

Der Medizinischen Fakultät der Georg-August-Universität Göttingen
eingereicht von Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Helmut Eiffert

Panton-Valentine-Leukozidin-assoziierte Infektionen bei ambulanten Patienten
in Niedersachsen

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät der
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Katja Claußen
aus Meldorf

Göttingen 2011

Diese Arbeit wurde in den Jahren 2007 bis 2011 unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. H. Eiffert am Niedersächsischen Landesgesundheitsamt erstellt.

Dekan: Prof. Dr. med. C. Frömmel

I. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. H. Eiffert

II. Berichterstatter/in: Priv.-Doz. Dr. med. M. Koziolk

III. Berichterstatter/in: Prof. Dr. rer. nat. P. Virsik-Köpp

Tag der mündlichen Prüfung: 12.03.2012

Inhalt

Verzeichnis der Abbildungen	V
Verzeichnis der Tabellen	V
Verzeichnis der Abkürzungen	VI
1. Einleitung	1
1.1 Erregereigenschaften von <i>Staphylococcus aureus</i>	1
1.1.1 Virulenzfaktoren von <i>Staphylococcus aureus</i>	2
1.1.2 Virulenzfaktor Panton-Valentine-Leukozidin (PVL)	5
1.2 Übertragung und Risikofaktoren für eine Besiedelung bzw. Infektion	7
1.3 Erkrankungen durch <i>Staphylococcus aureus</i>	9
1.3.1 Erkrankungen durch PVL-bildende Staphylokokken	10
1.4 Resistenz gegenüber Betalaktam-Antibiotika	12
1.4.1 Penicillin-Resistenz	12
1.4.2 Methicillin-Resistenz	13
1.5 Epidemiologisch basierte Nomenklatur von MRSA	15
1.6 Community-acquired MRSA (cMRSA)	17
1.6.1 Verbreitung von cMRSA in Nordamerika und Australien	17
1.6.2 Verbreitung von cMRSA in Europa	19
1.6.3 Vorkommen von cMRSA in Deutschland	20
1.6.4 Zusammenfassung der charakteristischen Merkmale von cMRSA	21
1.7 Zielsetzung der vorliegenden Untersuchungen	22
2. Material und Methoden	23
2.1 Studiendesign	23
2.2 Gewinnung von Einsendern	24
2.3 Auswahl der Patienten	25
2.4 Beschreibung des Einsendescheines und der damit erhobenen Daten	25
2.5 Labormethoden	26
2.5.1 Kulturverfahren zur Anzucht von Staphylokokken	26
2.5.2 Speziesdifferenzierung und Resistenztestung	26
2.5.3 Molekularbiologischer Nachweis des PVL-kodierenden Gens (<i>lukS/lukF</i>)	28
2.5.4 Molekularbiologischer Nachweis der Methicillin-Resistenz (<i>mecA</i>)	29
2.6 Befunderstellung und Dokumentation	30
2.7 <i>Staphylococcus-aureus</i> -Protein-A (<i>spa</i>)-Typisierung	31
2.8 Statistische Auswertungen	32
3. Ergebnisse	33
3.1 Anzahl und Herkunft der untersuchten Proben	33
3.2 Untersuchtes Patientenkollektiv	33
3.3 Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen	37
3.3.1 Kulturergebnisse in Abhängigkeit vom Untersuchungsmaterial	39
3.3.2 Kulturergebnisse in Abhängigkeit vom Lebensalter	41
3.3.3 Kulturergebnisse in Abhängigkeit von der Lokalisation	43
3.3.4 Kulturergebnisse und vorausgegangener stationärer Aufenthalt	46
3.3.5 Kulturergebnisse und Antibiotika-Therapie im vorausgegangenen Halbjahr	47
3.3.6 Vergleich der Antibiotika-Resistenz von MSSA und MRSA	48
3.4 Ergebnisse der <i>spa</i> -Typisierung	50
3.5 Ergebnisse der Erhebung des Trägerstatus von Indexpatienten	51
3.6 Ergebnisse der Untersuchungen von Kontaktpersonen	52

3.7 Beispielkasuistik 1: Infektion durch PVL-MSSA	54
3.8 Beispielkasuistik 2: Infektion durch PVL-MRSA	55
4. Diskussion	58
4.1 Epidemiologie der Haut- und Weichteilinfektionen im Vergleich	63
4.2 Spa-Typisierung der PVL-bildenden <i>Staphylococcus-aureus</i> -Isolate	66
4.3 Antibiotika-Resistenz der <i>Staphylococcus-aureus</i> -Isolate	69
4.4 Erfassung des nasalen Trägerstatus von Indexpatienten und Kontaktpersonen	70
5. Zusammenfassung	74
6. Anhang	76
6.1 Einsendeschein	76
6.2 Faxformular zur Materialbestellung	78
6.3 Informations-Flyer	79
6.4 Patienteninformation	81
7. Literaturverzeichnis	83

Verzeichnis der Abbildungen

Abbildung 1:	<i>Staphylococcus aureus</i> auf Blutagar	1
Abbildung 2:	Entwicklung der Einsenderate im Untersuchungszeitraum	34
Abbildung 3:	Altersverteilung der Studienteilnehmer differenziert nach Geschlecht	34
Abbildung 4:	Art des Untersuchungsmaterials in Abhängigkeit vom Alter	35
Abbildung 5:	Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung bezogen auf das Gesamtkollektiv (n = 494)	38
Abbildung 6:	Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung bezogen auf alle Einsendungen mit Nachweis von <i>Staphylococcus aureus</i> (n = 273)	38
Abbildung 7:	Art des Untersuchungsmaterials und Lokalisation der Entnahmestelle	39
Abbildung 8:	Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung in Abhängigkeit vom Untersuchungsmaterial	40
Abbildung 9:	Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung bezogen auf Einsendungen aus Abszessen	41
Abbildung 10:	Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung in Abhängigkeit vom Lebensalter	42
Abbildung 11:	Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung in Abhängigkeit von der Entnahmestelle	43
Abbildung 12:	Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung von Abstrichen aus der Stammregion	44
Abbildung 13:	Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung von Abstrichen aus dem Bereich der unteren Extremität	45
Abbildung 14:	Entnahmestelle der Abstriche in Abhängigkeit vom Lebensalter	45
Abbildung 15:	Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung und stationärer Aufenthalt	46
Abbildung 16:	Antibiotika-Resistenz der <i>Staphylococcus-aureus</i> -Isolate	49
Abbildung 17:	Häufigkeitsverteilung der Klonalen Komplexe PVL-bildender <i>Staphylococcus-aureus</i> -Isolate	51

Verzeichnis der Tabellen

Tabelle 1:	Antibiotika-Resistenz der <i>Staphylococcus-aureus</i> -Isolate	48
Tabelle 2:	Ergebnisse der spa-Typisierung PVL-bildender <i>Staphylococcus-aureus</i> -Isolate	50
Tabelle 3:	Ergebnisse der Untersuchungen von Kontaktpersonen	53

Verzeichnis der Abkürzungen

A	Adenosin
ATCC	American Type Culture Collection
bzw.	beziehungsweise
C	Cytosin
cMRSA,	
caMRSA	community-acquired (-associated) <i>Staphylococcus aureus</i>
CDC	Centers of Disease Control and Prevention
DIN	Deutsches Institut für Normung
DNS	Desoxyribonukleinsäure
EDV	Elektronische Datenverarbeitung
ETA	Exfoliatives Toxin A
ETB	Exfoliatives Toxin B
Fa.	Firma
G	Guanin
gr.	Griechisch
h	Stunde
hMRSA,	
haMRSA	hospital-acquired (associated) <i>Staphylococcus aureus</i>
hcaMRSA	hospital-acquired community-associated <i>Staphylococcus aureus</i>
HIV	Human immunodeficiency virus
IfSG	Infektionsschutzgesetz
IL-1	Interleukin 1
JVA	Justizvollzugsanstalt
k.A.	keine Angabe
KBE	Kolonie-bildende Einheiten
laMRSA	livestock-associated MRSA
LukF-PV	LukF-Panton-Valentin, synonym Protein F
LukS-PV	LukS-Panton-Valentin, synonym Protein S
MHK	Minimale Hemmkonzentration
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
ml	Milliliter
MLST	Multilocus Sequence Typing
MRSA	Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i> (oder Plural)
MSSA	Methicillin-sensibler <i>Staphylococcus aureus</i> (oder Plural)
NLGA	Niedersächsisches Landesgesundheitsamt
NRZ	Nationales Referenzzentrum
ORSA	Oxacillin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i> (oder Plural)
PBP	Penicillin-bindendes Protein
PBS	Phosphate Buffered Saline
PCR	Polymerase Chain Reaction
PEG	Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie
pos.	positiv
PSM	Phenol-soluble Modulin
PVL	Panton-Valentine-Leukozidin
RKI	Robert-Koch-Institut
S. aureus	<i>Staphylococcus aureus</i>
SCCmec	Staphylococcal Cassette Chromosome mec
SCV	Small Colony Variants
SE	Staphylokokken-Enterotoxin

SEA	Staphylokokken-Enterotoxin A
SEB	Staphylokokken-Enterotoxin B
SEC	Staphylokokken-Enterotoxin C
spa	<i>Staphylococcus aureus</i> Protein A
SSSS	Staphylococcal scaled skin syndrome
syn.	synonym
T	Thymidin
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
TNF α	Tumornekrosefaktor alpha
TSS	Toxic Shock Syndrome
TSST-1	Toxic Shock Syndrome Toxin 1
USA	United States of America
UV	Ultraviolett

1 Einleitung

1.1 Erregereigenschaften von *Staphylococcus aureus*

Die Gattung *Staphylococcus* gehört zur Familie der Micrococcaceae und besteht aus derzeit 37 differenzierten Spezies. Staphylokokken (gr. Staphyle: Weintraube, Kokkos: Kern) sind grampositive, unbewegliche Kugelbakterien mit einem Durchmesser von 0,5-1,5 µm, die im Direktpräparat meist zu unregelmäßigen, traubenartigen Haufen zusammengelagert sind oder (seltener) auch einzeln, in Paaren, Tetraden oder kurzen Ketten (3-4 Zellen) gelagert vorkommen. Nach ersten Berichten über die mikroskopische Darstellung rundlicher Organismen in Eiterproben aus den Jahren 1871/72 führte Koch 1878 erstmalig den Nachweis ihrer Erregerart. 1880 gelang Pasteur die Anzucht aus klinischen Materialien, während Ogston im gleichen Jahr die klinische Bedeutung und den Gattungsnamen der fakultativ pathogenen Bakterien definierte (Peters und Pulverer 2001).

Staphylokokken bilden auf festen Nährmedien bei einem Temperaturoptimum von 30-37°C innerhalb von 24-48h 1-2 mm große runde glänzende Kolonien (auf blut-haltigen Nährböden häufig mit Beta-Hämolyse), sind Katalase-positiv und zeigen eine variable Pigmentbildung von weiß bis goldgelb. Nach eben dieser Pigmentfarbe wurde der in der Humanmedizin bedeutsamste Vertreter seiner Gattung 1881 von Rosenbach ursprünglich als „*Staphylococcus pyogenes aureus*“ benannt. Der 1926 von v. Darányi entdeckte Zusammenhang zwischen der Plasma-koagulase-Aktivität und ihrer pathogenen Bedeutung wird auch heute noch zur Differenzierung von *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) bzw. zu seiner Abgren-

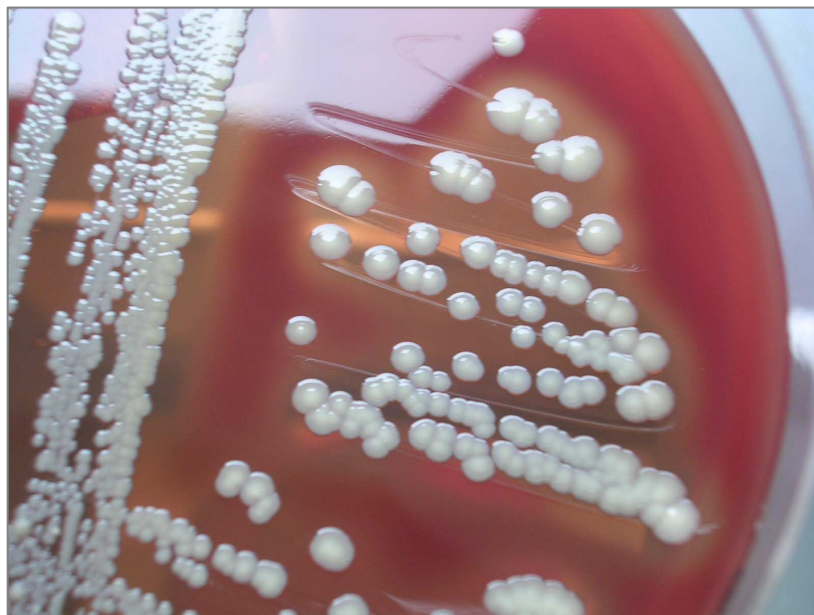


Abbildung 1: *Staphylococcus aureus* auf Blutagar

zung von Koagulase-negativen Staphylokokken herangezogen (geschichtlicher Abriss zusammengefasst von Peters und Pulverer 2001).

Staphylokokken zeichnen sich durch eine sehr hohe Umweltresistenz aus. Das Temperaturspektrum der Vermehrungsfähigkeit reicht von etwa 7 bis 48,5°C, wobei die Erreger auch hohe Kochsalzkonzentrationen bis zu 15% und einen relativ weiten pH-Bereich (4,2-9,3) tolerieren (Schmitt et al. 1990). Auch gegenüber Austrocknung und UV-Strahlen sind sie äußerst resistent, so dass sie auch in der unbelebten Umgebung einige Zeit überdauern können (Köhler et al. 2001, Wertheim et al. 2005). Einen großen Überlebensvorteil erreicht *S. aureus* außerdem durch die Fähigkeit, Gene auf mobilen genetischen Elementen wie Plasmiden, Transposons, Phagen und Chromosomalen Kassetten auszutauschen. Auf diese Weise können sich immer neue Stämme mit besonderen Virulenzmerkmalen und / oder Resistenzeigenschaften entwickeln (Monecke et al. 2007b, Holden et al. 2004).

Staphylokokken sind in der Natur weit verbreitet. Sie sind fakultativ pathogen und besiedeln als Kommensale Haut und Schleimhäute von Mensch und einigen Tierarten.

1.1.1 Virulenzfaktoren von *Staphylococcus aureus*

Die Pathogenität von *S. aureus* ist mit bestimmten Zelloberflächenstrukturen und extrazellulären Proteinkomponenten assoziiert. Zu den Oberflächenbestandteilen gehören eine Kapsel, Protein A sowie verschiedene Adhäsine, während Plasma-koagulase, Gewebe-spaltende Enzyme und diverse Toxine sezerniert werden können. Diese Virulenzfaktoren ermöglichen den Staphylokokken, sich im Gewebe zu etablieren, nach ihrer Vermehrung weiter in die Umgebung vorzudringen und sich dabei zugleich gegen die Abwehrmechanismen des Wirtsorganismus zu schützen.

Einen Schutz vor Phagozytose bieten zum einen eine Polysaccharid-Kapsel, zum anderen ein Oberflächenprotein (Protein A), welches das Fc-Stück von Immunglobulin G bindet und auf diese Weise Opsonierung und Phagozytose blockiert. Zur Anheftung der Bakterien an Gewebestrukturen dienen Adhäsine. Dies sind Proteine mit Rezeptoreigenschaften zur Bindung an extrazelluläre Matrixproteine wie Fibronectin, Kollagen oder Fibrinogen. Ein als „Clumping factor“ bezeichneter zellwandständiger Fibrinogenrezeptor führt durch eine Aktivierung von Fibrinmonomeren zu einer Verklumpung von Plasma, was eine Aggregation der Bakterienzellen begünstigt.

Das von *S. aureus* sezernierte Enzym Plasmakoagulase verbindet sich mit dem im Blutplasma enthaltenen Prothrombin zum so genannten Staphthrombin, welches durch Aktivierung von Fibrinogen zu Fibrin eine Gerinnung des Plasmas herbeiführt. Der biologische Nutzen dieses Virulenzfaktors für die Bakterien besteht in der Bildung eines Fibrinschutzwalles, um ins Gewebe eingedrungene Staphylokokken abzukapseln. Für ein weiteres Vordringen der Erreger nach ausreichender Vermehrung kann dieser Fibrinwall durch die Sekretion einer Staphylokinase wieder gelöst werden. Die Gewebeinvasivität wird durch Proteasen, Nukleasen, Lipasen und Hyaluronidasen mitbedingt (Archer 1998, Lowy 1998).

Zu den von *S. aureus* gebildeten Toxinen gehören Hämolsine, Exfoliativtoxine, Enterotoxine, Toxic-Shock-Syndrom-Toxin 1 (TSST-1) und Leukozidin. Ihre primäre Funktion besteht möglicherweise darin, die Immunreaktionen des Wirtsorganismus gegenüber *S. aureus* zu hemmen (Dinges et al. 2000).

Es werden vier verschiedene, zur Zytolyse von Erythrozyten führende Staphylokokken-Hämolsine (α -, β -, γ - und δ -Hämolsin) unterschieden, von denen das porenbildende α -Hämolsin (syn. α -Toxin) pathogenetisch die größte Bedeutung hat. Es wirkt auch auf andere empfindliche Zellen wie Thrombozyten, Endothelzellen und Epithelzellen zytotoxisch, indem seine Monomere nach Integration in die Zellmembran zylindrische Heptamere mit einer zentralen (ionengängigen) Pore bilden und dadurch zum Zusammenbruch des Membranpotentials und schließlich zur Apoptose führen (Yarovinsky et al. 2008).

Einige Staphylokokken können auch Exfoliativtoxine bilden. Die Exfoliativtoxine A (ETA) und B (ETB) rufen eine intraepidermale Spaltbildung zwischen Stratum spinosum und Stratum granulosum der Epidermis mit grobblasiger Hautablösung hervor.

Zu den Exotoxinen von *S. aureus* zählen ferner 19 verschiedene Enterotoxine (Staphylococcal enterotoxin, SE), von denen die Enterotoxine A und B (SEA und SEB) klinisch am bedeutsamsten sind. Enterotoxine sind sehr hitzestabil (100°C für 1 h). Über die genaue Wirkungsweise einzelner Enterotoxine ist noch wenig bekannt. Einige, insbesondere SEB und SEC, haben Superantigen-Eigenschaften und können neben einer Lebensmittelintoxikation auch ein Toxic-Shock-Syndrom induzieren (Bhatia und Zahoor 2007, Dinges et al. 2000, Thomas et al. 2007).

Das Toxic-Shock-Syndrom Toxin 1 (TSST-1) gehört ebenfalls zur Gruppe der Superantigene, die durch Stimulation von T-Lymphozyten zu einer exzessiven Ausschüttung von Interleukinen (insbesondere IL-1) und Tumornekrosefaktor α

(TNF α) führen. Die Folge ist ein lebensbedrohliches septisches Schocksyndrom, dessen Letalität etwa 5% beträgt. TSST-1 ist wie die Endotoxine generell sehr resistent gegenüber Hitze und wird auch nach über einer Stunde bei 100°C nicht messbar inaktiviert.

Die beiden aus jeweils zwei unabhängigen Proteinkomponenten zusammengesetzten Toxine Leukozidin und γ -Hämolyisin führen durch Porenbildung zu einer letalen Schädigung von Granulozyten und Makrophagen, wobei γ -Hämolyisin im Gegensatz zu dem relativ seltenen Leukozidin von 99% der *S. aureus*-Stämme gebildet wird und zusätzlich in der Lage ist, Erythrozyten zu lysieren (Dinges et al. 2000, Prevost et al. 1995).

Die Aktivierung der den jeweiligen Virulenzfaktoren zugrunde liegenden Gene wird durch bestimmte Regulatorgene zeitlich koordiniert. So werden beispielsweise die Oberflächenproteine vorwiegend in der exponentiellen Wachstumsphase der Bakterien synthetisiert, während die sezernierten Exoproteine in der stationären Phase gebildet werden. In der Frühphase der Infektion wird auf diese Weise durch Expression von Oberflächenproteinen zur Anheftung an extrazelluläre Matrixmoleküle wie Fibronectinbindeprotein eine erfolgreiche Kolonisation von Wirtsgewebe begünstigt, wohingegen im weiteren Verlauf der Infektion die Synthese geeigneter Exoproteine wie Hyaluronidase und Protease eine Ausbreitung in angrenzende Gewebe fördert (Lowy 1998, Loughman et al. 2009).

Die meisten *S. aureus*-Stämme besitzen zudem die Fähigkeit zur extra- und intrazellulären Persistenz, was dem Erreger nicht nur vermehrten Schutz vor der Wirtsabwehr, sondern auch vor einer antimikrobiellen Chemotherapie bietet. Aufgrund ihres reduzierten Wachstums auf soliden Nährmedien werden diese phänotypischen Varianten als „small colony variants“ (SCV) bezeichnet. Neben einem stark verzögerten Wachstum mit kleinerer Koloniegröße und verminderter oder fehlender Pigmentbildung zeigen sie eine drastisch reduzierte Stoffwechselaktivität. Dies ist mit einem Auxotrophismus für Menadion und/oder Hämin bzw. Thymin verbunden und bei Supplementierung dieser Substanzen reversibel. Dieser SCV-Phänotyp ist klinisch mit chronisch-persistierenden oder rezidivierenden Infektionen verbunden (von Eiff 2008).

1.1.2 Virulenzfaktor Panton-Valentine-Leukozidin (PVL)

Die Entdeckung des Virulenzfaktors Leukozidin lässt sich auf Untersuchungen von van de Velde im Jahre 1894 zurückführen, bei denen er Virulenzunterschiede zwischen verschiedenen *S. aureus*-Stämmen beobachtete. Er entdeckte, dass die virulenteren Stämme eine toxische Substanz freisetzen, die eine Lyse von Leukozyten herbeiführte und nannte sie „substance leucocide“ bzw. „leukocidin“ (van de Velde 1894). Der Zusammenhang zwischen dem Toxin und schweren Infektionen beim Menschen wurde erst 1932 durch Panton und Valentine hergestellt (Panton und Valentine 1932). Das später hiernach benannte Panton-Valentine-Leukozidin (PVL) gehört ebenso wie das γ -Hämolysin zur Familie der synergohymenotrophen Toxine. Durch die synergistische Wirkung von zwei unabhängig voneinander sezernierten Proteinkomponenten, die sich in der Membran von Abwehrzellen zu einer Pore formieren, kommt es im Wirtsorganismus zur Lyse von Granulozyten und Makrophagen. Es wird vermutet, dass es zudem in Abhängigkeit von der PVL-Konzentration auch zu einer Porenbildung in Mitochondrienmembranen mit konsekutiver Zellapoptose kommt (Boyle-Vavra und Daum 2007, Genestier et al. 2005). 1959 gelang Woodin erstmalig eine Fraktionierung dieser beiden Komponenten, wobei er nach der Eluationsgeschwindigkeit in der Säulenchromatografie eine schnelle F-(„fast“) von einer langsamen S-(„slow“) Fraktion unterschied (Woodin 1959). Die beiden Proteinkomponenten von PVL werden als Protein S und Protein F bzw. LukS-PV und LukF-PV bezeichnet. Die hierfür kodierenden Gene, lukS bzw. lukF, werden von temperenten Bakteriophagen übertragen, in das Chromosom von *S. aureus* integriert und während der Proteinbiosynthese kotranskribiert (Melles et al. 2006). Zunächst bindet das LukS-PV an einen spezifischen Rezeptor von polymorphkernigen Leukozyten und dimerisiert dort mit dem LukF-PV. So werden beide Komponenten im Wechsel aneinander gelagert, bis ein Heptamer entstanden ist. Durch eine Phosphorylierung von LukS-PV wird die Öffnung von Kalziumkanälen aktiviert, der darauf folgende Kalziumeinstrom induziert eine massive Ausschüttung von inflammatorischen Mediatoren. Es kommt zur Freisetzung von Histamin aus basophilen Granulozyten sowie von Enzymen und chemotaktisch aktiven Substanzen wie Leukotrien B₄ und Interleukin 8 aus Neutrophilen. Es entwickelt sich eine fortschreitende Entzündungsreaktion mit Ausbildung von Gewebnekrosen (Boyle-Vavra und Daum 2007, Genestier et al. 2005). PVL wird von etwa 2% aller *S. aureus*-Stämme gebildet (Melles et al. 2006, Prevost et al. 1995, Holmes et al. 2005). Untersuchungen zur Prävalenz von PVL

unter gesunden, nasal mit *S. aureus* besiedelten Personen ergaben einen Anteil von 0,6-1,4% (Melles et al. 2006).

Panton-Valentine-Leukozidin ist in erster Linie mit primären Haut- und Weichteilinfektionen sowie nekrotisierenden Pneumonien assoziiert. Dabei scheint das Vorhandensein von PVL – unabhängig vom Ort der Infektion – mit einem schwerwiegenderen Verlauf und einer höheren Komplikationsrate verbunden zu sein (Lina et al. 1999, Etienne 2005, Gillet et al. 2002). Es konnte gezeigt werden, dass PVL in vitro eine Apoptose neutrophiler Granulozyten sowie Gewebnekrosen verursacht (Genestier et al. 2005, Ward und Turner 1980). Den bereits seit Ende der 1990er Jahre vermuteten Zusammenhang zwischen PVL und nekrotisierenden Pneumonien konnten Labandeira-Rey und Kollegen 2007 durch ein Tiermodell untermauern (Labandeira-Rey et al. 2007). Sie infizierten Mäuse mit *S. aureus*-Isolaten von Patienten mit nekrotisierender Pneumonie (*S. aureus*, PVL-positiv) und nicht- nekrotisierender Pneumonie (*S. aureus*, PVL-negativ). Die mit den PVL-positiven Stämmen infizierten Tiere entwickelten ein schweres Krankheitsbild mit Lungengewebnekrosen, während sich bei den Infektionen durch PVL-negative *S. aureus* keine Nekrosen beobachten ließen. In Kongruenz dazu führte eine plasmidvermittelte Übertragung von PVL auf zuvor PVL-negative Isolate zu einer gesteigerten Virulenz. Bei den hiermit infizierten Tieren kam es bereits innerhalb von 24 Stunden zu massiven Gewebeschädigungen mit einer Mortalität von 35-80%. Dabei konnte PVL post mortem in den betroffenen Geweben immunhistochemisch nachgewiesen werden. Eine direkte Applikation von gereinigtem PVL führte in Abhängigkeit von der Konzentration zu lokalen Hautschäden und einem Anstieg der Mortalität. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass PVL mit einer vermehrten Expression adhärent wirksamer Proteine wie z.B. Protein A assoziiert ist. Dies könnte durch eine gesteigerte Anheftungsfähigkeit eine Kolonisation begünstigen und somit einen wichtigen Beitrag zum Virulenzpotential darstellen. Das Zusammenspiel einer gesteigerten Synthese von Protein A und der PVL-vermittelten Lyse von Granulozyten und Makrophagen könnte in einen Teufelskreis aus Leukozytenrekrutierung, Lyse und Freisetzung inflammatorischer Mediatoren mit überschießender Entzündungsreaktion und Nekrosebildung führen. Diese Annahme würde das rasche Fortschreiten der beobachteten Gewebedestruktion zumindest teilweise erklären.

Die tatsächliche Rolle von PVL in der Pathogenese von Staphylokokkeninfektionen ist allerdings nicht unumstritten. So kamen Voyich et al. in einem in-vivo-Modell an Mäusen mit Sepsis und Abszessen zu einem gegenteiligen Ergebnis.

Ihre Beobachtungen ergaben keine Virulenzunterschiede zwischen PVL-positiven und PVL-negativen Staphylokokken und boten Anlaß für kontroverse Diskussionen hinsichtlich der Bedeutung von PVL als entscheidende Virulenzdeterminante (Voyich et al. 2006). Für die Menge des von klinischen Methicillin-resistenten *S. aureus*-Isolaten in vitro produzierten PVLs ließ sich keine Korrelation zur Schwere der vorliegenden Erkrankung aufzeigen (Hamilton et al. 2007). Auch wurden andere Komponenten als die Virulenz vermittelnden Faktoren postuliert. Beispielsweise wurde in PVL-positiven Methicillin-resistenten *S. aureus*-Stämmen eine vermehrte Bildung sogenannter Phenol-löslicher Moduline (syn. „phenol-soluble modulins“, PSM) mit synergistischer Wirkung zu PVL nachgewiesen. Ein Verlust dieses Merkmals führte in Tiermodellen zu einer Herabsetzung der Virulenz (Wang et al. 2007).

1.2 Übertragung und Risikofaktoren für eine Besiedelung bzw. Infektion

Die Übertragung von *S. aureus* kann exogen durch direkten Haut-zu-Haut-Kontakt mit kolonisierten bzw. infizierten Trägern erfolgen, ist jedoch auch indirekt durch kontaminierte Gegenstände möglich (O'Doherty et al. 1989). Für eine Verbreitung in medizinischen Einrichtungen spielen neben der Aufnahme kolonisierter bzw. infizierter Patienten vor allem die Hände des Personals und somit Hygienemängel eine wesentliche Rolle (Mortimer et al. 1962, Thompson et al. 1982, Lowy 1998, Matussek et al. 2007). Nasal besiedelte Träger mit Rhinitis können durch erregerehaltige Aerosole ihre Umgebung kontaminieren, aerogene Übertragungen sind jedoch selten (Sherertz et al. 2001).

Grundsätzlich muss zwischen asymptomatisch besiedelten Trägern und manifest infizierten Patienten, also zwischen Kolonisation und Infektion, unterschieden werden.

S. aureus besiedelt bevorzugt den Nasenrachenraum und hier vor allem das Vestibulum nasi. Weitere Prädilektionsstellen sind intertriginöse Areale wie Axillae, Inguinalbereich und Perineum, jedoch können auch Intestinum und Genitourethraltrakt betroffen sein. Eine Metaanalyse zur *S. aureus*-Trägerrate durch Wertheim et al. (2005) ergab, dass etwa 20% der Bevölkerung dauerhaft nasal besiedelt sind, während schätzungsweise 30% nur vorübergehend und rund 50% gar nicht kolonisiert sind. Bei Kindern ist der Anteil mit persistierendem Trägerstatus höher als bei Erwachsenen. Diabetiker, Personen mit dialysepflichtiger terminaler Nieren- oder Leberinsuffizienz, HIV-Infektion,

Adipositas, Zustand nach cerebrovaskulärem Insult und Hauterkrankungen wie Ekzemen oder Psoriasis sind ebenfalls häufiger mit *S. aureus* kolonisiert (Wertheim et al. 2005). Patienten mit Atopischer Dermatitis zeigen Trägerraten von 75-91% (Chiu et al. 2009, Chung et al. 2008).

Eine asymptomatische Besiedelung stellt per se noch keinen Krankheitswert dar, ist jedoch mit einem höheren Infektionsrisiko assoziiert (Muñoz et al. 2007, Wernitz et al. 2005, Kluytmans et al. 1997, Huang und Platt 2003). Grundlage für eine Infektion ist z. B. eine Verletzung der Haut- bzw. Schleimhautbarriere, der Verlauf wird schließlich durch ein komplexes Wechselspiel zwischen Virulenzfaktoren und Abwehrmechanismen des Wirtsorganismus bestimmt (Lowy 1998).

Die Infektionsraten sind bei positivem Trägerstatus höher als bei nicht besiedelten Patienten. Anders herum lässt sich dieser Zusammenhang dadurch belegen, dass durch eine präoperative Sanierung mit Mupirocin die Infektionsrate unter *S. aureus*-Trägern gesenkt werden kann (Perl et al. 2002). Für Staphylokokken ist eine hohe Affinität zu Kunststoffmaterialien charakteristisch. Nach den Koagulase-negativen Staphylokokken ist *S. aureus* der zweithäufigste Erreger nosokomial erworbener Bakteriämien, von denen die meisten mit invasiven Zugängen („device“-) assoziiert sind (Kluytmans et al. 1997). Durch molekularbiologische Untersuchungen konnte eine genetische Übereinstimmung zwischen nasalen *S. aureus*-Stämmen und Blutkultur-Isolaten nachgewiesen und damit gezeigt werden, dass über 80% der *S. aureus*-Bakteriämien endogenen Ursprungs sind (von Eiff et al. 2001, Wertheim et al. 2004).

Als klassische Risikofaktoren für eine Besiedelung bzw. Infektion durch Methicillin-resistente *S. aureus* (MRSA) gelten neben dem Kontakt zu MRSA-Trägern hohes Lebensalter, Multimorbidität, längere Krankenhausaufenthalte, intensivstationäre Behandlung, chirurgische Eingriffe, Antibiotika-Therapien, invasive Zugänge, Versorgung in Verbrennungszentren, stationäre Überbelegung und personelle Unterbesetzung (Graffunder und Venezia 2002, Grundmann et al. 2002, Campbell et al. 2003, Clements et al. 2008, Safdar und Maki 2002).

Seit Ende der 1990er Jahre treten allerdings auch zunehmend MRSA-Infektionen bei jungen immunkompetenten Personen ohne die klassischen Risikofaktoren auf. Diese als „Community-acquired (oder -associated)“ MRSA (syn. cMRSA, caMRSA) bezeichneten Stämme sind hauptsächlich mit ambulant erworbenen Haut- und Weichteilinfektionen assoziiert und inzwischen weltweit auf dem Vormarsch (Vandenesch et al. 2003). Als prädisponierende Faktoren werden junges Lebensalter, Zugehörigkeit zu ethnischen Minderheiten, intravenöser

Drogenmissbrauch, Teamsport (vor allem Kontaktsportarten), homosexuelle Aktivitäten, niedriger sozioökonomischer Standard, räumlich enge Verhältnisse unter suboptimalen Hygienebedingungen (z.B. unter Häftlingen oder Rekruten) und Tierkontakte beschrieben (Barton et al. 2006, Ellington et al. 2010).

Ähnlich wie bei Menschen werden auch bei Haustieren – vor allem bei Hunden, Katzen und Pferden – seit einigen Jahren zunehmend MRSA-Infektionen nachgewiesen, die ebenso meist mit operativen Eingriffen oder Aufenthalt in Tierkliniken im Zusammenhang stehen. Die bei Hunden und Katzen gefundenen Stämme unterscheiden sich dabei nicht von humanen Epidemiestämmen, die von Pferden gewonnenen Isolate sind hingegen eindeutig anderen entwicklungs-genetischen Ursprungs. Eine asymptomatische Besiedelung von Nasenrachenraum und Integument ist bei Tieren ebenfalls möglich und kann ein unerkanntes Reservoir für eine (Re-)Kolonisation bzw. (Re-)Infektion des Halters darstellen, wobei Transmissionen grundsätzlich in beide Richtungen beobachtet wurden (Leonard und Markey 2006, Rutland et al. 2009, Weese et al. 2005, Sing et al. 2008). Seit 2006 wurden erstmals Schweinebestände als ein Erregerreservoir für neue MRSA-Typen erkannt (Huijsdens et al. 2006a). Mit dem Auftreten von MRSA-Kolonisation und -Infektionen bei Personen, die beruflich direkten Kontakt zu Nutztieren haben, wurde somit eine neue Risikogruppe identifiziert. Diese erhöhte MRSA-Exposition betrifft Landwirte in der Tierproduktion (vor allem Schweinemast) und deren Angehörige, Tierärzte und Schlachthofpersonal. Ob von Tiermastanlagen außerdem eine Gefährdung durch Aerosole und Emissionen ausgeht, kann derzeit noch nicht bewertet werden. Obwohl in diesem Zusammenhang auch bereits MRSA an Schlachtkörpern und in Lebensmittelproben gefunden wurden, ist das Übertragungsrisiko durch Kontakt oder Verzehr kontaminierter Lebensmittel aufgrund der niedrigen Erregerkonzentration jedoch als gering einzuschätzen (Fetsch et al. 2009, Tenhagen et al. 2009).

1.3 Erkrankungen durch *Staphylococcus aureus*

Die durch *S. aureus* verursachten Krankheitsbilder lassen sich allgemein in toxinvermittelte Erkrankungen wie Staphylococcal Scaled Skin Syndrome (SSSS), Toxic Shock Syndrome (TSS) oder Gastroenteritis und pyogene invasive Prozesse einteilen, wobei die Infektionen lokal oder generalisiert verlaufen können. Häufige Lokalinfektionen im Bereich der Erregereintrittspforte sind beispielsweise Haut- und Weichteilabszesse, Karbunkel, Pyodermien, Panaritien und Wundinfektionen.

Zu den tiefer gehenden Infektionen gehören z.B. Parotitis, Mastitis puerperalis und nekrotisierende Faszitis. Bei Anschluss an das Blutgefäßsystem wird durch hämatogene Streuung (Bakteriämie) eine Absiedelung und Abszedierung in nahezu alle Organsysteme möglich. Wichtige Komplikationen hierbei sind Sepsis, Endokarditis, Osteomyelitis, Nierenabszesse, septische Arthritis, Epidural- oder Hirnabszesse. *S. aureus* ist als einer der bedeutsamsten Erreger nosokomialer Infektionen (insbesondere auf Intensivstationen) auch häufig Ursache beatmungsassoziierter Pneumonien und Septikämien, wobei letztere häufig als Folge von Fremdkörperinfektionen (meist invasive Zugänge) auftreten (Archer 1998, Lowy 1998). Auf deutschen Intensivstationen werden relativ konstant ca. 16% der Septikämien durch *S. aureus* hervorgerufen, der Anteil von MRSA lag im ersten Halbjahr 2003 bei 30% (Gastmeier et al. 2005). Für eine bessere Surveillance invasiver Infektionen wurde für MRSA-Nachweise aus Blutkulturen und Liquores am 1. Juli 2009 für Laboratorien eine namentliche Meldepflicht eingeführt (§7 IfSG).

