



Aktualisierung der Layoutempfehlungen der DVG

Neue Mikrotiterplattenlayouts für die antimikrobielle Empfindlichkeitsprüfung bakterieller Infektionserreger von Kleintieren, Großtieren und aus Fällen boviner Mastitis

Andrea T. Feßler^{1,2}, Wolfgang Bäumer^{2,3}, Alexander Böttner⁴, Christiane Cuny⁵, Ulrike Exner⁶, Kerstin Fey⁷, Doris Höltig^{2,8}, Arne Jung⁹, Heike Kaspar¹⁰, Corinna Kehrenberg¹¹, Dieter Klarmann¹², Barbara Kohn^{2,13}, Elisabeth Müller¹⁴, Kerstin-Elisabeth Müller^{2,15}, Thomas Peters¹⁶, Angelika Richter¹⁷, Christine Schwarz¹⁸, Claudia Sigge¹⁹, Jutta Verspohl²⁰, Christiane Werckenthin¹², Stefan Schwarz^{1,2}

¹ Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen, Freie Universität Berlin; ² Tiermedizinisches Zentrum für Resistenzforschung, Freie Universität Berlin; ³ Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Freie Universität Berlin; ⁴ MSD AH Innovation GmbH, Schwabenheim; ⁵ Abteilung für Infektionskrankheiten, Robert-Koch-Institut, Wernigerode; ⁶ Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH; ⁷ Klinik für Pferde, Innere Medizin, Justus-Liebig-Universität Gießen; ⁸ Klinik für Klautiere, Arbeitsgruppe Schweinekrankheiten, Freie Universität Berlin; ⁹ Klinik für Geflügel, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover; ¹⁰ Abteilung 5: Referenzlaboratorien, Methodenstandardisierung, Antibiotikaresistenz, Referat 505: Antibiotikaresistenzmonitoring, Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL), Berlin; ¹¹ Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde, Justus-Liebig-Universität Gießen; ¹² Lebensmittel- und Veterinärinstitut Oldenburg, Abt. 1, Niedersächsisches Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (LAVES); ¹³ Klinik für kleine Haustiere, Freie Universität Berlin; ¹⁴ LABOKLIN, Labor für klinische Diagnostik GMBH & CO.KG, Bad Kissingen; ¹⁵ Klinik für Klautiere, Arbeitsgruppe Wiederkäuerkrankheiten, Freie Universität Berlin; ¹⁶ Milchtierherden-Betreuungs- und Forschungsgesellschaft mbH (MBFG), Wunstorf; ¹⁷ Institut für Pharmakologie, Pharmazie und Toxikologie, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig; ¹⁸ Abteilung 3: Tierarzneimittel, Referat 303: Veterinärmedizinische Beurteilung, Beurteilung der Umweltverträglichkeit, Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL); ¹⁹ Bundesverband für Tiergesundheit e.V.; ²⁰ Institut für Mikrobiologie, Tierärztliche Hochschule Hannover

Die Empfehlungen des Arbeitskreises „Antibiotikaresistenz“ der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG e. V.) zu Plattenlayouts bieten die Möglichkeit der harmonisierten Empfindlichkeitsprüfung bakterieller Infektionserreger von Kleintie-

ren und Großtieren bzw. von bovinen Mastitiserregern mittels Bouillon-Mikrodilution. Diese Methode liefert aussagekräftige Ergebnisse zur Empfindlichkeit der bakteriellen Pathogene, um zielgerichtet eine wirksame antimikrobielle Therapie durchführen zu

können. Die Layouts wurden, basierend auf dem aktuellen wissenschaftlichen Kenntnisstand, überarbeitet und aktualisiert. Die Änderungen werden hier vorgestellt.

Bakterielle Infektionen kommen sowohl bei landwirtschaftlichen Nutztieren als auch bei

Begleitieren in nicht unerheblichem Umfang vor. Eine effiziente Behandlung solcher Infektionen schließt oftmals den Einsatz antimikrobieller Wirkstoffe ein. Um zu vermeiden, dass Wirkstoffe zum Einsatz kommen, gegenüber denen die jeweiligen bakteriellen Infektionserreger resistent sind oder die aus anderen Gründen für die Therapie ungeeignet sind [1], wird gemäß den Leitlinien für den sorgfältigen Umgang mit antibakteriell wirksamen Tierarzneimitteln [2] empfohlen, vor Beginn einer antimikrobiellen Therapie, aber auch beim Wechsel des Wirkstoffs infolge eines Therapieversagens, den ursächlichen Erreger zu isolieren und dessen Empfindlichkeit gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen zu prüfen. Die antimikrobielle Empfindlichkeitsprüfung von Bakterien stellt für Tierärzte* eine wertvolle Hilfe bei der Auswahl des im Einzelfall am besten geeigneten antimikrobiellen Wirkstoffs dar. Für die bestimmungsgemäße Anwendung von Fluorchinolonen sowie Cephalosporinen der dritten und vierten Generation bei Rindern, Schweinen, Hühnern, Puten, Hunden, Katzen und Pferden ist sie entsprechend der zweiten Verordnung zur Änderung der Verordnung über Tierärztliche Hausapotheken (TÄHAV) seit 01.03.2018 verpflichtend vorgeschrieben [3].

Die Bouillon-Mikrodilution stellt die Methode der Wahl für bakterielle Empfindlichkeitsprüfungen dar [4]. Zur Verbesserung der Akzeptanz dieser etablierten Methode in der Routinediagnostik und zur Vereinheitlichung der Empfindlichkeitsprüfung in den Diagnostiklaboren hat es sich der Arbeitskreis „Antibiotikaresistenz“ der DVG zur Aufgabe gemacht, Mikrotiterplattenlayouts für die Empfindlichkeitsprüfung von bakteriellen Erregern, die aus Infektionsprozessen von Kleintieren [5], Großtieren und aus Fällen boviner Mastitiden [6] stammen, zu empfehlen. Diese Empfehlungen sollen dazu beitragen, dass die für die Empfindlichkeitsprüfung benötigten Mikrotiterplatten von den jeweiligen Herstellern routinemäßig angeboten und so auch in kleineren Mengen für die mikrobiologische Diagnostik bestellt werden können. Durch die Verwendung von Mikrotiterplatten mit den gleichen Layouts wird zudem eine harmonisierte Empfindlichkeitsprüfung deutschlandweit im Veterinärsektor ermöglicht. Die Belegung der Plattenlayouts orientiert sich – von wenigen Ausnahmen abgesehen – an der Zulassung der Wirkstoffe für die betreffenden Tierarten bzw. die betreffende Indikation in Deutschland. Die Belegungen der Mikrotiterplatten umfassen maximal eine bzw. eine halbe Platte je Isolat.

Seit den letzten Layoutempfehlungen des Arbeitskreises aus dem Jahr 2017 [7] haben sich erhebliche Änderungen im Hinblick auf die für die veterinärmedizinische Anwendung zugelassenen antimikrobiellen Wirkstoffe sowie

die vom Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) anerkannten klinischen Grenzwerte und die entsprechenden Qualitätskontrollbereiche für die vom CLSI definierten Referenzstämme ergeben. Der DVG-Arbeitskreis „Antibiotikaresistenz“ hat diesen Änderungen Rechnung getragen und die Mikrotiterplattenlayouts für die Kleintier- und Großtierplatte entsprechend aktualisiert.

