

Bakterielle Resistenz gegenüber Chinolonen (Ciprofloxacin)

Bernd Wiedemann und Peter Heisig, Bonn

Mit Ciprofloxacin steht seit über 10 Jahren einer der wirksamsten Vertreter der Fluorchinolon-Antibiotika für die Behandlung einer Vielzahl von Erregern zur Verfügung. Seit einigen Jahren mehren sich die Berichte über eine Resistenzzunahme, auch bei bislang sehr empfindlichen Organismen, wie *Escherichia coli*. Ziel dieser Übersicht ist es, Mechanismen der Wirkung, der Resistenz sowie der Epidemiologie für die Fluorchinolone zusammenzufassen.
Schlüsselwörter: Chinolone, Resistenz, Epidemiologie

For more than 10 years ciprofloxacin, one of the most potent fluoroquinolone antibiotics, has been successfully used for the treatment of numerous pathogens. Since the mid-90es accumulated data indicate an increase in resistance, even in previously highly sensitive species like Escherichia coli. This review aims at summarizing available data on mechanisms of action, resistance, and epidemiology.
Keywords: Quinolones, resistance, epidemiology

Chinolone, eine Gruppe von Antibiotika

Infektionskrankheiten gehören zu den wenigen Erkrankungen, die kausal therapiert werden können. Zur Therapie bakterieller Infektionen werden Antibiotika eingesetzt, niedermolekulare Stoffe mit einer antibakteriellen Wirkung. Zu diesen zählt man auch die Chinolone und abgeleitete Derivate (Naphthyridone), bei denen es sich anders als bei den meisten anderen Substanzklassen um synthetische Verbindungen handelt. Beide Substanzgruppen werden nachfolgend als 4-Chinolone bezeichnet, sie lassen sich nicht von einer natürlich vorkommenden Struktur ableiten. *Nalidixinsäure* als ers-

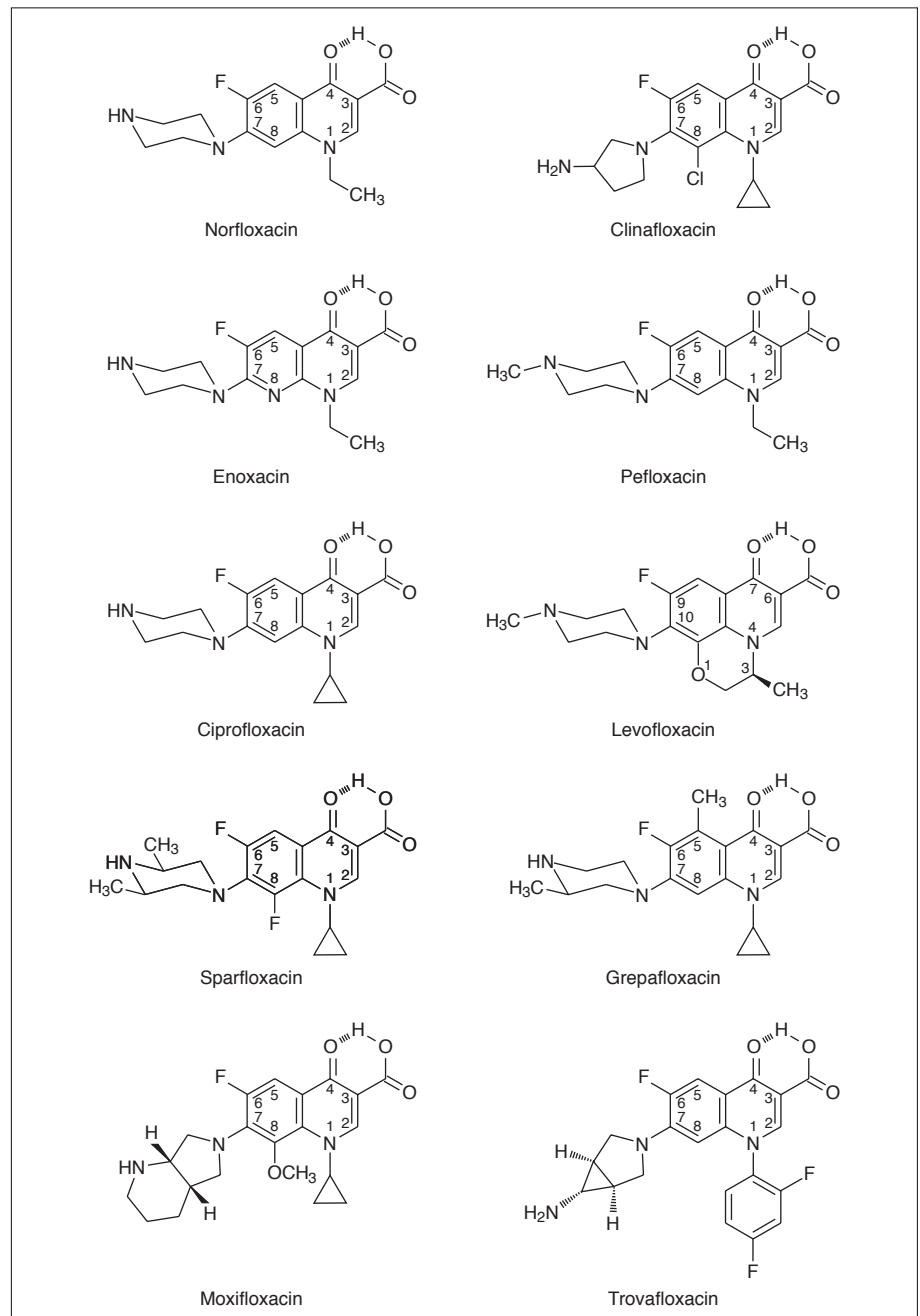


Abb. 1. Strukturformeln verschiedener Fluorchinolone

ter Vertreter dieser Substanzklasse ist als Nebenprodukt der Synthese des Malaria-mittels Chloroquin entstanden. Nalidixinsäure zeigt eine gute bakterizide

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Bernd Wiedemann, Pharmazeutische Mikrobiologie, Universität Bonn, Meckenheimer Allee 168, 53115 Bonn

Tab. 1. Einteilung der Fluorchinolone nach Gruppen (Auflistung innerhalb einer Gruppe nach aufsteigender In-vitro-Aktivität [MHK] [16])

I. Orale Fluorchinolone mit im Wesentlichen auf Harnwegsinfektionen eingeschränkter Indikation (D)	Norfloxacin Pefloxacin
II. Systemisch anwendbare Fluorchinolone mit breiter Indikation	Enoxacin Fleroxacin Ofloxacin Ciprofloxacin
III. Fluorchinolone mit verbesserter Aktivität gegen grampositive und „atypische“ Erreger	Levofloxacin Sparfloxacin Grepafloxacin
IV. Fluorchinolone mit verbesserter Aktivität gegen grampositive und „atypische“ Erreger sowie gegen Anaerobier	Gatifloxacin* Trovafloxacin Moxifloxacin* Clinafloxacin*

*Substanzen, die sich noch in klinischer Prüfung (Phase III) befinden bzw. zur Zulassung eingereicht sind

Wirkung gegenüber den gramnegativen Enterobakterien und wurde zur Behandlung von akuten und chronischen Harnwegsinfektionen 1962 in Deutschland in den Markt eingeführt [13]. Das enge Spektrum der erfassten Erreger, die ungünstigen pharmakokinetischen Eigenschaften und das schnelle Auftreten resistenter Stämme unter der Therapie begrenzten den therapeutischen Einsatz der Nalidixinsäure. Mit der Pipemidsäure konnte durch die Einführung eines Piperazinrestes in Position C7 das Wirkungsspektrum auf *Pseudomonas aeruginosa* ausgedehnt werden [20]. Den entscheidenden Fortschritt für die Substanzklasse der 4-Chinolone erbrachte die zusätz-

liche Fluorierung in C6-Position der Chinolon-Grundstruktur, was mit *Norfloxacin* (1978) die Ausgangssubstanz der modernen 4-Chinolone, die als *Fluorchinolone* bezeichnet werden, lieferte. Weitere Fluorchinolone wie Ofloxacin (1985), Ciprofloxacin (1987), Sparfloxacin (1996), Grepafloxacin (1997), Trovafloxacin (1998) und Levofloxacin (1998) kamen in den folgenden Jahren in Deutschland in den Handel (Abb. 1).

