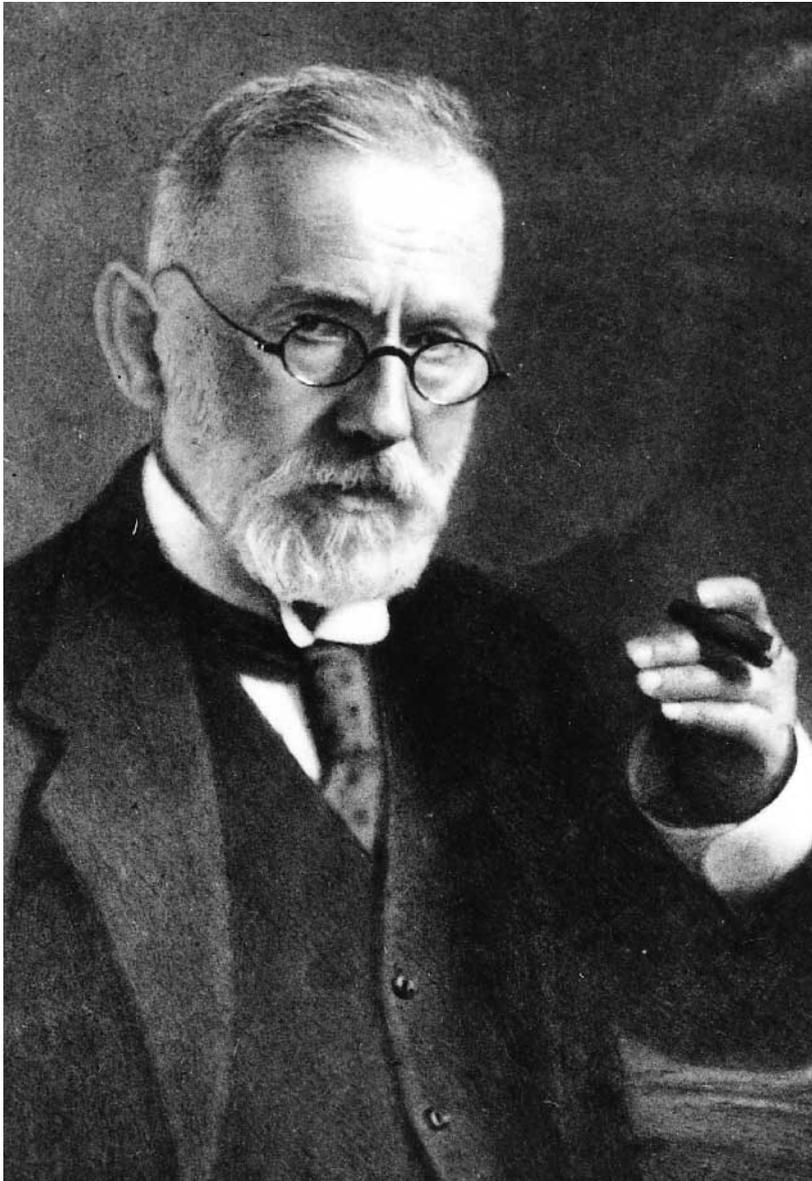


Wie schützen sich die Infektionserreger unserer Breiten?

# Resistenzsituation gegenüber Chinolonen

MICHAEL KRESKEN | DIETER HAFNER



Paul Ehrlich

*Seit der Einführung der Chinolone Mitte der 80er Jahre hat der Verbrauch an Präparaten dieser Substanzklasse in Deutschland stetig zugenommen. Zeitgleich hat auch die Resistenz bei wichtigen gram-positiven wie gram-negativen Infektionserregern gegenüber Chinolonen zugenommen. Wie war die Resistenzsituation in Mitteleuropa im Jahr 1998 und wie war die zeitliche Entwicklung der Resistenz bei klinisch wichtigen Infektionserregern wie Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa, Staphylokokken und Enterokokken gegenüber Chinolonen?*

Seit der Einführung der Chinolone Mitte der 80er Jahre (Norfloxacin im Jahr 1984) hat der Verbrauch an Präparaten dieser Wirkstoffklasse in Deutschland sowohl im klinischen als auch im Praxisbereich stetig zugenommen. Nach den Angaben des Instituts für Medizinische Statistik (IMS) betrug der Verbrauch im Jahre 1998 im Praxisbereich (Apothekenmarkt) 50 Mio. Zählleinheiten (ZE) und im Klinikbereich 17,6 Mio. ZE, wobei 1 ZE einer Tablette bzw. Ampulle entspricht. Zeitgleich hat auch die Resistenz bei wichtigen gram-positiven wie gram-negativen Infektionserregern zugenommen.

In dieser Arbeit werden die Ergebnisse einer Bestandsaufnahme der Resistenzsituation in Mitteleuropa im Jahr 1998 sowie die zeitliche Entwicklung der Resistenz bei klinisch wichtigen Bakterienarten gegenüber Chinolonen aufgezeigt und diskutiert. Das Datenmaterial stammt dabei aus mehreren multizentrischen Untersuchungen der Arbeitsgemeinschaft *Resistenz* in der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie (PEG), die im Rahmen einer Longitudinalstudie in den Jahren 1983 bis 1998 durchgeführt wurden.

Es werden Daten für Ciprofloxacin präsentiert, das als Leitsubstanz der systemisch anwendbaren Chinolone mit breiter Indikation angesehen werden kann. Einige Ergebnisse sind bereits an anderer Stelle publiziert worden [1 - 5]. Die Analyse der Daten ergab, dass die Resistenzhäufigkeit bei vielen Bakterienspecies bis 1995 angestiegen und danach im wesentlichen gleich geblieben ist. Unter den gram-positiven Erregern fanden sich die höchsten Resistenzraten bei den Isolaten aus den Proben von Intensivpflegepatienten, während resistente *Escherichia coli*-Isolate am häufigsten aus Proben von Patienten im ambulanten Bereich nachgewiesen wurden.

### Methoden

Die PEG führt seit 1975 multizentrische Studien in Mitteleuropa durch. An diesen Untersuchungen sind regelmäßig etwa 30 ausgewählte Laboratorien in Deutschland, Österreich und der Schweiz beteiligt. Jedes Labor hat während festgelegter Erhebungsperioden jeweils rund 200 frische klinische Isolate in die entsprechende Untersuchung einbezogen, und zwar Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa*, Staphylokokken und Enterokokken, die vom jeweiligen Untersucher als Infektionsursache angesehen wurden. Enterobacteriaceae, *P. aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* und *Enterococcus faecalis* wurden seit 1975, Koagulase-negative Staphylokokken seit 1990 und *Enterococcus faecium* seit 1995 untersucht. Ciprofloxacin wurde zum ersten Mal 1983, also bereits vor der Markteinführung des ersten Chinolons (Norfloxacin), in die Untersuchungen mit einbezogen.

Zur Vergleichbarkeit der Studienergebnisse wurden in allen Zentren die gleichen Methoden der Identifizierung sowie Empfindlichkeitsprüfung benutzt. Dabei wurde als Methode der Empfindlichkeitsprüfung seit 1982 die Mikrobouillonverdünnungsmethode nach der DIN-Norm 58940 verwendet [6]. Zur Qualitätskontrolle wurden Kontrollstämme in die Empfindlichkeitsprüfungen einbezogen. Alle Methoden wurden an anderer Stelle bereits ausführlich beschrieben [1, 2].

