Nosokomiale Infektionen durch Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus*-Stämme im Großraum Düsseldorf

Nosocomial Infections Caused by Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-strains in the Extended Area of Düsseldorf

F.-J. Schmitz^{1,2}, R. Geisel¹, S. Wagner¹, W. Lenz³, V. Kamla¹, H.P. Heinz¹

Zusammenfassung: Während eines Zeitraumes von 3 Jahren wurden bei 7.814 *S. aureus*-Isolaten aus dem Großraum Düsseldorf in 489 Fällen (6.3%; 198 Erst-, 291 Folgeisolate) Methicillin-resistente *S. aureus*-Stämme (MRSA) beobachtet. Abhängig von den ein-sendenden Krankenhäusern bewegte sich der Anteil der MRSA an den *S. aureus*-Isolaten zwischen < 1% und 8%. Die Typisierung der Erstisolate mit Hilfe der Pulsfeld-Gelelektrophorese (PFGE) sowie durch Lysotypie war in über 90% der Ergebnisse übereinstimmend. Insgesamt wurden 29 MRSA-Typen in unterschiedlicher Frequenz nachgewiesen. Während des gehäuftten Auftretens von nosokomialen Infektionen auf einer chirurgischen Intensivstation konnte durch Charakterisierung der 204 MRSA-Isolaten mit beiden Identifizierungsmethoden nachgewiesen werden, daß 7 verschiedene, zum Teil parallele Infektionsketten vorlagen, die durch unterschiedliche MRSA-Typen bedingt waren. Durch krankenhaushygienische Maßnahmen wurde die Zahl neu isolierter MRSA auf dieser Station deutlich gesenkt. Der Anteil von MRSA an allen *S. aureus*-Stämmen war auf Intensivstationen und in chirurgischen Abteilungen mit 25,5% bzw. 13,0% am höchsten. In den unterschiedlichen Probenmaterialien fiel mit 17,6% der besonders hohe Anteil an MRSA in Trachealsekret/Bronchialsekret auf, gefolgt von 12,8% an Katheterspitzen. Die MRSA-Stämme waren auch gegenüber Gentamicin und den Gyrasehemmern resistent, während mit Fusidinsäure, Chloramphenicol und Co-Trimoxazol eine in-vitro-Empfindlichkeit zwischen 80% und 90% gegeben war. Gegenüber den Glycopeptiden Vancomycin und Teicoplanin sind derzeit noch 100% der untersuchten MRSA-Stämme sensibel.

Schlüsselwörter: Nosokomiale Infektionen/Epidemiologie; Staphylokokkenkrankungen/Epidemiologie; Methicillin-Resistenz; Pulsfeld-Gelelektrophorese; DNA Fingerprinting; Lysotypie.

Summary: In 7.814 *S. aureus*-isolates obtained from hospitals in the extended area of Düsseldorf methicillin-resistant *S. aureus*-strains (MRSA) were observed in 489 cases (6.3%; 198 first-, 291 follow-up isolates) during a time period of 3 years. The relative fraction of MRSA within the total *S. aureus*-isolates ranged between < 1% and 8% depending on the hospital involved. Typing of the MRSA-strains with a pioneered instrument for the standardized pulse-field-gel-electrophoresis or by lysotyping yielded concordant results in more than 90%. At the whole 29 different MRSA-types were found. During the frequent occurrence of nosocomial infections on a surgical intensive care unit 204 MRSA-isolates were obtained. Typing of the MRSA identified 7 different, in part parallel chains of infection on this station which could be referred to different MRSA types. As a result of intensified hygienic measures the number of newly isolated MRSA could be clearly reduced on this ward. The fraction of MRSA within the total of *S. aureus*-strains varied considerably between the different clinical departments. It was relatively high in intensive care units and surgical wards (25,5% and 13,0%, respectively). Frequently MRSA was found in tracheal or bronchial secretions (17,6%), followed by 12,8% at catheter tips. The MRSA-strains investigated were also resistant to gentamicin and chinolones whereas 80% to 90% of these strains were sensitive to fosfomycin, fusidic acid, chloramphenicol and trimethoprim/sulfamethoxazole. At present, still 100% of the MRSA-strains investigated are susceptible to glycopeptides such as vancomycin and teicoplanin.

¹ Institut für Medizinische Mikrobiologie und Virologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (Direktor: Prof. Dr. med. U. Hadding)

² Korrespondenzadresse: Dr. med. F.-J. Schmitz, Institut für Medizinische Mikrobiologie und Virologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Geb. 22.21, Universitätsstraße 1, D-40225 Düsseldorf. Fax: +49-211-311-5323

³ Nationales Referenzzentrum für die Lysotypie von *Staphylococcus aureus*, Institut für Medizinische Mikrobiologie und Immunologie der Universität Bonn (Direktor: Prof. Dr. med. K. P. Schaal)
Eingegangen am 30. Aug. 1995 / Angenommen am 30. Nov. 1995

Key words: Cross Infections/epidemiology; Staphylococcal Infections/epidemiology; Methicillin Resistance; Electrophoresis, Gel, Pulsed-Field; DNA Fingerprinting; Bacteriophage Typing.

Nosokomiale Infektionen sind eine wichtige Ursache für Morbidität und Mortalität im Krankenhaus. In den USA kommt es bei 5,7% stationär behandelter Patienten zum Ausbruch einer nosokomialen Infektion [1,2]. Die Verhältnisse dürften in Deutschland vergleichbar sein, so daß sich die Zahl der während eines stationären Aufenthaltes erworbenen Erkrankungen in einer Größenordnung von 500.000 bis zu 1.000.000 pro Jahr bewegt [3]. Dabei zählt *S. aureus* als Erreger von Wundinfektionen, Pneumonien und Septikämien zu den Hauptverursachern nosokomialer Infektionen. Etwa 12% aller Infektionen im Krankenhaus sind auf diesen Keim zurückzuführen. Je nach Region und Klinik sind zwischen 1% und 40% der *S. aureus*-Isolate Methicillin-resistent. Bei den MRSA-Isolaten treten nicht nur Resistenzen gegen Betalactam-Antibiotika, sondern auch gegen die meisten Nicht-Betalactam-Antibiotika auf. Dadurch wird der therapeutische Spielraum des behandelnden Arztes erheblich eingeengt [4,5]. Aufgrund epidemiologischer und mikrobiologischer Untersuchungen ist das Risiko einer MRSA-Infektion während des stationären Aufenthaltes besonders hoch bei Patienten auf Verbrennungs- und Intensivstationen, Patienten chirurgischer Abteilungen sowie bei Personen mit länger liegenden venösen bzw. arteriellen Kathetern [2,6].

Molekulargenetisch liegt der intrinsischen Resistenz der MRSA-Stämme die Synthese eines zusätzlichen Penicillin-bindenden Proteins (PBP) neben den bereits bekannten PBPs zugrunde. Üblicherweise binden alle Betalactam-Antibiotika (Penicilline, Cephalosporine, Carbapeneme, Monobactame) an die PBPs kovalent und meist stabil mit dem am Ende einer Reaktionskette stehenden Synthesestop des Peptidoglykannetzes sowie dem Zelltod durch Autolyse.

Aufgrund seiner geringen Affinität gegenüber den Betalactam-Antibiotika kann das PBP 2a die physiologische Funktion der von den Betalactamen inaktivierten übrigen PBPs bei der Zellwandbiosynthese übernehmen. Damit entsteht ein alternativer Stoffwechselweg zur Bildung einer intakten Bakterienzellwand, den die Betalactam-Antibiotika nicht mehr blockieren können. Die Folge davon ist eine Resistenz der MRSA-Isolate gegenüber allen Antibiotika mit Betalactam-Struktur. Da diese Resistenz bei vielen *S. aureus*-Stämmen nur von einem sehr geringen Anteil der Zellen einer Population exprimiert wird (Heteroresistenz), kann sie deshalb leicht übersehen werden [7]. Das Protein PBP 2a wird durch das mec A-Gen kodiert, dem damit eine zentrale Bedeutung für die Ausbildung einer Methicillin-Resistenz zukommt [4,8,9]. Zusätzlich sind aber noch weitere Gene an un-

terschiedlichen Stellen des Staphylokokken-Chromosoms identifiziert worden, deren Inaktivierung zu einer Reduktion der Methicillin-Resistenz und einer Verringerung der Peptidoglykan-Synthese führen [8,10,11].

