
Inhalt

16. Jahrgang
Heft 5/6/2000



R. Krepler

Zum Geleit

Laudatio

Karl-Hermann-Spitzky-Preis 2000

R. Gatttringer¹, P.E. Mrass¹, A. Buxbaum², W. Graninger¹, The Austrian Study Group*, A. Georgopoulos¹

¹ Universitätsklinik für Innere Medizin I, Abteilung für Infektionen und Chemotherapie, AKH Wien

(Leiter: Univ.-Prof. DDr. W. Graninger)

² Universitätsklinik für Innere Medizin IV, Abteilung für Pulmologie, AKH Wien

(Leiter: Univ.-Prof. Dr. L.H. Block)

*A. Hirschl, D. Wolf, W. Ulrich, U. Setinek-Liszka (Wien), F. Allerberger (Innsbruck), W. Sixl, W. Thiel (Graz), M. Müller (Salzburg), E. Grund (Klagenfurt), G. Alpi (Villach), G. Leitner (Leoben), W. Pflanzl (Oberwart), W. Aichinger (Wels), J. Feichtinger (Steyr), H. Gogl (Vöcklabruck), G. Brinninger (Ried), W. Öhlinger (Krems), L. Gerstner (Mistelbach),

W. Stiegelbauer (Wr. Neustadt), M. Drlicek (Linz)

Wirksamkeit von Cefpodoxim und anderen oralen Antibiotika gegenüber Erregern von Atemwegsinfektionen in Österreich

U. Straschil¹, A. Buxbaum², W. Graninger¹, A. Georgopoulos¹

¹ Universitätsklinik für Innere Medizin I, Abteilung für Infektionen und Chemotherapie, AKH Wien

(Leiter: Univ.-Prof. DDr. W. Graninger)

² Universitätsklinik für Innere Medizin IV, Abteilung für Pulmologie, AKH Wien

(Leiter: Univ.-Prof. Dr. L.H. Block)

Serotypisierung und molekulare Analyse von Streptococcus pneumoniae-Isolaten aus Österreich

M. Wögerbauer, H. Lagler, H. Burgmann, W. Graninger

Universitätsklinik für Innere Medizin I, Abteilung für Infektionen und Chemotherapie, AKH Wien

(Leiter: Univ.-Prof. DDr. W. Graninger)

Resistenzgene in Antibiotikapräparaten – Trojanische Pferde?

P.E. Mrass, R. Gatttringer, W. Graninger, A. Georgopoulos

Universitätsklinik für Innere Medizin I, Abteilung für Infektionen und Chemotherapie, AKH Wien

(Leiter: Univ.-Prof. DDr. W. Graninger)

Pulsfeld-Gel-Elektrophorese, molekulare Analyse zur Typisierung von Mikroorganismen

A. Georgopoulos¹, P. Bezecny¹, A. Buxbaum², W. Graninger¹

¹ Universitätsklinik für Innere Medizin I, Abteilung für Infektionen und Chemotherapie, AKH Wien

(Vorstand: Univ.-Prof. DDr. W. Graninger)

² Universitätsklinik für Innere Medizin IV, Abteilung für Pulmologie, AKH Wien

(Vorstand: Univ.-Prof. Dr. L.H. Block)

Aktivität von Fosfomycin in Kombination mit Ampicillin,

Gentamicin, Moxifloxacin, Vancomycin und Teicoplanin gegenüber Enterokokken mittels Bioscreen-C-Analyzer

[zurück zur Übersicht](#)

Zum Geleit

Wenn ein großer Arzt seinen 85. Geburtstag in Gesundheit und Tatendrang feiern darf, ist es schon etwas Besonderes.

Wenn der Jubilar jahrelang unser Haus wesentlich mitgestaltet, ist es für mich eine ehrenvolle Aufgabe, Worte des Dankes und der Bewunderung von ehemaligen Kollegen, Schülern und Mitarbeitern zu übermitteln.

Es ist mir eine ganz besondere Freude, Herrn Univ.-Prof. (emeritiert) DDr. Karl Hermann Spitzky zu seinem 85. Geburtstag zu gratulieren und ihm die vorliegende Ausgabe des ANTIBIOTIKA MONITOR zu widmen. Stammen doch alle Beiträge von Mitarbeitern seiner ehemaligen Klinik.

Unter der Leitung des Jubilars wurde aus der „Forschungsstelle für Antibiotika“ im alten Allgemeinen Krankenhaus Wien die weltweit erste „Universitätsklinik für Chemotherapie“. Es ist das Verdienst von Karl Hermann Spitzky und seinen damaligen Mitarbeitern, dass diese Klinik Weltruf erlangte und damit unser Haus für Österreich und die ganze Welt die Führerschaft in der antimikrobiellen Chemotherapie übernahm. Seinen Schülern ist es gelungen, die von ihm gelebte Symbiose – Forschung, Lehre und Arztsein – zum Wohle des Patienten ins dritte Jahrtausend zu führen.

Nicht unerwähnt soll bleiben, dass es Karl Hermann Spitzky immer um den Menschen und nicht nur um dessen Krankheiten ging. Damit fühlt sich unser Jubilar der Wiener Medizinischen Schule verpflichtet, da seiner Meinung nach alte Tradition nicht verloren gehen sollte.

Hochverehrter Herr Univ.-Prof. DDr. Spitzky!

Mit tiefem Dank und Anerkennung im Namen aller Kollegen und Schüler die allerbesten Glückwünsche.

Ao. Univ.-Prof. Dr. R. Krepler
Ärztlicher Direktor

[zurück zum Inhalt](#)

K.H. Spitzzy – Techniker, Mediziner und Philosoph – ist 85



Der international anerkannte Experte für Chemotherapie und Humanist Univ.-Prof. DDr. med. et phil. Karl Hermann Spitzzy feierte am 10.11. 2000 seinen 85. Geburtstag. Er selbst bezeichnet sich als ein wenig taub, blind und lahm, doch fröhlich und guter Dinge. Mit 78 Jahren hat er zum Doktor der Philosophie promoviert und hält derzeit an der medizinischen Fakultät eine gut besuchte Vorlesung über Klinische Philosophie der Begegnung.

Als Absolvent des benediktinischen Schottengymnasiums 1933 in Wien war ihm von engagierten Lehrern eine umfassende humanistische Bildung vermittelt worden. Das "ora et labora", der Wahlspruch des heiligen Benedikt, blieb für sein Leben insofern bestimmend, als er bis in sein hohes Alter nicht aufhörte, den Sinn seiner vielfältigen Tätigkeiten ständig zu hinterfragen. Das zeigt sich schon in seinem Studienweg von der Technik zur Medizin und weiter zur Philosophie.

„Herr Doktor, haben Sie was zu essen?“ war 1933/34, in der Zeit der Wirtschaftskrise, eine oft gestellte Frage, und so entschloss sich Spitzzy parallel zum Medizinstudium einen zweijährigen Werkmeisterkurs für Maschinenbau und Elektrotechnik zu absolvieren. Gleich darauf inskribierte er zusätzlich Philosophie, wo Erich Heintel und Ferdinand Wagner seine Lehrer wurden. Das Medizinstudium schloss er 1939 ab, arbeitete als Gastarzt in Fortsetzung seiner Hospitantentätigkeit mit bereits zwei Publikationen an der Ersten Medizinischen Klinik und kam im selben Jahr als Truppenarzt zur Waffen SS. Dann folgte bis Kriegsende ein Einsatz an der russischen Front als Bataillonsarzt, Regimentsarzt und im letzten Jahr als Internist im Korpslazarett. Anschließend wirkte er als Leitender Internist zwei Jahre am Krankenhaus Peine/Hannover und kehrte dann wieder nach Wien an die Erste Medizinische Klinik unter Ernst Lauda zurück. An der hämatologischen Abteilung unter Edwin Keibl tätig, waren seine frühen Arbeiten, in Zusammenarbeit mit Alfred Locker, Untersuchungen des Stoffwechsels von Leukämiezellen unter dem Einfluss von Cytostatika. 1955 hatte Spitzzy so nebenbei sein Philosophiestudium mit dem Absolutorium abgeschlossen und im selben Jahr eine Forschungsstelle für Antibiotika an der Klinik gegründet.

Die Forschungsstelle für Antibiotika beschäftigte sich vorwiegend mit dem Problem der Möglichkeiten, Penicillin in Tabletten verabreichen zu können. Der Biologe Brandl und der Chemiker Magreiter hatten säurefeste Penicilline entdeckt, und es galt, das beste auszuwählen und pharmakokinetische, toxikologische und weitere klinische Daten zu erheben. Als Resultat ergab sich das so genannte Penicillin V, das heute noch weltweit als klassisches Oralpenicillin im Gebrauch ist. Spitzzy erhielt für seine bahnbrechenden Arbeiten auf diesem Gebiet 1960 den Theodor-Körner-Preis und habilitierte 1962 zum Dozenten für Chemotherapie, gründete 1970 eine selbstständige Lehrkanzel für Chemotherapie, wurde 1970 außerordentlicher und 1973 ordentlicher Professor und verwandelte 1979 die Lehrkanzel in eine Universitätsklinik für Chemotherapie, in der Patienten mit Infektionen und Tumoren chemotherapeutisch behandelt wurden. Zahlreiche Forschungsarbeiten auf den Gebieten der Infektions- und Tumorthherapie haben Spitzzy und seine Mitarbeiter, vor allem K. Moser, G. Hitzenberger, H. Pichler, H. Rainer, St.

Breyer, Ch. Dittrich, A. Georgopoulos, W. Graninger u.a. vorlegen können. Hervorzuheben sind dabei Arbeiten, vor allem mit Hitzenberger, über die Hochdosierung von Penicillin, die Spitzky den Namen „Millionenspitzy“ eintrugen.

Die österreichische Antibiotikaforschung hatte vor allem durch die Entwicklung der Oralpenicilline internationales Ansehen gewonnen, denn die säurefesten Penicilline waren nicht nur gegen den sauren Magensaft widerstandsfähig, sondern machten diese für chemische Synthesen und Halbsynthesen brauchbar. Eine Flut von neuen Beta-Lactam-Antibiotika, besonders von Penicillinen und Cephalosporinen, wurden in Halbsynthese entwickelt und überschwemmen bis heute den Markt.

Wie alle neuen Medikamente, denen höchste Wirksamkeit bei guter Verträglichkeit zugesprochen werden kann, wurden die neuen Antibiotika missbräuchlich angewandt. Für rasch auftretende Resistenzen wurden immer wieder neue Substanzen eingesetzt und so ein Wettlauf mit der natürlichen Selektion unempfindlicher Varianten entfesselt. Da tat Aufklärung not, denn Antibiotika sollten gezielt eingesetzt werden und nicht zu Fiebermitteln verkommen. Spitzky setzte sich voll ein. Er reiste von einem Fortbildungsvortrag zum anderen, sprach im Rundfunk, im Fernsehen und verfasste an die 200 Fortbildungsfilme. Er karrte Ärzte auf Hochseeschiffen zu 12 Kreuzfahrten, bei denen die Teilnehmer nicht entkommen konnten, organisierte Hunderte von Kongressen, wie 1967 den Internationalen Kongress für Chemotherapie in Wien, dem er als Präsident vorstand, und der so erfolgreich war, dass Wien ihn 1983 ein zweites Mal ausrichten durfte. Waren das erste Mal etwa 3.500 Teilnehmer gekommen, fanden sich beim zweiten Mal 12.000 Autoren und Coautoren ein. Spitzky, als Ehrenpräsident, setzte eine Präpublikation der Referate in 18 Bänden durch.

Spitzkys organisatorische Fähigkeiten wurden von internationalen und nationalen Gesellschaften benützt. Er wurde von der Internationalen Paul-Ehrlich-Gesellschaft 1974 zum Präsidenten gewählt und leitete die traditionsreiche Gesellschaft der Ärzte in Wien neun Jahre lang ab 1982. Es häuften sich die Ehrungen wie Ehren-Obmann und -Mitgliedschaften, Billroth-Medaille, Wilhelm-Exner-Medaille, Vesalius-Medaille, höchste Orden der Stadt Wien und der Ärztekammer etc. All das konnte nicht dazu führen, dass Spitzky sich zurücklehnte; seine Rastlosigkeit und sein Optimismus blieben ungebrochen. Nach der Emeritierung mit 71 Jahren nahm er bald sein Philosophiestudium wieder auf, machte in Deutschland an der Gustav-Siewerth-Akademie in Bierbrunn unter der Leitung von Frau Univ.-Prof. Dr. Alma von Stockhausen seinen Magister artium mit Hauptfach Philosophie und promovierte mit seiner Dissertation „Dämon und Hoffnung“ bei Peter Kampits an der Wiener Universität. Seither liest er nun „Klinische Philosophie“ im Neuen AKH.

Seine Philosophie ist kein theoretisches Geplänkel, sondern zielt auf das praktische Arzt-Patient-Verhältnis, auf die Ethik in der Medizin und die unabschüttelbare Verantwortung des Arztes. Dabei geht es dem unverbesserlichen Humanisten nicht nur um die Verantwortung für den kranken Mitmenschen im Zeichen der paracelsischen und hildegartschen Liebe, sondern auch und vor allem um die Verantwortung „wovor“. Die Gesetze, die Gesellschaftsnormen, der unrückgebundene Humanismus, selbst das eigene Gewissen reichen nicht aus, um diese Verantwortung für einen Menschen übernehmen zu können. Da sind die österreichischen Philosophen Vorbilder: Martin Buber, Ferdinand Ebner und Hans Jonas vertreten im Gegensatz zu den Destruktionisten ein metaphysisch bezogenes Denken, das dem Expertentum langsam, aber sicher abzugehen beginnt. Das Ich und Du im dialogischen Denken steht nicht nur als Dyade da, sondern ist immer eine Triade, und wenn Gott auch nur, wie Buber sagt, „in das Zwischen einweht“.

So schließt Spitzky heute seinen Lebenskreis, nicht mit erhobenem Zeigefinger, nicht mit

dem Gefühl „man kann eh nichts machen“, sondern predigt mit glühendem Optimismus von einer Symbiose von Technik, Medizin und Philosophie, die seinen Lebensweg begleitet haben.

Dass ihm dies noch viele Jahre vergönnt sei, ist unser aufrichtiger Wunsch.

A. Schifer

Univ.-Prof. DDr. A. Georgopoulos

Curriculum vitae

Karl Hermann Spitzzy, geb. am 10.11.1915 als Sohn des Univ.-Prof. für Orthopädie Hans Spitzzy in Wien

1933 Reifeprüfung am Schottengymnasium in Wien
1933 Studienbeginn Medizin an der Universität Wien
1933 Studienbeginn Philosophie an der Universität Wien
1935 Techn. Werkmeisterprüfung am Arsenal, Wien
1939 Promotion zum Dr. med. an der Universität Wien
1939 - 1945 Arzt an der Front in Russland
1945/46 Chefarzt für Innere Medizin im Krankenhaus Peine/Hannover
1946 Eintritt in die I. Med. Univ.-Klinik in Wien
1955 Absolutorium in Philosophie an der Universität Wien
1955 Leiter der Forschungsstelle für Antibiotika
1960 Verleihung Theodor-Körner-Preis
1962 Habilitierung zum Dozenten für Chemotherapie
1967 Präsident des Int. Kongresses für Chemotherapie
1970 Ernennung zum a.o. Univ.-Prof.
1973 Ernennung zum o. Univ.-Prof.
1974 - 1976 Präsident der Paul-Ehrlich-Gesellschaft
1979 Vorstand der Univ.-Klinik für Chemotherapie
1982 - 1991 Präsident der Gesellschaft der Ärzte in Wien
1987 Emeritierung an der Universität Wien
1988 Erstmalige Vergabe des Karl-Hermann-Spitzzy-Preises
1991 Wiederaufnahme des Philosophiestudiums
1992 Sponson zum Magister artium an der Gustav-Siewerth-Akademie in Bierbrunnen/Deutschland, Hauptfach: Philosophie
1992 Verleihung der Wilhelm-Exner-Medaille
1993 Verleihung der Billroth-Medaille
1994 Promotion zum Dr. phil. an der Universität Wien
1994 Kulturpreis der Stadt Baden
1995 Goldene Medaille der Ärztekammer
1996 Goldene Medaille der Stadt Wien
1998 Ehrenpräsident der Wiener Medizinischen Akademie

Publikationen

Insgesamt über 400, darunter:

1955 „Die perorale Penicillintherapie“ (Entwicklung des ersten Oralpenicillins)

1962 „Penicillin in hohen Dosen“ (Entwicklung der Hochdosierung)
 1970 „Repräsentativer Einzelfall und Doppeltblindversuch“ (Kritik der klinischen Statistik)
 1971 Mitherausgeber der „Klinischen Pharmakologie und Pharmakotherapie“ 1.-3. Aufl.
 Urban & Schwarzenberg,
 ab 4. Aufl. (1983) „Klinische Pharmakologie“, Ecomed „Das Placebophänomen“ (Kritik der
 Arzneimitteltherapie)
 1973 „Einordnungsmöglichkeiten der homöopathischen Therapie und ihre Kontrolle“
 1982 „Van Swietens Erbe, Die Wiener Medizinische Schule in Selbstdarstellungen“,
 Verlag Maudrich, Wien
 1984 „Der Versuch am Menschen“
 1989 „Kann eine Metamedizin zwischen der Paramedizin und der sogenannten
 Schulmedizin eine Brücke schlagen?“
 (Dialogik als Lösungsvorschlag)
 1991 „Ich und Du in der Medizin“
 1992 „Schmerz und Placebo“
 1993 „Dämon und Hoffnung. Dialogik in der Medizin“, Verlag Hasel, Wien
 1994 „Klinische Philosophie I. Ärztliche Dialogik“, Verlag Maudrich, Wien
 1995 „Klinische Philosophie II. Ärztliche Ethik“, Verlag Maudrich, Wien
 1993 „Ethik und Arzneimittelforschung“, in „Klinische Pharmakologie“, Ecomed II-1.4.1
 1994 „Ärztliche Ethik im Spannungsfeld ökonomischer Anforderungen“, in Theurl H.
 (Hrsg.)
 „Tödliche Grenzen. Rationalisierung im Gesundheitswesen“, Alfred Meran, S. 33
 1995 „Klinisch-philosophische Betrachtungen über den Einfluss großer Seuchen auf das
 Kulturbewusstsein“,
 in „Klinische Pharmakologie“, Ecomed
 1997 „Ethische Aspekte der Chemotherapie“, Angermühler Kreis
 1997 „Archäologie des ärztlichen Blicks“, Spektrum der Augenheilkunde 11/5, 209
 1997 „Probleme der Antibiotik“, Die Waage, Grüenthal, im Druck
 1997 „Die Arzt-Patient-Beziehung und das Placebophänomen“, Imago hominis IV/1 Wien
 1997 „Arzt, Patient und Versicherung“, in „Versicherungsgesch. Österr.“ Bd. 5, S. 505
 1998 „Das verblichene Du“, in Stefenelli (Hrg.) „Körper ohne Leben“, S. 899
 1998 „Klinische Philosophie III. Ärztliche Wissenschaft“, Verlag Maudrich, Wien
 1998 „Von der Dialogik zum Konstruktivismus in der Medizin“, Symposium der
 Gesellschaft für organismischsystemische Forschung
 1999 „Kritik der Chemotherapie im Rahmen einer konstruktiv-dialogischen Medizintheorie“
 5. Wiener Dialog
 „Ganzheitliche Krebstherapie“ der Ges. für Ganzheitsmed. Zusammenf.
 1999 „Der Dialog der Friedensstifter“, Wiener Blätter zur Friedensforschung, Manz S. 42
 2000 „Versorgung mit innovativen Arzneimittel“, Manage Med. 4/2000, S. 25
 2000 „Klinische Philosophie IV. Ärztliche Hodegetik“, Verlag Maudrich, Wien

[zurück zum Inhalt](#)

Karl-Hermann-Spitzzy-Preis 2000

Forschungspreis zum siebten Mal verliehen

Mit der 1987 erfolgten Stiftung des Karl-Hermann-Spitzzy-Preises leistet Bayer Austria Healthcare einen aktiven Beitrag zur Förderung und Auszeichnung akademischer Grundlagenforschung und schafft damit einen zusätzlichen Anreiz für forschende Mediziner.

Der Forschungspreis wird für klinisch relevante Arbeiten auf dem Gebiet der Infektionskrankheiten und der antimikrobiellen Chemotherapie verliehen. Der Preis ist mit 200.000 Schilling dotiert und wurde im Jahr 2000 zum siebten Mal vergeben. Die vier Preisträger erhielten je 50.000 Schilling.

Die Verleihung fand am 11. Oktober 2000 in der Gesellschaft der Ärzte in Wien statt. Die Preise wurden von Dr. Martin Hagenlocher, Geschäftsbereichsleiter von Bayer Austria Healthcare, übergeben.

