

ANTIBIOTICUMRESISTENTIE IN *ESCHERICHIA COLI* BIJ LANDBOUWHUISDIEREN, HAZEN, SEPTISCH MATERIAAL EN OPPERVLAKTEWATER IN VLAANDEREN

C. Casteleyn, J. Dewulf, B. Catry, A. de Kruif, D. Maes

Vakgroep Voortplanting, Verloskunde en Bedrijfsdiergeneeskunde,
Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, België
Christophe.Casteleyn@UGent.be

SAMENVATTING

In drie verschillende regio's in Vlaanderen werd voor 14 antibiotica die frequent in de humane geneeskunde en de diergeneeskunde aangewend worden, het voorkomen van resistentie bij *E. coli* bepaald voor vleesvarkens, melkvee, vleeskippen, septisch materiaal afkomstig van de mens, hazen en oppervlaktewater.

De meeste antibioticumresistentie werd opgemerkt bij vleesvarkens en vleeskippen, gevolgd door septisch materiaal en oppervlaktewater. In elke niche werd de meeste resistentie vastgesteld tegenover sulfamethizole, oxytetracycline, neomycine en streptomycine. Voor de resistentiepercentages werden geen significante verschillen tussen de drie regio's noch tussen vleesvarkens en vleeskippen, melkvee en hazen, en septisch materiaal en oppervlaktewater vastgesteld.

De resultaten tonen aan dat antibioticumresistentie bij *E. coli* vooral bij industrieel gehouden dieren maar ook bij kiemen geïsoleerd uit septische tanks frequent voorkomt.

INLEIDING

Zowel in de humane geneeskunde als in de diergeneeskunde wordt de laatste jaren meer en meer aandacht besteed aan de problematiek van de toenemende antibioticumresistentie. De resistentie in de humane geneeskunde betekent een direct risico voor de volksgezondheid doordat de therapie bij levensbedreigende infecties in dit geval faalt (Mevius *et al.*, 2000). Ook in de diergeneeskunde veroorzaakt resistentie therapiefalen. Bovendien bestaat ook het risico van de verspreiding van resistentie naar de humane bacteriële populatie. Het meest directe volksgezondheidsrisico ontstaat wanneer antibioticumresistente (voedsel)pathogenen via de voedselketen of via direct contact ziekte bij de mens veroorzaken (Mevius *et al.*, 2000; Catry *et al.*, 2003). Het is echter ook mogelijk dat resistentiegenen uitgewisseld worden tussen dierlijke en menselijke bacteriën (Sørum en Sunde, 2001). Op deze manier kunnen menselijke pathogene bacteriën via interactie met dierlijke bacteriën resistent worden.

De commensale microbiota ter hoogte van het spijsverteringsstelsel van gezonde mensen en dieren worden beschouwd als het grootste reservoir van resistentiegenen (Lester *et al.*, 1990; Sørum en Sunde, 2001). Teneinde een resistentiesituatie in een bepaalde regio en tijdsperiode te kunnen beschrijven, wor-

den dergelijke commensale kiemen dan ook als indicatorbacteriën onderzocht. De indicatorbacterie die het meest werd onderzocht is *E. coli*, vermits deze bij zowat alle dieren uit de feces geïsoleerd kan worden (van den Bogaard *et al.*, 2000). Bijgevolg kunnen prevalenties van resistente bacteriën in verschillende ecologische niches met elkaar vergeleken worden.

De prevalentie van antibioticumresistentie van de indicatorbacterie *E. coli* is in de literatuur zowel bij de mens als bij landbouwhuisdieren ruim gedocumenteerd (Mevius *et al.*, 2000; Österblad *et al.*, 2000; Sáenz *et al.*, 2001; Bruinsma *et al.*, 2002, 2003a). Niet vaak worden zowel de mens als de huisdieren in eenzelfde studie opgenomen en vergeleken. Ook over de prevalentie van antibioticumresistentie in oppervlaktewater is relatief veel informatie beschikbaar (Cernat *et al.*, 2002; Cardonha *et al.*, 2004; Walia *et al.*, 2004), maar ook hier worden zelden gelijktijdig andere ecologische niches onderzocht. De prevalentie van antibioticumresistentie bij wilde dieren daarentegen is slechts weinig onderzocht (Gilliver *et al.*, 1999; Sherley *et al.*, 2000; Österblad *et al.*, 2001).

Door sommige auteurs wordt gepostuleerd dat de bacteriële populaties van verschillende ecologische niches nauw met elkaar verbonden zijn (Al-Ghamdi *et al.*, 1999; van den Bogaard *et al.*, 2001; Schroeder

et al., 2002; Aubry-Damon *et al.*, 2004), terwijl andere auteurs deze hypothese weerleggen (Nijsten *et al.*, 1996; Sannes *et al.*, 2004). Er bestaat dus nog onenigheid over de mogelijkheid van resistentieoverdracht tussen verschillende ecologische niches. In hoeverre de prevalentie van antibioticumresistentie beïnvloed wordt door externe factoren, zoals bijvoorbeeld de populatiedensiteit en geografische verschillen, is ook nog niet volledig duidelijk.

