

Aus der Augenklinik und Poliklinik der  
Ludwig-Maximilians-Universität München  
Direktor: Prof. Dr. med. Anselm Kampik

**Die Wirksamkeit der neuen Fluoroquinolone  
gegenüber den konjunktivalen Bakterien der okularen Normalflora**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Michael Janusz Koss

aus

Tychy / Polen

2006

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München**

Berichterstatter:

Prof. Dr. med. V. Klaufß

Mitberichterstatter:

Priv. Doz. Dr. W. Fischer

Priv. Doz. Dr. C. Berking

Mitbetreuung durch

den promovierten Mitarbeiter:

Dr. rer. nat. H. Miño de Kaspar

Dekan:

Prof. Dr. med. D. Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung:

09.02.2006

Meinen Lieben

## Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
1.1	Bakterielle konjunktivale Normalflora und ihre klinische Relevanz	2
1.2	Fluoroquinolone der neuen Generation	8
1.3	Bakterielle Resistenzentwicklung	11
1.4	Prinzip des Agardiffusionstests	14
1.5	Ziele der Studie	17
2.	Patienten und Methoden	18
2.1	Studiendesign	18
2.1.1	Patientendaten	19
2.1.2	Bakteriendaten	20
2.1.3	Abstriche und Revitalisierung	22
2.1.4	Resistenzbestimmung	26
2.2	Bakteriennachweis	26
2.2.1	Identifikation der Bakterien	26
2.2.2	Gramfärbung und Coagulasetest	27
3.	Ergebnisse	28
3.1	Isolierte und getestete Bakterien	28
3.2	Einteilungskriterien	30
3.2.1	Einteilung nach Resistenz	30
3.2.2	Einteilung nach Abstrichentnahme	32
3.3	Antibiotikaempfindlichkeitstest	33
3.3.1	Coagulasenegative Staphylococcus	33
3.3.1.1	Unbehandelte coagulasenegative Staphylococcus	38
3.3.1.2	Behandelte coagulasenegative Staphylococcus	41
3.3.2	Staphylococcus aureus	44
3.3.3	Staphylococcus der Gruppe D	46
3.3.4	Gramnegative Stäbchen	47

4.	Diskussion	48
4.1	Bakterien der Konjunktiva	48
4.2	Wirksamkeit von Fluoroquinolonen und anderen Antibiotika	52
4.3	Resistenz und Resistenzhäufigkeiten	58
5.	Zusammenfassung	61
6.	Literaturverzeichnis	62
7.	Danksagung	68
8.	Lebenslauf	69

## 1. Einleitung

In der Augenheilkunde werden jeden Tag erfolgreich verschiedene antibiotische Medikamente therapeutisch und präventiv bei Augeninfektionen verordnet. In der Regel handelt es sich dabei um die Aminoglykoside, das Erythromycin, das Polymyxin B und die Fluoroquinolone (oder Gyrasehemmer). Beispielsweise wird so bei postoperativen Augeninfektionen ätiologisch davon ausgegangen, dass die Haupterreger von der Normalflora der Bindehaut bzw. der Augenlider abstammen.<sup>64,68</sup> Wegen der zwischen den Bakterien herrschenden Vielfalt an Spezies ist diese Theorie schwer zu bestätigen. Leong und Mitarbeiter berichten jedoch von einem Endophthalmitisfall, bei dem das infektionsauslösende Bakterium genetisch identisch zu einem Keim war, welcher präoperativ von der Konjunktiva isoliert werden konnte.<sup>46</sup> Eine Verringerung der bakteriellen Gesamtzahl kann aber über eine Kombination aus perioperativ applizierten Antibiotika und kurz vor einer Operation angewendeter antiseptischer Lösung (zum Beispiel Polyvidon-Iod) wirksam erreicht werden.<sup>64,68,69</sup>

Dabei bieten sich besonders die topisch applizierbaren Fluoroquinolone an, welche sich als erfolgreiche Therapeutika von Augeninfektionen per se etabliert haben.<sup>47,52</sup> Als Antibiotikagruppe besitzen sie ein breites Wirkungsspektrum mit relativ geringer minimaler Toxizität. Doch wird auch über eine ansteigende Resistenzlage der okularen bakteriellen Normalflora bzw. von Infektionserregern gegenüber den Fluoroquinolonem berichtet.<sup>2,26,29,42,62</sup> Die häufige Verwendung der Fluoroquinolone der zweiten Generation (Ciprofloxacin, Ofloxacin) könnte dabei ursächlich sein.<sup>2,26,32,42</sup> Außerdem wird auch über eine Zunahme der Prävalenz von multiresistenten Stämmen berichtet.<sup>61</sup> Um dieser Entwicklung pharmakologisch entgegenzutreten wurden im Frühjahr 2003 in den USA neue Fluoroquinolone (Gatifloxacin, Moxifloxacin) als Augentropfen zur Behandlung von bakterieller Konjunktivitis von der Food and Drug Administration (FDA) zugelassen. In der vorliegenden Arbeit wurde die antibiotische *In-vitro*-Empfindlichkeit von prä- und perioperativ gewonnenen Keimen mit unterschiedlichster Resistenzlage überprüft. Das Hauptaugenmerk lag dabei bei dem Vergleich der Wirksamkeit der neuen Fluoroquinolone zu den sonst in der Augenheilkunde verwendeten antibiotischen Medikamenten.

## 1.1 Bakterielle konjunktivale Normalflora und ihre klinische Relevanz

### *Aufbau der konjunktivalen bakteriellen Normalflora*

Die mikrobiologische Normalflora auf der unbehandelten humanen Bindehaut wurde bereits mehrfach unter verschiedensten Fragestellungen analysiert. Dabei stellen die nach Gram-Färbung positiven, morphologisch als Haufen oder lat. *Cocci* (griech. Staphyle: die Weinrebe, Erstbeschreibung am 9.4.1880 durch Ogston) imponierenden Bakterienspezies mit 58% bis 95,4% den dominierenden Hauptteil dar.<sup>7,23,66</sup> Sie besitzen nicht die Fähigkeit, Blutplasma zu coagulieren und werden deshalb als coagulasenegative *Staphylococcus* (CNS) oder als Hautkeim (*Staphylococcus epidermidis*) bezeichnet (Abb. 1). Man kann heute mindestens 32 verschiedene CNS-Spezies mittels molekularer Methoden, wie vor allem mit der DNA-DNA-Hybridisierung oder mit Gelelektrophorese unterscheiden. Aus dem klinischen Blickwinkel ist die genaue Speziesidentifikation nicht obligat, da bis heute keine ausschlaggebende präzise Assoziation zwischen den spezifischen klinischen Syndromen und den CNS-Spezies bestätigt werden konnte.<sup>32</sup>

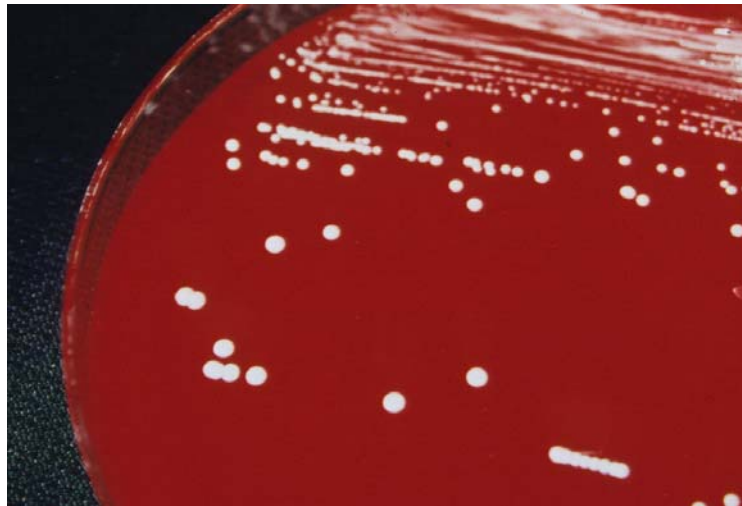


Abb. 1: Coagulasenegative *Staphylococcus*-Kolonie auf Blutagar

Hingegen sind in 7% bis 14,8 % der Fälle die auch mikroskopisch als Haufen vorkommenden *Staphylococcus aureus*-Spezies zu unterscheiden, welche jedoch im Gegensatz zu *Staphylococcus epidermidis* Blutplasma koagulieren können (Abb. 2).



Abb. 2: *Staphylococcus aureus*-Kolonie auf Blutagar

Darüber hinaus stellen sich in bis zu 4,4% der Fälle die grampositiven Streptokokken als kettenförmig erscheinend auf der Bindehaut dar (griech. *Streptos*: gewunden). Zusätzlich findet man die meist paarweise angeordneten *Streptokokken* der Lancefield-Serogruppe D, *Enterococcus*, als pathogenetisch wichtigen Keim auf der Bindehaut (Abb. 3).

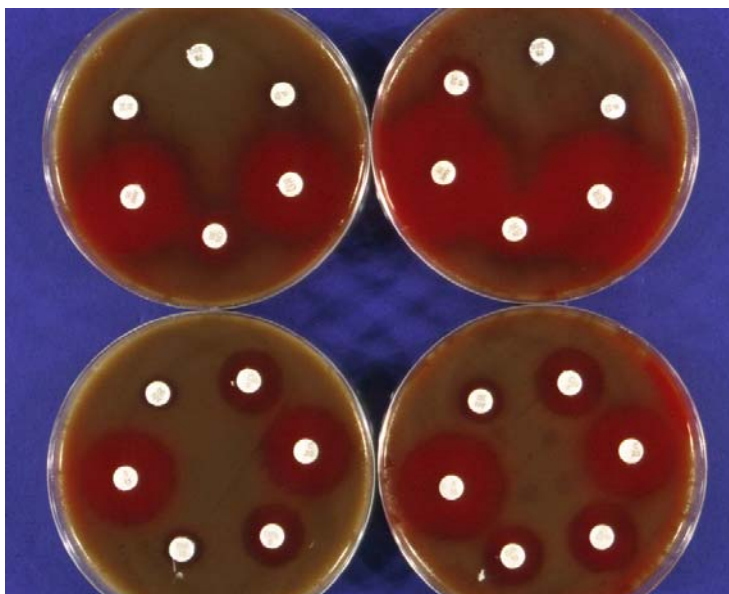


Abb. 3: Alpha-haemolytische *Streptococcus* Spezies-Kolonien auf Blutagar



Die Gramnegativen Bakterien, wie *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, *Proteus species*, *Klebsiella species* oder *Enterobacter cloacae* sind mit einer Prävalenz von 4% bis 7,8% in der Literatur (Tab. 1) als weitere Vertreter der Normalflora beschrieben (Abb. 4).



Abb. 4: Gramnegative Stäbchen-Kolonien

Die *Staphylococcus spp.* repräsentieren in der Regel den Hauptkeim der Augenlider und der Bindehaut. Die *Streptococcus spp.* kolonisieren einerseits meist den oberen Respirationstrakt und die gramnegativen Bakterien andererseits meist die Augenlider von älteren und immunsupprimierten Patienten.<sup>7,23,31,66</sup>

<b>Bakterielle konjunktivale Normalflora (nach Literatur)</b>			
Bakterien	<i>Fahmy, 1975</i>	<i>Boes, 1992</i>	<i>Starr, 1995</i>
Coagulasenegative <i>Staphylococcus</i>	95,4%	60%	58%
<i>Staphylococcus aureus</i>	14,8%	8%	7%
<i>Streptococcus spp.</i>	4,4%	4%	1%
Gramnegative spezies*	7,8%	4%	5%
Anaerobier **	44,0%	12%	2%
Sonstige***	3,0%	0%	3%
Steril	0%	25%	24%
Patienten (N)	N = 499	N = 100	N = 100

Tab. 1: Aufbau der bakteriellen Normalflora anhand von Bindehautabstrichen;

\* *Pseudomonas aeruginosa, Haemophilus influenzae, E. coli, Proteus spp., Klebsiella spp., Enterobacter cloacae*; \* \* *Corynebacteriaceae spp., Clostridia spp., Peptostreptococcus spp.*

\*\*\* Kombinationen aus grampositiven Bakterien, gramnegativen Bakterien und Anaerobiern<sup>7,23,66</sup>

### **Klinische Relevanz**

Die periokulare Normalflora spielt als Verursacher von intra- und periokularen Infektionen eine entscheidene Rolle. Bannerman et al. verglichen anhand von Gelelektrophoresen mikrobiologische Isolate der Augenlider mit postoperativen Endophthalmitis-Glaskörperisolaten. In 67,7 % der Fälle zeigte sich vor allem *Staphylococcus epidermidis* als identischer Erreger.<sup>4</sup>

Die coagulasenegativen *Staphylococcus* (CNS) galten dabei lange Zeit als nicht pathogen, doch die steigende Zahl invasiver Methoden sowie die Einführung von künstlichen Implantaten (z.B. Katheter, Herzklappen, Gelenkprothesen etc.) machten die Infektionen mit CNS zahlreicher.<sup>3,32,36</sup>

In der Augenheilkunde spielen die CNS am häufigsten eine Rolle als verursachende Erreger der bakteriellen Konjunktivitis, Blepharitis und der bakteriellen Keratitis.<sup>40</sup> Sie sind aber auch bei weitem die Haupterreger der sehr seltenen, klinisch schwerwiegenden Endophthalmitis.<sup>10,11</sup> Meist betrifft dies die postoperativen Endophthalmitiden, so zum Beispiel nach Kataraktextraktion mit Implantation einer Intraokularlinse (IOL).<sup>12,14,46,56,64</sup> Speaker et al. gelang es 1991 bei 26 Patienten mit postoperativer Endophthalmitis nach

intraokularen Eingriffen (20 nach IOL-Implantation) in 77% CNS als Erreger zu isolieren. Die anschließende molekulare Diagnostik der getesteten *Staphylococcus epidermidis*-Stämme mit Stämmen aus der epidermalen Umgebung des entzündeten Auges zeigte in 9 von 11 Fällen eine genetische Übereinstimmung.<sup>64</sup> Die Eigenschaft der CNS, sich auf einer IOL als Biofilm anzuordnen, spielt dabei eine wesentliche Rolle.<sup>45</sup> Des Weiteren wurde die CNS sowohl als Erreger der chronischen Endophthalmitis im Rahmen des Pseudo- und „Toxic-lens“ Syndroms,<sup>6,18</sup> als auch der endogenen und posttraumatischen Endophthalmitis beschrieben.<sup>3,56,59,64</sup> Im Zuge der Ergebnisse der amerikanischen Endophthalmitis Vitrectomy Studie (EVS) wurden *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spezieis* und gramnegative Erreger als weitere Verursacher der postoperativen Endophthalmitis dargestellt.<sup>22,30</sup> Anschließende Analysen der EVS zeigten zusätzlich die Abhängigkeit der postinfektiösen Visus-Prognose von dem verursachenden Erreger.<sup>20</sup> *Staphylococcus aureus* zeichnen ihre Virulenz durch spezielle Toxinbildung aus, mit deren Hilfe Poren in die humane Zellwand gemacht werden können (siehe Abb. 2).<sup>8,9</sup> Dies ist ein Grund dafür, weshalb *Staphylococcus aureus* mit einer klinisch massiven inflammatorischen Reaktion einhergeht.<sup>1,10</sup>

In der Praxis kommt es neben der relativ seltenen Endophthalmitis häufiger zu anderen periokularen bakteriellen Infektionen, wie der akuten Dakryocystitis, der Keratitis oder der Konjunktivitis. Typische Zeichen einer Dakryocystitis sind Schmerz und eine hochentzündliche, starke Schwellung der Tränensackgegend. Als Erreger findet man *Staphylococcus spp.* und vor allem *Streptococcus pneumoniae*, welche sich auf das umliegende Gewebe besonders effektiv wegen des Virulenzfaktors Hämolysin ausbreiten können und so zu der Entwicklung einer Dakryophlegmone führen.<sup>31,34,40</sup>

Pathogenetisch stellen *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus aureus* und *Pseudomonas aeruginosa* die Hauptverursacher der bakteriellen Keratitis dar.<sup>54</sup> Dabei ist vor allem die Infektion mit den gramnegativen *Pseudomonas aeruginosa* oder *Serratia spp.* wegen eines foudroyanten Verlaufs, der innerhalb von Stunden zur Perforation führen kann, sehr gefürchtet.

Ein infektiöses Krankheitsbild kann von verschiedensten Erregern hervorgerufen sein, so dass die möglichst präzise klinische und laboratorische Diagnose am schnellsten zu einer Symptomlinderung beim Patienten führt. Es können dabei auch mehrere Erreger gleichzeitig als Mischinfektion (grampositive- kombiniert mit gramnegativen Bakterien), oder auch versetzt, die Beschwerden verursachen.

In dieser Arbeit wurde die Antibiotikaempfindlichkeit der oben genannten Bakterien gemäß dem Anteil an der konjunktivalen Normalflora schwerpunktmäßig untersucht.

## 1.2 Fluoroquinolone der neuen Generation

### *Antibiotikaüberblick in der Augenheilkunde*

Hauptsächlich fünf zellstrukturelle / biochemische Differenzen begründen die selektive bakterielle Toxizität der verschiedenen Antibiotikagruppen:<sup>31,74</sup>

a) Störung der bakteriellen Zellwandsynthese

Die sog. Betalaktamantibiotika (Penicilline, Cephalosporine, Carbapeneme, Monobaktame) stören die bakterienspezifische Mureinbiosynthese.

b) Störung der Cytoplasmamembran durch die Polymyxine

c) Störung der bakteriellen Proteinbiosynthese

Da die bakteriellen Ribosomen eine andere Größe (bakt.: 50S/30S versus human: 60S/40S) und eine unterschiedliche Raumstruktur haben, können die Aminoglykoside, die Tetracycline, das Chloramphenicol und die Makrolide die bakterielle Proteinbiosynthese durch Störung der Translation hemmen.

d) Störung der bakteriellen Folsäuresynthese

Der Mensch bezieht „fertige“ Folsäure aus der Nahrung, während Bakterienzellen abhängig von ihrer eigenen Folsäuresynthese sind, da ihre Zellwände für diesen Stoff undurchlässig sind. In der augenärztlichen Therapie werden diese Antibiotika (Trimethoprim/Sulfonamide) nicht so häufig eingesetzt.

e) Störung der bakteriellen Desoxyribonucleinsäure (DNA)

Die Fluoroquinolone (FQ) hemmen die DNA-Gyrase, ein Enzym, das für die Verdrillung der rechtsgewundenen DNA-Doppelhelix nach links verantwortlich ist. Ohne eine Aufdrillung ist keine Replikation bzw. Transkription an der DNA möglich. Die FQ haben eine erheblich höhere Affinität für bakterielle als für humane Gyrase.

In der Augenheilkunde werden je nach Indikation Medikamente der verschiedenen Antibiotikagruppen verwendet.<sup>74</sup> Dabei gibt es folgende allgemeine und spezielle Auswahlkriterien:

- a) Wesentliche Voraussetzung für eine gute Effektivität ist, dass der Erreger sensitiv auf das Antibiotikum reagiert. Die *In-vitro*-Empfindlichkeitstests mit zum Beispiel der Kirby-Bauer Technik und oder die *In-vivo*-Empfindlichkeitstests am Tiermodell im Labor bieten dafür einen Anhaltspunkt.
- b) Einige okulare Medikamente werden in Kombination mit einer Lösungssubstanz verabreicht, wie zum Beispiel 0,3% Gatifloxacin Augentropfen mit 0,005%

Benzylalkoniumchlorid. Dies hat Auswirkungen auf die Pharmakokinetik des Medikaments, so unter anderem eine niedrigere lokal-korneale Zytotoxizität.

- c) Es ist wichtig, die unterschiedlichen Medikamentenspiegel im Vorderkammerwasser zu beachten. Einerseits spielt die korneale Penetrationsfähigkeit und die eng mit ihr verbundene Applikationsart (Tropfen, Salbe, Lösungsmittel) eine Rolle. Andererseits sollte auch der Medikamentenspiegel zu späteren Zeitpunkten bedacht werden, vor allem im Zusammenhang mit langsam wachsenden Erregern.
- d) Es sollte nach Möglichkeit das Medikament mit der geringsten Nebenwirkung verwendet werden.
- e) Zweckmäßige Applikation; dabei stellt die topische Applikation, sowohl bei der präoperativen Prophylaxe, als auch im Zuge der lokale Therapie, die häufigste Anwendung dar. Bei Erwachsenen werden meistens Augentropfen den Augensalben vor allem zur Anwendung am Morgen vorgezogen, da die Salben zu Verschwommensehen nach Auftragung führen. Auf der anderen Seite bevorzugt man Augensalben bei Heranwachsenden oder postoperativen Patienten wegen der prolongierten Kontaktzeit zwischen Auge und Medikament und der geringeren Auswaschung der Salbe im Vergleich zu den Tropfen durch die Tränenpassage. Alternativ kann man je nach Indikationsstellung die Medikamente oral, parenteral, subkonjunktival oder intravitreal applizieren.
- f) Die Applikationshäufigkeit und gesamte Therapiedauer muss vom Arzt angesetzt werden, um keine Antibiotikaresistenzen bei zu kurzer Applikation oder bei zu intensiver Dauer keine Hypersensitivität bzw. zytotoxische Reaktionen am Empfängerewebe zu bewirken.

### ***Fluoroquinolone in der Augenheilkunde***

Die Fluoroquinolone (FQ) sind die ersten synthetisch hergestellten Antibiotika und stammen alle von der Nalidixinsäure ab. Therapeutisch werden sie in der Medizin hauptsächlich bei Harnwegsinfekten, Pneumonien und Weichteilinfektionen eingesetzt. Man unterteilt sie pharmakologisch in vier verschiedene Generationen.<sup>35</sup>

Generation	Freiname	Handelsname (für Augentropfen)	Im Gebrauch seit
I	Norfloxacin	Chibroxin®	
II	Ofloxacin Ciprofloxacin	Floxal® Ciloxan®	
III	Levofloxacin	Quixin®	
IV	Gatifloxacin Moxifloxacin	Zymar® Vigamox®	April 2003* April 2003*

Tab. 2: Die in der Augenheilkunde verwendeten Fluoroquinolone; die mit \* gekennzeichneten Antibiotika sind nur in den USA erhältlich

Die FQ der zweiten Generation (Ciprofloxacin und Ofloxacin) und dritten Generation (Levofloxacin) werden therapeutisch besonders bei Korneal- und Konjunktivalinfektionen eingesetzt.<sup>44</sup> Sie blockieren jeweils nur die bakterielle Gyrase, ein essentielles Enzym zur Aufdrillung der DNA.

Bei Gatifloxacin und Moxifloxacin handelt es sich um Vertreter der vierten Generation der Fluoroquinolone. Gatifloxacin wurde 2000 erstmalig von der Firma Kyorin Co. Ltd. (Japan) zur Entwicklung und Vermarktung für die Anwendung in der Augenheilkunde an die Firma Santen (Japan) lizenziert.<sup>43</sup> Dagegen wurde Moxifloxacin von der Firma Bayer AG (Deutschland) im Jahr 1997 erstmalig beschrieben und im Jahr 2000 an die Firma Alcon Inc. (USA) für die Anwendung in der Augenheilkunde lizenziert.

Die Wirkstoffe Gatifloxacin und Moxifloxacin entfalten ihre Wirkung zusätzlich über den Block der essentiellen bakteriellen Topoisomerase IV. Beide Enzyme bestehen aus vier Untereinheiten. Die Interaktion mit den Untereinheiten *gyrA/gyrB* (Gyrase) bzw. mit *parC/parE* (Topoisomerase II) führt zu einem fixierten Enzym-DNA Komplex und verändert die ATPase-Aktivität an der DNA. Es kommt zu einem DNA-Bruch mit sehr geringer Readaptation der DNA-Stränge, da die entstandene Tertiärstruktur die Topoisomerasen bindet. Man spricht von „Gyrase-binding proteins“.<sup>15</sup>

Sie erzielen so im *In-vitro*-Vergleich zu den anderen in der Augenheilkunde verwendeten Antibiotikagruppen eine höhere Empfindlichkeit. Diese hohe antibakterielle Aktivität erreichen sie bei geringer MIC (Minimale Inhibitorische K(C)onzentration), sowohl im grampositiven (CNS, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus*), als auch im gramnegativen Bereich (*Pseudomonas aeruginosa* und andere).<sup>33</sup> Nachteilig wirkt sich dagegen die schwächere antibakterielle Aktivität gegenüber Anaerobiern (Propionibakterien) und atypischen Erregern (Mykobakterien) aus.

