiologische Forschung und Kommunikation mbH; 2011.
69. GERMAP 2012. Antibiotika-Resistenz und -Verbrauch, Bericht über den Antibiotikaverbrauch und die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen in der Human- und Veterinärmedizin in Deutschland. Hrsg.: Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V., Infektiologie Freiburg. Korrekturabzug. Rheinbach: Antiinfectives Intelligence, Gesellschaft für klinisch-mikrobiologische Forschung und Kommunikation mbH; 2014.
70. Gonçalves A, Igrejas G, Radhouani H, Estepa V, Pacheco R, Monteiro R, Brito F, Guerra A, Petrucci-Fonseca F, Torres C, Poeta P. Iberian wolf as a reservoir

- of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* of the TEM, SHV, and CTX-M groups. *Microb Drug Resist.* 2012;18: 215-219.
71. Gordon DM, Clermont O, Tolley H, Denamur E. Assigning *Escherichia coli* strains to phylogenetic groups: multi-locus sequence typing versus the PCR triplex method. *Environ Microbiol.* 2008;10: 2484-2496.
72. Grimm V, Ezaki S, Susa M, Knabbe C, Schmid RD, Bachmann TT. Use of DNA microarrays for rapid genotyping of TEM beta-lactamases that confer resistance. *J Clin Microbiol.* 2004;42: 3766-3774.
73. Grobbel M, Lübke-Becker A, Alesík E, Schwarz S, Wallmann J, Werckenthin C, Wieler LH. Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* from swine, horses, dogs and cats as determined in the BfT-GermVet monitoring program 2004-2006. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr.* 2007;120: 391-401.
74. Gröbner S, Linke D, Schütz W, Fladerer C, Madlung J, Autenrieth IB, Witte W, Pfeifer Y. Emergence of carbapenem-non-susceptible extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates at the university hospital of Tübingen, Germany. *J Med Microbiol.* 2009;58: 912-922.
75. Gruber I, Heudorf U, Werner G, Pfeifer Y, Imirzalioglu C, Ackermann H, Brandt C, Besier S, Wichelhaus TA. Multidrug-resistant bacteria in geriatric clinics, nursing homes, and ambulant care - prevalence and risk factors. *Int J Med Microbiol.* 2013;303: 405-409. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijmm.2013.05.002> (17.7. 2014)
76. Guenther S, Grobbel M, Lübke-Becker A, Goedecke A, Friedrich ND, Wieler LH, Ewers C. Antimicrobial resistance profiles of *Escherichia coli* from common European wild bird species. *Vet Microbiol.* 2010a;144: 219-225.
77. Guenther S, Grobbel M, Beutlich J, Bethe A, Friedrich ND, Goedecke A, Lübke-Becker A, Guerra B, Wieler LH, Ewers C. CTX-M-15-type extended-spectrum beta-lactamases producing *Escherichia coli* from wild birds in Germany. *Environ Microbiol Rep.* 2010b;2: 641-645.

78. Guenther S, Ewers C, Wieler LH. Extended-spectrum beta-lactamases producing *E. coli* in wildlife, yet another form of environmental pollution? *Front Microbiol.* 2011;2: Article 246. <http://www.frontiersin.org/Journal/10.3389/fmicb.2011.00246/full> (27.6.2014)
79. Guenther S, Bethe A, Fruth A, Semmler T, Ulrich RG, Wieler LH, Ewers C. Frequent combination of antimicrobial multiresistance and extraintestinal pathogenicity in *Escherichia coli* isolates from urban rats (*Rattus norvegicus*) in Berlin, Germany. *PLoS One.* 2012a;7: e50331.
80. Guenther S, Aschenbrenner K, Stamm I, Bethe A, Semmler T, Stubbe A, Stubbe M, Batsajkhan N, Glupczynski Y, Wieler LH, Ewers C. Comparable high rates of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in birds of prey from Germany and Mongolia. *PLoS One.* 2012b;7: e53039.
81. Guerra B, Junker E, Schroeter A, Malorny B, Lehmann S, Helmuth R. Phenotypic and genotypic characterization of antimicrobial resistance in German *Escherichia coli* isolates from cattle, swine and poultry. *J Antimicrob Chemother.* 2003;52: 489-492.
82. Guimarães B, Barreto Â, Radhouani H, Figueiredo N, Gaspar E, Rodrigues J, Torres C, Igrejas G, Poeta P. Genetic detection of extended-spectrum β -lactamase-containing *Escherichia coli* isolates and vancomycin-resistant Enterococci in fecal samples of healthy children. *Microb Drug Resist.* 2009;15: 211-216.
83. Haag-Wackernagel D. Die soziokulturellen Ursachen des Taubenproblems. *Dtsch tierärztl Wschr.* 1997;104: 52-57.
84. Haag-Wackernagel D, Moch H. Health hazards posed by feral pigeons. *J Infection.* 2004;48: 307-313.

85. Hajek P, Merle R, Käsbohrer A, Kreienbrock L, Ungemach FR. Antibiotikaeinsatz in der Nutztierhaltung - Ergebnisse der Machbarkeitsstudie "VetCAb". Deutsches Tierärztebl. 2010;4: 476-480.
86. Heritage J, M'Zali FH, Gascoyne-Binzi D, Hawkey PM. Evolution and spread of SHV extended-spectrum β -lactamases in gram-negative bacteria. J Antimicrob Chemother. 1999;44: 309-318.
87. Hernandez J, Bonnedahl J, Eliasson I, Wallensten A, Comstedt P, Johansson A, Granholm S, Melhus Å, Olsen B, Drobni M. Globally disseminated human pathogenic *Escherichia coli* of O25b-ST131 clone, harbouring *bla*_{CTX-M-15}, found in glaucous-winged gull at remote Commander Islands, Russia. Environ Microbiol Rep. 2010;2: 329-332.
88. Higgins J, Hohn C, Hornor S, Frana M, Denver M, Joerger R. Genotyping of *Escherichia coli* from environmental and animal samples. J Microbiol Methods. 2007;70: 227-235.
89. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. Facultatively Anaerobic Gram-Negative Rods. In: Hensyl WR, editor. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th ed. Baltimore, Maryland, USA: Williams & Wilkins; 1994. pp. 175-180.
90. Hoop RK, Glünder G. Coliseptikämie, Coligranulomatose. In: Siegmann O, Neumann U, Hrsg. Kompendium der Geflügelkrankheiten. 7. Auflage. Hannover: Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co.; 2012. pp. 233-236.
91. Hordijk J, Mevius DJ, Kant A, Bos MEH, Graveland H, Bosman AB, Hartskeerl CM, Heederik DJJ, Wagenaar JA. Within-farm dynamics of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* in veal calves: a longitudinal approach. J Antimicrob Chemother. 2013a;68: 2468-2476.
92. Hordijk J, Schoormans A, Kwakernaak M, Duim B, Broens E, Dierikx C, Mevius D, Wagenaar JA. High prevalence of fecal carriage of extended-spectrum β -

- lactamase/AmpC-producing Enterobacteriaceae in cats and dogs. *Front Microbiol.* 2013b;4: Article 242. doi: 103389/fmicb.2013.00242
93. Horton RA, Randall LP, Snary EL, Cockrem H, Lotz S, Wearing H, Duncan D, Rabie A, McLaren I, Watson E, La Ragione RM, Coldham NG. Fecal carriage and shedding density of CTX-M extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* in cattle, chickens, and pigs: implications for environmental contamination and food production. *Appl Environ Microbiol.* 2011;77: 3715-3719.
94. Izdebski R, Baraniak A, Fiett J, Adler A, Kazma M, Salomon J, Lawrence C, Rossini A, Salvia A, Vidal Samsó J, Fierro J, Paul M, Lerman Y, Malhotra-Kumar S, Lammens C, Goossens H, Hryniewicz W, Brun-Buisson C, Carmeli Y, Gniadkowski M. Clonal structure, extended-spectrum β -lactamases, and acquired AmpC-type cephalosporinases of *Escherichia coli* populations colonizing patients in rehabilitation centers in four countries. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57: 309-316.
95. Järhult JD, Stedt J, Gustafsson L. Zero prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in 300 breeding collared flycatchers in Sweden. *Infect Ecol Epidemiol.* 2013;3: 20909. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3724952/> (17.7.2014)
96. Jodas S, Hafez HM. Surveillance on antimicrobial resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella* isolates from poultry between 1993 and 1999. *Arch Geflügelk.* 2003;67: 16-21.
97. Jouini A, Vinué L, Slama KB, Sáenz Y, Klibi N, Hammami S, Boudabous A, Torres C. Characterization of CTX-M and SHV extended-spectrum β -lactamases and associated resistance genes in *Escherichia coli* strains of food samples in Tunisia. *J Antimicrob Chemother.* 2007;60: 1137-1141.
98. Kehrenberg C. Molekulare Grundlagen der Resistenz gegenüber Sulfonamiden, Streptomycin und Chloramphenicol bei Bakterien der Genera *Pasteurella* und *Mannheimia* unter besonderer Berücksichtigung der Identifizierung von

- Resistenzgenclustern. Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Grades einer Doktorin der Veterinärmedizin durch die Tierärztliche Hochschule Hannover. Hannover; 2002.
99. Knothe H, Shah P, Krcmery V, Antal M, Mitsuhashi S. Transferable resistance to cefotaxime, ceftiofur, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection*. 1983;11: 315-317.
100. Köhler C-D, Dobrindt U. What defines extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*? *Int J Med Microbiol*. 2011;301: 642-647.
101. Kola A, Kohler C, Pfeifer Y, Schwab F, Kühn K, Schulz K, Balau V, Breitbart K, Bast A, Witte W, Gastmeier P, Steinmetz I. High prevalence of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in organic and conventional retail chicken meat, Germany. *J Antimicrob Chemother*. 2012;67: 2631-2634.
102. Kösters J, Korbelt R. Zur Problematik der freilebenden Stadttauben. *Dtsch tierärztl Wschr*. 1997;104: 50-51.
103. Kozak GK, Boerlin P, Janecko N, Reid-Smith RJ, Jardine C. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolates from swine and wild small mammals in the proximity of swine farms and in natural environments in Ontario, Canada. *Appl Environ Microbiol*. 2009;75: 559-66.
104. Kresken M, Hafner D, Schmitz F-J, Wichelhaus TA. Für die Studiengruppe Resistenzsituation bei klinisch wichtigen Infektionserregern gegenüber Antibiotika in Deutschland und im mitteleuropäischen Raum. Bericht über die Ergebnisse einer multizentrischen Studie der Arbeitsgemeinschaft Empfindlichkeitsprüfungen & Resistenz der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V. aus dem Jahre 2007. *Antiinfectives Intelligence*, Rheinbach; 2009. <http://www.p-e-g.org/econtext/Berichte%20der%20Studien> (17.7.2014)

105. Kroker R, Scherkl R, Ungemach FR. Chemotherapie bakterieller Infektionen. In: Frey HH, Löscher W, Hrsg. Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin. 2. Auflage. Stuttgart: Enke Verlag; 2002. pp. 353-366.
106. Kroker R. Pharmaka zur Behandlung und Verhütung bakterieller Infektionen. In: Löscher W, Ungemach FR, Kroker R, Hrsg. Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren. 7. Auflage. Stuttgart: Parey in MVS Medizinverlage Stuttgart GmbH & Co. KG; 2006. pp. 234-278.
107. Kronthaler FX. Untersuchungen zur in-vitro-Antibiotikaempfindlichkeit aerober Bakterien beim Wirtschaftsgeflügel mittels Agardiffusionstest und Bouillon-Mikrodilutionsmethode. Inaugural-Dissertation zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München. München; 2009.
108. Laube H, Friese A, von Salviati C, Guerra B, Käsbohrer A, Kreienbrock L, Roesler U. Longitudinal monitoring of extended-spectrum beta-lactamase/AmpC-producing *Escherichia coli* at German broiler chicken fattening farms. Appl Environ Microbiol. 2013;79: 4815-4820.
109. Leverstein-van Hall MA, Dierikx CM, Cohen Stuart J, Voets GM, van den Munckhof MP, van Essen-Zandbergen A, Platteel T, Fluit AC, van de Sande-Bruinsma N, Scharinga J, Bonten MJM, Mevius DJ. Dutch patients, retail chicken meat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains. Clin Microbiol Infect. 2011;17: 873-880.
110. Levy SB, FitzGerald GB, Macone AB. Spread of antibiotic-resistant plasmids from chicken to chicken and from chicken to man. Nature. 1976;260: 40-42.
111. Literak I, Dolejska M, Radimersky T, Klimes J, Friedman M, Aarestrup FM, Hasman H, Cizek A. Antimicrobial-resistant faecal *Escherichia coli* in wild mammals in central Europe: multiresistant *Escherichia coli* producing extended-spectrum beta-lactamases in wild boars. J Appl Microbiol. 2010a;108: 1702-1711.

