

Typisierungsverfahren in der Infektionsepidemiologie

Thomas A. Wichelhaus, Volker Schäfer und Volker Brade*, Frankfurt

Im Rahmen der Infektionsüberwachung insbesondere nosokomialer Krankheitserreger stellt die Bakterien-Typisierung ein wesentliches Element dar, um die Verwandtschaft von Isolaten darstellen, Infektionsketten aufdecken und in der Folge entsprechende infektionshygienische Maßnahmen einleiten zu können. Dieser Artikel soll eine Übersicht der phänotypischen und genotypischen Methoden liefern, die eine Typisierung von Erregern in der Infektionsüberwachung erlauben. Die Grundprinzipien der Methoden werden beschrieben und die Schwächen und Stärken der einzelnen Typisierungsverfahren erläutert.

Schlüsselwörter: Typisierung, Epidemiologie

Bacterial-typing within the context of epidemiological investigation of nosocomial infections is of paramount importance for assessing the relatedness of isolates as well as demonstrating the chain of infections and, consequently, for the implementation of appropriate infection control measures. The purpose of this article is to review phenotypic and genotypic typing methods that have been applied in infection control epidemiology. The basic principles of the methods are described and the strengths and weaknesses outlined.

Keywords: Typing, epidemiology

Typisierungsverfahren sind ein wichtiges Instrument bei der infektionsepidemiologischen Untersuchung insbesondere nosokomialer Krankheitserreger. Nosokomiale Infektionen haben einen wesentlichen Anteil an Morbidität und Mortalität im Krankenhaus und führen darüber hinaus zu einem beträchtlichen finanziellen Aufwand, der unter anderem durch verlängerte Liegezeiten und erhöhten Antibiotika-Verbrauch bedingt ist [8, 16]. Ein wesentliches Ziel der Infektionsüberwachung ist es, nosokomiale Infektionen zu verhindern und insbesondere Infektionsausbrüche zu kontrollieren. In diesem Zusammenhang ist die Zunahme Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* (MRSA)-Stämme im Rahmen Krankenhaus-assoziiertes Infektionen zu erwähnen, die ein ernst zu nehmendes hygienisches und infektionsepidemiologisches Problem mit sich bringt [8, 26]. Da Multi- und Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus*-Stämme häufig zu Ausbrüchen insbesondere auf Intensivstationen führen, ist zum Schutz des Patienten und nicht zuletzt auch aus Gründen der Kostenersparnis und der Forensik eine Infektionsüberwachung

dringend geboten [29]. Einen wesentlichen Beitrag in diesem Zusammenhang liefert die Erreger-Typisierung, um epidemische von sporadisch auftretenden Stämmen zu differenzieren und Infektionsketten sowie Streuquellen aufdecken zu können [1, 4].

Dieser Artikel soll eine Übersicht der verschiedenen Typisierungsverfahren liefern sowie auf Vor- und Nachteile der einzelnen Methoden hinweisen.

Typisierungsverfahren lassen sich grundsätzlich zwei Kategorien zuordnen:

- phänotypischen Methoden und
- genotypischen Methoden (Tab. 1, 2).

Phänotypisierung beinhaltet die Charakterisierung des Erregers nach seinem Erscheinungsbild wie Antibiotika-Empfindlichkeit oder biochemischen Reaktionen. Ein genereller Nachteil phänotypischer Methoden begründet sich in der häufig variablen Expression der Genprodukte. Änderungen in den bakteriellen Wachstumsbedingungen wie Temperatur, Mediumzusätze oder pH können Änderungen im Expressionsverhalten und somit im Phänotyp bedingen.

Genotypisierung andererseits erlaubt eine Analyse der genomischen Struktur

Tab. 1. Phänotypische Methoden

- Biotypisierung
- Antibiotika-Resistenzprofil
- Serotypisierung
- Lysotypie (Phagentypisierung)
- Proteintypisierung (Immunoblotting)
- Multilocus-Enzym-Elektrophorese

Tab. 2. Genotypische Methoden

- Plasmid-Analyse
- Restriktionsendonuclease-Analyse chromosomaler DNS (REA)
- Ribotypisierung
- Pulsfeld-Gelelektrophorese (PFGE)
- PCR-Restriktions-Fragment-Längen-Poly-morphismus (PCR-RFLP)
- Random amplified polymorphic DNA (RAPD)
- PCR basierend auf repetitiven chromosomalen Elementen (Rep-PCR)
- Amplifizierter Fragment-Längen-Poly-morphismus (AFLP)
- Sequenzierung

und ermöglicht es, über DNS-Polymorphismen Erreger zu differenzieren. In der Bewertung von Typisierungsverfahren haben sich die in Tabelle 3 aufgeführten Primär- und Sekundärkriterien als sinnvoll erwiesen. Die zu untersuchenden Stämme müssen typisierbar sein, das