Die Gyrasehemmer zeigen sowohl systemisch (Lunge, Knochen, Knorpel) als auch in der lokalen Applikation (Vorderkammerflüssigkeit, Glaskörper<sup>73</sup>) eine gute Gewebepenetration. Es sind Kreuzresistenzen unter den Fluoroquinolonen, nicht jedoch zu den anderen Antibiotikagruppen bekannt. Sie werden in der Regel als Augentropfen oder als Augensalbe verschrieben.

### **1.3 Bakterielle Resistenzentwicklung**

#### ***Grundsätzliches zu bakterieller Resistenz***

Man versteht unter Resistenz (lat. resistere, widerstehen) per Definition die Widerstandsfähigkeit von Mikroorganismen gegen antibiotische bzw. chemotherapeutische Medikamente. Man unterteilt einerseits eine natürliche Resistenz aufgrund von originär bestehenden bakteriellen Eigenschaften (z.B. Polymyxin B-Resistenz von *Proteus spp.*), und andererseits eine erworbene Resistenz durch DNA-Mutation (d.h. Veränderung des genetischen Erbmaterials) und/oder DNA-Aquisition durch sog. Transposons. Im Allgemeinen können Mutationsvorgänge auf den bakteriellen Chromosomen zu zwei Arten von Resistenz führen: Die Gen-Mutation auf einem Chromosomenabschnitt kann die sog. „Ein-Schritt-Resistenz“ zur Folge haben, bei der sehr schnell eine therapeutische Widerstandsfähigkeit erreicht wird. Im Gegensatz dazu wird bei der sog. „Mehr-Schritt-Resistenz“ infolge mehrerer nacheinander stattfindender Mutationen eine stufenweise zunehmende Resistenz erreicht.

Die Aquisition von DNA-Abschnitten (sog. Transposons auf einem extrachromosomalen Plasmid/Ringchromosom), welche für Widerstandsfähigkeit gegenüber Antibiotika kodieren können, kann über *Konjugation* oder *Transduktion* erfolgen.

Die *Konjugation* ist ein parasexueller Mechanismus, bei dem ein Donorbakterium einem Akzeptorbakterium über den sog. Sexualpilus (aus Proteinen bestehender Protoplasmaschlauch) ein DNA-Plasmidstrang überträgt. Es ist bekannt, dass die meisten Staphylokokken über eine hohe Anzahl an Plasmiden verfügen.<sup>36</sup>

Die *Transduktion* ist eine Übertragung eines DNA-Segments eines Bakterienwirts über einen Bakteriophagen (Virus welches sich in einem Bakterium vermehrt). Das DNA-Segment kann durch Rekombination in das Genom der neuen Bakterienzelle eingebaut werden, welche dann unter Umständen Resistenz erlangt hat. Da Bakteriophagen spezifisch vor allem auf *Staph. aureus* dokumentiert sind, kann dies für die Typisierung der Bakteriophagenarten verwendet werden.<sup>3,32</sup>



Mittels verschiedener bakterieller Zellwandproteine können sie an extrazelluläre Moleküle (z.B. Fibrinogen, Fibronectin, Vitronectin, Laminin und Kollagen) binden. Manche Staphylokokkenspezies können so über einen Biofilm an Implantaten (wie z.B. Ventrikelkatheter, intraokulare Kunstlinse) haften und durch eine spezielle Schleimproduktion einerseits virulent wirken, andererseits können sie so Schutz gegen die Immunabwehr und antibiotische Pharmaka beziehen.<sup>45</sup>

Der häufige und unadäquate Gebrauch potenter Antibiotika, vor allem in der Tiernahrung,<sup>19</sup> sowie die weitverbreitete prophylaktische Anwendung von Breitspektrum-Antibiotika haben zu dem Selektionsdruck und der daraus folgenden Proliferation von resistenten Bakterien geführt.<sup>70</sup> Die steigende Zahl an immunsupprimierten Patienten, welche auf multiantibiotische Therapie angewiesen sind, haben die Resistenzproblematik vergrößert.<sup>41</sup>

### Fluoroquinolonresistenz

Resistenz gegenüber den Fluoroquinolonen (FQ) kann durch drei verschiedene Mechanismen entstehen:<sup>15,17,51,72</sup>

- Änderungen in der Antibiotikaaufnahme durch zellwandständige Porine
- Genmutation, welche für die Fluoroquinolone-bindenden Untereinheiten gyrA/B oder parC/E kodieren
- Verstärkter Pharmaka-Efflux aus der Zelle (v.a. bei gramnegativen Bakterien)

Die FQ der vierten Generation, Gatifloxacin und Moxifloxacin können zusätzlich zur Gyrase auch die Topoisomerase IV blockieren. Beide sind ihrer chemischen Struktur nach 8-methoxyFluoroquinolone mit jeweils anderen Substituenten an Position 7 (Abb. 5 und 6)

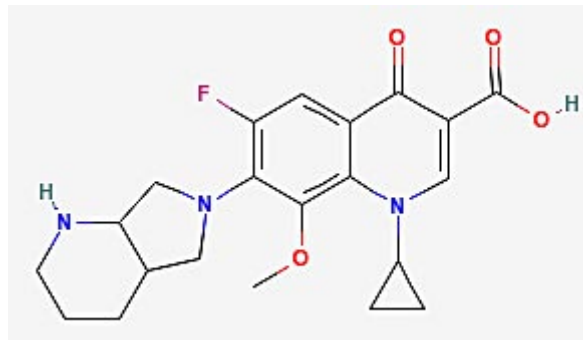


Abb. 5: Strukturformel von Moxifloxacin

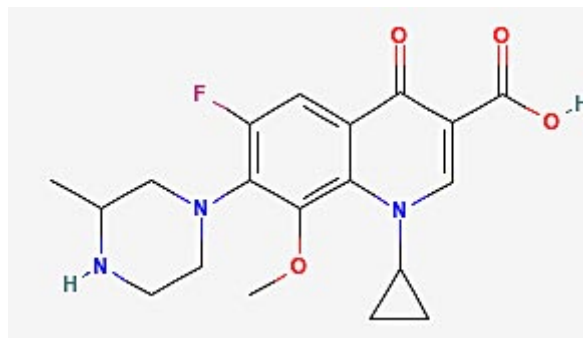


Abb. 6: Strukturformel von Gatifloxacin

Dadurch sollen diese eine bessere bakterizide Wirksamkeit gegen grampositive, gramnegative und atypische Erreger, wie Mykobakterien, erwirken. *In-vitro*-Empfindlichkeitstests bestätigen, dass die FQ der vierten Generation stärker wirksam sind gegen coagulase negative *Staphylococcus*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus viridans* und *Streptococcus pneumoniae* als die der zweiten und dritten Generation.<sup>53</sup> Da die FQ hauptsächlich bei der

Behandlung von Infektionen des Urogenital- und des Respirationstrakts verwendet werden, ist die Mehrheit von Daten zur Empfindlichkeit nicht mit Bakterien der Normalflora des Auges durchgeführt worden. In dieser *In-vitro*-Studie haben wir die Wirksamkeiten und die antibiotischen Empfindlichkeiten per Agardiffusionstest mit der Standardmethode nach Kirby-Bauer evaluiert und miteinander verglichen.

#### 1.4 Prinzip des Agardiffusionstests

Der Agardiffusionstest ist die am weitesten verbreitete Methode der Resistenzprüfung. Er zeichnet sich durch die einfache Auszuführbarkeit und seine Flexibilität bezüglich der Menge und Art der zu testenden Antibiotika aus.<sup>5,71</sup>

Auf der einen Seite gibt es den sog. Reihenverdünnungstest, welcher der quantitativen Wertbemessung verschiedener Antibiotika dient. Auf der anderen Seite kann man über den Plättchenagardiffusionstest qualitative Aussagen bezüglich eines Bakterienstammes machen. Man stellt hier als Ergebnis fest, ob ein Bakterienstamm sensibel/empfindlich, mäßig empfindlich oder resistent mit einem bekannten Antibiotikum reagiert. Der Test eignet sich für schnell wachsende Bakterien wie *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus spp.* und *Enterococcus spezieis*. Der Test ist zusätzlich auch für *Streptococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Hämophilus influenza* und anderen Gattungen geeignet, welche ein langsames Wachstum aufweisen.<sup>71</sup>

Als erstes muss man eine Agarplatte mit Bakterien beimpfen, um dann anschließend ein Filterplättchen aufzutragen, die eine definierte Menge eines Antibiotikums enthält. Die Bakterien vermehren sich nach einer Latenzzeit exponentiell und bilden nach Stunden sichtbare Kolonien auf dem Agar.

Das Bakterienwachstum in der Umgebung des Plättchens wird je nach Empfindlichkeit der Bakterien durch das Antibiotikum gehemmt. Die trockenen Plättchen absorbieren Wasser, woraufhin das Antibiotikum gelöst wird und in das Agarmedium diffundiert. Es entsteht eine graduell abfallende Antibiotikumkonzentration um das Plättchen. Dadurch wird an Stellen mit inhibitorischen Konzentrationen von Antibiotikum das Bakterienwachstum verhindert, es entsteht ein Hemmhof. Je empfindlicher die Bakterien gegen das jeweilige Antibiotikum sind, desto größer ist der Hemmhof.

Die kritische Zellmasse ist diejenige Zelldichte, welche die Potenz der Minimalen Inhibitorischen c(K)onzentration (MIC) eines Antibiotikums bezwingen kann. Die kritische Zeit und damit die Hemmhofgröße determinieren sich für die meisten Mikroorganismen

innerhalb weniger Stunden (Latenzphase plus zwei bis drei Generationszeiten). Die Größen der Hemmhöfe, die zu Empfindlichkeitsaussagen führen, sind also für jedes Antibiotikum, in Abhängigkeit von seiner Diffusionsfähigkeit, und für bestimmte Bakteriengattungen, in Abhängigkeit von ihrer Generationszeit, unterschiedlich und können nicht miteinander verglichen werden.

Der Durchmesser der Hemmhöfe (in mm) ist indirekt proportional zur MIC eines Antibiotikums für einen Bakterienstamm. Nach Serientestungen isolierter Stämme mit bekannten MICs ergibt sich eine lineare Beziehung zwischen Hemmhofdurchmessern und dem log<sub>2</sub> der korrespondierenden MICs. Daraus entstehen Standards, welche von der NCCLS in den USA<sup>65</sup>, und der DIN 58940 (Deutschen Industrie Norm)<sup>13</sup> in Deutschland, kontrolliert und herausgegeben werden. Die Hemmhöfe werden nach diesen Standards als vollsensibel, intermediär bzw. partiellresistent oder resistent klassifiziert und in Referenztabellen aufgelistet:

- **Sensibel / Empfindlich:** Ein Erreger ist als vollsensibel zu bezeichnen, wenn die MIC für das entsprechende Chemotherapeutikum so gering ist, dass bei einer Therapie mit der vorgeschlagenen Regeldosierung im allgemeinen ein Therapieerfolg zu erwarten ist.
- **Intermediär bzw. partiellresistent:** Ein Erreger wird als intermediär eingestuft, wenn die MIC für das entsprechende Chemotherapeutikum in einem Bereich liegt, für den ohne zusätzliche Berücksichtigung weiterer Kriterien keine Beurteilung hinsichtlich des zu erwartenden klinischen und mikrobiologischen Therapieerfolges möglich ist.
- **Resistent:** Ein Erreger ist als resistent zu bezeichnen, wenn seine MIC für das entsprechende Therapeutikum so hoch ist, dass auch bei der vom Hersteller empfohlenen Höchstdosierung ein therapeutischer Erfolg nicht zu erwarten ist.

Es ist der Rückschluss zulässig, dass ein im Vergleich relativ geringerer MIC Wert auf eine schneller einsetzende antibiotische Effektivität hinweist.

Penicilline	Cephalosporine	Carbapeneme	Aminoglykoside
Mezlocillin	Cefazolin (1. Gen.)	Imipenem	Amikacin
Oxacillin	Cefuroxime (2. Gen.)	Meropenem	Gentamicin
Penicillin	Cefotaxime (3. Gen.)		Neomycin
	Ceftazidime (3. Gen.)		Tobramycin
Makrolide	Fluoroquinolone	Tetracycline	Sonstige
Azythromycin	Ciprofloxacin (2. Gen.)	Minocyclin	Chloramphenicol
Erythromycin	Ofloxacin (2. Gen.)	Tetracyclin	Vancomycin
	Norfloxacin (2. Gen.)		
	Levofloxacin (3. Gen.)		
	Gatifloxacin (4. Gen.)		
	Moxifloxacin (4. Gen.)		

Tab. 3: Sämtliche in der Studie verwendeten Antibiotika

## 1.5 Ziele dieser Studie

Die vorliegende experimentelle *In-vitro*-Studie verfolgte folgende Ziele:

- Analyse und epidemiologische Auswertung von 256 okularen Normalfloraisolaten, welche von zwei klinisch-prospektiven Studien zur präoperativen Minderung der Bakterienanzahl in Stanford, USA, im Zeitraum von August 2000 bis Januar 2002 stammen.
- Revitalisierung und Identifikation der konservierten Normalfloraisolate.
- Resistenzbestimmung anhand des Agardiffusionstests mit 25 Antibiotika (inklusive aller ophthalmologisch relevanter Antibiotikagruppen) unter Verwendung von Gatifloxacin und Moxifloxacin (Fluoroquinolone der vierten Generation).
- Analyse und statistische Auswertung der gewonnenen Empfindlichkeitsprüfungen mit dem Hauptaugenmerk
  - a.) auf eine multiresistente Gruppe (MR) und eine empfindliche (E) Gruppe.
  - b.) auf die neueren FQ Generationen.
  - c.) unter Berücksichtigung der Ursprungsqualität der Bakterienstämme (Bakterien ohne Prophylaxe vs. Bakterien mit Prophylaxe).

Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht:

- 1.) Kongress der American Academy of Ophthalmology, Oktober 2003, Anaheim (CA),
- 2.) Kongress der Association Research Vision O 2004 Ft. Lauderdale.
- 3.) Antibiotic susceptibility of preoperative normal conjunctival bacteria.  
Am J Ophthalmol. 2005 Apr;139(4):730-3.

PMID: 15808182 [PubMed - indexed for MEDLINE]

## **2. Material und Methoden**

### **2.1 Studiendesign**

Im Zuge von zwei Studien zur Senkung der präoperativen Bakterienanzahl bei Operationen im vorderen Augenabschnitt im Zeitraum von August 2000 bis Januar 2002 wurden an der Augenklinik Stanford Bakterienstämme gesammelt und als Agar-Isolate konserviert.<sup>68,69</sup>

In der vorliegenden Arbeit wurde nach der Genehmigung durch die Ethikkommission der Universität Stanford, Kalifornien/USA, 256 verschiedene Bakterienfloraisolate auf deren Empfindlichkeit mit 25 Antibiotika geprüft. Die Revitalisierung und der experimentelle Teil der vorliegenden Arbeit wurde von Februar 2003 bis August 2003 im mikrobiologischen Forschungslabor der Augenklinik der Universität Stanford, Kalifornien/USA durchgeführt. Sie ist als experimentelle *In-vitro*-Studie entworfen.

### 2.1.1 Patientendaten

Insgesamt stammen die Bakterien von 160 Patienten (Abb. 7). Davon waren 91 weiblichen und 69 männlichen Geschlechts. Sie befanden sich bei den Frauen im Alter von 35 bis 88 Jahren und bei den Männern von 28 bis 89 Jahren. Der Altersdurchschnitt des Gesamtpatientenkollektivs lag bei 70,6 Jahren (Frauen 72,1 Jahre - Männer 68,6 Jahre).

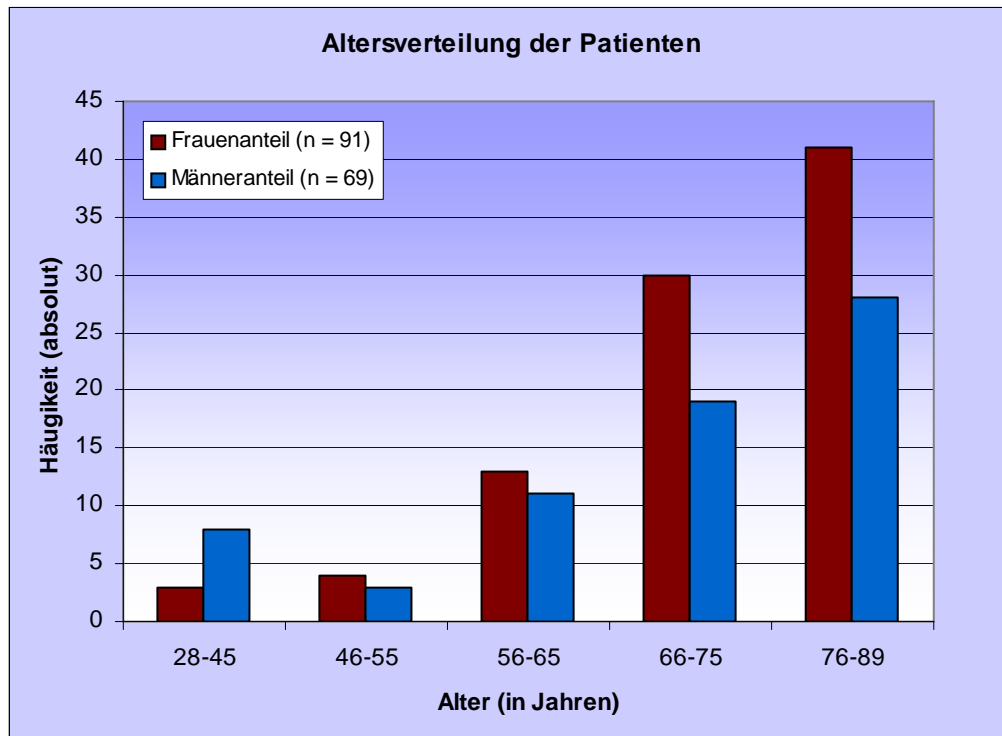


Abb. 7: Altersverteilung der Patienten

Sämtliche Bakterienabstriche wurden bei Operationen am vorderen Augenabschnitt gewonnen. Es wurde in 87 Fällen am rechten und in 73 Fällen am linken Auge operiert. Dabei wurde in 127 Fällen (75x Frauen, 52x Männer) eine Kataraktextraktion per Phacoemulsifikation, in 22 Fällen eine Trabekuloektomie (10x Frauen, 12x Männer) und in 11 Fällen andersartige Vorderabschnittsoperationen, wie kombinierte Kataraktextraktion mit Trabekuloektomien bzw. Vitrektomien (8x), oder eine Keratoplastik (3x) durchgeführt (Abb. 8).



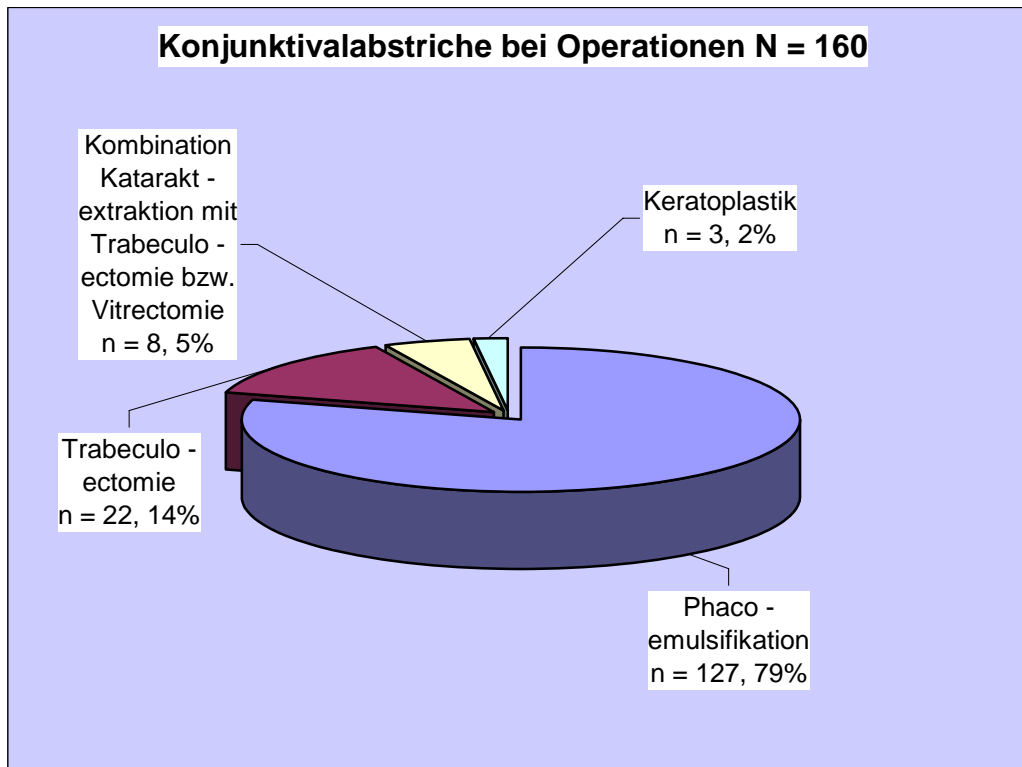


Abb. 8: Darstellung der Operationen (n = 160) am vorderen Augenabschnitt inklusive der durchgeführten Konjunktivalabstriche

Die Patienten mussten im Rahmen der zwei Vorgängerstudien einen Informationsbogen mit der Einverständniserklärung für die wissenschaftlichen Auswertung der Konjunktivalabstriche unterzeichnet abgeben.

### 2.1.2 Bakteriendaten

Insgesamt konnten bei 160 Patienten 256 verschiedene Bakterienisolate gewonnen und in der vorliegenden Arbeit untersucht werden. Jeder Patient wurde randomisiert mit jeweils einem Prophylaxeverfahren, bestehend aus zwei unterschiedlich langen Antibiotikaapplikationen, behandelt. Dies beinhaltete die Applikation von 0,3% Ofloxacin topisch über drei Tage gegenüber eine Stunde vor der Operation in Kombination mit einer präoperativen 5% Povidon- Iod (PVI) Behandlung.<sup>68,69</sup>

Daraus ergeben sich bezüglich der Qualität der Bakterien folgende Unterschiede:

- 162 Bakterienstämme der Konjunktiva von 138 Patienten, welche mit keiner Form der Prophylaxe in Berührung kamen (unbehandelte Normalflora).
- 94 Bakterienstämme von 68 Patienten, welche zu unterschiedlichen Zeitpunkten (T1/ Bag1 bis T4) im Zuge der Prophylaxeverfahren isoliert werden konnten (vorbehandelte Normalflora).

Zeitpunkt	N (Gesamt)	Beschreibung	Prämedikation mit 0,3% Ofloxacin 3d oder 1h präoperativ und PVI Behandlung	
			3d	1h
T0 (n=153) Bag0 (n=9)	N=162	Vor Operation und vor einer antibiotischen (AB) Prophylaxe	---	---
T1 (n=7) Bag1 (n=1)	N=94	Operationstag; entweder nach 3 tägiger AB Prophylaxe oder keine AB Prophylaxe	8	---
T2 (n=29)		Nach Applikation von 0,3% Ofloxacin topisch (1h präoperativ gegeben) und vor 5% Povidon-Iod	2	26
T3 (n=33) Bag3 (n=1)		Unmittelbar vor der Operation (ca. 5 Minuten nach Povidon-Iod)	10	24
T4 (n=23)		Unmittelbar nach der Operation	8	15

Tabelle 4: Zeitschema der Bakterienabstriche vor, während und nach der Operation mit den jeweiligen Zeitpunkten der präoperativen Prophylaxe (PVI=Povidon-Iod, T=Thioglycolate Medium, Bag=Blutagar)

Da bei 60 der 160 Patienten mehr als ein Bakterienstamm (unbehandelte bzw. behandelte Normalflora) vorhanden war, konnten bis zu sechs verschiedene Bakterienstämme bei einem einzelnen Patienten untersucht werden (Abb. 9). Es wurde anhand dreier Kriterien die Intervariabilität der Bakterien eines Patienten festgelegt:

- verschiedene Morphologie in Zellkultur und Nativdiagnostik
- Gramfärbung und Coagulasetest
- Unterschiedliches Ergebnis im Antibiotikaempfindlichkeitstest.