### Ergebnisse

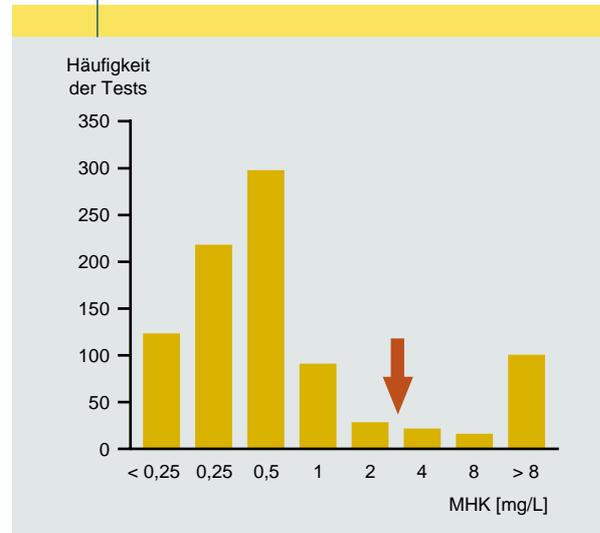
Um möglichst präzise Statistiken über die Häufigkeit von Resistenzeigenschaften aufstellen zu können, ist es notwendig, zwischen der **biologische Resistenz** (verminderte Empfindlichkeit des Erregers *in vitro*) und der **klinischen Resistenz** (Unempfindlichkeit des Erregers *in vivo*) von Mikroorganismen zu unterscheiden.

### Bedeutung der Grenzwerte

Die Referenzmethode zur Untersuchung der Erregerempfindlichkeit gegenüber einem Chemotherapeutikum ist die Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MHK).

Trägt man die Häufigkeit der getesteten Stämme gegen die MHK-Werte auf, ergibt sich für jede Keimart eine spezifische, zumeist bimodale Verteilung, in der die natürlich

**ABB. 1** VERTEILUNG DER MHK-WERTE VON CIPROFLOXACIN BEI *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*.



Der Pfeil bezeichnet den natürlichen Grenzwert (siehe Text).

sensiblen Bakterien in einem deutlichen Peak zusammengefasst sind (Abb. 1).

Die Darstellung der Verteilungen lässt erkennen, in welchem Bereich der MHK-Werte sich die natürlich sensible Population einer Bakterienspecies befindet. *Escherichia coli* und die übrigen Enterobacteriaceae-Species weisen eine sehr hohe natürliche Empfindlichkeit gegenüber Ciprofloxacin auf. Der Peak der natürlich sensiblen Population liegt zumeist in einem Bereich unterhalb von 0,125 mg/L. Dagegen zeigen andere Bakterienspecies wie *P. aeruginosa*, *S. aureus* und *E. faecalis* eine geringere natürliche Empfindlichkeit gegenüber Ciprofloxacin. Im Jahr 1998 lag der Peak der natürlich sensiblen Population von *P. aeruginosa* bei 0,125 mg/L, der von *S. aureus* bei 0,5 mg/L und der von *E. faecalis* bei 1 mg/L.

Bakterienstämme, die im Hinblick auf ihre Empfindlichkeit durch Mutation genetisch abweichen, d.h. biologisch resistent sind, erscheinen in einer zweiten Population im Bereich höherer MHK-Werte (Abb. 1). Die natürlich sensible Population zeigt üblicherweise die für eine Normalverteilung typischen Charakteristika. Die Verteilung der Messwerte wird dabei primär durch die biologischen Unterschiede zwischen den Bakterienstämmen, in geringem Umfang aber auch durch die methodisch bedingte Streuung der Messwerte bestimmt. Als **natürlicher (biologischer) Grenzwert** kann diejenige minimale Hemmkonzentration angenommen werden, anhand derer die Bakterien der natür-

### DEFINITION: MHK

Die MHK ist die niedrigste Konzentration eines Wirkstoffes, bei der *in vitro* eine durch die Vermehrung von Bakterien bedingte Trübung innerhalb einer festgelegten Zeitspanne nicht mehr zu erkennen ist.

### MHK-Grenzwerte

Die vom Normenausschuss Medizin für Ciprofloxacin festgelegten Grenzkonzentrationen sind  $\leq 1$  mg/L für die Bewertungsstufe *sensibel* und  $\geq 4$  mg/L für die Bewertungsstufe *resistent*. Bakterienstämme mit einer MHK von 2 mg/L werden als *intermediär eingestuft* [7].

**TAB. 1 VERTEILUNG DER MHK-WERTE VON CIPROFLOXACIN BEI VERSCHIEDENEN ENTEROBACTERIACEAE-SPECIES**

Species	Zahl der Stämme	MHK [mg/L]									% klinisch sensitiv	% klinisch resistent
		≤ 0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	≥16		
<i>Escherichia coli</i>	783	655	30	15	15	7	1	4	15	41	92,2	7,7
<i>Proteus vulgaris</i>	61	56	1	2	1	0	0	1	0	0	98,4	1,6
<i>Proteus mirabilis</i>	262	194	40	6	3	5	5	3	1	5	94,7	3,4
<i>Morganella morganii</i>	70	60	4	1	0	1	1	0	1	2	94,3	4,3
<i>Enterobacter cloacae</i>	239	200	20	2	3	4	4	2	1	3	95,8	2,5
<i>Enterobacter aerogenes</i>	62	36	7	3	2	5	0	0	2	7	85,5	14,5
<i>Serratia marcescens</i>	89	27	44	4	6	1	4	2	0	1	92,1	3,4
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	175	192	39	10	17	8	6	2	1	0	96,7	1,1
<i>Klebsiella oxytoca</i>	144	122	8	2	3	0	2	4	1	2	93,8	4,9
<i>Citrobacter freundii</i>	101	61	12	6	4	4	3	4	1	6	86,1	10,9
<i>Citrobacter koseri</i>	51	48	2	0	1	0	0	0	0	0	100,0	0,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	859	59	377	138	100	61	34	24	20	46	85,6	10,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	873	-	120	217	299	86	23	19	12	97	82,7	14,7
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	555	-	41	150	76	10	14	27	35	202	49,9	47,6
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	96	-	12	12	9	0	0	2	5	56	34,4	65,6
<i>Staphylococcus hominis</i>	63	-	12	19	5	5	3	1	3	15	65,1	30,2
<i>Enterococcus faecalis</i>	757	-	6	17	67	333	152	15	16	151	55,9	24,0
<i>Enterococcus faecium</i>	78	-	0	3	1	2	15	14	6	37	7,7	73,1

Erläuterung: -, Konzentration nicht getestet

*Pseudomonas aeruginosa*, Staphylokokken und Enterokokken sowie Verhältnis der klinisch sensitiven zu den klinisch resistenten Stämmen im Untersuchungsjahr 1998

lich sensiblen oder der resistenten Population zugeordnet werden. Vor diesem Hintergrund kann ein Stamm als biologisch resistent gegenüber Ciprofloxacin bezeichnet werden, wenn die MHK um mehr als zwei Titerstufen über dem *Peak* der natürlich sensiblen Population liegt.