Ausgezeichnet wurde **Dr. Nora Bayer** (Institut für Pathophysiologie, Universität Wien) für ihr Projekt: „Internalisieren Rhinoviren-spezifische Membranrezeptoren Clathrin-abhängig?“ Dr. Bayer: „Die Anheftung von Viren an bestimmte zelluläre Oberflächenstrukturen geschieht in hochspezifischer Weise. Dieser folgt der Transport ins Innere der Zelle. Im Fall der Schnupfenviren soll untersucht werden, welche Mechanismen diesen Transportvorgängen zugrunde liegen. Außerdem soll geklärt werden, ob die Funktion aller beteiligten Rezeptoren von dem Protein Clathrin abhängig ist.“

Für das Projekt: „Comparison of continuous versus intermittent administration of imipenem/cilastatin in critically ill patients“ wurde **Univ.-Prof. Dr. Florian Thalhammer** (Universitätsklinik für Innere Medizin I, Abteilung für Infektionen und Chemotherapie, Wien) der Preis zuerkannt. Dazu erläutert der Preisträger: „Die optimale Applikation von Antibiotika zur Therapie bakterieller Infektionen wird kontroversiell diskutiert. Im Gegensatz zu den Aminoglykosiden entwickeln Betalaktamantibiotika ihre maximale antimikrobielle Aktivität bei Konzentrationen, die das 4- bis 5-fache der minimalen Hemmhofkonzentration (MHK) des Zielpathogens über einen möglichst langen Abschnitt des Dosierungsintervalls betragen. Die Studie untersucht

(1) die Pharmakokinetik von Imipenem/Cilastatin bei kontinuierlicher Applikation im Vergleich zur 8-stündlichen Gabe als Kurzinfusion und

(2) ob bei kontinuierlicher Verabreichung des Antibiotikums auch klinisch eine schnellere bzw. höhere Erfolgsrate im Vergleich zur Standardgabe zu erzielen ist.“

Univ.-Prof. Dr. Georg Wick (Österreichische Akademie für Wissenschaften, Institut für Biomedizinische Altersforschung, Wien) erhielt den Preis für die Forschungsarbeit: „Endothelial cytotoxicity mediated by serum antibodies to heat shock protein of *Escherichia coli* and *Chlamydia pneumoniae*.“ Die Arbeitsgruppe von Univ.-Prof. Dr. Georg Wick am Institut für Biomedizinische Altersforschung der Österreichischen Akademie der Wissenschaften in Innsbruck hat ein neues Konzept für die Entstehung der Atherosklerose entwickelt und experimentell und klinisch untermauert. Dieses Konzept beruht auf der Beobachtung, dass alle Menschen eine Reaktion gegen Infektionserreger, d.h. Bakterien, Viren oder Parasiten, aufweisen.

Derartige Mikroorganismen produzieren nach Stress, wenn sie zum Beispiel milder Hitze unterworfen werden, so genannte Stressproteine (= Hitzeschockproteine), und das menschliche Immunsystem erkennt diese und reagiert. Auch die Zellen, welche die menschlichen Arterien auskleiden, reagieren auf Stressfaktoren, wie die klassischen Atherosklerose-Risikofaktoren, durch die Produktion von Hitzeschockproteinen. Erstaunlicherweise sind Hitzeschockproteine von Mikroorganismen und Menschen chemisch sehr ähnlich. Dies kann zu einer „Verwechslungsreaktion“ führen, bei der sich die bereits existierende, schützende Immunreaktion gegen bakterielle Hitzeschockproteine nun auch gegen die gestressten körpereigenen Gefäßzellen wendet und in der innersten Schicht der Arterien zu einer Entzündungsreaktion führt. Man bezeichnet diese Art von Krankheiten als Selbstangriffskrankheiten oder Autoimmunerkrankungen.

Wenn Atherosklerose-Risikofaktoren, wie hohe Blutcholesterinwerte, bei diesen Menschen weiter bestehen bleiben, kommt es schließlich auf der Basis dieser anfänglichen Entzündungsreaktion zur voll ausgeprägten Atherosklerose mit den bekannten Folgeerscheinungen, wie Herzinfarkt und Gehirnschlag. Der Mensch muss also für seine schützende Immunreaktion gegen Infektionserreger durch das frühe entzündliche Stadium der Atherosklerose „bezahlen“, falls er sein Gefäßsystem durch Atherosklerose-Risikofaktoren, wie hoher Blutdruck, hohes Blutcholesterin, Rauchen etc., stresst. Dieses Konzept eröffnet völlig neue Perspektiven für die Prävention, Diagnose und Behandlung der Atherosklerose.“

Univ.-Prof. Dr. Günter Weiss (Universitätsklinik für Innere Medizin, Innsbruck) wurde für seine Forschungsarbeit: „Associations between cellular immune effector function, iron metabolism and disease activity in patients with chronic hepatitis C virus infection“ geehrt. „Die Hepatitis C ist eine chronisch verlaufende Viruserkrankung, die häufig in einem Leberversagen endet und von der in Europa ca. 3-5 Millionen Menschen betroffen sind. Aufgrund der Beobachtung, dass hohe Eisenkonzentrationen in der Leber mit einem schlechten therapeutischen Ansprechen bei Hepatitis C vergesellschaftet sind, und der von uns früher entdeckten Tatsache, dass Eisen die Aktivität von Interferon-gamma, einem zentralen Immunbotenstoff, der bei der Abwehr von Virusinfektionen eine entscheidende Bedeutung hat, haben wir bei Patienten mit Hepatitis C den Zusammenhang zwischen Eisenmetabolismus, Immunabwehr und Krankheitsverlauf untersucht.

Es konnte gezeigt werden, dass bei Hepatitis-C-Infektionen hohe Eisenkonzentrationen mit einem rascheren Krankheitsverlauf, einer vermehrten Leberschädigung und einer erhöhten Wahrscheinlichkeit des Übergangs der Erkrankung in eine Leberzirrhose assoziiert sind. Eine wesentliche Ursache für Letzteres dürfte der Umstand sein, dass Eisen zu einer Änderung der Immunitätslage führt, und zwar in dem Sinne, dass anti-entzündliche Immunabwehrmechanismen, wie die Bildung von Interleukin-4 stimuliert werden, während anti-virale Effektormechanismen, wie die Bildung von Stickstoffmonoxid, Sauerstoffradikalen oder proinflammatorischen Zytokinen deutlich reduziert sind, was insgesamt eine für die Bekämpfung von Viruserkrankungen ungünstige Konstellation darstellt.

Aus diesem Grund wird es nunmehr interessant zu untersuchen, inwieweit der Entzug von Eisen durch therapeutische Applikation neu zu entwickelnder Eisenchelatoren (eisenbindende Substanzen) den Verlauf einer Hepatitis-C-Infektion günstig beeinflussen kann“, erklärte Professor Weiss.

[zurück zum Inhalt](#)

Wirksamkeit von Cefpodoxim und anderen oralen Antibiotika gegenüber Erregern von Atemwegsinfektionen in Österreich

R. Gattringer¹, P.E. Mrass¹, A. Buxbaum², W. Graninger¹, The Austrian Study Group*, A. Georgopoulos¹
¹ Universitätsklinik für Innere Medizin I, Abteilung für Infektionen und Chemotherapie, AKH Wien
(Leiter: Univ.-Prof. DDr. W. Graninger)

² Universitätsklinik für Innere Medizin IV, Abteilung für Pulmologie, AKH Wien
(Leiter: Univ.-Prof. Dr. L.H. Block)

*A. Hirschl, D. Wolf, W. Ulrich, U. Setinek-Liszka (Wien), F. Allerberger (Innsbruck), W. Sixl, W. Thiel (Graz),
M. Müller (Salzburg), E. Grund (Klagenfurt), G. Alpi (Villach), G. Leitner (Leoben), W. Pflanzl (Oberwart),
W. Aichinger (Wels), J. Feichtinger (Steyr), H. Gogl (Vöcklabruck), G. Brinninger (Ried), W. Öhlinger
(Krems),

L. Gerstner (Mistelbach), W. Stiegelbauer (Wr. Neustadt), M. Drlicek (Linz)

- **Schlüsselwörter**
 - **Zusammenfassung**
 - **Key-words**
 - **Summary**
 - **Einleitung**
 - **Material und Methoden**
 - **Ergebnisse**
 - **Diskussion**
 - **Literatur**
-

Schlüsselwörter:

Cefpodoxim, Respirationstrakt, minimale Hemmkonzentration

Zusammenfassung

Sowohl in der niedergelassenen Praxis als auch im Krankenhaus muss sehr oft mit einer Antibiotikatherapie begonnen werden, ohne den Erreger nachgewiesen zu haben. Bei einer auf diese Weise begonnenen Therapie sollte immer mit der Möglichkeit einer veränderten bakteriellen Resistenzlage der Erreger gerechnet werden. Von besonderer Wichtigkeit ist es daher, in regelmäßigen Abständen die häufigsten Erreger von wichtigen Krankheitsgruppen, wie hier den Atemwegsinfektionen, gegenüber klinisch relevanten Antibiotika zu testen. In dieser Studie wurden 1.076 klinische Isolate (*Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Moraxella catarrhalis*, *Hämophilus influenzae* und *Klebsiella pneumoniae*), die aus 18 österreichischen Krankenhäusern stammten, auf ihre Empfindlichkeit gegenüber Penicillin, Amoxicillin, Amoxicillin/Clavulansäure, Cefaclor, Cefalexin, Cefadroxil, Cefixim, Cefuroxim, Cefpodoxim, Clarithromycin und Azithromycin untersucht. Sämtliche Isolate stammten von Patienten mit nicht-nosokomial erworbenen Infektionen („community acquired“), nämlich oberen und unteren Respirationstraktinfektionen und Otitis media. Cefpodoxim erwies sich als sehr gut wirksam gegenüber Erregern von Atemwegsinfektionen. Im Vergleich zu anderen getesteten oralen Cephalosporinen zeigt es zumeist eine höhere Aktivität. Generell waren in dieser Studie die Betalactam-Antibiotika den Makroliden überlegen.

Cefpodoxim erfasst sehr gut relevante grampositive und gramnegative Keime oberer und unterer Atemwegsinfektionen und kann daher bei einer empirischen Therapie als ein Mittel der Wahl angesehen werden.

Key-words:

Cefpodoxime, respiratory tract, minimal inhibitory concentration

Summary

The susceptibilities of 1,076 clinical isolates of different bacterial species causing community acquired respiratory tract infections, obtained from different laboratories across Austria, were tested against various oral antibiotics. Minimal inhibitory concentration (MICs) values were determined in tests with penicillin, amoxicillin, amoxicillin/clavulanic acid, cefaclor, cefalexin, cefadroxil, cefixime, cefuroxime, cefpodoxime, clarithromycin and azithromycin by a broth microdilution method.

The susceptibility of the tested respiratory tract pathogens to cefpodoxime proved to be very high. Compared to the other tested oral cephalosporins, it shows equal or better activity. Generally β -lactam antibiotics prove to be superior to the macrolides in this study. In conclusion cefpodoxime provides excellent coverage of all relevant respiratory tract bacteria and is therefore a good choice in the treatment of these common infections.

Einleitung

Grundlagen einer erfolgreichen Behandlung bakterieller Infektionen sind der Nachweis und die Resistenzprüfung des verursachenden Erregers. Die rasche Entwicklung von Resistenzen beruht in den meisten Fällen auf Selektion infolge inadäquater oder falscher Anwendung von Antibiotika, wie z.B. bei viral bedingten Infektionen des Respirationstraktes. Ein weiteres Beispiel für eine unsachgemäße Anwendung ist die Verabreichung eines Antibiotikums in zu niedriger Dosierung. Dadurch werden die Erreger subinhibitorischen Konzentrationen ausgesetzt, die zu einer raschen Resistenzentwicklung führen können. Die diagnostischen Möglichkeiten, den Erreger einer bakteriellen Infektion schnell und eindeutig zu identifizieren, sind dank neuer Techniken so zuverlässig, dass auf ein neues Resistenzmuster schnell und effizient reagiert werden kann. Dadurch können Resistenzentwicklung und Fehlbehandlungen vermieden werden.

Bei Atemwegsinfektionen, Sinusitis und Otitis media erfolgt sehr oft eine „blinde“ Therapie ohne Erregernachweis und Antibiogramm. Der Erfolg einer empirischen Antibiotikabehandlung setzt daher eine gute Einschätzung des zu erwartenden Erregerspektrums und der Resistenzsituation voraus.

Beim Einsatz von Penicillinen und Cephalosporinen kann durch die von den Bakterien gebildeten Beta-Lactamasen eine enzymatische Inaktivierung eintreten [1, 2]. Solche Erreger bereiten weltweit zunehmende Probleme. Die Zunahme Penicillin-resistenter Pneumokokken in den USA, Ungarn, Spanien und Frankreich, aber auch von Makrolid-resistenten *Haemophilus influenzae*-Stämmen in Österreich und Deutschland durch den ungezielten Einsatz von Makroliden sind weitere Probleme [2].

Bei der Exazerbation einer chronischen Bronchitis können *S. pneumoniae*, *H. influenzae* und *M. catarrhalis* als Haupterreger angesehen werden. Die dominierenden Erreger bei ambulant erworbenen Pneumonien sind Pneumokokken und *H. influenzae* [5, 6]. Als häufigste Ursache der akuten bakteriellen Otitis media und der Sinusitis werden *S. pneumoniae*, *H. influenzae* und beta-hämolyisierende Streptokokken gefunden.

Cefpodoxim ist ein orales Cephalosporin der dritten Generation, das in der Darmwand aus Cefpodoxim-Proxetil hydrolysiert wird. Im Gegensatz zu älteren Cephalosporinen ist Cefpodoxim gegenüber klinisch bedeutsamen gramnegativen und grampositiven Keimen

gleichermaßen geeignet. Seine Wirksamkeit wurde in zahlreichen mikrobiologischen und klinischen Studien nachgewiesen [4, 8, 10, 11]. Cefpodoxim wirkt bakterizid, indem es sich an bestimmte Penicillin-bindende Proteine der Bakterienwand koppelt und dadurch Enzyme gehemmt werden, die für die strukturelle Integrität der Bakterienzellwand notwendig sind. Gegenüber bakteriellen Enzymen, die den Betalactam-Ring spalten, weist Cefpodoxim eine hohe Stabilität auf [3, 7].

Das antibakterielle Wirkspektrum von Cefpodoxim ist breit. Zu den empfindlichen Erregern zählen β -hämolisierende Streptokokken, Pneumokokken, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, Neisserien sowie *Enterobacteriaceae*.

Studien, die sowohl auf nationaler wie auch auf internationaler Ebene durchgeführt werden, sind notwendig, um die aktuelle Resistenzlage von pathogenen Erregern zu bewerten, und um die Wirksamkeit vorhandener Antibiotika abzuschätzen.

Material und Methoden

Für diese Studie wurden klinische Isolate verwendet, die in 18 österreichischen Spitälern gesammelt wurden. Diese Isolate stammen von Patienten mit Infektionen des oberen und unteren Respirationstrakts sowie Otitis-media-Fällen. Getestet wurde eine Gesamtzahl von 1.076 Keimen, darunter 300 *H. influenzae*, 100 *M. catarrhalis*, 100 *K. pneumoniae*, 100 *S. aureus*, 64 *S. pyogenes*, 271 Penicillin-empfindliche *S. pneumoniae*, 109 intermediär-empfindliche Pneumokokken und 32 Penicillin-resistente *S. pneumoniae*-Isolate. Die Kultur und Identifizierung der Stämme erfolgte routinemäßig mittels aktueller Labormethoden.

Die minimale Hemmkonzentration (MHK) wurde mittels einer standardisierten Mikrodilutionsmethode, wie sie in den NCCLS-Kriterien [9] empfohlen wird, ermittelt. Als Qualitätskontrollen wurden standardisierte ATCC-Stämme mit bekannter MHK verwendet. Die verwendeten Antibiotika waren Penicillin, Amoxicillin, Amoxicillin/Clavulansäure, Cefaclor, Cefalexin, Cefadroxil, Cefixim, Cefuroxim, Cefpodoxim, Clarithromycin und Azithromycin.

Ergebnisse

Die getesteten grampositiven Kokken waren Pneumokokken, *S. pyogenes* sowie *S. aureus*. Die Pneumokokken wurden gemäß ihrer Empfindlichkeit gegenüber Penicillin in Penicillinempfindliche, Penicillin-intermediär-empfindliche und Penicillin-resistente *S. pneumoniae* eingeteilt.

Wie aus Tabelle 1 ersichtlich, waren gegenüber Penicillin-empfindlichen Pneumokokken nahezu alle Antibiotika hoch aktiv. Im Vergleich der Antibiotika muss den Cephalosporinen der 1. Generation (Cefalexin, Cefadroxil) eine etwas geringere Aktivität attestiert werden (MHK₉₀ 4 μ g/ml, bzw. 2 μ g/ml). Obwohl die getesteten Makrolide Azithromycin und Clarithromycin günstige MHK₅₀- und MHK₉₀-Werte aufweisen, bleibt festzuhalten, dass doch einige Stämme hoch-resistent waren und nicht erfasst wurden (5,6% und 6,2% der Stämme, s. MHK-range Tab. 1, MHK-Verteilung, Tab. 9).

Die höchste Aktivität gegenüber Penicillin-intermediär-empfindlichen Pneumokokken (Tab. 2 u. 10) zeigten die Aminopenicilline (MHK₉₀ von 0,5 µg/ml), gefolgt von Cefpodoxim und Cefuroxim (MHK₉₀ von 2 µg/ml). Die anderen getesteten Cephalosporine waren deutlich weniger aktiv, mit einer MHK₉₀ von 16-64 µg/ml. Die Makrolide hatten eine hohe MHK₉₀ von 256 µg/ml, die MHK-Verteilung ergibt, dass ca. 20% dieser Pneumokokken Makrolid-resistent sind.

Bei den Penicillin-resistenten Pneumokokken wiesen alle Antibiotika erhöhte MHK-Werte auf (Tab. 3 u. 11), am besten wirksam waren wiederum die Aminopenicilline mit einer MHK₉₀ von 4 µg/ml, gefolgt von den Cephalosporinen Cefpodoxim und Cefuroxim mit einer MHK₉₀ von 8 µg/ml. Die anderen Cephalosporine sowie die Makrolide zeigten MHK₉₀-Werte von 128-256 µg/ml, wobei bei den Makroliden wiederum die bimodale Häufigkeitsverteilung mit teilweise hoch-empfindlichen und teilweise hoch-resistenten Pneumokokken auffiel (Tab. 11).

Streptococcus pyogenes war gegen alle Betalaktamantibiotika sehr empfindlich, allenfalls die Makrolide erbrachten mit MHK₉₀-Werten von jeweils 2 bzw. 4 µg/ml etwas abweichende Ergebnisse (Tab. 4 u. 12). Amoxicillin und alle Cephalosporine der 1. Generation sowie Cefpodoxim erbrachten bei *Staphylococcus aureus* MHK₅₀- und MHK₉₀-Werte von jeweils 2 bzw. 4 µg/ml (MHK₉₀ von Cefaclor 2 µg/ml) (Tab. 5 u. 13). Cefixim erfasst Staphylokokken praktisch nicht, die Makrolide zeigen wiederum eine bimodale MHK-Verteilung, mit knapp 10% hoch-resistenten Staphylokokken (MHK von 256 µg/ml).

Die beiden aktivsten Antibiotika gegen *Haemophilus influenzae* waren Cefixim und Cefpodoxim. Der MHK-Bereich zeigt, dass beide gegenüber Betalaktamasen am stabilsten sind. Es folgten die Aminopenicilline, wobei Amoxicillin einige Betalaktamasenbildner nicht erfasste (Tab. 6 und 14). Deutlich schwächer wirksam waren die Cephalosporine der 1. Generation mit MHK₉₀-Werten bis zu 16 µg/ml, sowie die Makrolide, wobei Azithromycin sich als besser wirksam erwies als Clarithromycin.

Die aktivsten Substanzen gegen *Moraxella catarrhalis* waren Cefixim, Cefpodoxim, Amoxicillin/Clavulansäure sowie die Makrolide (Tab. 7 u. 15). Es folgten Cefuroxim und die Cephalosporine der 1. Generation, die aufgrund geringerer Betalaktamasestabilität deutlich geringere Aktivität zeigten. Amoxicillin alleine wird durch die Betalaktamasen vieler Stämme in seiner Aktivität stark eingeschränkt. Clavulansäure kann die meisten *Moraxella*-Betalaktamasen neutralisieren.

