

Aus dem
Institut für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene
der Medizinischen Fakultät
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

**Surveillance Vancomycin-resistenter Enterokokken
am Universitätsklinikum Magdeburg**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

Dr. med.

(doctor medicinae)

an der Medizinischen Fakultät
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

vorgelegt von

Marius Post

aus

Salzbergen

Magdeburg 2019

Bibliographische Beschreibung:

Post, Marius:

Surveillance Vancomycin-resistenter Enterokokken

am Universitätsklinikum Magdeburg

Magdeburg. – 2019. – 81 S., 213 Lit., 28 Abb., 22 Tab.

Kurzreferat:

Weltweit und auch in Deutschland nehmen Vancomycin-resistente Enterokokken in Krankenhäusern zu. In der vorliegenden Arbeit wurde im Zeitraum 2013 bis 2015 die Zunahme von VRE bei Patienten des Universitätsklinikums Magdeburg (UKMD) untersucht.

Im Rahmen der Untersuchung wurden alle Patienten mit einem positiven VRE-Nachweis erfasst und Liegezeiten, Art des Probenmaterials, Geschlecht und Alter sowie der zeitliche Verlauf der VRE-Akquirierung ausgewertet. Zusätzlich wurde von allen VRE-Isolaten der Glykopeptid-Resistenzgenotyp sowie der MLST-Sequenztyp bestimmt.

Der Vergleich der epidemiologischen Entwicklung am UKMD mit den für Deutschland verfügbaren epidemiologischen VRE-Daten für stationäre Patienten ergab am UKMD einen um circa drei Jahre verzögerten Beginn der Zunahme von VRE im Vergleich zu Gesamtdeutschland. Wie in Gesamtdeutschland war der initiale Anstieg von VRE durch den Sequenztyp ST117 dominiert. Im weiteren Verlauf etablierten sich dann weitere Sequenztypen und es kam zu einer signifikanten Zunahme des vanB-Glykopeptid-Resistenzgenotyps. Auf Basis der erhobenen Daten wurden Empfehlungen für das VRE-Hygienemanagement abgeleitet.

Schlüsselwörter:

Enterokokken, VRE, *E. faecium*, Vancomycin, MLST

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	2
Abkürzungsverzeichnis.....	5
1 Einführung.....	6
1.1 Enterokokken.....	6
1.2 Antibiotika-Resistenzen.....	6
1.2.1 Natürliche, intrinsische Resistenzen.....	6
1.2.2 Erworbene Resistenzen.....	7
1.3 Hospitalassoziierte <i>E. faecium</i> -Isolate.....	8
1.4 Infektionen.....	8
1.5 Epidemiologie.....	9
1.5.1 Populationsstrukturanalyse – Multilocus Sequence Typing.....	12
1.6 Ursachen des Anstiegs von <i>E. faecium</i> und VRE.....	13
1.7 Therapie.....	15
1.8 Bedeutung der Glykopeptid-Resistenz.....	16
1.9 Ausbreitungs- und Infektionsprävention.....	17
1.10 Ziel der Arbeit.....	18
2 Material und Methoden.....	19
2.1 Material.....	19
2.1.1 Bakterienstämme.....	19
2.1.2 Geräte.....	19
2.1.3 Verbrauchsmaterialien.....	20
2.1.4 Chemikalien, Enzyme, Kits, Reagenzien, Lösungen und Puffer.....	20
2.1.5 Kulturmedien.....	21
2.1.6 Primer.....	21
2.1.7 Software und Internetadressen.....	22
2.2 Methoden.....	22
2.2.1 Probenmaterial.....	22
2.2.2 Isolierung der DNS.....	23
2.2.3 Bestimmung des Glykopeptid-Resistenzgenotyps.....	23
2.2.4 Multilocus Sequence Typing.....	23
2.2.5 Bestimmung der Art des VRE-Erwerbs.....	29
2.2.6 Statistik.....	30
3 Ergebnisse.....	31
3.1 Untersuchungszeitraum und Herkunft der VRE-Isolate.....	31
3.2 Entnahmeort der VRE-Isolate.....	32

3.3	Geschlechts- und Altersverteilung	33
3.4	Verteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen	34
3.4.1	Verteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen innerhalb der einzelnen Fachgebiete.....	35
3.4.2	Verteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen unter den verschiedenen Materialien	36
3.5	Ergebnisse des Multilocus Sequence Typings	38
3.5.1	Verteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen in Abhängigkeit zum Sequenztyp	40
3.5.2	Einordnung der in dieser Arbeit bestimmten Sequenztypen in die <i>E. faecium</i> Populationsstruktur.....	41
3.6	Unterscheidung von nosokomial erworbenen und mitgebrachten VRE-Isolaten	44
3.6.1	Anteile nosokomial erworbener und mitgebrachter VRE-Isolate innerhalb der einzelnen Fachgebiete	45
3.6.2	Anteile nosokomial erworbener und mitgebrachter VRE-Isolate unter den verschiedenen Materialien.....	46
3.7	VRE-Raten und Ergebnisse des VRE-Screenings.....	47
3.7.1	Übersicht der VRE-positiven Patienten des UKMD und der im Rahmen dieser Arbeit untersuchten VRE-Isolate.....	47
3.7.2	VRE-Raten	49
3.7.3	Ergebnisse des VRE-Screenings	50
3.8	Analyse der VRE-Isolate von Patienten mit VRE-Infektion.....	52
3.8.1	Entnahmeort der klinischen VRE-Isolate.....	53
3.8.2	Herkunft der klinischen VRE-Isolate	54
4	Diskussion.....	55
4.1	VRE-Raten	55
4.2	Geschlechts- und Altersverteilung	57
4.3	Herkunft und Entnahmeort der VRE-Isolate.....	58
4.3.1	Herkunft der VRE-Isolate	58
4.3.2	Antibiotic Stewardship.....	60
4.3.3	Entnahmeort der VRE-Isolate	60
4.4	Verteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen	61
4.4.1	Verteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen innerhalb der einzelnen Fachgebiete.....	63
4.4.2	Verteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen unter den verschiedenen Materialien	64
4.5	Ergebnisse des Multilocus Sequence Typings	65
4.5.1	MLST-Sequenztypen	65
4.5.2	Verteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen in Abhängigkeit zum Sequenztyp	66
4.5.3	Einordnung der in dieser Arbeit bestimmten Sequenztypen in die <i>E. faecium</i> Populationsstruktur.....	67

4.5.4	Limitationen des MLST und zukünftige Entwicklung	68
4.6	Analyse des VRE-Erwerbs.....	70
4.6.1	Anteile nosokomial erworbener und mitgebrachter VRE-Isolate innerhalb der einzelnen Fachgebiete	70
4.6.2	Anteile nosokomial erworbener und mitgebrachter VRE-Isolate unter den verschiedenen Materialien.....	72
4.7	Screening.....	72
4.7.1	Screening innerhalb der einzelnen Fachgebiete	75
4.8	Epidemiologische Entwicklung nach 2015	77
4.9	Schlussfolgerung für das Hygienemanagement bei VRE	80
5	Zusammenfassung.....	81
6	Literaturverzeichnis.....	82
7	Abbildungsverzeichnis	95
8	Tabellenverzeichnis.....	96
9	Anhang	97
9.1	Tabellen zu den Resistenzraten	97
9.2	Allelkombinationen.....	99
10	Danksagung.....	100
11	Erklärung.....	101
12	Curriculum vitae.....	102

Abkürzungsverzeichnis

ARS	Antibiotika-Resistenz-Surveillance in Deutschland
BAPS	Bayesian analysis of the population structure
bp	Basenpaare
CC	Klonaler Komplex (clonal complex)
DLV	Double-Locus Variante
DNS, DNA	Desoxyribonukleinsäure, desoxyribonucleic acid
dNTPs	Desoxyribonukleosidtriphosphate
ddNTPs	Didesoxyribonukleosidtriphosphate
E.	<i>Enterococcus</i>
EARs-Net	European Antimicrobial Resistance Surveillance Network
EDTA	Ethylendiamintetraacetat (Ethylendiamintetraessigsäure)
HA	Hospitalassoziiert/-adaptiert
ITS	Intensivstation
ml	Milliliter
MLST	Multilocus Sequence Typing
MRE	Multiresistente Erreger
MRSA	Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>
n	number, Anzahl
NGS	Next-Generation Sequencing
NRZ	Nationales Referenzzentrum für Surveillance von nosokomialen Infektionen
PCR	Polymerase chain reaction, Polymerasekettenreaktion
PEG	Paul-Ehrlich-Gesellschaft
PFGE	Pulsfeldgelelektrophorese
RKI	Robert Koch-Institut
RNS/RNA	Ribonukleinsäure/ribonucleic acid
rpm	revolutions per minute/Umdrehungen pro Minute
SARI	Surveillance der Antibiotika-Anwendung und bakteriellen Resistenzen auf Intensivstationen
SLV	Single-Locus Variante
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
ST	Sequenztyp
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
TBE	Tris-Borat-Ethylendiamintetraacetat – Tris-Borat-EDTA, Pufferlösung
TLV	Triple-Locus Variante
Tris	Tris-(hydroxymethyl-)aminomethan
UKMD	Universitätsklinikum Magdeburg
UV	Ultraviolett
VRE	Vancomycin-resistente Enterokokken
VSE	Vancomycin-sensible Enterokokken
WGS	Whole-Genome Sequencing
µl	Mikroliter
ZVK	Zentraler Venenkatheter

1 Einführung

1.1 Enterokokken

Bei Enterokokken handelt es sich um grampositive, Katalase-negative, nicht sporenbildende, fakultativ anaerobe Kugelbakterien mit einer ausgesprochen hohen Umweltresistenz. Sie tolerieren pH-Werte von 4,6 bis 9,9 sowie Temperaturen zwischen 5 bis 50 °C, zudem überstehen sie Hitzebehandlungen von 60 °C für 30 Minuten, 6,5 %ige Kochsalzkonzentrationen oder 40 %ige Gallensalzkonzentrationen unbeschadet [160,16,185]. Diese Eigenschaften ermöglichen es einigen Enterokokken-Stämmen wochenlang, teils sogar monatelang auf trockenen, anorganischen Oberflächen zu überleben [164,190].

Enterokokken sind grundsätzlich als fakultativ pathogen einzustufen und gehören zur physiologischen Darmflora der Menschen und Tiere [46]. Weitere Kolonisationsorte beim Menschen sind der Urogenitaltrakt, der Perianalbereich, der Oropharynx sowie Wunden und Ulzera [168]. Die gewöhnlichen Stämme produzieren keine gewebspaltenden Enzyme oder andere Exotoxine, weshalb Enterokokken lange Zeit als harmlose intestinale Bakterien ohne klinische Relevanz betrachtet wurden [108,46].

Mittlerweile gelten manche Enterokokken-Arten jedoch als ernstzunehmende opportunistische Pathogene, die vor allem nosokomiale Infektionen verursachen (vgl. Abschnitt 1.4 – *Infektionen*) [46]. Die klinisch wichtigsten Arten in der Humanmedizin sind *E. faecalis* und *E. faecium* [193], wobei *E. faecium* ein geringeres Virulenzpotential als *E. faecalis* besitzt [189,202].

Die epidemiologischen Daten der letzten zwei Jahrzehnte belegen, dass Enterokokken und v. a. *E. faecium* immer häufiger für nosokomiale Infektionen verantwortlich sind [42,19] und heutzutage zu den zweit- bis dritthäufigsten isolierten Bakterien nosokomialer Infektionen zählen [13,32,51]. Zudem besitzen sie noch vor *Staphylococcus aureus* und gramnegativen Bakterien das höchste Verbreitungspotential [9,59,202].

Infektionen durch Enterokokken wurden vor 10 bis 15 Jahren in circa 90 % der Fälle durch *E. faecalis* verursacht. Heutzutage werden diese Infektionen zu circa 40 % durch *E. faecium* und nur noch zu circa 60 % durch *E. faecalis* ausgelöst [177,206,82,162].

1.2 Antibiotika-Resistenzen

1.2.1 Natürliche, intrinsische Resistenzen

Enterokokken besitzen natürliche, intrinsische Antibiotikaresistenzen, die bereits die Therapieoptionen einschränken. So haben Cephalosporine eine *Enterokokkenlücke* und sind dementsprechend unwirksam gegen alle Enterokokken [111]. Penicilline wirken gegen Enterokokken deutlich schlechter

als z. B. gegen die nah verwandten Streptokokken, was durch das Penicillin-Bindeprotein 5 (PBP5) erklärt wird, welches eine verminderte Affinität zu Penicillinen hat [109, 104,111]. Auch semisynthetische Beta-Lactame wie Isoxazolylpenicilline und Monobactame sind wirkungslos [202]. Gegen Aminoglykoside besitzen Enterokokken eine intrinsische low-level-Resistenz [202]. Zudem zeigen Fluorchinolone, inklusive der modernen Vertreter der Gruppen 3 und 4, und Trimethoprim/Sulfamethoxazol gegen Enterokokken nur eine geringe Wirksamkeit [101,111].

1.2.2 Erworbene Resistenzen

Neben den vorhandenen intrinsischen Resistenzen sind insbesondere *E. faecalis* und *E. faecium* in der Lage, weitere Mehrfachresistenzen zu akquirieren [168,36,191]. An Infektionen beteiligte *E. faecium*-Stämme verfügen dabei allerdings über ein breiteres Spektrum an intrinsischen und erworbenen Resistenzen als *E. faecalis*. Diese ermöglichen es ihnen, sich deutlich besser unter einem vorhandenen Antibiotikaselektionsdruck auszubreiten, weshalb zunehmend mehr nosokomiale Enterokokken-Infektionen durch *E. faecium* ausgelöst werden, die zudem schwerer zu therapieren sind [77,202,147,54].

Die ersten Resistenzen bei *E. faecium* gegen Ampicillin wurden in den 70er und 80er Jahren beschrieben [58,49]. High-level Resistenzen gegen Aminoglykoside und Fluorchinolone sowie Resistenzen gegen Glykopeptide, hier insbesondere Vancomycin, kamen im weiteren Verlauf der 80er Jahre hinzu [90,180,123].

1.2.2.1 Vancomycin-Resistenz

Vancomycin wurde in den 50er Jahren entdeckt und seit den 80er Jahren in wachsendem Maße in der Klinik eingesetzt. Enterokokken mit übertragbarer Vancomycin-Resistenz wurden erstmals 1988 zeitgleich in Frankreich und England beschrieben [90,180,95].

Von den bislang isolierten Genen, die die Glykopeptid-Resistenzen vermitteln, sind bisher zwei klinisch bedeutsam. Das vanA-Gencluster kommt plasmidlokalisiert sowie auf Transposonen liegend vor und kodiert für eine Vancomycin- und Teicoplanin-Kreuzresistenz [6]. Es ist sowohl zwischen verschiedenen Enterokokken-Stämmen, als auch auf andere grampositive Erreger übertragbar [23,91]. Das ebenfalls übertragbare vanB-Gencluster ist zumeist chromosomal lokalisiert und induziert eine Vancomycin-Resistenz bei gleichzeitiger Teicoplanin-Sensitivität [202]. Beide Glykopeptid-Resistenzgene werden erst unter dem Selektionsdruck des Glykopeptid-Antibiotikums exprimiert und sind somit induzierbar. Die Induktion führt in der Zellwand der Enterokokken zur Bildung einer

veränderten Glykopeptid-Bindungsstelle, woraus eine verringerte Affinität des Antibiotikums resultiert [202]. In Deutschland ist die Vancomycin-Resistenz zu circa 99 % auf *E. faecium* beschränkt [114,115].

1.3 Hospitalassoziierte *E. faecium*-Isolate

Annähernd alle klinischen *E. faecium*-Isolate, die eine Infektion verursachen, sind gegen Ampicillin resistent und besitzen zumeist auch eine high-level Resistenz gegen Fluorchinolone [18,88,4,83, 157,54]. Die Resistenz von *E. faecium* gegen Aminopenicilline ist durch Mutation und Überexpression des PBP5 bedingt [109,104].

Es handelt sich um Stämme, die sich neben der Akquirierung dieser Resistenzen sehr gut an das Krankenhausmilieu angepasst haben. Diese hospitaladaptierten bzw. -assoziierten (HA-) Stämme zeigen ein erhöhtes Ausbreitungspotential im nosokomialen Milieu und besitzen zusätzlich meist auch bestimmte Virulenz-Determinanten, die ihnen ihre Ausbreitung erleichtern [202,147,177, 182]. Gerade solche Stämme sind für die ansteigenden Kolonisationen und Infektionen von Krankenhauspatienten verantwortlich, und bilden ferner das vorwiegende Reservoir für die übertragbaren Vancomycin-Resistenzen [177,147].