Het doel van dit onderzoek was het bepalen van de prevalentie van antibioticumresistentie in de indicatorbacterie *E. coli* voor zes ecologische niches, met name vleesvarkens, melkvee, vleeskippen, septisch materiaal afkomstig van de mens, hazen en oppervlaktewater, en dit in drie Vlaamse regio's voor 14 antibiotica die frequent in de humane geneeskunde en de diergeneeskunde aangewend worden. Tevens werd nagegaan of er een mogelijk effect van de dierlijke populatiedensiteit waar te nemen was.

MATERIAAL EN METHODEN

Het verzamelen van de stalen

Van september tot november 2004 werden in drie verschillende Vlaamse regio's, die op basis van hun dierdensiteit geselecteerd werden, stalen van oppervlaktewater en septisch materiaal en feces van vleesvarkens, melkkoeien, vleeskippen en hazen verzameld. De geselecteerde regio's waren Brugge (laagste densiteit), Deinze (matige densiteit) en Wingene (hoogste densiteit). Van elke soort landbouwhuisdieren werden zeven bedrijven per regio bemonsterd. Zeven hazen en zeven oppervlaktewateren werden eveneens per regio bemonsterd. Per bedrijf, haas of locatie (voor oppervlaktewater) werden twee stalen genomen. Tevens werden 14 stalen septisch materiaal per regio genomen.

Bij de vleesvarkens werden twee fecesstalen genomen uit de mestput van het compartiment waar de oudste vleesvarkens gehuisvest waren. Op de meeste melkveebedrijven waren roosters aanwezig waarbij de mestmonsters uit de mestput genomen werden. Indien er geen roosters waren, werden verse feces verzameld van verschillende mestplakken die zich op de stalvloer bevonden. De procedure voor de staalname bij de vleeskippen was analoog aan deze bij het melkvee wanneer er geen roosters aanwezig waren. Septisch materiaal werd bekomen via de firma's Aquafin en Hydrojet. Per regio werden zeven hazen onmiddellijk na een jachtpartij rectaal bemonsterd door middel

van swabs met transportmedium. Het bemonsterde oppervlaktewater moest vlot toegankelijk zijn, zodat enige menselijke activiteit mogelijk was op of rond het water.

Bewaring en transport van de stalen

De meeste stalen werden onmiddellijk na het verzamelen in een koelbox bewaard bij een temperatuur lager dan 10°C en bereikten binnen de zes uur na staalname het laboratorium. De hazen uit de regio's Brugge en Wingene werden tijdens een officiële feestdag (wapenstilstand) voorafgaand aan een weekend geschoten. Dit wild werd 's avonds bemonsterd met swabs met een transportmedium. De swabs werden ingevroren (-20°C) en binnen de drie dagen in het labo verwerkt.

Bacteriologisch onderzoek

Alle stalen werden op MacConkey agarplaten (MacConkey Agar No. 3, Oxoid LTD., Hampshire, Engeland) uitgeënt. Na de incubatie werden per staal twee lactosepositieve, roodroze kolonies overgeënt op een schapenbloedagar (Columbia Agar with Sheep Blood plus, Oxoid GmbH, Wesel, Duitsland) ter purificatie. Na de incubatieperiode van de geënte bloedplaten werd elke reïncultuur vanaf de bloedplaat geënt op een Kligler Iron medium (Kligler Iron Agar, Oxoid LTD., Hampshire, Engeland) door middel van een steekenting. Na de incubatieperiode van de Kligler media werd de test afgelezen. Eveneens werd van elke geselecteerde kiem de eventuele indolproductie nagegaan. Daartoe werden vanaf de bloedplaat enkele kolonies van de reïncultuur met een steriel entoog uitgestreken op een filtreerpapierje waaraan een druppeltje dimethylaminocinnamaldehyde (DMACA Indole, Becton, Dickinson and Company, Sparks, USA) werd toegevoegd. De kleuromslag in het blauw of roze werd genoteerd.

De identificatiecriteria voor *E. coli* waren (1) lactosefermentatie (roodroze kolonies op een MacConkey agar), (2) indolpositiviteit (blauwpaarsverkleuring), (3) fermentatie van glucose en lactose (geelverkleuring) zonder gasvorming (Kligler Iron Agar) en (4) afwezigheid van H₂S-productie (afwezigheid van roetstreep in Kligler Iron Agar) (Quinn *et al.*, 1994).

Gevoeligheidsbepalingen

De gevoeligheidsbepalingen gebeurden volgens de disk-agardiffusietechniek beschreven door Bauer *et al.* (1966) en er werd gebruik gemaakt van de richtlijnen van het National Committee for Clinical Labo-

ratory Standards (NCCLS), vermeld in Neo-Sensitabs® User's Guide, 15^{de} editie (2002).