Als aktivste Substanzen gegenüber *Klebsiella pneumoniae* erwiesen sich wiederum Cefpodoxim und Cefixim (Tab. 8 u. 16). Die anderen Cephalosporine waren deutlich weniger wirksam. Praktisch unwirksam waren Makrolide und Amoxicillin. Auch die Clavulansäure neutralisiert nicht alle Klebsiellen-Betalaktamasen, was in hohen MHK-Werten zum Ausdruck kommt.

Tabelle 1:

Empfindlichkeit von <i>Streptococcus pneumoniae</i> (PE) gegenüber Cefpodoxim und anderen oralen Antibiotika (n = 271, Werte in µg/ml)				
Antibiotika	MHK-Bereich	MHK 50	MHK 90	Modal-Wert
Penicillin	0,01 - 0,06	0,03	0,06	0,03
Amoxicillin	0,01 - 0,5	0,01	0,03	0,01
Amox./Clav.	0,01 - 0,5	0,01	0,01	0,01
Cefaclor	0,01 - 2	0,5	1	0,5
Cefalexin	0,125 - 8	2	4	2
Cefadroxil	0,06 - 4	1	2	1

Cefixim	0,01 - 16	0,125	0,5	0,125
Cefuroxim	0,01 - 1	0,03	0,06	0,01
Cefpodoxim	0,01 - 4	0,03	0,125	0,06
Clarithromycin	0,01 - 256	0,01	0,125	0,01
Azithromycin	0,01 - 256	0,06	0,5	0,06

Tabelle 2:

Empfindlichkeit von <i>Streptococcus pneumoniae</i> (PIE) gegenüber Cefpodoxim und anderen oralen Antibiotika (n = 111, Werte in µg/ml)				
Antibiotika	MHK-Bereich	MHK 50	MHK 90	Modal-Wert
Penicillin	0,125 - 1	0,25	1	0,25
Amoxicillin	0,01 - 2	0,125	0,5	0,125
Amox./Clav.	0,01 - 2	0,125	0,5	0,125
Cefaclor	0,25 - 64	2	16	1
Cefalexin	1 - 256	4	64	4
Cefadroxil	0,25 - 128	2	16	2
Cefixim	0,06 - 256	2	16	0,5
Cefuroxim	0,01 - 8	0,25	2	0,125
Cefpodoxim	0,01 - 16	0,25	2	0,25
Clarithromycin	0,01 - 256	0,03	256	0,01
Azithromycin	0,01 - 256	0,125	256	0,125

Tabelle 3:

Empfindlichkeit von <i>Streptococcus pneumoniae</i> (PR) gegenüber Cefpodoxim und anderen oralen Antibiotika (n = 32, Werte in µg/ml)				
Antibiotika	MHK-Bereich	MHK 50	MHK 90	Modal-Wert
Penicillin	2 - 8	2	4	2
Amoxicillin	0,25 - 8	2	4	2
Amox./Clav.	0,25 - 4	2	4	2
Cefaclor	1 - 256	128	256	128
Cefalexin	2 - 256	256	256	256
Cefadroxil	1 - 256	128	256	128
Cefixim	0,5 - 128	16	128	16
Cefuroxim	0,25 - 16	4	8	4
Cefpodoxim	0,5 - 64	4	8	4
Clarithromycin	0,01 - 256	0,03	256	0,01
Azithromycin	0,03 - 256	125	256	0,125

Tabelle 4:

Empfindlichkeit von <i>Streptococcus pyogenes</i> gegenüber Cefpodoxim und anderen oralen Antibiotika (n = 64, Werte in µg/ml)				
Antibiotika	MHK-Bereich	MHK 50	MHK 90	Modal-Wert
Penicillin	0,01 - 0,125	0,01	0,03	0,01
Amoxicillin	0,01 - 0,125	0,01	0,03	0,01
Amox./Clav.	0,01 - 0,25	0,01	0,01	0,01
Cefaclor	0,01 - 1	0,03	0,06	0,03
Cefalexin	0,01 - 2	0,125	0,25	0,125
Cefadroxil	0,01 - 2	0,125	0,125	0,125
Cefixim	0,01 - 0,5	0,06	0,25	0,06

Cefuroxim	0,01 - 0,125	0,01	0,03	0,01
Cefpodoxim	0,01 - 0,06	0,01	0,03	0,01
Clarithromycin	0,01 - 4	0,06	2	0,06
Azithromycin	0,01 - 4	0,03	4	0,03

Tabelle 5:

Empfindlichkeit von <i>Staphylococcus aureus</i> gegenüber Cefpodoxim und anderen oralen Antibiotika (n = 100, Werte in µg/ml)				
Antibiotika	MHK-Bereich	MHK 50	MHK 90	Modal-Wert
Penicillin	0,06 - 16	1	8	1
Amoxicillin	0,06 - 64	2	4	2
Amox./Clav.	0,125 - 16	1	2	1
Cefaclor	0,5 - 64	2	2	2
Cefalexin	0,5 - 256	2	4	2
Cefadroxil	1 - 128	2	4	2
Cefixim	4 - 256	16	16	16
Cefuroxim	0,5 - 256	1	2	1
Cefpodoxim	0,5 - 256	2	4	2
Clarithromycin	0,25 - 256	0,5	8	0,25
Azithromycin	0,06 - 256	1	16	1

Tabelle 6:

Empfindlichkeit von <i>Haemophilus influenzae</i> gegenüber Cefpodoxim und anderen oralen Antibiotika (n = 300, Werte in µg/ml)				
Antibiotika	MHK-Bereich	MHK 50	MHK 90	Modal-Wert
Penicillin	0,125 - 256	1	4	1
Amoxicillin	0,01 - 256	0,125	0,5	0,125
Amox./Clav.	0,01 - 8	0,125	0,5	0,25
Cefaclor	0,06 - 256	1	2	1
Cefalexin	0,125 - 64	4	8	4
Cefadroxil	0,25 - 256	8	16	8
Cefixim	0,01 - 1	0,01	0,06	0,01
Cefuroxim	0,01 - 256	0,25	0,5	0,25
Cefpodoxim	0,01 - 2	0,06	0,125	0,06
Clarithromycin	0,125 - 32	4	8	4
Azithromycin	0,06 - 4	1	2	1

Tabelle 7:

Empfindlichkeit von <i>Moraxella catarrhalis</i> gegenüber Cefpodoxim und anderen oralen Antibiotika (n = 100, Werte in µg/ml)				
Antibiotika	MHK-Bereich	MHK 50	MHK 90	Modal-Wert
Penicillin	0,06 - 256	16	128	16
Amoxicillin	0,01 - 128	8	64	16
Amox./Clav.	0,01 - 16	0,5	1	0,5
Cefaclor	0,125 - 64	4	16	16
Cefalexin	0,125 - 16	2	4	2
Cefadroxil	0,5 - 64	2	8	2
Cefixim	0,01 - 8	0,125	0,5	0,25
Cefuroxim	0,125 - 8	1	4	0,5

Cefpodoxim	0,06 - 8	0,5	1	0,5
Clarithromycin	0,01 - 4	0,125	2	0,125
Azithromycin	0,01 - 2	0,06	1	0,06

Tabelle 8:

Empfindlichkeit von <i>Klebsiella pneumoniae</i> gegenüber Cefpodoxim und anderen oralen Antibiotika (n = 100, Werte in µg/ml)				
Antibiotika	MHK-Bereich	MHK 50	MHK 90	Modal-Wert
Penicillin	128 - 256	256	256	256
Amoxicillin	16 - 256	64	256	64
Amox./Clav.	1 - 256	4	16	4
Cefaclor	0,125 - 256	1	4	1
Cefalexin	1 - 256	4	16	4
Cefadroxil	4 - 256	4	8	4
Cefixim	0,01 - 256	0,06	0,5	0,03
Cefuroxim	0,5 - 256	2	8	2
Cefpodoxim	0,01 - 256	0,06	1	0,06
Clarithromycin	16 - 256	64	128	64
Azithromycin	2 - 256	8	16	8

Tabelle 9:

Wirksamkeit von oralen Antibiotika gegenüber <i>Streptococcus pneumoniae</i> (Penicillin-empfindliche Stämme) (n = 271, MHK in µg/ml)													
MHK		0,01	0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	256
Penicillin	n	96	100	75									
	% cum.	35	72	100									
Amoxicillin	n	231	27	9	2	1	1						
	% cum.	85	95	99	99	100	100						
Amox./Clav.	n	246	16	5	2	1	1						
	% cum.	91	97	99	99	100	100						
Cefaclor	n	1	2	2	8	36	149	66	7				
	% cum.	0	1	2	5	18	73	97	100				
Cefadroxil	n			1	1	9	58	149	51	2			
	% cum.			0	1	4	25	80	99	100			
Cefalexin	n				1	2	12	56	134	63	3		
	% cum.				0	1	6	26	76	99	100		
Cefuroxim	n	128	66	49	15	10	1	2					
	% cum.	47	72	90	95	99	99	100					
Cefixim	n	13	12	70	82	60	23	3	4	1	2	1	
	% cum.	5	9	35	65	87	96	97	99	99	100	100	
Cefpodoxim	n	62	73	91	28	9	3	3	1	1			
	% cum.	23	50	83	94	97	98	99	100	100			
Azithromycin	n	48	56	76	44	16	3	2	2	3	2	2	17
	% cum.	18	38	66	83	89	90	90	91	92	93	94	100
Clarithromycin	n	218	19	3	5	1	1	2	3	1	3		15
	% cum.	80	87	89	90	91	91	92	93	93	94		100

Tabelle 10:

Wirksamkeit von oralen Antibiotika gegenüber <i>Streptococcus pneumoniae</i> (Penicillin-intermediäre Stämme) (n = 111, MHK in µg/ml)																
MHK		0,01	0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256
Penicillin	n				32	38	28	13								
	% cum.				29	63	88	100								
Amoxicillin	n	14	9	17	22	21	17	9	2							
	% cum.	13	21	36	56	75	90	98	100							
Amox./Clav.	n	22	8	16	27	14	16	7	1							
	% cum.	20	27	41	66	78	93	99	100							
Cefaclor	n				3	12	24	24	22	13	9			4		
	% cum.				3	14	35	57	77	88	96			100		
Cefadroxil	n				1	4	23	27	25	12	13	1	4	1		
	% cum.				1	5	25	50	72	83	95	95	99	100		
Cefalexin	n						2	20	34	19	21	3	5	6	1	
	% cum.						2	20	50	68	86	89	94	99	100	
Cefuroxim	n	1	4	11	23	22	18	16	9	4	3					
	% cum.	1	5	14	35	55	71	86	94	97	100					
Cefixim	n		3	3	14	18	15	16	18	8	11	1		3	1	
	% cum.		3	5	18	34	48	62	78	86	95	96		99	100	
Cefpodoxim	n	3	1	16	15	20	20	14	12	5	2	3				
	% cum.	3	4	18	32	50	68	80	91	95	97	100				
Azithromycin	n	11	8	22	23	13	2	3	3	2	1	1		2	2	18
	% cum.	10	17	37	58	69	71	74	77	78	79	80		82	84	100
Clarithromycin	n	51	19	5	5		2	1	3		2	2		2	1	18
	% cum.	46	63	68	72		74	75	77		79	81		83	84	100

Tabelle 11:

Wirksamkeit von oralen Antibiotika gegenüber <i>Streptococcus pneumoniae</i> (Penicillin-resistente Stämme) (n = 32, MHK in µg/ml)																
MHK		0,01	0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256
Penicillin	n								21	10	1					
	% cum.								66	97	100					
Amoxicillin	n					1	2	4	19	5	1					
	% cum.					3	9	22	81	97	100					
Amox./Clav.	n					3	2	8	15	4						
	% cum.					9	16	41	88	100						
Cefaclor	n							2		2		1		2	20	5
	% cum.							6		13		16		22	84	100
Cefadroxil	n							1			3	3		4	15	6
	% cum.							3			13	22		34	81	100
Cefalexin	n								1		1	2		2	8	18
	% cum.								3		6	13		19	44	100
Cefuroxim	n				1			4	21	4	2					
	% cum.				3			16	81	94	100					
Cefixim	n					2						19	1	6	4	
	% cum.					6						66	69	88	100	
Cefpodoxim	n							1	2	5	16	5	2	1		
	% cum.							3	9	25	75	91	97	100		
Azithromycin	n		1	2	13	3		1	1	4	1					6
	% cum.		3	9	50	59		63	66	78	81					100

Clarithromycin	n	13	4	2	1	2	1	2	1	6
	% cum.	41	53	59	63	69	72	78	81	100

Tabelle 12:

Wirksamkeit von oralen Antibiotika gegenüber <i>Streptococcus pyogenes</i> (n = 64, MHK in µg/ml)										
MHK		0,01	0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4
Penicillin	n	57	2	2	3					
	% cum.	89	92	95	100					
Amoxicillin	n	57	4	1	2					
	% cum.	89	95	97	100					
Amox./Clav.	n	58	4	1		1				
	% cum.	91	97	98		100				
Cefaclor	n	23	24	12		3	1	1		
	% cum.	36	73	92		97	98	100		
Cefadroxil	n	2		20	37	2	2		1	
	% cum.	3		34	92	95	98		100	
Cefalexin	n	2	3	13	35	7	3		1	
	% cum.	3	8	28	83	94	98		100	
Cefuroxim	n	56	3	1	4					
	% cum.	88	92	94	100					
Cefixim	n	4	12	33	8	4	3			
	% cum.	6	25	77	89	95	100			
Cefpodoxim	n	33	29	2						
	% cum.	52	97	100						
Azithromycin	n	13	21	14	4	3			2	7
	% cum.	20	53	75	81	86			89	100
Clarithromycin	n	15	14	16	3	5	2	2	4	3
	% cum.	23	45	70	75	83	86	89	95	100

Tabelle 13:

Wirksamkeit von oralen Antibiotika gegenüber <i>Staphylococcus aureus</i> (n = 103, MHK in µg/ml)													
MHK		0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	64	128	256
Penicillin	n	10	9	14	17	18	14	9	9	3			
	% cum.	10	18	32	49	66	80	88	97	100			
Amoxicillin	n	5	9	7	9	13	41	11	5	2	1		
	% cum.	5	14	20	29	42	82	92	97	99	100		
Amox./Clav.	n	1	12	16	39	31	31	1	2	1			
	% cum.	1	13	28	66	96	96	97	99	100			
Cefaclor	n				4	39	53	4	1		2		
	% cum.				4	42	93	97	98		100		
Cefadroxil	n					32	55	13		1	1	1	
	% cum.					31	84	97		98	99	100	
Cefalexin	n				1	2	62	29	5	2		1	1
	% cum.				1	3	63	91	96	98		99	100
Cefuroxim	n				21	62	17	1				1	1
	% cum.				20	81	97	98				99	100
Cefixim	n							5	36	58	1		3
	% cum.							5	40	96	97		100

Cefpodoxim	n			1	6	82	12							2
	% cum.			1	7	86	98							100
Azithromycin	n	1		1	26	59	3	2		1	1			9
	% cum.	1		2	27	84	87	89		90	91			100
Clarithromycin	n			48	35	8		1	1	1	1			8
	% cum.			47	81	88		89	90	91	92			100

Tabelle 14:

Wirksamkeit von oralen Antibiotika gegenüber <i>Haemophilus influenzae</i> (n = 300, MHK in µg/ml)																
MHK		0,01	0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256
Penicillin	n				1	5	53	117	73	26	9	5	1		1	9
	% cum.				0	2	20	59	83	92	95	96	97		97	100
Amoxicillin	n	25	18	41	75	52	61	13	4	2		1				8
	% cum.	8	14	28	53	70	91	95	96	97		97				100
Amox./Clav.	n	29	22	60	67	77	32	7		4	2					
	% cum.	10	17	37	59	85	96	98		99	100					
Cefaclor	n		1	1	32	85	97	57	20	2	4					1
	% cum.		0	1	11	40	72	91	98	98	100					100
Cefadroxil	n				1	2	5	23	112	124	27	1	3	1	1	
	% cum.				0	1	3	10	48	89	98	98	99	100	100	
Cefalexin	n				1	1	4	16	66	143	55	13		1		
	% cum.				0	1	2	7	29	77	95	100		100		
Cefuroxim	n	1		7	41	121	107	12	8	1		1				1
	% cum.	0		3	16	57	92	96	99	99		100				100
Cefixim	n	234	28	22	3	8	4	1								
	% cum.	78	87	95	96	98	100	100								
Cefpodoxim	n	93	49	94	44	12	4	2	2							
	% cum.	31	47	79	93	97	99	99	100							
Azithromycin	n			3	4	43	72	87	82	9						
	% cum.			1	2	17	41	70	97	100						
Clarithromycin	n				1		7	20	81	109	73	8	1			
	% cum.				0		3	9	36	73	97	100	100			

Tabelle 15:

Wirksamkeit von oralen Antibiotika gegenüber <i>Moraxella catarrhalis</i> (n = 100, MHK in µg/ml)																
MHK		0,01	0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256
Penicillin	n			1	1	4	5	2	5	7	7	26	3	18	16	5
	% cum.			1	2	6	11	13	18	25	32	58	61	79	95	100
Amoxicillin	n	6	4		4	2	8	7	4	9	9	26	3	11	7	
	% cum.	6	10		14	16	24	31	35	44	53	79	82	93	100	
Amox./Clav.	n	7	2	6	11	19	42	9	2	1		1				
	% cum.	7	9	15	26	45	87	96	98	99		100				
Cefaclor	n			5	10	6	14	12	10	13	28	1	1			
	% cum.			5	15	21	35	47	57	70	98	99	100			
Cefadroxil	n					2	21	34	21	14	7			1		
	% cum.					2	23	57	78	92	99			100		
Cefalexin	n			7	5	7	25	35	14	4	3					
	% cum.			7	12	19	44	79	93	97	100					

Cefuroxim	n					6	15	27	26	15	7	4	
	% cum.					6	21	48	74	89	96	100	
Cefixim	n	4	1	21	24	28	15	1	1	2	3		
	% cum.	4	5	26	50	78	93	94	95	97	100		
Cefpodoxim	n					7	13	23	26	26	3	1	1
	% cum.					7	20	43	69	95	98	99	100
Azithromycin	n	12	4	52	13	6	1	7	5				
	% cum.	12	16	68	81	87	88	95	100				
Clarithromycin	n	3	9	21	35	16	3	2	7	4			
	% cum.	3	12	33	68	84	87	89	95	100			

Tabelle 16:

Wirksamkeit von oralen Antibiotika gegenüber <i>Klebsiella pneumoniae</i> (n = 100, MHK in µg/ml)																	
MHK		0,01	0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	
Penicillin	n														7	93	
	% cum.														7	100	
Amoxicillin	n											12	9	31	24	24	
	% cum.											12	21	52	76	100	
Amox./Clav.	n								1	20	34	25	11	3	3	1	2
	% cum.								1	21	55	80	91	94	97	98	100
Cefaclor	n			6	9	22	34	14	5	1	2	1	1	1	4		
	% cum.			6	15	37	71	85	90	91	93	94	95	96	100		
Cefadroxil	n								65	25	5	1			4		
	% cum.								65	90	95	96			100		
Cefalexin	n							1	10	58	18	8	1		1	3	
	% cum.							1	11	69	87	95	96		97	100	
Cefuroxim	n						1	17	49	17	7	3		3	1	2	
	% cum.						1	18	67	84	91	94		97	98	100	
Cefixim	n	21	25	17	12	9	9	1	1	1	2				1	1	
	% cum.	21	46	63	75	84	93	94	95	96	98				99	100	
Cefpodoxim	n		14	22	25	11	8	6	4	4		2		1	2	1	
	% cum.		14	36	61	72	80	86	90	94		96		97	99	100	
Azithromycin	n								1	11	52	34		1		1	
	% cum.								1	12	64	98		99		100	
Clarithromycin	n											7	23	52	12	6	
	% cum.											7	30	82	94	100	

Diskussion

In dieser Studie erwiesen sich die Aminopenicilline und die beiden Cephalosporine Cefuroxim und Cefpodoxim als am wirksamsten gegenüber Streptokokken. Vor allem bei den Pneumokokken mit verminderter Penicillin-Empfindlichkeit sind die anderen Cephalosporine deutlich weniger wirksam. Praxisrelevant in Mitteleuropa ist dies meist nicht bei den Penicillin-resistenten Pneumokokken, wohl aber bei den Penicillin-intermediär-empfindlichen Pneumokokken, deren Prozentsatz hierzulande etwa 10% ausmacht.

Die Daten für die Makrolide zeigen deutlich, dass es auch in Österreich bereits teilweise zu Resistenzbildung der Pneumokokken gegenüber diesen Substanzen gekommen ist.

Als nicht wirksam gegenüber Staphylokokken erwies sich Cefixim. Die Makrolide zeigen sich insgesamt als überwiegend gut wirksam, allerdings ist auch hier bereits mit ca. 10% Resistenzen zu rechnen. Die anderen Antibiotika zeigten sich gut bis mäßig wirksam.