Einteilung der Fluorchinolone

Die Vertreter der Gruppe der 4-Chinolone sind zwar im Wirkungsmechanismus alle ähnlich, sie unterscheiden sich je-

doch in ihrer antibakteriellen Aktivität, ihrer Pharmakokinetik und ihrer klinischen Wirksamkeit. Auch die Verträglichkeit und die Interaktionen sind verschieden. Um dem Arzt die Auswahl der Chinolone für bestimmte Infektionen zu erleichtern, wurde von der Paul-Ehrlich-Gesellschaft eine Einteilung der Fluorchinolone vorgeschlagen (Tab. 1) [16]. Hierbei sind die nicht-fluorierten Chinolone nicht aufgenommen, da ihre antibakterielle Aktivität sich gravierend von den fluorierten Chinolonen unterscheidet. Es ist wichtig zu vermerken, dass in der Tabelle die Substanzen innerhalb einer Gruppe nach aufsteigender In-vitro-Aktivität (MHK) im Zusammenhang mit ihren Hauptindikationen aufgeführt sind. Zwischen den Gruppen bestehen natürlich fließende Übergänge, was besonders bei Ofloxacin und Levofloxacin deutlich wird. Mit der Gruppeneinteilung ist keine Wertung in dem Sinne verbunden, dass Substanzen der Gruppe IV besser wären als zum Beispiel die der Gruppe II.

Wirkungsmechanismus der Chinolone

4-Chinolone wirken bakterizid (Abb. 2) [7]. Erste Hinweise, dass diese Substanzen auf die DNS-Synthese von *E. coli* einwirken, wurden bereits von Cook und Mitarbeitern 1965 publiziert (Abb. 3) [8]. Aber erst die Untersuchungen der Arbeitsgruppen von Gellert und Cozzarelli haben zeigen können, dass das bakterielle Enzym DNS-Gyrase eine Zielstruktur der Chinolone ist (Abb. 4) [3]. Die Gyrase gehört zu den so genannten *Topoisomerasen*, Enzymen, die nicht nur in Bak-

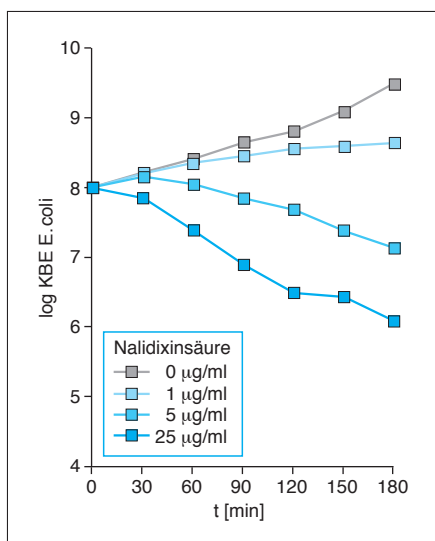


Abb. 2. Bakterizide Wirkung von Nalidixinsäure [7]

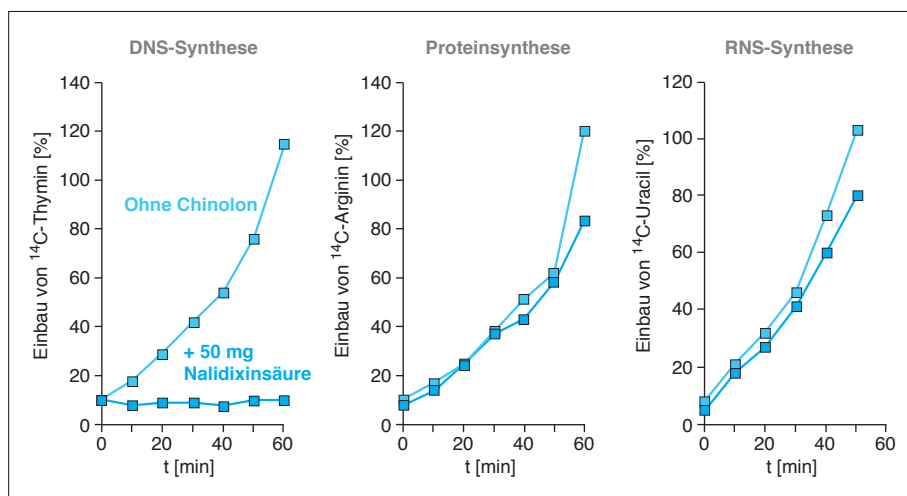


Abb. 3. Hemmung der DNS-Synthese durch Chinolone [8]

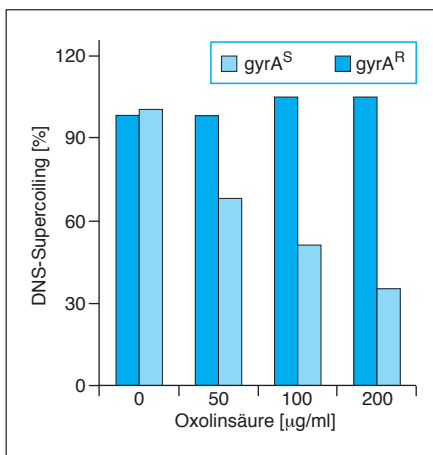


Abb. 4. Hemmung der Gyrase durch Chinolone [3]

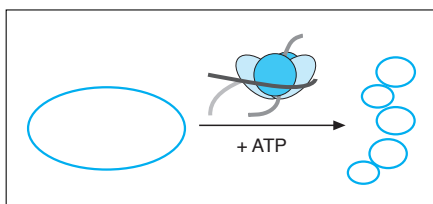


Abb. 5. Funktion der DNS-Gyrase: Überspiralisierung der DNS

terien, sondern auch in höheren Organismen vorkommen und für die räumliche Anordnung der Nucleinsäuren in der Zelle verantwortlich sind. Es gibt zwei unterschiedliche Typen von Topoisomerasen: Typ-I-Enzyme, die nur einen Strang des doppelsträngigen DNS-Moleküls vorübergehend durchtrennen, verändern dadurch energieunabhängig die Topologie, so dass die so genannte relaxierte Form entsteht. Die Typ-II-Enzyme führen einen Doppelstrangbruch durch. Als einziges Enzym dieses Typs (II) hat die DNS-Gyrase die einzigartige Fähigkeit, ein ringförmig geschlossenes DNS-Molekül, wie das bakterielle Chromosom oder bakterielle Plasmide, aus dem energiearmen, relaxierten Zustand unter Verbrauch von ATP in einen energiereicheren negativ überspiralisierten Zustand zu überführen (Abb. 5). Dazu wird nach dem Aufschneiden des Doppelstranges ein anderes Segment des DNS-Stranges durch die Öffnung hindurchgeführt, die Öffnung wieder verschlossen und damit die Zahl der Windungen der DNS-Stränge umeinander um zwei reduziert.