In den Jahren 1992, 1993, 1994 und auch noch 1995 konnten im Düsseldorfer Institut für Medizinische Mikrobiologie und Virologie gehäuft MRSA-Stämme isoliert werden. Auffällig war hierbei insbesondere eine starke Zunahme auf einer chirurgischen Intensivstation im Großraum Düsseldorf. Aufgrund der therapeutischen Probleme und mikrobiologischer Fragestellungen wurden Häufigkeit, Vorkommen und Resistenzverhalten aller isolierten MRSA-Stämme von Februar 1993 bis Mai 1995 untersucht. Zum Nachweis der klonalen Identität der MRSA-Isolate und zur Überprüfung von Infektionswegen bzw. Infektionsquellen erfolgte eine Typisierung der MRSA-Stämme mit einem genotypischen (Pulsfeld-Gelelektrophorese) und einem phänotypischen Verfahren (Lysotypie). Zur PFGE wurde das neuentwickelte GenePath Strain Typing System® eingesetzt, mit dem eine standardisierte genotypische Charakterisierung der Isolate möglich ist.

Material und Methoden

MRSA-Isolate

Ab Februar 1993 bis Mai 1995 wurden alle isolierten *S. aureus*-Stämme aus dem Untersuchungsbereich des Instituts für Medizinische Mikrobiologie und Virologie im Großraum Düsseldorf-erfaßt. Für die weiteren Auswertungen standen Angaben über den Patienten-namen zur Identifikation der Probe, die einsendende klinische Abteilung, das Untersuchungsmaterial sowie das Antibiotikaresistenzverhalten zur Verfügung. Die isolierten MRSA-Stämme wurden einer aufwendigen zusätzlichen Identifizierungsprozedur (s.u.) unterzogen, um die Ergebnisse bezüglich Resistenztestung sowie genotypischer und phänotypischer Identifizierung abzusichern. In die statistische Auswertung gingen sowohl Erst- als auch Folgeisolate ein. Die Relation Erst- zu Folgeisolat wurde für die MRSA-Stämme genau erfaßt (insgesamt 489 MRSA-Stämme im gesamten Untersuchungszeitraum, davon 198 Erstisolate gegenüber 291 Folgeisolaten).

Identifikationsreaktionen

Die isolierten Koagulase-positiven Methicillin-resistenten *S. aureus*-Stämme wurden zur Verifizierung der Spezieszuordnung mit Hilfe der folgenden Bestätigungsverfahren zusätzlich untersucht:

1. Katalase
2. Röhrchenkoagulase [Bacto Coagulase Plasma EDTA-Test®, Fa. Difco, Augsburg]
3. Nuklease (DNase)
4. anaerobe Mannitspaltung
5. biochemische Identifikation (api-System [api Staph®], Fa. bioMérieux, Nürtingen).

Nicht standardisierte Abkürzungen: ATCC, American Type Culture Collection; MRSA, Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*; PBP, Penicillin Binding Protein; PFGE, Pulsed-Field-Gel-Elektrophoresis; *S. aureus*, *Staphylococcus aureus*.

Für die weiteren Tests wurden nur Isolate eingesetzt, die Katalase-, DNase- und Röhrenkoagulase-positiv waren und bei denen eine anaerobe Mannit-spaltung nachgewiesen werden konnte. Zusätzlich mußte eine biochemische Identifikation als *S. aureus* vorliegen.

Als Positivkontrolle wurden jeweils Ansätze mit bekannten Koagulase-positiven *S. aureus*-ATCC-Stämmen (Nr. 12600, 29213, 33591, 33592 und 33593) verwendet.

Resistenztestung

Die separate Resistenztestung gegenüber Oxacillin wurde mittels Agar-Diffusionstest (nach DIN 58940) auf Mueller-Hinton-Agar (Zusatz von 2% NaCl) unter Verwendung von Testblättchen (5 µg Oxacillin pro Testblättchen, Fa. Becton Dickinson) durchgeführt. Die dicht beimpften Agar-Platten wurden für 48 Stunden bei 30 °C bebrütet.

Da der international gebräuchliche Begriff „Methicillin-resistenter *S. aureus*“ ist, wurde im Text „MRSA“ verwendet, obgleich die eigentliche Resistenztestung gegenüber Oxacillin erfolgte.

Die Resistenztestung der *S. aureus*-Isolate gegenüber den unten aufgeführten Antibiotika erfolgte auf Mueller-Hinton-Agar unter Verwendung von Testblättchen nach DIN-Norm 58940 [12]. In Klammern sind die jeweiligen Antibiotika-Gruppen aufgeführt:

- Penicillin (Pename)
- Imipenem (Carbapenem)
- Gentamicin, Netilmicin (Aminoglykoside)
- Tetracyclin (Tetracycline)
- Ciprofloxacin, Ofloxacin (4-Chinolone, Gyrasehemmer)
- Co-Trimoxazol (Trimethoprim-Sulfonamid-Kombination)
- Erythromycin (Makrolide)
- Clindamycin (Lincosamide)
- Teicoplanin, Vancomycin (Glykopeptide).

Bei den MRSA-Isolaten wurden zusätzlich Resistenztestungen gegenüber den folgenden Antibiotika durchgeführt:

- Chloramphenicol
- Fosfomycin
- Fusidinsäure
- Mupirocin
- Rifampicin (Ansamycine).

Die dicht beimpften Agarplatten wurden jeweils für 24 Stunden bei 37 °C bebrütet. Aufgrund der Hemmhofdurchmesser wurde anhand der Grenzwerte aus der o.g. DIN-Vorschrift eine Einteilung in „sensibel“ (S), „intermediär“ (I) und „resistent“ (R) vorgenommen.

Genotypische Charakterisierung mit Hilfe der PFGE

Von mehreren Autoren wurde die hohe Diskriminationsfähigkeit der PFGE bei unterschiedlichen Infektionserregern hervorgehoben und als „Golden Standard“ der molekularen Epidemiologie bezeichnet

[13,14,15,16]. Zur Puls-Feld-Gel-Elektrophorese wurde das neu entwickelte GenePath Strain Typing System® (Fa. BioRad, München) eingesetzt. Während bei den bisherigen Systemen die Reagenzien und Versuchsbedingungen vom Benutzer z. T. selbst hergestellt bzw. ausgearbeitet werden mußten, liegen nun konfektionierte Reagenziensätze vor. Die jeweils zu verwendenden optimierten, spezifischen und standardisierten PFGE-Programme sind für die einzelnen Bakterienspezies im Gerät eingespeichert.

Der genaue Arbeitsablauf, die Inkubations- und Reaktionsbedingungen bei diesem System, die visuelle Auswertung der entstandenen Bandenmuster sowie die Klassifikationskriterien verschiedener MRSA-Typen sind in einer früheren Publikation bereits ausführlich dargestellt worden [36].

Phänotypische Charakterisierung mit Hilfe der Lysotypie

Die Lysotypie ermöglicht eine Differenzierung von *S. aureus* Stämmen mit Hilfe von Bakteriophagen, die *S. aureus* als Wirt benutzen. Ist der zu prüfende Stamm für den jeweiligen Phagen empfänglich, kommt es zur intrazellulären Phagenvermehrung und konsekutiv zur Lyse der Bakterienzelle. Für die Typisierung wird der internationale Standardsatz von Phagen (IPS) verwendet; dieser hat folgende Zusammensetzung:

- Lytische Gruppe I: 29, 52, 52A, 79, 80
- Lytische Gruppe II: 3A, 3C, 55, 71
- Lytische Gruppe III: 6, 42E, 47, 53, 54, 75, 77, 83A, 84, 85
- Lytische Gruppe V: 94, 96
- Lytische Gruppe M: 81, 95.