Die **klinischen Grenzwerte** müssen sich am jeweiligen Therapieerfolg orientieren. Beim Fachnormenausschuss

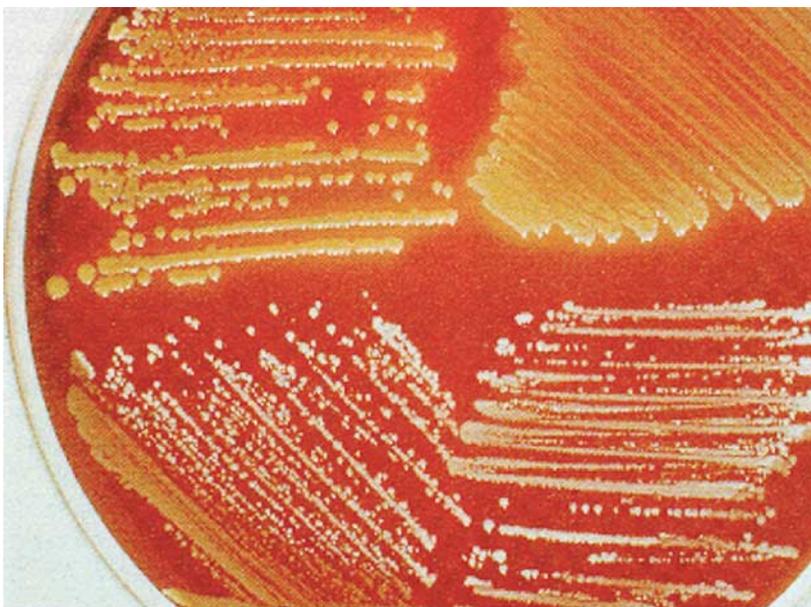
Medizin in der DIN gilt ein Erreger als *sensibel*, wenn die für ein entsprechendes Chemotherapeutikum ermittelte MHK so gering ist - also kleiner oder gleich einer geeignet gewählten Grenzkonzentration ist -, dass bei einer Therapie mit der üblichen Dosierung und bei geeigneter Indikation im allgemeinen ein Therapieerfolg zu erwarten ist. Ein Erreger wird als *resistent* bezeichnet, wenn die für das Chemotherapeutikum ermittelte MHK so hoch ist und dadurch über einer Grenzkonzentration liegt, dass auch bei Verwendung der zugelassenen Höchstdosierung kein klinischer Erfolg erwartet werden kann.

Eine exakte Epidemiologie, die das Auftreten von Resistenzgenen verfolgen will, kann nur mit Hilfe der natürlichen Grenzwerte erfolgen. So kann man z.B. die Einschnittmutationen in der A-Untereinheit der Gyrase aus *E. coli* nicht mit dem klinischen Grenzwert für die Ciprofloxacin-Resistenz korrelieren [8].

Da die Ergebnisse der Empfindlichkeitsprüfung eine klinische Konsequenz haben, sollten sie auch mit den klinischen Grenzwerten ausgewertet werden. Dies wurde in der vorliegenden Arbeit getan. Für eine bestimmte Fragestellung wurden jedoch auch die natürlichen Grenzwerte verwendet.

### MHK-Häufigkeitsverteilungen von Ciprofloxacin sowie Verhältnis der klinisch sensiblen zu den klinisch resistenten Stämmen im Jahre 1998

Im Jahr 1998 wurden die Antibiotogramme von 5.736 Bakterienstämmen ausgewertet. In der Tab. 1 sind die Empfindlichkeitsdaten derjenigen Species zusammengestellt, von



**Staphylokokken-Ausstrich auf Blutagarplatten**  
Oben: *Staphylococcus aureus*, unten: *Staphylococcus epidermidis*.

TAB. 2 | HÄUFIGKEIT NATÜRLICH UND KLINISCH RESISTENTER BAKTERIENSPECIES GEGEN CIPROFLOXACIN

Species	Zahl der Stämme	% klinisch resistent	Biologischer Grenzwert sensitiv bis MHK [mg/L]	% natürlich (biologisch) sensitiv	% biologisch resistent	% Differenz*
<i>Escherichia coli</i>	783	7,7	0,25**	89,4	10,6	2,9
<i>Proteus vulgaris</i>	61	1,6	0,25**	96,7	3,3	1,7
<i>Proteus mirabilis</i>	262	3,4	0,25**	91,6	8,4	5,0
<i>Morganella morganii</i>	70	4,3	0,25**	92,9	7,1	2,8
<i>Enterobacter cloacae</i>	239	2,5	0,25**	92,9	7,1	4,6
<i>Enterobacter aerogenes</i>	62	14,5	0,25**	74,2	25,8	11,3
<i>Serratia marcescens</i>	89	3,4	0,5	91,0	9,0	5,6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	175	1,1	0,25**	87,6	12,4	11,3
<i>Klebsiella oxytoca</i>	144	4,9	0,25**	91,7	8,3	3,4
<i>Citrobacter freundii</i>	101	10,9	0,25**	78,2	21,8	10,9
<i>Citrobacter koseri</i>	51	0,0	0,25**	98,0	2,0	2,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	859	10,5	0,5	78,5	21,5	11,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	873	14,7	2	85,3	14,7	0,0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	555	47,6	1	49,9	50,1	2,5
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	96	65,6	1	34,4	65,6	0,0
<i>Staphylococcus hominis</i>	63	30,2	1	65,1	34,9	4,7
<i>Enterococcus faecalis</i>	757	24,0	4	77,9	22,1	-1,9
<i>Enterococcus faecium</i>	78	73,1	R	-	-	-

Erläuterungen:  
\* Differenz: Quote biologisch resistenter Stämme minus Quote klinisch resistenter Stämme  
\*\* Da der Peak der sensitiven Population unterhalb der niedrigsten getesteten Ciprofloxacin-Konzentration liegt, kann der natürliche Grenzwert (biologische) Grenzwert nicht eindeutig festgelegt werden  
R (Primärresistenz): Der Peak der sensitiven Population liegt nicht mehr im Bereich der klinisch empfindlichen Stämme

denen jeweils mindestens 50 Stämme untersucht wurden. Die Tabelle enthält die absolute Verteilung der MHK-Werte sowie – auf der Grundlage der klinischen Bewertungsgrenzen – die Verteilung der Bakterienstämme nach den MHK-Werten auf die Bereiche sensibel und resistent.

Die höchsten Empfindlichkeitsraten fanden sich bei den häufig isolierten Enterobacteriaceae-Species: *Escherichia coli* 92,2 %, *Proteus mirabilis* 94,7 %, *Enterobacter cloacae* 95,8 % und *Klebsiella pneumoniae* 96,7 %. Ciprofloxacin-resistent waren 7,7 %, 3,4 %, 2,5 % bzw. 1,1 % der Stämme. Die höchste Resistenzrate unter den Enterobacteriaceae-Species wies *Enterobacter aerogenes* (14,5 %) auf. Ein Anteil von 80 – 90 % empfindlicher Stämme fand sich bei *P. aeruginosa* (85,6 %) und *S. aureus* (82,7 %). Bei allen übrigen der untersuchten Species betrug der Anteil empfindlicher Isolate weniger als 80 %: *Staphylococcus hominis* 65,1 %, *E. faecalis* 55,9 %, *Staphylococcus epidermidis* 49,9 %, *Staphylococcus haemolyticus* 34,4 % und *E. faecium* 7,7 %.

### Häufigkeit natürlich (biologisch) sensibler Stämme

Die natürlichen Grenzwerte zur Erfassung der Häufigkeit von Resistenzgenen und die so ermittelten sensiblen und resistenten Anteile sind in Tab. 2 zusammengestellt. Um biologisch und klinisch resistente Anteile miteinander verglei-

chen zu können, wurde für jede Species die Differenz aus dem Anteil **Quote biologisch resistenter Stämme minus Quote klinisch resistenter Stämme** berechnet. Die Rate der biologisch resistenten Stämme lag um bis zu 11,3 % über der entsprechenden klinischen Resistenzrate. Bei *E. coli* z.B. betrug der Anteil der Isolate mit verminderter Ciprofloxacin-Empfindlichkeit, der klinisch nicht als resistent eingestuft wurde, 2,9 %. Diese Stämme verfügen vermutlich über eine veränderte A-Untereinheit der Gyrase infolge einer Einschnitt-Mutation.