Der genaue Bindungsort der Chinolone ist zwar noch nicht identifiziert, doch liegen viele Hinweise dafür vor, dass die Chinolone nur schwach und unspezifisch an reine DNS binden. Eine spezifische

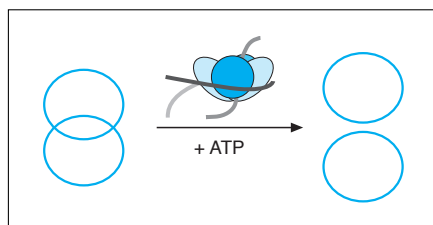


Abb. 6. Funktion der Topoisomerase IV: Dekatenierung verknüpfter DNS-Ringe als Voraussetzung für die Zellteilung

Bindung findet nur an dem DNS-Enzymkomplex statt, so dass ein ternärer Komplex aus DNS, Gyrase und Chinolonen entsteht. Dieser Komplex ist relativ stabil, er verhindert die weiteren Reaktionen der Nucleinsäuren,

1. weil über diesen Komplex die Information der DNS nicht mehr abgelesen werden kann,
2. aber auch eine Vermehrung der DNS nicht mehr stattfinden kann, da die Polymerasen als notwendige Replikationsenzyme über diesen Komplex nicht hinweglesen können. Gleichzeitig „versucht“ die Bakterienzelle diesen „Defekt“ durch Anschalten von Reparaturmechanismen zu beseitigen. Aufgrund der Stabilität des Komplexes kann diese Reparatur aber nicht vollzogen werden. Dadurch werden Kaskaden enzymatischer Reaktionen ausgelöst, wie zum Beispiel die so genannte SOS-Antwort, welche für den Zelltod verantwortlich ist.

Während das primäre Ziel der Chinolone bei Escherichia coli und anderen gramnegativen Bakterien die Gyrase ist, stellt bei grampositiven Bakterien eine andere Typ-II-Topoisomerase, die Topoisomerase IV die primäre Zielstruktur für die meisten Chinolone dar. Dieses Enzym ist dafür notwendig, die replizier-

ten Tochterchromosomen, die wie Kettenglieder miteinander verknüpft sind, voneinander zu trennen (Abb. 6). Wenn diese so genannte Dekatenierung durch Chinolone verhindert wird, kommt es nicht zur Verteilung der Chromosomen in die beiden Tochterzellen. Dabei bilden Chinolone mit DNS und Topoisomerase IV ebenfalls einen ternären Komplex. Dieser verhindert die weitere Vermehrung der Bakterienzellen.

Welcher DNS-Enzymkomplex das empfindlichere Ziel darstellt und daher mit höherer Affinität von einem Chinolon gebunden wird, hängt einerseits von der chemischen Struktur des jeweiligen Chinolons und andererseits von den strukturellen Eigenschaften des Enzyms einer Spezies ab. Bei Escherichia coli und den übrigen Enterobakterien wird durch Ciprofloxacin bevorzugt die Gyrase gehemmt. Erst bei viel höheren Konzentrationen kann auch die Topoisomerase IV gebunden werden. Bei grampositiven Bakterien ist dieses oft umgekehrt, d. h. aufgrund der höheren Affinität binden die Chinolone zunächst an den DNS-Topoisomerase-IV-Komplex und dann an den DNS-Gyrase-Komplex. Gute Hemmstoffe der Gyrase bei einer Spezies sind daher nicht automatisch gute Hemmstoffe der Topoisomerase IV bei dieser Spezies.

Wirkungsspektrum und In-vitro-Aktivität von Ciprofloxacin

Die Aktivität eines Antibiotikums wird üblicherweise durch Angabe der minimalen Hemmkonzentration belegt. Dies ist

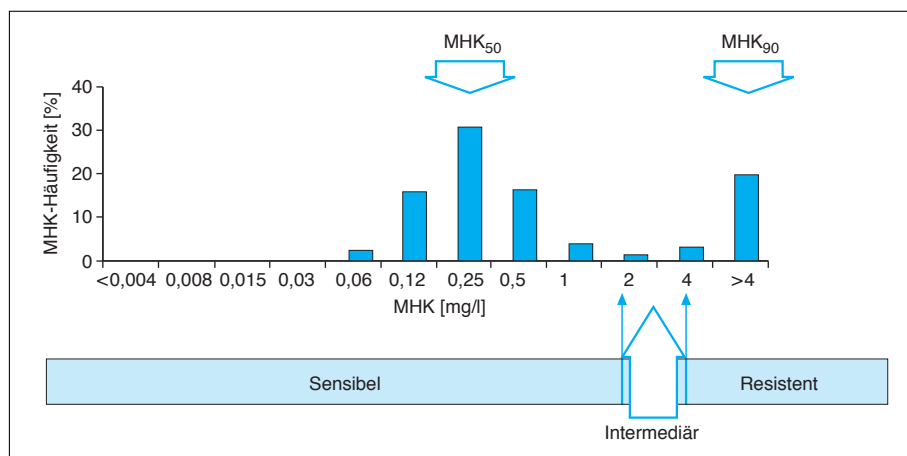


Abb. 7. Häufigkeitsverteilung der MHK-Werte von Ciprofloxacin für Staphylococcus aureus

Tab. 2. Wirkungsspektrum von Ciprofloxacin

Spezies	MHK-Bereich [mg/l]	MHK ₅₀ [mg/l]	Resistente Stämme [%]	Quelle
Natürlich sensibel				
<i>Grampositive Aerobier</i>				
Mycobacterium fortuitum	< 0,03–1	0,06	1)	[29]
Peptococcus spp.	0,25–0,5	0,5	1)	[29]
Peptostreptococcus spp.	0,12–8	0,5	1)	[29]
Staphylococcus aureus, Methicillin-sensibel	0,01–16	0,5	3	[9]
Staphylococcus epidermidis	≤ 0,063–≥ 8	1	45	[11]
Staphylococcus aureus (Methicillin-resistent)	0,06–> 16	0,25	1)	[29]
Staphylococcus aureus (Methicillin-resistent)	0,01–16	16	81	[21]
<i>Gramnegative Aerobier</i>				
Acinetobacter baumannii	0,01–16	0,25	10,6	[18]
Aeromonas spp.	0,001–0,5	0,002	1)	[29]
Brucella melitensis	0,12–1	0,25	1)	[29]
Campylobacter spp.	0,06–5	0,12	1)	[29]
Citrobacter freundii	0,01–2	0,03	0	[27]
Edwardsiella tarda	≤ 0,06	≤ 0,06	1)	[2]
Enterobacter aerogenes	0,01–1	0,03	0	[21]
Enterobacter aerogenes	0,008–≥ 8	0,03	1)	[1, 29]
Enterobacter cloacae	≤ 0,063–≥ 8	≤ 0,063	1,1	[11]
Escherichia coli	0,01–16	0,03	8	[21]
Escherichia coli	≤ 0,063–≥ 8	≤ 0,063	5,8	[11]
Haemophilus influenzae (inkl. Beta-Lactam-res. Stämme)	0,001–2	0,015	0	[19]
Haemophilus parainfluenzae	0,002–0,016	0,004	1)	[1]
Hafnia alvei	0,004–1	0,008	1)	[29]
Klebsiella oxytoca	0,01–16	0,03	3	[21]
Klebsiella oxytoca	0,002–≥ 8	0,016	1)	[1, 29]
Klebsiella pneumoniae	≤ 0,063–≥ 8	≤ 0,063	4,2	[11]
Legionella spp.	0,06–0,5	0,25	1)	[29]
Moraxella catarrhalis	0,03–0,13	0,06	0	[21]
Moraxella catarrhalis (inkl. Beta-Lactam-res. Stämme)	0,004–0,5	0,03	0	[19]
Morganella morganii	0,01–16	0,03	2	[27]
Neisseria gonorrhoeae (inkl. Beta-Lactam-res. Stämme)	≤ 0,015–0,25	0,002	1)	[29]
Neisseria meningitidis	0,004–0,015	0,008	1)	[29]
Pasteurella multocida	0,002–≤ 0,3	≤ 0,015	1)	[4–6, 26]
Pleisiomonas shigelloides	0,008	0,008	1)	[29]
Proteus mirabilis	0,02–2	0,06	1	[21]
Proteus mirabilis	≤ 0,063–≥ 8	≤ 0,063	2,3	[11]
Proteus vulgaris	0,01–16	0,03	4	[27]
Providencia rettgeri	0,008–> 8	0,03	1)	[29]
Providencia stuartii	0,008–> 8	0,25	1)	[29]
Pseudomonas aeruginosa	≤ 0,063–≥ 8	0,25	11,7	[11]
Salmonella spp.	≤ 0,008–0,25	0,015	1)	[29]
Serratia liquefaciens	0,01–16	0,13	10	[21]
Serratia liquefaciens	0,008–16	0,03	1)	[6, 29]
Serratia marcescens	0,02–16	0,13	23	[9]