Eindeutig am aktivsten hinsichtlich gramnegativer Erreger waren Cefixim und Cefpodoxim, die sowohl *H. influenzae*, *M. catarrhalis* und *K. pneumoniae* exzellent erfassten. Grund hierfür ist die ausgeprägte Stabilität gegenüber Betalaktamasen von gramnegativen Erregern. Die anderen Substanzen zeigen hier zum Teil deutliche Schwächen, auch Amoxicillin/Clavulansäure ist gegen Klebsiellen nur mäßig wirksam.

Wichtig für den Arzt bei der Behandlung von Atemwegsinfektionen ist es, vor allem des unteren Respirationstraktes, Antibiotika zur Verfügung zu haben, die das potentielle Keimspektrum zuverlässig abdecken. Da in der Routinepraxis ein Erregernachweis und eine Empfindlichkeitstestung nur in Ausnahmefällen durchgeführt wird, ist dies von entscheidender Bedeutung.

Nach den Ergebnissen dieser Studie zeigen Amoxicillin/Clavulansäure und Cefpodoxim von allen untersuchten Antibiotika die beste Gesamtaktivität gegenüber allen getesteten Keimen. Keines dieser beiden Antibiotika zeigt gravierende Schwächen, wie z.B. Cefixim bei Staphylokokken und Pneumokokken oder die älteren Cephalosporine und Makrolide bei gramnegativen Erregern.

Aus diesem Grund scheint die Empfehlung der Paul-Ehrlich-Gesellschaft, Cefpodoxim bei Atemwegsinfektionen zu verwenden, gerechtfertigt [8].

Literatur:

1. Aonuma S., Tokue Y., Kitamura M., et al.: „TH-031 (A-56268) in treatment of respiratory tract infections.“ *Chemotherapy* 36 (1988) 549-52.
2. Appelbaum P.C.: „Antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*: an overview.“ *Clin. Infect. Dis.* 15 (1992) 77-83.
3. Balfour J.A., Benfield P.: „Cefpodoxime Proxetil. An Appraisal of its use in Antibacterial Cost-Containment Programmes, as Stepdown and Abbreviated Therapy in Respiratory Tract Infections.“ *Pharmacoeconomic Drug Evaluation* 10 (1996) 164-78.
4. Bauernfeind A., Jungwirth R.: „Antibacterial activity of Cefpodoxime in comparison with Cefixime, Cefetamet, Cefibuten, Loracarbef, Cefprozil, Bay 3522, Cefuroxime, Cefaclor and Cefadroxil.“ *Infection* 19 (1991) 353-62.
5. Berntsson E., Lagergard T., Strannegard O., Trollfors B.: „Etiology of community acquired pneumoniae in outpatients.“ *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 5 (1986) 446-7.
6. Focht J., Moers A.: „In vitro-Aktivität von Cefpodoxim im Vergleich zu anderen oralen Antibiotika.“ *Arzneimittelth.* 10 (1999) 305-311.
7. Fuchs P.C., Barry A.L., Pfaller M.A.: „In vitro susceptibility of four respiratory pathogens to sparfloxacin and six other oral agents.“ 33rd ICAAC; New Orleans, Abstract 223, Oct. 17-20 (1993).
8. Kayser F.H.: „In vitro activity of Cefpodoxime in comparison with other oral β -lactam antibiotics.“ *Infection* 22 (1994) 370-5.
9. „Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that grow aerobically.“ Approved Standard-Fifth Edition, NCCLS, January 2000.
10. Sader H.S., Jones R.N., Washington J.A., Murray P.R., Gerlach E.H., Allen S.D., Erwin M.E.: „In vitro activity of Cefpodoxime compared with other oral cephalosporins tested against 5556 recent clinical isolates from five medical centers.“ *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 17 (1993) 143-50.
11. Simon C., Stille W.: „Antibiotika-Therapie in Klinik und Praxis.“ 10. Auflage.

[zurück zum Inhalt](#)

Anschrift des Verfassers:

Univ.-Prof. DDr. A. Georgopoulos

Univ.-Klinik für Innere Medizin I, Abt. für Infektionen und Chemotherapie

A-1090 Wien, Währinger Gürtel 18-20

Serotypisierung und molekulare Analyse von *Streptococcus pneumoniae*-Isolaten aus Österreich

U. Straschil 1, A. Buxbaum 2, W. Graninger 1, A. Georgopoulos 1

1 Universitätsklinik für Innere Medizin I, Abteilung für Infektionen und Chemotherapie, AKH Wien
(Leiter: Univ.-Prof. DDr. W. Graninger)

2 Universitätsklinik für Innere Medizin IV, Abteilung für Pulmologie, AKH Wien
(Vorstand: Univ.-Prof. Dr. L.H. Block)

- **Schlüsselwörter**
 - **Zusammenfassung**
 - **Key-words**
 - **Summary**
 - **Einleitung**
 - **Material und Methoden**
 - **Resultate**
 - **Schlussfolgerung**
 - **Literatur**
-

Schlüsselwörter:

Streptococcus pneumoniae, serotypisieren, molekulare Analyse

Zusammenfassung

Infektionen mit *Streptococcus pneumoniae* können sowohl bei Kindern als auch Erwachsenen zu schweren Infektionen führen. Im Zuge einer laufenden Pneumokokkenstudie wurden 195 Pneumokokken serotypisiert und davon 44 Stämme mittels Pulsfeldgelelektrophorese (PFGE), AP-PCR und rep-PCR analysiert. Um mögliche genotypische Verwandtschaften aufzuzeigen, wurden auch Stämme aus Ungarn, Deutschland, Frankreich und Spanien untersucht. Der am häufigsten gefundene Serotyp war 19, gefolgt von 23 und 6. Österreichische Penicillin-resistente *S. pneumoniae*-Stämme vom Serotyp 23 hatten eine große Ähnlichkeit mit dem spanischen und französischen 23F-Klon, aber nicht mit dem deutschen 23F-Klon. Weiters zeigte der österreichische Serotyp 19 und 19A keine genetischen Ähnlichkeiten mit dem ungarischen 19- und 19A-Klon. Das könnte der Hinweis auf einen rein österreichischen Penicillin-resistenten Pneumokokken-Klon sein, der den Serotyp 19 aufweist. Große Unterschiede wurden bei den Penicillin-sensitiven Pneumokokken gefunden. Bei der Typisierung der Stämme erwies sich die PFGE der AP-PCR und der rep-PCR überlegen.

Key-words:

Streptococcus pneumoniae, serotyping, molecular analysis

Summary

Infections due to *Streptococcus pneumoniae* continue to cause significant morbidity and mortality in both adults and children. As part of an ongoing surveillance program of *S. pneumoniae* in Austria 195 pneumococci were serotyped and 44 strains were further analysed by pulsed field electrophoresis, arbitrarily primed PCR (AP-PCR) and repetitive PCR (rep-PCR). In order to establish possible genotypic relatedness also strains from Hungary, Germany, France and Spain were examined. The most common serotype found was 19, followed by 23 and 6. Austrian serotype 23 penicillin-resistant *S. pneumoniae* strains showed close relatedness to both the Spanish and the French 23F clone, but not to the German 23F clone. The fact that the Austrian serotype 19 and 19A PRSP did not

share genetic background with the Hungarian 19 and 19A clone, points to the existence of an Austrian PRSP clone expressing serotype 19. Great diversity was found among penicillin-sensitive pneumococci. PFGE when compared to AP-PCR and rep-PCR provided the best intraspecies discrimination.

Einleitung

S. pneumoniae ist eine sehr häufige Ursache für Pneumonien, Bakteriämien, Meningitis und Otitis media [13]. Vor allem ältere oder durch Krankheit bereits geschwächte Personen sind sehr gefährdet. In den letzten 3 Jahrzehnten konnte ein starker Anstieg der Resistenz von *S. pneumoniae*-Isolaten gegenüber sowohl Betalaktamantibiotika als auch Nicht-Betalaktamantibiotika in vielen Teilen der Welt festgestellt werden [1, 23, 25]. Resistenzraten von Pneumokokken gegenüber Penicillin, die in einem Bereich zwischen 44%-59% liegen, wurden z. B. aus Südafrika und verschiedenen europäischen Ländern berichtet [12, 18].

Die Verteilung der Serotypen variiert je nach Bevölkerung und Land sehr stark. Die unterschiedlichen Serotypen zeigen außerdem unterschiedliche Virulenz. Bis heute wurden mehr als 90 verschiedene Serotypen identifiziert [6]. Die Verteilung der Serotypen zu kennen ist vor allem bei der Entwicklung eines Impfstoffes von besonderer Wichtigkeit [14, 24]. Neben der Serotypisierung gibt es die verschiedensten molekularen Techniken, wie Multilocus-Enzym-Elektrophorese, Profilanalyse von Penicillin-bindenden Proteinen, Ribotypisierung, Pulsfeldgelelektrophorese oder die verschiedensten Arten der PCR [9, 11].

In dieser Studie wurde die Serotypenverteilung von *Streptococcus pneumoniae* in Österreich, die genetische Verwandtschaft zwischen den einzelnen Serotypen und die Beziehung zwischen Penicillin-resistenten und Penicillin-sensiblen Pneumokokken desselben Serotypes untersucht. Um diese Beziehungs- und Verwandtschaftsverhältnisse untersuchen zu können, wurden die bereits oben erwähnten molekularen Techniken benutzt.

Material und Methoden

151 Penicillin-empfindliche *Streptococcus pneumoniae* (PSSP) und 44 Penicillin-resistente *Streptococcus pneumoniae* (PRSP), die in einem Zeitraum von 2 Jahren in 25 österreichischen Zentren gesammelt wurden, wurden untersucht. Die gesammelten Isolate wurden aus unterem und oberem Respirationstrakt, Auge, Ohr, Blut und Liquor isoliert. Alle 195 PSSP und PRSP wurden serotypisiert. Zur molekularen Analyse wurden 21 österreichische PRSP, 10 österreichische PSSP, 10 PRSP aus Ungarn, Spanien, Frankreich, Deutschland und ein ATCC *S. pneumoniae*-Stamm (ATCC 49619) herangezogen. Diese Stämme hatten die Serotypen 19, 19A, 23, 23B und 23F.

Die Identifikation der Pneumokokken erfolgte nach Standard-Labormethoden. Zur Empfindlichkeitsprüfung wurde eine standardisierte Mikrodilutionsmethode nach NCCLS verwendet [20]. Die verwendeten Sera stammten vom Statens Serum Institut in Kopenhagen, Dänemark.

Die PFGE wurde nach einer Methode, wie sie von Mathuschek und Mitarbeitern

beschrieben wurde [19], durchgeführt. Die AP-PCR und die rep-PCR wurden nach einer modifizierten Methode, beschrieben von Hermanns und Mitarbeitern, durchgeführt.

Die DNA-Analyse erfolgte mittels einer dafür entwickelten Software (Molecular Fingerprinting Plus).

Resultate

In Tabelle 1 wird die Verteilung der Serotypen nach Penicillin-MHK gezeigt. Tabelle 2 zeigt die Serotypenverteilung in den unterschiedlichen Altersgruppen. Der häufigste Serotyp war 19, gefolgt von 23 und 6. Unter den intermediär-empfindlichen und den resistenten Pneumokokken wurde der Serotyp 23 am häufigsten gefunden. In allen Altersgruppen war die Serotypenverteilung sehr ähnlich, mit Ausnahme der Gruppe > 65, bei der kein Serotyp 19 gefunden werden konnte.

Tabelle 1: Verteilung der Pneumokokken-Serotypen nach Penicillin-MHK (n=195)

Serotype	n	Penicillin MHK (in mg/l)							
		<= 0,01	0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2
19	27	14	5	1	2	5	-	-	-
23	25	11	-	-	1	7	1	2	3
6	23	18	1	3	1	-	-	-	-
9	13	9	2	-	-	-	1	1	-
14	12	11	-	-	-	-	1	-	-
15	10	2	2	2	-	3	1	-	-
3	9	8	1	-	-	-	-	-	-
11	9	8	1	-	-	-	-	-	-
35	6	3	1	1	-	1	-	-	-
7	5	2	2	-	1	-	-	-	-
22	4	2	1	-	1	-	-	-	-
28	3	1	-	-	1	1	-	-	-
andere	25	16	6	3	-	-	-	-	-
nt	24	12	4	2	3	1	2	-	-

Tabelle 2: Verteilung der Pneumokokken-Serotypen nach Altersgruppen (n=195)

Serotype		Anzahl der Isolate								
		< 18 Jahre			18 - 64 Jahre			>= 65 Jahre		
		S	I	R	S	I	R	S	I	R
19	13	5	-	7	2	-	-	-	-	-
23	8	8	-	-	3	2	3	1	-	-
6	12	-	-	8	1	-	2	-	-	-
9	5	2	-	5	-	-	1	-	-	-

14	7	-	-	3	-	-	1	1	-
15	2	3	-	1	1	-	3	-	-
3	2	-	-	3	-	-	4	-	-
11	4	-	-	2	-	-	3	-	-
35	1	-	-	2	-	-	2	1	-
7	-	1	-	2	-	-	2	-	-
22	-	1	-	3	-	-	-	-	-
28	1	1	-	-	1	-	-	-	-
andere	6	-	-	11	-	-	8	-	-
nt	2	-	-	8	4	-	8	2	-

44 Pneumokokkenstämme wurden mittels PFGE analysiert (Tabelle 3). Sowohl bei resistenten als auch bei sensiblen Stämmen desselben Serotypes konnte Polymorphie festgestellt werden. Von 44 Stämmen waren 41 typisierbar. Die Ergebnisse sind in Abbildung 1 dargestellt. Die Ähnlichkeit der DNA-Fragmentmuster bewegte sich in einem Bereich von 44%-100%. Gefunden wurden außerdem drei Clusters mit je zwei Isolaten. Isolate aus Ungarn zeigten keine Cluster, waren aber auch nicht verwandt mit österreichischen, französischen, deutschen oder spanischen Isolaten.

Tabelle 3: Serotypen und Penicillin MHK (in mg/l) von 44 Pneumokokken für die molekulare Analyse

Stamm	Serotype	MHK	Stamm	Serotype	MHK
akh 43	19A	0,25	akh 67	23F	2
inns 84	19	0,125	akh 86	23	0,25
inns 86	19	0,26	akh 113	23F	0,5
inns 89	19	0,25	leob 62	23F	2
wels 17	19	0,25	salz 77	23F	2
wels 34	19	0,25	inns 78	23B	0,25
salz 25	19	0,125	inns 81	23	1
hung 12	19	1	inns 93	23	0,25
bud 1	19A	4	inns 158	23	0,25
bud 3	19A	2	inns 227	23	0,25
bud 4	19A	8	klagf 96	23	0,25
bud 5	19A	8	gr H4	23	0,125
bud 6	19A	4	gr H52	23F	0,25
bud 7	19A	16	gr H54	23F	2
bud 9	19A	1	sp 637	23F	1
bud 10	19A	8	d 219	23	0,25
ATCC 49619	19	0,25	f 1	23F	0,25
akh 173	19	<=0,01	akh 154	23	<=0,01
wels 57	19	0,03	wels 102	23	<=0,01
grB 130	19	0,03	grB 129	23	<=0,01
leob 86	19	<=0,01	grB 135	23	<=0,01
inns 169	19	<=0,01	leob 78	23	<=0,01

Mittels AP-PCR wurden DNA-Profile mit 4 bis 23 Banden produziert. Alle Isolate hatten

eine intensive Bande bei 500 bp. Mit dieser Methode konnten vier Cluster mit je zwei bis vier Stämmen gefunden werden. Ein Cluster wurde aus vier ungarischen Stämmen gebildet. PSSP-Stämme hatten generell eine höhere Anzahl an Banden (11 bis 23) und formten zwei Gruppen: fünf Isolate mit einer Ähnlichkeit von 90% und vier Isolate mit einer Ähnlichkeit von 80%.

Bei Verwendung der rep-PCR hatten die entstandenen Muster zwischen drei und 14 Banden mit einer intensiven Bande bei 500 bp. Hingegen wurden bei den ungarischen Stämmen fünf verschiedene Cluster gefunden, die aus je zwei bis fünf Stämmen bestanden (Abbildung 2).

Mit den drei obengenannten molekularbiologischen Methoden konnten drei Gruppen von Stämmen aufgezeigt werden, die eine genetische Verwandtschaft besitzen.

Abbildung 1: Dendrogramm von 43 *S. pneumoniae*-Isolaten der Serotypen 19 und 23, abgeleitet aus der Makrorestriktionsanalyse mit **Smal**

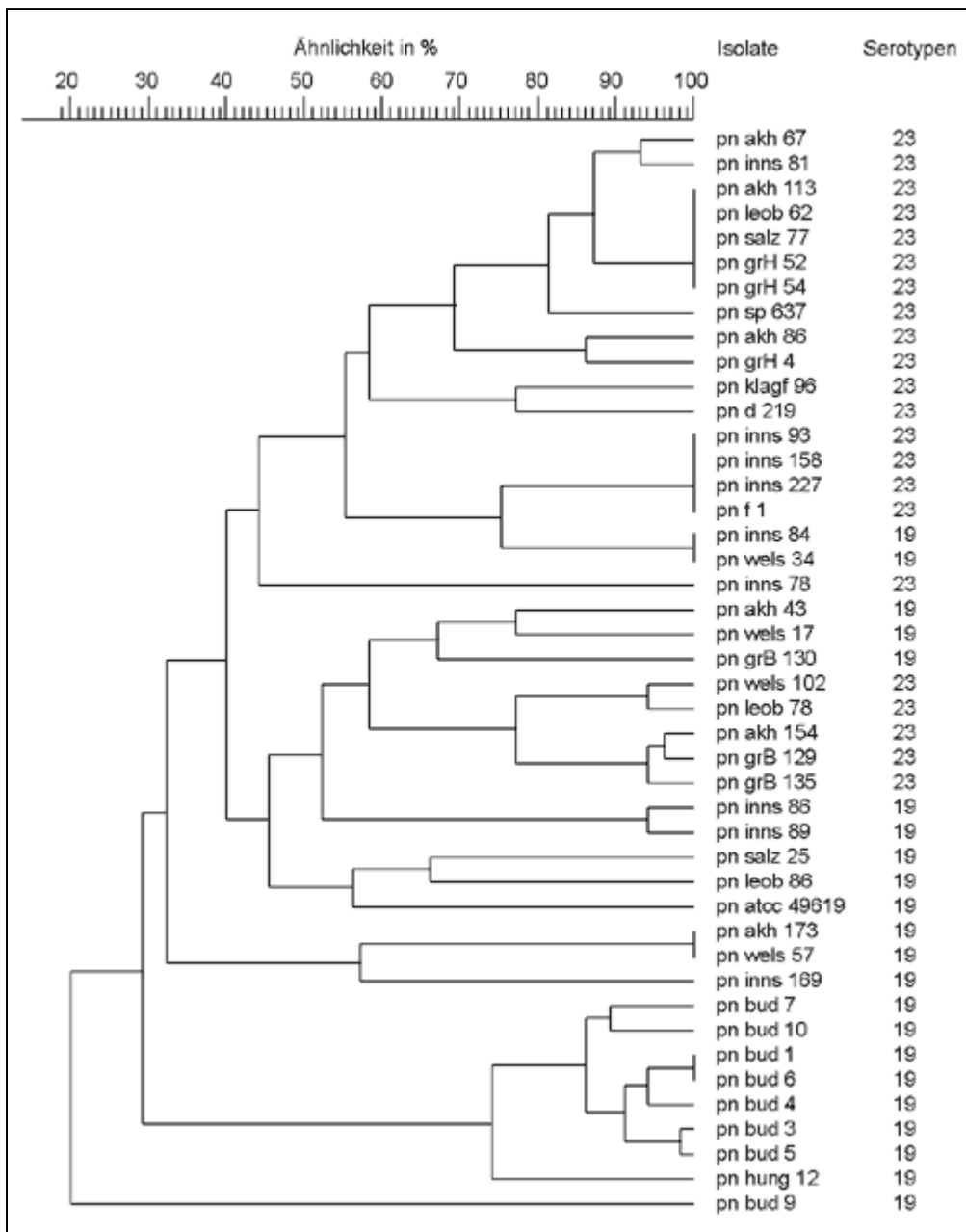
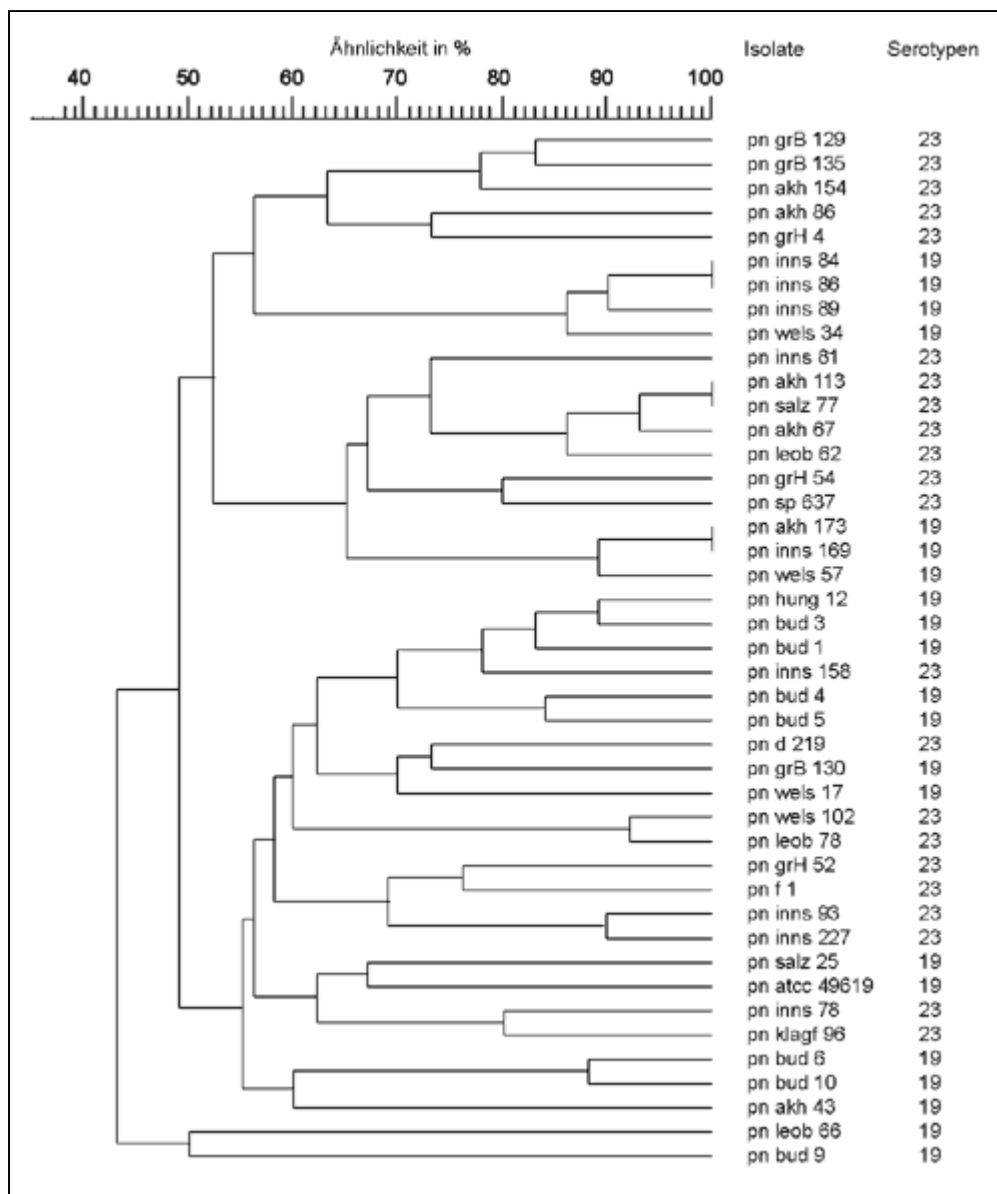


