Agroscope Science | Nr. 46 / 2017

Resistente Enterokokken in der Milchwirtschaft

Autor

Walter Schaeren

Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Eidgenössisches Departement für Wirtschaft, Bildung und Forschung WBF
Agroscope

Agroscope gutes Essen, gesunde Umwelt

Impressum

Herausgeber	Agroscope Schwarzenburgstrasse 161 3003 Bern www.agroscope.ch
Auskünfte	Thomas Berger thomas.berger@agrocope.admin.ch
Fotos	Agroscope
Titelbild	Agroscope
Download	www.agroscope.ch/science
Copyright	© Agroscope 2017
ISSN	2296-729X
DOI	https://doi.org/10.34776/as46g

Haftungsausschluss :

Die in dieser Publikation enthaltenen Angaben dienen allein zur Information der Leser/innen. Agroscope ist bemüht, korrekte, aktuelle und vollständige Informationen zur Verfügung zu stellen – übernimmt dafür jedoch keine Gewähr. Wir schliessen jede Haftung für eventuelle Schäden im Zusammenhang mit der Umsetzung der darin enthaltenen Informationen aus. Für die Leser/innen gelten die in der Schweiz gültigen Gesetze und Vorschriften, die aktuelle Rechtsprechung ist anwendbar.

Inhalt

Zusammenfassung **4**
Résumé **4**
Summary **4**
Einleitung **5**
Eigenschaften von Enterokokken **5**
Problemfeld (Roh)milchkäse **7**
Wissenslücken und mögliche Forschungsfelder **9**
Einsatz von Antibiotika in der Lebensmittelproduktion 9
Antibiotikarückstände in Milch 9
Antibiotikaresistenz von Mastitiserregern 10
Resistenzlage bei Enterokokkenstämmen aus der Klinik und aus Lebensmitteln 10
Starterkulturen 10
Probiotika 11
Resistenzgene als Marker in gentechnisch veränderten Organismen 11
Häufig diskutierte Fragen im Zusammenhang mit Enterokokken **11**
Literaturverzeichnis **14**

Zusammenfassung

Enterokokken kommen natürlicherweise in der Umgebung und im Darm von Mensch und Tier vor. Sie sind aber auch in vielen genussfertigen tierischen Lebensmitteln zu finden. Enterokokken werden allerdings auch als Erreger diverser nosokomialer Infektionen (vor allem Endokarditis, Harnweg- und Wundinfektionen) gefunden. Die bei Enterokokken häufig vorhandenen Antibiotikaresistenzen stellen ein zusätzliches Problem bei solchen Infektionen dar. In diesem Zusammenhang wird auch immer wieder die Möglichkeit der Aufnahme resistenter Enterokokken durch den Verzehr tierischer Lebensmittel und deren Bedeutung als Drehscheibe bei der Verbreitung von Antibiotikaresistenzen diskutiert.

Résumé

Les entérocoques sont présents naturellement dans l'environnement et dans l'intestin des êtres humains et des animaux. On les trouve aussi dans de nombreuses denrées alimentaires d'origine animale prêtes à la consommation. Les entérocoques sont cependant aussi connus comme agents pathogènes à l'origine de diverses infections nosocomiales (en particulier l'endocardite, les infections des voies urinaires et des plaies). Les résistances aux antibiotiques lors du traitement contre les entérocoques représentent un problème supplémentaire dans le cas de ces infections. Dans ce contexte, la possible transmission d'entérocoques résistants par le biais de la consommation de denrées alimentaires d'origine animale et son importance en tant que plaque tournante dans la propagation des résistances aux antibiotiques font régulièrement l'objet de discussions.

Summary

Enterococci are ubiquitous bacteria present in the surroundings and in the normal gut microbiome of humans and animals. But they are also found in a lot of ready to eat food from animal production. Enterococci are also the cause of various nosocomial infections, above all endocarditis, urinary tract and wound infections. Resistances against important antimicrobials often displayed by enterococci create additional problems with such infections. In this context, the possibility of the admission and dissemination of resistant enterococci by the consumption of food from animal production and their significance as a turntable for the spreading of antibiotic resistances is discussed.

Einleitung

Enterokokken gehören zu den ubiquitär vorkommenden Keimen und werden im Magen-Darm Trakt von Mensch und Tier (inklusive Insekten) und damit auch in fermentierten Lebensmitteln und in der Umwelt einschliesslich Pflanzen gefunden (Fisher and Phillips, 2009; Giménez-Pereira, 2005; Giraffa, 2002; Lebreton *et al.*, 2014; Morandi *et al.*, 2005; Pesavento *et al.*, 2014; Teuber *et al.*, 1996). Die Keimzahlen in tierischen Lebensmitteln schwanken beträchtlich und liegen im Bereich von 10^1 – 10^7 Keimen pro Gramm (Baumgartner *et al.*, 2001; Franz *et al.*, 2003; Jamet *et al.*, 2012; Teuber *et al.*, 1996). In Käse finden sich die höchsten Keimzahlen bei Weichkäsen. In Hartkäse aus Rohmilch ist der Gehalt an Enterokokken generell geringer (Franz *et al.*, 1999; Jamet *et al.,* 2012; Morandi *et al.*, 2005).

Über technologische Faktoren bei der Hartkäsefabrikation lässt sich der Gehalt an Enterokokken gezielt beeinflussen und minimieren (Beuvier *et al.,* 1997; Franz *et al.*, 1999; Gelsomino *et al.*, 2001; Jakob and Eugster, 2016). Enterokokken haben allerdings auch technologisch nützliche Eigenschaften und kommen in diversen Produkten als Starterkulturen, Aromabildner oder Probiotika zum Einsatz (Franz *et al.*, 2003; Giraffa, 2003).

Frühere Untersuchungen in der Schweiz haben ergeben, dass die besonders problematischen vancomycinresistenten Enterokokken in Käse sehr selten zu finden sind (< 1%) (Anonymous, 1999; Dalla Torre *et al.*, 1998; Templer and Baumgartner, 2007). Dieser Befund wurde in neueren Untersuchungen bestätigt (de Fátima Silva Lopes *et al.*, 2005; Gaglio *et al.*, 2016; Hummerjohann, 2017).

Eigenschaften von Enterokokken

Enterokokken sind grampositive, Katalase-negative, homofermentative Kokken. Sie sind fakultativ anaerob und salztolerant (6.5% NaCl). Die optimale, minimale und maximale Wachstumstemperaturen sind 42.7, 6.5 und 47.8°C (Fisher and Phillips, 2009). Stämme der Spezies *Enterococcus faecalis* und *Enterococcus faecium* können Temperaturen von 60°C für 30 min (Foulquié Moreno *et al.*, 2006; McAuley *et al.*, 2012) und sogar pH von bis 9.6 und Gallensaft (40%) überleben.

Klassischerweise wurden die ‚Enterokokken' als Subgenus dem Genus *Streptococcus* zugeordnet und landläufig auch als Fäkalstreptokokken oder Lancefield's Gruppe D Streptokokken bezeichnet. Heute bilden die Enterokokken einen eigenständigen Genus (Schleifer and Kilpper-Bälz, 1984).

Bis heute wurden über 50 Enterokokken-Spezies beschrieben [http://www.bacterio.net/enterococcus.html]. Allerdings ist die Taxonomie der Enterokokken einem raschen Wandel unterworfen (Lebreton *et al.*, 2014; Stiles and Holzapfel, 1997).