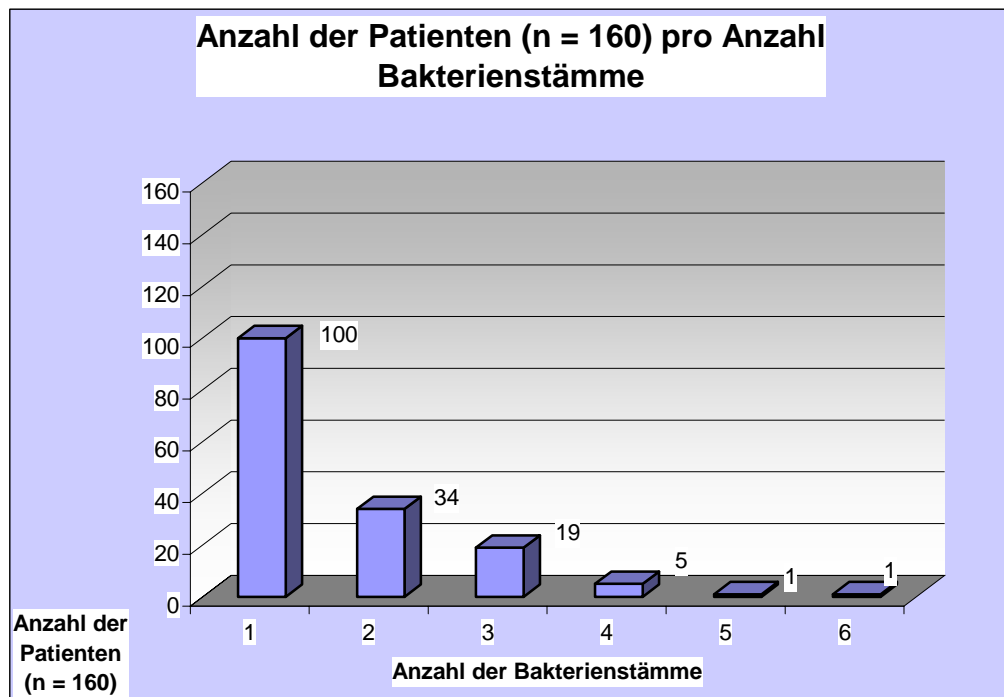


Abb. 9: Anzahl Patienten pro Bakterienstammzahl

### 2.1.3 Abstriche und Revitalisierung

Die Konjunktivalabstriche wurden mit einem sterilen Baumwollstäbchen gewonnen, welche zuvor durch ein Blut-Kultur Broth Medium angefeuchtet worden waren. Alle Bakterienstämme wurden zu unterschiedlichen Zeitpunkten während der Vorderkammeroperationen entnommen (Tab. 4).

Bei den Konjunktivalabstrichen wurde darauf geachtet, dass Lidkante, Lidhaut und Wimpern nicht berührt wurden. Die Kulturproben wurden sofort auf 5% Schafblutagar, Chocolateagar sowie pädiatrisches Blutkultur Broth Medium (20ml BBL Septi-Check) überführt. Die

Agarplatten wurden vor der Inokulation 10 bis 30 Minuten leicht geöffnet bei 36°C im Brutschrank vorinkubiert, um überschüssige Feuchtigkeit verdunsten zu lassen. Die Blutkultur-Mediumplatten wurden mit 5% Kohlendioxid inkubiert, um microaerophiles und aerobes bakterielles Wachstum zu fördern. Die Kochblutagars wurden in einem anaerobischen Minibag zur Isolation der anaerobischen Bakterien inkubiert. Alle Kulturmedia (inkl. Blutkulturen) wurden bei 37°C für 10 Tage inkubiert. Es wurden alle Bakterienstämme identifiziert, quantifiziert und in speziellen Agars mit minimal angereichertem Medium bei 4°C konserviert (Tab. 5, Storage Medium, Bio-Rad Laboratories Inc®, Hercules, California).

Operationstag	Probenentnahme und Kultivierung auf		
	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Kochblutagar</li> <li>- 5% Schafblutagar</li> <li>- pädiatrisches Blutkultur Broth Medium (20 ml BBL Septi-Check)</li> </ul>		
	bei 37°C, 10 Tage		
	Resistenzbestimmung	Identifikation	Isolierung
			- Storage Medium, Bio-Rad Laboratories Inc®
			Bei 4°C konserviert
			bis Februar 2003

Tab. 5: Kurzschemata zu Isolierung der Abstriche

Ab Februar 2003 wurde zur Bestimmung der Empfindlichkeit anhand der Disk Diffusions Technik ein Teil des Agarisolats sorgfältig mit einer sterilen Plastiköse in 20 ml BBL-Septi-check Broth Medium überführt und bei 37°C für 24 bis 48 Stunden inkubiert (Tab. 6). Es wurde darauf geachtet, dass die Ränder des Aufbewahrungs- und des Broth Mediums nicht berührt wurden. Die positiv gewachsenen Bakterienstämme wurden nun auf 5% Columbia Blutagar isoliert und bei 37°C für 24 Stunden inkubiert. Im Anschluss wurde jeweils eine isolierte Bakterienkolonie in angereichertem Thioglycolate Medium bei 37°C für 24 Stunden inkubiert. Die positiven (trüben) Media wurden zur Disk Diffusion verwendet, indem jeweils getrennt positive (trübe) Media mit sterilen Wattetupfer auf unbehandelte Agarplatten aufgetragen wurden.

Auf Grund des Studiendesigns (mit Schwerpunkt auf den multiresistenten Keimen) war das Auswahlverfahren der Isolate unmaskiert. Die Auswertung und Analyse der Antibiogramme

war maskiert. Der Analysant war nicht über den Hintergrund der Studie bzw. die Zusammenhänge der verschiedenen Antibiotika informiert.

Untersuchungstag 1.	Überführung von Agarisolat in 20 ml BBL-Septicheck Broth Medium
	bei 37°C, 24 bis 48 Stunden
Untersuchungstag 2.	Positives Wachstum auf 5% Columbia Blutagar
	bei 37°C, 24 Stunden
Untersuchungstag 3.	Jeweils eine Bakterienkolonie in angereichertem Thioglycolate Medium
	bei 37°C, 24 Stunden

Tab. 6: Kurzschemata zur Revitalisierung der getesteten Bakterienisolate von Tabelle 5 (s.o.)

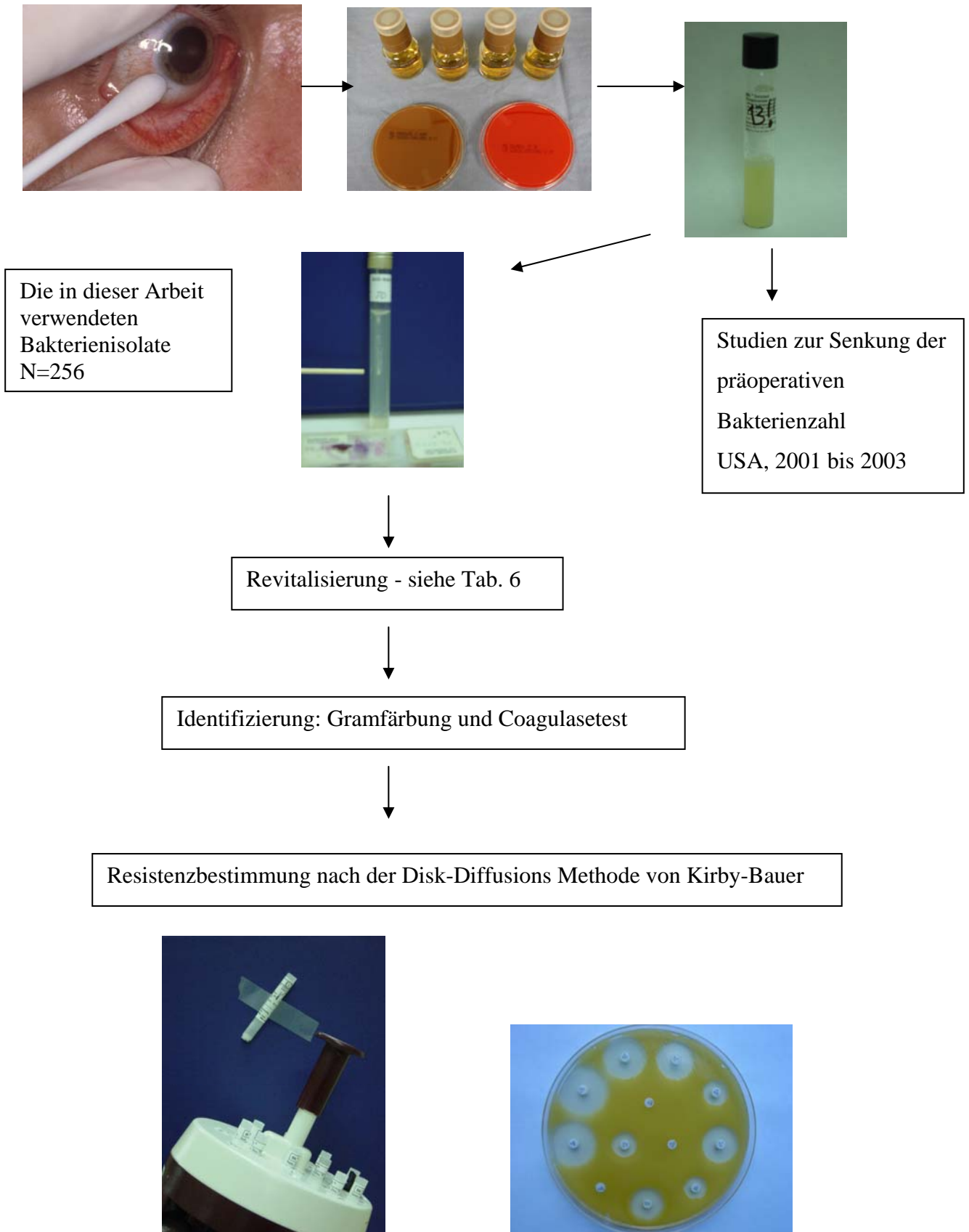


Abb. 10: Versuchsablauf

## 2.1.4 Resistenzbestimmung

Es wurde der Kirby-Bauer Disk Diffusions Test verwendet,<sup>5</sup> da dieser am besten in der Routinediagnostik im Kliniklabor von vielen und schnellwachsenden Bakterienstämmen gegenüber einer hohen Anzahl von Antibiotika geeignet ist. Die Agarplatten wurden vor der Inokulation 10 bis 30 Minuten leicht geöffnet bei 36°C im Brutschrank vorinkubiert, um überschüssige Feuchtigkeit verdunsten zu lassen. Im Folgenden wurde die Agarplatte (Müller Hinton 2 ohne Blut für die *Staphylococcus*-Spezies und gramnegative Stäbchen und Müller Hinton mit 5% Blut für die *Streptococcus*-Spezies) mit dem Testorganismus einheitlich bestrichen und ein Papierplättchen mit einer bekannten Konzentration des Antibiotikums auf der Agaroberfläche platziert. Die Agarplatten wurden bei 35°C für 24 Stunden inkubiert. Die Kirby-Bauer Technik wurde in Abstimmung mit den Richtlinien für antimikrobiologische Plättchen Diffusionstestverfahren des „National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)“ durchgeführt.<sup>65</sup> Das Wachstum des Bakterienstamms im Umfeld des Antibiotikaplättchens führte zu einem Hemmhof. Innerhalb dieses Durchmessers übersteigt die Antibiotikumkonzentration die Hemmkonzentration. Der Durchmesser zeigt nach Berücksichtigung der Richtlinien des NCCLS an, ob ein Bakterium sensibel, mäßig empfindlich bzw. teilresistent oder resistent mit jedem einzelnen der 25 getesteten Antibiotika reagiert. Auf eventuelle „Doppelhalos“ (zwei verschiedene Bakterienstämme auf einer Agarplatte) in der Resistenzbestimmung wurde besonders geachtet und die Resistenztestung getrennt wiederholt, bis ein eindeutiges Ergebnis erreicht wurde.

## 2.2 Bakteriennachweis

### 2.2.1 Identifikation der Bakterien

Zur Identifikation auf Spezialebene wurde ein Tropfen der ungefärbten trüben Bouillon auf einem Objektträger aufgetragen und mikroskopiert. Diese Analyse erlaubt eine erste Beurteilung der Identität des Bakteriums. Die Identität der Stämme musste zusätzlich per Mikroskopie der gramgefärbten Organismen (aufgelöst zu 0,5 optische Dichte in steriler physiologischer Kochsalzlösung) bestätigt werden.

Zur Unterscheidung der Agar-extrahierten Kolonien zwischen coagulase negativen *Staphylococcus* und *Staphylococcus aureus* wurde ein Coagulasetest durchgeführt.

Für den Fall, dass Mischkulturen auftraten, wurden diese in einem neuen Beimpungsverfahren isoliert und getrennt identifiziert.

## 2.2.2 Gramfärbung und Coagulasetest

### **Gramfärbung**

Die Bakterienprobe wird auf einem Objektträger aufgetragen (evtl. Verdünnung in 0,9% NaCl), luftgetrocknet und flammenfixiert. Nach dem Erkalten werden folgende Färbeschritte durchgeführt, welche von Abspülen mit Aqua destillata unterbrochen werden:

Karbolgentianaviolettlösung (1 min), Lugolsche Lösung (1 min), Differenzierung mit 95% Äthanol (wenige Sekunden), Safranin-/oder Fuchsinlösung

Grampositive Erreger (Abb. 11) haben unter dem Mikroskop eine blaue bis violette Farbe, d.h. die Mureinschicht der Zellwand ist gross genug, um Karbolgentianalösung zu bewahren. Gramnegative Erreger erscheinen dagegen mikroskopisch wegen des Überwiegens der Safranin-/Fuchseinlösung in der Zellwand rot.

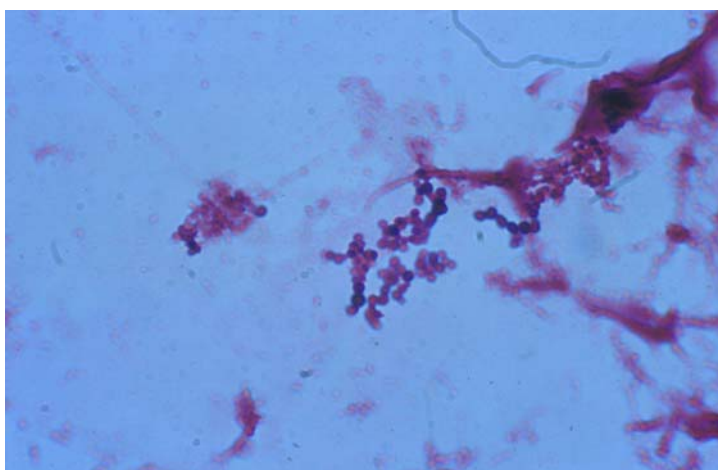


Abb. 11: Positives Grampräparat von *Bacteriococcae spp.*

### **Coagulasetest**

Bakterienprobe auf einem Objektträger in einem Tropfen Kaninchenserum verrühren; im Falle von coagulasepositiven Bakterien werden die Serumproteine koaguliert und fallen flockig aus.

Alle Kulturmedia bzw. Agarplatten wurden über die Firma Fisher Scientific, Los Angeles / California, gekauft.



### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Isolierte und getestete Keime

Die Revitalisierung der konservierten Bakterienisolate erbrachte 256 vitale Bakterienstämme (Abb. 12). Die grampositiven Bakterien zeigten eine Prävalenz von 94% und bestanden aus coagulase negativen *Staphylococcus*, *Staphylococcus aureus* und *Streptococcus* der Gruppe D. Die Prävalenz der gramnegativen Bakterien, wie *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* und sonstigen gramnegativen Stäbchen lag bei 6%. Die coagulase negativen *Staphylococcus* stellten mit n=201 (78%) den Hauptteil des Gesamtkollektivs dar. Die restlichen 55 Stämme gliedern sich in n=26 *Staphylococcus aureus* (10%), n=15 *Streptococcus* der Gruppe D (6%), n=5 *Pseudomonas aeruginosa* (2%) und die Gruppe der „Sonstigen Gramnegativen“ (n=9/4%).

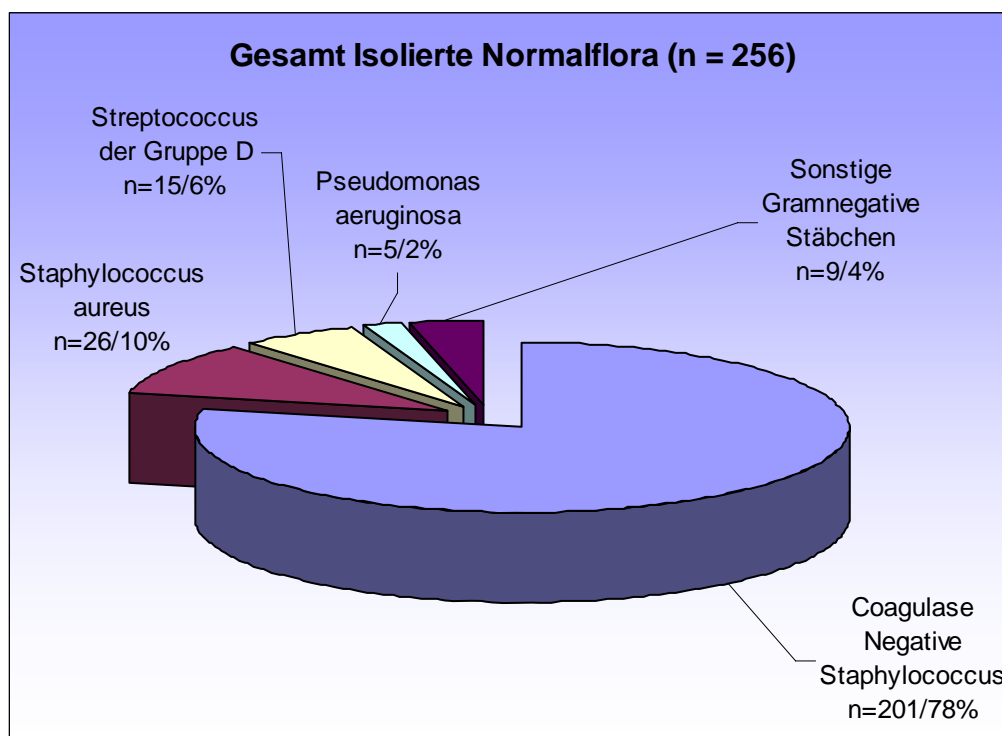


Abb. 12: Gesamtkollektiv an getesteten Bakterien (n=256). Die Gruppe „Sonstige Gramnegative Stäbchen“ (n=9) besteht aus *Stenotrophomonas maltophilia* (n = 1) und sonstigen gramnegativen Bakterien (n = 8)

Das Gesamtkollektiv an getesteten Bakterien (n=256) wurde unterteilt in eine unbehandelte Bakteriengruppe (n=16) und eine vor dem Bindehautabstrich behandelte Gruppe (n=94). Die unbehandelte Normalflora stellte in der Studie 63% (162/256) der Bakterien dar (Abb. 13). Es handelte sich in beiden Gruppen um eine ähnliche Prävalenzverteilung der grampositiven und gramnegativen Bakterien. Dabei stellten die coagulasenegativen *Staphylococcus* mit n = 124 (77 %) der Fälle in der unbehandelten Gruppe, als auch mit n = 77 (83%) die meisten Bakterienspezies.

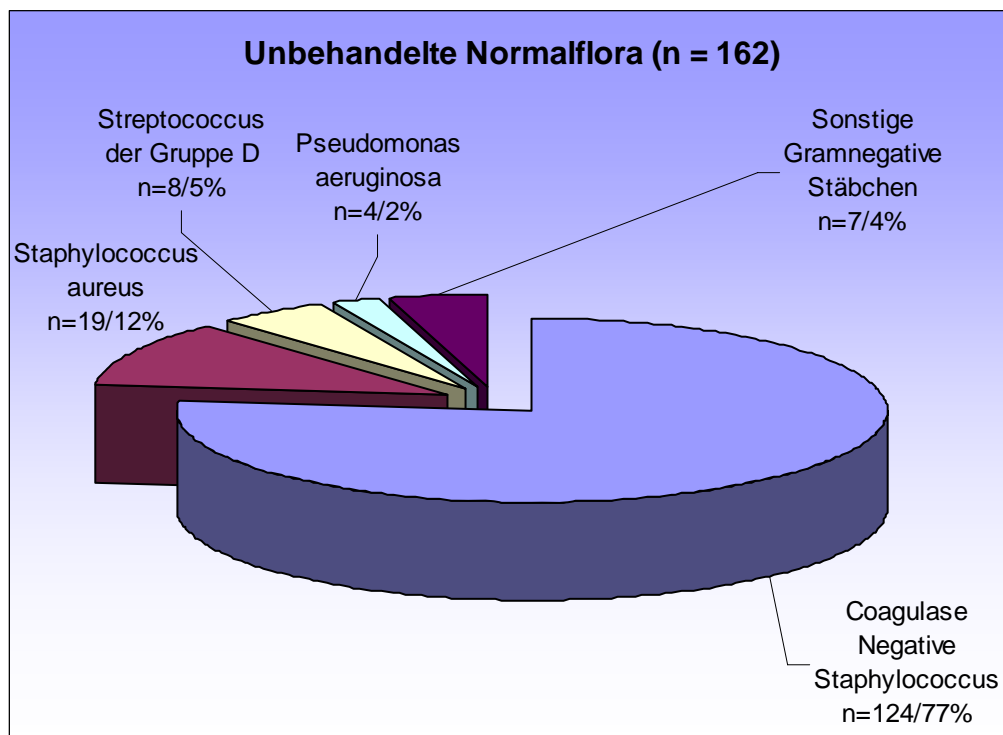


Abb. 13: Gruppe von unbehandelten Bakterien ohne Kontakt mit präoperativen Antiseptika (n=162). Gruppe „Sonstige Gramnegative Stäbchen“ (n=7) besteht aus *Stenotrophomonas maltophilia* (n=1) und sonstigen gramnegativen Stäbchen (n=6)

Die Bakteriengruppe, die mit einem präoperativen Antiseptikum in Kontakt gekommen ist, stellt dagegen n = 94 (37 %) der Gesamtbakterien (Abb. 14). Es zeigt sich eine annähernd analoge Zusammensetzung der Bakterienspezies. Im Vergleich zu der unbehandelten Bakteriengruppe war die Prävalenz der coagulasenegativen *Staphylococcus* mit 83% leicht gestiegen. Desweiteren zeigten nur die *Streptococcus* der Gruppe D als einzige andere Bakterienspezies eine höhere Prävalenz (hier 12%).

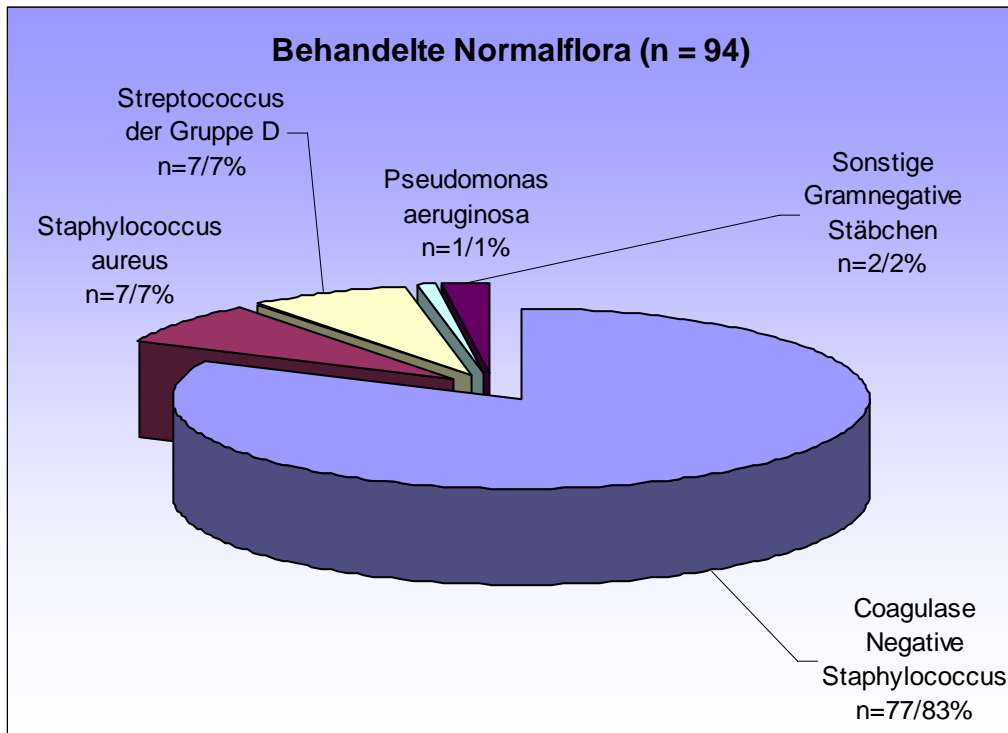


Abb. 14: Gruppe der vorbehandelten Bakterien mit 0,3% Ofloxacin topisch über drei Tage gegenüber einer Stunde vor der Operation in Kombination mit einer präoperativen 5% Povidone-Iod (PVI) Behandlung (n=94).