1.3.1 Erkrankungen durch PVL-bildende Staphylokokken

PVL-positive *S. aureus* verursachen hauptsächlich Haut- und Weichteilinfektionen wie Furunkel und Abszesse (Issartel et al. 2005, Chambers 2005, Lina et al. 1999, del Giudice et al. 2009). Meist entwickeln sich diese Prozesse dabei ohne erkennbare Eintrittspforte auf primär intakter Haut, so dass das initial oft unscheinbare klinische Bild häufig als Insektenstich gedeutet wird (Dominguez 2004). Typisch ist, dass vorwiegend jüngere Patienten betroffen sind und eine ausgeprägte Rezidivneigung besteht: Einzelfälle mit über 100 Rezidiven innerhalb von vier Jahren oder Krankheitsverläufe über zehn Jahre wurden beschrieben (Linde und Lehn 2008, Vonberg et al. 2008, Ramos et al. 2009). Beachtenswert ist außerdem die starke Ausbreitungstendenz der Erreger. In Lebensgemeinschaften (Familie, Sexualpartner) oder anderen Personengruppen mit engem körperlichem Kontakt (Schulklassen, Sportler, Gefängnisinsassen, Soldaten, Schiffsbesatzungen, medizinisches Personal) sind Übertragungen bzw. Ausbrüche häufig (Huijsdens et al. 2006b, Cook et al. 2007, Boubaker et al. 2004, Begier et al. 2004, Main et al. 2005, Ellis et al. 2009, Linde und Lehn 2005, Durupt et al. 2007). Im Rahmen eines Ausbruchsgeschehens in einem Dorf mit 144 Einwohnern in 58 Haushalten in Brandenburg ereigneten sich zwischen 2002 und 2004 insgesamt 42 Infektionsfälle und 59 Rezidive von Furunkeln oder Abszessen durch PVL-bildende *S. aureus* ohne Methicillin-Resistenz.

Im Südosten Bayerns kam es 2004 zu zwei voneinander unabhängigen nosokomialen Ausbrüchen mit Haut- und Weichteilinfektionen durch PVL-MRSA. Der erste Ausbruch betraf 52 Patienten und 21 Mitarbeiter aus einem Krankenhaus und Altenheimen bzw. Rehaeinrichtungen, der zweite fand auf einer neonatologischen Station statt. Durch molekulare Typisierung wurden dabei zwei verschiedene klonale Linien, MLST 22 und MLST 80, als Erreger identifiziert. In beiden Fällen waren Patienten und Personal sowohl besiedelt als auch von Infektionen betroffen (Linde et al. 2005).

Schwere Erkrankungen mit nekrotisierendem Verlauf sind hingegen selten. Für die nekrotisierende Pneumonie durch PVL-bildende Staphylokokken spielen Virusinfekte wie Influenza als Wegbereiter eine wichtige Rolle. Sie begünstigen eine Kolonisation der oberen Atemwege mit *S. aureus* und behindern dessen physiologische Beseitigung durch Schädigung der Ziliarfunktion (Etienne 2005). Nach einem grippeähnlichen Prodromalstadium kommt es plötzlich zu einer akuten Verschlechterung des Allgemeinzustandes mit Fieber, Hämoptysen, Dyspnoe und Leukozytopenie (Etienne 2005). Der Verlauf ist rasch progredient und hat mit 75% gegenüber 36% eine deutlich höhere Letalität als Pneumonien durch *S. aureus* ohne PVL (Gillet et al. 2002).

Miller et al. (2005) haben im Rahmen der in den USA zunehmenden Prävalenz von cMRSA in Los Angeles 14 Fälle von ambulant erworbener nekrotisierender Faszitis beobachtet, bei denen die bakteriologische Kultur anstelle des klassischen Erregerspektrums wie *Streptococcus pyogenes* und Anaerobier untypischerweise überwiegend cMRSA in Reinkultur (12/14, 86%) ergeben hat. Außer PVL wurden keine weiteren Staphylokokkentoxine nachgewiesen. Bei acht dieser Patienten (57%) wurden als präoperative Diagnose lediglich Abszesse angegeben, was auf die klinisch unerwartete Ausdehnung der Weichteilnekrosen hindeutet. Neben eher protrahierten Verlaufsformen über einige Tage zeigten einzelne Fälle auch ein rapides Fortschreiten der Gewebedestruktion innerhalb weniger Stunden. Überraschenderweise gab es keine Todesfälle, obwohl die Letalität der nekrotisierenden Faszitis üblicherweise über 30% beträgt (Miller et al. 2005). Ein weiteres, für *S. aureus* eher uncharakteristisches Krankheitsbild ist das Waterhouse-Friderichsen-Syndrom. Dieses sonst in der Regel mit einer Meningokokkensepsis assoziierte Syndrom beschreibt eine meist im (Klein-) Kindesalter auftretende foudroyante Sepsis mit Kreislaufkollaps, Koagulopathie, petechialen Hauteinblutungen und beidseitigen hämorrhagischen Nebennierennekrosen, die meist innerhalb weniger Stunden letal endet. Adem et

al. konnten sowohl cMRSA als auch PVL-MSSA als Auslöser eines Waterhouse-Friderichsen-Syndroms darstellen (Adem et al. 2005). Als weitere ebenfalls selten auftretende PVL-assoziierte Erkrankungen wurden Pyomyositis, Osteomyelitis, septische Arthritis, Endokarditis und Endophthalmitis beschrieben (Gonzalez et al. 2005, Miller et al. 2005). Ramos et al. berichteten über einen Hirnabszess durch PVL-MSSA bei einem 34-jährigen Patienten mit rezidivierender Furunkulose. Als Ursache wurde eine von den Hautinfektionen ausgehende hämatogene Osteomyelitis des Os parietale als Grundlage für ein Übergreifen der Infektion auf Dura mater und Hirnparenchym vermutet (Ramos et al. 2009).

Im Zusammenhang mit den häufig durch *S. aureus* verursachten Bakteriämien scheint der Virulenzfaktor Panton-Valentine-Leukozidin hingegen keine bedeutende Rolle zu spielen, die Nachweisrate aus Blutkulturen beträgt hier nur 1-2% (Melles et al. 2006, Ellington et al. 2007, Johnsson et al. 2004).

1.4 Resistenz gegenüber Betalaktam-Antibiotika

1.4.1 Penicillin-Resistenz

Penicillin wurde 1928 von Alexander Fleming entdeckt und 1941 als Vorreiter der Betalaktam-Antibiotika in die Therapie eingeführt. Betalaktam-Antibiotika führen durch Interaktion ihrer Betalaktambindung mit dem aktiven Zentrum der bakteriellen Transpeptidasen (Penicillin-bindende Proteine, PBP), welche die Synthese von Peptidoglykan katalysieren, zu einer Hemmung des Zellwandaufbaus. Es kommt zum Zelltod durch Autolyse.

Inzwischen sind in Deutschland 75% der *S. aureus*-Stämme gegenüber Penicillin resistent (Kresken et al. 2009). Der Resistenzmechanismus beruht auf der Bildung des Enzyms Penicillinase (Betalaktamase), welches die Wirksamkeit des Penicillins durch hydrolytische Spaltung des Betalactamrings aufhebt. Diese Betalaktamasen können durch Zusatz von Betalaktamase-Inhibitoren wie Clavulansäure, Tazobactam oder Sulbactam gehemmt werden. Primär penicillinasefeste Betalactam-Antibiotika wie Cefalosporine oder Carbapeneme bleiben uneingeschränkt wirksam.

1.4.2 Methicillin-Resistenz

1959 wurde mit Methicillin das erste gegenüber Staphylokokken-Penicillinase relativ stabile Penicillinderivat entdeckt (Rolinson et al. 1960). Schon innerhalb eines Jahres nach seiner Markteinführung folgten bereits erste Berichte über Methicillin-resistente Staphylococcus aureus (MRSA) und es wurde vor deren Ausbreitung gewarnt (Jevons 1961, Stewart und Holdt 1963). Aufgrund der lediglich parenteralen Verfügbarkeit und seiner Toxizität wurde Methicillin später durch andere semi-synthetische Penicilline (Oxacillin, Cloxacillin, Dicloxacillin, Flucloxacillin) abgelöst. Das Wirkprinzip dieser als Isoxazolylpenicilline bezeichneten Derivate basiert auf einer durch Substitution veränderter Seitenketten am Betalaktamring bedingten sterischen Veränderung, die eine Bindung der Staphylokokken-Penicillinase verhindert (Rosin 1992). Abgeleitet von der heute auch für die *in-vitro*-Resistenztestung gebräuchlichen Nachfolgesubstanz Oxacillin werden die Bezeichnungen MRSA und ORSA (Oxacillin-resistenter *S. aureus*) gelegentlich synonym verwendet. Methicillin- bzw. Oxacillin-empfindliche *S. aureus*-Stämme werden als MSSA (Methicillin-sensible *S. aureus*) bezeichnet.

Der einer Methicillin-Resistenz zugrunde liegende Mechanismus basiert auf einer erworbenen Resistenzdeterminante (*mecA*-Gen), welches für ein zusätzliches, modifiziertes Penicillin-Bindeprotein mit geringer Affinität zu Betalaktam-Antibiotika kodiert. Dieses sterisch veränderte Protein wird als PBP2a (syn. PBP2') bezeichnet und bewirkt eine Kreuzresistenz gegenüber allen derzeit verfügbaren Betalaktam-Antibiotika (Penicilline, Cefalosporine und Carbapeneme) (Chambers et al. 1990). Einige Staphylokokkenstämme können trotz genetisch determinierter Methicillin-Resistenz in den üblichen mikrobiologischen Standardverfahren sensibel erscheinen, da lediglich ein kleiner Teil der Population die Resistenz in dem Maße exprimiert, dass sie phänotypisch erkennbar wird. Dieses Phänomen wird als Heteroresistenz bezeichnet (Gatermann und Kaase 2008). Hinzu kommt, dass in manchen Fällen die der Resistenztestung zugrunde liegende Minimale Hemmkonzentration (MHK) für Oxacillin unterhalb der maßgeblichen Grenzwerte zur Feststellung einer Resistenz liegen kann. Dies betrifft in der Regel MRSA-Stämme ohne Mehrfachresistenzen und macht im Zweifelsfall einen molekularbiologischen Nachweis des *mecA*-Gens oder ein Latexagglutinationsverfahren zur Detektion des PB2a erforderlich (Merlino et al. 2002).

Das *mecA*-Gen selbst ist Teil eines komplexen mobilen genetischen Elementes, der sogenannten „Staphylococcal Cassette Chromosome *mec*“ (SCC*mec*). Diese enthält des Weiteren Regulatorgene, Rekombinasen sowie eine Reihe anderer

Genelemente, die u.a. für weitere Antibiotika-Resistenzen kodieren können. Bisher sind fünf verschiedene SCCmec-Grundtypen (I-V) unterschiedlicher Größe bekannt, wobei sich SCCmec IV in zwei Subtypen differenzieren lässt. Genetische Untersuchungen zur Evolution von MRSA haben ergeben, dass verschiedene MRSA-Stämme durch die Übertragung des *mecA*-Gens bzw. Integration unterschiedlicher SCCmec-Kassetten in das Genom primär empfindlicher *S. aureus*-Stämme entstanden sind (Deresinski 2005, Robinson et al. 2005, Holden et al. 2004, Enright et al. 2002, Diep et al. 2006).

MRSA sind inzwischen weltweit verbreitet. Seit Ende der 1990er Jahre hat ihre Prävalenz in vielen europäischen Ländern stark zugenommen (Tiemersma et al. 2004). Erhebungen der Paul-Ehrlich-Gesellschaft (PEG) zeigen für Deutschland innerhalb der letzten 14 Jahre einen Anstieg des Anteils Oxacillin-resistenter Stämme von unter 2 % (1990) auf über 20% (2007) der untersuchten *S. aureus*-Isolate.

Der Anstieg der Häufigkeit von MRSA in Krankenhäusern wird dabei durch die Verbreitung von epidemischen MRSA-Stämmen getragen, die durch molekulare Typisierungsverfahren definiert sind. Hierzu gehört auch die Multi-Locus-Sequenz-Typisierung (MLST), die auf der DNS-Sequenzierung einer Auswahl essentieller Haushaltsgene beruht. Für eine internationale Nomenklatur werden den einzelnen klonalen Linien von den jeweiligen MLST-Typen abgeleitete Kennziffern zugeordnet, für die in Deutschland wiederum epidemiologisch basierte Bezeichnungen gebräuchlich sind. Durch den Vergleich dieser genomischen Typisierungen konnte gezeigt werden, dass bestimmte Epidemiestämme nicht nur über ganz Europa, sondern zum Teil sogar weltweit verbreitet sind (Enright et al. 2002). Die regionale Verteilung dieser Epidemiestämme ist in deutschen Krankenhäusern sehr unterschiedlich und weist teilweise dynamische Veränderungen auf. So sind die klonalen Linien mit der deutschen Bezeichnung „Barnim-Epidemiestamm“ und „Berliner Epidemiestamm“ beispielsweise vor allem in Norddeutschland verbreitet, während MRSA der Gruppe „Rhein-Hessen-MRSA“ früher im Westen und Südwesten der Republik angesiedelt waren und inzwischen über das gesamte Bundesgebiet verbreitet sind. Gemeinsam mit dem „Süddeutschen Epidemiestamm“ machen diese vier klonalen Komplexe die hierzulande am weitesten verbreiteten MRSA-Gruppen als Verursacher schwerer nosokomialer Infektionen wie Sepsis, Beatmungsassoziierte Pneumonien und Wundinfektionen aus (Witte 2008). Zu den davon am häufigsten betroffenen Fachbereichen gehören die Innere Medizin, interdisziplinäre Intensivstationen, Chirurgie und Neurologie. Die von den Epidemiestämmen

getragenen SCCmec-Kassetten I-III beinhalten in der Regel auch Resistenzgene für Nicht-Betalaktame (Boyle-Vavra und Daum 2007). Viele der hier verbreiteten Stämme, vor allem der in Norddeutschland dominierende „Barnim-Epidemiestamm“, sind daher neben ihrer Betalaktam-Resistenz auch gegenüber weiteren Antibiotika wie Erythromycin, Clindamycin, Chinolonen oder Tetrazyklin resistent, was eine weitere Einschränkung der therapeutischen Optionen zur Folge hat. Insgesamt gesehen sind MRSA-Infektionen mit einer erhöhten Morbidität und Mortalität, einer längeren Krankenhausverweildauer und höheren Kosten für das Gesundheitswesen assoziiert (Kluytmans und Struelens 2009, Cosgrove et al. 2003).

1.5 Epidemiologisch basierte Nomenklatur von MRSA

Seit ihrer Erstbeschreibung 1961 haben sich MRSA primär in Krankenhäusern verbreitet. Gegen Ende der 1990er Jahre sorgten jedoch vier letal verlaufene Fälle ambulant erworbener Pneumonien bei zuvor gesunden Kindern für Aufsehen, bei denen ungewöhnliche MRSA-Stämme isoliert wurden. Im Vergleich zu den bisher bekannten Stämmen zeigten diese einen auffallend empfindlichen Resistenzphänotyp sowie andere molekulare Eigenschaften, und die Kinder wiesen keine der bekannten Risikofaktoren für nosokomiale MRSA auf (CDC 1999). Auch aus anderen Regionen der USA (Stemper et al. 1999) bzw. anderen Ländern (Collignon et al. 1998, Gardam 2000) wurde über die unerwartete Isolierung von MRSA-Stämmen bei Kindern und Erwachsenen ohne Kontakt zu medizinischen Einrichtungen berichtet. Für diese Isolate wurde wegen dieser epidemiologischen Auffälligkeit die Bezeichnung „community-acquired (oder -associated) MRSA“ eingeführt und eine eigenständige Verbreitung dieser Stämme außerhalb medizinischer Einrichtungen angenommen. Mittels molekular-biologischer Verfahren konnte gezeigt werden, dass sich diese „neuen“ MRSA durch den Transfer bestimmter *mecA*-Gen-tragender SCCmec-Kassetten (SCCmec IV, selten V) auf ursprünglich Methicillin-empfindliche hypervirulente *S. aureus*-Stämme unabhängig von den nosokomialen Stämmen entwickelt haben (Robinson und Enright 2004). Die in Krankenhäusern verbreiteten Epidemiestämme tragen dagegen üblicherweise die SCCmec-Kassetten I-III (Ito et al. 2003). Des Weiteren haben „community-acquired“ MRSA in der Regel die Fähigkeit zur Bildung von PVL erworben (Boyle-Vavra und Daum 2007). Die nur entfernte genetische Verwandtschaft ließ eine epidemiologische Differenzierung der MRSA sinnvoll erscheinen. So wurden zunächst hospital-acquired MRSA (syn.

hospital-associated/ -onset/ h(a)MRSA) von community-acquired (syn. community-associated/ -onset/ c(a)MRSA) unterschieden. Allerdings führte eine inzwischen in vielen Ländern – mit teilweise großen regionalen Unterschieden – zunehmende Prävalenz von nosokomialen MRSA auch zu deren Verbreitung in der Normalbevölkerung. Andererseits wurden c(a)MRSA in Krankenhäuser und Pflegeeinrichtungen eingetragen (Saiman et al. 2003, Baldan et al. 2008, Raab et al. 2006, Otter und French 2006). Dieses offenkundige Zirkulieren unterschiedlicher MRSA-Stämme mit verschiedenen Eigenschaften innerhalb und außerhalb von Krankenhäusern hatte in der Literatur die Verwendung einer verwirrenden Vielzahl von Definitionen und Abkürzungen zur Folge, was zugleich die Vergleichbarkeit verschiedener Untersuchungen beeinträchtigt. Die meisten Studien definieren „community-acquired“ als Nachweis innerhalb von 48 bzw. 72 Stunden nach stationärer Aufnahme, was eine dem Nachweis vorausgegangene (u.U. monatelang asymptomatisch persistierende) Kolonisation ebenso unberücksichtigt lässt wie Risikofaktoren oder die Verbreitung nosokomialer Stämme im persönlichen Umfeld zuvor stationär behandelter hMRSA-Träger (Salgado et al. 2003, Gosbell 2005).

Seit einigen Jahren wird außerdem vermehrt über MRSA-Stämme bei Tieren und deren Transmission auf den Menschen berichtet (Huijsdens et al. 2006a, Witte et al. 2007b, Weese et al. 2005). Insbesondere das Auftreten von Infektionen mit einem bei Schweinen als nasaler Besiedler weit verbreiteten MRSA unter Patienten mit beruflichen und / oder familiären Tierkontakten weist auf das anthroozootische Potential einiger MRSA-Stämme hin (Cuny et al. 2009, Köck et al. 2009). Nach molekularer Typisierung wurden diese bei Schweinen endemischen Stämme als MRSA ST398 charakterisiert.

Daher ist es heute zweckmäßig, zwischen (1) MRSA, die mit Einrichtungen der stationären Behandlung oder Pflege im Zusammenhang stehen (hospital-acquired MRSA, haMRSA), (2) MRSA, die in medizinischen Einrichtungen akquiriert und erst nach Entlassung als Besiedler oder Infektionserreger im häuslichen Milieu in Erscheinung treten (hospital-acquired community-associated MRSA, hcaMRSA) und (3) MRSA von Nutztieren (livestock-associated MRSA, laMRSA) zu unterscheiden. Dabei sind haMRSA und hcaMRSA mit den klassischen Risikofaktoren (Krankenhausaufenthalte, Langzeit-Antibiotikagaben, chirurgische Eingriffe etc.) assoziiert, während Auftreten und Verbreitung von caMRSA davon unabhängig sind. laMRSA sind dagegen im Hinblick auf das eigentliche Erregerreservoir mit

intensiver Nutztierhaltung (vorrangig Schweine, Mastkälber und Geflügel) verbunden.

1.6 Community-acquired MRSA (cMRSA)

1.6.1 Verbreitung von cMRSA in Nordamerika und Australien

Erste Berichte über cMRSA wurden bereits Anfang der 1980er Jahre in den USA publiziert. Saravolatz et al. veröffentlichten 1982 eine Fall-Kontroll-Studie zu ambulant erworbenen MRSA-Infektionen unter 24 Drogenabhängigen aus Detroit, die sich zur Prophylaxe von Hautinfektionen zusätzlich Cefalosporine parenteral verabreichten. Aufgrund von Übereinstimmungen zwischen den isolierten MRSA mit den in Krankenhäusern der Region vorherrschenden Stämmen handelte es sich hierbei jedoch wahrscheinlich um einen Ausbruch durch nosokomiale MRSA (Saravolatz et al. 1982, Gardam 2000). Ähnlich verhielt es sich auch mit späteren Berichten, in denen teilweise verschiedene Definitionen für cMRSA zugrunde gelegt wurden, die klassischen Risikofaktoren unberücksichtigt blieben oder auf einen Vergleich mit nosokomialen Stämmen verzichtet wurde. Dies hatte wahrscheinlich in vielen Fällen eine Fehleinschätzung des Ursprungs der Infektion zur Folge (Gardam 2000). Erste Mitteilungen über MRSA-Infektionen ohne Bezug zu einem vorausgegangenem Krankenhausaufenthalt oder den klassischen Risikofaktoren betrafen Mitte der 1990er Jahre Angehörige der indianischen Bevölkerung in südkanadischen Prärieregionen, ähnliche Berichte aus Texas und Minnesota folgten (Embil et al. 1994, Moreno et al. 1995, Naimi et al. 2001). Auch Groom et al. beschrieben mittels einer retrospektiven Kohortenstudie das Aufkommen von MRSA in einer Indianischen Gemeinschaft in Neu Mexiko, bei denen 74% der innerhalb eines Jahres (1997) asservierten Stämme von Patienten ohne Risikofaktoren für hMRSA stammten. Die Isolate waren lediglich gegenüber Betalaktamen resistent und ihre molekularbiologische Verwandtschaft legte die Vermutung nahe, dass sich in dieser Gemeinschaft ein oder mehrere MRSA-Stämme bzw. Subtypen ambulant verbreiteten (Groom et al. 2001). Mit dem Auftreten von vier MRSA-assoziierten Todesfällen bei Kindern mit ambulant erworbenen Infektionen in Nord Dakota und Minnesota rückten cMRSA wegen der ungewöhnlich schweren Krankheitsverläufe in den Fokus der Fachöffentlichkeit. Bei den Kindern bestand weder eine prädisponierende Grunderkrankung noch waren sie zuvor hospitalisiert. Bei den gewonnenen MRSA-Isolaten fanden sich neben der Empfindlichkeit gegenüber Non-Betalaktamen ebenfalls Zeichen klonaler Verwandtschaft mit deutlichen

Unterschieden gegenüber nosokomialen Stämmen (CDC 1999). Trotz der klonalen Ähnlichkeit zwischen diesen ungewöhnlichen MRSA-Stämmen konnten Groom et al. mit Ausnahme der geografischen Nähe keinen epidemiologischen Zusammenhang zu den Patienten ihrer Studie ermitteln, was auf eine endemische Verbreitung in dieser Region hindeutete (Groom et al. 2001). Andere Erhebungen bestätigten dies durch den Nachweis klonaler Übereinstimmungen in über 80% der untersuchten cMRSA. Dabei machten drei verwandte Subtypen zwei Drittel aller Isolate aus, die auch in anderen Regionen des amerikanischen Mittelwestens beobachtet wurden (Naimi et al. 2001). Herold et al. erkannten in einer retrospektiven Untersuchung in einem Kinderkrankenhaus in Chicago einen 26-fachen Anstieg der MRSA-Prävalenz unter Kindern ohne Risikofaktoren, wobei die Erreger häufiger mit Infektionen als mit einer Kolonisation assoziiert waren (Herold et al. 1998). Die auffällige Verbreitung von cMRSA unter jungen gesunden Personen in der Allgemeinbevölkerung ließ im Hinblick auf die vier letalen Verläufe schon frühzeitig die empirische Therapie mit Betalaktam-Antibiotika in Frage stellen, da der Zeitverzug durch eine inadäquate Behandlung ein Fortschreiten der Infektion bis hin zu lebensbedrohlichen Komplikationen begünstigt (Naimi et al. 2001).

Für eine bessere Vergleichbarkeit von Surveillance-Studien haben die US-Gesundheitsbehörden (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) in der Folge eine einheitliche Falldefinition für „community-associated MRSA“ vorgeschlagen. Danach gilt für cMRSA eine Diagnose im ambulanten Bereich oder der kulturelle Nachweis innerhalb von 24 Stunden nach stationärer Aufnahme bei Ausschluss folgender Risikofaktoren: Krankenhausaufenthalt, Operation, Dialyse oder Aufenthalt in einem Altenpflegeheim innerhalb eines Jahres vor Erkrankungsbeginn, Dauerkatheter oder andere permanent invasive Zugänge sowie ein MRSA-Nachweis in der Vorgeschichte (CDC 2004).

cMRSA haben sich seit Ende der 1990er Jahre über viele US-Bundesstaaten sowie angrenzende Regionen Kanadas ausgebreitet und wiederholt Ausbrüche verursacht (CDC 2003a, CDC 2003b, CDC 2003c, Begier et al. 2004, Wylie und Nowicki 2005, Hidron et al. 2009). Inzwischen haben sich cMRSA in einigen Regionen der USA zur häufigsten Ursache ambulant erworbener Haut-/ Weichteilinfektionen entwickelt. In einer Prävalenzstudie unter Beteiligung von 11 Ambulanzen verschiedener US-Städte wurde im August 2004 in durchschnittlich zwei Dritteln der Fälle (59%) MRSA als Infektionserreger nachgewiesen (Moran et al. 2006). Eine Surveillance in Georgia ergab einen cMRSA-Anteil von 87% (King et al. 2006). In Chicago (Illinois) zeigte sich ein 6,8-facher Anstieg der cMRSA-Inzidenz

über einen Zeitraum von 6 Jahren (Hota et al. 2007). Interessanterweise wurden Haut- und Weichteilinfektionen, vor allem Abszesse und Pyodermien, nach Erhebungen zur Häufigkeit von Arztkontakten zunehmend in Polikliniken und Notaufnahmen anstelle von Arztpraxen behandelt, was auf eine Progression zu komplizierteren Infektionsverläufen hindeutet und von den Autoren auf die Zunahme von cMRSA-Infektionen zurückgeführt wurde (McCaig et al. 2006).

Ähnliche Entwicklungen wie in Nordamerika zeigten sich auch in Australien und dem südwestpazifischen Raum. Nach ersten Berichten über cMRSA bei australischen Ureinwohnern breiteten sich später verschiedene Stämme, darunter die drei dominierenden Klone „Western Australian strain“, „Queensland strain“ und „South-Western Pacific strain“ (syn. „Oceania strain“), mit regional unterschiedlicher Häufigkeit aus. Beispielsweise nahm der Anteil von cMRSA zwischen 2000 und 2004 kontinuierlich von 4,7 auf 7,3% der *S. aureus*-Isolate zu (Udo et al. 1993, Gosbell 2005, Nimmo et al. 2006).

1.6.2 Verbreitung von cMRSA in Europa

cMRSA sind inzwischen weltweit verbreitet und seit 2002 wurde ihr Vorkommen auch aus Europa beschrieben. Erste Berichte kamen aus Finnland, Frankreich, der Schweiz und den Niederlanden (Salmenlinna et al. 2002, Vandenesch et al. 2003). Die Mehrzahl dieser Stämme wurde unterdessen umfassend molekularbiologisch charakterisiert, wobei sich die genotypischen Merkmale sowohl in der Multilocus-Sequenzierung als auch in der Typisierung nach SCCmec und dem für Protein A-kodierenden spa-Gen von cMRSA aus verschiedenen Teilen der Welt voneinander unterscheiden. Sie sind wahrscheinlich unabhängig voneinander aus virulenten MSSA hervorgegangen und zeigen auch keine genetische Übereinstimmung mit nosokomialen Stämmen (Okuma et al. 2002, Vandenesch et al. 2003).

In den USA dominieren derzeit Varianten des cMRSA-Stammes „USA300“ (MLST-Muster ST8, spa-Typ t008) als Erreger von Haut- und Weichgewebeeinfektionen, sein Anteil an den amerikanischen MRSA-Isolaten beträgt 67-99% (Klevens et al. 2007, Hota et al. 2007, Moran et al. 2006, King et al. 2006). Während in Australien und Süd-Ost-Asien Stämme vom MLST-Typ ST30 vorherrschend sind, finden sich in Europa vorwiegend cMRSA vom Typ ST80, die sich meist dem spa-Typ t044 (seltener t131) zuordnen lassen (Witte 2008, Vandenesch et al. 2003, Faria et al. 2005). Erste Berichte über cMRSA in Europa stammten aus Finnland, wo 2002

drei unterschiedliche Klone auftraten (Salmenlinna et al. 2002). In der Folge wurden aus Frankreich 14 Fälle mit cMRSA-Infektionen beschrieben, die alle einem PVL-positiven Stamm zugeordnet werden konnten, der neben Oxacillin auch gegenüber Fusidinsäure und Tetrazyklin resistent war (Dufour et al. 2002). Auch aus den Niederlanden, der Schweiz, Norwegen, Belgien, Schottland und Dänemark wurde über cMRSA ST80 berichtet (Wannet et al. 2005, Liassine et al. 2004, Denis et al. 2005, Witte et al. 2004, Faria et al. 2005). In Europa scheint die Prävalenz von cMRSA mit 0,03-1,5% noch relativ gering zu sein (Tiemersma et al. 2004). Allerdings findet durch Reiseaktivitäten ein globaler Austausch der verschiedenen Entwicklungslinien statt, so dass sich epidemisch erfolgreiche Stämme möglicherweise weiter ausbreiten (Linde und Lehn 2008).

1.6.3 Vorkommen von cMRSA in Deutschland

In Deutschland fielen cMRSA erstmals in der zweiten Hälfte des Jahres 2002 unter den im Nationalen Referenzzentrum für Staphylokokken (RKI, NRZ Wernigerode) zur Typisierung eingesandten MRSA auf. Diese stammten von sporadischen Infektionen bzw. nachgewiesener Kolonisation aus neun regional unterschiedlichen Krankenhäusern. Keiner der Patienten war zuvor in stationärer Behandlung oder in einer Pflegeeinrichtung untergebracht. Zwischen Dezember 2002 und Juni 2003 wurden bundesweit vier weitere Fälle mit Hautinfektionen beobachtet. Dabei handelte es sich um ein arabisch-stämmiges Kind, eine Frau mit Wohnsitz in Deutschland und Ägypten sowie ein griechisch-stämmiges Kind mit jeweils multiplen Abszessen; bei einem weiteren Patienten mit Panaritium wurde die Infektion offenbar in Russland erworben. Es handelte sich in allen Fällen um cMRSA ST80 (spa-Typ 044), was eine inzwischen weit reichende Verbreitung der aus anderen Ländern Europas beschriebenen Stämme vermuten ließ. Zudem wurde die in Europa bisher seltene Fusidinsäure-Resistenz (~3%) dieser Stämme als Merkmal für das Aufkommen dieses Klons hervorgehoben (Witte et al. 2004). In den darauf folgenden Jahren handelte es sich zwar weiterhin überwiegend um sporadische Nachweise, allerdings zeigten sich diese – mit zunehmender Tendenz – über das gesamte Bundesgebiet verteilt. Im Jahre 2004 bildeten cMRSA noch einen Anteil von 1,1% aller an das NRZ zur Typisierung eingesandten MRSA, für die Jahre 2005 und 2006 erhöhte sich ihr Anteil bereits jeweils auf 1,5% bzw. 2,7%. Auch in diesen beiden Jahren standen tiefgehende Haut- und Weichgewebeeinfektionen im Vordergrund und die Mehrzahl der Isolate gehörte mit den spa-Typ t044 und t131 zur klonalen Linie ST80 (Witte 2008). Eine besondere Situation bestand zu dieser

Zeit offenbar im Südosten Bayerns, wo der Anteil von cMRSA rund 5% aller MRSA ausmachte (Linde et al. 2005, Linde und Lehn 2008). Die Mehrzahl der Fälle stammte aus zwei unverbundenen nosokomialen Ausbrüchen (MLST22 und 80), eine zweite große Gruppe bestand aus Reiserückkehrern aus dem Mittleren Osten, Südostasien und dem Mittelmeerraum. Hier wurden mit ST8, 22, 30 und 80 entsprechend verschiedene MLST-Muster nachgewiesen (Linde und Lehn 2005). Inzwischen sind demnach die in den USA vorherrschenden cMRSA der klonalen Linie ST8 („USA300“, spa-Typ t008) auch in Deutschland angekommen. Unter den am NRZ in den Jahren 2005 und 2006 untersuchten cMRSA gehörten 18 Stämme dieser klonalen Linie an. Es handelte sich jeweils um Einzelfälle, wobei sich in sechs Fällen ein Zusammenhang mit Bürgern der USA herstellen ließ. In zwei Fällen fand eine nosokomiale Transmission statt (Witte 2008). Wie schon in den USA beobachtet, trat cMRSA ST08 auch in Deutschland in der Homosexuellen-Szene auf (Witte et al. 2008). Insgesamt sind cMRSA hierzulande jedoch nach wie vor selten.

1.6.4 Zusammenfassung der charakteristischen Merkmale von cMRSA

Beinahe alle cMRSA besitzen das lukS-lukF-Gen für Panton-Valentine-Leukozidin und das SCCmec-Element IV, selten V. Das SCCmec-Element IV ist mit einer Länge von 21-25 Kilobasen (kb) im Vergleich zu den in hMRSA vertretenen SCCmec-Kassetten (I, II, III mit 34-67 kb) deutlich kleiner und beinhaltet außer dem mecA-Gen keine weiteren Resistenzdeterminanten. In Übereinstimmung hierzu fehlt den cMRSA die für hMRSA typische Multiresistenz (Okuma et al. 2002). Sie sind in der Regel nur gegenüber Oxacillin bzw. Betalaktamen resistent oder haben lediglich wenige zusätzliche Resistenzeigenschaften erworben (Vandenesch et al. 2003, Ito et al. 2004). Diese können Erythromycin, Chinolone, Aminoglycoside oder Tetrazykline betreffen. In Europa verbreitete cMRSA weisen häufig auch eine verminderte Empfindlichkeit gegenüber Fusidinsäure auf (Vandenesch et al. 2003, Linde und Lehn 2005, Tristan et al. 2007). cMRSA zeigen eine deutliche Heteroresistenz gegenüber Oxacillin sowie relativ niedrige Oxacillin-MHK-Werte, die mitunter nur 1-2 mg/l betragen, so dass bei Verwendung phänotypischer Testmethoden unter Bezug auf die üblichen Grenzwerte (DIN, CLSI) Fehlinterpretationen auftreten können (Linde und Lehn 2008). cMRSA sind in der Lage, sich im Vergleich zu den nosokomialen Epidemiestämmen signifikant schneller zu vermehren. Ihre höhere Zellteilungsrate könnte in Abwesenheit von

Antibiotika gegenüber konkurrierenden Spezies von Vorteil sein und damit eine erfolgreiche Kolonisation begünstigen (Okuma et al. 2002).

1.7 Zielsetzung der vorliegenden Untersuchungen

Bei der Therapie von Furunkeln und Abszessen, den Hauptmanifestationen von PVL-assoziierten Infektionen, steht in der Regel die chirurgische Spaltung mit Drainage des Eiters im Vordergrund (Leitsatz „ubi pus, ibi evacua“). In vielen Fällen wird daher auf eine mikrobiologische Diagnostik verzichtet und – falls erforderlich – eine empirische Antibiotika-Therapie begonnen, die *S. aureus* als häufigen Erreger mit berücksichtigt. Da der molekularbiologische Nachweis von PVL außerdem kein diagnostisches Routineverfahren darstellt und cMRSA wegen ihrer phänotypischen Besonderheiten in der Standarddiagnostik möglicherweise oftmals unerkannt bleiben, wird dieses Virulenzmerkmal im Allgemeinen vermutlich nur selten erfasst.

Für Deutschland liegen daher bislang nur wenige Daten zum Vorkommen von PVL-bildenden MSSA und MRSA vor. Aus diesem Grund sollte in der vorliegenden prospektiven Prävalenzstudie gezielt die Häufigkeit von PVL-bildenden *S. aureus*-Stämmen (PVL-MSSA und cMRSA) im ambulanten Versorgungssektor in Niedersachsen ermittelt werden. Es sollte außerdem versucht werden, die Art und Lokalisation der PVL-assoziierten Infektionen zu charakterisieren.

Darüber hinaus wurde den von PVL-assoziierten Infektionen betroffenen Probanden Nasenabstriche zur Ermittlung ihres nasalen Trägerstatus sowie Umgebungsuntersuchungen angeboten, um auch Hinweise auf familiäre Häufungen bzw. anderweitige Infektketten zu bekommen. Zu diesem Zweck sollten nach Möglichkeit Abstriche von Haushaltsmitgliedern, engen Kontaktpersonen und ggf. auch Haustieren in die Erhebungen mit einbezogen werden. Neben der individualmedizinischen Bedeutung der erhobenen Befunde sollte durch die Empfehlung, alle identifizierten Träger zu sanieren, zugleich einer Weiterverbreitung der Erreger entgegengewirkt werden.

2. Material und Methoden

2.1 Studiendesign

Im Rahmen der von Mai 2007 bis Mai 2009 durchgeführten Studie sollten Wundabstriche von ambulant behandelten Patienten mit rezidivierenden, schwer verlaufenden, z.B. mit Nekrosebildung einhergehenden oder therapierefraktären Haut- und Weichteilinfektionen auf PVL-bildende MSSA bzw. MRSA untersucht werden. Zu diesem Zweck wurden in Niedersachsen niedergelassene Dermatologen, Chirurgen, Pädiater, Allgemeinärzte sowie in Justizvollzugsanstalten tätige Ärzte um Unterstützung gebeten. Das auf die Staphylokokken-Diagnostik beschränkte Untersuchungsangebot war für die teilnahmebereiten Ärzte kostenlos. Sie erhielten neben einer ausführlichen Studienbeschreibung entsprechende Patienteninformationen mit Einverständniserklärung, spezielle Einsendescheine (siehe Abschnitt 2.4) sowie Abstrich- und Versandmaterial. Bei Nachweis von *S. aureus* erfolgte eine umfassende Resistenztestung unter Bestimmung der Minimalen Hemmkonzentration (MHK) gängiger Antibiotika sowie eine molekularbiologische Untersuchung auf die PVL-kodierenden Determinanten lukS und lukF. Bei Nachweis des Virulenzmarkers PVL wurde das *S. aureus*-Isolat außerdem auf das die Methicillin-Resistenz kodierende mecA-Gen untersucht, um trotz phänotypischer Heteroresistenz eine sichere Detektion von MRSA zu gewährleisten. Der Endbefund umfasste dabei grundsätzlich mindestens das Ergebnis der aeroben Kultur, für jedes *S. aureus*-Isolat das jeweilige Antibiogramm sowie Angaben zum Ergebnis der Untersuchung auf PVL. Bei Nachweis von PVL wurde per Befundanmerkung zusätzlich eine Erhebung des nasopharyngealen Trägerstatus, nach Möglichkeit auch eine Untersuchung enger Kontaktpersonen und entsprechende Sanierungsmaßnahmen empfohlen.