Abbildung 2: Dendrogramm von 44 *S. pneumoniae*-Isolaten der Serotypen 19 und 23, abgeleitet aus der rep-PCR mit dem Primer **ERIC2**



Schlussfolgerung

Im Gegensatz zu anderen europäischen Ländern, wie z. B. Frankreich, Ungarn oder Spanien [5, 8], ist das Vorkommen von PRSP in Österreich noch relativ gering, ähnlich wie in Deutschland [22], Italien [17] oder den Niederlanden [11].

Die genetische Vielfalt von *S. pneumoniae*-Isolaten desselben Serotypes wurde mittels verschiedener molekularer Techniken gezeigt, aber der Grad der Diversität innerhalb der Serotypen bleibt unklar [15]. Oftmals wird in der Literatur berichtet, dass die genetische Ungleichheit bei PSSP größer ist als bei PRSP [9]. Um eine eventuelle Verwandtschaft zwischen österreichischen und europäischen PRSP aufzuzeigen, wurden auch 12 Penicillin-resistente Stämme aus Ungarn, Deutschland, Frankreich und Spanien mittels verschiedener Techniken untersucht.

Die verschiedensten Studien haben sich mit den unterschiedlichen Methoden zur Typisierung von Pneumokokken auseinandergesetzt [7, 10, 21]. In dieser Studie zeigte

sich, dass die Auflösungskraft der einzelnen Methoden stark variiert. Unsere Ergebnisse zeigen, dass die PFGE der AP-PCR und der rep-PCR überlegen ist.

Isolate, die nur intermediär empfindlich oder gegenüber Penicillin resistent waren, hatten den Serotyp 19, 19A, 23, 23B und 23F. Die PFGE zeigte, dass die Mehrheit der österreichischen PRSP vom Serotyp 23F genetisch mit dem spanischen 23F-Klon verwandt sind und in ganz Österreich zu finden sind. Auch mit dem 23F-Klon aus Frankreich zeigten einige PRSP-Isolate große Ähnlichkeit. Interessanterweise zeigte der deutsche 23F-Klon keine Verwandtschaft mit den 23- bzw. 23F-Isolaten, aber es fanden sich Gemeinsamkeiten mit zwei Pneumokokken des Serotypes 19 (ein sensibler und ein intermediär-sensibler Stamm). Die Gründe für das Auffinden von Stämmen mit unterschiedlichen Serotypen, aber ähnlichen genetischen Ursprungs sind mannigfaltig [2, 4, 11]. Der Vergleich der Dendogramme von PFGE, AP-PCR und rep-PCR zeigt, dass alle Isolate vom Serotyp 23 ein ähnliches Muster aufweisen. Größere Unterschiede fand man bei Stämmen des Serotypes 19. Vier von sieben PRSP zeigten eine Clusterbildung, während die anderen im Dendogramm „verstreut“ waren. Weder der österreichische 19- oder 19A-PRSP zeigte eine Verwandtschaft zu den ungarischen 19- bzw. 19A-Isolaten. Das könnte auf die Existenz eines österreichischen Klons vom Serotyp 19 hinweisen.

Bei der Untersuchung der PSSP fiel die große genetische Vielfalt auf. Die gefundenen Cluster bestanden nur aus jeweils zwei Stämmen und mittels keiner der angewendeten Methoden konnte eine Verwandtschaft zwischen den Penicillin-sensitiven Pneumokokken vom Serotyp 19 oder Serotyp 23 gefunden werden.

Offen bleibt die Frage, warum der österreichische Serotyp 19-Klon keine Verwandtschaft mit dem ungarischen Serotyp 19 bzw. 19A-Klon zeigt, obwohl diese Länder aneinander grenzen.

Im Gegensatz dazu zeigen die österreichischen PRSP vom Serotyp 23 eine große Ähnlichkeit mit dem spanischen 23F-Klon.

Im Zuge der steigenden Resistenz von Pneumokokken werden Studien, die sich mit der molekularen Epidemiologie von *S. pneumoniae* befassen, immer wichtiger, da nur so eine klonale Ausbreitung rechtzeitig erkannt und verhindert werden kann.

Literatur:

1. Appelbaum P.C.: „Antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*: an overview.“ *Clin. Infect. Dis.* 15 (1992) 77-83.
2. Barnes D.M., Whittier S., Gilligan P.H., Soares S., Tomasz A., Henderson F.W.: „Transmission of multidrug-resistant serotype 23F *Streptococcus pneumoniae* in group day care: evidence suggesting capsular transformation of the resistant strain in vivo.“ *J. Infect. Dis.* 171 (1995) 890-896.
3. Buxbaum A., Straschil U., Moser C., The Austrian Bacterial Surveillance Network, Graninger W., Georgopoulos A.: „Comparative susceptibility to penicillin and quinolones of 1385 *Streptococcus pneumoniae* isolates.“ *J. Antimicrob. Chemother.* 43 (Suppl. B) (1999) 13-18.
4. Coffey T.J., Dowson C.G., Daniels M.: „Horizontal transfer of multiple penicillin-binding protein genes, and capsular biosynthetic genes, in natural populations of *Streptococcus pneumoniae*.“ *Mol. Microbiol.* 5 (1991) 2255-2260.
5. Coffey T.J., Berron M., Daniels M., Garcia-Leoni M.E., Cercenado E., Bouza E., Fenoll A., Spratt B.G.: „Multiply antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae* recovered from Spanish hospitals (1988-1994): novel major clones of serotypes 14, 19F and 15F.“ *Microbiology* 142 (1996) 2747-2757.
6. De Velasco A., Verheul A.F.M., Verhoef J., Snippe H.: „*Streptococcus pneumoniae*: virulence factors, pathogenesis, and vaccines.“ *Microbiol. Rev.* 59 (1995) 591-603.
7. Doit C., Denamur E., Picard B., Geslin P., Elion J., Bingen E.: „Mechanisms of the spread of penicillin

- resistance in *Streptococcus pneumoniae* strains causing meningitis in children in France." *J. Infect. Dis.* 174 (1996) 520-528.
8. Goldstein F.W., Acar J.F., The Alexander Project Collaborative Group: „Antimicrobial resistance among lower respiratory tract isolates of *Streptococcus pneumoniae*: results of the 1992-93 Western Europe and USA collaborative surveillance study." *J. Antimicrob. Chemother.* 38 (Suppl. A) (1996) 71-84.
 9. Hall L.M.C., Whiley R.A., Duke B., George R.C., Efstratiou A.: „Genetic relatedness within and between serotypes of *Streptococcus pneumoniae* from the United Kingdom: analysis of multilocus enzyme electrophoresis, pulsed-field gel electrophoresis, and antimicrobial resistance patterns." *J. Clin. Microbiol.* 34 (1996) 853-859.
 10. Hermanns P.M.W., Sluijter M., Hoogenboezem T., Heersma H., van Belkum A., de Groot R.: „Comparative study of five different DNA fingerprint techniques for molecular typing of *Streptococcus pneumoniae*." *J. Clin. Microbiol.* 33 (1995) 1606-1612.
 11. Hermanns P.W.M., Sluijter M., Elzenaar K., van Veen A., Schonkeren J.M., Nooren F.M., van Leeuwen W.J., de Neeling A.J., van Klingeren B., Verbrugh H.A., de Groot R.: „Penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in The Netherlands: results of a 1-year molecular epidemiologic survey." *J. Infect. Dis.* 175 (1997) 1413-1422.
 12. Koornhof H.J., Wasas A., Klugman K.P.: „Antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*: a South African perspective." *Clin. Infect. Dis.* 15 (1992) 84-94.
 13. Louie M., Louie L., Papia G., Talbot J., Lovgren M., Simor A.E.: „Molecular analysis of the genetic variation among penicillin-susceptible and penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* serotypes in Canada." *J. Infect. Dis.* 179 (1999) 892-900.
 14. Lovgren M., Spika J.S., Talbot J.A.: „Invasive *Streptococcus pneumoniae* infections: serotype distribution and antimicrobial resistance in Canada, 1992-1995." *Can. Med. Assoc. J.* 158 (1998) 327-331.
 15. McDougal L.K., Rasheed J.K., Biddle J.W., Tenover F.C.: „Identification of multiple clones to extended-spectrum cephalosporin-resistant *Streptococcus pneumoniae* isolates in the United States." *Antimicrob. Agents Chemother.* 39 (1995) 2282-2288.
 16. McEllistre M.C., Stout J.E., Harrison L.H.: Simplified protocol for pulsed-field gel electrophoresis analysis of *Streptococcus pneumoniae*." *J. Clin. Microbiol.* 38 (2000) 351-353.
 17. Marchese A., Ramirez M., Schito G.C., Tomasz A.: „Molecular epidemiology of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* isolates recovered in Italy from 1993 to 1996." *J. Clin. Microbiol.* 36 (1998) 2944-2949.
 18. Marton A., Gulyaas M., Munoz R., Tomasz R.: „Extremely high incidence of antibiotic resistance in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* in Hungary." *J. Infect. Dis.* 163 (1991) 542-548.
 19. Matushek M.G., Bonten M.J.M., Hayden M.K.: „Rapid preparation of bacterial DNA for pulsed-field gel electrophoresis." *J. Clin. Microbiol.* 34 (1996) 2598-2600.
 20. National Committee for Clinical Laboratory Standards: „Performance standards for antimicrobial susceptibility tests, 6th ed. Approved standard M2-A6." National Committee for Clinical Standards, Wayne, Pa (1997).
 21. Patterson J.E., Jorgensen J.H., Lee L.: „Comparison of epidemiologic typing techniques for determination of drug-resistant *Streptococcus pneumoniae* strain identity (abstract C61)." In: Program and abstracts of the 36th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (New Orleans). Washington, DC: American Society for Microbiology (1996).
 22. Reinert R.R., Queck A., Kaufhold A., Kresken M., Luttkens R.: „Antimicrobial resistance and type distribution of *Streptococcus pneumoniae* isolates causing systemic infections in Germany, 1992-1994." *Clin. Infect. Dis.* 21 (1995) 1398-1401.
 23. Schutze G.E., Kaplan S.L., Jacobs R.F.: „Resistant pneumococcus: a worldwide problem." *Infection* 22 (1994) 233-237.
 24. Scott J.A.G., Hall A.J., Dagan R.: „Serogroup-specific epidemiology of *Streptococcus pneumoniae*: associations with age, sex, and geography in 7,000 episodes of invasive disease." *Clin. Infect. Dis.* 228 (1996) 973-981.
 25. Song J.H., Lee N.Y., Ichiyama S., Yoshida R., Hirakata Y., Fu W., Chongthaleong A., Aswapokee N., Chiu C.H., Lalitha M.K., Thomas K., Perera J., Yee T.T., Jamal F., Warsa U.C., Vinh B.X., Jacobs M.R., Appelbaum P.C., Pai C.H., and the ANSORP Study Group: „Spread of drug-resistant *Streptococcus pneumoniae* in Asian countries: Asian Network for Surveillance of Resistant Pathogens (ANSORP) Study." *Clin. Infect. Dis.* 28 (1999) 1206-1211.

Anschrift des Verfassers:

Univ.-Prof. DDr. A. Georgopoulos

Univ.-Klinik für Innere Medizin I, Abt. für Infektionen und Chemotherapie

A-1090 Wien, Währinger Gürtel 18-20

Resistenzgene in Antibiotikapräparaten – Trojanische Pferde?

M. Wögerbauer, H. Lagler, H. Burgmann, W. Graninger
Universitätsklinik für Innere Medizin I, Abteilung für Infektionen und Chemotherapie, AKH Wien
(Leiter: Univ.-Prof. DDr. W. Graninger)

- **Schlüsselwörter**
 - **Zusammenfassung**
 - **Key-words**
 - **Summary**
 - **Einleitung**
 - **Methodik**
 - **Ergebnisse und Diskussion**
 - **Relevanz der Beobachtung**
 - **Bedingungen für einen effizienten Gentransfer - Bakterielle Transformation**
 - **Freie DNA im Darmtrakt von Säugetieren**
 - **Antibiotika in der Tierzucht**
 - **Gentechnisch veränderte Lebensmittel - Novel Food**
 - **Literatur**
-

Schlüsselwörter:

Antibiotikaresistenz, horizontaler Gentransfer, Transformation, antimikrobielle Chemotherapie

Zusammenfassung

Multiresistente Keime verursachen zunehmend Schwierigkeiten bei der antimikrobiellen Chemotherapie. Sequenzanalysen der klinisch auffälligen Resistenzdeterminanten weisen in zahlreichen Fällen auf eine Herkunft aus den entsprechenden Antibiotikaproduzentenstämmen. Da biotechnologisch hergestellte Antibiotika mit der DNA des Produzentenstammes verunreinigt sind, sollte die Möglichkeit einer direkten Übertragung eines Resistenzgenes aus dem verabreichten Präparat zumindest diskutiert werden. Am Beispiel von Streptomycin wird der Nachweis von produzentenstammspezifischer DNA im Präparat erbracht. Mögliche Auswirkungen auf DNA-Transferprozesse in der Darmflora von Säugetieren werden skizziert.

Key-words:

Multidrug resistance, horizontal gene transfer, transformation, antibiotic preparations

Summary

The spread of multidrug resistant bacteria is severely hampering antimicrobial chemotherapy today. The basis for the rapid dissemination of resistance determinants is the ability of microorganisms to exchange genetic information readily via horizontal gene transfer. However, the origin of resistance genes, which protect clinical pathogens against antimicrobial agents, is not always clear. In some cases sequence analyses show a high degree of homology with the resistance determinants active in the producer strains of the respective antibiotic. Antibiotic preparations of microbial origin are contaminated with producer strain specific DNA. Thus, antibiotic preparations themselves may serve as a vector for the dissemination of resistance genes. With streptomycin the presence of the

according producer strain specific rDNA sequences could be demonstrated. Implications on DNA transfer processes in the mammalian gastrointestinal tract are discussed.

Einleitung

Das Auftauchen multiresistenter Bakterienstämme verursacht zunehmend schwerwiegende Probleme in der antibakteriellen Chemotherapie. Motor der raschen Ausbreitung von Resistenzgenen ist die Fähigkeit von Bakterien, effizient über Speziesgrenzen hinweg genetische Information an Nachbarzellen weiterzugeben [6]. Der Ursprung klinisch auffällig werdender Resistenzdeterminanten ist häufig nur mit großem molekularbiologischen Aufwand unter Zuhilfenahme epidemiologischer Daten rückverfolgbar. Indizien sprechen jedoch zunehmend dafür, dass zumindest in manchen Fällen die neu akquirierte Resistenzdeterminante von jenen Mikroorganismen herrührt, die ursprünglich bei der biotechnologischen Produktion des Präparats eingesetzt worden sind [3, 10]. Wahrscheinlichstes Ausbreitungsszenario ist folgendes: Über einen kaskadenartigen Prozess, der zahlreiche Zwischenwirte und verschiedenartige Gentransferprozesse wie Transformation, Konjugation und Transduktion umfasst, landet die Resistenzdeterminante in einem pathogenen Keim und interferiert dort mit der durchgeführten Chemotherapie [3].

Ist man lange Zeit davon ausgegangen, dass in ihrem natürlichen Habitat (Darm, Boden, Haut) lebende Bakterien nur selten freie DNA aufnehmen, so hat sich in den letzten Jahren das Bild völlig geändert [5]. Man muss davon ausgehen, dass nahezu jedes Bakterium unter gewissen Umweltbedingungen dazu imstande ist, freie DNA in den eigenen genetischen Apparat zu inkorporieren [4]. Diese „genetische Kompetenz“ – die Fähigkeit, DNA aus der Umgebung aufzunehmen – ist eine bei den meisten Bakterien durch Änderung des pH-Werts und Ionenmilieus, Temperaturschwankungen oder Hungerstress physiologisch induzierbare Eigenschaft [4]. Sie stellt eine Variante im prokaryotischen Repertoire dar, mit deren Hilfe Bakterienpopulationen rasch auf sich verändernde Umweltbedingungen reagieren. Der MagenDarm-Trakt von Säugetieren bietet für die Induktion kompetenter Bakterienstämme optimale Ausgangsvoraussetzungen, da hier zahlreiche der oben angeführten Umweltbedingungen anzutreffen sind.

Die Applikation von Antibiotika setzt per definitionem die betroffene Bakterienpopulation unter extremen physiologischen Stress. In derartigen Situationen aktivieren Bakterien Notsysteme, die der Zelle ermöglichen könnten, dem Selektionsdruck zu widerstehen. Während einer Antibiotikatherapie werden jedoch oft nicht die notwendigen bakteriziden Konzentrationen erreicht, die zur Abtötung erforderlich wären.

In niedriger Dosierung wirken Antibiotika auf Bakterien jedoch wie „Aphrodisiaka“ – Botenstoffe, die der Zelle mitteilen, sich auf den Austausch von genetischer Information vorzubereiten [3].

Mit Resistenzgenen verseuchte Antibiotika kombinieren zwei Faktoren, die die Grundlage für einen Circulus vitiosus bilden:

1. Der durch das Antibiotikum gesetzte Selektionsdruck führt per se zur Auslese resistenter Bakterienzellen, wobei unter Umständen auch Gentransfermechanismen in der betroffenen Population aktiviert werden.
2. Gleichzeitig wird mit dem kontaminierten Präparat bei oraler Applikation das

entsprechende Resistenzgen in Form von freier DNA der Darmflora von Säugetieren angeboten.

Welche Rolle mit produzentenstammspezifischer DNA kontaminierte Antibiotikapräparate als „Vektor“ für Resistenzgene bei deren Verbreitung tatsächlich spielen, wird kontrovers diskutiert.