Eine Assoziation der hospitalassoziierten Isolate mit einer Resistenz gegen Vancomycin erwies sich allerdings als nicht signifikant. Entsprechend ist der Erwerb der Vancomycin-Resistenz keine Voraussetzung für eine erfolgreiche Ausbreitung dieser *E. faecium*-Isolate im Krankenhausmilieu. Es ist vielmehr so, dass diese multiresistenten hospitalassoziierten Isolate erst nach Akquirierung der Vancomycin-Resistenzdeterminanten (vanA- bzw. vanB-Gencluster) auffallen und im mikrobiologischen Labor erkannt werden [146,191].

1.4 Infektionen

Bei Menschen führen Enterokokken inklusive VRE am häufigsten zu langandauernden Darmkolonisationen [131]. Die reine Kolonisation mit diesen Opportunisten gilt als apathogen und asymptomatisch [111,189]. Kolonisierte Patienten stellen jedoch ein ständiges Keimreservoir dar. Ausgehend von diesem Reservoir können die Enterokokken auf andere Patienten und Mitmenschen sowie die Umwelt übertragen werden, oder es kann nach massiver Proliferation, z.B. nach einer Antibiotikatherapie, zur Translokation in tiefere Gewebe und entsprechender Ausbreitung in die Blutbahn kommen [21,131,44,119,179,30].

Die Infektionsorte sind zumeist in der Nähe des kolonisierten Bereichs. Hierbei handelt es sich vor

allem um Harnwegsinfektionen, katheterassoziierte Infektionen (Harnwegs- und Venenkatheter), intraabdominelle und intrapelvine Abszesse sowie Peritonitiden und postoperative Wundinfektionen (v.a. perianal, perineal und im Abdominalbereich). Über diese Eintrittspforten können Enterokokken zudem sekundäre Infektionen wie Pyelonephritiden, Cholezystitiden oder lebensbedrohliche Bakteriämien auslösen. Ein hoher klinischer Stellenwert kommt nach einer bakteriellen Streuung der Enterokokken-Endokarditis zu [111,96,100,202]. Bei den ausgelösten Infektionen handelt es sich zumeist um polymikrobielle Infektionen [32].

Seltenere durch Enterokokken hervorgerufene Infektionen sind Meningitiden, Enzephalitiden, Infektionen der Haut und Weichteile, Infektionen bei Neugeborenen, Atemwegsinfektionen und Osteomyelitiden sowie mit Fremdmaterialien assoziierte Infektionen [112,32].

Enterokokken und vor allem *E. faecium* verursachen allerdings nur selten schwer verlaufende systemische Infektionen, solange die betroffenen Patienten nicht stark immunsupprimiert sind [113,115]. Besonders gefährdet für eine, bzw. von einer Enterokokken-/VRE-Infektion sind entsprechend Patienten mit schwerem Grundleiden und/oder einer Immunsuppression [202].

1.5 Epidemiologie

Krankenhausassoziierte *E. faecium*-Stämme beziehungsweise VRE werden ähnlich wie Methicillin-resistente *Staphylococci aurei* auch in verschiedenen Einrichtungen und Bundesländern verbreitet, zum Beispiel durch Patientenverlegung. Durch horizontalen Gentransfer des vanA- bzw. vanB-Gens können so auch innerhalb eines Klinikums verschiedene Klone dieser multiresistenten *E. faecium*-Stämme auftreten [78,79].

Erste Häufungen von Infektionen und Besiedlungen in Deutschland mit vanA-positiven VRE wurden 1998/1999 durch das Robert Koch-Institut (RKI), Bereich Wernigerode (NRZ) dokumentiert [78, 144].

Eine deutlich zunehmende Verbreitung Vancomycin-resistenter Enterokokken, sowohl des vanA- als auch zum Teil des vanB-Typs, wurde jedoch erst 2003/2004 durch das Labor Dr. Limbach und Kollegen, Heidelberg, in südwestdeutschen Krankenhäusern dokumentiert, was durch mehrere Ausbrüche in baden-württembergischen Krankenhäusern gekennzeichnet wurde [193].

Die Daten der Resistenz-Surveillance-Systeme PEG, SARI und EARS-Net sowie das NRZ konnten diese Zunahme von Vancomycin-resistenten Enterokokken in Deutschland bestätigen (vgl. auch Tab. 15 bis 19 im Anhang) [43,83,157,141,4].

In den Folgejahren erreichten die Vancomycin-Resistenzraten zum Teil sehr hohe Werte (Labor Dr. Limbach 2005-1: 24 %, 2007: 21 %; EARS-Net 2007: 15,3 %) und sanken bis 2009 wieder leicht ab (Labor Dr. Limbach 2009-2: 13 %; EARS-Net 2009: 6,1 %) [43,54].

Ab 2009 bzw. 2010 dokumentierten alle Surveillance-Systeme einen erneuten Anstieg von VRE in Deutschland [54]. Es kam erneut zu hohen Werten Vancomycin-resistenter Enterokokken (Labor Dr. Limbach 2011-2: 21 %; 2012-1: 22 %; EARS-Net 2012: 16,2 %; ARS 2012: 14,8 %; PEG 2010-2013: 16,6 %), die verstärkt auf eine Zunahme von vanB-positiven Isolaten zurück-zuführen waren [43,4,83].

Von 2012 bis 2015 kam es laut EARS-Net zu einem signifikanten Rückgang von Vancomycin-resistenten *E. faecium*-Isolaten in Deutschland. Auch das NRZ konnte von 2011/2012 bis 2013/2014 keinen weiteren Anstieg des Anteils VRE/Enterokokken verzeichnen [142].

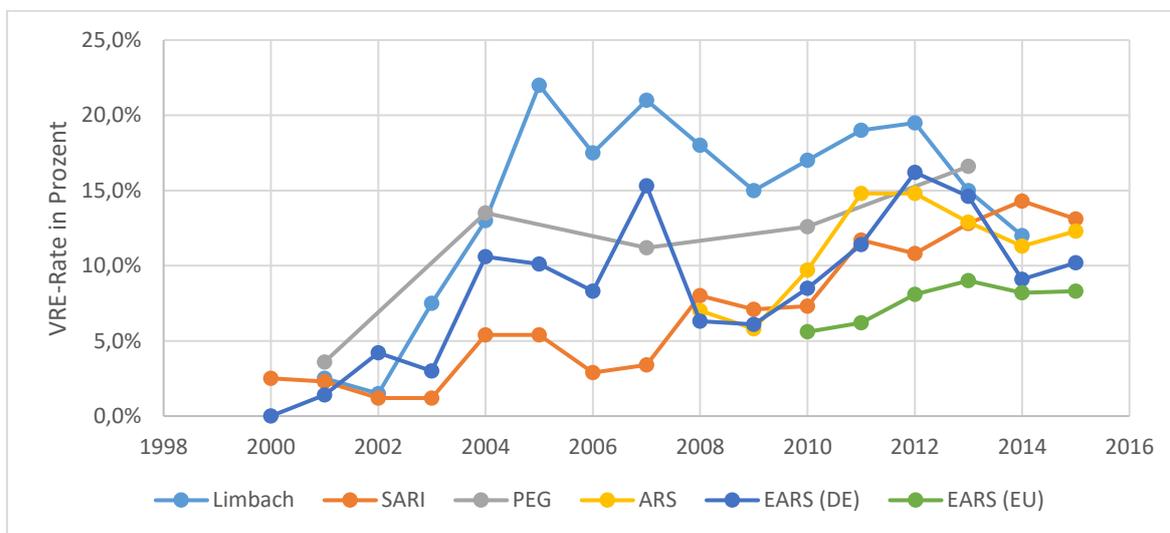


Abbildung 1 *E. faecium* Vancomycin-Resistenzraten der Jahre 2000 bis 2015 der Surveillance-Systeme Labor Dr. Limbach und Kollegen (Limbach), Surveillance der Antibiotika-Anwendung und bakteriellen Resistenzen auf Intensivstationen für Deutschland (SARI), Resistenzstudien der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Deutschland (PEG), Antibiotika-Resistenz-Surveillance in Deutschland (ARS), EARS-Net für Deutschland (EARS (DE)), EARS-Net für die EU/EAA (EARS (EU)), vgl. auch Tab. 15-20 im Anhang

Abbildung 1 zeigt den zeitlichen Verlauf der VRE-Raten der Surveillance-Systeme. Trotz des Rückgangs waren bis 2015 weiterhin hohe Vancomycin-Resistenzraten mit Werten von über 10 % zu verzeichnen [43,54,83,157,141,4]. Die Verbreitung von VRE konzentrierte sich vor allem auf die Mitte Deutschlands, wie in Abbildung 2 zu erkennen ist. Dieser sogenannte *VRE-Gürtel*, der erstmals 2011/2012 beschrieben wurde und für den bisher noch keine schlüssige wissenschaftliche Erklärung vorliegt (vgl. Abschnitt 1.6 – Ursachen des Anstiegs von *E. faecium* und VRE), erstreckt sich von Nordrhein-Westfalen über Hessen, Thüringen und Sachsen [141,142,51]. Hier zeigte SARI eine steigende Häufigkeit mit einer signifikant erhöhten Prävalenz von VRE auf Intensivstationen in den letzten Jahren [148,157,51].

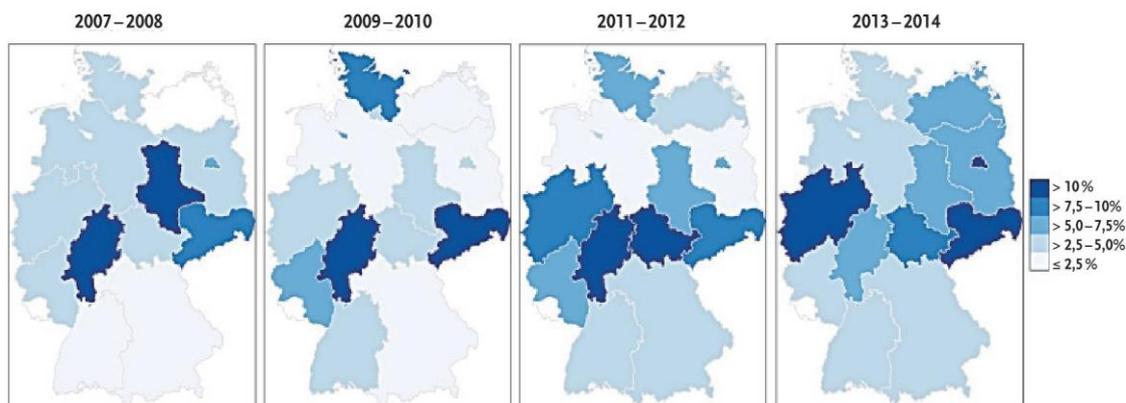


Abbildung 2 Entwicklung der regionalen Verbreitung der VRE-Rate (VRE/100 Enterokokken) bei nosokomialen Infektionen in ITS-KISS und OP-KISS der Jahre 2007 bis 2014 [142]

In Europa schwankte die Vancomycin-Resistenzrate 2015 zwischen 0.0 % (Estland, Island, Luxemburg, Norwegen und Schweden) und 45,8 % (Irland). Deutschland lag dabei über dem europäischen Durchschnitt (s.o. u. vgl. Abb. 1 und 3) [148].

Signifikante Steigerungen waren EU/EEA-weit zwischen 2010 (5,6 %) und 2013 (9 %) zu beobachten. Seit 2013 war ein leichter Rückgang zu verzeichnen (2015: 8,3 %) [43].

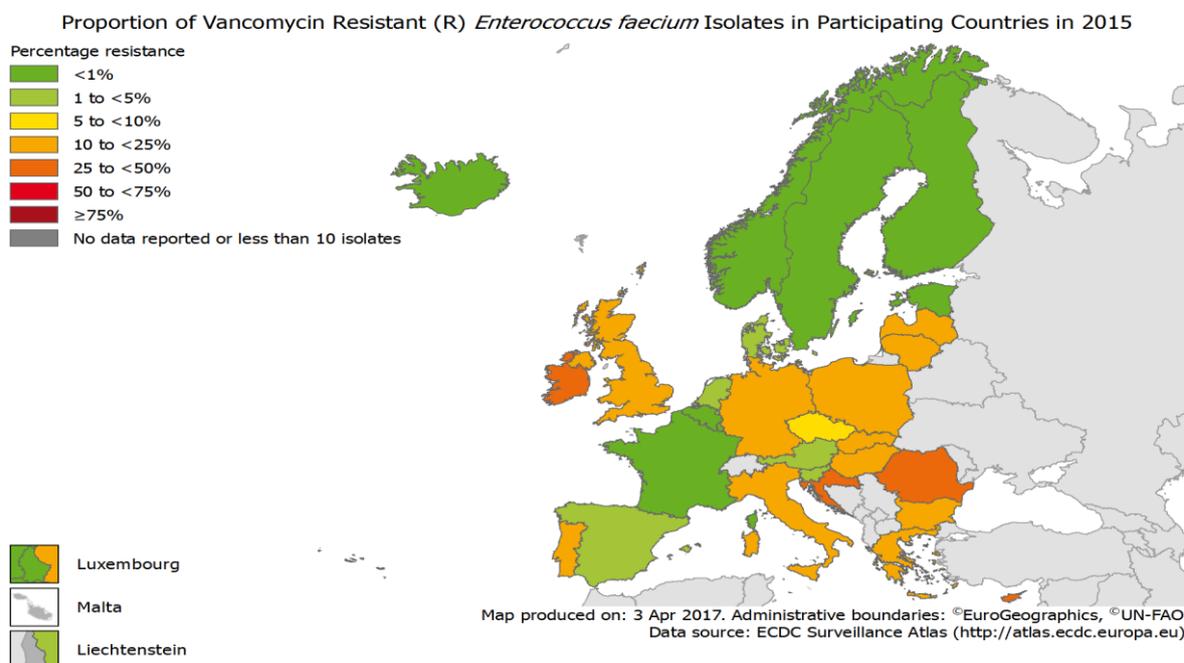


Abbildung 3 Anteil von invasiven Isolaten mit Vancomycin-Resistenz pro Land, EU/EEA Länder, 2015 (ECDC Surveillance Atlas – atlas.ecdc.europa.eu)

1.5.1 Populationsstrukturanalyse – Multilocus Sequence Typing

Die Entwicklung eines MLST-Schemas für *E. faecium* durch Homan et. al. 2002 [67] hat das Verständnis über die Populationsstruktur dieses Erregers weit voran getrieben.

Der Vorteil des Multilocus Sequence Typings ist die Einführung einer unabhängigen Nomenklatur und der damit entstandenen Etablierung einer gemeinsamen Typisierungssprache. Da die MLST-Ergebnisse auf der Auswertung von sieben Housekeeping-Genen und der Kreation eines Allel-Profiles basiert, ist diese Technik bestens geeignet, um laborübergreifend die Populationsstrukturepidemiologie von *E. faecium* zu sammeln und zu vergleichen [67,99,207].

Homan et al. konnten 2002 zeigen, dass sich die zuvor erwähnten hospitalassoziierten Stämme alle in einer Genogruppe wiederfanden. Jene Stämme konnten multiresistent, aber ebenso Glykopeptid-sensibel sein, was auf eine Verbreitung dieser Stämme bereits vor Akquirierung der Glykopeptid-Resistenzgene hinweist [67,144].

Nachfolgende Studien (ab 2005), die die gewonnen MLST-Daten mit dem für MLST entwickelten eBURST-Algorithmus [45] auswerteten, konnten aufzeigen, dass die hospitalassoziierten Isolate sich genotypisch von den kommensalen Isolaten bei gesunden Menschen und landwirtschaftlichen Nutztieren unterscheiden und eine eigenständige Subpopulation bilden, die zunächst nach ihrem angenommenen Begründer ST17 als Clonal Complex 17 (CC17) benannt wurde [205, 87,176,177].

Basierend auf diesen Studien wurde angenommen, dass der CC17 mit ST17 als Begründer für das weltweite Aufkommen von nosokomialen VRE verantwortlich war [87].

Im Jahr 2010 zeigten Vergleiche der Whole-genome Sequenzen zweier CC17-Isolate – E1162 (ST17) und U0317 (ST78) – jedoch deutliche Sequenzunterschiede zwischen beiden Isolaten, was darauf hindeutete, dass die hospitalassoziierten *E. faecium*-Stämme nicht von nur einem Vorfahren (ST17) abstammten [181,208].

Eine weitere daraufhin durchgeführte Analyse der Populationsgenetik durch Willems et al. im Jahr 2012 unter Verwendung von Bayesian analysis of the population structure (BAPS) zeigte erneut signifikante Assoziationen von Krankenhaus- und Nutztierisolaten zu jeweils verschiedenen genetischen Gruppen und bestätigte die Annahme, dass sich die hospitalassoziierten Stämme nicht aus nur einem gemeinsamen Vorfahren entwickelt haben. Stattdessen teilen sich die hospitalassoziierten Stämme auf drei Hauptkrankenslinien (main hospital lineages) auf, die aus den Sequenztypen ST17, ST18 und ST78 bestehen, die durch eBURST alle dem CC17 zugeordnet worden sind [208].