112. Literak I, Dolejska M, Janoszowska D, Hrusakova J, Meissner W, Rzyaska H, Bzoma S, Cizek A. Antibiotic-resistant *Escherichia coli* bacteria, including strains with genes encoding the extended-spectrum beta-lactamase and QnrS, in waterbirds on the Baltic Sea coast of Poland. *Appl Environ Microbiol.* 2010b;76: 8126-8134.
113. Livermore DM. β -lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev.* 1995;8: 557-584.
114. Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M, Nordmann P, Rossolini GM, Arlet G, Ayala J, Coque TM, Kern-Zdanowicz I, Luzzaro F, Poirel L, Woodford N. CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother.* 2007;59: 165-174.
115. Lob SH, Badal RE, Bouchillon SK, Hawser SP, Hackel MA, Hoban DJ. Epidemiology and susceptibility of gram-negative appendicitis pathogens: SMART 2008–2010. *Surg Infect.* 2013;14: 203-208.
116. Ma J, Liu J-H, Lv L, Zong Z, Sun Y, Zheng H, Chen Z, Zeng Z-L. Characterization of extended-spectrum β -lactamase genes found among *Escherichia coli* isolates from duck and environmental samples obtained on a duck farm. *Appl Environ Microbiol.* 2012;78: 3668-3673.
117. Machado E, Coque TM, Cantón R, Sousa JC, Peixe L. Antibiotic resistance integrons and extended-spectrum β -lactamases among Enterobacteriaceae isolates recovered from chickens and swine in Portugal. *J Antimicrob Chemother.* 2008;62: 296-302.
118. Machado E, Coque TM, Cantón R, Sousa JC, Peixe L. Commensal Enterobacteriaceae as reservoirs of extended-spectrum beta-lactamases, integrons, and *sul* genes in Portugal. *Front Microbiol.* 2013;4: Article 80. <http://www.frontiersin.org/Journal/10.3389/fmicb.2013.00080/full> (17.7.2014)

119. Madec J-Y, Poirel L, Saras E, Gourguechon A, Girlich D, Nordmann P, Haenni M. Non-ST131 *Escherichia coli* from cattle harbouring human-like *bla*_{CTX-M-15}-carrying plasmids. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67: 578-581.
120. Mare IJ. Incidence of R factors among gram-negative bacteria in drug-free human and animal communities. *Nature* 1968;220: 1046-1047.
121. Marrow J, Whittington JK, Mitchell M, Hoyer LL, Maddox C. Prevalence and antibiotic-resistance characteristics of *Enterococcus* spp. isolated from free-living and captive raptors in central Illinois. *J Wildl Dis.* 2009;45: 302-313.
122. Marshall BM, Levy SB. Food animals and antimicrobials: impacts on human health. *Clin Microbiol Rev.* 2011;24: 718-733.
123. Matsumoto Y, Ikeda F, Kamimura T, Yokota Y, Mine Y. Novel plasmid-mediated β -lactamase from *Escherichia coli* that inactivates oxyimino-cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother.* 1988;32: 1243-1246.
124. Mesa RJ, Blanc V, Blanch AR, Cortés P, González JJ, Lavilla S, Miró E, Muniesa M, Saco M, Tórtola MT, Mirelis B, Coll P, Llagostera M, Prats G, Navaro F. Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in different environments (humans, food, animal farms and sewage). *J Antimicrob Chemother.* 2006;58: 211-215.
125. Meyer E, Schwab F, Gastmeier P, Rueden H, Daschner FD. Surveillance of antimicrobial use and antimicrobial resistance in German intensive care units (SARI): a summary of the data from 2001 through 2004. *Infection.* 2006;34: 303-309.
126. Meyer E, Schwab F, Schroeren-Boersch B, Gastmeier P. Dramatic increase of third-generation cephalosporin-resistant *E. coli* in German intensive care units: secular trends in antibiotic drug use and bacterial resistance, 2001 to 2008. *Crit Care.* 2010;14: R113. doi: 10.1186/cc9062

127. Meyer E, Gastmeier P, Kola A, Schwab F. Pet animals and foreign travel are risk factors for colonisation with extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli*. *Infection*. 2012;40: 685-687.
128. Møller Aarestrup F. Association between the consumption of antimicrobial agents in animal husbandry and the occurrence of resistant bacteria among food animals. *Int J Antimicrob Agents*. 1999;12: 279-285.
129. Mora A, Herrera A, Mamani R, López C, Alonso MP, Blanco JE, Blanco M, Dahbi G, García-Garrote F, Pita JM, Coira A, Bernárdez MI, Blanco J. Recent emergence of clonal group O25b:K1:H4-B2-ST131 *ibeA* strains among *Escherichia coli* poultry isolates, including CTX-M-9-producing strains, and comparison with clinical human isolates. *Appl Environ Microbiol*. 2010;76: 6991-6997.
130. Nakamura M, Fukazawa M, Yoshimura H, Koeda T. Drug resistance and R plasmids in *Escherichia coli* strains isolated from imported pet birds. *Microbiol Immunol*. 1980;24: 1131-1138.
131. Nakamura M, Yoshimura H, Koeda T. Drug resistance and R plasmids of *Escherichia coli* strains isolated from six species of wild birds. *Nihon Juigaku Zasshi*. 1982;44: 465-471.
132. Nguyen Y, Sperandio V. Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) pathogenesis. *Front Cell Infect Microbiol*. 2012;2: 90. doi: 10.3389/fcimb.2012.00090
133. Nicolas-Chanoine M-H, Gruson C, Bialek-Davenet S, Bertrand X, Thomas-Jean F, Bert F, Moyat M, Meiller E, Marcon E, Danchin N, Noussair L, Moreau R, Leflon-Guibout V. 10-fold increase (2006–11) in the rate of healthy subjects with extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* faecal carriage in a Parisian check-up centre. *J Antimicrob Chemother*. 2013;68: 562-568.
134. Noll I, Schweickert B, Abu Sin M, Feig M, Claus H, Eckmanns T. Daten zur Antibiotikaresistenzlage in Deutschland - Vier Jahre Antibiotika-Resistenz-Surveillance (ARS). *Bundesgesundheitsbl*. 2012;55: 1370-1376.

135. Ørskov I, Ørskov F, Jann B, Jann K. Serology, chemistry, and genetics of O and K antigens of *Escherichia coli*. *Bacteriol Rev.* 1977;41: 667-710.
136. Ørskov F, Ørskov I. Serotyping of *Escherichia coli*. In: Bergan T, editor. *Methods in Microbiology*. Volume 14. London: Academic Press INC. LTD; 1984. pp. 43-112.
137. Overdeest I, Willemsen I, Rijnsburger M, Eustace A, Xu L, Hawkey P, Heck M, Savelkoul P, Vandenbroucke-Grauls C, van der Zwaluw K, Huijsdens X, Kluytmans J. Extended-spectrum β -lactamase genes of *Escherichia coli* in chicken meat and humans, the Netherlands. *Emerg Infect Dis.* 2011;17: 1216-1222.
138. Paterson DL, Rossi F, Baquero F, Hsueh P-R, Woods GL, Satishchandran V, Snyder TA, Harvey CM, Tepler H, DiNubile MJ, Chow JW. *In vitro* susceptibilities of aerobic and facultative gram-negative bacilli isolated from patients with intra-abdominal infections worldwide: the 2003 Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). *J Antimicrob Chemother.* 2005;55: 965-973.
139. Pfeifer Y, Cullik A, Witte W. Resistance to cephalosporins and carbapenems in gram-negative bacterial pathogens. *Int J Med Microbiol.* 2010;300: 371-379.
140. Philippon A, Labia R, Jacoby G. Extended-spectrum β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 1989;33: 1131-1136.
141. Picard B, Garcia JS, Gouriou S, Duriez P, Brahimi N, Bingen E, Elion J, Denamur E. The link between phylogeny and virulence in *Escherichia coli* extraintestinal infection. *Infect Immun.* 1999;67: 546-553.
142. Piérard D, De Greve H, Haesebrouck F, Mainil J. O157:H7 and O104:H4 Verotoxin-producing *Escherichia coli* outbreaks: respective role of cattle and humans. *Vet Res.* 2012;43: 13. doi: 10.1186/1297-9716-43-13

143. Pinto L, Radhouani H, Coelho C, da Costa PM, Simões R, Brandão RML, Torres C, Igrejas G, Poeta P. Genetic detection of extended-spectrum β -lactamase-containing *Escherichia coli* isolates from birds of prey from Serra da Estrela natural reserve in Portugal. *Appl Environ Microbiol.* 2010;76: 4118-4120.
144. Poeta P, Radhouani H, Igrejas G, Gonçalves A, Carvalho C, Rodrigues J, Vinué L, Somalo S, Torres C. Seagulls of the Berlengas natural reserve of Portugal as carriers of fecal *Escherichia coli* harboring CTX-M and TEM extended-spectrum beta-lactamases. *Appl Environ Microbiol.* 2008;74: 7439-7441.
145. Poeta P, Radhouani H, Pinto L, Martinho A, Rego V, Rodrigues R, Gonçalves A, Rodrigues J, Estepa V, Torres C, Igrejas G. Wild boars as reservoirs of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli* of different phylogenetic groups. *J Basic Microbiol.* 2009;49: 584-588.
146. Polsfuss S, Bloemberg GV, Giger J, Meyer V, Hombach M. Comparison of European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) and CLSI screening parameters for the detection of extended-spectrum β -lactamase production in clinical Enterobacteriaceae isolates. *J Antimicrob Chemother.* 2011;67: 159-166.
147. Radhouani H, Pinto L, Coelho C, Gonçalves A, Sargo R, Torres C, Igrejas G, Poeta P. Detection of *Escherichia coli* harbouring extended-spectrum β -lactamases of the CTX-M classes in faecal samples of common buzzards (*Buteo buteo*). *J Antimicrob Chemother.* 2010;65: 171-173.
148. Radhouani H, Poeta P, Gonçalves A, Pacheco R, Sargo R, Igrejas G. Wild birds as biological indicators of environmental pollution: antimicrobial resistance patterns of *Escherichia coli* and enterococci isolated from common buzzards (*Buteo buteo*). *J Med Microbiol.* 2012;61: 837-843.
149. Radhouani H, Silva N, Poeta P, Torres C, Correia S, Igrejas G. Potential impact of antimicrobial resistance in wildlife, environment, and human health. *Front Microbiol.* 2014;5: Article 23. doi: 10.3389/fmicb.2014.00023

150. Radimersky T, Frolkova P, Janoszowska D, Dolejska M, Svec P, Roubalova E, Cikova P, Cizek A, Literak I. Antibiotic resistance in faecal bacteria (*Escherichia coli*, *Enterococcus* spp.) in feral pigeons. *J Appl Microbiol.* 2010;109: 1687-1695.
151. Ravelhofer-Rotheneder K. Zur derzeitigen Resistenzlage von klinisch bedeutsamen Bakterienisolaten aus verschiedenen Vogelspezies. *Tierärztl Prax.* 1999;27 (K): 263-268.
152. Reich F, Atanassova V, Klein G. Extended-spectrum β -lactamase- and AmpC-producing enterobacteria in healthy broiler chickens, Germany. *Emerg Infect Dis.* 2013;19: 1253-1259.
153. Reinthaler FF, Feierl G, Galler H, Haas D, Leitner E, Mascher F, Melkes A, Posch J, Winter I, Zarfel G, Marth E. ESBL-producing *E. coli* in Austrian sewage sludge. *Water Res.* 2010;44: 1981-1985.
154. RESET. Forschungsverbund RESET: Forschung an resistenten Bakterien in Nutztieren: Vorläufige Ergebnisse aus dem Forschungsverbund RESET: ESBL and (fluoro)quinolone resistance in Enterobacteriaceae, Ergänzende Informationen zu vorläufigen Ergebnissen aus dem Forschungsverbund RESET, Hannover, Berlin; 2012 (Stand: 25. Januar 2012) <http://www.reset-verbund.de/publikationen.htm> (17.7.2014)
155. Rice LB, Bonomo RA. Mechanisms of Resistance to Antibacterial Agents. In: Murray PR, Baron EJ, Landry ML, Jorgensen JH, Pfaller MA, Hrsg. *Manual of Clinical Microbiology.* 9th Edition. Volume 1. Washington, D.C.: ASM Press; 2007. pp. 1114-45.
156. RKI. Robert-Koch-Institut. ESBL und AmpC: β -Laktamasen als eine Hauptursache der Cephalosporin-Resistenz bei Enterobakterien. *Epidemiologisches Bulletin.* 2007;28: 247-250.

157. RKI. Robert-Koch-Institut. Definition der Multiresistenz gegenüber Antibiotika bei gramnegativen Stäbchen im Hinblick auf Maßnahmen zur Vermeidung der Weiterverbreitung. *Epidemiologisches Bulletin*. 2011;36: 337-339.
158. RKI. Robert-Koch-Institut. Hygienemaßnahmen bei Infektionen oder Besiedlung mit multiresistenten gramnegativen Stäbchen - Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut (RKI). *Bundesgesundheitsbl.* 2012;55: 1311-1354.
159. Rodrigues C, Machado E, Peixe L, Novais Â. Inc11/ST3 and IncN/ST1 plasmids drive the spread of *bla*_{TEM-52} and *bla*_{CTX-M-1/-32} in diverse *Escherichia coli* clones from different piggeries. *J Antimicrob Chemother.* 2013;68: 2245-2248.
160. Rogers BA, Sidjabat HE, Paterson DL. *Escherichia coli* O25b-ST131: a pandemic, multiresistant, community-associated strain. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66: 1-14.
161. Rolland RM, Hausfater G, Marshall B, Levy SB. Antibiotic-resistant bacteria in wild primates: increased prevalence in baboons feeding on human refuse. *Appl Environ Microbiol.* 1985;49: 791-794.
162. Roth C. Untersuchungen zur Überlebensfähigkeit von enterohämorrhagischen *Escherichia coli* (EHEC) in der Umwelt sowie zum Vorkommen in Kotproben von Wasservögeln. Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Medizin durch die Fakultät für Medizin der Technischen Universität München. München; 2004.
163. Saladin M, Cao VTB, Lambert T, Donay J-L, Herrmann J-L, Ould-Hocine Z, Verdet C, Delisle F, Philippon A, Arlet G. Diversity of CTX-M β -lactamases and their promoter regions from Enterobacteriaceae isolated in three Parisian hospitals. *FEMS Microbiol Lett.* 2002;209: 161-168.
164. Sato G, Oka C, Asagi M, Ishiguro N. Detection of conjugative R plasmids conferring Chloramphenicol resistance in *Escherichia coli* isolated from

- domestic and feral pigeons and crows. Zentralbl Bakteriolog Orig A. 1978;241: 407-417.
165. Schink A-K, Kadlec K, Schwarz S. Analysis of *bla*_{CTX-M}-carrying plasmids from *Escherichia coli* isolates collected in the BfT-GermVet study. Appl Environ Microbiol. 2011;77: 7142-7146.
166. Schink A-K, Kadlec K, Kaspar H, Mankertz J, Schwarz S. Analysis of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* isolates collected in the GERM-Vet monitoring programme. J Antimicrob Chemother. 2013;68: 1741-1749.
167. Schmid A, Messelhäuser U, Hörmansdorfer S, Preikschat P, Käsbohrer A, Mansfeld R. Vorkommen von ESBL-*E. coli* in bayerischen Rinderbeständen. In: Tagungsband - Verbraucherschutz in DART: Forschungsergebnisse und –perspektiven zu Antibiotikaresistenzen. Berlin, 22. und 23. Mai 2012.
168. Schmid A, Hörmansdorfer S, Messelhäuser U, Käsbohrer A, Sauter-Louis C, Mansfeld R. Prevalence of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* on bavarian dairy and beef cattle farms. Appl Environ Microbiol. 2013;79: 3027-3032.
169. Schwaiger K, Huther S, Hölzel C, Kämpf P, Bauer J. Prevalence of antibiotic-resistant Enterobacteriaceae isolated from chicken and pork meat purchased at the slaughterhouse and at retail in Bavaria, Germany. Int J Food Microbiol. 2012;154: 206-211.
170. Schwarz S, Alesík E, Grobbel M, Lübke-Becker A, Wallmann J, Werckenthin C, Wieler LH. The BfT-GermVet monitoring program – aims and basics. Berl Münch Tierärztl Wochenschr. 2007;120: 357-362.
171. Schweickert B, Kern WV, de With K, Meyer E, Berner R, Kresken M, Fellhauer M, Abele-Horn M, Eckmanns T. Antibiotika-Verbrauchs-Surveillance. Ausführungen und Erläuterungen zur Bekanntmachung „Festlegung der Daten