*Prof. Dr. med. Hans Knothe zum 80. Geburtstag gewidmet

Für die Verfasser:

Dr. Thomas A. Wichelhaus, Institut für Medizinische Mikrobiologie, Klinikum der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität, Paul-Ehrlich-Str. 40, 60596 Frankfurt

Tab. 3. Kriterien zur Bewertung von Typisierungsverfahren

Primärkriterien

- Typisierbarkeit
- Reproduzierbarkeit
- Diskriminierungspotential

Sekundärkriterien

- Interpretierbarkeit
- Praktikabilität
- Kosteneffektivität
- Automatisierung

heißt, ein eindeutiges positives Ergebnis in der Analyse erbringen. Die Reproduzierbarkeit soll gewährleisten, dass ein und dasselbe Ergebnis erzielt wird, wenn

der Erreger zu verschiedenen Zeiten analysiert wird. Diskriminierungspotential meint die Eigenschaft, epidemiologisch nicht verwandte Stämme als solche zu erkennen und differenzieren zu können. Daneben bewerten Sekundärkriterien die Leichtigkeit der Interpretation der Ergebnisse und der Durchführbarkeit der Methode, den Kostenaufwand und letztlich den Grad der Automatisierung und Standardisierung.

Phänotypische Methoden

Biotypisierung

Die Untersuchung von biochemischen Stoffwechselleistungen (z. B. Kohlenhydratabbau) dient primär der Charakterisierung der Bakterien auf Genus- und Speziesebene. Die Unterteilung einer Spezies in so genannte Biotypen aufgrund des biochemischen Profils ist

nur bedingt möglich und erklärt die schlechte diskriminative Fähigkeit dieser Methode [9].

Antibiotika-Resistenzprofil

Das Antibiogramm stellt das Empfindlichkeitsmuster eines bakteriellen Erregers gegenüber einer Reihe von Antibiotika dar; eine weit verbreitete und standardisierte Methode, die schnell, preiswert und einfach in der Durchführung Hinweise auf Charakteristika eines Bakterienstammes gibt. Für epidemiologische Untersuchungen ist dieses Verfahren nur bedingt von Bedeutung, da einerseits verschiedene Stämme häufig das gleiche Resistenzprofil aufzeigen und andererseits verwandte Stämme durch den Verlust oder Erwerb von Resistenzdeterminanten auf mobilen genetischen Elementen (z. B. Plasmiden, Transposons) unterschiedliche Empfindlichkeitsmuster exprimieren können [2, 9].

Serotypisierung

Die Serotypisierung basiert auf dem Nachweis antigener Determinanten auf der Bakterienzelloberfläche mit sowohl poly- als auch monoklonalen Antikörpern. Eine Vielzahl von Oberflächenstrukturen wie Lipopolysaccharide, Kapselpolysaccharide oder Membranproteine zeigen antigene Variationen innerhalb einer Bakterienspezies und erlauben somit eine Differenzierung, wie es beispielsweise im Kauffmann-White-Schema bei der Typisierung von Salmonellen eindrucksvoll dargestellt ist. Die Methode ist relativ einfach durchzuführen, jedoch kann die Bereitstellung von Antikörperreagenzien hoher Qualität mit einem erheblichen Kostenaufwand verbunden sein. Darüber hinaus zeigt die Serotypisierung einer Vielzahl von Erregern (z. B. *S. aureus*) lediglich ein geringes diskriminatives Potential, da zum einen nicht alle Stämme typisierbar und zum anderen die Mehrzahl der Stämme häufig nur einem dominanten Serotyp zuzuordnen sind [10].

Lysotypie

Die Phagentypisierung beruht auf der Eigenschaft von Bakterienviren (Phagen), spezifisch bestimmte Stämme einer Bakterienspezies zu lysieren. Durch den Einsatz einer Vielzahl verschiedener Phagen (z. B. internationaler Phagensatz plus Zusatzphagen bei der Lysotypie von *S. aureus*) lassen sich über das Phagenrezeptor- bzw. Lysismuster Isolate charakteri-