Im Jahr 2013 bestätigten weitere Whole-genome sequence (WGS) Analysen die Anordnung der unterschiedlichen Isolate in jeweils eigene Gruppen. Der Großteil der hospitalassoziierten Stämme wurde der Gruppe A1 zugeordnet. Die Nutztier-Isolate bildeten die Gruppe A2 und die kommensalen Isolate die Gruppe B [89]. Pinholt et al. verglichen 2015 Ergebnisse von MLST-Daten mit WGS-

Daten für *E. faecium*-Isolate aus ganz Dänemark und fanden eine gute Korrelation. WGS bietet im Vergleich zu MLST aber eine höhere Diskriminierungsfähigkeit [135].

1.5.1.1 Sequenztypen

Der Großteil der Blutinfektionen mit (Vancomycin-resistenten) *E. faecium*-Isolaten in Deutschland wird hauptsächlich durch Isolate von einigen sehr häufig vorkommenden MLST-Sequenztypen verursacht [194]. Dies waren in den letzten Jahren die Sequenztypen ST117, ST203, ST192 und ST17 [141].

Eine Verteilung der häufigsten MLST Typen von *E. faecium* aus Blutkulturen des NRZ aus den Jahren 2011 bis 2014 zeigt Abbildung 4.

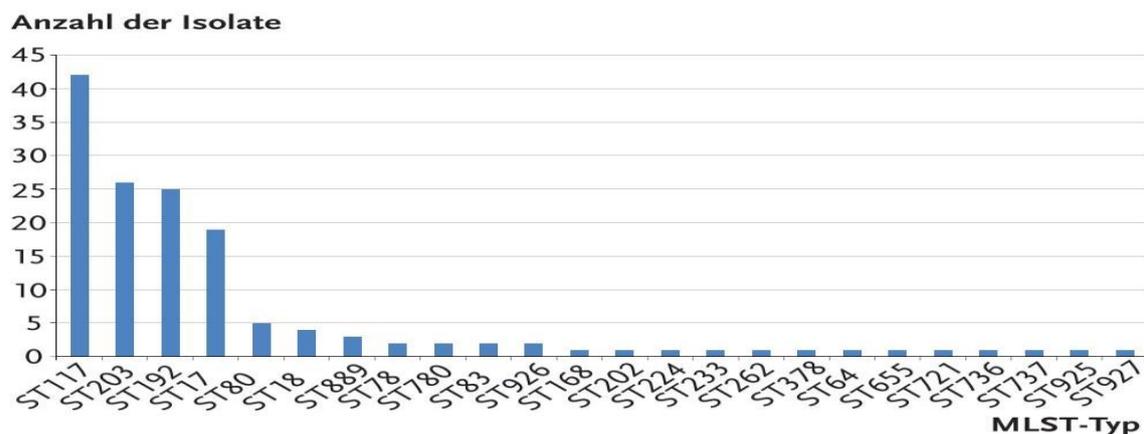


Abbildung 4 MLST-Typen von *E. faecium*-Einsendungen aus Blutkulturen mit klinischer Diagnose Bakteriämie/Sepsis aus den Jahren 2011 bis 2014 (n = 145) [141]

1.6 Ursachen des Anstiegs von *E. faecium* und VRE

Der rasante Anstieg dieses Organismus kann teilweise durch die intrinsischen und akquirierten Antibiotikaresistenzen sowie den Erwerb weiterer genetischer Determinanten erklärt werden [64,129, 89,183].

Für die hospitalassoziierten (HA-) Stämme wird von einem Evolutionsmodell ausgegangen, bei dem Stämme mit einem hohen Potential zur Kolonisation und Infektion durch horizontalen Gentransfer entstanden sind. Jene Stämme wurden anschließend nach Anpassung an die pathogene Nische isoliert, was dazu führte, dass die Rekombination mit anderen Populationen abnahm [208]. Diese Annahme von Willems et al. bestätigt die Beobachtungen, dass Krankenhausisolate eine Vielzahl von

Resistenzen und Virulenzdeterminanten tragen, die unter den kommensalen Isolaten und Nutztierisolaten nicht auftreten.

Leclercq et al. fanden heraus, dass die hospitalassoziierten *E. faecium*-Stämme der Gruppe A1 (WGS) eine geringere Fitness in natürlichen Umgebungen besitzen, sodass sie von anderen *E. faecium*-Klonen verdrängt werden [92].

Diese Erkenntnisse verdeutlichen die Nischenspezialisierung an die Krankenhausumgebung und den Antibiotikaselektionsdruck der hospitalassoziierten Isolate.

Als ein Grund für den Anstieg von VRE in Europa gilt der massive Einsatz des Vancomycin-Strukturanalogons Avoparcin als wachstumsfördernde Substanz in der Tiermast seit den 70er Jahren. Durch Avoparcin wurden vor allem in der Geflügelzucht VRE selektiert, die während des Schlachtprozesses zur Kontamination des Fleisches mit anschließender Kolonisation der physiologischen Darmflora der gesunden Bevölkerung führen konnten. Nach dem Verbot im Jahr 1996 ging die Kolonisation mit VRE unter der gesunden Bevölkerung und der landwirtschaftlichen Nutztierhaltung allmählich wieder zurück [103,122,107,103].

Wie bereits erwähnt unterscheiden sich die isolierten Stämme von hospitalisierten Patienten und Nutztieren genetisch so weit voneinander, dass sie jeweils zu verschiedenen Gruppen zugeordnet werden [208]. Dementsprechend sind antibiotikaresistente Klone, die von Nutztieren stammen, nicht direkt für das vermehrte Aufkommen der multiresistenten HA-*E. faecium*-Stämme verantwortlich. Da es sich jedoch bei tierischen Isolaten und bei Isolaten von hospitalisierten und nicht-hospitalisierten Patienten um dieselben Glykopeptid-Resistenzgene handelt, kann davon ausgegangen werden, dass die Glykopeptid-Resistenzgene von den Nutztierisolaten und den kommensalen Isolaten auf die HA-Isolate übertragen werden können [14,94], was letztendlich zur Zunahme der Vancomycin-Resistenz unter den HA-Stämmen führen kann.

Der klinische Einsatz von Vancomycin scheint eher weniger für die Zunahme von VRE verantwortlich zu sein. So zeigen amerikanische Studien zwar eine geringe Verbindung auf, wohingegen Meyer et al. 2013 [107] keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Einsatz von Vancomycin und der VRE-Inzidenz auf deutschen Intensivstationen zeigen konnten.

Ein gesicherter Grund für die Zunahme von Enterokokken und damit speziell von hospitalassoziierten *E. faecium*-Stämmen sowie VRE ist hingegen der vermehrte und universelle Einsatz prophylaktischer und therapeutischer Antibiotika, die zwar ein breites Spektrum an bakteriellen Erregern erfassen, aber gegen Enterokokken aufgrund ihrer natürlichen und/oder erworbenen Resistenzen wirkungslos sind. Zu diesen Antibiotika zählen vor allem Breitbandantibiotika wie Cephalosporine der zweiten und dritten Generation (*Enterokokkenlücke*) und Fluorchinolone (high-level Resistenz bei

HA-Stämmen) sowie auch Substanzen wie Metronidazol, die gegen Anaerobier wirken. Insbesondere bei oraler Applikation führen diese antibakteriellen Substanzen durch Unterdrückung der konkurrierenden Flora zur Erhöhung der Kolonisationsdichte der Enterokokken im Gastrointestinaltrakt. Hochgradige gastrointestinale Kolonisationen führen wiederum eher zu Infektionen und erleichtern die Übertragung und Ausbreitung der Enterokokken durch fäkale Kontamination [28,147,152,179, 139,31,80,51]. Kommt es nun zusätzlich zu einem erhöhten Einsatz von Glykopeptiden, besteht die potentielle Gefahr einer weiteren Erhöhung des Selektionsdruckes in Richtung VRE [145].

Durch den demographischen Wandel kommt es zudem zu einer deutlichen Verschiebung der Patientenpopulation mit zunehmend älteren, multimorbiden Patienten, einer Zunahme der Patienten mit schweren Grunderkrankungen und/oder Immunsuppression und einer steigenden Anzahl invasiver Behandlungstechniken und intensivmedizinisch betreuter Patienten. Insbesondere diese Personen zählen zur Risikopopulation für Enterokokken- beziehungsweise VRE-Besiedlungen und -Infektionen, was als weiterer Grund für die Zunahme von Enterokokken-Nachweisen gilt [145,191,147].

Auch eine gesteigerte Aufmerksamkeit für multiresistente Erreger (MRE) sowie eine veränderte Sachlage bezüglich MRE durch eine Novellierung des Infektionsschutzgesetzes erhöht allgemein das Screeningaufkommen in Risikobereichen und bei Risikopatienten, was wiederum zum verstärkten Isolieren und Erkennen von VRE führt [79].

Als Hypothese für die regionalen Unterschiede der VRE-Raten in Deutschland (*VRE-Gürtel*) wird ein unterschiedlicher Antibiotikaverbrauch in Erwägung gezogen. Separate Daten zum Antibiotikaeinsatz der verschiedenen Bundesländer gibt es allerdings bisher noch nicht [51].

1.7 Therapie

Eine Therapie richtet sich ausschließlich auf eine durch Enterokokken ausgelöste Infektion. Therapie der Wahl bei *E. faecalis*-Infektionen ist die Gabe eines Aminopenicillins ggf. in Kombination mit einem Aminoglykosid [111]. Bei *E. faecium* ist Vancomycin die Standardtherapie, da Ampicillin meist unwirksam ist. Bei schweren Infektionen auch in Kombination mit einem Aminoglykosid [146,28,147].

In der Therapie der Vancomycin-resistenten Enterokokken muss gegenwärtig wegen der zunehmenden Resistenzen immer häufiger auf alternative Reserveantibiotika zurückgegriffen werden. Somit sind Antibiotika wie Linezolid, Tigecyclin, Daptomycin oder Quinupristin /Dalfopristin (in Deutschland seit 2007 nicht mehr erhältlich [141]) oft die letzte Therapieoption [213,202].

Besorgniserregend ist dabei die Zunahme von klinischen *E. faecium*-Isolaten, die bereits gegen diese Reserveantibiotika, besonders Linezolid, resistent sind. Zwar sind solche Isolate noch relativ selten

und zumeist Glykopeptid-sensibel. VRE-Isolate mit diesen Resistenzdeterminanten wurden jedoch schon beobachtet und sind bereits in den deutschen Krankenhäusern vorhanden. Der Anstieg der Resistenzen gegen die genannten Reserveantibiotika hängt vermutlich mit dem zunehmend nötigen klinischen Einsatz dieser Substanzen zusammen [1,110,158,121,200,201,198,202,141,54]. Da häufig Multiresistenzen vorliegen, ist es schwer eine einheitliche Therapieempfehlung abzugeben. Es muss im Einzelfall unter Berücksichtigung aller Informationen zum betreffenden Erregerstamm das passende Antibiotikum ausgewählt werden [189,78,202]. Eine mögliche chirurgische Sanierung eines Infektionsherdes sollte in jedem Fall frühzeitig erfolgen [164].

1.8 Bedeutung der Glykopeptid-Resistenz

Sanierungsschemata, wie für Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA), existieren für VRE nicht, da der gesamte Gastrointestinaltrakt das Reservoir darstellt und eine erfolgreiche Sanierung unwahrscheinlich ist. Laut Mutters et al. [115] liegen keine ausreichenden Daten über die Dauer einer Kolonisation und die Raten einer eventuellen Rekolonisation vor. Es gibt jedoch Hinweise, dass zumindest ein Teil der Patienten langfristig kolonisiert bleibt [74,184,93,130].

Die Konsequenzen von Infektionen mit Vancomycin-resistenten Enterokokken sind oft schwerwiegender als Infektionen mit Vancomycin-sensiblen Enterokokken. Eine Infektion mit VRE erhöht die Wahrscheinlichkeit eines Therapieversagens, verlängert häufig den Krankenhausaufenthalt, und bei invasiven Infektionen gilt eine Vancomycin-Resistenz bereits als unabhängiger Risikofaktor für eine erhöhte Mortalität [131,28,155].

Auch Carmeli et al. [17] konnten in einer Studie nachweisen, dass eine VRE-Infektion zu häufigeren Verlegungen auf die Intensivstation, häufigeren operativen Interventionen, erhöhter Mortalität, einer längeren Verweildauer im Krankenhaus und zu erhöhten Kosten pro Patient führt. In verschiedenen Studien [17,167,170] werden die Zusatzkosten in Krankenhäusern bei VRE-Infektionen mit 13.000 bis 81.000 Dollar pro betroffenem Patient angegeben.

Neben der Gefahr der weiteren Ausbreitung Vancomycin-resistenter *E. faecium*-Isolate oder einer Zunahme von Vancomycin-resistenten *E. faecalis*-Isolaten, die eine höhere Pathogenität als *E. faecium* aufweisen, kann es auch zur Übertragung der Glykopeptid-Resistenzgencluster auf andere grampositive Erreger kommen. So wurden bereits vanB-positive Streptokokken (*Streptococcus bovis*) und vanA-positive Staphylokokken (*Staphylococcus aureus*) beschrieben [81,26,197,11]. Die größte Besorgnis liegt darin, dass dieser Genaustausch nicht mehr behandelbare Infektionen zur Folge haben kann, was bereits 2012 in Brasilien bei einer polymikrobiellen Blutstrominfektion, bei der ein bereits Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus*-Stamm das vanA-Gen von Enterokokken erwarb, eintrat [151,128].

1.9 Ausbreitungs- und Infektionsprävention

Die Konsensempfehlung Baden-Württemberg zum Umgang mit Patienten mit GRE/VRE aus dem Jahr 2006 sowie die Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM) mit ihren Empfehlungen zur Prävention und Kontrolle der Ausbreitung von VRE aus dem Jahr 2007 beschäftigten sich bereits Anfang der 2000er Jahre ausführlich mit der Problematik der Ausbreitungs- und Infektionsprävention [11,184,145]. 2013 veröffentlichten Mutters et al. einen Übersichtsartikel zur Kontrolle von Vancomycin-resistenten Enterokokken im Krankenhaus, der die Problematik erneut aufnahm und die vorherigen Empfehlungen in Bezug auf die teils begrenzten Krankenhausressourcen, personell wie finanziell, eher kritisch hinterfragte und wiederum weitere Empfehlungen zum richtigen Umgang mit VRE abgab [115].

Die Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim RKI versuchte während der Anfertigung dieser Arbeit die bisher als erfolgsversprechend geltenden Maßnahmen zur Prävention von VRE-Kolonisationen und -Infektionen durch Studien und Literaturangaben zu belegen und hat 2018 eine erneuerte Empfehlung zum Umgang mit Patienten mit Infektion oder Kolonisation mit VRE herausgebracht [84]. Die Literatur sei, auch aufgrund schlechter Studienmodelle, voll mit unterschiedlichen Aussagen zur Effektivität einzelner Maßnahmen [84]. Wirklich erfolgsversprechend scheine nur die Anwendung von Bündeln verschiedener Maßnahmen wie aktives und passives Screening, Isolierung, erweiterte Barrieremaßnahmen mit Kitteln und Handschuhen sowie allgemein verbesserte Hygiene und Desinfektion zu sein [84]. Grundlegend neue Empfehlungen im Vergleich zu den zuvor genannten Veröffentlichungen gab es keine.

Da die Übertragung von VRE weitestgehend über die Hände und über kontaminierte Gegenstände oder die kontaminierte Patientenumgebung erfolgt, zählen die Standardhygiene mit täglicher Desinfektion der patientennahen Flächen und des Fußbodens, sowie die Händedesinfektion zu den zentralen Maßnahmen der Ausbreitungs- und Infektionsprävention [11,153,184,84]. Ebenso gelten aktives, risikobasiertes und passives Screening zur Detektion von kolonisierten Patienten als wesentlicher Bestandteil erfolgreicher Maßnahmenbündel [188,84]. Die anschließende Isolierung der entdeckten kolonisierten wie auch der infizierten Patienten in Einzelzimmern beziehungsweise in Kohorten mit eigener Nasszelle ist vor allem in Risikobereichen unabdingbar. Es muss jedoch darauf geachtet werden, dass VRE-Besiedelte von MRSA-Besiedelten bzw. MRE-Besiedelten strikt getrennt werden, um die Übertragung der Glykopeptid-Resistenz auf MRSA oder andere Erreger zu unterbinden [11,153,84]. Zusätzliche Barrieremaßnahmen wie das Tragen von Einmalhandschuhen und eines langärmeligen Schutzkittels können neben einem patientenbezogenen Einsatz von Pflegeutensilien ratsam sein [11,184,145,115,84]. Daneben gilt antiseptisches Waschen bei Patienten mit ZVK [29] und auf Intensivstationen [22,84] als erfolgsversprechend. Eine der wichtigsten präventiven Maßnahmen zur Eindämmung der Verbreitung von Vancomycin-resistenten Enterokokken,

aber ebenso aller anderen multi-resistenten Erreger, ist der kritische und kontrollierte Einsatz von Antibiotika [153,11]. Vorrangiges Ziel ist die Prävention von nosokomialen Infektionen [84]. Genaue Anweisungen und Maßnahmenempfehlungen zur jeweils individuellen Situation und der epidemiologischen Lage der jeweiligen Einrichtung sind dem Bericht der KRINKO [84] zu entnehmen und müssen individuell abgestimmt werden. Voraussetzungen hierzu sind jedoch Kenntnisse zur epidemiologischen Situation und den Gegebenheiten der jeweiligen Einrichtung, weshalb die durchgeführte Surveillance und die Ergebnisse dieser Arbeit für die Optimierung des Hygienemanagements am Universitätsklinikum Magdeburg (UKMD) entscheidend sind.