Neben dem IPS werden in den meisten Testzentren noch regionale Zusatzphagen (ZP) eingesetzt. Im Referenzlabor in Bonn sind dies z.Zt. die Phagen D11, 16, 92, 187 und 192.

Einzelne *S. aureus*-Stämme können sich durch ihr Phagenreaktionsmuster unterscheiden. Gleichartige Reaktionsmuster weisen auf ein einheitliches Infektionsgeschehen hin. Die Phagentypisierung (= Lysotypie) von *S. aureus* wird international unter standardisierten Bedingungen durchgeführt [17,18,19].

Ergebnisse

Im Zeitraum von Februar 1993 bis April 1995 wurden aus unterschiedlichen Untersuchungsmaterialien mehrerer Düsseldorfer Krankenhäuser insgesamt 7.814 *S. aureus*-Stämme isoliert. Hierbei handelte es sich sowohl um Erst- als auch um Folgeisolate. Von den 7.814 Stämmen waren 7.325 gegenüber Methicillin sensibel (93,7%), 489 dagegen resistent (6,3%). Bei 198 (40%) der insgesamt 489 MRSA-Stämme handelte es sich um Erstisolate von verschiedenen Patienten. Diese Erstisolate wurden zur genotypischen bzw. phänotypischen Charakterisierung eingesetzt, um Informationen über die epidemiologische Ausbreitung von MRSA-Isolaten im Großraum Düsseldorf sowie Hin-

Tabelle 1 Anteil von Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus*-Stämmen (MRSA) in den verschiedenen klinischen Abteilungen

Klinische Abteilung	S. aureus-Isolate (N)	MRSA (%)
Chirurgie (inkl. Neurochirurgie)	2386	13,0
Innere Medizin	2078	6,3
Pädiatrie	1068	1,9
Dermatologie	1029	0,6
Gynäkologie	329	0
HNO	294	1,0
Orthopädie	127	3,1
Urologie	102	0
Strahlentherapie	95	3,2
Augenheilkunde	72	0
Neurologie	60	0
Zahn- u. Kieferheilkunde	41	0
Sonstige (z. B. Rechtsmedizin)	133	6,8
Gesamt	7814	6,25
<i>Intensivstationen</i>	<i>1155</i>	<i>25,5</i>

Tabelle 2 Verteilung der *Staphylococcus aureus*-Isolate nach der Entnahmestelle des Untersuchungsmaterials

Untersuchungsmaterial	S. aureus-Isolate (N)	MRSA (%)
Abstrich Haut/Schleimhaut	3406	2,5
Abstrich Wunde	1155	4,0
Trachealsekret/Bronchialsekret	1068	17,6
Rachensekret/Sputum	639	10,6
Blutkultur	434	7,3
Katheterspitze	218	12,8
Urin	195	3,6
Drainagesekret	192	6,8
Sonstige	507	4,3
Gesamt	7814	

weise über mögliche Infektionswege und -quellen bei Verdacht auf nosokomiale Infektionen zu erhalten.

Beurteilt man die Häufigkeit der MRSA-Isolate in den sich an der Untersuchung beteiligenden Düsseldorf Kliniken, so bewegt sich die relative Häufigkeit aller MRSA-Stämme (Erst- und Folgeisolate), bezogen auf die Gesamtheit der *S. aureus*-Isolate, zwischen < 1% und 8%.

MRSA konnten in allen einsendenden Krankenhäusern aus dem Großraum Düsseldorf nachgewiesen werden. Insgesamt wurden MRSA auf 75 verschiedenen Stationen gefunden; gehäuft traten sie auf chirurgischen und internistischen Intensivstationen auf. Hier sind allerdings deutliche Unterschiede hinsichtlich des prozentualen Anteils zwischen einzelnen Stationen festzustellen. Von insgesamt 244 MRSA-Isolaten in der chirurgischen Abteilung eines einzigen Krankenhauses fanden sich allein 204 MRSA (davon 48 Erstisolate) auf der chirurgischen Intensivstation (84%). Der Anteil gefundener MRSA-Stämme in der gesamten chirurgischen Abteilung dieser Klinik entsprach fast 66% aller in der Klinik (auch internistische u. a.

Tabelle 3 Resistenzverhalten der isolierten Methicillin-sensiblen *Staphylococcus aureus*-Stämme gegenüber verschiedenen Antibiotika (n = 7.325)

Antibiotikum	Sensibel (%)	Intermediär (%)	Resistent (%)
Penicillin	24,6	–	75,4
Imipenem	100	0	0
Gentamicin	96,6	0,6	2,8
Netilmicin	98,6	0,9	0,5
Tetracyclin	88,5	2,5	9,0
Ciprofloxacin	88,0	9,8	2,2
Ofloxacin	94,1	4,1	1,8
Co-Trimoxazol	97,2	0,3	2,5
Erythromycin	88,8	0,2	11,0
Clindamycin	97,5	0	2,5
Teicoplanin	100	0	0
Vancomycin	100	0	0

Tabelle 4 Resistenzverhalten der isolierten Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus*-Stämme gegenüber verschiedenen Antibiotika (n = 489)

Antibiotikum	Sensibel (%)	Intermediär (%)	Resistent (%)
Penicillin	0	–	100
Imipenem	0	0	100
Gentamicin	0	0	100
Netilmicin	21,8	58,5	19,7
Tetracyclin	4,0	17,4	78,7
Ciprofloxacin	0	0	100
Ofloxacin	0	0	100
Co-Trimoxazol	84,4	5,7	9,9
Erythromycin	9,9	0	90,1
Clindamycin	16,4	0	83,6
Teicoplanin	100	0	0
Vancomycin	100	0	0

Nachgetestete Antibiotika

Chloramphenicol	88,3	0	11,7
Fosfomycin	84,6	0	15,4
Fusidinsäure	83,5	0	16,5
Mupirocin	85,7	0	14,3
Rifampicin	24,4	0	75,6

Stationen mit eingerechnet) beobachteter MRSA-Isolate.

In Tabelle 1 wird die prozentuale Häufigkeit von Methicillin-resistenten *S. aureus*-Stämmen in den verschiedenen klinischen Abteilungen der einsendenden Häuser dargestellt. Auffällig ist hierbei der relativ hohe MRSA-Anteil in den chirurgischen (inkl. neurochirurgischen) und intensivmedizinischen Stationen. Zur Objektivierung der Daten sollte allerdings der bemerkenswert hohe Anteil an MRSA auf der o.g. chirurgischen Intensivstation eines einzigen Krankenhauses berücksichtigt werden, was zu einer artifiziellen Verzerrung der Daten führen kann.

Allerdings ist bekannt, daß chirurgische und intensivmedizinische Abteilungen aufgrund langer Liegezeiten der Patienten, einem engen und häufigen Kontakt zwischen Pflegepersonal und Behandeltem, ei-

Abbildung 1 Anzahl der isolierten MRSA-Stämme pro Monat bei n=48 Patienten von einer chirurgischen Intensivstation im Großraum Düsseldorf

nem hohen Antibiotikaverbrauch und vieler möglicher Eintrittspforten (venöse u./o. arterielle Zugänge, Trachealkanülen, Blasenkatheter u.ä.) besonders anfällig für das Auftreten von MRSA-Stämmen sind [1,4,6,20].

Tabelle 2 gibt die Verteilung der Staphylokokken-Isolate in Bezug auf die Entnahmestelle des Untersuchungsmaterials wider. Der prozentuale Anteil an MRSA-Stämmen war am höchsten unter den Staphylokokken-Isolaten aus Trachealsekret/Bronchialsekret (17,6%) bzw. Rachensekret/Sputum (10,6%). An Katheterspitzen fanden sich 12,8% MRSA. Hinsichtlich der prozentualen Verteilung von Untersuchungsmaterialien mit MRSA-Nachweis gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen der o.g. chirurgischen Intensivstation und der Gesamtheit aller Abteilungen.