### 3.2 Einteilungskriterien

#### 3.2.1 Einteilung nach Resistenz

Im Zuge des Studiendesigns wurden alle Bakterienstämme jeweils nach der Anzahl des Wachstums in Anwesenheit von 25 Antibiotika (Kirby-Bauer Technik) in eine multiresistente (MR) oder eine empfindliche (E) Gruppe eingeteilt (Tab. 7). Ein Stamm wurde als „empfindlich“ gewertet, wenn dieser bei Anwesenheit von vier oder weniger Antibiotika kein Wachstum zeigte. Im Gegensatz dazu wurde ein Stamm als „multiresistent“ definiert, falls sich in Anwesenheit von mindestens fünf Antibiotika ein Wachstum darstellte.

Das Gesamtbakterienkollektiv bestand aus einer empfindlichen Gruppe mit  $n = 156/256$  (61%) und einer multiresistenten Gruppe mit  $n = 100/256$  (39%).

	Empfindlich (n = 156)	Multiresistent (n = 100)
Coagulasenegative <i>Staphylococcus</i>	131	70
<i>Staphylococcus aureus</i>	23	3
<i>Streptococcus der Gruppe D</i>	0	15
<i>Pseudomonas spp.</i>	0	5
Sonstige gramnegative spp.	2	6
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0	1

Tab. 7: Auflistung und Unterteilung der verschiedenen Bakterien

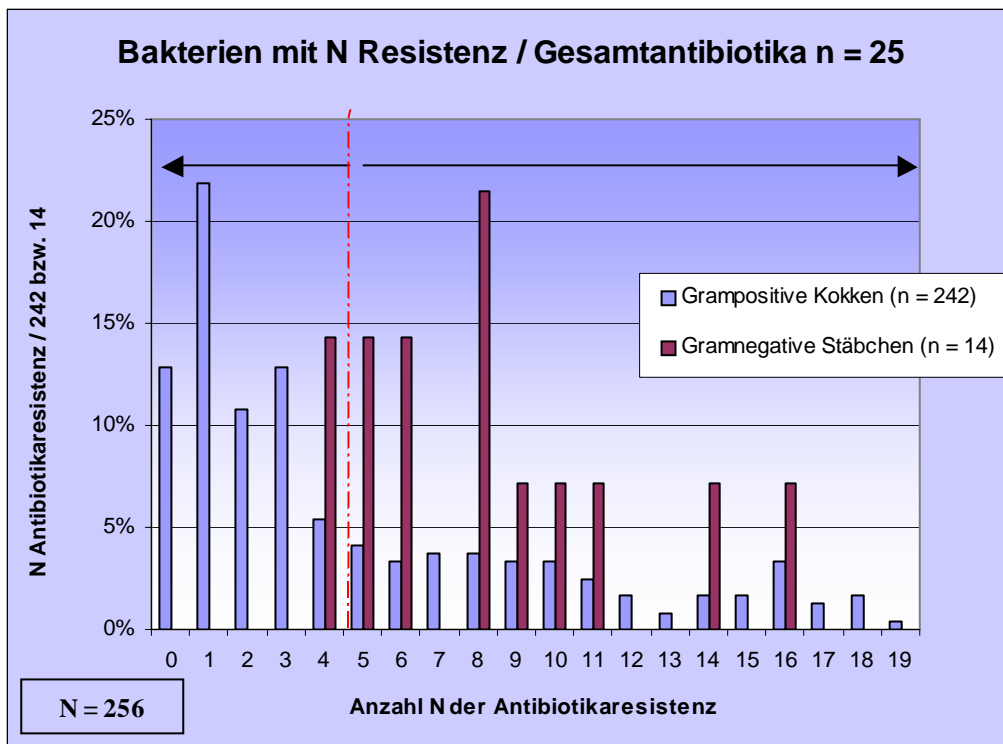


Abb. 15: Resistenztest gegenüber 25 Antibiotika mit Einteilung nach der bakteriumspezifischen Anzahl N an Antibiotikaresistenzen (E=Empfindlich / n=156; MR=Multiresistent / n=100)

Der überwiegende Teil der antibiotikaempfindlichen Bakterien (n=154; Abb. 15) bestand aus grampositiven Kokken (n=154). Dabei wurden n=31 grampositive, komplett empfindliche Stämme (13%) notiert. Am häufigsten waren Stämme (n=53/22%) mit einer Resistenz, bei denen es sich in 45 von 53 Fällen (85%) um eine Penicillinresistenz handelte. Dagegen

konnte auf der anderen Seite ein grampositiver Stamm (0,4%) mit der höchsten Anzahl (19/25) an Resistenzen untersucht werden. Bei diesem vorbehandelten, multiresistenten *Streptococcus* der Gruppe D konnte einzig die antibiotische Potenz von Mezlocillin, Imipenem, Vancomycin, Levofloxacin, Moxifloxacin und Gatifloxacin nachgewiesen werden. Bei den gramnegativen Bakterien waren n = 12 multiresistent. Am häufigsten waren diese gegenüber 8 verschiedenen Antibiotika resistent (n = 3 gramnegative Stäbchen; 21%).

### 3.2.2 Einteilung nach Abstrichentnahme

Wie unter 2.1.3 erwähnt wurden mehr als die Hälfte der Bakterien von unbehandelten Konjunktividen gewonnen (n = 162/63%). Dies betrug für die multiresistenten Bakterien 62% und für die empfindlichen Bakterien 64% (Tab. 8).

Die vorbehandelten Bakterien unterschieden sich wegen der Originität der unterschiedlichen Abstrichzeitpunkte. Diese Verteilung war in den beiden Bakteriengruppen ähnlich.

Zeitpunkte	Multiresistente Gruppe (n = 100)		Empfindliche Gruppe (n = 156)	
	Positiv N	% Positiv (N/100)	Positiv N	% Positiv (N/156)
<i>Unbehandelt</i>				
T0 (n=153) Bag0 (n=9)	62	62%	100	64%
<i>Vorbehandelt</i>				
T1 (n=7) Bag1 (n=1)	3	3%	5	3%
T2 (n=29)	13	13%	16	10%
T3 (n=33) Bag3 (n=1)	13	13%	21	14%
T4 (n=23)	9	9%	14	9%

Tab. 8: Auflistung der Anzahl n der multiresistenten und empfindlichen Bakterienstämme im Verhältnis zu den Zeitpunkten der Konjunktivalabstriche (T=Thioglycolate Medium, Bag=Blutagar)

### 3.3 Antibiotikaempfindlichkeitstest

Aufgrund der hohen Bakterienanzahl  $n$  ist bei den coagulasenengativen *Staphylococcus* (CNS) die Darstellung der Antibiotikaempfindlichkeitstests aus drei verschiedenen Blickwinkeln möglich:

1. Gesamtkollektiv – empfindlich und multiresistent
2. Unbehandelte CNS – empfindlich und multiresistent
3. Vorbehandelte CNS

Diese Ergebnisdarstellung erlaubt unter Umständen anhand der empfindlichen CNS bereits bekannte hohe Resistenzhäufigkeiten (R) gegenüber einzelnen Antibiotika zu bestätigen (z.B. Penicilline, Makrolide), andererseits bei den multiresistenten CNS eine Beschreibung beziehungsweise eine vermutete Resistenzentwicklung zu dokumentieren (siehe auch 4.1/4.3). Dabei steht das Ergebnis des Gesamtkollektives einleitend am Anfang der Darstellung und gibt den Mittelwert der beiden Ergebnisse dar (siehe Tab. 9/Abb. 16/17/18).

Bei den *Staphylococcus aureus*, den *Streptococcus* der Gruppe D und den gramnegativen Bakterien konnten wegen kleinerer  $N$  die jeweiligen Ergebnisse in der Regel nur als Gesamtergebnis gezeigt werden.

#### 3.3.1 Coagulasenegative *Staphylococcus*

Wie unter 3.1 beschrieben bestand die Gesamtzahl  $n=201$  (Abb. 16) der coagulasenegativen *Staphylococcus* (CNS) aus einem unbehandelten Teil ( $n=124$ ) und einem mit präoperativen Antiseptika behandelten Teil ( $n=77$ ). Sowohl der unbehandelte als auch der behandelte Teil beinhaltete eine empfindliche ( $n=131$ ) und eine multiresistente Untergruppe ( $n=70$ ).

Das CNS Gesamtkollektiv zeigte gegenüber den Antibiotikagruppen der Cephalosporine, der Carbapeneme, der Aminoglykoside, den Tetracyclinen, dem Chloramphenicol und dem Vancomycin eine Resistenzhäufigkeit (R) von unter 20% (Abb. 16). Vollsensibilität konnte gegenüber Vancomycin ( $R=0\%$ ) und annähernd für Minocyclin ( $R=0,005\%$ ) beobachtet werden. Einzig Mezlocillin ( $R=14\%$ ) war bei der Resistenzhäufigkeit der Penicillingruppe insgesamt unter 20%. Die beste Cephalosporinwirksamkeit konnte bei Cefazolin mit einer  $R = 5\%$  und bei Ceftazidime ( $R = 20$ ) die schlechteste Cephalosporinwirksamkeit gemessen werden. Die Gruppe der Makrolide war nur bei knapp 55% der CNS wirksam und liegt bei Azithromycin bei  $R = 44\%$  und Erythromycin bei  $R = 45\%$ . Die Analyse der

Fluoroquinolonwirksamkeit zeigt, dass mit Ciprofloxacin (R=3%), Ofloxacin (R=25%) und Norfloxacin (R=24%) drei Antibiotika über R = 20% liegen. Das FQ der dritten Generation Levofloxacin (R=12%) war im Vergleich statistisch signifikant ( $P < 0,001$ ) besser wirksam. Gatifloxacin mit R=2% und Moxifloxacin mit R = 1% waren die statistisch am besten wirksamen Fluoroquinolone.

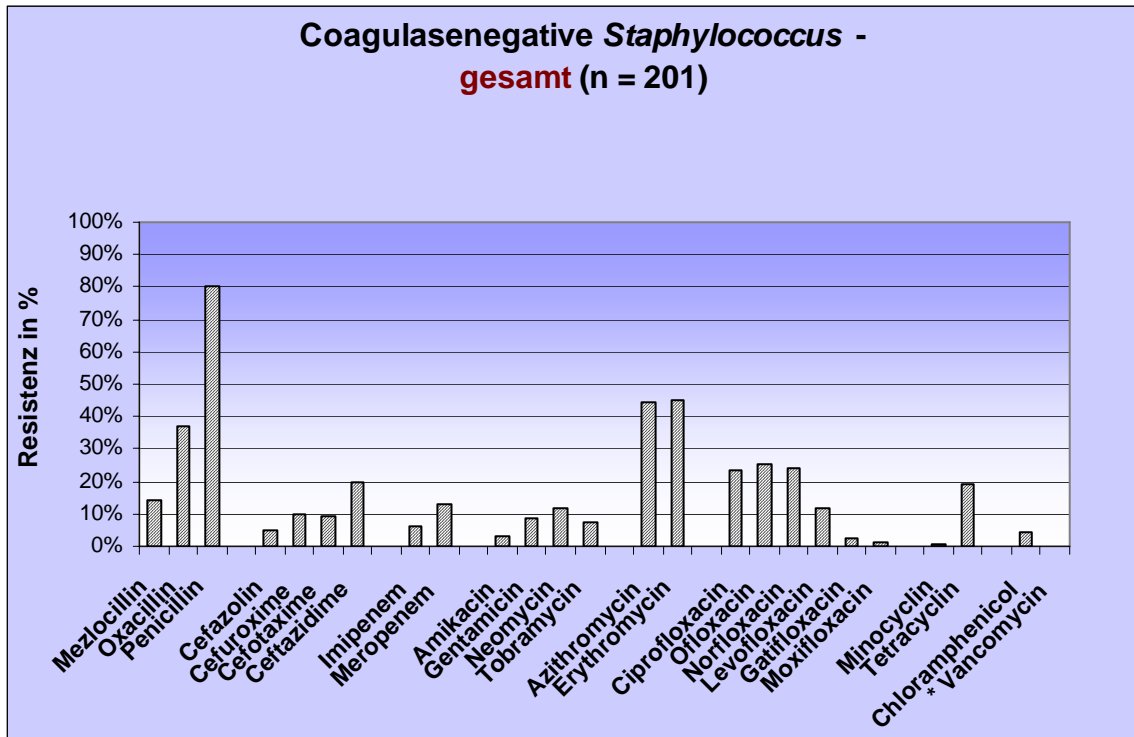


Abb. 16: Resistenzhäufigkeit aller Coagulasenegativer Staphylokokken (n = 201); das mit \* gekennzeichnete Vancomycin zeigte keine Resistenz.

Die Analyse bei Aufteilung des CNS Gesamtkollektivs erbrachte einen genaueren Aufschluss über die oben erwähnten Ergebnisse. Die gute Antibiotikaempfindlichkeit in der Gruppe der empfindlichen CNS zeigte sich in der Regel relativ breit, so dass bei 13 von 15 Antibiotikatestungen keine resistenten Bakterien untersucht werden konnten (Tab. 9/Abb. 17). Das Antibiotikum mit der schlechtesten Wirksamkeit war hier mit R=70% Penicillin.

Gegensätzlich erwiesen sich die Antibiotikaergebnisse aller unbehandelten und behandelten multiresistenten CNS (Tab. 9/Abb. 18). Ausschließlich Vancomycin konnte ohne Resistenz dokumentiert werden. Alle anderen Antibiotikagruppen zeigten im Vergleich zu den Analysen der empfindlichen CNS Stämme hier die höchsten Resistenzhäufigkeiten (R). Die

Penicillingruppe hat dabei mit Oxacillin (R=89%) und Penicillin (R=99%) die höchsten Resistenzen zu verzeichnen. Bei den Cephalosporinen wurde nur bei Ceftazidime (R=54%) ähnlich hohe R beobachtet. Die Resistenzhäufigkeit der anderen Cephalosporine war bei Cefuroxime mit R=29%, bei Cefotaxime mit R=27%, und bei Cefazolin mit R=14% auch erhöht, jedoch im Vergleich niedriger. Die Carbapeneme wiesen für Imipenem ein R=19% und für Meropenem ein R=37% auf. Bei den Aminoglykosiden befindet sich nur Amikacin mit einem R=9% unter der 20% Grenze. Der Rest der Aminoglykoside erreichte ein R von größer/gleich 20%. Die Makrolide waren in fast 80% der Fälle für sowohl Azithromycin (R=79%), als auch Erythromycin (R=79%) unwirksam.

Die Ergebnisse der FQ sind bei den unbehandelten multiresistenten CNS generationenabhängig. Ciprofloxacin (R=67%), Norfloxacin (R=69%) und Ofloxacin (73%) wurden hier als die am schlechtesten wirksamen Fluoroquinolone aufgezeigt. Levofloxacin wurde mit R=34% im Vergleich zu Ciprofolxacin, Norfloxacin und Ofloxacin statistisch signifikant ( $P < 0,001$  im Chiquadrat Test)) besser notiert. Die FQ der vierten Generation, Gatifloxacin mit R=7% und Moxifloxacin mit R=4% waren darüber hinaus signifikant wirksamer als Levofloxacin.



Coagulasenegative <i>Staphylococcus</i> CNS	Empfindlich Resistenzhäufigkeit (n = 131)		Multiresistent Resistenzhäufigkeit (n = 70)		Gesamt Resistenzhäufigkeit (n = 201)	
	N	%	N	%	N	%
<b>Antibiotische Gruppen</b>						
<b>Penicilline</b>						
Mezlocillin	8	6%	21	30%	29	14%
Oxacillin	13	10%	62	89%	75	37%
Penicillin	92	70%	69	99%	161	80%
<b>Cephalosporine</b>						
Cefazolin	0	0%	10	14%	10	5%
Cefuroxime	0	0%	20	29%	20	10%
Cefotaxime	0	0%	19	27%	19	9%
Ceftazidime	2	2%	38	54%	40	20%
<b>Carbapeneme</b>						
Imipenem	0	0%	13	19%	13	6%
Meropenem	0	0%	26	37%	26	13%
<b>Aminoglykoside</b>						
Amikacin	0	0%	6	9%	6	3%
Gentamycin	1	1%	16	23%	17	8%
Neomycin	6	5%	18	26%	24	12%
Tobramycin	1	1%	14	20%	15	7%
<b>Makrolide</b>						
Azithromycin	34	26%	55	79%	89	44%
Erythromycin	35	27%	55	79%	90	45%
<b>Fluoroquinolone</b>						
Ciprofloxacin	0	0%	47	67%*	47	23%*
Ofloxacin	0	0%	51	73%*	51	25%*
Norfloxacin	1	1%	48	69%*	49	24%*
Levofloxacin	0	0%	24	34%*	24	12%*
Gatifloxacin	0	0%	5	7%*	5	2%*
Moxifloxacin	0	0%	3	4%*	3	1%*
<b>Tetracycline</b>						
Minocyclin	0	0%	1	1%	1	0%
Tetracyclin	19	15%	19	27%	38	19%
<b>Sonstige</b>						
Chloramphenicol	6	5%	3	4%	9	4%
Vancomycin	0	0%	0	0%	0	0%

Tab. 9: Resistenzhäufigkeit von coagulasenegativen *Staphylococcus* (n=201), aufgeteilt in empfindliche (n=131) und multiresistente CNS (n=70). \* Statistisch signifikanter Unterschied ( $P<0,001$ ) im Chiquadrat Test.

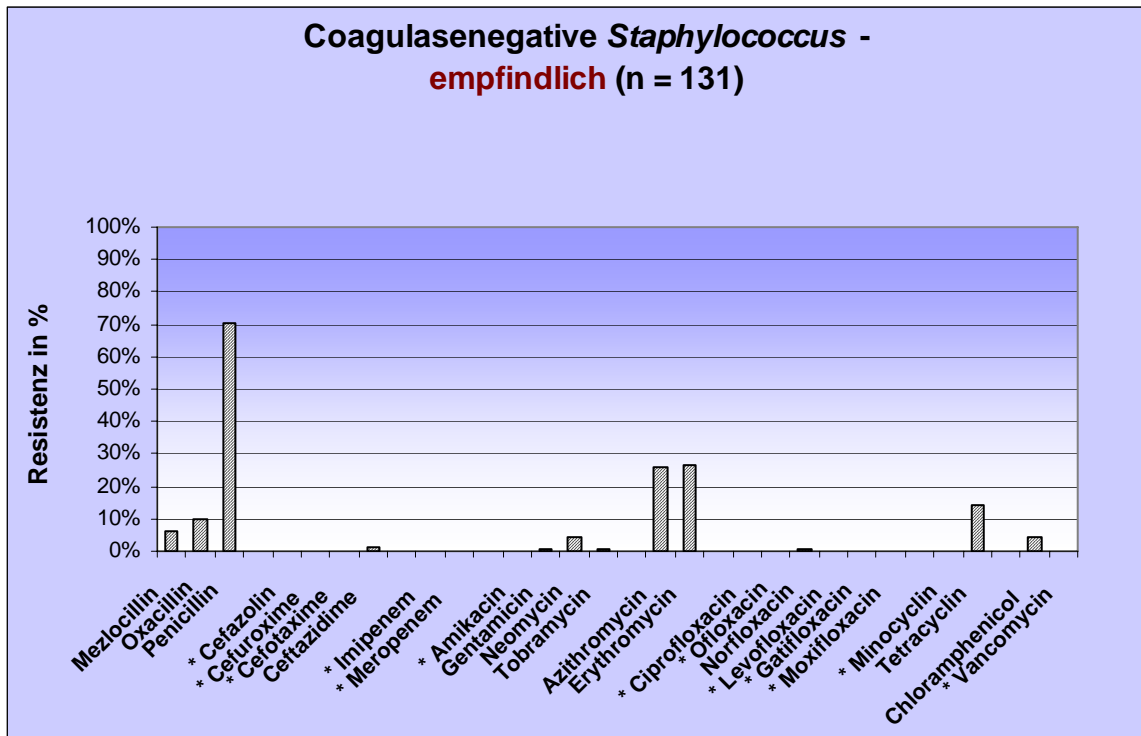


Abb. 17: Antibiotikaempfindliche coagulasenegative Staphylokokken (n=131); die mit \* gekennzeichneten Antibiotika zeigten keine Resistenz.

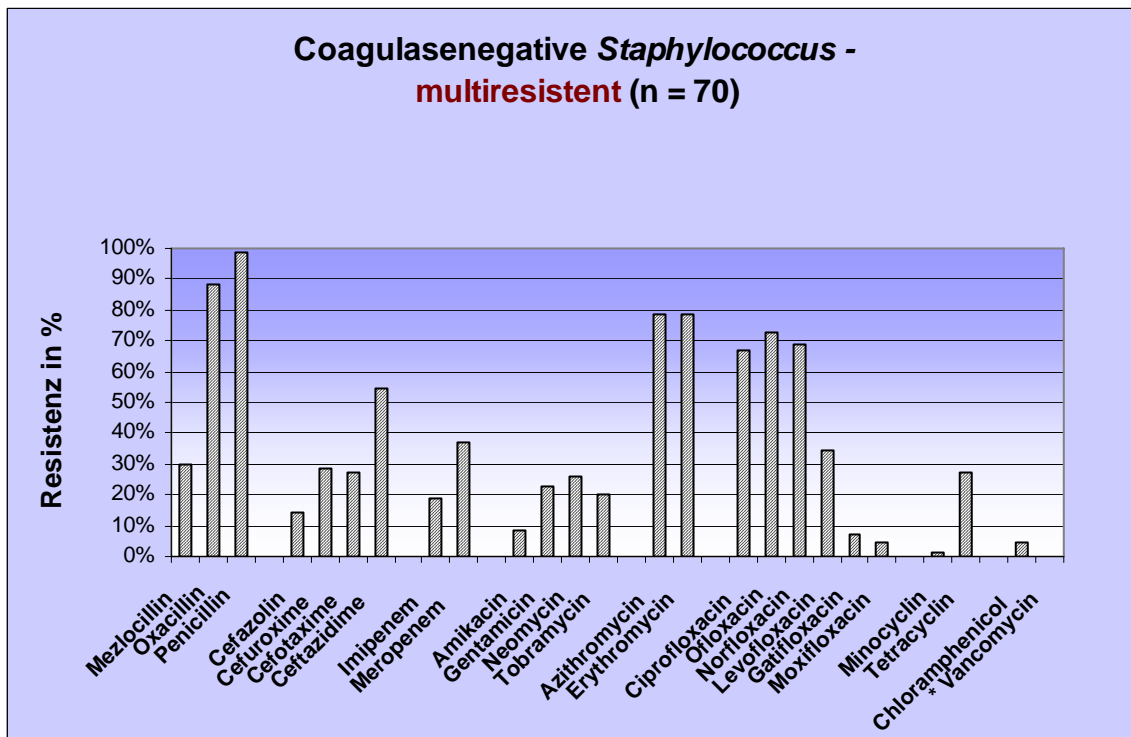


Abb. 18: Resistenzhäufigkeit der unbehandelten multiresistenten coagulasenegativen *Staphylococcus* (n=70); das mit \* gekennzeichnete Vancomycin wies keine Resistenz auf.

### 3.3.1.1 Unbehandelte coagulase negative *Staphylococcus*

Die unbehandelten CNS (n=124) bestehen aus n=81 empfindlichen und n=43 multiresistenten Keimen (Tab. 10/Abb. 19). Im Vergleich zu den Resistenzhäufigkeiten des CNS Gesamtkollektivs weichen die einzelnen R in maximal zwei Fällen (+ 4% bei Mezlocillin, Tetracyclin) ab. Die restlichen Auswertungen entsprechen den Ergebnissen von Punkt 3.3.1. In der Gruppe der unbehandelten empfindlichen CNS (n=81) konnte bei 16 von 25 getesteten Antibiotika Vollsensibilität dokumentiert werden (Abb. 20). Dies trifft vor allem auf die komplette Antibiotikagruppe der FQ zu. Eine ähnlich sehr gute Wirksamkeit wiesen die Cephalosporine und Aminoglykoside auf. Des weiteren wurden bei Minocyclin und Vancomycin keine Resistenzen beobachtet.