- zu Art und Umfang des Antibiotika-Verbrauchs in Krankenhäusern nach § 23 Abs. 4 Satz 2 IfSG“. Bundesgesundheitsbl. 2013;56: 903-912.
172. Selbitz HJ. Bakterielle Krankheiten der Tiere. In: Rolle M, Mayr A, Hrsg. Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. 7. Auflage. Stuttgart: Enke Verlag; 2002. pp. 417-462.
173. Silva VL, Nicoli JR, Nascimento TC, Diniz CG. Diarrheagenic *Escherichia coli* strains recovered from urban pigeons (*Columba livia*) in Brazil and their antimicrobial susceptibility patterns. Curr Microbiol. 2009;59: 302-308.
174. Silva N, Igrejas G, Rodrigues P, Rodrigues T, Gonçalves A, Felgar AC, Pacheco R, Gonçalves D, Cunha R, Poeta P. Molecular characterization of vancomycin-resistant enterococci and extended-spectrum β -lactamase-containing *Escherichia coli* isolates in wild birds from the Azores Archipelago. Avian Pathol. 2011;40: 473-479.
175. Simões RR, Poirel L, Da Costa PM, Nordmann P. Seagulls and beaches as reservoirs for multidrug-resistant *Escherichia coli*. Emerg Infect Dis. 2010;16: 110-112.
176. Singer D. Was fliegt denn da? 2. Auflage. Stuttgart: Franckh-Kosmos Verlags GmbH & Co. KG.; 2006.
177. Smet A, Martel A, Persoons D, Dewulf J, Heyndrickx M, Cloeckaert A, Praud K, Claeys G, Catry B, Herman L, Haesebrouck F, Butaye P. Comparative analysis of extended-spectrum- β -lactamase-carrying plasmids from different members of Enterobacteriaceae isolated from poultry, pigs and humans: evidence for a shared β -lactam resistance gene pool? J Antimicrob Chemother. 2009;63: 1286-1288.
178. Smet A, Martel A, Persoons D, Dewulf J, Heyndrickx M, Herman L, Haesebrouck F, Butaye P. Broad-spectrum β -lactamases among Enterobacteriaceae of animal origin: molecular aspects, mobility and impact on public health. FEMS Microbiol Rev. 2010;34: 295-316.

179. Stedt J, Bonnedahl J, Hernandez J, McMahon BJ, Hasan B, Olsen B, Drobni M, Waldenström J. Antibiotic resistance patterns in *Escherichia coli* from gulls in nine European countries. *Infect Ecol Epidemiol.* 2014;4: 21565. <http://dx.doi.org/10.3402/iee.v4.21565> (17.7.2014)
180. Tausova D, Dolejska M, Cizek A, Hanusova L, Hrusakova J, Svoboda O, Camlik G, Literak I. *Escherichia coli* with extended-spectrum β -lactamase and plasmid-mediated quinolone resistance genes in great cormorants and mallards in central Europe. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67: 1103-1107.
181. Tschäpe H, Reissbrodt R, Prager R. Gramnegative aerobe und fakultativ anaerobe Stäbchen. In: Neumeister B, Geiss HK, Braun RW, Kimming P, Hrsg. *Mikrobiologische Diagnostik. 2. Auflage.* Stuttgart: Thieme Verlag KG; 2009. pp. 431-448.
182. Tsubokura M, Matsumoto A, Otsuki K, Animas SB, Sanekata T. Drug resistance and conjugative R plasmids in *Escherichia coli* strains isolated from migratory waterfowl. *J Wildl Dis.* 1995;31: 352-357.
183. Valentin-Weigand P. Antimikrobielle Wirkstoffe. In: Selbitz HJ, Truyen U, Valentin-Weigand P, Hrsg. *Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. 9. Auflage.* Stuttgart: Enke Verlag; 2011. pp. 125-129.
184. Valenza G, Nickel S, Pfeiffer Y, Lehner-Reindl V, Höller C. Trägertum von Extended-Spectrum- β -Laktamase (ESBL)- bildenden *E. coli* in der Allgemeinbevölkerung. In: *Tagungsband - Verbraucherschutz in DART: Forschungsergebnisse und –perspektiven zu Antibiotikaresistenzen.* Berlin, 22. und 23 Mai 2012.
185. Van den Bogaard AE, Stobberingh EE. Epidemiology of resistance to antibiotics - links between animals and humans. *Int J Antimicrob Agents.* 2000;14: 327-335.

186. Van der Bij AK, Peirano G, Goessens WHF, van der Vorm ER, van Westreenen M, Pitout JDD. Clinical and molecular characteristics of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* causing bacteremia in the Rotterdam area, Netherlands. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55: 3576-3578.
187. Van Rennings L, von Münchhausen C, Honscha W, Otilie H, Käsbohrer A, Kreienbrock L. VETCAB. Veterinary Consumption of Antibiotics. Repräsentative Verbrauchsmengenerfassung von Antibiotika in der Nutztierhaltung. Kurzbericht über die Ergebnisse der Studie „VetCAB-Pilot“. Fachinformation. (Stand: 9. Juli 2013); 2013. www.vetcab.de/fachinformation_vetcab_20130709.pdf (17.7.2014)
188. VETIDATA. Veterinärmedizinischer Informationsdienst für Arzneimittelanwendung, Toxikologie und Arzneimittelrecht; 2014. <http://www.vetidata.de> (4.7.2014)
189. Wallensten A, Hernandez J, Ardiles K, González-Acuña D, Drobni M, Olsen B. Extended spectrum beta-lactamases detected in *Escherichia coli* from gulls in Stockholm, Sweden. *Infect Ecol Epidemiol.* 2011;1: 7030. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3426345/> (17.7.2014)
190. Wallmann J, Schröer U, Kaspar H. Quantitative resistance level (MIC) of bacterial pathogens (*Escherichia coli*, *Pasteurella multocida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*) isolated from chickens and turkeys: National Resistance Monitoring by the BVL 2004/2005. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr.* 2007;120: 452-463.
191. Wallmann J, Reimer I, Bender A, Römer A, Heberer T. Abgabemengenerfassung antimikrobiell wirksamer Stoffe in Deutschland 2012. Auswertung der nach DIMDI-AMV eingereichten Daten. *Deutsches Tierärzteblatt.* 2014;2: 184-186.
192. Wang J, Stephan R, Karczmarczyk M, Yano O, Hächler H, Fanning S. Molecular characterization of *bla*_{ESBL}-harboring conjugative plasmids identified in multi-drug resistant *Escherichia coli* isolated from food-producing animals and

- healthy humans. *Front Microbiol.* 2013;4: article 188. doi: 10.3389/fmicb.2013.00188
193. WHO 2014. Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance. World Health Organization: Switzerland; 2014. Available: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112642/1/9789241564748_eng.pdf?ua=1&ua=1
194. Wieler LH, Ewers C. Gramnegative fakultativ anaerobe Stäbchenbakterien. Gattung *Escherichia*. In: Selbitz HJ, Truyen U, Valentin-Weigand P, Hrsg. Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. 9. Auflage. Stuttgart: Enke Verlag; 2011. pp. 187-197.
195. Wieler LH, Ewers C, Guenther S, Walther B, Lübke-Becker A. Methicillin-resistant staphylococci (MRS) and extended-spectrum beta-lactamases (ESBL)-producing Enterobacteriaceae in companion animals: nosocomial infections as one reason for the rising prevalence of these potential zoonotic pathogens in clinical samples. *Int J Med Microbiol.* 2011;301: 635-641.
196. Witte W, Mielke M. β -Laktamasen mit breitem Wirkungsspektrum. Grundlagen, Epidemiologie, Schlussfolgerungen für die Prävention. Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz. 2003;46: 881-890.
197. Witte W. Antibiotic resistance. *Int J Med Microbiol.* 2013;303: 285-286.
198. Wüst W, Hrsg. Avifauna Bavariae. Die Vogelwelt Bayerns im Wandel der Zeit. Band I: Gaviiformes Seetaucher bis Charadriiformes Wat-, Möven- und Alkenvögel. 2. Auflage, München: Ornithologische Gesellschaft in Bayern; 1982.
199. Wüst W, Hrsg. Avifauna Bavariae. Die Vogelwelt Bayerns im Wandel der Zeit. Band II: Pteroclitiformes Flughühner bis Passeriformes Sperlingsvögel. 1. Auflage, München: Ornithologische Gesellschaft in Bayern; 1986.

200. Xu L, Ensor V, Gossain S, Nye K, Hawkey P. Rapid and simple detection of *bla*_{CTX-M} genes by multiplex PCR assay. *J Med Microbiol.* 2005;54: 1183-1187.

201. Yao JDC, Moellering Jr. RC. Antibacterial Agents. In: Murray PR, Baron EJ, Landry ML, Jorgensen JH, Pfaller MA, ed. *Manual of Clinical Microbiology.* Volume 1. 9th Edition. Washington, D.C. USA: ASM Press; 2007. pp. 1077-1084.

202. Zarfel G, Galler H, Feierl G, Haas D, Kittinger C, Leitner E, Grisold AJ, Mascher F, Posch J, Pertschy B, Marth E, Reinthaler FF. Comparison of extended-spectrum β -lactamase (ESBL) carrying *Escherichia coli* from sewage sludge and human urinary tract infection. *Environ Pollut.* 2013;173: 192-199.

203. Zurfluh K, Hächler H, Nüesch-Inderbinnen M, Stephan R. Characteristics of extended-spectrum β -lactamase- and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae isolates from rivers and lakes in Switzerland. *Appl Environ Microbiol.* 2013;79: 3021-3026.

10. ANHANG

Tabelle A1: verwendete Wirkstoffe, Wirkstoffkonzentrationen (μg) und Grenzwerte (mm) für Disk-Diffusions-Test

Wirkstoff	Menge	sensibel	intermediär	resistent	Referenz
Ampicillin	10	17	14 - 16	13	CLSI 2008
Amoxicillin-Clavulansäure	20/ 10	18	14 - 17	13	CLSI 2008
Ceftazidim	30	18	15 - 17	14	CLSI 2008
Enrofloxacin	5	23	17 - 22	16	CLSI 2008
Marbofloxacin	5	20	15 - 19	14	CLSI 2008
Piperacillin-Tazobactam	30/ 10	22	15 - 21	14	DIN 2000
Doxycyclin	30	16	13 - 15	12	CLSI 2006
Sulfamethoxazol-Trimethoprim	23,7/ 1,25	16	11 - 15	10	CLSI 2008

Tabelle A2: Übersicht aller antibiotikaresistenten *E. coli*-Isolate aus Wildvögeln (inclusive intermediäre Isolate)

Isolat Nr.	Vogelspezies	Klinische Diagnose	phänotypische Resistenz	phänotypisch intermediär
23067	Amsel	Trauma	SXT	-
23243	Amsel	ZNS Symptome	SXT	-
24031	Amsel	Bisswunde, Parasiteninfektion	SXT	-
24263	Amsel	Katzenbiss	-	AMP
26158	Amsel	Katzenbiss	-	AMP
23458	Amsel	Katzenbiss	SXT	AMP, AMC
24125	Türkentaube	Katzenbiss	SXT	-
23986	Stadttaube	Fehlbildung der Ständer	SXT	-
23979	Stadttaube	Parasiteninfektion	AMP, DOX, SXT	ENR, PIT, AMC
24871	Stadttaube	Parasiteninfektion	AMP, DOX	-
25136	Stadttaube	Bisswunde, Parasiteninfektion	AMP, DOX, SXT	AMC
25295	Stadttaube	Schnittwunden	SXT	-
25708	Stadttaube	Parasiteninfektion	AMP, DOX	-
26236	Stadttaube	Fraktur	AMP	-
25244	Stadttaube	Schnittwunden, Parasiteninfektion	AMP, DOX, SXT	ENR
22814	Stadttaube	Jungvogel	-	AMP
23312	Stadttaube	Parasiteninfektion	-	AMP
23724	Stadttaube	Fraktur	-	AMP
23849	Stadttaube	Trichomonadenabszess	-	AMP
24640	Stadttaube	Schusswunde	-	AMP
24916	Stadttaube	Jungvogel	-	SXT
25738	Stadttaube	Fraktur	-	AMP, SXT
23119	Graugans	Trauma	SXT	-
24513	Graugans	Fraktur	AMP, ENR, MAR	AMC
23435	Stockente	Parasiteninfektion	SXT	PIT, AMP
23508	Stockente	Trauma	ENR, MAR	AMP
24307	Stockente	Hüftgelenksluxation	SXT	AMP, PIT
25883	Stockente	Fraktur	AMP, AMC, DOX, SXT, ENR/MAR	-
25104	Blesshuhn	Fraktur	AMP, DOX, ENR/MAR, SXT, CTX/CAZ	-
25828	Höckerschwan	Trauma	SXT	AMP, PIT
26518	Höckerschwan	Trauma	AMP	AMC
25082	Höckerschwan	Fehlbildung Hüftgelenk	-	DOX
25465	Höckerschwan	Trauma	-	AMP, AMC
24980	Haubentaucher	Jungvogel	-	AMP
23033	Turmfalke	Parasiteninfektion	SXT	-
23192	Turmfalke	Parasiteninfektion	DOX	-

23340	Turmfalke	Jungvogel	AMP, DOX	AMC
23536	Turmfalke	Trauma	AMP, SXT	AMC
23689	Turmfalke	Trauma	DOX	AMP
24304	Turmfalke	Fraktur	SXT, DOX	-
23308	Turmfalke	Jungvogel	-	AMP
23957	Turmfalke	Trauma, Parasiteninfektion	-	AMP
23840	Turmfalke	Fraktur	-	AMP, AMC
24167	Wanderfalke	Sohlenballengeschwür, Parasiteninfektion	SXT, DOX	AMP
25702	Mäusebussard	Trauma, Erblindung	SXT	-
25222	Mäusebussard	Trauma, Fraktur	SXT	-
24309	Mäusebussard	Trauma	-	AMP
23729	Mäusebussard	Fraktur	-	AMP
25236	Waldkauz	Trauma, Unterkühlung	AMP, AMC	-
25829	Habicht	Fraktur	AMP, DOX, SXT	-
25419	Habicht	Trauma, Parasiteninfektion	-	AMP, AMC
24377	Sperber	Fraktur	-	AMP
24537	Sperber	Fraktur	-	AMP
26395	Waldkauz	Jungvogel	-	AMP
26396	Waldkauz	Trauma, Emphysem	-	AMP
26397	Waldkauz	Jungvogel	-	AMP

Tabelle A3: Zusammenfassung der in dieser Arbeit durchgeführten PCR-Termalprofile.