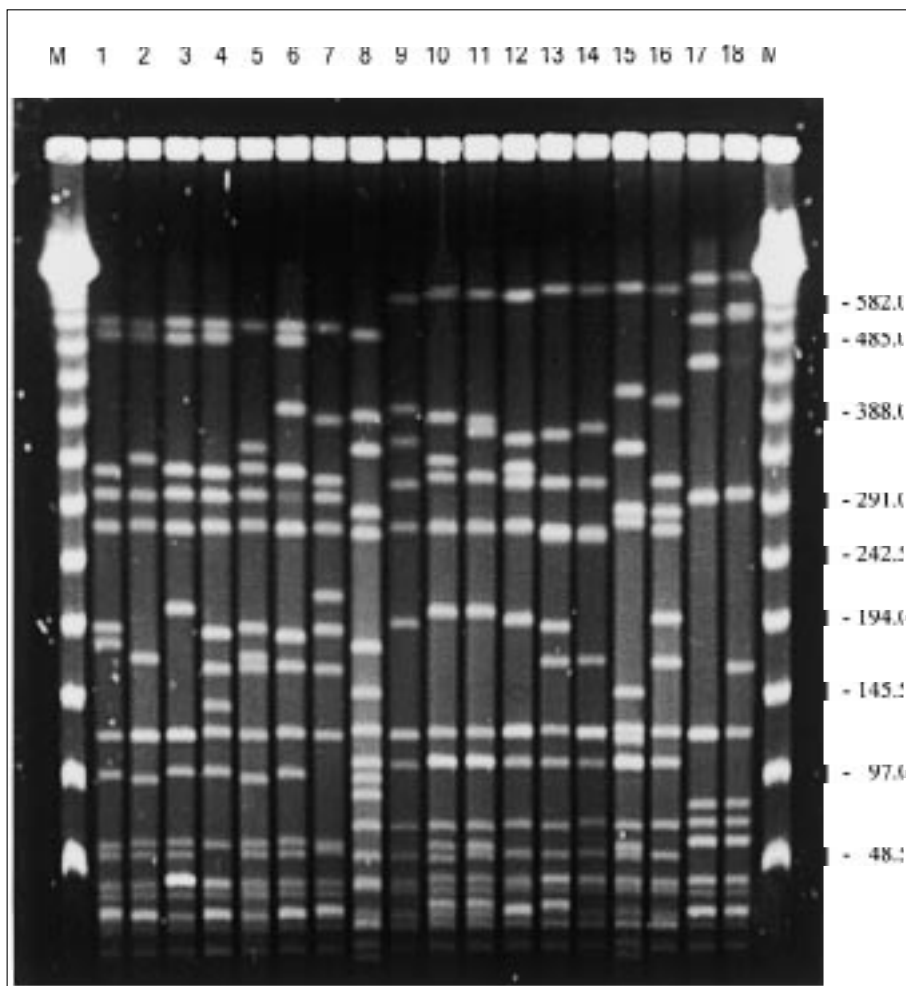


Abb. 1. Pulsfeld-gelelektrophoretische Auftrennung chromosomaler DNS nach Restriktionsspaltung mit *Sma*I. Klonale Heterogenität des MRSAs in einer Frankfurter Klinik. Spur 1-18: MRSA-Isolate von verschiedenen Patienten; Spur M: Größenmarker (in Kilobasen)

sieren. Ein hohes Maß an Erfahrung in der Durchführung und Interpretation sowie eine strenge Qualitätskontrolle der biologischen Reagenzien sind von wesentlicher Bedeutung, um die Reproduzierbarkeit der Lysotypie zu gewährleisten [11, 13].

Proteintypisierung (Polyacrylamid-Gelelektrophorese/ Immunoblotting)

Das spezifische Proteinmuster, das von einem Bakterienstamm exprimiert wird, kann zu dessen Typisierung herangezogen werden. Bei dieser Methode werden Proteine und andere bakterielle Produkte nach Zellaufbereitung mit Natrium-Dodecylsulfat-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (SDS-PAGE) aufgetrennt. Die anschließende Färbung der Proteinbanden ermöglicht eine Charakterisierung des Proteinmusters. Eine Variante stellt das Immunoblotting dar, bei dem die aufgetrennten bakteriellen Produkte zunächst auf eine Nitrocellulose-Membran transferiert und anschließend mit spezifischen Antisera detektiert werden [13].

Multilocus-Enzym-Elektrophorese (MLEE)

Die gelelektrophoretische Auftrennung von Enzymen und deren colorimetrische Darstellung durch spezifische Substrate ist das wesentliche Prinzip der MLEE-Typisierung. Abweichungen in der Aminosäuresequenz eines Enzyms bedingen eine unterschiedliche Mobilität in der Elektrophorese und deuten auf einen varianten elektrophoretischen Typ des Erregers hin [18].

Genotypische Methoden

Plasmid-Analyse

Plasmide sind selbst replizierende, extrachromosomale, mobile genetische Elemente, die zwischen Bakterien ausgetauscht werden können. Die gelelektrophoretische Auftrennung der Plasmide nach ihrer Größe und Anzahl erlaubt eine Typisierung des Erregers [12]. Das diskriminatorische Potential dieser Methode kann durch den Einsatz spezifischer, DNS-spaltender Enzyme, so genannter Restriktionsendonucleasen, optimiert werden [23]. Die Charakterisierung der entstandenen Restriktionsfragmente nach

tionsendonuclease-Analyse (REA) bezeichnet. Die Plasmid-Analyse ist eine einfach und schnell durchzuführende Methode, die verständlicherweise nur bei Erregern anwendbar ist, die über Plasmide verfügen.

