

Institut für Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene
der Technischen Universität München
(Direktor: Univ.-Prof. Dr., Dr. h.c. H. Wagner, Ph. D. (Melbourne))
Abteilung für Infektionshygiene
(Leiter: Univ.-Prof. Dr. I. Braveny)

Vorkommen von resistenten Enterokokken und Staphylococcus aureus bei
Dialysepatienten im süddeutschen Raum

Helmut Novotny

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen
Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Medizin

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. D. Neumeier

Prüfer der Dissertation:

1. Univ.-Prof. Dr. I. Braveny
2. apl. Prof. Dr. Th. Chr. Miethke

Die Dissertation wurde am 26.06.2001 bei der Technischen Universität München eingereicht
und durch die Fakultät für Medizin am 14.11.2001 angenommen.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	II
1. Einleitung	1
Enterokokken	2
Staphylococcus aureus	8
2. Zielsetzung	13
3. Material und Methoden	14
Verzeichnis der verwendeten Materialien	14
Patientenkollektiv und Patientenproben	15
Identifizierung der Keime	17
Enterokokken	17
Staphylococcus aureus	20
Antibiotika-Empfindlichkeitstestung	22
Agardiffusionstest	22
Vancomycin-Platte	24
Oxacillin-Platte	25
Nitrocefin-Test	25
E-Test	26
4. Ergebnisse	28
Patientenkollektiv	28
Demographische Daten	29
Grunderkrankungen	29
Infektiöse Komplikationen	30
Enterokokken	31
Hochgradige Aminoglykosidresistenz	34
Ampicillin-Resistenz	35
β -Laktamase-Produktion	36

Vancomycin-Resistenz	36
Staphylococcus aureus	38
Penicillin-Resistenz	39
MRSA	40
5. Diskussion	42
Enterokokken	43
Staphylococcus aureus	49
Schlussfolgerungen	53
6. Zusammenfassung	54
7. Verzeichnisse	56
Literaturverzeichnis	56
Abkürzungsverzeichnis	63
Abbildungsverzeichnis	65
Tabellenverzeichnis	66
Danksagung	67
Lebenslauf	68

1. Einleitung

Gram-positive Kokken, insbesondere Staphylokokken und Enterokokken, haben im letzten Jahrzehnt als Ursache nosokomialer Infektionen zunehmend an Bedeutung gewonnen (87). Ursächlich kommt hier vor allem der weit verbreitete und unkritische Einsatz von Antibiotika mit Gram-negativer Aktivität in Betracht. Gleichzeitig verschlechtert sich die Resistenzsituation gegenüber einer breiten Anzahl von Antibiotika (43, S. 206 f.). Durch den unkritischen Einsatz von Antibiotika werden resistente Keime selektiert. Eine Studie belegt, dass 65% der mit Antibiotika behandelten Patienten eines großen amerikanischen Universitätsklinikums keiner antiinfektiösen Therapie bedurften oder unzureichende Dosierungen erhielten (80, S. 830). Es wurde auch gezeigt, dass der rationelle Einsatz von Antibiotika das Risiko einer Resistenzentwicklung erheblich senkt (85, S. 281).

Eine besonders gefährdete Population stellen Dialysepatienten dar. Chronisch dialysierte Patienten sind häufiger mit *S. aureus* infiziert (16, 73, 88). Insgesamt zählen bakterielle Infektionen bei terminal niereninsuffizienten Patienten, neben den Erkrankungen des kardiovaskulären Systems, zu den häufigsten Morbiditäts- und Mortalitätsursachen (7). Daher werden bei Dialysepatienten sehr häufig Antibiotika zur Prophylaxe und Therapie verordnet. Neben diesem hohen Antibiotika-Selektionsdruck treffen auf Dialysepatienten weitere Risikofaktoren wie längere Klinikaufenthalte, ein geschwächtes Immunsystem etc. zu, die den Weg für eine Kolonisierung mit resistenten Keimen ebnen.

Enterokokken

Enterokokken sind Gram-positive Kokken von runder oder ovaler Gestalt. In der Regel sind sie paarförmig oder in kurzen Ketten angeordnet. Diese Bakterien zeichnen sich durch die Fähigkeit aus, hohe pH-Werte, Kochsalzkonzentrationen von 6,5 Prozent und kurzfristig höhere Temperaturen und Trockenperioden zu tolerieren. Außerdem sind sie unempfindlich gegenüber Gallen Salzen (46, S. 293). Ursprünglich wurden sie den Streptokokken zugeordnet. Seit 1984 stellen sie eine eigene Gattung (*Enterococcus*) dar, die bisher 17 biochemisch unterscheidbare Spezies umfaßt (83, 17, S. 403). Die größte klinische Bedeutung haben hierbei *E. faecalis* und *E. faecium*. Bei Enterokokken-Infektionen werden in 80-90% *E. faecalis* und in 10-20% *E. faecium* isoliert (32).

Enterokokken stellen nur geringe Ansprüche an Umwelt- und Lebensbedingungen, was ihr ubiquitäres Vorkommen erklärt. So werden sie im Erdreich (22), im Wasser (34) und auf Nahrungsmitteln gefunden (32). Enterokokken gehören zur natürlichen Bakterienflora des Magen-Darm-Traktes von Mensch und Tier (69, S. 49). Gelegentlich findet man sie auch im Bereich der Vagina, der Zervix, des Harnröhrenausgangs, der Mundhöhle und aufgrund ihrer Resistenz gegenüber Gallen Salzen auch in den Gallenwegen (46, S. 293, 69, S. 49).

Enterokokken gelten als Erreger mit vergleichsweise geringer Pathogenität. Sie können jedoch zum Teil ernste nosokomiale und nicht-nosokomiale Erkrankungen beim Menschen hervorrufen (42, S. 1084 f.). Enterokokken verursachen vorrangig Harnwegs- und intraabdominelle Infektionen, sowie Wundinfektionen. Sie können aber auch zu lebensbedrohlichen Bakteriämien mit oder ohne Endokarditis führen (33, 57, 69, S. 50). Eine Vielzahl von Enterokokken-Infektionen geht von der Patienten eigenen Flora aus (69, S. 49). Es häufen sich jedoch die Berichte über nosokomiale Enterokokken-Infektionen. So zählten bereits 1989 Enterokokken nach *Escherichia coli* zu den zweit häufigsten Erregern nosokomialer Harnwegsinfektionen in amerikanischen Kliniken (82). In seltenen Fällen wurden Enterokokken als

Erreger von Infektionen des Respirationstraktes, Endometritis, Neugeborenenensepsis und Meningitis gefunden (69, S. 51 f., 63).

Von Seiten des Patienten begünstigen bestimmte Risikofaktoren das Auftreten von Enterokokken-Infektionen. Eine entscheidende Rolle kommt hierbei Patienten mit einer abgeschwächten Immunabwehr zu. Daher sind vor allem Patienten aus der Hämatologie, Onkologie, Transplantationschirurgie sowie Nephrologie und Dialyse betroffen. Weitere Risikofaktoren sind längere Krankenhausaufenthalte, das Alter der Patienten und die Kolonisierung des Darms mit Enterokokken (35). Ebenso fördert die Gabe Enterokokken-selektierender Antibiotika wie Cephalosporine oder Chinolone das Auftreten von Infektionen mit resistenten Enterokokken (1, S. 718). Um eine Verbreitung der Enterokokken zu verhindern werden v.a. in den gefährdeten Abteilungen strikte Hygienemaßnahmen gefordert (39, S. 107).

Antibiotikaresistenz

Charakteristisch für Enterokokken ist ihre intrinsische Resistenz gegenüber zahlreichen Antibiotika, darunter Chinolone, Clindamycin, Aminoglykoside (low-level Resistenz) und Cephalosporine (61, S. 2). Neben dem Besitz intrinsischer Resistenzeigenschaften zeigen Enterokokken die Fähigkeit, Antibiotikaresistenzen per Mutation bzw. Neuerwerb von DNA zu akquirieren. Dies trifft u.a. für die Resistenzen gegenüber Makroliden, Chloramphenicol, Tetrazyklinen, Glykopeptiden, für die hochgradige Resistenz gegenüber Aminoglykosiden, sowie für die Produktion von β -Laktamase zu. Besonders bei *E. faecium*-Stämmen findet man häufig eine Akkumulation mehrerer Resistenzmechanismen und damit die Ausprägung multiresistenter Stämme (69, S. 53 f.). In Tabelle 1 sind die verschiedenen Antibiotikaresistenzen zusammengefaßt.

Intrinsische Resistenz	Erworbene Resistenz
<ul style="list-style-type: none"> • Aminoglykoside (low-level) • β-Laktam-Antibiotika • Vancomycin (<i>E. gallinarum</i>, <i>E. casseliflavus</i>, <i>E. flavescens</i>) • Lincosamide (low-level) • Trimethoprim/Sulfamethoxazol (in vivo) 	<ul style="list-style-type: none"> • Aminoglykoside (high-level) • Penicillin und Ampicillin (β-Laktamase) • Vancomycin • Lincosamide (high-level) • Tetrazykline • Chloramphenicol • Makrolide

Tabelle 1: Intrinsische und erworbene Antibiotikaresistenzen bei Enterokokken

Enterokokken sind in der Regel weniger empfindlich gegenüber β -Laktam-Antibiotika als Streptokokken. Man spricht daher von einer intrinsischen Resistenz der Enterokokken gegenüber β -Laktam-Antibiotika (94, S. 524 f.). Diese wird auf die verminderte Affinität niedrigmolekularer Penicillin-bindender Proteine (PBP) in der Zellwand, vor allem von *E. faecium*, zurückgeführt (28). Eine weitere Ursache für die Penicillin/Ampicillin-Resistenz der Enterokokken kann die Bildung einer Plasmid-vermittelten β -Laktamase sein. Erstmals 1983 in den USA bei einem *E. faecalis*-Stamm nachgewiesen (64), wurde seither wiederholt über das Auftreten β -Laktamase-produzierender Enterokokken berichtet (63, 66, 100). Der Ursprung dieses β -Laktamase-Gens ist laut einer Untersuchung von Murray et al. in *S. aureus* zu suchen (65).

Alle Enterokokken zeigen eine intrinsische niedriggradige (low-level) Resistenz gegenüber Aminoglykosiden, ein Zustand, der durch die verminderte Aufnahme dieser Substanzen in die Bakterienzelle erklärt wird (36, S. 71). Zusätzlich konnte bei *E. faecium* noch eine chromosomal codierte 6'-Aminoglykosid-N-Acetyltransferase (6' AAC) nachgewiesen werden, die verminderte Empfindlichkeit gegenüber Tobramycin, Kanamycin, Netilmicin und Sisomycin vermittelt (60, 104). Neben der intrinsischen low-level Resistenz gegenüber Aminoglykosiden können Enterokokken auch eine hochgradige (high-level) Resistenz erwerben. Hierbei liegen die MHK-Werte

für Streptomycin > 1000 µg/ml und für Gentamicin > 500 µg/ml. Die molekularen Ursachen liegen entweder in chromosomalen Mutationen der ribosomalen Proteine (22) oder aber häufiger im Erwerb zusätzlicher Gene, die für Aminoglykosid-modifizierende Enzyme kodieren. Durch ein einziges Fusionsprotein mit 2"-Aminoglykosid-Phosphatase- und 6´-Aminoglykosid-Acetyltransferase-Aktivität (2"-APH-6´-AAC) wird eine high-level-Resistenz gegenüber fast allen bekannten Aminoglykosid-Antibiotika vermittelt. Ausgeschlossen hiervon ist Streptomycin, eine Resistenz gegenüber dieser Substanz wird durch eine Adenyltransferase vermittelt (36, S. 72, 69, S. 55).

Die Kombination von Ampicillin und Aminoglykosiden wirkt über synergistische Effekte bakterizid. Auch heute noch stellt diese Kombination die Therapie der Wahl bei schweren Enterokokken-Infektionen dar. Bei Vorliegen einer Ampicillin- oder hochgradigen (high-level) Aminoglykosid-Resistenz ist eine Kombination nicht sinnvoll. In diesem Fall sowie bei Patienten mit Penicillinallergie sind Glykopeptide wie Vancomycin oder Teicoplanin Mittel der Wahl und oftmals die einzige therapeutische Möglichkeit. Weist jedoch der betreffende Enterokokken-Stamm eine zusätzliche Resistenz gegenüber Glykopeptiden auf, liegen kaum noch behandelbare Infektionen vor.

Mitte bis Ende der achtziger Jahre wurde zuerst aus England (96) und Frankreich (53), dann auch aus den USA (20) über sporadische Infektionen mit Vancomycin-resistenten Enterokokken (VRE) berichtet. Kurze Zeit später traten bereits erste Ausbrüche durch VRE in den USA, aber auch in europäischen Ländern auf. Erste Todesfälle durch nicht mehr therapierbare VRE-Infektionen unter Intensivpatienten traten auf (56, 5). Seit 1991 ist das sporadische Auftreten von VRE in Deutschland bekannt. Der Anteil von VRE an nosokomialen Enterokokkeninfektionen in Deutschland wird zwischen 0,5% und 3,8% (100, 51) angegeben. In den USA stieg die Häufigkeit der Glykopeptidresistenz bei Enterokokken an nosokomialen Infektionen insgesamt bereits von 0,3% im Jahre 1989 auf 7,9% im Jahre 1993. Betrachtet man getrennt davon die Situation in Intensivstationen US-amerikanischer Krankenhäuser ist sogar ein Anstieg von 0,4% auf 13,6% für den gleichen Zeitraum festzustellen (11).

Es wurden bisher fünf verschiedene Phänotyp-Klassen der Glykopeptidresistenz bei Enterokokken beschrieben:

VanA, VanB, VanC, VanD und kürzlich VanE (2, S. 1564, 46, S. 294 f., 77, 27).

Am häufigsten wird der VanA-Typ, vor allem bei *E. faecium*, gefunden. Er weist eine hochgradige induzierbare Resistenz gegenüber Vancomycin und Teicoplanin mit MHK-Werten 32-1024 µg/ml für Vancomycin und (4-)16-32(-1024) µg/ml für Teicoplanin auf (23).

VanB-Stämme, *E. faecium* und *E. faecalis*, besitzen ebenfalls eine induzierbare, aber variable Resistenz gegenüber Vancomycin, mit MHK-Werten von 16-32 µg/ml, bleiben aber empfindlich gegenüber Teicoplanin (19). Auf molekularer Ebene ist die VanB-Klasse heterogen und kann in VanB1, VanB2 und VanB3 unterteilt werden (15).

Gleichbleibend niedrige Vancomycin-Resistenz (MHK 2-32µg/ml) ohne Teicoplanin-Resistenz scheint eine intrinsische Eigenschaft von motilen Enterokokken zu sein und konnte bisher bei *E. gallinarum* (VanC-1), *E. casseliflavus* (VanC-2) und *E. flavescens* (VanC-3) nachgewiesen werden (14, S. 2311, 54).

Bei *E. faecium* wurde der VanD-Typ entdeckt, der sich durch eine moderate Vancomycin-Resistenz (MHK 64) und Teicoplanin-Empfindlichkeit auszeichnet (77).

Erst vor kurzem wurde der VanE-Typ bei *E. faecalis* beschrieben. Ihn charakterisiert eine low-level Vancomycin-Resistenz (MHK 16 µg/ml) und Teicoplanin-Empfindlichkeit (27).

Das Grundprinzip der Glykopeptidresistenz geht mit einer molekularen Veränderung der Zielstruktur einher, an die Glykopeptide binden.

Resistente Stämme haben in Peptidseitenketten des N-Acetyl-Glucosamin/N-Acetyl-Muraminsäure-Zellwandbausteins anstelle eines D-Alanyl-D-Alanin-Restes einen D-Alanyl-D-Laktat-Rest (bei VanA, VanB und VanD) bzw. einen D-Alanyl-D-Serin-Rest (bei den drei VanC-Typen)(2, S. 1565, 9, 20, 21, S. 468).

Durch die derart veränderte chemische Struktur der Zellwandbausteine wird deren räumliche Struktur verändert und Glykopeptide können nicht mehr binden. Die Zellwandsynthese kann nun auch in ihrer Gegenwart stattfinden.

Um die Ausbreitung der Vancomycinresistenz zu verhindern wurden vom amerikanischen Hospital Infection Control Practises Advisory Comitee (HICPAC) entsprechende Empfehlungen und ein Maßnahmenkatalog erarbeitet (39). Im Vordergrund stehen hierbei ähnlich wie bei MRSA die Isolation von Patienten, die mit VRE infiziert bzw. kolonisiert sind, sowie der kontrollierte therapeutische Einsatz von Glykopeptidantibiotika. Eine vorherige Therapie mit Vancomycin gilt als Risikofaktor für die Kolonisierung mit VRE. Auch die jahrelange Verfütterung des Glykopeptids Avoparcin als Leistungsförderer in der Masttierhaltung, die mittlerweile von der EU verboten wurde, führte über Kreuzresistenzen zur Vermehrung von VRE.

Zur Behandlung von Infektionen mit multi- und Vancomycin-resistenten Enterokokken werden verschiedene Antibiotika-Kombinationen empfohlen (52, S. 326 f., 103, S. 600 f.). Die antibakterielle Therapie soll dabei entsprechend dem Antibiogramms des VRE-Isolates gewählt werden. Daneben kommen neue Präparate, wie z.B. das Pristinamycinpräparat Dalfopristin/Quinupristin, Linezolid aus der neuen Antibiotikagruppe der Oxazolidine und das Glykopeptidderivat LY333328, die sich z.T. aber noch in klinischer Erprobung befinden, für die Therapie schwerer Infektionen mit VRE in Frage (67).

Eine weitere große Gefahr die von VRE ausgeht ist die mögliche Übertragung von Resistenzgenen auf wesentlich pathogenere Keime wie z. B. *Staphylococcus aureus*. In vitro gelang es bereits die VanA-Resistenz auf *Staphylococcus aureus* (72) zu übertragen. Die bisher gefundenen klinischen Isolate von *S. aureus* mit verminderter Vancomycin-Resistenz (VISA, VRSA) zeigen jedoch einen anderen Resistenzmechanismus. Hochgradige Vancomycin-Resistenzen traten bei *S. aureus* noch nicht auf.

Staphylococcus aureus

Staphylokokken gehören zur Familie der Micrococcoaceae. Es handelt sich hierbei um unbewegliche, nicht sporenbildende Bakterien, die charakteristischerweise in Traubenform beziehungsweise in kurzen Ketten zu drei oder vier Zellen angeordnet sind. *Staphylococcus aureus* zählt zu den Koagulase-positiven Staphylokokken, die in der Lage sind, heparinisiertes Blutplasma zum Gerinnen zu bringen (99, S. 4).

Staphylokokken sind ubiquitär in der Natur verbreitet. Ca. 10-40% der Erwachsenen sind über längere Zeit Träger von *S. aureus* ohne an einer Infektion zu leiden (71, 101). Bei Neugeborenen beträgt die Besiedelungsrate sogar 40-90% (75). Auch für Dialysepatienten werden höhere Kolonisierungsraten von z.T. über 60% angegeben (45). Im Neugeborenenalter beginnt die Besiedelung auf weiten Teilen der Körperoberfläche und zieht sich später auf bestimmte Prädilektionsstellen zurück (Nasenschleimhaut, Achselhöhlen, Haaransatz, Perineum).

S. aureus ist relativ lange in der unbelebten Umgebung lebensfähig (Luft, Haut, Schuppen, Kittel). Gegen Trockenheit und Wärme ist er sehr widerstandsfähig (bis 15 min bei 80 °C) und überlebt eingetrocknet in Blut und Eiter bis zu 15 min bei 100 °C (79, S. 219). Neben dieser ausgeprägten Umweltresistenz vermögen sie sich, durch besondere Fähigkeit zur Adhäsion, an belebte und unbelebte Oberflächen - auch Kunststoffmaterialien - anzulagern.