Vanaf de bloedplaat werd van elke reïncultuur een 0,5 McFarlandsuspensie gemaakt in PBS (fosfaatgebufferde zoutoplossing; PBS, Acros Organics, Geel, België). Per reïncultuur werden twee Mueller-Hintonplaten (Mueller-Hinton, Oxoid GmbH, Wesel, Duitsland) geënt. Op deze platen werden 14 verschillende antibioticatabletten (2x7) (Neo-Sensitabs®, A/S Rosco, Taastrup, Denemarken) aangebracht. De geteste antibiotica worden weergegeven in Tabel 1. Na de incubatieperiode werden de inhibitiezones afgelezen en werd,

gebaseerd op de NCCLS-richtlijnen, voor elk antibioticum de gevoeligheid of resistentie van elke kiem bepaald. Tijdens de gevoeligheidsbepalingen van de isolaten werd *E. coli* ATCC 25922 als interne controle in de analyses mee opgenomen.

Gegevensverwerking en statistische analyse

Voor de weergave en de verwerking van de resultaten werd beslist om de kiemen die een intermediaire antibioticumresistentie vertoonden, bij de resistente kiemen te rekenen. Op deze manier werd een duidelijke

Tabel 1. Percentages (%) *E. coli*-kiemen met resistentie tegenover 14 antibiotica per ecologische niche.

Antibioticum	Ecologische niche					
	Vleesvarkens	Vleeskippen	Melkvee	Hazen	Septisch materiaal	Oppervlaktewater
Ampicilline	50,8 ^a	74,4 ^b	10,3 ^c	3,0 ^c	53,1 ^e	63,0 ^e
Amoxicilline + clavulaanzuur	12,3 ^a	29,5 ^b	14,1 ^c	4,5 ^c	23,4 ^e	13,0 ^e
Ceftiofur	1,5 ^a	28,2 ^b	0,0 ^c	0,0 ^c	3,1 ^e	4,3 ^e
Sulfamethizole	72,3 ^a	74,4 ^a	34,6 ^c	16,7 ^d	53,1 ^e	71,7 ^e
Trimethoprim + sulfa	53,8 ^a	50,0 ^a	0,0 ^c	1,5 ^c	7,8 ^e	8,7 ^e
Oxytetracycline	66,2 ^a	52,6 ^a	5,1 ^c	1,5 ^c	32,8 ^e	21,7 ^e
Gentamicine	13,8 ^a	9,0 ^a	5,1 ^c	1,5 ^c	12,5 ^e	6,5 ^e
Neomycine	63,1 ^a	67,9 ^a	53,8 ^c	19,7 ^d	68,8 ^e	60,9 ^e
Spectinomycine	41,5 ^a	28,2 ^a	5,1 ^c	0,0 ^c	12,5 ^e	10,9 ^e
Streptomycine	76,9 ^a	69,2 ^a	34,6 ^c	13,6 ^d	60,9 ^e	65,2 ^e
Enrofloxacin	4,6 ^a	17,9 ^b	0,0 ^c	0,0 ^c	3,1 ^e	0,0 ^e
Flumequine	6,2 ^a	30,8 ^b	0,0 ^c	0,0 ^c	6,3 ^e	4,3 ^e
Nalidixinezuur	27,7 ^a	52,6 ^b	10,4 ^c	3,0 ^c	26,6 ^e	26,1 ^e
Florfenicol	40,0 ^a	16,7 ^b	11,5 ^c	3,0 ^c	17,2 ^e	15,2 ^e

- ^{a-a} : geen significant verschil tussen de resistentiepercentages van het betreffende antibioticum bij vleesvarkens en vleeskippen.
^{a-b} : significant verschil tussen de resistentiepercentages van het betreffende antibioticum bij vleesvarkens en vleeskippen.
^{c-c} : geen significant verschil tussen de resistentiepercentages van het betreffende antibioticum bij melkvee en hazen.
^{c-d} : significant verschil tussen de resistentiepercentages van het betreffende antibioticum bij melkvee en hazen.
^{c-e} : geen significant verschil tussen de resistentiepercentages van het betreffende antibioticum bij septisch materiaal en oppervlaktewater.

lijk onderscheid gemaakt tussen gevoelige kiemen en kiemen die een zekere graad van resistentie vertoonden.

Er werd met een one-way ANOVA getest of de Antibiotic Resistance Index (ARI) verschilde per regio of per ecologische niche. De ARI is de verhouding van het aantal antibiotica waartegen een kiem resistentie vertoont tot het totaal aantal geteste antibiotica. Bijgevolg kan deze index variëren van 0,00 (0%) (de kiem is tegen geen enkel van de geteste antibiotica resistent) tot 1,00 (100%) (de kiem is tegen alle geteste antibiotica resistent). Indien bleek dat er significante verschillen waren, werd met de Scheffé post hoc-testen nagegaan tussen welke niches of regio's deze verschillen aanwezig waren.