die Konzentration, die gerade in der Lage ist, ein sichtbares Wachstum (sichtbar in Form von Trübung) zu unterdrücken. Die minimalen Hemmkonzentrationen werden tabellarisch in Form der MHK₅₀-, MHK₉₀-Werte und dem Bereich der MHK angegeben. Dieses Verfahren hat den Nachteil, dass die MHK₉₀-Werte eine Mischung aus Resistenzhäufigkeit und Aktivität darstellen, denn wenn mehr als 10 % der Bakterienstämme resistent sind, kann die MHK₉₀ sprunghaft von extrem niedrigen auf extrem hohe Werte ansteigen. Wie hoch dann aber die Resistenz ist, sagt der MHK₉₀-Wert nicht aus, und wie gut die Wirksamkeit auf empfindliche Populationen ist, sagt die MHK₉₀ ebenfalls nicht aus. Es ist daher viel sinnvoller, sich die natürliche Verteilung der MHK-Werte für eine Population anzusehen, um die tatsächliche Aktivität genau zu beschreiben. Darüber hinaus sollte die Zahl der resistenten Stämme gesondert dargestellt und deren MHK bestimmt werden. In den meisten Fällen gibt die MHK₅₀ die tatsächliche Aktivität an, während die MHK₉₀ nur andeuten kann, ob bereits mehr als 10 % resistente Stämme in einem Kollektiv vorhanden sind.

Das Prinzip ist am Beispiel der MHK-Verteilung von Ciprofloxacin bei Staphylococcus aureus gezeigt (Abb. 7). Es lässt sich erkennen, dass Staphylococcus aureus zu den natürlich sensiblen Bakterien für Ciprofloxacin gehört. Die natürliche Verteilung kumuliert bei 0,25 µg/ml, was der MHK₅₀ entspricht. Die Breite dieser Population, die von 0,03 bis 2 µg/ml reicht, wird durch die Fehlerbreite in der MHK-Bestimmung und gleichzeitig durch die biologische Variabilität der Erreger bestimmt. Solche Bakterien, die durch Mutation resistent geworden sind, erscheinen deutlich abgetrennt in einer anderen Population im Bereich „resistent“ mit MHK-Werten von > 4 µg/ml (s. u.).

Tabelle 2 ist in entsprechender Weise aufgebaut, so dass die natürlich sensiblen Stämme (Grenzwert < 1 µg/ml) in der ersten Gruppe auftreten, die natürlich intermediären in der zweiten Gruppe und die natürlich resistenten, bei denen die normale Population MHK-Werte aufweist, die über dem Grenzwert für Resistenz > 4 µg/ml liegen.

Bei dieser Auflistung muss man berücksichtigen, dass Schwächen in der MHK-Bestimmung die Einordnung der Organismen oft erschweren: Einerseits gibt es für viele Bakterien keine einheit-

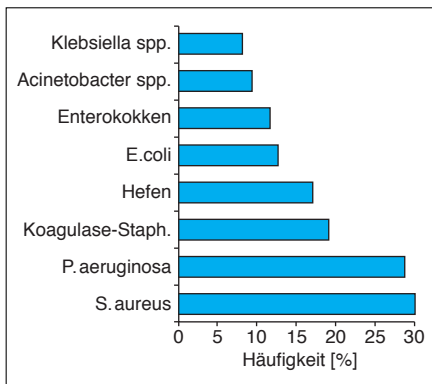


Abb. 8. Häufige Erreger bei Infektionen auf Intensivstationen [22]

lichen Vorschriften für die Durchführung der Testung, so dass verschiedene Autoren zu sehr unterschiedlichen Ergebnissen kommen, wodurch manche Organismen als grenzwertig bezeichnet werden, wie zum Beispiel Listerien und *Ureaplasma urealyticum*. Die Zuordnung von *S. pneumoniae* ist ebenfalls diskussionswürdig, da die MHK-Werte für Stämme dieser Spezies mit 0,5 bis 2 µg/ml am Grenzwert zu „intermediär“ liegen. Das Gleiche gilt für Streptokokken der Gruppen A und B sowie für Viridans-Streptokokken und Enterokokken, die ebenfalls als „intermediär“ eingestuft werden.

Das Wirkungsspektrum von Ciprofloxacin ist *extrem breit*. Üblicherweise werden viele Mikroorganismen aufgelistet, ohne dabei anzugeben, wie häufig sie Infektionen verursachen. Insbesondere im Hinblick auf die Entwicklung der Resistenz sind aber nur bestimmte Organismen von Wichtigkeit, denn die therapeutisch kritischen Situationen treten am ehesten in Intensivstationen auf, da dort das Keimspektrum vor allem kritische Infektionserreger umfasst. Dies sind *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, Koagulase-negative Staphylokokken, *Escherichia coli*, Enterokokken, *Acinetobacter* und *Klebsiella pneumoniae* (Abb. 8). Mit Ausnahme von *Enterococcus faecalis* und Koagulase-negativen Staphylokokken, deren natürliche Empfindlichkeiten als intermediär für Ciprofloxacin eingestuft werden, sind es die Organismen, welche natürlicherweise sensibel für Ciprofloxacin sind, an denen man erkennen kann, dass eine Resistenzentwicklung stattfindet. Bei diesen empfindlichen Erregern können Fluorchinolone aufgrund von Resistenzentwicklung möglicherweise an Wirksamkeit verlieren.