ESBL-Gruppe (CTX-M, SHV, TEM)	95°C (15min); 35 x 94°C (30s), 55°C (30s), 72°C (1min); 72°C (7min)	XU et al. 2005 COQUE et al. 2002 GRIMM et al. 2004
Gesamtes CTX-M Gen	95°C (15min); 50 x 94°C (30s), 62°C (30s), 72°C (1min); 72°C (7min)	JOUINI et al. 2007
Genetic environment	95°C 15min); 40 x 94°C (30s), 55°C (30s), 72°C (1min); 72°C (7min)	DHANJI et al. 2011c SALADIN et al. 2002
Phylogenetische Gruppe	95°C (15min); 35 x 94°C (30s), 60°C (30s), 72°C (45s); 72°C (7min)	CLERMONT et al. 2000 HIGGINS et al. 2007 GORDON et al 2008
H-Antigentyp	95°C (15min); 50 x 94°C (30s), 60°C (1min), 72°C (2min); 72°C (7min)	FIELDS et al. 1997

Tabelle A4 – A4e: Pipettierschemata für alle in dieser Arbeit durchgeführten PCRs. Die Mengenangaben entsprechen jeweils einem Ansatz (A4: ESBL-Gruppen SHV und CTX-M; A4a: ESBL Gruppe TEM; A4b: phylogenetische Gruppe; A4c: H-Antigen; A4d: Gesamtsequenz CTX-M; A4e: „genetic environment“)

Tabelle A4:

10 x Puffer (15 mM MgCl ₂)	2,5 µl
Primer 1 (50 µM)	0,2 µl
Primer 2 (50 µM)	0,2 µl
dNTP-Mix (25 mM each)	0,2 µl
H ₂ O	19,275 µl
HotStar Taq-Polymerase (5u/µl)	0,125 µl
DNA	2,5 µl

Tabelle A4a:

10 x Puffer (15 mM MgCl ₂)	2,5 µl
MgCl ₂ (25mM)	1,0 µl
Primer 1 (50 µM)	0,2 µl
Primer 2 (50 µM)	0,2 µl
dNTP-Mix (25 mM each)	0,125 µl
H ₂ O	18,35 µl
HotStar Taq-Polymerase (5u/µl)	0,125 µl
DNA	2,5 µl

Tabelle A4b:

10 x Puffer (15 mM MgCl ₂)	2,5 µl
Primer ChuA.1 (50 µM)	0,2 µl
Primer ChuA.2 (50 µM)	0,2 µl
Primer YjaAC2.1 (50 µM)	0,8 µl
Primer YjaAC2.2 (50 µM)	0,8 µl
Primer TspE4C2.1(50 µM)	0,2 µl
Primer TspEC.2 (50 µM)	0,2 µl
dNTP-Mix (25 mM each)	0,2 µl
H ₂ O	17,275 µl
HotStar Taq-Polymerase (5u/µl)	0,125 µl
DNA	2,5 µl

Tabelle A4c:

10 x Puffer (15 mM MgCl ₂)	2,5 µl
Primer 1 (F-Flic1) (50 µM)	0,5 µl
Primer 2 (R-Flic2) (50 µM)	0,5 µl
dNTP-Mix (25µM each)	0,2 µl
H ₂ O	18,675 µl
HotStar Taq-Polymerase (5u/µl)	0,125 µl
DNA	2,5 µl

Tabelle A4d:

10 x Puffer (15 mM MgCl ₂)	2,5 µl
Primer 1 (50 µM)	0,2 µl
Primer 2 (50 µM)	0,2 µl
dNTP-Mix (25µM each)	0,2 µl
H ₂ O	19,275 µl
HotStar Taq-Polymerase (5u/µl)	0,125 µl
DNA	2,5 µl

Tabelle A4e:

10 x Puffer (15 mM MgCl ₂)	2,5 µl
Primer 1 (50 µM)	0,2 µl
Primer 2 (50 µM)	0,2 µl
dNTP-Mix (25µM each)	0,2 µl
H ₂ O	19,28 µl
HotStar Taq-Polymerase (5u/µl)	0,125 µl
DNA	2,5 µl

Tabelle A5: Klinische Untersuchung und Testergebnisse aller (257) in diese Arbeit einbezogenen Wildvögel (Vögel nach Speziesgruppen und Resistenzbild sortiert)

Nr.	Klinik Nr.	Datum	Vogel spezies	adult/ juvenil	Einfrierung Grund	Allg. Bef.	EZ	Klinische Untersuchung	Diagnose	EMB	API 20E	Disk-Diffusion (mm)	ESBL (mm)	Pathologische Untersuchung bei Tod
2	22784	17.05.12	Amsel	adult	benutzt, rechtes Bein nicht	gut	2	rechtes Interarsalgelenk geschwollen, Muskeltrophie Brust: kleines Hämatom (alter Katzenbiss)	Gelenkentzündung, Muskeltrophie	neg.				
7	22897	24.05.12	Amsel	juvenil	Unterkühlung, red. Ernährungszustand (EZ) aus Nest gefallen	gut	2	red. Ernährungszustand und Allgemeinzustand (AB), blasse Schleimhäute	Jungvogel	neg.				
11	22962	28.05.12	Amsel	juvenil	abgestürzt, Atemnot	mgr. red.	3	Jungvogel, fedrlos, praller Bauch	Jungvogel, red. AB, Trauma	neg.				
20	23259	16.06.12	Amsel	adult	blutende Wunde am Bein	x	3	flugunfähig, massive Dyspnoe	V.a. Anflugtrauma	neg.				
29	23358	23.06.12	Amsel	adult	blutende Wunde am Bein	mgr. red.	3	linkes Bein über Fußwurzelgelenk abgerissen, blutend	Tibiotarsusfraktur links	neg.				
34	23430	29.06.12	Amsel	adult	stehunfähig	mgr. red.	3	stehunfähig, Flügelrücken Röntgen: Gastrointestinaltrakt dilatiert, verändert	red. AB, Stehunfähig Parasitose	neg.				Herz, Leber, Lunge: E.coli negativ
62	23765	23.07.12	Amsel	juvenil	blutende Verletzung	mgr. red.	x	blutende Wunden am Kopf, OD und Ohr, Ektoparasiten	Trauma, Parasitose	neg.				
53	23830	28.07.12	Amsel	juvenil	V.a. Katzenbiss	mgr. red.	2	Jungvogel, Endoparasiten	Parasitose	neg.				
69	24133	17.08.12	Amsel	juvenil	von Katze gebracht	mgr. red.	1	Stoß fehlt, leuchtlos Atemgeräusch, OD kein Pupillarreflex	V.a. Linsenluxation posterior OD	neg.				
110	25027	09.11.12	Amsel	adult	ließ sich fangen	gut	3	zwei oberflächliche Wunden am Bauch, Endoparasiten	V. a. Katzenbiss, Parasiten	neg.				
190	25923	18.02.13	Amsel	adult	gegen Fensterscheibe geflogen	mgr. red.	1	Greifreflex beidseits reduziert, Abschürfung linke Schulter	Anflugtrauma	neg.				
198	25953	25.02.13	Amsel	adult	Flügelverletzung	x	x	offene Metacarpusfraktur rechts	Metacarpusfraktur	neg.				
201	26044	27.02.13	Amsel	adult	flugunfähig	mgr. red.	3	linker Flügel hängt, mgr. Störung des Zentralsystems (ZNS) Ophthaltonus, Gleichgewichtstörungen	V.a. Anflugtrauma	neg.				
219	26109	09.03.13	Amsel	adult	V. a. Katzenbiss	x	x	Tod bei Einfrierung	Katzenbiss	neg.				Herz, Leber, Lunge: E. coli negativ
220	26177	11.03.13	Amsel	adult	von Katze gebracht	mgr. red.	3	flugunfähig, fehlende Stoßfedern, Emphysem Abdomen bds., Röntgen: Schultergürtelfraktur (SGF)	Katzenbiss, SGF	neg.				
225	26220	14.03.13	Amsel	adult	stehunfähig	mgr. red.	x	rechts fehlender Greifreflex, Tarsalgelenk abnormal beweglich, Stoßfedern fehlen, Bisswunde an linker Körperseite	Katzenbiss, Tarsalgelenksfraktur	neg.				

Tabelle A5: Fortsetzung

247	25426	02.04.13	Amsel	adult	flugunfähig	x	x	linker Flügel hängt, Krepitation Schultergelenk, Röntgen: SGF, Canalis Irosseus zerstört	SGF, V.a. Anflugtrauma	neg.			
75	24263	29.08.12	Amsel	adult	von Katze gebracht	ggf. red.	2	Wunden an rechter Halsseite und linker Flügelspitze	Katzenbiss	pos.	E. coli	I - AMC	neg.
216	26158	08.03.13	Amsel	adult	von Katze gebracht	ggf. red.	3	Flügel links blutige Wunden, multiple Frakturen, SGF	Katzenbiss	pos.	E. coli	I - AMC, CAZ Z7	neg.
14	23067	03.06.12	Amsel	adult	Lähmung	x	x	kein Greifreflex, Beine gelähmt, stehunfähig, Wunde am Rücken	Lähmung	pos.	E. coli	R - SXT	neg. Herz, Leber, Lunge: E. coli positiv Resistenztest: alle sensibel
19	23243	15.06.12	Amsel	adult	ZNS Symptome	(gut)	3	ZNS Symptome, Endoparasiten, blasse Schleimhäute	V.a. Trauma, Parasitose	pos.	E. coli	R - SXT	neg.
66	24031	16.08.12	Amsel	adult	saß auf Terrasse, ließ sich fangen	hgr. red.	1	Seitenlage, Schnappatmung, Bauch sehr voll, krustige, oberflächliche Wunde, Legeschwiele, Exoparasiten	Parasitenbefall, hgr. gestörtes AB	pos.	E. coli	R - SXT	neg. Herz, Leber, Lunge: E. coli negativ
1	22630	16.05.12	Amsel	juvenil	Jungvogel Partnervogel mit Frakturen	mgr. red.	2	Beißge im Schnabel, Endoparasiten	Parasitose	pos.	E. coli	S - alle	
5	22884	23.05.12	Amsel	adult	flugunfähig	ggf. red.	3	Schultergürtel und Hüfte instabil	multiple Frakturen	pos.	E. coli	S - alle	
8	22905	24.05.12	Amsel	juvenil	Katzenbiss	hgr. red.	3	vor Untersuchung verstorben	Katzenbiss, Schock	pos.	E. coli	S - alle	Leber, Lunge: E. coli positiv, Resistenztest: alle sensibel
13	23066	03.06.12	Amsel	adult	Katzenbiss, Trauma	(gut)	2	ZNS Symptome, fehlende Federn Wunde am Stoß, Einblutung im Oculus Dexter (OD), Endo- und Exoparasiten	Trauma, Parasitose	pos.	E. coli	S - alle	
42	23550	09.07.12	Amsel	juvenil	Jungvogel	mgr. red.	2	Unterkuhlung, Abmagerung, Endo- und Exoparasiten	Jungvogel, Parasitose	pos.	E. coli	S - alle	
44	23587	11.07.12	Amsel	adult	Verletzung	gut	x	linke Halsseite (Katzen) Biss/3 kleine Wunden	Katzenbiss	pos.	E. coli	S - alle	Herz, Leber, Lunge: E. coli neg.
62	24049	10.08.12	Amsel	adult	gefangen in Hecke gefunden	mgr. red.	2	massiv Kotverschmiert, Kachexie, Endoparasiten	Kachexie, Schwäche, Parasitose	pos.	E. coli	S - alle	Herz, Leber, Lunge: E. coli negativ
63	24054	11.08.12	Amsel	juvenil	verletztes Bein	hgr. red.	1	linker Ständer gelähmt, kleine Wunden und Hämatome am Körper, Bauch und Kloake gefüllt	V.a. Trauma, Katzenbiss	pos.	E. coli	S - alle	Herz, Leber, Lunge: E. coli negativ
67	24105	16.08.12	Amsel	adult	ZNS Symptome	hgr. red.	2	Seitenlage, Schnappatmung, Pupillen weitgestellt, in Sauerstoffbox hgr. Exophthalmus, Bindehautschwellung	V.a. Anflugtrauma mit Gehirnbildung	pos.	E. coli	S - alle	Leber, Lunge: E. coli positiv, Resistenztest: alle sensibel
72	24201	23.08.12	Amsel	adult	an Fensterscheibe geflogen	hgr. red.	x	ZNS Störungen	Anflugtrauma	pos.	E. coli	S - alle	
81	24333	03.09.12	Amsel	adult	V.a. Katzenbiss	gut	3	multiple Bisswunden bds. im Brustbereich, stehunfähig	V.a. Wirbelsäulen Trauma	pos.	E. coli	S - alle	