Wir konnten anhand von Streptomycin beispielhaft zeigen, dass im kommerziell erhältlichen Präparat genomische DNA des Produzenten *Streptomyces griseus* vorhanden ist.

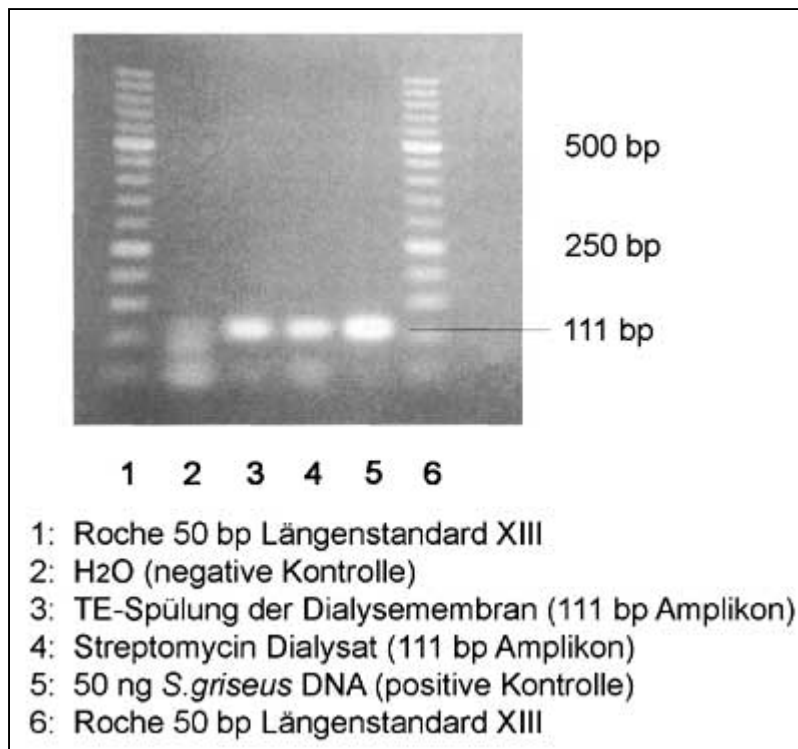
Methodik

Um eventuell laborinterne DNA-Kontaminationen der untersuchten Antibiotika ausschließen zu können, wurde die DNA-Isolierung aus den Präparaten ausschließlich mit originalverpacktem und speziell für sensitive PCR-Anwendungen erhältlichem Einwegmaterial räumlich von der Bacterienanzucht getrennt durchgeführt. Die Anzucht des Produzentenstammes (*S. griseus*) und dessen DNA-Extraktion erfolgte nach der Aufreinigung der Antibiotikapräparate. Der Nachweis von produzentenstammspezifischer DNA wurde mittels speziell adaptierter PCR-Protokolle durchgeführt. Primerpaare wurden für den nicht-konservierten Bereich der 16S ribosomalen DNA aus *S. griseus* konstruiert. Die Speziespezifität der eingesetzten Primer wurde mittels BLAST-Alignment-Studien theoretisch und durch Überprüfung an gattungsfremder DNA (z. B. *E. coli*) abgesichert. Kreuzkontaminationen bei den PCR-Ansätzen sind durch striktes Befolgen eines Sicherheitsprotokolls auszuschließen.

Ergebnisse und Diskussion

Ribosomale DNA aus *Streptomyces griseus* ist in Streptomycin-Präparaten nachweisbar (Abb. 1). Zu diesem Zweck wurde ein 111 bp langes DNA-Fragment als Target ausgewählt und amplifiziert. Die Detektion genomischer Produzentenstamm-DNA ist abhängig von der Fragmentlänge. Kurze DNA-Stücke werden mit einer besseren Effizienz amplifiziert als längere (Ergebnisse nicht gezeigt). Da unter Umständen beträchtliche DNA-Mengen an der verwendeten Dialysemembran haften bleiben, wurde auch eine Pufferspülung der eingesetzten Membran getestet (Abb. 1, Reihe 3). Die Nachweisführung mittels PCR ist notwendig, da Antibiotika aufgrund von (pflanzlichen) Zusatzstoffen, die bei der Präparateherstellung benötigt werden, häufig DNA enthalten. Ein DNA-Nachweis z.B. mit Hilfe von DNA-doppelstrangbindenden Fluoreszenzfarbstoffen im Präparat gibt noch keine Auskunft über die Art und Herkunft der detektierten DNA.

Abbildung 1: Nachweis von 16S rDNA aus *S. griseus* in Streptomycin



Relevanz der Beobachtung

Relevanz der Beobachtung Um die Übertragungswahrscheinlichkeit eines Resistenzgens, das als Kontamination in einem oral verabreichten Antibiotikapräparat vorliegt, auf menschliche Darmbakterien abschätzen zu können, müssen folgende Punkte geklärt werden:

1. Wie hoch ist die Kopienzahl der gesuchten Resistenzdeterminante im Präparat (Quantität)?
2. Ist das Resistenzgen physisch intakt, womöglich mit den entsprechenden prokaryotischen Regulationselementen (Promotor, Ribosomenbindungsstelle, Terminator, Replikationsursprung) im Präparat nachzuweisen (Qualität)?
3. Übersteht doppelsträngige DNA die Magen-Darm-Passage bei Säugetieren unbeschadet (Protektion)?
4. Besteht die Möglichkeit, dass oral verabreichte DNA im Gastrointestinaltrakt auf DNA-aufnahmefähige Mikroorganismen trifft (bakterielle Kompetenz)?

Wie gezeigt werden konnte, sind mikrobiologisch hergestellte Antibiotikapräparate zum Teil beträchtlich mit doppelsträngiger Desoxyribonukleinsäure verunreinigt [10]. Die fluorometrisch bestimmten DNA-Mengen pro Gramm Antibiotikum würden durchaus ausreichen, um lokal im Darm Konzentrationen zu generieren, die einen effektiven Gentransfer auf bakterielle Wirtszellen gestatten. Die im Präparat detektierte Gesamt-DNA besteht jedoch nur zu einem Bruchteil aus genomischer DNA des Produzentenstammes und liegt zudem stark fragmentiert vor. Ribosomale Produzentenstamm-DNA ist im gewählten PCR-Setting relativ leicht zu detektieren, trotzdem ist eine Abnahme der

Effizienz mit zunehmender Fragmentlänge zu beobachten. Der Resistenzgenfragmentnachweis ist nur mit speziell adaptierten PCR-Methoden zu erbringen.

Diese Beobachtungen deuten darauf hin, dass im Präparat äußerst selten voll funktionstüchtige Resistenzgene anzutreffen sein dürften.

Bedingungen für einen effizienten Gentransfer - Bakterielle Transformation

Bedingungen für einen effizienten Gentransfer – Bakterielle Transformation Von zahlreichen Autoren wurde darauf hingewiesen, dass für eine effektive Integration eines Resistenzgens in den genetischen Apparat einer Wirtszelle entweder homologe DNA-Abschnitte oder ein Replikationsursprung und unter Umständen spezielle Kontrollelemente, die die Genexpression der Resistenzdeterminante regulieren, auf dem transferierten Fragment enthalten sein müssen [4]. Ein Replikationsursprung wird etwa über ein Plasmid, welches das Resistenzgen trägt, oder einen Bakteriophagen zur Verfügung gestellt. Lineare genomische Resistenzgen-DNA aus einem Antibiotikapräparat enthält jedoch mit hoher Wahrscheinlichkeit keinerlei derartige Funktionen.

Derart stringente Anforderungen an einen effektiven Transformationsprozess sind jedoch nicht zu stellen. Eine sequenzspezifische Aufnahme von freier DNA stellt eher die Ausnahme als die Regel dar. Auch nicht-homologe DNA kann in ein fremdes Wirtsgenom eingebaut werden [4]. Von besonderem Interesse in diesem Zusammenhang sind sogenannte Integrons, genetische Elemente, mit deren Hilfe einzelne Resistenzgenkassettenartig „verpackt“ und mit allen notwendigen Regulationselementen ausgestattet werden. In konjugative Transposons inseriert, steht einer raschen Verbreitung der integrierten Resistenzfunktionen nichts mehr im Wege [3].

Bakterien verfügen also über ein äußerst elastisches genetisches System, mit dessen Hilfe über Speziesgrenzen hinweg genetische Information ausgetauscht wird. Die Aufnahme von freier DNA aus dem Medium als ursprünglichstes DNA-Transfersystem stellt ein wesentliches Element bei der Anpassung von Bakterienpopulationen an veränderte Umweltbedingungen dar [3].

Freie DNA im Darmtrakt von Säugetieren

Freie DNA im Darmtrakt von Säugetieren Doppelsträngige DNA scheint in ausreichendem Ausmaß die Darmpassage überleben zu können. Schubbert et al. konnten Fragmentlängen von bis zu 1,6 kb darstellen [8]. Freie DNA kann sich unter Umständen dem Zugriff durch abbauende Enzyme durch Bindung an feste Partikel – wie z.B. Nahrungsbestandteile – entziehen. Gewisse Aminoglycoside sind durch spezifische Bindung an dsDNA in der Lage, einen DNase-Abbauschutz zu vermitteln [9].

Aufgrund der Erfahrungen, die man mit *Escherichia coli* – einer äußerst DNA-Aufnahme-refraktären Mikrobe – im Labor gewonnen hatte, ging man lange Zeit davon aus, dass in der freien Umgebung lebende Bakterien nur sehr selten nackte DNA akquirieren können [4]. Neuere Untersuchungen zeigen jedoch überraschend hohe Transformationsraten

zwischen 10^{-2} bis 10^{-4} gerade bei pathogenen Keimen (zum Vergleich: Wildtyp *E. coli*-Stämme zeigen unter Laborbedingungen nur eine Transformationsrate von 10^{-8} bis 10^{-9}) [4] und auch *E. coli* scheint im natürlichen Habitat effektiv transformierbar zu sein [1, 2]. Aus diesem Grund ist mit Sicherheit davon auszugehen, dass im Magen-Darm-Trakt von Säugetieren DNA-aufnahmefähige „kompetente“ Mikroorganismen anzutreffen sind.

Aufgrund der üblicherweise kurzfristig durchgeführten oralen Antibiotika-Therapie beim Menschen ist das Expositionsrisiko mit aus dem Präparat eingebrachten, funktionstüchtigen Resistenzgenen als relativ niedrig einzustufen.

Antibiotika in der Tierzucht

Antibiotika in der Tierzucht Die Anwendung von Antibiotika-Präparaten als Wachstumspromotoren in der Tierzucht stellt ein deutlich höheres Risikopotential dar, da hier ständig über lange Zeiträume Substanzen in subtherapeutischen Konzentrationen zugeführt werden. Die Wahrscheinlichkeit, dass in diesem Szenario auch Resistenzgene aus kontaminierten Präparaten transferiert werden, ist deutlich höher als bei humantherapeutischen Anwendungen. Die Generation von Resistenzgenpools in der Landwirtschaft und Tierzucht durch den permanenten Selektionsdruck steht außer Zweifel [7]. Humanpathogene Keime haben aufgrund des offenen mikrobiellen Ökosystems Zugriff auf diesen Resistenzgenpool. Der Zugriff kann in Form einer direkten Übertragung zoonotischer Keime in das humane Habitat, aber auch indirekt durch den Transfer von einzelnen Resistenzdeterminaten in einem kaskadenartigen Prozess mit zahlreichen Zwischenwirten auf humanpathogene Keime erfolgen [3, 7].

Gentechnisch veränderte Lebensmittel - Novel Food

Gentechnisch veränderte Lebensmittel – Novel Food Gentechnologisch veränderte Mikroorganismen und Pflanzen, die als Nahrungsmittel dienen und zurzeit immer noch Resistenzgene enthalten, stellen einen weiteren, bei der Diskussion um die Verbreitung von Resistenzdeterminanten zu beachtenden Aspekt dar.

Der Beweis einer Resistenzgenübertragung durch oral verabreichte klinische Antibiotikapräparate ist zurzeit nicht zu erbringen. Das Trojanische Pferd steht somit noch vor der Stadt und hat die Tore Illions noch nicht passiert. Der Einsatz von (mit DNA-kontaminierten) Antibiotika als Wachstumspromotoren und als Prophylaxe in Futtermitteln ist jedoch auch aufgrund des hier präsentierten Datenmaterials grundsätzlich in Frage zu stellen.

Literatur:

1. Bauer F., Hertel C., Hammes W.P.: „Transformation of *E. coli* in foodstuffs.“ System. Appl. Microbiol. 22 (1999) 161-168.
2. Baur B., Hanselmann K., Schlimme W., Jenni B.: „Genetic transformation in freshwater: *Escherichia coli* is able to develop natural competence.“ Appl. Environ. Microbiol. 62 (10) (1996) 3673-3678.
3. Davies J.: „Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes.“ Science 264 (1994) 375-

382.

4. Lorenz M.G., Wackernagel W.: „Bacterial gene transfer by natural genetic transformation in the environment.“ *Microbiol. Rev.* 58/3 (1994) 563-602.
5. Maiden M.C.J.: „Horizontal genetic exchange, evolution, and spread of antibiotic resistance in bacteria.“ *Clin. Infect. Dis.* 27 (Suppl. 1) (1998) 12-20.
6. Mazodier P., Davies J.: „Gene transfer between distantly related bacteria.“ *Annu. Rev. Genet.* 25 (1991) 147-171.
7. Witte W.: „Medical consequences of antibiotic use in agriculture.“ *Science* 279 (1998) 996-997.
8. Schubbert R., Renz D., Schmitz B., Doerfler W.: „Foreign (M13) DNA ingested by mice reaches peripheral leukocytes, spleen and liver via the intestinal wall mucosa and can be covalently linked to mouse DNA.“ *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94 (1997) 961-966.
9. Wögerbauer M., Burgmann H., Davies J., Graninger W.: „DNase I induced DNA degradation is inhibited by neomycin.“ *J. Antibiot.* 53 (3) (2000) 276-285.
10. Webb V., Davies J.: „Antibiotic preparations contain DNA: a source of drug resistance genes?“ *Antimicrob. Agents Chemoth.* 37 (1993) 2379-2384.

Anschrift des Verfassers:

Univ-Prof. DDr. W. Graninger

Univ.-Klinik für Innere Medizin I, Abt. für Infektionen und Chemotherapie

A-1090 Wien, Währinger Gürtel 18-20

[zurück zum Inhalt](#)

Pulsfeld-Gel-Elektrophorese, molekulare Analyse zur Typisierung von Mikroorganismen

P.E. Mrass, R. Gattringer, W. Graninger, A. Georgopoulos

Universitätsklinik für Innere Medizin I, Abteilung für Infektionen und Chemotherapie, AKH Wien

(Leiter: Univ.-Prof. DDr. W. Graninger)

- **Schlüsselwörter**
 - **Zusammenfassung**
 - **Key-words**
 - **Summary**
 - **Typisierung von Bakterienstämmen**
 - **Prinzipien der PFGE**
 - **Interpretation von PFGE-Bandenmustern**
 - **Aufklärung der Epidemiologie von Penicillin-resistenten *Streptococcus pneumoniae***
 - **Literatur**
-

Schlüsselwörter:

PFGE, *Streptococcus pneumoniae*

Zusammenfassung

Typisierungsverfahren stellen eine wichtige Methode im mikrobiologischen Labor dar, um unterschiedliche Stämme eines bestimmten Bakteriengenus zu unterscheiden. Genotypische Verfahren untersuchen die Ähnlichkeit des Genoms verschiedener Isolate und können so identische, nahe verwandte, oder nicht in Beziehung stehende Stämme identifizieren. Mit ihr konnte viel über die Epidemiologie von Penicillin-resistenten Pneumokokken in Erfahrung gebracht werden. Im Moment deuten viele Publikationen darauf hin, dass die meisten Penicillin-resistenten Pneumokokken nicht von einer gemeinsamen Vorläuferzelle abstammen, dass allerdings regelmäßig Cluster klonalen Ursprungs auftreten, die sich auch über Landesgrenzen hinaus verbreiten können.

Key-words:

PFGE, *streptococcus pneumoniae*

Summary

Typing procedures are an important technique in the microbiologic laboratory, to discriminate different strains of a specific bacterial genus. Genotypic methods examine the similarity of the genome of different isolates, and can find identic, related and non-related strains. Pulsed-field-gel-electrophoresis (PFGE) is predominantly and because of its unique discriminatory power a very important procedure. With PFGE much could be learned about the epidemiology of penicillin-resistant pneumococci. At the moment, many papers indicate that most penicillin-resistant pneumococci do not descend from a common ancestor, still commonly clonally derived clusters appear that can spread even beyond national borders.

Typisierung von Bakterienstämmen

Eine der Hauptaufgaben eines mikrobiologischen Labors besteht in der Bestimmung des Genus und der Spezies von Mikroorganismen. Weiters ist es aber oft von großem Interesse, auch zu erkennen, ob verschiedene Isolate identischer Spezies einen gemeinsamen Ursprung haben, d.h. dem gleichen Klon oder Stamm angehören bzw. nahe verwandt sind, oder ob das nicht der Fall ist. Der Kliniker ist interessiert zu wissen, ob die Ursache von wiederkehrenden Infektionen an einem bestimmten Patienten eine Neuinfektion bzw. ein Rezidiv d.h. ein Wiederaufflammen einer nie vollständig ausgelöschten Infektion darstellt. Eine Klärung dieser Frage, die mit dem Nachweis von verschiedenen bzw. identischen Stämmen möglich ist, kann die Therapiewahl des Klinikers beeinflussen. Für die mikrobiologische Wissenschaft ist die Typisierung von Isolaten von Bedeutung, weil sie neue Einsichten in die Epidemiologie und Pathogenese von Infektionen

vermitteln kann. So konnte erkannt werden, dass manche Bakterien, die bestimmte Krankheiten auslösen oder gegenüber bestimmten Antibiotika resistent sind, nahe verwandten Untergruppen angehören. Hierzu zählen *Streptococcus pyogenes* als Auslöser des Toxic-Shock-Like-Syndrom, *Escherichia coli* O157:H7, Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus*, und Penicillin-resistenter *Streptococcus pneumoniae*. Es gibt heute eine Unmenge an verschiedenen Typisierungsmethoden. Ihre Qualität wird daran gemessen, wie gut sie in der Lage sind, die Anforderungen, die eine optimale Typisierung von Stämmen erfordert, zu erfüllen (Tabelle 1). Dazu zählt die Typisierbarkeit der Methode. Manche Methoden liefern bei ihrer Anwendung an einem beträchtlichen Anteil von Isolaten keine positiven Ergebnisse, d.h. diese sind nicht typisierbar.

Tabelle 1: Kriterien zur Evaluierung von Typisierungsmethoden

Typisierbarkeit
Reproduzierbarkeit
Unterscheidungskraft
Leichtigkeit der Interpretation
Leichtigkeit der Durchführung

Wenn viele Stämme keine positiven Ergebnisse liefern, hat die Methode eine niedrige Typisierbarkeit. Klarerweise sind auch Methoden vorzuziehen, die bei wiederholter Durchführung identische Ergebnisse liefern, d.h. eine hohe Reproduzierbarkeit zeigen. Manche Methoden können unterschiedliche Stämme noch dann unterscheiden, wo andere Methoden zu gleichen Ergebnissen kommen. Sie haben eine hohe Unterscheidungskraft. Klassische Techniken, wie die des Serotypisierens, basierten auf dem Vorhandensein oder Fehlen von biologischen Aktivitäten.

Die Interpretation der Ergebnisse war relativ klar. Die neuen Methoden, die auf der elektrophoretischen Auftrennung von molekularen Subkomponenten basieren, liefern als Ergebnis ein Muster von Banden. Wenn ein sehr komplexes Muster als Ergebnis vorliegt, kann sich die Interpretation des Ergebnisses sehr schwierig gestalten.

Typisierungsmethoden, die phänotypische Unterschiede beurteilen, sind grundsätzlich durch die Fähigkeit von Mikroorganismen, die Expression von Genen zu verändern, limitiert. Sie weisen im Allgemeinen eine niedrige Unterscheidungskraft auf und sollen daher hier nicht weiter behandelt werden.

Genotypische Typisierungsmethoden nehmen, aufgrund ihrer hohen Unterscheidungskraft, an Bedeutung zu. Eine besonders wichtige genotypische Typisierungsmethode stellt die Pulsfeld-Gel-Elektrophorese (PFGE) dar.