Die mit dem Einsendeschein abgefragten Informationen über Lokalisation und Art der Infektion, Häufigkeit von Rezidiven, antimikrobielle Medikation sowie etwaige Grunderkrankungen wurden über einen anonymisierten Durchschlag erfasst und unter Zuordnung von gesonderten Studien-Labornummern ausgewertet. Dazu wurden die zugehörigen Untersuchungsergebnisse durch einen Datenexport aus dem Labor-EDV-System ergänzt. Die Zusammenführung der Ergebnisse sollte neben der Ermittlung des Anteils PVL-bildender *S. aureus*-Isolate am Gesamtkollektiv auch eine Aussage über die Inzidenz von cMRSA im ambulanten Versorgungssektor Niedersachsens ermöglichen.

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Ärztekammer Niedersachsen genehmigt (Aktenzeichen Bo/08/2007).

2.2 Gewinnung von Einsendern

Neben einem Fachartikel über hypervirulente Staphylokokken im Niedersächsischen Ärzteblatt (Claußen 2007) sollten diverse Vortragsbeiträge zu Veranstaltungsreihen der jeweiligen Berufsverbände für Aufmerksamkeit sorgen. Zu einem späteren Zeitpunkt wurden alle über die Ärztekammer Niedersachsen registrierten Praxen der Fachrichtungen Dermatologie, Chirurgie und Allgemeinmedizin noch einmal schriftlich um Teilnahme gebeten und dem Schreiben ein farbiger Informations-Flyer (siehe Anhang) beilegt, der erneut alle notwendigen Kontaktdaten enthielt. Der Fachbereich Pädiatrie wurde über den Berufsverband der Kinder- und Jugendärzte (Landesverband Niedersachsen) per E-Mail informiert. Den in niedersächsischen Justizvollzugsanstalten (JVA) tätigen Ärztinnen und Ärzten wurde das Thema als Vortrag auf der JVA-Jahrestagung (2007) präsentiert und bei allen Teilnehmern im Nachgang wiederum noch einmal schriftlich um Unterstützung geworben.

Die teilnahmebereiten Ärztinnen und Ärzte wurden schließlich nach persönlicher Rücksprache oder nach Eingang eines studienspezifischen Faxbestellscheins (siehe Anhang) als Einsender erfasst und erhielten das notwendige Abstrich- und Versandmaterial (Abstrichtupfer mit Amies-Medium, Fa. Hain Lifescience, Nehren; Versandgefäß mit Saugeinlage, Fa. Sarstedt, Nümbrecht; Versandbox für Biologische Stoffe der Kategorie B, Fa. Süsse, Gudensberg) postalisch zugesandt. Für jedes Tupferset war ein Aufklärungsbogen mit anhängender Einverständniserklärung (siehe Anhang) zum Verbleib beim Einsender beigelegt, um dem Arzt / der Ärztin die Information der Patienten sowie die Dokumentation einer Einwilligung zu erleichtern.

Im weiteren Verlauf wurde die teilnahmebereite Ärzteschaft nochmals per Fax an die bereits laufende Studie erinnert.

2.3 Auswahl der Patienten

In die Studie sollten Patienten mit ambulant erworbenen Haut- und Weichteilinfektionen einbezogen werden. Als Indikationen für die Einsendung von Abstrichmaterial galten insbesondere Abszesse und infizierte Wunden mit schwerem Krankheitsverlauf (z.B. unter Nekrosebildung) oder auffälliger Rezidivtendenz, jedoch sollten auch Hinweise auf eine familiäre Häufung gleichartiger Infektionen oder ein reiseassoziiertes Auftreten von wiederkehrenden Abszessen ohne erkennbare Eintrittspforte Anlass für eine Untersuchung auf PVL-bildende *S. aureus* geben. Die Indikationen bzw. klinischen Manifestationen waren entsprechend auf dem Einsendeschein zu vermerken. Die Auswahl der Patienten wurde letztlich vom behandelnden Arzt bzw. der Ärztin getroffen, so dass unter Anmerkungen zum Krankheitsbild bzw. -verlauf auch individuelle Indikationen berücksichtigt wurden.

2.4 Beschreibung des Einsendescheines und der damit erhobenen Daten

Der Einsendeschein wurde als zweiseitiger Proben-Begleitschein mit anonymisiertem Durchschlag konzipiert (s. Anhang). Die studieninterne Kennzeichnung bestand aus einer fortlaufenden Nummer mit dem Vermerk „PVL“. Das nicht anonyme Deckblatt diente der elektronischen Auftragserfassung im Labor-EDV-System (Molis, Version 1.04, Fa. Sysmex, Norderstedt) als Voraussetzung für eine im Routinelabor übliche personenbezogene Befunderstellung. Der für die statistische Auswertung herangezogene Durchschlag enthielt lediglich die dem jeweiligen Patienten zugeordnete Studien-Nummer. Die persönlichen Daten blieben im Durchschlag auf die Angabe des Geschlechtes und des Geburtsjahres sowie die ersten drei Postleitzahl-Ziffern des Wohnortes beschränkt.

Die im Einsendeschein abgefragten Parameter umfassten weiterhin Angaben zum Untersuchungsmaterial und der Entnahmestelle sowie das Entnahmedatum. Als klinische Angaben wurde der Erkrankungsbeginn (Tag / Monat / Jahr), das Auftreten von Rezidiven (nein / ja / Anzahl) und die Art der Infektionsmanifestation (Ankreuzoptionen Papel / Pustel, Isolierter / multiple Abszess/e, Wundinfektion, nekrotisierender Verlauf oder Sonstiges mit Freitextfeld) erfragt. Hinsichtlich der Vorgeschichte sollten Angaben zu stationären Aufenthalten bzw. Dialyse oder Antibiotikabehandlungen innerhalb der letzten sechs Monate gemacht werden. Des Weiteren wurde nach Grunderkrankungen und mikrobiologischen Vorbefunden erfragt.

Abschließend enthielt der Einsendeschein noch einen Abschnitt für gesonderte Anmerkungen zum Krankheitsbild bzw. -verlauf. In einem Vermerk am Ende wurde aus wettbewerbsrechtlichen Gründen ausdrücklich darauf hingewiesen, dass die im Rahmen dieser Studie kostenfreie Untersuchung ausschließlich die Diagnostik von *S. aureus* umfasst. Unter ethischen Aspekten wurden dem Einsender allerdings zufällig erhobene, unter Umständen schwerwiegende Nebenbefunde wie beispielsweise der Nachweis von *Streptococcus pyogenes* telefonisch mitgeteilt.

2.5 Labormethoden

2.5.1 Kulturverfahren zur Anzucht von Staphylokokken

Die vom Einsender entnommenen Abstriche wurden primär in eine 2%ige Glucose-Caseinpepton-Bouillon (VWR International, Darmstadt) überführt sowie fraktioniert auf Columbia-Colistin-Nalidixinsäure (CNA) -Agar mit 5% Schafsblut (CNA-Agarbasis: Fa. Becton Dickinson, Heidelberg; Schafsblut: Fa. Fiebig Nährstofftechnik, Idstein-Niederauoff) ausgestrichen und für 24h bei $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ unter aeroben Bedingungen inkubiert. Der im CNA-Agar enthaltene Zusatz von Nalidixinsäure bewirkt eine weitgehende Unterdrückung gramnegativer Bakterien, so dass es sich hierbei um ein Selektivmedium für grampositive Erreger handelt. Durch makroskopische Begutachtung der bebrüteten Kulturmedien konnten *S. aureus*-verdächtige Kolonien meist am Folgetag anhand der typischen Kulturmorphologie identifiziert werden. Charakteristisch für *S. aureus* sind glatte, leicht erhabene Kolonien mit mehr oder weniger gelblichem Pigment, die häufig von einer Beta-Hämolyse umgeben sind. Andernfalls wurden suspekten Kolonien auf eine frische CNA-Platte isoliert oder Mischkulturen ggf. nochmals fraktioniert subkultiviert. Zudem wurden bewachsene Flüssigkulturen grundsätzlich auf bluthaltige Festnährmedien ausgeimpft. Nach 48h erfolgte eine erneute Inspektion des Primäransatzes sowie die Begutachtung sämtlicher Sub- und Anreicherungskulturen.

2.5.2 Speziesdifferenzierung und Resistenztestung

Für eine phänotypische Bestätigung verdächtiger Kolonien wurden diese mit einem kommerziellen Schnelltest gemäß Herstellerangaben auf das Vorhandensein der von *S. aureus* gebildeten Plasmakoagulase untersucht. Mit dem hierfür verwendeten Latexagglutinationstest (Pastorex Staph Plus Kit, Fa. Bio-Rad Laborato-

ries, München) können Kulturoisolate zeitgleich auf Clumping factor, Protein A und spezifische Kapselpolysaccharide untersucht werden. Eine makroskopisch sichtbare Agglutination der enthaltenen farbigen Latexpartikel zeigt eine positive Reaktion an. Eine Negativkontrolle wurde mitgeführt.

Bei einem positiven Ergebnis im Latexagglutinationstest wurden die entsprechenden Bakterienkulturen in Reinkultur zur Herstellung des Inokulums für die Antibiotika-Empfindlichkeits-Testung in 4ml steriler 0,9%iger Kochsalzlösung homogen suspendiert. Das Inokulum wurde dabei im visuellen Vergleich auf einen 0,5-McFarland-Standard (Fa. BioMérieux, Nürtingen) entsprechend etwa 10^8 KBE/ml eingestellt. Diese Suspension wurde mit einer Weiterverdünnung von 1:10 zur Bestimmung der Minimalen Hemmkonzentration (MHK) im Mikrodilutionsverfahren eingesetzt. Das Beimpfen der mit Verdünnungsreihen verschiedener Antibiotika (je 100µl pro Kavität) und einer verkürzten „Bunten Reihe“ (7 Kohlenhydratreaktionen) präparierten Mikrotiterplatten (Fa. La fontaine International, Waghäusel; Antibiotika-Beschickung: Fa. Dr. Brinkmann Floramed, Nürtingen) erfolgte halbautomatisch (Gerät Inocu-2011.3, Fa. Spec.LAB, Berlin). Dabei wurden durch Eintauchen des Gerätes in das Inokulum sämtliche Impfstifte benetzt und durch Kapillarkräfte ein definiertes Volumen von 1,5µl des Inokulums in alle Kavitäten überführt (Endkonzentration $1-6 \times 10^5$ KBE/ml). Für eine Reinheitskontrolle wurde für jedes zu testende Bakterienisolat aus der Endverdünnung zudem je ein Müller-Hinton-Blutagar (Fa. Heipha Dr. Müller, Eppelheim) mit beimpft. Nach etwa 24-stündiger Inkubation bei $36 \pm 1^\circ\text{C}$ wurden die Platten visuell abgelesen, wobei das Muster der oxidativen Kohlenhydratverwertung für die Speziesdifferenzierung von *S. aureus* herangezogen wurde. Hier waren positive Reaktionen (Indikator Phenolrot, Gelbfärbung) für Mannit, Trehalose und Saccharose zu erwarten, wobei zu beachten ist, dass auch Mannit-negative *S. aureus* vorkommen können. Bei uneindeutigen Reaktionen im Agglutinationstest oder in der Bunten Reihe wurde die Diagnostik in Einzelfällen durch ein kommerzielles Differenzierungsverfahren (API Staph, Fa. BioMérieux, Nürtingen) ergänzt.

Die Bewertung der MHK für die getesteten Antibiotika erfolgte nach DIN 58940-81. Die Sensibilitätsprüfung umfasste folgende Wirkstoffe: Penicillin G, Ampicillin, Cefazolin, Cefuroxim, Cefoxitin, Erythromycin, Clindamycin, Ofloxacin, Ciprofloxacin, Moxifloxacin, Tetracyclin, Gentamicin, Fosfomycin, Cotrimoxazol, Fusidinsäure, Rifampicin, Vancomycin, Teicoplanin, Linezolid und Mupirocin.

Zum Nachweis einer Oxacillin-Resistenz wurde parallel zur MHK-Testung ein, aus demselben Inokulum beimpfter, chromogener Selektivagar für MRSA (ORSAB, Oxacillin-Resistenz-Screening-Agar-Basis und Selektiv-Supplement, Fa. Oxoid, Wesel) mitgeführt. Durch einen hohen Kochsalzgehalt von 5,5% sowie den Zusatz von Polymyxin B wird das Wachstum der meisten Bakterien unterdrückt und durch das enthaltene Oxacillin (2mg/l) werden alle empfindlichen Staphylokokken supprimiert. Uneingeschränktes Wachstum zeigt also an, dass eine Oxacillin-Resistenz vorliegt. Durch einen Farbindikator (Anilinblau) führt eine Mannitfermentation von MRSA zur Bildung blauer Kolonien. Darüber hinaus wurde die Diagnostik bei PVL-bildenden *S. aureus*-Isolaten grundsätzlich durch eine molekulare Detektion des *mecA*-Gens ergänzt (s. 2.5.4).

2.5.3 Molekularbiologischer Nachweis des PVL-kodierenden Gens (lukS/lukF)

Alle *S. aureus*-Isolate wurden mittels Polymerase-Kettenreaktion (engl. Polymerase Chain Reaction, PCR) auf das Vorhandensein der PVL-kodierenden Gene *lukS* und *lukF* untersucht.

Das allgemeine Grundprinzip der PCR basiert auf einer exponentiellen Vervielfältigung genau definierter DNS-Abschnitte bzw. Gene durch Polymerasen. Diese Enzyme sind in der Lage, die Nukleotide aus den Basen Adenin, Thymin, Cytosin und Guanin (A, T, C oder G) zu langen Molekülsträngen zu verbinden. Hierfür werden außerdem definierte Oligonukleotidsequenzen benötigt, die den Startpunkt der DNS-Synthese markieren (sog. Primer). Ein PCR-Zyklus besteht immer aus den drei Schritten Denaturierung, Primer-Hybridisierung und Elongation. Die Denaturierung bei 95°C hat ein Auftrennen der Doppelseitigen-DNS zur Folge. Während der Primer-Hybridisierung bei einer Temperatur von 55°C kommt es zur Anlagerung der Startsequenzen an die DNS-Einzelstränge. Die Elongationsphase umfasst den bei einer Temperatur von 72°C von den Primersequenzen ausgehenden Anbau der komplementären Basen durch Polymerasen. Dieser Zyklus wird entsprechend der Geräteprogrammierung vielfach wiederholt. Für die Detektion der PVL-kodierenden Determinanten wurden in dieser Arbeit 45 Zyklen gewählt.

Da herkömmliche Enzyme den hohen Temperaturanforderungen dieser Methode nicht standhalten würden, werden die hitzebeständigen Polymerasen des in heißen Quellen vorkommenden Bakteriums *Thermus aquaticus*, sogenannte „Taq-Polymerasen“, eingesetzt.

Bei den in der vorliegenden Arbeit verwendeten Real-Time-PCR-Verfahren wird außerdem durch den Einbau spezifisch markierter Hybridisierungs sonden eine messbare Fluoreszenz erzeugt, die mit jedem Zyklus proportional zur Menge der synthetisierten Ziel-DNS zunimmt. Auf diese Weise ermöglicht eine wiederholte Fluoreszenzmessung zusätzlich eine Quantifizierung der gewonnenen DNS-Abschnitte in Echtzeit. Das Ergebnis wird als grafische Darstellung von Schmelzkurven dokumentiert.

Die für die Untersuchung erforderliche DNS-Isolierung (Extraktion) aus den Staphylokokken wurde mit dem Testkit QIAamp DNS Mini Kit® (Fa. Qiagen, Hilden) gemäß Herstellerangaben durchgeführt. Der PCR-Ansatz erfolgte nach einem Protokoll von Reischl et al. 2007 unter Verwendung der Primer SaLuk-UF3 (5'-AAGGCTCAGGAGATACAAGTG, 10 µM) und SaLuk-UR3 (5'-TCACTTCATATTTAACTGTGTAATTTTC, 10 µM) (Fa. TIB Molbiol, Berlin). Als Hybridisierungs sonden wurden SaLuk-HP-1 (5'-CAACACACTATGGAATAGTT-Fluorescein, 2 µM) und SaLuk-HP-2 (5'-LC-Red-640-TTTAGAAGGATCTAG-AATACACAAGGC-3'-Phosphat; 2 µM) (Fa. TIB Molbiol, Berlin) eingesetzt. Die Polymerasen und Nukleotide wurden dem Ansatz als käufliches Reagenz (LC FastStart DNS Master^{PLUS} Hybridization Probes®, Fa. Roche, Grenzach) zugeführt. Das für die Polymerase als Katalysator notwendige Magnesiumchlorid (MgCl₂) war darin ebenfalls enthalten. Diesem vorgelegten „Master-Mix“ wurden je 2µl *S. aureus*-DNS-Extrakt hinzugegeben. Die Untersuchung der vorbereiteten Proben fand vollautomatisiert im LightCycler® (Fa. Roche, Grenzach) statt. Als Positivkontrolle wurde der ATCC-Stamm 49775 mitgeführt, als Negativkontrolle diente PBS-Puffer.

2.5.4 Molekularbiologischer Nachweis der Methicillin-Resistenz (*mecA*)

Bei allen *S. aureus*-Isolaten, bei denen die PVL-kodierenden Determinanten lukS/lukF nachweisbar waren oder solche, bei denen ein uncharakteristisches Wachstum auf dem MRSA-Screening-Agar keine eindeutige Aussage zur Methicillin-Resistenz zuließen, wurde eine weitere PCR zum Nachweis des hierfür kodierenden *mecA*-Gens durchgeführt. Für die DNS-Extraktion aus 24h bei 36 ± 1°C bebrütetem Koloniematerial wurde QIAamp DNS Mini Kit® (Fa. Qiagen, Hilden) verwendet und jeweils 5µl des DNS-Extraktes für die weitere Untersuchung eingesetzt. Grundlage der folgenden LightCycler®-PCR war ein beschriebenes Protokoll (Hagen et al. 2005). Als Primer dienten orfX-1 (5'-AAATGAAAAGACTGCGG9,

20 µM); orfX-3 (5'-AATTCCTCCACATCTCA, 20 µM) und orfX-4 (5'-CTATCTTCCGAAGGATTG, 20 µM) (Fa. TIB Molbiol, Berlin). Als Fluoreszenz-generierende Hybridisierungssonden wurden orfX-FL (5'-CGTCCTTGTGCAGGCC-Fluorescein, 4 µM) und orfX-640 (5'-LC-Red-640-TTGATCCGCCAATGACGA-3'-Phosphat, 4 µM) verwendet (Fa. TIB Molbiol, Berlin). Taq-Polymerase, Nukleotide und MgCl₂ wurden in Form von LC FastStart DNS Master Hybridization Probes® hinzugefügt. Nach Zugabe des DNS-Extraktes wurden die Proben unter den am LightCycler® entsprechend programmierten Untersuchungsbedingungen gemessen. In jedem Probenlauf wurde als positive Kontrolle (MRSA) der ATCC-Stamm 43300 mitgeführt, die Negativkontrolle bestand aus PBS-Puffer.

2.6 Befunderstellung und Dokumentation

Alle durchgeführten Untersuchungsschritte wurden mittels Labor-EDV (Molis, Version 1.04, Fa. Sysmex, Norderstedt) dokumentiert und unter Verwendung spezifischer Codes für die Befunderstellung erfasst. Das Ergebnis der Bakterienkultur wurde dabei semiquantitativ befundet, d.h. ein Wachstum von *S. aureus* wurde für den Einsender mit den Angaben „wenig“, „mäßig“ oder „reichlich“ quantifiziert. Bakterienwachstum ohne Nachweis von *S. aureus* wurde als „kein Wachstum von Staphylococcus aureus“ angegeben. Blieben alle Anzuchtmedien steril, wurde dies mit „kein Wachstum unter aerober Bebrütung“ bezeichnet.

Bei Nachweis von *S. aureus* wurde das Ergebnis der PVL-PCR in einer separaten Befundzeile als „positiv“ oder „negativ“ angegeben und in einer Befundanmerkung noch einmal in ausführlicherer Form kommentiert. Im positiven Falle wurde hierbei stets die Erhebung des Trägerstatus unter Einbezug von Kontaktpersonen sowie Maßnahmen zur Sanierung empfohlen.

Die vier Ergebnisoptionen für einen Nachweis von *S. aureus* (MSSA/PVL-positiv; MSSA/PVL-negativ; MRSA/PVL-positiv; MRSA/PVL-negativ) wurden, wie auch alle anderen Befundkonstellationen, in der EDV mit spezifischen Codes hinterlegt, um sie für die statistische Auswertung getrennt erfassen zu können. PVL-bildende MRSA wurden unter Berücksichtigung ihres auffälligen Resistenzphänotyps (fehlende Multiresistenz) im Befundbericht als cMRSA ausgewiesen. Im folgenden Kontext sollen sie allerdings mit der Bezeichnung PVL-MRSA konsequenter von der für empfindliche Stämme gebräuchlichen Bezeichnung PVL-MSSA abgegrenzt werden.

Der an den Einsender gerichtete Endbefund enthielt neben den Ergebnissen von Kultur und PCR das Antibiogramm des gefundenen *S. aureus*-Isolates.

2.7 *Staphylococcus-aureus*-Protein-A (spa)-Typisierung

Die molekulare Typisierung dient in der Infektionsepidemiologie als wesentliches Element zur Darstellung der Verwandtschaft von Bakterienisolaten bzw. der Aufdeckung von Infektketten.

Zielsequenz des in der vorliegenden Arbeit verwendeten Typisierungsverfahrens ist das so genannte spa-Gen. Es kodiert für das der Zellwand von *S. aureus* aufgelagerte Protein A, welches dem Phagozytoseschutz der Bakterien dient (siehe Abschnitt 1.1.1). Grundlage für die Typisierung ist der Polymorphismus der sogenannten X-Region am 3'-Ende des spa-Gens, welche sich anhand der Anzahl von Abfolgen sich wiederholender Basenpaare (Repeats) unterscheiden lässt. Dieser Polymorphismus ist durch Punktmutationen unter den Basenpaaren einzelner Repeats, aber auch durch Deletionen und Duplikationen als Folge intragenomischer Rekombinationsvorgänge bedingt. Die Individualität für jedes Isolat ergibt sich dabei sowohl aus der Nukleotidsequenz als auch aus der Abfolge der jeweiligen Repeat-Einheiten. Die Zuordnung eines spezifischen alpha-numerischen Codes (nach Art und Folge der Repeats) bildet die Grundlage für eine Datenbank-basierte Sequenzanalyse (RKI 2007). Es handelt sich hierbei um einen Computergestützten Ähnlichkeitsvergleich, welcher meist eine Zuordnung zu einem bestimmten Cluster ermöglicht. Es sind mittlerweile über 7500 spa-Typen bekannt und auf dem Server von Ridom Bioinformatics (Würzburg) (www.spaserver.ridom.de) abrufbar.

Für die vorliegende Untersuchung wurde die spa-Typisierung in Fremdvergabe durchgeführt. Hierfür wurden die PVL-bildenden *S. aureus*-Isolate (PVL-MSSA und PVL-MRSA) an das Nationale Referenzzentrum für Staphylokokken (RKI, Bereich Wernigerode, Leitung: Prof. Dr. W. Witte) versandt und die Typisierungsergebnisse in eine Excel®-Tabelle (Version 2000 SR1, Fa. Microsoft Deutschland, Unterschleißheim) eingepflegt.

2.8 Statistische Auswertungen

Die statistische Auswertung wurde durch die Abteilung für Infektionsepidemiologie des Niedersächsischen Landesgesundheitsamtes unterstützt. Die in der Labor-EDV erfaßten Daten ließen sich unter Zuordnung der studieninternen Labornummern (PVL-Nummern) mittels Access® (Version 2003, Fa. Microsoft Deutschland, Unterschleißheim) extrahieren und zur weiteren Bearbeitung in Microsoft-Excel®-Tabellen (Version 2000 SR1, Fa. Microsoft Deutschland, Unterschleißheim) überführen. Patienten (Indexfälle), Einsendungen zur Erhebung ihres Trägerstatus (zugehörige Nasenabstriche, „Screening“) sowie Abstriche von Kontaktpersonen (Umgebungsuntersuchung) wurden als solche spezifisch gekennzeichnet, um sie voneinander unterscheiden zu können. Einsendungen separat entnommener Nasen- und Rachen-Abstriche wurden für die Auswertungen zu einem Positiv- bzw. Negativbefund zusammengefasst berücksichtigt.

Patienten mit falscher Indikation (konventionelles MRSA-Screening; Nasenabstriche ohne vorausgegangenen PVL-Nachweis; Nasenabstriche unter bzw. nach Sanierung; Mehrfacheinsendungen) oder Widerruf der Einverständniserklärung wurden gelöscht und die überarbeitete Datei anonymisiert als Datenbasis für die statistische Auswertung mit der Software EpiInfo™ (Version 3.3.2, CDC, Atlanta, USA) und Stata (Version 10.1, Fa. StataCorp LP, Texas, USA) verwendet. Zur Charakterisierung des Virulenzfaktors PVL wurde dem Personenkreis mit PVL-assoziierten Infektionen eine Vergleichsgruppe mit Infektionen durch *S. aureus* ohne PVL-Bildung gegenübergestellt.

Für die Ermittlung der Assoziation zwischen zwei Merkmalen wurde der Fisher-Exact-Test durchgeführt. Zur Signifikanzbestimmung wurde der jeweilige p-Wert berechnet. Ein p-Wert von $<0,001$ galt als signifikantes Ergebnis.

3. Ergebnisse

3.1 Anzahl und Herkunft der untersuchten Proben

Im Untersuchungszeitraum von Mai 2007 bis Mai 2009 wurden von 176 teilnahmebereiten Praxen insgesamt 827 bakteriologische Abstriche eingeschickt. Nach Ausschluss von Einsendungen mit falscher Indikation wie z.B. Untersuchungsaufträge für ein MRSA-Screening bei bekannt positivem Vorbefund, Mehrfachuntersuchungen bei Rezidiven oder zum Zweck von Therapiekontrollen, Nasenabstrichen zur Erhebung des Trägerstatus von Patienten und Kontaktpersonen, fehlendem Einverständnis der Probanden sowie Abstrichen von Tieren gingen schließlich 494 untersuchte Proben in die Auswertungen ein. Die Zusendungen stammten überwiegend aus dem Bereich Allgemeinmedizin (221 Proben = 44,7%) gefolgt von Chirurgie (109 Proben = 22,1%) und Dermatologie (95 Proben = 19,2%). Gemeinschaftspraxen mit allgemeinärztlichem Schwerpunkt, internistische Hausärzte und praktische Ärzte wurden dabei zur Vereinfachung dem als „Allgemeinmedizin“ bezeichneten Sektor zugeordnet. Da unter den Einsendern nur zwei Orthopäden vertreten waren, von denen einer in einer chirurgisch-orthopädischen Gemeinschaftspraxis tätig war, wurden diese unter dem Fachgebiet Chirurgie zusammengefasst. In gleicher Weise wurde mit zwei von Kindern entnommenen Abstricheinsendungen aus Gemeinschaftspraxen verfahren, in denen ein/e Facharzt/-ärztin für Pädiatrie mit einem Kollegen einer anderen Fachrichtung niedergelassen war. Diese Einsendungen wurden dem Fachbereich Pädiatrie zugeordnet.

Abbildung 2 zeigt die zeitliche Entwicklung der Probeneingänge über den genannten Untersuchungszeitraum. Mit Ausnahme des letzten Häufigkeitstgipfels im September 2008, der durch ein im August verschicktes Erinnerungsfax bedingt sein könnte, lässt der Verlauf keine Abhängigkeit von zur Steigerung der Einsenderate dienenden Aktivitäten wie Vorträgen und Erinnerungsschreiben erkennen.

3.2 Untersuchtes Patientenkollektiv

Von den 494 in die Untersuchung einbezogenen Personen waren 267 (54,0%) männlich und 226 (45,8%) weiblich. In einem Fall lagen keine Angaben zum Geschlecht vor. Der Altersdurchschnitt der Probanden betrug bei einer Spannweite von <1 Jahr bis 93 Jahre insgesamt 46,6 Jahre. In Abbildung 3 ist die Häufigkeitsverteilung nach Altersklassen dargestellt.

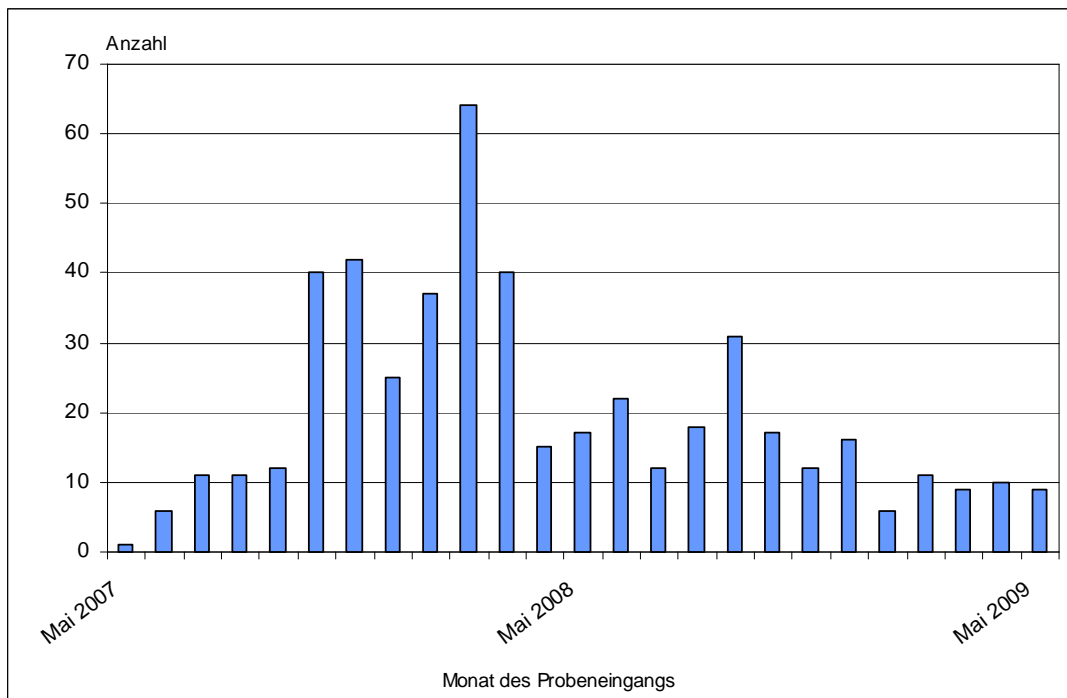


Abbildung 2: Entwicklung der Einsendungszahlen im Untersuchungszeitraum

Die Säulen zeigen die Anzahl der monatlichen Einsendungen von Mai 2007 bis Mai 2009 im zeitlichen Verlauf.

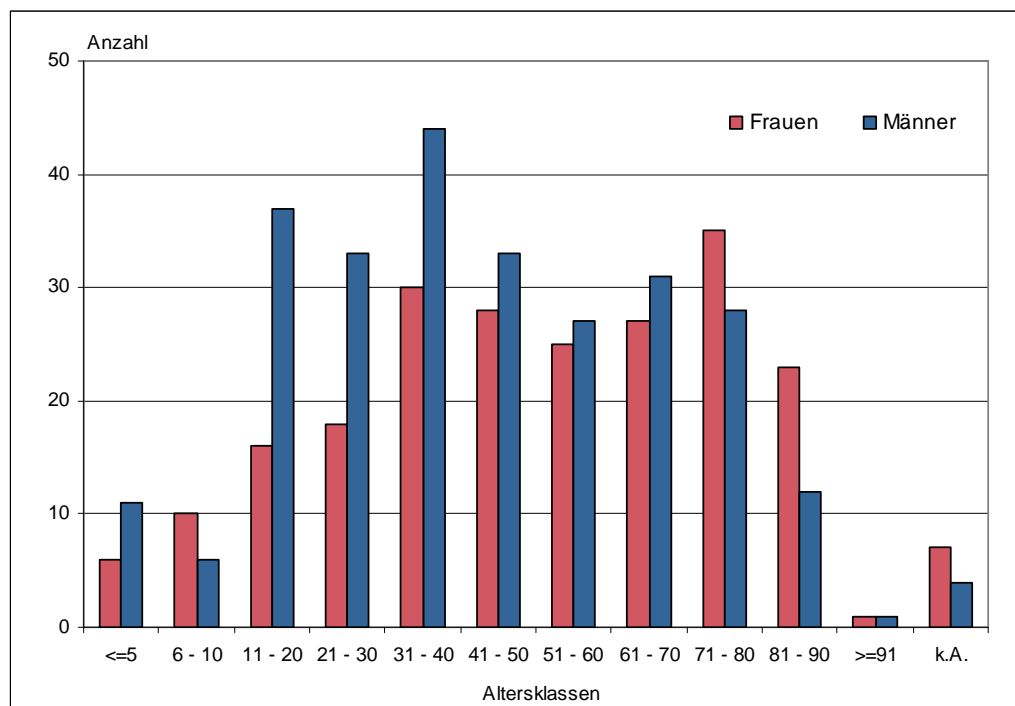


Abbildung 3: Altersverteilung der Studienteilnehmer differenziert nach Geschlecht

Anzahl der Einsendungen von weiblichen (rot) und männlichen (blau) Patienten klassifiziert nach Altersgruppen. k.A.= keine Angabe.

Da für die Benennung des Untersuchungsmaterials auf dem Einsendeschein häufig mehrere Ankreuzoptionen genutzt wurden, basieren die in die Auswertung eingehenden Angaben auf einer zur elektronischen Materialerfassung im Labor getroffenen Auswahl durch das technische Personal.

Gemäß diesen klinischen Angaben waren bei 168 Patienten (34,0%) isolierte oder multiple Abszesse Anlass der Abstrichuntersuchung (105 isolierte Abszesse = 21,5% bzw. 63 multiple Abszesse = 12,8%). Bei 158 Personen (32,0%) bestand eine Wundinfektion. Für die übrigen Patienten wurden Nekrosen (n = 47 / 9,5%), papulöse (n = 31 / 6,3%) oder pustulöse Effloreszenzen (n = 15 / 3,0%), Ekzeme (n = 3 / 0,6%) oder sonstige, nicht näher bezeichnete Abstrichorte angeführt (n = 72 / 14,6%).

Abbildung 4 lässt die Häufigkeitsverteilung gruppierter Materialangaben in Abhängigkeit vom Alter der Probanden erkennen. Der Anteil der Abstriche aus Wundinfektionen und nekrotischen Arealen zeigte bis zu seinem Maximum unter den 71-80jährigen einen mit zunehmendem Lebensalter nahezu linearen Anstieg. Die eingesandten Wundabstriche entstammten signifikant häufiger von Patienten ≥ 50 Jahre ($p < 0,001$).

Demgegenüber stammten Abstriche von Abszessen, Papeln und Pusteln signifikant häufiger von jüngeren Patienten ($p < 0,001$). Abstriche von isolierten Abszes-

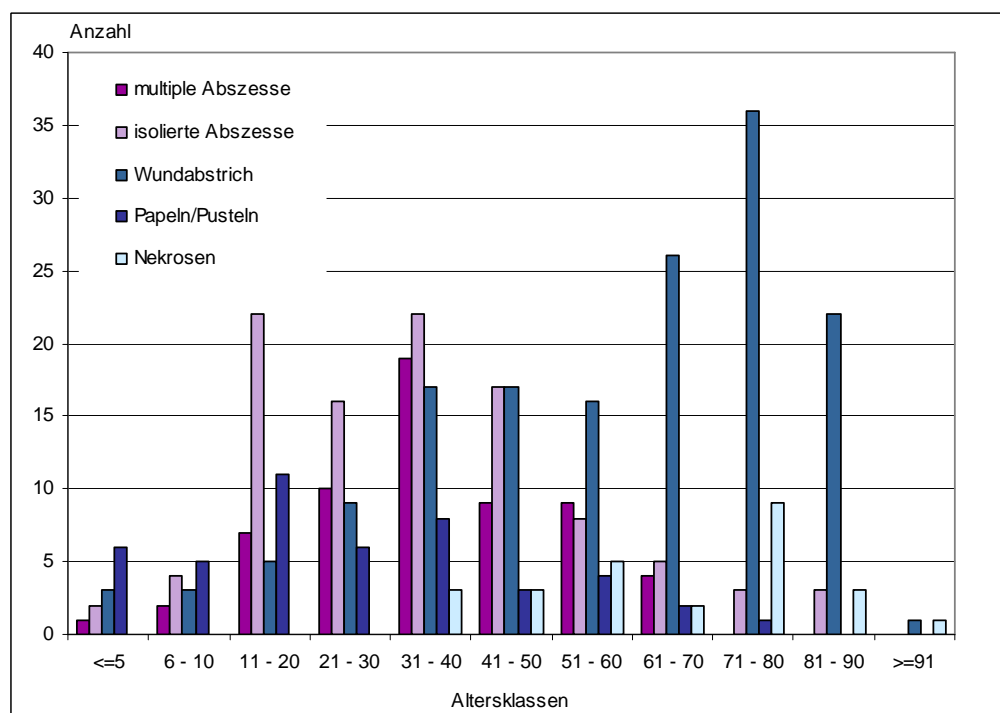


Abbildung 4: Art des Untersuchungsmaterials in Abhängigkeit vom Alter

Anzahl der Einsendungen aus isolierten bzw. multiplen Abszessen, Wunden, Papeln bzw. Pusteln und Nekrosen bezogen auf die verschiedenen Altersklassen

sen wurden insbesondere bei Patienten der Altersgruppen 11-20 und 31-40 Jahre entnommen, der Häufigkeitsgipfel für Einsendungen aus multiplen Abszessen lag zwischen 31 und 40 Jahren.

Die Entnahmestelle der 494 Abstriche wurde nach ihrer Lokalisation regional subklassifiziert und zur Vereinfachung der Auswertungen zu größeren Körperarealen zusammengefasst. In 217 Fällen (43,9%) befand sich die Lokalinfection im Bereich der unteren Extremität, und zwar meist an Unterschenkel, Fuß oder Zeh. An zweithäufigster Stelle war mit 151 Fällen (30,6%) der Körperstamm und hier insbesondere die Gesäßregion betroffen. Bei 61 Personen (12,4%) wurden die Abstriche am Kopf, bevorzugt aus dem Gesicht bzw. der Nasenregion, entnommen. Seltener stammten Abstriche aus dem Bereich der oberen Extremität ($n = 36 / 7,3\%$) oder der Hals- und Nackenregion (zusammen $n = 8 / 1,6\%$). Bei 21 Patienten (4,3%) wurde der Entnahmeort gar nicht angegeben.