Besonders gefährdet an *S. aureus*-Infektionen zu erkranken sind Patienten mit einem geschwächten zellulären Immunsystem, wie z.B. Dialysepatienten oder HIV-Patienten (78). Chronisch dialysierte Patienten sind häufig von *S. aureus*-Infektionen betroffen (16, 73, 88). Bakterielle Infektionen, insbesondere mit *S. aureus*, zählen bei terminal niereninsuffizienten Patienten neben den Erkrankungen des kardiovaskulären Systems zu den häufigsten Morbiditäts- und Mortalitätsursachen (7). Staphylokokkeninfektionen führen bei Patienten unter chronischer Hämodialyse häufig über Fistelinfektionen zu Abszessen und Septikämien (3, 73).

Untersuchungen zeigten, dass die bereits erwähnte höhere Besiedelungsrate der Haut bzw. Schleimhäute mit *S. aureus* bei Dialysepatienten das Auftreten von *S. aureus*-Infektionen fördern kann (105, 118). Die chronische Besiedelung mit *S. aureus*, sowie *S. aureus*-Infektionen in der Anamnese wurden als Risikofaktoren für das Auftreten von *S. aureus* Infektionen betrachtet (105).

Staphylokokken werden als häufigste und wichtigste Erreger nosokomialer Infektionen angesehen (97). Beispiele sind Wundinfektionen nach Operationen oder Implantationen sowie Aspirationspneumonien bei künstlicher Beatmung. Eine wichtige Infektionsquelle sind auch die transient besiedelten Hände des Personals (99, S. 6). Der hygienischen Hände- und Hautdesinfektion muss bei der Prophylaxe von Staphylokokkeninfektionen große Aufmerksamkeit geschenkt werden. Die transiente nasale Besiedelung des Personals spielt hingegen keine große Rolle (91).

Neben eitrigen Erkrankungen ruft *S. aureus* auch Erkrankungen durch die Wirkung von Toxinen hervor. Eine Übersicht zeigt Tabelle 2.

Eitrige Erkrankungen	Toxinbedingte Erkrankungen
<ul style="list-style-type: none"> • Furunkel, Karbunkel, Abszeß • Wundinfektion • Otitis media • Siusitis • Mastitis puerperalis • Von herdförmigen Eiterungen aus kann es über Lymphwege (lymphogen) oder die Blutbahn (hämatogen) zur Ausbreitung der Keime in andere Körperregionen Kommen. <i>S. aureus</i> verursacht fast 25% aller Septikämien bei hospitalisierten Patienten. Besonders gefürchtet sind Hirnabszesse und die ulzeröse akute Endokarditis. 	<ul style="list-style-type: none"> • Dermatitis exfoliativa (M. Ritter) • Toxic-Shock Syndrome • Pemphigus neonatorum • Impetigo bullosa (generative Form: Staphylococcal Scaled Skin Syndrome) • Staphylokokken-Enterotoxine: Nahrungsmittelvergiftungen

Tabelle 2: Durch *S. aureus* hervorgerufene Erkrankungen.

Antibiotikaresistenz

Als Anfang der 40er Jahre das Antibiotikum Penicillin eingeführt wurde bestand große Hoffnung bezüglich der Therapie von *S. aureus*-Infektionen. *S. aureus* war ursprünglich vollständig Penicillin-empfindlich und seine Infektionen konnten mit dem neuen Antibiotikum gut behandelt werden.

Doch bereits 1948 hatte Demerek vor der Entstehung von Penicillin-Resistenz bei *S. aureus* gewarnt (49, S. 266). Die Penicillin-Resistenz verbreitete sich unter den *S. aureus*-Isolaten in der Tat schnell und hatte bereits 1963 einen Anteil von 78% erreicht (55), so dass Penicillin seine therapeutische Funktion verlor und weitgehend unwirksam blieb. Heute geben verschiedene Studien einen Resistenzanteil zwischen 70% und 90% an (89, S. 2421, 97).

Penicillin-Resistenz wird durch die Produktion sogenannter Betalaktamasen hervorgerufen. Betalaktamasen sind extrazelluläre Enzyme, die in der Lage sind, den wirksamen Molekülteil vieler Penicilline und etlicher Cephalosporine, den sogenannten Betalaktamring, hydrolytisch zu spalten und damit das Antibiotikum zu inaktivieren (99, S. 9 f.). Empfindlich für diese Art der Inaktivierung sind alle Penicilline, mit Ausnahme der Penicillinase-stabilen Substanzen wie Methicillin, Oxacillin, Flucloxacillin und Dicloxacillin. Die Enzymproduktion ist zumeist plasmidisch kodiert. Seltener ist die Betalaktamaseproduktion bei Staphylokokken chromosomal determiniert .

Als 1960 Methicillin als das erste β -Laktamase-feste Penicillin eingeführt wurde bestand wieder Hoffnung für die Therapie von *S. aureus*-Infektionen. Doch bereits ein Jahr später traten erste Methicillin-resistente *S. aureus* (MRSA) Stämme auf (41).

Ihr sporadisches Auftreten bereitete zunächst keine großen therapeutischen Probleme. Erst ab den 70er Jahren traten Ausbrüche mit MRSA auf, die zudem noch gegen eine große Anzahl weiterer Antibiotika resistent waren, so dass therapeutische Alternativen fehlten (10, S. 1). Die Bezeichnung Methicillin-resistenter *S. aureus* hat heute nur noch historischen Wert. Methicillin war das erste β -Laktamase-feste Penicillin. Heute wird der Begriff MRSA wegen der vielfachen Antibiotikaresistenzen im Sinn von „multiresistenter *S. aureus*“ gebraucht.

Methicillinresistenz beruht bei *S. aureus* hauptsächlich auf dem Vorhandensein eines zusätzlichen Penicillinbindungsproteins 2a, das durch das *mecA*-Gen kodiert wird (19) und eine verminderte Affinität für alle β -Laktam-Antibiotika aufweist (71). Es wird davon ausgegangen, dass sich MRSA von einem definierten Ausgangsstamm her entwickelt haben (50).

Eine Besonderheit stellen in diesem Zusammenhang *S. aureus*-Stämme dar, die in exzessiven Mengen Betalaktamasen bilden. Die Betalaktamasen dieser Stämme, deren MHK für Oxacillin bei 2-4 mg/l liegt und die deshalb auch als *borderline oxacillin resistant S. aureus* (BORSA) bezeichnet werden, sind im Gegensatz zu den klassischen MRSA-Stämmen durch Betalaktamaseinhibitoren hemmbar (99, S. 10).

Aus klinischer Erfahrung weiß man, dass Methicillin-resistente Stämme gegenüber allen β -Laktam-Antibiotika resistent sind. Obwohl bei der *in vitro* Testung β -Laktam-Antibiotika, wie z.B. Cephalosporine oder Clindamycin, wirksam zu sein scheinen, gilt dies nicht für deren klinischen Einsatz am Patienten.

Hohe Anteile von MRSA-Stämmen (30-80%) werden v.a. in den USA, Japan und in südeuropäischen Ländern gefunden (98, 93, 47, S. 32, 40). In den skandinavischen Ländern und in den Niederlanden wird dagegen ein sehr niedriger Resistenzanteil von <1% berichtet (98). Verschiedene Studien fanden in Europa einen MRSA-Anteil von 8,7-12,8% an. Für Deutschland wird in diesen Untersuchungen ein MRSA Anteil von 5,5-8,0% angegeben (98, 102, S. 415).

Um die Ausbreitung multiresistenter *S. aureus* zu verhindern, müssen verschiedene mikrobiologische Aspekte beachtet und Hygienemaßnahmen eingeleitet werden (75). Im Vordergrund stehen hierbei die Erkennung und Isolierung kolonisierter und infizierter Patienten, sowie die frühzeitige MRSA-Eradikation. Bei Nachweis einer Besiedelung des Nasenvorhofes mit MRSA sollten sowohl infizierte als auch kolonisierte Patienten einer Therapie mit dem topischen Antibiotikum Mupirocin unterzogen werden. Inzwischen sind allerdings auch gegenüber diesem Antibiotikum Resistenzen (4-20%) aufgetreten (111, 95). Bei einem Nachweis von Mupirocinresistenzen sind

Sanierungsversuche mit lokalen Antiseptika (z.B. Chlorhexidin) oder mit topischer Applikation von Bacitracin angezeigt.

Für die systemische Therapie einer MRSA-Infektion gelten derzeit Glykopeptide, insbesondere das Vancomycin als Mittel der Wahl. Doch die ersten Berichte aus Japan, den USA sowie aktuell auch aus Europa über *S. aureus*-Stämme mit verminderter Glykopeptidempfindlichkeit lassen befürchten, dass auch Vancomycin in Zukunft nur noch eingeschränkt zur Therapie zur Verfügung stehen wird (12, 38, 81).

2. Zielsetzung

Berichte über die Zunahme von Gram-positiven Bakterien an nosokomialen Infektionen, sowie deren zunehmende Antibiotika-Resistenz sind Grund zur Besorgnis. Multiresistente Erreger, gegen die kaum noch ein Antibiotikum wirksam ist, scheinen auf dem Vormarsch zu sein.

Von besonderem klinischen und therapeutischen Interesse ist dabei vor allem die Vancomycinresistenz bei Enterokokken und die Methicillin- bzw. Mehrfachresistenz bei *Staphylococcus aureus*.

Vor allem die Population der Dialysepatienten vereint eine Vielzahl von Risikofaktoren, so dass hier ein besonders hohes Vorkommen von resistenten Keimen zu erwarten ist.

In der vorliegenden Arbeit soll deshalb im Rahmen einer multizentrischen Studie die Prävalenz resistenter Enterokokken und *Staphylococcus aureus* bei Dialysepatienten im süddeutschen Raum untersucht werden.

3. Material und Methoden

Verzeichnis der verwendeten Materialien

Geräte:

Analysenwaage	Mettler, H-20 T
Autoklav	Fedegari
Brutschrank	Memmert
Dispenser	Oxoid
Pipettierhilfen	Eppendorf
Schüttler	IKA-Schüttler, MTS 4
Spektralphotometer	Biochrom, Ultraspect II
Stereomikroskop	Olympus, BH-2
Glaspipetten	Pasteur
pH-Meter	WTW, pH-Digi 510
Bunsenbrenner	Tecnomara, Fireboy eco

Verbrauchsmaterial

API 20 STREP-Test Kit	bio Mérieux
Glaswaren	Schott
Latex-Einmalhandschuhe	SafeSkin
Objektträger	Menzel
Petrischalen	Greiner
Pipettenspitzen	Eppendorf
Plastikösen	Greiner
Schraubgefäße	Sarstedt
Transtube Abstrichsystem	Medical Wire & Equipment

Chemikalien

Ethanol	Merck
Gentianaviolett	Difco
Karbofuchsin	Difco
Lugolsche Lösung	Difco
NaCl 0,9%	Delta Pharma
Aqua ad inj.	Delta Pharma
Aqua dest.	Delta Pharma
Paraffin-Öl	bio Mérieux
Wasserstoffperoxid	Merck
HCl	Merck
NaCl	Sigma

Antibiotika

Ampicillin-Blättchen	Oxoid
Gentamicin	Ratiopharm
Nitrocefin	Oxoid
Streptomycin	Grünethal
Teicoplanin-Blättchen	Merell Dow
Vancomycin	Lilly
Vancomycin-Blättchen	Oxoid
Penicillin-Blättchen	Oxoid
Oxacillin-Blättchen	Oxoid

Ofloxacin-Blättchen	Oxoid
Cotrimoxazol-Blättchen	Oxoid
Novobiocin-Blättchen	Oxoid
Mupirocin-Blättchen	Oxoid

Biomaterialien

Agar	Difco
Brain-Heart Infusion	Difco
Kanamycin-Äsculin-Agar	Oxoid
Hochschichtagar	Pasteur
Müller-Hinton-Agar	Becton Dickinson
Müller-Hinton-Bouillon	Difco
Schafblut-Agar (5%)	Becton Dickinson
CNA-Agar	Oxoid
Mannit-Agar	Becton Dickinson
Motilitätsmedium	Difco
Trypticase-Soja-Agar	Becton Dickinson
Thioglykolat Röhrrchen	Becton Dickinson
Staphaurex Plus	Murex

Kontroll-Bakterienstämme

Enterococcus casseliflavus	ATCC 25788
Enterococcus faecalis	ATCC 49757
Enterococcus faecalis	ATCC 51299
Enterococcus faecalis	ATCC 29212
Escherichia coli	ATCC 35218
Staphylococcus aureus	ATCC 29213
Staphylococcus aureus	ATCC 25923
Staphylococcus epidermidis	ATCC 12228

Patientenkollektiv und Patientenproben

In dieser Untersuchung entnahmen insgesamt 12 Dialysezentren aus dem süddeutschen Raum von Oktober 1997 bis April 1998 je einen Nasen- und einen Rektalabstrich von ihren Dialysepatienten. Zusätzlich wurde ein Protokollblatt mit dem Alter des Patienten, der Grunderkrankung, bisheriger Dauer der Dialyse, aktuellem Dialysemodus, sowie infektiösen Komplikationen, Vancomycin- und Mupirocin-Behandlungen der vergangenen drei Monate ausgefüllt. Für die Entnahme der Abstriche wurde das kommerziell erhältliche Transtube Abstrichsystem verwendet. Neben einem sterilen Wattetupfer enthält es ein Transportröhrchen mit modifiziertem Stuart-Medium. Die Tupfer wurden zunächst mit sterilem Wasser angefeuchtet. Anschließend erfolgte die Entnahme der Abstriche in typischer Weise. Die Wattetupfer wurden in das Transportmedium gesteckt und zusammen mit dem

Protokollblatt an das Institut für Klinikhygiene am Klinikum Rechts der Isar in München gesandt.

Folgende Dialysezentren nahmen an der Studie teil:

- Krankenhaus Hohe Warte,
Hohe Warte 8, 95445 Bayreuth **(Bay)**
- Caritas Krankenhaus Bad Mergentheim,
Uhlandstr. 7, 97980 Bad Mergentheim **(Mer)**
- Dialysezentrum Ingolstadt,
Vorwaltnerstraße 1, 85049 Ingolstadt **(Ing)**
- KfH Kuratorium für Dialyse und Nierentransplantation e.V.,
Burggrafenstraße 5, 81671 München **(Mü1)**
- KfH Kuratorium für Dialyse und Nierentransplantation e.V.,
Isenschmidstraße 19, 81545 München **(Mü2)**
- Städtisches Krankenhaus München-Harlaching,
Sanatoriumsplatz 2, 81545 München **(Har)**
- KfH Kuratorium für Dialyse und Nierentransplantation e.V.,
Gautinger Straße 51, 82061 Neuried **(Neu)**
- Klinikum Passau,
Bischof-Pilgrim-Straße 1, 94032 Passau **(Pas)**
- Gemeinschaftspraxis Dr. med. Rainer Müller, Holger Leinisch,
Günzstraße 4, 93059 Regensburg **(Re1)**
- KfH Kuratorium für Dialyse und Nierentransplantation e.V.,
Plato-Wild-Str. 12, 93053 Regensburg **(Re2)**
- KfH Kuratorium für Dialyse und Nierentransplantation e.V.,
Pettenkoferstr. 10, 83022 Rosenheim **(Ros)**
- KfH Kuratorium für Dialyse und Nierentransplantation e.V.,
Krankenhausstraße 2, 91781 Weißenburg i. Bay. **(Wei)**

Die Abstriche wurden in München mikrobiologisch untersucht. Um eine bessere Isolierungsrate für die Bakterien zu erreichen wurden beide Abstriche zunächst in Thioglykolatbouillon getaucht und 24 h inkubiert. Mit Hilfe der in diesem Kapitel beschriebenen Methoden wurde aus den Nasenabstrichen *S. aureus* und aus den Rektalabstrichen Enterokokken isoliert, identifiziert und

auf Antibiotika-Empfindlichkeit getestet. Die Prüfung der Empfindlichkeit gegenüber Antibiotika erfolgte gemäß den Richtlinien des NCCLS (70). Traten zwischen den einzelnen Untersuchungen größere zeitliche Abstände auf, so wurden die Keime vorübergehend in Einstichmedien nach Pasteur konserviert.

Identifizierung der Keime

Enterokokken

Zur Identifizierung von Enterokokken wurden je 50µl der Thioglykolatbouillon des Rektalabstrichs auf Columbia-Blut-Agar (Blutplatte) und Kanamycin-Äsculin-Agar ausgeimpft. Bei Überwachung der Blutplatte mit Gram-negativen Keimen wurde statt der Blutplatte eine Columbia-CNA-Platte verwendet.

Die Columbia-CNA-Platte enthält Colistin und Nalidixinsäure, zwei Antibiotika die selektiv das Wachstum einer Gram-negativen Begleitflora unterdrücken.

Nach 24 h Inkubation bei 37 ° C erfolgte die Differenzierung der Keime anhand der Koloniemorphologie und der Fähigkeit auf der Kanamycin-Äsculin-Platte zu wachsen und Äsculin zu spalten.

Enterokokken bilden auf der Blutplatte grauweiße Kolonien, die je nach Spezies eine α - oder β -Hämolyse oder keine Hämolyse zeigen.

Der Kanamycin-Äsculin-Agar enthält die wachstumshemmenden Substanzen Kanamycin und Natriumazid, die das Wachstum Gram-positiver Bakterien, nicht aber von Enterokokken hemmen. Zusätzlich hydrolysieren Enterokokken mit dem Enzym β -Glukosidase Äsculin (0,1%) zu Äsculetin und Glucose. Äsculetin bildet mit den im Nährboden enthaltenen Eisen(III)-Ionen dunkelbraune oder schwarze Komplexe, die ein positives Ergebnis anzeigen.

Die auf den Agar-Platten verdächtigen Kolonien wurden nach Gram gefärbt. Hierzu wurden 1-2 Bakterien-Kolonien einer frischen Übernacht-Kultur mit einer sterilen Öse auf einem Objektträger aufgebracht. Nach Lufttrocknung und Hitze-fixierung wurde die Färbung nach folgendem Procedere durchgeführt:

Der Objektträger wurde zunächst in Karbolgentianaviolett-Lösung für 2 min eingetaucht, danach wurde der überschüssige Farbstoff abgegossen und derselbe Vorgang mit Lugolscher-Lösung wiederholt. Anschließend wurde das Präparat mit 96%igem Alkohol solange gewaschen, bis keine Farbe mehr sichtbar ausgewaschen werden konnte. Nachdem das Präparat mit Aqua dest. abgespült worden war, erfolgte die Gegenfärbung mit verdünnter Karbolfuchsin-Lösung für ca. 60 Sekunden, die ebenfalls mit Aqua dest. abgespült wurde. Nach Lufttrocknung konnte dann das Präparat unter dem Mikroskop beurteilt werden.

Enterokokken (und auch Staphylokokken) sind Gram-positiv, d.h. sie färben sich im Gram-Präparat dunkelviolett an. Der entstehende Farbstoffkomplex (Gentianaviolett und Jod) ist an der Zytoplasmamembran lokalisiert und kann bei Gram-positiven Bakterien im Gegensatz zu Gram-negativen Bakterien nicht mit Hilfe von Alkohol extrahiert werden.

Zeigten sich unter dem Mikroskop Gram-positive Kokken, wurde der Katalase-Test durchgeführt.