Qualitätskontrolle und Beurteilung der Ergebnisse

Zur Überprüfung der korrekten Durchführung sind für jedes klinische Testverfahren, so auch für die antimikrobielle Empfindlichkeitsprüfung, geeignete Qualitätskontrollen mitzuführen. Für die antimikrobielle Empfindlichkeitsprüfung wurden Qualitätskontroll(QC)-Stämme definiert, die sich als besonders stabil erwiesen haben und für die seitens des CLSI QC-Bereiche für eine Vielzahl von antimikrobiellen Wirkstoffen anerkannt wurden. Bei der Testung sind die jeweiligen QC-Stämme im vorgegebenen Umfang (täglich/wöchentlich) parallel zu den diagnostischen Isolaten zu testen [8]. Die mit diesen Stämmen erzielten Ergebnisse müssen innerhalb des festgelegten QC-Bereichs liegen. Befindet sich das Ergebnis außerhalb des QC-Bereichs, sind die Ergebnisse dieses Testdurchgangs nicht valide und müssen daher wiederholt werden (ggf. nach Fehlersuche). Die QC-Bereiche gelten nur für die jeweilige Testmethode [9]; sie sind in dem entsprechenden CLSI-Dokument für die jeweiligen QC-Stämme und Wirkstoffe angegeben [10].

Bei der Überarbeitung der Layouts wurde auch darauf geachtet, Wirkstoffe zu benennen, für die QC-Bereiche und Beurteilungskriterien (klinische Grenzwerte) vorliegen [10]. Die Testbereiche sind i. d. R. so gewählt, dass die QC-Bereiche für mindestens einen der beiden häufig eingesetzten QC-Stämme *Staphylococcus aureus* ATCC® 29213 und *Escherichia coli* ATCC® 25922 enthalten sind [10]. Der aus Platzgründen notwendige Fokus auf die QC-Bereiche dieser beiden QC-Stämme führt dazu, dass eine Validierung der Testung anderer Erreger, wie Streptokokken (bei denen zudem Kationen-angepasste Mueller-Hinton-Bouillon mit Zusatz von Pferdeblut als Testmedium verwendet werden muss), nur teilweise mit dem entsprechenden Referenzstamm (*Streptococcus pneumoniae* ATCC® 49619) erfolgen kann. Zusätzlich ist zu beachten, dass Testbereiche und daraus abzulesende Werte für die minimale Hemmkonzentration (MHK) nicht gleich sind. Der MHK-Wert stellt die niedrigste Konzentration eines antimikrobiellen Wirkstoffs in einer zweifachen Verdünnungsreihe dar, die das sichtbare Bakterienwachstum verhindert. Wächst ein Bakterium in einer Wirkstoffkonzentration von 0,5 mg/L, aber nicht mehr

bei 1 mg/L des gleichen Wirkstoffs, so liegt der MHK-Wert bei 1 mg/L. Mitunter wachsen Bakterien aber auch noch in der höchsten Testkonzentration. In diesen Fällen ist der MHK-Wert mit „≥“ der als nächstes folgenden Testkonzentration in der zweifachen Verdünnungsreihe anzugeben, auch wenn diese nicht in der Mikrotiterplatte enthalten ist. Alternativ kann in diesen Fällen der MHK-Wert auch als „>“ der letzten getesteten Wirkstoffkonzentration angegeben werden. So ergibt sich für ein *Staphylococcus*-Isolat vom Hund, das bei einer Clindamycinkonzentration von 4 mg/L (= höchste Clindamycin-Testkonzentration im Kleintierlayout) Wachstum zeigt, ein MHK-Wert von ≥ 8 mg/L bzw. > 4 mg/L.

Die klinische Wirksamkeit eines antimikrobiellen Wirkstoffs wird maßgeblich von zwei Faktoren bestimmt: 1. der erreichbaren Gewebekonzentration, die in Abhängigkeit von der Tierart, den Bedingungen am Infektionsort bei einer klinischen Erkrankung sowie den pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Eigenschaften des Wirkstoffs variieren kann, und 2. der Empfindlichkeit des zu bekämpfenden Bakteriums gegenüber dem antimikrobiellen Wirkstoff, gemessen als MHK-Wert. Klinische Grenzwerte werden für feststehende Kombinationen aus Wirkstoff, Bakterien, Tierart und Indikation auf der Basis von mikrobiologischen Daten, Ergebnissen klinischer Studien und den vorab genannten pharmakologischen Parametern ermittelt. Unter Verwendung klinischer Grenzwerte werden bakterielle Erreger in die Kategorien „sensibel“, „intermediär“ und „resistent“ gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen eingeteilt. Für die Tiermedizin sind entsprechend erarbeitete klinische Grenzwerte in dem CLSI-Dokument VET01S 5th Ed. gelistet [10]. Das Dokument ist mittlerweile frei zugänglich und kann auf der Homepage des CLSI eingesehen werden

(<http://clsivet.org/GetDoc.aspx?doc=CLSI%20VET01S%20ED5:2020&xormat=SPDF&src=BB>). Da die Grenzwerte entsprechend der Datenlage kontinuierlich aktualisiert und angepasst werden, muss für die Beurteilung der Ergebnisse immer das aktuellste Dokument verwendet werden.

Kleintierlayout

Die traditionsgemäß als „Kleintierlayout“ bezeichnete Zusammenstellung von antimikrobiellen Wirkstoffen in verschiedenen Testkonzentrationen ist in erster Linie zur Empfindlichkeitsprüfung bakterieller Erreger von Hunden und Katzen gedacht. Dieses Layout kann aber auch für entsprechende Erreger von Pferden, die nicht als Lebensmittel liefernde Tiere deklariert sind, verwendet werden. Dementsprechend könnte es auch als „Begleittierlayout“ bezeichnet werden. Die Auswahl der Wirkstoffe einschließlich der Verwendung von Stellvertretersubstanzen (ST, stellvertretend für eine Antibiotikaklasse) und Testbereichen für dieses Layout wurde an anderen Stellen bereits ausführlich besprochen [5, 7], weshalb hier der Fokus im Wesentlichen auf die vorgenommenen Änderungen gelegt wird (**Tab. 1**).

Die Testbereiche wurden für folgende Wirkstoffe angepasst: Amoxicillin/Clavulansäure (2:1), Ampicillin (ST für Aminopenicilline), Cefovecin, Cephalexin, Penicillin G, Clindamycin (ST für Lincosamide), Erythromycin (Testsubstanz für induzierbare Makrolidresistenz), Pradofloxacin, Tetracyclin, Trimethoprim/Sulfamethoxazol und Gentamicin. Die Anpassungen erfolgten im Hinblick auf die vorhandenen Qualitätskontrollbereiche der beiden gängigsten Referenzstämme *Staphylococcus aureus* ATCC® 29213 und *Escherichia coli* ATCC® 25922, aber auch anderer Referenzstämme sowie die im CLSI-Dokument VET01S 5th Ed. [10] enthaltenen klinischen Grenzwerte.