Tab. 2. Wirkungsspektrum von Ciprofloxacin (Fortsetzung)

Spezies	MHK-Bereich [mg/l]	MHK ₅₀ [mg/l]	Resistente Stämme [%]	Quelle
<i>Shigella</i> spp.	≤ 0,008–0,03	0,008	1)	[29]
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0,01–8	n.v.	5	[17]
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0,01–8	1	3	[21]
<i>Vibrio</i> spp.	0,004–0,12	0,004/0,06	1)	[29]
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0,008–0,25	0,015	1)	[29]
<i>Sonstige Erreger</i>				
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	0,016–0,06	0,03	1)	[29]
Natürlich intermediär				
<i>Grampositive Aerobier</i>				
<i>Corynebacterium</i> spp.	0,03–>16	8	1)	[29]
<i>Enterococcus faecalis</i>	≤ 0,063–≥ 8	2	34,5	[11]
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0,25–16	2	39	[21]
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1–16	2	17	[28]
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0,25–2	0,5	0	[24]
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0,25–16	1	23	[21]
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0,015–8	0,5	27,7	[19]
Viridans-Streptokokken	< 0,06–4	1	1)	[29]
<i>Gramnegative Aerobier</i>				
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,25–2	0,5	1)	[29]
<i>Listeria</i> spp.	1–2	1	1)	[1]
<i>Nocardia asteroides</i>	0,12–16	2	1)	[29]
<i>Anaerobier</i>				
<i>Gardnerella vaginalis</i>	0,5–2	1	1)	[29]
<i>Sonstige Erreger</i>				
<i>Chlamydia</i> spp.	0,5–2	1	1)	[29]
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	0,25–2	0,5	1)	[29]
<i>Mycoplasma hominis</i>	0,5–4	1	15,8	[25]
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	≤ 0,03–4	2	10,7	[25]
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	0,5–≥ 64	16	1)	[29]
Natürlich resistent				
<i>Grampositive Aerobier</i>				
<i>Enterococcus faecium</i>	0,5–16	4		[21]
<i>Enterococcus faecium</i>	0,5–8	4	1)	[29]
<i>Gramnegative Aerobier</i>				
<i>Alcaligenes</i> spp.	≤ 0,06–> 8	4–8	1)	[29]
<i>Flavobacterium meningosepticum</i>	1–> 8	8	1)	[29]
<i>Anaerobier</i>				
<i>Bacteroides</i> spp.	1–16	8	1)	[6, 29]
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	16–> 16	> 16	1)	[6, 29]

1) Die vorhandene Datenbasis reichte zur Erstellung eines für Deutschland repräsentativen Resistenzmusters nicht aus
n.v.: nicht verfügbar

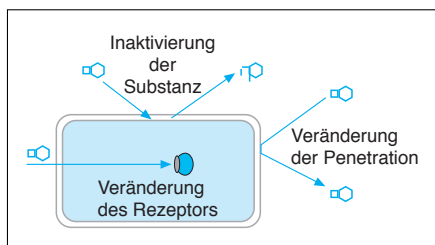


Abb. 9. Mechanismen der Resistenz gegenüber Antibiotika

Mechanismus der Resistenz gegenüber Ciprofloxacin

Bakterien können Resistenz gegenüber Antibiotika entwickeln, indem sie entweder die vorhandene genetische Information verändern (Mutation) oder neue genetische Information aufnehmen (zum Beispiel in Form von Plasmiden mit entsprechenden Eigenschaften), so dass die Zellen weniger empfindlich gegenüber bestimmten Antibiotika werden. Die Veränderungen der genetischen Information bei den Mikroorganismen können prinzipiell über drei Mechanismen zur Resistenz führen (Abb. 9):

1. Die Bakterien produzieren Enzyme, welche Antibiotika inaktivieren können: So können zum Beispiel Beta-Lactamase Beta-Lactam-Antibiotika wie Penicilline und Cephalosporine hydrolytisch spalten und Acetyltransferasen Chloramphenicol oder Aminoglykoside chemisch modifizieren.

2. Die Zielstruktur wird verändert: So kann eine Mutation in der Zielstruktur, zum Beispiel der Austausch einer Aminosäure in einem ribosomalen Protein, dazu führen, dass die Affinität eines Antibiotikums, in diesem Beispiel Streptomycin, zu dieser Zielstruktur erheblich abnimmt. Ein anderes Beispiel ist die Penicillin-Resistenz bei Pneumokokken oder die Methicillin-Resistenz bei *Staphylococcus aureus*, wo Mutationen eine veränderte Struktur eines Penicillin-Bindeproteins verursachen, was zu einer

geringeren Empfindlichkeit der Streptokokken- bzw. Staphylokokkenzellen führt.

3. Weniger Antibiotikum steht für die Bindung an die Zielstruktur zur Verfügung: Dafür können zwei Mechanismen einzeln oder auch in Kombination verantwortlich sein. Bei gramnegativen Bakterien können Veränderungen in der Zusammensetzung des Lipopolysaccharids (LPS) oder in den Porinen der äußeren Membran die Penetration von Antibiotika in die Zelle vermindern. Außerdem können energiegetriebene Effluxpumpen die Substanzen aktiv aus der Zelle ausschleusen. Für die Resistenz gegenüber Tetracyclinen spielt ein solcher Efflux die wesentliche Rolle, aber auch bei vielen anderen Antibiotika findet sich dieser Mechanismus, zum Beispiel bei Makroliden, Chinolonen, Chloramphenicol.

Mit Ausnahme eines einzigen Berichts [Martinez-Martinez et al., 1997] gibt es bei Chinolonen bisher keine Hinweise auf plasmidgebundene Resistenz und auch keine auf horizontale Übertragung von Resistenz zwischen Bakterienzellen der gleichen Generation. Alle bisher identifizierten Gene, welche für Chinolon-Resistenzigenschaften kodieren, sind chromosomal lokalisiert. Hier kommen insbesondere zwei Mechanismen zum Tragen: einerseits die Veränderung der Zielstruktur, d. h. also der Typ-II-Topoisomerasen, andererseits die verringerte Konzentration der Chinolone an den Zielstrukturen.

Die Veränderungen der Zielstrukturen können sowohl die Untereinheiten A (Gen *gyrA* bei Gyrase, Gen *parC* bei Topoisomerase IV) als auch die Untereinheiten B (Gen *gyrB* bei Gyrase, Gen *parE* bei Topoisomerase IV) betreffen. Bei *Escherichia coli* und den meisten gramnegativen Erregern sind am häufigsten Mutationen in der Gyrase-Untereinheit A zu finden, wobei vor allem die Aminosäuren 83 und 87 betroffen sind.

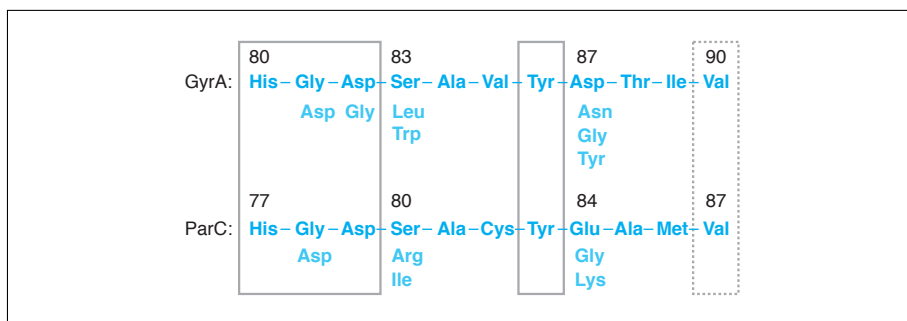


Abb. 10. Mutationen in A-Untereinheiten von Gyrase und Topoisomerase IV aus *E. coli*

Diese Aminosäuren befinden sich innerhalb der so genannten QRDR, der Chinolon-Resistenz-determinierenden Region, in der sich alle Mutationen dieses Gens befinden, die mit Chinolon-Resistenz assoziiert sind (Abb. 10). Bei Mutanten von *E. coli* mit hoher Chinolon-Resistenz findet man entsprechende Mutationen (Aminosäuren 80 und 84) auch in einem sehr ähnlichen Bereich der Topoisomerase IV (Tab. 3). Die Erhöhungen der MHK-Werte, die mit den Mutationen einhergehen, sind für sich genommen oft nicht besonders groß (zwei bis fünf Stufen) und führen für sich genommen nicht zur klinischen Resistenz. Erst die Summe von mehreren Mutationen führt zum Überschreiten des Grenzwertes für klinische Resistenz von > 4 µg/ml. Legt man für eine einzelne Mutation eine durchschnittliche Mutationsfrequenz von 10⁻⁸ zugrunde, so liegt die Mutationsfrequenz zum Erreichen klinischer Fluorchinolon-Resistenz bei 10⁻³² bis 10⁻⁴⁰.