1.10 Ziel der Arbeit

Seit 2005 wird international und auch in Deutschland eine Zunahme von Vancomycin-resistenten Enterokokken beobachtet. Ziel dieser Arbeit war es, epidemiologische Daten zum Vorkommen von VRE am Universitätsklinikum Magdeburg (UKMD) zu sammeln und diese regionalen Daten im nationalen Kontext zu bewerten, um mögliche Rückschlüsse für die Optimierung des Hygienemanagements von VRE im Krankenhaus zu ziehen. Dazu wurden Vancomycin-resistente *E. faecium*-Isolate aus Screeninguntersuchungen im Rahmen von Aufnahme- und Querschnittsuntersuchungen sowie aus klinischen Untersuchungsmaterialien stationärer Patienten über einen Zeitraum von drei Jahren (2013-2015) mittels Multilocus Sequence Typing untersucht und eine anschließende Populationsstrukturanalyse durchgeführt. Ergänzend dazu wurden die VRE-Isolate hinsichtlich der Liegedaten der Patienten, der Art des Probenmaterials, der Geschlechts- und Altersverteilung, des Glykopeptid-Resistenzgenotyps und des Zeitpunkts der VRE-Akquirierung während des stationären Aufenthaltes der Patienten analysiert.

2 Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Bakterienstämme

Bei den in dieser Arbeit untersuchten Vancomycin-resistenten *E. faecium*-Isolaten handelte es sich um Isolate aus Screeninguntersuchungen und klinischen Materialien, welche aus diagnostischen Gründen eingesandt wurden, wobei jeweils nur Erstnachweise und keine Folgeisolate (Copy-Strains) einbezogen wurden. Die Stämme wurden in einem Zeitraum von Januar 2013 bis Dezember 2015 am Universitätsklinikum Magdeburg asserviert.

2.1.2 Geräte

BioRobot® EZ1 DSP	QIAGEN GmbH, Hilden, Deutschland
Brutschrank	Hausintern Pfeuffer GmbH, Marktstef, Deutschland
Geldokumentationssystem	- UV-Transilluminator (Gel Logic 100 Imaging System) Kodak GmbH, Stuttgart, Deutschland - Drucker „Copy Processor P91D“ Mitsubishi Electronic Europe B.V., Ratingen, Deutschland
Gelelektrophoresesystem	MUPID-exU Horizontal Electrophoresis System ADVANCE Co., Ltd., Tokyo, Japan
Gelkammer	Mupid-exU Gel Casting Set ADVANCE Co., Ltd., Tokyo, Japan
Impfösen	GREINER BIO-ONE, Frickenhausen, Deutschland
Magnetrührer	IKAMAG REO IKA®-Werke GmbH & CO. KG, Staufen, Deutschland
Mikrowellengerät	SAMSUNG MIKROWELLENGERÄT M1712N Samsung Electronics GmbH, Schwalbach, Deutschland
PCR-Thermocycler	- GeneAmp® PCR System 9700 Applied Biosystems by Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA - Rotor-Gene Q Thermocycler QIAGEN GmbH, Hilden, Deutschland
Pipetten	Eppendorf® Reference®, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Sequenzierer	Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer Applied Biosystems by Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA
Vitek 2	bioMérieux, Marcy l’Etoile, Frankreich
Vitek MS	bioMérieux, Marcy l’Etoile, Frankreich
Vortexgerät	Mono-Mixer Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
Wasserbad	Wasserbad GFL 1003 GFL Gesellschaft für Labortechnik mbH, Burgwedel, Deutschland
Zentrifugen	- ABBOTT LABS TDX Centrifuge Abbott Laboratories, North Chicago, Illinois, USA - Eppendorf Centrifuge 5415 C Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland

2.1.3 Verbrauchsmaterialien

96-Well-Platte	96-Well Optical Reaction Plate Abbott Laboratories, North Chicago, Illinois, USA
Mikrotiterplatte	Nunc™ MicroWell™ Platten mit Nunclon™ Delta Oberfläche Fisher Scientific AG, Reinach, Schweiz
PCR-Reaktionsgefäße	Sapphire PCR-Reaktionsgefäße 0,2ml Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland
Pipettenspitzen	TipOne®-Pipettenspitzen RPT Filter, Steril Starlab Deutschland GmbH, Ahrensburg, Deutschland
Reaktionsgefäße	- Biosphere® SafeSeal Tube 1.5ml Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland - Eppendorf® Biopur® Safe-Lock Tubes 1,5ml Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland

2.1.4 Chemikalien, Enzyme, Kits, Reagenzien, Lösungen und Puffer

Agarose	peqGOLD Universal-Agarose, Peqlab® VWR Life Science Competence Center, Erlangen, Deutschland
Aqua dest (H₂O)	Water for molecular biology PanReac, AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland
artus® VanR QS-RGQ Kit	QIAGEN GmbH, Hilden, Deutschland
AVE-Puffer	EZ1 Virus Mini Kit QIAGEN GmbH, Hilden, Deutschland
BigDye® Terminator v3.1 Ready Reaction Mix	BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit Applied Biosystems by Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA
BigDye® Terminator v1.1 & v3.1 5X Sequencing Buffer	Applied Biosystems by Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA
Carrier-RNA	EZ1 Virus Mini Kit QIAGEN GmbH, Hilden, Deutschland
DNA Gel Loading Dye (6X)	Thermo Scientific by Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA
dNTPs	Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland
DyeEx 2.0 Spin Kit	QIAGEN GmbH, Hilden, Deutschland
Ethidiumbromidlösung	1 %ige Lösung in Wasser (10 mg/ml) Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
ExoSAP-IT®	ExoSAP-IT® PCR Product Cleanup Affymetrix by Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA
GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder	Thermo Scientific by Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA
Hi-Di™ Formamide	Applied Biosystems by Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA
HotStarTaq	HotStarTaq DNA Polymerase QIAGEN GmbH, Hilden, Deutschland
Puffer 10x	HotStarTaq DNA Polymerase QIAGEN GmbH, Hilden, Deutschland
Tris-Borate-EDTA buffer: 5x concentrate	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland

2.1.4.1 Herstellung von 1,5 %igem Agarosegel

1. Herstellung von 5x TBE-Puffer

- Tris-Borate-EDTA Buffer mit 1L Aqua dest lösen
- Mit Magnetrührer rühren lassen, bis die Lösung klar ist

2. Herstellung von 1x TBE

- 200 ml 5x TBE-Puffer und 800 ml Aqua dest zusammengeben

3. Herstellung von 1,5 %igem Agarosegel

- 6g Agarose mit 400 ml 1x TBE-Puffer mischen
- Agarose-TBE-Gemisch in der Mikrowelle solange erwärmen, bis die Lösung zu kochen beginnt und keine Agarosereste mehr zu sehen sind
- 20 µl Ethidiumbromidlösung hinzugeben
- Flüssiges Gel im Wasserbad bei 65 °C aufbewahren

2.1.5 Kulturmedien

BD Columbia Agar mit 5 % Schafsblut	Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland
chromID® VRE	bioMérieux Deutschland GmbH, Nürtingen, Deutschland
Cryobank-Stammhaltungssystem	Mast Diagnostica GmbH, Reinfeld, Deutschland

2.1.6 Primer

Die in dieser Arbeit verwendeten Primer für die Amplifikation und Sequenzierung wurden von der Firma Eurofins Genomics, Ebersberg, Deutschland bezogen.

Tabelle 1 Vorwärtsprimer für die Amplifikation und Sequenzierung

Locus	Name	Vorwärts (5' → 3')	Sequenzlänge
adk	adk1n	GAACCTCATTTTAATGGGG	437 bp
atpA	atpA1n	TTCAAATGGCTCATAACGG	556 bp
ddl	ddl1	GAGACATTGAATATGCCTTATG	465 bp
gdh	gdh1	GGCGCACTAAAAGATATGGT	530 bp
gyd	gyd1	CAAACCTGCTTAGCTCCAATGGC	395 bp
purK	purK1n	CAGATTGGCACATTGAAAG	492 bp
pstS	pstS1n	TTGAGCCAAGTCGAAGC	583 bp

Tabelle 2 Rückwärtsprimer für die Amplifikation und Sequenzierung

Locus	Name	Rückwärts (5' → 3')	Sequenzlänge
adk	adk2n	TGATGTTGATAGCCAGACG	437 bp
atpA	atpA2n	AGTTCACGATAAGCAACAGC	556 bp
ddl	ddl2	AAAAAGAAATCGCACCG	465 bp
gdh	gdh2	CCAAGATTGGGCAACTTCGTCCCA	530 bp
gyd	gyd2	CATTCGTTGTCATACCAAGC	395 bp
purK	purK2n	TTCATTCACATATAGCCCG	492 bp
pstS	pstS2	CGTGATCACGTTCTACTTCC	583 bp

2.1.7 Software und Internetadressen

goeBURST	goeBURST Version 1.2.1 [47] http://www.phyloviz.net/goeburst/
Hybase Statistik	EpiNet AG, Bochum, Deutschland
Mega6	Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0 [172] http://www.megasoftware.net/
MLST Database	https://pubmlst.org/efaecium/ [70]
Primer	http://efaecium.mlst.net
seqA6-Software	Sequencing Analysis Software v6.0 Applied Biosystems by Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA
SPSS Statistics	IBM SPSS Statistics, Version 24 IBM Deutschland GmbH, Ehingen, Deutschland

2.2 Methoden

2.2.1 Probenmaterial

Die insgesamt 276 analysierten Vancomycin-resistenten *E. faecium*-Isolate stammten aus dem Cryobankstammhaltungssystem der Routine-Diagnostik des Instituts für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene, Universitätsklinikum Magdeburg.

Zur Rekultivierung der bei -80 °C in dem Cryobankstammhaltungssystem eingefrorenen Enterokokken-Isolate wurden die entsprechenden Kryoröhrchen aufgetaut und anschließend ein enthaltendes Glaskügelchen mit den daran anhaftenden Bakterien-Isolaten auf Columbia Agar mit 5 % Schafsblut ausgestrichen und bei 37 °C für 24 Stunden im Brutschrank bebrütet und erneut unter gleichen Bedingungen subkultiviert.

2.2.2 Isolierung der DNS

Die Isolierung der DNS erfolgte mit dem EZ1 Virus Mini Kit v2.0 und dem BioRobot EZ1 der Firma Qiagen. Hierfür wurden per Impföse je 1-2 Kolonien der Bakterienstämme in ein 2 ml Probengefäß mit 200 µl Aqua dest übertragen. In einem weiteren 1,5 ml Reagenzgefäß wurden 60 µl des Elutionspuffer-Gemisches, das aus 56,4 µl AVE-Puffer sowie 3,6 µl Carrier-RNA besteht, vorgelegt. Anschließend wurde der BioRobot EZ1 nach Herstellerangaben mit den dem EZ1 Virus Mini Kit v2.0 beiliegenden Reagenzkartuschen, Pipettenspitzen und leeren 1,5 ml Elutionsgefäßen sowie den vorbereiteten Proben- und Reaktionsgefäße bestückt [137]. Nach ca. 45 Minuten konnten die 1,5 ml Elutionsgefäße, die die isolierte DNS enthielten, entnommen und die verwendeten Verbrauchsmaterialien verworfen werden.

2.2.3 Bestimmung des Glykopeptid-Resistenzgenotyps

Zur Bestimmung der vanA- bzw. der vanB-DNS wurde das artus® VanR QS-RGQ Kit, ein gebrauchsfertiges System für den Nachweis der vanA- und vanB-DNS, mithilfe der Polymerase-Kettenreaktion, eingesetzt. Dies in Kombination mit dem Rotor-Gene Q Thermocycler der Firma Qiagen. Hierzu wurde mit der extrahierten DNS nach Herstellerangaben vorgegangen [138].

2.2.4 Multilocus Sequence Typing

Die MLST-Bestimmung zur Identifizierung der verschiedenen Sequenztypen wurde gemäß der von Homan et. al 2002 [67] entwickelten Methodik für *E. faecium* durchgeführt.

Interne Fragmente von sieben ausgewählten Haushaltsgenen mit einer Länge von ca. 400- bis 600-Basenpaaren wurden hierfür mittels PCR amplifiziert und sequenziert, woraus sich für jedes Isolat ein bestimmtes Allel-Profil ergab. Der Sequenztyp wurde im Anschluss für jedes einzelne Allel-Profil basierend auf der MLST-Website (<http://pubmlst.org/efaecium>) bestimmt.

Tabelle 3 *Haushaltsgene für MLST E. faecium*

adk	Adenylatkinase
atpA	ATP-Synthase, α -Untereinheit
ddl	D-Alanin-D-Alanin-Ligase
gdh	Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase
gyd	Glyceraldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase
purK	Phosphoribosylaminoimidazol Carboxylase ATPase Untereinheit
pstS	Phosphat ATP binding cassette transporter

2.2.4.1 I. Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zur Amplifikation der Haushaltsgene

Ein PCR-Ansatz für ein Haushaltsgen bestand aus 49 µl Mastermix sowie 1 µl Proben-DNS.

Tabelle 4 PCR-Ansatz – Mastermix für MLST *E. faecium*

	n = 1	n = x
Aqua dest	34,75 µl	
10x Puffer	5 µl	
dNTPs (10 mM)	1 µl	
Primer F (10 pmol/µl)	4 µl	
Primer R (10 pmol/µl)	4 µl	
HotStar-Taq	0,25 µl	
	49 µl + 1 µl DNS	

Entsprechend des Pipettierschemas in Tabelle 4 wurde zunächst der Mastermix in einem 1,5 ml Reagiergefäß vorbereitet. Verwendet wurde das HotStarTaq DNA Polymerase Kit der Firma Qiagen, zudem Wasser für molekularbiologische Untersuchungen der Firma AppliChem sowie die entsprechenden Vorwärts- und Rückwärtsprimer der Firma Eurofins Genomics, die in den Tabellen 1 und 2 aufgeführt sind.

Entsprechend der Anzahl der zu untersuchenden Isolate konnte der Mastermix pro Gen auch direkt für mehrere Proben in einem Reagiergefäß vorbereitet werden. Hierfür wurde die Menge der einzelnen Reagenzien mit der Anzahl der Proben multipliziert.

Im nächsten Schritt wurden nun die je 49 µl des Mastermix zusammen mit je 1 µl der isolierten DNS in PCR-Reaktionsgefäße pipettiert, anschließend nach erfolgtem Vortexen zur Vermischung der Reagenzien kurz anzentrifugiert und in den Thermocycler (GeneAmp 9700) gegeben.

Das Cyclerprofil zur Amplifizierung der *E. faecium* Haushaltsgene zeigt Tabelle 5.

Tabelle 5 Cyclerprofil zur Amplifizierung der *E. faecium* Haushaltsgene (GeneAmp 9700)

Initiale Denaturierung	95 °C	15 Minuten
35 Zyklen:		
Denaturierung	94 °C	30 Sekunden
Annealing	50 °C	30 Sekunden
Elongation	72 °C	30 Sekunden
Terminale Elongation	72 °C	5 Minuten
Ende	8 °C	∞

Bei jedem Durchgang wurde zur Qualitätskontrolle eine Negativkontrolle mitgeführt, die neben dem Mastermix, anstelle der DNS, 1 µl Aqua dest enthielt.

2.2.4.2 II. Überprüfung der Amplifikation mittels Gelelektrophorese

Als Erfolgskontrolle schloss sich die Auftrennung der PCR-Produkte mittels Gelelektrophorese in einem zuvor hergestellten 1,5 %igem Agarosegel an (vgl. Abb. 5).