Tabelle A5: Fortsetzung

135	25308	13.12.12	Amsel	adult	Blutiger Fuß	mgr. red.	2	ältere Wunden am rechten Bein, Tibiotarsus instabil, Zehen instabil, Röntgen: multiple Blüche an Bein und Zehen	Trauma, multiple Frakturen	pos.	E. coli S - alle	
162	25646	21.01.13	Amsel	adult	lag in Mauselalle	mgr. red.	x	beidseitig linken Ständer nicht, flugunfähig, Krepitation Tibiotarsus	Tauma, Tibiotarsusfraktur	pos.	E. coli S - alle	
214	26141	06.03.13	Amsel	adult	von Katze gebracht	ggr. red.	3	zwei blutende Wunden an rechter Brustseite, in Narkose verstorben	Katzenbiss	pos.	E. coli S - alle, CAZ 27	Herz, Leber, Lunge: E. coli negativ
230	26247	17.03.13	Amsel	adult	von Katze gebracht	hgr. red.	1	hgr. red. AB, liegt in Seitenlage, verstorbt vor Untersuchung	Katzenbiss, Schock	pos.	E. coli S - alle, CAZ 27	
234	26315	23.03.13	Amsel	adult	flugunfähig, von Katze gebracht	x	x	Blutung Schnabel, Einblutung OD, Stoß fehlt, bds. Hämatoeme am Hals, Atemgeräusch	Katzenbiss	pos.	E. coli S - alle, CAZ 27	
192	25949	19.02.13	Amsel	adult	lag im Garten	gut	4	Federn am Schwanz und Rücken fehlen, mehrere kleine Wunden am Rücken	V.a. Katzenbiss	pos.	E. coli S - alle, CAZ 27.5	
33	23377	25.06.12	Taube	adult	flugunfähig	mgr. red.	3	Gefieder mit Fabe verklebt, Schwäche, Unterkühlung	Farbe, red. AB, Unterkühlung	neg.		
77	24298	31.08.12	Taube	adult	flugunfähig	mgr. red.	2	linker Flügel hängt, Umfangsvermehrung unter rechtem Flügel, Röntgen: Fraktur der linken Ulna und Radius, Splitter in Gelenksnähe	Radius/ Ulna Fraktur links	neg.		Herz, Leber, Lunge: E. coli negativ
94	24660	06.10.12	Taube	juvenil	flugunfähig	mgr. red.	2	rechter Flügel hängt, Röntgen: SGF (Clavicula) rechts	SGF rechts	neg.		
121	25139	23.11.12	Taube	adult	fliegt nicht weg	ggr. red.	2	Röntgen: hgr. Hyperkalzifikation	Legestimmung, Calciummangel	neg.		
123	25154	24.11.12	Taube	adult	V.a. Katzenbiss	ggr. red.	x	rechte Schwinge am Ellbogen blutig, Röntgen: Ulnafraktur mit Gelenksbeteiligung	Ulnafraktur	neg.		
124	25155	24.11.12	Taube	adult	Krähen Attacke	hgr. red.	x	Kopfschüttelung, Nystagmus, rechte Halsseite blutverkrustet bis Schädelmittl, hgr. Ödem, Gehirn offenliegend	Schädeltrauma	neg.		
144	25426	22.12.12	Taube	adult	in Taubennetz verfangen	x	3	Oculus sinister (OS)geschwollen, Konjunktivitis, F ügelwunde links	Trauma	neg.		
161	25620	16.01.13	Taube	adult	fliegt nicht	gut	3	linke Thoraxseite Wunden, Endoparasiten Röntgen: Fraktur der Carina Sterni	Fraktur Carina Sterni	neg.		
164	25659	22.01.13	Taube	adult	von Auto angefahren	hgr. red.	3	fliegt nicht, bds. kein Greifreflex, Hämatom an Wirbelsäule, Trichomonas	Anflugtrauma, Parasitose	neg.		
172	25700	25.01.13	Taube	adult	teilweise gelähmt	hgr. red.	x	Ophisthorus, Pickwunden, Endoparasiten	V.a. Krähentacke, Parasitose	neg.		
194	25994	22.02.13	Taube	adult	lag auf dem Rücken	hgr. red.	x	hgr. ZNS Symptome, stehunfähig, Kopfschütteln, fällt um, heilte, gerötete Füße	V.a. Infektion	neg.		

Tabelle A5: Fortsetzung

196	26005	24.02.13	Taube	adult	flugunfähig	99f. red.	2	keine Wunde am Kopf, Trichomonas	V.a. Anflugtrauma, Parasitose	neg.			
199	26033	26.02.13	Taube	adult	Flügelwunde	x	x	offene Radiusfraktur mit Sehnedurchtrennung	Radiusfraktur	neg.			
200	26038	26.02.13	Taube	adult	Habsicht Angriff	99f. red.	3	große Wunde an rechter Brustseite, Kropfperforation, Endoparasiten	Kropfperforation, Parasitose	neg.			
203	26064	28.02.13	Taube	adult	flugunfähig	mgr. red.	2	ZNS Symptome, Schiefhaltung, Endoparasiten	Parasitose	neg.			
209	26089	03.03.13	Taube	adult	flugunfähig	gut	2	rechter Flügel hängt, Endoparasiten, Röntgen: Diabolo im Brustkorb	Schussverletzung, Parasitose	neg.			
222	26181	12.03.13	Taube	adult	Katzenangriff	gut	3	Wunde am Hals, OS zerstört	Katzenbiss	neg.			
229	26243	16.03.13	Taube	adult	V.a. Fraktur	mgr. red.	3	Kopfschiefhaltung, Kropf aufgegasst, Trichomonas, Becken, rechter Femurkopf	V.a. Salmonellose	neg.			
232	26280	20.03.13	Taube	adult	blutige Verletzung am Flügel	mgr. red.	2	rechter Flügel hängt, Wunde, Krepitation Ulnar/Radius, Hämatom, Röntgen: offene Spaltenfraktur rechte Ulna	Ulnafraktur	neg.			
233	26281	20.03.13	Taube	adult	flugunfähig, Flügel links	gut	3	Krepitation linker Humerus, Röntgen: gelenknahe Spaltenfraktur	Humerusfraktur	neg.			
239	26364	27.03.13	Taube	adult	flugunfähig	mgr. red.	2	mgr. ZNS Störungen, Kreisbewegung, Kopfschiefhaltung, Hämatom an der Wirbelsäule, Endoparasiten Röntgen: SGF	SGF, V.a. Trauma	neg.			
3	22814	21.05.12	Taube	juvenil	Jungvogel	gut	3	Ohne besonderen Befund (obB)	Jungvogel	pos.	E. coli	I - AMP	neg.
27	23312	20.06.12	Taube	juvenil	Jungvogel	99f. red.	2	Endoparasiten	Jungvogel, Parasitose	pos.	E. coli	I - AMP	neg.
49	23724	20.07.12	Taube	adult	Flügel hängt	mgr. red.	2	Linker Flügel hängt, Endoparasiten	V.a. Fraktur II Handgelenk	pos.	E. coli	I - AMP	neg.
56	23949	30.07.12	Taube	adult	flugunfähig	mgr. red.	2	ZNS Störungen, Kachexie, Schlund schwarz und nicht durchgängig, im Röntgen Trichomonadenabszess	Trichomonadenabszess	pos.	E. coli	I - AMP	neg.
92	24640	03.10.12	Taube	adult	flugunfähig	99f. red.	2	linker Flügel ggr. steif, Stockmauser, Röntgen: Diabolo im linken Oberschenkel, Endoparasiten	Schussverletzung	pos.	E. coli	I - AMP	neg.
106	24916	31.10.12	Taube	juvenil	Jungvogel ohne Eltern	99f. red.	2	Nestling, sonst obB	Nestling	pos.	E. coli	I - SXT	neg.
177	25738	30.01.13	Taube	adult	Bein gebrochen	99f. red.	3	Endoparasiten Röntgen: Tibiotarsusfraktur	Tibiotarsusfraktur, Parasitose	pos.	E. coli	I - AMP, SXT CAZ 24,5	neg.
228	26236	15.03.13	Taube	adult	Anflugtrauma	99f. red.	1	flugunfähig, Blut am Ohr, Endoparasiten, Röntgen: Claviculafraktur links	SGF, Anflugtrauma	pos.	E. coli	R - AMP, CAZ 28	neg.

Tabelle A5: Fortsetzung

175	25708	30.01.13	Taube	juvenil	Jungvogel ohne Eltern	gut	3	Endoparasiten		Parasitose	pos.	E. coli	R - AMP, DOX, CAZ 25-5	neg.
103	24871	25.10.12	Taube	adult	Schwäche, Schwingen verfarbt	mgr. red.	2	Schwäche, Stoffdem rosa verfarbt, flugunfähig, Endoparasiten		schlechtes AB, Schwäche, Parasiten	pos.	E. coli	R - AMP, DOX,	neg.
60	23979	06.08.12	Taube	adult	gegen Fensterscheibe geflogen	gut	3	Endoparasiten, sonst obB		Anflugtrauma, Parasitose	pos.	E. coli	R - AMP, DOX, SXT I - AMC, ENR, PIT	neg.
120	25136	23.11.12	Taube	adult	blutende Verletzung	gut	3	mehrere kleine Wunden an Brust und Rücken, Endoparasiten		V.a. Katzenbiss, Parasitose	pos.	E. coli	R - AMP, DOX, SXT I - AMC	neg.
61	23986	06.08.12	Taube	juvenil	gehunflähig	x	2	massive Fehlstellung der Beine		Fehlbildung	pos.	E. coli	R - SXT	neg.
68	24125	16.08.12	Türken taube	juvenil	lag im Garten	mgr. red.	1	Unterkuhlung, Kachexie, Schwäche, rechtes Auge ergeblutet, V.a. Retinablösung, links zwei Wunden, Emphysem		V.a. Katzenbiss, Unterkuhlung, mgr. red. AB	pos.	E. coli	R - SXT	Herz, Leber, Lunge E. coli pos. Resistenztest: R: SXT, ESBL: neg.
133	25295	12.12.12	Taube	adult	Füße mit Schnur verbunden	mgr. red.	1	Faden um beide Füße gewickelt, eingewachsen, Schnittwunden, verkrustet		Einschnürungen	pos.	E. coli	R - SXT	neg.
130	25244	06.12.12	Taube	adult	Verletzung	mgr. red.	2	rechter Flügel hängt, blutige Netzeinschnürung um Schulter, Endoparasiten		Trauma, Parasitose	pos.	E. coli	R - SXT, AMP, DOX I - ENR	neg.
36	23468	02.07.12	Türken taube	adult	Bissverletzung, Stoß fehlt	mgr. red.	3	Wunde an rechter Brustwand, Stoß ausgerissen		Katzen oder Greifvogelgriff	pos.	E. coli	R - SXT I - AMP, AMC	neg.
28	23395	23.06.12	Taube	adult	Verletzung	x	3	blutverschmierter Gefieder, Wunden an linker und rechter Bauchwand, Hüftgelenk offen, Knochenplitter sichtbar		mgr. multiple, perforierende Verletzungen	pos.	E. coli	S - alle	Herz, Leber, Lunge E. coli negativ
31	23353	25.06.12	Taube	juvenil	aus Nest gefallen	gut	3	Umfangvermehrung (UV) am Auge		Jungvogel, UV am Auge	pos.	E. coli	S - alle	
36	23474	03.07.12	Taube	juvenil	Jungvogel	mgr. red.	2	Unterkuhlung, EZ reduziert		Jungvogel, Kachexie	pos.	E. coli	S - alle	
43	23594	11.07.12	Taube	adult	Anflugtrauma	mgr. red.	2	Flügel links hängt, Bein links überköhlet, Endoparasiten		V.a. Trauma, Wirbelsäulen Schäden, Parasitose	pos.	E. coli	S - alle	
93	24649	04.10.12	Taube	juvenil	flugunfähig	mgr. red.	2	linker Flügel hängt, Trichomonas, Röntgen: Fraktur linkes Carpalgelenk mit mgr. Weichteilschwellung, Hämatom		Fraktur linkes Carpalgelenk, Parasitose	pos.	E. coli	S - alle	Herz, Leber, Lunge E. coli negativ
101	24854	23.10.12	Taube	adult	fliegt schlecht, Stoßfedern fehlen	gut	3	Radiusfraktur, fehlende Stoß- und Rückenfedern, Trichomonas		Radiusfraktur, Parasitose	pos.	E. coli	S - alle	