Bei 220 der 494 Patienten (44,5%) wurde ein rezidivierender Verlauf der Infektion vermerkt. In 156 Fällen (31,6%) waren keine Rezidive aufgetreten und bei 23,9% bzw. 118 Zusendungen lagen hierzu keine Angaben vor. Die vom Einsender genannte Anzahl der Infektionsrezidive zeigte sich sehr variabel, wobei die meisten Patienten (55,5%) hiervon bis zu 5 mal betroffen waren.

Die Frage nach dem Erkrankungsbeginn wurde von den Einsendern uneinheitlich interpretiert und dabei entweder auf die Erstinfektion oder das aktuelle Krankheitsgeschehen bezogen, so dass diese Angaben zum Krankheitsverlauf nicht verwertbar waren.

Hinsichtlich der Vorgeschichte wurde für 113 Patienten (22,9%) ein stationärer Aufenthalt bzw. eine Dialyse in den letzten 6 Monaten angegeben. Die Mehrzahl der Patienten ($n = 322 / 65,2\%$) wurde in dieser Zeit nicht stationär behandelt, für 59 Personen (11,9%) lagen hierzu keine Informationen vor.

Insgesamt erhielten nach Angaben der einsendenden Ärzte 240 (48,6%) der 494 Patienten in den letzten 6 Monaten eine Antibiotika-Therapie. Da jedoch häufig mehrere Wirkstoffe aus teilweise unterschiedlichen Substanzklassen aufgelistet wurden, war eine Unterscheidung zwischen Kombinationsbehandlungen und serieller Therapie bzw. der Vergleich verschiedener Therapieregime nicht möglich. Die meisten Patienten wurden dessen ungeachtet mit Betalaktam-Antibiotika behandelt (25,3% mit einem Cefalosporin, 23,3% mit einem Penicillin). 195 Patienten (39,5%) erhielten kein Antibiotikum und für 59 (11,9%) der Patienten wurden keine Angaben zur Therapie gemacht.

Von den Studienteilnehmern wiesen 286 Personen (57,7%) eine oder mehrere Grunderkrankungen auf. Diese wurden in 10 Klassen gruppiert. Unter diesen waren Hauterkrankungen mit 30,8% (88 Fälle) am häufigsten vertreten, gefolgt von Gefäßerkrankungen (92 bzw. 32,2%) und Diabetes mellitus (56 bzw. 19,6%). Da die pathophysiologische Genese eines Unterschenkel-Ulkus in der Regel nicht bekannt war, wurde diese infektiologisch relevante Diagnose neben Gefäß- und Herz-Kreislaufkrankungen gesondert erfasst. Ein *Ulcus cruris* war mit 19,2% (55 Fälle) beinahe genauso häufig angegeben wie Diabetes, während Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Weichteilerkrankungen, Knochen- und Gelenkerkrankungen, Drogen- bzw. Alkoholmissbrauch und Adipositas in dieser Reihenfolge zunehmend seltener genannt waren. Andere Erkrankungen (z.B. Autoimmunerkrankungen, andere Stoffwechselerkrankungen als Diabetes, psychiatrische Diagnosen, Tumorerkrankungen etc.) wurden als „sonstige Erkrankungen“ zusammengefasst (49 Fälle / 17,1%).

Mikrobiologische Vorbefunde wurden nur in Einzelfällen angegeben und blieben daher unberücksichtigt.

Die Auswertung der Grunderkrankungen ist vor dem Hintergrund zu betrachten, dass Mehrfachnennungen möglich waren. Dies war mit zunehmendem Alter häufiger der Fall, da hier Herz-Kreislauf- und Gefäßerkrankungen, Diabetes sowie Unterschenkelulzera unterschiedlicher Genese oftmals vergesellschaftet vorkommen. Die Ermittlung einer Assoziation zwischen einzelnen Grunderkrankungen und dem Vorhandensein des Virulenzmerkmals PVL wurde deswegen in der vorliegenden Studie nicht vorgenommen.

3.3 Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen

Unter den 494 Einsendungen blieben 51 (10,3%) der Kulturen unter aerober Bebrütung steril (siehe Abschnitte 2.5.1 und 2.6). In 170 Fällen (34,4%) fand sich bakterielles Wachstum, jedoch ohne Nachweis von *S. aureus*. Daraus ergaben sich zusammen 44,7% Negativbefunde. In 273 Fällen wurde *S. aureus* angezüchtet (Positivbefund), von denen 225 Isolate gegenüber Oxacillin empfindlich waren. Somit wurden in 45,5% aller Proben MSSA nachgewiesen. Demgegenüber erwiesen sich lediglich 48 Isolate als Oxacillin-resistent, was auf das Gesamtkollektiv bezogen einem MRSA-Anteil von 9,7% entspricht. Unter den letztgenannten Stämmen konnten in 6 Fällen neben einem auffälligen Resistenzspektrum die genetischen Determinanten für Pantone-Valentine-Leukozidin (PVL) nachgewiesen

werden (PVL-MRSA). Ihr Anteil betrug im Gesamtkollektiv nur 1,2%. Bei den MSSA war der Nachweis der PVL-kodierenden Gene in 57 Isolaten bzw. 11,5% des Gesamtkollektivs positiv (siehe Abbildung 5).

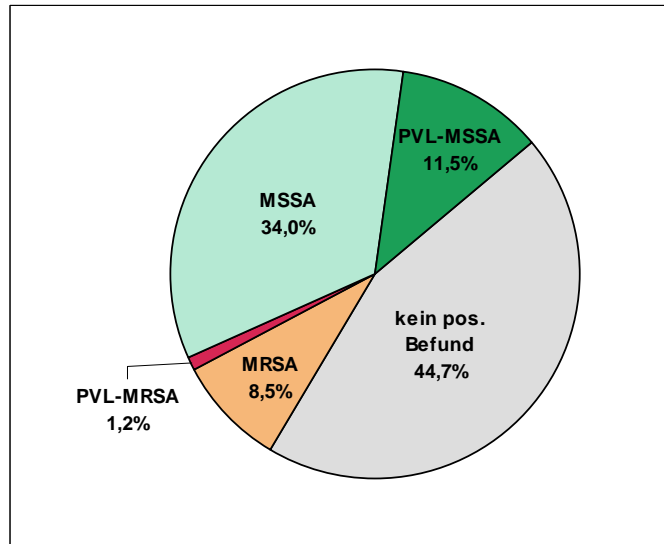


Abbildung 5: Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung bezogen auf das Gesamtkollektiv (n = 494)

Prozentualer Anteil von MSSA und MRSA mit und ohne Bildung von Pantone-Valentine Leukozydin bzw. von Einsendungen ohne Nachweis von *S. aureus* (kein pos. Befund) bezogen auf alle Einsendungen.

MSSA = Methicillin-sensibler *S. aureus* ohne PVL; PVL-MSSA = Methicillin-sensibler *S. aureus* mit PVL; MRSA = Methicillin-resistenter *S. aureus* ohne PVL; PVL-MRSA = Methicillin-resistenter *S. aureus* mit PVL

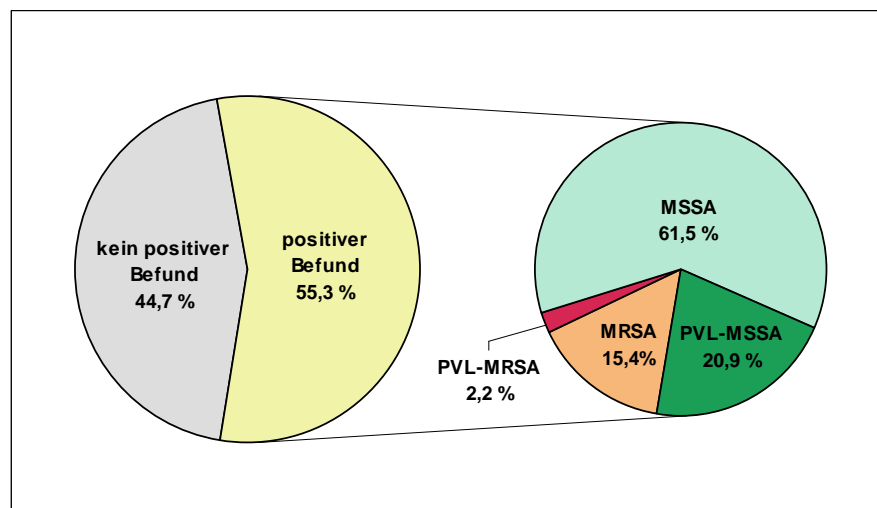


Abbildung 6: Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung bezogen auf alle Einsendungen mit Nachweis von *S. aureus* (n = 273)

Prozentualer Anteil von MSSA und MRSA mit und ohne Bildung von Pantone-Valentine Leukozydin bezogen auf alle Positivbefunde, d.h. Einsendungen mit Nachweis von *S. aureus*. Der Anteil von PVL-MSSA und PVL-MRSA steigt dabei nahezu auf das Doppelte im Vergleich zu Abbildung 4.

MSSA = Methicillin-sensibler *S. aureus* ohne PVL; PVL-MSSA = Methicillin-sensibler *S. aureus* mit PVL; MRSA = Methicillin-resistenter *S. aureus* ohne PVL; PVL-MRSA = Methicillin-resistenter *S. aureus* mit PVL

Unter ausschließlicher Berücksichtigung der Positivbefunde erhöhten sich die Nachweisraten für PVL-MRSA auf 2,2% aller *S. aureus*. Der Anteil von PVL-MSSA stieg auf 20,9% und für die „klassischen“ MRSA ohne PVL ergab sich nunmehr ein Anteil von 15,4%. In Abbildung 6 ist die Verteilung der jeweiligen Befunde differenziert dargestellt.

Da Negativbefunde für eine vergleichende Betrachtung von Staphylokokken-Infektionen mit und ohne PVL unerheblich sind, wurde für die weitere Darstellung der Kulturergebnisse nur das Kollektiv mit Positivbefunden zugrunde gelegt. Eine gesonderte Auswertung für PVL-MRSA war aufgrund der geringen Fallzahl ($n = 6$) allerdings nicht möglich.

3.3.1 Kulturergebnisse in Abhängigkeit vom Untersuchungsmaterial

Wie bereits in Abschnitt 3.3 beschrieben, basieren die folgenden Ergebnisdarstellungen nur auf Befunden mit Nachweis von *S. aureus* (Positivbefunde, $n = 273$).

Unter Berücksichtigung der angegebenen Entnahmestelle ließ sich für Abstriche aus Wunden ($n = 91$) und Nekrosen ($n = 26$) beobachten, dass diese mit jeweils 69,2% bzw. 80,8% signifikant häufig im Bereich der unteren Extremität lokalisiert waren ($p < 0,001$). Abstriche aus isolierten ($n = 54$) und multiplen ($n = 26$) Abszessen wurden im Gegensatz dazu mit je 44,4% bzw. 57,7% relativ häufig am Körperstamm entnommen (siehe Abbildung 7). Insgesamt betrachtet waren diese Abszesse signifikant häufiger am Stamm zu finden als an anderen Lokalisationen ($p < 0,001$).

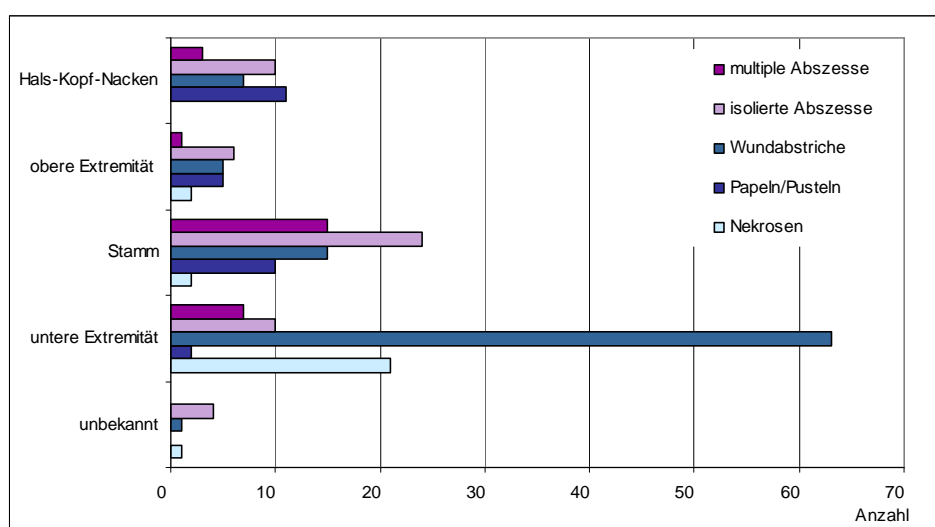


Abbildung 7: Ursprung des Untersuchungsmaterials und Lokalisation der Infektion

Anzahl der aus isolierten bzw. multiplen Abszessen, Wunden, Papeln bzw. Pusteln und Nekrosen gewonnenen Abstriche unter Berücksichtigung der dafür angegebenen Körperregionen.

Obwohl Wunden, Nekrosen, Papeln und Pusteln im Hinblick auf das kulturelle Ergebnis allesamt häufiger durch PVL-negative MSSA oder MRSA infiziert waren, war diese Assoziation lediglich für Wundabstriche statistisch signifikant ($p < 0,001$), nicht jedoch für Nekrosen, Pusteln und Papeln.

Abszessmaterial aus isolierten und multiplen Abszessen war hingegen insgesamt signifikant häufiger mit einem PVL-positiven Befund assoziiert ($p < 0,001$).

Dabei wurden bei 32 (59%) von 54 isolierten Abszessen PVL-MSSA nachgewiesen. Die Hälfte der Positivbefunde aus multiplen Abszessen (13 von 26 Fällen) war ebenso auf PVL-MSSA zurückzuführen. Unter den Materialentnahmen aus Papeln und Pusteln ($n = 28$) war nur ein Viertel der Fälle durch PVL-MSSA bedingt.

Von den nachgewiesenen PVL-MRSA ($n = 6$) waren vier ebenfalls mit isolierten und multiplen Abszessen assoziiert. Je ein weiterer PVL-MRSA wurde aus einem Wundabstrich und aus einer vom Einsender unter „Sonstiges“ vermerkten Infektion in der Steißbeinregion isoliert. Für letztere ließen sich keine genaueren Angaben im Sinne von Abszess, Wundinfektion oder Nekrose eruieren, so dass das Material unter dieser entsprechend allgemeinen Kategorie erfasst wurde, welche jedoch in Abbildung 8 aus Gründen der Übersichtlichkeit nicht dargestellt ist.

Unter Berücksichtigung dieser Beobachtungen ließ sich der Zusammenhang zwischen Ausgangsmaterial und mikrobiologischem Befund noch deutlicher darstel-

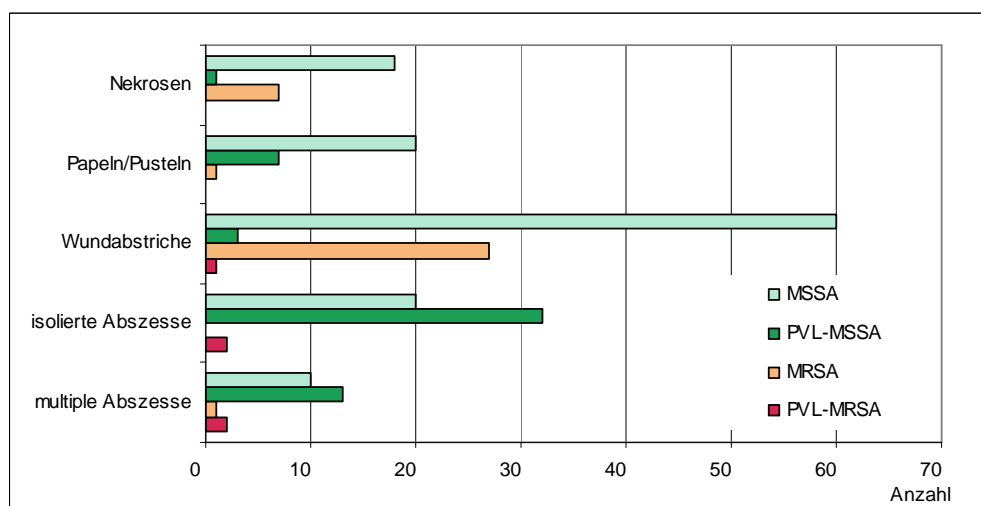


Abbildung 8: Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung in Abhängigkeit vom Untersuchungsmaterial

Anzahl der Nachweise von MSSA und MRSA mit und ohne Panton-Valentine Leukozidin aus Nekrosen, Papeln bzw. Pusteln, Wundabstrichen sowie isolierten und multiplen Abszessen.

MSSA = Methicillin-sensibler *S. aureus* ohne PVL; PVL-MSSA = Methicillin-sensibler *S. aureus* mit PVL; MRSA = Methicillin-resistenter *S. aureus* ohne PVL; PVL-MRSA = Methicillin-resistenter *S. aureus* mit PVL

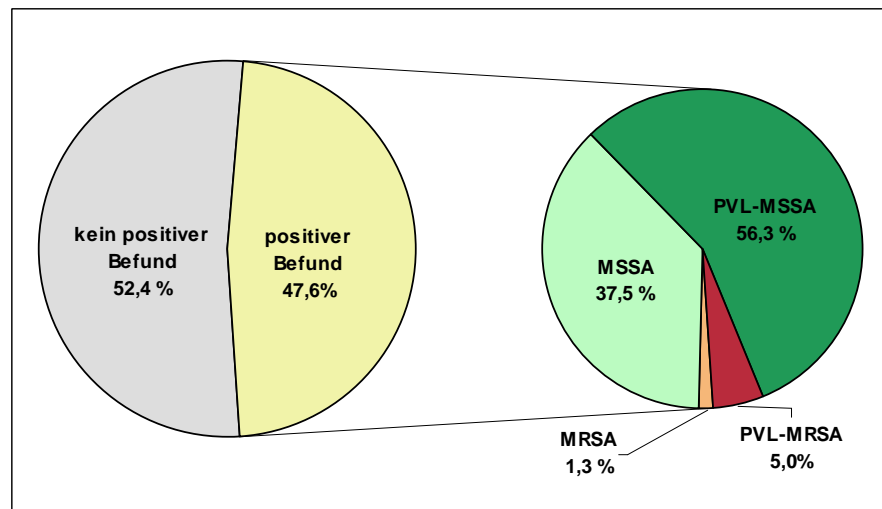


Abbildung 9: Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung bezogen auf Einsendungen aus Abszessen

Prozentualer Anteil von MSSA und MRSA mit und ohne Bildung von Panton-Valentine Leukozidin bezogen auf Einsendungen aus isolierten und multiplen Abszessen.

MSSA = Methicillin-sensibler *S. aureus* ohne PVL; PVL-MSSA = Methicillin-sensibler *S. aureus* mit PVL; MRSA = Methicillin-resistenter *S. aureus* ohne PVL; PVL-MRSA = Methicillin-resistenter *S. aureus* mit PVL

len, indem man den Fokus ausschließlich auf das Patientenkollektiv mit Abszessen richtete (80 von 273 Abstrichen). Abbildung 9 zeigt die jeweiligen Nachweisraten in diesem Kollektiv. Von den nachgewiesenen *S. aureus*-Isolaten ($n = 80$) waren 45 (56,3%) PVL-MSSA. Der Anteil von MRSA ohne PVL sank auf 1,3% ($n = 1$), wohingegen der Anteil von PVL-MRSA einen Anstieg auf 5,0% erkennen ließ. Für die letztgenannten sei allerdings erneut auf die geringe Fallzahl ($n = 4$) hingewiesen.

3.3.2 Kulturergebnisse in Abhängigkeit vom Lebensalter

Das in Abbildung 10 dargestellte Säulendiagramm zeigt die Häufigkeitsverteilung der jeweiligen Untersuchungsbefunde von *S. aureus*-Infektionen nach Altersklassen gruppiert. Während sich PVL-negative MSSA mit einem zweipfeligen Verlauf (31-40 bzw. 71-80 Jahre) über alle Altersgruppen verteilt als Infektionserreger nachweisen ließen, waren Infektionen mit PVL-MSSA mit einem Maximum in der Altersgruppe zwischen 21 und 30 Jahren häufiger unterhalb des 50. Lebensjahres zu beobachten. Das Durchschnittsalter dieser Patienten betrug 28,7 Jahre. Insgesamt traten alle PVL-assoziierten Infektionen (MSSA und MRSA) signifikant häufiger bei Personen unter 50 Jahren auf ($p < 0,001$). Demgegenüber fanden sich Infektionen mit „klassischen“ MRSA-Infektionen (MRSA(PVL-)) signifikant häufiger bei Patienten mit höherem Lebensalter (≥ 50 Jahre) ($p < 0,001$). Zwar wurden sol-

che Infektionen auch bei jüngeren Studienteilnehmern beobachtet, jedoch waren 61,9% (n = 26) der betroffenen Patienten über 60 Jahre alt (Durchschnittsalter 65 Jahre, Spannweite 4-87 Jahre).

Die 6 PVL-MRSA-Fälle waren respektive 16, 22, 34, 43, 46 und 53 Jahre alt. Das Durchschnittsalter der PVL-MRSA-Patienten lag demgegenüber also bei nur 35 Jahren.

Betrachtet man die Verteilung der Materialeinsendungen in Bezug auf das Lebensalter, zeigt sich, dass die meisten Abstriche von Abszessen bei Personen unter 50 Jahren entnommen wurden. Das Durchschnittsalter der Patienten mit Abszessen betrug 33,9 Jahre. Die Häufigkeit der Abstrichentnahmen aus Wundabstrichen und Nekrosen nahm hingegen mit steigendem Alter zu. Die meisten Abstriche stammten von Patienten über 50 Jahre, wobei darunter die Altersgruppe der 71 – 80 den größten Anteil der Einsendungen ausmachte. Das Durchschnittsalter der Personen mit Wunden und Nekrosen betrug 59,4 Jahre. Die Verteilung der untersuchten Materialien entspricht damit im Wesentlichen der des Gesamtkollektivs (vgl. Abschnitt 3.2, Abbildung 4).

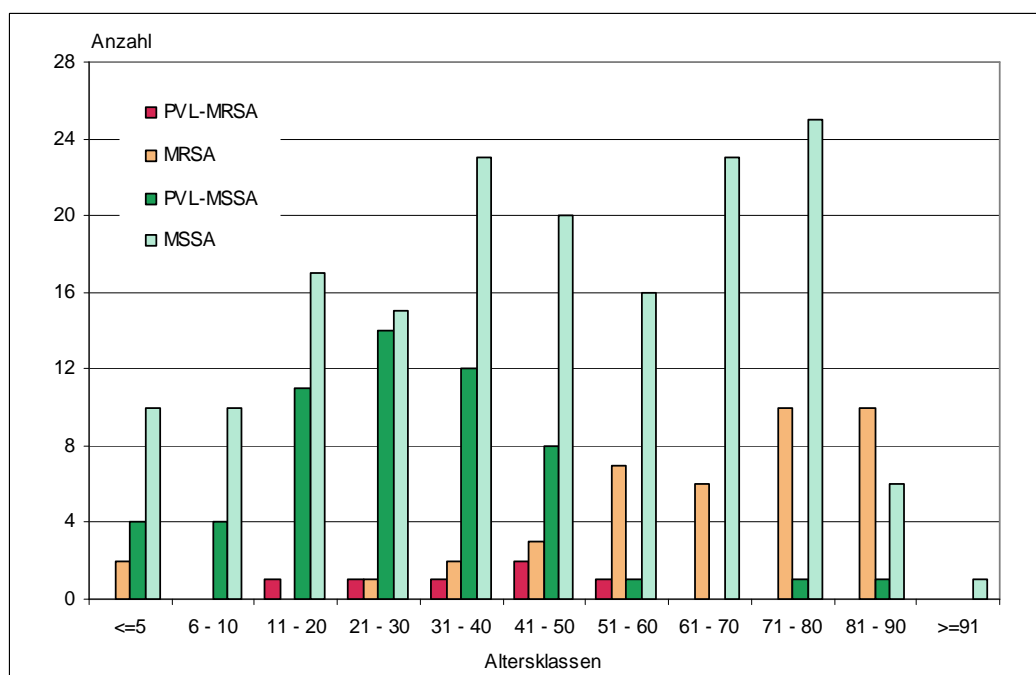


Abbildung 10: Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung in Abhängigkeit vom Lebensalter

Anzahl der Befunde mit Nachweis von MRSA mit und ohne PVL (*PVL-MRSA*, rot, *MRSA*, orange) bzw. von MSSA mit und ohne PVL (*PVL-MSSA*, dunkelgrün, *MSSA*, hellgrün) aus unterschiedlichen Altersklassen.

PVL-MRSA = Methicillin-resistenter *S. aureus* mit PVL; *MRSA* = Methicillin-resistenter *S. aureus* ohne PVL; *PVL-MSSA* = Methicillin-sensibler *S. aureus* mit PVL; *MSSA* = Methicillin-sensibler *S. aureus* ohne PVL

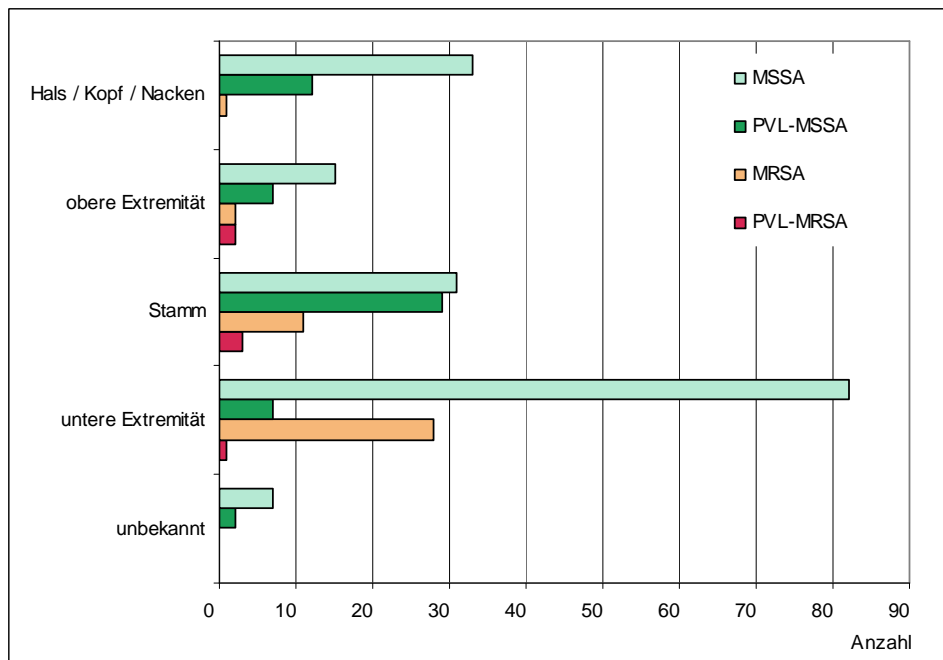


Abbildung 11: Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung in Abhängigkeit von der Entnahmestelle

Anzahl der Befunde mit Nachweis von MRSA mit und ohne PVL (*PVL-MRSA*, rot, *MRSA*, orange) bzw. von MSSA mit und ohne PVL (*PVL-MSSA*, dunkelgrün, *MSSA*, hellgrün) gruppiert nach Körperregionen, aus den die Abstriche entnommen wurden.

MSSA = Methicillin-sensibler *S. aureus* ohne PVL; *PVL-MSSA* = Methicillin-sensibler *S. aureus* mit PVL; *MRSA* = Methicillin-resistenter *S. aureus* ohne PVL; *PVL-MRSA* = Methicillin-resistenter *S. aureus* mit PVL

3.3.3 Kulturergebnisse in Abhängigkeit von der Lokalisation

In dem untersuchten Patientenkollektiv stammten die meisten ($n = 118 / 43,2\%$) der insgesamt 273 *S. aureus*-Nachweise aus Abstrichen im Bereich der unteren Extremität. Zweithäufigster Nachweisort war die Stammregion ($n = 74 / 27,1\%$), gefolgt von Kopf und Hals ($n = 46 / 16,8\%$) sowie oberer Extremität ($n = 26 / 9,5\%$). Bei 9 Positivbefunden ($3,3\%$) blieb die Entnahmestelle unbekannt.

Wie aus Abbildung 11 hervorgeht, entfiel erwartungsgemäß in beinahe allen Körperregionen die Mehrzahl der Nachweise auf MSSA ohne PVL. Auffallend war jedoch der im Vergleich hierzu nahezu identische Anteil von PVL-MSSA im Bereich des Körperstammes. Hier entnommene Abstriche waren signifikant häufiger mit einem PVL-Nachweis assoziiert ($p < 0,001$). Von 57 Infektionen mit PVL-MSSA war allein die Hälfte ($n = 29 / 50,9\%$) in dieser Region lokalisiert. 14 davon befanden sich am Gesäß, 4 im Genitalbereich, je 3 in der Axillar- und Brustregion sowie je 1 in der Leiste, am Rücken und in der Hüftregion.

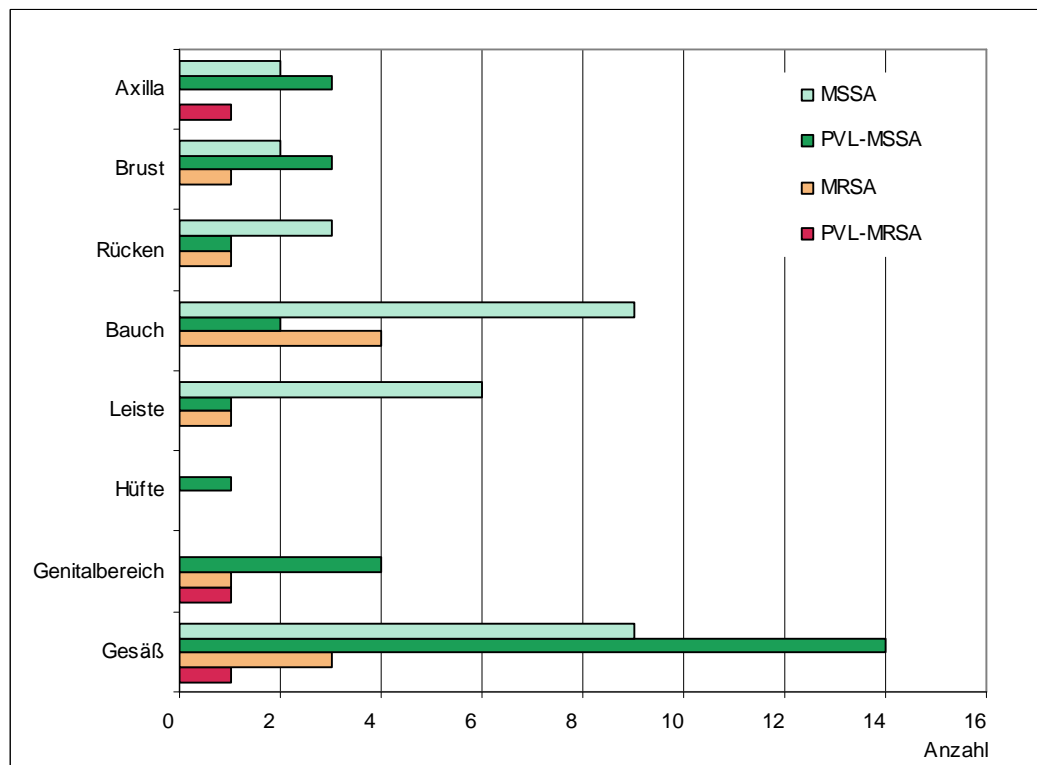


Abbildung 12: Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung von Abstrichen aus der Stammregion

Anzahl der Befunde mit Nachweis von MRSA mit und ohne PVL (*PVL-MRSA*, rot, *MRSA*, orange) bzw. von MSSA mit und ohne PVL (*PVL-MSSA*, dunkelgrün, *MSSA*, hellgrün) aus Abstrichen, die am Körperstamm entnommen wurden. Übergangsregionen wie Axillae und Leisten wurden mit einbezogen.

MSSA = Methicillin-sensibler *S. aureus* ohne PVL; *PVL-MSSA* = Methicillin-sensibler *S. aureus* mit PVL; *MRSA* = Methicillin-resistenter *S. aureus* ohne PVL; *PVL-MRSA* = Methicillin-resistenter *S. aureus* mit PVL

Zwei Drittel (28 von 42 / 60,7%) der *MRSA*(*PVL*-)Befunde wurden dagegen im Bereich der unteren Extremität erhoben, und zwar vorwiegend an Unterschenkel und Fuß. Entsprechend waren an der unteren Extremität entnommene Abstriche signifikant häufiger mit einem *PVL*-negativen Ergebnis assoziiert ($p < 0,001$).

6 *PVL-MRSA*-Nachweise entfielen je zur Hälfte auf Stamm und Extremitäten: je einmal aus Axillar-, Genital- und Gesäßregion, Unterarm, Zeigefinger und Kniekehle. Die Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung in Abhängigkeit von der Lokalisation ist in den Abbildungen 12 und 13 dargestellt.

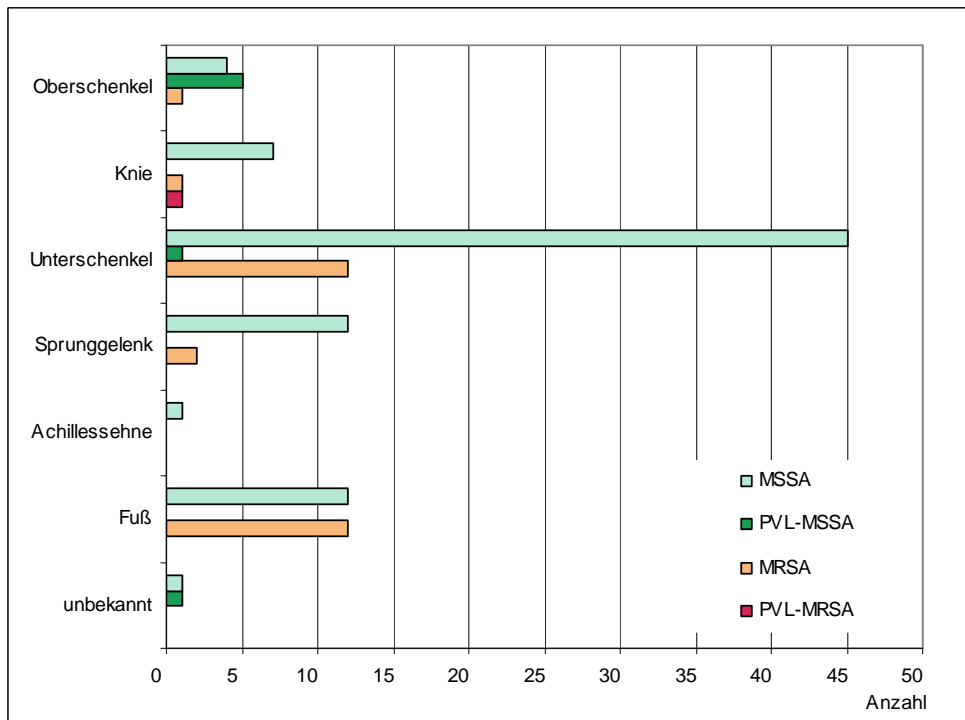


Abbildung 13: Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung von Abstrichen aus dem Bereich der unteren Extremität

Anzahl der Befunde mit Nachweis von MRSA mit und ohne PVL (*PVL-MRSA*, rot, *MRSA*, orange) bzw. von MSSA mit und ohne PVL (*PVL-MSSA*, dunkelgrün, *MSSA*, hellgrün) aus Abstrichen, die an den unteren Extremitäten entnommen wurden.

MSSA = Methicillin-sensibler *S. aureus* ohne PVL; *PVL-MSSA* = Methicillin-sensibler *S. aureus* mit PVL; *MRSA* = Methicillin-resistenter *S. aureus* ohne PVL; *PVL-MRSA* = Methicillin-resistenter *S. aureus* mit PVL

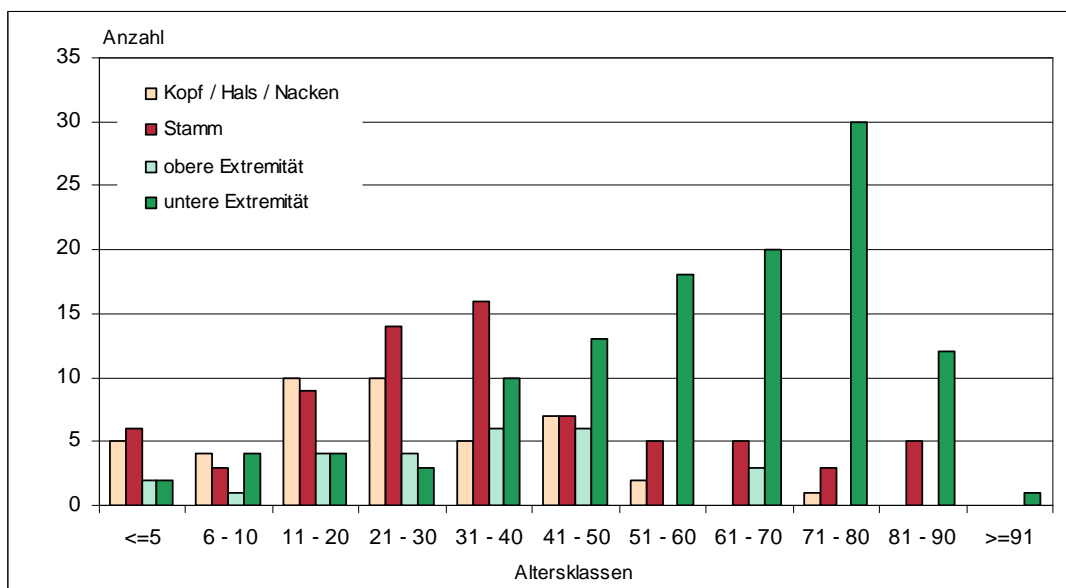


Abbildung 14: Entnahmestelle der Abstriche in Abhängigkeit vom Lebensalter

Anzahl der Abstriche gruppiert nach Körperregionen, aus denen die Abstriche entnommen wurden, bezogen auf die verschiedenen Altersklassen

Im Hinblick auf die Altersstruktur zeigte sich für die Entnahmeorte der Proben eine nahezu identische Verteilung wie bei der auf Materialangaben bezogenen Altersverteilung. Wie Abbildung 14 zeigt, wurden Abstriche aus den Regionen Kopf, Hals und Körperstamm bei jüngeren Patienten entnommen, der Häufigkeitsgipfel lag zwischen dem 31. und 40. Lebensjahr. Von älteren Probanden stammten hingegen vor allem Abstriche aus dem Bereich der unteren Extremitäten. Diese entstammten am häufigsten der Altersgruppe der 71 bis 80-jährigen.