Das 1,5 %ige Agarosegel wurde hierzu in die dafür vorgesehenen Gelträger gegossen. Nach Aushärtung des Gels für 20 Minuten konnte der befüllte Gelträger in das mit 1x TBE-Puffer befüllte Gelelektrophoresesystem eingesetzt werden. In die jeweils erste Kammer wurden 5 µl GeneRuler 100 bp als Größenstandard pipettiert. Die restlichen Kammern wurden mit 5 µl eines jeden Probenamplifikats, das jeweils zuvor auf einer Mikrotiterplatte mit 1 µl DNA Gel Loading Dye (6X) vermischt wurde, befüllt.

Die Auftrennung erfolgte in der Gelelektrophoresekammer für 22 Minuten bei 135 Volt.

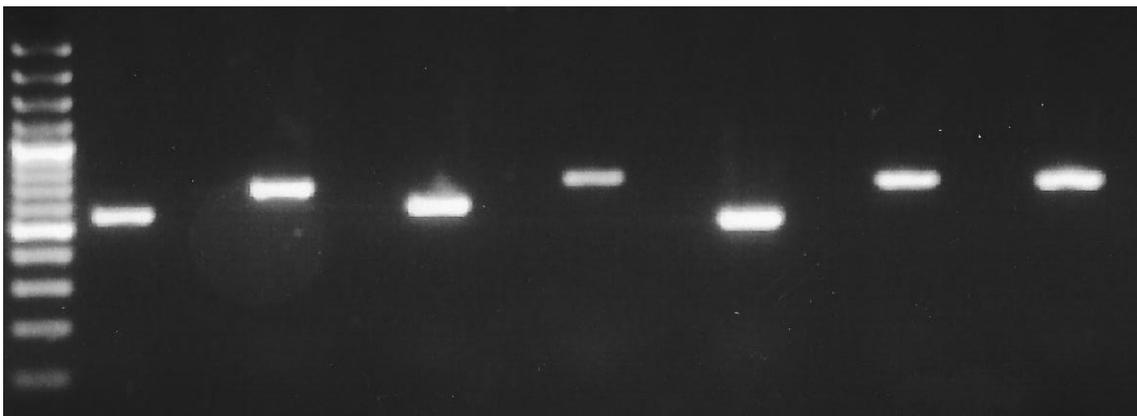


Abbildung 5 Gelelektrophorese: Amplifizierte Genfragmente der sieben Haushaltsgene für MLST *E. faecium* - *adk*, *atpA*, *ddl*, *gdh*, *gyd*, *purK*, *pstS*

Zur Visualisierung der aufgetrennten Fragmente wurde ein Geldokumentationssystem, bestehend aus einem UV-Transilluminator, Gel Logic 100 Imaging System und einem Drucker, Mitsubishi Copy Processor P91D, verwendet.

Die Amplifikate wurden weiter bearbeitet, wenn die Gelelektrophorese eine eindeutige Bande zeigte und die Negativkontrolle negativ ausfiel.

2.2.4.3 III. PCR-Aufreinigung mit ExoSap-IT

Um überschüssige Oligonukleotide und dNTPs, die die Sequenzierung stören könnten, zu entfernen, wurde die Aufreinigung der PCR-Produkte mit dem ExoSAP-IT® der Firma Affymetrix durchgeführt.

Exo steht für Exonuclease I und entfernt übriggebliebene einzelsträngige Primer sowie sämtliche einzelsträngige DNS-Reste, die während der PCR entstanden sind.

SAP steht für Shrimp-Alkaline-Phosphatase und sorgt für die Entfernung der überschüssigen dNTPs.

Zur Aufreinigung der DNS wurde zu jedem PCR-Produkt 3 µl ExoSap- IT® hinzu pipettiert und das Gemisch im Anschluss an zentrifugiert. Die Reaktion lief dann für 30 Minuten im GeneAmp® PCR System 9700 ab. Das Temperaturprofil zeigt Tabelle 6.

Tabelle 6 Cyclerprofil zur PCR-Reinigung (ExoSap-IT) (GeneAmp 9700)

Reaktion (treatment)	37 °C	15 Minuten
Inaktivierung von ExoSap	80 °C	15 Minuten
Ende	8 °C	∞

2.2.4.4 IV. Sequenzierungs-PCR

Zur Sequenzierung wurde die Didesoxymethode nach Sanger verwendet, die auf dem Prinzip des Kettenabbruchs basiert [156].

Die Sequenzierreaktion wurde mit dem BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit der Firma Applied Biosystems durchgeführt. Dieses enthält neben dNTPs (Desoxynukleotide) zur Elongation auch an unterschiedlich fluoreszierende Farbstoffe gebundene ddNTPs (Didesoxynukleotide). Diesen fehlt am 3'-Kohlenstoffatom eine Hydroxylgruppe, was zum Kettenabbruch führt, da keine Verlängerung mehr erfolgen kann. So entstehen bei der Sequenzier-PCR infolge des Zufallsprinzips Oligonukleotidfragmente unterschiedlicher Länge, so genannte Kettenabbruchprodukte.

Der Ansatz der Sequenzierreaktion wurde anhand des Pipettierschemas in Tabelle 7 vorbereitet, anschließend kurz an zentrifugiert und in den GeneAmp® PCR System 9700 gegeben. Das Cyclerprofil zur Sequenzierung zeigt Tabelle 8.

Tabelle 7 Ansatz Sequenzierreaktion

Big Dye Terminator Ready Reaction mix	2 µl
Big Dye Terminator 5x Sequencing Buffer	3 µl
Primer (5 pmol/µl)	2 µl
Template	3 µl
H ₂ O	10 µl
	20µl

Tabelle 8 Cyclerprofil der Sequenzierungs-PCR

25 Zyklen

Denaturierung	96 °C	10 Sekunden
Annealing	50 °C	5 Sekunden
Elongation	60 °C	4 Minuten
Ende	8 °C	∞

Für die Sequenzierung wurde bei den Genen *adk*, *ddl*, *gdh*, *gyd* und *purK* nur der Vorwärtsprimer und bei *pstS* aus Gründen der Auswertbarkeit sowohl der Vorwärts- als auch der Rückwärtsprimer verwendet.

2.2.4.5 V. Aufreinigung des Sequenzierprodukts mit dem DyeEx 2.0 Spin Kit

Um das Sequenzierprodukt durch den Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer analysieren lassen zu können, wurden vorher alle in der Sequenzier-PCR nicht verwendeten Dye-Terminatoren durch Verwendung des DyeEx 2.0 Spin Kit der Firma Qiagen entfernt. Hierfür wurde nach Herstellerangaben vorgegangen [136].

Zuerst wurde die gelenthaltende Säule gründlich gevortext, um das Gel gleichmäßig zu resuspendieren. Nach dem Entfernen des Deckels und des unteren Verschlusses wurde die Säule in ein 2 ml Sammelgefäß gestellt und für drei Minuten bei 3000 rpm zentrifugiert, damit die im Gel enthaltene Flüssigkeit entfernt wurde.

Das flüssigkeitsenthaltende Sammelgefäß wurde verworfen und die gelenthaltende Säule wurde in ein 1,5 ml Sammelgefäß überführt. Nun wurde das gesamte Sequenzierprodukt (20µl) mittig auf die Säule pipettiert ohne die Geloberfläche zu berühren. Nach erneuter Zentrifugation für drei Minuten bei 3000rpm enthielt das Eluat die aufgereinigte DNS.

2.2.4.6 VI. Sequenzanalyse mit dem Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer

Die Sequenzanalyse erfolgte mit dem Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer. Hierzu wurden je 5 µl des aufgereinigten PCR-Produkts zusammen mit je 15 µl Hi-Di™ Formamide in eine 96-Well-Platte pipettiert. Zur Vermeidung von Luftblasen wurde die 96-Well-Platte kurz anzentrifugiert und dann dem Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer zugeführt.

Pro Durchgang konnten so je 96 Genfragmente bzw. insgesamt 12 Isolate (acht Genfragmente pro Isolat) analysiert werden.

Der Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer trennte die Kettenabbruchprodukte mittels Kapillarelektrophorese der Größe nach auf und regte diese mit Hilfe eines Lasers zur Fluoreszenz an. Durch die unterschiedlichen Fragmentlängen und den unterschiedlichen Fluoreszenzmarkierungen der ddNTPs konnte so die DNS-Sequenz durch den Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer detektiert und als Ergebnis auf dem Computer mit Hilfe der seqA6-Software sichtbar gemacht werden.

2.2.4.7 VII. Sequenzauswertung mit MEGA 6.0 und [www.pubmlst.org/efaecium](https://pubmlst.org/efaecium/)

Die Auswertung der durch den Applied Biosystems 3130xl Genetic Analyzer detektierten Nukleotid-Sequenzen erfolgte über die Verwendung der MEGA 6.0 Software [172] zur Generierung der exakten Sequenzlänge, sowie der Internetseite <https://pubmlst.org/efaecium/> zur Bestimmung des Allelprofils als auch des Sequenztyps durch dortige Eingabe der durch MEGA 6.0 erhaltenen Nukleotid-Sequenzen.

Die über den Analyzer detektierten Nukleotid-Sequenzen wurden in die MEGA 6.0 Software über das Feld *Open Saved Alignment Session* und anschließend im geöffneten Alignment Explorer über die Option *View/Edit trace data from DNA sequencers* geladen. Anschließend wurde jede Nukleotid-Sequenz eines jeden Haushaltsgens auf die passende Länge zurecht geschnitten.

Auf der Internetseite <https://pubmlst.org/efaecium/> erfolgte dann über das Feld *Profile and sequence definitions* und die Option *Sequence query* die Abfrage der Allel-Sequenz. Nach Eingabe der durch MEGA 6.0 zugeschnittenen Nukleotid-Sequenzen in das vorgesehene Feld ließ sich das spezifische siebenstellige Allelprofil der Haushaltsgene abrufen.

Mit der Option *Search by combinations of MLST alleles* erfolgte im Anschluss durch Eingabe des erhaltenen Allelprofils die Zuordnung zu dem entsprechend festgelegten Sequenztyp.

2.2.4.8 VIII. Darstellung der Phylogenie der untersuchten *E. faecium*-Isolate mit goeBURST 1.2.1

Zur graphischen Darstellung der Populationsstruktur und der Verwandtschaftsverhältnisse der detektierten *E. faecium*-Isolate wurde die goeBURST 1.2.1-Software [47], eine verbesserte Weiterentwicklung des eBURST-Algorithmus [45], verwendet.

Auf der Grundlage des jeweiligen Allelprofils identifiziert die goeBURST 1.2.1-Software auf Basis des BURST-Algorithmus (global optimiert) die Zugehörigkeit eines Bakterienstamms zu einem bestimmten klonalen Komplex (CC) und ermöglicht die graphische Darstellung der genetischen Verwandtschaftsverhältnisse der untersuchten Stämme.

Das Verfahren beruht auf den Unterschieden (Hamming distance) zwischen den numerischen Profilen (Allele). Isolate mit identischen Allelprofilen werden als Mitglieder eines einzelnen Klons oder einer Linie betrachtet (selber Sequenztyp). Isolate, die sich in nicht mehr als einem Allel unterscheiden, werden als Single-Locus-Varianten (SLVs) und Isolate, die in mehr als zwei oder drei Loci variieren, werden als Double-Locus Varianten (DLVs) oder Triple-Locus Varianten (TLVs) bezeichnet.

In einem klonalen Komplex werden genetisch eng miteinander verwandte Sequenztypen, die sich in nicht mehr als einem der sieben Loci (SLV) von einem weiteren Sequenztyp dieser Gruppe unterscheiden, zusammengefasst.

Innerhalb eines klonalen Komplexes (CC) gilt der Sequenztyp mit den meisten Single-Locus Varianten als Group-Founder (Gründer-Sequenztyp). Nach diesem Sequenztyp wird der generierte Komplex benannt.

2.2.5 Bestimmung der Art des VRE-Erwerbs

Als Definition für nosokomial erworbene Isolate galt eine Probeentnahme frühestens 48 Stunden nach Aufnahme, kein Krankenhausaufenthalt und/oder keine Antibiotikatherapie des Patienten in den vorherigen sechs Monaten. Bei unklaren Isolaten lagen keine ausreichenden Informationen über die Art des VRE-Erwerbs der Patienten zum Aufnahmetag beziehungsweise keine Informationen über vorhergehende Krankenhausaufenthalte vor.

2.2.6 Statistik

Die einbezogenen Untersuchungsergebnisse wurden nach den verschiedenen interessierenden Merkmalen ein- und zweidimensional ausgezählt und entsprechende prozentuale Anteile ermittelt. Zur Prüfung des Zusammenhangs zwischen zwei kategorialen Merkmalen wurde der Chi-Quadrat-Test (unter Berücksichtigung der exakten Testverteilung) benutzt. Zeitliche Trends wurden zusätzlich mittels Korrelationsrechnung und Chi-Quadrat-Test für linearen Trend überprüft. Zur Überprüfung, ob eine Subgruppe bei binärer Aufteilung über die andere dominiert, wurde der prozentuale Anteil für diese Subgruppe zusammen mit exakten 95 %-Konfidenzintervallen (Clopper-Pearson-Methode) bestimmt und zusätzlich ein exakter Test zur Abweichung der beobachteten Häufigkeit von 50 % durchgeführt (Binomialtest).

Alle durchgeführten Tests erfolgten unter Verwendung von IBM SPSS Statistics, Version 24, als exploratorische Analysen bei einer unadjustierten Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %.

3 Ergebnisse

3.1 Untersuchungszeitraum und Herkunft der VRE-Isolate

Zwischen 2013 und 2015 wurden bei 276 Patienten des UKMD Vancomycin-resistente *E. faecium*-Isolate erstmalig nachgewiesen und nachfolgend in dieser Arbeit analysiert. Aus dem Jahr 2013 entstammen 27, aus 2014 101 und aus 2015 148 Isolate, welche aus Screeninguntersuchungen oder klinischen Untersuchungsmaterialien stationärer Patienten unterschiedlicher Fachabteilungen des UKMD isoliert wurden.

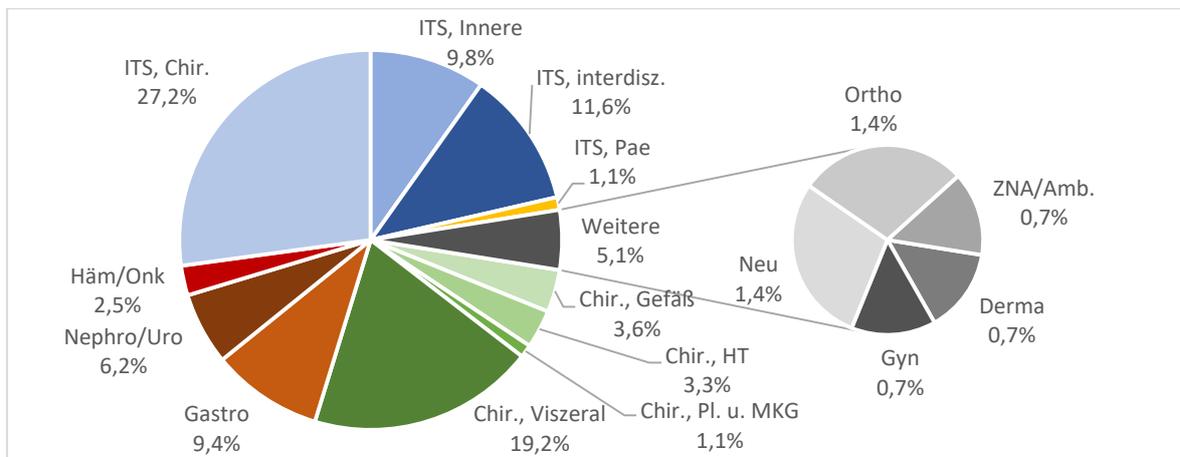


Abbildung 6 Häufigkeitsverteilung der eingesandten VRE-positiven Isolate der Abteilungen des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2013 bis 2015
ITS: Intensivstation; Chir.: Chirurgie; HT: Herz-Thorax inkl. ITS; Pl. u. MKG: Plastische und Mund-Kiefer-Gesicht; Gastro: Gastroenterologie; Nephro/Uro: Nephrologie und Urologie; Häm/Onk: Hämatologie und Onkologie; Innere: Innere Medizin; interdisz.: interdisziplinäre; Pae: Pädiatrie; Ortho: Orthopädie; ZNA/Amb.: Zentrale Notaufnahme und allg. chirurgische Ambulanz; Derma: Dermatologie; Gyn: Gynäkologie; Neu: Neurologie und Neurochirurgie inkl. neurochir. ITS

Wie in Abbildung 6 zu sehen ist, wurde circa die Hälfte der Isolate von 2013 bis 2015 aus der Intensivmedizin eingesandt (49,7 %; n = 137). Die chirurgische Intensivstation war mit 27,2 % (n = 75) aller Isolate insgesamt für die meisten Einsendungen verantwortlich. Isolate der interdisziplinären Intensivstation machten 11,6 % (n = 32) und Isolate der Intensivstation der Inneren Medizin 9,8 % (n = 27) der Gesamtzahl aus. Der geringste Anteil von 1,1 % (n = 3) stammte von der pädiatrischen Intensivstation.