Tabelle A5: Fortsetzung

104	24872	25.10.12	Taube	juvenil	Wunden an Rücken	gut	2	multiple kleine Wunden an Rücken und Flügeln, Federn fehlen, Trichomonas	V.a. Köhnenatlacke, Parasitose	pos.	E. coli S - alle	
107	24917	31.10.12	Taube	juvenil	Jungvogel ohne Eltern	ggf. red.	2	Nestling, obB	Nestling	pos.	E. coli S - alle	
117	25118	20.11.12	Türken taube	juvenil	liegend gefunden	ggf. red.	3	Ständer bds. hgr. Innenrotation, Tarsalgelenke bds. blutige Legeschwelen, Koakensau	V.a. Rachitis	pos.	E. coli S - alle	
126	25211	30.11.12	Taube	adult	saß vor Haus	mgr. red.	3	Blut aus Schnabel/ Nase/ Auge rechts, Endoparasiten. Röntgen: Lunge ggf. verschattet	Anflugtrauma	pos.	E. coli S - alle	
134	25299	12.12.12	Taube	adult	saß in Einfahrt	mgr. red.	1	red. AB und EZ, offene, ältere Wunde am Humerus rechts mit Gelenksbeteiligung	V.a. Trauma	pos.	E. coli S - alle	
141	25383	19.12.12	Taube	adult	fliegt schlecht	ggf. red.	3	einzelne Schwungfedern fehlen, Blutkeil	Blutkeil	pos.	E. coli S - alle	
147	25483	02.01.13	Taube	adult	fliegt nicht	mgr. red.	2	Endoparasiten	Parasitose	pos.	E. coli S - alle	
148	25514	04.01.13	Taube	adult	V.a. Vergiftung	hgr. red.	2	ZNS Störungen, Ataxie, Atemnot, Endoparasiten	V.a. Vergiftung, Parasitose	pos.	E. coli S - alle	
149	25515	04.01.13	Taube	adult	V.a. Vergiftung	hgr. red.	2	ZNS Störungen, Ataxie, Atemnot, Endoparasiten	V.a. Vergiftung, Parasitose	pos.	E. coli S - alle	
150	25516	04.01.13	Taube	adult	V.a. Vergiftung	hgr. red.	3	ZNS Störungen, Ataxie, Atemnot, Endoparasiten	V.a. Vergiftung, Parasitose	pos.	E. coli S - alle	
151	25517	04.01.13	Taube	adult	V.a. Vergiftung	hgr. red.	2	ZNS Störungen, Ataxie, Atemnot, Endoparasiten	V.a. Vergiftung, Parasitose	pos.	E. coli S - alle	
153	25529	05.01.13	Taube	adult	flugunfähig	ggf. red.	2	linker Flügel hängt, Endoparasiten Röntgen: V.a. Schultergürtelfraktur	V.a. SGF, Parasitose	pos.	E. coli S - alle	
163	25647	21.01.13	Taube	adult	lag im Schnee	mgr. red.	2	Schwache, hinkt, Trichomonas	schlechtes Allgemeinbefinden Parasitose	pos.	E. coli S - alle	
176	25737	30.01.13	Taube	adult	fliegt nicht weg	gut	3	obB.	obB.	pos.	E. coli S - alle, CAZ 25	
180	25830	09.02.13	Taube	juvenil	Jungvogel ohne Eltern	gut	3	obB.	Jungvogel	pos.	E. coli S - alle, CAZ 25	
226	26222	14.03.13	Taube	adult	saß auf Gehweg, von Kind getreten	hgr. red.	2	Kopfschiefhaltung, Schräglage, Wunde am Tarsus	Trauma	pos.	E. coli S - alle, CAZ 26	
249	26480	05.04.13	Taube	juvenil	Jungvogel ohne Eltern	gut	3	Helen, Jungvogel	Helenfraktion, Jungvogel	pos.	E. coli S - alle, CAZ 26	
171	25694	24.01.13	Taube	adult	fliegt nicht	hgr. red.	1	Unterkehlung, Abmagerung, Steine in Kropf und Magen, Darm	Unterkehlung, Kachexie	pos.	E. coli S - alle, CAZ 26,5	
241	26394	29.03.13	Taube	adult	linker Flügel hängt	hgr. red.	2	linker Flügel hängt, Wunden Röntgen: Späterfraktur Humerus links, Diabolo im Brustbereich	Schussverletzung	pos.	E. coli S - alle, CAZ 26,5	

Tabelle A5: Fortsetzung

231	26248	17.03.13	Taube	juvenil	Fehlstellung Fuß	ggr. red.	2	Stoßledern und Zehen Kotwackel, Linker Ständer verdickt, Zehenfehlstellung, Endoparasiten	Zehenfehlstellung, Parasitose	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 27
240	26390	28.03.13	Taube	adult	ZNS Probleme	hgr. red.	3	hgr. ZNS Symptome, Kreislaufen, Ophistionus, Endoparasiten	Parasitose, V.a. Trauma	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 27
245	26329	25.03.13	Taube	juvenil	lag neben toter Taube	ggr. red.	3	Endoparasiten, sonst obB	Jungvogel, Parasitose	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 27,5
195	25999	23.02.13	Taube	adult	flugunfähig, ZNS Störungen	hgr. red.	2	ZNS Störungen, hgr. Toricollis, orientierungslos, Endoparasiten	V.a. Infektion/Trauma, Parasitose	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 28
224	26192	12.03.13	Taube	juvenil	Jungvogel ohne Eltern	gut	3	Endoparasiten	Jungvogel, Parasitose	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 28,5
182	25833	10.02.13	Taube	adult	saß auf Balken	hgr. red.	3	belastet beide Ständer nicht, Endoparasiten, Röntgen: Koaxenstau, Beckenfraktur	Beckenfraktur, Parasitose	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 29
193	25992	21.02.13	Taube	adult	fliegt nicht, V.a. Fraktur	gut	x	linker Flügel hängt, Endoparasiten, Röntgen: SGF	SGF, Parasitose	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 29
174	25722	28.01.13	Taube	adult	verletzt	gut	3	Wunde an rechter Halsseite und linker Schulter, Endoparasiten Röntgen: Dabolo in Schultermähne	Schussverletzung	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 29,5
181	25832	10.02.13	Taube	adult	Flügelverletzung	hgr. red.	x	hgr. Dyspnoe, Schnapspatmung, Wunden am Hals, Röntgen: Pericarderguss, Lunge und Luftsacke hgr. verscharlet	V.a. Trauma	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 30
157	25597	14.01.13	Taube	juvenil	Anflugtrauma	ggr. red.	2	Blut am Schnabel, rechtes Auge geschwollen, Trichomonas	V.a. Anflugtrauma	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 25,8
183	25838	10.02.13	Bläss huhn	adult	im Eis festgefroren	hgr. red.	1	rechter Ständer kalt, Einschnürung in Gelenksnähe, Abriss der 1. Zehe rechts, Kniegelenksluxation	Abriss einer Zehe, Kniegelenksluxation, Effrungen	neg.		
191	25910	19.02.13	Grau gans	adult	stehunfähig	mgr. red.	2	Abschürfung am linken Tarsalgelenk, Endoparasiten, Röntgen: Beckenfraktur links	Beckenfraktur, Parasitose	neg.		
223	26191	12.03.13	Grau gans	adult	Wunde am Rücken	hgr. red.	3	großflächige Wunde am Rücken	V.a. Hundebiss	neg.		
238	26356	27.03.13	Reiher-Ente	adult	ließ sich einfangen ohne Gegenwehr	mgr. red.	2	Apathie, Endoparasiten oberflächliche Wunde am Schnabel	V.a. Trauma, Parasitose	neg.		
17	23175	11.06.12	Höcker schwan	adult	belastet rechtes Bein nicht	gut	3	rechtes Interartergelenk geschwollen und warm, Endoparasiten	Trauma, Parasitose	neg.		
165	25666	23.01.13	Stock ente	adult	verletzt	gut	3	rechter Ellbogen ggr. verdickt, Endoparasiten, Röntgen: Radiusfraktur rechts	Radiusfraktur, Parasitose	neg.		
185	25865	12.02.13	Teich huhn	juvenil	kopflüber in Uferkanal eingeklemmt	ggr. red.	3	rechter Flügel oberflächliche Hautabschürfung, Röntgen: SGF	SGF, Hautwunde	neg.		

Tabelle A5: Fortsetzung

40	23508	05.07.12	Stock- ente	adult	blutende Verletzung	gut	x	blutende Hautabschürfung am Stoß	V.a. Autounfall	pos.	E. coli	R - ENR/MAR I - AMP	neg.	
15	23119	06.06.12	Gans	adult	Schwache, Wunde am Flügel	mgr. red.	3	OD leht, blutende Wunde am Flügel	Trauma, fehlendes Auge	pos.	E. coli	R - SXT I - AMP	neg.	Herz/ Leber/ Lunge E. coli neg.
88	24513	21.09.12	Gans	adult	verletzter Fuß	x	x	sieheunfähig, rechtes Knie steif, Verknöcherungen	V.a. Trauma	pos.	E. coli	R - AMP, ENR/MAR I - AMC	neg.	
254	26518	09.04.13	Höcker- schwan	adult	blutet, evtl. im Zaun verfangen	mgr. red.	3	Gefieder blutig, Haut am Hals ca. 10 cm rundum aufgerissen	Halswunde	pos.	E. coli	R - AMP I - AMC CAZ 25	neg.	
112	25082	19.11.12	Höcker- schwan	juvenil	hinkt	gut	3	mgr. Hinken bds, Röntgen: alte Hüftgelenkproblematik	V.a. Rachitis	pos.	E. coli	I - DOX	neg.	
146	25465	28.12.12	Höcker- schwan	adult	Blutet am Hals	mgr. red.	2	blutende Wunden am Kopf und beiden Halsseiten	V.a. Bissverletzung	pos.	E. coli	I - AMP, AMC	neg.	
79	24307	02.09.12	Stock- Ente	adult	laufunfähig	mgr. red.	3	linkes Hüftgelenk instabil, linker Ständer kalt	V.a. Hüftgelenks- luxation	pos.	E. coli	R - SXT I - AMP, PIT	neg.	Herz, Leber, Lunge E.coli negativ
39	23435	04.07.12	Stock- ente	juvenil	ZNS Symptome	gut	3	Endoparasiten	Parasitose	pos.	E. coli	R - SXT I - AMP, PIT	neg.	
186	25883	13.02.13	Stock- ente	adult	kann nicht laufen	mgr. red.	2	Tibiotarsusfraktur rechts, großflächige Hautwunde am Oberschenkel rechts	Wunde, Tibiotarsus Fraktur	pos.	E. coli	R - AMP, AMC, DOX, ENR/MAR , SXT CAZ 26.5	neg.	
109	24980	06.11.12	Zweig- taucher	adult	vermeintlich Jungvogel	gut	3	obB.	obB.	pos.	E. coli	I - AMP	neg.	
116	25104	20.11.12	Bless- huhn	adult	fliegt nicht weg, V.a. Fraktur	x	3	offene Flügelfraktur, Euthanasie Endoparasiten	offene Fraktur Flügel	pos.	E. coli	R - AMP, DOX, SXT, ENR/MAR	CTX: 0 CTX-CV: 13; CAZ: 13 CAZ-CV: 24	
178	25828	09.02.13	Höcker- schwan	adult	an Autobahn gefunden	gut	3	Kleine blutende Wunde an rechter Schwinge, Endoparasiten	v.a. Trauma, Parasitose	pos.	E. coli	R - SXT I - AMP, PIT CAZ 23	neg.	
4	22826	21.05.12	Stock- ente	adult	Flugunfähig	ggf. red.	3	rechter Flügel hängt, Endoparasiten	V.a. Trauma, Flagellaten	pos	E. coli	S - alle		
16	23170	11.06.12	Bläss- huhn	adult	belastet rechtes Bein nicht	mgr. red.	2	rechtes Metatarsalgelenk und Phalangen hgr. geschwollen, links eine Zehe geschwollen,	Trauma, AB red.	pos.	E. coli	S - alle		
168	25680	23.01.13	Bläss- huhn	adult	Verletzt an Autobahn	ggf. red.	3	ggf. Verletzung an rechter Keule, Gleichgewichtsstörungen, hinkt, Endoparasiten Röntgen: Hüftluxation	Hüftluxation, Parasitose	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 29		

Tabelle A5: Fortsetzung

197	26010	24.02.13	Bless- huhn	adult	Verletzung am Bein	mgr. red.	1	rechter Slander um Inter tarsalgelenk geschwollen, Zehen verdickt, große Wunde mit Eiteleibildung	ältere, infizierte Verletzung mit Gelenks- beteiligung	pos.	E. coli S - alle, CAZ 27	
208	26087	02.03.13	Bless- huhn	adult	lag im Garten	hgr. red.	2	Linker Flügel Trümmerfraktur, Rippenfraktur, Luftsackass	Trauma	pos.	E. coli S - alle, CAZ 27,5	
221	26179	12.03.13	Bless- huhn	adult	läuft nicht	ggr. red.	2	linkes Tarsalgelenk verdickt, Schwellung im Zehenbereich, Röntgen: alte Fraktur Tarsalgelenk rechts	Abszess linke mittlere Zehe	pos.	E. coli S - alle, CAZ 26	
257	26652	19.04.13	(Braut) Ente	adult	flugunfähig	mgr. red.	x	rechter Flügel blutverkrustet, Federn fehlen	V.a. Trauma	pos.	E. coli S - alle, CAZ 24	
256	26550	12.04.13	Stoek ente	adult	Verletzung	mgr. red.	x	rechte Brustwand und rechter Flügel ältere, nekrotische Wunde, offene Humerusfraktur	Humerusfraktur	pos.	E. coli S - alle, CAZ 24	
255	26549	12.04.13	Grau gans	adult	Bauchverletzung	x	rechte Bauchwand große, nekrotische Hautwunde	V.a. Bissverletzung	pos.	E. coli S - alle, CAZ 26		
237	26337	25.03.13	Höcker schwan	adult	Verletzung am Bein	mgr. red.	2	rechtes Bein abnorm gewinkelt, offene Fraktur des rechten Beins mit Beteiligung des Tarsalgelenks	V.a. Trauma, Tarsalgelenks- fraktur	pos.	E. coli S - alle, CAZ 28	
245	26402	31.03.13	Höcker schwan	adult	in Gitter verfangen	hgr. red.	3	schwankt, hinkt links, ggr. ZNS Probleme, Endoparasiten, Röntgen: Angelhaken Elboggenmuskulatur links	Trauma, Parasitose	pos.	E. coli S - alle, CAZ 26,5	
252	26489	07.04.13	Höcker schwan	adult	Flügel hängt	mgr. red.	x	linker Flügel hängt, offene Humerusfraktur	Humerusfraktur	pos.	E. coli S - alle, CAZ 30	
253	26512	08.04.13	Höcker schwan	adult	linkes Bein geschwollen	gut	3	obB.	obB.	pos.	E. coli S - alle, CAZ 28	
250	26483	05.04.13	Kanada gans	adult	hinkt	mgr. red.	3	deutliche Lahmheit rechts, Slander warm, geschwollen, schmerzhaft	V.a. Trauma	pos.	E. coli S - alle, CAZ 28,5	
84	24411	11.08.12	Höcker schwan	juvenil	hinkt	mgr. red.	2	hinkt auf linker Gliedmaße, Endoparasiten	Parasitose, V.a. Trauma	pos.	E. coli S - alle	
85	24710	11.10.12	Höcker schwan	adult	blutet aus dem Schnabel	gut	3	kleine Wunde am Oberschnabel	Schnabel- verletzung	pos.	E. coli S - alle	
100	24812	19.10.12	Höcker schwan	adult	steht nicht auf	hgr. red.	2	Schwäche, Atemnd, Durchfall	V.a. Infektion	pos.	E. coli S - alle	Lunge: E. coli pos. Resistenztest: R -AMP, I - AMC; ESBL: negativ
102	24837	25.10.12	Höcker schwan	juvenil	gegen Dach geflogen	ggr. red.	3	rechter Flügel ggr. schmerzhaft, Röntgen obB, Endoparasiten	V.a. Muskel/ Sehnenschaden, Parasitose	pos.	E. coli S - alle	
105	24891	31.10.12	Höcker schwan	juvenil	V.a. Stromschlag	gut	3	obB	obB	pos.	E. coli S - alle	