3.3.4 Kulturergebnisse und vorausgegangener stationärer Aufenthalt

Von den 273 Patienten mit Nachweis von *S. aureus* wurde für 68 (24,9%) ein stationärer Aufenthalt bzw. eine Dialyse innerhalb der letzten 6 Monate angegeben. Für 172 Personen (63,0%) wurde die Frage auf dem Einsendeschein ausdrücklich verneint. Zu 12,1% der Positivbefunde (33 Personen) lagen keine entsprechenden Angaben vor.

Wie in Abbildung 15 zu erkennen, wurden von den Patienten mit Infektionen durch MSSA ohne PVL nur 19,6% (33 von 168) im Vorfeld stationär behandelt. Von den Personen mit Infektionen durch PVL-MSSA wurde nur für 10,5% der Fälle (6 von

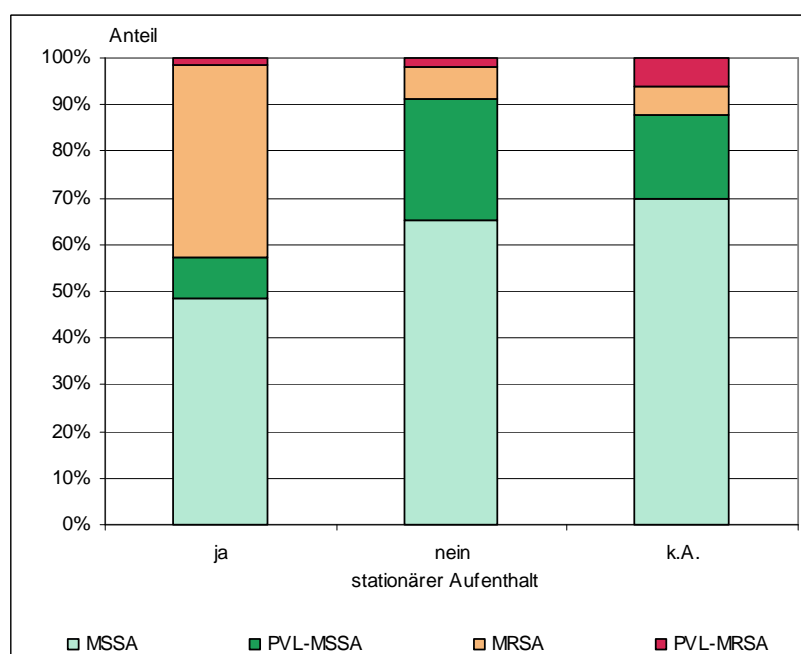


Abbildung 15: Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung und stationärer Aufenthalt

Anteil der *S. aureus*-Isolate mit und ohne PVL in Bezug auf vorausgegangene stationäre Aufenthalte der Patienten innerhalb der letzten 6 Monate vor Abstrichnahme.

MSSA = Methicillin-sensibler *S. aureus* ohne PVL; PVL-MSSA = Methicillin-sensibler *S. aureus* mit PVL; MRSA = Methicillin-resistenter *S. aureus* ohne PVL; PVL-MRSA = Methicillin-resistenter *S. aureus* mit PVL

57) ein stationärer Aufenthalt angegeben. Im Gegensatz dazu wurden zwei Drittel der Patienten mit einem „klassischen“ MRSA-Befund (28 von 42 / 66,7%) in den der Abstrichnahme vorausgegangenen 6 Monaten mindestens einmal stationär behandelt. In der Darstellung der vorliegenden Angaben zu PVL-MRSA ist allerdings wieder die geringe Fallzahl zu berücksichtigen. Nur einer der 6 Patienten war innerhalb des vorausgegangenen Halbjahres im Krankenhaus. 3 Patienten hatten in der Vorgeschichte keinen Krankenhausaufenthalt und für die 2 verbleibenden Personen blieb dies unbekannt.

Die Beobachtung, dass MRSA-Patienten (mit Epidemiestamm) in der Vorgeschichte häufiger stationäre Aufenthalte aufwiesen, entsprach mit $p = 0,003$ nicht den Signifikanzkriterien.

3.3.5 Kulturergebnisse und Antibiotika-Therapie im vorausgegangenen Halbjahr

Von den 273 Probanden mit nachgewiesener *S. aureus*-Infektion wurde 127 Personen (46,5%) in den letzten 6 Monaten vor Abstrichnahme mindestens ein Antibiotikum verordnet. 110 Patienten (40,3%) erhielten im letzten Halbjahr hingegen keine Antibiotika-Therapie. Für 13,2% (36 Personen) wurden hierzu keine Angaben gemacht.

65 der 168 Probanden (38,7%) mit Nachweis von MSSA ohne PVL erhielten in den vorausgegangenen 6 Monaten eine antibiotische Therapie, während 45,8% explizit nicht behandelt wurden. Von den 57 Patienten mit PVL-MSSA hatte mehr als die Hälfte ($n = 33 / 57,9\%$) im letzten halben Jahr vor Abstrichnahme Antibiotika eingenommen, wohingegen 21 Personen (36,8%) in diesem Zeitraum kein Antibiotikum erhalten hatten. Bei MRSA(PVL-)-Patienten war die Medikamentenanamnese diesbezüglich jedoch in nahezu zwei Dritteln der Fälle (27 von 42 / 64,3%) positiv. Für immerhin 10 Patienten (23,8%) wurde eine Antibiotikagabe für das zurückliegende Halbjahr verneint. Zwei der Patienten mit PVL-MRSA hatten im letzten halben Jahr Antibiotika eingenommen, zwei nicht und bei zwei Personen war dies nicht bekannt.

Hinsichtlich der Angaben zu Mono- oder Mehrfachtherapien war für keine der mikrobiologischen Befundoptionen (MSSA und MRSA) eine statistische Abhängigkeit zu erkennen. Aufgrund von undatierten Mehrfachnennungen einzelner Antibiotika ließen sich Sequenz- und Kombinationstherapien nicht unterscheiden, so dass hierfür keine gesonderte Auswertung erfolgen konnte.

3.3.6 Vergleich der Antibiotika-Resistenz von MSSA und MRSA

Eine Übersicht der jeweiligen Resistenzen gegenüber verschiedenen Antibiotika ist in Tabelle 1 dargestellt. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurden hier nur Substanzen mit variabler Resistenzlage ausgewiesen. Die Empfindlichkeit gegenüber Oxacillin ist in der Bezeichnung MSSA bzw. MRSA abgebildet und dient bei nachgewiesener Resistenz als Grundlage für die Beurteilung anderer Betalaktam-Antibiotika, so dass Cefalosporine und Carbapeneme hier nicht gesondert angegeben sind. Da die Resistenzlage gegenüber nicht Penicillinase-festen Penicillinen bei MSSA hingegen unterschiedlich sein kann, wurde hierfür Penicillin als Leitsubstanz mit aufgeführt. Die Substanzklasse der Fluorchinolone wird durch Ciprofloxacin repräsentiert. Resistenzen gegenüber Glycopeptiden, Co-trimoxazol, Rifampicin, Fosfomycin, Linezolid oder Mupirocin wurden nicht beobachtet und sind daher nicht dargestellt.

Von den 168 MSSA-Isolaten ohne PVL waren mehr als zwei Drittel (109 Stämme / 64,9%) gegenüber Penicillin resistent, ein Viertel der Stämme waren unempfindlich gegen Erythromycin (n = 42). Seltener traten hier Resistenzen gegenüber Ciprofloxacin (n = 14 / 8,3%), Clindamycin (n = 11 / 6,6%), Tetracyclin oder Fusidinsäure (für beide jeweils n = 6 / 3,6%) auf. Unter den 57 PVL-bildenden MSSA fiel neben einer etwas höheren Resistenzrate gegenüber Penicillin (n = 47 / 82,5%) vor allem die erhöhte Resistenz gegenüber Tetrazyclin (n = 10 / 17,5%) auf. Bei einer günstigeren Resistenzsituation gegenüber Erythromycin (5 resistente Stämme / 8,8%) wurden zudem keine Resistenzen gegenüber Clindamycin und Fusidinsäure beobachtet. Hierbei sind allerdings die deutlich unterschiedlichen Fallzahlen zu beachten.

Tabelle 1: Antibiotika-Resistenz der *S. aureus*-Isolate

Anzahl und prozentualer Anteil von Resistenzen der *S. aureus*-Isolate mit und ohne PVL gegenüber ausgewählten Antibiotika.

PVL-MRSA = Methicillin-resistenter *S. aureus* mit PVL, *MRSA* = Methicillin-resistenter *S. aureus* ohne PVL, *PVL-MSSA* = Methicillin-sensibler *S. aureus* mit PVL, *MSSA* = Methicillin-sensibler *S. aureus* ohne PVL

Antibiotikum	PVL-MRSA (n = 6)		MRSA (n = 42)		PVL-MSSA (n = 57)		MSSA (n = 168)	
	Anzahl	Anteil	Anzahl	Anteil	Anzahl	Anteil	Anzahl	Anteil
Penicillin	6	100,0	42	100,0	47	82,5	109	64,9
Ciprofloxacin	0	0,0	39	92,9	0	0,0	14	8,3
Erythromycin	1	16,7	22	52,4	5	8,8	42	25,0
Clindamycin	0	0,0	19	45,2	0	0,0	11	6,5
Tetracyclin	1	16,7	2	4,8	10	17,5	6	3,6
Gentamicin	0	0,0	1	2,4	1	1,8	4	2,4
Fusidinsäure	3	50,0	0	0,0	0	0,0	6	3,6

Die Mehrzahl der 42 MRSA-Isolate wiesen die für einige nosokomiale Epidemiestämme charakteristische Resistenz gegenüber Fluorchinolonen ($n = 39 / 92,9\%$) und Makroliden ($n = 22 / 52,4\%$) bzw. Lincosamiden ($n = 19 / 45,2\%$) auf. Seltener ließ sich eine Resistenz gegenüber Tetracyclin oder Gentamicin nachweisen. Keiner der Stämme war gegenüber Fusidinsäure resistent.

Die 6 PVL-MRSA-Isolate zeigten hingegen neben ihrer Oxacillin-Resistenz kaum weitere Resistenzen. Ein Isolat war gegenüber Erythromycin unempfindlich, in einem anderen Fall war Tetracyclin unwirksam, allerdings war die Hälfte der Stämme gegenüber Fusidinsäure resistent.

In Abbildung 16 sind die Unterschiede in der Resistenztestung noch einmal grafisch dargestellt, allerdings ist auch an dieser Stelle die geringe Fallzahl von PVL-MRSA-Nachweisen zu berücksichtigen.

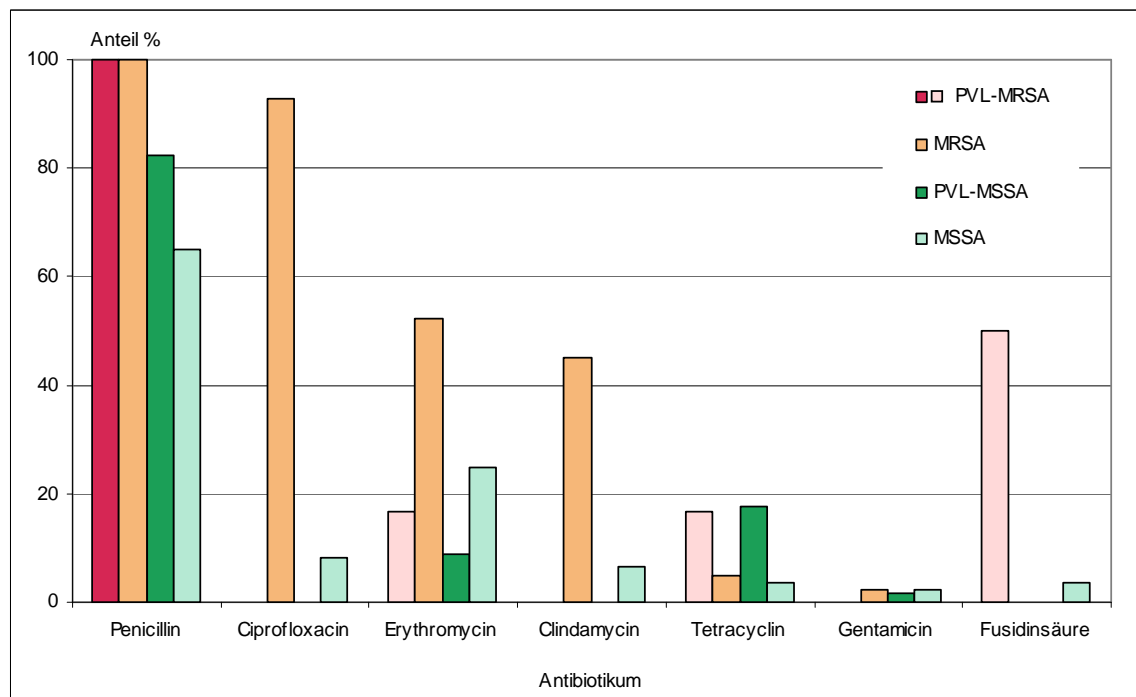


Abbildung 16: Antibiotika-Resistenz der *S. aureus*-Isolate

Anteil von Resistenzen von MRSA mit und ohne PVL (*PVL-MRSA*, rot/rosa, *MRSA*, orange) bzw. von MSSA mit und ohne PVL (*PVL-MSSA*, dunkelgrün, *MSSA*, hellgrün) gegenüber ausgewählten Antibiotika. Auf Grund der wenigen Fallzahlen von PVL-MRSA sind die Säulen für Erythromycin, Tetracyclin und Fusidinsäure farblich zurückgenommen (rosa statt rot).

PVL-MRSA = Methicillin-resistenter *S. aureus* mit PVL; *MRSA* = Methicillin-resistenter *S. aureus* ohne PVL; *PVL-MSSA* = Methicillin-sensibler *S. aureus* mit PVL; *MSSA* = Methicillin-sensibler *S. aureus* ohne PVL

3.4 Ergebnisse der spa-Typisierung

61 der insgesamt 63 PVL-bildenden *S. aureus*-Isolate aus Haut- und Weichteilinfektionen konnten am NRZ für Staphylokokken in Wernigerode mittels spa-Typisierung analysiert werden. Die beiden fehlenden Isolate wurden versehentlich nicht asserviert. Unter den zur Typisierung eingesandten Bakterienstämmen wurden insgesamt 36 verschiedene spa-Typen ermittelt, von denen der spa-Typ t008 mit 6 Nachweisen am häufigsten vertreten war (9,8%). Bei 22 der 61 untersuchten Isolate (36,1%) ergab die Typisierung dabei Einzelnachweise unterschiedlichster spa-Typen. Die spa-Typen der meisten Bakterienstämme ließen sich dabei den klonalen Komplexen CC121 (n = 20 / 32,8%) und CC30 (n = 18 / 29,5%) zuordnen. Seltener fanden sich Vertreter der spa-Typen CC8 (n = 6 / 8,8%), CC22 (n = 4 / 6,6%) und CC5 (n = 3 / 4,9%). Neben 5 Einzelnachweisen mit Zugehörigkeit zu anderen klonalen Komplexen fanden sich des Weiteren 5 *S. aureus*-Stämme, die bisher keinem bekannten klonalen Komplex zugeordnet werden konnten. Für diese wurde der durch Multi-Locus-Sequenz-Typing (MLST) ermittelte Sequenztyp (ST) angegeben. Tabelle 2 zeigt eine Übersicht der Typisierungsergebnisse mit den sich daraus ergebenden klonalen Linien bzw. der MLST-Sequenztypen.

Tabelle 2: Ergebnisse der spa-Typisierung PVL-bildender *S. aureus*-Isolate

Anzahl der nachgewiesenen spa-Typen mit Zuordnung zu klonalen Komplexen (CC, clonal complex). Für Isolate, die keinem klonalen Komplex zugeordnet werden konnten, sind MLST-Sequenztypen (ST) angegeben.

Klonaler Komplex	spaTyp	Häufigkeit	Klonaler Komplex	spaTyp	Häufigkeit
CC30	t1741	3	CC121	t435	4
	t433	3		t159	3
	t582	3		t284	3
	t318	2		t1211	2
	t012	1		t270	2
	t021	1		t3241	2
	t2408	1		t308	1
	t3651	1		t3454	1
	t3961	1		t4108	1
	t5339	1		t645	1
CC22	t005	3	CC5	t002	1
	t4585	1		t105	1
	t5339	1		t502	1
CC8	t008	6	ST1153	t903	1
CC1	t127	1	ST1595	t5029	1
CC15	t3008	1	ST188	t3022	1
CC152	t355	1	ST25	t280	1
CC145	t4227	1	ST88	t3153	1
CC80	t044	1	Gesamt		61

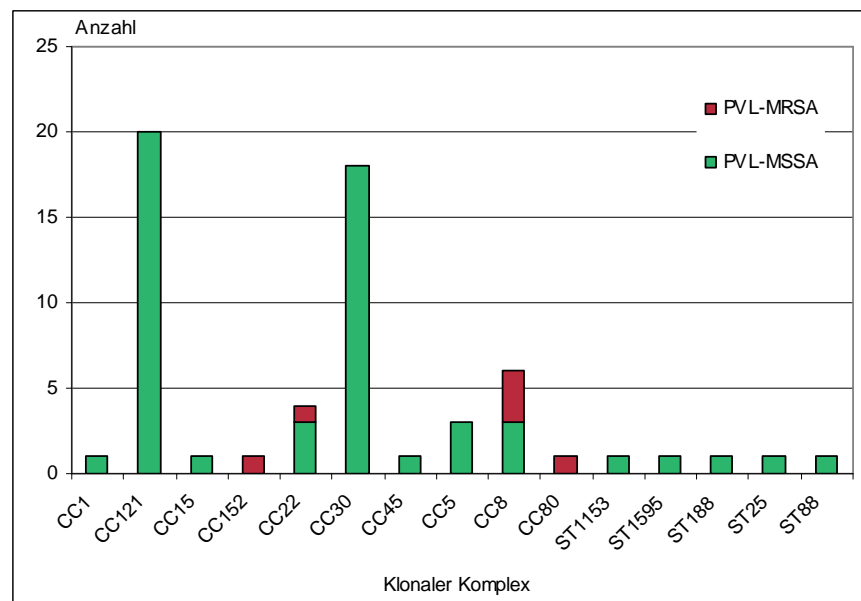


Abbildung 17: Häufigkeitsverteilung der Klonalen Komplexe PVL-bildender *S. aureus*-Isolate

Anzahl der den nachgewiesenen spa-Typen zugeordneten klonalen Komplexen (CC, clonal complex) für PVL-MSSA (grün) und PVL-MRSA (rot). Für Isolate, die keinem klonalen Komplex zugeordnet werden konnten, sind MLST-Sequenztypen (ST) angegeben.

3 der 6 PVL-MRSA wurden als spa-Typ t008 identifiziert und ließen sich somit dem CC8 zuordnen, welcher als cMRSA-Klon ST8 / USA 300 momentan hauptsächlich in den USA verbreitet ist. Ein PVL-MRSA-Isolat des spa-Typs t044 erwies sich in der MLST-Analyse als ST80. Des Weiteren wurden einem PVL-MRSA der spa-Typ t355 zugewiesen, welcher der klonalen Linie CC152 angehört (siehe Abbildung 16).

3.5 Ergebnisse der Erhebung des Trägerstatus von Indexpatienten

In insgesamt 24 von 63 Fällen (38,1%) mit PVL-assoziierter Infektion (22 Fälle mit MSSA und 2 mit MRSA) wurde der im Befund mitgeteilten Empfehlung zur Erhebung des nasopharyngealen Trägerstatus gefolgt. Die allgemeine *S. aureus*-Kolonisationsrate unter den untersuchten Indexpatienten betrug 62,5% (15 von 24).

Dabei waren 14 der 22 Patienten mit einer PVL-MSSA-Infektion (63,6%) im Nasenrachenraum mit PVL-MSSA besiedelt. Die spa-Typisierung (siehe Abschnitt 2.7) ergab in 13 Fällen eine Übereinstimmung zwischen dem aus Wundmaterial gewonnenen Isolat und dem nasal kolonisierenden Stamm. In einem weiteren Fall wurde versäumt, den PVL-positiven *S. aureus*-Stamm für die Typisierung zu asservieren.

Bei einem PVL-MSSA-Patienten fand sich nur eine nasale Kolonisation mit *S. aureus* ohne Panton-Valentine-Leukozidin.

Bei den beiden Patienten mit PVL-MRSA-Infektion ließ sich hingegen keine nasale Besiedelung mit *S. aureus* nachweisen.

3.6 Ergebnisse der Untersuchungen von Kontaktpersonen

Bei 25 (39,7%) der 63 Patienten mit PVL-assoziiertes Infektion (23 mit PVL-MSSA und 2 mit PVL-MRSA) wurden jeweils 1-5 enge Kontaktpersonen in die Untersuchung des Trägerstatus mit einbezogen. Nach Ausschluss von 3 Probanden, bei denen Angaben zum Indexfall fehlten, wurden insgesamt 54 Kontaktpersonen auf eine Besiedelung mit *S. aureus* untersucht. Von diesen 54 Kontaktpersonen waren 28 (51,9%) mit *S. aureus* kolonisiert. Diese Umgebungsuntersuchungen umfassten je 49 Personen mit Kontakt zu PVL-MSSA-Patienten und 5 Haushaltsmitglieder aus dem Umfeld von PVL-MRSA-Indexfällen.

In zwei Fällen litten zwei Haushaltsmitglieder zeitgleich an Abszessen, sie sind in Tabelle 3 entsprechend zusammengefasst dargestellt. Um das Verhältnis von Indexfällen und Kontaktpersonen nicht zu verzerren, wurde in diesen beiden Haushalten jeweils nur eine der erkrankten Personen als PVL-MSSA-Indexfall gezählt (n = 21).

Für 7 von diesen 21 PVL-MSSA-Indexpatienten (33,3%) wurden innerhalb der Familie jeweilig 1-2 Übertragungen von PVL-MSSA beobachtet. Bei 4 Indexfällen fand sich jeweils nur eine infizierte Kontaktperson, bei 3 Indexpatienten ließen sich in deren persönlichem Umfeld je 2 infizierte Kontaktpersonen nachweisen. Somit waren 10 Kontaktpersonen mit PVL-MSSA besiedelt, davon 8 mit dem gleichen spa-Typ wie der zugehörige Indexpatient.

In zwei Fällen fanden sich bei den Angehörigen von Indexpatienten PVL-MSSA eines anderen spa-Typs.

In drei Familien traten im weiteren Verlauf auch bei Kontaktpersonen Abszesse auf. Bei Indexfall Nr. 17 (nasaler Abszess) entwickelte der nasopharyngeal kolonisierte Sohn (12 Jahre) etwa ein Jahr nach der Erstuntersuchung auch einen Abszess der Nasenschleimhaut. Im Fall von Indexfall Nr. 32, einem 2-jährigen Mädchen mit periproktischem Abszess (PVL-MSSA vom spa-Typ t5339), entwickelten sowohl die Mutter (axillär) als auch der Vater (nuchal) ebenfalls isolierte Abszesse. Im Gegensatz zum Vater waren die Mutter und der Bruder bei der vorausgegangen-

genen Erhebung des Trägerstatus negativ. Bei dem Vater fand sich allerdings eine Besiedelung mit PVL-MSSA eines anderen spa-Typs (t433), der sich später auch in einem Wundabstrich seines Abszesses nachweisen ließ. Der Abszess der Mutter wurde hingegen durch den gleichen PVL-MSSA-Klon hervorgerufen wie die Infektion der Tochter (t5339). Die beiden im Haushalt lebenden Katzen wurden ebenfalls untersucht (Nase, Rachen, After). Es ließ sich jedoch bei keinem der Tiere eine Besiedelung mit *S. aureus* nachweisen.

In der Umgebungsuntersuchung von Indexfall Nr. 1 waren primär alle Familienmitglieder sowie ein Hund negativ, allerdings entwickelte nach Abschluss des Studienzeitraumes auch der Zwillingbruder einen Abszess sowie einen positiven Trägerstatus.

Der infektiologische Zusammenhang der beiden Indexfälle Nr. 13 und 14 wird un-

Tabelle 3: Ergebnisse der Untersuchungen von Kontaktpersonen

Untersuchungsergebnisse der Nasen-Rachen-Abstriche aller Kontaktperson von PVL-positiven Patienten (Indexfälle). Bei PVL-Nachweis im Nasen-Rachen-Abstrich wurde für den Index sowie für die Kontaktperson das Ergebnis der spa-Typisierung aufgenommen. Mit Ausnahme von Indexfall Nr. 5 und 32 sind die Ergebnisse der spa-Typisierung bei Index und Kontaktperson identisch.

Index Nr.	spa-Typ des Index	Anzahl der untersuchten Kontaktpersonen	Trägerstatus der Kontaktpersonen			
			kein Nachweis von <i>S. aureus</i>	positiver <i>S. aureus</i> Befund		
				PVL -	PVL +	spa-Typ
<i>PVL-MSSA</i>						
1		3	1	2	0	
5	t645	2	0	1	1	t159
6		2	2	0	0	
7	t433	3	1	0	2	t433
8		2	1	1	0	
9/10	t3241	2	0	1	1	t3241
11		5	4	1	0	
12		1	1	0	0	
13/14	t270	1	0	0	1	t270
16	t021	1	0	0	1	t021
17	t1211	3	0	1	2	t1211
18		3	2	1	0	
21		2	0	2	0	
22		1	1	0	0	
24		1	0	1	0	
25		1	0	1	0	
26		4	3	1	0	
28	t1741	5	3	1	1	t1741
29		1	1	0	0	
30	t308	2	0	0	2	t308
32	t5339	4	2	1	1	t433
<i>PVL-MRSA</i>						
2		3	2	1	0	
23		2	2	0	0	
Gesamt		54	26	16	12	

ter Abschnitt 3.7 als ausführliche Kasuistik beschrieben.

Im Umfeld der beiden einbezogenen PVL-MRSA-Indexfälle ließen sich keine Übertragungen dokumentieren. Bei 16 der insgesamt 54 untersuchten Kontaktpersonen (29,6%) fand sich lediglich eine Kolonisation mit MSSA ohne PVL-Determinanten.

3.7 Beispielkasuistik 1: Infektion durch PVL-MSSA

Am 16.2.2009 suchte die 32-jährige Patientin Frau L. (Indexfall Nr. 14) wegen eines äußerst schmerzhaften kirschgroßen Abszesses, der den linken Nasenvorhof nahezu vollständig verlegte, einen Hals-Nasen-Ohrenarzt auf. Ein Punktionsversuch scheiterte. Es wurde eine Antibiotika-Therapie mit Cefadroxil p.o. und Neomycin Salbe lokal begonnen. In der Praxis wurde der Patientin Informationsmaterial über die vorliegende Studie ausgehändigt, woraufhin sie am 17.2.09 ihre Teilnahmebereitschaft erklärte. Anamnestisch traten seit Beginn ihrer aktuellen Partnerschaft rezidivierend Abszesse wechselnder Lokalisation auf. In der Regel kam es unter Selbstmedikation mit Ethacridinlactat zur Remission. Im Vorjahr hätte sich allerdings am Unterschenkel ein tennisballgroßer Abszess entwickelt, der anfänglich wie ein Mückenstich aussah. Auftretendes Fieber führte zum Arztbesuch. Der mikrobiologische Befund des dort entnommenen Abstrichs ergab *S. aureus*.

Der Lebensgefährte der Patientin, Herr J. (Indexfall Nr.13, 45 Jahre, Landwirt mit Milchwirtschaft), litt schon seit über zwei Jahren an stark schmerzhaften Abszessen durch *S. aureus*, die trotz wiederholter Antibiotika-Verordnungen immer wiederkehrten. Der Hausarzt dokumentierte 6 Rezidive. Aktuell bestand ein großer Furunkel an der Bauchdecke, der seit dem 15.2.09 ebenfalls antibiotisch behandelt wurde (Fluorchinolon). Auf Nachfragen wurden gelegentlich auftretende Mastitiden im Viehbestand angegeben. Im Sommer 2008 bestand ein besonders enger Körperkontakt zu einer Kuh, die im Rahmen einer schwer verlaufenden primären Mastitis verendete. Aktuell wurde im Gemelk einer an Mastitis erkrankten Kuh *S. aureus* nachgewiesen, einer Beschaffung des Isolates über das veterinäre Labor wurde zugestimmt.

Noch am 17.2.09 wurden durch den Hausarzt sowohl von der Patientin als auch von ihrem Lebensgefährten Abstriche entnommen und zur Untersuchung auf PVL-bildende *S. aureus* eingesandt. Für beide ergab sich ein PVL-MSSA mit Penicillin-Resistenz, spa-Typ t270 (klonaler Komplex 121). In beiden Fällen sowie bei der Tochter von Herrn J. ließ sich auch eine nasale Besiedelung mit diesem Stamm

nachweisen. Es wurden außerdem 3 Hunde (Abstriche von Nase und Lefzen) und 4 Islandponies (Nüstern und After) in die Umgebungsuntersuchungen mit einbezogen. Bei einem der Hunde fand sich eine Kolonisation der Lefzen mit dem oben genannten Klon. Das *S. aureus*-Isolat der erkrankten Kuh (sensibler Phänotyp, PVL-PCR negativ) zeigte hingegen keine Übereinstimmung mit dem humanen MSSA-Stamm.

Frau L. und Herr J. wurden von ihrem Hausarzt für 5 Tage systemisch mit Cotrimoxazol und Rifampicin behandelt. Parallel dazu wurden für eine MRSA-Sanierung empfohlene Maßnahmen wie die Applikation von Mupirocin-Nasensalbe über 5 Tage, antiseptische Rachenspülungen mit Chlorhexidin, antiseptische Ganzkörperwaschungen mit Octenidin, desinfizierende Waschverfahren mit täglichem Wäschewechsel, Kontaktflächendesinfektion etc. durchgeführt. Die Tochter zeigte diesen Maßnahmen gegenüber wenig Compliance und hatte den Haushalt inzwischen verlassen.

Die 3 Hunde wurden vom Tierarzt mit einem Fluorchinolon (Enrofloxacin) behandelt und von Frau L. einmalig mit Octenidin gewaschen.

Trotz eines anhaltend abszessfreien Intervalls waren die Ende April 2009 entnommenen Kontrollabstriche von Frau L. erneut positiv, so dass ein weiterer Sanierungszyklus (ohne systemische Therapie) mit Weiterführung der antiseptischen Körperwaschungen und Hygienemaßnahmen über möglichst 4 Wochen empfohlen wurde. Hiernach (Ende Mai 2009) waren alle Kontrollabstriche negativ, der weitere Verlauf blieb unbekannt.

3.8 Beispielkasuistik 2: Infektion durch PVL-MRSA

Bereits während der Rückkehr von einer fünfwöchigen Reise durch Canada und die USA am 13.08.07 bemerkte der 15-jährige M. (Indexfall Nr. 2, außer Neurodermitis keine Vorerkrankungen) eine Hautveränderung im Bereich der linken Wade, die er zunächst für einen „Pickel“ oder Insektenstich hielt. Am Folgetag reiste er trotz einer beobachteten Größenzunahme dieses Prozesses zu einem mehrtägigen Segeltraining an die See.

Bis zum 18.8.07 hatte sich daraus schließlich ein Abszess mit einem Durchmesser von ca. 7 cm entwickelt.

Am 19.8.07 erfolgte eine Vorstellung in der chirurgischen Ambulanz einer Nordseeklinik, bei der der Abszess nach Vereisen drainiert und gespült wurde. Antibio-

tika wurden nicht verordnet. Noch am Nachmittag des gleichen Tages und auch am Folgetag ging der Patient wieder zum Katamaran-Segeln, während dessen er den ganzen Tag über einen Neoprenanzug trug.

Als sich nach zwei Tagen subjektiv keine Besserung der lokalen Beschwerden einstellte, suchte der Patient erneut die chirurgische Ambulanz auf. Die Wunde wurde nochmals eröffnet und gesäubert.

Erst bei der nächsten Wiedervorstellung am 23.8.07 lässt sich eine deutliche Besserungstendenz objektivieren. Allerdings traten nun am rechten Bein multiple papulopustulöse Effloreszenzen in Erscheinung, von denen sich die größte in der rechten Kniekehle entwickelte.

Bereits bis zum 24.8.07 war hier ein neuer Abszess in gleicher Größe wie der Erstbefund entstanden. Von der wiederum konsultierten chirurgischen Ambulanz wurde M. nun an eine benachbarte Hautklinik verwiesen, wo im Rahmen einer erneuten Wundversorgung ein Abstrich entnommen und Flucloxacillin verordnet wurde. Der Abstrich wurde dem Patienten zur Weitergabe an den heimatnahen Dermatologen mitgegeben.

Unter Flucloxacillin kam es zwischenzeitlich zu einer drastischen Verschlechterung des klinischen Bildes. Der Hautarzt am Heimatort stellt die Therapie daraufhin auf Ciprofloxacin um. Nach Erhalt des Laborbefundes (PVL-MRSA) wurde die letzte Medikation am 30.8.07 für 7 Tage um Rifampicin erweitert. In der Folge kam es zur Abheilung aller Abszesse.

Bereits Mitte September 2007 kam es bei M. jedoch zu einem Rezidiv mit Abszessbildung am rechten Oberschenkel, aus dem erneut PVL-MRSA nachgewiesen wurde. Diesmal wurde mit einer Kombination aus Co-trimoxazol und Rifampicin behandelt. Weder der Patient selbst noch die 3 übrigen Haushaltsmitglieder (Eltern, Schwester) waren nasopharyngeal mit PVL-MRSA besiedelt. Für M. wurden wegen der für eine Besiedelung mit *S. aureus* prädisponierenden atopischen Dermatitis trotzdem die oben beschriebenen Sanierungsmaßnahmen empfohlen.

Ende Februar 2008 wurden wegen einer zu diesem Zeitpunkt aktiven Neurodermitis umfangreiche Abstrichkontrollen unter Einbezug der Axillar-, Leisten- und Perinealregion vorgenommen. Hierbei fand sich lediglich eine Kolonisation des Nasopharynx und der Axillarregion mit MSSA ohne PVL-Determinanten.

Vor einer beabsichtigten Knieoperation nach multiplen Sportverletzungen wurde im Juni 2008 erneut ein umfangreiches Screening durchgeführt. Diesmal wurden wegen ihrer Nähe zum geplanten Operationsgebiet zusätzlich auch die Popliteae

als neurodermitische Prädilektionsstellen sowie eine erythematöse Plaque am rechten Oberschenkel mit erfasst. Bis auf den wiederholten Nachweis von MSSA ohne PVL in der Axillarregion blieben jedoch alle Abstriche negativ. Die postoperative Wundheilung verlief regelrecht und weitere Abszesse waren seitdem nicht mehr aufgetreten. Das Angebot einer nochmaligen Untersuchung aller Familienmitglieder am Ende der Studie wurde von der Familie nicht wahrgenommen.

4. Diskussion

Staphylococcus-aureus-Stämme, die das Zytotoxin Panton-Valentine-Leukozidin (PVL) exprimieren, wurden bereits 1932 entdeckt. Sie verursachen – ebenso wie andere *S. aureus*-Stämme – vor allem Haut- und Weichteilinfektionen, können jedoch auch für schwere invasive Infektionen verantwortlich sein.

Der in letzter Zeit häufiger beobachtete Zusammenhang von PVL-bildenden Staphylokokken mit schwerwiegenden Krankheitsverläufen bei Kindern und jungen Erwachsenen ohne Vorerkrankungen oder Kontakt zu medizinischen Einrichtungen hat ein zunehmendes Interesse an diesem Toxin ausgelöst. Über die tatsächliche Häufigkeit von PVL-bildenden *S. aureus*-Stämmen in Deutschland ist nur wenig bekannt, da sich die Erreger phänotypisch nicht von weniger virulenten Isolaten unterscheiden und die zur Detektion notwendige molekularbiologische Untersuchung bei ambulanten Patienten – nicht zuletzt aus Kostengründen – oftmals unterbleibt. Angaben zur Vorkommenshäufigkeit von PVL beziehen sich in der Literatur meist auf die Anzahl untersuchter klinischer *S. aureus*-Isolate aus Krankenhäusern oder ausschließlich auf MRSA und – mit Ausnahme von Ausbruchsuntersuchungen - nur selten auf populationsbasierte Erhebungen. Durch unterschiedliche Bezugsgrößen sind die Daten also schwer vergleichbar. Angestoßen durch die drastische Zunahme von PVL-positiven MRSA in den Vereinigten Staaten und später auch in Europa stehen zudem in den meisten Publikationen „cMRSA“ im Mittelpunkt (Vandenesch et al. 2003, Faria et al. 2005, Moran et al. 2006, King et al. 2006, Hota et al. 2007). Letzteres ist auch in Deutschland der Fall. Dabei können PVL-MSSA nicht nur mit ähnlichen epidemiologischen und klinischen Charakteristika in Erscheinung treten (Miller et al. 2007), sondern sind in Europa sogar auch deutlich häufiger (Strauss et al. 2007).

Ziel dieser Arbeit war es daher, Erkenntnisse über die Häufigkeit von PVL bei ambulant erworbenen *S. aureus*-Infektionen sowie das Vorkommen von PVL-bildenden MRSA in Niedersachsen zu gewinnen. Unter den in die Untersuchung einbezogenen Patienten (n = 494) fand sich in 273 Fällen eine Infektion mit *S. aureus*. Die allgemeine Nachweisrate für PVL-MSSA betrug 11,5% und es wurden lediglich 1,2% PVL-MRSA gefunden. Bezieht man die Ergebnisse zur besseren Vergleichbarkeit mit anderen Arbeiten auf die nachgewiesenen *S. aureus*-Isolate (n = 273), waren davon 20,9% PVL-MSSA und 2,2% PVL-MRSA. Insgesamt wurden also bei 23,1% der Isolate ambulanter Patienten PVL-kodierende Determinanten nachgewiesen.