Eine hohe Resistenzhäufigkeit wurde bei den unbehandelten multiresistenten CNS (n=43) beobachtet (Tabelle 10/Abb. 21). Diese entspricht im Wesentlichen den Resistenzhäufigkeiten aller multiresistenten CNS. Dabei wurde die höchste Abweichung der Resistenzergebnisse bei Meropenem mit 4% gemessen (R multiresistent gesamt= 7% gegenüber R multiresistent unbehandelt =33%).

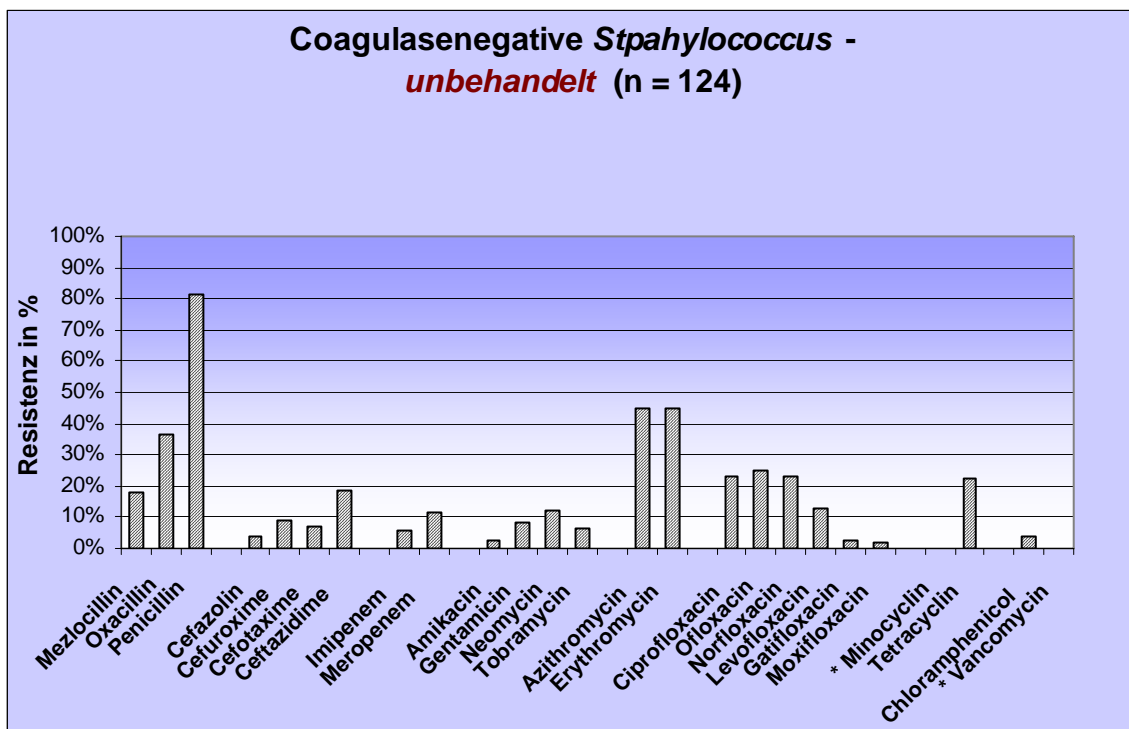


Abb. 19: Resistenzhäufigkeit aller unbehandelten coagulase negativer *Staphylococcus* (n=124); die mit \* gekennzeichneten Antibiotika (Minocyclin und Vancomycin) zeigten keine Resistenz.

Unbehandelte Coagulasenegative <i>Staphylococcus</i>	Empfindlich Resistenzhäufigkeit (n = 81)		Multiresistent Resistenzhäufigkeit (n = 43)		Gesamt Resistenzhäufigkeit (n = 124)	
	N	%	N	%	N	%
<b>Antibiotische Gruppen</b>						
<b>Penicilline</b>						
Mezlocillin	7	9%	15	35%	22	18%
Oxacillin	8	10%	37	86%	45	36%
Penicillin	59	73%	42	98%	101	81%
<b>Cephalosporine</b>						
Cefazolin	0	0%	5	12%	5	4%
Cefuroxime	0	0%	11	26%	11	9%
Cefotaxime	0	0%	9	21%	9	7%
Ceftazidime	1	1%	22	51%	23	19%
<b>Carbapeneme</b>						
Imipenem	0	0%	7	16%	7	6%
Meropenem	0	0%	14	33%	14	11%
<b>Aminoglykoside</b>						
Amikacin	0	0%	3	7%	3	2%
Gentamycin	0	0%	10	23%	10	8%
Neomycin	4	5%	11	26%	15	12%
Tobramycin	0	0%	8	19%	8	6%
<b>Makrolide</b>						
Azithromycin	21	26%	35	81%	56	45%
Erythromycin	21	26%	35	81%	56	45%
<b>Fluoroquinolone</b>						
Ciprofloxacin	0	0%	29	67%*	29	23%*
Ofloxacin	0	0%	31	72%*	31	25%*
Norfloxacin	0	0%	29	67%*	29	23%*
Levofloxacin	0	0%	16	37%*	16	13%*
Gatifloxacin	0	0%	3	7%*	3	2%*
Moxifloxacin	0	0%	2	5%*	2	2%*
<b>Tetracycline</b>						
Minocyclin	0	0%	0	0%	0	0%
Tetracyclin	17	21%	11	26%	28	23%
<b>Sonstige</b>						
Chloramphenicol	3	4%	2	5%	5	4%
Vancomycin	0	0%	0	0%	0	0%

Tab. 10. Resistenzhäufigkeit von unbehandelten cogulasenegativen *Staphylococcus* (n=201) aufgeteilt in nichtmultiresistente (n= 81) und multiresistente (n=43) CNS.

\* Statistisch signifikanter Unterschied ( $P < 0,001$ ) im Chiquadrat Test.

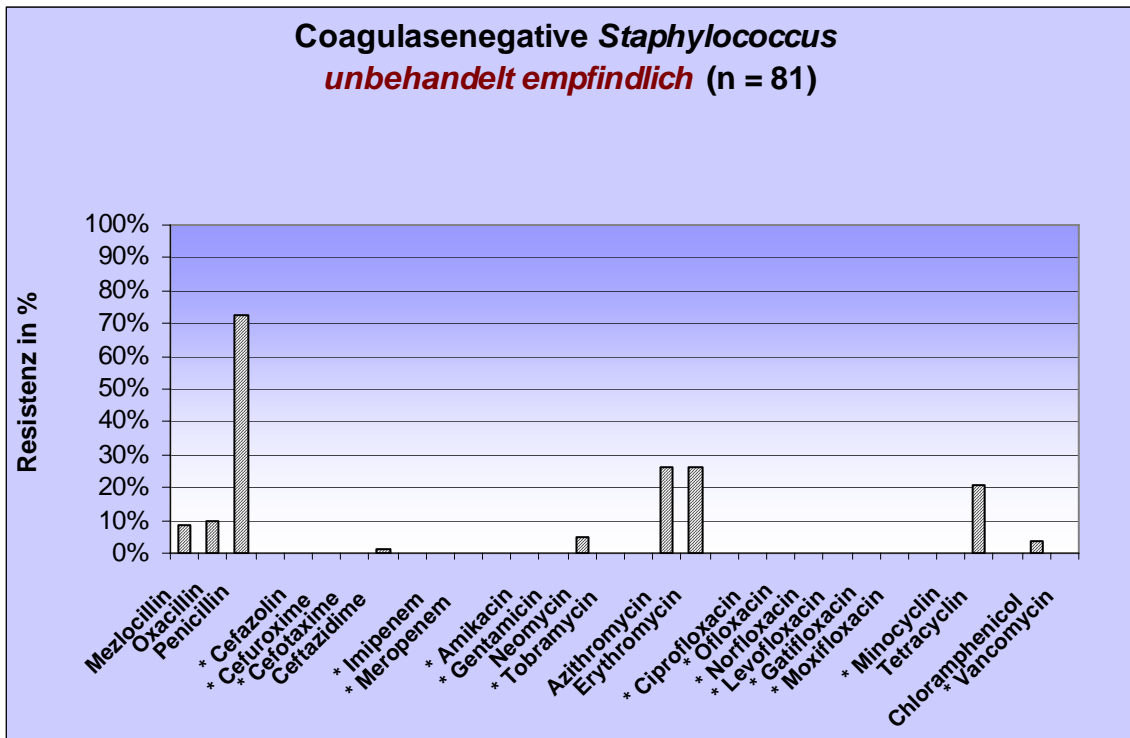


Abb. 20: Resistenzhäufigkeit der unbehandelten nichtmultiresistenten coagulasenegativen *Staphylococcus* (n=81); die mit \* gekennzeichneten Antibiotika zeigten keine Resistenz.

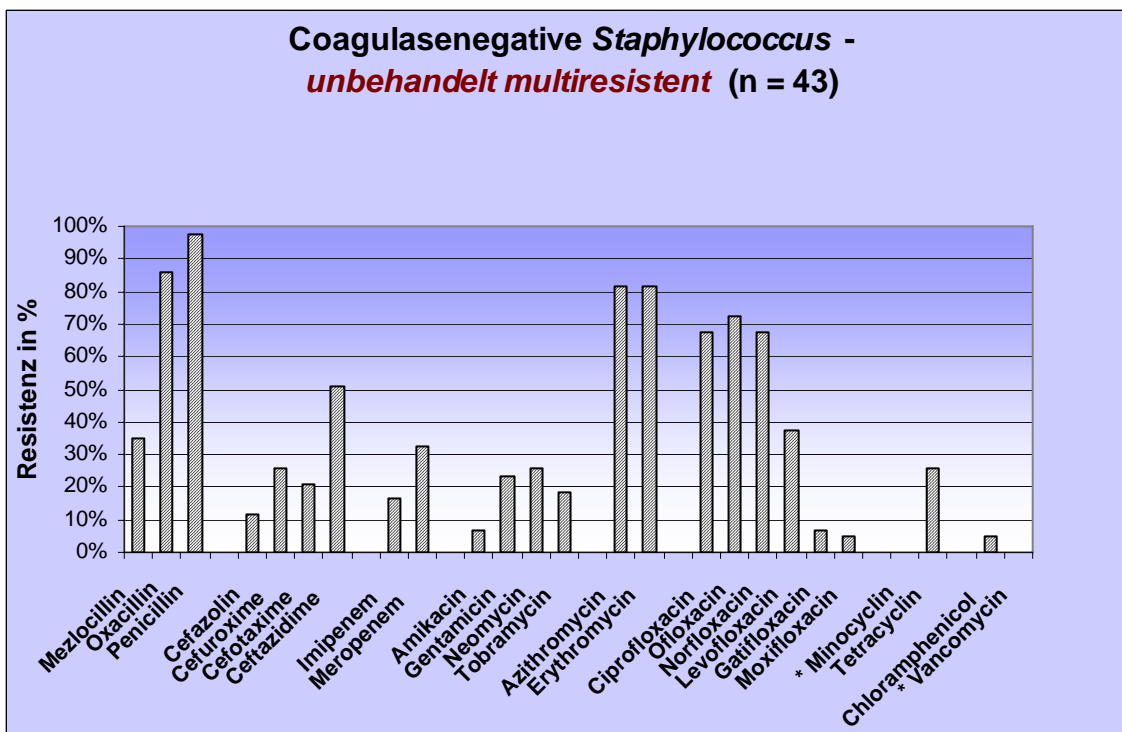


Abb. 21: Resistenzhäufigkeit der unbehandelten multiresistenten coagulasenegativen *Staphylococcus* (n=43); die mit \* gekennzeichneten Minocyclin und Vancomycin zeigten keine Resistenz.

### 3.3.1.2 Behandelte coagulasenegative *Staphylococcus*

Die behandelten CNS (n=77) bestanden aus n=50 empfindlichen und n=27 multiresistenten Keimen (Tab. 11/Abb. 22). Im Vergleich zu dem Gesamtkollektiv der CNS betrug die maximale Abweichung der Resistenzhäufigkeiten hier bei Mezlocillin und Tetracyclin –5%. Bei 13 von 25 getesteten Antibiotika konnte bei den behandelten empfindlichen Bakterien (n=50) Vollsensibilität nachgewiesen werden (Abb. 23). Im Vergleich zu den unbehandelten empfindlichen CNS sind mehr Resistenzen gegenüber Gentamycin und Tobramycin erkennbar. Für die behandelten multiresistenten CNS (n=27) konnte nur eine Antibiotikavollsensibilität gegenüber Vancomycin beobachtet werden (Abb. 24). Alle Bakterien waren in Anwesenheit von Penicillin resistent (R=100). Bei den Empfindlichkeitstests mit den Fluoroquinolonen wurde der statistisch signifikante Unterschied zwischen einerseits Ciprofloxacin/Ofloxacin/Norfloxacin vs. Levofloxacin, und Levofloxacin vs. Gatifloxacin/ Moxifloxacin andererseits bestätigt (P<0,001 im Chiquadrat Test).

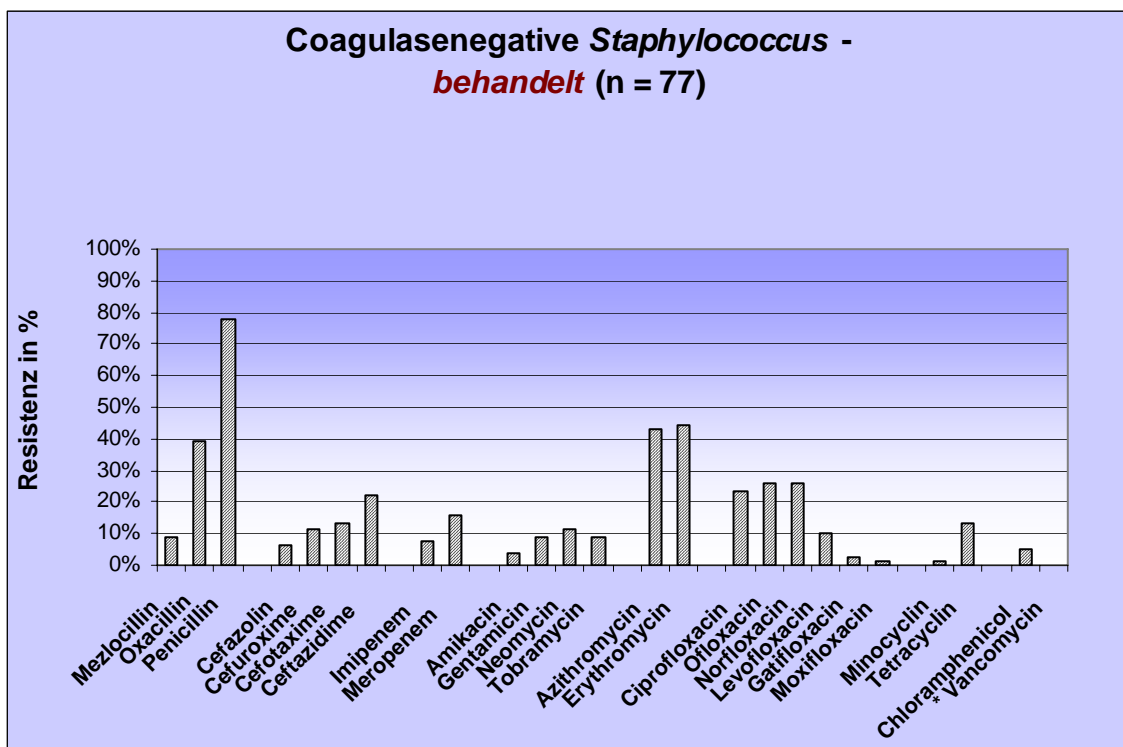


Abb. 22: Resistenzhäufigkeiten alle mit präoperativen Antiseptika behandelten coagulasenegativen *Staphylococcus* (n=77); das mit \* gekennzeichnete Vancomycin zeigte keine Resistenz.

Behandelte Coagulasenegative <i>Staphylococcus</i>	Empfindlich Resistenzhäufigkeit (n = 50)		Multiresistent Resistenzhäufigkeit (n = 27)		Gesamt Resistenzhäufigkeit (n = 77)	
	N	%	N	%	N	%
<b>Antibiotische Gruppen</b>						
<b>Penicilline</b>						
Mezlocillin	1	2%	6	22%	7	9%
Oxacillin	5	10%	25	93%	30	39%
Penicillin	33	66%	27	100%	60	78%
<b>Cephalosporine</b>						
Cefazolin	0	0%	5	19%	5	6%
Cefuroxime	0	0%	9	33%	9	12%
Cefotaxime	0	0%	10	37%	10	13%
Ceftazidime	1	2%	16	59%	17	22%
<b>Carbapeneme</b>						
Imipenem	0	0%	6	22%	6	8%
Meropenem	0	0%	12	44%	12	16%
<b>Aminoglykoside</b>						
Amikacin	0	0%	3	11%	3	4%
Gentamycin	1	2%	6	22%	7	9%
Neomycin	2	4%	7	26%	9	12%
Tobramycin	1	2%	6	22%	7	9%
<b>Makrolide</b>						
Azithromycin	13	26%	20	74%	33	43%
Erythromycin	14	28%	20	74%	34	44%
<b>Fluoroquinolone</b>						
Ciprofloxacin	0	0%	18	67%*	18	23%*
Ofloxacin	0	0%	20	74%*	20	26%*
Norfloxacin	1	2%	19	70%*	20	26%*
Levofloxacin	0	0%	8	30%*	8	10%*
Gatifloxacin	0	0%	2	7%*	2	3%*
Moxifloxacin	0	0%	1	4%*	1	1%*
<b>Tetracycline</b>						
Minocyclin	0	0%	1	4%	1	1%
Tetracyclin	2	4%	8	30%	10	13%
<b>Sonstige</b>						
Chloramphenicol	3	6%	1	4%	4	5%
Vancomycin	0	0%	0	0%	0	0%

Tab. 11. Resistenzhäufigkeit von behandelten coagulasenegativen *Staphylococcus* (n=77) aufgeteilt in empfindliche (n=50) und multiresistente (n=27) CNS.

\* Statistisch signifikanter Unterschied ( $P < 0,001$ ) im Chi-Quadrat Test.

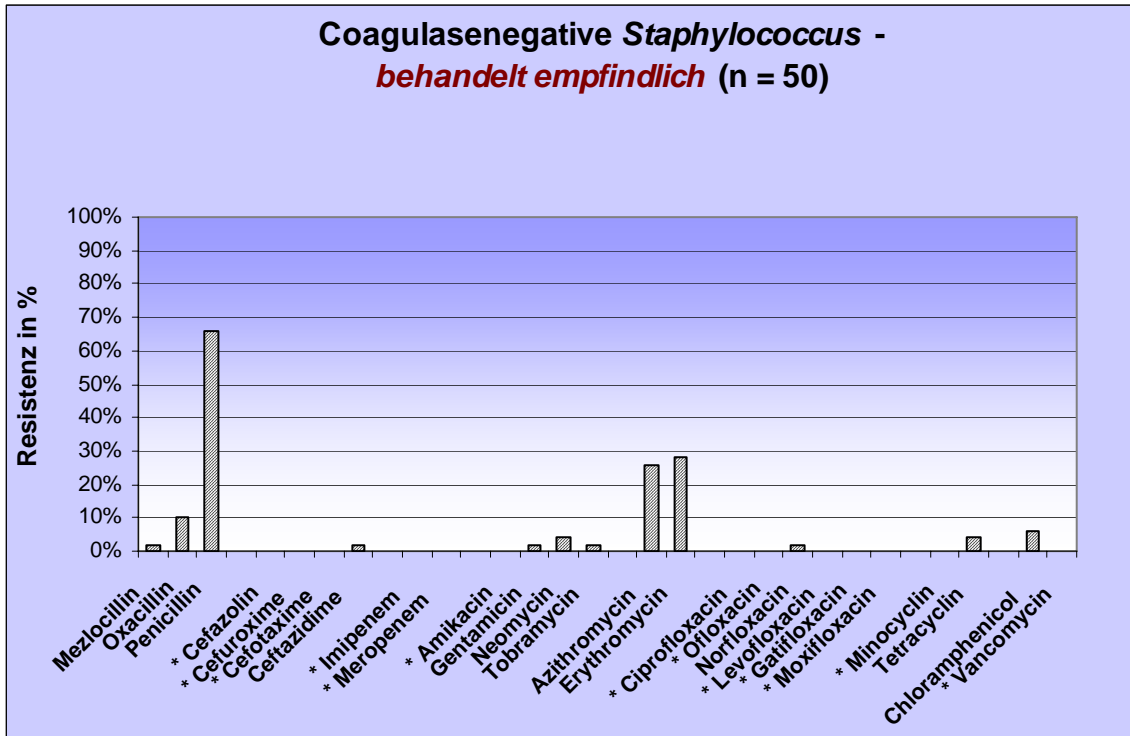


Abb. 23: Resistenzhäufigkeit der behandelten empfindlichen coagulase negativen *Staphylococcus* (n=50); die mit \* gekennzeichneten Antibiotika zeigten keine Resistenz.

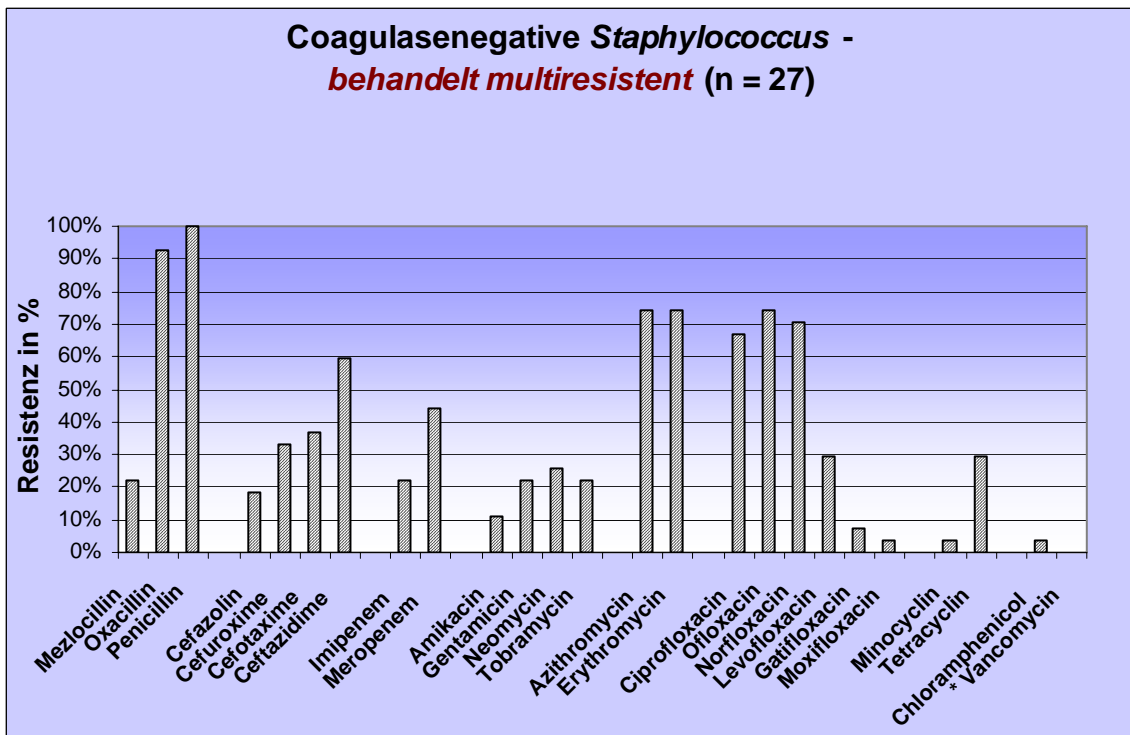


Abb. 24. Resistenzhäufigkeit der behandelten multiresistenten coagulase negativen *Staphylococcus* (n=27); das mit \* gekennzeichneten Vancomycin zeigte keine Resistenz



### 3.3.2 *Staphylococcus aureus*

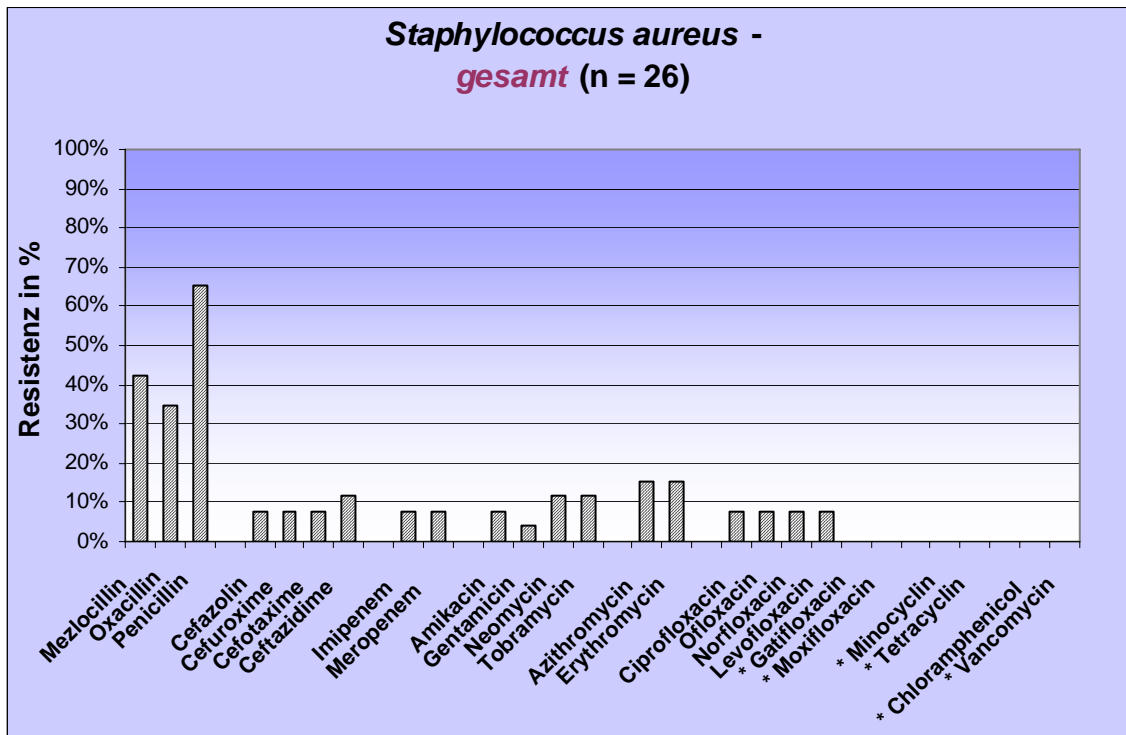


Abb. 25: Resistenzhäufigkeit des Gesamtkollektivs (unbehandelt/behandelt) der *Staphylococcus aureus* (n=26); die mit \* gekennzeichneten Antibiotika zeigten keine Resistenz.