Zusätzlich wurden die Wirkstoffe Doxycyclin und Florfenicol in das aktuelle Layout aufgenommen. Für Doxycyclin gibt es seitens des CLSI klinische Grenzwerte für diverse Bakterien von Hunden (*Staphylococcus pseudintermedius*) und Pferden (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus equi* subsp. *equi*, *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*). Florfenicol kommt – obwohl nicht explizit für die Kleintiermedizin zugelassen – bei Infektionen mit multi-resistenten Bakterien bei Hunden und Katzen über Umwidmungen zum Einsatz. Es ist wirksam gegenüber chloramphenicolresistenten Bakterien, bei denen die Resistenz auf der Bildung einer Chloramphenicol-Acetyltransferase beruht [11]. Die Florfenicol-spezifischen vom CLSI anerkannten klinischen Grenzwerte sind für definierte Atemwegsinfektionserreger von Rindern und Schweinen gültig und können daher bestenfalls als grobe Orientierung bei der Klassifizierung der Erreger von Hunden und Katzen dienen.

Zwischenzeitlich wurden für die Beurteilung von Cefovecin, einem Cephalosporin der dritten Generation, klinische Grenzwerte anerkannt, die für verschiedene Gram-positive und Gram-negative Bakterien aus unterschiedlichen Infektionsprozessen bei Hunden und Katzen Gültigkeit besitzen (**Tab. 1**).

Die Wirkstoffe Erythromycin und Oxacillin sind eher von diagnostischer als von therapeutischer Bedeutung. Derzeit ist kein Erythromycin-haltiges Präparat für die veterinärmedizinische Therapie zugelassen. Erythromycin – ein 14-gliedriges Makrolid – wirkt aber als Induktor für die bei Staphylokokken, Streptokokken und Enterokokken weit verbreiteten *erm*-Gene, die, wenn induziert oder konstitutiv exprimiert, auch Resistenz gegenüber Lincosamiden vermitteln können. Clindamycin und andere Lincosamide hingegen können *erm*-Gene nicht induzieren. Studien haben ge-

Tab. 1: Wirkstoffe, Testbereiche, Qualitätskontrolle und Grenzwerte für das Kleintierlayout (ganze Platte)

Wirkstoff ¹	Testbereich (mg/L)	MHK QC-Bereich (mg/L) für geeignete QC-Stämme	Kombination Tierart, Indikation und Erreger	MHK-Grenzwerte (mg/L) ²		
				S	I	R
AMC	0,12/0,06–16/8	<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922 2/1–8/4 <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212 0,25/0,12–1/0,5	Hunde Haut- und Weichteilinfektionen <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus</i> spp. Katzen Haut- und Weichteilinfektionen <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>Pasteurella multocida</i> Hunde Harnwegsinfektionen <i>Staphylococcus</i> spp. Katzen Harnwegsinfektionen <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>Pasteurella multocida</i>	≤ 0,25/0,12	0,5/0,25	≥ 1/0,5
			Hunde/Katzen Harnwegsinfektionen <i>Escherichia coli</i>	≤ 8/4	–	–
			Enterobacterales	≤ 8/4	16/8	≥ 32/16

Wirkstoff ¹	Testbereich (mg/L)	MHK QC-Bereich (mg/L) für geeignete QC-Stämme	Kombination Tierart, Indikation und Erreger	MHK-Grenzwerte (mg/L) ²		
				S	I	R
AMP ³	0,06–16	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC [®] 29213 0,5–2 <i>Escherichia coli</i> ATCC [®] 25922 2–8 <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC [®] 29212 0,5–2	Hunde Haut- und Weichteilinfektionen <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	≤ 0,25	–	≥ 0,5
			Hunde Haut- und Weichteilinfektionen <i>Streptococcus</i> spp.	≤ 0,25	–	–
			Hunde Haut- und Weichteilinfektionen <i>Escherichia coli</i> Katzen Haut- und Weichteilinfektionen <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>Pasteurella multocida</i> Katzen Harnwegsinfektionen <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>Pasteurella multocida</i>	≤ 0,25	0,5	≥ 1
			Hunde Harnwegsinfektionen <i>Escherichia coli</i>	≤ 8	–	–
			Pferde Atemwegsinfektionen <i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>zooepidemicus</i> , <i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>equi</i>	≤ 0,25	–	–
			Pferde Enterobacterales Pferde Atemwegsinfektionen, Haut- und Weichteilinfektionen <i>Staphylococcus aureus</i>	≤ 0,25	0,5	≥ 1
			Enterobacterales	≤ 8	16	≥ 32
			<i>Streptococcus</i> spp. (β-hämolysierende Gruppe)	≤ 0,25	–	–
			<i>Streptococcus</i> spp. (Viridans-Gruppe)	≤ 0,25	0,5–4	≥ 8
			<i>Enterococcus</i> spp.	≤ 8	–	≥ 16
CFX ⁴	2–16	<i>Escherichia coli</i> ATCC [®] 25922 4–16	Hunde Haut- und Weichteilinfektionen <i>Escherichia coli</i> , <i>Streptococcus</i> spp. (β-hämolysierende Gruppe)	≤ 2	4	≥ 8
			Hunde Haut- und Weichteilinfektionen <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	≤ 2	–	≥ 4
			Hunde Harnwegsinfektionen <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Proteus mirabilis</i>	≤ 16	–	≥ 32
CEV	0,12–4	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC [®] 29213 0,5–2 <i>Escherichia coli</i> ATCC [®] 25922 0,5–2	Hunde Haut- und Weichteilinfektionen <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	≤ 0,5	1	≥ 2
			Hunde Haut- und Weichteilinfektionen <i>Streptococcus</i> spp. (β-hämolysierende Gruppe) Katze Haut- und Weichteilinfektionen <i>Pasteurella multocida</i>	≤ 0,12	0,25	≥ 0,5
			Hunde Harnwegsinfektionen <i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus mirabilis</i> Katzen Harnwegsinfektionen <i>Escherichia coli</i>	≤ 2	4	≥ 8
CHL	1–16	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC [®] 29213 2–16 <i>Escherichia coli</i> ATCC [®] 25922 2–8 <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC [®] 29212 4–16 <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC [®] 49619 2–8	Enterobacterales, <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp., <i>Pasteurella multocida</i>	≤ 8	16	≥ 32
			<i>Streptococcus</i> spp. (außer <i>Streptococcus pneumoniae</i>)	≤ 4	8	≥ 16
			<i>Streptococcus pneumoniae</i>	≤ 4	–	≥ 8