Met logistische regressie werden de verschillen in frequentie van resistentie tegenover elk antibioticum afzonderlijk tussen de drie verschillende regio's en de niches die een niet-significant verschillende ARI vertoonden, getest. Het grafisch weergegeven van het verband tussen de resistentie tegenover de verschillende antibiotica en de ecologische niches gebeurde aan de hand van correspondentieanalyse. Hierbij worden multidimensionele gegevens weergegeven in een tweedimensioneel vlak. Alle statistische analyses werden uitgevoerd in SPSS 12.0. Er werd steeds getest op een significantieniveau van 5%.

RESULTATEN

Antibiotic Resistance Index (ARI)

De ARI per ecologische niche wordt door middel van boxplots weergegeven in Figuur 1. Er werd geen significant verschil gevonden tussen vleesvarkens en vleeskippen, melkvee en hazen, en septisch materiaal en oppervlaktewater. De drie regio's waren niet significant verschillend van elkaar.

Percentages antibioticumresistentie per regio en per ecologische niche

In Tabel 1 worden alle percentages resistentie tegenover de 14 geteste antibiotica per ecologische niche weergegeven. In het algemeen werd de hoogste resistentie waargenomen tegenover sulfamethizole, oxytetracycline, neomycine en streptomycine. Voor de vergelijking van de percentages resistentie van het oppervlaktewater ten opzichte van het septisch materiaal werd er voor geen enkel antibioticum een significant verschil gevonden. Voor de vergelijking tussen de vleesvarkens en de vleeskippen werden geen signifi-

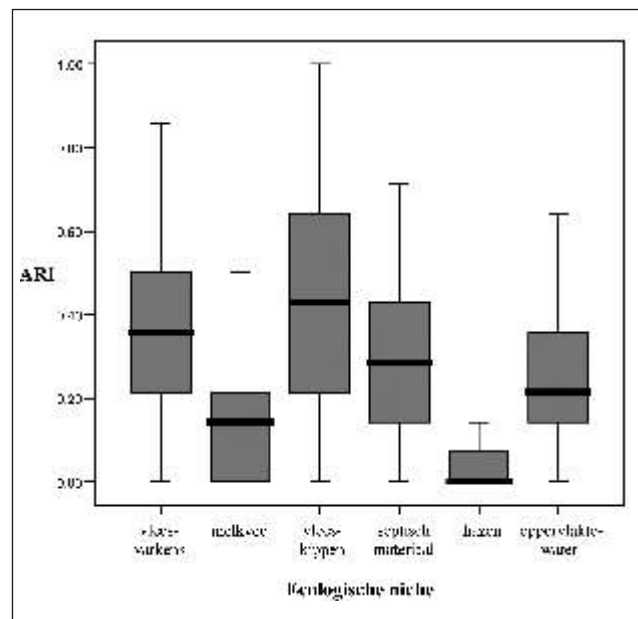


Fig. 1. De "Antibiotic Resistance Index" per ecologische niche weergegeven in boxplots.

De mediaan wordt weergegeven door een vetgedrukte zwarte streep. De lijnen aan beide uiteinden van de box geven de minimum- en maximumwaarden weer. De box zelf is een voorstelling van het interkwartielenbereik (25% tot 75% van de waarden).

ficante verschillen gezien voor sulfamethizole en sulfatrimethoprim, oxytetracycline en de aminosiden. Voor de vergelijking tussen de twee diersoorten met de laagste resistentiepercentages, namelijk melkvee en hazen, werden enkel significante verschillen gevonden voor streptomycine, neomycine en sulfamethizole.

Behalve tegen florfenicol werden er geen significante verschillen in het voorkomen van antibioticumresistentie tussen de regio's waargenomen. In de regio Deinze werd tegen florfenicol 26,7% resistentie gevonden, wat significant hoger was dan in de regio Brugge (12,7%) en de regio Wingene (11,7%). Het verschil tussen Brugge en Wingene was niet significant.

Multiresistentie per ecologische niche

Als een kiem resistentie vertoonde tegenover meer dan één antibioticum, werd deze gedefinieerd als een multiresistente kiem. Figuur 2 is een grafische weergave van de mate van multiresistentie gevonden in elke ecologische niche. Hazen herbergden de meeste kiemen die voor alle geteste antibiotica gevoelig waren. Ook bij melkvee was er slechts een beperkte hoeveelheid multiresistentie aanwezig. Bij vleeskippen waren vele kiemen tegen tien of meer antibiotica resistent. Eén kiem vertoonde zelfs resistentie tegenover alle geteste antibiotica. Voor vleesvarkens, sep-