Die *Staphylococcus aureus* (n=26) wurden in 19 Fällen von der unbehandelten Konjunktiva gewonnen. Drei von 26 Bakterien wurden als multiresistent getestet. Insgesamt war die höchste Resistenzhäufigkeit der Bakterien in 65% der Fälle gegenüber Penicillin (Tab.12/Abb. 25). Keine Resistenzen wurden gegenüber Minocyclin, Tetracyclin, Chloramphenicol und Vancomycin beobachtet. Vollsensibilität konnte zusätzlich für die FQ, Gatifloxacin und Moxifloxacin nachgewiesen werden.

Resistenzhäufigkeit *UBH & BH	Staphylococcus aureus (n = 26)		Streptococcus der Gruppe D (n = 15)		Gramnegative Stäbchen (n = 14)	
	N	%	N	%	N	%
<b>Antibiotische Gruppen</b>						
<b>Penicilline</b>						
Mezlocillin	11	42%	1	7%	3	21%
Oxacillin	9	35%	15	100%	14	100%
Penicillin	17	65%	15	100%	14	100%
<b>Cephalosporine</b>						
Cefazolin	2	8%	14	93%	8	57%
Cefuroxime	2	8%	11	73%	5	36%
Cefotaxime	2	8%	11	73%	3	21%
Ceftazidime	3	12%	15	100%	1	7%
<b>Carbapeneme</b>						
Imipenem	2	8%	0	0%	1	7%
Meropenem	2	8%	11	73%	1	7%
<b>Aminoglykoside</b>						
Amikacin	2	8%	13	87%	1	7%
Gentamycin	1	4%	13	87%	2	14%
Neomycin	3	12%	15	100%	6	43%
Tobramycin	3	12%	14	93%	2	14%
<b>Makrolide</b>						
Azithromycin	4	15%	14	93%	7	50%
Erythromycin	4	15%	11	73%	14	100%
<b>Fluoroquinolone</b>						
Ciprofloxacin	2	8%	5	33%	0	0%
Ofloxacin	2	8%	12	80%	0	0%
Norfloxacin	2	8%	3	20%	0	0%
Levofloxacin	2	8%	0	0%	0	0%
Gatifloxacin	0	0%	0	0%	0	0%
Moxifloxacin	0	0%	0	0%	0	0%
<b>Tetracycline</b>						
Minocyclin	0	0%	12	80%	4	29%
Tetracyclin	0	0%	14	93%	7	50%
<b>Sonstige</b>						
Chloramphenicol	0	0%	7	47%	7	50%
Vancomycin	0	0%	0	0%	14	100%

Tab. 12: Resistenzhäufigkeit von *Staphylococcus aureus* (n=26), *Streptococcus* der Gruppe D (n=15) und gramnegative Stäbchen (n=14) ohne Unterscheidung in eine unbehandelte bzw. eine behandelte Gruppe.

\* UBH=unbehandelt/BH=behandelt

### 3.3.3 *Streptococcus* der Gruppe D

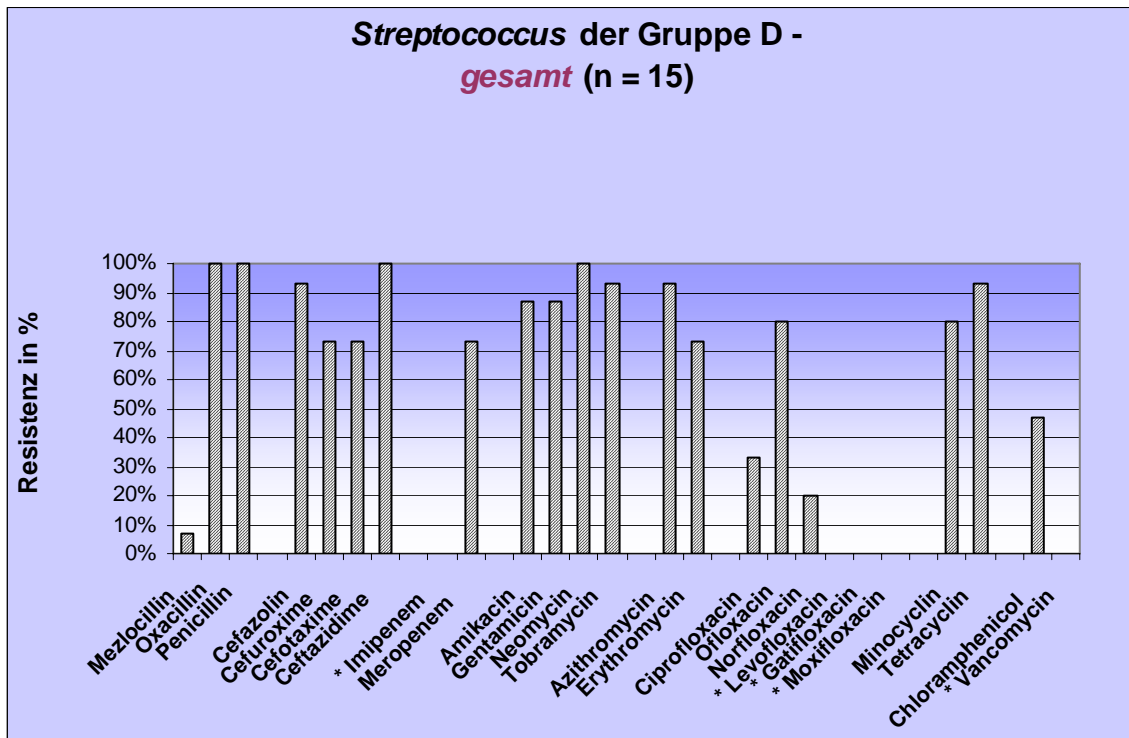


Abb. 26: Resistenzhäufigkeit des Gesamtkollektivs (unbehandelt/behandelt) der *Streptococcus* der Gruppe D (n=15); die mit \* gekennzeichneten Antibiotika (Imipenem, Levofloxacin, Gatifloxacin, Moxifloxacin und Vancomycin) zeigten keine Resistenz.

Die *Streptococcus* der Gruppe D (n=15) konnten von acht unbehandelten und sieben behandelten Konjunktiven gewonnen werden. Die Resistenzhäufigkeiten beider Teilgruppen war wie in Tab. 12 und Abb. 26 zu sehen sehr hoch. Alle Bakterien waren gegenüber Oxacillin, Penicillin, Cefazidime und Neomycin resistent (R=100%). Eine Resistenzhäufigkeit von unter 70% konnte sowohl bei den Cephalosporinen, bei den Aminoglykosiden, als auch bei den Makroliden beobachtet werden. Bei den Fluoroquinolonen betrug Sie für Ciprofloxacin R=33%, für Ofloxacin R=80% und für Norfloxacin R=20%. Im Gegensatz dazu konnten keine Resistenzen bei Levofloxacin, Gatifloxacin, Moxifloxacin, als auch bei Imipenem und Vancomycin ausgewertet werden.

### 3.3.4 Gramnegative Stäbchen

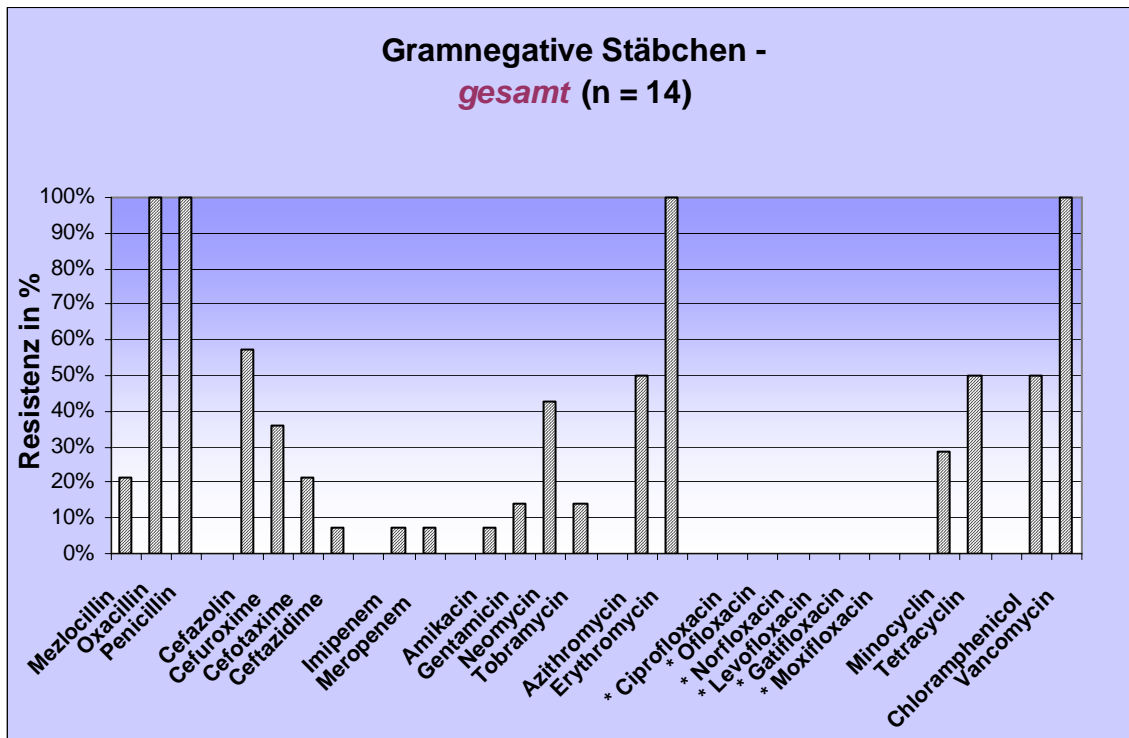


Abb. 27: Resistenzhäufigkeit des Gesamtkollektivs (unbehandelt/behandelt) der Gramnegativen Stäbchen (n=14); die mit \* gekennzeichneten Fluoroquinolone zeigten keine Resistenz.

Elf der 14 gramnegativen Stäbchen konnten von der unbehandelten Normalflora gewonnen werden. Dabei waren zwölf der 14 multiresistent (Tab. 15/Abb. 27). Bei keinem der Bakterien wurde Empfindlichkeit gegenüber Oxacillin, Penicillin, Erythromycin bzw. Vancomycin (alle R=100%) nachgewiesen. Dagegen konnte keine Resistenz gegenüber den Fluoroquinolonon aufzeigt werden.

## **4. Diskussion**

### **4.1 Bakterien der Konjunktiva**

Im Frühjahr 2003 wurde in den USA eine neue Generation von Fluoroquinolonen bei Indikation bakterielle Konjunktivitis als Augentropfen eingeführt. Die Frage stellt sich, ob dies einen bedeutenden Fortschritt zu den bestehenden älteren Gyrasehemmern darstellt? In der vorliegenden Arbeit wurde die antibiotische *In-vitro*-Empfindlichkeit von prä- und perioperativ gewonnenen Keimen mit unterschiedlichster Resistenzlage überprüft.

Das Hauptaugenmerk lag dabei bei dem Vergleich der Wirksamkeit der neuen Fluoroquinolone zu den sonst in der Augenheilkunde verwendeten antibiotischen Medikamenten.

Grundsätzlich geht man sowohl bei der Verhinderung (Prophylaxe), als auch bei der Therapie von Augeninfektionen davon aus, dass eine Reduzierung der Bakterienanzahl des Auges zu einer besseren Heilung verhilft.<sup>64</sup> Seit Einführung der Antibiotika hat unter Annahme dieser Theorie viel erfolgreiche Arbeit zu immer besser erforschten Antiinfektiva und somit zu immer kleiner werdenden Infektionsraten stattgefunden. Wichtig erscheint in der Forschungsarbeit dabei, dass man möglichst originäre (konjunktivale Normalflora) und aktuelle Bakterien verwenden kann, um so eine Annäherung über den momentanen Resistenzstatus der Normalflora bei den Patienten auszunützen.<sup>64</sup>

Die in dieser Arbeit getesteten Bakterien stammen von zwei Vorläuferstudien, welche Prophylaxe-Verfahren im Zuge von Vorderkammeroperationen untersucht haben.<sup>68,69</sup> Sie beinhalten somit mindestens zwei Charakteristika: Erstens sind alle Bakterien originär von der konjunktivalen Normalflora, zweitens ist fast die Hälfte der Bakterien so widerstandsfähig, dass sie ein standardisiertes und klinisch etabliertes Antisepsis Verfahren zum Zeitpunkt unserer Tests bereits überstanden hatten.

<b>Bakterielle konjunktivale Normalflora</b> <b>- Vergleich mit Literatur</b>		
<i>Bakterien</i>	<i>Fahmy, Boes, Starr</i>	<i>Koss</i>
Coagulasenegative <i>Staphylococcus</i>	58 - 95%	78%
<i>Staphylococcus aureus</i>	7-14,8%	10%
<i>Streptococcus spp.</i> (alpha-hämolisierend, Gruppe D <i>Streptokokken</i> )	1 – 4,4%	6%
Gramnegative Stäbchen ( <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Bacillus spp.</i> , etc.)	4 – 7,8%	6%
Anaerobier ( <i>Clostridium spp.</i> , <i>Corynebacterium spp.</i> )	2 - 44,0%	0%
Sonstige (Kombinationen aus grampositiven-, gramnegativen Bakterien und Anaerobiern)	0 - 3%	0%

Tab. 13: Vergleich der Verteilung der bakteriellen Normalflora anhand von Bindehautabstrichen mit Literaturangaben<sup>7,23,66</sup>

Die Verteilung der von uns untersuchten Bakterien entspricht der in der Literatur<sup>7,23,66</sup> beschriebenen Normalverteilung (Tab. 13). Die Revitalisierung der Isolate ergab zum Teil das Wachstum von zwei verschiedene Bakterienstämmen auf einer Agarplatte (sog. „Doppelhalos“). In diesem Falle erfolgte nochmals eine Isolierung, bis jeweils eine eindeutige Resistenztestung für nur einen Stamm erreicht wurde.

Es konnte aufgrund der hohen Bakterienanzahl  $n$  ist bei den coagulasenengativen *Staphylococcus* (CNS) eine Unterteilung in empfindliche und multiresistente CNS getroffen werden. Dies erlaubte in der empfindlichen Gruppe eine Bestätigung von anfangs bereits vermuteten hohen Resistenzniveaus gegenüber einzelnen Antibiotika (z.B. Erythromycin R = 27% bei den empfindlichen CNS, Tab. 9/Abb. 17.). Auf der anderen Seite konnte gezeigt werden, daß fast alle Antibiotika (Ausnahme Chloramphenicol) bei den multiresistenten CNS per se eine höhere Resistenzhäufigkeit hatten (z.B. Erythromycin R = 79%, Tab. 9/Abb. 18), als die der empfindlichen CNS. Es läßt sich insofern nach dem Selektionsprinzip<sup>17</sup> vermuten, daß zum Beispiel über einen genetischen Transfer Aminoglykosidresistenz mit Fluoroquinolonresistenz in einzelnen Keimen addiert wird und schliesslich der Keim prädominant werden kann (Resistenzakzeleration)<sup>70</sup>.

Alle Bakterienisolate wurden präoperativ als Bindehautabstrich gewonnen. In dieser Arbeit waren dabei die unbehandelten Bakterien jene, welche nativ ohne Antiseptika auf der

Oberfläche der Bindehaut präsent waren und a priori ein präoperatives Komplikationsrisiko darstellt. Es ist zu bedenken, dass die Oberfläche des Auges auch nach Prophylaxe prä-/ intraoperativ nicht gänzlich frei von Bakterien ist. Zum Zeitpunkt der Operation haben diese vitalen Bakterien je nach Prophylaxeschema also bereits einer Desinfektion standgehalten. Hier repräsentierten die vorbehandelten Bakterien solche Bakterien. Die Ergebnisse der Resistenzhäufigkeiten in beiden Gruppen für CNS (Tab. 14) zeigen insgesamt lediglich gegenüber drei Antibiotika (Mezlocillin, Cefotaxime und Tetracycline) eine relevante Abweichung voneinander um mehr als 5%. Das Prophylaxeschema, welches aus der Applikation von 0,3% Ofloxacin topisch über drei Tage gegenüber einer Stunde vor der Operation in Kombination mit einer präoperativen 5% Povidon- Iod (PVI) Behandlung bestand, führte nicht zu einer Resistenzentwicklung bei den verbliebenen perioperativen Bakterien.

Die Ausagekraft ist umstritten, inwiefern ein *In-vitro*-Test die *In-vivo*-Effektivität der Antibiotika widerspiegeln kann.<sup>53</sup> Die *In-vitro*-Empfindlichkeitstests (hier nach Kirby-Bauer) basieren auf den Serum-Konzentrationen des zu untersuchenden Medikaments. Die topische Applikation von Antibiotika kann dabei unter Umständen vielfach höhere Konzentrationen erreichen, als die Serumkonzentrationen nach systemischer Applikation (= Minimum Inhibitory K(C) Concentration / MIC). Es kann möglich sein, dass sich ein topisch appliziertes Antibiotikum in der klinischen Anwendung effektiv wirksam gegenüber denjenigen Bakterien zeigt, welche womöglich noch im *In-vitro*-Test resistent gegenüber diesem Antibiotikum war.<sup>5</sup>

Dieser Zusammenhang ist nicht zu vernachlässigen, da im Zuge der topischen Applikation die Antibiotika auch die Kornea penetrieren und so unter Umständen eine ähnliche Konzentration im Kammerwasser und im Serum erreichen können. So wird von Yamada et al. von höheren Konzentrationen sowohl im Kammerwasser, als auch im Serum nach topischer Applikation von Levofloxacin berichtet.<sup>73</sup> Zusätzlich wurden unter anderem für oral appliziertes Gatifloxacin und Moxifloxacin therapeutische Spiegel im Kammerwasser beschrieben.<sup>25</sup> Solange kein speziell für okuläre Applikationen entworfener Empfindlichkeitstest existiert, wird der *In-vitro*-Empfindlichkeitstest jedoch weiterhin zur Auswahl des am besten geeigneten Antibiotikums den Augenärzten eine essentielle Hilfe bleiben.

Coagulasenegative Staphylokokken CNS	Resistenzhäufigkeit der Unbehandelten (n = 124)		Resistenzhäufigkeit der Vorbehandelten (n = 77)		Resistenzhäufigkeit Gesamt (n = 201)	
	N	%	N	%	N	%
<b>Antibiotische Gruppen</b>						
<b>Penicilline</b>						
Mezlocillin*	22*	18%*	7*	9%*	29*	14%*
Oxacillin	45	36%	30	39%	75	37%
Penicillin	101	81%	60	78%	161	80%
<b>Cephalosporine</b>						
Cefazolin	5	4%	5	6%	10	5%
Cefuroxime	11	9%	9	12%	20	10%
Cefotaxime*	9*	7%*	10*	13%*	19*	9%*
Ceftazidime	23	19%	17	22%	40	20%
<b>Carbapeneme</b>						
Imipenem	7	6%	6	8%	13	6%
Meropenem	14	11%	12	16%	26	13%
<b>Aminoglykoside</b>						
Amikacin	3	2%	3	4%	6	3%
Gentamycin	10	8%	7	9%	17	8%
Neomycin	15	12%	9	12%	24	12%
Tobramycin	8	6%	7	9%	15	7%
<b>Makrolide</b>						
Azithromycin	56	45%	33	43%	89	44%
Erythromycin	56	45%	34	44%	90	45%
<b>Fluoroquinolone</b>						
Ciprofloxacin	29	23%**	18	23%**	47	23%**
Ofloxacin	31	25%**	20	26%**	51	25%**
Norfloxacin	29	23%**	20	26%**	49	24%**
Levofloxacin	16	13%**	8	10%**	24	12%**
Gatifloxacin	3	2%**	2	3%**	5	2%**
Moxifloxacin	2	2%**	1	1%**	3	1%**
<b>Tetracycline</b>						
Minocyclin	0	0%	1	1%	1	0%
Tetracyclin*	28*	23%*	10*	13%*	38*	19%*
<b>Sonstige</b>						
Chloramphenicol	5	4%	4	5%	9	4%
Vancomycin	0	0%	0	0%	0	0%

Tab. 14: Resistenzhäufigkeit von coagulasenegativen *Staphylococcus* (n=201) aufgeteilt in Unbehandelte (n=124) und Behandelte CNS. \* Bei Mezlocillin, Cefotaxime und Tetracycline weichen die jeweiligen Ergebnissen der Untergruppen (Unbehandelt / Behandelt) mehr als 5% voneinander ab. \*\* Statistisch signifikanter Unterschied ( $P < 0,001$ ) im Chiquadrat Test.



## 4.2 Wirksamkeit von Fluoroquinolonen und anderen Antibiotika

Die neuen Fluoroquinolone wurden vor allem für die Therapie bei systemischen Infektionen wie der Pneumonie eingeführt.<sup>35</sup> Es zeigte sich in präklinischen und klinischen Studien vor allem eine verbesserte breite Aktivität im Vergleich zu den älteren Fluoroquinolonen gegen grampositive Erreger (z.B. *Pneumokokken*, *Staphylococcus spp.*) als gegenüber den gramnegativen Erregern (*Pseudomonas aeruginosa*).<sup>48,49</sup> So stieg das wissenschaftliche Interesse auch für die die Anwendung in der Augenheilkunde.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen auf, dass Gatifloxacin und Moxifloxacin bei den Bakterien der getesteten okularen Normalflora die niedrigsten Resistenzhäufigkeiten gegenüber den älteren Fluoroquinolonen, als auch im Vergleich zu den meisten anderen in der Augenheilkunde verwendeten Antibiotika haben.