Dazu wurden von einer frischen Übernachtskultur einige Kolonien auf einen Objektträger aufgebracht und ein Tropfen 3%ige H₂O₂-Lösung aufgetropft. Produziert der jeweilige Keim das Enzym Katalase, wird das Wasserstoffperoxid in Wasser und gasförmigen Sauerstoff gespalten. Der freiwerdende Sauerstoff zeigt sich anhand aufsteigender Gasbläschen. Im Gegensatz zu Staphylokokken produzieren Enterokokken keine Katalase.

Zur weiteren Unterscheidung der Enterokokken von Laktokokken, Vagokokken und Aerokokken eignet sich der Wachstumsnachweis von Enterokokken auf einer Agarplatte mit 6,5%igem NaCl-Gehalt bei 45 ° C.

Hierzu wird eine NaCl-Agar-Platte mit den zu untersuchenden Kolonien beimpft und für 24 h bei 45 ° C bebrütet. Wachstum auf dem Nährboden zeigte NaCl-Toleranz an. Als Qualitätskontrolle dienten *E. faecalis* ATCC 29212 sowie *E. faecium*-Stämme aus unserem Institut.

Die so identifizierten Enterokokken wurden mit den weiter unten beschriebenen Methoden auf Antibiotika-Empfindlichkeit getestet. Alle Enterokokken, die Resistenz gegenüber Ampicillin, Vancomycin, Gentamicin

(high-level), Streptomycin (high-level) oder Wachstum auf der Vancomycin-Platte zeigten, wurden mit dem API-20-Strep-Testkit näher identifiziert.

Der API 20 Strep-Test ist ein standardisiertes Testsystem bestehend aus 20 biochemischen Tests zur Identifizierung der meisten klinisch relevanten Streptokokken und Enterokokken. Auf einem Teststreifen befinden sich 20 Mikroröhrchen mit Substraten in dehydratisierter Form. Mit Hilfe dieser Substrate lässt sich die Enzymaktivität und die Fermentation von Kohlenhydraten nachweisen.

Hierzu wird eine Reinkultur des zu untersuchenden Keimes in 2 ml Aqua dest. suspendiert (Dichte von mindestens McFarland 4). Mit dieser wässrigen Bakteriensuspension werden die enzymatischen Tests zugleich rehydriert und inokuliert. Die biochemischen Reaktionen können anhand von Farbumschlägen abgelesen werden, die entweder spontan, während der Inkubation oder nach Zugabe vorgeschriebener Reagentien zustande kommen.

Für die Kohlenhydrat-Fermentationstests wird die restliche Suspension mit einem angereicherten, indikatorhaltigen Medium vermischt und die entsprechenden Teströhrchen gefüllt. Die Kohlenhydratfermentation bewirkt eine Ansäuerung, die durch einen Farbumschlag des Indikators abgelesen werden kann.

Nach vierstündiger Inkubation wurden den enzymatischen Tests vorgeschriebene Reagentien zugegeben und nach weiteren zehn Minuten die Reaktionsmuster abgelesen und nach einem vorgegebenen Verschlüsselungssystem codiert. Anhand dieses Codeschlüssels konnte mit einem Analytischen-Profil-Index oder mit einer Identifizierungssoftware der Keimname bestimmt werden.

War das ermittelte Profil nicht im Index enthalten oder enthielt der Index einen entsprechenden Hinweis, wurden bestimmte Reaktionen nach 24 h Inkubation erneut abgelesen.

In wenigen Fällen sind zur genauen Identifizierung der Enterokokken zusätzlich die Tests auf Motilität bzw. Pigmentbildung zusätzlich zum API 20 Strep-Test erforderlich.

Die Untersuchung auf Motilität nutzt das Schwärmphänomen beweglicher Bakterien im halbfesten Agar. Die zu prüfenden Bakterienstämme wurden mit einer sterilen Öse mit einem ca. 2,5 cm tiefen, senkrechten Stich in halbfesten Agar in Reagenzgläsern verimpft. Es erfolgte eine Bebrütung bei 30 ° C für 24 Tage. Bei beweglichen (motilen) Enterokokken (*E. casseliflavus*, *E. gallinarum*, *E. flavescens*) ist die gesamte Agarsäule im Röhrchen diffus getrübt. Bei unbeweglichen Enterokokken hingegen trübt sich nur der Impf-Stich durch Bakterienwachstum, die übrige Agarsäule bleibt klar. Als Kontrollstämme dienten *E. casseliflavus* ATCC 25788 und *E. faecalis* ATCC 29212.

Neben dem Test auf Motilität dient als weiteres Differenzierungskriterium der Nachweis auf Pigmentbildung bei Wachstum auf Trypticase-Soja-Agar (TSA).

TSA-Agar wurde mit 3-4 frischen Übernachtskolonien beimpft und für 48 h bei 35 ° C bebrütet. Wachstum mit gelbfarbener Pigmentierung konnte als positives Ergebnis gewertet werden, wohingegen cremefarbenes oder gräulich-weißes Wachstum keine Pigmentbildung anzeigt. Als Kontrollstämme dienten bei allen Tests *E. faecalis* ATCC 29212 und *E. casseliflavus* ATCC 25788.

Staphylococcus aureus

Zur Identifizierung von *S. aureus* wurden je 50µl der Thioglykolatbouillon des Nasenabstrichs auf Columbia-Blut-Agar (Blutplatte) und Mannit-Kochsalz-Agar ausgeimpft. Bei Überwachung der Blutplatte mit Gram-negativen Keimen wurde statt der Blutplatte wieder die bei den Enterokokken beschriebene Columbia-CNA-Platte verwendet.

Nach 24 h Inkubation bei 37 ° C erfolgte die Differenzierung der Keime anhand der Koloniemorphologie und der Fähigkeit auf der Mannit-Salz-Platte Mannit zu spalten.

S. aureus bildet auf der Blutplatte cremig-gelbe bis orange Kolonien, die meist eine deutliche β -Hämolyse zeigen.

Der Mannit-Salz-Agar enthält eine hohe Kochsalzkonzentration (7,5%). Staphylokokken können bei einer solch hohen Salzkonzentration wachsen, während die meisten anderen Gram-positiven und Gram-negativen Keime dies

nicht können. Zusätzlich kann *S. aureus* Mannit spalten. Während andere Keime kleine Kolonien mit roter Zone bilden, führt die Fermentation von Mannit durch *S. aureus* zu einer Senkung des pH-Wertes. Dadurch verfärbt sich der in der Platte enthaltene Indikator Phenolrot und es bilden sich gelbe Kolonien mit gelben Höfen.

Die auf den Agarplatten verdächtigen Kolonien wurden wie bei den Enterokokken beschrieben nach Gram gefärbt. Staphylokokken färben sich wie Enterokokken Gram-positiv.

Zeigten sich nun unter dem Mikroskop Gram-positive Kokken erfolgte die endgültige Identifizierung als *S. aureus* mit dem Staphaurex Plus Schnelltest der Firma Murex.

S. aureus besitzt einige Eigenschaften, die zum Identifizieren verwendet werden können. Dazu gehören u.a. die freie Koagulase, der Clumpingfactor (gebundene Koagulase), Thermonuklease, Protein A und weitere spezifische Antigene.

Der Staphaurex Plus Schnelltest verwendet gelbe Latexpartikel, die mit Fibrinogen und für *S. aureus* spezifischem Kaninchen-Immunglobulin G beschichtet wurden. Einige der verdächtigen Kolonien werden mit einer sterilen Öse von einer frischen Übernacht-Kultur abgenommen und auf einer mitgelieferten Testkarte mit einem Tropfen Staphaurex Plus vermischt. Handelt es sich um *S. aureus* reagiert das Fibrinogen mit Clumpingfaktor, der Fc-Teil des IgG mit Protein A oder das spezifische IgG mit Zelloberflächenantigenen und es zeigt sich nach ca. 30 Sekunden eine deutliche Agglutination. Um eine mögliche Eigenklumpung der Stämme zu erkennen wurde eine Negativkontrolle mit Kontroll-Latex, das nicht mit *S. aureus* reagiert, mitgeführt. Zur Qualitätskontrolle dienten *S. aureus* ATCC 25923 und *S. epidermidis* ATCC 12228.

Ergaben sich beim Staphaurex Plus Schnelltest noch Unklarheiten, wurde ein Röhrenkoagulase-Test durchgeführt. Damit wird die freie Koagulase des *S. aureus* nachgewiesen. In ein Reagenzglas mit 0,5 ml Kaninchen-Zitratplasma werden einige Kolonien der verdächtigen Keime eingerieben. Anschließend wird bei 37° C inkubiert. Nach 4 h, bei negativem Ergebnis nochmals nach

insgesamt 24 h, wird abgelesen. Eine Koagulation des Plasmas im Röhrchen zeigt ein positives Ergebnis und identifiziert *S. aureus*. Als Positiv- bzw. Negativkontrolle wurde, *S. aureus* ATCC 25923 und *S. epidermidis* ATCC 12228 mitgeführt.

Antibiotika-Empfindlichkeitstestungen

Agardiffusionstest

Sowohl Enterokokken, als auch Staphylokokken wurden mit dem Agardiffusionstest auf Antibiotika-Empfindlichkeit getestet.

Dazu wurden von einer frischen Übernachtskultur einige Kolonien abgenommen und eine Keimsuspension mit einer optischen Dichte von 0,5 nach McFarland entsprechend einer Keimzahl von 1×10^8 / ml hergestellt. Die optische Dichte wurde über ein Spektralphotometer bestimmt. Von dieser Stammlösung wurden mit einer sterilen Pipette 100µl auf eine Müller- Hinton-Platte aufgetragen und mit einem sterilen Glasspatel gleichmäßig verteilt. Nach erfolgter Lufttrocknung wurden, je nachdem, ob Enterokokken oder Staphylokokken getestet wurden, die in Tabelle 3 und Tabelle 4 aufgeführten Testblättchen mit der dort angegebenen Antibiotikakonzentration aufgelegt.

Antibiotika	Konzentration	Empfindlich	Intermediär	Resistent
Penicillin	10µg	≥ 29 mm	14-21 mm	≤ 28 mm
Oxacillin	1µg	≥ 13 mm	11-12 mm	≤ 10mm
Vancomycin	30µg	> 12 mm	10-11 mm-	≤ 9 mm
Ofloxazin	5µg	≥ 16 mm	13-15 mm	≤ 12 mm
Cotrimoxazol	5µg	≥ 16 mm	11-15 mm	≤ 10 mm
Novobiocin	5µg	> 22 mm	16-21 mm	≤ 5 mm
Mupirocin	5µg			

Tabelle 3: Verwendete Antibiotika-Testblättchen für *S. aureus* und deren Hemmzonendurchmesser nach den Richtlinien des NCCLS (70)

Antibiotika	Konzentration	Empfindlich	Intermediär	Resistent
Ampicillin	10µg	≥ 19 mm	14-18 mm	≤ 13 mm
Vancomycin	30µg	≥ 17 mm	15-16 mm	≤14 mm
Teicoplanin	30µg	≥ 14 mm	11-13 mm	≤ 10 mm
Aminoglykoside		≤ 6 mm: Hochgradige Aminoglykosid-Resistenz		
Gentamicin	120µg	≥ 10 mm: Keine hochgradige Aminoglykosid-Resistenz		
Streptomycin	300 µg	7-9 mm: E-Test durchführen (2.4.4)		

Tabelle 4: Verwendete Antibiotikablättchen für Enterokokken und deren Hemmzonendurchmesser nach den Richtlinien des NCCLS (70)

Die Platten wurden zusammen mit einer Reinheitskontrolle auf Blutplatte für 24 h inkubiert.

Durch Diffusion der Wirkstoffe entsteht ein Konzentrationsgradient mit dem höchsten Gehalt am Blättchen und abfallender Konzentration nach außen. Empfindliche Bakterien wachsen unter Bildung eines kreisrunden Hemmhofes, dessen Durchmesser ein Maß für die Empfindlichkeit des Erregers ist. Ein Bakterienstamm mit hoher Empfindlichkeit wird sich nur in großer Entfernung, d.h. bei niedriger Konzentration des Chemotherapeutikums, entwickeln, ein resistenter Stamm wird ohne Hemmzonenbildung an das Blättchen heranwachsen können.

Als Hemmhof-Durchmesser galt der Bereich, in dem mit bloßem Auge kein Wachstum mehr sichtbar war. Er wurde mit einem Lineal gemessen. Nach Vergleich mit den in Tabelle 3 und Tabelle 4 aufgeführten Normwerten für Hemmhofdurchmesser des NCCLS konnte gesagt werden ob der Keim resistent, mäßig resistent oder empfindlich gegenüber dem jeweiligen Antibiotikum ist.

Als Referenzstämme für die Empfindlichkeitstestungen dienten *S. aureus* ATCC 29213 und *E. faecalis* ATCC 29212, sowie Enterokokken-Isolate mit bekanntem Resistenzprofil aus dem eigenen Institut.

Ampicillin-, Vancomycin-, Gentamicin- (high-level), Streptomycin- (high-level) und Oxacillin-Resistenzen (bei *S. aureus*) wurden mit dem weiter unten beschriebenen E-Test überprüft.

Vancomycin-Platte

Zum Nachweis niedriggradiger Vancomycin-Resistenz diente Brain-Heart-Infusion-Agar mit einer Vancomycin-Konzentration von 4 mg/L.

Auf geteilten Agarplatten wurde eine Seite mit reinem Brain-Heart-Infusion-Agar als Wachstumkontrolle benutzt, während die andere Seite Brain-Heart-Infusion-Agar mit Vancomycin enthielt.

Mit einer sterilen Plastiköse wurde jeweils ein Tropfen Bakterien-Lösung (McFarland 0,5) auf die beiden Seiten der Agar-Platte aufgetragen.

Die Platten wurden 24 h bei 37 °C inkubiert. Bakterienwachstum auf der vancomycinhaltigen Seite zeigt low-level Vancomycin-Resistenz an.

Oxacillin-Platte

Müller-Hinton-Agar mit einer Salzkonzentration von 4% und einer Oxacillin-Konzentration von 6µg/ml diente als zusätzlicher Test für Methicillin-Resistenz bei *S. aureus*.

Auf einer geteilten Agarplatte wurde eine Seite mit Mannit-Salz-Agar als Wachstumskontrolle benutzt, während die andere Seite Müller-Hinton-Agar mit Salz und Oxacillin enthielt.

Mit einer sterilen Plastiköse wurde jeweils ein Tropfen Bakterien-Lösung (McFarland 0,5) auf die beiden Seiten der Agar-Platte aufgetragen.

Die Platten wurden 24 h bei 37 °C inkubiert. Bakterienwachstum auf der oxacillinhaltigen Seite zeigt Oxacillin-Resistenz an.

Bei Oxacillin-Resistenz liegt auch eine Methicillin-Resistenz vor.

Nitrocefin-Test

Durch die Hydrolyse von Nitrocefin kann eine β -Laktamaseaktivität schnell angezeigt werden. Alle bekannten β -Laktamasen Gram-positiver und Gram-negativer Bakterien spalten diese Bindung.

Ein Tropfen der Nitrocefin-Lösung wird auf einen Objektträger aufgebracht und darin etwas Zellmasse der zu untersuchenden Kolonien verrieben.

Wird im Nitrocefin die Amidbindung des β -Lactamringes durch eine β -Laktamase gespalten, erfolgt eine rasche Farbänderung von gelb nach rot. Das Ergebnis kann innerhalb 30 Minuten abgelesen werden.

Es ist darauf zu achten, dass der Objektträger während der Inkubationszeit nicht austrocknet.

Als Kontrollstamm wurde der β -Laktamasebildende *E. faecalis* ATCC 49757 bei jeder Testung mitgeführt.

E-Test

Zeigte sich im Agardiffusionstest bei Enterokokken eine Ampicillin-, Vancomycin-, Streptomycin- (high-level) oder Gentamicin- (high-level) Resistenz oder wurde Wachstum auf der Vancomycinplatte festgestellt, wurden diese Resistenzen mit dem E-Test bestätigt. Ebenso geschah dies bei *S. aureus* im Falle einer Oxacillin-Resistenz im Agardiffusionstest oder bei Wachstum auf der Oxacillin-Platte.

Von einer frischen Übernachtskultur wurde eine Suspension mit der optischen Dichte 1 nach McFarland hergestellt. Mit einem Glasspatel wurden 100µl dieser Stammlösung gleichmäßig auf einer Müller-Hinton-Agar-Platte verteilt. Wurden *S. aureus*-Stämme getestet, wurde dem Müller-Hinton-Agar noch 2% NaCl zugegeben. Nachdem die Platte getrocknet war, wurden die jeweiligen Teststreifen mit einer abgeflamnten Pinzette aufgelegt.

Zusammen mit einer Reinheitskontrolle auf einer Blutplatte wurde die Platte für 24 h bei 37 ° C inkubiert und abgelesen. Eine Kontrollablesung erfolgte nach 48 h Inkubation bei 37 ° C.

Der E-Test ist ein in vitro Verfahren zur quantitativen Antibiotika-Empfindlichkeitstestung. Er besteht aus einem nicht-porösen Kunststoffstreifen. Eine Seite des Streifens ist mit einer Skala von MHK-Werten kalibriert, die 15 Verdünnungsstufen umfasst. Auf der anderen Seite des Streifens ist ein definierter exponentieller Antibiotikumgradient aufgebracht. Nach dem Auflegen auf den Agar diffundiert das aufgebrachte Antibiotikum in die Peripherie.

Direkt am Streifen herrscht die höchste Antibiotikakonzentration, die zur Peripherie hin kontinuierlich abfällt. Durch den graduellen Antibiotikagehalt des Streifens zusammen mit der Diffusion in die Umgebung entsteht ein elliptischer Antibiotika-Gradient im Agar um den Streifen.

Bakterien wachsen unter der Bildung eines elliptischen Hemmhofes bis zum Erreichen ihres MHK-Wertes an den Streifen heran. An der Stelle an der die Skala mit dem MHK-Wert des Antibiotikums übereinstimmt, wachsen die Bakterien ganz an den Streifen heran. Durch Ablesen des Schnittpunktes im seitlich einfallenden Licht und mit einer Lupe wird der MHK-Wert ermittelt.

Hierzu wurden die Ablesevorschriften der Arbeitsanweisung genau berücksichtigt, um den Schnittpunkt der Ellipse präzise zu bestimmen. Die Interpretation der MHK-Werte im E-Test erfolgte nach den Richtlinien des NCCLS (Tabelle 5).

Antibiotikum	resistent	intermediär	empfindlich
Ampicillin	≥ 16	-	≤ 8
Vancomycin	≥ 32	8-16	≤4
Teicoplanin	≥ 32	16	≤8
HL-Gentamicin	≥ 1024	-	≤ 1024
HL-Streptomycin	≥ 1024	-	≤ 1024
Oxacillin	≥ 4	-	≤ 2

Tabelle 5: Bewertungsrichtlinien der im E-Test abgelesenen MHK Werte (µg/ml) nach NCCLS (70)

4. Ergebnisse

Patientenkollektiv

Von den 12 teilnehmenden Dialysezentren wurden insgesamt Abstriche von 618 Patienten eingesandt. Bei 618 Patienten wurde ein Nasenabstrich entnommen, bei 594 Patienten ein Rektalabstrich.

Insgesamt konnten aus den Nasenabstrichen 304 *S. aureus*-Stämme isoliert werden. In den Rektalabstrich fanden sich 465 Enterokokken-Stämme.

Abbildung 1 zeigt die Anzahl der Patienten die in den einzelnen Dialysezentren untersucht wurden, sowie die Anzahl der dort isolierten Enterokokken- und *S. aureus*-Stämme.