Restriktionsendonuclease-Analyse (REA) chromosomaler DNS

Bei dieser Methode wird in Analogie zur Plasmid-Analyse die chromosomale DNS mit einer Restriktionsendonuclease verdaut und die Separation der Fragmente über eine Agarose-Gelelektrophorese ermöglicht. Die Anzahl der entstehenden Banden hängt hierbei von der Erkennungssequenz des Enzyms und vom spezifischen Aufbau der DNS eines Bakterienstammes ab. Das erzeugte Bandenmuster, welches eine Differenzierung zwischen verschiedenen Stämmen aufgrund der unterschiedlichen Anzahl und Größe der Fragmente erlaubt, wird auch als Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP) bezeichnet [3]. In der Regel werden jedoch so viele Fragmente erzeugt, dass die Auswertung über die konventionelle Gelelektrophorese nur

bedingt möglich ist. Weiterentwickelte Methoden, die auf dem Prinzip der REA basieren, aber eine bessere Reproduzierbarkeit und ein höheres diskriminatorisches Potential mit sich bringen, sind die Pulsfeld-Gelelektrophorese (PFGE) und Verfahren, die auf dem Einsatz von Sonden beruhen, wie zum Beispiel die Ribotypisierung.

Ribotypisierung

Der Einsatz von spezifischen DNS-Sonden, die chemilumineszent oder Enzymmarkiert sind, erleichtert die Analyse von RFLPs und erhöht die Differenzierungsfähigkeit zwischen verschiedenen Bandenmustern. Hierzu wird die restringierte DNS nach Auftrennung in der Gelelektrophorese auf eine Nitrocellulose-Membran transferiert (Southernblot) und mit der Sonde hybridisiert. Die Sonde bindet spezifisch nur an komplementäre DNS-Bereiche und visualisiert so einzelne DNS-Fragmente. Von Ribotypisierung spricht man, wenn die Sonde gegen DNS gerichtet ist, die für die ribosomale RNS kodiert [4]. Je größer die Verwandtschaft zwischen zwei Bakterienstämmen ist,

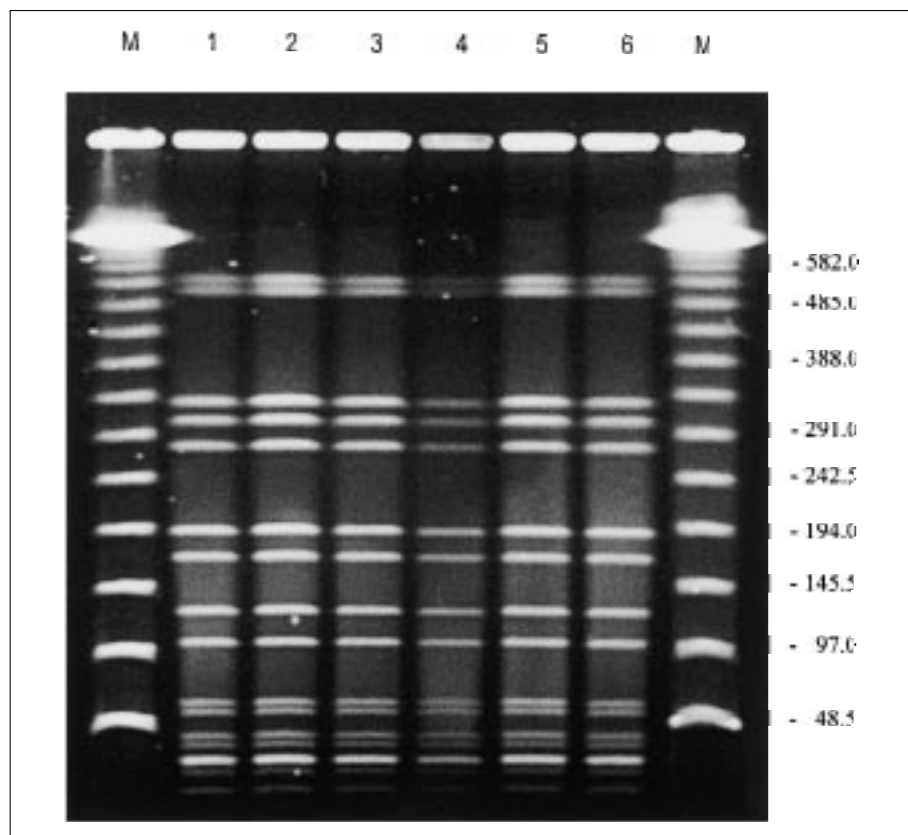


Abb. 2. Pulsfeld-gelelektrophoretische Auftrennung chromosomaler DNS nach Restriktionspaltung mit *SmaI*. Klonale Homogenität auf einer Intensivstation während einer MRSA-Epidemie. Spur 1-6: MRSA-Isolate von verschiedenen Patienten; Spur M: Größenmarker (in Kilobasen).