Bis zu ungefähr einer Million Bakterien sollen an den Augenlidern oder in größeren bakteriellen Infiltraten/Abszessen existieren.<sup>64</sup> Laut Statistik kann eines von zehn Millionen Bakterien über eine einzige Mutation resistent gegenüber den Fluoroquinolonen der zweiten Generation (Ciprofloxacin und Ofloxacin) werden. Um zusätzlich Resistenz gegenüber den Fluoroquinolonen der vierten Generation, Gatifloxacin und Moxifloxacin, zu erlangen, müsste eine weitere Mutation auf einem weiteren Gen vorhanden sein (sog. Zwei-Schritt-Resistenz). Die Wahrscheinlichkeit für diesen Fall liegt statistisch bei eins zu zehn Billionen Bakterien.<sup>15-17,48,49</sup>

In der vorliegenden Arbeit wird der beschriebene Wettbewerbsvorteil in der Wirksamkeit zwischen den älteren und den neueren Generationen der Fluoroquinolonen vor allem versus den multiresistenten CNS, und versus den multiresistenten Streptokokken der Gruppe D bestätigt. Die antibiotische Potenz der Fluoroquinolone der vierten Generation erweist sich dabei als sehr gut und hat zwischen den verschiedenen Fluoroquinolongenerationen untereinander bei einem  $P < 0,001$  einen statistisch signifikanten Unterschied (siehe Tab. 9/12/14/15).

Unsere Ergebnisse stimmen im Wesentlichen mit denen von Mather et al. überein, welcher retrospektiv an 93 bakteriellen Endophthalmitis isolaten die *In-vitro*-Wirksamkeit der verschiedenen Fluoroquinolongenerationen miteinander vergleicht.<sup>53</sup> Zusätzlich besteht eine Übereinstimmung mit den retrospektiv erhobenen *In-vitro*-Ergebnissen von Empfindlichkeitstests an 165 bakteriellen Keratitisisolaten von Kowalski et al..<sup>38</sup> In beiden Veröffentlichungen wird der statistisch signifikante ( $P < 0,05$ ) Wirksamkeitsvorteil der neueren im Vergleich zu den älteren Fluoroquinolonen gegenüber grampositiven

multiresistenten CNS bzw. *Staphylococcus aureus* beschrieben (Tab. 15). Im Unterschied zu den vorliegenden Ergebnissen gehen jedoch beide Studien dabei von Resistenzen bis zu 60% gegenüber Gatifloxacin bzw. Moxifloxacin bei den multiresistenten CNS und 50% gegenüber *Staphylococcus aureus* aus. Dagegen zeige sich vor allem gegenüber Ofloxacin eine 80% Resistenz der *Streptococcus* der Gruppe D, welche bei den beiden Vergleichsarbeiten deutlich niedriger resistent waren. Eine Ursache für die Diskrepanz einiger Ergebnisse liegt in dem Design beider Studien, da dieses die Empfindlichkeitstests von klinisch pathologischen Isolaten (Endophthalmitis, Keratitis) berücksichtigt und somit eine geringere Anzahl n von Antibiotikatests durchführen konnten (bei Mather et al. n = 93; bei Kowalski et al. n = 165; bei Koss n = 256). Deren Vergleichsanalyse bezieht sich des weiteren lediglich auf die Wirksamkeitsunterschiede zu den anderen Gyrasehemmern und nicht wie in der vorliegenden Arbeit auch zu anderen, in der Augenheilkunde verwendeten Antibiotikaklassen. In beiden Arbeiten konnte ein Bakterium so lediglich als „multiresistent“ klassifiziert werden, wenn es resistent gegen Ciprofloxacin und Ofloxacin war.

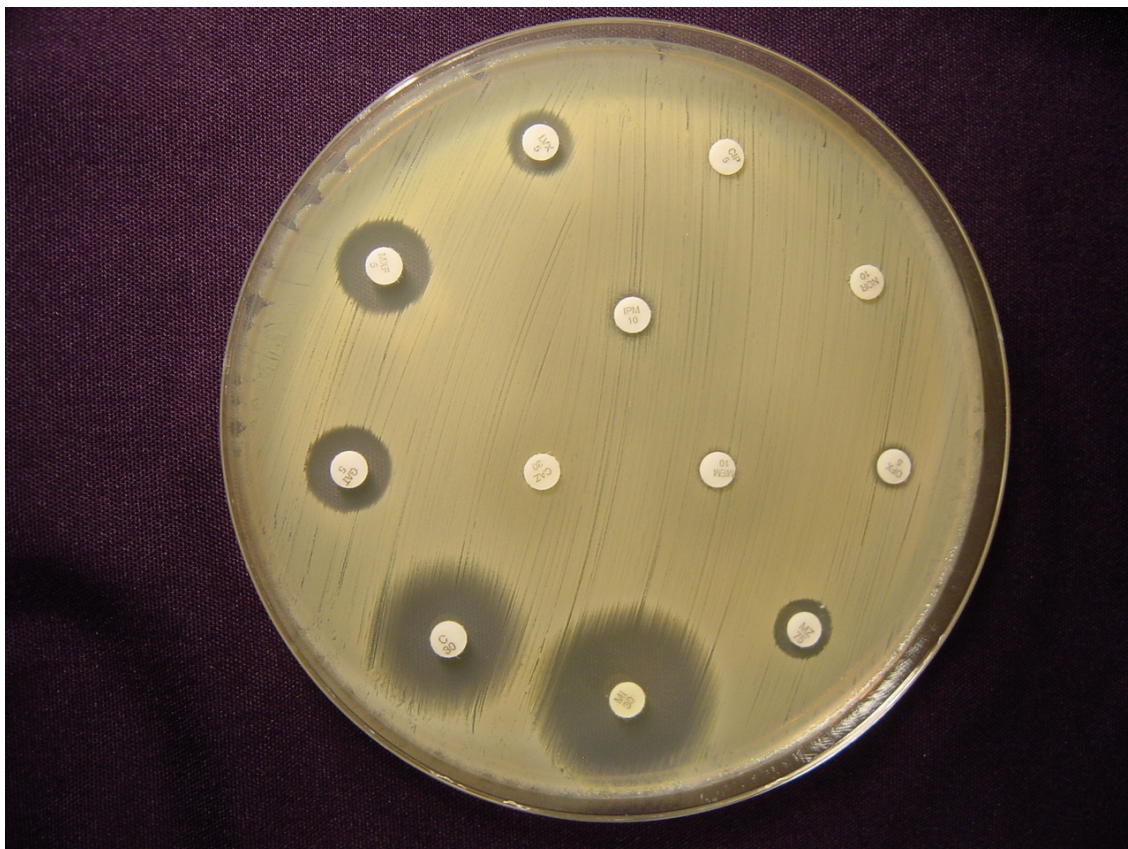


Abb. 28: Coagulasenegativer *Staphylococcus*; resistent gegenüber Ofloxacin, Norfloxacin, Ciprofloxacin und Levofloxacin, empfindlich gegenüber Gatifloxacin und Moxifloxacin

<b>Resistenzhäufigkeiten (R) gegenüber Fluoroquinolonen</b>							
<b>Mather et al.</b>	N	R CIP	R OFL	R NOR	R LEV	R GAT	R MOX
CNS sensibel	10	0%	0%	N/d	0%	0%	0%
CNS multiresistent	10	100%	100%	N/d	90%	40%	50%
Staph. aureus	14	57%	57%	N/d	57%	50%	7%
Strept. Gruppe D	34	18%	32%	N/d	3%	3%	3%
Gram neg. Stäbchen.	25	0%	0%	N/d	0%	0%	0%
<b>Kowalski et al.</b>							
CNS sensibel	10	0%	0%	N/d	0%	0%	0%
CNS multiresistent	10	100%	100%	N/d	90%	60%	50%
Staph. aureus	50	57%	57%	N/d	57%	50%	7%
Strept. Gruppe D	40	37.5%	27.5%	N/d	2,5%	0%	0%
Gram neg. Stäbchen.	55	0%	0%	N/d	0%	0%	0%
<b>Koss</b>							
CNS sensibel	131	0%	0%	1%	0%	0%	0%
CNS multiresistent	70	67%	73%	69%	34%	7%	4%
Staph. aureus	26	8%	8%	8%	8%	0%	0%
Strept. Gruppe D	15	33%	80%	20%	0%	0%	0%
Gram neg. Stäbchen.	14	0%	0%	0%	0%	0%	0%

Tab. 15: Vergleich der Resistenzhäufigkeiten (R) gegenüber Fluoroquinolonen bei Endophthalmitis isolaten nach Mather/gegenüber bakteriellen Keratitis isolaten nach Kowalski. Bei beiden Studien war Multiresistenz (CNS) definiert, wenn Bakterium resistent gegen Ciprofloxacin und Ofloxacin war. \* Staph. aureus in dieser Studie gesamt dargestellt. CIP = Ciprofloxacin / OFL = Ofloxacin / NOR = Norfloxacin / LEV = Levofloxacin / GAT = Gatifloxacin / MOX = Moxifloxacin; N/d = nicht durchgeführt<sup>38,53</sup>

Auch das Fluoroquinolon Levofloxacin wurde erst vor 5 Jahren (August 2000) zur Anwendung in der Augenheilkunde von der Food and Drug Kommission zugelassen. Es handelt sich dabei um einen Gyrasehemmer der dritten Generation, welcher den aktiven Anteil von Ofloxacin (S-Enantiomer) darstellt. Wegen einer doppelt so hohen antibakteriellen Aktivität gegenüber Ofloxacin sollen durch Levofloxacin vor allem die *Streptococcus pneumoniae* besser abgedeckt werden. Diese statistisch signifikant verbesserte Wirksamkeit ( $P < 0,05$  im Fisher exact test) wurde bereits in einer *In-vitro*-Studie gegenüber bakteriellen Konjunktivitisisolaten beschrieben und kann durch die hier vorliegenden Ergebnisse (Levofloxacin > Ofloxacin, Norfloxacin, Ciprofloxacin) bestätigt werden.<sup>29</sup> Da vergleichbar zu den älteren Fluoroquinolonen theoretisch eine Mutation zur Erlangung einer Resistenz gegenüber Levofloxacin ausreicht, bleibt abzuwarten, inwiefern der Gebrauch zu einem Resistenzanstieg versus Levofloxacin führt.

In anderen Studien konnte auch eine verbesserte Wirkung der neuen Gyrasehemmer gegenüber resistenten Keimen berichtet werden. So konnte gegenüber den fluoroquinolonresistenten Bakterienisolaten (*Staphylococcus epidermidis*/*Staphylococcus aureus*) von Patienten mit Konjunktivitis und Blepharitis eine hohe Wirksamkeit von Moxifloxacin gezeigt werden.<sup>67</sup> Wichtig erscheint des weiteren, dass weder in den vorliegenden Ergebnissen, noch in den erwähnten Studien von einer generationenabhängigen besseren Wirksamkeit im gramnegativen Bereich die Rede ist. In den jüngeren Arbeiten zu antibiotischen Wirksamkeiten konnten allerdings die Fluoroquinolone aller Generationen geschlossen ihre sehr gute Wirksamkeit gegenüber den gramnegativen Bakterien präsentieren (Abb. 29).<sup>29,37-39,53,67</sup>

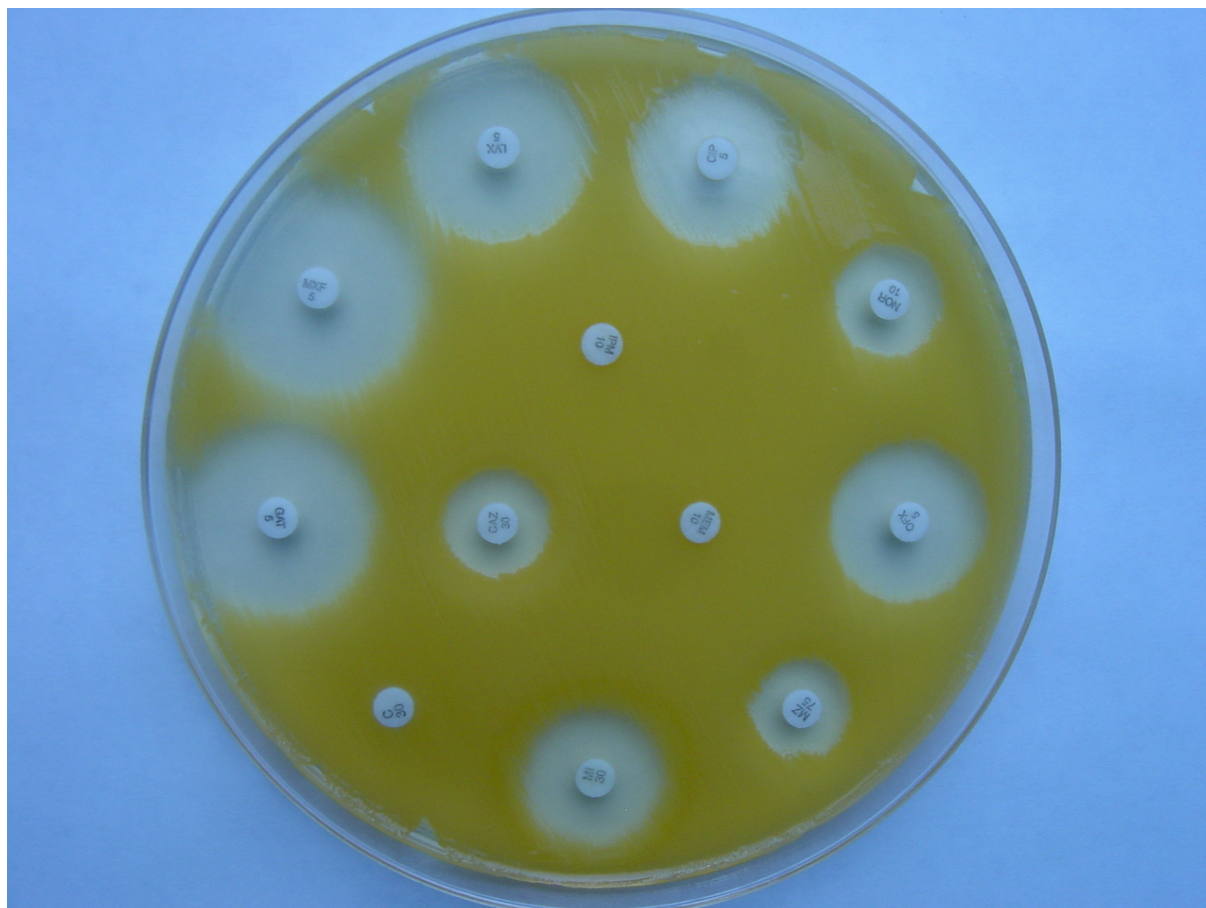


Abb. 29: Gramnegatives Stäbchen; vollständig empfindlich gegenüber allen Fluoroquinolonen

Auch die anderen in dieser Studie getesteten Antibiotika, wie die Aminoglykoside, die Cephalosporine, die Makrolide oder die Tetracycline werden häufig ophthalmologisch verwendet, wobei deren Indikationen variieren.<sup>40,74</sup> Besonders die Aminoglykoside werden wegen ihres breiten Wirkungsspektrums im grampositiven und vor allem im gramnegativen Bereich als Therapeutika, aber auch als Prophylaktikum präoperativ, verwendet. In dieser Arbeit konnte die gute Wirksamkeit ( $R < 8\%$ ) gegenüber den CNS von Amikacin, Gentamycin und Tobramycin bestätigt werden (Tab. 9/10/11/14). Im Gegensatz dazu zeigten die *Streptococcus* der Gruppe D bei einer relativ kleinen Gesamtzahl ( $n = 1$ ) sehr hohe Resistenzraten ( $> 85\%$ ) gegenüber Gentamycin, Tobramycin, Amikacin und Neomycin (Tab. 12)

Diese relativ hohe Resistenzquote gegenüber Gentamycin spiegelt sich auch in der Entwicklung von Resistenzhäufigkeiten, veröffentlicht von der mikrobiologischen Forschungsgruppe um Miller et al. wieder.<sup>50,55,63</sup> Im Jahr 1992 beschrieben diese bei 48 Endophthalmitis isolaten (Zeitraum 1/1977 – 5/1990) den Erreger *Streptococcus viridans* mit einer Gentamycinresistenz von 32,6%. Im Jahr 2003 zeigten Zahlen (Zeitraum 1/1990 –



12/2001) eine angestiegende Gentamycinresistenz bei *Streptococcus faecalis* auf 50%. Bei 27 Endophthalmitisisolaten mit dem Erreger *Streptococcus pneumoniae* betrug die Resistenz gegenüber Gentamycin im fast gleichen Zeitraum (1/1989 – 12/2003) bereits 92%.

Oft werden die Makrolide Erythromycin und Azithromycin als Augentropfen wegen ihrer zusätzlichen Wirksamkeit gegen atypische Erreger, wie Mykoplasmen oder Chlamydien, verschrieben.<sup>40,74</sup> Dagegen zeigten sie ihre Defizite sowohl gegenüber den grampositiven coagulasenegativen *Staphylococcus* mit einer R>44 % (Tab. 9/10/11/14) oder bei den *Streptococcus* der Gruppe D mit einer R>70%, als auch gegen die gramnegativen Erreger mit einer R>50% (Tab. 12). Bei den Tetracyclinen überzeugte vor allem die Wirksamkeit von Minocyclin, welches häufig in der systemischen antibiotischen Therapie gegen die Dysfunktion der Meibomschen Drüsen und bei Rosacea mit sehr guter Wirksamkeit gegenüber den CNS und den *Staphylococcus aureus* verwendet wird.<sup>40,74</sup> Die Wirksamkeit von Minocyclin war bei allen Bakterienspezies (inkl. der gramnegativen Stäbchen) besser als die von Tetracyclin. Zusammenfassend kann man für die häufig verwendeten Antibiotika (Aminoglykoside, Cephalosporin, Makrolide und Tetracycline) bei den vorliegenden Ergebnissen sagen, dass sie im Vergleich zu den Fluoroquinolonen ein immer schmaler werdendes Wirkungsspektrum aufzeigen.

Bei den Reserveantibiotika konnte gegenüber dem Vancomycin in der vorliegenden Arbeit keine Resistenz von den grampositiven Bakterien aufgezeigt werden. Die starke Wirksamkeit gegenüber grampositiven Bakterien ist bekannt und wirft die Frage auf, ob nicht ein großzügigerer Indikationsbereich somit vorstellbar wäre? Eindeutig dagegen spricht die Vernunft, keine Resistenzen zu provozieren, jedoch sind die relativ hohe Zytotoxizität und die im Vergleich höheren Kosten von Vancomycin wahrscheinlich für den restriktiven Gebrauch in der Praxis hauptverantwortlich.<sup>24,27</sup> Auch Chloramphenicol erzielte mit bis zu 96% Sensibilität in etwa gleich gute Ergebnisse gegenüber den CNS und den *Staphylococcus aureus* wie die Fluoroquinolone der vierten Generation. Erst im Jahr 2001 wurden die *In-vitro*-Empfindlichkeiten von 454 bakteriellen Augenisolaten gegen verschiedenen Antibiotika (u.a. Ciprofloxacin, Norfloxacin und Chloramphenicol) untersucht und für Chloramphenicol die beste Wirksamkeit dokumentiert.<sup>21</sup> Zur regelmäßigen Anwendung kommt es bei diesem Antibiotikum unter anderem nicht wegen der Gefahr einer peripheren und zentralen Neuropathie (Neuritis nervi optici). Trotz der unerwünschten Nebeneffekte beider antibiotischer Medikamente ist es wichtig bei schweren klinischen Okularinfektionen auf potente, second-line Antibiotika zurückgreifen zu können.

### 4.3 Resistenz und Resistenzhäufigkeiten

Ein Anstieg der bakteriellen Multiresistenz gegenüber den in der Augenheilkunde verwendeten Antibiotika kann einerseits über Ergebnisse bei Normalfloraisolaten (wie in dieser Arbeit), aber andererseits auch bei klinisch-pathologischen Bakterienisolaten (Keratitis, Endophthalmitis) aufgezeigt werden.<sup>2,21,26,29,32,37-39,42,50,53,60,62</sup> Grundlegend kann man sich dieser Annahme nur über größere, multizentrische klinische Studien annähern. Die in dieser Arbeit aufgezeigte Quote von 30% multiresistenten coagulase negativen *Staphylococcus* des Gesamtbakterienkollektivs bzw. bei anderen Autoren 29% multiresistente Keime im Test gegenüber Keratitisisolaten bleiben dabei somit nur Hinweise auf einen Gesamtanstieg.<sup>60</sup>

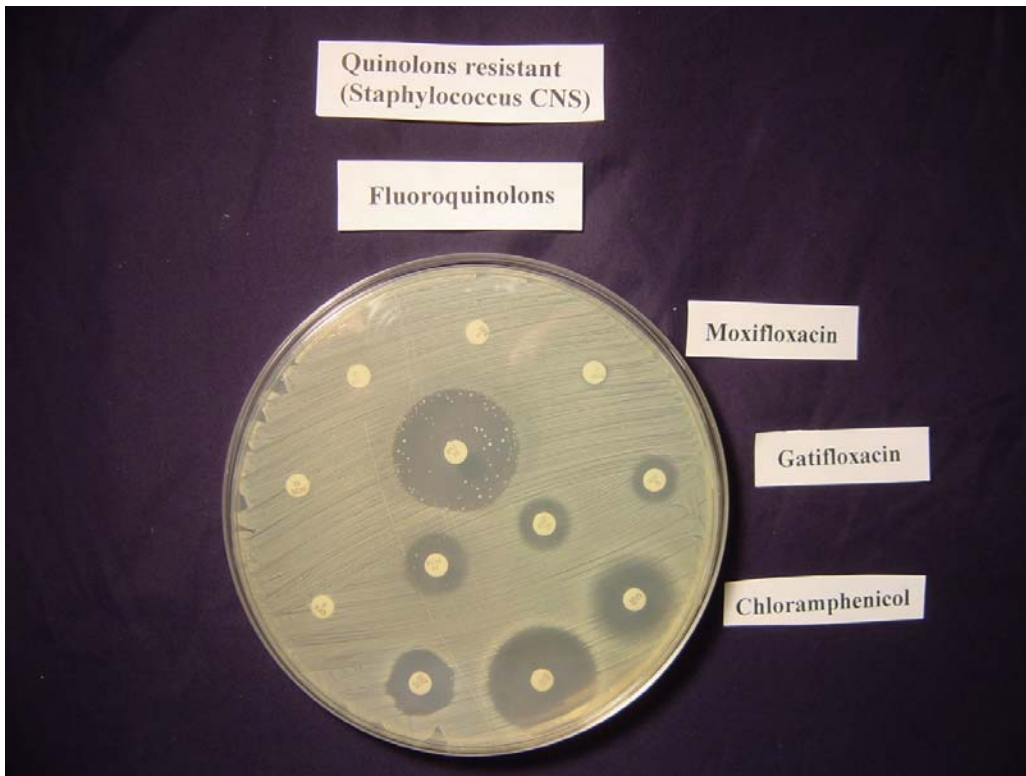


Abb. 30: Coagulase negativer *Staphylococcus*; resistent gegenüber allen getesteten Fluoroquinolonen

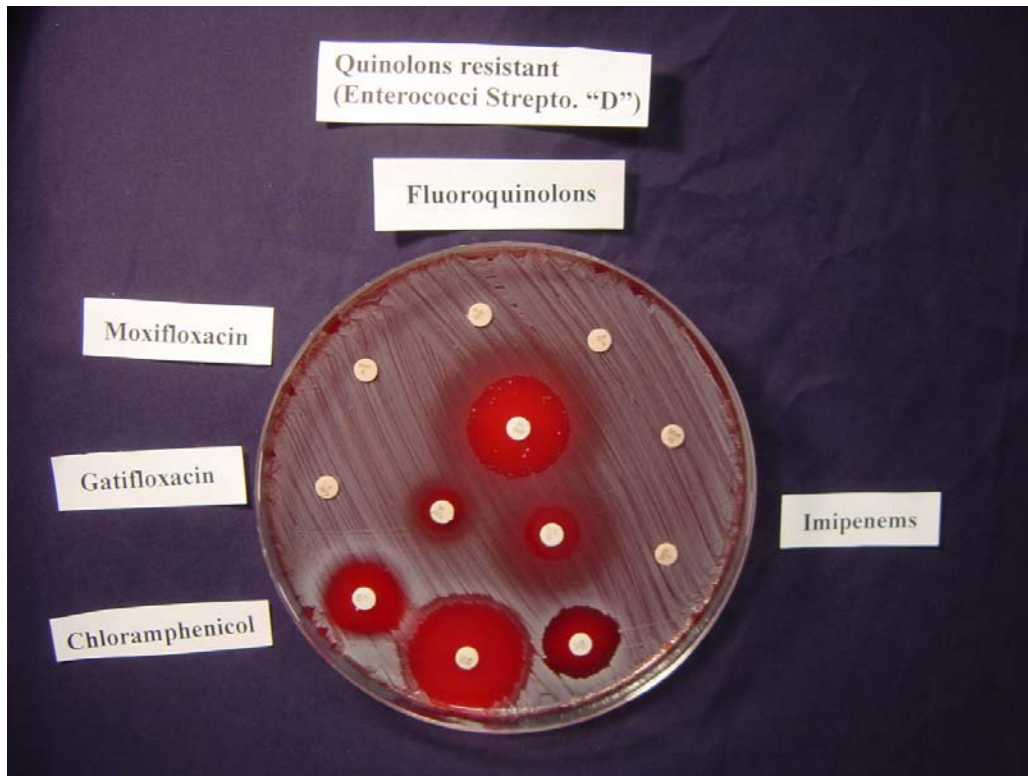


Abb. 31: *Streptococcus* der Gruppe D; resistent gegenüber allen getesteten Fluoroquinolonen

Da die ansteigende Antibiotikaresistenz über lange Zeiträume nur schwer zu erfassen bleibt, beschränkt man sich in der Praxis auf die Präsentation einzelner klinischer Fälle. Zusätzlich informieren in der Forschung vereinzelte Gruppen (z.B. Kowalski et al., Miller et al.) konstant seit Jahren anhand von retrospektiv-experimentellen Studien mittels *In-vitro*-Antibiotikaempfindlichkeitstests über die Problemsituation.<sup>37-39,50,53,55,63</sup>

Bei Patienten mit chronischer Konjunktivitis konnten so überwiegend multiresistente Bakterien nachgewiesen werden.<sup>28</sup> De Kaspar et al. führten im Zeitraum von 9/1990 bis 12/1992 bei insgesamt 38 Endophthalmitisproben an der Augenklinik der Universität München eine Resistenzbestimmung durch, bei der vorallem die CNS in mehreren postoperativen Fällen (7 von 25) multiresistent gegen alle untersuchten Aminoglykoside, Cephalosporine, Fluoroquinolone, Penicillin und Chloramphenicol waren.<sup>56</sup> Sie bearbeiteten zusätzlich die Frage, ob zwischen empfindlichen und multiresistenten CNS-induzierten Endophthalmitiden an einem Kanninchenmodell das klinische Bild, das Elektroretinogramm (ERG) und die histopathologischen Ergebnisse variieren.<sup>57</sup> Multiresistente CNS- Stämme zeigten dabei histologisch und elektrophysiologisch grössere Destruktionen und stärkere Entzündungsreaktionen, als die antibiotikaempfindliche Gruppe und lassen so eine höhere Pathogenität vermuten.<sup>57</sup>



Das dabei verwendete *In-vitro*-Empfindlichkeitsverfahren nach Kirby-Bauer wird seit kurzem zur Beschleunigung der Diagnostik in der Klinik schon in modifizierter Form (rapid antibiotic susceptibility test/RAST) erfolgreich verwendet.<sup>58</sup>

Die neuen Fluoroquinolone Moxifloxacin, Gatifloxacin und Levofloxacin sind gegenüber grampositiven Erregern potenter als die älteren Fluoroquinolone. Aufgrund der chemischen Charakteristika bei Gatifloxacin und Moxifloxacin sind zwei Punktmutation im Bakterium zur Resistenzausbildung gegenüber diesen Antibiotika notwendig. Dies ist das Hauptargument, warum gegenüber beiden Fluoroquinolonen längerfristig Resistenzen ausbleiben sollten.