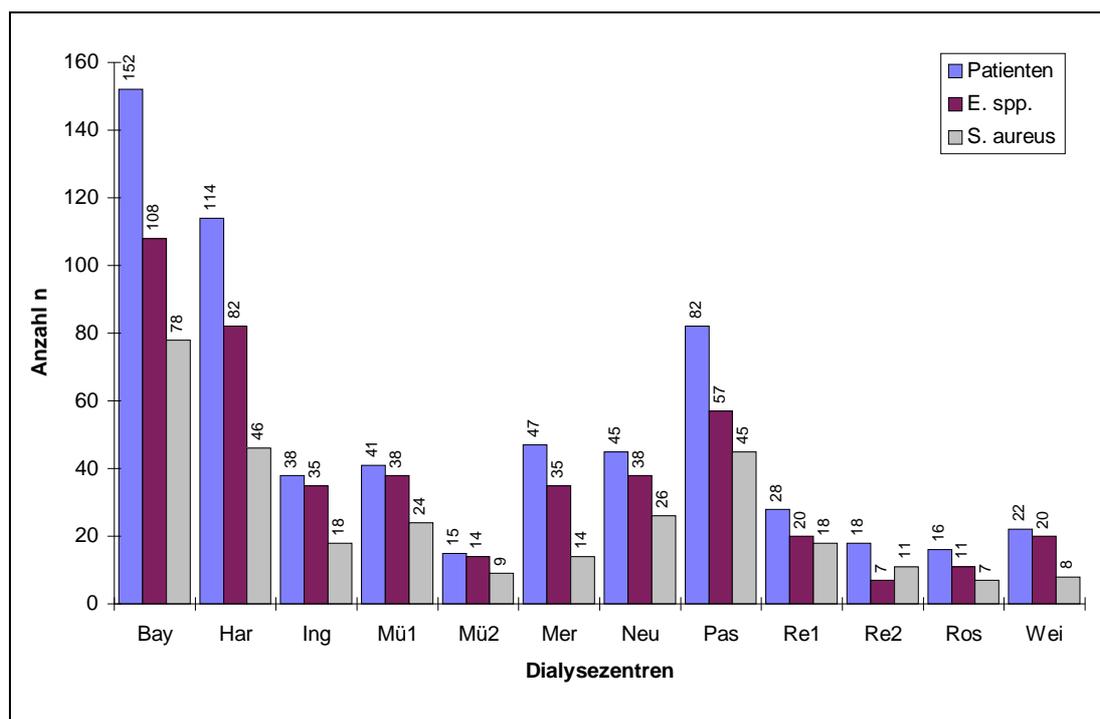


Abbildung 1: Anzahl der untersuchten Patienten pro Dialysezentrum sowie die Anzahl der dort isolierten Enterokokken- und *S. aureus*-Stämme.

Demographische Daten

Von den ausgewerteten 618 Patienten waren 344 Männer und 266 Frauen. Acht Patienten machten keine Angaben zum Geschlecht.

Das Durchschnittsalter betrug 60 Jahre.

Am häufigsten wurde bei den Patienten eine Hämodialyse durchgeführt. Während 586 Patienten hämodialysiert wurden, wurde bei nur 32 Patienten eine CAPD durchgeführt. Bei 3 Patienten fehlten die Angaben zum Dialysemodus.

Im Durchschnitt betrug die Dialysedauer seit der ersten Dialyse 60 Monate.

Bei 52 Patienten (8,4%) wurde während der letzten 3 Monate eine Therapie mit Vancomycin durchgeführt. Nur ein Patient erhielt eine Behandlung mit Mupirocin.

Tabelle 6 faßt die demographischen Patientendaten zusammen.

Geschlecht	m (n)	344 (56%)
	w (n)	266 (43%)
Durchschnittsalter		60 Jahre
Patienten mit Hämodialyse (n)		586 (95%)
Patienten mit CAPD (n)		32 (5%)
Durchschnittliche Dauer der Dialyse		60 Monate
Patienten mit Vancomycintherapie (n)		52 (8,4%)
Patienten mit Mupirocintherapie (n)		1 (0,2%)

Tabelle 6: Demographische Patientendaten (n=618)

Grunderkrankungen

In Tabelle 7 sind die häufigsten Grunderkrankungen des untersuchten Kollektivs aufgeführt. An erster Stelle steht mit 145 Patienten (23,5%) die

diabetische Nephropathie. Gefolgt von den Glomerulonephritiden mit 141 Patienten (22,8%) auf Platz 2.

Auf Platz drei und vier folgen mit 70 Patienten (11,3%) die vaskulären Nephropathien und mit 45 Patienten (7,3%) die Zystennieren. Bei 76 Patienten (22,3%) wurden keine Angaben zur Grunderkrankung gemacht.

1. Diabetische Nephropathie	145	23,5%
2. Glomerulonephritis	141	22,8%
3. Vaskuläre Nephropathie	70	11,3%
4. Zystennieren	45	7,2%

Tabelle 7: Die häufigsten Grunderkrankungen

Infektiöse Komplikationen

Die Frage nach infektiösen Komplikationen innerhalb der letzten drei Monate wurde bei 186 (30,1%) Patienten positiv beantwortet. Die häufigste Ursache waren wie in Tabelle 6 aufgezeigt Wundinfektionen mit 55 Patienten (29,6%). Die zweithäufigsten infektiösen Komplikationen waren Atemwegsinfektionen mit 46 Patienten (24,7%). Platz drei erreichten die Shuntinfektionen mit 28 Patienten (15,0%). An vierter und fünfter Stelle folgten Harnwegsinfekte mit 23 (12,4%) Patienten und die Sepsis mit 21 Patienten (11,3%). Bei 13 (7,0%) Patienten war eine Peritonitis aufgetreten. 84,6% dieser Patienten erhielten eine CAPD.

1. Wundinfektionen	55	29,6%
2. Atemwegsinfektionen	46	24,7%
3. Shuntinfektionen	28	15,0%
4. Harnwegsinfekte	23	12,4%
5. Sepsis	21	11,3%
6. Peritonitis	13 (davon 11CAPD)	7,0%

Tabelle 8: Häufigkeit infektiöser Komplikationen

Enterokokken

Von insgesamt 594 Patienten wurden Rektalabstriche eingesandt und auf das Vorkommen von Enterokokken untersucht. Dabei wurde bei 465 Patienten eine Besiedelung mit Enterokokken nachgewiesen.

Abbildung 2 zeigt die prozentuale Verteilung der Enterokokkenstämme auf die einzelnen Dialysezentren.

Am häufigsten wurden Enterokokken in München-Isenschmidtstraße (Mü2) isoliert. In 93,3% der Rektalabstriche waren dort Enterokokken nachweisbar.

Es folgte München-Burggrafenstraße (Mü1) mit 92,7%, Ingolstadt (Ing) mit 92,1%, Weißenburg (Wei) mit 90,9%, Neuried (Neu) mit 84,4% und Bayreuth (Bay) mit 83,1%.

In der Mitte finden sich in Bad Mergentheim (Mer) mit 74,5%, München-Harlaching (Har) mit 71,9%, Regensburg-Günzstraße (Re1) mit 71,4% und Passau (Pas) mit 71,3% moderate Isolationsraten.

Am geringsten war die Enterokokken-Isolationsrate in Rosenheim (Ros) mit 68,8% und Regensburg-Plato-Wild-Straße (Re2) mit 38,9%.

Durchschnittlich errechnet sich eine Isolationsrate von 78,3% für Enterokokken aus den Rektalabstrichen.

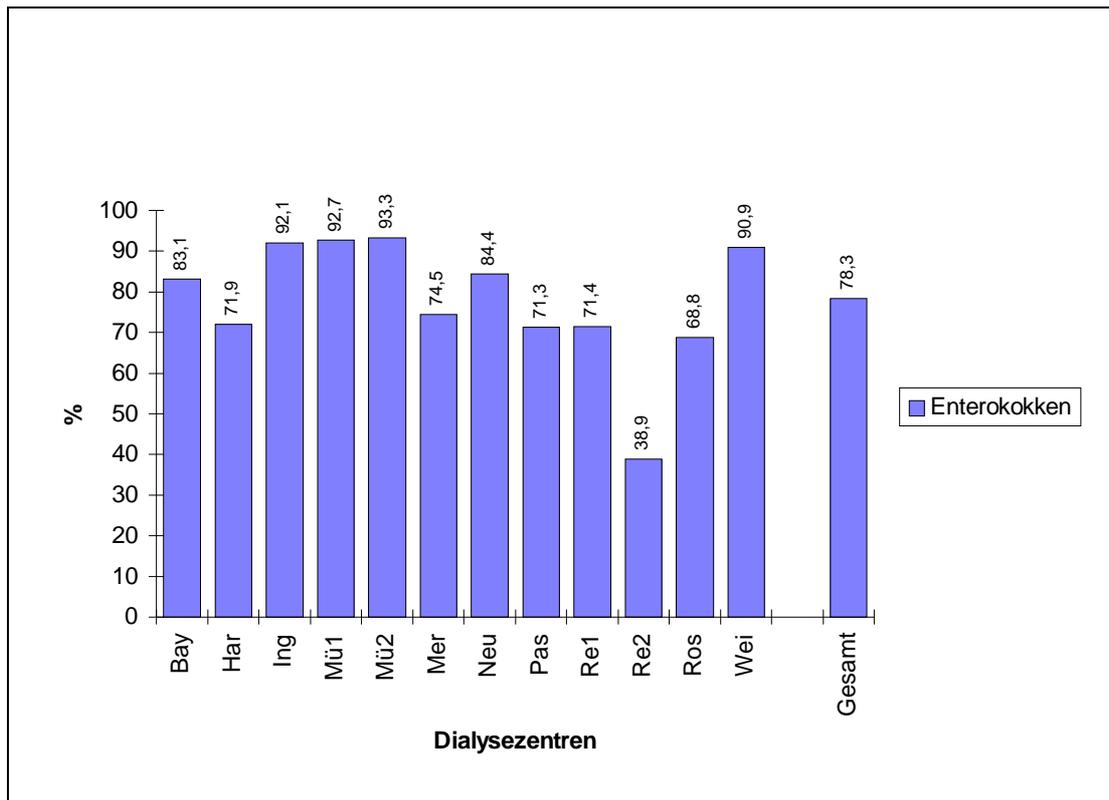


Abbildung 2: Enterokokken-Isolationsraten in den einzelnen Dialysezentren

Bei 346 Enterokokkenstämmen wurde ein typisches Resistenzmuster nachgewiesen. Diese Stämme wurden nicht weiter differenziert und sind in den folgenden Auswertungen nicht berücksichtigt.

119 Stämme zeigten Resistenzen im Agardiffusionstest gegenüber Ampicillin, Vancomycin, Gentamicin (high-level), Streptomycin (high-level) oder Wachstum auf der Vancomycinplatte. Bei diesen Stämmen folgte eine Bestätigung der Resistenz mit dem E-Test und eine Spezies-Differenzierung mit dem Api 20 Strep-Test. Tabelle 9 zeigt die Ergebnisse der Spezies Differenzierung.

74,8% (n=89) der Enterokokken wurden als *E. faecalis* identifiziert. Der Anteil von *E. faecium* lag bei 19,3% (n=23). Andere Enterokokkenspezies (*E. durans* (3,4%; n=4) und *E. avium* (2,5%; n=3)) stellten mit 5,9% (n=7) den geringsten Anteil dar.

Spezies	Anzahl (n)	Anteil an auffälligen E. spp.
E. faecalis	89	74,8%
E. faecium	23	19,3%
E. avium	3	2,5%
E. durans	4	3,4%

Tabelle 9: Speziesdifferenzierung der Enterokokken mit auffälligem Resistenzmuster

In Abbildung 3 ist die Anzahl der jeweiligen Spezies in den einzelnen Dialysezentren grafisch dargestellt.

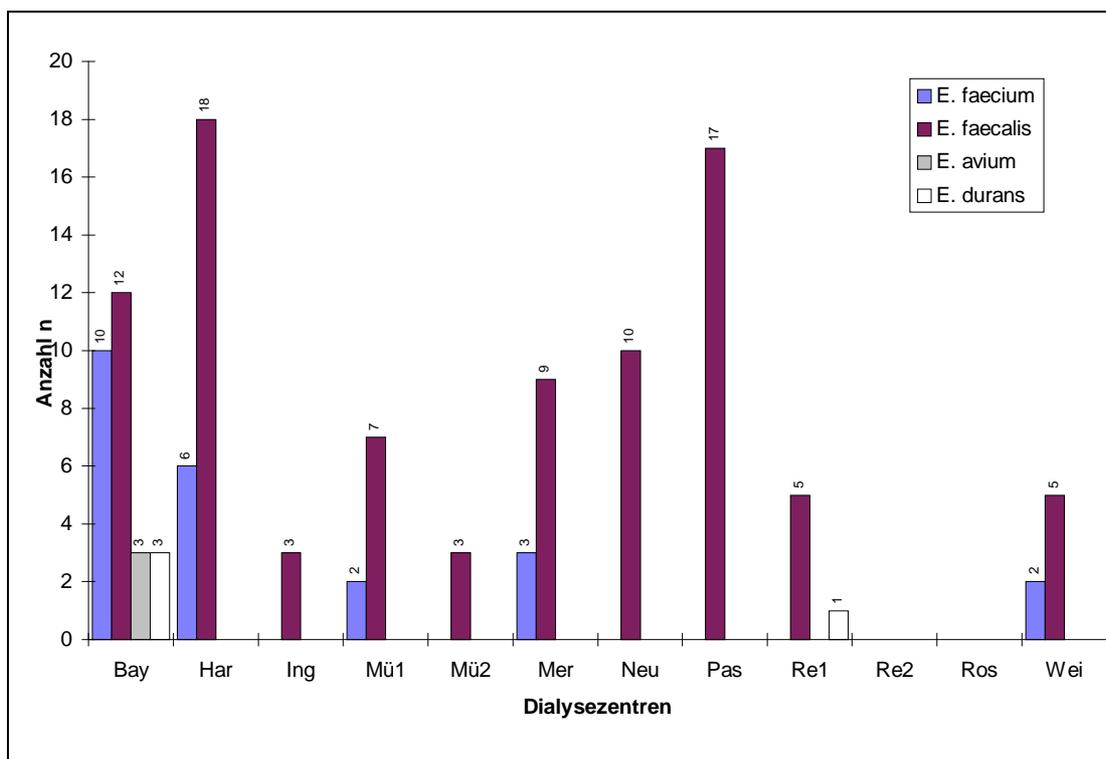


Abbildung 3: Anzahl der verschiedenen Enterokokken-Spezies in den einzelnen Dialysezentren

Hochgradige Aminoglykosidresistenz

Insgesamt zeigten 101 (21,7%) Stämme Resistenzen gegenüber Aminoglykosiden.

Von den *E. faecalis*-Stämmen waren 23 Gentamicin-resistent und 83 Streptomycin-resistent. In 19 Fällen davon lag gleichzeitig Gentamicin- und Streptomycin-Resistenz vor. Bei den *E. faecium*-Isolaten fanden sich nur 14 Streptomycin-resistente Stämme.

In Abbildung 4 ist die prozentuale Verteilung der verschiedenen Aminoglykosidresistenzen in den einzelnen Dialysezentren dargestellt. Neben dem Anteil der gesamten Streptomycin-Resistenzen und dem Anteil der gesamten Gentamicin-Resistenzen ist auch der Anteil der Fälle dargestellt in dem sich die beiden Resistenzen überschneiden und gleichzeitig Streptomycin- und Gentamicin-Resistenz vorliegt.

Den größten Anteil Streptomycin-resistenter Stämme gibt es mit 31,4% in Bad Mergentheim (Mer), mit 30,0% in Weißenburg (Wei) und mit 29,8% in Passau (Pas).

Dagegen lag die Resistenz in Neuried (Neu) bei 26,3%, in Regensburg-Günzstraße (Re1) bei 25,0%, in München-Burggrafenstraße (Mü1) bei 23,7% und in München Harlaching bei 23,2%.

Am geringsten ist die Streptomycin-Resistenz in München-Isenschmidtstraße (Mü1) mit 21,4% und in Bayreuth (Bay) mit 19,4%.

Durchschnittlich beträgt der Anteil der Streptomycin-Resistenz 21,9%.

Weitaus geringer ist mit durchschnittlich 5,4% der Anteil der Gentamicin-resistenten Stämme an den Stämmen mit auffälligem Resistenzmuster.

Besonders hoch war der Anteil mit 17,1% in Bad Mergentheim (Mer). In allen anderen Dialysezentren war der Anteil stets unter 10%. In Bayreuth (Bay) sogar nur bei 3,7%.

Das gemeinsame Vorliegen einer Streptomycin- und Gentamicin-Resistenz war demzufolge ebenfalls sehr selten und der Anteil der Stämme mit beiden Resistenzen betrug nur 4,5%.

Wiederum führend war mit 14,3% Bad Mergentheim (Mer). Bei allen anderen fand sich eine gemeinsame Resistenz stets in weniger als 10% der Stämme mit auffälligem Resistenzmuster. In München-Harlaching (Har) war der Anteil von gleichzeitiger Streptomycin- und Gentamicin-Resistenz nur 2,9%, in Bayreuth (Bay) sogar nur 2,8%.

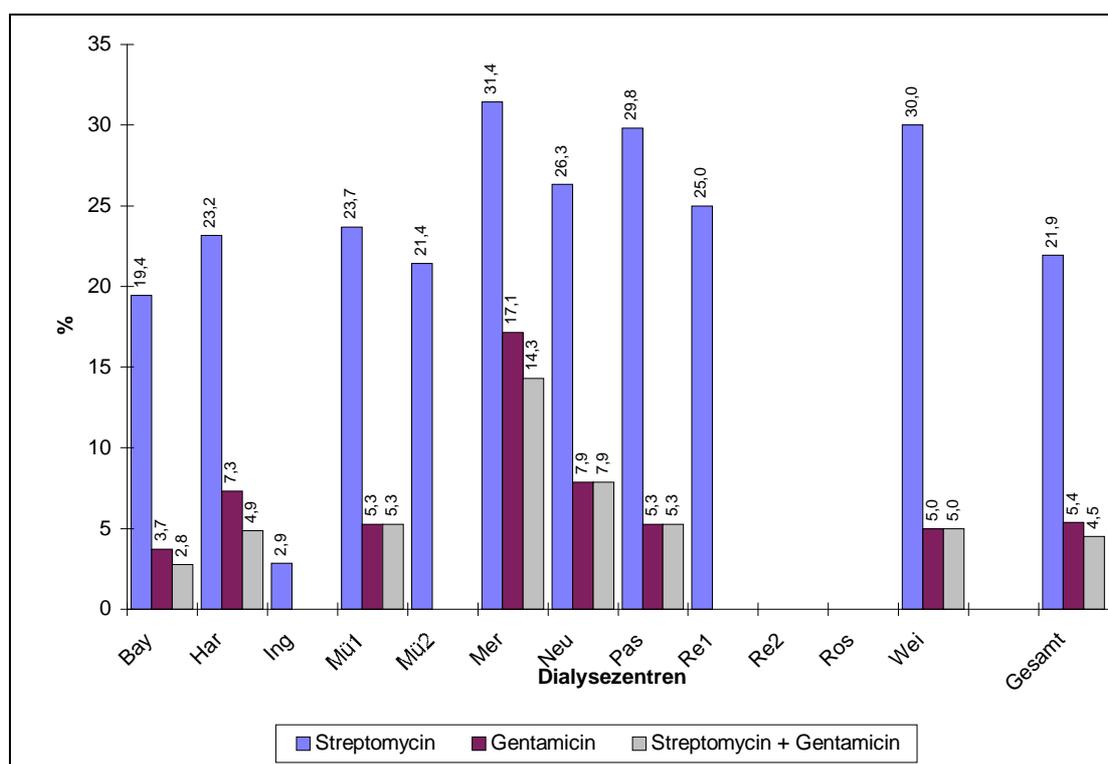


Abbildung 4: Verteilung der verschiedenen Aminoglykosid-Resistenzen in den einzelnen Dialysezentren

Ampicillin-Resistenz

Insgesamt waren 10 Enterokokken-Stämme resistent gegenüber Ampicillin (2,2%). Tabelle 10 zeigt eine Aufstellung dieser Stämme.