Tabelle 1: Current enterococcal different 'species groups' and their sub-species, based on their phylogenetic relationship within the genus (Franz *et al.*, 1999; Klein, 2003)

Group	Species
1. *E. faecium*	*E. durans, E. faecium, E. hirae, E. mundtii, E. porcinus, E. villorum, 'E. azikeevi'* (possible new sub-species)
2. *E. avium*	*E. avium, E. malodoratus, E. pseudoavium, E. raffinosus*
3. *E. gallinarum*	*E. casseliflavus, E. flavescens, E. gallinarum*
4. *E. dispar*	*E. asini, E. dispar*
5. *E. saccharolyticus*	*E. saccharolyticus, E. sulfureus*
6. *E. cecorum*	*E. cecorum, E. columbae*
7. *E. faecalis*	*E. faecalis, E. haemoperoxidus, E. moraviensis, 'E. rotai'* (possible new sub-species)
Genus *Tetragenococcus*	*E. solitarius, Tetragenococcus halophilus, Tetragenococcus muriaticus*

Stämme der Spezies *E. faecalis* und *E. faecium* spielen aber immer noch die wichtigste Rolle bei Infektionen, in fermentierten Lebensmitteln und als Probiotika (Peters *et al.*, 2003).

Dabei scheint *E. faecalis* die am häufigsten vorkommende Spezies in humanen Faeces zu sein, während bei Kühen im Allgemeinen am häufigsten *E. faecium* gefunden wurden (Tabelle 2) (Leclerc *et al.*, 1996).

Tabelle 2: Occurrence of enterococci in the gastro-intestinal tract (Klein, 2003)

Species	Human	Cattle	Pig	Fowl
E. faecalis	++	(+)	+	++
E. faecium	++	++	+	++
E. durans/hirae	(+)	-	(+)	(+)
E. gallinarum	(+)	-	-	(+)
E. casseliflavus	(+)	-	-	-
E. cecorum/columbae	-	+	+	++

++: usual; +: frequent; (+): occasional; -: not mentioned
(according to Reuter, 1992; Leclerc et al., 1996; Manero and Blanch, 1999).

Lang galt die Anwesenheit von Enterokokken in Milchprodukten als Indikator für eine ungenügende Hygiene bei der Milchgewinnung und/oder der Verarbeitung. Allerdings lässt sich, da Enterokokken in praktisch allen Käsesorten problemlos wachsen können (Beuvier *et al.*, 1997; Foulquié Moreno *et al.*, 2006; Morandi *et al.*, 2005; Wessels *et al.*, 1990), kein allgemein gültiger Grenzwert definieren. Der Gehalt an Enterokokken in fermentierten Produkten ist von zu vielen verschiedenen Faktoren abhängig (Giménez-Pereira, 2005), so dass Enterkokken heute als normaler Bestandteil der Mikrobioms von Lebensmitteln angesehen werden müssen (Franz *et al.*, 1999). Zum Teil werden auch einzelne Stämme in Starterkulturen eingesetzt.

Enterkokken wurden früher als eher harmlose Keime angesehen, bis die ersten mehrfach resistenten Enterokokkenstämme als Erreger von zum Teil schwerwiegenden Infektionen nachgewiesen wurden (Moellering, 1998). Heute gehören Enterokokken zu den wichtigsten Erregern von nosokomialen, häufig spitalassoziierten Infektionen (Fisher and Phillips, 2009; Gilmore *et al.*, 2013; Jamet *et al.*, 2012). In den weitaus meisten Fällen von humanen Infektionen handelt es sich um Stämme der Spezies *E. faecalis* und *E. faecium* (Kayser, 2003; Weisser and Widmer, 2012). Bei vielen dieser Stämme sind neben Antibiotikaresistenzen auch verschiedene Virulenzfaktoren zu finden (Gaglio *et al.*, 2016; Higuita and Huycke, 2014; Kayser, 2003; Mannu *et al.*, 2003). Allerdings war vor allem das Auftauchen von vancomycinresistenten Enterokokken ein Alarmzeichen, da Vancomycin zu den letzten wirksamen Reserveantibiotika in der Humanmedizin gehörte (Uttley *et al.*, 1989).

Rasch stellte sich die Frage, inwiefern die Anwendung von Antibiotika, nicht zuletzt auch der antimikrobiellen Leistungsförderer, an der Zunahme resistenter Enterokokken in der Humanmedizin mitschuldig sein könnten (Bates *et al.*, 1994; Butaye *et al.*, 2003; Nilsson, 2012). Seit 1999 ist der Einsatz von antimikrobiellen Leistungsförderern (AML) in der Schweiz (Artikel 160, Absatz 8 des Landwirtschaftsgesetzes) und seit 2006 generell auch in der EU verboten (Perreten, 2003). Diese Verbote hatten eine Abnahme resistenter Enterkokken zur Folge (Aarestrup *et al.*, 2001).

Inwiefern therapeutische Anwendungen von Antibiotika bei Nutztieren und die damit verbundenen möglichen Kontaminationen von tierischen Lebensmitteln mit resistenten Enterokokken Auswirkungen auf die zunehmende Resistenzproblematik beim Menschen haben, bleibt unklar (Lebreton *et al.*, 2014; Marshall and Levy, 2011; Templer, 2006). Epidemiologische Daten weisen darauf hin, dass die bedenkliche Resistenzlage in der Humanmedizin vor allem auch durch die dort übliche übermässige und ungezielte Antibiotikaanwendung verschuldet ist (Aarestrup *et al.*, 2000; Althaus *et al.*, 2014; Mannu *et al.*, 2003; Weisser and Widmer, 2012).

Allerdings ist unbestritten, dass mit zunehmender Anzahl resistenter Stämme im Darm die Wahrscheinlichkeit steigt, dass ein Austausch von Resistenz- und Virulenzgenen stattfindet (Salyers *et al.*, 2004). Zudem kann die Möglichkeit

des Auftretens translokaler Infektionen durch Enterokokken nicht ausgeschlossen werden (Balzan *et al.*, 2007; O'Boyle *et al.*, 1998).

Ein möglichst zurückhaltender und nur gezielter Einsatz von Antibiotika in der tierischen Produktion ist deshalb unerlässlich (Andremont and Fiona, 2015; Commission Notice, 2015; IDF, 2013; Perreten, 2005; Schaeren, 2014; Teuber, 2001).

Problemfeld (Roh)milchkäse

Die meisten Käsesorten mit geschützter Ursprungsbezeichnung AOP werden ausschliesslich aus Rohmilch hergestellt. Kein Schweizer AOP-Pflichtenheft erlaubt gegenwärtig die Pasteurisation, Baktofugation oder Membranfiltration zur Keimreduktion in der Rohmilch (Jakob and Eugster, 2016). Hingegen lassen sie bei anderen für die Lebensmittelsicherheit relevanten Parametern, insbesondere bei der Lagerung und der allenfalls erlaubten Thermisation der Milch, sowie bei der Brenntemperatur einen grossen Spielraum. Das Mikrobiom und die originären Enzyme der Rohmilch haben einen wesentlichen Einfluss auf die Reifung und Aroma-Entwicklung im Käse. Die minimale Vorbehandlung der Milch gemäss den AOP-Pflichtenheften hat zum Ziel, den ursprünglichen Charakter der traditionellen Käsesorten zu bewahren. Diese Zielsetzung kann in Konflikt stehen zu den wachsenden Anforderungen bezüglich der Lebensmittelsicherheit von Käse.

Die Bedingungen für die Milchlagerung und die Thermisation wurden in den Leitlinien eng definiert. Eine Thermisation bei 65 °C während mindestens 15 s ist geeignet, viele potenziell pathogene Keime als Gefahr in gereiften Käsen weitgehend zu beherrschen. Schwieriger zu beherrschen sind thermotolerante Keime wie Enterokokken, die erst durch Pasteurisation hinreichend inaktiviert werden und im reifenden Käse vermehrungsfähig sind (Abbildung 1).