Tab. 4. Charakteristika phänotypischer Typisierungsverfahren [nach 1, 14, 22, 28]

Method	Typisierbarkeit (Anteil typisierbarer Stämme)	Reproduzierbarkeit	Diskriminierungspotential	Vorteile	Nachteile
Biotypisierung	Alle	Mäßig	Gering	<ul style="list-style-type: none"> ● Preiswert ● Kommerzielle Systeme 	<ul style="list-style-type: none"> ● Geringe Diskriminierung
Antibiotika-Resistenzprofil	Alle	Gut	Gering	<ul style="list-style-type: none"> ● Leichte Interpretation ● Standardisiertes Verfahren ● Einfache Durchführung ● Preiswert 	<ul style="list-style-type: none"> ● Geringe Diskriminierung
Serotypisierung	Variabel	Gut	Mäßig	<ul style="list-style-type: none"> ● Relativ einfache Durchführung 	<ul style="list-style-type: none"> ● Geringe Diskriminierung
Lysotypie	Variabel	Gut bis mäßig	Gut bis mäßig	<ul style="list-style-type: none"> ● Standardisiertes Verfahren 	<ul style="list-style-type: none"> ● Aufwendige Durchführung ● Referenzlaboratorien vorbehalten ● Interpretation häufig schwierig
Proteintypisierung	Alle	Gut	Mäßig	<ul style="list-style-type: none"> ● Relativ einfache Durchführung ● Preiswert 	<ul style="list-style-type: none"> ● Kaum angewandte Methode ● Interpretation häufig schwierig
Multilocus-Enzym-Elektrophorese	Alle	Gut	Gut	<ul style="list-style-type: none"> ● Einfache Interpretation 	<ul style="list-style-type: none"> ● Kaum angewandte Methode ● Relativ aufwendige Durchführung

desto höher ist die Wahrscheinlichkeit, dass die durch die Sonde erkannten Sequenzen gleichermaßen im Genom verteilt sind und identische Bandenmuster in der RFLP-Analyse sichtbar werden. Spezifische Sonden können für eine Vielzahl von DNS-Bereichen generiert werden, sinnvollerweise für solche, die häufig im Genom an verschiedenen Stellen verteilt sind. Werden Sonden verwendet, die gegen Insertionselemente (IS), mobile transposable DNS, gerichtet sind, spricht man auch von IS-Typisierung [20].

Pulsfeld-Gelelektrophorese (PFGE)

Die konventionelle Gelelektrophorese beruht auf der Auftrennung verschieden großer DNS-Moleküle über ein unidirektionales Spannungsfeld und erlaubt so die Analyse von Restriktionsfragmenten bis zu einer Größe von etwa 30 Kilobasen (kb). Größere Fragmente bis zu 1000 kb können erst durch den häufig alternierenden Richtungswechsel im multidirektionalen Spannungsfeld der PFGE dargestellt werden. Bei dieser Methode müssen zur Gewährleistung der Reproduzierbarkeit die Bakterien zunächst in Agarose eingebettet werden, um die frei-

zusetzende DNS vor Scherkräften und somit unspezifischer Restriktion zu bewahren. Im Folgenden kann dann die Zellwand lysiert und die freigelegte DNS mit einer selten schneidenden Endonuclease restringiert werden, so dass etwa 15 bis 20 relativ große DNS-Fragmente entstehen. In der Pulsfeld-Gelelektrophorese erlaubt nun das in verschiedene Richtungen wechselnde Spannungsfeld kleineren Fragmenten eine schnellere Orientierung als großen Molekülen. Daraus folgt, dass kleinere Fragmente schneller durch die Gelmatrix wandern als größere und so eine effiziente Auftrennung der DNS erfolgt [15]. Die PFGE zeichnet sich durch ihr hohes diskriminatorisches Potential und gute Reproduzierbarkeit aus. Bestehende Richtlinien zur Interpretation von PFGE-Restriktionsprofilen sowie die Generierung einer überschaubaren Anzahl von Fragmenten durch die selten schneidende Endonuclease erlauben darüber hinaus eine relativ einfache Analyse der RFLPs [6, 21]. Der Nachteil der Methode ist im technischen und zeitlichen Aufwand (je nach Protokoll 4 bis 7 Tage) und den hohen Anschaffungskosten der Geräte zu sehen.