Wie zu erkennen liegt bei 5 Stämmen gleichzeitig eine Streptomycin-Resistenz vor. Gleichzeitige Gentamicin-Resistenz wurde bei keinem der 10 Stämme entdeckt.

Bei drei der Ampicillin-resistenten Stämme handelt es sich gleichzeitig um Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE). Bei allen Isolaten handelte es sich um *E. faecium*.

Stamm	Spezies	Vanco	Teico	Ampi	Genta	Strepto	Nitro
Bay7	E. faecium	E	E	R	E	R	neg
Bay83	E. faecium	R	E	R	E	E	neg
Bay141	E. faecium	R	E	R	E	E	neg
Bay166	E. faecium	R	E	R	E	E	neg
Har50	E. faecium	E	E	R	E	E	neg
Har84	E. faecium	E	E	R	E	E	neg
Har85	E. faecium	E	E	R	E	R	neg
Mü1/12	E. faecium	E	E	R	E	R	neg
Mü1/18	E. faecium	E	E	R	E	R	neg
Mer38	E. faecium	E	E	R	E	R	neg
Summe		3	0	10	0	5	0

Tabelle 10: Übersicht der Ampicillin-resistenten Enterokokkenstämme

β-Laktamase-Produktion

Alle eingesandten Enterokokken-Isolate wurden mit Hilfe von Nitrocefin auf β-Laktamasebildung getestet. Bei keinem der Enterokokken-Stämme konnte β-Laktamasebildung nachgewiesen werden.

Vancomycin-Resistenz

Bei der Empfindlichkeitsprüfung gegenüber Vancomycin konnte bei 4 Enterokokken-Isolaten eine Vancomycin-Resistenz nachgewiesen werden. Dies entspricht einem Anteil von 0,9% an der Gesamtzahl der isolierten Enterokokken. Hochgradig Vancomycin-resistente Stämme mit einem MHK-Wert von >256 mg/l konnten nicht isoliert werden. Die vier isolierten VRE-Stämme zeigen, entsprechend dem VanB-Phänotyp, eine mäßiggradige

Vancomycin-Resistenz mit einer MHK von >16µg/ml und <256mg/l. Es lag keine zusätzliche Teicoplanin-Resistenz vor.

Es handelte sich bei den vier VRE ausschließlich um *E. faecium*. Auffälligerweise stammen sie alle aus dem Krankenhaus Hohe Warte in Bayreuth.

Drei der vier Vancomycin-resistenten Stämme waren zusätzlich resistent gegenüber Ampicillin. Resistenzen gegenüber Aminoglykosiden konnten nicht nachgewiesen werden.

Einen Zusammenfassung der Resistenzmuster der Vancomycin-resistenten Stämme zeigt Tabelle 11.

Stamm	Spezies	Vanco	Teico	Ampi	Genta	Strepto	Nitro
		MHK(µg/ml)					
Bay3	<i>E. faecium</i>	64	E	E	E	E	neg
Bay83	<i>E. faecium</i>	64	E	R	E	E	neg
Bay141	<i>E. faecium</i>	16	E	R	E	E	neg
Bay166	<i>E. faecium</i>	16	E	R	E	E	neg
Summe		4	0	3	0	0	0

Tabelle 11: Resistenzmuster Vancomycin-resistenter Enterokokken-Stämme

Abbildung 5 zeigt die Zusammenfassung der Resistenzmuster der Vancomycin-resistenten Enterokokken.

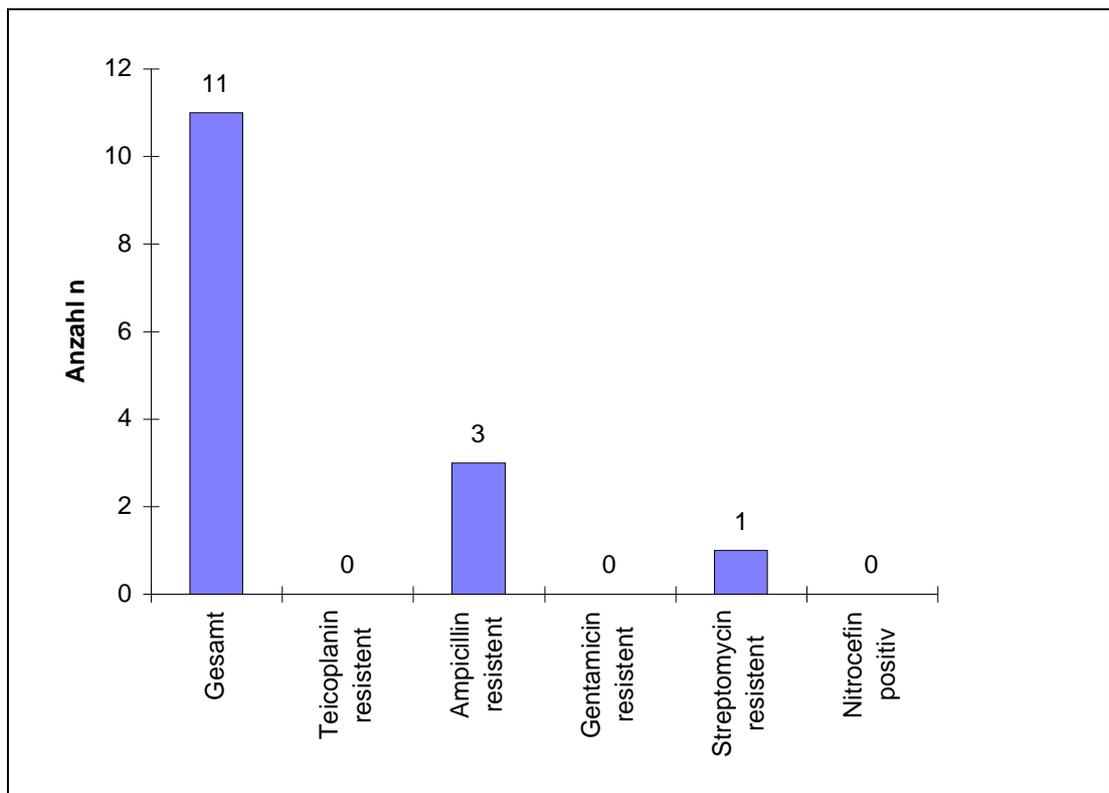


Abbildung 5: Resistenzmuster der Vancomycin-resistenten Enterokokken

Staphylococcus aureus

Von allen 618 Patienten wurden Nasenabstriche entnommen und auf das Vorkommen von *S. aureus* hin untersucht.

Dabei wurden bei 304 Patienten *S. aureus*-Stämme isoliert. Dies entspricht einer Isolationsrate von 49,2%.

Abbildung 6 zeigt die prozentuale Verteilung von *S. aureus* auf die einzelnen Dialysezentren.

Am häufigsten wurde *S. aureus* in Regensburg-Günzstraße (Re1) isoliert. In 64,3% der Abstriche konnten hier *S. aureus* gefunden werden.

Es folgte Regensburg-Plato-Wild-Straße (Re2) mit 61,1%, Münchensschmidtstraße (Mü2) mit 60,0%, München-Burggrafenstraße (Mü1) mit 58,5%, Neuried (Neu) mit 57,8%, Passau (Pas) mit 54,9% und Bayreuth (Bay) mit 51,3%.

In der Mitte fanden sich in Ingolstadt (Ing) mit 47,4%, Rosenheim (Ros) mit 43,8% und München-Harlaching (Har) mit 40,4% moderate Isolationsraten.

Am geringsten war die *S. aureus*-Isolationsrate in Weißenburg (Wei) mit 36,4% und Bad-Mergentheim (Mer) mit 29,8%.

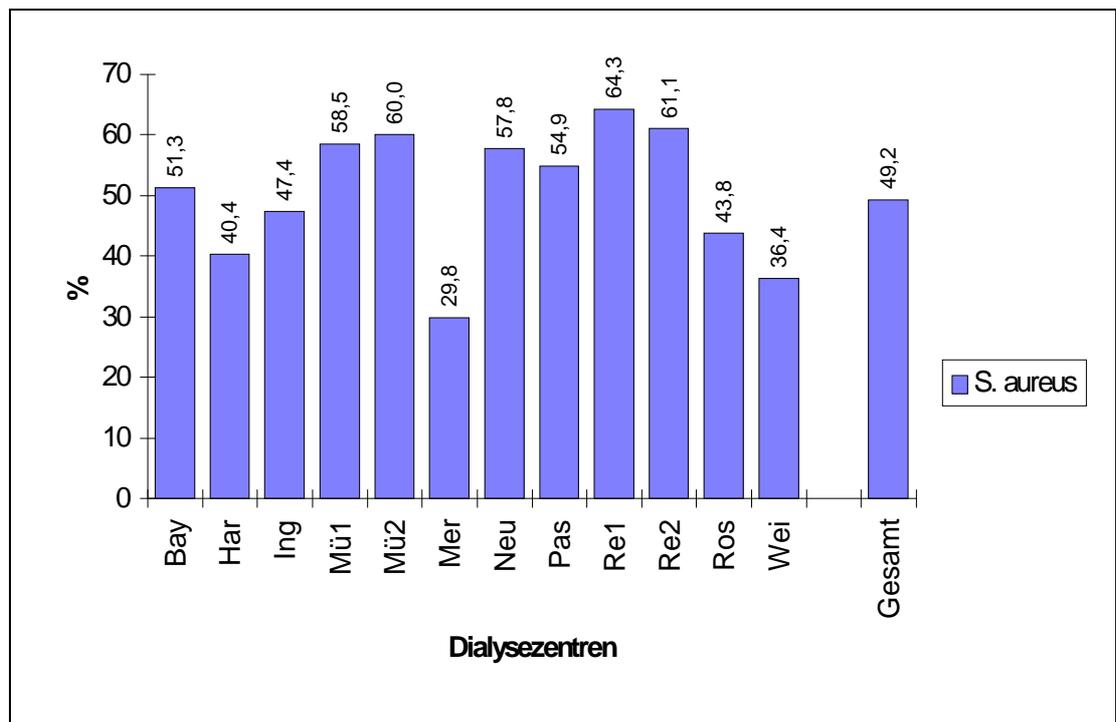


Abbildung 6: *S. aureus*-Isolationsraten in den einzelnen Dialysezentren

Penicillin-Resistenz

Penicillin-Resistenz konnte in 76,0% (n=231) aller *S. aureus* Isolate nachgewiesen werden.

In Abbildung 7 werden die prozentualen Penicillin-Resistenz-Raten in den einzelnen Untersuchungszentren dargestellt.

Führend ist hier Passau (Pas) mit einem prozentualen Anteil von 86,7% Penicillin-resistenter *S. aureus* und Bad Mergentheim (Mer) mit einem Anteil von 85,7%.

Es folgen Bayreuth (Bay) mit 80,8%, München-Burggrafenstraße (Mü1) mit 79,2, München-Isenschmidtstraße (Mü2) mit 77,8% und Weißenburg (Wei) mit 75,0%.

Im Mittelfeld liegen Ingolstadt (Ing) mit 72,2%, Rosenheim (Ros) mit 71,4% und München-Harlaching (Har) mit 69,6%.

Am geringsten ist der Anteil Penicillin-resistenter *S. aureus* in Regensburg-Günzstraße (Re1) mit 66,7%, in Neuried (Neu) mit 65,4% und in Regensburg-Plato-Wild-Straße (Re2) mit 54,5%.

In 8 der 12 Zentren lag der Anteil von Penicillin-resistenten *S. aureus* über 70%. Insgesamt 76% der isolierten *S. aureus* waren Penicillin-resistent, dementsprechend lag der Anteil der Penicillin-empfindlichen Stämme nur bei 24%.

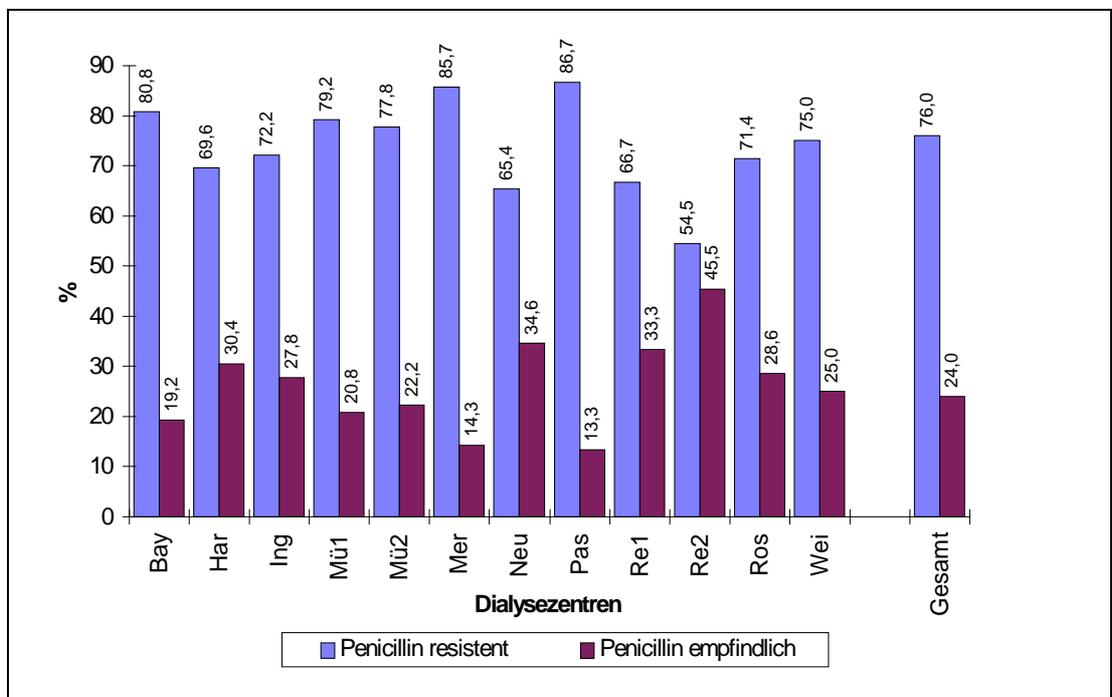


Abbildung 7: Anteil Penicillin-resistenter *S. aureus* in den einzelnen Dialysezentren

MRSA

Bei der Empfindlichkeitstestung gegenüber Methicillin konnte bei 5 *S. aureus*-Isolaten (1,6%) eine Methicillin-Resistenz nachgewiesen werden.

Wie in Abbildung 8 gezeigt waren alle isolierten MRSA resistent gegen Penicillin, Ofloxacin und Cotrimoxazol.

Ein Stamm war low-level resistent gegen Mupirocin. Es fanden sich keine MRSA-Stämme mit einer intermediären Resistenz gegen Vancomycin.

Tabelle 12 zeigt eine Aufstellung der isolierten MRSA-Stämme mit Herkunft und Resistenzmuster.

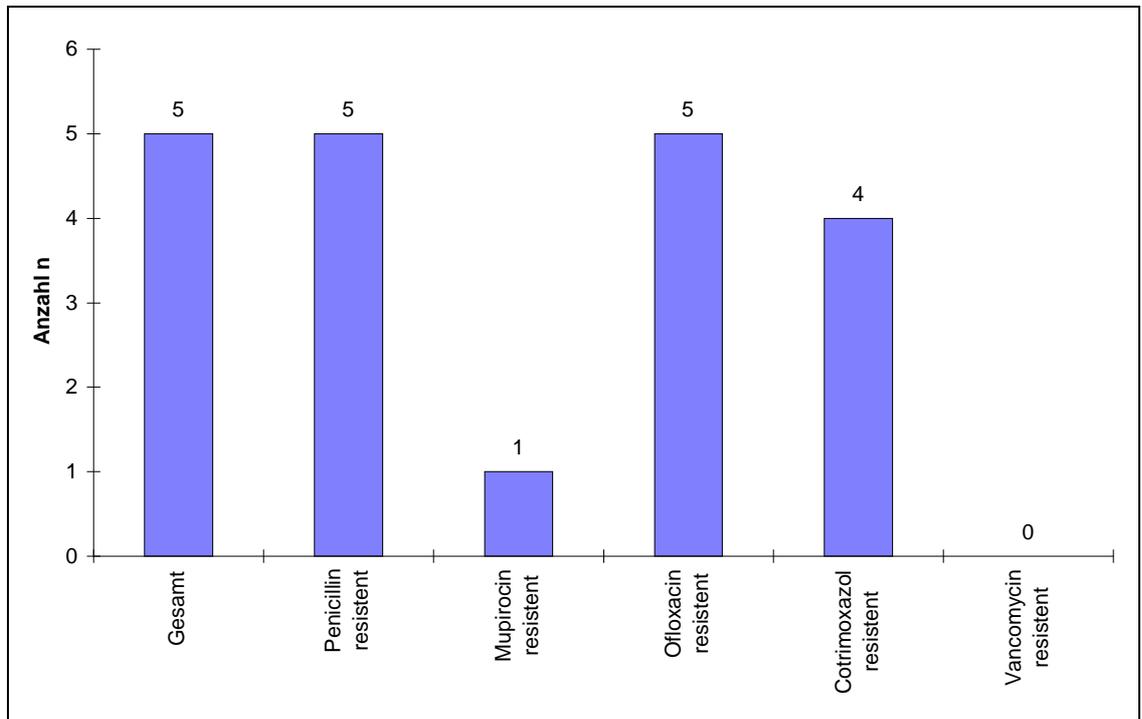


Abbildung 8: Resistenzmuster der MRSA-Stämme

Stamm	Peni	Oxa	Oflox	Cotrim	Vanco	Mupi
Bay44	R	R	R	R	E	E
Bay83	R	R	R	R	E	E
Har17	R	R	R	R	E	E
Re2/12	R	R	R	R	E	R
Wei5	R	R	R	E	E	E
Summe	5	5	5	4	0	1

Tabelle 12: Resistenzmuster der isolierten MRSA-Stämme

5. Diskussion

In dieser Studie wurden insgesamt 618 Patienten aus 12 Dialysezentren im süddeutschen Raum untersucht. Von jedem wurde je ein Nasen- und ein Rektalabstrich entnommen und zusammen mit einem Protokollblatt in die Studienzentrale nach München gesandt. Dort wurden die Abstriche mit den unter Kapitel 2 beschriebenen Methoden auf das Vorkommen von resistenten Enterokokken und *S. aureus* hin untersucht.

Die Auswertung der Protokollbögen ergab ähnliche Ergebnisse, wie sie von der Arbeitsgruppe QuaSi-Niere, die jährlich Daten von mehr als 1000 Behandlungseinrichtungen für chronisch nierenkranke Patienten in Deutschland heranzieht, angegeben werden (29).

In unserer Studie ist das am häufigsten angewandte Dialyseverfahren die Hämodialyse. Sie wurde bei 95% der Teilnehmer angewandt. Im Gegensatz dazu wurde bei nur 5% der Patienten eine Peritonealdialyse (CAPD) durchgeführt. Andere Verfahren kamen nicht zur Anwendung. Diese sind eher in der Akuttherapie auf Intensivstationen angesiedelt.