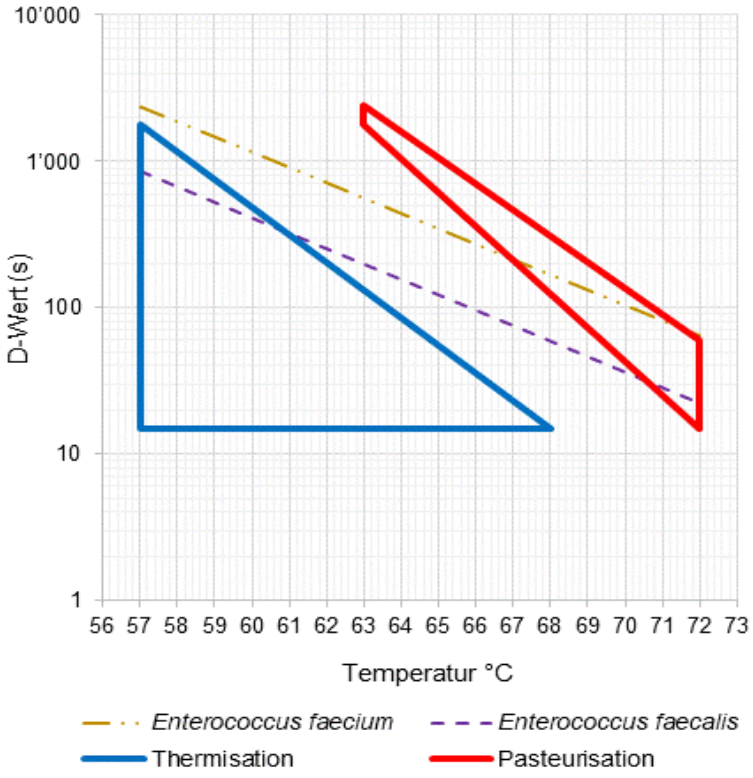

Abbildung 1: D-Werte in Abhängigkeit von der Temperatur für die Inaktivierung der wichtigen Verursacher von Fehlgärungen im Käse nach (Sörqvist, 2003) zitiert in (Jakob and Eugster, 2016)

Bei diesen Keimen kommt der Rohmilchqualität eine zentrale Rolle zu. Die Baktofugation der Milch vermag thermotolerante Keime, mit Ausnahme von Bakteriensporen, nicht substantiell zu reduzieren (Jakob and Eugster, 2016). Demgegenüber könnten mit einer Mikrofiltration der Verarbeitungsmilch die Keimzahlen von Enterokokken effizient gesenkt werden (Tabelle 3) (Beuvier *et al.*, 1997). Allerdings konnten auch in Käse aus mikrofiltrierte Milch bereits nach wenigen Tagen Reifungszeit Enterokokken nachgewiesen werden (Tabelle 4).

Tabelle 3: Bacterial counts (cfu mL^{-1}) in Ra, MF, Pa and PR cheese milk[a] (Beuvier *et al.*, 1997)

	Treatment[b]			
	Ra	MF	Pa	PR
Total flora	46'000	440	5'700	42'000
Psychrotrophic bacteria	21'000	630	< 10	21'000
Thermoduric bacteria	9800	240	5'000	8'100
Coliforms	320	< 10	< 10	420
Gram-negative bacteria	1'700	30	20	1'600
Enterococci	390	< 10	< 10	290
Micrococcaceae	3'300	30	< 10	3'000
FH lactobacilli[c]	280	< 10	< 10	230
Thermophilic lactobacilli	3'000	30	< 10	2'900
Thermophilic streptococci	8'500	40	60	7'600
Propionic acid bacteria	4'300	10	< 10	3'000
Butyric acid bacteria	< 0.18	< 0.18	< 0.18	< 0.18
Yeast	1'200	< 10	< 10	1'000

a Arithmetic mean of four replicates.

b Ra: raw milk cheese; MF: microfiltered milk cheese; Pa: pasteurized milk cheese; PR: 'pasteurized + retentate' milk cheese.

c Facultatively heterofermentative lactobacilli.

Tabelle 4: Counts[a] (log cfu g^{-1}) of microflora during ripening of cheeses made from Ra, MF, Pa or PR milk (3 weeks at 14°C and 9 weeks at 18°C) (Beuvier *et al.*, 1997)

Microflora	Ripening stages	Treatment[b]				Significance level
		Ra	MF	Pa	PR	
Thermo. streptococci	1 day	8.38	8.36	8.45	8.52	NS
	3 weeks	7.45	7.09	6.68	7.09	NS
	6 weeks	6.92^{A}	6.12^{B}	5.72^{B}	6.70^{A}	***
	12 weeks	6.87	5.68	6.26	6.68	NS
Thermo. lactobacilli	1 day	8.74	8.40	8.54	8.57	NS
	3 weeks	5.77^{AB}	4.87^{B}	4.84^{B}	6.06^{A}	*
	6 weeks	7.15	6.50	6.51	7.08	NS
	12 weeks	7.19	6.12	6.36	7.07	NS
FH lactobacilli[c]	1 day	3.44^{A}	2.00^{B}	$< 1.40^{B}$	3.68^{A}	***
	3 weeks	7.02^{A}	5.02^{B}	2.83^{C}	7.56^{A}	***
	6 weeks	7.64^{A}	6.72^{B}	5.63^{C}	8.15^{A}	***
	12 weeks	8.09^{A}	7.27^{A}	6.46^{B}	8.09^{A}	**
Propionibacteria	1 day	ND	ND	ND	ND	/
	3 weeks	ND	ND	ND	ND	/
	6 weeks	6.37^{A}	5.36^{B}	$< 4.00^{C}$	6.76^{A}	***
	12 weeks	7.85^{A}	7.03^{B}	$< 4.00^{C}$	6.76^{A}	***

Microflora	Ripening stages	Treatment[b]				Significance level
		Ra	MF	Pa	PR	
Enterococci	1 day	4.10^{A}	1.98^{B}	2.10^{B}	4.30^{A}	***
	3 weeks	4.80^{A}	2.15^{B}	$< 1.40^{B}$	5.00^{A}	***
	6 weeks	6.70^{A}	5.40^{A}	2.74^{C}	7.01^{A}	***
	12 weeks	6.20^{A}	5.18^{A}	3.60^{B}	6.18^{A}	**
Micrococcaceae	1 day	3.04	1.50	1.22	3.59	NS
	3 weeks	3.49	3.77	2.67	4.01	NS
	6 weeks	4.10^{C}	5.19^{A}	4.77^{AB}	4.62^{B}	**
	12 weeks	4.85	5.27	5.15	4.72	NS

[a] Mean of four replicates.

[b] Ra: raw milk cheese; MF: microfiltered milk cheese; Pa: pasteurized milk cheese; PR: 'pasteurized + retentate' milk cheese.

[c] Facultatively heterofermentative lactobacilli.

ND: not determined. Significance level: non-significant (NS); significant $p < 0.001$ (***); significant $p < 0.01$ (**); significant $p < 0.05$; (*). Cheese classification (decreasing log cfu g^{-1}) in different groups noted as A, B and C according to Newman-Keuls test.

Das Überleben und Wachstum im Käse kann vor allem dem grossen Temperaturbereich für Wachstum (10°C bis 45°C) und der ausgeprägten Säure- (pH zwischen 4.0 und 9.6) und Salztoleranz (über 6.5%) zugeschrieben werden.

Auch die Pasteurisierung, vor allem in offenen Systemen (z.B. Käse) ist keine sichere Methode zur Herstellung enterokokkenfreier Produkte (Beuvier *et al.*, 1997; Jamet *et al.*, 2012; Leisibach, 2004; Schär *et al.*, 1999). Zudem sind viele Stämme der Enterokokken-Spezies *E. faecalis* und *E. faecium* recht thermotolerant (Fisher and Phillips, 2009; Špelina *et al.*, 2007).

Die regelmässige Produktion enterokokkenfreier Käse, speziell aus Rohmilch, dürfte demnach kaum möglich sein (Bachmann, 1998; Bachmann, 1999).