Abbildung 1 verdeutlicht die klonale Heterogenität von MRSA-Isolaten in einer Frankfurter Klinik. Demgegenüber veranschaulicht Abbildung 2 die klonale Homogenität der MRSA-Isolate von Patienten einer Intensivstation und somit die Infektionskette, die hier unterhalten wurde.

PCR-Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (PCR-RFLP)

Amplifizierte DNS-Bereiche, die im Vergleich verschiedener Stämme einer Bakterienspezies einen variablen Aufbau zeigen, können mit Restriktionsenzymen verdaut und die erzeugten Fragmente mit der Gelelektrophorese separiert werden. Unterschiede im Restriktionsmuster gehen einher mit Sequenzvariationen im Bereich der amplifizierten DNS und erlauben somit eine Differenzierung zwischen den Stämmen [27].

Random amplified polymorphic DNA (RAPD)

Die „zufällige“ Amplifikation von DNS (RAPD), auch als „arbitrarily primed PCR“ (AP-PCR) bezeichnet, kann als

Tab. 5. Charakteristika genotypischer Typisierungsverfahren [nach 1, 14, 22, 28]

Method	Typisierbarkeit (Anteil typisierbarer Stämme)	Reproduzierbarkeit	Diskriminierungspotential	Vorteile	Nachteile
Plasmid-Analyse	Variabel	Gut	Mäßig	<ul style="list-style-type: none"> ● Einfache Durchführung ● Preiswert 	<ul style="list-style-type: none"> ● Plasmide sind instabile genetische Elemente
Restriktionsenzym-Analyse (REA)	Alle	Mäßig bis gut	Gut	<ul style="list-style-type: none"> ● Einfache Durchführung ● Schnell ● Preiswert 	<ul style="list-style-type: none"> ● Schwierige Interpretation
Ribotypisierung	Alle	Gut	Gut	<ul style="list-style-type: none"> ● Relativ einfache Interpretation 	<ul style="list-style-type: none"> ● Aufwendige Durchführung
Pulsfeld-Gelelektrophorese (PFGE)	Alle	Gut	Exzellent	<ul style="list-style-type: none"> ● Relativ einfache Interpretation 	<ul style="list-style-type: none"> ● Aufwendige Durchführung ● Relativ kostenintensive Apparatur notwendig
PCR-RFLP	Alle	Gut	Mäßig bis gut	<ul style="list-style-type: none"> ● Einfache Durchführung ● Preiswert ● Einfache Interpretation 	<ul style="list-style-type: none"> ● Kaum angewandte Methode
RAPD	Alle	Mäßig	Gut bis exzellent	<ul style="list-style-type: none"> ● Schnell ● Preiswert 	<ul style="list-style-type: none"> ● Relativ schwierige Interpretation ● Viele Variablen beeinflussen die Reproduzierbarkeit
Rep-PCR	Alle	Gut	Gut	<ul style="list-style-type: none"> ● Schnell ● Preiswert 	<ul style="list-style-type: none"> ● Relativ schwierige Interpretation
AFLP	Alle	Gut	Gut	<ul style="list-style-type: none"> ● Relativ einfache Interpretation 	<ul style="list-style-type: none"> ● Relativ aufwendige Durchführung
Sequenzierung	Alle	Gut	Exzellent	<ul style="list-style-type: none"> ● Relativ einfache Interpretation 	<ul style="list-style-type: none"> ● Relativ aufwendige Durchführung ● Relativ kostenintensive Apparatur notwendig

Typisierungsverfahren für epidemiologische Fragestellungen verwandt werden. Die Methode basiert auf dem Einsatz eines kurzen Primers, dessen Sequenz nicht spezifisch gegen ein bekanntes Target-Gen gerichtet ist und der somit „zufällig“ an verschiedene Bereiche im Genom hybridisieren kann. Wenn zwei dieser Bereiche nahe genug benachbart liegen, kann die dazwischen liegende Sequenz amplifiziert und in der Gelelektrophorese visualisiert werden. Die erzeugten Bandenmuster oder DNS-Fingerprints unterscheiden sich entsprechend dem Grad der Verwandtschaft der untersuchten Stämme [17, 25]. Die RAPD ist schnell und ohne größeren Zeitaufwand durchzuführen. Probleme dieser Methode werden von vielen Autoren in der Re-

produzierbarkeit und der Schwierigkeit der Interpretation gesehen [24].

PCR basierend auf repetitiven chromosomalen Elementen (Rep-PCR)

Repetitive chromosomale Elemente, die zufällig verteilt im Bakterienchromosom vorliegen, sind Zielstruktur dieser PCR-basierten Methode. Wenn zwei dieser Elemente nahe genug beieinander liegen, kann der dazwischen liegende DNS-Bereich amplifiziert werden. Da die Anzahl und Lokalisation der repetitiven Elemente von Stamm zu Stamm variabel ist, können die mit der Rep-PCR ermittelten verschieden großen und verschieden zahlreichen Banden zur Differenzierung herangezogen werden [7].

Amplifizierter Fragment-Längen-Polymorphismus (AFLP)

Dieses Typisierungsverfahren beruht auf der selektiven Amplifikation bestimmter DNS-Fragmente, die mittels Restriktionsverdau der Erreger-DNS generiert wurden. Initial wird die chromosomale DNS mit einer häufig schneidenden Endonuclease restringiert (z. B. *HindIII*) und anschließend die Fragmente mit speziell generierten Adaptor-nucleinsäuren ligiert. Primer, die sich komplementär zur Adaptorsequenz verhalten und am 3'-Ende zusätzlich selektive Basen aufweisen, ermöglichen dann die Amplifikation spezifischer Fragmente. Die Amplifikationsprodukte werden schließlich in der Gelelektrophorese separiert und das Bandenmuster analysiert [19].

Sequenzierung

Da alle genotypischen Methoden zur Differenzierung von Subtypen letztlich auf Unterschieden in der DNS-Sequenz beruhen, erscheint das Verfahren der DNS-Sequenzierung als direktester und geeignetster Weg in der Diskriminierung von Bakterienstämmen. Die DNS-Sequenzierung beginnt in der Regel mit der Amplifikation einer Targetsequenz, an die sich die Sequenzierungsreaktion des PCR-Produkts anschließt. Aus arbeitstechnischen und zeitlichen Gründen kann die Sequenzierung nur für einen relativ kleinen DNS-Bereich des Chromosoms durchgeführt werden. Dies bedeutet wiederum, dass eine Beurteilung der gesamten chromosomalen DNS, wie es bei der Methode der PFGE, Rep-PCR oder RAPD der Fall ist, nicht erfolgen kann. Darüber hinaus muss der zu sequenzierende DNS-Bereich verschiedenen Kriterien gerecht werden, um zur Stammdifferenzierung Verwendung zu finden. Der DNS-Bereich muss eine variable Region aufweisen, die von hoch konservierten Regionen flankiert ist, um die Typisierung sämtlicher Stämme einer Spezies zu ermöglichen. Die Variabilität innerhalb des sequenzierten Bereiches muss ausgeprägt sein, um verschiedene Stämme diskriminieren zu können. Letztlich sollte der DNS-Bereich nicht horizontal auf andere Stämme transferierbar sein, um die Stammspezifität dieser Region zu gewährleisten.

Eine Vielzahl von phänotypischen und genotypischen Methoden ermöglichen in der Infektionsepidemiologie eine Erregertypisierung. Welcher Methode letztlich der Vorzug gegeben wird, hängt nicht zuletzt von der Material- und Gerätekapazität und der personellen Ausstattung ab, die dem Labor zur Verfügung stehen. Eine Übersicht der Charakteristika der einzelnen Typisierungsverfahren sowie Vor- und Nachteile, die mit diesen Methoden verbunden sind, enthalten die Tabellen 4 und 5.

Nosokomiale Infektionserreger bedürfen einer strengen Überwachung im Rahmen der Infektionsepidemiologie, um präventiv Krankenhaus-assoziierte Infektionen zu kontrollieren. Die Anwendung molekularer Methoden in der Typisierung nosokomialer Infektionserreger, insbesondere MRSA, ermöglicht es in der Regel zuverlässig und schnell Infektionsketten aufzudecken und in der Folge hygienische Maßnahmen einzuleiten. Typisierungsergebnisse dürfen dabei jedoch

nie allein beurteilt werden, sondern müssen immer im Zusammenhang mit klinischen und epidemiologischen Untersuchungen gesehen und analysiert werden, um eine effektive Infektionsüberwachung zu gewährleisten.