Die häufigsten Ursachen für die Dialysepflicht sind mit 23,5% die diabetische Nephropathie und mit 22,8% die Glomerulonephritis.

Infektionen sind nach kardiovaskulären Erkrankungen die häufigste Morbiditäts- und Mortalitätsursache bei Dialysepatienten (7). In unserer Studie gaben 30% der Teilnehmer infektiöse Komplikationen im Laufe ihres Dialyседaseins an. Am häufigsten wurden hierbei Wundinfektionen (30%) , Atemwegsinfektionen (25%) und Shuntinfektionen (15%) angegeben. Mit nur 7% war die Peritonitis eine eher seltene Komplikation. Dies erklärt sich aber durch die geringe Zahl von CAPD Patienten.

Enterokokken

Bei der Identifizierung von Enterokokken war zu beachten, dass neben den *Enterococcus* spp. eine Reihe weiterer Gram-positiver, katalasenegativer Kokken mit positiver Äsculin-Reaktion, wie z.B. *Pediococcus* spp., *Leuconostoc* spp., *Lactococcus* spp. und *Vagococcus* spp. im klinischen Untersuchungsmaterial gefunden werden. Um eine sichere Unterscheidung von diesen Spezies zu gewährleisten wurden neben biochemischen und physikalischen Testreaktionen bei der Spezies-Zuordnung auch Ergebnisse der Antibiotika-Empfindlichkeitstestungen berücksichtigt, um den Anteil falsch-positiver Enterokokken zu minimieren. So besitzen *Pediococcus* spp. und *Leuconostoc* spp. im Gegensatz zu den meisten Enterokokken eine intrinsische hochgradige Resistenz gegenüber Vancomycin mit MHK-Werten $\geq 1,024 \mu\text{g/ml}$ (26, S. 725). *Lactococcus* spp. zeigen in der Regel kein oder nur ein langsames Wachstum auf 6,5%igem NaCl-Agar sowie keine Kohlenhydratfermentation von Sorbit und Arabinose und können so von *E. faecalis* und *E. faecium* unterschieden werden (25, S. 481).

Bei der Auswertung der API 20 Strep-Teststreifen muss darauf geachtet werden, dass auch Enterokokken-Spezies, die nicht durch den API 20 Strep-Test erfaßt werden können, wie z.B. *E. malodoratus*, *E. raffinosus* und *E. hirae*, in die Auswertung einbezogen werden. Bei allen Enterokokken, die im API 20 Strep-Test eine Fermentation von Arabinose (Arabinose-positiv) zeigten, erfolgte daher eine Untersuchung auf Pigmentbildung und Motilität. *E. faecium*-Stämme können so von *E. gallinarum*-, *E. casseliflavus*- und *E. mundtii*-Stämmen unterschieden werden (24).

Insgesamt wurden 465 Isolate als Enterokokken bestätigt. Eine weitere Differenzierung wurde nur bei den 119 Stämmen durchgeführt, die Resistenzen gegenüber Ampicillin, Vancomycin, Streptomycin (high-level), Gentamicin (high-level) oder Wachstum auf der Vancomycinplatte zeigten. Sie wurden erwartungsgemäß zum weit überwiegenden Teil (74,8%) als *E. faecalis* identifiziert. Der Anteil der *E. faecium*-Isolate betrug 19,3%. Die Zahlen für *E. faecium* liegen in anderen deutschen Untersuchungen meist niedriger. Allerdings wurden in diesen Studien auch die Enterokokken-Stämme

ohne Resistenzen in der Speziesdifferenzierung berücksichtigt, so dass keine direkte Vergleichbarkeit vorliegt. Bei einer großen deutschen Untersuchung, die von Juni 1994 bis Januar 1995 insgesamt 2046 Enterokokken-Isolate an 12 mikrobiologischen Laboratorien gesammelt und differenziert hatte, lag der Anteil der *E. faecalis*-Isolate bei 90,5%, während der *E. faecium*-Anteil nur 7,8% ausmachte (100). In den USA liegt der *E. faecium*-Anteil mit 15% generell etwas höher (44, S. 85).

Andere *Enterococcus* spp. (*E. avium* und *E. durans*) konnten von uns nur zu einem geringen Anteil von insgesamt 5,9% aus dem klinischen Material isoliert werden.

Bei allen Enterokokken-Isolaten wurde ein Agardiffusionstest gegenüber Ampicillin, Vancomycin, Teicoplanin, Streptomycin und Gentamicin durchgeführt. Daneben wurden alle Stämme zusätzlich auf β -Laktamase-Bildung mit Nitrocefin getestet. Mit herkömmlichen Methoden kann die β -Laktamase-bedingte Ampicillin-Resistenz bei Enterokokken, aufgrund zu niedriger Inocula, die bei den Routinemethoden (Agardiffusionstest, Mikodilutionsverfahren) zum Einsatz kommen, oftmals nicht erkannt werden (68).

Darüber hinaus besteht ein weiteres Problem in der Erkennung der niedrig- bis mäßiggradigen Vancomycin-Resistenz in Enterokokken, die ebenfalls nicht zuverlässig von automatischen Antibiotika-Test-Systemen oder Agardiffusionsverfahren aufgedeckt werden können (90). Eine BHI-Agar-Platte supplementiert mit 4 mg/L, modifiziert nach den Empfehlungen des NCCLS (70, 90), wurde daher als Screening-Test für niedriggradige Vancomycin-Resistenz eingesetzt.

Alle entdeckten Antibiotika-Resistenzen wurden mit dem E-Test überprüft.

Aminoglykosid-Resistenz

Kommerziell erhältliche MHK-Test-Platten zur Resistenzprüfung gegenüber Aminoglykosiden enthalten nicht die benötigten Antibiotika-Konzentrationen zur Überprüfung einer high-level Aminoglykosid-Resistenz. Deshalb wurden in dieser Untersuchung die in der Literatur empfohlenen, hochbeladenen

Antibiotika-Blättchen (Gentamicin 120 µg, Streptomycin 300 µg) verwendet (69).

Es wiesen insgesamt 21,9% der Enterokokken-Isolate eine hochgradige Resistenz gegenüber Streptomycin und 5,4% gegenüber Gentamicin auf. In Irland untersuchte McNamara et al. 1005 Enterokokken-Isolate aus 23 Kliniken (58) und fand ähnliche Häufigkeiten in Bezug auf high-level Aminoglykosid-Resistenz (HLSR 23%, HLGR 7%). In den USA wurden von 97 mikrobiologischen Laboratorien nahezu 2000 Enterokokken-Stämme gesammelt und untersucht (44, S. 85). Im Gegensatz zu unserer Untersuchung lag hier der Anteil hochgradig Streptomycin- und Gemtamicin-resistenter Isolate bei 35,7% bzw. 26,7%, wobei insgesamt 20% der Stämme eine hochgradige Resistenz gegen beide Aminoglykoside zeigten (44, S. 85 f.), im Vergleich zu nur 4,5% in unserer Untersuchung.

Insgesamt scheint die hochgradige Aminoglykosid-Resistenz in Europa bzw. in Deutschland im Vergleich zu den USA noch weniger häufig aufzutreten. In der oben genannten deutschen Untersuchung fanden sich Anteile von 24,8% Streptomycin-Resistenz und 7,3% Gentamicin-Resistenz (100). Allerdings zeigten sich auch bei unserer Studie deutliche Unterschiede in der Resistenzverteilung in den einzelnen Untersuchungszentren. Drei Dialysezentren hatten mit 31,4%, 30,0% und 29,8% einen besonders hohen Anteil an Streptomycin-resistenten Stämmen. Andere Einrichtungen hatten wesentlich geringere Isolationsraten, bei einem Dialysezentrum wurden sogar nur 2,9% und bei zwei weiteren sogar keine Streptomycin-Resistenzen gefunden (Abb. 4). Insgesamt lag der Anteil hochgradig Streptomycin-resistenter Stämme in 10 von 12 Zentren über 20%, bei fünf Zentren über 25% (Abb. 4).

Die Resistenzraten für hochgradige Gentamicin-Resistenz lagen zwischen 0% und 17,1% für die jeweiligen Zentren (Abb. 4). Im Vergleich lagen alle Isolationsraten, bis auf die in Bad Mergentheim gefundene Isolationsrate (17,1%) unter den Isolationsraten, die in anderen europäischen Studien gefunden wurden (vgl. Abb. 4). So fand man in einer Londoner Studie unter 873 Enterokokken-Isolaten 24,3% Streptomycin-resistente Stämme und 12,8% Gentamicin-resistente Stämme (32). In Saloniki (Griechenland) fand

eine Studie mit 26% und 21% sogar noch höhere Streptomycin- und Gentamicin-Resistenzraten unter den isolierten Enterokokken-Stämme (18).

Ampicillin-Resistenz

Mit zunehmender Häufigkeit werden Ampicillin-resistente Enterokokken als Ursache nosokomialer Infektionen gefunden (4, S. 1032 f.). Ampicillin-Resistenz wurde in dieser Studie ausschließlich bei *E. faecium*-Stämmen mit einem Anteil von 2,2% nachgewiesen. Diese Zahlen sind sehr gering, die Ergebnisse der o.g. deutschen Studie lagen mit 4,5% mehr als doppelt so hoch (100). Die o.g. irische Untersuchung von McNamara et al. stellte sogar einen Anteil von 16% Ampicillin-resistenter Enterokokken fest. In den USA wird ebenfalls von steigender Ampicillin-Resistenz v.a. bei *E. faecium* berichtet. Eine Studie untersuchte Enterokokken-Isolate aus US-Kliniken über einen Zeitraum von 22 Jahren. Es zeigte sich ein signifikantes Ansteigen der Ampicillin-Resistenz im Verlauf des Studienzeitraums (31). Ampicillin-Resistenz wird zunehmend häufiger auch bei anderen *Enterococcus* spp., wie *E. faecalis* und *E. raffinosus* beobachtet (4, S. 1032 f., 13, 58)

β-Laktamase-Bildung bei Enterokokken

Während es in den USA sogar schon zu Epidemien mit β-Laktamase-bildenden *E. faecalis*-Stämmen gekommen ist (66), wurde über das Auftreten solcher Stämme in Europa nur selten berichtet (18, 100). In unserer Studie konnte kein Enterokokken-Stamm mit β-Laktamasebildung gefunden werden.

Vancomycin-Resistenz

Die vom Center of Disease Control and Prevention durchgeführte Surveillance zur Erfassung von Antibiotika-Resistenzen in den USA ergab einen zwanzigfachen Anstieg von nosokomialen Infektionen mit Vancomycin-resistenten Enterokokken (VRE) im Zeitraum von 1989 bis 1993. Der prozentuale Anteil der nosokomial erworbenen VRE-Infektionen lag 1989 bei 0,3% und 1993 bei 7,9%. Bei Patienten auf Intensivstationen stieg der Anteil der VRE in demselben Zeitraum sogar von 0,4% auf 13,6% (11).

In einer weiteren multizentrischen Studie aus den USA, an der 99 Untersuchungszentren teilnahmen und nahezu 2000 Enterokokken-Isolate aus

Blutkulturen untersucht wurden, lag der Anteil von VRE bei 4,4% (n=87) (44, S. 85 f.).

Daneben existieren zahlreiche Berichte über Ausbrüche in einzelnen Krankenhäusern und über die klonale Verbreitung Vancomycin-resistenter Enterokokken (6, 13). Es wurde auch über Ausbrüche in nephrologischen Abteilungen mit Dialysezentren berichtet. So kam es 1995 in einem Lehrkrankenhaus in Edinburgh unter den Patienten der nephrologischen Abteilung zu einem Ausbruch von Infektionen und Kolonisierung mit VRE. Von den 30 isolierten VRE-Stämmen waren über 60% VanA Genotyp. Durch Patienten-Screening, Isolierung der kolonisierten und infizierten Patienten und Einhaltung strikter Hygienemaßnahmen konnte schließlich eine weitere Ausbreitung vermieden werden (8, S. 118 f.)

Ein weiterer Ausbruch multi-resistenter *E. faecium* fand im Oktober 1990 im Beth Israel Medical Center in New York statt. Aus der Flüssigkeit der Peritonealdialyse eines Patienten der Intensivstation wurde ein Vancomycin-resistenter *E. faecium* isoliert. In den folgenden sechs Monaten wurde derselbe Stamm bei 16 weiteren Patienten und 4 Angestellten gefunden. Auch hier konnte die Verbreitung durch infektionshygienische Maßnahmen rasch eingedämmt werden (35).

Bei den von uns untersuchten Dialysepatienten konnte im Studienzeitraum bei keinem der isolierten VRE eine hochgradige Vancomycin-Resistenz gefunden werden. Bei 4 *E. faecium* wurde eine mäßiggradige Vancomycin-Resistenz mit MHK-Werten für Vancomycin von ≥ 16 $\mu\text{g/ml}$ und < 256 $\mu\text{g/ml}$ nachgewiesen, was einem Anteil von 0,9% an den untersuchten Enterokokken entspricht. Im Vergleich hierzu fand sich in der multizentrischen Studie aus Deutschland in der die Resistenzsituation von Enterokokken in Deutschland an 2046 klinischen Enterokokken-Isolaten untersucht wurde ein Anteil von 0,5% VRE (100).

In den USA scheint das Vorkommen von VRE in Dialysezentren erheblich höher zu sein. In einer Untersuchung an einem Dialysezentrum in den USA untersuchte man Stuhlproben oder Rektalabstriche von 33 Dialysepatienten. Man fand einen Anteil von 9,1% VRE-kolonisierter Patienten (48).

Hervorzuheben ist das Resistenzmuster der von uns gefundenen VRE. In keinem Fall lag eine zusätzliche Teicoplanin-Resistenz vor, drei der VRE-Stämme waren Ampicillin-resistent. High-level-Resistenzen gegenüber Aminoglykosiden konnten nicht gefunden werden. Dies entspricht den Erkenntnissen einer belgischen Untersuchung, die feststellte, dass die VRE-Stämme in Europa gegenüber vielen Antibiotika empfindlich bleiben, während die US-amerikanischen Stämme gegenüber den meisten üblichen Antibiotika resistent sind (30).

Das amerikanische Hospital Infection Control Practises Advisory Comitee (HICPAC) erarbeitete Empfehlungen und einen Maßnahmenkatalog, um die Ausbreitung der Vancomycinresistenz zu verhindern (39). Die Wirksamkeit dieser Maßnahmen konnte eine Studie zeigen, die das Vorkommen von VRE in Iowa, Nebraska und South Dakota untersuchte. Von 1997 bis 1999 wurden nahezu 2000 Patienten jährlich an 30 medizinischen Einrichtungen untersucht. Durch Einhaltung der empfohlenen infektionshygienischen Maßnahmen, wie regelmäßige Surveillance-Untersuchungen und die Isolation infizierter Patienten, konnte die Prävalenz von VRE von 2,2% im Jahr 1997 auf 0,5% im Jahr 1999 gesenkt werden (74, S. 1430).

Staphylococcus aureus

Insgesamt wurden in den Abstrichen der 618 untersuchten Dialysepatienten 304 Isolate als *S. aureus* bestätigt. Dies entspricht einer Kolonisierungsrate von 49,2%.

In der Normalbevölkerung wird im allgemeinen von 10-40% gesunder *S. aureus*-Träger ausgegangen (71, 101). Bei Untersuchungen an Dialysepatienten zeigen sich Kolonisierungsraten von teilweise über 60% (45).

Antibiotika Empfindlichkeit

Bei allen *S. aureus* Isolaten erfolgte ein Agardiffusionstest gegenüber Penicillin, Oxacillin, Ofloxacin, Vancomycin, Novobiocin und Mupirocin.

Zusätzlich wurde die von Thornsberry und McDougal eingeführte Oxacillin-Platte auf der Basis von Müller-Hinton Agar mit 4% NaCl und 6mg/l Oxacillin mitgeführt (92). Sie wird von NCCLS als Screening-Test empfohlen (70).

Zeigte der Blättchentest oder die Screening-Platte eine Oxacillin-Empfindlichkeit an, wurde das Ergebnis mit dem E-Test überprüft.

Penicillin-Resistenz

Bereits 1963 hatte der Anteil Penicillin-resistenter Stämme 78% erreicht (55). In einer multizentrischen Studie, bei der 3794 *S. aureus* Stämme aus 19 großen deutschen Kliniken gesammelt und untersucht wurden, waren 71,5% der *S. aureus* Isolate Penicillin-resistent (97). In unserer Studie liegt die Penicillin-Resistenzrate mit 76% nur unwesentlich höher. Teilweise findet man allerdings auch in Europa erheblich höhere Raten. So fand eine irische Studie 1996 unter 1152 untersuchten *S. aureus*-Stämmen aus 9 verschiedenen Kliniken 92% Penicillin-resistente Stämme (62).

MRSA

In der Literatur findet man unterschiedliche Angaben zum Anteil von MRSA an *S. aureus*-Isolaten in Europa und Deutschland.

In einer Studie des Paul Ehrlich Institutes untersuchten 32 mikrobiologische Laboratorien aus Zentraleuropa je 40 *S. aureus*-Stämme. Die Isolate wurden nach den Richtlinien des NCCLS auf Antibiotika-Empfindlichkeit geprüft. Für Zentraleuropa fand man einen MRSA-Anteil von 8,7%. Der Anteil in Deutschland lag mit 8,0% MRSA nur geringfügig tiefer (102, S. 415).

Im Gegensatz dazu fand eine weitere große europäische Untersuchung, die 7359 *S. aureus* Stämme aus 10 verschiedenen europäischen Ländern untersuchte, einen MRSA-Anteil von 12,8% für Europa. Für Deutschland wurde in dieser Untersuchung ein MRSA Anteil von nur 5,5% angegeben (98).

Im Vergleich zu anderen europäischen Ländern liegt der MRSA-Anteil in Deutschland vergleichsweise niedrig. In Spanien, Frankreich und Italien wurden über 30% MRSA gefunden (98). In einer griechischen Studie der Universität von Thessaloniki wurden 472 *S. aureus*-Stämme, die aus klinischem Material isoliert wurden, untersucht. Man fand hier sogar einen MRSA-Anteil von 42,2% (93). Auch in den USA fand eine Studie einen MRSA-Anteil von 29%. Hier untersuchte man von 1975 bis 1991 die Antibiotika-Resistenz von *S. aureus* in amerikanischen Kliniken. Man beobachtete ein Ansteigen des durchschnittlichen MRSA-Anteils von 2,4% im Jahr 1975 auf 29% im Jahr 1991 (76).

Erstaunlicherweise liegt in unserer Studie der MRSA Anteil mit 1,6% erheblich unter den oben genannten Zahlen. Dies erstaunt um so mehr, wenn man bedenkt, dass es sich bei den Dialysepatienten um eine Hochrisikogruppe für MRSA-Besiedelung handelt (häufig Diabetiker, Immundefizite, lange Krankenhausaufenthalte, etc.).

Mupirocin-Resistenz

Ca. 10-40% der Erwachsenen sind über längere Zeit Träger von *S. aureus* ohne an einer Infektion zu leiden (71, 101). Hierbei kommt es vor allem zur Besiedelung der Nasenschleimhaut. Mit dem Lokalantibiotikum Mupirocin gelingt es die Kolonisierung mit *S. aureus* zu reduzieren und dadurch bei Dialysepatienten Infektionen zu verhindern (37, S. S14-S20). Allerdings ist zu beachten, dass durch die häufige Anwendung von Mupirocin das Auftreten von low- und high-level Mupirocin-Resistenzen gefördert wird (59). Eine

deutsche Studie fand bei der Untersuchung von 699 *S. aureus* Stämmen aus 19 europäischen Krankenhäusern 1,6% high-level und 2,3% low-level Mupirocin-resistente *S. aureus* (84, S. 491).