### Verbreitung klinisch resistenter Stämme aufgeschlüsselt nach dem Untersuchungsgut, unterschiedlicher Probenentnahme und Materialherkunft

Wie häufig Ciprofloxacin-empfindliche bzw. -resistente Stämme im ambulanten Bereich, auf Allgemeinstationen und im Intensivpflegebereich isoliert wurden, ist in Tab. 3 dargestellt. Bei *E. coli* fanden sich Ciprofloxacin-resistente Stämme besonders häufig aus Proben von Patienten aus dem ambulanten Bereich. Dagegen wurden gram-positive Erreger mit Resistenz gegenüber Ciprofloxacin häufiger aus dem Material von Intensivpflegepatienten als aus Proben von Patienten auf Allgemeinstationen und Proben von Patienten aus dem ambulanten Bereich isoliert, während bei *P. aeruginosa* keine signifikanten Unterschiede in der Häu-

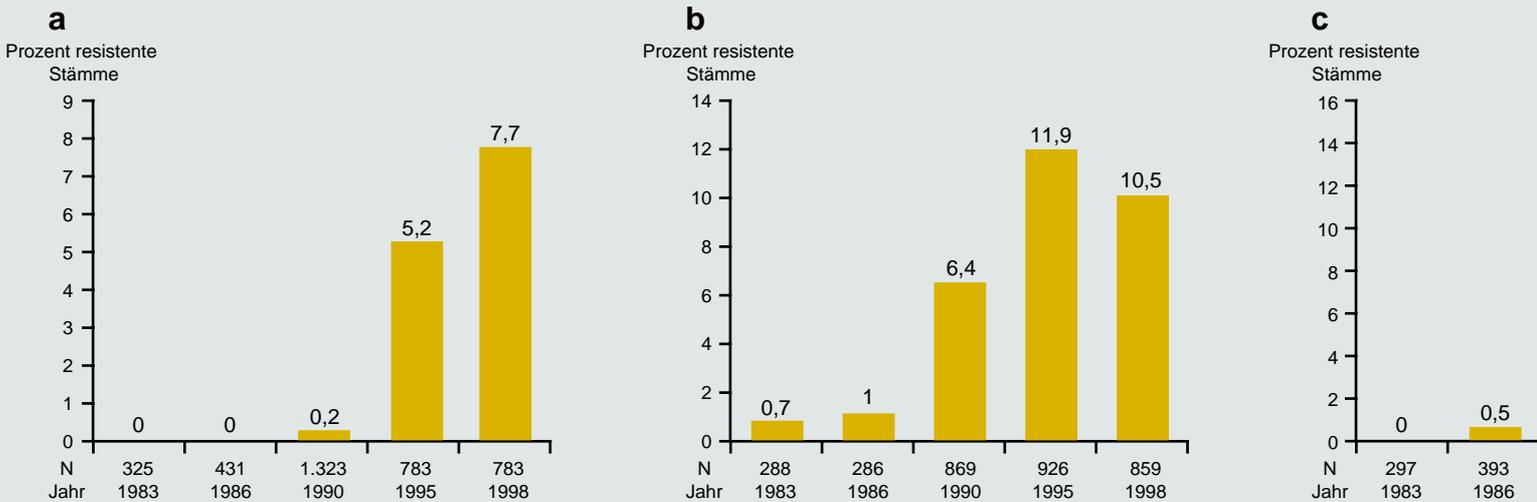


ABB. 2 Zeitliche Entwicklung der Resistenzlage bei verschiedenen Bakterienspecies gegenüber Ciprofloxacin a) *Escherichia coli*,

figkeit empfindlicher bzw. resistenter Stämme bei Patienten auf Allgemeinstationen und Intensivpflegepatienten festgestellt werden konnten.

Urin-Isolate von *E. coli* (n = 382) und *S. aureus* (n = 43) zeigten zu 10,5 % bzw. 27,9 % eine Resistenz, während die Blutkulturisolate der beiden Species (*E. coli*, n = 81; *S. aureus*, n = 72) nur zu 3,7 % bzw. 15,6 % gegenüber Ciprofloxacin resistent waren.

### Veränderungen der Häufigkeit klinisch resistenter Stämme in dem Zeitraum zwischen 1983 und 1998

Ciprofloxacin wurde erstmalig 1983 in die Untersuchungen der Arbeitsgemeinschaft mit einbezogen. Im folgenden soll die zeitliche Entwicklung der Resistenzsituation bei besonders wichtigen Bakterienspecies näher betrachtet werden.

**Escherichia coli:** Die Daten zur zeitlichen Entwicklung der Resistenzraten bei *E. coli* sind in Abb. 2a dargestellt. In den beiden ersten Untersuchungsjahren, 1983 (vor der Einführung des ersten Chinolons) sowie 1986 (nach der Einführung von Norfloxacin und der oralen Form des Ofloxacin), wurden keine Ciprofloxacin-resistenten Stämme (MHK

≥ 4 mg/L) isoliert. Im Jahre 1990 waren 0,2 % der untersuchten Stämme klinisch resistent. Danach stieg die Resistenzrate auf zunächst 5,2 % im Jahre 1995 und weiter auf 7,7 % im Jahre 1998 an.

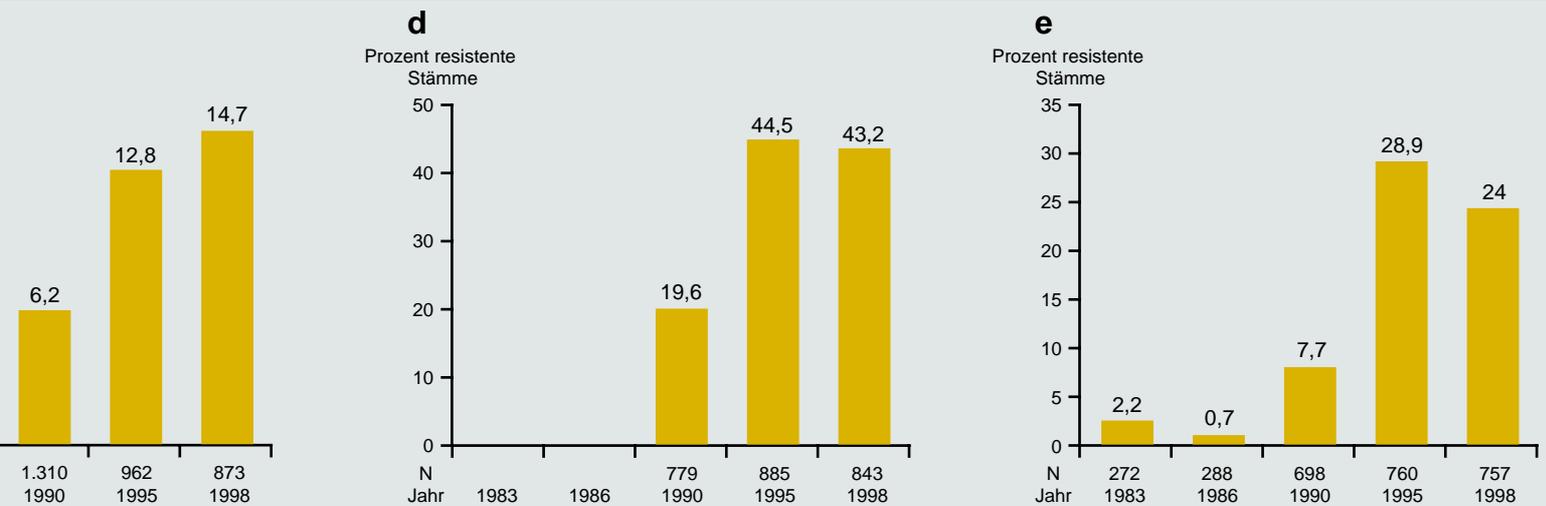
**Pseudomonas aeruginosa:** Entgegen der Erwartung wurden Ciprofloxacin-resistente *P.aeruginosa*-Stämme bereits vor der Einführung des ersten Chinolons isoliert (Abb. 2b). Der Anteil lag allerdings auch 1986 noch bei ≤ 1 %. Nach der Einführung von Ciprofloxacin und der parenteralen Form des Ofloxacin im Jahre 1987 nahm die Resistenz auf zunächst 6,4 % im Jahre 1990 und weiter auf 11,4 % im Jahre 1995 zu. Danach war ein leichter Rückgang auf 10,5 % im Jahre 1998 festzustellen.