Tabelle 3 und 4 geben einen Überblick über das Resistenzverhalten der isolierten Methicillin-sensiblen und Methicillin-resistenten *S. aureus*-Stämme gegenüber verschiedenen Antibiotika.

Die Methicillin-sensiblen Staphylokokken waren in 75,4% der Fälle resistent gegenüber Penicillin. Auf die übrigen getesteten Antibiotika reagierten $\geq 88\%$ sensibel.

Die untersuchten MRSA-Isolate waren multiresistent. Eine 100%-ige Resistenz fand sich auch gegenüber Gentamicin (Aminoglykosid), Ofloxacin und Ciprofloxacin (Gyrasehemmer). Besonders wirksam mit einer in-vitro-Empfindlichkeit zwischen 80% und 90% zeigten sich Fosfomycin, Fusidinsäure, Mupirocin, Chloramphenicol und Co-Trimoxazol. Gegenüber den Glykopeptiden Vancomycin und Teicoplanin waren 100% der getesteten Isolate sensibel, so daß diese zur Zeit den Klinikern noch für eine wirksame Therapie von MRSA-Stämmen zur Verfügung stehen.

Die Analyse des Antibiotika-Resistenzverhaltens der MRSA-Isolate auf der o.g. chirurgischen Intensivstation ergab mit Ausnahme einer gesteigerten Resistenz ge-

genüber Rifampicin keinen Hinweis auf ein signifikant verändertes Resistenzverhalten hinsichtlich der übrigen Antibiotika. Die MRSA-Isolate der o.g. Intensivstation waren in 95% der Fälle resistent gegenüber Rifampicin; demgegenüber verhielten sich allerdings lediglich 55% der MRSA aller übrigen Stationen resistent in Bezug auf Rifampicin. Der Grund für diesen Unterschied bleibt unklar. Ein erhöhter Selektionsdruck oder die nosokomiale Ausbreitung primär Rifampicin-resistenter Stämme sind mögliche Erklärungen.

In Abbildung 1 ist die Anzahl der isolierten MRSA-Stämme pro Monat von der o.g. chirurgischen Intensivstation dargestellt. Es ist zu erkennen, daß es Ende 1993 zu einem drastischen Anstieg der im Un-

tersuchungsmaterial gefundenen MRSA-Isolate kam. Aufgrund eingeleiteter hygienischer und begleitender Maßnahmen (intensive Aufklärung über das Problem, Patienten-Isolierung, häufiger Kittelwechsel, vermehrte Händedesinfektion, Tragen von Handschuhen und Mundschutz usw.) konnte ab Mitte März 1994 ein signifikanter Abfall der isolierten MRSA beobachtet werden. Trotz aller krankenhaushygienischen Maßnahmen gelang es nicht, die resistenten Keime vollständig von der Station zu eliminieren, wie der leichte Anstieg der MRSA-Nachweise Ende 94/Anfang 95 zeigt.

Das Problem des Vorhandenseins von MRSA auf dieser Station wird auch durch die Gegenüberstellung der Zahl Methicillin-sensibler und Methicillin-resistenter Isolate deutlich. Im Untersuchungszeitraum wurden 128 Methicillin-sensible und 204 Methicillin-resistente *S. aureus*-Isolate im eingesandten Entnahmematerial gefunden.

Das gehäufte Auftreten von MRSA-Stämmen auf der o.g. Station und eine generelle Zunahme im Un-

Abbildung 2 Intra-Assay-Varianz von einem MRSA-Isolat (n = 11)

Abbildung 3 Inter-Assay-Varianz von einem MRSA-Isolat, welches in 5 Läufen als Probe eingesetzt wurde.

Abbildung 4 Sechs gleiche MRSA-Isolate von einer chirurgischen Intensivstation.

Abbildung 5 K = Kulturkontrolle, P1-12 = Probe 1-12.

tersuchungszeitraum legten den Verdacht auf sich ausbreitende nosokomiale Infektionen nahe. Zur Überprüfung dieser Hypothese mußten die gefundenen 198 Erst-Isolate charakterisiert und typisiert werden. Für den Mikrobiologen und Krankenhaushygieniker stellt sich bei einem solchen Verdacht immer die Kernfrage: Sind die isolierten Keime identisch oder nicht? Die Klärung dieser Frage ermöglicht Aussagen über die epidemiologische Verbreitung verschiedener MRSA-Isolate.

Mit Hilfe der zur Verfügung stehenden Methoden konnte zudem die genotypische und phänotypische Konstanz von MRSA-Isolaten über einen Zeitraum von mehr als zwei Jahren beurteilt werden.

Für die genotypische Charakterisierung wurde das neuentwickelte GenePath Strain Typing System® eingesetzt. Zur Verifizierung der Ergebnisse wurden vorab Versuche zur Reproduzierbarkeit der Ergebnisse durchgeführt.

In Abbildung 2 ist eine Überprüfung der Intra-Assay-Varianz dargestellt. Die aus einem MRSA-Isolat angesetzten 11 unterschiedlichen Proben zeigten alle ein gleichartiges Bandenmuster mit fast identischen Laufstrecken für die einzelnen Restriktionsfragmente. Die DNA-Fragmente wurden in diesen Ansätzen annähernd kolinear und mit vergleichbarer Mobilität aufgetrennt. Damit kann das Restriktionsverhalten der Proben sowie das Elektrophoreseverhalten einzelner DNA-Fragmente als hinreichend vergleichbar bezeichnet werden.

In Abbildung 3 sind die Ergebnisse zur Inter-Assay-Varianz dargestellt. Ein MRSA-Isolat wurde in 5 verschiedenen Gel-Ansätzen mitgeführt. Die Ergebnisse der einzelnen Läufe wurden eingescannt und nebeneinandergestellt, um das Bandenmuster und die Laufstrecken miteinander vergleichen zu können. Es zeigt sich, daß bei gleichem Bandenmuster auch die Laufstrecken der einzelnen Fragmente fast identisch sind, so daß die Präzision zwischen verschiedenen Gel-Ansätzen als hinreichend genau beurteilt werden kann, um reproduzierbare und fundierte Untersuchungen durchzuführen.

Abbildung 4 zeigt sehr anschaulich die klonale Identität von MRSA-Stämmen, welche im Rahmen einer nosokomialen Infektion auf der o.g. chirurgischen Intensivstation aus unterschiedlichen Materialien von sechs verschiedenen Patienten isoliert werden konnten.

Im Gegensatz dazu sind in Abbildung 5 eindeutig unterschiedliche MRSA-Isolate von verschiedenen Stationen aus dem Untersuchungsbereich des Instituts für Medizinische Mikrobiologie und Virologie zu sehen. Die eingesetzten Kulturkontrollen dienen zur Überprüfung der Probenvorbereitung über Kultivierung, Herstellung der Agarose-Blöcke bis hin zum Einsatz der Restriktionsenzyme. Wird diese Kontrolle zusammen mit dem Kontroll-Block (Restriktionskontrolle) eingesetzt, kann man sicher sein, daß sowohl die Herstellung der Blöcke als auch die Aufspaltung des Genoms durch die Restriktionsenzyme korrekt durchgeführt wurde.

Abbildung 6 zeigt die DNA-Fingerprints von bekannten *S. aureus* ATCC-Referenzstämmen. Mit diesen Referenzstämmen können zum einen die Bandenmuster der Düsseldorfer Isolate verglichen werden und zum anderen dienen sie in zukünftigen Untersuchungen als externe Kontrollstämmen. Neben der PFGE

Abbildung 6 Bandenmuster von 5 eingesetzten ATCC-Stämmen.

Abbildung 7 Lysotypie und Pulsfeld-Gelelektrophorese im Vergleich: Analyse von identischen MRSA-Stämmen. 1) Gruppenzugehörigkeit der Phagen, die eine starke Reaktion gezeigt haben. I, III, M: Lytische Gruppen. ZP: Zusatzphagen.

als genotypischem Verfahren wurde die Lysotypie als phänotypische Methode zur *S. aureus* Charakterisierung eingesetzt. Dabei konnten die typisierten MRSA-Isolate am häufigsten der Lysogruppe III (38%) zugeordnet werden.