In unserer Untersuchung war nur einer der MRSA-Stämme low-level resistent gegenüber Mupirocin. Dieser war gleichzeitig der einzige Mupirocin-resistente *S. aureus*. Dies entspricht einem Anteil von 0,3% Mupirocin-resistenten *S. aureus*.

Diese geringe Resistenzrate kann ursächlich mit dem geringen Mupirocin Verbrauch in unserer Patientengruppe zusammenhängen. In den letzten drei Monaten erhielt nur ein Patient eine Therapie mit Mupirocin. Die wiederholte Therapie mit Mupirocin gilt als ein Risikofaktor für die Mupirocin-Resistenzentwicklung (59).

Vancomycin-Resistenz

Alle *S. aureus*-Stämme wurden mit Hilfe des Agardiffusions-Tests und einer Vancomycin-Platte auf verminderte Vancomycin-Empfindlichkeit untersucht. Die Vancomycin-Platte bestand, wie von Hiramatsu et al. beschrieben, aus BHI plus 4mg/l Vancomycin (38). Sie wurde neben dem Agardiffusionstest mitgeführt, um auch eine niedriggradige Vancomycin-Resistenz zu erkennen.

Im Mai 1996 fanden Hiramatsu et al. den ersten intermediär Vancomycin-resistenten *S. aureus*-Stamm (VISA) in Japan (38). Im August 1997 fand man bei einem Dialysepatienten aus Michigan den ersten VISA in den USA (11). Seitdem wird aus aller Welt über das Vorkommen von VISA berichtet. Unter den Betroffenen sind Dialysepatienten häufig vertreten (11, 86, 81). In der vorliegenden Untersuchung waren jedoch alle *S. aureus*-Stämme empfindlich gegenüber Vancomycin.

Erfreulicherweise wurden bisher noch keine *S. aureus*-Stämme mit höhergradiger Vancomycin-Resistenz nachgewiesen. Allerdings wurde unter Laborbedingungen von Noble et al. bereits gezeigt, dass eine Übertragung von hochgradiger Vancomycin-Resistenz von Enterokokken auf *S. aureus* möglich ist (72). Falls diese Übertragung unter natürlichen Bedingungen stattfindet, könnten Infektionen auftreten, die mit den momentan zur Verfügung stehenden Substanzen fast nicht mehr therapierbar wären.

Schlußfolgerungen

Aus der Untersuchung der Resistenzmuster der 465 Enterokokken-Stämme und der 304 *S. aureus*-Stämme lassen sich folgende Rückschlüsse für die klinische Praxis ableiten:

Die Resistenzrate der Enterokokken gegenüber Gentamicin betrug nur 5,4%. Da in anderen Untersuchungen aber auch für Gentamicin teilweise Resistenzraten von über 27% gefunden werden konnten, ist es empfehlenswert vor einem Therapieversuch ein Screening durchzuführen.

In der vorliegenden Arbeit wiesen nur 2,2% der untersuchten Enterokokken-Isolate eine Ampicillin-Resistenz auf. Ampicillin ist somit nach wie vor der geeignete Kombinationspartner für Aminoglykoside bei der Therapie von schweren Enterokokken-Infektionen.

β -Laktamasebildende Enterokokken scheinen in Europa seltener vorzukommen als in den USA. Daher ist die Kombination mit β -Laktamase-Hemmern bei Ampicillin-Resistenz in Deutschland nicht sinnvoll. Bei klinisch relevanten Isolaten sollte dennoch eine eventuelle β -Laktamase-Bildung mit Hilfe des Nitrocefin-Testes ausgeschlossen werden, um einem Therapieversagen von Ampicillin vorzubeugen, da aktuelle umfassende Untersuchungen in Europa zu diesem Resistenzphänomen der Enterokokken bislang fehlen.

Der geringe Anteil von Vancomycin-resistenten Enterokokken (0,9%) dürfte in der Praxis keine therapeutischen Probleme bereiten. Vor allem wenn man die günstigen Resistenzmuster der Isolate betrachtet (Abb. 4), bleiben bei den meisten Stämmen ausreichend Alternativen. Vancomycin ist daher nach wie vor Mittel der Wahl bei schweren Infektionen mit Aminoglykosid- oder Ampicillin-resistenten Enterokokken.

Für *S. aureus* scheidet Penicillin als therapeutischer Wirkstoff für eine empirische Therapie aus. Der Einsatz dieser Substanz ohne im Antibiogramm nachgewiesener Empfindlichkeit ist bei einer Resistenzrate von 76% obsolet. Wenn allerdings eine nachgewiesene Empfindlichkeit vorliegt ist Penicillin aufgrund seiner bakteriziden Wirkung und des günstigen Nebenwirkungsspektrums die wirksamste Substanz.

Die bei den Dialysepatienten in Deutschland gefundene Anzahl von MRSA-Stämmen ist erfreulicherweise sehr gering. Nachdem keine verminderte Empfindlichkeit gegenüber Vancomycin nachgewiesen wurde, ist diese Substanz nach wie vor Mittel der Wahl bei MRSA-Infektionen.

Obwohl die untersuchte Resistenzsituation bei süddeutschen Dialysepatienten weitaus günstiger ausgefallen ist, als erwartet, sollte man Maßnahmen ergreifen, die eine ähnlich große Verbreitung wie in den USA oder im südeuropäischen Raum verhindern. Hierzu ist es notwendig, die Verhaltensmaßnahmen zur Eindämmung von VRE und MRSA einzuhalten (39, 75). Im Vordergrund stehen hierbei sowohl bei VRE, als auch bei MRSA die Isolierung infizierter Patienten, eine wirksame Händedesinfektion und der restriktive Einsatz von Antibiotika, allen voran der des Vancomycins.

Es ist empfehlenswert eine regelmäßige Surveillance über das Vorkommen und das Resistenzverhalten von Problemkeimen durchzuführen. Nur so kann man Veränderungen und Problembereiche schnell erkennen und darauf reagieren.

6. Zusammenfassung

Gram-positive Kokken, insbesondere Staphylokokken und Enterokokken, haben im letzten Jahrzehnt als Ursache nosokomialer Infektionen zunehmend an Bedeutung gewonnen (87). Aus den USA und dem südeuropäischen Raum werden zudem sehr hohe Resistenz-Raten gemeldet. Eine besonders gefährdete Population stellen Dialysepatienten dar, auf die eine Vielzahl von Risikofaktoren, die Kolonisierung und Infektionen mit den beiden Keimen begünstigen, zutreffen. Studien, die das Vorkommen resistenter Keime bei Dialysepatienten untersuchen sind aber rar.

In der vorliegenden Arbeit wurde deshalb im Rahmen einer multizentrischen Studie die Prävalenz resistenter Enterokokken und *Staphylococcus aureus* bei Dialysepatienten im süddeutschen Raum untersucht. In 12 Dialysezentren aus dem süddeutschen Raum wurden Abstriche von Dialysepatienten entnommen und an die Studienzentrale in München gesendet. Dort wurden die Patientenproben auf das Vorkommen von Enterokokken und *S. aureus* hin untersucht.

Auf diese Weise wurden 594 Patienten auf das Vorkommen von resistenten Enterokokken und 618 auf das Vorkommen von *S. aureus* untersucht. Durchschnittlich konnten bei 78,3% der Patienten Enterokokken und bei 49,2% *S. aureus* gefunden werden.

Die isolierten Enterokokken zeigten in 20,3% auffällige Resistenzmuster. Bei diesen Stämmen wurde eine weitere Speziesidentifizierung durchgeführt. Zu 74,8% handelte es sich um *E. faecalis* und in 19,3% um *E. faecium*.

Bei 21,9% der untersuchten Enterokokken zeigte sich eine high-level Resistenz gegenüber Streptomycin. Nur 5,4% waren high-level Gentamicin-resistent und in 4,5% der Fälle lag eine high-level Resistenz gegenüber beiden Substanzen vor.

Gegenüber dem β -Laktam-Antibiotikum Ampicillin waren nur 2,2% der Enterokokken resistent. In keinem der Fälle konnte eine Produktion von β -Laktamase festgestellt werden.

Vancomycin-Resistenz lag bei 0,9% der Enterokokken vor. Phänotypisch handelte es sich stets um den VanB-Typ, der gegenüber Teicoplanin empfindlich bleibt. Alle gefundenen VRE stammten aus dem Dialysezentrum Bayreuth.

Die isolierten *S. aureus* Stämme waren mit 76,0% wie erwartet zum größten Teil resistent gegenüber Penicillin.

Bei nur 1,6% *S. aureus* wurde eine Methicillin- bzw. Multi-Resistenz entdeckt. Gering ist auch die Resistenz gegenüber Mupirocin ausgefallen. Nur ein *S. aureus* (0,33%) zeigte eine low-level Mupirocin-Resistenz.

Resistenz gegenüber Vancomycin wurde bei *S. aureus*-Stämmen nicht festgestellt.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigen relativ geringe Resistenzraten von Enterokokken und *S. aureus* bei Dialysepatienten. Um einen Anstieg der Resistenz zu vermeiden ist es in erster Linie wichtig, effektive Hygienemaßnahmen zu ergreifen und den Gebrauch von Antibiotika restriktiv zu handhaben. Regelmäßige Surveillance-Untersuchungen können helfen ein Ansteigen der Resistenzlage zu erkennen und schnell gegenzusteuern. Die Wirksamkeit infektionshygienischer Maßnahmen zeigte eine Studie, die das Vorkommen von VRE in Iowa, Nebraska und South Dakota von 1997 bis 1999 untersuchte. An den teilnehmenden 30 medizinischen Einrichtungen konnte das Vorkommen von VRE durch aktive Infektionskontrolle von 2,2% im Jahr 1997 auf 0,5% im Jahr 1999 gesenkt werden (74, S. 1430).

7. Verzeichnisse

Literaturverzeichnis

1. Arduino, R.C., Murray, B.E.: Vancomycin resistance in gram-positive organisms. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 6 (1993), 715-724.
2. Arthur, M., Courvalin, P.: Genetics and mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. *Antimicrob. Agents Chemother.* 37 (1993), 1563-1571.
3. Berman, D.S., Schäfler, S., Simberkoff, M.S., Rahal, J.J.: *Staphylococcus aureus* colonization in intravenous drug abusers, dialysis patients and diabetics. *J. Infect. Dis.* 155 (1987), 829-831.
4. Boyce, J.M., Opal, S.M., Potter-Bynoe, G., LaForge, R.G., Zervos, M.J., Furtado, G., Victor, G., Medeiros, A.A.: Emerge and nosocomial transmission of ampicillin-resistant enterococci. *Antimicrob. Agents Chemother.* 36 (1992), 1032-1039.
5. Boyce, J.M., Opal, S.M., Chow, J.W., Zervos, M.J., Potter-Bynoe, G., Sherman, C.B., Romulo, R.L., Fortna, S., Medeiros, A.A.: Outbreak of multi-drug resistant *Enterococcus faecium* with transferable vanB class vancomycin resistance. *J. Clin. Microbiol.* 32 (1994), 1148-1153.
6. Boyle, J.F., Soumakis, S.A., Rendo, A., Herrington, J.A., Gianarkis, D.G., Thurberg, B.E., Painter, B.G.: Epidemiologic analysis and genotypic characterization of a nosocomial outbreak of vancomycin-resistant enterococci. *J. Clin. Microbiol.* 31 (1993), 1280-1285.
7. Bradley, J.R., Evans, D.B., Calne, R.Y.: Long-term survival in haemodialysis patients. *Lancet* 1 (1987), 295-296.
8. Brown, A.R., Amyes, S.G., Paton, R., Plant, W.D., Stevenson, G.M., Winney, R.J., Miles, R.S.: Epidemiology and control of vancomycin-resistant enterococci (VRE) in a renal unit. *J. Hosp. Infect.* 40 (1998), 115-124.
9. Bugg, T.D., Dutka-Malen, S., Arthur, M., Courvalin, P., Walsh, C.T.: Identification of vancomycin resistance protein VanA as a D-alanine:D-alanine ligase of altered substrate specificity. *Biochemistry* 30 (1991), 2017-2021.
10. Casewell, M.W.: Epidemiology and control of the 'modern' methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Hosp. Infect.* 7 (Suppl. A) (1986), 1-11.
11. Centers for Disease Control and Prevention: Nosocomial enterococci resistant to vancomycin - United States 1989-1993. *MMWR Morb. Mortal Wkly. Rep.* 42 (1993), 597-599.
12. Centers for Disease Control and Prevention: Update: *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin - United States, 1997. *MMWR Morb. Mortal Wkly. Rep.* 46 (1997), 813-815.
13. Chow, J.W., Kuritza, A., Shlaes, D.M., Green, M., Sham, D.F., Zervos, M.J.: Clonal spread of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* between patients in three hospitals in two states. *J. Clin. Microbiol.* 31 (1993), 1609-1611.
14. Clark, N.C., Cooksey, R.C., Hill, B.C., Swenson, J.M., Tenover, F.C.: Characterization of glycopeptide-resistant enterococci from U.S. hospitals. *Antimicrob. Agents Chemother.* 37 (1993), 2311-2317.
15. Dahl, K.H., Simonsen, G.S., Olsvik, O., Sundsfjord, A.: Heterogeneity in the vanB gene cluster of genomically diverse clinical strains of vancomycin-resistant enterococci. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43 (1999), 1105-1110.

16. Davies, S.J., Ogg, C.S., Cameron, J.S., Poston, S., Noble, W.C.: *Staphylococcus aureus* nasal carriage, exit site infection and catheter loss in patients treated with continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD). *Perit. Dial. Int.* 9 (1989), 61-64.
17. Devriese, L.A., Pot, B., Collins, M.D.: Phenotypic identification of the genus *Enterococcus* and differentiation of phylogenetically distinct enterococcal species and species groups. *J. Appl. Bacteriol.* 75 (1993), 399-408.
18. Douboyas, J., Tsakris, A.: Prevalence of antibiotic resistance among enterococci isolated in Greece. *J. Antimicrob. Chemother.* 35 (1995), 237-238.
19. Dutka-Malen, S., Evers, S., Courvalin, P.: Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by PCR. *J. Clin. Microbiol.* 33 (1995), 24-27.
20. Dutka-Malen, S., Leclercq, R., Coutant, V., Duval, J., Courvalin, P.: Phenotypic and genotypic heterogeneity of glycopeptide resistance determinants in gram-positive bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* 34 (1990), 1875-1879.
21. Dutka-Malen, S., Molinas, C., Arthur, M., Courvalin, P.: The VanA glycopeptide resistance protein is related to D-alanyl-D-alanine ligase cell wall biosynthesis enzymes. *Mol. Gen. Genet.* 224 (1990), 364-372.
22. Eliopoulos, G.M., Farber, B.F., Murray, B.E., Wennersten C., Moellering R.C.Jr.: Ribosomal resistance of clinical enterococcal isolates to streptomycin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 25 (1984), 398-399.
23. Eliopoulos, G.M.: Increasing problems in the therapy of enterococcal infections. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 12 (1993), 409-412.
24. Facklam, R., Collins, M.D.: Identification of *Enterococcus* species isolated from human infections by a conventional test scheme. *J. Clin. Microbiol.* 27 (1989), 731-734.
25. Facklam, R., Elliot, J.A.: Identification, classification and clinical relevance of catalase-negative, gram positive cocci, excluding the streptococci and enterococci. *Clin. Microbiol. Rev.* 8 (1995), 479-495.
26. Facklam, R., Hollis, D., Collins, M.D.: Identification of gram-positive coccal and coccobacillary vancomycin-resistant bacteria. *J. Clin. Microbiol.* 27 (1989), 724-730.
27. Fines, M., Perichon, B., Reynolds, P., Sahm, D.F., Courvalin, P.: VanE, a new type of acquired glycopeptide resistance in *Enterococcus faecalis* BM4405. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43 (1999), 2161-2164.
28. Fontana, R., Canepari, P., Lleo, M.M., Satta, G.: Mechanisms of resistance of enterococci to beta-lactam antibiotics. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 9 (1990), 103-105.
29. Frei, U., Schober-Halstenberg, H.J.: Annual Report of the German Renal Registry 1998. QuaSi-Niere Task Group for Quality Assurance in Renal Replacement Therapy. *Nephrol. Dial. Transplant.* 14 (1999), 1085-1090.
30. Goossens, H.: Spread of vancomycin-resistant enterococci: differences between the United States and Europe. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 19 (1998), 546-551.
31. Grayson, M.L., Eliopoulos, G.M., Wennersten, C.B., Ruoff, K.L., De Girolami, P.C., Ferraro, M.J., Moellering, R.C.Jr.: Increasing resistance to beta-lactam antibiotics among clinical isolates of *Enterococcus faecium*: a 22-year review at one institution. *Antimicrob. Agents Chemother.* 35 (1991), 2180-2184.
32. Guiney, M., Urwin, G.: Frequency and antimicrobial susceptibility of clinical isolates of enterococci. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 12 (1993), 362-366.
33. Gullberg, R.M., Homann, S.R., Phair, J.P.: Enterococcal bacteremia: analysis of 75 episodes. *Rev. Infect. Dis.* 11 (1989), 74-85.

34. Hall, L.M.C., Duke, B., Urwin, G., Guiney, M.: Epidemiology of *Enterococcus faecalis* urinary tract infection in a teaching hospital in London, United Kingdom. *J. Clin. Microbiol.* 30 (1992), 1953-1957.
35. Handwerger, S., Raucher, B., Altarac, D., Monka, J., Marchione, S., Singh, K.V., Murray, B.E., Wolff, J., Walters, B.: Nosocomial outbreak due to *Enterococcus faecium* highly resistant to vancomycin, penicillin, and gentamicin. *Clin. Infect. Dis.* 16 (1993), 750-755.
36. Healy, S.P., Zervos, M.J.: Mechanisms of resistance of enterococci to antimicrobial agents. *Rev. Med. Microbiol.* 6 (1995), 70-76.
37. Herwaldt, L.A.: Reduction of *Staphylococcus aureus* nasal carriage and infection in dialysis patients. *J. Hosp. Infect.* 40 (Suppl. B) (1998), S13-S23.
38. Hiramatsu, K., Hanaki, H., Ino, T., Yabuta, K., Oguri, T., Tenover, F.C.: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J. Antimicrob. Chemother.* 40 (1997), 135-136.
39. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC): Recommendations for preventing the spread of vancomycin resistance. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 16 (1995), 105-113
40. Jarvis, W.R., Martone, W.J.: Predominant pathogens in hospital infections. *J. Antimicrob. Chemother.* 29 (Suppl. A) (1992), 19-24.
41. Jevons, M.P.: 'Celbenin'-resistant staphylococci. *Br. Med. J.* 1 (1961), 124-125.
42. Johnson, A.P.: The pathogenicity of enterococci. *J. Antimicrob. Chemother.* 33 (1994), 1083-1089.
43. Jones, R.N., Kehrberg, E.N., Erwin, M.E., Anderson, S.C.: Prevalence of important pathogens and antimicrobial activity of parenteral drugs at numerous medical centers in the United States, I. Study on the threat of emerging resistances: real or perceived? *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 19 (1994), 203-215.
44. Jones, R.N., Sader, H.S., Erwin, M.E., Anderson, S.C.: Emerging multiply resistant enterococci among clinical isolates. I. Prevalence data from 97 medical center surveillance study in the United States. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 21 (1995), 85-93.
45. Kirmani, N., Tuazon, C.U., Murray, H.W., Parrish, A.E., Sheagren, J.N.: *Staphylococcus aureus* carriage rate of patients receiving long-term hemodialysis. *Arch. Intern. Med.* 138 (1978), 1657-1659.
46. Klare, I., Witte, W.: Glykopeptidresistente Enterokokken: Auftreten, Verbreitung, Resistenzübertragung, Bedeutung. *Wien. Klin. Wochenschr.* 109 (1997), 293-300.
47. Konno, M.: Nosocomial infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Japan. *J. Infect. Chemother.* 1 (1995), 30-39.
48. Korff, A., Larson, E., Kumar, P., Peters, S., Jackson, D.: Vancomycin resistant *enterococcus* in a hospital-based dialysis unit. *ANNA J.* 25 (1998), 381-386.
49. Krause, R.M.: Dynamics of emerge. *J. Infect. Dis.* 170 (1994), 265-271.
50. Kreiswirth, B., Kornblum, J., Arbeit, R.D., Eisner, W., Maslow, J.N., McGeer, A., Low, D.E., Novick, R.P.: Evidence for a clonal origin of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Science* 259 (1993), 227-230.
51. Kresken, M., Hafner, D.: Prävalenz der Antibiotikaresistenz bei klinisch wichtigen Infektionserregern in Mitteleuropa. *Chemother. J.* 5 (1996), 225-230.
52. Landman, D., Quale, J.M., Burney, S., Kreiswirth, B., Willey, B.M.: Treatment of experimental endocarditis caused by multidrug resistant *Enterococcus faecium* with ramoplanin and penicillin. *J. Antimicrob. Chemother.* 37 (1996), 323-329.