**Staphylokokken:** Ciprofloxacin-resistente *S.aureus*-Stämme wurden erstmalig 1986 gefunden. Danach ist eine kontinuierliche Resistenzzunahme zu beobachten. Im letzten Untersuchungsjahr (1998) betrug die Resistenzrate 14,7 % (Abb. 2c). Koagulase-negative Staphylokokken wurden zum ersten Mal 1990 in die Untersuchungen der Arbeitsgemeinschaft mit einbezogen. Aus diesem Grund liegen Daten nur für die Jahre 1990, 1995 und 1998 vor. Die Ciprofloxacin-Resistenz nahm in dem Zeitraum von 1990 bis 1995

TAB. 3 VERHÄLTNIS KLINISCH SENSITIVER ZU KLINISCH RESISTENTEN STÄMMEN

Species	Ambulanzen			Allgemeinstationen			Intensivstationen		
	n	%-S	%-R	n	%-S	%-R	n	%-S	%-R
<i>Escherichia coli</i>	157	89,8	10,2	511	92,6	7,2	113	93,8	6,2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	154	92,2	4,5	500	84,0	12,2	205	84,4	10,7
<i>Staphylococcus aureus</i>	161	89,4	8,1	565	82,8	14,9	145	74,5	21,4
Koagulase-negative Staphylokokken	77	71,4	27,3	506	55,9	41,1	259	45,9	52,1
<i>Enterococcus faecalis</i>	112	57,1	12,5	469	58,0	23,0	174	48,9	34,5

Erläuterungen: n, Zahl der Stämme; %-S, Prozentsatz klinisch sensibler Stämme; %-R, Prozentsatz klinisch resistenter Stämme



b) *Pseudomonas aeruginosa*, c) *Staphylococcus aureus*, d) Koagulase-negative Staphylokokken, e) *Enterococcus faecalis*

von 19,6 % auf 44,5 % zu. Dagegen war der Anteil resistenter Stämme 1998 nahezu unverändert (43,2 %) (Abb. 2d).

*Enterococcus faecalis*: Der Anteil Ciprofloxacin-resistenter *E.-faecalis*-Isolate lag bis 1990 bei weniger als 3 %. Zwischen 1990 und 1995 nahm die Resistenz von 7,7 % auf fast 30 % zu. Im letzten Untersuchungsjahr (1998) erfolgte dann ein leichter Rückgang auf 24 % (Abb. 2e).

### Parallelresistenzen bei *E. coli*, *P. aeruginosa* und *S. aureus* im Untersuchungsjahr 1998

Ciprofloxacin-resistente Isolate waren häufiger gegen Chemotherapeutika anderer Substanzklassen resistent als Ciprofloxacin-sensible Isolate. *E.-coli*-Isolate mit klinischer Resistenz gegen Ciprofloxacin waren zu 93,3 % gegen Ampicillin und zu 28,3 % gegen Tobramycin resistent, während Ciprofloxacin-sensible Isolate nur zu 36,4 % gegenüber Ampicillin und zu 1,9 % gegenüber Tobramycin resistent waren. Alle Ciprofloxacin-resistenten Isolate waren aber sowohl gegenüber den Cephalosporinen der Gruppe 3 (Cefotaxim) als auch den Carbapenemen (Imipenem) sensibel (Abb. 3a).

Ciprofloxacin-resistente Isolate von *P. aeruginosa* waren häufiger gegen Ceftazidim (5,6 %), Imipenem (8,9 %), Tobramycin (33,3 %) oder Piperacillin/Tazobactam (7,8 %) resistent als Ciprofloxacin-sensible Isolate (0,3 – 3 %) (Abb. 3b).

Bei *S. aureus* und den Koagulase-negativen Staphylokokken steht die Verbreitung der Ciprofloxacin-Resistenz in engem Zusammenhang mit der Verbreitung der Oxacillin (Methicillin)-Resistenz. Aufgrund der sehr häufigen Parallelresistenz gegenüber den beiden Wirkstoffen – 68,8 % bei *S. aureus*, 85,2 % bei *S. epidermidis* und 98,4 % bei *S. haemolyticus* (Abb. 4) – findet sich in Regionen mit hoher Prävalenz der Oxacillin (Methicillin)-Resistenz immer auch eine hohe Prävalenz der Ciprofloxacin-Resistenz.

### Diskussion und Schlussfolgerungen

Für diese Veröffentlichung wurden aus der PEG-Resistenzstudie die Daten von Ciprofloxacin ausgewertet. Ciprofloxacin kann als Leitsubstanz der systemisch anwendbaren Chinolone mit breiter Indikation angesehen werden. Somit besitzen die für Ciprofloxacin ermittelten Resistenzraten auch eine Gültigkeit für Ofloxacin sowie Levofloxacin, das als S(-)-Enantiomer des Racemats Ofloxacin über das gleiche antibakterielle Spektrum und auch eine gleiche Pharmakokinetik verfügt wie Ofloxacin. Allerdings verfügt Levofloxacin *in vitro* über eine doppelt so hohe antibakterielle Aktivität als Ofloxacin und kann auch in höherer Dosierung zum klinischen Einsatz kommen. Hieraus ergibt sich, dass bei Verwendung identischer Grenzwerte für Ofloxacin und Levofloxacin ein größerer Anteil der Stämme als resistent gegenüber Ofloxacin eingestuft wird.

Die Daten dieser Studie zeigen, dass der Anteil der Stämme mit Resistenz gegen Ciprofloxacin zunächst (im Zeitraum von 1983 bis 1986) unverändert war. In dem Zeitraum von 1986 bis 1995 ist dann bei allen wichtigen Bakterienarten (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, Koagulase-negative Staphylokokken, *E. faecalis*) eine deutliche Zunahme der Resistenz zu beobachten. Dagegen war in der letzten Erhebungsperiode (1998) nur bei *E. coli* und *S. aureus* ein weiterer Resistenzanstieg festzustellen, während der Anteil der resistenten Stämme bei *P. aeruginosa*, Koagulase-negativen Staphylokokken und *E. faecalis* leicht rückläufig war.

An einem Universitätsklinikum der Maximalversorgung in Berlin stieg der Anteil Ciprofloxacin-resistenter *E.-coli*-Isolate von 1,7 % im Jahr 1992 auf 8 % im Jahr 1996 an. In dieser Studie fanden sich die höchsten Resistenzraten bei Isolaten der Nephrologie/Dialyse und der Urologie (jeweils > 10 % im Jahr 1996) [11]. Ein weiterer interessanter Aspekt dieser Studie war, dass sich die Wahrscheinlichkeit, resis-

tente *E.-coli*-Stämme zu isolieren, mit der Liegedauer der Patienten erhöhte. Zeitgleich mit der Zunahme der Resistenz hatte in dem Krankenhaus auch die verbrauchte Menge an Chinolonen um das Vierfache zugenommen.