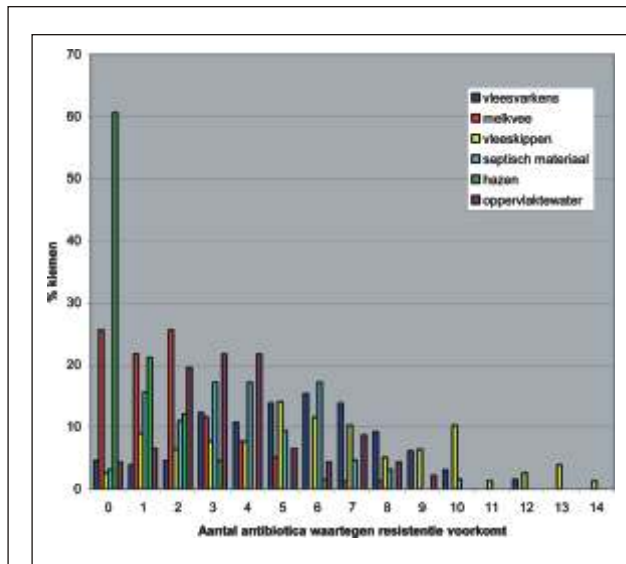
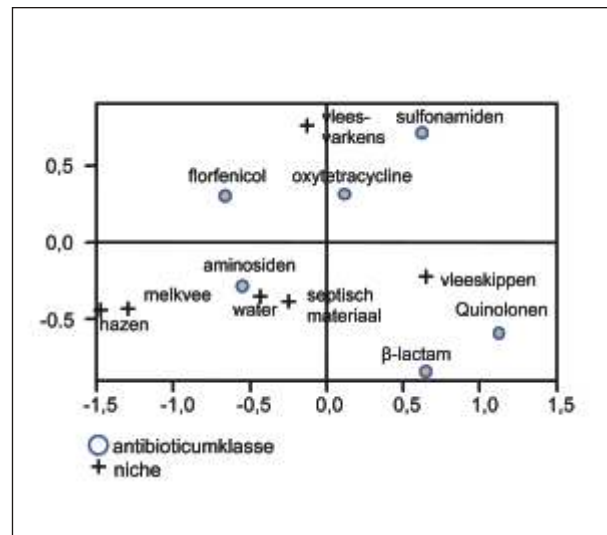


Fig. 2. Frequentieverdeling van het percentage *E. coli*-isolaten dat resistent is tegen 0 tot 14 antibiotica.

tisch materiaal en oppervlaktewater werd een normale verdeling vastgesteld. De piek lag voor de vleesvarkens bij zes antibiotica, voor septisch materiaal en oppervlaktewater was dit bij drie tot vier antibiotica.

Correspondentieanalyse

Figuur 3 is de weergave van de correspondentieanalyse voor de zes geteste antibioticumklassen en de zes ecologische niches. De interpretatie van een dergelijke analyse is als volgt: in gedachten moet men een rechte trekken vanuit het punt dat bij een bepaalde niche hoort naar het middelpunt van het grafiekgebied. Om een idee te krijgen van de gelijkheid in de globale prevalentie van de resistentie in twee niches moet de cosinus genomen worden van de hoek tussen de twee rechten die bij de niches horen. Tussen septisch materiaal en oppervlaktewater, evenals tussen melkvee en hazen is er een kleine hoek waarvan de cosinus 1 benadert. Dit wil zeggen dat deze niches qua antibioticumresistentieprofiel grotendeels gelijkaardig zijn. De hoek tussen vleesvarkens en vleeskippen is groot, wat aantoont dat deze niches van elkaar verschillen wat hun antibioticumresistentieprofiel betreft. Ook de relatie tussen een bepaalde niche en een antibioticumklasse kan op dezelfde manier worden voorgesteld. Wanneer de hoek tussen beide parameters klein is, wil dit zeggen dat er een grote kans is dat een kiem, die uit deze niche wordt geïsoleerd resistentie vertoont tegenover deze antibioticumklasse. We zien bijvoorbeeld dat de quinolonen een belangrijke invloed hebben op de resistentie bij pluimvee.



Figuur 3. Correspondentieanalyse.

DISCUSSIE

Het bijzondere van deze studie is dat de prevalentie van antibioticumresistentie bij landbouwhuisdieren en septisch materiaal afkomstig van de mens, evenals bij hazen en oppervlaktewater, gelijktijdig onderzocht werd, en dit voor 14 antibiotica die frequent in de humane geneeskunde en de diergeneeskunde aangewend worden. De meeste studies beperken immers het aantal onderzochte antibiotica en slechts zelden wordt een dergelijk groot aantal antibiotica getest.

Door gebruik te maken van de gramnegatieve indicatorbacterie *E. coli* was het mogelijk om op een internationaal aanvaarde manier een beeld te krijgen van de antibioticumresistentie in Vlaanderen (Catty *et al.*, 2002; Aarestrup, 2004). Aangezien het gebruik van antibiotica de belangrijkste factor is in de ontwikkeling en de verspreiding van antibioticumresistentie (Bruinsma *et al.*, 2003a; Hart *et al.*, 2004; Goossens *et al.*, 2005), is het mogelijk via de bepaling van de prevalentie van antibioticumresistentie een idee te krijgen van de heersende antibioticumselectiedruk.

Het bepalen van de gevoeligheid van de kiemen gebeurde via de disk agardiffusiemethode. Deze methode wordt door vele onderzoekers aangewend en is goed gestandaardiseerd voor de meeste *Enterobacteriaceae* (Bauer *et al.*, 1966), waartoe *E. coli* behoort. Hierdoor is het mogelijk de prevalenties van antibioticumresistentie die in andere studies bepaald werden, te vergelijken met de eigen bevindingen.