53. Leclercq, R., Derlot, E., Duval, J., Courvalin, P.: Plasmid mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. N. Engl. J. Med. 319 (1988), 157-161.
54. Leclercq, R., Dutka-Malen, S., Duval, J., Courvalin, P.: Vancomycin resistance gene vanC is specific to *Enterococcus gallinarum*. Antimicrob. Agents Chemother. 36 (1992), 2005-2008.
55. Legler, F.: Laboratoriumserfahrungen mit Propizillin, Oxazillin und Ampizillin sowie ihre Bedeutung für die Klinik. Med. Klin. 60 (1965), 1494-1497.
56. Livornese, L.L.Jr., Dias, S., Samel, C., Romanowski, B., Taylor, S. May, P., Pitsakis, P., Woods, G., Kaye, D., Levison, M.E.: Hospital-acquired infection with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* transmitted by electric thermometers. Ann. Intern. Med. 117 (1992), 112-116.
57. Mandell, G.L., Kaye, D., Levison, M.E., Hook, E.W.: Enterococcal endocarditis. An analysis of 38 patients observed at the New York Hospital-Cornell Medical Center. Arch. Intern. Med. 125 (1970), 258-264.
58. McNamara, E.B., King, E.M., Smyth, E.G.: A survey of antimicrobial susceptibility of clinical isolates of *Enterococcus* spp. from Irish hospitals. J. Antimicrob. Chemother. 35 (1995), 185-189.
59. Miller, M.A., Dascal, A., Portnoy, J., Mendelson, J.: Development of mupirocin resistance among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* after widespread use of nasal mupirocin ointment. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 17 (1996), 811-813.
60. Moellering, R.C.Jr., Wennersten, C., Weinstein, A.J.: Penicillin-tobramycin synergism against enterococci: a comparison with penicillin and gentamicin. Antimicrob. Agents Chemother. 3 (1973), 526-529.
61. Moellering, R.C.Jr.: The enterococcus: a classic example of the impact of antimicrobial resistance on therapeutic options. J. Antimicrob. Chemother. 28 (1991), 1-12.
62. Moorhouse, E., Fenelon, L., Hone, R., Smyth, E., McGahon, J., Dillon, M.: *Staphylococcus aureus* sensitivity to various antibiotics - a national survey in Ireland 1993. Ir. J. Med. Sci. 165 (1996), 40-43.
63. Murray, B.E., Lopardo, H.A., Rubeglio, E.A., Frosolono, M., Singh, K.V.: Intrahospital spread of a single gentamicin-resistant, beta-lactamase-producing strain of *Enterococcus faecalis* in Argentina. Antimicrob. Agents Chemother. 36 (1992), 230-232.
64. Murray, B.E., Mederski-Samaroj, B.: Transferable beta-lactamase. A new mechanism for in vitro penicillin resistance in *Streptococcus faecalis*. J. Clin. Invest. 72 (1983), 1168-1171.
65. Murray, B.E., Mederski-Samaroj, B., Foster, S.K., Brunton, J.L., Harford, P.: In vitro studies of plasmid-mediated penicillinase from *Streptococcus faecalis* suggest a staphylococcal origin. J. Clin. Invest. 77 (1986), 289-293.
66. Murray, B.E., Singh, K.V., Markowitz, S.M., Lopardo, H.A., Patterson, J.E., Zervos, M.J., Rubeglio, E., Eliopoulos, G.M., Rice, L.B., Goldstein, F.W., Jenkins, S.G., Caputo, G.M., Nasnass, R., Moore, L.S., Wong, E.S., Weinstock, G.: Evidence for clonal spread of a single strain of beta-lactamase-producing *Enterococcus faecalis* to six hospitals in five states. J. Infect. Dis. 163 (1991), 780-785.
67. Murray, B.E.: Problems and perils of vancomycin resistant enterococci. Braz. J. Infect. Dis. 4 (2000), 9-14.
68. Murray, B.E.: Beta-lactamase-producing enterococci. Antimicrob. Agents Chemother. 36 (1992), 2355-2359.
69. Murray, B.E.: The life and the times of the *Enterococcus*. Clin. Microbiol. Rev. 3 (1990), 46-65.

70. National Comitee for Clinical Laboratory Standards: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically - fourth edition; approved standard M7-A4. NCCLS, Villanova, PA 1997, 4th edition.
71. Noble, W.C., Valkenburg, H.A., Wolters, C.H.L.: Carriage of *Staphylococcus aureus* in random samples of a normal population. J. Hyg. 65 (1967), 567-573.
72. Noble, W.C., Virani, Z., Cree, R.G.: Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from *Enterococcus faecalis* NCTC 12201 to *Staphylococcus aureus*. FEMS Microbiol. Lett. 72 (1992), 195-198.
73. Ohngke, H., Magnussen, H., Beckert, J.: *Staphylococcus aureus* in der Dialysestation. Dtsch. Med. Wochenschr. 110 (1985), 867-869.
74. Ostrowsky, B.E., Trick, W.E., Sohn, A.H., Quirk, S.B., Holt, S., Carson, L.A., Hill, B.C., Arduino, M.J., Kuehnert, M.J., Jarvis, W.R.: Control of vancomycin-resistant *enterococcus* in health care facilities in a region. N. Engl. J. Med. 344 (2001), 1427-1433
75. Panknin, H.T., Heuck, D., Witte, W.: Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) im Krankenhaus - Maßnahmen zur Infektionsverhütung. Krh. Hyg. Inf. Verh. 16 (1994), 66-71.
76. Panlilio, A.L., Culver, D.H., Gaynes, R.P., Banerjee, S., Henderson, T.S., Tolson, J.S., Martone, W.J.: Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in U.S. hospitals, 1975-1991. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 13 (1992), 582-586.
77. Perichon, B. Reynolds, P., Courvalin, P.: VanD-type glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium* BM4339. Antimicrob. Agents Chemother. 41 (1997), 2016-2018.
78. Raviglione, M.C., Mariuz, P., Pablos-Mendez, A., Battan, R., Ottuso, P., Taranta, A.: High *Staphylococcus aureus* nasal carriage in patients with aquired immunodeficiency syndrome or AIDS-related complex. Am. J. Infect. Control 18 (1990), 64-69.
79. Reissbrodt, R.: Lebensbedingungen der Staphylokokken. In: „Staphylokokken und Staphylokokken-Erkrankungen“, Meyer, W. (Hrsg.), Gustav Fischer, Jena 1984, 213-230.
80. Roberts, A.W., Visconti, J.A.: The rational and irrational use of systemic antimicrobial drugs. Am. J. Hosp. Pharm. 29 (1972), 828-834.
81. Rotun, S.S., McMath, V., Schoomaker, D.J., Maupin, P.S., Tenover, F.C., Hill, B.C., Ackman, D.M.: *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin isolated from a patient with fatal bacteremia. Emerg. Infect. Dis. 5 (1999), 147-149.
82. Schaberg, D.R., Culver D.H. Gaynes, R.P.: Major trends in the microbial etiology of nosocomial infection. Am. J. Med. 91 (1991), 79-82.
83. Schleifer, K.H., Kilpper-Bälz, R.: Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov.. Int. J. Syst. Bacteriol. 34 (1984), 31-34.
84. Schmitz, F.J., Lindenlauf, E., Hofmann, B., Fluit, A.C., Verhoef, J., Heinz, H.P., Jones, M.E.: The prevalence of low- and high-level mupirocin resistance in staphylococci from 19 European hospitals. J. Antimicrob. Chemother. 42 (1998), 489-495.
85. Shlaes, D.M., Gerding, D.N., John, J.F.Jr., Craig, W.A., Bornstein, D.L., Duncan, R.A., Eckman, M.R., Farrer, W.E., Greene, W.H., Lorian, V., Levy, S., McGowan, J.E.Jr., Paul, S.M., Ruskin, J., Tenover, F.C., Watanakunakorn, C.: Society for Healthcare Epidemiology of America and Infectious Diseases Society of America Joint Committee on the Prevention of Antimicrobial Resistance: guidelines for the prevention of antimicrobial resistance in hospitals. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 18 (1997), 275-291.

86. Sieradzki, K., Roberts, R.B., Haber, S.W., Tomasz, A.: The development of vancomycin resistance in a patient with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *N. Engl. J. Med.* 340 (1999), 517-523.
87. Spencer, R.C.: Predominant pathogens found in the European Prevalence of Infection in Intensive Care Study. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 15 (1996), 281-285.
88. Srugies, S., Rosenthal, E., Graben, N.: Häufigkeitszunahme von *Staphylococcus aureus*- und *Staphylococcus epidermidis*-Septikämien bei chronischen Dialysepatienten. *Med. Klin.* 81 (1986), 702-707.
89. Swartz, M.N.: Hospital acquired infections: diseases with increasingly limited therapies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91 (1994), 2420-2427.
90. Tenover, F.C., Tokars, J., Swenson, J., Paul, S., Spitalny, K., Jarvis, W.: Ability of clinical laboratories to detect antimicrobial agent-resistant enterococci. *J. Clin. Microbiol.* 31 (1993), 1695-1699.
91. Thompson, R.L., Cabezudo, I., Wenzel, R.P.: Epidemiology of nosocomial infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Ann. Intern. Med.* 97 (1982), 309-317.
92. Thornsberry, C., McDougal, L.K.: Successful use of broth microdilution in susceptibility tests for methicillin-resistant (heteroresistant) staphylococci. *J. Clin. Microbiol.* 18 (1983), 1084-1091.
93. Tsakris, A., Douboyas, J., Kyriakis, K.: Multidrug resistance among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Greece. *J. Chemother.* 8 (1996), 251-253.
94. Tuomanen, E., Durak, D.T., Tomasz, A.: Antibiotic tolerance among clinical isolates of bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* 30 (1986), 521-527.
95. Utrup, L.J., Finlay, J.E., Rittenhouse, S.F., Poupard, J.A.: Comparison of mupirocin susceptibility of nasal and nonnasal *Staphylococcus aureus* isolates. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 20 (1994), 171-174.
96. Uttley, A.H., Collins, C.H., Naidoo, J., George, R.C.: Vancomycin-resistant enterococci. *Lancet* 1(1988), 57-58.
97. Voss, A., Machka, K., Lenz, W., Milatovic, D.: Vorkommen, Häufigkeit und Resistenzverhalten von Methicillin-Oxacillin-resistenten *Staphylococcus aureus*-Stämmen in Deutschland. *Dtsch. Med. Wochenschr.* 117 (1992), 1907-1912.
98. Voss, A., Milatovic, D., Wallrauch-Schwarz, C., Rosendahl, V.T., Braveny I.: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 13(1) (1994), 50-55.
99. Voss, A.: Staphylokokken - Eine Keimgattung kehrt zurück. *Physis Spezial* 60 (1991), 1-60.
100. Wallrauch, C., Elsner, E., Milatovic, D., Cremer, J., Braveny, I.: Antibiotikaresistenz der Enterokokken in Deutschland. *Med. Klin.* 92 (1997), 464-468.
101. Williams, R.E.O.: Healthy carriage of *Staphylococcus aureus*: its prevalence and importance. *Bacteriol. Rev.* 27 (1963), 56-71.
102. Witte, W., Kresken, M., Bräulke, C., Cuny, C.: Increasing incidence and widespread dissemination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in hospitals in central Europe, with special reference to German hospitals. *Clin. Microbiol. Infect.* 3 (1997), 414-422.
103. Woodfort, N., Johnson, A.P., Morrison, D., Speller, D.C.: Current perspectives on glycopeptide resistance. *Clin. Microbiol. Rev.* 8 (1995), 585-615.
104. Wright, G.D., Ladak, P.: Overexpression and characterization of the chromosomal aminoglycoside 6'-N-acetyltransferase from *Enterococcus faecium*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 41 (1997), 956-960.

105. Yu, V.L., Goetz, A., Wagener, M., Smith, P.B., Rihs, J.D., Hanchett, J., Zuravleff, J.J.: *Staphylococcus aureus* nasal carriage and infection in patients on hemodialysis. Efficacy of antibiotic prophylaxis. N. Engl. J. Med. 315 (1986), 91-96.

Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
° C	Grad Celsius
µg	Mikrogramm
Abb.	Abbildung
AIDS	acquired immune(o) deficiency syndrome
Aqua ad inj.	Wasser zu Injektionszwecken
Aqua dest.	destilliertes Wasser
ATCC	American Type Culture Collection
BHI	Brain-Heart Infusion
BORSA	borderline oxacillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CAPD	kontinuierlich ambulante Peritonealdialyse
CDC	Centers for Disease Control
cm	Zentimeter
CNA-Agar	Colistin-Nalidixinsäure Agar
E.	Enterococcus
et al.	et alii
f.	folgende
h	Stunden
HCl	Salzsäure
HICPAC	Hospital Infection Control Practices Advisory Committee
HLGR	high-level Gentamicin-Resistenz
HLSR	high-level Streptomycin-Resistenz
IgG	Immunglobulin G
l	Liter

m	Meter
mg	Milligramm
MHK	Minimale Hemmkonzentration
min	Minuten
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MRSA	Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>
n	Anzahl
NaCl	Natriumchlorid
NCCLS	National Comitee for Clinical Laboratory Standards
PBP	Penicillin-Bindungsproteine
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
spp.	Subspezies
Tab.	Tabelle
TSA	Trypticase-Soja-Agar
u.a.	unter anderem
v.a.	vor allem
vgl.	vergleiche
VISA	Vancomycin-intermediär-resistenter <i>S. aureus</i>
VRE	Vancomycin-resistente Enterokokken
VRSA	Vancomycin-resistenter <i>S. aureus</i>
w	weiblich
z.T.	zum Teil
EU	Europäische Union
HL	high-level

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1	Anzahl der untersuchten Patienten pro Dialysezentrum sowie die Anzahl der dort isolierten Enterokokken- und <i>S. aureus</i> -Stämme	28
Abb. 2	Enterokokken-Isolationsraten in den einzelnen Dialysezentren	32
Abb. 3	Anzahl der verschiedenen Enterokokken-Spezies in den einzelnen Dialysezentren	33
Abb. 4	Verteilung der verschiedenen Aminoglykosid-Resistenzen in den einzelnen Dialysezentren	35
Abb. 5	Resistenzmuster der Vancomycin-resistenten Enterokokken	38
Abb. 6	<i>S. aureus</i> -Isolationsraten in den einzelnen Dialysezentren	39
Abb. 7	Anteil Penicillin-Resistenter <i>S. aureus</i> in den einzelnen Dialysezentren	40
Abb. 8	Resistenzmuster der MRSA-Stämme	41

Tabellenverzeichnis

Tab. 1	Intrinsische und erworbene Antibiotikaresistenz bei Enterokokken	4
Tab. 2	Durch <i>S. aureus</i> hervorgerufene Erkrankungen	9
Tab. 3	Verwendete Antibiotika-Testblättchen für <i>S. aureus</i> und deren Hemmzonendurchmesser nach den Richtlinien des NCCLS	23
Tab. 4	Verwendete Antibiotika-Testblättchen für Enterokokken und deren Hemmzonendurchmesser nach den Richtlinien des NCCLS	23
Tab. 5	Bewertungsrichtlinien der im E-Test abgelesenen MHK-Werte nach den Richtlinien des NCCLS	27
Tab. 6	Demographische Patientendaten	29
Tab. 7	Die häufigsten Grunderkrankungen	30
Tab. 8	Häufigkeit infektiöser Komplikationen	31
Tab. 9	Speziesdifferenzierung der Enterokokken mit auffälligem Resistenzmuster	33
Tab. 10	Übersicht der Ampicillin-resistenten Enterokokkenstämme	36
Tab. 11	Resistenzmuster Vancomycin-resistenter Enterokokken-Stämme	37
Tab. 12	Resistenzmuster der isolierten MRSA-Stämme	41

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt

- Herrn Prof. Dr. I. Braveny für die Überlassung des interessanten Themas dieser Dissertation sowie für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und der notwendigen finanziellen Mittel.
- Frau Dr. C. Wallrauch für die engagierte Betreuung und tatkräftige Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit.
- Frau C. Wagner für ihre besonders große Hilfe und Unterstützung im Labor.
- Frau V. Vatou, Frau H. Balg, M. Chihaiia für die Unterstützung in Labor.
- Frau Mayer R. und Duvnjak K. für die große Hilfe bei der Erstellung der Formulare, dem Versand der Studienmaterialien und v.a. während der Korrekturphase der Arbeit.
- Allen weiteren Mitarbeitern der Abteilung für Infektionshygiene, die durch ihre stets freundliche und hilfsbereite Art sehr zum Gelingen dieser Arbeit beitrugen.
- Allen Teilnehmern der Studie für die gute Zusammenarbeit und Unterstützung, ohne die diese Studie nicht möglich gewesen wäre.

Lebenslauf

Name: Helmut Novotny
Geburtsdatum: 19.09.1972
Geburtsort: Fürstenzell
Familienstand: ledig

1979-1983 Grundschole Fürstenzell
1983-1992 Maristengymnasium Fürstenzell, Abschluß: Abitur
1992-1993 Zivildienst, Ambulante Alten- und Krankenpflege und
Essen auf Rädern, Arbeiterwohlfahrt Passau
1993-1995 Studium der Humanmedizin, Universität Regensburg
1995-2000 Studium der Humanmedizin, Technische Universität
München

Praktisches Jahr

26.04.99 - 15.08.99 II. Med. Abteilung, KKH München-Pasing
16.08.99 - 05.12.99 Chirurgische Abteilung, KKH München-Pasing
06.12.99 – 18.02.00 Urologische Klinik und Poliklinik, Klinikum rechts der
Isar, München

Arzt im Praktikum

Seit 15.10.2000 Arzt im Praktikum, Kreisklinik Fürstfeldbruck,
Abteilung für Allgemein- und Viszeralchirurgie

Ärztliche Prüfungen:

März 1996 Ärztliche Vorprüfung
März 1997 Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung
April 1999 Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
Mai 2000 Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung