

GENARS*:

kontinuierliche Resistenzüberwachung von hoher Qualität auf der Basis von Routinedaten

Huppertz K., Noll I., Wiedemann B. and the GENARS-group

Geschäftsstelle der GENARS-Projektgruppe; Pharmazeutische Mikrobiologie; Universität Bonn; Meckenheimer Allee 168; 53115 Bonn

KMP052

REVISED ABSTRACT

The increasing worldwide resistance of human pathogens against antibiotics is of great concern. For this reason in recent years several national and international surveillance projects started collecting and evaluating data on antimicrobial resistance. However, due to different methodological standards used, the comparability of these surveillance studies is mostly poor. Since a while, in Germany a new means for antimicrobial resistance surveillance has been established. In the GENARS-project (German Network for Antimicrobial Resistance Surveillance) every day routine data of laboratories for medical microbiology are used for resistance surveillance. In all labs the data are measured in a standardised and quality controlled method for MIC-determination. The continuous collection of MIC-values of the complete clinical material (all species identified) and the transmission of these data to the central office for evaluation once a week are the main characteristics of this project. By these characteristics the GENARS-project differs clearly from most present surveillance studies.

Um eine auftretende Resistenz frühzeitig erkennen zu können, werden nur MHK-Werte akzeptiert. Die Ergebnisse der MHK-Bestimmung werden zusammen mit dem Identifizierungsergebnis, Einsender (Klinik, klinische Abteilung, Stationstyp), Materialart, Belegdatum, Patientendaten (Patienten-ID, Geburtsdatum, Geschlecht) einmal wöchentlich an die GENARS-Geschäftsstelle nach Bonn übertragen [6].

Für die Bewertung der Ergebnisse werden primär die Grenzwerte nach DIN [7] herangezogen. Für solche Antibiotika, für die keine DIN-Grenzwerte hinterlegt sind, werden Grenzwerte nach NCCLS [8] angelegt. In wenigen Ausnahmefällen werden auch Angaben der Hersteller oder Erfahrungswerte der Arbeitsgruppe „Resistenz“ der PEG bzw. der GENARS-Projektgruppe verwendet.

Um die interne Qualität eines jeden Labors und somit die Qualität des gesamten GENARS-Datenbestandes sicher zu stellen, werden von jedem Teilnehmer in regelmäßigen Abständen zuvor festgelegte Kontrollstämme getestet. Die Kontrollstammwerte werden regelmäßig zentral in der GENARS-Geschäftsstelle ausgewertet und die Ergebnisse an die Teilnehmer zurückgemeldet. Auf diese Weise unterliegt der Datenbestand einer ständigen Qualitätskontrolle.

EINLEITUNG

Weltweit werden täglich Millionen von Empfindlichkeitsprüfungen von humanpathogenen Erregern aus klinischen Isolation vorgenommen. Diese Informationen dienen fast ausschließlich dem Entscheidungsprozess für interne therapeutische Maßnahmen, ohne dass diese Ergebnisse übergreifenden Resistenz-Überwachungssystemen zur Verfügung stehen. In Folge der großen Variabilität der weltweit verwendeten Messsysteme und Bewertungskriterien ist die Vergleichbarkeit der Ergebnisse sehr eingeschränkt. Daher wird für eine Teilnahme an Resistenz-Überwachungsprogrammen von allen teilnehmenden Laboratorien die Einhaltung einheitlicher Protokolle gefordert [1,2,3]. Die Bereitschaft zur Umsetzung einer solchen Forderung ist aus verschiedenen Gründen z.Z. noch sehr gering, so dass unsere Kenntnis über die Resistenzsituation derzeit überwiegend auf Stichprobenartig durchgeführten Studien zurückgeht und nicht aus den täglichen, kontinuierlich durchgeführten Empfindlichkeitsbestimmungen klinischer Isolate. Wenn die täglichen Routinedaten eines mikrobiologischen Laboratoriums in ein Resistenz-Überwachungsprogramm eingehen sollen, das frühzeitig Trends und neue Resistenzmechanismen aufzeigen soll, so muss die Qualität der täglichen Laborroutine eines jeden teilnehmenden Labors auf ein Niveau angehoben werden, das von den meisten Laboratorien bislang noch nicht erreicht wird.

Mit dem GENARS-Projekt, das durch das Bundesministerium für Gesundheit und Soziale Sicherung gefördert wird, steht erstmals ein Überwachungssystem zur Verfügung, für das alle teilnehmenden Laboratorien in der Laborroutine kontinuierlich MHK-Werte von allen klinischen Isolationen bestimmen.

METHODEN

Gegenwärtig nehmen in Deutschland sechs Medizinisch Mikrobiologische Institute am GENARS-Projekt teil (Abb. 1). Alle Krankheitserreger aus klinischen Isolationen werden bis auf Speziesebene differenziert. Die Empfindlichkeit bakterieller Erreger wird an allen Instituten in der täglichen Routine durch Ermittlung der minimalen Hemmstoffkonzentration (MHK) mit folgenden Systemen bestimmt: Micronaut® der Firma Merlin (4 Teilnehmer), Vitek2® der Firma BioMérieux (1 Teilnehmer) und eine Eigenentwicklung des Labors (1 Teilnehmer). Für das Micronaut®-System werden Mikrotiterplatten mit 384 Kavitäten verwendet. Alle Teilnehmer benutzen eine eigens für GENARS reservierte Charge einer Mueller-Hinton-Bouillon der Firma Becton-Dickinson (Heidelberg). Das Inokulum entspricht mit 5×10^5 CFU/ml den Vorgaben nach DIN [4] und NCCLS [5]. Beimpfte Mikrotiterplatten werden photometrisch abgelesen und die Ergebnisse automatisch in die Labor-EDV importiert. Für alle klinischen Isolate werden kontinuierlich MHK-Bestimmungen für ca. 60 Antibiotika durchgeführt. Das Spektrum der getesteten Antibiotika kann entsprechend den Bedürfnissen je nach Resistenz- oder Marktsituation verändert werden.

* gefördert durch das Bundesministerium für Gesundheit und Soziale Sicherung

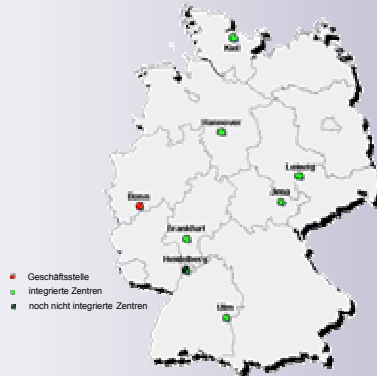


Abb. 1 Lage der GENARS-Zentren in Deutschland

Um die interne Qualität eines jeden Labors und somit die Qualität des gesamten GENARS-Datenbestandes sicher zu stellen, werden von jedem Teilnehmer in regelmäßigen Abständen zuvor festgelegte Kontrollstämme getestet. Die Kontrollstammwerte werden regelmäßig zentral in der GENARS-Geschäftsstelle ausgewertet und die Ergebnisse an die Teilnehmer zurückgemeldet. Auf diese Weise unterliegt der Datenbestand einer ständigen Qualitätskontrolle.

Im ersten Halbjahr 2003 wurden von den Micronaut®-Anwendern zwischen 100 und 120 Tests pro Kontrollstamm durchgeführt. Die Zahl der Stämme, deren MHK im Bereich des Modalwertes \pm einer Titerstufe liegt, beträgt annähernd 100% (Tab. 1). Bei *Escherichia coli* (ATCC 25922) liegen bei Ampicillin und Piperacillin alle Stämme im Bereich des Modalwertes \pm einer Titerstufe.

ERGEBNISSE

Ein Vergleich der Zentren anhand der MHK-Verteilungen ihrer Kontrollstammtestungen kann die einheitliche Qualität der Laborroutine in den Zentren belegen, oder aber auch ggf. methodische Probleme eines Zentrums anzeigen. Bei *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) und Ciprofloxacin (Abb. 2) liegen die Modalwerte für fünf der sechs Zentren deutlich bei einer MHK von 0,25 mg/l. Das sechste Zentrum konnte aus technischen Gründen erst ab dem 3. Quartal 2003 Kontrollstammtestungen zur Verfügung stellen. Daher sind in den Abb. 2 und 3 nur die Ergebnisse von fünf Zentren wiedergegeben.

	n	Ampicillin	Piperacillin	Cefazolin	Cefotaxim	Ceftriaxon	Ticarcillin	Ciprofloxacin	Levofloxacin	Mergentem	Erythromycin	Tobramycin
<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	116	100,0	100,0	-	-	99,1	-	-	-	-	-	93,9
<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853)	122	-	97,5	-	97,5	-	99,2	98,3	97,5	-	-	100,0
<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	119	95,8	-	100,0	-	-	99,1	98,6	99,2	97,5	98,3	-
<i>S. aureus</i> (ATCC 29213)	108	80,6	-	98,1	-	-	97,9	-	-	-	-	98,1
<i>S. aureus</i> (ATCC 43300)	81	-	-	-	-	-	95,3	-	-	-	-	98,3

Tab. 1 Zahl der Kontrollstammtestungen in Prozent, die innerhalb des Konzentrationsbereichs Modalwert \pm einer Titerstufe liegen.

Ein Vergleich der Zentren anhand der MHK-Verteilungen ihrer Kontrollstammtestungen kann die einheitliche Qualität der Laborroutine in den Zentren belegen, oder aber auch ggf. methodische Probleme eines Zentrums anzeigen. Bei *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) und Ciprofloxacin (Abb. 2) liegen die Modalwerte für fünf der sechs Zentren deutlich bei einer MHK von 0,25 mg/l. Das sechste Zentrum konnte aus technischen Gründen erst ab dem 3. Quartal 2003 Kontrollstammtestungen zur Verfügung stellen. Daher sind in den Abb. 2 und 3 nur die Ergebnisse von fünf Zentren wiedergegeben.

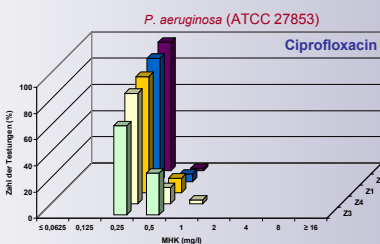


Abb. 2 MHK-Verteilungen von *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) für Ciprofloxacin. Beobachtungszeitraum: 1. Halbjahr 2003. Z1 – Z5: Zentrum 1 – 5.

Auch bei *Escherichia coli* (ATCC 25922) und Ampicillin (Abb. 3) liegen mit Ausnahme der Zentren 3 und 5 die Modalwerte einheitlich bei einer MHK von 4 mg/l. Werden jedoch die Grenzkonzentrationen nach DIN [7] oder

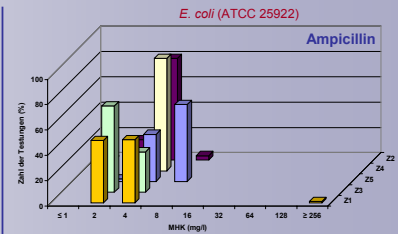


Abb. 3 MHK-Verteilungen von *Escherichia coli* (ATCC 25922) für Ampicillin. Beobachtungszeitraum: 1. Halbjahr 2003. Z1 – Z5: Zentrum 1 – 5.

NCCLS [8] angelegt, so befinden sich auch alle Testergebnisse dieser Zentren innerhalb des zulässigen Konzentrationsbereiches. Diese Ergebnisse der Kontrollstammtestungen belegen die hohe, einheitliche Qualität der täglichen Laborarbeit in den GENARS-Zentren.

Eine weitere Möglichkeit die Testqualität der einzelnen Zentren zu überprüfen besteht in dem Vergleich der MHK-Verteilungen von klinischen Isolationen. So sind in der Abb. 4 für sechs Kliniken die MHK-Verteilungen von *Escherichia coli* für Cefuroxim aufgetragen. Die völlig gleichartigen Verteilungen der natürlichen Population mit einem deutlichen Modalwert bei einer MHK von 4 mg/l belegen den hohen, und absolut vergleichbaren qualitativen Standard, den die GENARS-Teilnehmer erzielt haben.

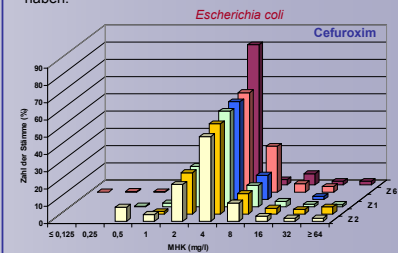


Abb. 4 MHK-Verteilungen von *Escherichia coli* für Cefuroxim und sechs Zentren (Z1 – Z6) gemessene Konzentrationsbereiche:
Z1 – Z4: 0,5 mg/l – 64 mg/l
Z5: 1 mg/l – 64 mg/l
Z6: 0,125 mg/l – 32 mg/l

ZUSAMMENFASSUNG

Alle GENARS-Teilnehmer ermitteln in der täglichen Laborroutine für alle klinischen Isolate die Empfindlichkeit bakterieller Erreger gegenüber Antifaktiva durch Bestimmungen der minimalen Hemmstoffkonzentration (MHK). Die durch diese Methode gewonnenen unvalidierten resistenzevidenzologischen Daten werden zum Zweck der Resistenzüberwachung einer zentralen Datenbank zugeführt. Die regelmäßige Testung von Kontrollstämmen in jedem teilnehmenden Labor sichert den hohen qualitativen Standard. Auswertungen der Kontrollstammtestungen und der Vergleich der Zentren anhand der MHK-Verteilungen von klinischen Isolationen belegen für jedes einzelne Zentrum und damit für das gesamte Projekt einen hohen Qualitätsstandard.

LITERATUR

- Hunter P and Reeves DS. The current status of surveillance of resistance to antimicrobial agents: report on a meeting. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (2002); 49: 17-23.
- Lewis D. Antimicrobial resistance surveillance: methods will depend on objectives. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (2002); 49: 3-5.
- Masteron RG. Surveillance studies: how can they help the management of infection. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (2000); 46: 53-58.
- Deutsches Institut für Normung e.V. Empfindlichkeitsprüfung von mikrobiellen Krankheitserregern gegen Chemotherapeutika (2002). Teil 8: Mikrodilution – Allgemeine methodenspezifische Anforderungen. DIN 58940-8. Berlin: Beuth Verlag GmbH.
- National Committee of Clinical Laboratory Standards (2000). Methods for dilution of antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. NCCLS document M7 – A5.
- Huppertz K, Wiedemann B. GENARS-Projekt etabliert. *Chemotherapie Journal* 2000;9:200-12.
- Deutsches Institut für Normung e.V. Methoden zur Empfindlichkeitsprüfung von mikrobiellen Krankheitserregern gegen Chemotherapeutika. Teil 4: Bewertungsstufen der minimalen Hemmkonzentration; Beiblatt 1: MHK-Grenzwerte von antibakteriellen Wirkstoffen. DIN 58940-4, Bbl 1. Berlin: Beuth Verlag, 2003.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards, Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twelfth informational supplement. NCCLS document M100-S12, 2002.