Monecke et al. fanden bei ihren Untersuchungen von *S. aureus*-Isolaten aus verschiedensten Haut- und Weichteilinfektionen im Vergleich zu der vorliegenden Arbeit mit 30% einen höheren Anteil von PVL-bildenden *S. aureus*. Hier wurden am Institut für medizinische Mikrobiologie und Hygiene der Technischen Universität Dresden unter 100 konsekutiv aus Routineproben gewonnenen *S. aureus*-Isolaten insgesamt 30 PVL-bildende Stämme identifiziert. Davon handelte es sich bei 27 Isolaten um PVL-MSSA und in 3 Fällen um PVL-MRSA (Monecke et al. 2007a). Das untersuchte Kollektiv war im Hinblick auf das einbezogene Untersuchungsmaterial aus Abszessen sowie diversen akuten und chronischen Haut- und Weichteilinfektionen zwar in vergleichbarer Weise auf einen bekannten Zusammenhang mit PVL vorselektiert, jedoch gingen aus der Publikation weder die anteilmäßige Zusammensetzung des Einsendematerials noch die genaue Herkunft der Proben hervor. Möglicherweise entstammt ein nicht unwesentlicher Anteil der Abstriche von stationär behandelten Patienten, für die insbesondere in einer Universitätsklinik ein schwerwiegenderer Krankheitsverlauf und damit ggf. ein höherer Anteil PVL-assoziiierter Infektionen vermutet werden kann.

Holmes et al. ermittelten in England und Wales in ihrem ersten Studienabschnitt zur Häufigkeit von PVL hingegen unter 515 an das britische Referenzlabor für Staphylokokken eingesandten *S. aureus*-Isolaten einen PVL-Anteil von nur 1,6% (Holmes et al. 2005). Dies entspricht auch der Größenordnung der in Frankreich von Prevost et al. anhand einer zufälligen Auswahl von *S. aureus*-Isolaten ($n = 309$) stationärer und ambulanter Patienten erhobenen Daten (Prevost et al. 1995). Die Untersuchung von 470 weiteren Isolaten durch Holmes unter zusätzlicher Berücksichtigung von klinischen Aspekten ergab in einem zweiten Studienabschnitt zur Charakterisierung PVL-bildender Stämme nunmehr einen Anteil von 4,5% PVL-positiven *S. aureus*, von denen die meisten mit Haut- und Weichteilinfektionen - insbesondere Abszessen - assoziiert waren. Allerdings waren 47% (14 von 30) der im Verlauf dieser zweiteiligen Studie detektierten PVL-bildenden Isolate MRSA (Holmes et al. 2005).

Auch Prevost et al. untersuchten den Zusammenhang zwischen PVL und klinischer Manifestation. Sie wiesen unter 346 *S. aureus*-Stämmen 58 PVL-bildende Isolate (16,2%) nach, von denen allein 56 aus primären Hautinfektionen stammten und davon wiederum 64% aus Furunkeln, 13% aus Abszessen und 17% aus Panaritien. Über den Anteil Methicillin-resistenter Stämme wurde hier allerdings keine Aussage getroffen. Obwohl die allgemeine Positivrate für PVL in der vorliegenden Arbeit auch ohne Berücksichtigung klinischer Parameter bereits

deutlich höher liegt, lässt sich der materialbezogene Effekt bei ausschließlicher Betrachtung von Abstrichmaterial aus Abszessen, Papeln und Pusteln hier ebenfalls beobachten (siehe Abschnitt 3.3.1). Der Anteil PVL-assoziiierter Infektionen lässt sich hierdurch auf 51,8% steigern (respektive 48,1% für PVL-MSSA und 3,7% für PVL-MRSA). Hierbei stammten von den 63 PVL-positiven Isolaten je 87,5% aus Abszessen und 12,5% aus Abstrichen von Papeln oder Pusteln, so dass diese Ergebnisse durchaus mit denen von Prevost et al. vergleichbar sind. Ähnliches fanden auch Lina et al. bereits 1999 in einer Auswahl von 172 *S. aureus*-Isolaten aus verschiedenen Krankenhäusern, von denen zunächst nur 37% PVL-positiv waren. Bei ausschließlicher Berücksichtigung der 74 mit pyogenen Hautinfektionen assoziierten Stämme ließen sich bei mehr als der Hälfte PVL-Determinanten nachweisen. Von diesen 38 PVL-positiven Isolaten stammten allein 63,7% aus Furunkeln (Lina et al. 1999).

Noch deutlicher konnten del Giudice et al. diesen Zusammenhang herausarbeiten, indem sie ausschließlich aus Abszessen gewonnene *S. aureus*-Isolate auf das Vorhandensein der genetischen Determinanten für PVL untersuchten und dabei außerdem zwischen primären und sekundären Abszessen unterschieden. Als primär galten solche Abszesse, die sich auf zuvor unversehrter Haut entwickelten, alle anderen wurden dagegen als sekundäre Abszesse klassifiziert. In ihrem Kollektiv aus 57 Patienten wurden insgesamt 70% aller Abszesse durch PVL-positive *S. aureus*-Stämme verursacht, wobei ihr Anteil bei den primären Abszessen mit 93% gegenüber sekundären Abszessen (12,5%) besonders hoch war (del Giudice et al. 2009). Auch in dieser französischen Erhebung fand sich mit 30% (17 von 57) eine im Vergleich zu den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit auffallend hohe PVL-MRSA-Rate.

In gleicher Weise waren auch Issartel et al. vorgegangen und ermittelten unter 54 auf PVL untersuchten Isolaten aus stationär behandelten primären Abszessen ebenfalls eine Positivrate von nahezu 90% (Issartel et al. 2005). Diese Korrelation wurde immer wieder auch von anderen Autoren beschrieben (Chambers 2005, Voyich et al. 2006, Campbell et al. 2008, Diep et al. 2008, Vourli et al. 2009, Masiuk et al. 2010).

Im Hinblick auf den nachgewiesenen Zusammenhang zwischen klinischem Bild, insbesondere signifikant für Abszesse, und PVL-kodierenden Determinanten könnte die Diskrepanz in deren Nachweishäufigkeit zum einen durch Unterschiede bei der Auswahl des untersuchten Kollektivs bedingt sein. So sind in einem vorselektierten Kollektiv mit Isolaten aus Haut- und Weichteilinfektionen - wie im hier

vorliegenden Fall - entsprechend höhere PVL-Positivraten zu erwarten als bei zufällig gewählten Proben. Des Weiteren könnten auch aufgrund der Schwere der Infektion Unterschiede zwischen ambulanten und stationär behandelten Patienten oder aber geografische Verschiedenheiten eine Rolle spielen.

Zur Häufigkeit von PVL-MRSA liegen nur wenige Untersuchungen vor und es sind regionale Unterschiede zu beobachten. Für Europa wird allgemein eine Prävalenz von 0,03-1,5% bis hin zu 5,3% angegeben (Tiemersma et al. 2004, Strauss et al. 2007), unter dermatologischen Patienten soll sie 2-3% aller *S. aureus*-Infektionen betragen (Witte 2008). Das Nationale Referenzzentrum für Staphylokokken (NRZ) am Robert-Koch-Institut in Wernigerode ermittelte für das Jahr 2006 unter allen dorthin zur Typisierung eingesandten MRSA-Stämmen (n = 2212) einen PVL-MRSA-Anteil von 2,8%. Im Vorjahr waren es, bezogen auf 2489 Einsendungen, noch 1,5% (Witte 2008). Eine Fortschreibung des PVL-MRSA-Anteils zum Vergleich mit neueren Ergebnissen wurde bisher nicht veröffentlicht.

In einer grenzübergreifenden Erhebung zur Verbreitung von MRSA in der Rhein-Maas-Region fanden sich unter 257 untersuchten Isolaten (davon 92 aus Deutschland, 121 aus den Niederlanden und 44 aus Belgien) nur 11 (4,3%) mit PVL, von denen 2 Stämme aus Deutschland und 9 aus den Niederlanden stammten. Bezogen auf die deutschen Einsendungen ergibt sich somit ein in etwa mit den Daten des NRZ vergleichbarer Anteil von 2,2% (Deurenberg et al. 2009). Im Nachbarland Niederlande wird dagegen über eine Häufigkeit von 8-15% berichtet (Wannet et al. 2004, Wannet et al. 2005). An der Universität Regensburg untersuchte Routineproben ergaben mit einem PVL-positiven Anteil von 5% aller MRSA einen für Deutschland regional höheren Wert (Linde und Lehn 2008). In einer Querschnittsstudie zur PVL-MRSA-Prävalenz wurden in 426 Abstrichen von Bewohnern und Angestellten eines Altenheims in dieser Region 24 „cMRSA“-Isolate (4,6%) gefunden, wobei hier allerdings sowohl Infektionen als auch asymptomatische Träger enthalten waren (Raab et al. 2005).

Die in der vorliegenden Arbeit erhobene PVL-MRSA-Rate ist mit den Ergebnissen der anderen Studien nicht direkt vergleichbar. Die in jenen Erhebungen meist zugrunde gelegte Bezugsgröße aus überwiegend nosokomialen MRSA-Stämmen war nicht Gegenstand dieser Untersuchung und die Anzahl der nebenbefundlich ermittelten MRSA-Epidemiestämme (n = 42) für eine übertragbare Angabe zu gering. Des Weiteren wurden in die niedersächsische Erhebung ausschließlich aus Infektionen gewonnene Isolate einbezogen. Da die Anzahl der ermittelten PVL-MRSA-Infektionsfälle (6 von 494 untersuchten Patienten) aber selbst in einem un-

ter klinischen Aspekten vorselektierten Kollektiv sehr niedrig ist, kann wohl davon ausgegangen werden, dass PVL-MRSA derzeit in Niedersachsen als Infektionserreger noch eine untergeordnete Rolle spielen.

Andererseits ist gerade im Hinblick auf die regionale Diversität in einem Flächenland wie Niedersachsen mit etwa 7,9 Millionen Einwohnern ein untersuchtes Kollektiv von 494 Patienten kaum repräsentativ. Trotz aller Bemühungen niedersachsenweit Einsender zu gewinnen, wurde die beabsichtigte Größenordnung von 2000 Patienten nicht erreicht. Des Weiteren sind die Stadt und Region von Hannover mit einem Probenanteil von rund 28,7% der Einsendungen stark überrepräsentiert. Dies könnte zum einen in der höheren Ärztedichte begründet sein, zum anderen wurde ein größerer Teil der Interessenten möglicherweise auch auf zwei Vortragsveranstaltungen in Hannover direkt akquiriert.

Die fehlende Teilnahmebereitschaft vieler Ärzte dürfte an einem unvergüteten Mehraufwand durch die Patientenaufklärung mit schriftlicher Einwilligung und eine ggf. doppelte Abstrichnahme gelegen haben (aus wettbewerbsrechtlichen Gründen konnte nur die gezielte Diagnostik auf Staphylokokken kostenfrei angeboten werden). Da Abszesse häufig nur gespalten, drainiert und empirisch mit Beta-laktam-Antibiotika behandelt werden, verzichteten viele Ärzte bei der Erstversorgung auf eine mikrobiologische Diagnostik, so dass hier bereits ein Abstrich einen Mehraufwand dargestellt hätte.

Aus ähnlichen Beweggründen wurde sicher auch von vielen teilnehmenden Praxen der Empfehlung nicht nachgegangen, bei nachgewiesener PVL-MSSA- oder PVL-MRSA-Infektion den Kolonisationsstatus des Patienten und seines häuslichen Umfeldes zu prüfen. Die Kosten für die Sanierung werden bei Vorliegen einer PVL-MSSA-Besiedelung nicht von der gesetzlichen Krankenversicherung übernommen, ebenso wenig werden Abstrichnahme und Sanierungsmaßnahmen bei asymptomatischen Kontaktpersonen vergütet. Dies hätte mitunter zu Diskussionsbedarf seitens der Patienten führen können, was wiederum einen zusätzlichen Zeitaufwand zur Folge gehabt hätte.

Ferner wurde nur in etwa 55% der Untersuchungen *S. aureus* nachgewiesen. Den Negativbefunden könnten eine suboptimale Abstrichtechnik oder aber Materialentnahmen unter antibiotischer Therapie zugrunde liegen. Möglicherweise sind auf diese Weise – insbesondere bei rezidivierenden Abszessen in der Anamnese – eine größere Zahl PVL-assoziiertes Infektionen unentdeckt geblieben, obgleich es sich hierbei natürlich auch um Anaerobier-Infektionen gehandelt haben könnte, die unter den ausschließlich aeroben Bebrütungsbedingungen nicht erfasst wurden.

Darüber hinaus hatte sich bereits während des Studienzeitraumes herausgestellt, dass die kommunizierte Indikation zur Materialeinsendung zu weit gefasst war. Zu Beginn der Studie wurde sie von vielen Kollegen als kostenfreies Routinescreening auf nosokomiale MRSA missverstanden. Die Ankreuzoptionen „Nekrose“, „Wundinfektion“ oder „Sonstiges“ auf dem Einsendeschein waren insofern irreführend, dass hierunter häufig auch chronische Wunden wie Unterschenkelulzera oder postoperative bzw. posttraumatische Wundinfektionen verstanden wurden. Wie erwartet, waren diese klinischen Bilder nicht mit PVL-bildenden *S. aureus* assoziiert, sondern eher das Reservoir der gefundenen hMRSA. Die einzigen Ausnahmen stellten dabei zwei fünfjährige Kinder mit einem Panaritium bzw. einer Periproktitis dar. Eine Beschränkung der Indikation auf primäre Haut- und Weichteilinfektionen wie Furunkel und Abszesse wäre im Hinblick auf eine höhere PVL-Nachweisrate zwar zielführender gewesen, dies hätte die Einsenderate und damit die Repräsentativität jedoch noch weiter reduziert.

4.1 Epidemiologie der Haut- und Weichteilinfektionen im Vergleich

Die epidemiologischen Merkmale und klinischen Manifestationsformen der in diese Studie einbezogenen PVL-assoziierten Infektionen verhalten sich ähnlich wie dies schon von anderen Autoren beschrieben wurde. Der Altersdurchschnitt der Patienten mit Haut- und Weichteilinfektionen lag in der vorliegenden Untersuchung mit großer Spannweite bei 46,6 Jahren (siehe Abschnitt 3.2). Da PVL-assoziierte Infektionen häufig bei Kindern und jungen Erwachsenen auftreten, wurden viele Studien in pädiatrischen Einrichtungen erhoben (Herold et al. 1998, Deresinski 2005, Orscheln et al. 2009). Aufgrund der in der vorliegenden Arbeit breiter gefächerten Altersstruktur erscheinen sie für einen Vergleich weniger geeignet. Bei anderen nichtpädiatrischen Kollektiven war das Durchschnittsalter mit Werten zwischen 29,5 und 42,1 Jahren allerdings auch oft deutlich niedriger als das der hier untersuchten Probanden (Issartel et al. 2005, Wiese-Posselt et al. 2007, Campbell et al. 2008, del Giudice et al. 2009, Vourli et al. 2009, Mesrati et al. 2010). Vermutlich ist der höhere Altersdurchschnitt durch die oben bereits erwähnte breite Indikationsstellung mit Einsendungen von Abstrichen aus postoperativen Wundinfektionen oder chronischen Wunden mitbedingt.

In der vorliegenden Arbeit wurden 77,8% (49 von 63) der PVL-bildenden *S. aureus*-Isolate ebenfalls aus Abszessen gewonnen (siehe Abschnitt 3.3.1). Die von PVL-assoziierten Infektionen betroffenen Patienten erkrankten signifikant häu-

figer innerhalb der ersten Lebenshälfte: sie waren im Durchschnitt 28,7 Jahre alt. Entsprechend waren auch die als Abszess deklarierten Materialeinsendungen in dieser Altersgruppe am häufigsten. Der durch diese Beobachtung bereits nahe liegende Zusammenhang zwischen der klinischen Manifestation als Abszess und dem Lebensalter ließ sich statistisch bestätigen ($p < 0,001$). Mit Augenmerk auf das Durchschnittsalter der Patienten, die von PVL-assoziierten Infektionen betroffen sind, die Altersverteilung bestimmter Materialeinsendungen und die altersabhängigen Infektlokalisationen unterstützen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit somit die zuvor genannten Beobachtungen der anderen Autoren.

Insgesamt betrachtet waren die meisten der im Untersuchungskollektiv dieser Arbeit beobachteten Infektionen (rund 44%) offenbar im Bereich der unteren Extremität lokalisiert (siehe Abschnitt 3.2). An zweithäufigster Stelle folgte der Körperstamm (31%) unter Betonung der Gesäßregion. Die Nachweishäufigkeit von *S. aureus* als Infektionserreger wird für diese Körperareale in gleicher Reihenfolge angeführt. Die überwiegende Anzahl der *S. aureus*-Isolate war in der Testung auf lukS-PV bzw. lukF-PV negativ. Die Mehrzahl der PVL-assoziierten Infektionen war allerdings am Körperstamm zu finden (siehe Abschnitt 3.3.3). Hiervon war wiederum überwiegend der Genitoanalbereich betroffen, gefolgt von Axillarregion und Einzelfällen mit Infektionen an Leiste, Rücken und Hüfte.

Nach Beobachtungen von Issartel et al. traten solche Infektionen hingegen überwiegend an den Extremitäten (82%) auf, wobei hier wiederum in mehr als der Hälfte der Fälle die obere Extremität betroffen war (Issartel et al. 2005). Da keine detaillierteren Angaben zur Lokalisation gemacht wurden, könnte dieser auffälligen Diskrepanz eine unterschiedliche Zuordnung von Übergangsregionen wie Axillar- und Leistengegend zu den übergeordneten Körperteilen zugrunde liegen.

In einer großen britischen Studie ($n = 1230$) mit einem sehr hohen Anteil PVL-bildener *S. aureus*-Stämme (65%) fanden sich die Infektionen PVL-assoziiertes Genese bevorzugt im Bereich der Axillae, der Gesäßregion sowie der proximalen Oberschenkel (50% der Fälle). Im Gegensatz zu der Vergleichsgruppe mit Infektionen durch PVL-negative *S. aureus* war das von PVL-positiven *S. aureus* betroffene Kollektiv mit einem Median von 26 vs. 38 Jahren dort ebenfalls deutlich jünger (Kearns et al. 2010).

In den Arbeiten zwei weiterer Autorengruppen finden sich in den tabellarischen Übersichten ebenfalls vergleichbare Lokalisationen wie in der vorliegenden Erhebung, eine statistische Bewertung fand nicht statt (Ruppitsch et al. 2007, Tinelli et al. 2009). Diep et al. ermittelten bei Infektionen mit dem PVL-positiven

Klon „USA300“ unter Mitgliedern der Homosexuellenszene indes eine höhere Wahrscheinlichkeit für eine Manifestation in der Gesäß-, Genital- oder Perinealregion (Diep et al. 2008). Dies könnte allerdings stark durch das Sexualverhalten dieses Kollektives beeinflusst sein, so dass ein Vergleich mit der in der vorliegenden Studie untersuchten Patientengruppe nur unter Vorbehalt erfolgen kann.

In den meisten der für diese Arbeit herangezogenen Publikationen blieb die Lokalisation der PVL-assoziierten Infektionen indessen unberücksichtigt.

Unter den an der unteren Extremität lokalisierten Infektionen wurde in dem Untersuchungskollektiv der vorliegenden Arbeit ein großer Anteil durch Abstriche offener Wunden und Nekrosen repräsentiert. 68% der allgemein als Wundinfektion deklarierten Abstriche und 87% der Abstriche von Nekrosen entstammten der Beinregion. Die meisten dieser Materialentnahmen stammten von Patienten, die älter als 50 Jahre waren. Zugleich wurde eine signifikante Zunahme von MRSA-Nachweisen beobachtet, deren Resistenzphänotyp dem der nosokomialen Epidemiestämme bzw. „hMRSA“ entsprach. Im Zusammenhang mit zunehmenden Komorbiditäten und damit häufiger verbundenen stationären Aufenthalten wurde dies in der Literatur bereits mehrfach beschrieben (Graffunder und Venezia 2002, Simor et al. 2005, Grundmann et al. 2010, Kupfer et al. 2010). Bei keinem der „hMRSA“-Phänotypen ließen sich die PVL-kodierenden Gendeterminanten nachweisen.

Von den Patienten mit Infektionen durch PVL-MSSA ($n = 57$) wurden 10,5% der Fälle im vorausgegangenen Halbjahr stationär behandelt. Unter den Personen mit MSSA ohne PVL ($n = 168$) war der Anteil nahezu doppelt so hoch, allerdings dürfte dieser Effekt durch die im Verhältnis sehr unterschiedlichen Fallzahlen mitbegründet sein. Auffallend war, dass von den Probanden mit Nachweis des „hMRSA“-Phänotyps sogar zwei Drittel einen stationären Aufenthalt innerhalb des letzten Halbjahres aufwiesen (vgl. Abschnitt 3.3.4). Eine Beziehung zwischen stationärem Aufenthalt und „hMRSA“-Phänotyp wurde von anderen Autoren berichtet (Warshawsky et al. 2000, Gopal Rao et al. 2007). Für das vorliegende Untersuchungskollektiv konnte jedoch kein statistisch signifikanter Zusammenhang gezeigt werden.

Bezüglich vorausgegangener Antibiotika-Therapien wurde für mehr als die Hälfte (57,9%) der Patienten mit einer PVL-MSSA Infektion eine antibiotische Behandlung angegeben, während von den Probanden mit einer MSSA-Infektion ohne PVL nur 38,7% mit Antibiotika therapiert wurden (vgl. Abschnitt 3.3.5). Dies könnte so-

wohl in schwereren klinischen Verlaufsformen als auch in der Rezidivneigung PVL-assoziiierter Infektionen begründet liegen. Die Abszesse wurden in den klinischen Angaben der einsendenden Ärzte häufig als besonders schmerzhaft beschrieben oder zeigten eine auffallende Progressionstendenz, was auch von anderen Autoren beobachtet wurde (Etienne 2005, Linde und Lehn 2008, Vonberg et al. 2008). Für Patienten mit „hMRSA“-Phänotyp ohne PVL war die Medikamentenanamnese hinsichtlich der Einnahme von Antibiotika bei 27 von 42 Personen (64,3%) sogar in nahezu zwei Dritteln der Fälle positiv. Zwar gehört die wiederholte oder längerfristige Gabe von Antiinfektiva zu den „klassischen“ Risikofaktoren für nosokomiale MRSA-Infektionen (Graffunder und Venezia 2002, Tacconelli et al. 2008), jedoch konnte in der vorliegenden Arbeit nicht ermittelt werden, ob die MRSA-Infektion jeweils die Folge oder der Anlass einer Antibiotikagabe waren. Insbesondere im Hinblick auf die Güte und Vollständigkeit klinischer Angaben weisen laborbasierte Studien wie die vorliegende oft erhebliche Limitationen auf. Neben dem bereits an anderer Stelle erwähnten Informationsverlust durch eine zeitsparende Erfassung der Angaben mittels Ankreuzoptionen und der schwierigen Evaluation offen zu beantwortender Fragen ist ferner zu beachten, dass in diesem Zusammenhang mitunter mangelnde Kenntnis sowie subjektive Aspekte seitens des Arztes/der Ärztin bei der Auswahl seiner/ihrer Angaben eine Rolle spielen. Die in dieser Arbeit gewählte Form der Datenerhebung ließ daher eine weiterführende Auswertung von Angaben zu Komorbiditäten und antimikrobiellen Therapieregimen wenig sinnvoll erscheinen.

So waren beispielsweise Hauterkrankungen häufiger in dem Personenkreis unter 65 Jahren vertreten und dadurch seltener in Kombination mit anderen Erkrankungen genannt, jedoch waren die angegebenen Hautkrankheiten wiederum sehr vielgestaltig. Selbst bei einer versuchten Unterteilung in atopische Erkrankungen (Neurodermitis, Psoriasis, Kontaktekzeme) und Pyodermien (Impetigo, Folliculitis, Furunkel, Akne) ergaben sich durch die Häufigkeit akuter Superinfektionen atopischer Krankheitsbilder für eine differenzierte Auswertung immer noch zu viele Überschneidungen.

4.2 Spa-Typisierung der PVL-bildenden *Staphylococcus-aureus*-Isolate

Die spa-Typisierung der PVL-bildenden *S. aureus*-Isolate zeigte eine hohe molekulare Diversität, über die auch von anderen Autoren berichtet wurde (Monecke et al. 2007a, Grundmann et al. 2010, Masiuk et al. 2010). In den genannten Studien

wird dies insbesondere für PVL-MSSA beschrieben. In der vorliegenden Erhebung fanden sich unter den insgesamt 61 zur Typisierung eingesandten PVL-positiven Isolaten 36 verschiedene spa-Typen, wobei der Typ t008 unter allen am häufigsten vertreten war. Für diesen spa-Typ sind sowohl Methicillin-sensible als auch resistente Stämme bekannt (Grundmann et al. 2010). Im Kollektiv der vorliegenden Arbeit war die Hälfte der 6 t008-Isolate gegenüber Methicillin empfindlich. Insgesamt verteilten sich die typisierten PVL-MSSA-Stämme ($n = 55$) auf 33 verschiedene spa-Typen, welche sich jedoch größtenteils den beiden klonalen Komplexen CC121 ($n = 20$) und CC30 ($n = 18$) zuordnen ließen (vgl. Tabelle 2). Den klonalen Linien CC8 und CC22 bzw. CC5 gehörten nur jeweils 3 respektive 2 Isolate an, alle übrigen waren Einzelnachweise verschiedenster Art. Die wenigen PVL-MRSA ($n = 6$) dieser Studie gehörten hingegen den Klonen CC8 ($n = 3$), CC80, CC22 und CC152 an (vgl. Abbildung 17). Damit zeigte sich im vorliegenden Fall, obgleich es sich nur um eine sehr geringe Anzahl handelt, eine Dominanz des in den USA weit verbreiteten PVL-positiven „cMRSA USA300“ vom Typ ST8. Bisher finden sich in Europa vorwiegend PVL-MRSA vom Typ ST80 (Linde und Lehn 2008, Witte 2008), jedoch gingen diese nach Beobachtungen einiger Autoren in ihrer Häufigkeit etwas zurück, wohingegen PVL-MRSA ST8 „USA300“ in ihrem Auftreten zunahm (Witte et al. 2007a, Otter und French 2010). Möglicherweise spiegeln die in der vorliegenden Arbeit gefundenen PVL-MRSA dieses Typs diese Entwicklung kleinräumig wider.

Von den 3 Patienten mit einem PVL-MRSA des Typs „USA300“ hatte nur eine Person eine entsprechende Reiseanamnese mit gelegentlicher Unterbringung in Mehrbettzimmern amerikanischer Jugendherbergen. Die mit dem europäischen Klon infizierte Patientin war bereits während eines vorausgegangenen längeren Ägyptenaufenthaltes, während dessen sie in einer Wohngemeinschaft lebte, dort wegen eines Abszesses stationär behandelt worden. Der PVL-MRSA des Klons CC152, für den in der Literatur ein Zusammenhang mit der Balkanregion beschrieben wird (Witte et al. 2005, Monecke et al. 2007b, RKI 2009), betraf eine Person mit serbischem Migrationshintergrund. Da der Infektion jedoch keine Reise nach Serbien voraus ging, könnte dieser Patient sich ebenso im Rahmen seiner Sozialkontakte hierzulande infiziert haben. Der PVL-MRSA-Klon CC22 wurde bisher nur für den Südosten Deutschlands als endemisch beschrieben (Linde et al. 2005). Mit Ausnahme des in die USA gereisten Patienten, der sich aufgrund des zeitlichen Zusammenhangs der klinischen Symptomatik mit der USA-Reise mit größter Wahrscheinlichkeit dort infiziert hat, kann hinsichtlich der Infektionsquelle

der anderen Patienten nur spekuliert werden. Auf jeden Fall erscheint die Infektion in mindestens der Hälfte der Fälle in Deutschland akquiriert worden zu sein.

Zwar zeigten die in der Dresdener Studie von Monecke et al. gefundenen PVL-bildenden Isolate ebenso wie die in der vorliegenden Arbeit eine ausgeprägte klonale Diversität (Monecke et al. 2007a), jedoch dominierten dort Stämme der klonalen Linien ST121 (36,7%) und ST22 (16,7%), während in Niedersachsen die Klone CC121 (32,8%) und CC30 (29,5%) im Vordergrund standen. Bei den auch in Sachsen offenbar noch seltenen PVL-MRSA handelte es sich um 2 Isolate des europäischen Klons vom Typ ST80 und ein Isolat des Typs ST8/“USA300“.

In einer molekularen Analyse von ausschließlich aus Furunkeln gewonnenen *S. aureus*-Stämmen (n = 74) beobachteten Masiuk et al. nicht nur einen PVL-positiven Anteil von 85,1%, sondern zugleich eine starke Assoziation von PVL mit dem genetischen Hintergrund der bei Furunkulose gefundenen Stämme. Die Isolate zeigten auch dort hinsichtlich der ermittelten spa-Typen eine diverse Populationsstruktur, allerdings ließen sich 70% der Stämme wiederum den beiden klonalen Linien CC121 (55,4% / 14 spa-Typen) und CC22 (14,9% / 6 spa-Typen) zuordnen. CC30 (7%) und andere Klone wurden hingegen selten nachgewiesen (Masiuk et al. 2010). Demnach könnte die etwas höhere Nachweisrate für PVL in der Studie aus Sachsen (Monecke et al. 2007a) möglicherweise auch nur durch einen größeren Anteil von Abszessmaterial oder aber regional-epidemiologische Besonderheiten begründet sein.

Als Ursache der klonalen Diversität PVL-bildender *S. aureus* wird von einigen Autoren die beträchtliche genetische Mobilität der PVL-kodierenden Determinanten durch ihre Bakteriophagen-vermittelte Übertragung angenommen (Monecke et al. 2009, Perbet et al. 2010). Es scheinen jedoch nicht alle klonalen Linien in gleicher Weise von diesem horizontalen Transfer betroffen zu sein (Narita et al. 2001, Masiuk et al. 2010). Unter Berücksichtigung der auch für MSSA ohne PVL bekannten regionalen Unterschiede im Verteilungsmuster einzelner spa-Typen bzw. klonaler Linien (Monecke et al. 2007a, Orscheln et al. 2009, Grundmann et al. 2010) könnte dies die geografische Verschiedenheit in der Verbreitung einzelner PVL-MSSA Klone mit beeinflusst haben. Die von den verschiedenen Autoren insbesondere für PVL-MSSA CC121 beobachtete Dominanz und molekulare Diversität könnte darauf hindeuten, dass sich dieser Klon vielerorts schon über einen sehr langen Zeitraum etabliert und weiter entwickelt hat. Zudem können auch kleinräumige Cluster oder Ausbruchsgeschehen dazu beitragen, dass bestimmte klonale Linien für längere Zeit endemisch sind (Wiese-Posselt et al. 2007, Tinelli et

al. 2009). Da im Probeneinzugsgebiet der vorliegenden Arbeit Einsendungen aus der Region Hannover unbeabsichtigt überrepräsentiert waren, sind in den vorliegenden Ergebnissen neben einer möglicherweise in Niedersachsen zufällig höheren Prävalenz von MSSA CC30 systematische Einflüsse durch lokale Ausbruchsstämme nicht auszuschließen.

4.3 Antibiotika-Resistenz der *Staphylococcus-aureus*-Isolate

Hinsichtlich der Antibiotika-Resistenz der gefundenen *S. aureus*-Isolate ergaben sich vor allem zwischen PVL-positiven und -negativen MSSA einige Unterschiede (vgl. Abschnitt 3.3.6). Die Resistenzsituation für MSSA ohne PVL entsprach bis auf Abweichungen für Chinolone und Lincosamide weitestgehend den von der Paul-Ehrlich-Gesellschaft ermittelten Ergebnissen (Kresken et al. 2009). Dies dürfte durch ein dort gemeinsames Ausweisen von MRSA und MSSA begründet sein, da MRSA-Epidemiestämme gegenüber den genannten Substanzen häufig Resistenzen aufweisen (Witte 2008). Bei den PVL-positiven Isolaten fiel demgegenüber vor allem eine deutlich geringere Resistenzrate gegenüber Erythromycin sowie eine deutlich häufigere Resistenz gegenüber Tetracyclin auf. Aufgrund der geringen Fallzahlen ließ sich hierfür jedoch keine statistische Signifikanz ermitteln. In anderen Erhebungen, sofern überhaupt Ergebnisse einer Empfindlichkeitsprüfung dargestellt oder nach Vorhandensein von PVL und Methicillin-Resistenz separat ausgewiesen wurden, ließ sich dieses Phänomen nicht beobachten. Statt dessen wurden hier verschiedenste Resistenzkombinationen beobachtet (Holmes et al. 2005, Tinelli et al. 2009, Mesrati et al. 2010). In einer Studie von Orscheln et al. waren PVL-MSSA im Gegensatz zu den Ergebnissen dieser Arbeit sogar häufiger gegenüber Erythromycin resistent als *S. aureus* ohne PVL (Orscheln et al. 2009). Bei dem für ein Ausbruchsgeschehen in Brandenburg verantwortlichen PVL-MSSA vom Typ ST121, mit dem auch etwa ein Drittel der Stämme aus dem vorliegenden Untersuchungskollektiv eine Verwandtschaft zeigte, stand hingegen eine kombinierte Resistenz gegen Penicillin und Ciprofloxacin im Vordergrund (60% der 77 Isolate), in einigen Fällen trat diese zudem in Vergesellschaftung mit einer Resistenz gegenüber Erythromycin, Tetracyclin oder Chloramphenicol auf (Wiese-Posselt et al. 2007).

Für das Resistenzprofil der MRSA ohne PVL ergab sich wiederum eine gute Kongruenz mit den vom Robert-Koch-Institut für hMRSA veröffentlichten Daten. Der

Resistenzphänotyp zeigt dabei große Übereinstimmung mit dem Barnim-Epidemiestamm, der in dieser Region durchaus verbreitet ist (Witte 2008, RKI 2009). Da bei keinem dieser Isolate PVL-kodierende Determinanten nachweisbar waren, wurden die Stämme allerdings nicht molekular typisiert.

Die Resistenzmuster der PVL-MRSA dieser Arbeit stimmten teilweise mit den für bestimmte Klone als charakteristisch beschriebenen Merkmalen überein. So zeigte sich der europäische Klon CC80 im vorliegenden Fall erwartungsgemäß gegenüber Tetracyclin und Fusidinsäure resistent (RKI 2009; Ellington et al. 2009). Der aus Süddeutschland beschriebene PVL-MRSA CC22 war, wie schon dort beobachtet, nur gegenüber Fusidinsäure unempfindlich (Raab et al. 2006). Von den 3 PVL-MRSA des Typs CC8 hingegen zeigte nur ein Isolat den in der Literatur für den Klon „USA300“ als typisch geltenden Resistenzphänotyp mit Unwirksamkeit von Erythromycin und verminderter Empfindlichkeit gegenüber Ciprofloxacin (Linde und Lehn 2008, RKI 2009). Ein weiteres CC8-Isolat war statt dessen nur gegenüber Fusidinsäure resistent und das Dritte für alle getesteten Non-Betalaktame empfindlich. Letzteres galt auch für den aus der Balkanregion beschriebenen PVL-MRSA CC152. Insgesamt unterscheiden sich die Resistenzphänotypen dieser PVL-MRSA, wie schon vielfach in der Literatur beschrieben (Okuma et al. 2002, Vandenesch et al. 2003, Ito et al. 2004, Linde und Lehn 2005) deutlich von den multiresistenten „hMRSA“-Epidemiestämmen, jedoch sind sie – untereinander verglichen – ebenfalls sehr inhomogen.

4.4 Erfassung des nasalen Trägerstatus von Indexpatienten und Kontaktpersonen

Neben den aus Wundmaterial isolierten Stämmen wurden auch *S. aureus* aus Nasen- und Rachenabstrichen der betroffenen Patienten untersucht (vgl. Abschnitt 3.5). Für 24 Patienten lagen derartige Abstriche vor. Darunter fand sich bei 14 der 22 Patienten (63,6%) mit PVL-assoziiertes MSSA-Infektion ein positiver Trägerstatus, die Nasenabstriche der beiden PVL-MRSA-Patienten blieben negativ. Die spa-Typisierung der aus den Nasenabstrichen gewonnenen *S. aureus*-Isolate ergab in allen Fällen den gleichen spa-Typ wie am jeweiligen Infektionsort. Eine nasale Besiedelung mit Übereinstimmung der molekularen Charakteristika des kolonisierenden Stammes und des als Infektionserreger identifizierten Isolates wurde auch von anderen Autoren beobachtet (Dufour et al. 2002, Issartel et al. 2005, Masiuk et al. 2010).

Darüber hinaus konnten durch eine gezielte Untersuchung von Familienmitgliedern und Freunden der erkrankten Probanden weitere PVL-MSSA-Träger identifiziert werden (vgl. Abschnitt 3.6). Insgesamt wurden 54 Nasen-Rachen-Abstriche enger Kontaktpersonen untersucht, von denen bei 12 Personen (22,2%) ebenfalls eine Kolonisation mit PVL-MSSA entdeckt wurde (vgl. Tabelle 3). Die meisten (83,3%) wiesen dabei den gleichen spa-Typ auf wie der zu dem jeweiligen Umfeld gehörende Indexfall. Derartige Übertragungen von PVL-bildenden *S. aureus* werden häufig beobachtet (Osterlund et al. 2002, Wagenlehner et al. 2007, Wiese-Posselt et al. 2007, Tinelli et al. 2009).

Lediglich bei zwei Indexpatienten und ihren mit PVL-MSSA kolonisierten Angehörigen fanden sich jeweils 2 Isolate unterschiedlicher spa-Typen, die jedoch in beiden Fällen dem gleichen klonalen Komplex angehörten.