Wissenslücken und mögliche Forschungsfelder[1]

Einsatz von Antibiotika in der Lebensmittelproduktion

Zur Verhinderung von Schimmelwachstum werden gewisse Käse oberflächlich mit dem Antibiotikum Natamycin behandelt. Im Gegensatz zu einigen Länder ist diese Anwendung gemäss dem Branchenkodex der Swiss Cheese Marketing AG in der Schweiz nicht zulässig. Allfällige Auswirkungen auf die Resistenzsituation von Enterokokken sind nicht bekannt (EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources Added to Food, 2009; Field *et al.*, 2010).

Antibiotikarückstände in Milch

Die Belastung der Verkehrsmilch mit Antibiotikarückständen wird in der Schweiz intensiv überwacht. Massnahmen, die über die bereits bestehenden Kontrollmechanismen hinausgehen, werden vor allem im Zusammenhang mit der Verarbeitung in Käsereien diskutiert[2].

Eine detaillierte Erfassung der in der Milch- und Fleischproduktion eingesetzten Mengen an antibiotischen Wirkstoffen soll im Rahmen der Strategie Antibiotikaresistenzen Schweiz (StAR)[3] eingeführt werden (Bundesamt für Gesundheit (BAG), 2015).

[1] Basierend auf: Bakterielle Antibiotikaresistenz eine Situationsanalyse in den Bereichen Humanmedizin, Veterinärmedizin, Lebensmittel und Lebensmitteltechnologie Kurzfassung. Diverse Bundesämter (1999)
[2] Siehe Brief von Michael Beer, BAG, „Betreffend Guide FROMARE – Interpétation" an J.M. Pasquier vom 30. März 2011
[3] Strategie Antibiotikaresistenzen Schweiz (StAR), Bundesamt für Gesundheit 2015

Antibiotikaresistenz von Mastitiserregern

Trotz des verbreiteten therapeutischen und prophylaktischen Einsatzes von Antibiotika zur Bekämpfung von Euterentzündungen beim Milchvieh hat sich die Resistenzlage bei den wichtigsten Mastitiserregern gegen die in der Nutztiermedizin gebräuchlichen Antibiotika über die Jahre nicht wesentlich verschärft. Bei den Staphylokokken konnte sogar eine markante Abnahme der Resistenz gegenüber Penicillin festgestellt werden (Corti *et al.*, 2009; Schaeren *et al.*, 1986; Schaeren and Schällibaum, 1993).

Im Rahmen von StAR und der Revision der Heilmittelgesetzgebung sind die Vorschriften zum Einsatz von Antibiotika deutlich restriktiver geworden. Unter anderem dürfen keine Antibiotika (z.B. Euterschutzpräparate) auf Vorrat abgegeben werden. Zudem ist der Aufbau einer seit Jahren geforderten Datenbank zum Einsatz von Antibiotika und von Antibiotikaresistenzen bei veterinärmedizinischen Infektionserregern beschlossen.

Darüber hinaus wurde durch die Vetsuisse-Fakultät in Zusammenarbeit mit der Gesellschaft Schweizer Tierärztinnen und Tierärzte (GST) und dem Bundesamte für Lebensmittelsicherheit und Veterinärwesen (BLV) ein Leitfaden mit klaren und einheitlichen Empfehlungen für die Verschreibung, Anwendung und Abgabe von Antibiotika erarbeitet mit dem Ziel einer Minimierung der Bildung und Ausbreitung von Resistenzen (Vetsuisse-Fakultät in Zusammenarbeit mit der Gesellschaft Schweizer Tierärztinnen und Tierärzte (GST) unter Koordination des Bundesamtes für Lebensmittelsicherheit und Veterinärwesen (BLV), 2016).

Ein ungelöstes Problem bleibt die Vernichtung oder Verwertung antibiotikahaltiger Milch (Aeschlimann, 2009; EMA (European Medicines Agency) and EFSA (European Food Safety Authority), 2017; Würgler-Aebi, 2004).

Resistenzlage bei Enterokokkenstämmen aus der Klinik und aus Lebensmitteln

Enterokokken aus genussfertigen Lebensmitteln weisen zum Teil die gleichen Resistenzen auf wie klinische Isolate (de Fátima Silva Lopes *et al.*, 2005; Gaglio *et al.*, 2016; Templer, 2006; Templer and Baumgartner, 2007). Ein Austausch von Resistenzgenen oder resistenten Stämmen zwischen Lebensmitteln und Infektionen ist daher wahrscheinlich (Perreten, 2005; Perreten *et al.*, 1997a).

Ein eindeutiger Zusammenhang zwischen resistenten Enterokokken in Lebensmittel und der verschärften Resistenzsituation bei humanen Infektionen lässt sich im Einzelfall kaum beweisen, da sich vor allem Resistenzeigenschaften nicht genau einem definierten Habitat zuordnen lassen (Lebreton *et al.*, 2014). Allerdings ist unbestritten, dass mit zunehmender Anzahl resistenter Stämme im Darm die Wahrscheinlichkeit steigt, dass ein Austausch von Resistenz- und Virulenzgenen stattfindet (Salyers *et al.*, 2004). Ein möglichst zurückhaltender und nur gezielter Einsatz von Antibiotika in der tierischen Produktion ist deshalb unerlässlich (Perreten, 2005; Teuber, 2001).

Enterokokken haben eine ausgeprägte Neigung zur Aufnahme beziehungsweise dem Austausch von Resistenzgenen (Murray, 1998). Erschwerend kommt hinzu, dass erworbene, auch plasmidgebundene, Resistenzgene relativ stabil erhalten bleiben. Die Annahme, dass erworbene Resistenzen für die meisten Stämme, ausser unter selektivem Druck, ein Nachteil gegenüber nicht-resistenten Stämme darstellen, trifft für Enterokokken nicht zu (Salyers and Amábile-Cuevas, 1997; Würgler-Aebi, 2004).

In einer aktuell laufenden Untersuchung an Agroscope werden Isolate aus Käseproben auf Vancomycinresistenz untersucht. Falls positive Isolate gefunden werden, sind weitere Analysen, z.B. der Nachweis von Virulenzfaktoren, vorgesehen (Jörg Hummerjohann, Persönliche Mitteilung, 2017).

Starterkulturen

Die in der Schweizerischen Hartkäseproduktion oft verwendeten Kulturen von Agroscope enthalten keine Enterokokkenstämme. Bei den grossen europäischen Kulturenherstellern ist das Resistenzproblem bekannt (Petra Lüdin, Persönliche Mitteilung, 2017).

Bei Keimen in Starterkulturen (meist Milchsäurebakterien) werden sogenannte intrinsische (natürliche) Resistenzen gefunden (Kastner *et al.*, 2006; Meile *et al.*, 2005). Es wird angenommen, dass diese Resistenzen nicht übertragbar

sind (Cox and Wright, 2013). Hierzu bestehen noch Wissenslücken, welche die Grundlagenforschung abdecken müsste.

Sirtekulturen könnten zu einer Anreicherung von Enterokokken führen (Giraffa, 2003). Allerdings dürften Sirtekulturen keine wesentliche Rolle bei der Verbreitung von resistenten Enterokokken spielen (Daniel Wechsler, Persönliche Mitteilung, 2017).

Probiotika

Verschiedene probiotisch wirksame Keime für den Einsatz in Lebens- und Futtermittel sind auf dem Markt. Bei der amtlichen Zulassung solcher Produkte für den Lebensmittelbereich wird von den Herstellern unter anderem verlangt, dass sie keine humanpathogenen Eigenschaften und keine übertragbaren Antibiotikaresistenzen aufweisen (Verordnung des EDI über Nahrungsergänzungsmittel (VNem), Anhang 14b (Art. 20 Abs. 7 und 22 Abs. 6 und 6ter) Absatz 3.1).

Resistenzgene als Marker in gentechnisch veränderten Organismen

Einige gentechnisch veränderte Nutzpflanzen enthalten Ampicillinresistenzgene als Marker. Diese Gene haben keine Auswirkungen hinsichtlich der Resistenzlage bakterieller Krankheitserreger. Der Anbau und die Verfütterung von gentechnisch modifizierten Futterpflanzen sind in der Schweiz nicht erlaubt.