Insgesamt zeigte die Analyse von 198 verschiedenen Erstisolaten eine Übereinstimmung der Typisierungsergebnisse in über 90%.

Abbildung 7 zeigt den Vergleich beider Methoden anhand 6 identischer MRSA-Isolate der o.g. Klinik. Die Stationen A, B und C sind periphere Stationen, während Station D für die o.g. chirurgische Intensivstation steht. Abbildung 7 verdeutlicht zum einen die gute Übereinstimmung der Ergebnisse von Lysotypie und PFGE, zum anderen wird die Ausbreitung eines klonal identischen Stammes innerhalb einer chirurgischen Klinik anschaulich gezeigt.

In Abbildung 8 werden aber auch mögliche Unterschiede zwischen Lysotypie und PFGE deutlich. Während die sechs typisierten Isolate ein gleiches Bild in der Lysotypie aufwiesen, ließen sich mittels PFGE zwei unterschiedliche Stämme nachweisen. Die Isolate 1, 2, 3 und 4 stammten von Station D (der o.g. chirurgischen Intensivstation), während die Isolate 5 und 6 im Untersuchungsmaterial einer dermatologischen Klinik gefunden wurden. Der genotypische Unterschied der beiden Stämme wird anhand der verschiedenen Bandenmuster deutlich. Darüberhinaus unterschieden sich auch die Isolate von Station D aus Abbildung 7 und Abbildung 8. Dies ist ein erster Hinweis auf verschiedene MRSA auf derselben Station.

Durch die Gesamtauswertung aller 198 Erstisolate konnten im Großraum Düsseldorf 29 MRSA-Typen mit unterschiedlichem Bandenmuster nachgewiesen werden. Die Häufigkeitsanalyse zeigte 3 größere Gruppen mit bis zu 40 identischen Isolaten. Die Bandenmuster von jeweils 6 Vertretern der drei großen Gruppen sind in Abbildung 9 dargestellt. Diese drei großen Gruppen und zusätzlich vier kleinere Gruppen

von MRSA-Isolaten mit unterschiedlichem Bandenmuster fanden sich auf der o.g. chirurgischen Intensivstation. Die Zahlen verdeutlichen, daß es sich bei den nosokomialen Infektionen auf der o.g. chirurgischen Intensivstation nicht um ein einheitliches Infektionsgeschehen mit einem Stamm und einem Überträger handelte. Vielmehr kann man davon ausgehen, daß hier mehrere voneinander unabhängige Infektionsketten, mit unterschiedlichen Stämmen und verschiedenen Keimüberträgern von Bedeutung waren. Darüberhinaus läßt sich aus dem Vergleich der PFGE-Bandenmuster und der Lysotypiebefunde eine genotypische und phänotypische Konstanz von untersuchten Isolaten über einen Zeitraum von mehr als zwei Jahren ableiten.

Diskussion

Bedeutung der MRSA für nosokomiale Infektionen

Aus verschiedenen Arbeiten geht die wachsende Bedeutung von MRSA-Stämmen im Rahmen nosokomialer Infektionen eindeutig hervor. Panlilio et al. [21] zeigten über einen 17-jährigen Beobachtungszeitraum (1975-1991) einen kontinuierlichen Anstieg des MRSA-Anteils an den isolierten *S. aureus*-Stämmen in Kliniken in den USA von 2,4% auf 29%. Doch dabei sind große Schwankungen zwischen den Krankenhäusern und verschiedenen Regionen zu berücksichtigen. Der Anstieg verlief in Krankenhäusern verschiedener Größe unterschiedlich schnell. In Häusern mit 500 oder mehr Betten wurde die 5%-Marke schon im Jahre 1983 überschritten, in Kliniken mit 200-499 Patientenbetten im Jahre 1985 und in Hospitälern mit weniger als 200 Betten erst im Jahre 1987. Danach verliefen die Wachstumskurven fast parallel, so daß unabhängig von der Größe des Krankenhauses eine Zunahme des MRSA-Aufkommens zu beobachten war. Der prozen-

tuale Anteil der MRSA an allen *S. aureus* Isolatentrag 1991 in Krankenhäusern mit weniger als 200 Betten 14,9%, in Häusern mit 200-499 Betten 20,3% und in Kliniken mit 500 oder mehr Betten 38,3% [21].

Die Daten des Nationalen Referenzlabors für die Lyso- typie von *S. aureus* in Bonn verdeutlichen die eben- falls wachsende Problematik in Deutschland. In den Jahreskollektiven von stationär behandelten Patienten zeigte sich eine Zunahme des Anteils an MRSA-Stäm- men von 4,8% im Jahre 1987 auf 16,6% im Jahre 1993 [Lenz, unveröffentlichte Daten]. Die Jahresberichte des Nationalen Referenzlabors zeigen zudem, daß sich in den einsendenden Kliniken die Häufigkeit an MRSA-Stämmen zwischen < 2% und 20% bewegt, wobei nur Erstisolate berücksichtigt wurden.

Für die Wichtung der klinischen Bedeutung dieser Befunde muß zwischen einer Kolonisation und einer Infektion beim Patienten unterschieden werden. Die Kolonisation findet vor der Infektion statt. 10-40% der gesunden Menschen sind Keimträger von *S. aureus*, während beim Krankenhauspersonal 45-80% Keimträ- ger gefunden werden können [22]. Epidemiologische Untersuchungen zeigten, daß MRSA-Stämme bei 1-6% des Krankenhauspersonals isoliert wurden [22]. Der Nasen-Rachenraum gilt dabei als bevorzugtes Keimreservoir. Bei Untersuchungen zur in-vitro Ad-

härenz von Staphylokokken an nasalen Epithelzellen zeigte sich kein Unterschied zwischen Methicillin-sen- siblen *S. aureus*- und MRSA-Stämmen [22]. Die mittlere Halbwertszeit für MRSA im Nasenrachenraum wur- de von Sanford et al. [23] mit 40 Monaten angegeben, so daß Keimträger ohne eine erfolgreiche Sanierung (z.B. durch die nasale Applikation von Mupirocin) [24] für lange Zeit als potentieller Streuherd auf Stationen gelten können. Zur Identifizierung von MRSA-Keim- trägern werden regelmäßige Nasenabstriche empfoh- len (Sensitivität > 90%) [23]. Eine Übertragung von Mensch zu Mensch findet in der Regel über eine tran- siente Besiedlung der Hände statt.

Bei der Analyse der MRSA-Häufigkeitsverteilun- gen zwischen verschiedenen Krankenhäusern und Sta- tionen stellt sich hierbei natürlich immer wieder die Frage, von wie vielen Patienten ein MRSA-Stamm aus der Umgebung mit auf die Station gebracht wurde bzw. wie oft eine nosokomiale Infektion vorlag. Unter- suchungen der Yale-University über einen Zeitraum von 14 Monaten verdeutlichen, daß 41% der Isolate von den Patienten aus der Umgebung mit ins Kranken- haus gebracht wurden, die restlichen 59% konnten auf eine nosokomiale Ausbreitung zurückgeführt werden. Die Verhältnisse können natürlich zwischen verschie- denen Krankenhäusern sehr unterschiedlich sein, doch es gilt als gesichert, daß auch außerhalb der Kranken- häuser eine zunehmende MRSA-Ausbreitung zu be- obachten ist [25].

Die Analyse des prozentualen Anteils der MRSA an allen *S. aureus*-Isolaten, bezogen auf die Verteilung des Auftretens in den verschiedenen klinischen Abtei- lungen (Tab. 1) und bezüglich des Nachweises von MRSA in verschiedenen Untersuchungsmaterialien (Tab. 2), stimmt mit publizierten Beobachtungen gut überein [1,5,6,20,21]. Es ist bekannt, daß das Risiko ei- ner MRSA-Infektion mit der Länge eines Kranken- hausaufenthaltes, der Frequenz invasiver diagnosti- scher und therapeutischer Verfahren sowie langen an- tibiotischen Therapiezeiten mit einer hohen Anzahl verabreichter Chemotherapeutika korreliert [1,4,5,6, 20,21].

Um einen Überblick über die Zahl verschiedener MRSA-Typen aus dem Großraum Düsseldorf zu er- halten und Aussagen über Infektketten bei nosoko- mialen Infektionen machen zu können, wurden die 198 MRSA-Erstisolate mit Hilfe der PFGE und Lysotypie charakterisiert.

Mit der hier vorgestellten Makrorestriktionsanalyse in Form der PFGE können Bakterienstämme aufgrund des DNA-Bandenmusters typisiert werden. Die Schnittstellen für die Restriktionsenzyme sind selektionsneutrale Marker, die im Verlauf der Evolution des Bakterienchromosoms über Rearrangements oder Mutation an einer Stelle des Genoms verlorengehen und an anderer Stelle neu entstehen können. Nicht miteinander verwandte Klone einer Spezies zeigen demnach unterschiedliche Bandenmuster, während die Varianten eines Klon sehr ähnliche Bandenmuster besitzen [13,14,15,16,26].

Abbildung 8 Lysotypie und Pulsfeld-Gelelektrophorese im Ver- gleich: Analyse von 2 MRSA-Stämmen, die nur in der PFGE unter- scheidbar waren.

Abbildung 9 Übersicht über das Bandenmuster von 3 verschie- denen MRSA-Stämmen

Mit Hilfe der PFGE und der Lysotypie konnten im Großraum Düsseldorf 29 MRSA-Stämme mit unterschiedlichem Bandenmuster nachgewiesen werden. Dabei lieferten die PFGE und die Lysotypie in über 90% der Fälle übereinstimmende Ergebnisse.

Aus verschiedenen Publikationen geht der hohe Stellenwert der PFGE für die Typisierung von *S. aureus* hervor [13,15,16]. So hat das CDC (Centers for Disease Control, Atlanta, USA) z.B. die Lysotypie als Standardmethode durch die PFGE ersetzt [14]. Zur Zeit werden in Düsseldorf in Kooperation mit anderen Instituten (Bonn, Würzburg, Freiburg) 400 MRSA-Erstisolate mit Hilfe der PFGE, der Lysotypie, der Koagulasegen-PCR, einer für diesen Zweck in Düsseldorf entwickelten sog. Multiplex-PCR (zur Identifikation und Diskriminierung von MRSA) und der Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD, arbiträre PCR) typisiert. Nach Abschluß dieser Untersuchung sind weitere Aussagen über Vorteile und praktische Handhabbarkeit der einzelnen Methoden möglich.

Anhand der entsprechenden PFGE-Muster ist es möglich, die zeitliche und räumliche Verbreitung von MRSA-Isolaten zwischen verschiedenen Krankenhäusern und innerhalb einer Klinik nachzuvollziehen und zu dokumentieren. Einfache Erklärungen für eine räumliche Ausbreitung sind dabei die Verlegung eines betroffenen Patienten innerhalb eines Hauses oder zwischen verschiedenen Krankenhäusern bzw. ein Arbeitsplatzwechsel von besiedelten MRSA-Trägern.

Auf der o.g. chirurgischen Intensivstation fanden sich 7 MRSA-Typen mit unterschiedlichem Bandenmuster. Daher muß in diesem Fall von einer nosokomialen Infektion vom Endemie-Typ ausgegangen werden, bei dem in kleineren Gruppen von Patienten und eventuell des Klinikpersonals MRSA-Stämme mit demselben PFGE-Muster bzw. Lysisbild zu finden sind. Solche Krankenhausinfektionen mit mehreren *S. aureus*-Typen werden vornehmlich auf Erwachsenenstationen beobachtet. Dies dürfte mit der Art der Belegung auf den Stationen (mehrere verschiedene Zimmer) und der Behandlung dieser Patienten (unterschiedliche Pfleger und Ärzte) zusammenhängen.

Davon abzugrenzen sind nosokomiale Infektionen vom Epidemie-Typ, bei dem sich ein *S. aureus*-Stamm auf einer Station ausbreitet. Derartige Infektionen finden sich häufiger auf Neugeborenenstationen mit mehreren Betten pro Zimmer und einer großen Gruppe von Patienten, die von einer Pflegeperson betreut wird [18,19].

In der vorliegenden Untersuchung sind keine Probenmaterialien von Pflegekräften bzw. Ärzten auf das Vorliegen von MRSA-Stämmen analysiert worden. Daher kann die genaue Infektionskette nicht nachgewiesen werden, allerdings ist das Vorliegen von nosokomialen Infektionen auf der o.g. chirurgischen Intensivstation durch den Nachweis gleicher Bandenmuster bei Isolaten von verschiedenen Patienten sehr wahrscheinlich. Der Erfolg hygienischer Maßnahmen (häufigeres Händewaschen, strikte Isolierung von Patienten

mit MRSA, Kittelwechsel, Benutzung von Handschuhen, etc.) zeigte sich dabei in der Reduktion der nachweisbaren MRSA-Isolate.

Therapie von MRSA-Infektionen

Glykopeptide

Die intravenöse Vancomycin-Gabe gilt als Therapie der Wahl bei MRSA-Infektionen [5,20]. Studien mit 200 mg Teicoplanin/Tag i.v. müssen kritisch betrachtet werden. Ob eine höhere Dosierung einen größeren therapeutischen Erfolg bringt, wird zur Zeit noch untersucht.

Die Nebenwirkungen von Vancomycin und einzelne Fälle von Therapieversagen haben zur Suche nach Alternativpräparaten als Mono- bzw. Kombinationstherapeutika geführt. Grundsätzlich sollten andere Präparate als Vancomycin nur eingesetzt werden, wenn deren in-vitro-Empfindlichkeit gesichert ist. Darüberhinaus sollten diese Präparate nicht als Monotherapie eingesetzt werden, da sonst rapide eine Resistenzentwicklung eintreten kann.

Carbapeneme

Ogleichich sich bei einigen MRSA-Stämmen bei in-vitro-Untersuchungen eine Carbapenem-Empfindlichkeit zeigte, konnten keine zufriedenstellenden Therapieergebnisse beobachtet werden, so daß Carbapeneme wie auch andere β -Laktam-Antibiotika nicht zur Therapie von MRSA-Infektionen eingesetzt werden sollten [27].

Aminoglykoside

In der vorliegenden Untersuchung waren alle MRSA-Isolate resistent gegenüber Gentamicin. Es liegt bisher keine Studie vor, die eine Überlegenheit der Kombinationstherapie Vancomycin+Gentamicin im Vergleich zur alleinigen Vancomycin-Gabe zeigt [6,20,28]. Neben der höheren Nephro- und Ototoxizität läßt die hohe Resistenzrate der Aminoglykoside eine Kombinationstherapie als nicht sinnvoll erscheinen.

Gyrasehemmer (Chinolone)

In initialen Studien konnte die gute in-vitro-Empfindlichkeit von Chinolonen gegenüber MRSA gezeigt werden [29,30,31,32]. Doch aufgrund der raschen Resistenzausbreitung und der häufig beobachteten Rezidive ist der therapeutische Nutzen einer Chinolon-Therapie limitiert.

Trimethoprim-Sulfonamid-Kombination

In der vorliegenden Untersuchung waren 84,4% der MRSA-Isolate empfindlich gegenüber Trimethoprim-Sulfamethoxazol. In der Literatur wurden effektive Behandlungen von Endokarditiden und Meningitiden durch MRSA mit Hilfe dieses Präparates beschrieben [33]. Inwieweit eine Kombinationstherapie der alleinigen Vancomycin-Gabe überlegen ist, muß geklärt werden.

Ansamycine

Rifampicin hat grundsätzlich eine gute bakterizide Wirkung gegenüber Staphylokokken. In der vorliegenden Untersuchung waren allerdings nur ca. 25%

der MRSA empfindlich gegenüber Rifampicin. Für eine Kombinationstherapie aus Rifampicin+Vancomycin werden in der Literatur hingegen gute Therapieergebnisse für Fälle beschrieben, in denen die alleinige Vancomycin-Gabe nicht erfolgreich war [34]. Es ist allerdings zu beachten, daß es in-vitro zu antagonistischen Erscheinungen kommen kann, so daß ein potentieller Einsatz nur im Versagensfall einer Vancomycin-Monotherapie in Erwägung gezogen werden sollte.