Ein ebenfalls großer Anteil an Isolaten stammte aus den operativen Abteilungen (27,2 %; n = 75). Die Viszeralchirurgie war dabei mit 19,2 % (n = 53) am häufigsten vertreten. Aus der Gefäßchirurgie wurden 3,6 % (n = 10), aus der Herz-Thorax-Chirurgie 3,3 % (n = 9) und aus den Abteilungen der Plastischen- und Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie zusammen 1,1 % (n = 3) der Isolate eingeschickt.

Die Isolate der Abteilungen der Inneren Medizin inklusive Urologie machten 18,1 % (n = 50) aller Einsendungen aus, davon konnten 9,4 % (n = 26) der Gastroenterologie, 6,2 % (n = 17) der Nephrologie/Urologie und 2,5 % (n = 7) der Hämatologie/Onkologie zugeordnet werden.

Die restlichen Isolate (5,1 %; n = 14) stammten aus den Abteilungen der Neurologie und Neurochirurgie inklusive neurochirurgischer Intensivstation und der Orthopädie (je 1,4 %; n = 4) sowie der Dermatologie, Gynäkologie und aus der Zentralen Notaufnahme und allgemeinchirurgischen Ambulanz (je 0,7%; n = 2).

3.2 Entnahmeort der VRE-Isolate

Die untersuchten Vancomycin-resistenten *E. faecium*-Isolate wurden aus verschiedenen Untersuchungsmaterialien angezüchtet.

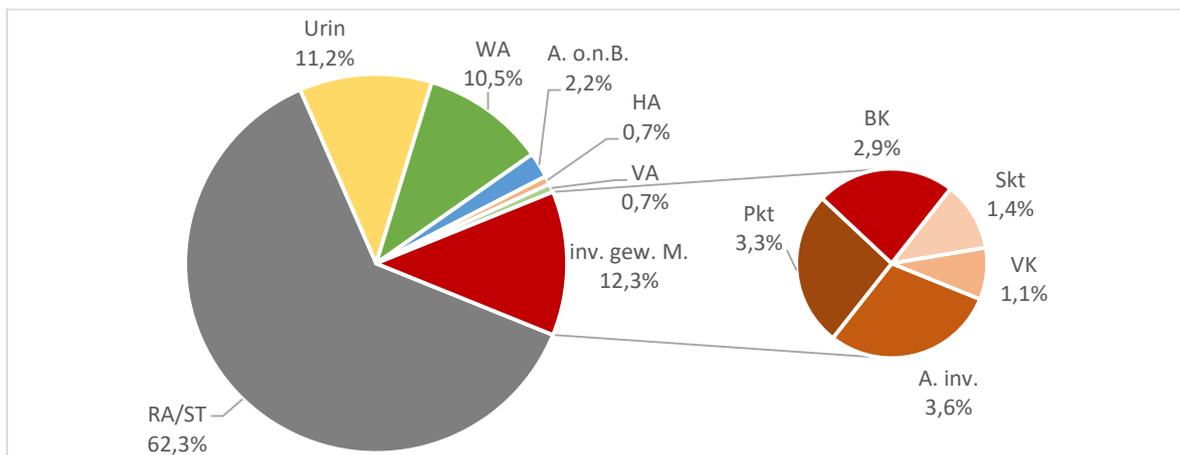


Abbildung 7 Häufigkeitsverteilung der VRE-positiven Probenmaterialien des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2013 bis 2015
 RA/ST: Rektalabstrich/Stuhl; WA: Wundabstrich; A. o.n.B.: Abstrich ohne nähere Bezeichnung; HA: Hautabstrich; VA: Vaginalabstrich; inv. gew. M.: invasiv gewonnenes Material; BK: Blutkultur; Skt: Sekret; VK: Venenkatheter; A. inv.: Abstrich invasiv; Pkt: Punktat

Wie in Abbildung 7 zu erkennen ist, handelte es sich dabei innerhalb des gesamten Untersuchungszeitraumes mit 62,3 % (n = 172) vorwiegend um Rektalabstriche/Stuhlproben, gefolgt von Urinproben mit 11,2 % (n = 31) und Wundabstrichen mit 10,5 % (n = 29).

12,3 % (n = 34) der Einsendungen bestanden aus invasiv gewonnenen Materialien, darunter waren invasive Abstriche aus Abszessen bzw. Bauchhöhlen mit 3,6 % (n = 10) und Punktate bzw. Sekrete von Abszessen, Aszites, Gewebe, Pleura und Pseudozysten mit 3,3 % (n = 9) bzw. 1,4 % (n = 4) und Blutkulturen mit 2,9 % (n = 8) sowie Venenkatheter mit 1,1 % (n = 3) vertreten. Weitere Isolate stammten aus Abstrichen ohne nähere Bezeichnung (2,2 %; n = 6), Hautabstrichen und Vaginalabstrichen (je 0,7 %; n = 2).

3.3 Geschlechts- und Altersverteilung

Im Zeitraum der Untersuchung wurden am UKMD insgesamt 72734 (52,1 %) männliche und 66949 (47,9 %) weibliche Patienten stationär behandelt. Die analysierten VRE-Isolate stammten von 179 männlichen (64,9 %) und 97 weiblichen Patienten (35,1 %). Somit waren am UKMD männliche Patienten signifikant häufiger von VRE betroffen als weibliche Patienten ($p < 0,001$).

Die Einordnung der Altersverteilung der Patienten erfolgte in Anlehnung an das krankenhauseigene Statistiktool in die Altersgruppen 0 bis 4 Jahre, 5 bis 14 Jahre, 15 bis 44 Jahre, 45 bis 64 Jahre, 65 bis 74 Jahre, 75 bis 84 Jahre und über 85 Jahre.

Abbildung 8 zeigt die prozentualen Häufigkeitsverteilungen der 139683 stationär behandelten Patienten sowie der 276 von VRE betroffenen Patienten untergliedert in die sieben Altersgruppen.

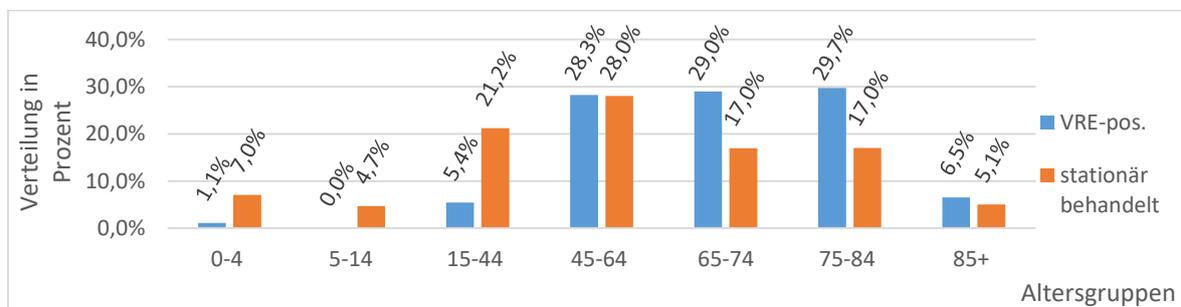


Abbildung 8 Altersverteilung der stationär behandelten Patienten und der VRE-positiven Patienten des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2013 bis 2015 in Prozent

Eine vergleichsweise stärkere Häufigkeit von VRE zeigte sich mit zunehmendem Lebensalter der Patienten. So waren 93,5 % ($n = 258$) aller VRE-positiven Patienten älter als 45 Jahre. In der Altersgruppe der 45 bis 64 Jährigen war die prozentuale Häufigkeitsverteilung der VRE-positiven und der stationär behandelten Patienten in etwa gleich (28,3 %; $n = 78$ und 28,0 %; $n = 39165$). In den Altersgruppen 65 bis 74 und 75 bis 84 war der prozentuale Anteil an stationär behandelten Patienten am UKMD jeweils geringer (17,0 %; $n = 23678$ und 17,0 %; $n = 23753$), wohingegen der prozentuale Anteil an VRE-positiven Patienten konstant blieb (29,0 %; $n = 80$ und 29,7 %; $n = 82$). In der Gruppe der über 85 Jährigen befanden sich noch 6,5 % ($n = 18$) aller von VRE betroffenen Patienten. Bei den jüngeren Patienten bis einschließlich 14 Jahren gab es drei Einsendungen (1,1 %), welche alle von Säuglingen der pädiatrischen Intensivstation stammten und in der weitläufigsten Altersgruppe der 15 bis 44 Jährigen (21,2 %; $n = 29665$) befanden sich nur 5,4 % ($n = 15$) aller VRE-positiven Patienten.

Der Anteil/Quotient der VRE-positiven Patienten unter allen stationär behandelten Patienten des UKMD untergliedert nach Altersgruppen ist in Abbildung 9 graphisch dargestellt. Der prozentuale Anteil an VRE-positiven Patienten stieg mit dem Lebensalter der Patienten von 0,03 % (0-4 J.) über 0,00 % (5-14 J.) und 0,05 % (15-44 J.) auf 0,199 % (45-64 J.) bis hoch auf 0,34 % (65-74 J.) und 0,35 % (75-84 J.) an und blieb auch bei den über 85 Jährigen bei 0,25 %.

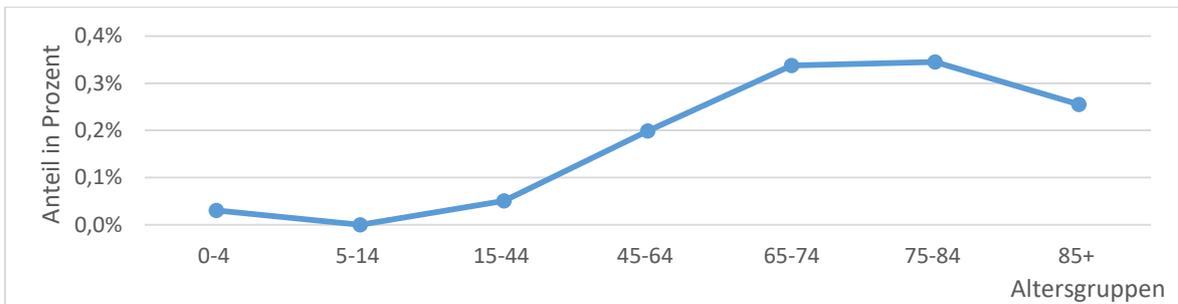


Abbildung 9 Anteil/Quotient der VRE-positiven Patienten aller stationär behandelten Patienten des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2013 bis 2015 separiert nach Altersgruppen in Prozent

Patienten vor dem 45. Lebensjahr waren somit signifikant seltener ($p < 0,001$) und Patienten ab dem 65. Lebensjahr signifikant häufiger ($p < 0,001$) von VRE betroffen.

3.4 Verteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen

Für jedes der 276 untersuchten Isolate wurde der Glykopeptid-Resistenzgenotyp (vanA-/vanB-Gencluster) mittels PCR bestimmt. Abbildung 10 zeigt die prozentualen Häufigkeitsverteilungen gefundener Glykopeptid-Resistenzgenotypen am UKMD der Jahre 2013 bis 2015.

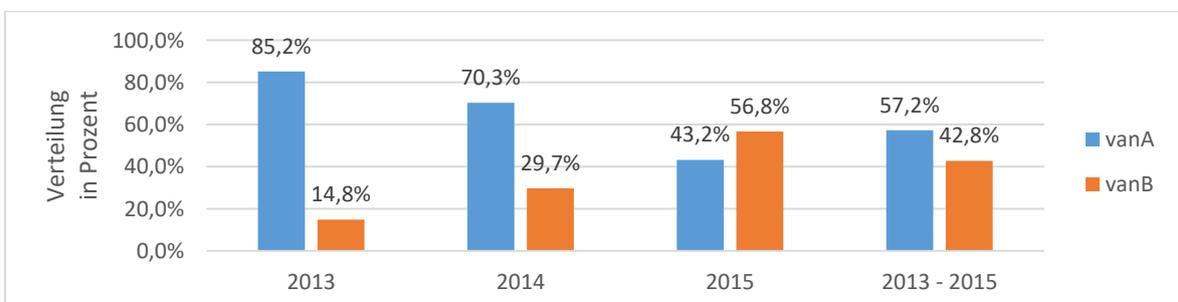


Abbildung 10 Häufigkeitsverteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen am Universitätsklinikum Magdeburg der Jahre 2013 bis 2015 in Prozent

Im Jahr 2013 bestand der größte Anteil der 27 untersuchten Isolate mit 85,2 % (n = 23) aus vanA-positiven VRE. VanB-positive VRE machten 14,8 % (n = 4) aus.

Im Jahr 2014 verdoppelte sich der Anteil der vanB-positiven Isolate im Vergleich zum Vorjahr auf 29,7 % (n = 30). VanA-positive Isolate waren jedoch mit 70,3 % (n = 71) der insgesamt 101 untersuchten Isolate häufiger vertreten.

Auch im Jahr 2015 nahm der Anteil an vanB-positiven VRE-Stämmen im Vergleich zum Vorjahr nochmals um knapp die Hälfte zu, sodass in diesem Jahr mit 56,8 % (n = 84) die meisten der 148 untersuchten Isolate vanB-positiv waren. Der vanA-Genotyp wurde bei 43,3 % (n = 64) der untersuchten Isolate detektiert.

Über die drei Jahre hinweg konnte somit ein signifikanter Wechsel des vorherrschenden Glykopeptid-Resistenzgenotyps von vanA hin zu vanB beobachtet werden ($p < 0,001$), wobei der vanA-Genotyp dennoch im gesamten Untersuchungszeitraum mit einem Anteil von 57,2 % (n = 158) im Vergleich zum vanB-Genotyp mit einem Anteil von 42,8 % (n = 118) signifikant überzog (CI 51,2 % - 63,2 %).

3.4.1 Verteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen innerhalb der einzelnen Fachgebiete

Um eine mögliche Dominanz eines Genotyps innerhalb eines Fachgebiets zu erkennen, wurden die vanA- und vanB-positiven Isolate den speziellen Abteilungen zugeordnet (vgl. Abb. 11).

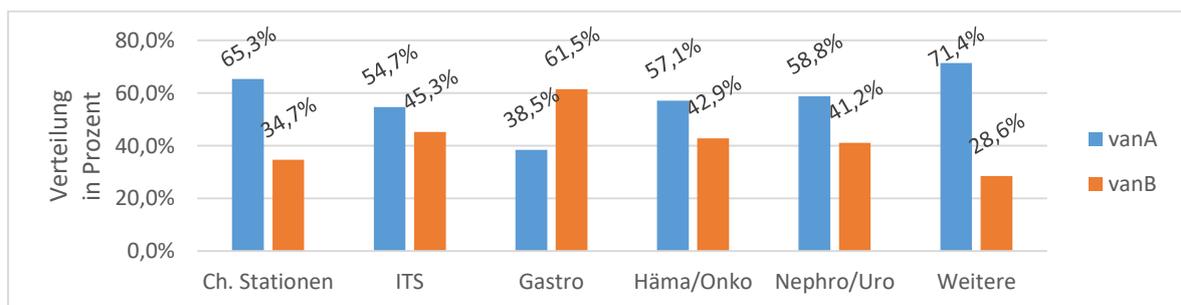


Abbildung 11 Häufigkeitsverteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen in den einzelnen Fachgebieten des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2013 bis 2015 in Prozent

Innerhalb des gesamten Beobachtungszeitraumes von 2013 bis 2015 war in den chirurgischen Abteilungen der Anteil an vanA-positiven Isolaten mit 65,3 % (n = 49) etwa doppelt so hoch und somit signifikant häufiger ($p = 0,01$; CI 53,5 % - 76,0 %) als der an vanB-positiven Isolaten mit 34,7 % (n = 26). Hingegen waren auf den Intensivstationen die vanA-positiven Isolate mit 54,7 % (n = 75) und die vanB-positiven Isolate mit 45,3 % (n = 62) annähernd gleich häufig vertreten.

In den Bereichen der Inneren Medizin inklusive Urologie (nicht graphisch dargestellt) war das Verhältnis von vanA-positiven Isolaten (48,0 %; n = 24) zu vanB-positiven Isolaten (52,0 %; n = 26) ebenfalls annähernd gleich. Für den höheren Anteil an vanB-positiven Isolaten waren hier vor allem die 26 Einsendungen der Gastroenterologie verantwortlich, wobei das Verhältnis vanA-positiver zu vanB-positiver Isolate in der Gastroenterologie bei 38,5 % (n = 10) zu 61,5 % (n = 16) lag. Auf der Hämatologie/Onkologie (n = 7), sowie auf den Stationen der Nephrologie und Urologie (n = 17) waren hingegen vanA-positive Isolate zahlreicher. Das Verhältnis vanA-positiver zu vanB-positiver Isolate lag bei Isolaten der Hämatologie/Onkologie bei 57,1 % (n = 4) zu 42,9 % (n = 3) und bei Isolaten der Nephrologie/Urologie bei 58,8 % (n = 10) zu 41,2 % (n = 7).