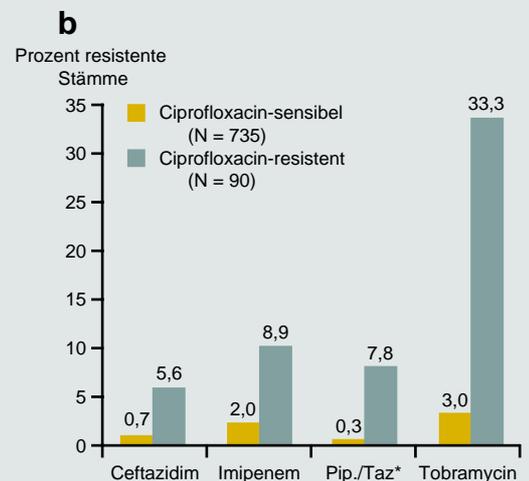
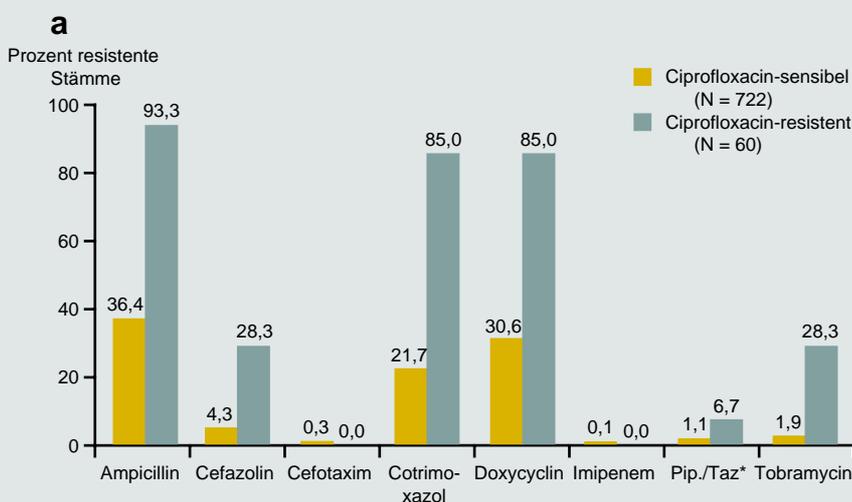
Vergleicht man die Resistenzsituation in verschiedenen europäischen Ländern miteinander, liegen die Resistenzraten in Deutschland z.T. über und z.T. unter den Werten der anderen Länder. In der pan-europäischen Resistenzstudie der PEG aus dem Jahr 1990 lag der Anteil Ciprofloxacin-resistenter *P.aeruginosa*-Isolate in Italien bei 43,3 %, in Frankreich bei 25,6 % und in Griechenland bei 19 % im Vergleich zu < 12 % in Belgien, Deutschland, Großbritannien, den Niederlanden, Österreich und der Schweiz [2]. *S. aureus* zeigte die höchsten Ciprofloxacin-Resistenzraten in Frankreich (30,5 %), Österreich (23,5 %) und Griechenland (20,7 %). In allen Ländern lagen die Resistenzraten von den Koagulase-negativen Staphylokokken über den Resistenzraten von *S. aureus*. Die höchsten Resistenzraten wurden aus Frankreich (39,1 %) und den Niederlanden (24,1 %) berichtet. Die Häufigkeit der Ciprofloxacin-Resistenz bei *E. faecalis* streute zwischen 2,5 % (Schweiz) und 20,9 % (Italien). Die Prävalenz der Ciprofloxacin-Resistenz bei *E. coli* betrug im Jahr 1990 in allen Ländern noch weniger als 2 % [2].

Insgesamt ist die Resistenzsituation bei Ciprofloxacin im Vergleich zur Resistenzsituation bei vielen anderen Antibiotikagruppen noch vergleichsweise günstig [5]. Im Jahre 1998 lag der Anteil der klinisch empfindlichen Stämme bei den meisten der untersuchten Enterobacteriaceae-Species, einschließlich der häufig isolierten Species *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae* und *P. mirabilis*, in einem Bereich von 92 % bis 97 % und bei *P. aeruginosa* und *S. aureus* in einem Bereich von 83 % bis 86 %. Dagegen fanden sich niedrige Empfindlichkeitsraten von z.T. unter 50 % bei den MRSA, Koagulase-negativen Staphylokokken und Enterokokken. Die höchsten Resistenzraten bei den untersuchten

gram-positiven Erregern fanden sich aus dem Material von Intensivpflegepatienten. Dagegen fanden sich Ciprofloxacin-resistente *E.-coli*-Isolate am häufigsten aus den Untersuchungsproben von Patienten aus dem ambulanten Bereich.

Bei fast allen Ciprofloxacin-resistenten *E.-coli*-Isolaten lag eine Parallelresistenz mit Aminopenicillinen (Ampicillin), Cotrimoxazol und Tetracyclinen (Doxycyclin) vor. Da Chinolone auch gezielt zur Behandlung von Infektionen durch multiresistente Erreger eingesetzt werden, ist es möglich, dass die Chinolon-Resistenz zusätzlich von den Bakterien erworben wurde. Andererseits sind Resistenzmechanismen bekannt, die gleichzeitig für eine Resistenz gegenüber Chinolonen und Antibiotika aus anderen Substanzklassen (Tetracycline,  $\beta$ -Laktam-Antibiotika, Chloramphenicol, Rifampicin) verantwortlich sind [8]. Es handelt sich hierbei um Effluxpumpen, die eine erniedrigte Konzentration der Substanzen in den Zellen bewirken. Derartige Systeme finden sich sowohl bei gram-negativen (z.B. Mex-Effluxpumpen bei *P. aeruginosa* bzw. Acr bei *E. coli*) als auch bei gram-positiven Erregern (z. B. NorA bei *S. aureus*).

Bei *E. coli* und *S. aureus* haben die Veränderungen der Zielstruktur der DNA-Topoisomerasen die größte Bedeutung für die Resistenzbildung gegenüber Chinolonen (siehe S. 382). Bei einer einzelnen Mutation sind die MHK-Werte von Chinolonen zumeist um 4 - 5 Stufen erhöht. Dies bedeutet, dass bei der natürlicherweise weniger empfindlichen Species *S. aureus* bereits eine einzelne Mutation zur klinischen Ciprofloxacin-Resistenz führen kann (MHK  $\geq 4$  mg/L). Dagegen sind bei *E. coli* mindestens zwei Mutationen zum Erreichen der klinischen Resistenz erforderlich. Bei hochresistenten *E.-coli*-Isolaten wurden u.a. gleichzeitig Mutationen im *gyrA*-Gen, *parC*-Gen und *mar*-Genlocus, der an der Regulation des Acr-Effluxsystems beteiligt ist, gefunden [8]. Mit dem natürlichen Grenzwert kann auch der



Anteil der *E. coli*-Isolate mit nur einer Mutation erfasst werden. Im Jahr 1998 betrug dieser Anteil 12,5 %.

Bei *P. aeruginosa* haben Mutationen in den Effluxsystemen die größte klinische Bedeutung für die Resistenzbildung. Hierbei können bereits einzelne Mutationen, die eine Überexpression der Effluxsysteme bewirken, zur klinischen Resistenz gegenüber Chinolone führen [8].