Tabelle A5: Fortsetzung

113	25083	19.11.12	Höcker schwan	juvenil	stehunfähig	mgr. red.	3	linkes Bein unphysiologisch, stehunfähig, Endoparasiten. Röntgen: gesplittete Femurfraktur links	Femurfraktur links	pos.	E. coli	S - alle
205	26083	01.03.13	Höcker schwan	adult	flugunfähig	gut	3	obb.	obb.	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 26
212	26115	05.03.13	Höcker schwan	adult	flugunfähig	gut	3	obb.	obb.	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 29
217	26159	08.03.13	Höcker schwan	adult	Hundebiss	ggr. red.	3	zwei blutende Wunden an rechter Bauchseite, Endoparasiten	Bisverletzung, Parasitose	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 28
218	26163	09.03.13	Höcker schwan	adult	flog in Hochspannungslei- tung	hgr. red.	3	Flugf Stehunfähig, Stromentrittwunde am Hals, Blut in Schnabehöhle	Stromschlag	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 27
115	25099	20.11.12	Stoek ente	adult	Von Stein getroffen	x	x	Ophistionus, Tremor, Haltsienlähmung	Trauma	pos.	E. coli	S - alle
215	26154	07.03.13	Stoek ente	adult	fliegt nicht, V.a. Trauma	hgr. red.	3	flugunfähig, Endoparasiten, Röntgen: Ulnafraktur rechts, Schrotkugel in linker Schulter, Patellaluxation rechts, Diabolo	Schussverletzung, Ulnafraktur, Parasitose	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 28,5
32	23363	25.06.12	Teich huhn	adult	Ataxie	hgr. red.	3	Ataxie, Stehunfähig	V.a. Trauma, ZNS Erkrankung oder Infektion	pos.	E. coli	S - alle
21	23279	18.06.12	Turm falk	juvenil	Flugunfähig	gut	2	Flugunfähig, Ernährungszustand red. Röntgen: SGF	SGF	neg.		
45	23589	12.07.12	Turm falk	juvenil	Jungvogel	gut	3	obb.	Jungvogel	neg.		
47	23687	18.07.12	Turm falk	adult	röchelt beim Atmen	gut	3	Endoparasiten	Parasitose	neg.		
59	23959	03.08.12	Turm falk	adult	flugunfähig	ggr. red.	2	Endoparasiten, multiple Frakturen im Brustbereich, Sternum	multiple Frakturen	neg.		
76	24271	30.08.12	Turm falk	adult	Flugunfähig			alte Fraktur am linken Humerus mit Knochendeformation	Humerusfraktur	neg.		
99	24792	17.10.12	Turm falk	adult	flugunfähig	gut	2	Gefieder schmutzig und nass, rechter Flügel hängt.	V.a. SGF	neg.		
138	25315	13.12.12	Turm falk	adult	fliegt nicht weg	mgr. red.	2	fliegt nicht gut, im Röntgen hgr. gefüllter, aufgegasler, Magen- Darm Trakt, Luftsäcke verdrängt	V.a. Parasitose	neg.		
6	22859	24.05.12	Wander falk	adult	Anflugtrauma 22.5.12	ggr. red.	3	red. AB, linker Ständer fehlt eine Kralle, rechtes Tarsalgelenk instabil, Krepitation	Parasitose, Anflugtrauma	neg.		
24	23308	20.06.12	Turm falk	juvenil	Jungvogel, Nest verlassen	mgr. red.	2	Schleimhäute sehr blass, Schwäche	Jungvogel, red. AB, Anämie	pos.	E. coli	I - AMP
57	23957	03.08.12	Turm falk	adult	flugunfähig	ggr. red.	2	flugunfähig, Stehunfähig, Endoparasiten, linke Schulter Weichtailschwellung	Parasitose, Schulterprolapse	pos.	E. coli	I - AMP
55	23940	30.07.12	Turm falk	juvenil	eingekeimtet in Dachrinne	mgr. red.	2	Fraktur des linken Ständers, Kallusbildung, Achsabweichung	Tibiatusfraktur links	pos.	E. coli	I - AMP, AMC

Tabelle A5: Fortsetzung

37	23340	04.07.12	Turm falte	juvenil	Jungvogel	gut	2	oB	Jungvogel	pos.	E. coli	R - AMP, DOX I - AMC	neg.
18	23192	12.06.12	Turm falte	juvenil	Jungvogel	gut	2	Jungvogel, EZ red., Endoparasiten	Jungvogel, Parasitose	pos.	E. coli	R - DOX I - AMC	neg.
48	23688	19.07.12	Turm falte	adult	Verletzung	gut	x	kleine blutende Wunde an linker Schwinge	Trauma	pos.	E. coli	R - DOX I - AMC	CAZ:28 CAZ:CV: 24 CTX:26 CTX:CV: 30
12	23033	31.05.12	Turm falte	juvenil	Jungvogel	gut	2	Fliegenbefall, Endoparasiten	Jungvogel, Parasitose	pos.	E. coli	R - SXT	neg.
41	23536	07.07.12	Turm falte	juvenil	saß auf Kirchturm	mgr. red.	2	rechts Bein nicht belastet,	V.a. Muskel/ Sehnenschaden	pos.	E. coli	R - AMP, SXT I - AMC	neg.
78	24304	01.09.12	Turm falte	adult	Flugunfähig	gut	2	Links Brustmuskulatur reduziert, offene Wunde am Karpalgelenk, Röntgen: Karpalgelenks Fraktur, alle Tibiotarsusfraktur	Karpometacarpus/ riktur	pos.	E. coli	R - SXT, DOX	neg.
71	24167	20.08.12	Wander falte	adult	SBG bds.	gut	2	Sohlenballongeschwür Grad 4 bds / Staph. aureus, Endoparasiten	Sohlenballen- Geschwür bds., Parasitose	pos.	E. coli	R - SXT, DOX I - AMP	neg.
23	23307	20.06.12	Turm falte	juvenil	Jungvogel, Nest verlassen	ggr. red.	2	Mauser, sehr blasse Scheimhäute, Schwäche	Jungvogel, Schwäche	pos.	E. coli	S - alle	
25	23309	20.06.12	Turm falte	juvenil	Jungvogel, Nest verlassen	ggr. red.	2	blasse Scheimhäute, Schwäche	Jungvogel, Schwäche	pos.	E. coli	S - alle	
26	23310	20.06.12	Turm falte	juvenil	Jungvogel, Nest verlassen	hgr. red.	2	sehr blasse Scheimhäute, Schwäche, Hellen	Jungvogel, Schwäche, Hellen	pos.	E. coli	S - alle	CAZ: SXT
38	23390	04.07.12	Turm falte	juvenil	Jungvogel	gut	2	Hellen, Jungvogel	Jungvogel, Hellenflexion	pos.	E. coli	S - alle	
54	23839	30.07.12	Turm falte	juvenil	flugunfähig	mgr. red.	3	entlastet rechtes Bein, Zehen gebahlt, kleine Wunde am rechten Flügel	V.a. Stromschlag	pos.	E. coli	S - alle	
64	24063	14.08.12	Turm falte	adult	unter Stromleitung liegend gefunden	gut	3	linker Flügel im Bereich der Finger ödematös, kalt, blutverkrustet; rechter Fuß geschwollen, Wunde	V.a. Stromschlag	pos.	E. coli	S - alle	
65	24092	14.08.12	Turm falte	adult	Flugunfähig, liegend	hgr. red.	x	Augen bds. hgr. geschwollen, Ulnafraktur links	Ulnafraktur links	pos.	E. coli	S - alle	
86	24420	12.09.12	Turm falte	adult	Flügelverletzung	x	x	ältere, großflächige Wunde am rechten Flügel mit Madenbefall	Flügelverletzung rechts	pos.	E. coli	S - alle	
87	24508	20.09.12	Turm falte	adult	flugunfähig	x	x	Wunde am linken Flügel	V.a. Trauma	pos.	E. coli	S - alle	
108	24824	31.10.12	Turm falte	adult	flugunfähig	mgr. red.	2	flugunfähig, red. Augenbefinden, Blutungen im Auge bds.	V.a. Blindheit	pos.	E. coli	S - alle	
10	22944	27.05.12	Wander falte	adult	Flugunfähig	gut	3	Endoparasiten	Parasitose	pos.	E. coli	S - alle	

Tabelle A5: Fortsetzung

22	23297	19.06.12	Wander falke	juvenil	ist in einem Schwachtgelaen	gut	3	Flugunfähig, Endoparasiten	Jungvogel, Parasitose	pos.	E. coli	S - alle	
46	23681	18.07.12	Wander falke	adult	fliegt nicht	hgr. red.	2	AB und EZ hgr. reduziert, alle Steniumfraktur, Endoparasiten, HK 2.1%, Salmonella enteritidis	Kachexie, Parasitose, Salmonellose	pos.	E. coli	S - alle	
91	24632	02.10.12	Turm falke	juvenil	rechte Handschwinge fehlt	gut	3	rechte Handschwinge fehlend	V.a. Trauma	pos.	E. coli	S - alle	
158	25600	15.01.13	Turm falke	adult	an Strasse gefunden	mgr. red.	2	linkes Auge Einblutung, Mydriasis, V.a. Sklerablösung	V.a. Anflugtrauma	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 25	Herz, Leber, Lunge E. coli negativ
97	24742	14.10.12	Mäuse bussard	adult	Anflugtrauma gegen Baum	hgr. red.	1	Endoparasiten, Hyphäma, Luxation beidseits	Anflugtrauma	neg.			Herz, Leber, Lunge E. coli negativ
140	25333	16.12.12	Mäuse bussard	adult	lag auf der Straße	hgr. red.	2	Seitenlage, Röntgen: Einblutungen in Lunge, Luftbackruptur, Einblutung Auge	Anflugtrauma	neg.			
154	25532	06.01.13	Mäuse bussard	adult	Wunde am Flügel	mgr. red.	x	linkem Flügel fehlt distales Glied, Knochen freiliegend	V.a. Trauma	neg.			
74	24235	27.08.12	Sperber	adult	Flügelverletzung	x	1	offener Splitterbruch linker Flügel	Fraktur	neg.			
82	24341	04.09.12	Sperber	adult	steh- und flugunfähig	hgr. red.	x	steht nicht, linke Gliedmaße abnorm beweglich, Röntgen: SGF und Beckenfraktur	multiple Frakturen	neg.			
122	25153	24.11.12	Sperber	adult	flugunfähig	x	x	offene Humerusfraktur links, Knochensplitter im Gelenk	Humerusfraktur	neg.			
155	25546	06.01.13	Sperber	adult	Blutet nach Taubenjagd	x	2	Axaxie, Röntgen: Schultergürtelfraktur, Endoparasiten	SGF, Parasitose	neg.			
156	25580	11.01.13	Sperber	adult	Flügel blüet	mgr. red.	3	offene, blutende Wunde distal am linken Flügel, Gelenk abnorm beweglich, Röntgen: offene Karpalgelenksfraktur	V.a. Trauma	neg.			Herz/ Leber/ Lunge E. coli neg.
98	24811	19.10.12	Stein kauz	adult	fliegt nicht weg	gut	2	Endoparasiten, reduzierter EZ	Parasiten	neg.			
139	25323	14.12.12	Waldbhr eule	adult	V.a. Trauma	x	x	Einblutung OD, Netzhautablösung	V.a. Anflugtrauma, Netzhautablösung	neg.			
202	26062	28.02.13	Waldbhr eule	adult	Krähen Attacke	mgr. red.	3	linker Flügel hängt, flugunfähig, Endoparasiten, Röntgen: Ulnafraktur rechts	Parasitose, Ulnafraktur	neg.			
80	24309	02.09.12	Mäuse bussard	adult	Flugunfähig	mgr. red.	2	Schwache, Greifreflex reduziert, schlechtes AB	V.a. Trauma	pos.	E. coli	I - AMP	neg.
50	23729	20.07.12	Mäuse bussard	adult	hinkt	mgr. red.	2	offene Tibiotarsusfraktur links	Tibiotarsusfraktur	pos.	E. coli	I - AMP	neg.
83	24377	07.09.12	Sperber	adult	flugunfähig	x	x	SGF rechts, Endoparasiten	SGF, Parasitose	pos.	E. coli	I - AMP	neg.
88	24537	23.09.12	Sperber	adult	flugunfähig	mgr. red.	2	linker Flügel hängt, rechter Flügel Hämatom, Röntgen: SGF links, Endoparasiten	Trauma, SGF	pos.	E. coli	I - AMP	neg.
242	26395	29.03.13	Wald kauz	juvenil	lag am Boden	gut	3	otbB, Jungvogel	Jungvogel	pos.	E. coli	I - AMP CAZ 24	neg.