Bei den Isolaten aus den weiteren Stationen, bestehend aus Dermatologie, Gynäkologie, Neurologie und Neurochirurgie inklusive neurochirurgischer Intensivstation, Orthopädie, Zentraler Notaufnahme und allgemeinchirurgischer Ambulanz wurde in 71,4 % (n = 10) der Fälle der vanA-Typ und in 28,6 % (n = 4) der Fälle der vanB-Typ detektiert.

Entsprechend war nach getrennter Darstellung der Erfassungsjahre bei fast allen Fachgebieten der Wechsel des vorherrschenden Glykopeptid-Resistenzgenotyps von vanA hin zu vanB zu beobachten (vgl. Abb. 12). Lediglich für die Hämatologie/Onkologie war aufgrund der wenigen Isolate pro Jahr kein spezieller Trend zu erkennen.

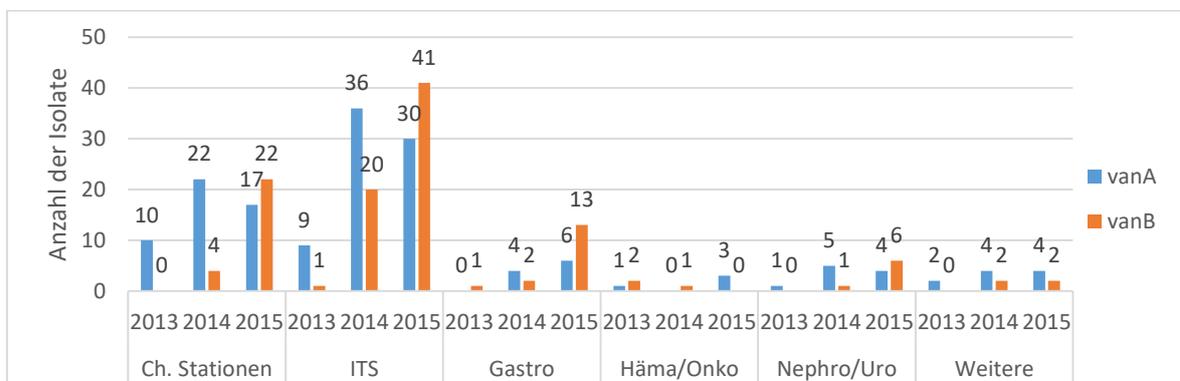


Abbildung 12 Entwicklung der Häufigkeitsverteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen in den einzelnen Fachgebieten des Universitätsklinikums Magdeburg über die Jahre 2013 bis 2015

3.4.2 Verteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen unter den verschiedenen Materialien

Um mögliche Unterschiede der Glykopeptid-Resistenzgenotyp-Verteilung unter den verschiedenen Materialien und damit eventuell bevorzugte Lokalisationen der vanA- bzw. vanB-tragenden Stämme

zu detektieren, wurden für die verschiedenen Materialien die jeweiligen vanA-/B-Genotyp-Verteilungen untersucht (vgl. Abb. 13).

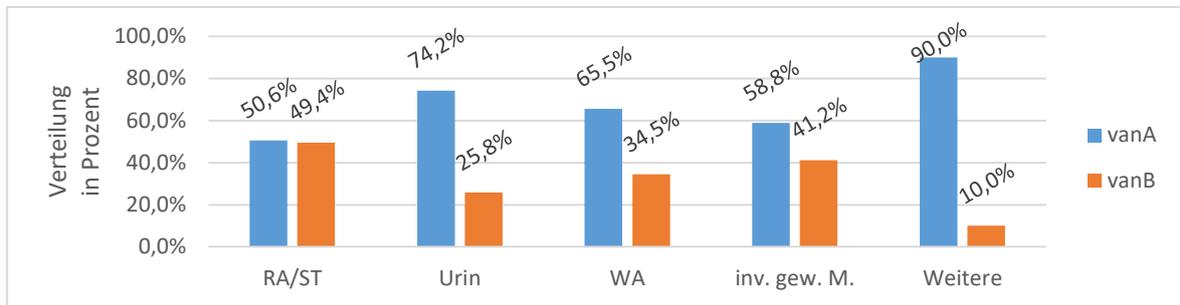


Abbildung 13 Häufigkeitsverteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen unter den verschiedenen Materialien des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2013 bis 2015 in Prozent
RA/ST: Rektalabstrich/Stuhl; WA: Wundabstrich; inv. gew. M.: invasiv gewonnene Materialien; Weitere: Weitere Materialien

Der prozentuale Anteil an vanA-positiven Isolaten war bei den weiteren Materialien, bestehend aus Abstrichen ohne nähere Bezeichnung sowie Haut- und Vaginalabstrichen, mit 90 % (n = 9) gegenüber 10 % (n = 1) vanB-positiver Isolate am größten.

Auch bei den Urinproben, Wundabstrichen und bei den invasiv gewonnenen Materialien war der prozentuale Anteil an vanA-positiven höher als der an vanB-positiven Isolaten. Das vanA/B-Verhältnis lag bei Urinproben bei 74,2 % (n = 23) zu 25,8 % (n = 8), bei Wundabstrichen 65,5 % (n = 19) zu 34,5 % (n = 10) und bei den invasiv gewonnenen Materialien bei 58,8 % (n = 20) zu 41,2 % (n = 14). Bei den Rektalabstrichen/Stühlen kamen vanA-positive Isolate mit 50,6 % (n = 87) und vanB-positive Isolate mit 49,4 % (n = 85) etwa gleich häufig vor.

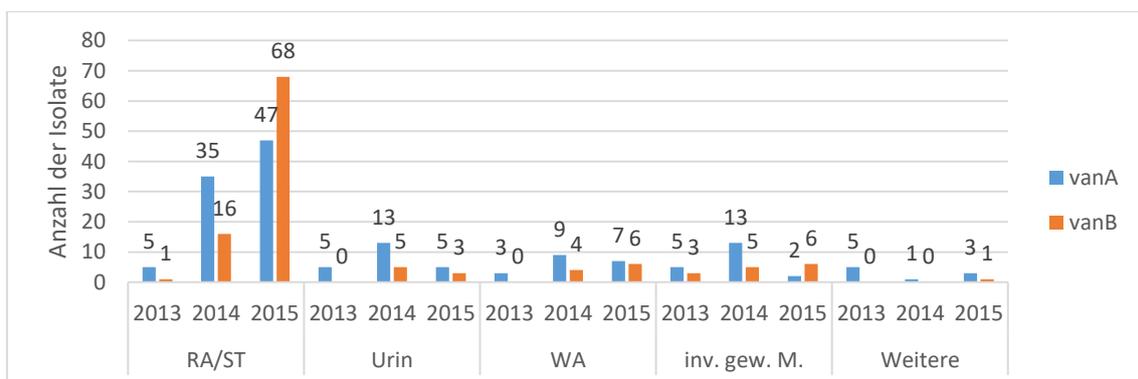


Abbildung 14 Entwicklung der Häufigkeitsverteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen der verschiedenen Materialien des Universitätsklinikums Magdeburg über die Jahre 2013 bis 2015
RA/ST: Rektalabstrich/Stuhl; WA: Wundabstrich; i. g. M.: invasiv gewonnenes Material; Weitere: Weitere Materialien

Wie der Abbildung 14 zu entnehmen ist, konnte nach getrennter Darstellung der Erfassungsjahre bei allen eingesandten Materialien eine Zunahme vanB-positiver im Verhältnis zu vanA-positiven Isolaten beobachtet werden. Der Wechsel des vorherrschenden Glykopeptid-Resistenzgenotyps von vanA hin zu vanB war jedoch nur bei den Rektalabstrichen/Stuhlproben und bei den invasiv gewonnenen Materialien festzustellen.

3.5 Ergebnisse des Multilocus Sequence Typings

Mit Hilfe des Multilocus Sequence Typings wurde für jedes der 276 in dieser Arbeit untersuchten Isolate der zugehörige Sequenztyp ermittelt.

Im gesamten Untersuchungszeitraum konnten 20 verschiedene Sequenztypen nachgewiesen werden. In Abbildung 15 sind alle Sequenztypen mit mehr als einem Isolat aufgeführt.

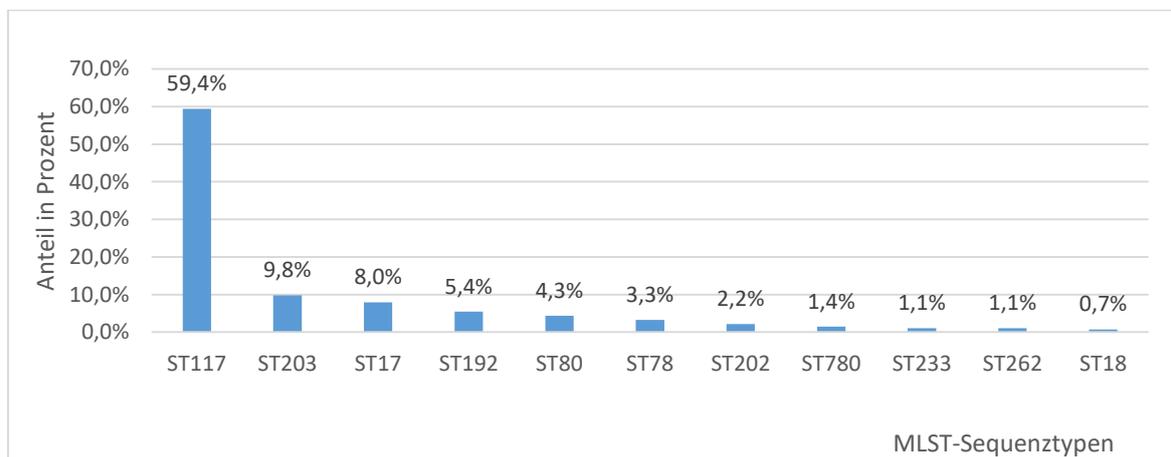


Abbildung 15 Häufigkeitsverteilung der MLST-Sequenztypen des Universitätsklinikums Magdeburg von 2013 bis 2015 in Prozent

Die fünf häufigsten Sequenztypen waren ST117, ST203, ST17, ST192 und ST80. Der Sequenztyp ST117 wurde bei 59,4 % (n = 164) aller Isolate nachgewiesen und war damit der signifikant häufigste Sequenztyp (p < 0,001). ST203, der vor allem im Jahr 2015 auftrat (26 der insgesamt 27 ST203er Isolate) wurde mit 9,8 % (n = 27) am zweithäufigsten bestimmt. Am dritthäufigsten fand sich ST17 mit 8,0 % (n = 22), gefolgt von ST192 mit 5,4 % (n = 15) und ST80 mit 4,3 % (n = 12).

Alle anderen Sequenztypen wurden nur zu einem geringeren Anteil bzw. sporadisch detektiert. ST78 wurde bei 3,3 % (n = 9), ST202 bei 2,2 % (n = 6), ST780 bei 1,4 % (n = 4), ST233 sowie ST262 je bei 1,1 % (n = 3) und ST18 bei 0,7 % (n = 2) der Isolate bestimmt. Die Sequenztypen ST64, ST280, ST375, ST551, ST612, ST811 und drei neu entdeckte Sequenztypen ST1322, ST1323 und ST1324 machten je nur 0,4 % (n = 1) der nachgewiesenen Sequenztypen aus.

Die detektierten Sequenztypen der einzelnen Jahre sind in Abbildung 16 mit der Anzahl der Isolate pro Jahr grafisch dargestellt.

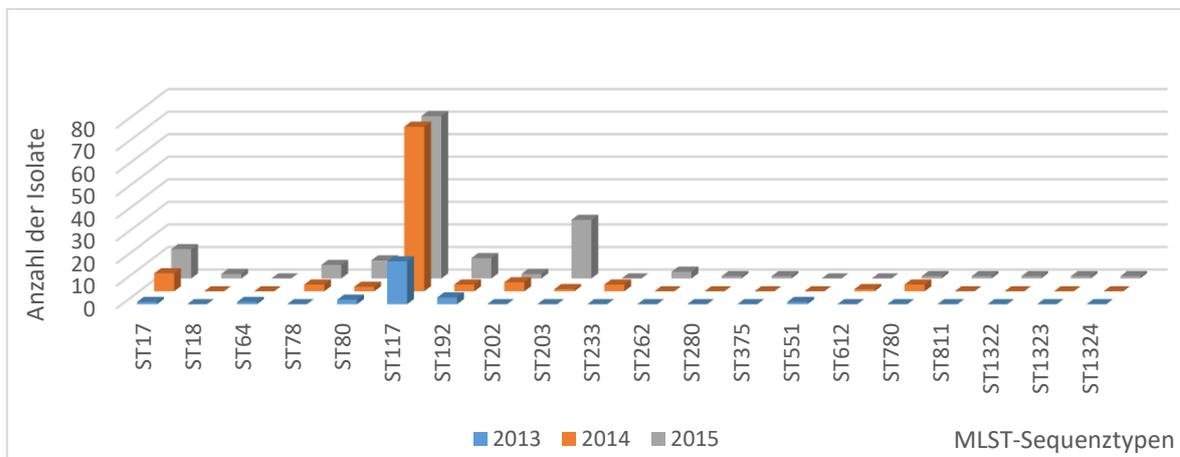


Abbildung 16 Häufigkeitsverteilung der MLST-Sequenztypen des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2013, 2014 und 2015

Bei den 27 Isolatentypen aus dem Jahr 2013 wurden insgesamt sechs unterschiedliche Sequenztypen ermittelt. Am häufigsten vertreten war ST117 mit 70,4 % ($n = 19$), gefolgt von ST192 mit 11,1 % ($n = 3$), ST80 mit 7,4 % ($n = 2$) und ST17, ST64 und ST551 mit je 3,7 % ($n = 1$).

2014 fanden sich unter den 101 untersuchten Isolatentypen insgesamt zehn unterschiedliche Sequenztypen. In absteigender Reihenfolge waren dies ST117 mit 72,3 % ($n = 73$), ST17 mit 7,9 % ($n = 8$), ST202 mit 4,0 % ($n = 4$), ST78, ST192, ST233 sowie ST780 mit je 3,0 % ($n = 3$), ST80 mit 2,0 % ($n = 2$) und die beiden Sequenztypen ST203 und ST612 mit je 1,0 % ($n = 1$).

2015 wurden unter den 148 untersuchten Isolatentypen insgesamt 16 verschiedene Sequenztypen bestimmt. Drei ermittelte Sequenztypen wurden erstmals in dieser Arbeit detektiert. Mithilfe von Janetta Top, der Kuratorin der *E. faecium*-Datenbank auf <https://pubmlst.org/>, wurden die Isolate MD1, MD2 und MD3, für die es vorher noch keinen entsprechenden Sequenztyp gab, in die Datenbank eingefügt. Jedem der drei Isolate wurde ein neuer Sequenztyp zugeordnet. MD1 ist Sequenztyp ST1322, MD2 ist ST1323 und MD3 ist ST1324 (vgl. Tab. 22 im Anhang).

Ebenso wie 2013 und 2014 machte ST117 mit 48,6 % ($n = 72$) den größten Anteil der im Jahr 2015 vorherrschenden Sequenztypen aus. In absteigender Häufigkeit dazu wurden die Sequenztypen ST203 mit 17,6 % ($n = 26$), ST17 mit 8,8 % ($n = 13$), ST192 mit 6,1 % ($n = 9$), ST80 mit 5,4 % ($n = 8$), ST78 mit 4,1 % ($n = 6$), ST262 mit 2,0 % ($n = 3$), ST18 und ST202 mit je 1,4 % ($n = 2$) und die ST280, ST375, ST780, ST811, ST1322, ST1323, ST1324 mit jeweils 0,7 % ($n = 1$) bestimmt.

Über den gesamten Beobachtungszeitraum wurde ein epidemiologischer Wandel deutlich, indem das durch den ST117 dominierende Bild in den Jahren 2013 und 2014 durch häufigeres Auftreten verschiedenster Sequenztypen im Jahr 2015 aufgelöst wurde.

3.5.1 Verteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen in Abhängigkeit zum Sequenztyp

Zur Klärung der Frage, ob eine Korrelation zwischen den Sequenztypen und den Glykopeptid-Resistenzgenotypen besteht, wurden diese miteinander verglichen. Die Sequenztypen mit mehr als zehn Einsendungen und deren Korrelation zum Glykopeptid-Resistenzgenotyp sind in Abbildung 17 graphisch dargestellt.