Neben den Mutationen in den Genen für die Zielenzyme findet man Mutationen, welche die Konzentration von Chinolonen in der Zelle beeinflussen. Das wichtigste in diesem Zusammenhang beschriebene System ist das der *mex*-Effluxpumpen bei *P. aeruginosa* (Tab. 4). Mutationen in dieser oder entsprechenden Regionen bei anderen Erregern (*mar* bei *E. coli* bzw. *mar*-analoge Systeme bei anderen Enterobakterien, *mtr* bei *Neisseria gonorrhoeae*, *norA* bei *S. aureus*) führen zu einer erniedrigten Konzentration der Substanz im Inneren der Zelle. Mutanten lassen sich mit Frequenzen von 10⁻⁶ bis 10⁻⁷ selektieren. Diese Mutanten weisen gleichzeitig eine verringerte Empfindlichkeit für Antibiotika aus anderen Substanzklassen, wie zum Beispiel Tetracyclin, Chloramphenicol, Beta-Lactamen oder Rifampicin, auf. Die Ciprofloxacin-Resistenz erhöht sich dadurch meist nur um ein bis zwei Stufen. Dennoch kann dieser Mechanismus im Zusammenwirken mit den anderen eine Bedeutung für die Resistenzentwicklung haben (Tab. 5).

Eine Ausnahme bilden Mutationen, die zur Überexpression von Effluxsystemen bei *P. aeruginosa* führen: *mexAB-oprM* in Mutanten vom Typ *nalB*, *mexCD-ompJ* in Mutanten vom Typ *nfxB* und *mexEF-oprN* in Mutanten vom Typ *nfxC*. Infolge einer einzelnen derartigen Mutation kann die MHK von Ciprofloxacin bereits so erhöht sein, dass klinische Resistenz vorliegt.

Tab. 3. Mutationen zur Chinolonresistenz in *E. coli*

	Mutation	Genort	MHK [mg/l]	Frequenz
WT			0,015	
MI	Ser83-Leu	gyrA	0,5	10 ⁻⁹
MII	Deletion	marR	2	10 ⁻⁸
MIII	Asp87-Gly Ser80-Ile	gyrA parC	64	10 ⁻¹⁰
Klin. Isolat	Kompensation?	?	64	< 10 ⁻³⁵

Tab. 4. Geno- und Phänotyp von Effluxmutationen in Chinolon-resistenten *P. aeruginosa* [15]

Mutationstyp	Gene	OMP-Veränderung	ΔMHK [μg/ml] Ofloxacin
nalB (=cfxB) 20 min	mexAB-OprM	49 kD ↑	0,5 → 4
nfxB 0 min	mexCD-OprJ	54 kD ↑	0,5 → 4
nfxC 46 min	mexEF-OprN	50 kD ↑ OprD ↓	0,5 → 4

Tab. 5. Häufigkeit verschiedener Mutationen zur Fluorchinolon-Resistenz

Mutation	Häufigkeit [%] in res. klin. Isolaten	Δ MHK Cip [Verd.-Stufen]	Spezies
gyrA	13	5	<i>P. aeruginosa</i> [10]
nfxB/C, nalB	84	4	
gyrA	100	4	<i>E. coli</i> [12]
parC	100*	5	
marR	13	2	
gyrA	100*	5	<i>S. aureus</i> [23]
grlA	100	4	
norA	?	5	

*Bei hoch resistenten Isolaten vorhanden

Etablierung, Stabilisierung und Ausbreitung der Resistenz

Wie oben beschrieben können resistente Mutanten durch Aufnahme (zum Beispiel Plasmid) oder Veränderung (Mutation) genetischen Materials entstehen. Diese Ereignisse treten aber selten auf (die Frequenzen liegen zwischen 10⁻² und 10⁻⁷ für die meisten Gentransfervorgänge und zwischen 10⁻⁶ und 10⁻¹⁰ für spontane

Mutationen). Ohne die Selektion durch Antibiotika würden diese seltenen Ereignisse nicht zum Tragen kommen. Erst der Selektionsdruck führt dazu, dass in einem bestimmten Ökosystem sensible Bakterien von resistenten Mutanten unbehindert überwachsen werden. Dadurch kommt es zu einer Anreicherung resistenter Zellen (Abb. 11). Im Gegensatz zur landläufigen Meinung findet eine Selektion resistenter Mutanten aber fast niemals aus der eigentlichen Population

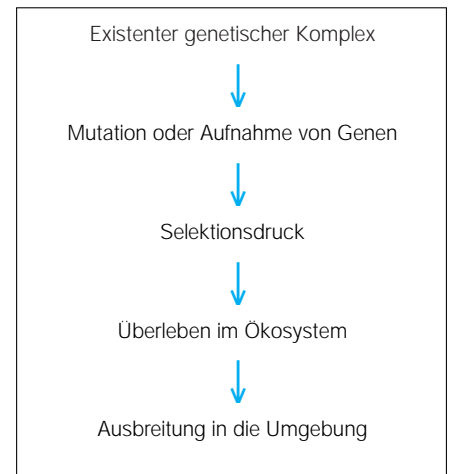


Abb. 11. Schritte der Resistenzentwicklung

der die Infektion verursachenden Erreger des Patienten statt. Es sind vor allem resistente Bakterien aus der natürlichen Mikroflora der Schleimhäute des Magen-Darm-Traktes, des Nasen-Rachen-Raums und des Urogenitaltraktes, die unter der Antibiotika-Therapie selektiert werden. Bei Bakterien, deren natürliche Empfindlichkeit für die älteren Fluorchinolone gering ist, wie *P. aeruginosa* und die meisten grampositiven Bakterien, bewirken bereits eine oder zwei Mutationen eine klinische Resistenz. Hingegen weisen Spezies wie *E. coli* und die meisten Enterobakterien eine sehr hohe natürliche Empfindlichkeit auf, so dass es einer Mehrzahl von Mutationen bedarf, um eine Resistenzentwicklung herbeizuführen. Dies erklärt, weshalb zunächst angenommen wurde, dass Ciprofloxacin-resistente *E.-coli*-Stämme gar nicht auftreten würden. Es hat auch fast zehn Jahre gedauert, bis die ersten resistenten Stämme in den Kliniken in Erscheinung traten. Ganz offensichtlich sind es bestimmte Patientengruppen, bei denen diese Bakterien auftreten: Leukämie-Patienten, bei denen in der Phase der chemotherapeutischen Immunsuppression Chinolone über einen längeren Zeitraum eingesetzt werden, ältere Patienten und besonders oft Patienten mit Infektionen der Harnwege.