Tabelle A5: Fortsetzung

243	26396	29.03.13	Wald kauz	juvenil	lag am Boden	ggf. red.	3	Emphysem an rechter Bauchseite, sonst oB.B.	Jungvogel, V.a. Trauma	pos.	E. coli CAZ 25.5	neg.
244	26397	29.03.13	Wald kauz	juvenil	lag am Boden	gut	3	oB.B., Jungvogel	Jungvogel	pos.	E. coli CAZ 25.5	neg.
129	25236	05.12.12	Wald kauz	adult	lag im Garten, Flügel blüht	hgr. red.	2	hgr. red. AB, Unterkühlung	V.a. Trauma	pos.	E. coli R - AMP, AMC	neg.
179	25929	09.02.13	Habicht	adult	fliegt nicht weg	ggf. red.	x	rechter Humerus Krepitation, Röntgen: Spaltenfraktur Humerus	Humerusfraktur	pos.	E. coli R - AMP, DOX, SXT CAZ 2B	neg.
173	25702	25.01.13	Mäuse bussard	adult	lag an Strasse	mgr. red.	1	fliegt nicht, bds. Zentrale Blindheit, Röntgen: V.a. Huflexion	V.a. Autounfall	pos.	E. coli R - SXT CAZ 2B	neg.
128	25222	03.12.12	Mäuse bussard	adult	fliegt nicht	ggf. red.	x	Fraktur beider Handknochen, Einblutung Lunge, V.a. Luftsackruptur, Schnabelfraktur	Trauma	pos.	E. coli R - SXT	neg.
143	25419	21.12.12	Habicht	adult	gegen Autoscheibe gefliegen	mgr. red.	3	ZNS Störungen, Ataxie, Chorioretinitis maculosa, Endoparasiten	Anflugtrauma, Parasiten	pos.	E. coli I - AMP, AMC	neg.
70	24160	20.08.12	Habicht	adult	Flugunfähig	mgr. red.	2	ZNS Störungen, stehenfähig, re Auge Hämatom, frische Einblutung I, Hornhautläsion bds., Röntgen: V.a. WS Fraktur, Buttbeil positiv (>65 µg/m)	V.a. Wirbelsäulen- Fraktur, Autounfall, Beintoxikation	pos.	E. coli S - alle	
73	24223	26.08.12	Mäuse bussard	adult	Flugunfähig	hgr. red.	1	Schnabelfeistellung/ Unterkieferfraktur, linke Pupille weitgestellt, kein Pupillareflex, Röntgendichte Partikel MM	Trauma, V.a. Linsenluxation OS	pos.	E. coli S - alle	
96	24734	13.10.12	Mäuse bussard	adult	flugunfähig	ggf. red.	3	steht nicht gut, flugunfähig	V.a. Anflugtrauma	pos.	E. coli S - alle	Herz, Leber, Lunge E. coli negativ
111	25053	13.11.12	Mäuse bussard	adult	fliegt nicht weg	x	x	offene Fraktur am linken Flügel mit Gelenksbeteiligung	Fraktur	pos.	E. coli S - alle	
125	25181	28.11.12	Mäuse bussard	adult	fliegt nicht	x	x	Fraktur Humerus links, Endoparasiten	Fraktur Humerus, Parasitose	pos.	E. coli S - alle	Herz, Leber, Lunge E. coli negativ
131	25283	09.12.12	Mäuse bussard	adult	Autounfall	x	x	Luxation Schulter und Fraktur Humerus links	Fraktur Humerus, Schulterluxation	pos.	E. coli S - alle	
136	25309	13.12.12	Mäuse bussard	adult	Flügel wird nicht benutzt	hgr. red.	2	red. AB und EZ, Humerusfraktur, Uveitis bds. Einblutungen	V.a. Trauma	pos.	E. coli S - alle	Herz, Leber, Lunge E. coli negativ
142	25373	20.12.12	Mäuse bussard	adult	flugunfähig	mgr. red.	2	linker Flügel ähäre Wunde, Röntgen: Spaltenfraktur	Fraktur Handknochen	pos.	E. coli S - alle	
145	25432	23.12.12	Mäuse bussard	adult	V.a. Autounfall	mgr. red.	3	blutet aus rechtem Nasenloch und Schnabel, linker Flügel hängt, Krepitation im Handgelenk	Anflugtrauma	pos.	E. coli S - alle	

Tabelle A5: Fortsetzung

152	25518	04.01.13	Mäuse bussard	adult	belastet linkes Bein nicht	hgr. red.	1	Greifreflex links fehlt, Tibiotarsus und Zehen geschwollen, Röntgen: Tibiotarsusfraktur mit Fragmentverschiebung, Hüfluxation	Trauma mit Frakturen	pos.	E. coli S - alle	
188	25911	18.02.13	Mäuse bussard	adult	fiel vom Baum	mgr. red.	1	stirbt vor weiterer Diagnostik ?		pos.	E. coli S - alle	
189	25914	18.02.13	Mäuse bussard	adult	flugunfähig	gut	2	linkes Auge Einblutung, Metacarpusfraktur	Trauma, Metacarpusfraktur	pos.	E. coli S - alle	
137	25310	13.12.12	Schleier eule	adult	Kampf mit Bussard oder Habicht	hgr. red.	1	Seitenlage, blutiger Schnabel und Kopf, Röntgen: Einblutung in Lunge, Luftsequester	V.a. Anflugtrauma	pos.	E. coli S - alle	
51	23749	21.07.12	Sperber	adult	linker Flügel hängt	gut	3	Radiusfraktur links, Endoparasiten	Radiusfraktur Parasitose	pos.	E. coli S - alle	
59	23978	06.08.12	Sperber	adult	abgestürzt im Garten	gut	2	Endoparasiten, alte Einblutung OD	Parasitose	pos.	E. coli S - alle	
114	25089	19.11.12	Sperber	adult	gegen Fensterscheibe geflogen	ggr. red.	2	Oberschnabel ohne Beteiligung der Wachstumszone gebrochen, Endoparasiten	Anflugtrauma	pos.	E. coli S - alle	
119	25125	21.11.12	Sperber	adult	fliegt nicht weg	mgr. red.	2	V.a. Schultergürtelfraktur, stieß in der Box	V.a. Trauma, Infektion	pos.	E. coli S - alle	
127	25212	01.12.12	Sperber	adult	flog ins Auto	hgr. red.	2	steht nicht, fliegt nicht	Anflugtrauma	pos.	E. coli S - alle	
9	22943	27.05.12	Wald kauz	juvenil	Krähen Attacke	gut	3	Endoparasiten	Parasitose	pos.	E. coli S - alle	
90	24576	26.09.12	Wald kauz	adult	rechter Flügel hängt	x	x	offene Humerusfraktur rechts, Gelenksnah	rechts offene Humerusfraktur	pos.	E. coli S - alle	
118	25115	21.11.12	Wald kauz	adult	flugunfähig	mgr. red.	2	palier, gefüllter Bauch, Röntgen Abdomen hgr. gefüllt, Endoparasiten, Leukozytose	Parasiten, Infektion	pos.	E. coli S - alle	
132	25293	12.12.12	Waldohr eule	adult	neben Straße im Schnee gelegen	hgr. red.	2	ZNS Symptome, Zittern, Ophisthotonus, Blindheit, Endoparasiten	V.a. Anflugtrauma	pos.	E. coli S - alle	
30	23386	24.06.12	Wespen bussard	adult	Flugunfähig	mgr. red.	1	Apathie, Kachexie, Schwäche, Stehunfähig, Hämokrit (Hkt.) 21%	V.a. Trauma	pos.	E. coli S - alle	
85	24316	12.09.12	Wespen bussard	adult	flugunfähig	ggr. red.	2	Linker Flügel hängt, Röntgen: Unafraktur	Unafraktur links	pos.	E. coli S - alle	
159	25610	15.01.13	Mäuse bussard	adult	lag auf Autodach	hgr. red.	2	wässriger Kot, Erbrechen, Greifreflex bds. vermindert, Krepitation an Wirbelsäule	V.a. Autounfall	pos.	E. coli S - alle, CAZ 23	Herz, Leber, Lunge E. coli neg.
160	25618	16.01.13	Mäuse bussard	adult	Steht Flugunfähig	hgr. red.	2	steht nicht gut, flugunfähig, Endoparasiten	Schwäche, Parasitose	pos.	E. coli S - alle, CAZ 24,5	

Tabelle A5: Fortsetzung

248	26470	05.04.13	Röhr weihe	adult	ZNS Probleme	hgr. red.	2	ZNS Probleme, Seitenlage, verkrampfte Flügel, Bradycardie, Schäum am Schnabel, V.a. Carbolicuren Vergiftung	V.a. Carbolicuren Intoxikation	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 25
246	26407	01.04.13	Sperber	adult	flugunfähig	mgr. red.	x	linker Flügel hängt, Hämatom, Schwellung, Röntgen: Luxation Schultergelenk	V.a. Anflugtrauma	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 26
194	26658	11.02.13	Mäuse bussard	adult	Autounfall	hgr. red.	2	Apathie, Schock, Endoparasiten OD ggf. Einblutung	Trauma	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 26,0
166	26667	23.01.13	Waldböhr eule	adult	lag an Strasse	hgr. red.	2	OD Einblutung in Glaskörper, Röntgen: V.a. SGF	V.a. Anflugtrauma	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 26,5
167	26676	23.01.13	Mäuse bussard	adult	Flügelfraktur	hgr. red.	2	Spitelfraktur linke Ulna, Endoparasiten	Ulnafraktur, Parasitose	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 27
227	26235	15.03.13	Mäuse bussard	adult	Flügelverletzung	mgr. red.	3	Schlagfraktur rechte Ulna, Endoparasiten	Ulnafraktur, Parasitose	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 27
236	26332	25.03.13	Mäuse bussard	adult	saß auf der Strasse	gut	3	kniffel OS, Endoparasiten, Ultraschall: Netzhautablösung links	V.a. Anflugtrauma, Netzhautablösung	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 27
213	26119	06.03.13	Sperber	adult	Anflugtrauma	x	x	Krepitation rechte Schulter, Röntgen: SGF	Trauma	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 27
204	26078	01.03.13	Mäuse bussard	adult	flugunfähig auf Strasse gefunden	mgr. red.	2	Krepitation im rechten Bein, Wunde mit Hämatom am rechten Ellbogen, Röntgen: Femur und Humerusfraktur mit Gelenksbeteiligung	Trauma, Femur- und Humerusfraktur	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 27,5
169	26683	23.01.13	Mäuse bussard	adult	lag am Haus	mgr. red.	2	sitzt auf Tarsalgelenken, Schwache, OS: Pupillenreflex fehlend	V.a. Anflugtrauma	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 28
211	26107	04.03.13	Wald kauz	adult	Autounfall	hgr. red.	1	flug- und steunfähig	Trauma	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 28
251	26484	05.04.13	Wald kauz	juv.	Jungvogel ohne Eltern	hgr. red.	2	Schwache, Schnabelhöhle verschleimt, Kloake verschleimt	Jungvogel, schlechtes AB	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 28
170	26689	24.01.13	Mäuse bussard	adult	in U Bahn gefunden	hgr. red.	2	offene Trümmerfraktur linker Humerus	Anflugtrauma	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 28,5
210	26106	04.03.213	Mäuse bussard	adult	flugunfähig	x	2	Schwache, Ständer kalt, Greifreflex reduziert, Endoparasiten, OS Einblutung	V.a. Anflugtrauma, Parasitose	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 28,5
207	26086	02.03.13	Mäuse bussard	adult	verletzt an Autobahn gefunden	hgr. red.	2	Blut in Schnabelhöhle, nutzt linken Ständer nicht, Hüftluxation links	V.a. Anflugtrauma	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 29
187	26909	18.02.13	Mäuse bussard	adult	flugunfähig an Strasse	mgr. red.	2	rechter Flügel hängt, Röntgen: Spitelfraktur Humeruskopf	V.a. Anflugtrauma, Humerusfraktur	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 30
206	26084	02.03.13	Mäuse bussard	adult	flugunfähig an Autobahn	mgr. red.	1	Steht- und flugunfähig, Wunden an Zehen, Extoparasiten	V.a. Anflugtrauma	pos.	E. coli	S - alle, CAZ 30

11. DANKSAGUNG

Abschließend möchte ich mich bei Herrn Universitätsprofessor Dr. Rüdiger Korbel für die Überlassung dieses interessanten Themas, für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und für die jederzeit gern gewährte Unterstützung bei der Planung der Studie und der Diskussion der Ergebnisse bedanken. Vielen Dank für alle hilfreichen Anmerkungen und Korrekturen.

Ein großes Dankeschön an Frau Privat-Dozentin Dr. Monika Rinder, die nicht nur die Idee zu dieser Studie hatte und mir von Anfang an mit all ihrem Wissen und ihrer Erfahrung zur Seite gestanden hat, sondern mir auch über die ganze Zeit eine wunderbare Hilfe bei allen Problemen war. Ich bedanke mich für die psychische und physische Hilfestellung in allen Phasen meiner Dissertation, die vielen guten Ideen, die Freundlichkeit und die große Geduld, den kompetenten Rat und die liebe Ermutigung, ohne die ich die letzten Jahre nicht durchgestanden hätte. Vielen Dank für viele, viele Korrekturvorschläge und die große Hilfe. Liebe Monika, Du warst eine großartige Betreuerin, ohne Dich wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen, DANKE.

Danke an Frau Dr. Katrin Stein, die mir nicht nur als Co-Betreuerin für die bakteriologischen Aspekte meiner Dissertation zur Seite gestanden hat, sondern auch eine große Hilfe bei der Beschaffung einiger Referenzen war. Vielen Dank allen (auch ehemaligen) Tierärzten und Mitarbeitern der Klinik für Vögel, die mir bei der Probennahme eine große Hilfe waren, einen besonderen Dank an all jene Tierärzte und Doktoranden, die auch bei anstrengendem Wochenenddienst an meine Arbeit und meine Proben gedacht haben.

Ein ganz liebes Dankeschön an meine Freundin und „Mit-Doktorandin“ May Velasco für die Entnahme der Probe, die den ESBL-*E. coli* enthielt, und für die spanische Übersetzung der Zusammenfassung.

Ich möchte mich bei Frau Bärbel Hohenleitner und dem Team der Bakteriologie bedanken für die Hilfe bei der Bearbeitung meiner Proben und für alles, was sie mich über Bakterien im Allgemeinen und *E. coli* im Besonderen gelehrt haben. Liebes BAKT-Team, ich bin sicher, das kann ich auch in Zukunft noch gut verwenden, Danke! Danke an Lisa Koch und die Mitarbeiter des Virologie-Teams für die Hilfe bei der genotypischen Charakterisierung meines ESBL-bildenden *E. coli*.

Vielen Dank an Frau Dr. Natalie Drees, LMU München, und Frau Dr. Ute Messelhäuser, LGL Oberschleißheim, für die schnelle und unbürokratische Überlassung von Positivkontroll-Stämmen für unsere ESBL-PCRs.

Danke an meine Familie, meine Mutter, die mich nur noch sehr selten gesehen hat, meinen Cousin und seine Frau, die mich bei der Formatierung unterstützt haben, meinen Bruder Christian und Jutta, für ihre Ratschläge und die Versorgung mit Kuchen, und meinen Sohn Oliver, der mir bei den englischsprachigen Teilen dieser Dissertation eine große Hilfe war.

Der größte Dank gilt meinem Mann, der diese Zeit mit mir durchgestanden hat. Der mir nicht nur finanziell die Möglichkeit gegeben hat, diese Arbeit zu schreiben, sondern auch die letzten Jahre geduldig meine oft schlechte Laune und meinen Stress ertragen, meinen Zeitmangel akzeptiert, mir Essen besorgt und Vögel und Katzen gefüttert hat, ohne mir das Gefühl zu geben, dass ich ihn vernachlässige. Vielen Dank dafür!