Fusidinsäure

Die therapeutische Effizienz von Fusidinsäure bei MRSA-Infektionen ist in der Literatur belegt [35]. Allerdings sollte die Gabe aufgrund der Gefahr einer Resistenzentwicklung nur in Kombination mit einem anderen Antibiotikum durchgeführt werden.

Mupirocin

Eine spezielle Mupirocin-Nasensalbe dient zur MRSA-Elimination im Bereich der Nase von besiedelten Patienten, Pflegepersonal und Ärzten. Eine MRSA Eliminierung aus dem Nasenraum ist für die dauerhafte Beseitigung potentieller Streuherde von großer Bedeutung. Die Wirksamkeit des Mupirocin konnte in mehreren Studien gezeigt werden [24], doch besteht die Gefahr einer Resistenzentwicklung und der konsekutiven Verbreitung Mupirocin-resistenter MRSA auf den Stationen. Daher ist der Einsatz von Mupirocin zur allgemeinen Prophylaxe kritisch zu diskutieren.

Hygienemaßnahmen bei MRSA-Infektionen

Auf detaillierte Hygieneempfehlungen kann an dieser Stelle nicht eingegangen werden. Hingewiesen werden soll allerdings auf die Wichtigkeit einer strikten Isolierung von besiedelten und/oder infizierten MRSA-Patienten, die strenge Einhaltung von Desinfektionsmaßnahmen, den per se selbstverständlichen Gebrauch von Handschuhen und evt. Mundschutz bei pflegerischen und diagnostischen Tätigkeiten, die Kittelpflege, etc. [6]. Mit diesen genannten Maßnahmen konnte das Auftreten von MRSA auf der o.g. chirurgischen Intensivstation deutlich reduziert werden, eine vollständige Elimination war aber bisher nicht möglich. Die Bedeutung und das Risiko des Auftretens Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus*-Stämme als Erreger nosokomialer Infektionen wächst weltweit. Mit Hilfe genotypischer und phänotypischer Verfahren ist eine Charakterisierung der Isolate möglich, um die Infektionsketten bei nosokomialen Infektionen zu untersuchen und geeignete therapeutische sowie krankenhaushygienische Maßnahmen einleiten zu können. Neben einer adäquaten Antibiotikatherapie ist die Isolierung betroffener Patienten, das Einhalten von Hygienevorschriften und die Eliminierung von Staphylokokken aus dem Nasen-Rachen-Raum von Patienten und Personal von Bedeutung. Ein koordiniertes Vorgehen von Klinikern, Krankenhaushygienikern und Mikrobiologen ist dabei eine unabdingbare Voraussetzung für die erfolgreiche Beseitigung bzw. Verhütung nosokomialer Infektionen.

Danksagung

An dieser Stelle möchten wir Frau Viebahn aus dem Nationalen Referenzzentrum für die Lysotypie von *Staphylococcus aureus* am Institut für Medizinische Mikro biologie und Immunologie der Universität Bonn für die Durchführung der Lysotypie herzlich danken.

Literatur

1. Emori TG, Gaynes RP. An overview of nosocomial infections, including the role of the microbiology laboratory. Clin. Microbiol 1993;6:428-42.
2. Martone WJ, Jarvis WR, Culver DH, Haley RW. Incidence and nature of endemic and epidemic nosocomial infections. In: Bennett, JV, Brachman PS editors. Hospital infections, 3rd ed. Boston (USA): Little, Brown and Co, 1992:577-96.
3. Mauff G. Epidemiologie übertragbarer Krankheiten. In: Brandis H, Eggers HJ, Köhler W, Pulverer G, editors. Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie, 7. Auflage. Stuttgart (Deutschland): Gustav Fischer Verlag; 1994:48-63.
4. Brumfitt W, Hamilton-Miller J. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. N Engl J Med 1989;320:1188-96.
5. Eadon HJ, Pinney RJ. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*-an overview. J Clin Pharm Ther 1991;16:453-62.
6. Mulligan ME, Murray KA, Ripner BS, Standiford HC, John JF, Corvick JA, Kaufmann CA, Yu VL. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: A consensus review of the microbiology, pathogenesis, and epidemiology with implications for prevention and management. Am J Med 1993;94:313-28.
7. Hartmann BJ, Tomasz A. Expression of Methicillin resistance in heterogenous strains of *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 1986;29:85-92.
8. De Lencastre H, Tomasz A. Reassessment of the number of auxiliary genes essential for expression of high level methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 1994;38:2590-8.
9. Kayser FH. Grundlagen der Methicillinresistenz von *Staphylokokken*. Fortschr antimikrob antineoplast Chemother 1986;29:1269-73.
10. DeJonge BLM, Shang YS, Gage D, Tomasz A. Peptidoglycan composition of a highly Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strain. J Biol Chem 1992;267:11248-54.
11. DeJonge BLM, Shang YS, Gage D, Tomasz A. Peptidoglycan composition in heterogeneous Tn551 mutants of a Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strain. J Biol Chem 1992;267: 11255-9.
12. Deutsches Institut für Normung. Empfindlichkeitsprüfung von Krankheitserregern gegen Chemotherapeutika. In: DIN-Taschenbuch Medizinische Mikrobiologie und Immunologie. Berlin (Deutschland) Beuth-Verlag; 1992:331-406.
13. Goering RV. Molecular epidemiology of nosocomial infection: analysis of chromosomal restriction fragment patterns by pulsed-field gel electrophoresis. Infect Control Hosp Epidemiol 1993;14:595-600.
14. Bannerman TL, Hancock GA, Tenover FC, Miller JM. Pulsed-field gel electrophoresis as a replacement for bacteriophage typing of *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol 1995;33:551-5.
15. Römling U, Fislage R, Tümmler B. Theorie und Anwendung der Makrorestriktionsanalyse für die klonale Analyse von Erregern. Immun Infekt 1995;23:4-8.
16. Schlichting C, Branger C, Fournier JM, Witte W, Boutonnier A, Wolz C, Goulet, Döring G. Typing of *Staphylococcus aureus* by pulsed-field gel electrophoresis, zymotyping, capsular typing, and phage typing: resolution of clonal relationships. J Clin Microbiol 1993;31:227-32.
17. Lenz W, Eilers E, Lehmacher U. Charakterisierung von 1974 bis 1983 in der Bundesrepublik Deutschland isolierten Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus*-Stämmen unter Berücksichtigung der Ergebnisse der Lysotypie. Zbl Bakt 1988;268:277-93.
18. Lenz W, Brandis H. Die Bedeutung der Lysotypie bei Kranken-