Wirkstoff ¹	Testbereich (mg/L)	MHK QC-Bereich (mg/L) für geeignete QC-Stämme	Kombination Tierart, Indikation und Erreger	MHK-Grenzwerte (mg/L) ²		
				S	I	R
CLI ⁵	0,03–4	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC [®] 29213 0,06–0,25	Hunde Haut- und Weichteilinfektionen <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp. (β-hämolysierende Gruppe)	≤ 0,5	1–2	≥ 4
			<i>Streptococcus</i> spp. (β-hämolysierende Gruppe, Viridans-Gruppe), <i>Streptococcus pneumoniae</i>	≤ 0,25	0,5	≥ 1
DOX	0,06–1	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC [®] 29213 0,12–0,5	Hunde Haut- und Weichteilinfektionen <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	≤ 0,12	0,25	≥ 0,5
			Pferde <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>equi</i> , <i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>zooepidemicus</i>			
			Enterobacterales, <i>Enterococcus</i> spp.	≤ 4	8	≥ 16
			<i>Streptococcus pneumoniae</i>	≤ 0,25	0,5	≥ 1
ENR ⁶	0,015–2	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC [®] 29213 0,03–0,12 <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC [®] 29212 0,12–1	Hunde Haut- und Weichteilinfektionen, Atemwegsinfektionen, Harnwegsinfektionen Enterobacterales, <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp.	≤ 0,5	1–2	≥ 4
			Katzen Haut- und Weichteilinfektionen Enterobacterales, <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Streptococcus</i> spp.			
			Pferde Atemwegsinfektionen, Haut- und Weichteilinfektionen <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>equi</i> , <i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>zooepidemicus</i>	≤ 0,12	0,25	≥ 0,5
ERY ⁷	2–4	–	<i>Staphylococcus</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp.	≤ 0,5	1–4	≥ 8
FLL	1–8	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC [®] 29213 2–8 <i>Escherichia coli</i> ATCC [®] 25922 2–8 <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC [®] 29212 2–8	Rinder Atemwegsinfektionen <i>Mannheimia haemolytica</i> , <i>Pasteurella multocida</i> , <i>Histophilus somni</i>	≤ 2	4	≥ 8
			Schweine Atemwegsinfektionen <i>Streptococcus suis</i> , <i>Bordetella bronchiseptica</i> , <i>Pasteurella multocida</i> , <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>			
			Schweine Atemwegsinfektionen <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> Serovar Choleraesuis	≤ 4	8	≥ 16
GEN	0,12–4	<i>Escherichia coli</i> ATCC [®] 25922 0,25–1	Hunde Enterobacterales, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	≤ 2	4	≥ 8
			Pferde (adult) Enterobacterales, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>			
			Enterobacterales, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus</i> spp.	≤ 4	8	≥ 16
OXA	0,06–2	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC [®] 29213 0,12–0,5	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus lugdunensis</i>	≤ 2	–	≥ 4
			<i>Staphylococcus pseudintermedius</i> , <i>Staphylococcus schleiferi</i> , Koagulase-negative Staphylokokken außer <i>Staphylococcus lugdunensis</i>	≤ 0,25	–	≥ 0,5
PEN	0,12–2	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC [®] 29213 0,25–2 <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC [®] 49619 0,25–1	Pferde Atemwegsinfektionen, Weichteilinfektionen <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp.	≤ 0,5	1	≥ 2
			<i>Staphylococcus</i> spp.	≤ 0,12	–	≥ 0,25
			<i>Streptococcus</i> spp. (außer <i>Streptococcus pneumoniae</i> , Viridans-Gruppe)	≤ 0,12	0,25–2	≥ 4
			<i>Streptococcus</i> spp. (außer <i>Streptococcus pneumoniae</i> , β-hämolysierende Gruppe)	≤ 0,12	–	–
			<i>Enterococcus</i> spp.	≤ 8	–	≥ 16
PRX	0,015–1	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC [®] 29213 0,03–0,12 <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC [®] 29212 0,12–0,5	Hunde Haut- und Harnwegsinfektionen <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	≤ 0,25	0,5–1	≥ 2
			Katzen Haut- und Atemwegsinfektionen <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus felis</i>			
			Katzen Haut- und Atemwegsinfektionen <i>Streptococcus canis</i> , <i>Pasteurella multocida</i>	≤ 0,25	–	–

Wirkstoff ¹	Testbereich (mg/L)	MHK QC-Bereich (mg/L) für geeignete QC-Stämme	Kombination Tierart, Indikation und Erreger	MHK-Grenzwerte (mg/L) ²		
				S	I	R
T/S	0,12/2,38–2/38	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC [®] 29213 ≤ 0,5/9,5 <i>Escherichia coli</i> ATCC [®] 25922 ≤ 0,5/9,5 <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC [®] 29212 ≤ 0,5/9,5	Enterobacterales, <i>Staphylococcus</i> spp.	≤ 2/38	–	≥ 4/76
			<i>Streptococcus pneumoniae</i>	≤ 0,5/9,5	1/19–2/38	≥ 4/76
TET ³	0,12–4	<i>Escherichia coli</i> ATCC [®] 25922 0,5–2 <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> ATCC [®] 27090 0,25–2*, 0,5–2**	Hunde Haut- und Weichteilinfektionen <i>Staphylococcus</i> spp.	≤ 0,25	0,5	≥ 1
			Enterobacterales, <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp. (Harnwegsinfektion)	≤ 4	8	≥ 16
			<i>Streptococcus</i> spp. außer <i>Streptococcus pneumoniae</i>	≤ 2	4	≥ 8
			<i>Streptococcus pneumoniae</i>	≤ 1	2	≥ 4

¹AMC = Amoxicillin/Clavulansäure (2:1); AMP = Ampicillin; CFX = Cefalexin; CEV = Cefovecin; CHL = Chloramphenicol; CLI = Clindamycin; DOX = Doxycyclin; ENR = Enrofloxacin; ERY = Erythromycin; FLL = Florfenicol; GEN = Gentamicin; OXA = Oxacillin; PEN = Penicillin G; PRX = Pradofloxacin; T/S = Trimethoprim/Sulfamethoxazol (1:19); TET = Tetracyclin

²S = sensibel; I = intermediär; R = resistent; Grenzwerte, die aus der Humanmedizin übernommen sind (CLSI-Dokument M100 [14]), sind hellgrün hinterlegt. Von Erregern von Nutztieren übernommene Beurteilungskriterien sind grau hinterlegt.

³ST für Aminopenicilline (wie Amoxicillin); ⁴ST für alle anderen Erstgeneration-Cephalosporine; ⁵ST für Lincosamide (wie Lincomycin); ⁶ST für andere Fluorchinolone (wie Marbofloxacin und Orbifloxacin) außer Pradofloxacin; ⁷Nachweis der induzierbaren Makrolid/Lincosamidresistenz; ⁸ST für Tetracycline (wie Oxytetracyclin oder Chlortetracyclin) außer Doxycyclin und Minocyclin * in Veterinary Fastidious Medium (VMF), ** in Mueller Hinton Fastidious Medium with Yeast Extract (MHF-Y). Beide Medien sind hinsichtlich ihrer Zusammensetzung detailliert im CLSI-Dokument VET01 (2018) beschrieben.

zeigt, dass die Regulatorregionen induzierbar exprimierter *erm*-Gene in Gegenwart eines Nichtinduktors (wie Clindamycin) mutieren können, wodurch sich der Expressionstyp von induzierbar zu konstitutiv ändert, was mit einer Erweiterung des Resistenzspektrums auf 16-gliedrige Makrolide und Lincosamide einhergeht [12, 13]. Daher ist es wichtig, vor

dem Einsatz von Clindamycin abzuklären, ob bei den betreffenden Bakterien ein induzierbar exprimiertes *erm*-Gen vorliegt. In diesem Fall zeigt das Bakterienisolat Resistenz gegenüber Erythromycin und Empfindlichkeit gegenüber Clindamycin; auf den Einsatz von Clindamycin sollte in diesen Fällen verzichtet werden. Oxacillin dient zum Nachweis der Methicillinresis-

tenz, d. h. einer Resistenz gegenüber β -Laktamase-festen Penicillinen, bei Staphylokokken. Ist ein *Staphylococcus*-Isolat resistent gegenüber Oxacillin, wird es gemäß CLSI-Empfehlungen auch als resistent gegenüber allen anderen für die veterinärmedizinische Nutzung zugelassenen β -Laktam-Antibiotika beurteilt (Penicilline, inklusive Inhibitor-Kombinationen

wie Amoxicillin-Clavulansäure, und Cephalosporine) [10].

Bezüglich der Aussagekraft der qualitativen Beurteilung der Testergebnisse ist zu beachten, dass die Grenzwerte für Chloramphenicol, Erythromycin und Trimethoprim/Sulfamethoxazol (1:19) ausschließlich aus der Humanmedizin übernommen sind; Hunde-, Katzen- oder Pferde-spezifische Beurteilungskriterien stehen für diese Wirkstoffe nicht zur Verfügung.

Großtierlayout

Die bislang als „Großtierlayout“ bezeichnete Zusammenstellung von antimikrobiellen Wirkstoffen in verschiedenen Testkonzentrationen ist gewissermaßen ein Nutztierlayout, das zur Empfindlichkeitsprüfung bakterieller Infektionserreger von Schweinen und Rindern entwickelt wurde. Bei Bedarf können Mikrotiterplatten mit diesem Layout auch für die Empfindlichkeitsprüfung von Bakterien anderer Nutztierarten verwendet werden (z. B. kleinen Wiederkäuern und Neuweltkameliden). Auch bei diesem Layout wurde die Auswahl der Wirkstoffe einschließlich der Verwendung von Stellvertretersubstanzen und Testbereichen bereits in früheren Publikationen ausführlich besprochen [6,7]. Entsprechend liegt hier der Fokus auf den vorgenommenen Änderungen (**Tab. 2**).

Die Testbereiche wurden für folgende Wirkstoffe angepasst: Amoxicillin/Clavulansäure (2:1), Ampicillin, Erythromycin (Testsubstanz für induzierbare Makrolidresistenz), Tulathromycin, Gentamicin, Penicillin G, Trimethoprim/Sulfamethoxazol (1:19), Tetrazyklin und Tiamulin. Die Anpassungen erfolgten im Hinblick auf die vorhandenen Qualitätskontrollbereiche der beiden gängigsten Referenzstämme *Staphylococcus aureus* ATCC® 29213 und *Escherichia coli* ATCC® 25922, aber auch anderer Referenzstämme sowie die im CLSI-Dokument VET01S 5th Ed. [10] enthaltenen klinischen Grenzwerte.

Die Wirkstoffe Cephalothin und Spectinomycin wurden aus dem Layout gestrichen, da für beide Wirkstoffe derzeit keine Präparate bzw. Monopräparate für die veterinärmedizinische Nutzung zugelassen sind.

In das aktuelle Layout aufgenommen wurden hingegen die Wirkstoffe Gamithromycin und Tildipirosin. Für Gamithromycin gibt es seitens CLSI klinische Grenzwerte für diverse Atemwegsinfektionserreger von Rindern (*Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni*). Für Tildipirosin wurden vom CLSI klinische Grenzwerte für Atemwegsinfektionserreger von Rindern (*Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni*) und Schweinen (*Pasteurella multocida*, *Bordetella bronchi-*

septica, *Actinobacillus pleuropneumoniae*) anerkannt (**Tab. 2**).

Der Wirkstoff Erythromycin wird – wie beim Kleintierlayout beschrieben – lediglich in zwei Konzentrationen zur Erkennung induzierbarer Makrolidresistenz getestet. Im Großtierlayout sind die 16-gliedrige Makrolide Tilmicosin und Tildipirosin enthalten, die analog zu Clindamycin und anderen Lincosamiden nicht als Induktoren von *erm*-Genen wirken. Daher ist es wichtig, vor dem Einsatz von Tilmicosin und Tildipirosin abzuklären, ob bei den betreffenden Bakterien ein induzierbar exprimiertes *erm*-Gen vorliegt. In diesem Fall zeigt das Bakterienisolat Resistenz gegenüber Erythromycin und Empfindlichkeit gegenüber Tilmicosin und Tildipirosin. Aufgrund der rasch erfolgenden Mutationen in den Regulatorregionen der *erm*-Gene, die mit einer Ausweitung des Resistenzspektrums auf 16-gliedrige Makrolide einhergehen, sollte in diesen Fällen auf den Einsatz von Tilmicosin und Tildipirosin verzichtet werden.

Die Beurteilung der Resistenzlage gegenüber Colistin ist problematisch. Einerseits gibt es keine veterinärspezifischen klinischen Grenzwerte, andererseits hat das CLSI für Colistin humanmedizinisch anwendbare klinische Grenzwerte nur für die Kategorien „intermediär“ (≤ 2 mg/L) und „resistent“ (≥ 4 mg/L) anerkannt und auch nur für die Erregergruppen

Tab. 2: Wirkstoffe, Testbereiche, Qualitätskontrolle und Grenzwerte für das Großtierlayout (ganze Platte)

Wirkstoff ¹	Testbereich (mg/L)	MHK QC-Bereich (mg/L) für geeignete QC-Stämme	Kombination Tierart, Indikation und Erreger	MHK-Grenzwerte (mg/L) ²		
				S	I	R
AMC	1/0,5–16/8	<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922 2/1–8/4	Enterobacterales	$\leq 8/4$	16/8	$\geq 32/16$
AMP ³	0,03–16	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 29213 0,5–2 <i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922 2–8 <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212 0,5–2 <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC® 49619 0,06–0,25 <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> ATCC® 27090 0,06–0,25**	Pferde Atemwegsinfektionen <i>Streptococcus equi subsp. equi</i> , <i>Streptococcus equi subsp. zooepidemicus</i>	$\leq 0,25$	–	–
			Pferde Enterobacterales Pferde Atemwegsinfektionen, Haut- und Weichteilinfektionen <i>Staphylococcus aureus</i>	$\leq 0,25$	0,5	≥ 1
			Rinder Metritis <i>Escherichia coli</i> Rinder Atemwegsinfektionen <i>Mannheimia haemolytica</i> , <i>Pasteurella multocida</i> , <i>Histophilus somni</i>	$\leq 0,03$	0,06–0,12	$\geq 0,25$
			Schweine Atemwegsinfektionen <i>Streptococcus suis</i> , <i>Bordetella bronchiseptica</i> , <i>Pasteurella multocida</i> , <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	$\leq 0,5$	1	≥ 2
			Enterobacterales	≤ 8	16	≥ 32
			<i>Streptococcus</i> spp. (β -hämolyisierende Gruppe)	$\leq 0,25$	–	–
			<i>Streptococcus</i> spp. (Viridans-Gruppe)	$\leq 0,25$	0,5–4	≥ 8
			<i>Enterococcus</i> spp.	≤ 8	–	≥ 16

Wirkstoff ¹	Testbereich (mg/L)	MHK QC-Bereich (mg/L) für geeignete QC-Stämme	Kombination Tierart, Indikation und Erreger	MHK-Grenzwerte (mg/L) ²		
				S	I	R
CET ⁴	0,12–4	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC [®] 29213 0,25–1 <i>Escherichia coli</i> ATCC [®] 25922 0,25–1	Rinder Atemwegsinfektionen <i>Mannheimia haemolytica</i> , <i>Pasteurella multocida</i> , <i>Histophilus somni</i> Schweine Atemwegsinfektionen <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> Serovar Choleraesuis, <i>Streptococcus suis</i> , <i>Pasteurella multocida</i> , <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	≤ 2	4	≥ 8
			Pferde Atemwegsinfektionen <i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>zooepidemicus</i>	≤ 0,25	–	–
COL	0,5–2		Enterobacterales, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter</i> spp.	–	≤ 2	≥ 4
ENR ⁵	0,015–1	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC [®] 29213 0,03–0,12 <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC [®] 29212 0,12–1	Pferde Atemwegsinfektionen, Haut- und Weichteilinfektionen <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>equi</i> , <i>Streptococcus equi</i> subsp. <i>zooepidemicus</i>	≤ 0,12	0,25	≥ 0,5
			Rinder Atemwegsinfektionen <i>Mannheimia haemolytica</i> , <i>Pasteurella multocida</i> , <i>Histophilus somni</i>	≤ 0,25	0,5–1	≥ 2
			Schweine Atemwegsinfektionen <i>Pasteurella multocida</i> , <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	≤ 0,25	0,5	≥ 1
			Schweine Atemwegsinfektionen <i>Streptococcus suis</i>	≤ 0,5	1	≥ 2
			Geflügel <i>Escherichia coli</i>	≤ 0,25	0,5–1	≥ 2
ERY ⁶	2–4		<i>Staphylococcus</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp.	≤ 0,5	1–4	≥ 8
FLL	1–8	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC [®] 29213 2–8 <i>Escherichia coli</i> ATCC [®] 25922 2–8 <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC [®] 29212 2–8	Rinder Atemwegsinfektionen <i>Mannheimia haemolytica</i> , <i>Pasteurella multocida</i> , <i>Histophilus somni</i> Schweine Atemwegsinfektionen <i>Streptococcus suis</i> , <i>Bordetella bronchiseptica</i> , <i>Pasteurella multocida</i> , <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	≤ 2	4	≥ 8
			Schweine Atemwegsinfektionen <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> Serovar Choleraesuis	≤ 4	8	≥ 16
GAM	0,25–8	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC [®] 29213 0,5–4 <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> ATCC [®] 27090 2–8*** <i>Histophilus somni</i> ATCC [®] 700025 0,5–2**	Rinder Atemwegsinfektionen <i>Mannheimia haemolytica</i> , <i>Pasteurella multocida</i> , <i>Histophilus somni</i>	≤ 4	8	≥ 16
GEN	0,06–8	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC [®] 29213 0,12–1 <i>Escherichia coli</i> ATCC [®] 25922 0,25–1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC [®] 27853 0,5–2	Pferde (adult) Enterobacterales, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	≤ 2	4	≥ 8
			Enterobacterales, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus</i> spp.	≤ 4	8	≥ 16

Wirkstoff ¹	Testbereich (mg/L)	MHK QC-Bereich (mg/L) für geeignete QC-Stämme	Kombination Tierart, Indikation und Erreger	MHK-Grenzwerte (mg/L) ²		
				S	I	R
PEN	0,06–2	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 29213 0,25–2 <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC® 49619 0,25–1	Pferde Atemwegsinfektionen, Weichteilinfektionen <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp.	≤ 0,5	1	≥ 2
			Rinder Atemwegsinfektionen <i>Mannheimia haemolytica</i> , <i>Pasteurella multocida</i> , <i>Histophilus somni</i>	≤ 0,25	0,5	≥ 1
			Schweine Atemwegsinfektionen <i>Streptococcus suis</i> , <i>Pasteurella multocida</i>			
			<i>Staphylococcus</i> spp.	≤ 0,12	–	≥ 0,25
			<i>Streptococcus</i> spp. (außer <i>Streptococcus pneumoniae</i> , Viridans Gruppe)	≤ 0,12	0,25–2	≥ 4
			<i>Streptococcus</i> spp. (außer <i>Streptococcus pneumoniae</i> , β-hämolisierende Gruppe)	≤ 0,12	–	–
			<i>Enterococcus</i> spp.	≤ 8	–	≥ 16
T/S	0,12/2,38–2/38	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 29213 ≤ 0,5/9,5 <i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922 ≤ 0,5/9,5 <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212 ≤ 0,5/9,5	Enterobacterales, <i>Staphylococcus</i> spp.	≤ 2/38	–	≥ 4/76
			<i>Streptococcus pneumoniae</i>	≤ 0,5/9,5	1/19–2/38	≥ 4/76
TET ⁷	0,25–8	<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922 0,5–2 <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> ATCC® 27090 0,5–2**	Rinder Atemwegsinfektionen <i>Mannheimia haemolytica</i> , <i>Pasteurella multocida</i> , <i>Histophilus somni</i>	≤ 2	4	≥ 8
			Schweine Atemwegsinfektionen <i>Streptococcus suis</i> , <i>Pasteurella multocida</i> , <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	≤ 0,5	1	≥ 2
			Enterobacterales, <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp.	≤ 4	8	≥ 16
			<i>Streptococcus</i> spp. außer <i>Streptococcus pneumoniae</i>	≤ 2	4	≥ 8
			<i>Streptococcus pneumoniae</i>	≤ 1	2	≥ 4
TIA	0,25–16	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 29213 0,5–2 <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC® 49619 0,5–4	Schweine Atemwegsinfektionen <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	≤ 16	–	≥ 32
TDP	1–32	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 29213 2–16 <i>Histophilus somni</i> ATCC® 700025 2–8*/2–16** <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> ATCC® 27090 2–16***	Rinder Atemwegsinfektionen <i>Mannheimia haemolytica</i>	≤ 4	8	≥ 16
			Rinder Atemwegsinfektionen <i>Pasteurella multocida</i> , <i>Histophilus somni</i>	≤ 8	16	≥ 32
			Schweine Atemwegsinfektionen <i>Bordetella bronchiseptica</i>	≤ 8	–	–
			Schweine Atemwegsinfektionen <i>Pasteurella multocida</i>	≤ 4	–	–
			Schweine Atemwegsinfektionen <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	≤ 16	–	–
TIL	0,5–16	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 29213 1–4 <i>Histophilus somni</i> ATCC® 700025 2–16*/4–16**	Rinder Atemwegsinfektionen <i>Mannheimia haemolytica</i>	≤ 8	16	≥ 32
			Schweine Atemwegsinfektionen <i>Pasteurella multocida</i> , <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	≤ 16	–	≥ 32

Wirkstoff ¹	Testbereich (mg/L)	MHK QC-Bereich (mg/L) für geeignete QC-Stämme	Kombination Tierart, Indikation und Erreger	MHK-Grenzwerte (mg/L) ²		
				S	I	R
TUL	1–64	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC [®] 29213 2–8 <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC [®] 29212 4–32 <i>Mannheimia haemolytica</i> ATCC [®] 33396 2–8 <i>Histophilus somni</i> ATCC [®] 700025 4–32* **	Rinder Atemwegsinfektionen <i>Mannheimia haemolytica</i> , <i>Pasteurella multocida</i> , <i>Histophilus somni</i> Schweine Atemwegsinfektionen <i>Bordetella bronchiseptica</i> , <i>Pasteurella multocida</i> Schweine Atemwegsinfektionen <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	≤ 16	32	≥ 64
				≤ 64	–	–

¹AMC = Amoxicillin/Clavulansäure (2:1); AMP = Ampicillin; CET = Ceftiofur; COL = Colistin; ENR = Enrofloxacin; ERY = Erythromycin; FLL = Florfenicol; GAM = Gamithromycin; GEN = Gentamicin; PEN = Penicillin G; T/S = Trimethoprim/Sulfamethoxazol (1:19); TET = Tetrazyklin; TIA = Tiamulin; TDP = Tildipirosin; TIL = Tilmicosin; TUL = Tulathromycin

²S = sensibel; I = intermediär; R = resistent; Grenzwerte, die aus der Humanmedizin übernommen sind (CLSI Dokument M100 [14]), sind grün hinterlegt.

³ST für Amoxicillin; ⁴ST für alle anderen Erstgeneration-Cephalosporine; ⁵ST für andere Fluorchinolone (wie Marbofloxacin); ⁶Nachweis der induzierbaren Makrolid/Lincosamidresistenz;

⁷ST für Tetracycline (wie Oxytetracyclin oder Chlortetracyclin) außer Doxycyclin und Minocyclin

* in Veterinary Fastidious Medium (VMF), ** in Mueller Hinton Fastidious Medium with Yeast Extract (MHF-Y). Beide Medien sind hinsichtlich ihrer Zusammensetzung detailliert im CLSI Dokument VET01 (2018) beschrieben.

Enterobacterales, *Pseudomonas aeruginosa* und *Acinetobacter* spp. [14]. Unter Verwendung dieser Grenzwerte ist es daher nicht möglich, ein Bakterium als Colistin-empfindlich zu klassifizieren.

Bezüglich der Aussagekraft der qualitativen Beurteilung der Testergebnisse ist zu beachten, dass neben den klinischen Grenzwerten für Colistin auch die für Amoxicillin/Clavulansäure (2:1), Erythromycin und Trimethoprim/Sulfamethoxazol (1:19) ausschließlich aus der Humanmedizin übernommen sind; Nutztier-spezifische Beurteilungskrite-

rien stehen für diese Wirkstoffe nicht zur Verfügung.

Mastitislayout

Für das Mastitislayout, das zur Empfindlichkeitsprüfung boviner Mastitiserreger konzipiert wurde, haben sich im Vergleich zur Vorgängerversion nur geringfügige Änderungen ergeben (Tab. 3). Diese betreffen nicht die Testbereiche, sondern nur die Grenzwerte für einzelne Wirkstoffe bzw. den Gültigkeitsbereich für bestimmte Erreger. Vom CLSI wurden mittlerweile unter maßgeblicher Mitwirkung von Mitgliedern des

DVG-Arbeitskreises „Antibiotikaresistenz“ klinische Grenzwerte für Cefoperazon anerkannt. Diese klinischen Grenzwerte besitzen Gültigkeit für *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* und Koagulase-negative Staphylokokken. Für *Streptococcus* spp. wurden aufgrund fehlender resistenter Isolate lediglich Grenzwerte für die Kategorie „empfindlich“ anerkannt. Diese Grenzwerte liegen für *Streptococcus uberis* bei ≤ 2 mg/L und *Streptococcus agalactiae* und *Streptococcus dysgalactiae* bei ≤ 0,5 mg/L. Bei dem vorgegebenen Testbereich werden demnach *Streptococcus agalactiae*- und *Strepto-*

Tab. 3: Wirkstoffe, Testbereiche, Qualitätskontrolle und Grenzwerte für das Mastitislayout (halbe Platte)

Wirkstoff ¹	Testbereich (mg/L)	MHK QC-Bereich (mg/L) für geeignete QC-Stämme	Erreger	MHK-Grenzwerte (mg/L) ²		
				S	I	R
AMC	1/0,5–16/8	<i>Escherichia coli</i> ATCC [®] 25922 2/1–8/4	Enterobacterales	≤ 8/4	16/8	≥ 32/16
AMP ³	0,25–16	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC [®] 29213 0,5–2 <i>Escherichia coli</i> ATCC [®] 25922 2–8	Enterobacterales	≤ 8	16	≥ 32
			Streptokokken (β-hämolyisierende Gruppe)	≤ 0,25	–	–
			Streptokokken (Viridans-Gruppe)	≤ 0,25	0,5–4	≥ 8
			<i>Enterococcus</i> spp.	≤ 8	–	≥ 16
ERY ⁴	0,12–4	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC [®] 29213 0,25–1	<i>Staphylococcus</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp.	≤ 0,5	1–4	≥ 8
			Streptokokken: β-hämolyisierende Gruppe, Viridans-Gruppe, <i>Streptococcus pneumoniae</i>	≤ 0,25	0,5	≥ 1
FOP ⁵	0,5–4	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC [®] 29213 1–4	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , Koagulase-negative Staphylokokken	≤ 2	4	≥ 8
			<i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Streptococcus dysgalactiae</i>	≤ 0,5	–	–
			<i>Streptococcus uberis</i>	≤ 2	–	–
KAN/CFX ⁵	0,5/0,05–16/1,6	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC [®] 29213 1/0,1–4/0,4 <i>Escherichia coli</i> ATCC [®] 25922 2/0,2–8/0,8	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus dysgalactiae</i> , <i>Streptococcus uberis</i>	≤ 8/0,8	16/1,6	≥ 32/3,2
MAR ⁶	0,06–4	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC [®] 29213 0,12–0,5	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , Koagulase-negative Staphylokokken, <i>Streptococcus dysgalactiae</i> , <i>Streptococcus uberis</i>	≤ 1	2	≥ 4
OXA	0,06–2	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC [®] 29213 0,12–0,5	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus lugdunensis</i>	≤ 2	–	≥ 4
			<i>Staphylococcus pseudintermedius</i> , Koagulase-negative Staphylokokken außer <i>Staphylococcus lugdunensis</i>	≤ 0,25	–	≥ 0,5
PIR	0,12–2	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC [®] 29213 0,25–1	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Streptococcus dysgalactiae</i> , <i>Streptococcus uberis</i>	≤ 2	–	≥ 4

¹AMC = Amoxicillin/Clavulansäure (2:1); AMP = Ampicillin; ERY = Erythromycin; FOP = Cefoperazon; KAN/CFX = Kanamycin/Cephalexin (1:0,1); MAR = Marbofloxacin; OXA = Oxacillin; PIR = Pirlimycin

²S = sensibel; I = intermediär; R = resistent; Grenzwerte, die aus der Humanmedizin übernommen sind (CLSI Dokument M100 [14]), sind hellgrün hinterlegt, Beurteilungskriterien beruhend auf Herstellerangaben sind dunkelgrün hinterlegt dargestellt

³ST für Amoxicillin; ⁴Nachweis der induzierbaren Makrolid/Lincosamidresistenz; ⁵Grenzwerte aus einer wissenschaftlichen Publikation übernommen [15]; ⁶ST für andere Fluorchinolone (wie Danofloxacin und Enrofloxacin), Grenzwerte aus einer wissenschaftlichen Publikation übernommen [16]

coccus dysgalactiae-Isolate als empfindlich beurteilt, wenn sie kein Wachstum in einer der vier Testkonzentrationen zeigen. Isolate, die MHK-Werte außerhalb der Kategorie „empfindlich“ zeigen, werden als „nicht empfindlich“ beurteilt. Für die Wirkstoffkombination Kanamycin/Cephalexin und den Wirkstoff Marbofloxacin wurden zudem die Erreger, für die die jeweiligen Grenzwerte Gültigkeit besitzen, aus den entsprechenden Publikationen ergänzt [15, 16].