Häufig diskutierte Fragen im Zusammenhang mit Enterokokken

- Wie häufig und in welchen Mengen kommen Enterokokken in Milch und Milchprodukten vor? – und in welchen?

  In vielen Milchproben (für die Schweiz sind keine aktuellen, repräsentativen Daten verfügbar) aber auch genussfertigen Milchprodukten finden sich Enterokokken (Dalla Torre *et al.*, 1993; McAuley *et al.*, 2015). Die Keimzahlen schwanken beträchtlich und liegen im Bereich von 10^1 – 10^7 Keimen pro Gramm für verschieden Hart- und Halbhartkäse (Tabelle 5) (Jamet *et al.*, 2012; Perreten and Teuber, 1995; Teuber *et al.*, 1996). Die höchsten Keimzahlen finden sich bei Weichkäsen. In Hartkäse ist der Gehalt an Enterokokken generell eher etwas geringer (Jamet *et al.*, 2012).

Tabelle 5: Vorkommen von Enterokokken in Teig und Schmiere von Käse aus roher und pasteurisierter Milch (Weich-, Halbhart- und Hartkäse) (Dalla Torre *et al.*, 1998)

			Anzahl Proben mit Keimzahlen (KBE/g) Angabe in %			
Probenart	**Milchbehandlung**	**N**	**≤ 10^2**	**> 10^2 - 10^3**	**> 10^3 - 10^6**	**> 10^6**
Käseteig	Roh	51	63	10	19	10
	Past	48	65	6	15	14
Käseschmiere	Roh	18	11	0	58	31
	Past	16	6	0	50	44

In rund einem Drittel der Käse konnten im Teig Enterokokken nachgewiesen werden. Zwischen den Käsen aus pasteurisierter Milch bzw. aus roher Milch bestanden diesbezüglich nur unwesentliche Unterschiede. Auf der Oberfläche (Schmiere) waren Enterokokken recht weit verbreitet, unabhängig der thermischen Behandlung der Ausgangsmilch.

- Wie ist das Vorkommen im Vergleich zu anderen Lm zu beurteilen?

  Häufigkeit des Vorkommens von Enterokokken in Fleisch(produkten) ist ebenfalls relativ hoch (Tabelle 6) (Pesavento *et al.,* 2014). Keimzahlen in Käse dürften je nach Typ etwas höher sein, da sich Enterokokken in Käse stark vermehren können (Beuvier *et al.*, 1997; Giraffa, 2003; Morandi *et al.*, 2005).

  Resistente Isolate werden auch in anderen Lebensmitteln gefunden (Tabellen 7 und 8) (Hugas *et al.*, 2003; McGowan *et al.*, 2006; Ronconi *et al.*, 2002).

Tabelle 6: Prevalence of Enterococcus species in various products (Pesavento *et al.*, 2014)

Type of products	**No. of samples**	**No. of positive samples** (%)	**Strains**	***E. faecium*** no (%)	***E. faecalis*** no (%)	***E. durans*** no (%)	***E. gallinarum*** no (%)	***E. avium*** no (%)
Raw meat								
Beef	227	70 (30.8)	70	25 (35.7)	31 (44.3)	11 (15.7)	0 (0)	3 (4.29)
Poultry	238	68 (28.6)	68	25 (36.7)	30 (44.1)	6 (8.82)	2 (2.94)	5 (7.35)
Pork (tot)	171	73 (42.7)	73	25 (34.2)	39 (53.4)	5 (6.85)	0 (0)	4 (5.48)
Pork (whole meat)	79	35 (44.3)	35	11 (31.4)	18 (51.4)	3 (8.57)	0 (0)	3 (8.57)
Pork (sausage)	92	38 (41.3)	38	14 (36.8)	21 (55.3)	2 (5.26)	0 (0)	1 (2.63)
Total	636	211 (33.2)	211	75 (35.5)	100 (47.4)	22 (10.4)	2 (0.95)	12 (5.69)
Fisher exact test p =	0.008		0.967	0.632	0.388	0.221	0.707	
Retail products								
Fresh soft cheese	110	38 (34.5)	38	24 (63.1)	9 (23.7)	1 (2.63)	0 (0)	4 (10.5)
Mozzarella cheese	168	37 (22.0)	37	23 (62.2)	2 (5.40)	12 (32.4)	0 (0)	0 (0)
Ready salads	214	8 (3.74)	9	6 (6.67)	1 (1.11)	1 (1.11)	1 (1.11)	0 (0)
Ham	187	17 (9.09)	17	12 (70.6)	2 (11.8)	2 (11.8)	1 (5.89)	0 (0)
Total	679	100 (14.7)	101	65 (64.3)	14 (13.9)	16 (15.8)	2 (1.98)	4 (3.96)
Fisher exact test p =	< 0.0005		0.967	0.137	0.003	0.064	0.127	
Total	1315	311 (23.6)	312	140 (44.9)	114 (36.5)	38 (12.2)	4 (1.28)	16 (5.13)

Tabelle 7: Antibiotic resistance behavior of 118 *E. faecalis* and *E. faecium* strains isolated from 27 samples of sausages, 19 of ham, 83 of minced meat and 26 of cheese (Peters *et al.*, 2003)

	E. faecalis **(n = 101)**			***E. faecium*** **(n = 17)**		
Antimicrobial active agent	**Sensitive (%)**	**Intermediary (%)**	**Resistant (%)**	**Sensitive (%)**	**Intermediary (%)**	**Resistant (%)**
Ampicillin (b)	100	a	0	100	a	0
Amoxicillin/clavulanic acid (b)	100	a	0	100	a	0
Avilamycin (a)	96	a	4	71	a	29
Chloramphenicol (b)	57	36	7	71	29	0
Enrofloxacin (c)	90	9	1	12	23	65
Erythromycin (b)	26	67	7	0	82	18
Flavomycin (a)	94	a	6	b	b	b
Gentamicin (high-level resistance) (d)	a	a	0.8	a	a	0
Penicillin (b)	100	a	0	94	a	6

	E. faecalis (n = 101)			*E. faecium* (n = 17)		
Antimicrobial active agent	**Sensitive (%)**	**Intermediary (%)**	**Resistant (%)**	**Sensitive (%)**	**Intermediary (%)**	**Resistant (%)**
Quinupristin/Dalfopristin (b)	b	b	b	59	12	29
Teicoplanin (b)	100	0	0	100	0	0
Tetracycline (b)	61	1	38	82	0	18
Vancomycin (b)	100	0	0	100	0	0

Breakpoints: (a) DANMAP (2000), (b) NCCLS (1999), (c) like Ciprofloxacin, NCCLS (2001), (d) MIC > 1024 Ag/ml.
a No breakpoints defined.
b Not tested because of the intrinsic resistance of the species against this substance.

Tabelle 8: Ecology of enterococci in food (Klein, 2003)

Food	***E. faecalis***	***E. faecium***	***E. durans/hirae***	***E. gallinarum***	***E. casseliflavus***	***E. mundtii***	***E. avium***	***E. malodoratus***	***E. pseudoavium***	***E.raffinosus***
Cheese	(+)	++	(+)	-	-	-	ND	ND	ND	ND
Fish/crustaceae	+	(+)	-	(+)	-	(+)	ND	ND	ND	ND
Meat	+	++	(+)	(+)	(+)	(+)	ND	ND	ND	ND
Cheese - meat combination	(+)	+	(+)	(+)	-	-	ND	ND	ND	ND
Pork carcasses	++	(+)	(+)	ND	ND	ND	ND	(+)	(+)	(+)
Fresh sausage	++	_	(+)	ND	ND	ND	ND	(+)	-	-
Expired sausage	+	-	(+)	ND	ND	ND	ND	(+)	+	(+)
Spoiled sausage	(+)	++	(+)	ND	ND	ND	ND	-	-	-
Minced beef	++	(+)	(+)	(+)	-	ND	-	ND	ND	ND
Minced pork	++	(+)	(+)	(+)	(+)	ND	(+)	ND	ND	ND

++: usual; +: frequent; (+): occasional; -: not mentioned; ND: not investigated (according to Knudtson and Hartman, 1993; Devriese et al., 1995; Dazo, 1996; Klein et al., 1998).

- Welche Antibiotikaresistenzen sind bei Enterokokken bekannt?

  Praktisch die ganze Palette, z.T. unterschiedlich je nach Spezies (Tabelle 7 und Tabelle 9) (Jamet *et al.*, 2012; Pesavento *et al.*, 2014).

Tabelle 9: Häufigkeiten nachgewiesener Resistenzen gegenüber wichtigen Antibiotika bei Isolaten aus Käse hergestellt aus Past- beziehungsweise Rohmilch (Dalla Torre *et al.*, 1998)

	Rohmilch		**Pastmilch**	
Antibiotikum	**Teig**	**Oberfläche**	**Teig**	**Oberfläche**
Cephalothin (Cr)	2	2	0	1
Methicillin (Me)	53	22	19	15
Moxalactam (Mox)	42	21	18	16
Tobramycin (Tm)	25	2	8	1
Gentamicin (Gm)	0	1	2	0
Vancomycin (Va)	0	0	1	0

	Rohmilch		Pastmilch	
Antibiotikum	**Teig**	**Oberfläche**	**Teig**	**Oberfläche**
Erythromycin (E)	5	2	6	0
Chloramphenikol (C)	3	3	5	0
Rifampin (Ra)	13	3	15	4
Azithromycin (Azm)	14	7	7	2
Tetrazyklin (Te)	14	8	6	1
Anzahl Isolate [1]	**53**	**26**	**34**	**17**
Anzahl Isolate ohne Resistenzen	**2**	**3**	**0**	**4**
Anzahl untersuchte Isolate	**99**	**48**	**57**	**45**
Anzahl Käse	**25**	**16**	**22**	**16**

[1] Pro Käse nur ein Isolat mit dem gleichen Resistenzmuster (Hemmhofdurchmesser) berücksichtigt!

Von 249 „Enterokokken"-Stämmen waren 230 (92.4%) gegen mindestens eines der untersuchten Antibiotika resistent. Aufgeteilt nach Roh- bzw. Pastmilchkäse und unter Berücksichtigung jeweils nur eines Isolates mit dem gleichen Resistenzmuster pro Käse waren es 53 bzw. 34 Stämme aus dem Teig von Roh- bzw. Pastmilchkäsen. Dabei ist zu beachten, dass auch annähernd die doppelte Anzahl (99 vs. 57) Isolate aus dem Teig von Rohmilchkäsen untersucht wurde. Auch bei den „Enterokokken"-Stämmen von der Oberfläche (Schmiere) zeigten Isolate von Rohmilchkäsen etwas häufiger Resistenzen als solche von Pastmilchkäsen (26 vs. 17 Isolate).

Eine Vancomycinresistenz wurde nur bei einem Isolat aus dem Teig eines Käses aus Pastmilch gefunden.

- Wo sind die Resistenzgene lokalisiert/wie codiert?

  Alle Formen sind vorhanden (intrinsisch, Plasmide, Transposons, …) (Garrido *et al.*, 2014; Murray, 1998; Werner *et al.*, 2013).

- Gibt es Untersuchungen zum Gentransfer auf andere Bakterien (..und falls verfügbar mit Fokus auf technologisch wichtige Bakterien und Pathogenen)?

  Ja (Bhutto *et al.*, 2010; Haug *et al.*, 2011; Leisibach, 2004; Murray, 1998; Perreten *et al.*, 1997a; Perreten *et al.*, 1997b; Templer, 2006; Teuber, 2002).

Literaturverzeichnis

Aarestrup, F. M., Agerso Y., Gerner-Smidt P., Madsen M. & Jensen L. B., 2000. Comparison of antimicrobial resistance phenotypes and resistance genes in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from humans in the community, broilers, and pigs in Denmark. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 37, 127-137.

Aarestrup, F. M., Seyfarth A. M., Emborg H.-D., Pedersen K., Hendriksen R. S. & Bager F., 2001. Effect of abolishment of the use of antimicrobial agents for growth promotion on occurrence of antimicrobial resistance in fecal enterococci from food animals in Denmark. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 45 (7), 2054-2059.

Aeschlimann, A., 2009. Alternative approach to fight antibiotic resistance. Project Report, 1-70.

Althaus, F. R., Mevissen M., Müntener C. R. & Nägeli H., 2014. Antimikrobielle Wirkstoffe. Ein Begleittext zur Vorlesung für die Studierenden der Veterinärmedizin 1-98. [25.01.2017]

Andremont, A. & Fiona F., 2015. What to do about resistant bacteria in the food-chain? Bulletin of the World Health Organisation. 93 (4), 217-218.

Anonymous, 1999. Bakterielle Antibiotikaresistenz in den Bereichen Humanmedizin, Veterinärmedizin und Lebensmittel. Kurzbericht. 1-146.

Bachmann, H. P., 1998. Einflussfaktoren auf das Verhalten von Enterokokken in Rohmilchkäsen: Statistische Auswertung der Daten aus Praxiserhebungen beim Gruyère und Emmentaler Käse. Interner Bericht FAM. 13, 1-17.

Bachmann, H. P., 1999. Einfluss der Rohmilchflora auf das Verhalten der Enterokokken im Modell-Gruyère Käse während der Fabrikation und der Reifung. Interner Bericht FAM. 4, 1-8.

Balzan, S., de Almeida Quadros C., de Cleva R., Zilberstein B. & Cecconello I., 2007. Bacterial translocation: overview of mechanisms and clinical impact. Journal of Gastroenterology and Hepatology. 22 (4), 464-71.

Bates, J., Jordens J. Z. & Griffiths D. T., 1994. Farm animals as a putative reservoir for vancomycin-resistant enterococcal infection in man. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 34 (4), 507-514.

Baumgartner, A., Kueffer M. & Rohner P., 2001. Occurrence and antibiotic resistance of enterococci in various ready-to-eat foods. Archiv für Lebensmittelhygiene. 52, 16-19.

Beuvier, E., Berthaud K., Cegarrat S., Dasen A., Pochet S., Buchin S. & Duboz G., 1997. Ripening and quality of Swiss-type cheese made from raw, pasteurized or microfiltered milk. International Dairy Journal. 7, 311-323.

Bhutto, A. L., Murray R. D. & Woldehiwet Z., 2010. Udder shape and teat-end lesions as potential risk factors for high somatic cell counts and intra-mammary infections in dairy cows. Veterinary Journal. 183 (1), 63-67.

Bundesamt für Gesundheit (BAG), 2015. Strategie Antibiotikaresistenzen Schweiz (StAR). Eidgenössisches Departement des Innern & Eidgenössisches Departement für Wirtschaft, Bildung, und Forschung, BBL, Vertrieb Bundespublikationen, Bern, 1-77 [25.01.2017]

Butaye, P., Devriese L. A. & Haesebrouck F., 2003. Antimicrobial growth promoters used in animal feed effects of less well known antibiotics on gram-positive bacteria Clinical Microbiology Reviews. 175-188.

Commission Notice, 2015. Guidelines for the prudent use of antimicrobials in veterinary medicine. Official Journal of the European Union C 299/04, 1-26.

Corti, S., Sicher D., Regli W. & Stephan R., 2009. Aktuelle Daten zur Antibiotikaresistenz der wichtigsten bovinen Mastitiserreger in der Schweiz. Schweizer Archiv für Tierheilkunde. 145 (12), 571-575.

Cox, G. & Wright G. D., 2013. Intrinsic antibiotic resistance: Mechanisms, origins, challenges and solutions. International Journal of Medical Microbiology. 303 (6–7), 287-292.

Dalla Torre, M., Raemy M. T., Schaeren W., Glättli H. & Schällibaum M., 1998. Ueberblick über den Gehalt an Staphylokokken und Enterokokken und deren Antibiotikaresistenz in Schweizer Käsen. Interner Bericht FAM. 7, 1-44.

Dalla Torre, M., Weber A., Perret J., Scheuner E., Imhof A. & Willi S., 1993. Die mikrobiologische Qualität der Rohmilch. Interner Bericht FAM. 15, 1-11.

de Fátima Silva Lopes, M., Ribeiro T., Abrantes M., Figueiredo Marques J. J., Tenreiro R. & Crespo M. T. B., 2005. Antimicrobial resistance profiles of dairy and clinical isolates and type strains of enterococci. International Journal of Food Microbiology. 103 (2), 191-198.

EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources Added to Food, 2009. Scientific opinion on the use of natamycin (E 235) as a food additive. EFSA Journal. 7 (12), 1412-1437.

Eidgenössisches Departement des Innern (EDI), Verordnung des EDI über Speziallebensmittel vom 23. November 2005 (Stand am 4. Februar 2014). 817.022.104. Page. [25.01.2017]

EMA (European Medicines Agency) and EFSA (European Food Safety Authority), 2017. EMA and EFSA Joint Scientific Opinion on measures to reduce the need to use antimicrobial agents in animal husbandry in the European Union, and the resulting impacts on food safety (RONAFA). EFSA Journal. 15 (1), 245.

Field, D., Quigley L., O'Connor P. M., Rea M. C., Daly K., Cotter P. D., Hill C. & Ross R. P., 2010. Studies with bioengineered Nisin peptides highlight the broad-spectrum potency of Nisin V. Microb Biotechnol. 3 (4), 473-86.

Fisher, K. & Phillips C., 2009. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. Microbiology. 155, 1749-1757.

Foulquié Moreno, M. R., Sarantinopoulos P., Tsakalidou E. & De Vuyst L., 2006. The role and application of enterococci in food and health. International Journal of Food Microbiology. 106 (1), 1-24.

Franz, C. M. A. P., Holzapfel W. H. & Stiles M. E., 1999. Enterococci at the crossroads of food safety? International Journal of Food Microbiology. 47, 1-24.

Franz, C. M. A. P., Stiles M. E., Schleifer K. H. & Holzapfel W. H., 2003. Enterococci in foods - a conundrum for food safety. International Journal of Food Microbiology. 88 (2–3), 105-122.

Gaglio, R., Couto N., Marques C., de Fatima Silva Lopes M., Moschetti G., Pomba C. & Settanni L., 2016. Evaluation of antimicrobial resistance and virulence of enterococci from equipment surfaces, raw materials, and traditional cheeses. International Journal of Food Microbiology. 236, 107-114.

Garrido, A. M., Gálvez A. & Pulido R. P., 2014. Antimicrobial resistance in Enterococci. Journal of Infectious Diseases & Therapy. 2 (4), 1-7.

Gelsomino, R., Vacanneyt M., Condon S., Swings J. & Cogan T. M., 2001. Enterococcal diversity in the environment of an Irish Cheddar-type cheesemaking factory. International Journal of Food Microbiology. 71 (2-3), 177-188.

Gilmore, M. S., Lebreton F. & van Schaik W., 2013. Genomic transition of enterococci from gut commensals to leading causes of multidrug-resistant hospital infection in the antibiotic era. Current Opinion in Microbiology. 16 (1), 10-6.

Giménez-Pereira, M. L., 2005. Enterococci in milk products. Thesis. Massey University Palmerston North, New Zealand. 1-138.

Giraffa, G., 2002. Enterococci from foods. FEMS Microbiology Reviews. 26 (2), 163-171.

Giraffa, G., 2003. Functionality of enterococci in dairy products. International Journal of Food Microbiology. 88 (2-3), 215-222.

Haug, M. C., Tanner S. A., Lacroix C., Stevens M. J. A. & Meile L., 2011. Monitoring horizontal antibiotic resistance gene transfer in a colonic fermentation model. FEMS Microbiology Ecology. 78 (2), 210-219.

Higuita, N. I. A. & Huycke M. M., 2014. Enterococcal disease, epidemiology, and implications for treatment. In: Enterococci From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection. (Eds: Gilmore, M. S., Clewell D. B., Ike Y. & Shankar N.), Massachusetts Eye and Ear Infirmary, Boston, 47-72.

Hugas, M., Garriga M. & Aymerich M. T., 2003. Functionalty of enterococci in meat products. International Journal of Food Microbiology. 88 (2–3), 223-233.

Hummerjohann, J., 2017. Personal communication: "Vorläufige Ergebnisse einer Untersuchung zum Vorkommen von vancomycinresistenten Enterokokkenisolaten aus Käseproben".

IDF, 2013. Guide to prudent use of antimicrobial agents in dairy production 2013. IDF Guide. 1-53.

Jakob, E. & Eugster E., 2016. Verfahren zur Behandlung der Käsereimilch und deren Bedeutung für die Lebensmittelsicherheit von Käse. Agroscope Science. 41, 1-29.

Jamet, E., Akary E., Poisson M. A., Chamba J. F., Bertrand X. & Serror P., 2012. Prevalence and characterization of antibiotic resistant Enterococcus faecalis in French cheeses. Food Microbiology. 31 (2), 191-198.

Kastner, S., Perreten V., Bleuler H., Hugenschmidt G., Lacroix C. & Meile L., 2006. Antibiotic susceptibility patterns and resistance genes of starter cultures and probiotic bacteria used in food. Systematic and Applied Microbiology. 29 (2), 145-155

Kayser, F. H., 2003. Safety aspects of enterococci from the medical point of view. International Journal of Food Microbiology. 88 (2-3), 255- 262.

Klein, G., 2003. Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract. International Journal of Food Microbiology. 88, 123- 131.

Lebreton, F., Willems R. J. L. & Gilmore M. S., 2014. Enterococcus diversity, origins in nature, and gut colonization. In: Enterococci From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection. Eds: Gilmore, M. S., Clewell D. B., Ike Y. & Shankar N., Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary, Boston, 3-46.

Leclerc, H., Devriese L. A. & Mossel D. A. A., 1996. Taxonomical changes in intestinal (faecal) enterococci and streptococci: consequences on their use as indicators of faecal contamination in drinking water. Journal of Applied Microbiology. 81, 459-466.

Leisibach, S., 2004. Antibiotic resistance genes in food: Molecular identification and transfer between microorganisms with emphasis on enterococci. Dissertation. Eidgenössische Technische Hochschule ETH Zürich.

Lüdin, P., 2017. Personal communication: "Vorgeschriebene Abklärungen betreffend Antibitokaresistenzen in Starterkurturen".

Mannu, L., Paba A., Daga E., Comunian R., Zanetti S., Duprè I. & Sechi L. A., 2003. Comparison of the incidence of virulence determinants and antibiotic resistance between *Enterococcus faecium* strains of dairy, animal and clinical origin. International Journal of Food Microbiology. 88, 291-304.

Marshall, B. M. & Levy S. B., 2011. Food animals and antimicrobials: Impacts on human health. Clinical Microbiology Reviews. 24 (4), 718-733.

McAuley, C. M., Britz M. L., Gobius K. S. & Craven H. M., 2015. Prevalence, seasonality, and growth of enterococci in raw and pasteurized milk in Victoria, Australia. Journal of Dairy Science. 98 (12), 8348-8358.

McAuley, C. M., Gobius K. S., Britz M. L. & Craven H. M., 2012. Heat resistance of thermoduric enterococci isolated from milk. International Journal of Food Microbiology. 154 (3), 162-168.

McGowan, L. L., Jackson C. R., Barrett J. B., Hiott L. M. & Fedorka-Cray P. J., 2006. Prevalence and antimicrobial resistance of enterococci isolated from retail fruits, vegetables, and meats. Journal of Food Protection. 69 (12), 2976-2982.

Meile, L., Niederer B., Baumann A. & Miescher Schenninger S., 2005. Mikroorganismen als Lebensmittelzusätze: Starterkulturen, Schutzkulturen und Probiotika. Mitteilungen in Lebensmitteluntersuchungen und Hygiene. 96 (1), 3-14.

Moellering, R. C., Jr., 1998. Vancomycin-resistant enterococci. Clinical Infectious Diseases 26 (5), 1196-1199.

Morandi, S., Brasca M., Aleri P., Lodi R. & Tamburini A., 2005. Influence of pH and temperature on the growth of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*. Lait. 85 (3), 181-192.

Murray, B. E., 1998. Diversity among multidrug-resistant enterococci. Emerging Infectious Diseases. 4, 37-47.

Nilsson, O., 2012. Vancomycin resistant enterococci in farm animals - occurrence and importance. Infection Ecology and Epidemiology. 2: 16959.

O'Boyle, C. J., MacFie J., Mitchell C. J., Johnstone D., Sagar P. M. & Sedman P. C., 1998. Microbiology of bacterial translocation in humans. Gut. 42 (1), 29–35.

Perreten, V., 2003. Use of antimicrobials in food-producing animals in Switzerland and the European Union (EU). Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchungen und Hygiene. 94, 155-163.

Perreten, V., 2005. Resistance in the food chain and in bacteria from animals: Relevance to human infections. In: Frontiers in Antimicrobial Resistance. (Eds: White, D., Alekshun M. & McDermott P.), ASM Press, Washington, DC., 446-464.

Perreten, V., Kollöffel B. & Teuber M., 1997a. Conjugal transfer of the Tn916-like transposon TnFO1 from *Enterococcus faecalis* isolated from cheese to other gram-positive bacteria. Systematic and Applied Microbiology. 20, 27-38.

Perreten, V., Schwarz F., Cresta L., Boeglin M., Dasen G. & Teuber M., 1997b. Antibiotic resistance spread in food. Nature. 389, 801-802.

Perreten, V. & Teuber M., 1995. Antibiotic resistant bacteria in fermented dairy products - a new challenge for raw milk products? In: Proc. Symp. Residues of Antimicrobial Drugs and other Inhibitors in Milk, Kiel, Germany, 9505, 144-148.

Pesavento, G., Calonico C., Ducci B., Magnanini A. & Lo Nostro A., 2014. Prevalence and antibiotic resistance of *Enterococcus* spp. isolated from retail cheese, ready-to-eat salads, ham, and raw meat. Food Microbiology. 41, 1-7.

Peters, J., Mac K., Wichmann-Schaue H., Klein G. & Ellerbroek U., 2003. Species distribution and antibiotic resistance patterns of enterococci isolated from food of animal origin in Germany. International Journal of Food Microbiology. 88 (2-3), 311-314.

Ronconi, M. C., Merino L. A. & Fernández G., 2002. [Detection of *Enterococcus* with high-level aminoglycoside and glycopeptide resistance in Lactuca sativa (lettuce)]. Enfermedades Infecciosas y Microbiologia Clinica. 20 (8), 380-383.

Salyers, A. A. & Amábile-Cuevas C. F., 1997. Why are antibiotic resistance genes so resistant to elimination? Antimicrobial Agents And Chemotherapy. 41 (11), 2321-2325

Salyers, A. A., Gupta A. & Wang Y., 2004. Human intestinal bacteria as reservoirs for antibiotic resistance genes. Trends in Microbiology. 12 (9), 412-6.

Schaeren, W., 2014. Mögliche Ansatzpunkte und Massnahmen, die zu einer Reduktion des Einsatzes von Antibiotika in der Milchproduktion beitragen könnten. Agroscope Science. 10, 1-16.

Schaeren, W., Jemmi T. & Schällibaum M., 1986. Resistenzsituation der wichtigsten Mastitiserreger beim Rind. Schweizer Archiv für Tierheilkunde. 128, 401-406.

Schaeren, W. & Schällibaum M., 1993. Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration bei Mastitiserregern. Interner Bericht FAM. 18, 1-32.

Schär, H., Dalla Torre M. & Schaeren W., 1999. Enterokokken und Staphylokokken in Käse aus roher bzw. pasteurisierter Milch. In: Bakterielle Antibiotikaresistenz in den Bereichen Humanmedizin, Veterinärmedizin und Lebensmittel. (Ed: Koordinationsgruppe antibiotikaresistente Mikroorganismen), Bundesamt für Gesundheit, Infodienst, Bern, 47-50.

Schleifer, K. H. & Kilpper-Bälz R., 1984. Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the Genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 34 (1), 31-34.

Sörqvist, S., 2003. Heat resistance in liquids of *Enterococcus* spp., *Listeria* spp., *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. Acta Veterinaria Scandinavica. 44 (1-2), 1-19.

Špelina, V., Schlemmerová L., Landfeld A., Kýhos K., Měřička P. & Houška M., 2007. Thermal inactivation of *Enterococcus faecium*. Czech Journal of Food Sciences. 25 (5), 283-290.

Stiles, M. E. & Holzapfel W. H., 1997. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. International Journal of Food Microbiology. 36 (1), 1-29.

Templer, S. P., 2006. Antibiotic resistant enterococci from food and clinical samples: microbiological characterization, molecular typing and genetic relation of strains. Inauguraldissertation. Universität Bern. Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät. 72 pp.

Templer, S. P. & Baumgartner A., 2007. Enterococci from Appenzeller and Schabziger raw milk cheese: antibiotic resistance, virulence factors, and persistence of particular strains in the products. Journal of Food Protection. 70 (2), 450-455.

Teuber, M., 2001. Veterinary use and antibiotic resistance. Current Opinion in Microbiology. 4, 493-499.

Teuber, M., 2002. Vom Segen zum Alptraum. UNIMAGAZIN 1/02 - Bulletin ETHZ, 285.

Teuber, M., Perreten V. & Wirsching F., 1996. Antibiotikumresistente Bakterien: eine neue Dimension in der Lebensmittelmikrobiologie. Lebensmittel-Technologie. 29 (5), 182-199.

Uttley, A. H. C., George R. C., Naidoo J., Woodford N., Johnson A. P., Collins C. H., Morrison D., Gilfillan A. J., Fitch L. E. & Heptonstall J., 1989. High-level vancomycin-resistant enterococci causing hospital infections. Epidemiology and Infection. 103 (1), 173-181.

Vetsuisse-Fakultät in Zusammenarbeit mit der Gesellschaft Schweizer Tierärztinnen und Tierärzte (GST) unter Koordination des Bundesamtes für Lebensmittelsicherheit und Veterinärwesen (BLV), 2016. Umsichtiger Einsatz von Antibiotika: Therapieleitfaden für Tierärztinnen und Tierärzte. 1-100.

Wechsler, D., 2017. Personal communication: "Bedeutung und Risiko von resistenten Enterokokken in Sirtekulturen".

Weisser, M. & Widmer A. F., 2012. Multiresistente Enterokokken. Schweizerisches Medizin-Forum. 12 (42), 805–807.

Werner, G., Coque T. M., Franz C. M. A. P., Grohmann E., Hegstad K., Jensen L., Schaik W. v. & Weaver K., 2013. Antibiotic resistant enterococci: Tales of a drug resistance gene trafficker. International Journal of Medical Microbiology. 303 (6-7), 360-379.

Wessels, D., Jooste P. J. & Mostert J. F., 1990. Technologically important characteristics of Enterococcus isolates from milk and dairy products. International Journal of Food Microbiology. 10 (3-4), 349-352.

Würgler-Aebi, I. C., 2004. Entwicklung von Resistenzen gegen Makrolid-Antibiotika bei Enterokokken im Kot von Kälbern, gefüttert mit antibiotikahaltiger Milch. Dissertation. Universität Bern. Veterinär-Medizinischen Fakultät. 1-60.