- hausinfektionen durch *Staphylococcus aureus*. Hyg Med 1985; 10:227-38.
19. Lenz W. Die Staphylokokken-Lysotypie als epidemiologisches Werkzeug. Hyg Med 1991;16:197-214.
20. Voss A, Machka K, Lenz W, Milatovic D. Vorkommen, Häufigkeit und Resistenzverhalten von Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus*-Stämmen in Deutschland. Deutsch Med Wschr 1992;117:1907-12.
21. Panlilio A, Culver DH, Gayns RP, Bancrjee S, Henderson TS, Tolson JS, Martone WLJ. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in U.S. hospitals. 1975-1991. Infect Control Hosp Epidemiol 1992;13:582-6.
22. Ward TT. Comparison of in vitro adherence of methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to human nasal epithelial cells. J Infect Dis 1992;166:400-4.
23. Sanford MD, Widmar AF, Bale MJ, Jones RN, Wenzel RP. Efficient detection and long-term persistence of the carriage of Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Clin Infect Dis 1994;19:1123-28.
24. Hudson IR. The efficacy intranasal Mupirocin in the prevention of staphylococcal infections: A review of recent experience. J Hosp Infect 1994;27:81-98.
25. Layton MC, Hierholzer WJ, Patterson JE. The evolving epidemiology of Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* at a university hospital. Infect Control Hosp Epidemiol 1995;16: 12-17.
26. Kreiswirth B, Kornblum J, Arbeit RD, Eisner W, Maslow JN, McGeer A, Low DE, Novick RP. Evidence for a clonal origin of Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. Science 1993;259:227-30.
27. National Committee for clinical laboratory standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Villanova (USA) NCCLS 1990.
28. Hackbarth CJ, Chambers HF. Methicillin-resistant staphylococci: Detection methods and treatment of infections. Antimicrob Agents Chemother 1989;33:995-9.
29. Daum TE, Schaberg DR, Terpenning MS, Sottile WA, Kauffman CA. Increasing resistance of *Staphylococcus aureus* to ciprofloxacin. Antimicrob Agents Chemother 1990;34:1862-3.
30. Hadorn K, Lenz W, Kayser FH, Shalit L, Krasemann C. Use of a ribosomal RNA gene probe for the epidemiological study of Methicillin and ciprofloxacin resistant *Staphylococcus aureus*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1990;9:649-53.
31. Smith S. In vitro comparison of A-56619, A-56620, amifloxacin, ciprofloxacin, enoxacin, norfloxacin and ofloxacin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob. Agents Chemother 1986;29:325-6.
32. Smith SM, Eng RHK, Texon-Tumang F. Ciprofloxacin therapy for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections or colonizations. Antimicrob Agents Chemother 1989;33:181-4.
33. Yeldandi V, Strottman R, Lentino JR. In vitro and in vivo studies of trimethoprim-sulphamethoxazole against multiple resistant *Staphylococcus aureus*. J Antimicrob Chemother 1988;22:873-80.
34. Faville RJ, Zaske DE, Kaplan EL, Crossley K, Sabath LD, Quie PG. *Staphylococcus aureus* endocarditis; combined therapy with vancomycin and rifampicin. JAMA 1984;240:1963-5.
35. Protier H. A multicentre, open, clinical trial of a new intravenous formulation of fusidic acid in severe staphylococcal infection. J Antimicrob Chemother 1990;25 (Suppl B):39-44.
36. Schmitz FJ, Geisel R, Wagner S, Heinz HP, Idel H, Hadding U. Standardisierte Puls Feld-Gel-Elektrophorese mit dem GenePath Strain Typing System zum DNA-Fingerprinting bei nosokomialen Infektionen. Lab Med 1995;19:512-52.

Bücher

H. Robeneck.

Mikroskopie in der Forschung und Praxis,

399 S., GIT Verlag, Darmstadt 1995,

ISBN 3-928 865-18-8, DM 68,-

Mikroskopie in der Forschung und Praxis ist ein interessantes Buch, das der Herausgeber *Prof. Dr. H. Robeneck*, Leiter des Bereiches Zellbiologie und Ultrastrukturforschung der Universität Münster, gemeinsam mit 10 weiteren bekannten Autoren verfaßt hat. Beschrieben werden die mikroskopischen Grundlagen und Anwendungen mikroskopischer Techniken wie Licht-, konfokale und rasternde Mikroskopie, die Elektromikroskopie und die automatische Bildanalyse.

Wenn auch das Buch eher für den Chemiker, Physiker, Geologen, Biologen und alle, die Materialwissenschaften betreiben, geschrieben ist, so bietet es doch für den Laborarzt viele interessante Aspekte. Gerade in einer Zeit, in der in unserem Fachgebiet der Mechanisierung, insbesondere aus Kostengründen, kaum Grenzen gesetzt werden, zeigt dieses Buch die enormen Möglichkeiten der Mikroskopie in der Analytik auf. Die Möglichkeiten der Mikroskopie werden in der Laboratoriumsmedizin zu wenig genutzt. Das Buch bringt gute Anwendungsbeispiele, die auch auf unser Fachgebiet übertragbar sind. So ist z.B. der Informationsgewinn erheblich, wenn die Zellen von Punktatflüssigkeiten mittels konfokaler Mikroskopie untersucht werden.

Insgesamt ist das Buch denjenigen medizinischen Laboratorien zu empfehlen, die mit nicht-chemischen Methoden Körperflüssigkeiten untersuchen.

Prof. Dr. L. Thomas

Preisverleihung

Dr. M. Heins vom Diabetes-Forschungsinstitut an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Abteilung für Klinische Biochemie, erhielt den 2. Preis des „3rd International Beckman Award“, Section „Current Clinical Application“ für seine Arbeit: „Does Elevation of D-Dimer and ICAM-I Concentration Predict Development of Hepatic Veno-occlusive Disease in Patients after Bone Marrow Transplantation?“.

Berufung

Prof. Dr. H. Reinauer wurde in den Ausschuß „Ärztliche Weiterbildung“ der Bundesärztekammer berufen.

GenePath® System

Komplettsystem zur Erkennung von Erregern nosokomialer Infektionen

Mit dem GenePath® System nehmen Sie die DNA-Typisierung verschiedenster Krankenhaus-erregere vor, wie z.B.:

- **Staphylococcus aureus**
- **Enterococcus**
- **Escherichia coli**
- **Pseudomonas**
- **Enterobacter**
- **Candida u.a.**

Die Erkennung klonaler Identität erfolgt durch die **Puls Feld Gel Elektrophorese (PFGE)**, die als „Gold Standard“ angesehen wird.

Falls Sie dieses Thema interessiert:
unter der Tel.-Nr. **089/31884-148**
beantworten wir Ihnen jederzeit
gerne Ihre Fragen.

BIO-RAD
Laboratories GmbH
Klinische Diagnostik
Heidemannstraße 164
D-80939 München
Tel.: 089/31884-140
Fax.: 089/31884-100

Qualität im medizinischen Laboratorium

Qualitätsmanagement - Zertifizierung - Akkreditierung

Diskussionsforum des Berufsverbandes Deutscher Laborärzte (BDL) e.V.
am 10. Februar 1996, 10.00-14.00 Uhr im Steigenberger AVANCE Hotel,
Frankfurt Airport, Frankfurt/Main.

Vorsitz: Prof. Dr. med. W. Junge, Neumünster

Vorträge

10.00 - 10.15	Das medizinische Laboratorium als Vorreiter bei der Einführung eines Qualitätsmanagementsystems im Gesundheitswesen
Prof. Dr. W. Junge, Neumünster
10.15 - 10.50	Aufbau eines „gerichtsfesten“ Qualitätsmanagementsystems im medizinischen Laboratorium
Dr. A. Hardtke, Dr. Adams & Partner Unternehmensberatung GmbH, Duisburg
10.50 - 11.25	Bewertung und Vergleichbarkeit von Qualitätsmanagementsystemen
Dr. D. Markowetz, Qualitätskontrollberater, Bensheim
11.25 - 11.45	Diskussion
11.45 - 12.30	Pause
12.30 - 13.10	Qualitätsmanagement in der Laboratoriumsmedizin: Gegenwärtiger Stand der Diskussion in Deutschland
Prof. Dr. H. Reinauer, Düsseldorf
13.10 - 13.45	Aufbau eines Qualitätsmanagementsystems in der Laboratoriumsmedizin: Europäische Perspektiven
Dr. M. Böhm, Präsident der Österreichischen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin, Wien
13.45 - 14.00	Diskussion
Ab 15.00	Jahreshauptversammlung Berufsverband Deutscher Laborärzte e.V.
(nur für Mitglieder des Berufsverbandes)

Veranstalter und Auskünfte: Berufsverband Deutscher Laborärzte e.V., Witzelstraße 63, 40225 Düsseldorf, Telefon (0211) 340406, Telefax (0211) 341830; am Veranstaltungstag, 10. Februar 1996: Tel. (069) 6975-2805

<u>Teilnehmergebühr:</u>	BDL-Mitglieder	200,00 DM
	Assistenten	100,00 DM
	andere Teilnehmer	300,00 DM
	(Wir bitten um möglichst umgehende Anmeldung)	