De gebruikte identificatiemethode voor *E. coli* was evenwel niet sluitend. Het is mogelijk dat enkele fecale isolaten verkeerdelijk als *E. coli* werden geïdenti-

ficeerd, terwijl het wellicht *Klebsiella oxytoca*- of *Citrobacter diversus*-kiemen betrof. Voornamelijk de kiemidentificatie uit oppervlaktewater en septische putten was niet optimaal. Het is aannemelijk dat er in deze milieus meerdere bacteriële species op een MacConkeyagar groeien en lactose- en indolpositief zijn. De kans dat bijvoorbeeld *Klebsiella* spp. uit oppervlaktewater werden geanalyseerd, is niet verwaarloosbaar aangezien zo'n 15% van de coliformen in oppervlaktewater *Klebsiella* spp. is (Niemi *et al.*, 1983; Jones, 1986). *Klebsiella* en *Citrobacter* spp. zijn intrinsiek resistent tegen de β -lactamantibiotica (Trystram en Sougakoff, 1998; European Commission, 2002). Enige voorzichtigheid is dus geboden bij het interpreteren van de prevalentie van resistentie tegenover β -lactamantibiotica voor wat het septisch materiaal en het oppervlaktewater betreft. Bovendien kon niet met 100% zekerheid bepaald worden of de septische putten werkelijk enkel septisch materiaal afkomstig van de mens bevatten. Vermoedelijk betrof het een mengeling van septisch materiaal met afvalwater, eventueel oppervlakte- en regenwater. Dit alles maakt dat de interpretatie van de resultaten voor wat het septisch materiaal en het oppervlaktewater betreft omzichtig moet gebeuren en dat verder onderzoek noodzakelijk is om de resistentieprofielen exacter te kunnen beschrijven.

Bij de industrieel gehouden dieren werden de hoogste resistentiepercentages en het vaakst multiresistentie waargenomen. Vooral tegenover frequent aangewende antibiotica, zoals sulfonamiden en oxytetracycline, werden erg hoge resistentiepercentages genoteerd. Dit weerspiegelt het intensieve karakter van de vleesproducerende veehouderij.

De antibioticumselectiedruk in de melkveehouderij lijkt weinig uitgesproken. Twee mogelijke onderliggende factoren zijn het feit dat er in de melkveehouderij geen nood is aan een intensief gebruik van antibiotica omdat er geen grote bezettingsdichtheden heersen en de terughoudendheid van de veehouders om antibiotica bij hun melkkoeien te gebruiken uit schrik voor residuen in de melk. Dit leidt tot een matige prevalentie van antibioticumresistentie bij melkvee.

Wilde hazen worden normaliter niet met antibiotica behandeld. Toch werd er, hoewel in geringe mate, antibioticumresistentie bij de hazen vastgesteld. Mogelijke verklaringen hiervoor zijn het contact met natuurlijke en in het milieu aanwezige commerciële antibiotica of de perorale opname van resistente kiemen door de hazen. Bij deze laatste wordt er vooral gedacht aan resistente kiemen in oppervlaktewater, in

mestplakken uitgescheiden door vee op de weiden of in mesthopen op boerderijen.

In Tabel 1 is de gelijkenis in het voorkomen van resistentie tegenover sulfamethizole, sulfatrimethoprim, oxytetracycline en de aminosiden bij vleesvarkens en vleeskippen duidelijk te zien. Ook het verschil tussen de ARI's van beide niches was niet significant. Uit de correspondentieanalyse volgde echter dat de globale resistentie voor elk van beide niches toch aanzienlijk verschillend was. Dit is vooral te wijten aan de grote invloed die de quinolonen (enrofloxacin, flumequine en nalidixinezuur) uitoefenen op de resistentie bij vleeskippen. Een gelijkaardig verbruik van bepaalde antibiotica in beide niches is wellicht de belangrijkste reden voor het voorkomen van een min of meer zelfde frequentie van resistentie tegenover die antibiotica. Het feit dat er bij vleeskippen duidelijk meer resistentie is tegenover de quinolonen doet vermoeden dat zij in deze niche frequenter worden aangewend dan bij de vleesvarkens.

Aangezien de populatiedensiteit een invloed kan hebben op de prevalentie van antibioticumresistentie (Garau *et al.*, 1999; Bruinsma *et al.*, 2003b), werd in deze studie de prevalentie van antibioticumresistentie in drie regio's, met elk een verschillende dierlijke populatiedensiteit, bepaald. Er moet opgemerkt worden dat de humane populatiedichtheid niet in rekening werd gebracht. Het is aannemelijk dat de bevolkingsdichtheid in streken met een hoge dierdensiteit lager is dan in gebieden waar slechts weinig dieren voorkomen. Hierdoor zou het effect dat te wijten is aan de verschillende dierdensiteiten enigszins afgezwakt kunnen worden. Globaal werd er tussen de drie regio's geen significant verschil in de prevalentie van antibioticumresistentie waargenomen. In dit onderzoek kon dus geen verband tussen de dierlijke populatiedensiteit en de prevalentie van antibioticumresistentie aangetoond worden. Het is mogelijk dat het niet kunnen aantonen van dit verband te wijten is aan het feit dat de dichtheidsverschillen gewoon te gering waren.

CONCLUSIE

In tegenstelling tot melkvee en wilde hazen is de frequentie van antibioticumresistentie erg hoog bij industrieel gehouden dieren, zoals vleesvarkens en vleeskippen, maar ook bij septisch materiaal afkomstig van de mens. De hoge frequentie van antibioticumresistentie in oppervlaktewater houdt misschien een gevaar in voor de gezondheid van zowel mens als dier en dit risico kan versterkt worden door de gemak-

kelijke verspreiding van kiemen in oppervlaktewater. Tenslotte kon de invloed van dierlijke populatiedensiteitsverschillen op de prevalentie van antibioticumresistentie in Vlaanderen niet worden aangetoond.

DANKWOORD

De auteurs bedanken Els De Fré voor de technische assistentie bij het uitvoeren van het onderzoek, de Hubertus Vereniging Vlaanderen (HVV) met in het bijzonder Ir. Thomas Ceulemans, Ferdinand Adam en de jagers voor het verzamelen van de hazen, de firma's Aquafin en Hydrojet voor het ter beschikking stellen van septisch materiaal en alle veehouders die hebben meegewerkt. Tenslotte worden ook Prof. Dr. F. Haesebrouck en Dr. L. Devriese bedankt voor het advies betreffende de kiemidentificatie.

LITERATUUR

- Aarestrup F.M. (2004). Monitoring of antimicrobial resistance among food animals: principles and limitations. *Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health* 51, 380-388.
- Al-Ghamdi M.S., El-Morsy F., Al-Mustafa Z.H., Al-Ramadhan M., Hanif M. (1999). Antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from poultry workers, patients and chicken in the eastern province of Saudi Arabia. *Tropical Medicine and International Health* 4, 278-283.
- Aubry-Damon H., Grenet K., Sall-Ndiaye P., Che D., Cordeiro E., Bougnoux M.E., Rigaud E., Le Strat Y., Lemannissier V., Armand-Lefevre L., Delzescaux D., Desenclos J.C., Lienard M., Andremont A. (2004). Antimicrobial resistance in commensal flora of pig farmers. *Emerging Infectious Diseases* 10, 873-879.
- Bauer A.W., Kirby W.M.M., Sherris J.C., Turck M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by standardised single disk method. *American Journal of Clinical Pathology* 45, 493-496.
- Bruinsma N., Filius P.M.G., De Smet P.A.G.M., Degener J., Endtz P., van den Bogaard A.E., Stobberingh E.E. (2002). Antibiotic usage and resistance in different regions of the Dutch community. *Microbial Drug Resistance* 8, 209-214.
- Bruinsma N., Hutchinson J.M., van den Bogaard A.E., Giamarellou H., Degener J., Stobberingh E.E. (2003a). Influence of population density on antibiotic resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 51, 385-390.
- Bruinsma N., Stobberingh E., de Smet P., van den Bogaard A. (2003b). Antibiotic use and the prevalence of antibiotic resistance in bacteria from healthy volunteers in the Dutch community. *Infection* 31, 9-14.
- Cardonha A.M.S., Vieira R.H.S.F., Rodrigues D.P., Macrae A., Peirano G., Teophilo G.N.D. (2004). Fecal pollution in water from storm sewers and adjacent seashores in Natal, Rio Grande do Norte, Brazil. *International Microbiology* 7, 213-218.
- Catry B., Laevens H., Devriese L., Opsomer G., de Kruif A. (2002). Ontwikkeling en epidemiologie van antibioticumresistentie. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 71, 53-62.
- Catry B., Laevens H., Devriese L., Opsomer G., de Kruif A. (2003). Antimicrobial resistance in livestock. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 26, 81-93.
- Cernat R., Lazar V., Balotescu C., Cotar A., Coipan E., Cocjaru C. (2002). Clonal analysis of some multiple antibiotic resistant *E. coli* strains isolated from river and polluted waters. *Bacteriologia, Virusologia, Parazitologia, Epidemiologia* 47, 179-184.
- European Commission, Health and Consumer Protection Directorate-General (2002). Opinion of the Scientific Committee on animal nutrition on the criteria for assessing the safety of micro-organisms resistant to antibiotics of human clinical and veterinary importance, p. 5.
- Garau J., Xercavins M., Rodriguez-Carballeira M., Gómez-Vera J.R., Coll I., Vidal D., Llovet T., Ruíz-Bremon A. (1999). Emergence and dissemination of quinolone-resistant *Escherichia coli* in the community. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 43, 2736-2741.
- Gilliver M.A., Bennett M., Begon M., Hazel S.M., Hart C.A. (1999). Antibiotic resistance found in wild rodents. *Nature* 401, 233-234.
- Goossens H., Ferech M., Vander Stichele R., Elseviers M., The ESAC Project Group (2005). Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance. *Lancet* 365, 579-587.
- Hart W.S., Heuzenroeder M.W., Barton M.D. (2004). Antimicrobial resistance in *Campylobacter* spp., *Escherichia coli* and enterococci associated with pigs in Australia. *Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health* 51, 216-221.
- Jones J.G. (1986). Antibiotic resistance in aquatic bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 18, Supplement C, 149-154.
- Lester S.C., del Pilar Pla M., Wang F., Perez Schael I., Jiang H., O'Brien T.F. (1990). The carriage of *Escherichia coli* resistant to antimicrobial agents by healthy children in Boston, in Caracas, Venezuela, and in Qin Pu, China. *The New England Journal of Medicine* 323, 285-289.
- Mevius D.J., Veldman K.Y., van der Giessen A., van Leeuwen W.J. (2000). Eerste resultaten van de monitoring van antibioticumresistentie in Nederland. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde* 125, 143-146.
- Niemi M., Sibakov M., Niemela S. (1983). Antibiotic resistance among different species of fecal coliforms isolated from water samples. *Applied and Environmental Microbiology* 45, 79-83.
- Nijsten R., London N., van den Bogaard A., Stobberingh E. (1996). Antibiotic resistance among *Escherichia coli* isolated from faecal samples of pig farmers and pigs. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 37, 1131-1140.
- Österblad M., Hakanen A., Manninen R., Leistevuo T., Peltonen R., Meurman O., Huovinen P., Kotilainen P. (2000). A between comparison of antimicrobial resistance in Enterobacteria in fecal flora. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44, 1479-1484.

- Österblad M., Norrdahl K., Korpimäki E., Huovinen P. (2001). Antibiotic resistance: How wild are wild mammals? *Nature* 409, 37-38.
- Quinn P.J., Carter M.E., Markey B., Carter G.R. (1994). *Clinical Veterinary Microbiology*. Mosby-Year Book Europe Limited, p. 35-36, p. 38-41, p.210, p. 212-213, p.221.
- Sáenz Y., Zarazaga M., Briñas L., Lantero M., Ruiz-Larrea F., Torres C. (2001). Antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolates obtained from animals, foods and humans in Spain. *International Journal of Antimicrobial Agents* 18, 353-358.
- Sannes M.R., Kuskowski M.A., Johnson J.R. (2004). Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* strains isolated from urine of women with cystitis or pyelonephritis and feces of dogs and healthy humans. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 225, 368-373.
- Schroeder C.M., Zhao C., DebRoy C., Torcolini J., Zhao S., White D.G., Wagner D.D., McDermott P.F., Walker R.D., Meng J. (2002). Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* O157 isolated from humans, cattle, swine, and food. *Applied and Environmental Microbiology* 68, 576-581.
- Sherley M., Gordon D.M., Collignon P.J. (2000). Variations in antibiotic resistance profile in *Enterobacteriaceae* isolated from wild Australian mammals. *Environmental Microbiology* 2, 620-631.
- Sørum H., Sunde M. (2001). Resistance to antibiotics in the normal flora of animals. *Veterinary Research* 32, 227-241.
- Trystram D., Sougakoff W. (1998). Résistances aux β-lactamines. Internetreferentie: <http://www.biomath.jussieu.fr/bacterio/betalact/index.html>
- User's Guide, Neosensitabs[®], Susceptibility testing, AS Rosco 15th ed. (2002).
- van den Bogaard A.E., London N., Driessen C., Stobberingh E.E. (2001). Antibiotic resistance of faecal *Escherichia coli* in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 47, 763-771.
- van den Bogaard A.E.J.M., London N., Stobberingh E.E. (2000). Antimicrobial resistance in pig faecal samples from The Netherlands (five abattoirs) and Sweden. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 45, 663-671.
- Walia S.K., Kaiser A., Parkash M., Chaudhry G.R. (2004). Self-transmissible antibiotic resistance to ampicilline, streptomycin, and tetracycline found in *Escherichia coli* isolates from contaminated drinking water. *Journal of Environmental Science and Health. Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering* 39, 651-662.

Uit het verleden

Hommage aan Marten Toonder 1912 – 2005

Geestelijke vader van Tom Poes, Heer Bommel en zegswijzen, zoals *kommer en kwel, als je begrijpt wat ik bedoel, geld speelt geen rol* en nog zoveel meer.

DE DUIF

Een duif ontkomen aan des valken grof geweld,
De wiek besmeurd, het oog gekweld,
Stort op mijn bottines neder.
Haar bloed bevlekt het leder
Maar mijn hart blijft teder
Als ik haar zachtkens, doch met zwier
Terzijde schuif om voort te schrijden.

Mijn hart bloedt voor 't aanvallig dier,
Maar op querelleren ben ik niet gesteld
En vlegelend nadert de valkenier.
Ik wil een indecent dispuut vermijden.

Ach, hoe haat ik plat geweld!

Uit: Toonder's "De verzamelde poëmen van Querulijn Xaverius Markies de Canteclae van Barneveldt", Amsterdam, De Bezige Bij, 1997, p. 35.