Literatur

- Arbeit RD. Laboratory procedures for the epidemiologic analysis of microorganisms. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, et al., editors. *Manual of clinical microbiology*. Washington, D.C.: American Society for Microbiology, 1995:190-208.
- Back NA, Linnemann CC Jr, Pfaller MA, Stanek JL, et al. Recurrent epidemics caused by a single strain of erythromycin-resistant *Staphylococcus aureus*: the importance of molecular epidemiology. *JAMA* 1993;270:1329-33.
- Bialkowska-Hobrazanska H, Harry V, Jaskot D, Hammerberg O. Typing of coagulase-negative staphylococci by southern hybridization of chromosomal DNA fingerprints using a ribosomal RNA probe. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1990;9:588-94.
- Blumberg HM, Rimland D, Kiehlbauch JA, Terry PM, et al. Epidemiologic typing of *Staphylococcus aureus* by DNA restriction fragment length polymorphisms of rRNA genes: elucidation of the clonal nature of a group of bacteriophage-nontypeable, ciprofloxacin-resistant, methicillin-susceptible *S. aureus* isolates. *J Clin Microbiol* 1992;30:362-9.
- Busch U, Nitschko H. Methods for the differentiation of microorganisms. *J Chromatogr B* 1999;722:263-78.
- Claus H, Cuny C, Pasemann B, Witte W. Ein Datenbanksystem für Fragmentmuster der genomischen DNS von *Staphylococcus aureus*. *Bundesgesundheitsblatt* 1996;2:68-74.
- Del Vecchio VG, Petroziello JM, Gress MJ, McCleskey FK, et al. Molecular genotyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* via fluorophore-enhanced repetitive-sequenced PCR. *J Clin Microbiol* 1995;33:2141-4.
- Emori TG, Gaynes RP. An overview of nosocomial infections, including the role of the microbiology laboratory. *Clin Microbiol Rev* 1993;6:428-42.
- Hamilton-Miller JM, Maple PA. Antibigram typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a comparison with phage typing and API Staph. *Zentralbl Bakteriol* 1993;279:214-24.
- Karakawa WW, Fournier JM, Vann WF, Arbeit R, et al. Method for the serological typing of the capsular polysaccharides of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 1985;22:445-7.
- Lenz W. Die Staphylokokken-Lysotypie als epidemiologisches Werkzeug. *Hyg Med* 1991;16:197-214.
- McGowan JE Jr, Terry PM, Huang TS, Houk CL, et al. Nosocomial infections with gentamicin-resistant *Staphylococcus aureus*: plasmid analysis as an epidemiologic tool. *J Infect Dis* 1979;140:864-72.
- Mulligan ME, Kwok RYY, Citron DM, John JF Jr, et al. Immunoblots, antimicrobial resistance, and bacteriophage typing of oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 1988;26:2395-401.
- Olive DM, Bean P. Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organisms. *J Clin Microbiol* 1999;37:1661-9.
- Prevost G, Pottecher B, Dahlet M, Bientz M, et al. Pulsed field gel electrophoresis as a new epidemiological tool for monitoring methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an intensive care unit. *J Hosp Infect* 1991;17:255-69.
- Rubin RJ, Harrington CA, Poon A, Dietrich K, et al. The economic impact of *Staphylococcus aureus* infection in New York City hospitals. *Emerg Infect Dis* 1999;5:9-17.
- Schmitz FJ, Steiert M, Tichy HV, Hofmann B, et al. Typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from Düsseldorf by six genotypic methods. *J Med Microbiol* 1998;47:341-51.
- Selander RK, Caugant DA, Ochman H, Musser JM, et al. Methods of multilocus enzyme electrophoresis for bacterial population genetics and systematics. *Appl Environ Microbiol* 1986;51:873-84.
- Sloos JH, Janssen P, van Boven CPA, Dijkshoorn AFLP typing of *Staphylococcus epidermidis* in multiple sequential blood cultures. *Res Microbiol* 1998;149:221-8.
- Tenover FC, Arbeit R, Archer G, Biddle J, et al. Comparison of traditional and molecular methods of typing isolates of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 1994;32:407-15.
- Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol* 1995;33:2233-9.
- Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV. How to select and interpret molecular strain typing methods for epidemiological studies of bacterial infections: a review for healthcare epidemiologists. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1997;18:426-39.
- Trilla A, Nettleman MD, Hollis RJ, Fredrickson M, et al. Restriction endonuclease analysis of plasmid DNA from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: clinical application over a three-year period. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1993;14:29-35.
- Tyler KD, Wang G, Tyler SD, Johnson WM. Factors affecting reliability and reproducibility of amplification-based DNA fingerprinting of representative bacterial pathogens. *J Clin Microbiol* 1997;35:339-46.
- Van Belkum A, Kluytmans J, van Leeuwen W, Bax R, et al. Multicenter evaluation of arbitrarily primed PCR for typing of *Staphylococcus aureus* strains. *J Clin Microbiol* 1995;33:1537-47.
- Vincent JL, Bihari DJ, Suter PM, Bruining HA, et al. The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. *JAMA* 1995;274:639-44.
- Walker J, Borrow R, Edwards-Jones V, Oppenheim BA, et al. Epidemiological characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated in the North West of England by protein A (spa) and coagulase (coa) gene polymorphisms. *Epidemiol Infect* 1998;121:507-14.
- Weber S, Pfaller MA, Herwaldt LA. Role of molecular epidemiology in infection control. *Infect Dis Clin North Am* 1997;11:257-78.
- Wichelhaus TA, Westphal K, Kessler P, Schäfer V, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: risk factors of infection/colonisation and clonal heterogeneity in an intensive care unit. *Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 1998;33:497-500.