Der Verbrauch von Chinolonen in deutschen Kliniken hatte im Zeitraum von 1991 bis 1995 zunächst stark von 11,4 Mio. auf 16,2 Mio. Zählleinheiten (ZE) zugenommen. Nach 1995 stieg der Verbrauch dagegen nur noch geringfügig und betrug im Jahr 1998 17,6 Mio. ZE. Ein vergleichbarer Trend ist bei der Entwicklung der Chinolon-Resistenz zu beobachten. Zwischen 1990 und 1995 kam es zu einer starken Zunahme der Ciprofloxacin-Resistenz, während die Resistenzlage im Jahr 1998 im wesentlichen unverändert war.

Die Resistenzentwicklung stellt ein multifaktorielles Problem dar, dessen detaillierte Aspekte hier nicht alle diskutiert werden können. Es ist aber unstrittig, dass zwischen dem Umfang des Einsatzes von Chemotherapeutika und der Resistenzhäufigkeit ein gewisser Zusammenhang besteht [12, 13]. Ein solcher Zusammenhang erscheint plausibel, da mit einem steigenden Verbrauch ein erhöhter Selektionsdruck auf die Erreger ausgeübt wird. Da der Verbrauch an Chinolonen in Deutschland angestiegen ist, ist zu vermuten, dass die Zunahme Chinolon-resistenter Isolate mit der häufigeren Anwendung dieser Substanzklasse zusammenhängt.

Verschiedene Arbeitsgruppen fanden einen Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Bakteriämien durch Chinolon-resistente *E. coli* und dem Einsatz von Ofloxacin bzw. Norfloxacin bei neutropenischen Patienten zur selektiven Darmdekontamination [14, 15]. Eine andere Arbeitsgruppe beschrieb Bakteriämien mit Ciprofloxacin-resistenten *E. coli* bei Patienten, die vorher ambulant oder während eines

#### CIPROFLOXACIN-RESISTENZ-ENTWICKLUNG

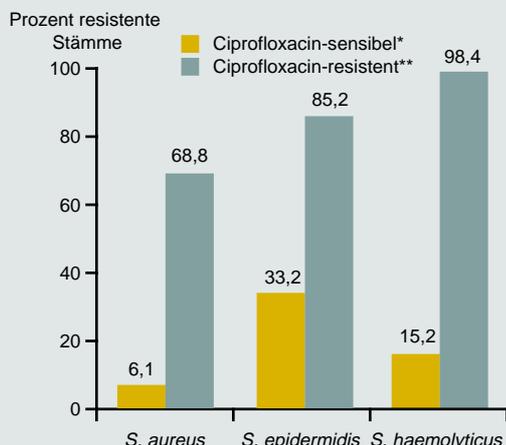
Auch in anderen europäischen Ländern wurde eine Zunahme der Chinolon-Resistenz beobachtet: In Spanien wurde über einen Anstieg der Ciprofloxacin-Resistenz bei *E. coli*-Urinisolaten berichtet. Nach den Angaben einer Studie von Ena et al. stieg die Prävalenz von < 1 % im Jahr 1988 auf 8 % im Jahr 1991 [9]. Eine andere Arbeitsgruppe beobachtete eine Zunahme der Resistenz von < 1 % im Jahr 1989 auf 7,1 % im Jahr 1992 [10].

Krankenaufenthaltes mit Chinolonen behandelt worden waren [16].

Der ermittelte, relativ hohe Anteil von Ciprofloxacin-resistenten *E. coli*-Isolaten aus den Proben von Patienten im ambulanten Bereich weist darauf hin, dass dort ein besonders hoher Selektionsdruck besteht. Im Zeitraum von 1991 bis 1998 stieg der Verbrauch von Chinolonen im deutschen Apothekenmarkt von 30 auf 50 Mio. ZE an.

Aufgrund des wachsenden Anteils von Risikopatienten wie älteren immungeschwächten Patienten oder Patienten mit z.B. aggressiver Chemotherapie sollte in Zukunft die Zahl von Infektionen und damit auch der Verbrauch von Chinolonen weiter zunehmen. Zudem stehen mit der Einführung der Chinolone der Gruppe III (Levofloxacin) und Gruppe IV (Moxifloxacin u.a.) nunmehr auch Substanzen für die Behandlung von Patienten mit Pneumokokken-Infektionen zur Verfügung. Auf diese Weise wird das Einsatzgebiet der Chinolone beträchtlich erweitert. Eine weitere Zunahme des Chinolon-Verbrauchs führt zwangsläufig zu einem erhöhten Selektionsdruck und damit zu einer weiteren Zunahme resistenter Stämme, die sich zudem rascher verbreiten können.

Um die Verbreitung resistenter Infektionserreger zu verhindern, ist es notwendig, einen starken Selektionsdruck zu



**<< ABB. 3 Parallelresistenzen verschiedener Antibiotika mit Ciprofloxacin**  
a) *Escherichia coli*, b) *Pseudomonas aeruginosa*  
Erläuterung: \*Piperacillin/Tazobactam

**< ABB. 4 Parallelresistenz von Oxacillin mit Ciprofloxacin bei Staphylokokken**  
Erläuterungen: \*Ciprofloxacin-sensibel: *S. aureus* (n = 722), *S. epidermidis* (n = 277), *S. haemolyticus* (n = 33); \*\*Ciprofloxacin-resistent: *S. aureus* (n = 128), *S. epidermidis* (n = 264), *S. haemolyticus* (n = 63)

## DER MIKRO-BOUILLONVERDÜNNUNGSTEST NACH DIN 58940

Das Deutsche Institut für Normierung hat in der Norm DIN 58940 eine Vorgehensweise zur Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MHK) in Mikrotiterplatten beschrieben, die es ermöglicht, mit reproduzierbaren Ergebnissen eine Vielzahl von Bakterienstämmen gleichzeitig zu testen.

Von den zu testenden Bakterien werden frische Vorkulturen angelegt und bis zu einer Dichte von ca.  $10^8$  Bakterien/ml kultiviert. Als visueller Vergleich kann der McFarland-Standard 0,5

(0,05 ml einer  $BaCl_2$ -Lösung in  $H_2SO_4$ ) dienen. Nicht-anspruchsvolle Mikroorganismen (z.B. Enterobacteriaceae-Spezies, Non-Fermenter wie *Pseudomonas aeruginosa*, Staphylokokken und Enterokokken) werden bei  $36 \pm 1$  Grad in einer mit divalenten Kationen supplementierten Mueller-Hinton-Bouillon inkubiert. Für anspruchsvolle Bakterien wie z.B. *Streptococcus pneumoniae* oder *Haemophilus influenzae* gelten andere Vorschriften. Die Bakterien werden für die Bestimmung der Hemmkonzentration derart verdünnt, dass in jeder Vertiefung der Mikrotiterplatte  $1 - 5 \times 10^5$  koloniebildende Einheiten (KBE) vorliegen.

Die zu testenden Antibiotika werden entsprechend einer geometrischen Reihe verdünnt und in identischen Volumina auf die Mikrotiterplatte verteilt. Zu beachten ist dabei, dass für jeden zu testenden Bakterienstamm eine Antibiotika-freie Wachstumskontrolle vorgesehen wird und dass das Testvolumen je Kavität maximal 200 µL beträgt.

Nach einer Inkubation über  $20 \pm 2$  Stunden bei  $36 \pm 1$  Grad wird mit bloßem Auge oder mithilfe eines Photometers die niedrigste Konzentration bestimmt und als MHK angegeben, bei der kein Wachstum mehr feststellbar ist. Festgelegte Grenzwerte ermöglichen eine Einstufung der getesteten Bakterienstämme als sensibel, intermediär oder resistent.