Prinzipien der PFGE

Vor der Einführung der PFGE durch Schwartz und Cantor im Jahr 1984 [10] war eine Auftrennung von DNA-Fragmenten nur bis zu einer Größe von 50 kB möglich. Größere Fragmente zeigen bei der konventionellen Agarose-Gel-Elektrophorese eine gleiche Wanderungsgeschwindigkeit und können daher nicht aufgetrennt werden. Daher war es nicht möglich, das gesamte Genom von Bakterien, das ca. 4,5 Millionen Megabasen (4500 kB) umfasst, aufzutrennen, sondern nur winzige Bruchstücke davon. Weiters war man nicht in der Lage, intakte DNA eines vollständigen Chromosoms zu verarbeiten, da sie bei den Verdauungsschritten in den flüssigen Verdauungspuffern aufgrund der Scherkräfte, die auf die langen DNA-Moleküle wirken, in unzählige kleine Fragmente zerfallen.

Es bedurfte der immensen Erfindungsgabe von Schwartz und Cantor, diese Probleme zu lösen. Das Problem der auftretenden Scherkräfte wurde bewältigt, indem intakte Bakterien in Gelblöckchen (Inserts) eingegossen wurden und alle Verdauungsschritte in diesen durchgeführt wurden. In die Inserts eingebettet, ist die DNA vor Scherkräften geschützt.

Die Auftrennung von DNA-Fragmenten von einer Länge von 50 - 2000 kB wurde durch die Anwendung von gepulsten elektrischen Feldern anstatt der konventionellen homogenen Felder erreicht. Gepulste Felder sind elektrische Felder, die ihre Orientierung regelmäßig nach einem bestimmten Intervall (Pulszeit) verändern. Die DNA-Fragmente werden nach jedem Wechsel des Feldes neu orientiert und können erst dann ihre Wanderung fortsetzen. Kürzere Fragmente erreichen die neue Orientierung schneller als lange und wandern daher schneller, wodurch es zu einer Auftrennung kommt. Durch Variation der Pulszeiten kann das Optimum, bei welcher Fragmentgröße die beste Auftrennung stattfindet, modifiziert werden.

Um bei Bakterien, die nur ein Chromosom enthalten, verschiedene Fragmente zu gewinnen, ist es notwendig, ein intaktes Chromosom mittels einer Restriktionsendonuklease in verschiedene Bruchstücke zu

zerlegen. So erlangt man zwischen 5 und 20 Fragmente, die nach der Wanderung im Gel, Färbung in Ethidiumbromid und UV-Durchleuchtung als Banden sichtbar werden. Durch die unterschiedlichen Bandenmuster, die so entstehen, den Restriktionsfragmentpolymorphismus (RFLP), können verschiedene Bakterienstämme mit einer extrem hohen Unterscheidungskraft unterschieden werden.

Um die extrem hohe Qualität dieser Methode zu unterstreichen, wird hier die Tabelle aus dem Manual of Clinical Microbiology angeführt (Tabelle 2), wo die PFGE mit anderen genotypischen Typisierungsmethoden verglichen wird, ohne auf diese genauer einzugehen. PFGE als bevorzugte Typisierungsmethode wird für die folgenden Erreger-Spezies vorgeschlagen [1]: *Staphylococcus aureus*, Koagulase-negative Staphylokokken, *Streptococcus pneumoniae*, Enterokokken, *Escherichia coli* (*E. coli* O157:H7 wird durch Serotypisieren bestimmt), *Citrobacter*, *Proteus*, *Providencia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* und *Pseudomonas aeruginosa*.

Tabelle 2:

Typisierungsmethode	Typisierbarkeit	Reproduzierbarkeit	Auflösungskraft	Interpretation	Durchführung
Restriktion v. Plasmiden	meistens	gut	gut	gut	exzellent
Ribotypisieren	immer	exzellent	annehmbar	gut	gut
Restriktion/PCR	immer	exzellent	gut	exzellent	gut
repPCR	immer	gut	gut	gut	gut
PFGE	immer	exzellent	exzellent	exzellent	gut

Interpretationen von PFGE-Bandenmustern

Wie schon oben darauf hingewiesen wurde, lässt sich der Verwandtschaftsgrad verschiedener Bakterienstämme durch den Vergleich der Bandenmuster, die durch ein genotypisches Typierungsverfahren wie z.B. der PFGE geliefert werden, erkennen. Abbildung 1 zeigt die Bandenmuster von 7 Isolaten Penicillin-resistenter Pneumokokken. Lanes 1, 2 und 4 weisen identische Bandenmuster auf. Lane 5 unterscheidet sich von diesen Mustern nur durch eine Bande. Die Muster von den Lanes 3, 6 und 7 unterscheiden sich davon vollständig.

Identische Stämme haben identische Bandenmuster. Aufgrund von spontanen Mutationen ist es möglich, dass sich das Bandenmuster der Nachkommen von dem ihres Ursprungsstammes unterscheidet. Abbildung 2 zeigt in Lane 1 schematisch das Bandenmuster eines Ursprungsstammes.

Abbildung 1:

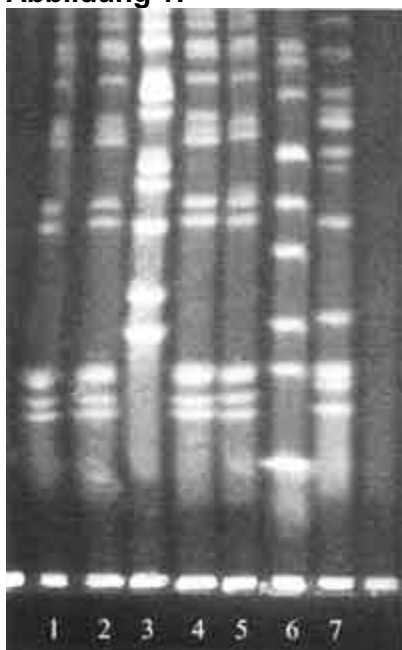
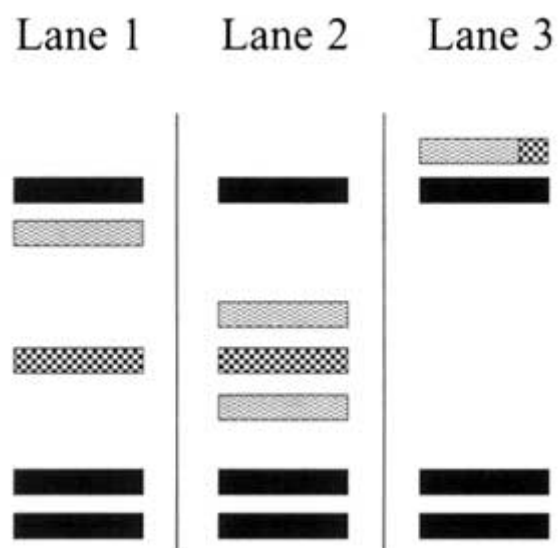


Abbildung 2:



In Lane 2 ist das Bandenmuster zu sehen, das durch das Auftauchen eines zusätzlichen Restriktionslokus entsteht. Ein langes Fragment verschwindet, zwei kurze Fragmente treten stattdessen auf (gewelltes

Muster). In Lane 3 ist durch spontane Mutation ein Restriktionslokus verschwunden. Daher entsteht ein neues langes Fragment, auf Kosten von zwei kurzen Fragmenten (kariertes Muster und gewelltes Muster). Jeweils ist durch eine einzelne Mutation eine Bandendifferenz zwischen Ursprungs- und mutiertem Stamm von 3 Banden entstanden.

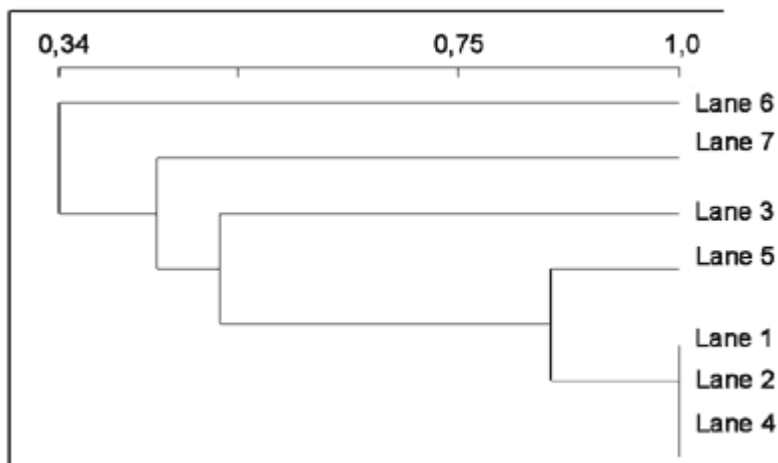
Durch das Einfügen oder den Verlust von einem DNA-Abschnitt ohne Restriktionslokus in ein DNA-Fragment wird jeweils eine Bande parallel nach oben oder unten verschoben, was einer Differenz von 2 Banden entspricht. Tabelle 4 fasst die durch Mutationen verursachte Änderung der Bandenmuster zusammen. Die Zahlen vergleichen jeweils den Unterschied zwischen Ursprungs- und mutiertem Stamm.

Tabelle 4:

Kategorie	Anzahl der genetischen Events	Anzahl der unterschiedlichen Fragmente	Epidemiologische Interpretation
Identisch	0	0	Isolat: Teil des Ausbruchs
Nahe verwandt	1	2-3	wahrscheinlich Teil des Ausbruchs
Möglicherweise verwandt	2	4-6	vielleicht Teil des Ausbruchs
Unterschiedlich	≥ 3	≥ 7	nicht Teil des Ausbruchs

Hilfreich beim Vergleich verschiedener Bandenmuster sind Stammbäume, mit denen auf einen Blick ersichtlich wird, welche Stämme nahe verwandt oder identisch sind, bzw. welche Stämme nur sehr geringe Ähnlichkeiten aufweisen. Stammbäume werden computerunterstützt erstellt und verglichen, was einen Vergleich einer großen Anzahl von Proben in relativ kurzer Zeit ermöglicht. Abbildung 3 zeigt einen Stammbaum, der auf Basis der Bandenmuster der Lanes 1 bis 8 von Abbildung 1 erstellt wurde.

Abbildung 3:



Als Faustregel bei der Analyse solcher Stammbäume kann man davon ausgehen, dass Stämme mit Bandenmustern einer relativen Ähnlichkeit von mehr als 0,8 verwandte Isolate darstellen, während Isolate mit Bandenmustern von weniger als 0,5 Übereinstimmung epidemiologisch in keinerlei Beziehung stehen. In Abbildung 3 sind daher die Pneumokokken der Lanes 1, 2, 4 und 5 verwandt, d.h. sie sind klonalen Ursprungs.

Aufklärung der Epidemiologie von Penicillin-resistenten *Streptococcus pneumoniae*

Die Anwendung von genotypischen Typisierungsmethoden, insbesondere der PFGE, konnten einiges zur Aufklärung der Epidemiologie von Penicillin-resistenten *Streptococcus pneumoniae* beitragen.

In den späten 80-er Jahren traten in Island gehäuft multi-resistente Pneumokokken auf. Interessanterweise gehörten fast alle von ihnen zum Serotyp 6B. Die Vermutung, dass es sich dabei um einen Klon handeln könnte, lag nahe. Im Jahr 1993 konnte Soares [9] durch Anwendung der PFGE auch tatsächlich zeigen,

dass alle Isolate identische Bandenmuster aufwiesen. Ein multi-resistenter Klon war gefunden worden. Weiters konnte gezeigt werden, dass das Bandenmuster der Isolate dem von in Spanien isolierten multi-resistenten Pneumokokken entsprach. Vermutlich war der Pneumokokkus aus Spanien eingeschleppt worden, bevor er sich in Island ausbreitete.

Weiters erschien eine Reihe von Publikationen, die als Hauptmechanismus der Ausbreitung von multi-resistenten Pneumokokken die klonale Verbreitung vermutete [5, 6, 7]. Allerdings basierte die Mehrzahl dieser Arbeiten auf der Methode der Multi-Lokus-Enzym-Elektrophorese, die nach Lefevre [4] auch für manche genetisch nicht in Verbindung stehende Isolate identische Ergebnisse liefern kann. Daher ist die Aussagekraft dieser Arbeiten nicht absolut.

Im Jahr 1996 untersuchte Agnes Ferroni [2] landesweit in Frankreich Penicillin-resistente Pneumokokken mit PFGE und konnte beeindruckend die im Vergleich zu Penicillin-sensiblen Pneumokokken hohe Verwandtschaft zwischen den Isolaten zeigen.

Im selben Jahr analysierte Lucinda M. C. Hall [3] im Vereinigten Königreich vorkommende Pneumokokken. Auch sie konnte Cluster von nahe verwandten Pneumokokken finden. Allerdings zeigte ein Großteil der Penicillin-resistenten Pneumokokken keinen Hinweis auf eine Abstammung von einem gemeinsamen Vorläuferstamm. Karen M. Rudolph konnte in einer Arbeit aus dem Jahr 1998 in Alaska einen Penicillin-resistenten Klon nachweisen [8], die Mehrzahl der Penicillin-resistenten Pneumokokken ließ allerdings auch in ihrer Arbeit keine Verwandtschaft erkennen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die PFGE entscheidend zum momentanen Wissensstand über die Epidemiologie von Penicillin-resistenten Pneumokokken beigetragen hat. Es wurde mit Hilfe dieser Methode nachgewiesen, dass die klonale Ausbreitung von Penicillin-resistenten Pneumokokken tatsächlich vorkommt, ja sogar über so große Distanzen wie zwischen Spanien und Island stattfinden kann, allerdings scheinen andere Mechanismen wie horizontale Ausbreitung von Resistenzgenen oder spontane Mutation eine entscheidendere Rolle zu spielen.

Literatur:

1. Balows A., Hauser W.J., Hermann K.L., Isenberg H.D., Shadony H.J.: „Manual of Clinical Microbiology, 7th Edition.“
2. Ferroni A., Nguyen L., Gehanno P., Boucot I., Berche P.: „Clonal Distribution of Penicillin-Resistant *Streptococcus pneumoniae* 23F in France.“ *J. Clin. Microbiol.* 34 (1996) 2707-2712.
3. Hall L.M.C., Whiley R.A., Duke B., George R.C., Efstratiou A.: „Genetic Relatedness within and between Serotypes of *Streptococcus pneumoniae* from the United Kingdom: Analysis of Multilocus Enzyme Electrophoresis, Pulsed-Field-Gel-Electrophoresis, and Antimicrobial Resistance Patterns.“ *J. Clin. Microbiol.* 34 (1996) 853-859.
4. Lefevre J.C., Faucon G., Sicard A.M., Gasc A. M.: „DNA Fingerprinting of *Streptococcus pneumoniae* Strains by Pulsed-Field-Gel-Electrophoresis.“ *J. Clin. Microbiol.* 31 (1993) 2724-2728.
5. McDougal L.K., Facklam R., Reeves M., Hunter S., Swenson J.M., Hill B.C., Tenover F.C.: „Analysis of Multiply Antimicrobial-Resistant Isolates of *Streptococcus pneumoniae* from the United States.“ *Antimicrob. Agents Chemother.* 36 (1992) 2176-2184.
6. Munoz R., Coffey T.J., Daniels M., Dowson C.G., Laible G., Casal J., Hakenbeck R., Jacobs M., Musser J.M., Spratt B.G., Tomasz A.: „Intercontinental Spread of a Multiresistant Clone of Serotype 23F *Streptococcus pneumoniae*.“ *J. Infect. Dis.* 164 (1991) 302-306.
7. Reichmann P., Varon E., Günther E., Reinerts R.R., Lüttiken R., Marton A., Geslin P., Wagner J., Hakenbeck R.: „Penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in Germany: genetic relationship to clones from other European countries.“ *J. Med. Microbiol.* 43 (1995) 377-385.
8. Rudolph K.M., Parkinson A.J., Roberts M.C.: „Molecular Analysis by Pulsed-Field-Gel-Electrophoresis and Antibigram of *Streptococcus pneumoniae* Serotype 6B Isolates from Selected Areas within the United States.“ *J. Clin. Microbiol.* 36 (1998) 2703-2707.
9. Soares S., Kristinsson K.G., Musser J.M., Tomasz A.: „Evidence for the Introduction of a Multiresistant Clone of Serotype 6B *Streptococcus pneumoniae* from Spain to Iceland in the Late 1980s.“ *J. Infect. Dis.* 168 (1993) 158-163.
10. Schwartz D.C., Cantor C.R.: „Separation of Yeast Chromosome-Sized DNAs by Pulsed Field Gradient Gel Electrophoresis.“ *Cell.* 37 (1984) 67-75.
11. Smith C.L., Cantor C.R.: „Purification, Specific Fragmentation, and Separation of Large DNA Molecules.“ *Methods Enzymol.* 155 (1987) 449-467.
12. Tenover F.C., Arbeit R.D., Goering R.V., Mickelsen P.A., Murray B.E., Persing D.H., Swaminathan B.:

„Interpreting Chromosomal DNA Restriction Patterns Produced by Pulsed-Field-Gel-Electrophoresis: Criteria for Bacterial Strain Typing.“ J. Clin. Microbiol. 33 (1995) 2233-2239.

Anschrift des Verfassers:

Univ.-Prof. DDr. A. Georgopoulos

Univ.-Klinik für Innere Medizin I, Abt. für Infektionen und Chemotherapie

A-1090 Wien, Währinger Gürtel 18-20

[zurück zum Inhalt](#)

Aktivität von Fosfomycin in Kombination mit Ampicillin, Gentamicin, Moxifloxacin, Vancomycin und Teicoplanin gegenüber Enterokokken mittels Bioscreen-C-Analyzer

A. Georgopoulos 1, P. Bezecky 1, A. Buxbaum 2, W. Graninger 1

1 Universitätsklinik für Innere Medizin I, Abteilung für Infektionen und Chemotherapie, AKH Wien
(Vorstand: Univ.-Prof. DDr. W. Graninger)

2 Universitätsklinik für Innere Medizin IV, Abteilung für Pulmologie, AKH Wien
(Vorstand: Univ.-Prof. Dr. L.H. Block)

- **Schlüsselwörter**
 - **Zusammenfassung**
 - **Key-words**
 - **Summary**
 - **Einleitung**
 - **Material und Methode**
 - **Ergebnisse**
 - **Diskussion**
 - **Literatur**
-

Schlüsselwörter:

Fosfomycin, Kombination, Spektrophotometrie

Zusammenfassung

Fünzig Vancomycin-empfindliche und sechs Vancomycin-resistente klinische Enterokokken-Isolate wurden mittels Bouillon-Mikrodilutionsmethode auf ihre Empfindlichkeit gegenüber Fosfomycin, Ampicillin, Piperacillin-Tazobactam, Ceftazidim, Cefpirom, Cefepime, Ceftriaxon, Imipenem, Meropenem, Gentamicin, Vancomycin, Teicoplanin und Moxifloxacin ausgetestet. Fosfomycin MHKs bewegten sich zwischen 16 und 128 µg/ml und zeigten keine Abhängigkeit vom Resistenzmuster der Stämme. Um die Aktivität von Kombinationen von Fosfomycin mit Ampicillin, Gentamicin, Teicoplanin, Vancomycin und Moxifloxacin zu evaluieren, wurden spektrophotometrische Assays mittels des Bioscreen-C-Analyzers, eines automatisierten Turbidometers, durchgeführt. Alle fünf getesteten Antibiotika zeigten in Kombination mit Fosfomycin einen additiven oder synergistischen Effekt bei der Mehrzahl der Stämme. Während dieser Effekt bei Vancomycin, Gentamicin und Moxifloxacin nur schwach ausgeprägt war, zeigte sich eine deutlichere Wirkung bei der Kombination von Fosfomycin und Ampicillin oder Teicoplanin. Die effektivste Kombination war hierbei Fosfomycin und Teicoplanin, die eine synergistische Wirkung bei 44 von 50 Vancomycin-empfindlichen und bei vier von sechs Vancomycin-resistenten Enterokokken erbrachte. Um die Ergebnisse des Bioscreen-C-Analyzers mit einer konventionellen Technik zu vergleichen, wurden zusätzliche Experimente mit der Checkerboard-Technik durchgeführt. Hier zeigte sich durchwegs gute Korrelation bei den zwei Methoden. Es scheint, dass spektrophotometrische Messungen eine wertvolle Methode zur Aktivitätsbeurteilung von Antibiotikakombinationen sein können.