Fazit

Die Empfehlungen des Arbeitskreises „Antibiotikaresistenz“ zu Plattenlayouts bieten die Möglichkeit der harmonisierten Empfindlichkeitsprüfung bakterieller Infektionserreger von Kleintieren und Großtieren bzw. von bovinen Mastitisserregern mittels Bouillon-Mikrodilution, welche ein aussagekräftiges Ergebnis zur Empfindlichkeit der bakteriellen Pathogene liefert. Um weiterhin zielgerichtet eine

wirksame antimikrobielle Therapie durchführen zu können, wurden die Layouts mit den für die unterschiedlichen Tierarten relevanten antimikrobiellen Wirkstoffen in verschiedenen Testkonzentrationen, basierend auf dem aktuellen wissenschaftlichen Kenntnisstand, überarbeitet und aktualisiert. In Abhängigkeit von der Anerkennung klinischer Grenzwerte und QC-Bereiche werden diese Layoutempfehlungen auch künftig für die zur veterinärmedizinischen Nutzung zugelassenen Wirkstoffe weiter aktualisiert werden.

Literatur

- [1] Richter A, Feßler AT, Böttner A, Köper LM, Wallmann J, Schwarz S (2020): Reasons for antimicrobial treatment failures and predictive value of in-vitro susceptibility testing in veterinary practice: An overview. *Vet Microbiol* 245: 108694.
- [2] Bundestierärztekammer – BTK (2015): Leitlinien für den sorgfältigen Umgang mit

antibakteriell wirksamen Tierarzneimitteln mit Erläuterungen. *Dt Tierärzteblatt* 03/2015, Beilage. http://www.bundestierarztekkammer.de/downloads/btk/leitlinien/Antibiotika-Leitlinien_01-2015.pdf

- [3] Bundestierärztekammer – BTK (2018): Anmerkungen zur neuen TÄHAV. Erläuterungen zur zweiten Verordnung zur Änderung der Verordnung über Tierärztliche Hausapotheken vom 21. Februar 2018 (BGBl. I S. 213-6), Stand 03.07.2018. *Dt Tierärzteblatt* 66: 1208–1215.
- [4] Schwarz S, Böttner A, Hafez HM, Kehrenberg C, Kietzmann M, Klarmann D, Krabisch P, Kühn T, Luhofer G, Richter A, Sigge C, Traeder W, Waldmann K-H, Wallmann J, Werckenthin C (2003): Empfindlichkeitsprüfung bakterieller Infektionserreger von Tieren: Methoden zur in-vitro Empfindlichkeitsprüfung und deren Eignung in Hinblick auf die Erarbeitung therapeutisch nutzbarer Ergebnisse.

- Berl Münch Tierärztl Wochenschr 116: 353–361.
- [5] Werckenthin C, Luhofer G, Böttner A, Gangl A, Goossens L, Hafez HM, Hartmann K, Kaske M, Kehrenberg C, Kietzmann M, Klarmann D, Klein G, Krabisch P, Kühn T, Richter A, Schulz B, Schwarz S, Sigge C, Traeder W, Waldmann KH, Wallmann J (2008). Empfindlichkeitsprüfung von Bakterien gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen in der Routinediagnostik: Vorschlag für ein Layout für Mikrotiterplatten zur Testung von Bakterien von Hunden und Katzen. Berl Münch Tierärztl Wochenschr 121: 19–26.
- [6] Luhofer G, Böttner A, Hafez HM, Kaske M, Kehrenberg C, Kietzmann M, Klarmann D, Klein G, Krabisch P, Kühn T, Richter A, Sigge C, Traeder W, Waldmann K-H, Wallmann J, Werckenthin C, Schwarz S (2004): Vorschläge der Arbeitsgruppe „Antibiotikaresistenz“ für die Belegung von Mikrotiterplatten zur Empfindlichkeitsprüfung von Bakterien gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen in der Routinediagnostik – Mastitis- und Großtierlayouts. Berl Münch Tierärztl Wochenschr 117: 245–251.
- [7] Feßler AT, Böttner A, Fehr M, Kaspar H, Kehrenberg C, Kietzmann M, Klarmann D, Klein G, Peters T, Richter A, Schwarz C, Sigge C, Stephan B, Waldmann K-H, Verspohl J, Wallmann J, Werckenthin C, Schwarz S (2017): Mikrotiterplattenlayouts für Kleintiere, Großtiere und Mastitis – Aktualisierung der Layouts des DVG-Arbeitskreises „Antibiotikaresistenz“. Dt Tierärzteblatt 65: 472–481.
- [8] Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI (2018): Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. CLSI document VET01. 5th Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA.
- [9] Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI (2021): Development of Quality Control Ranges, Breakpoints, and Interpretive Categories for Antimicrobial Agents Used in Veterinary Medicine. CLSI document VET02. 4th Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA.
- [10] Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI (2020): Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. CLSI document VET01S. 5th Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA. (<http://clsvet.org/GetDoc.aspx?doc=CLSI%20VET01S%20ED5:2020&xormat=SPDF&src=BB>)
- [11] Schwarz S, Kehrenberg C, Doublet B, Cloeckeaert A (2004): Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol. FEMS Microbiol Rev 28: 519–542.
- [12] Schmitz FJ, Petridou J, Jagusch H, Astfalk N, Scheuring S, Schwarz S (2002): Molecular characterization of ketolide-resistant *erm(A)*-carrying *Staphylococcus aureus* isolates selected in vitro by telithromycin, ABT-773, quinupristin and clindamycin. J Antimicrob Chemother 49: 611–617.
- [13] Lüthje P, Schwarz S (2007): Molecular analysis of constitutively expressed *erm(C)* genes selected in vitro in the presence of the non-inducers pirlimycin, spiramycin and tylosin. J Antimicrob Chemother 59: 97–101.
- [14] Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI (2022): Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI document M100. 32nd Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA.
- [15] Pillar CM, Goby L, Draghi D, Grover P, Thornsberry C (2009): Evaluating the in vitro susceptibility of bovine mastitis pathogens to a combination of kanamycin and cefalexin: Recommendations for a disk diffusion test. J Dairy Sci 92: 6217–6227.
- [16] Kroemer S, Galland D, Guérin-Faublée V, Giboin H, Woehrlé-Fontaine F (2012): Survey of marbofloxacin susceptibility of bacteria isolated from cattle with respiratory disease and mastitis in Europe. Vet Rec 170: 53.

Korrespondierende Autorin

Dr. Andrea T. Feßler, PhD



Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen, Freie Universität Berlin, Tiermedizinisches Zentrum für Resistenzforschung, Freie Universität Berlin, Robert-von-Ostertag-Str. 7, 14163 Berlin,

andrea.fessler@fu-berlin.de

* Alle in diesem Beitrag verwendeten Bezeichnungen gelten für alle Personen, unabhängig von deren Geschlechtsidentität.