Zur Qualitätssicherung werden Kontrollstämme mitgeführt, deren ermittelte MHK-Werte im Bereich von  $\pm 1 \log_2$ -Verdünnungsstufe ihres Modalwertes bzw. innerhalb festgelegter Grenz(Kontroll)bereiche für jeden getesteten Wirkstoff liegen müssen.

Die Industrie bietet vorgefertigte Mikrotiterplatten an, die bereits mit Antibiotika in verschiedenen Konzentrationen beschickt sind. In der PEG-Studie wurden mit Antibiotika-beschickte Mikrotiterplatten der Fa. Merlin, Bornheim, verwendet.

vermeiden. Neben dem Einsatz von Antibiotika sind aber noch eine Vielzahl anderer Faktoren am Resistenzgeschehen beteiligt. Im klinischen Bereich spielen die absoluten Verbrauchszahlen möglicherweise eine geringere Rolle als die Einhaltung der allgemeinen Hygienemaßnahmen zur Vermeidung einer klonalen Ausbreitung der Infektionserreger. Im Sinn einer rationalen Therapie sollte aber jeder unnötige Selektionsdruck vermieden werden.

## Zitierte Literatur

- [1] Kresken, M., Wiedemann, B.: Development of Resistance to Nalidixic Acid and the Fluoroquinolones After the Introduction of Norfloxacin and Ofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* 32 (1988) 1285-1288.
- [2] Kresken, M., Hafner, D., Mittermayer, H., Verbist, L., Bergogne-Bérézin, E., Giamarellou, H., Esposito, S., van Klingeren, B., Kayser, F.H., Reeves, D.S., Wiedemann, B., Study Group 'Bacterial Resistance' of the Paul-Ehrlich-Society for Chemotherapy e.V.: Prevalence of Fluoroquinolone Resistance in Europe. *Infection* 22, Suppl. 2 (1994) S90-S98.
- [3] Kresken, M., Hafner, D., The Study Group Bacterial Resistance of the Paul-Ehrlich-Society for Chemotherapy: Drug Resistance Among Clinical Isolates of Frequently Encountered Bacterial Species in Central Europe During 1975-1995. *Infection* 27, Suppl. 2 (1999) S2-S8.
- [4] Kresken, M., Hafner, D., Witte, W., Reinert, R.R.: Resistenzentwicklung bei Staphylokokken und anderen grampositiven Erregern gegenüber Chemotherapeutika im mitteleuropäischen Raum. *Chemother J* 8 (1999) 136-145.
- [5] Kresken, M., Hafner, D., Studiengruppe: Resistenzsituation bei klinisch wichtigen Infektionserregern gegenüber Chemotherapeutika in Mitteleuropa. Ergebnisse einer multizentrischen Studie der Arbeitsgemeinschaft „Resistenz“ in der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V. aus dem Jahre 1998. *Chemother J* 9 (2000) 51-86.
- [6] Deutsches Institut für Normung, Normenausschuss Medizin (NA-Med). Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung von bakteriellen Krankheitserregern (außer Mykobakterien) gegen Chemotherapeutika. Mikrodilution. DIN 58940, Teil 8, Juni 1990.
- [7] Deutsches Institut für Normung, Normenausschuss Medizin (NA-Med). Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung von bakteriellen Krankheitserregern (außer Mykobakterien) gegen Chemotherapeutika. Teil 4: Bewertungsstufen der minimalen Hemmkonzentration – MHK-Grenzwerte von antibakteriellen Wirkstoffen. Beiblatt 1 zu DIN 58940-4, Januar 2000.
- [8] Wiedemann, B., Heisig, P.: Bakterielle Resistenz gegenüber Chinolonen (Ciprofloxacin). *Chemother J* 8 (1999) 99-107.
- [9] Ena, J., Amador, C., Martinez, C., Ortiz-de-la-Tabla, V.: Risk Factors for Acquisition of Urinary Tract Infection Caused by Ciprofloxacin Resistant *Escherichia coli*. *J Urol* 153 (1995) 117-120.
- [10] Perez-Trallero, E., Urbieta, M., Jimenez, D., Garcia-Arenzana, J.M., Cilla, G.: Ten-Year Survey of Quinolone Resistance in *Escherichia coli* Causing Urinary Tract Infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 12 (1993) 349-351.
- [11] Wagner, J., Xander, L.U., Wendt, C.: Änderung der Empfindlichkeit von *Escherichia coli* Isolatoren gegenüber Ciprofloxacin zwischen 1992 und 1996. *Chemother J* 6 (1997) 163-168.
- [12] Ballou, C. H., Schentag, J.J.: Trends in Antibiotic Utilization and Bacterial Resistance. *Pediatr. Infect Dis J* 15 (1996) 932-934.
- [13] Seppälä, H., Klaukka, T., Lehtonen, R., Nenonen, N., Finnish Study Group of for Antimicrobial Resistance, Huovinen, P.: Outpatient Use of Erythromycin: Link to Increased Erythromycin Resistance in Group A Streptococci. *Clin Infect Dis* 21 (1995) 1378-1385.
- [14] Carratala, J., Fernandez-Sevilla, A., Tubau, F., Callis, M., Gudiol, F.: Emergence of Quinolone-Resistant *Escherichia coli* Bacteremia in Neutropenic Patients with Cancer Who have Received Prophylactic Norfloxacin. *Clin Infect Dis* 20 (1995) 557-560.
- [15] Kern, W. V., Marcus, A., Andriof, E.: Bacteremia Due to Fluoroquinolone-Resistant *Escherichia coli* in Two Immunocompromised Patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 13 (1994) 161-165.
- [16] Pena, C., Albareda, J.M., Pallares, R., Pujol, M., Tubau, F., Ariza, J.: Relationship Between Quinolone Use and Emergence of Ciprofloxacin-Resistant *Escherichia coli* in Bloodstream Infections. *Antimicrob Agents Chemother* 39 (1995) 520-524.

**Die Autoren:**

*Dr. Michael Kresken (geb. 1957); 1977 – 1982 Studium der Ökotoxikologie mit den Schwerpunkten Lebensmittelmikrobiologie und Biochemie an der Universität Bonn; 1982 – 1987 Promotion am Institut für Medizinische Mikrobiologie und Immunologie der Universität Bonn bei Prof. Dr. B. Wiedemann; 1987 – 1990 in verschiedenen Funktionen mit dem Schwerpunkt Infektiologie/Antiinfektiva bei Beecham-Wülfig, bzw. SmithKline Beecham, 1990 – 2000 in verschiedenen Funktionen mit dem Schwerpunkt Infektiologie/Antiinfektiva bei Rhone-Poulenc Rorer; seit 2000 geschäftsführender Gesellschafter der Fa. Antiinfectives Intelligence Gesellschaft für klinisch-mikrobiologische Forschung und Kommunikation mbH in Bonn; seit 1988 Leiter der Arbeitsgemeinschaft „Resistenz“ in der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V.*

**Anschrift**

*Michael Kresken  
Antiinfectives Intelligence Gesellschaft für  
klinisch-mikrobiologische Forschung und  
Kommunikation mbH  
Immenburgstr. 20  
53121 Bonn  
Tel.: 0228/44470611  
Fax: 0228/44470616  
Email: michael.kresken@antiinfectives-  
intelligence.de*

*Dieter Hafner  
Institut für Pharmakologie und Klinische  
Pharmakologie  
Heinrich-Heine-Universität  
Moorenstr. 5  
40225 Düsseldorf*