Bei dem ersten Fall handelte es sich um eine 22jährige Mutter mit einem Mammaabszess durch einen PVL-MSSA CC121 des spa-Typs t645 (8 repeats); bei ihrer einjährigen Tochter wurde eine Besiedelung mit einem PVL-MSSA CC121 des spa-Typs t159 (9 repeats) nachgewiesen. In dem zweiten Fall litt ein zweijähriges Mädchen an einem ausgedehnten periproktischen Abszess durch PVL-MSSA CC30, spa-Typ t5339 (4 repeats); der Vater war nasal mit einem PVL-MSSA CC30 des Typs t433 (9 repeats) kolonisiert. Als Erklärung hierfür käme zum einen die Möglichkeit eines phagenvermittelten Gentransfers in Betracht, in dem die lukS/lukF-Determinanten auf einen zuvor PVL-negativen MSSA des anderen spa-Typs übertragen wurden. Andererseits könnten die unter den Angehörigen jeweils klonal miteinander verwandten Stämme auch durch Deletionen innerhalb ihrer Repeatsequenzen aus einander hervorgegangen sein.

Da bei einer bestehenden Kolonisation ein erhöhtes Risiko für das Auftreten von Infektionen besteht, wurden für alle Personen mit positivem Trägerstatus entsprechende Dekolonisierungsmaßnahmen empfohlen (Huang und Platt 2003).

Den einsendenden Ärzten wurde für die Umgebungsuntersuchungen zwar die Entnahme kombinierter Nasen- und Rachen-Abstriche empfohlen, allerdings wurde häufig nur das Vestibulum nasi beprobt. Möglicherweise wurde die Abstrichnahme aus dem Rachen von einigen Patienten nicht toleriert, in anderen Fällen könnten zeitliche Aspekte eine Rolle gespielt haben. Da kombinierte Abstriche eine höhere Sensitivität erreichen (Coello et al. 1994), wurden bei den untersuchten Personen unter Umständen nicht alle mit positivem Trägerstatus erfasst. Diese

Annahme wird durch die hier wie auch von anderen beobachtete Tatsache unterstützt, dass die gesuchten Erreger bei einigen Personen nur im Rachen nachweisbar waren (Oberdorfer und Wendt 2008). Der Einbezug zusätzlicher Prädilektionsstellen hätte vermutlich weitere Träger identifiziert. Demnach ist also nicht auszuschließen, dass sich noch mehr Kontaktpersonen infiziert haben als nur etwa jede fünfte.

Da auch Tiere als Reservoir für PVL-positive *S. aureus* beschrieben sind (Sing et al. 2008, Kola et al. 2010), wurden im Umfeld einiger Indexfälle außerdem verschiedene Haustiere auf eine Besiedelung mit untersucht. In diesem Zusammenhang wurden 4 Islandponies, 4 Hunde, 2 Katzen und eine Kuh in die Untersuchungen einbezogen. Dabei fand sich lediglich bei einem von den 3 Hunden eines Paares (Indexfälle Nr. 13 und 14, siehe auch Abschnitt 3.7) der gleiche Klon wie bei den von PVL-assoziierten Infektionen betroffenen Personen. Die betroffene Hündin wurde von der Halterin als außerordentlich anhänglich beschrieben, so dass zu diesem Tier besonders häufige und enge Streichelkontakte bestanden. Um eine durch beiderseitige Transmissionen potentiell fortbestehende Infektkette mit erneut auftretenden Rekolonisationen und Reinfektionen zu unterbinden, wurde das Tier durch einen Veterinär mittels eines oral zu verabreichenden Antibiotikums saniert. Da bei den beiden anderen Hunden trotz der negativen Abstrichbefunde für Lefzen und After eine Besiedelung mit *S. aureus* an anderer Stelle nicht auszuschließen war, wurden sie sicherheitshalber in die Behandlung mit einbezogen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass in einem vorselektierten Kollektiv mit Haut- und Weichteilinfektionen etwa jeder fünfte nachgewiesene *S. aureus* PVL bilden kann. Das Virulenzmerkmal PVL ist dabei insbesondere mit Abszessen assoziiert und betrifft bevorzugt jüngere Patienten. Da der Nachweis der PVL-kodierenden Gene nicht zur Routinediagnostik gehört, können sich PVL-bildende *S. aureus* unbemerkt weiter verbreiten. Dabei kommen nicht nur erkrankte Personen, sondern auch besiedelte Kontaktpersonen und Haustiere als unerkanntes Erregerreservoir in Betracht.

PVL-bildende MRSA bzw. „cMRSA“ scheinen hingegen in Niedersachsen bisher nur vereinzelt vorzukommen. Es wurden verschiedene PVL-MRSA-Klone nachgewiesen und nur ein Teil der Infektionen war reiseassoziiert. Demnach sind bereits auch in Niedersachsen unterschiedliche klonale Linien endemisch.

Um einer Weiterverbreitung PVL-bildender *S. aureus* entgegen zu wirken, sollte bei rezidivierenden oder familiär gehäuft auftretenden Abszessen eine entsprechende Diagnostik veranlasst werden. Eine Erhebung des Trägerstatus unter Einbezug enger Kontaktpersonen wäre dafür ebenso wünschenswert wie die Veranlassung geeigneter Sanierungsmaßnahmen.

Um eine Infektion mit PVL-MRSA frühzeitig erkennen zu können, ist zunächst eine Resistenztestung zur Erfassung des Resistenzphänotyps „MRSA“ erforderlich. Wegen der epidemiologischen und diagnostischen Besonderheiten zum Nachweis von PVL-MRSA kommt den klinischen Angaben hierbei eine besondere Bedeutung zu. Der Hinweis auf rezidivierende Abszesse, Reiseanamnese oder fehlendes Ansprechen auf eine Therapie mit Betalaktamen können den Verdacht auf eine Infektion mit PVL-MRSA lenken, der nur durch molekulare Nachweisverfahren bestätigt werden kann. Gleiches gilt in diesem Zusammenhang für Haut- und Weichteilinfektionen jüngerer Patienten mit Nachweis von MRSA mit einem auffällig schmalen Resistenzspektrum. Solche Isolate sollten unbedingt auf vorhandene PVL-Determinanten untersucht werden.

Unklar bleibt, warum sich PVL-MRSA in Deutschland im Vergleich zu der Häufigkeit von PVL-MSSA nicht in gleicher Weise zu verbreiten scheinen. Während sich bestimmte „cMRSA“-Klone in den USA und andernorts bereits epidemieartig verbreitet haben, zeigt die vorliegende Arbeit, dass sie zur Zeit in Niedersachsen - ähnlich wie auch in anderen deutschen Bundesländern - nur eine untergeordnete Rolle spielen.

Um jedoch eine Ausbreitung auch in Niedersachsen rechtzeitig zu erkennen, sind gezielte Untersuchungen auf den auf PVL-MRSA hindeutenden Phänotyp notwendig.

5. Zusammenfassung

Staphylococcus-aureus (*S. aureus*)- Stämme, die das Zytotoxin Panton-Valentine-Leukozidin (PVL) bilden, verursachen vor allem Haut- und Weichteilinfektionen. Sie können jedoch auch zu schweren invasiven Infektionen mit hoher Letalität führen.

Da nur wenige Daten zur Verbreitung von PVL-bildenden MSSA bzw. PVL-MRSA („cMRSA“) in Deutschland vorliegen bzw. für die Region Niedersachsen völlig fehlen, wurde eine Querschnittsstudie zu diesem Thema initiiert.

Dazu wurden von Mai 2007 bis Mai 2009 insgesamt 494 Patienten mit ambulant versorgten Haut- und Weichteilinfektionen für eine Abstrichuntersuchung gewonnen. Das aus definierten Hautläsionen entnommene Untersuchungsmaterial wurde von niedergelassenen Ärzten verschiedener Fachrichtungen eingesandt und im NLGA auf MSSA, MRSA und PVL untersucht. Die molekulare Charakterisierung PVL-bildender *S. aureus*-Isolate erfolgte mittels spa-Typisierung.

Bei 273 Patienten konnte *S. aureus* nachgewiesen werden. Die für PVL kodierenden Gendeterminanten fanden sich bei 57 von 225 MSSA und sechs von 48 MRSA-Isolaten. Bezogen auf das Gesamtkollektiv mit Haut- und Weichteilinfektionen (n = 494) betrug die Nachweisrate für PVL-MSSA 11,5% und für PVL-MRSA 1,2%.

Unter ausschließlicher Betrachtung von *S. aureus*-Isolaten aus Abszessmaterial (n = 80) stieg der Anteil von PVL-MSSA auf 56,3%, die PVL-MRSA-Rate erhöhte sich indes auf 5%. Bemerkenswert war, dass jeweils etwa die Hälfte der PVL-bildenden MSSA und MRSA - unter Betonung von Gesäß- und Genitalregion - aus am Stamm lokalisierten Infektionen isoliert wurden. PVL-assoziierte Infektionen manifestierten sich zudem signifikant häufiger bei Personen unterhalb des 50. Lebensjahres.

Von 57 PVL-MSSA waren 82,5% gegenüber Penicillin und 17,5% gegenüber Tetracyclin resistent, 8,8% der Isolate zeigten eine Resistenz gegenüber Erythromycin. Abgesehen von der Betalaktam-Resistenz ergaben sich keine größeren Unterschiede zwischen PVL-MRSA und PVL-MSSA. Je ein PVL-MRSA-Isolat war gegenüber Erythromycin bzw. Tetracyclin unempfindlich, für drei Isolate wurde eine Resistenz gegenüber Fusidinsäure nachgewiesen. Ein Rückschluss von dem jeweiligen Resistenzphänotyp auf das Vorhandensein von PVL ist nicht möglich.

61 der 63 PVL-positiven *S. aureus*- Isolate wurden über eine spa-Typisierung differenziert. Bei einer ausgeprägten molekularen Diversität der Isolate wurden insgesamt 36 verschiedene spa-Typen ermittelt. Die meisten Bakterienstämme ließen sich dabei den klonalen Komplexen (clonal complex, CC) CC121 (n = 20 / 32,8%) und CC30 (n = 18 / 29,5%) zuordnen. Die Hälfte der sechs PVL-MRSA wurde als spa-Typ t008 identifiziert (CC8), welcher als „cMRSA“- Klon „USA300“ momentan vor allem in den USA verbreitet ist. Bei den anderen PVL-MRSA handelte es sich um ein typisches Isolat des Europäischen Typs (t044, ST80), einen bisher im Südosten Deutschlands beobachteten „cMRSA“-Stamm (t4585, CC22) sowie einen vorwiegend mit der Balkanregion assoziierten PVL-MRSA (t355, CC152).

Bei 14 von 23 auf einen nasopharyngealen Trägerstatus untersuchten Indexfällen mit PVL-MSSA (60,9%) ließ sich eine Kolonisation des Nasenrachenraumes mit PVL-MSSA des gleichen spa-Typs nachweisen. Bei zwei untersuchten PVL-MRSA-Patienten fand sich hingegen keine nasopharyngeale Besiedelung.

Unter den 21 PVL-MSSA-Indexpatienten, bei denen jeweils 1-5 Haushaltskontakte in die Untersuchungen mit einbezogen wurden, ließen sich für sieben Fälle (33,3%) 1-2 Übertragungen innerhalb der Familie beobachten. Die Kontaktpersonen waren meist mit einem PVL-MSSA des gleichen spa-Typs besiedelt wie der zugehörige Indexpatient. Lediglich in zwei Fällen fanden sich bei den Angehörigen PVL-MSSA eines anderen spa-Typs, wobei für diese Isolate jeweils eine enge Verwandtschaft mit durch Deletionen bedingten Veränderungen angenommen wurde. Im persönlichen Umfeld von zwei PVL-MRSA-Patienten ließen sich keine Personen mit positivem Trägerstatus nachweisen.

Neben Angehörigen und engen Freunden betroffener Indexpatienten wurden auch vorhandene Haustiere (n = 11) als mögliche Träger berücksichtigt. Dabei erwies sich lediglich ein Hund als besiedelt. Bei ihm wurde der gleiche PVL-MSSA Klon (t270, CC121) nachgewiesen wie bei den beiden Haltern, die zeitgleich an Abszessen litten.

Die vorliegende Untersuchung hat nicht nur gezeigt, dass PVL-bildende MSSA im Gegensatz zu PVL-MRSA in Niedersachsen sehr häufig sind, sondern lässt durch Aufdecken familiärer Cluster zudem eine starke Verbreitungstendenz erkennen. Für PVL-MRSA ließen sich infolge zu geringer Fallzahlen keine Übertragungen dokumentieren, obwohl eine vergleichbare Infektiosität anzunehmen ist. Um die Weiterverbreitung der klinisch problematischen PVL-MRSA erkennen und ggf. eindämmen zu können, ist eine laborbasierte Surveillance nötig.

6. Anhang

6.1 Einsendeschein

Einsendeschein · Begleitschein Abstrich (z.B. Wunde / Abszeß)*		 Niedersächsisches Landesgesundheitsamt Roesebeckstraße 4-6 · 30449 Hannover		
Labor-Nr. 1	Labor-Nr. 2	Labor-Nr. 3	Labor-Nr. 4	Fortlaufende Nr. PVL 003144
Einsender bitte deutlich schreiben oder Stempel verwenden Name _____ Vorname _____ Straße _____ PLZ · Ort _____ Ansprechpartner / -in (für evtl. Rückfragen) <input type="checkbox"/> (Durchwahl)		Patient bitte deutlich schreiben oder Etikett aufkleben Name _____ Vorname _____ Straße _____ PLZ · Ort _____ Geschlecht <input type="checkbox"/> männlich <input type="checkbox"/> weiblich Geb.-Datum _____		
Haut- und Weichteil-Infektionen mit rezidivierendem oder schwerem Verlauf*				
Material / Entnahmestelle _____		Datum der Entnahme _____		
Klinische Angaben Erkrankungsbeginn _____ Rezidive <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja Anzahl: _____ <input type="checkbox"/> Papel / Pustel <input type="checkbox"/> Wundinfektion <input type="checkbox"/> isolierter Abszeß <input type="checkbox"/> nekrotisierender Verlauf <input type="checkbox"/> multiple Abszesse <input type="checkbox"/> Sonstiges: _____		Vorgeschichte Stationärer Aufenthalt / Dialyse in den letzten 6 Monaten? <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja Antibiotische Therapie in den letzten 6 Monaten? <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja, mit: _____ Grunderkrankung: Mikrobiologische Vorbefunde (falls vorhanden)		
Anmerkungen zum Krankheitsbild / -verlauf _____				
* Im Rahmen dieser Studie wird nur die unentgeltliche Staphylokokken-Diagnostik durchgeführt, es erfolgt keine Untersuchung auf andere Erreger!				
		Datum _____ _____ Unterschrift des einsendenden Arztes		
Hinweis: Materialentnahme / -transport Abnahme und Einsendung mit geeignetem Tupfer-Set. Möglichst umgehender Versand. Zwischenlagerung wenige Tage bei Raumtemperatur möglich.				
Studie: Staph. aureus mit besonderen Pathogenitätsfaktoren (PVL / cMRSA)		Ansprechpartnerin: K. Claußen Tel. (05 11) 45 05 -0 / - 259 / - 252 Fax (05 11) 45 05 - 250		
Bakteriologie / PVL-Studie 102.1		Beleg-ID  222270070011		

Achtung: Rand nicht beschriften / bekleben

(Einsendeschein - vordere Seite)


Einsendeschein · Begleitschein Abstrich (z.B. Wunde / Abszeß)*		 Niedersächsisches Landesgesundheitsamt Roesebeckstraße 4-6 · 30449 Hannover	
		Fortlaufende Nr. PVL 003144	
Vom Labor auszufüllen bzw. zu ergänzen			
Name _____ Vorname _____ Straße _____ PLZ · Ort [][][][] _____		[][][][] <input type="checkbox"/> männlich <input type="checkbox"/> weiblich [][]	
Patienten-Information Geb.-Monat / Jahr [][][][] <input type="checkbox"/> männlich <input type="checkbox"/> weiblich PLZ Wohnort (1.-3.Stelle) [][][]			
Haut- und Weichteil-Infektionen mit rezidivierendem oder schwerem Verlauf*			
Material / Entnahmestelle		Datum der Entnahme	
_____		[][][][]	
Klinische Angaben		Vorgeschichte	
Erkrankungsbeginn [][][][][] Rezidive <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja Anzahl: _____ <input type="checkbox"/> Papel / Pustel <input type="checkbox"/> Wundinfektion <input type="checkbox"/> isolierter Abszeß <input type="checkbox"/> nekrotisierender Verlauf <input type="checkbox"/> multiple Abszesse <input type="checkbox"/> Sonstiges: _____ _____ _____		Stationärer Aufenthalt / Dialyse in den letzten 6 Monaten? <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja Antibiotische Therapie in den letzten 6 Monaten? <input type="checkbox"/> nein <input type="checkbox"/> ja, mit: _____ Grunderkrankung: _____ Mikrobiologische Vorbefunde (falls vorhanden) _____	
Anmerkungen zum Krankheitsbild / -verlauf			
<h1>Durchschlag</h1>			
Studie: Staph. aureus mit besonderen Pathogenitätsfaktoren (PVL / cMRSA)		Ansprechpartnerin: K. Claußen Tel. (05 11) 45 05 -0 / - 259 / - 252 Fax (05 11) 45 05 - 250	
Bakteriologie / PVL-Studie 102.1		Beleg-ID  222270070011	

Achtung: Rand nicht beschriften / bekleben

Exklusiv gedruckt von Medifaktor® (040) 727 360 - 0 - Nachdruck verboten - 03/07 - 5-07-0423

(Einsendeschein – Durchschlag)

6.2 Faxformular zur Materialbestellung

		
	Niedersächsisches Landesgesundheitsamt	
Niedersächsisches Landesgesundheitsamt Postfach 91 07 61 · 30427 Hannover	Dienstgebäude Roesebeckstr. 4-6 30449 Hannover	Telefon (0511) 4505-0 Telefax (0511) 4505-140
		Paketanschrift Roesebeckstr. 4-6 30449 Hannover

**Bitte bestellen Sie per Fax:
(0511) 4505-140**

Bestellung für Abstrich- und Versandmaterial für NLGA - Studie
Staphylococcus aureus mit besonderen Pathogenitätsfaktoren (PVL/cMRSA)

Anzahl

_____ Einsendescheine Bakteriologie / PVL-Studie 102.1

_____ Abstrichbestecke mit Transportmedium (Bakteriologie)

_____ Umröhrchen für Abstrichbestecke (Bakteriologie)

_____ Patienteninformationen mit Einverständniserklärung

_____ Versandkartons (Porto zahlt Empfänger)

Datum/Unterschrift

(Stempel)

PVL_Bestellung_Versandmaterial0507.doc

6.3 Informations-Flyer

Studie des NLGA zur Verbreitung von cMRSA bzw. PVL-bildenden *S.aureus*

Wegen der zunehmenden Bedeutung von cMRSA für das öffentliche Gesundheitswesen hat das Niedersächsische Landesgesundheitsamt (NLGA) eine Studie zur Verbreitung dieser Bakterien unter ambulanten Patienten in Niedersachsen initiiert.

Daher möchten wir niedergelassene chirurgische, dermatologische, pädiatrische und allgemeinmedizinische Kolleginnen und Kollegen in Niedersachsen bitten, sich an dieser Studie zu beteiligen.

Es sollen hierfür Wundabstriche von Patienten mit rezidivierenden und/oder nekrotisierenden Haut- und Weichteilinfektionen (insbesondere mit Abszessbildung, Furunkulose) auf *S.aureus* mit PVL-Bildung und/oder Methicillinresistenz untersucht werden.

Die Untersuchungen (inklusive der Bereitstellung von Abstrichsets und portofreiem Versandmaterial sowie der Antibiotika-Testung) sind für die teilnehmenden Ärzte kostenlos! Die Befunde gehen Ihnen schriftlich zu.

An einer Teilnahme interessierte Kolleginnen und Kollegen werden gebeten, mit dem NLGA Kontakt aufzunehmen.



Abb. 7: Kulturelle Anzuchtung auf Selektivnährböden

Quelle: www.nlga.niedersachsen.de

Ansprechpartnerin:
Katja Clausen
Niedersächsisches Landesgesundheitsamt
Roesebeckstraße 4 - 6
30449 Hannover
Tel.: 0511-4505-259 oder -257
katja.clausen@nlga.niedersachsen.de

Herausgeber:
Niedersächsisches Landesgesundheitsamt
Roesebeckstraße 4 - 6
30449 Hannover
Fon 0511 / 4505-0
Fax 0511 / 4505-140
www.nlga.niedersachsen.de
1. Aufl. August 2007

Quellenangabe:
Abbildungen 1, 2 und 7: Niedersächsisches Landesgesundheitsamt, Hannover.
Abbildung 3: Dr. A. Blümi, Klinikum St. Hedwig, Regensburg.
Abbildungen 4, 5 und 6: PD Dr. H.-J. Linde, Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene der Universität Regensburg.
Für die freundliche Überlassung der klinischen Bilder bedanken wir uns bei Herrn PD Dr. H.-J. Linde, Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene der Universität Regensburg, und Herrn Dr. A. Blümi, Klinikum St. Hedwig, Regensburg.

Niedersächsisches Landesgesundheitsamt
NLGA



cMRSA: Bedrohung durch hochvirulente Staphylokokken in Niedersachsen?

NLGA-Studie zur Verbreitung von PVL-bildenden Staphylokokken



Niedersachsen

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus (*S.aureus*) ist aufgrund seiner leichten Übertragbarkeit und raschen Resistenzentwicklung vor allem als MRSA (Methicillin-resistenter *S.aureus* mit Resistenz gegenüber allen β -Lactam-Antibiotika) zu einem viel diskutierten Problem in medizinischen Einrichtungen geworden und erlangte als gefährlichster Nosokomialkeim inzwischen weltweit traurige Bekanntheit.

In Deutschland beträgt die Häufigkeit von MRSA laut Paul-Ehrlich-Gesellschaft etwa 23% (bezogen auf alle *S.aureus*-Isolate im Jahre 2004), wobei es große regionale Schwankungen gibt. Allen Bemühungen zum Trotz sind die Erreger scheinbar unaufhaltsam weiter auf dem Vormarsch.

Unabhängig von ihren Resistenzeigenschaften können Staphylokokken durch die Produktion bestimmter Toxine zudem eine erheblich gesteigerte Virulenz aufweisen. Einer dieser Virulenzfaktoren ist das sogenannte Panton-Valentine-Leukozidin.



Abb. 1: Bakterienkulturen von *S.aureus*

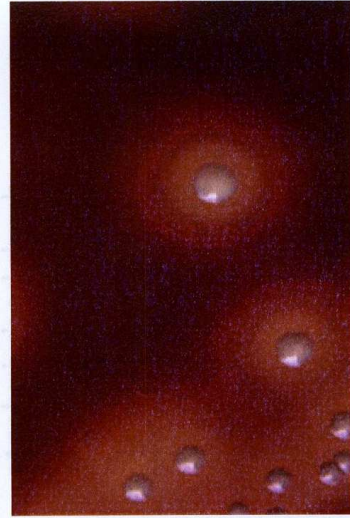


Abb. 2: Bakterienkulturen von *S.aureus* in Großaufnahme

Panton-Valentine-Leukozidin

Beim Panton-Valentine-Leukozidin (PVL) handelt es sich um ein Zytotoxin, welches durch Porenbildung in Makrophagen deren Lyse bewirkt und zu Gewebnekrosen führt. PVL wird durch das lukS-lukF-Gen kodiert. Staphylokokken, die mit diesem Gen ausgestattet sind, verursachen häufig multiple, rezidivierende, tiefe Abszesse ohne erkennbare Eintrittspforte, die wie Insektenstiche imponieren können. Seltener kommt es zu nekrotisierenden Pneumonien mit foudroyantem Verlauf und hoher Letalität.



Abb. 3: Multiple subkutane Abszesse am Rumpf

In jüngster Zeit häufen sich internationale Berichte über Ausbrüche mit besonders virulenten *S.aureus*-Stämmen, die neben der Bildung des Virulenzfaktors PVL zusätzlich eine Methicillin-Resistenz erworben haben.

Diese sogenannten **cMRSA (community-acquired MRSA)** sind dadurch charakterisiert, dass sie unabhängig von medizinischen Einrichtungen innerhalb der Bevölkerung (z.B. in der Familie, beim Sport etc.) übertragen werden. Betroffen sind vor allem jüngere Menschen ohne Vorerkrankungen, die meist an den oben beschriebenen Haut- und Weichteilinfektionen erkranken. Häufig ergibt die Anamnese Hinweise auf eine familiäre Häufung oder einen Zusammenhang mit Auslandsaufenthalten.



Abb. 4: Abszessbildung im Gesichtsbereich

In den USA haben sich diese Erreger inzwischen schon sehr stark ausgebreitet; in der Notaufnahme der Universitätskinderklinik in Nashville sind bei schweren Hautinfektionen beispielsweise bereits etwa 60% cMRSA nachgewiesen worden. In Deutschland sind cMRSA noch vergleichsweise selten. Das Nationale Referenzzentrum für Staphylokokken (Robert Koch-Institut, Bereich Werntigerode) beziffert ihren Anteil an den dort untersuchten MRSA-Stämmen für das Jahr 2006 auf 2,7% (bis 2004 waren es noch 1,1%).



Abb. 5: Ausgedehnter Abszess an den Gliedmaßen

In einer regionalen Prävalenzstudie in Ostbayern (Linde et al. 2004, Universität Regensburg) fanden sich hingegen bereits in 4,6% der untersuchten Proben cMRSA. Möglicherweise wird die Häufigkeit dieses Erregers also deutlich unterschätzt, zumal eine mikrobiologische Diagnostik oftmals unterbleibt und die PVL-Bildung mit Standardmethoden im Routinelabor häufig nicht erfasst wird! Der molekularbiologische Nachweis (PCR) ist am zuverlässigsten, jedoch mit erhöhtem Kostenaufwand verbunden.

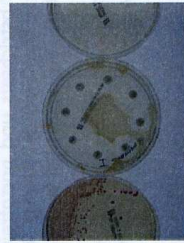


Abb. 6: Stempelttest

6.4 Patienteninformation

Stand 5/2007



Liebe Patientin, lieber Patient,

Das Niedersächsische Landesgesundheitsamt (NLGA) ist eine Einrichtung des öffentlichen Gesundheitsdienstes und ist u.a. mit der Überwachung und Verhütung von Infektionskrankheiten betraut.

Ziel unserer derzeitigen Untersuchungen ist es, die Häufigkeit und Verteilung bestimmter Bakterien (*Staphylococcus aureus*) zu erfassen, welche schwerwiegende oder wiederholt auftretende Entzündungen und Abszesse verursachen können. Durch zusätzlich erworbene Resistenzeigenschaften der Bakterien gegenüber häufig verwendeten Antibiotika (diese sind dann unwirksam) kann zudem die Behandlung erschwert sein.

Diese Erreger verursachen meistens Haut- und Weichteilinfektionen, die zu Beginn oft wie Insektenstiche aussehen oder aber in Form von wiederkehrenden Abszessen auftreten können. In seltenen Fällen wurden jedoch auch lebensbedrohliche Lungenentzündungen beobachtet, weswegen das Bakterium als Krankheitserreger so gefürchtet ist.

Nach bisherigem Wissen erfolgt die Übertragung durch engen Hautkontakt, z.B. innerhalb der Familie, beim Sport oder in Gemeinschaftseinrichtungen. Aus den USA und dem Europäischen Ausland wird über eine alarmierende Zunahme dieser Infektionserreger in der Bevölkerung berichtet (*cMRSA*, „community acquired Methicillin resistant *S.aureus*“). In Deutschland gelten sie bisher als selten, gezielte Untersuchungen in Süddeutschland deuten jedoch darauf hin, dass das Problem möglicherweise unterschätzt wird.

Zur Abschätzung der Verbreitung dieser hochvirulenten Krankheitserreger in Niedersachsen sollen bei ambulanten Patienten von ihrem behandelnden Arzt Wundabstriche entnommen werden, die vom NLGA auf diese Bakterien untersucht werden.

Um mehr über diese Erreger, den Krankheitsverlauf und mögliche Risikofaktoren zu erfahren, werden auf dem Begleitschein zu jeder Probe Angaben zu Beginn, Art der Erkrankung, Entnahmestelle und -datum, stationären Aufenthalten und Antibiotikabehandlungen innerhalb der letzten 6 Monate, Grunderkrankungen und ggf. mikrobiologische Vorbefunde benötigt. Personenbezogene Daten werden nur für die Befunderstellung verwendet, die Auswertung der Studie erfolgt anonym.

Hierfür wird der mit Ihrem Abstrich versandte Probenbegleitschein im NLGA geteilt: die erste (mit Ihrem Namen versehene) Seite gelangt mit der Probe in unser Labor, in dem die Untersuchungsergebnisse für Ihren Befund dokumentiert werden. Diesen Befund schicken wir per Post an Ihren Arzt. Für die statistische Auswertung werden nur der namenlose Durchschlag des Begleitscheins (enthält nur die oben genannten Angaben zur Probe, Erkrankungsart etc.) und das zur Probe gehörige Untersuchungsergebnis (ebenfalls anonymisiert) in die Abteilung für Epidemiologie weitergeleitet.

Wir möchten Sie in diesem Zusammenhang bei unseren Untersuchungen um Ihre Unterstützung bitten!

1. Bitte willigen Sie ein, dass Ihr behandelnder Arzt die Probe namentlich an das NLGA einsendet. Dies ermöglicht es uns, bei Nachweis der gesuchten Bakterien mit Ihnen in Kontakt zu treten, um ergänzende Informationen (z.B. familiäre Häufung, Auslandsaufenthalte, Tierkontakte) zu erfragen und ggf. enge Kontaktpersonen auf Wunsch mit in die Untersuchung einzubeziehen.

2. Stimmen Sie bitte zu, dass Ihr Arzt dem NLGA auf dem Einsendeschein die oben genannten Informationen mitteilen kann.

Mit Ihrer Zustimmung zu den hier genannten Punkten können Sie dazu beitragen, mehr über die Häufigkeit und Verbreitung von Infektionserregern herauszufinden und bessere

Vorbeuge- und Schutzmassnahmen zu entwickeln. Die Zustimmung ist freiwillig, und die Speicherung der personenbezogenen Daten kann jederzeit widerrufen werden.

Einverständniserklärung (zum Verbleib beim Patienten)

- Hiermit erkläre ich, dass ich über die systematische Auswertung von Abstrichuntersuchungen auf bestimmte Staphylococcus aureus-Stämme mit besonderen Resistenzeigenschaften („cMRSA“) aufgeklärt worden bin.
- Ich stimme zu, dass für diesen Zweck die Abstrichprobe dem NLGA namentlich zur Untersuchung zugesandt wird.
- Ich ermächtige hiermit meinen behandelnden Arzt, medizinische Daten zu den Umständen meiner Behandlung, stationären Aufenthalten und Antibiotika-Einnahme in den letzten 6 Monaten, Grunderkrankungen und ggf. mikrobiologischen Vorbefunden an das NLGA weiterzuleiten.

Weitergehend bin ich damit einverstanden, dass mich das NLGA bei positivem Erregernachweis für ergänzende Informationen anschreibt und auf Wunsch beratend unterstützt (andernfalls dieses bitte streichen).

(Datum)

(Ihre Unterschrift)

----- bitte abtrennen -----

Einverständniserklärung (zum Verbleib beim behandelnden Arzt)

- Hiermit erkläre ich, dass ich über die systematische Auswertung von Abstrichuntersuchungen auf bestimmte Staphylococcus aureus-Stämme mit besonderen Resistenzeigenschaften („cMRSA“) aufgeklärt worden bin.
- Ich stimme zu, dass für diesen Zweck die Abstrichprobe dem NLGA namentlich zur Untersuchung zugesandt wird
- Ich ermächtige hiermit meinen behandelnden Arzt, medizinische Daten zu den Umständen meiner Behandlung, stationären Aufenthalten und Antibiotika-Einnahme in den letzten 6 Monaten, Grunderkrankungen und ggf. mikrobiologischen Vorbefunden an das NLGA weiterzuleiten.

Weitergehend bin ich damit einverstanden, dass mich das NLGA bei positivem Erregernachweis für ergänzende Informationen anschreibt und auf Wunsch beratend unterstützt (andernfalls dieses bitte streichen).

(Datum)

(Ihre Unterschrift)

7. Literaturverzeichnis

Adem PV, Montgomery CP, Husain AN, Koogler TK, Arangelovich V, Humilier M, Boyle-Vavra S, Daum RS (2005): Staphylococcus aureus sepsis and the Waterhouse-Friderichsen Syndrome in children. *N Engl J Med* 353, 1245-1251

Archer GL (1998): Staphylococcus aureus: a well-armed pathogen. *Clin Infect Dis* 26, 1179-1181

Baldan R, Cavallerio P, Parlato C, Rocchetti A, Lomolino G, Vellini S, Pesce F, Cirillo DM, Fossati L (2008): Methicillin-resistant Staphylococcus aureus SCCmec type IV: nosokomial transmission and colonization of healthcare workers in a neonatal intensive care unit. *J Hosp Infect* 69, 304-306

Barton M, Hawkes M, Moore D, Conly J, Nicolle L, Allen U, Boyd N, Embree J, Van Horne L, Le Saux A (2006): Guidelines for the prevention and management of community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus: a perspective for canadian healthcare practioners. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 17, Suppl C, 1C-24C

Begier EM, Frenette K, Barrett NL, Mshar P, Petit S, Boxrud DJ, Watkins-Colwell K, Wheeler S, Cebelinski EA, Glennen A (2004): A high morbidity outbreak of methicillin-resistant Staphylococcus aureus among players on a college football team, facilitated by cosmetic body shaving and turf burns. *Clin Infect Dis* 39, 1446-1453

Bhatia A, Zahoor S (2007): Staphylococcus enterotoxins: a review. *J Clin Diagn Res* 3, 188-197

Boubaker K, Diebold P, Blac DS, Vandenesch F, Praz G, Dupuis G, Troillet N (2004): Panton-Valentine Leukocidin and staphylococcal skin infections in schoolchildren. *Emerg Infect Dis* 10, 121-124

Boyle-Vavra S, Daum RS (2007): Community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus: the role of Panton-Valentine leucocidin. *Lab Invest* 87, 3-9

Campbell AL, Bryant KA, Stover B, Marshall GS (2003): Epidemiology of methicillin-resistant Staphylococcus aureus at a children's hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol* 24, 427-430

Campbell SJ, Deshmukh HS, Nelson CL, Bae IG, Stryjewski ME, Federspiel JJ, Tonthat GT, Rude TH, Barriere SL, Corey R et al. (2008): Genotypic characteristics of Staphylococcus aureus isolates from a multinational trial of complicated skin and skin structure infections. *J Clin Microbiol* 46, 678-684

CDC (Centers for Disease Control and Prevention) (1999): Four pediatric deaths from community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus: Minnesota and North Dakota, 1997-1999. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 48, 707-710

CDC (Centers for Disease Control and Prevention) (2003a): Public health dispatch: Outbreaks of community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus skin infections - Los Angeles County, California, 2002-2003. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 52, 88

CDC (Centers for Disease Control and Prevention) (2003b): Methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections among competitive sports participants - Colorado, Indiana, Pennsylvania, and Los Angeles County, 2000-2003. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 52, 793-795

CDC (Centers for Disease Control and Prevention) (2003c): Methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections in correctional facilities: Georgia, California, and Texas, 2001-2003. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 52, 992-996

CDC (Centers for Disease Control and Prevention) (2004): Community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections in Pacific Islanders - Hawaii, 2001-2003. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 53, 767-770

Chambers HF (2005): Community-associated MRSA - resistance and virulence converge. *N Engl J Med* 352, 1485-1487

Chambers HF, Sachdeva M, Kennedy S (1990): Binding affinity for penicillin-binding protein 2a correlates with in vivo activity of beta-lactam antibiotics against methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *J Infect Dis* 162, 705-710

- Chiu LS, Ho MS, Hsu LY, Tang MB (2009): Prevalence and molecular characteristics of staphylococcus isolates colonizing patients with atopic dermatitis and their close contacts in singapore. *Br J Dermatol* 160, 965-971
- Chung HJ, Jeon HS, Sung H, Kim MN, Hong SJ (2008): Epidemiological characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from children with eczematous atopic dermatitis lesions. *J Clin Microbiol* 46, 991-995
- Claußen K (2007): Bedrohung? cMRSA: Staphylokokken mit besonderen Pathogenitätsfaktoren in Niedersachsen. Landesgesundheitsamt (NLGA) führt Studie durch. *Niedersächs Ärztebl* 80, 21-22
- Clements A, Halton K, Graves N, Pettitt A, Morton A, Looke D, Whitby M (2008): Overcrowding and understaffing in modern healthcare systems: key determinants in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* transmissions. *Lancet Infect Dis* 8, 427-434
- Coello R, Jiménez J, García M, Arroyo P, Minguez D, Fernández C, Cruzet F, Gaspar C (1994): Prospective study of infection, colonization and carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an outbreak affecting 990 patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 13, 74-81
- Collignon P, Gosbell I, Vickery A, Nimmo G, Stylianopoulos T, Gottlieb T (1998): Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Australia. *Lancet* 352, 145
- Cook HA, Furuya EY, Larson E, Vasquez G, Lowy FD (2007): Heterosexual transmission of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 44, 410-413
- Cosgrove SE, Sakoulas G, Perencevich EN, Schwaber MJ, Karchmer AW, Carmeli Y (2003): Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 36, 53-59
- Cuny C, Stanek C, Witte W (2009): MRSA aus Sicht des RKI: Nachweise bei Menschen und anderen Tieren - eine kommende Zoonose? *Dtsch Tierärztl Wochenschr* 116, 284-290
- del Giudice P, Blanc V, de Rougemont A, Bes M, Lina G, Hubiche T, Roudière L, Vandenesch F, Etienne J (2009): Primary skin abscesses are mainly caused by Pantón-Valentine Leukocidin-positive *Staphylococcus aureus* strains. *Dermatology* 219, 299-302
- Denis O, Deplano A, De Beenhouwer H, Hallin M, Huysmans G, Garrino MG, Glupczynski Y, Malaviolle X, Vergison A, Struelens MJ (2005): Polyclonal emergence and importation of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains harbouring Pantón-Valentine leukocidin genes in Belgium. *J Antimicrob Chemother* 56, 1103-1106
- Deresinski S (2005): Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an evolutionary, epidemiologic and therapeutic odyssey. *Clin Infect Dis* 40, 562-573
- Deurenberg RH, Nulens E, Valvatne H, Sebastian S, Driessen C, Craeghs J, De Brauer E, Heising B, Kraat YJ, Riebe J et al. (2009): Cross-border dissemination of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Euregio Meuse-Rhin Region. *Emerg Infect Dis* 15, 727-734
- Diep BA, Carleton HA, Chang RF, Sensabaugh GF, Perdreau-Remington F (2006): Roles of 34 virulence genes in the evolution of hospital- and community-associated strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dis* 193, 1495-1503
- Diep BA, Chambers HF, Graber CJ, Szumowski JD, Miller LG, Han LL, Chen JH, Lin F, Lin J, HaiVan Phan T et al. (2008): Emerge of multidrug-resistant, community-associated, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone USA300 in men who have sex with men. *Ann Intern Med* 148, 249-257
- Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM (2000): Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Rev* 13, 16-34
- Dominguez TJ (2004): It's not a spider bite, it's community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Am Board Fam Pract* 17, 220-226
- Dufour P, Gillet Y, Bes M, Lina G, Vandenesch F, Floret D, Etienne J, Richet H (2002): Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in France: emerge of a single clone that produces Pantón-Valentine Leukocidin. *Clin Infect Dis* 35, 819-824