Bis heute wissen wir noch nicht genau, unter welchen Bedingungen die Chinolon-resistenten *E.-coli*-Stämme entstehen. Da für einen „normal“ empfindlichen *E.-coli*-Stamm die Mutationsfrequenz zur klinisch relevanten Fluorchinolon-Resistenz unter 10⁻³² liegt, wäre es denkbar, dass dieses so seltene Ereignis nur ein einziges Mal auftritt und sich

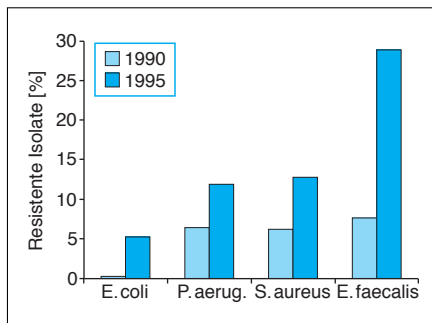


Abb. 12. Ciprofloxacin-resistente Isolate [%] in Mitteleuropa zwischen 1990 und 1995 [11]

der entsprechende Klon ausgebreitet hat. Dies ist allerdings nicht der Fall. Vielmehr scheint in der überwiegenden Zahl der Fälle ein resistenter Stamm aus der Darmflora des jeweiligen Patienten selektiert zu werden, vorausgesetzt dass dieser oft genug behandelt worden ist. Inwieweit hier die selektive Darmdekontamination mit Hilfe von Ciprofloxacin oder auch anderen Chinolonen eine Rolle spielt, kann bisher nur vermutet werden.

Bei *S. aureus* liegt das Phänomen anders als bei *E. coli*: Unter Methicillin/Oxacillin-resistenten *S.-aureus*-(MRSA)-Isolaten finden sich häufig Ciprofloxacin-resistente Stämme, während unter den Methicillin/Oxacillin-sensiblen Ciprofloxacin-Resistenz nur vereinzelt auftritt. MRSA-Stämme sind dafür bekannt, dass sie sich durch klonale Verbreitung epidemisch im Krankenhaus ausbreiten. Hat ein solcher MRSA-Stamm eine zusätzliche Mutation erworben, die zur Chinolon-Resistenz führt, so werden unter Chinolon-Therapie solche als CR-MRSA (Ciprofloxacin-resistente MRSA) bezeichneten Stämme leicht selektiert.

Bedeutung der Resistenz

Die Ciprofloxacin-Resistenz ist mit Werten von 5 % (*E. coli*) bzw. etwa 10 % (*P. aeruginosa*) im Vergleich zur Resistenz gegenüber anderen Antibiotika relativ niedrig. Bei Methicillin/Oxacillin-sensiblen *S. aureus* (MSSA) liegt die Chinolon-Resistenz bei 3 %, dagegen bei MRSA bei etwa 80 % (Abb. 12, s. o.). Wenn man Mischkollektive untersucht, liegt dieser Wert bei 13 %. Allerdings treten die Resistenzprobleme vor allem in den gefährdeten Bereichen, also in den Intensivstationen auf, wo die Resistenz

natürlich dann auch höher sein kann, als es die Zahlen ahnen lassen, die aus gemischten Populationen gewonnen werden. Insofern kann es zu Problemen kommen, die aber jeweils für den individuellen Fall betrachtet und analysiert werden müssen, da unterschiedliche Resistenzquoten aufweisen können.

In manchen Ländern liegt die Resistenzrate wesentlich höher als in Deutschland: So weisen die Mittelmeerländer Griechenland, Frankreich und Spanien extrem hohe Resistenz gegenüber oral applizierbaren Antibiotika auf, während dies in Italien eher bei Antibiotika der Fall ist, die parenteral verabreicht werden. Neben den regionalen Unterschieden und Unterschieden in den verschiedenen Stationen einer Klinik kann es erhebliche Unterschiede in der Resistenzrate zwischen den einzelnen Bakterienpezies geben: Manche Spezies sind zum Beispiel aufgrund ihrer geringen natürlichen Empfindlichkeit besonders anfällig für Resistenzentwicklung (grampositive für ältere Fluorchinolone, s. o.) und andere hoch empfindliche gar nicht.

Das Phänomen der Resistenz lässt sich also nicht verallgemeinern. Deshalb kann eine einzelne Resistenzstatistik sehr irreführend sein, wenn die Daten nicht sauber gewonnen sind. So kann ein Ausbruch durch einen resistenten Klon ein völlig verzerrtes Bild der Resistenzlage liefern, aber auch die Auswahl der Bakterienstämme, d. h. die Verwendung nicht-repräsentativer Kollektive. Darüber hinaus hat die verwendete Methode der Empfindlichkeitsbestimmung ebenso einen Einfluss auf das Ergebnis wie die Bewertungskriterien, die zugrundegelegt werden. So sind die amerikanischen Bewertungskriterien (nach NCCLS) oft viel großzügiger als die deutschen (nach DIN). Daher ist jedes Resistenzproblem für sich zu analysieren und zu interpretieren.

Bei allen Resistenzstatistiken sollten folgende Kriterien hinterfragt werden:

1. Welche Methode wurde verwendet: Agardiffusion, Agardilution, Bouillon-dilution?
1. Welche Vorschriften wurden verwendet: DIN, NCCLS, andere?
2. Welche Grenzwerte wurden benutzt?
3. Wurde das Inokulum überprüft?
4. Wurden Referenzstämme eingeschlossen und entsprachen deren Werte den Empfehlungen?

5. Welche Herkunft hat das Material (Hospitalismus einer Station, Copystämme)?

6. Welche Patientengruppen wurden eingeschlossen (nur Patienten der Intensivstationen)?

7. Welche statistische Relevanz haben die Daten (Anzahl der Isolate, geprüfter Zeitraum)?

Ausblick

Es sind viele neue Substanzen aus der Gruppe der Chinolone in der Entwicklung oder schon auf dem Markt. Ciprofloxacin ist nach wie vor die wirksamste Substanz für gramnegative Bakterien, besonders für *P. aeruginosa*. Dagegen war es nie Mittel der ersten Wahl für ambulant erworbene Pneumokokken-Pneumonie. Neuere Fluorchinolone, die eine höhere Wirksamkeit gegenüber diesen Erregern haben, werden bei ambulant erworbenen Atemwegsinfektionen einen höheren Stellenwert bekommen. Inwieweit es durch die insgesamt vermehrte Applikation der Chinolone zu einem weiteren Resistenzanstieg kommt, lässt sich anhand theoretischer Überlegungen nicht voraussagen. Wenn auch in Einzelfällen eine gute Korrelation zwischen der verabreichten Antibiotikamenge und der Zahl selektierter, resistenter Bakterien beobachtet werden kann, gibt es keinen direkten Zusammenhang zwischen diesen Größen. Schließlich haben verschiedene Substanzen auch eine unterschiedliche Pharmakokinetik und Pharmakodynamik.