Eine pharmakologisch wirksame Anwendung ist in diesem Kontext generell eine Zusammensetzung von niedriger Minimal Inhibitorischer K(C)onzentration (MIC) und anderen Parametern, wie der wirkungsvollen Gewebeskonzentration des Wirkstoffes, der optimalen Dosierung, niedriger Toxizität, vermeidbarer Allergenität und Compliance des Patienten.<sup>35,74</sup>

Diese pharmakologischen Charakteristika sind bis dato exzellent und für die Zukunft als Therapiealternative vielversprechend. Ein aussagekräftiger klinischer Effizienzvorteil der neueren Fluoroquinolone steht jedoch noch aus und könnte zum Beispiel im Verlauf einer prospektiven Vergleichsstudie bei der Therapie von Konjunktivitis oder Keratitis erbracht werden.

## 5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die Frage bearbeitet, wie wirksam sich die neuentwickelten Fluoroquinolone der vierten Generation, Gatifloxacin und Moxifloxacin, gegenüber den Bakterien der Normalflora des Auges zeigen.

Bei Infektionen am Auge treten mehrere bakterielle Pathogene als potentielle Verursacher auf. Es handelt sich dabei meistens um multiresistente grampositive Keime, in erster Linie um multiresistente *coagulase-negative Staphylococcus*.

### Fluoroquinolonpotenz gegen multiresistente Bakterien am Auge (n = 100)

Es stellte sich ein hoch signifikanter Unterschied ( $P < 0.001$ ) in der antibiotischen Potenz von Gatifloxacin und Moxifloxacin im Vergleich zu den älteren Quinolonen bei den multiresistenten coagulase-negativen Staphylokokken (n = 70) dar. Bei der Analyse der Empfindlichkeitstests mit den ausschließlich multiresistenten *Streptococcus* der Gruppe D (n = 15) bestätigt sich die sehr gute Wirksamkeit von Gatifloxacin, von Moxifloxacin und zusätzlich von Levofloxacin. Die multiresistenten gramnegativen Stäbchen zeigten sich bei allen getesteten Quinolonen zu 100% empfindlich.

### Fluoroquinolonpotenz gegen nichtmultiresistente Bakterien am Auge (n = 156)

Die Wirksamkeit sämtlicher Quinolone ist bei diesem Kollektiv aus coagulase-negativen *Staphylococcus* (n = 131), *Staphylococcus aureus* (n = 23) und von gramnegativen Stäbchen (n = 2) sehr gut.

### Fuoroquinolonpotenz - Sonstiges

53% der getesteten Normalflorabakterien kamen vor unserer Studie mit einer Prophylaxemedikation in Kontakt, demgegenüber stehen 47% absolut unbehandelter Bakterien. Die Fluoroquinolone zeigen bei beiden Kollektiven dasselbe Wirksamkeitsmuster. Der Vergleich mit den übrigen getesteten Antibiotika erlaubt die Feststellung, dass Imipenem, Chloramphenicol und Vancomycin (mit Ausnahme der gramnegativen Bakterien) ähnlich gute Wirksamkeit wie Moxifloxacin und Gatifloxacin bei den meisten Bakterienkollektiven erreichten.

## 6. Literaturverzeichnis

1. Aaberg, T.M., Jr., Flynn, H.W., Jr., Schiffman, J. & Newton, J. Nosocomial acute-onset postoperative endophthalmitis survey. A 10-year review of incidence and outcomes. *Ophthalmology* 105, 1004-10 (1998).
2. Alexandrakis, G., Alfonso, E.C. & Miller, D. Shifting trends in bacterial keratitis in south Florida and emerging resistance to fluoroquinolones. *Ophthalmology* 107, 1497-502 (2000).
3. Archer, G.L. Staphylococcus epidermidis and other coagulase-negative staphylococci. in *Principles and practice of infectious diseases* (eds. Mandell, G., Douglas, R. & Bennett, J.) 1511-1518 (Churchill Livingstone, New York, 1990).
4. Bannerman, T.L., Rhoden, D.L., McAllister, S.K., Miller, J.M. & Wilson, L.A. The source of coagulase-negative staphylococci in the Endophthalmitis Vitrectomy Study. A comparison of eyelid and intraocular isolates using pulsed-field gel electrophoresis. *Arch Ophthalmol* 115, 357-61 (1997).
5. Bauer, A.W., Kirby, W.M., Sherris, J.C. & Turck, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol* 45, 493-496 (1966).
6. Bialasiewicz, A.A., Koniszewski, G. & Naumann, G.O. Pseudo-"Toxic lens"-Syndrom über vier Jahre durch Staphylokokkus epidermidis-Endophthalmitis. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 193, 142-145 (1988).
7. Boes, D., Lindquist, T., Fritsche, T. & Kalina, R. Effects of povidone-iodine chemical preparation and saline irrigation on the perilimbal flora. *Ophthalmology* 99, 1569-1574 (1992).
8. Booth, M.C., Atkuri, R.V., Nanda, S.K., Iandolo, J.J. & Gilmore, M.S. Accessory gene regulator controls Staphylococcus aureus virulence in endophthalmitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 36, 1828-36 (1995).
9. Booth, M.C. et al. Staphylococcal accessory regulator (sar) in conjunction with agr contributes to Staphylococcus aureus virulence in endophthalmitis. *Infect Immun* 65, 1550-6 (1997).
10. Callegan, M.C., Booth, M.C., Jett, B.D. & Gilmore, M.S. Pathogenesis of gram-positive bacterial endophthalmitis. *Infect Immun* 67, 3348-56 (1999).
11. Callegan, M.C., Engelbert, M., Parke, D.W., 2nd, Jett, B.D. & Gilmore, M.S. Bacterial endophthalmitis: epidemiology, therapeutics, and bacterium-host interactions. *Clin Microbiol Rev* 15, 111-24 (2002).

12. Davis, J.L. et al. Coagulase-negative staphylococcal endophthalmitis. Increase in antimicrobial resistance. *Ophthalmology* 95, 1404-10 (1988).
13. DIN. Empfindlichkeitsprüfung von mikrobiellen Krankheitserregern gegen Chemotherapeutika. in *Medizinische Mikrobiologie und Immunologie* (ed. e.V., D.I.f.N.) (Berlin / Köln, 2005).
14. Driebe, W.T., Mandelbaum, S., Forster, R.K., Schwartz, L.K. & Culbertson, W.W. Pseudophakic endophthalmitis; diagnosis and management. *Ophthalmology* 93, 442-448 (1986).
15. Drlica, K. Mechanism of fluoroquinolone action. *Curr Opin Microbiol* 2, 504-508 (1999).
16. Drlica, K. The future of fluoroquinolones. *Ann Med* 32, 585-7 (2000).
17. Drlica, K. & Malik, M. Fluoroquinolones: action and resistance. *Curr Top Med Chem* 3, 249-82 (2003).
18. Duffy, R.E. et al. An epidemic of corneal destruction caused by plasma gas sterilization. The Toxic Cell Destruction Syndrome Investigative Team. *Arch Ophthalmol* 118, 1167-76 (2000).
19. Dupont, H. & Steele, J. Use of antimicrobial agents in animal feeds: implications for human health. *Rev Infect Dis*, 447-460 (1987).
20. Durand, M. Microbiologic factors and visual outcome in the Endophthalmitis Vitrectomy Study. *Am J Ophthalmol* 124, 127-30 (1997).
21. Egger, S.F. et al. In vitro susceptibilities to topical antibiotics of bacteria isolated from the surface of clinically symptomatic eyes. *Ophthalmic Res* 33, 117-20 (2001).
22. EVSG. Results of the Endophthalmitis Vitrectomy Study. A randomized trial of immediate vitrectomy and of intravenous antibiotics for the treatment of postoperative bacterial endophthalmitis. Endophthalmitis Vitrectomy Study Group. *Arch Ophthalmol* 113, 1479-96 (1995).
23. Fahmy, J., Møller, S. & Bentzon, M. Bacterial flora in relation to cataract extraction I. material, methods and preoperative flora. in *Acta Ophthalmol*, Vol. 53 458-475 (1975).
24. Ferencz, J.R., Assia, E.I., Diamantstein, L. & Rubinstein, E. Vancomycin concentration in the vitreous after intravenous and intravitreal administration for postoperative endophthalmitis. *Arch Ophthalmol* 117, 1023-7 (1999).

25. Garcia-Saenz, M.C., Arias-Puente, A., Fresnadillo-Martinez, M.J. & Carrasco-Font, C. Human aqueous humor levels of oral ciprofloxacin, levofloxacin, and moxifloxacin. *J Cataract Refract Surg* 27, 1969-74 (2001).
26. Goldstein, M.H., Kowalski, R.P. & Gordon, Y.J. Emerging fluoroquinolone resistance in bacterial keratitis: a 5-year review. *Ophthalmology* 106, 1313-8 (1999).
27. Gordon, Y.J. Vancomycin prophylaxis and emerging resistance: are ophthalmologists the villains? The heroes? *Am J Ophthalmol* 131, 371-6 (2001).
28. Grasbon, T., Mino de Kaspar, H. & Klauss, V. [Coagulase-negative staphylococci in normal and chronically inflamed conjunctiva]. *Ophthalmologie* 92, 793-801 (1995).
29. Graves, A. et al. In vitro susceptibilities of bacterial ocular isolates to fluoroquinolones. *Cornea* 20, 301-5 (2001).
30. Han, D.P. et al. Spectrum and susceptibilities of microbiologic isolates in the Endophthalmitis Vitrectomy Study. *Am J Ophthalmol* 122, 1-17 (1996).
31. Hof, H., Müller, R. & Dörries, R. Spezielle Bakteriologie. in *Mikrobiologie*, Vol. Duale Reihe (ed. A&B, B.) 275-449 (Thieme, Stuttgart, 2000).
32. Huebner, J. & Goldmann, D.A. Coagulase-negative staphylococci: role as pathogens. *Annu Rev Med* 50, 223-36 (1999).
33. Jensen, H.G. & Felix, C. In vitro antibiotic susceptibilities of ocular isolates in North and South America. In Vitro Antibiotic Testing Group. *Cornea* 17, 79-87 (1998).
34. Kanski, J. *Clinical Ophthalmology*, 732 (Elsevir, München, 2004).
35. Karow, T. & Lang, R. Antibiotika. in *Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie* 533-567 (Karow, T., Pulheim, 2001).
36. Kloos, W. & Lambe, D. Staphylococcus. in *Manual of clinical microbiology* (eds. Balows, A., Hausler, W., Herrmann, K., Isenberg, H. & Shadomy, H.) 222-237 (American Society for Microbiology, Washington D.C., 1991).
37. Kowalski, R.P. et al. An in vitro resistance study of levofloxacin, ciprofloxacin, and ofloxacin using keratitis isolates of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Ophthalmology* 108, 1826-9 (2001).
38. Kowalski, R.P., Romanowski, E.G., Yates, K.A. & Gordon, Y.J. Lomefloxacin is an effective treatment of experimental bacterial keratitis. *Cornea* 20, 306-8 (2001).
39. Kowalski, R.P. et al. Gatifloxacin and moxifloxacin: an in vitro susceptibility comparison to levofloxacin, ciprofloxacin, and ofloxacin using bacterial keratitis isolates. *Am J Ophthalmol* 136, 500-5 (2003).

40. KÜchle, H. & Busse, H. *Taschenbuch der Augenheilkunde*, 589 (Huber, H., Bern, 1991).
41. Kunin, C.M. Resistance to antimicrobial drugs--a worldwide calamity. *Ann Intern Med* 118, 557-61 (1993).
42. Kurokawa, N. et al. Increasing ofloxacin resistance of bacterial flora from conjunctival sac of preoperative ophthalmic patients in Japan. *Jpn J Ophthalmol* 46, 586-9 (2002).
43. Kyorin Pharmaceutical CO., L. History. Vol. 2005 (Kyorin Pharmaceutical CO., LTD., 2001-2004).
44. Leibowitz, H.M. Clinical evaluation of ciprofloxacin 0.3% ophthalmic solution for treatment of bacterial keratitis. *Am J Ophthalmol* 112, 34S-47S (1991).
45. Leid, J.G., Costerton, J.W., Shirtliff, M.E., Gilmore, M.S. & Engelbert, M. Immunology of Staphylococcal biofilm infections in the eye: new tools to study biofilm endophthalmitis. *DNA Cell Biol* 21, 405-13 (2002).
46. Leong, J.K., Shah, R., McCluskey, P.J., Benn, R.A. & Taylor, R.F. Bacterial contamination of the anterior chamber during phacoemulsification cataract surgery. *J Cataract Refract Surg* 28, 826-33 (2002).
47. Liesegang, T.J. Use of antimicrobials to prevent postoperative infection in patients with cataracts. *Curr Opin Ophthalmol* 12, 68-74 (2001).
48. Lode, H., Höffken, G., Kresken, M., Stahlmann, R. & Schoeller-Wiley, R. Moxifloxacin. *Zeitschrift für Chemotherapie* 5(1999).
49. Lode, H., Höffken, G., Kresken, M., Stahlmann, R. & Schoeller-Wiley, R. Gatifloxacin. *Zeitschrift für Chemotherapie* 22(2001).
50. Mao, L.K., Flynn, H.W., Jr., Miller, D. & Pflugfelder, S.C. Endophthalmitis caused by streptococcal species. *Arch Ophthalmol* 110, 798-801 (1992).
51. Mariani, K.J. & Hiasa, H. Mechanism of quinolone action. A drug-induced structural perturbation of the DNA precedes strand cleavage by topoisomerase IV. *J Biol Chem* 272, 9401-9 (1997).
52. Masket, S. Preventing, diagnosing, and treating endophthalmitis. *J Cataract Refract Surg* 24, 725-6 (1998).
53. Mather, R., Karenchak, L.M., Romanowski, E.G. & Kowalski, R.P. Fourth generation fluoroquinolones: new weapons in the arsenal of ophthalmic antibiotics. *Am J Ophthalmol* 133, 463-6 (2002).

54. McDonnell, P.J. & Green, W. Keratitis. in *Principles and Practice of Infectious Disease* (eds. Mandell, G., Douglas, R. & Bennett, J.) 981-987 (Chrchill Livingston, New York, 1990).
55. Miller, J.J. et al. Endophthalmitis caused by *Streptococcus pneumoniae*. *Am J Ophthalmol* 138, 231-6 (2004).
56. Mino De Kaspar, H., Kollmann, M. & Klauss, V. Endophthalmitis; Bedeutung mikrobiologischer Untersuchungen für Therapie und Prognose. *Ophthalmologe* 90, 726-7336 (1993).
57. Mino De Kaspar, H. et al. Antibiotic resistance pattern and visual outcome in experimentally-induced *Staphylococcus epidermidis* endophthalmitis in a rabbit model. *Ophthalmology* 108, 470-8 (2001).
58. Mino de Kaspar, H. et al. Rapid direct antibiotic susceptibility testing in endophthalmitis. *Ophthalmology* 109, 687-93 (2002).
59. Pflugfelder, S.C. & Flynn, H.W. Infectious endophthalmitis. *Infect Dis Clin North Am* 6, 859-873 (1992).
60. Pinna, A. et al. Identification and antibiotic susceptibility of coagulase negative staphylococci isolated in corneal/external infections. *Br J Ophthalmol* 83, 771-3 (1999).
61. Pinna, A. et al. *Bacillus cereus* keratitis associated with contact lens wear. *Ophthalmology* 108, 1830-4 (2001).
62. Schaefer, F., Bruttin, O., Zografos, L. & Guex-Crosier, Y. Bacterial keratitis: a prospective clinical and microbiological study. *Br J Ophthalmol* 85, 842-7 (2001).
63. Scott, I.U., Loo, R.H., Flynn, H.W., Jr. & Miller, D. Endophthalmitis caused by *enterococcus faecalis*: antibiotic selection and treatment outcomes. *Ophthalmology* 110, 1573-7 (2003).
64. Speaker, M.G., Milch, F.A., Shah, M.K., Eisner, W. & Kreiswirth, B.N. Role of external bacterial flora in the pathogenesis of acute postoperative endophthalmitis. *Ophthalmology* 98, 639-49; discussion 650 (1991).
65. Standards, N.C.f.C.L. Methods for dilution antimicrobials susceptibility tests for bacteria that grow aerobiacally. in *National Comittee for Clinical Labratory Standards* 4th edn Vol. 20 approved standard (document M7-A5) (Villanova, PA, 2000).
66. Starr, M. & Lally, J. Antimicrobial Prophylaxis for ophthalmic surgery. *Surv Ophthalmol* 39, 485-501 (1995).

67. Stroman, D.W. et al. Moxifloxacin activity against quinolone resistant Staphylococcal ocular isolates. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42, 1377 (2001).
68. Ta, C.N. et al. Prospective randomized comparison of 3-day versus 1-hour preoperative ofloxacin prophylaxis for cataract surgery. *Ophthalmology* 109, 2036-40; discussion 2040-1 (2002).
69. Ta, C.N. et al. Antibiotic resistance patterns of ocular bacterial flora: a prospective study of patients undergoing anterior segment surgery. *Ophthalmology* 110, 1946-51 (2003).
70. Tenover, F. & Hughes, J. The challenge of emerging infectious diseases: development and spread of multiply-resistant bacterial pathogens. *JAMA*, 300-304 (1996).
71. Thornsberry, C. Antimicrobial Susceptibility Tests: General Considerations. in *Manual of Clinical Microbiology* (eds. Balows, A., Hausler, W., Herrmann, K., Isenberg, H. & Shadomy, H.) 1117 (Am. Society of Microbiology, Washington, 1991).
72. Willmott, C.J. & Maxwell, A. A single point mutation in the DNA gyrase A protein greatly reduces binding of fluoroquinolones to the gyrase-DNA complex. *Antimicrob Agents Chemother* 37, 126-7 (1993).
73. Yamada, M., Mochizuki, H., Yamada, K., Kawai, M. & Mashima, Y. Aqueous humor levels of topically applied levofloxacin in human eyes. *Curr Eye Res* 24, 403-6 (2002).
74. Yolton, J.D. Antiinfective Drugs. in *Clinical Ocular Pharmacology*, Vol. 11 (ed. Butterworth-Heinemann) 219-264 (Bartlett, J.D. Jaanus, S.D., 2001).



## **7. Danksagung**

Herrn Prof. Dr. med. Volker Klauß danke ich sehr für die freundliche Überlassung des Themas. Er ist mir nicht nur ein wissenschaftlicher, sondern auch menschlich toller Doktorvater.

Mein besonderer Dank gilt meiner Doktormutter, Fr. Dr. rer. nat. Herminia de Kaspar, für die einzigartige Unterstützung in dem Anlernen der Mikrobiologie des Auges und der exakten Durchführung des Themas. Die Zusammenarbeit erfüllte stets das Prädikat „100 Prozent“ und trug dadurch auch neben der vorliegenden Arbeit wissenschaftliche und kulturelle Früchte. Sie ist eine exzellente Organisatorin und es war eine Lebensserfahrung in ihrem internationalem Team mitarbeiten zu dürfen.

Den Mitarbeitern des Department of Ophthalmology in Stanford / Kalifornien danke ich für ihren inspirierenden akademischen American Way of Life.

Der Hannelore-Zimmerman Stiftung danke ich für die finanzielle Unterstützung dieses Projektes.

Herrn Dr. med. Armin Scharrer danke ich für Inspiration, Motivation und Freundschaft.

Zum Schluß möchte ich meinen Eltern danken, welche mich immer nach Kräften in meinem Studium unterstützten und in allen Lebensbereichen immer für mich da waren.

## 8. Lebenslauf

### Michael Janusz Koss

Geboren am 13 August 1979 in Tychy / Schlesien

Vater: Dr. med. Andreas Kossakiewicz, Gynäkologe

Mutter: Dr. med. Maria Kossakiewicz, geb. Poloczek, Gynäkologin

#### **Schulbildung**

1985 – 1986	Leopold Grundschule in Amberg / Oberpfalz
1986 – 1989	Grundschule Grimmstrasse in Nürnberg
1989 – 1998	Willstätter Gymnasium (Neusprachlich) in Nürnberg
Juni 1998	Abschluß mit der Allgemeinen Hochschulreife

#### **Hochschulbildung**

November 1998 bis April 2002	Medizinische Fakultät der Universität Erlangen
April 2001	Ärztliche Vorprüfung (Physikum)
April 2002	Erstes Medizinisches Staatsexamen
April 2002 bis April 2004	Medizinische Fakultät der Technischen Hochschule München
Februar bis August 2003	Experimenteller Forschungsaufenthalt an der Universitätsaugenklinik Stanford / USA
April 2004	Zweites Medizinisches Staatsexamen

#### **Praktisches Jahr**

April bis Juli 2004	1. Terial Augenklinik der Ludwigs-Maximilians Universität München
August bis November 2004	2. Terial Chirurgische Universitätsklinik San Martin der Universität Buenos Aires / Argentinien
Dezember 2004 bis März 2005	3. Terial Innere Medizin am Waidspital Zürich / Schweiz
April 2005	Drittes Medizinisches Staatsexamen

#### **Beruf**

Seit Juli 2005	Assistenzarzt für Augenheilkunde an dem Zentrum für Augenheilkunde Universität Frankfurt / Main
----------------	--

#### **Sprachen**

Deutsch: Muttersprache  
Polnisch: Halbmuttersprache (fließend)  
Englisch: Fließend, Schrift und Sprache  
Französisch: Gute Kenntnis der Sprache  
Spanisch: Gute Kenntnis der Sprache