- Durupt F, Mayor L, Bes M, Reverdy ME, Vandenesch F, Thomas L, Etienne J (2007): Prevalence of Staphylococcus aureus toxins and nasal carriage in furuncles and impetigo. *Br J Dermatol* 157, 1161-1167
- Ellington MJ, Hope R, Ganner Mk, Ganner Mj, East C, Brick G, Kearns AM (2007): Is Panton-Valentine leukocidin associated with bacteraemia in the UK? *J Antimicrob Chemother* 60, 402-405
- Ellington MJ, Perry C, Ganner M, Warner M, McCormick Smith I, Hill RL, Shallcross L, Sabersheikh S, Holmes A, Cookson BD, Kearns AM (2009): Clinical and molecular epidemiology of Ciprofloxacin-susceptible MRSA encoding PVL in England and Wales. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 28, 1113-1121
- Ellington MJ, Ganner M, Smith IM, Perry C, Cookson BD, Kearns AM (2010): Panton-Valentine Leukocidin-related disease in England and Wales. *Clin Microbiol Infect* 16, 86-88
- Ellis MW, Griffith ME, Jorgensen JH, Hospenthal DR, Mende K, Patterson JE (2009): Presence and molecular epidemiology of virulence factors in methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains colonizing and infecting soldiers. *J Clin Microbiol* 47, 940-945
- Embil J, Ramotar K, Romance L, Alfa M, Conly J, Cronk S, Taylor G, Sutherland B, Louie T, Henderson E (1994): Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in tertiary care institutions on the Canadian prairies 1990-1992. *Infect Control Hosp Epidemiol* 15, 646-651
- Enright M, Robinson DA, Randle G, Feil E, Grundmann H, Spratt B (2002): The evolutionary history of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA). *Proc Natl Acad Sci* 99, 7687-7692
- Etienne J (2005): Panton-Valentine Leukocidin: a marker of severity for Staphylococcus aureus infection? *Clin Infect Dis* 41, 591-593
- Faria NA, Oliveira DC, Westh H, Monnet DL, Larsen AR, Skov R, de Lencastre H (2005): Epidemiology of emerging methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in Denmark: a nationwide study in a country with low prevalence of MRSA infection. *J Clin Microbiol* 43, 1836-1842
- Fetsch A, Tenhagen BA, Guerra B, Hertwig S, Hammerl JA, Käsbohrer A, Bräunig J, Appel B (2009): Risikoabschätzung von laMRSA in der Lebensmittelkette - molekulare Diagnostik als Werkzeug zur Aufklärung epidemiologischer Zusammenhänge. *Dtsch Tierärztl Wochenschr* 116, 291-296
- Gardam MA (2000): Is methicillin-resistant Staphylococcus aureus an emerging community pathogen? A review of the literature. *Can J Infect Dis* 11, 202-211
- Gastmeier P, Sohr D, Geffers C, Behnke M, Daschner F, Rüdén H (2005): Mortality risk factors with nosocomial Staphylococcus aureus infections in intensive care units: results from the German Nosocomial Infection Surveillance System (KISS). *Infection* 2, 50-55
- Gatermann S, Kaase M (2008): Erkennung von bakteriellen Resistenzmechanismen in der täglichen Diagnostik. *J Lab Med* 32, 235-252
- Genestier AL, Michallet MC, Prévost G, Bellot G, Chalabreysse L, Peyrol S, Thivolet F, Etienne J, Lina G, Vallette FM et al. (2005): Staphylococcus aureus Panton-Valentine leukocidin directly targets mitochondria and induces Bax-independent apoptosis of human neutrophils. *J Clin Invest* 115, 3117-3127
- Gillet Y, Issartel B, Vanhems P, Fournet JC, Lina G, Bes M, Vandenesch F, Piémont Y, Brousse N, Floret D, Etienne J (2002): Association between Staphylococcus aureus strains carrying gene for Panton-Valentine leukocidin and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patients. *Lancet* 359, 753-759
- Gonzalez BE, Hultén KG, Dishop MK, Lamberth LB, Hammerman WA, Mason EO, Kaplan SL (2005): Pulmonary manifestations in children with invasive community-associated Staphylococcus aureus infection. *Clin Infect Dis* 41, 583-590
- Gopal Rao G, Michalczyk P, Nayeem N, Walker G, Wigmore L (2007): Prevalence and risk factors for methicillin-resistant Staphylococcus aureus in adult emergency admissions – a case for screening all patients? *J Hosp Infect* 66, 15-21

- Gosbell IB (2005): Epidemiology, clinical features and management of infections due to community methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (cMRSA). *Intern Med J* 35, Suppl 2, 120-135
- Graffunder EM, Venezia RA (2002): Risk factors associated with nosokomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection including previous use of antimicrobials. *J Antimicrob Chemother* 49, 999-1005
- Groom AV, Wolsey DH, Naimi TS, Smith K, Johnson S, Boxrud D, Moore KA, Cheek JE (2001): Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a rural American Indian community. *JAMA* 286, 1201-1205
- Grundmann H, Hori S, Winter B, Tami A, Austin DJ (2002): Risk factors for the transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an adult intensive care unit: fitting a model to the data. *J Infect Dis* 185, 481-488
- Grundmann H, Aanensen DM, van den Wijngaard CC, Spratt BG, Harmsen D, Friedrich AW, the European Staphylococcal Reference Laboratory group (2010): Geographic distribution of *Staphylococcus aureus* causing invasive infections in Europe: a molecular-epidemiological analysis. *PLoS Med* 7, 1-15
- Hagen RM, Seegmüller I, Navai J, Kappstein I, Lehn N (2005): Development of a real-time PCR assay for a rapid identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from clinical samples. *Int J Med Microbiol* 295, 77-85
- Hamilton SM, Bryant AE, Carroll KC, Lockary V, Ma Y, McIndoo E, Miller LG, Perdreau-Remington F, Pullman J, Risi GF (2007): In vitro production of Panton-Valentine leukocidin among strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* causing diverse infections. *Clin Infect Dis* 45, 1550-1558
- Herold BC, Immergluck LC, Maranan MC, Lauderdale DS, Gaskin RE, Boyle-Vavra S, Leitch CD, Daum RS (1998): Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in children with no identified predisposing risk. *JAMA* 279, 593-598
- Hidron AI, Low CE, Honig EG, Blumberg HM (2009): Emergence of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain USA300 as a cause of necrotising community-onset pneumonia. *Lancet Infect Dis* 9, 384-392
- Holden MTG, Feil EJ, Lindsay JA, Peacock SJ, Day NPJ, Enright MC, Foster TJ, Moore CE, Huerst L, Atkin R (2004): Complete genomes of two clinical *Staphylococcus aureus* strains: evidence for the rapid evolution of virulence and drug resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* 101, 9786-9791
- Holmes A, Ganner M, McGuane S, Pitt TL, Cookson BD, Kearns AM (2005): *Staphylococcus aureus* isolates carrying Panton-Valentine leukocidin genes in England and Wales: frequency, characterization, and association with clinical disease. *J Clin Microbiol* 43, 2384-2390
- Hota B, Ellenbogen C, Hayden MK, Aroutcheva A, Rice TW, Weinstein RA (2007): Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin and soft tissue infections at a public hospital. *Arch Intern Med* 167, 1026-1033
- Huang SS, Platt R (2003): Risk of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection after previous infection or colonization. *Clin Infect Dis* 36, 281-285
- Huijsdens XW, van Dijke BJ, Spalburg E, van Santen-Verheuevel MG, Heck ME, Pluister GN, Voss A, Wannet WJ, de Neeling AJ (2006a): Community-acquired MRSA and pig-farming. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 5, 26
- Huijsdens XW, van Santen-Verheuevel MG, Spalburg E, Heck MEOC, Pluister GN, Eijkelkamp BA, de Neeling AJ, Wannet WJB (2006b): Multiple cases of familial transmission of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 44, 2994-2996
- Issartel B, Tristan A, Lechevallier S, Bruyère F, Lina G, Garin B, Lacassin F, Bes M, Vandenesch F, Etienne J (2005): Frequent carriage of Panton-Valentine Leukocidin genes by *Staphylococcus aureus* Isolates from surgically drained abscesses. *J Clin Microbiol* 43, 3203-3207

- Ito T, Okuma K, Ma XX, Juzawa H, Hiramatsu K (2003): Insights on antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* from its whole genome: genomic island SCC. *Drug Resist Updat* 6, 41-52
- Ito T, Ma XX, Takeuchi F, Okuma K, Yuzawa H, Hiramatsu K (2004): Novel type V Staphylococcal cassette chromosome mec driven by a novel cassette chromosome recombinase ccrC. *Antimicrob Agents Chemother* 48, 2637-2651
- Jevons MP (1961): "Celbenin"-resistant *Staphylococci*. *BMJ* 1961,1, 124-125
- Johnsson D, Mölling P, Strålin K, Söderquist (2004): Detection of Panton-Valentine leukocidin gene in *Staphylococcus aureus* by LightCycler PCR: clinical and epidemiological aspects. *Clin Microbiol Infect* 10, 884-889
- Kearns AM, Ganner M, McCormick Smith I, Perry C, Cookson BD, Ellington MJ: Association of PVL with staphylococcal pyogenic skin infections; in: 20th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Vienna, Austria, 10 Apr - 13 Apr 2010, Abstract O 341
- King MD, Humphrey BJ, Wang YF, Kourbatova EV, Ray SM, Blumberg HM (2006): Emergence of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 clone as the predominant cause of skin and soft-tissue infections. *Ann Int Med* 144, 309-317
- Klevens RM, Morrison MA, Nadle J, Petit S, Gershman K, Ray S, Harrison LH, Lynfield R, Dumyati G, Townes JM et al. (2007): Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States. *JAMA* 298, 1763-1771
- Kluytmans J, Struelens M (2009): Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in the hospital. *BMJ* 338, 532-537
- Kluytmans J, van Belkum A, Verbrugh H (1997): Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clin Microbiol Rev* 10, 505-520
- Köck R, Harlizius J, Bressan N, Laerberg R, Wieler LH, Witte W, Deurenberg RH, Voss A, Becker K, Friedrich AW (2009): Prevalence and molecular characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among pigs on German farms and import of livestock-related MRSA into hospitals. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 28, 1375-1382
- Köhler W, Eggers HJ, Fleischer B, Marre R, Pfister H, Pulverer: *Medizinische Mikrobiologie*, 8. Auflage; Urban und Fischer Verlag, München 2001
- Kola A, Hübschmann K, Behl ES, Möritz RP, Weitzel-Kage D, Henning G, Lobeck H, Seewald M, Gastmeier P (2010): Hautabszesse bei Kindergartenkindern: Schwere Verläufe durch Panton-Valentine-Leukozidin-bildenden *Staphylococcus aureus*. *Klin Pädiatr* 222, 319-320
- Kresken M, Hafner D, Schmitz FJ, Wichelhaus TA für die Studiengruppe Resistenzsituation bei klinisch wichtigen Infektionserregern gegenüber Antibiotika in Deutschland und im mitteleuropäischen Raum. Bericht über die Ergebnisse einer multizentrischen Studie der Arbeitsgemeinschaft Empfindlichkeitsprüfung und Resistenz der Paul-Ehrlich-Gesellschaft aus dem Jahre 2007. *Antiinfectives Intelligence*, Rheinbach 2009
- Kupfer M, Jatzwauk L, Monecke S, Möbius J, Weusten A (2010): MRSA in a large German university hospital: male gender is a significant risk factor for MRSA acquisition. *GMS Krankenhhyg Interdiszip* 5, Doc11
- Labandeira-Rey M, Couzon F, Boisset S, Brown EL, Bes M, Benito Y, Barbu EM, Vazquez V, Höök M, Etienne J (2007): *Staphylococcus aureus* Panton-Valentine leukocidin causes necrotizing pneumonia. *Science* 315, 1130-1133
- Leonard FC, Markey BK (2006): Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in animals: a review. *Vet J* 175, 27-36
- Liassine N, Auckenthaler R, Descombes MC, Bes M, Vandenesch F, Etienne J (2004): Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated in Switzerland contains the Panton-Valentine leukocidin or exfoliative toxin genes. *J Clin Microbiol* 42, 825-828
- Lina G, Piémont Y, Godail-Garnot F, Bes M, Peter MO, Gauduchon V, Vandenesch F, Etienne J (1999): Involvement of Panton-Valentine Leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin Infect Dis* 29, 1128-1132

- Linde HJ, Lehn N (2005): Infektionen mit Methicillin-resistentem Staphylococcus aureus: Bedeutung des Pathogenitätsfaktors Panton-Valentine Leukozidin. Dtsch Med Wochenschr 130, 2397-2401
- Linde HJ, Lehn N (2008): Community-associated MRSA: Klinik, Therapie, Hygiene. Krankenh hyg up2date 3, 29-44
- Linde HJ, Wagenlehner F, Strommenger B, Drubel I, Tanzer J, Reischl U, Raab U, Höller C, Naber KG, Witte W et al. (2005): Healthcare-associated outbreaks and community-acquired infections due to MRSA carrying the Panton-Valentine leukocidin gene in southeastern Germany. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 24, 419-422
- Loughman JA, Fritz SA, Storch GA, Hunstad DA (2009): Virulence gene expression in human community-acquired Staphylococcus aureus infection. J Infect Dis 199, 294-301
- Lowy FD (1998): Staphylococcus aureus infections. N Engl J Med 339, 520-532
- Main CL, Jayaratne P, Haley A, Rutherford C, Smaill F, Fisman DN (2005): Outbreaks of infection caused by community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus in a Canadian correctional facility. Can J Infect Dis Med Microbiol 16, 343-348
- Masiuk H, Kopron K, Grumann D, Goerke C, Kolata J, Jursa-Kolesza J, Giedrys-Kalemba S, Bröker BM, Holtfreter S (2010): Association of Recurrent furunculosis with Panton-Valentine Leukozidin and the genetic background of Staphylococcus aureus. J Clin Microbiol 48, 1227-1535
- Matussek A, Taipalensuu J, Einemo IM, Tiefenthal M, Löfgren S (2007): Transmission of staphylococcus aureus from maternity unit staff members to newborns disclosed through spa typing. Am J Infect Control 35, 122-125
- McCaig LF, McDonald LC, Mandal S, Jernigan DB (2006): Staphylococcus aureus-associated skin and soft tissue infections in ambulatory care. Emerg Infect Dis 12, 1715-1723
- Melles DC, van Leuwen WB, Boelens HAM, Peeters JK, Verbrugh HA, van Belkum A (2006): Panton-Valentine leukocidin genes in Staphylococcus aureus. Emerg Infect Dis 12, 1174-1175
- Merlino J, Watson J, Rose B, Beard-Pegler M, Gottlieb T, Bradbury R, Harbour C (2002): Detection and expression of methicillin/oxacillin-resistance in multidrug-resistant and non-multidrug-resistant Staphylococcus aureus in Central Sydney, Australia. J Antimicrob Chemother 49, 793-801
- Mesrati I, Saïdani M, Ennigrou S, Zouari B, Redjeb SB (2010): Clinical isolates of Panton-Valentine leukocidin- and γ -haemolysin-producing Staphylococcus aureus: prevalence and association with clinical infections. J Hosp Infect 75, 265-268
- Miller LG, Perdreau-Remington F, Rieg G, Mehdi S, Perlroth J, Bayer AS, Tang AW, Phung TO, Spellberg B (2005): Necrotizing fasciitis caused by community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Los Angeles. N Engl J Med 352, 1445-1453
- Miller LG, Perdreau-Remington F, Bayer AS, Diep B, Tan N, Bharadwa K, Tsui J, Perlroth J, Shay A, Tagudar G, Ibebuogu U, Spellberg B (2007): Clinical and epidemiologic characteristics cannot distinguish community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection from methicillin-susceptible S.aureus infection: a prospective investigation. Clin Infect Dis 44, 471-482
- Monecke S, Berger-Bächli B, Coombs G, Holmes A, Kay I, Kearns A, Linde HJ, O'Brien F, Slickers P, Ehricht R (2007a): Comparative genomics and DNA array-based genotyping of pandemic Staphylococcus aureus strains encoding Panton-Valentine leukocidin. Clin Microbiol Infect 13, 236-249
- Monecke S, Slickers P, Ellington MJ, Kearns AM, Ehricht R (2007b): High diversity of Panton-Valentine leukocidin-positive, methicillin-susceptible isolates of Staphylococcus aureus and implications for the evolution of community-associated methicillin-resistant S. aureus. Clin Microbiol Infect 13, 1157-1164
- Monecke S, Lüdicke C, Slickers P, Ehricht R (2009): Molecular epidemiology of Staphylococcus aureus in asymptomatic carriers. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 28, 1159-1165

- Moran GJ, Krishnadasan A, Gorwitz RJ, Fosheim GE, McDougal LK, Carey RB, Talan DA (2006): Methicillin-resistant *S. aureus* infections among patients in the emergency department. *N Engl J Med* 355, 666-674
- Moreno F, Crisp C, Jorgensen H, Patterson JE (1995): Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* as a community organism. *Clin Infect Dis* 21, 1308-1312
- Mortimer EA, Lipsitz PJ, Wolinsky E, Gonzaga AJ, Rammelkamp CH (1962): Transmission of staphylococci between newborns. *Am J Dis Child* 104, 289-295
- Muñoz P, Hortal J, Giannella M, Barrio JM, Rodríguez-Crèixems M, Pérez MJ, Rincón C, Bouza E (2007): Nasal carriage of *S. aureus* increases the risk of surgical site infection after major heart surgery. *J Hosp Infect* 68, 25-31
- Naimi TS, LeDell KH, Boxrud DJ, Groom AV, Steward CD, Johnson SK, Besser JM, O'Boyle C, Danila RN, Cheek JE et al. (2001): Epidemiology and clonality of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Minnesota, 1996-1998. *Clin Infect Dis* 33, 990-996
- Narita S, Kaneko J, Chiba J, Piémont Y, Jarraud S, Etienne J, Kamio Y (2001): Phage conversion of Panton-Valentine leukocidin in *Staphylococcus aureus*: molecular analysis of a PVL converting phage, phiSLT. *Gene* 268, 195-206
- Nimmo GR, Coombs GW, Pearson JC, O'Brien FG, Christiansen KJ, Turnidge JD, Gosbell IB, Collignon P, McLaws ML (2006): Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the Australian community: an evolving epidemic. *Med J Aust* 184, 384-388
- Oberdorfer K, Wendt C (2008): MRSA - rationale und rationelle Diagnostik. *Mikrobiologie* 18, 97-106
- O'Doherty AJ, Murphy PG, Curran RA (1989): Risk of *Staphylococcus aureus* transmission during Ultrasound investigation. *J Ultrasound Med* 8, 619-620
- Okuma K, Iwakawa K, Turnidge JD, Grubb WB, Bell JM, O'Brien FG, Coombs GW, Pearman JW, Tenover FC, Kapi M et al. (2002): Dissemination of new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in the community. *J Clin Microbiol* 40, 4289-4294
- Orscheln RC, Hunstad DA, Fritz SA, Loughman JA, Mitchell K, Storch EK, Gaudreault M, Sellenriek PL, Armstrong JR, Mardis ER, Storch GA (2009): Contribution of genetically restricted, Methicillin-susceptible strains to the ongoing epidemic of community-acquired *Staphylococcus aureus* infections. *Clin Infect Dis* 49, 536-542
- Osterlund A, Kahlmeter G, Bieber L, Runehegen A, Breider JM (2002): Intrafamilial spread of highly virulent *Staphylococcus aureus* strains carrying the gene for Panton-Valentine leukocidin. *Scand J Infect Dis* 34, 763-764
- Otter JA, French GL (2006): Nosocomial transmission of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an emerging threat. *Lancet Infect Dis* 6, 753-755
- Otter JA, French GL (2010): Molecular epidemiology of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *Lancet Infect Dis* 10, 227-239
- Panton PN, Valentine FCO (1932): Staphylococcal toxin. *Lancet* 1932, 1, 506-508
- Perbet S, Soummer A, Vinsonneau C, Vandebrouck A, Rackelboom T, Etienne J, Cariou A, Chiche JD, Mira JP, Charpentier J (2010): Multifocal community-acquired necrotizing fasciitis caused by a Panton-Valentine leukocidin-producing methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*. *Infection* 38, 223-225
- Perl TM, Cullen JJ, Wenzel RP, Zimmerman MB, Pfaller MA, Sheppard D, Twombly J, French PP, Herwaldt LA (2002): Intranasal Mupirocin to prevent postoperative *Staphylococcus aureus* infections. *N Engl J Med* 346, 1871-1877
- Peters G, Pulverer G: Die Familie der Micrococcaceae; in: Medizinische Mikrobiologie; 8., völlig neu bearbeitete Auflage, hrsg. v. Köhler W, Eggert HJ, Fleischer B, Marre R, Pfister H, Pulverer G; Urban & Fischer Verlag, München 2001, 250-260
- Prevost G, Couppie P, Prevost P, Gayet S, Petiau P, Cribier B, Monteil H, Piémont Y (1995): Epidemiological data on *Staphylococcus aureus* strains producing synergohymenotropic toxins. *J Med Microbiol* 42, 237-245

- Raab U, Kahlau D, Billing J, Wildner M, Linde HJ, Höller C (2005): Risikofaktoren für cMRSA-Trägerstatus von Bewohnern und Personal in einem Altenpflegeheim. *Gesundheitswesen* 67, 233-256
- Raab U, Kahlau D, Wagnenlehner F, Reischl U, Ehrenstein V, Lehn N, Höller C, Linde HJ (2006): Prevalence and risk factors for carriage of Panton-Valentine Leukozidin-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among residents and staff of a German nursing home. *Infect Control Hosp Epidemiol* 27, 208-211
- Ramos A, Ley L, Muñoz E, Videl A, Sánchez I (2009): Brain abscess due to Panton-Valentine Leukocidin-positive *Staphylococcus aureus*. *Infection* 37, 365-367
- Reischl U, Tuohy MJ, Hall GS, Procop GW, Lehn N, Linde H (2007): Rapid detection of Panton-Valentine-positive *Staphylococcus aureus* by real-time PCR targeting the lukS-PV Gene. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 26, 131-135
- RKI (Robert-Koch-Institut) (2007): Zur MRSA-Situation in Deutschland 2005 und 2006. *Epidemiol Bull* 2007, 41-46
- RKI (Robert-Koch-Institut) (2009): Auftreten und Verbreitung von MRSA in Deutschland 2008. *Epidemiol Bull* 2009, 155-160
- Robinson DA, Enright MC (2004): Multilocus sequence typing and the evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Infect* 10, 92-97
- Robinson DA, Kearns AM, Holmes A, Morrison D, Grundmann H, Edwards G, O'Brien FG, Tenover FC, McDougal LK, Monk AB (2005): Re-emerge of early pandemic *Staphylococcus aureus* as a community-acquired methicillin-resistant clone. *Lancet* 365, 1256-1258
- Rolinson GN, Stevens S, Bachelor FR, Wood JC, Chain EB (1960): Bacteriological studies on a new penicillin-BLR. 1241. *Lancet* 1960, 2, 564-567
- Rosin H: Antibiotika und Chemotherapeutika; in: Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie: für Studenten der Medizin, Veterinärmedizin, Pharmazie, Chemie, Biologie sowie für Ärzte, Tierärzte und Apotheker; 6., völlig neu bearbeitete Auflage, hrsg. v. Forth W, Henschler D, Rummel W, Starke K; BI-Wissenschaftsverlag, Mannheim 1992, 613-721
- Ruppitsch W, Stöger A, Schmid D, Fretz R, Indra A, Allerberger F, Witte W (2007): Occurrence of the USA300 community-acquired *Staphylococcus aureus* clone in Austria. *Euro Surveill* 12, pii=3294
- Rutland BE, Weese JS, Bolin C, Au J, Malani AN (2009): Human-to-dog transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect Dis* 15, 1328-1330
- Safdar N, Maki DG (2002): The commonality of risk factors for nosocomial colonisation and infection with antimicrobial-resistant *Staphylococcus aureus*, enterococcus, gram-negative bacilli, *Clostridium difficile*, and candida. *Ann Intern Med* 136, 834-844
- Saiman L, O'Keefe M, Graham PL 3rd, Wu F, Saïd-Salim B, Kreiswirth B, LaSala A, Schlievert PM, Della-Latta P (2003): Hospital transmission of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among postpartum women. *Clin Infect Dis* 37, 1313-1319
- Salgado CD, Farr BM, Calfee DP (2003): Community-acquired Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a meta-analysis of prevalence and risk factors. *Clin Infect Dis* 36, 131-139
- Salmenlinna S, Lyytikäinen O, Vuopio-Varkila J (2002): Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Finland. *Emerg Infect Dis* 8, 602-607
- Saravolatz LD, Markowitz N, Arking L, Pohlod D, Fisher E (1982): Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Epidemiologic observations during a community-acquired outbreak. *Ann Intern Med* 96, 11-16
- Schmitt M, Schuler-Schmid U, Schmidt-Lorenz W (1990): Temperature limits of growth, TNase, and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus* strains isolated from foods. *Int J Food Microbiol* 11, 1-19
- Sherertz RJ, Bassetti S, Bassetti-Wyss B (2001): "Cloud" health-care workers. *Emerg Infect Dis* 7, 241-244

- Simor AE, Ofner-Agostini M, Paton S, McGeer A, Loeb M, Bryce E, Mulvey M, the Canadian Nosocomial Infection Surveillance Program (2005): Clinical and epidemiologic features of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in elderly hospitalized patients. *Infect Control Hosp Epidemiol* 26, 831-841
- Sing A, Tuschak C, Hörmansdorfer S (2008): Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a family and its pet cat. *New Engl J Med* 358, 1200-1201
- Stemper ME, Shukla SK, Reed KD (1999): Emergence and spread of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in rural Wisconsin, 1989 to 1999. *J Clin Microbiol* 42, 5673-5680
- Stewart GT, Holdt RJ (1963): Evolution of natural resistance to the newer penicillins. *BMJ* 1963,1, 308-311
- Strauss R, Amsler K, Jacobs M, Bush K, Noel G: Regional variation in Panton-Valentine leukocidin positivity among *S.aureus* isolates in complicated skin and skin structure infections; in: 17th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Munich, Germany, 31 Mar - 04 Apr 2007, Abstract P 1321
- Taconelli E, De Angelis D, Cataldo MA, Pozzi E, Cauda R (2008): Does antibiotic exposure increase the risk of Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolation? A systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother* 61, 26-38
- Tenhagen BA, Fetsch A, Käsbohrer A, Bräunig J, Appel B (2009): Prävalenz von MRSA bei landwirtschaftlichen Nutztieren und in Lebensmitteln. *Dtsch Tierärztl Wochenschr* 116, 307-311
- Thomas D, Chou S, Dauwalder O, Lina G: Diversity in *Staphylococcus aureus* enterotoxins; in: Superantigens and Superallergens, Vol 93; hrsg. v. Marone G; Karger-Verlag, Basel 2007, 24-41
- Thompson RL, Cabezudo I, Wenzel RP (1982): Epidemiology of nosokomial infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Ann Intern Med* 97, 309-317
- Tiemersma EW, Bronzwaer SLAM, Lyytikäinen O, Degener JE, Schrijnemakers P, Bruinsma N, Monen J, Witte W, Grundmann H (2004): Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe, 1999-2002. *Emerg Infect Dis* 10, 1627-1634
- Tinelli M, Monaco M, Vimercati M, Ceraminiello A, Pantosti A (2009): Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in skin and soft tissue infections, Northern Italy. *Emerg Infect Dis* 15, 250-257
- Tristan A, Bes M, Meugnier H, Lina G, Bozdogan B, Courvalin P, Reverdy ME, Enright MC, Vandenesch F, Etienne J (2007): Global distribution of Panton Valentine-positive Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, 2006. *Emerg Infect Dis* 13, 594-600
- Udo EE, Pearman JW, Grubb WB (1993): Genetic analysis of community isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Western Australia. *J Hosp Infect* 25, 97-108
- van de Velde H (1894): Etude sur le mécanisme de la virulence du staphylocoque pyogène. *La cellule* 10, 401-460
- Vandenesch F, Naimi T, Enright MC, Lina G, Nimmo GR, Heffernan H, Liassine N, Bes M, Greenland T, Reverdy ME (2003): Community-acquired Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine Leukocidin-Genes: worldwide emerge. *Emerg Infect Dis* 9, 978-984
- von Eiff C (2008): *Staphylococcus aureus* small colony variants: a challenge for microbiologist and clinicians. *Int J Antimicrob Agents* 31, 507-510
- von Eiff C, Becker K, Machka K, Stammer H, Peters G (2001): Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. *N Engl J Med* 344, 11-16
- Vonberg RP, Sedlacek L, Chaberny IF, Suerbaum S, Gastmeier P (2008): Multiple Abszesse bei immunkompetenten Patienten durch Panton-Valentin-Leukocidin-positiven *Staphylococcus aureus*. *Hautarzt* 59, 319-322
- Vourli S, Vagiakou H, Ganteris G, Orfanidou M, Polemis M, Vatopoulos A, Malamou H (2009): High rates of community-acquired, Panton-Valentine leukocidin (PVL)-positive methicillin-resistant *S.aureus* (MRSA) infections in adult outpatients in Greece. *Euro Surveill* 14, 1-4

- Voyich JM, Otto M, Mathema B, Braughton KR, Whitney AR, Welty D, Long RD, Dorward DW, Gardner DJ, Lina G et al. (2006): Is Panton-Valentine leukocidin the major virulence determinant in community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* disease? *J Infect Dis* 194, 1761-1770
- Wagenlehner FME, Naber KG, Bambl E, Raab U, Wagenlehner C, Kahlau D, Höller C, Witte W, Weidner W, Lehn N, Harbarth S, Linde HJ (2007): Management of a large healthcare-associated outbreak of Panton-Valentine leucocidin-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Germany. *J Hosp Infect* 67, 114-120
- Wang R, Braughton KR, Kretschmer D, Bach THL, Queck SY, Li M, Kennedy AD, Dorward DW, Klebanoff SJ, Peschel A et al. (2007): Identification of novel cytolytic peptides as key virulence determinants for community-associated MRSA. *Nat Med* 13, 1510-1514
- Wannet WJB, Heck MEOC, Pluister GN, Spalburg E, van Santen MG, Huijsdens XW, Tiemersma E, de Neeling AJ (2004): Panton-Valentine leukocidin positive MRSA in 2003: the Dutch situation. *Euro Surveill* 9, 28-29
- Wannet WJB, Spalburg E, Heck MEOC, Pluister GN, Tiemersma E, Willems RJJ, Huijsdens XW, de Neeling AJ, Etienne J (2005): Emergence of virulent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains carrying Panton-Valentine leukocidin genes in the Netherlands. *J Clin Microbiol* 43, 3341-3345
- Ward PD, Turner WH (1980): Identification of staphylococcal Panton-Valentine leukocidin as a potent dermonecrotic toxin. *Infect Immun* 28, 393-397
- Warshawsky B, Hussain Z, Gregson DB, Alder R, Austin M, Bruckschwaiger D, Chagla AH, Daley J, Duhaime C, McGhie K et al. (2000): Hospital- and community-based surveillance of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: previous hospitalization is the major risk factor. *Infect Control Hosp Epidemiol* 21, 724-727
- Weese JS, Caldwell F, Willey BM, Kreiswirth BN, McGeer A, Rousseau J, Low DE (2005): An outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin infections resulting from horse to human transmission in a veterinary hospital. *Vet Microbiol* 114, 160-164
- Wernitz MH, Swidsinski S, Weist K, Sohr D, Witte W, Franke K, Roloff D, Ruden H, Veit SK (2005): Effectiveness of a hospital-wide selective screening programme for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) carriers at hospital admission to prevent hospital-acquired infections. *Clin Microbiol Infect* 11, 457-465
- Wertheim HF, Vos MC, Ott A, van Belkum A, L, Melles DC, Voss A, Kluytmans JA, van Keulen PA, Vandenbroucke-Grauls CM, Meester MH, Verbrugh HA (2004): Risk and outcome of nosokomial *Staphylococcus aureus* bacteremia in nasal carriers versus non-carriers. *Lancet* 364, 703-705
- Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, van Leeuwen W, van Belkum A, Verbrugh HA, Nouwen JL (2005): The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis* 5, 751-762
- Wiese-Posselt M, Heuck D, Draeger A, Mielke M, Witte W, Ammon A, Hamouda O (2007): Successful termination of a furunculosis outbreak due to luk-S-lukF-positive, Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in a German village by stringent decolonization, 2002-2005. *Clin Infect Dis* 44, 88-95
- Witte W (2008): Epidemiologie von *Staphylococcus aureus*. *Chemother J* 17, 274-281
- Witte W, Cuny C, Strommenger B, Bräulke C, Heuck D (2004): Emergence of a new community-acquired MRSA strain in Germany. *Euro Surveill* 9, 16-18
- Witte W, Wiese-Posselt M, Jappe U (2005): Community MRSA. Eine neue Herausforderung für die Dermatologie. *Hautarzt* 56, 731-738
- Witte W, Strommenger B, Cuny C, Heuck D, Nuebel U (2007a): Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the Panton-Valentine leukocidin gene in Germany in 2005 and 2006. *J Antimicrob Chemother* 60, 1258-1263
- Witte W, Strommenger B, Stanek C, Cuny C (2007b): Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in humans and animals, Central Europe. *Emerg Infect Dis* 13, 255-258

Witte W, Braulke C, Strommenger B (2008): Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST8 ("USA300") in a HIV-positive Patient in Cologne, Germany, February 2008. *Euro Surveill* 13, 1-2

Woodin AM (1959): Fractionation of a leukocidin from *Staphylococcus aureus*. *Biochem J* 73, 225-237

Wylie JL, Nowicki DL (2005): Molecular epidemiology of community- and healthcare-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Manitoba, Canada. *J Clin Microbiol* 43, 2830-2836

Yarovinsky TO, Monick MM, Husmann M, Hunninghake GW (2008): Interferons increase cell resistance to staphylococcal alpha-toxins. *Infect Immun* 76, 571-577

Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. rer. nat. Helmut Eiffert für die Möglichkeit, mit diesem interessanten Thema am Institut für medizinische Mikrobiologie im Zentrum für Hygiene und Humangenetik der Universität Göttingen zu promovieren. Ich habe mich bei ihm mit allen Fragen immer sehr gut aufgehoben gefühlt und möchte mich außer für die sehr nette Betreuung mit stets zeitnahen Rückmeldungen auch für seine freundliche Geduld bedanken.

Insbesondere danke ich auch dem Präsidenten des Niedersächsischen Landesgesundheitsamtes, Herrn Dr. med. Matthias Pulz, für die Förderung meiner Dissertation und die großzügigen Freiräume bei der Projektgestaltung.

Des Weiteren möchte ich mich bei Herrn Dr. rer. nat. Masyar Monazahian für die hervorragende Betreuung meiner Arbeit und nicht zuletzt auch für seine Kompromissbereitschaft hinsichtlich meines Schreibstils bedanken.

Ganz großer Dank gebührt auch Frau Dr. phil. Martina Scharlach für die Hilfe bei der statistischen Auswertung der Daten, das wiederholte Korrekturlesen mit vielen hilfreichen Tipps und Anregungen zum Textlayout sowie für ihren beruhigenden Einfluss in Zeiten blank liegender Nerven.

Mein herzlicher Dank gilt auch dem technischen Personal der Bakteriologie des Niedersächsischen Landesgesundheitsamtes, namentlich Frau Ilona Müller, Frau Dagmar Lindemann, Frau Ruthild Heimann, Frau Marion Künzler und Frau Astrid Becker, für ihr hoch motiviertes Engagement bei der mikrobiologischen Diagnostik und bei organisatorischen Aufgaben bis hin zum Materialversand.

Außerdem möchte ich mich bei allen niedergelassenen Ärzten in Niedersachsen und ihren Patienten bedanken, die diese sehr aufwendige Erhebung mit unterstützt haben. Insbesondere danke ich Herrn Prof. Dr. med. Jürgen Weiß (in memoriam), Facharzt für Dermatologie und Venerologie in Hannover, für sein engagiertes Mitwirken an dieser Studie und seine äußerst hilfreiche Unterstützung bei der Gewinnung von Einsendern.

Ein ganz großes Dankeschön gilt auch Herrn Prof. Dr. med. Wolfgang Witte, dem Leiter des Nationalen Referenzzentrums für Staphylokokken am Robert-Koch-Institut in Wernigerode, sowie seinem gesamten Mitarbeiterteam für die

molekulare Typisierung aller dorthin eingesandten Staphylokokken-Isolate. Ganz besonders möchte ich mich hier auch bei Frau Dr. rer. nat. Franziska Layer bedanken, die mir bei Fragen hinsichtlich molekularer Zusammenhänge verschiedener spa-Typen immer freundlich mit Rat und Tat zur Seite stand.

Darüber hinaus möchte ich Herrn PD Dr. med. Hans-Jörg Linde vom Institut für Mikrobiologie und Hygiene am Klinikum der Universität Regensburg ganz herzlich danken. Er hat mich nicht nur nachhaltig für das Virulenzmerkmal Pantone-Valentine-Leukozidin sensibilisiert und durch Bildmaterial für den Projekt-Flyer unterstützt, sondern im Verlauf dieser Studie auch immer wieder Hilfestellung bei schwierigen Fragen im Zusammenhang mit PVL-assoziierten Infektionen geleistet.

Abschließend möchte ich mich auch bei allen hier nicht namentlich genannten Personen für jede Art der Mitwirkung am Gelingen dieser Arbeit - sei es durch fachlichen Rat oder zwischenmenschlichen Beistand - ganz herzlich bedanken.