Key-words:

Fosfomycin, combination, spectrophotometry

Summary

Fifty vancomycin-susceptible and six vancomycin-resistant clinical strains of enterococci were tested on their susceptibility to fosfomycin, ampicillin, piperacillin-tazobactam, ceftazidime, cefpirome, cefepime, ceftriaxone, imipenem, meropenem, gentamicin, vancomycin, teicoplanin and moxifloxacin *in vitro* by the broth microdilution method. Fosfomycin MICs ranged from 16 to 128 µg/ml and were not significantly influenced by the antibiotic susceptibility patterns of the strains. The activity of fosfomycin, a phosphonic acid derivative with a broad spectrum of bactericidal activity against gram-positive cocci and several gram-negative bacteria, combined with vancomycin, teicoplanin, moxifloxacin, gentamicin, and ampicillin was studied in kinetic spectrophotometric assays using the automatic turbidometer Bioscreen-C-Analyzer which permits continuous monitoring of bacterial growth. All six antibiotics provided a synergistic or additive effect in combination with fosfomycin against most enterococcal strains. While a weak or moderate beneficial effect was observed with vancomycin, gentamicin and moxifloxacin, a strong effect was demonstrated if fosfomycin was combined with teicoplanin and ampicillin. Fosfomycin and teicoplanin appeared to be the most effective combination and exhibited synergistic activity against 44 of 50 vancomycin-susceptible and four of six vancomycin-resistant strains, respectively. To compare the Bioscreen results with a conventionally used technique, evaluation of antibiotic combinations was performed also by checkerboard titration. Good overall correlation between the spectrophotometric assay and the checkerboard technique could be observed. We conclude that the new approach of spectrophotometric assessment of antimicrobial combinations using the Bioscreen-Analyzer could be a valuable alternative for routine investigations.

Einleitung

Der Einsatz von Antibiotikakombinationen, um eine ausreichende *in vivo*-Aktivität gegenüber einzelnen Antibiotika-resistenten Keimen zu erreichen, ist Gegenstand zahlreicher Studien auf der ganzen Welt. In Zeiten ständig steigender Resistenzraten stellt hier die Behandlung von schweren nosokomialen Infektionen, und insbesondere mit grampositiven Pathogenen wie Methicillin-resistenten Staphylokokken oder multi-resistenten Enterokokken, ein besonderes klinisches Problem dar [1, 2].

Der goldene Standard bei der Therapie von Enterokokken-Infektionen bleibt die synergistisch wirkende Kombination eines Zellwand-aktiven Antibiotikums wie z.B. eines β -Laktames oder eines Glykopeptides mit einem Aminoglykosid [3].

Unverträglichkeitsreaktionen und die zunehmende Anzahl von multi- und hochresistenten Enterokokkenstämmen unterstreichen allerdings die Wichtigkeit der Suche nach neuen Substanzen oder Substanzkombinationen mit Anti-Enterokokken-Aktivität.

In dieser Studie wurde die *in vitro*-Aktivität von Fosfomycin allein und in Kombination bei Vancomycin-empfindlichen und Vancomycin-resistenten klinischen Isolaten von *Enterococcus faecalis* und *Enterococcus faecium* bestimmt. Dazu wurde eine neue spektrophotometrische Methode – der Bioscreen-C-Analyzer, der kinetische Bestimmungen erlaubt – verwendet [4]. Zur Evaluierung dieser Methode wurden ebenfalls Bestimmungen mit der Standardmethode – der Checkerboard-Technik – durchgeführt.

Material und Methode

Bakterienstämme und Medien

56 Enterokokkenstämme (41 Vancomycin-empfindliche *E. faecalis*, sechs Vancomycin-resistente *E. faecalis*, neun *E. faecium*) wurden für die Experimente verwendet. Alle Stämme waren klinische Isolate aus Blut, Urin, Sputum oder BAL; als Referenzstamm wurde *E. faecalis* ATCC 29212 mitgetestet. Als Wachstumsmedium wurde Mueller-Hinton-Bouillon verwendet, für die Fosfomycin-Tests wurde Glucose-6-Phosphat zugegeben.

Antibiotika

Folgende Substanzen wurden getestet: Fosfomycin, Ampicillin, Piperacillin/Tazobactam, Cefpirom, Ceftazidim, Ceftriaxon, Cefipime, Gentamicin, Imipenem, Meropenem, Teicoplanin, Vancomycin und Moxifloxacin. Stammlösungen der Substanzen wurden hergestellt und in flüssigem Stickstoff aufbewahrt. Am Tag des Experimentes wurden die Substanzen aufgetaut und entsprechende Verdünnungen hergestellt.

Minimale Hemmkonzentrationen (MHK)

Die Bestimmung der MHKs erfolgte mittels Bouillon-Mikrodilutionsmethode nach NCCLS-Kriterien [5].

Bestimmung der Aktivität von antibiotischen Kombinationen

Die Aktivität von Kombinationen von Fosfomycin mit Vancomycin, Teicoplanin, Gentamicin, Ampicillin und Moxifloxacin erfolgte nach zwei verschiedenen Methoden:

1) Checkerboard-Technik

Hierbei wurden die sechs Vancomycin-resistenten *E. faecalis*- und fünf Vancomycin-empfindliche *E. faecalis*-Stämme getestet. Bakterielle Kulturen wurden in Mueller-Hinton-Bouillon angelegt und in Gegenwart von Antibiotikakombinationen über Nacht bebrütet. Der fractional inhibitory index (FIC) wurde berechnet und wie folgt angegeben:

additiv:

$$0,5 < FIC_A + FIC_B \leq 1,0$$

indifferent:

$$1,0 < FIC_A + FIC_B \leq 2,0$$

synergistisch:

$$FIC_A + FIC_B \leq 0,5$$

antagonistisch:

$$FIC_A + FIC_B > 2,0$$

2) Bioscreen-C-Analyser

Diese Methode basiert auf turbidometrischen Messungen von bakteriellen Kulturen während der Inkubation mittels eines automatisierten Gerätes, dem Bioscreen-C-Analyser. Hierbei werden serielle Verdünnungen von mit verschiedenen Antibiotika-Konzentrationen inkubierten Bakteriensuspensionen hergestellt und nach Inkubation das bakterielle Wachstum kontinuierlich gemessen. Die Ergebnisse werden als Wachstumskurven und als berechnete Werte dargestellt. Unter Einbeziehung der area under the curve (AUC) können folgende Definitionen erstellt werden [1]:

additiv:

$$AUC_{(A+B)} \pm 10\% = AUC_A \times AUC_B / AUC_0$$

indifferent:

$$AUC_{(A+B)} \pm 10\% = AUC_A \text{ oder } AUC_B$$

synergistisch:

$$AUC_{(A+B)} + 10\% < AUC_A \times AUC_B / AUC_0$$

antagonistisch:

$$AUC_{(A+B)} - 10\% > AUC_A \text{ oder } AUC_B$$

AUC_0 , AUC_A , AUC_B , und $AUC_{(A+B)}$ stellen die AUC_{0-16} Werte dar, die ohne Antibiotikum (AUC_0), mit Antibiotikum A (AUC_A), Antibiotikum B (AUC_B) oder mit den Antibiotika A und B ($AUC_{(A+B)}$) erzielt wurden.

Ergebnisse

MHK

Die Ergebnisse der MHK-Bestimmungen der getesteten Antibiotika sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Neun Stämme waren Fosfomycin-empfindlich (MHK $\leq 32 \mu\text{g/ml}$), 32 Stämme intermediär-empfindlich (MHK = $64 \mu\text{g/ml}$) und neun Stämme resistent (MHK $\geq 128 \mu\text{g/ml}$). In der Gruppe der β -Laktame zeigte sich Ampicillin als die wirksamste Substanz. Drei Enterokokkenstämme waren multi-resistent, wobei sich jedoch keine Korrelation zwischen Resistenz gegenüber Fosfomycin und den anderen getesteten Antibiotika zeigte.

Tabelle 1: MKH-Werte der getesteten Substanzen gegenüber klinischen Enterokokkenisolaten

Substanz	Breakpoints ($\mu\text{g/ml}$)		<i>E. faecalis</i> (n=41)			<i>E. faecium</i> (n=9)		
	S	R	S	I	R	S	I	R
Fosfomycin	≤ 32	≥ 128	9	25	7	0	7	2
Ampicillin	≤ 8	≥ 16	40	0	1	3	0	6
Piperacillin/Tazo.	$\leq 8/4$	$\geq 16/4$	37	0	4	2	0	7
Ceftazidim	≤ 8	≥ 32	1	3	37	1	0	8
Cefpirom	≤ 8	≥ 32	3	20	18	1	1	7
Cefipime	≤ 8	≥ 32	3	1	37	0	1	8
Ceftriaxon	≤ 8	≥ 64	5	0	36	1	0	8
Imipenem	≤ 4	≥ 16	37	0	4	2	0	7
Meropenem	≤ 4	≥ 16	23	14	4	2	0	7
Gentamicin	≤ 256	≥ 512	32	0	9	6	0	3
Moxifloxacin	≤ 2	≥ 8	32	1	8	2	2	5
Vancomycin	≤ 4	≥ 32	40	1	0	9	0	0
Teicoplanin	≤ 8	≥ 32	41	0	0	9	0	0

Aktivität der Antibiotika-Kombinationen

Die Ergebnisse des Bioscreen-C-Analyzers sind in den Tabellen 2 und 3 und den Abbildungen 1 und 2 dargestellt. Alle sechs Substanzen zeigten in Kombination mit Fosfomycin einen additiven oder synergistischen Effekt. Als wirksamste Kombination erwies sich hierbei Fosfomycin und Teicoplanin mit einem synergistischen Effekt bei 44 von 50 Isolaten.

Tabelle 2: Aktivität von Fosfomycin in Kombination bei Vancomycin-empfindlichen *E. faecalis* (A, n=41) und *E. faecium* (B, n=9)

Effekt	F + VAN		F + TEC		F + GEN		F + MOX		F + AMP	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
synergistisch	25	1	37	7	24	1	27	3	32	7
additiv	0	0	0	1	7	1	5	1	3	0
indifferent	16	8	4	1	10	6	9	5	6	2
antagonistisch	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0

F = Fosfomycin, VAN = Vancomycin, TEC = Teicoplanin, GEN = Gentamicin, MOX = Moxifloxacin, AMP = Ampicillin

Tabelle 3: MHKs der getesteten Substanzen und Aktivität der Antibiotika-Kombinationen bei Vancomycin-resistenten Enterokokken

	MHK (µg/ml)						Effekt der Kombination				
	F	VAN	TEC	GEN	MOX	AMP	F+VAN	F+TEC	F+GEN	F+MOX	F+AMP
VREF 34	64	256	64	256	16	2	A	S	S	I	A
VREF 219	32	256	16	256	8	2	S	S	I	A	A
VREF 277	32	256	32	16	0,25	2	I	A	A	I	S
VREF 293	32	256	64	256	16	2	A	S	A	I	I
VREF 294	64	256	64	256	8	2	A	A	A	S	S
VREF 304	64	256	128	256	16	1	S	S	S	S	A

F = Fosfomycin, VAN = Vancomycin, TEC = Teicoplanin, GEN = Gentamicin, MOX = Moxifloxacin, AMP = Ampicillin A = additiv, I = indifferent, S = synergistisch

Abbildung 1: Aktivität von Fosfomycin in Kombination mit Teicoplanin: Bioscreen-Analyse

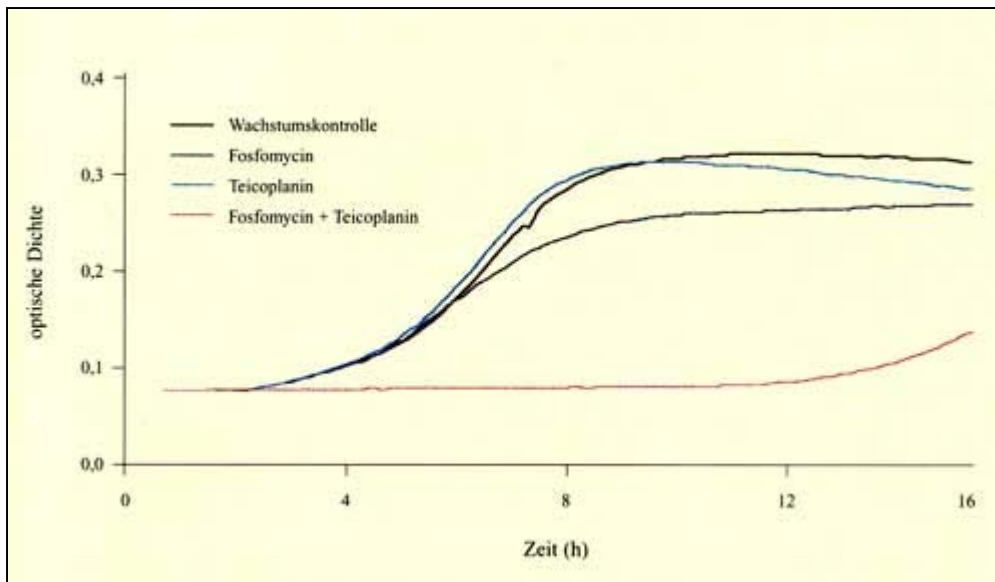
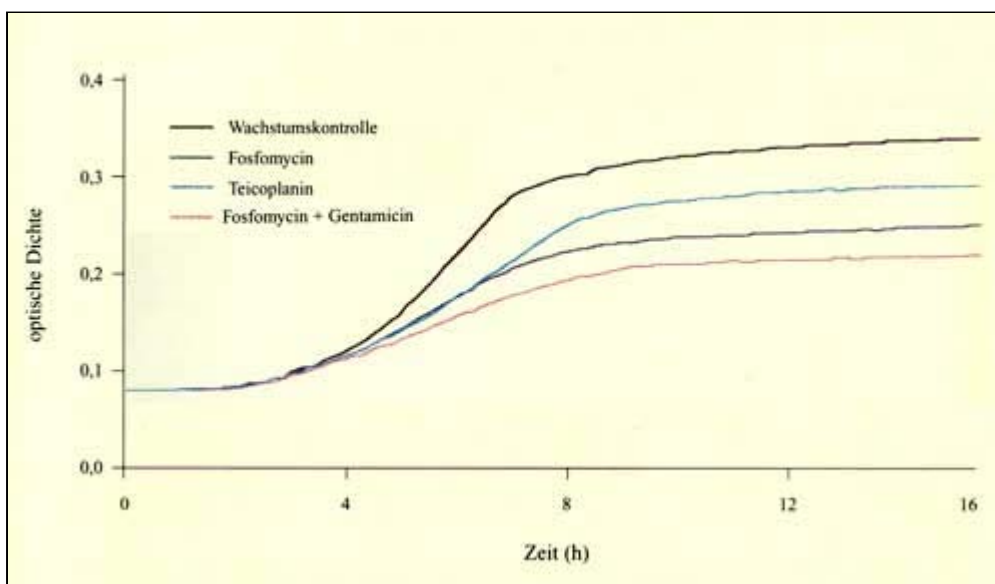


Abbildung 2: Aktivität von Fosfomycin in Kombination mit Gentamicin: Bioscreen-Analyse



Vergleich von Checkerboard-Technik und Bioscreen-C-Analyser

Bei 72 Tests wurden 50 übereinstimmende und 22 abweichende Ergebnisse erzielt. Die 22 divergierenden Ergebnisse zeigten im Checkerboard: 19 x additiv (Bioscreen: 10 synergistisch, 9 indifferent), 2 x indifferent (Bioscreen: additiv) und 1 x synergistisch (Bioscreen: additiv). Insgesamt konnte eine gute Korrelation erreicht werden.

Diskussion

Die Ziele dieser Studie waren zweifach: i) die Suche nach der antibiotischen Kombination mit der größten Anti-Enterokokken-Aktivität ii) die Evaluierung des kinetischen Bioscreen-Assays als Routine-Screening-Methode.

Die Bestimmung des FIC mit der Checkerboard-Methode hat Nachteile:

sie ist zeit- und materialaufwändig und liefert keine kinetischen Ergebnisse (Wachstum der bakteriellen Kultur über die Zeit). Damit ist die Grundvoraussetzung für die Anwendung dieser Methode das Vorliegen einer linearen Dosis-Wirkungs-Kurve für jede einzelne Substanz. Im Gegensatz dazu liefert eine spektrophotometrische Methode wie der Bioscreen-Assay eine ständige Aufzeichnung des bakteriellen Wachstums. In einem Ansatz können 200 Proben (mit verschiedenen Antibiotika) gemessen werden. Für diese Studie wurde der Berechnung des FIC die AUC₀₋₁₆ zugrunde gelegt. Damit wurde dem Problem Rechnung getragen, dass durch eine längere Inkubationszeit sowohl die verzögerte antimikrobielle Wirkung von Substanzen wie Ampicillin berücksichtigt wird, als auch eine Unterscheidung zwischen einer lag Phase durch Wachstumsinhibition und dem bakteriellen Killing ermöglicht wird [4].

Es erwies sich der Bioscreen-Assay als durchaus taugliche Methode für das rasche Screening von antibiotischen Kombinationen in der Routine. Der Vergleich mit den Ergebnissen der Checkerboard-Methode zeigte eine gute Korrelation. Divergierende Ergebnisse sind auf unterschiedliche Definitionen der beiden Methoden zurückzuführen (additiv: Summe der Resultate der einzelnen Substanzen im Checkerboard vs. kombinierte Aktivität der einzelnen Substanzen im Bioscreen-Assay).

Einige Autoren beschäftigten sich mit der Interaktion von Fosfomycin mit anderen Zellwand-aktiven Substanzen. Hierbei zeigte sich nur eine geringe Kreuzresistenz zwischen Fosfomycin und anderen Substanzklassen wie β -Laktamen oder Aminoglykosiden [6, 7, 8]. Ebenso wurden synergistische Effekte von Fosfomycin und β -Laktamen und Fosfomycin und Daptomycin gegenüber Enterokokken beobachtet. In dieser Studie lagen die MHK₅₀ und MHK₉₀ der getesteten Enterokokkenisolate bei 64 und 128 $\mu\text{g/ml}$; weiters zeigte sich kein Zusammenhang zwischen Resistenz gegenüber Fosfomycin und Resistenz gegenüber den anderen Substanzen [9, 10]. Als am wirksamsten erwies sich die Kombination von Fosfomycin mit Teicoplanin oder Ampicillin, unabhängig vom Resistenzmuster der einzelnen Stämme [8, 9, 11]. Diese Kombinationen scheinen den Kombinationen von Fosfomycin und Aminoglykosid oder Quinolon deutlich überlegen zu sein. Aus diesem Grunde sollte die Kombination von Fosfomycin mit Teicoplanin oder einem β -Laktam wie Ampicillin als Therapiealternative bei der Behandlung von schweren Enterokokkeninfektionen in klinischen Prüfungen evaluiert werden.

Literatur:

1. Eliopoulos G.M., Moellering Jr. R.C.: „Antimicrobial combinations.“ In *Antibiotics in laboratory medicine*, 3rd edn. (Lorian, V., Ed.) The Williams & Wilkins Co., Baltimore, Md. (1992) 432-92.
2. Eliopoulos G.M.: „Increasing problems in the therapy of enterococcal infections.“ *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 12 (1993) 409-12.
3. Pestel M., Martin E., Aucouturier C., Lemeland J.-F., Caron F.: „In vitro interactions between different β -lactam antibiotics and fosfomycin against bloodstream isolates of enterococci.“ *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 39 (1995) 2341-4.
4. King T.C., Krogstad D.J.: „Spectrophotometric assessment of dose-response curves for single antimicrobial agents and antimicrobial combinations.“ *Journal of* (1983).
5. National Committee for Clinical Laboratory Standards. „Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically – Second Edition: Approved standard M7-A3.“ NCCLS, Villanova, PA (1993).
6. Grossato A., Sartori R., Fontana R.: „Effect of non- β -lactam antibiotics on penicillin-binding protein synthesis of *Enterococcus hirae* ATCC 9790.“ *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 27 (1991) 263-71.
7. Debbia E., Varaldo P.E., Schito G.C.: „In vitro activity of imipenem against enterococci and staphylococci and evidence for high rates of synergism with teicoplanin, fosfomycin and rifampicin.“ *Antimicrobial Agents*

and Chemotherapy 30 (1986) 813-5.

8. Rice L.B., Eliopoulos G.M., Moellering Jr. R.C.: „In vitro synergism between daptomycin and fosfomycin against *Enterococcus faecalis* isolates with high-level gentamicin resistance.“ *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 33 (1989) 470-3.

9. Dembry L.M., Farrel P.A., Orcutt D.R., Gerrity L.A., Andriole V.T.: „In vitro activity of trovafloxacin against sensitive and resistant aerobic bacteria using the standard microdilution broth method and the Etest.“ *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 39, Suppl. B (1997) 35-42.

10. Visalli M.A., Bajaksouzian S., Jacobs M.R., Appelbaum P.C.: „Synergistic activity of trovafloxacin with other agents against gram-positive and -negative organisms.“ *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases* 30 (1998) 61-4.

11. Greenwood D., Edwards R., Brown J., Ridout P.: „The comparative activity of fosfomycin trometamol against organisms isolated from infected urines.“ *Infection* 20, Suppl. 4 (1992) 302-4.

Anschrift des Verfassers:

Univ.-Prof. DDr. A. Georgopoulos

Univ.-Klinik für Innere Medizin I, Abt. für Infektionen und Chemotherapie

A-1090 Wien, Währinger Gürtel 18-20

[zurück zum Inhalt](#)