Maßnahmen zur Vermeidung von Resistenzentwicklung

Wenn eine weitere Resistenzentwicklung verhindert werden soll, so muss man berücksichtigen, dass Mutationen ungerichtet, spontan und zufällig eintreten, dass jedoch die resultierenden Mutanten selektiert werden können. Deshalb muss man starken Selektionsdruck vermeiden, d. h. einen hohen Selektionsdruck, insbesondere auf ökologische Bereiche, die sehr dicht besiedelt sind, da dort eine große Bakterienmasse dem Antibiotikum ausgesetzt ist. Vor allem ist ein einseitiger Selektionsdruck zu verhindern, d. h. also ein Selektionsdruck mit nur einer Substanz bzw. einer Substanzklasse. Wir müssen die Alternativen, die wir kennen, nutzen, also die Antibiotika im Sinne einer kalkulierten Therapie so einsetzen, dass jeweils die günstigste Substanz im

Bereich ihrer Indikation eingesetzt wird. Dabei heißt günstig unter Berücksichtigung aller Kriterien, wie Wirksamkeit (Pharmakokinetik und Pharmakodynamik), Resistenzentwicklung und Preiswürdigkeit. Sind mehrere Antibiotika in ihrer Wertigkeit gleich oder ähnlich, sollten sie im Wechsel eingesetzt werden, um einseitigen Selektionsdruck zu verhindern.

Literatur

- Bauernfeind A. Comparison of the antibacterial activities of the quinolones Bay 12-8039, gatifloxacin (AM 1155), trovafloxacin, clinafloxacin, levofloxacin and ciprofloxacin. *J Antimicrob Chemother* 1997;40:639-51.
- Clark RB, Lister PD, Janda JM. In vitro susceptibilities of *Edwardsiella tarda* to 22 antibiotics and antibiotic beta-lactamase-inhibitor agents. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1991;14:173-5.
- Gellert M, Mizuuchi K, O'Dea MH, Itoh T, et al. Nalidixic acid resistance: a second genetic character involved in DNA gyrase activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977;74:4772-6.
- Goldstein EJ, Citron DM. Comparative activities of cefuroxime, amoxicillin-clavulanic acid, ciprofloxacin, enoxacin, and ofloxacin against aerobic and anaerobic bacteria isolated from bite wounds. *Antimicrob Agents Chemother* 1988;32:1143-8.
- Goldstein EJ, Citron DM, Gerardo SH, Hudspeth M, et al. Comparative in vitro activities of DU-6859a, levofloxacin, ofloxacin, sparfloxacin, and ciprofloxacin against 387 aerobic and anaerobic bite wound isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 1997a;41:1193-5.
- Goldstein EJ, Citron DM, Hudspeth M, Gerardo SH, et al. In vitro activity of Bay 12-8039, a new 8-methoxyquinolone, compared to the activities of 11 other oral antimicrobial agents against 390 aerobic and anaerobic bacteria isolated from human and animal bite wound skin and soft tissue infections in humans. *Antimicrob Agents Chemother* 1997b;41:1552-7.
- Goss WA, Deitz WH, Cook TM. Mechanism of action of nalidixic acid on *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 1964;88:1112-8.
- Goss WA, Deitz WH, Cook TM. Mechanism of action of nalidixic acid on *Escherichia coli*. II. Inhibition of deoxyribonucleic acid synthesis. *J Bacteriol* 1965;89:1068-74.
- Grimm H, Wiedemann B, Machka K. Regional differences of incidence of resistance in a German multicentre in vitro study [Abstract Book]. 2nd European Congress of Chemotherapy and 7th Biennial Conference on Antiinfective Agents and Chemotherapy; 1998. 99, T254.
- Jakics EB, Iyobe S, Hirai K, Fukuda H, et al. Occurrence of the nfxB type mutation in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36:2562-5.
- Kresken M, Hafner D. Prävalenz der Antibiotikaresistenz bei klinisch wichtigen Infektionserregern in Mitteleuropa: Bericht über die Ergebnisse einer multizentrischen Studie der Arbeitsgemeinschaft „Resistenz“ in der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V. aus dem Jahre 1995; 1996.
- Lehn N, Stöwer-Hoffmann J, Kott T, Strassner C, et al. Characterization of clinical isolates of *Escherichia coli* showing high levels of fluoroquinolone resistance. *J Clin Microbiol* 1996;34:597-602.
- Leshner GY, Froelich ED, Gruet MD, Bailey JH, et al. 1,8-Naphthyridine derivatives. A new class of chemotherapeutic agents. *J Med Pharm Chem* 1962;5:1063-8.
- Maneewannakul K, Levy SB. Identification of mar mutants among quinolone-resistant clinical isolates of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:1695-8.
- Masuda N, Sakagawa E, Ohya S. Outer membrane proteins responsible for multiple drug resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:645-9.
- Naber KG, Adam D, und die Expertengruppe der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V. Einteilung der Fluorchinolone. *Chemother J* 1998;2:66-8.
- Richard MP, Aguado AG, Mattina R, Marre R. Sensitivity to sparfloxacin and other antibiotics, of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* strains isolated from adult patients with community-acquired lower respiratory tract infections: a European multicentre study. SPAR Study Group. Surveillance Programme of Antibiotic Resistance. *J Antimicrob Chemother* 1998;41:207-14.
- Ruckdeschel G, Grimm H, Machka K, Wiedemann B. Comparison of antibiotic resistance in clinical bacterial strains from general ward vs intensive care unit patients [Abstract Book]. 2nd European Congress of Chemotherapy and 7th Biennial Conference on Antiinfective Agents and Chemotherapy; 1998. 99, T253.
- Schito GC, Acar JF, Bauernfeind A, Duval J, et al. A multinational European survey on the in vitro activity of rifloxacin and other comparative antibiotics on respiratory and urinary bacterial pathogens. *J Antimicrob Chemother* 1996;38:627-39.
- Shimizu M. Progress and future prospect of pyridonecarboxylic acids. *J Japan Assoc Infect Dis* 1988;62(Suppl):192-201.
- Smith Kline Beecham. Aerobier Resistenzstudie 1996 von SKB. Unveröffentlicht.
- Spencer RC. Predominant pathogens found in the European prevalence of infection in intensive care study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996;15:281-5.
- Takenouchi T, Ishil C, Sugawara M, Tokue Y, et al. Incidence of various gyrA mutants in 451 staphylococcus aureus strains isolated in Japan and their susceptibilities to 10 fluoroquinolones. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:1414-8.
- Traub WH, Leonhard B. Comparative susceptibility of clinical group A, B, C, F, and G beta-hemolytic streptococcal isolates to 24 antimicrobial drugs. *Chemotherapy* 1997;43:10-20.
- Ullmann U, Schubert S, Krausse R, Albrechts C. In vitro activity of Gatifloxacin, other Fluoroquinolones, Doxycycline, and Erythromycin against *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* [Abstract Book]. 2nd European Congress of Chemotherapy and 7th Biennial Conference on Antiinfective Agents and Chemotherapy; 1998; 68.
- Watts JL, Salmon SA, Sanchez MS, Yancey RJJ. In vitro activity of premafloxacin, a new extended-spectrum fluoroquinolone, against pathogens of veterinary importance. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:1190-2.
- Wiedemann B, Grimm H, Machka K. In vitro activity of 16 antibiotics in 5522 recent clinical isolates: Results of a German multicentre study [Abstract Book]. 2nd European Congress of Chemotherapy and 7th Biennial Conference on Antiinfective Agents and Chemotherapy; 1998a. 98, T250.
- Wiedemann B, Grimm H, Machka K. Longitudinal surveillance of resistance: Results of 3 German multicenter studies 1989, 1992, and 1996/97 [Abstract Book]. 2nd European Congress of Chemotherapy and 7th Biennial Conference on Antiinfective Agents and Chemotherapy; 1998b. 98, T251.
- Wilson A, Grüneberg R. Ciprofloxacin: 10 years of clinical experience. Oxford: 1997.