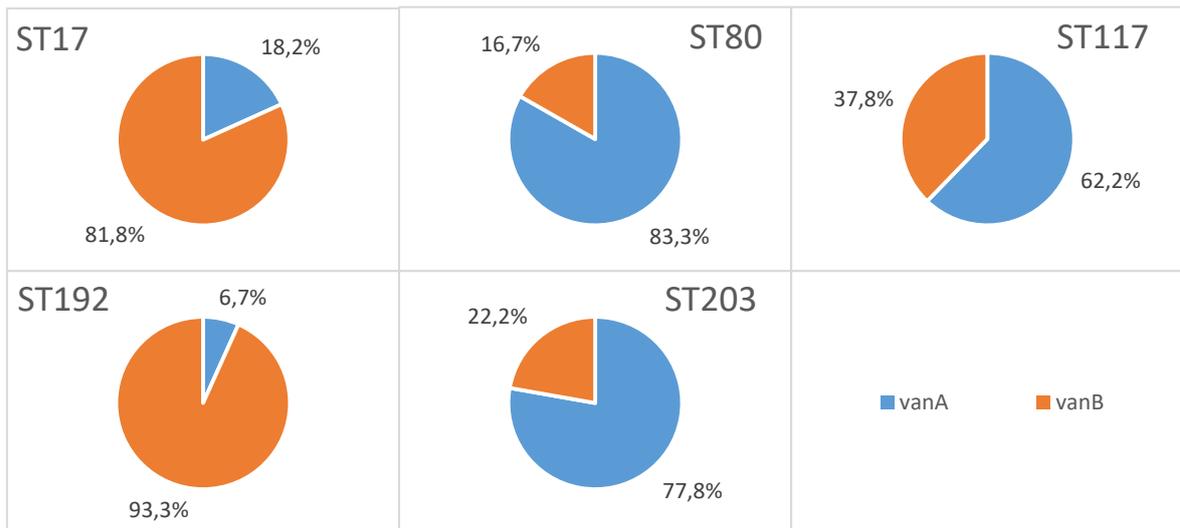


Abbildung 17 Häufigkeitsverteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen der fünf häufigsten Sequenztypen des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2013 bis 2015 in Prozent

Vorwiegend vanA-positiv waren ST117 mit 62,2 % (n = 102/164), ST203 mit 77,8 % (n = 21/27) und ST80 mit 83,3 % (n = 10/12). Ein signifikanter Zusammenhang zum vanA-Genotyp bestand dabei für ST117 (p = 0,048) und ST203 (p = 0,025).

Eine signifikante Korrelation zum vanB-Genotyp konnte für die Sequenztypen ST17 (p < 0,001) und ST192 (p < 0,001) gezeigt werden. Die Isolate von ST17 waren zu 81,8 % (n = 18/22) und von ST192 zu 93,3 % (n = 14/15) vanB-positiv.

Sequenztypen mit weniger als zehn Einsendungen zeigten zwar Korrelationen zu jeweils einem der zwei Resistenzgenotypen, ließen aber nur Tendenzen erkennen.

So trugen die Isolate der Sequenztypen ST78 mit 66,7 % (n = 6/9) und ST233 mit 100 % (n = 3/3) vermehrt das vanA-Gencluster, wohingegen die Isolate der Sequenztypen ST202 mit 83,3 % (n = 5/6) und ST780 mit 100 % (n = 4/4) vorwiegend vanB-positiv waren.

3.5.2 Einordnung der in dieser Arbeit bestimmten Sequenztypen in die *E. faecium* Populationsstruktur

Die Einordnung der in dieser Arbeit bestimmten Sequenztypen in die *E. faecium*-Gesamtpopulation und die Darstellung der Verwandtschaftsverhältnisse zwischen den unterschiedlichen Sequenztypen erfolgte mit der Software goeBURST 1.2.1. [47] und der Software MEGA6 [172].

Die, neben den in dieser Arbeit bestimmten MLST-Profilen (Allelkombinationen der Sequenztypen), als Datengrundlage dienenden MLST-Profile aller bisher entdeckten Sequenztypen standen durch die öffentliche MLST-Datenbank (<https://pubmlst.org/efaecium/>) frei zum Download zur Verfügung.

Zum Zeitpunkt der Auswertung (18. Juni 2017) umfasste die mittels MLST bestimmte Gesamtpopulation von *E. faecium* 1326 verschiedene Sequenztypen, die durch goeBURST auf 267 klonale Komplexe aufgeteilt wurden.

Den größten durch goeBURST generierten klonalen Komplex mit 895 unterschiedlichen Sequenztypen bildete der Klonale Komplex 17 (CC17), der die Sequenztypen der eigenständigen Subpopulation der hospitalassoziierten Isolate beinhaltet [205,87,176,177].

Alle in dieser Arbeit identifizierten Sequenztypen inklusive der drei erstmals entdeckten befanden sich in diesem CC17.

Abbildung 18 zeigt einen Ausschnitt des CC17, in dem die 20 in dieser Arbeit detektierten Sequenztypen hervorgehoben wurden.

Der Gruppen-Gründer (hellgrüner Nodus) des durch goeBURST 1.2.1 generierten CC17 ist der Sequenztyp ST17. Um Untergruppen-Gründer (dunkelgrüne Nodi) des CC17 handelt es sich unter anderem um die Sequenztypen ST18, ST64, ST78, ST80, ST117, ST192, ST202, ST203, ST233, ST262, ST280, ST375, ST551.

Durch die große Anzahl an Isolaten des CC17 ist zu erkennen, dass es durch den BURST-Algorithmus bei Organismen mit einer hohen Rekombinationsrate wie bei *E. faecium* zu einzelnen großen, weitläufigen BURST-Gruppen kommt, die durch fehlerhafte Verknüpfungen von nichtzusammenhängenden Gruppen entstehen [178].

Aufgrund dieser Tatsache und dem Umstand, dass das Konzept der Klonalen Komplexe aufgrund der neuen und besser diskriminierenden Whole-genome Sequenzierung (kann einzelne Sequenztypen noch weiter unterteilen [12,97]) zum Teil überholt ist, können nach Empfehlung von Janetta Top (Kuratorin der MLST- und cgMLST-Datenbank; University Medical Center Utrecht, the Netherlands) neben dem Gruppengründer ST17 die Untergruppen-Gründer mit vielen SLVs und DLVs zusammen mit ihren SLVs und DLVs gewissermaßen als eigenständige klonale Komplexe/eigene Abstammungslinien betrachtet werden.

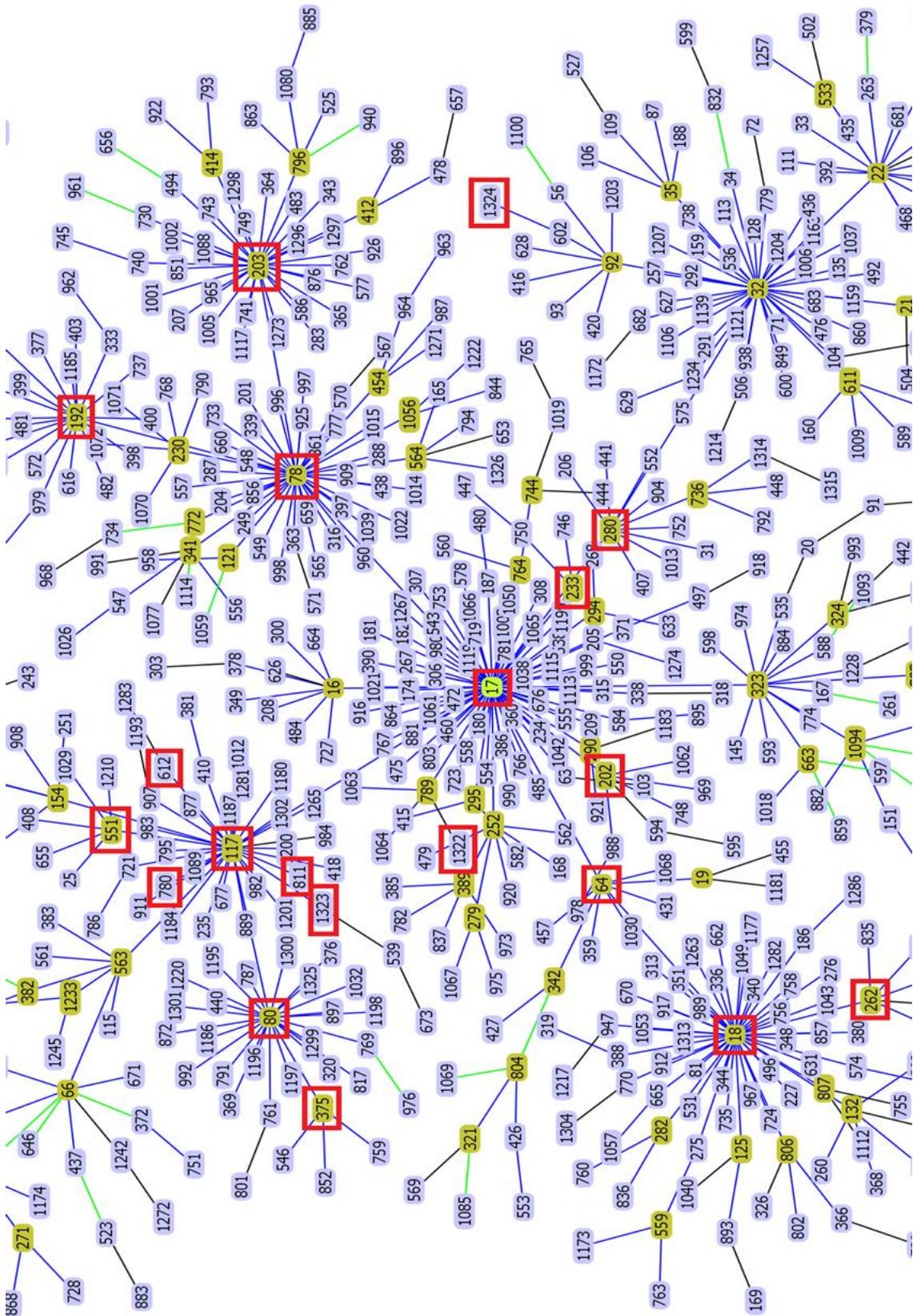


Abbildung 18 Ausschnitt aus der auf MLST-Daten basierenden Populationsstruktur von *E. faecium* mit Darstellung des CC17, erstellt mit Hilfe von goeBURST 1.2.1. Die 20 Sequenztypen der untersuchten *E. faecium*-Isolate des Universitätsklinikums Magdeburg sind durch rote Umrandungen gekennzeichnet. Hellgrüner Nodus = Gruppen-Gründer (ST 17), dunkelgrüne Nodi = Untergruppen-Gründer

Willems et al. konnten 2012 den CC17 bereits auf die drei Hauptkrankenhauslinien ST17, ST18 und ST78 unterteilen. ST17 und ST18 befinden sich mit ihren Abkömmlinge in der BAPS-Gruppe 3-3, wohingegen ST78 mit seinen Abkömmlingen der BAPS-Gruppe 2-1 zugeordnet wurde [208].

Die in dieser Arbeit identifizierten Sequenztypen teilten sich entsprechend folgendermaßen auf diese drei verschiedenen Hauptabstammungslinien (Lineages) auf.

Zur Lineage 17 (BAPS 3-3) gehörten die fünf Sequenztypen ST17, ST202, ST233, ST280 und ST1322. Zur Lineage 18 (BAPS 3-3) gehörten die drei Sequenztypen ST18, ST64 und ST262. Zur Lineage 78 (BAPS 2-1) gehörten die zwölf Sequenztypen ST78, ST80, ST117, ST192, ST203, ST375, ST551, ST612, ST780, ST811, ST1323 und ST1324.

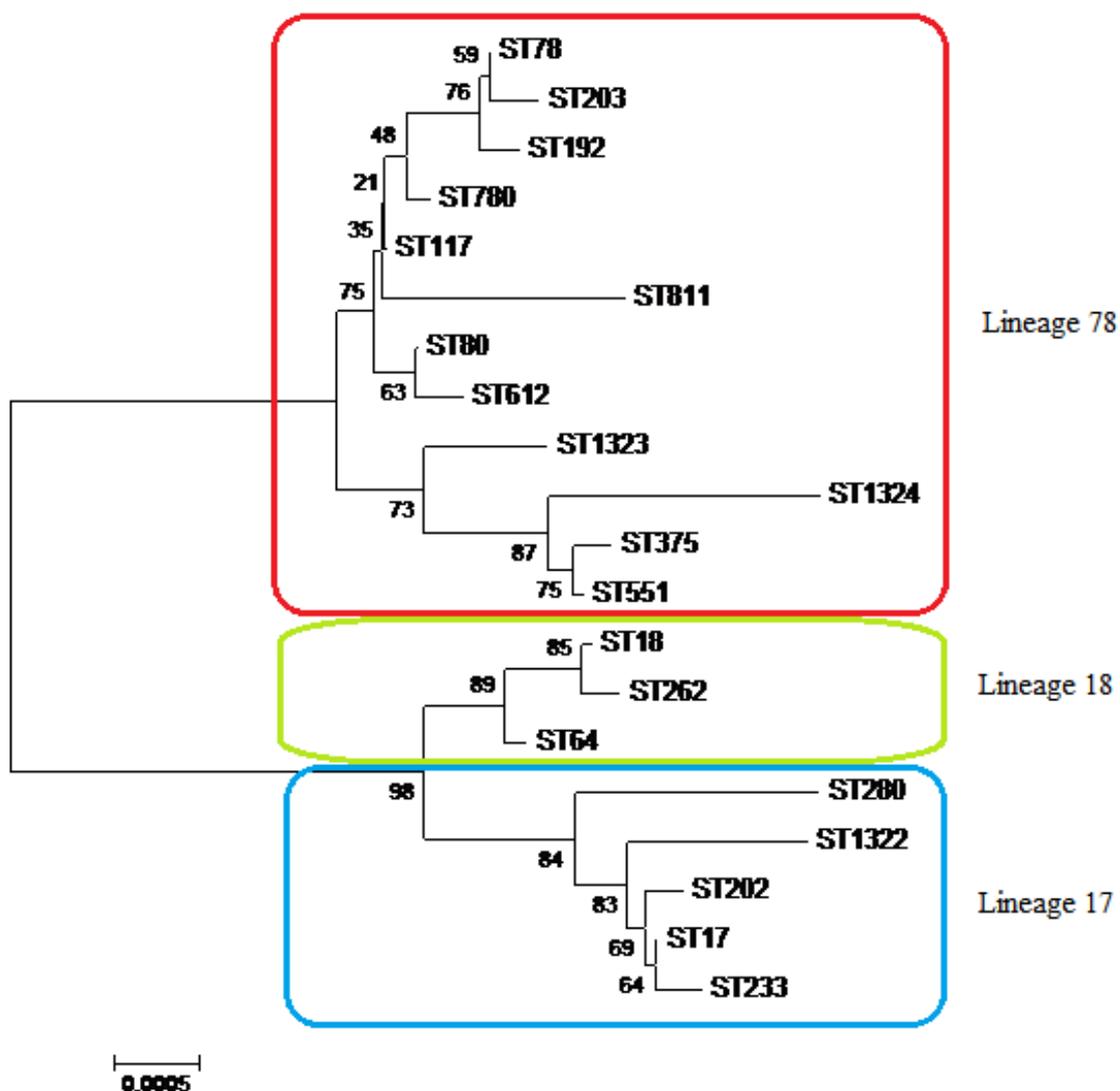


Abbildung 19 Phylogenetischer Stammbaum der 20 Sequenztypen des Universitätsklinikums Magdeburg (MEGA6 [172]). Neighbor-Joining-Tree [154] (Bootstrapping 1000) mit Jukes-Cantor-Methode [71]

Demnach gehörten zum einen insgesamt zwölf der zwanzig detektierten Sequenztypen sowie vier der fünf häufigsten Sequenztypen (ST117, ST192, ST203, ST80) zur Lineage 78, deren Abstammungslinie somit am UKMD mit 85,9 % (n = 237) aller Isolate im Vergleich zur Lineages 17 mit 12,0 % (n = 33) und Lineage 18 mit 2,2 % (n = 6) überwog.

Die evolutionäre Analyse durch MEGA6 [172] veranschaulicht die Zugehörigkeit der einzelnen Sequenztypen zu den durch Willems et al. bestimmten Abstammungslinien. Der phylogenetische Stammbaum (vgl. Abb. 19), der die evolutionären Beziehungen aufzeigt, wurde nach Newman et al. [120] mit der Neighbor-Joining-Methode (Bootstrapping 1000) abgeleitet [154] und die evolutionären Distanzen wurden nach der Jukes-Cantor-Methode [71] berechnet.

3.6 Unterscheidung von nosokomial erworbenen und mitgebrachten VRE-Isolaten

Für jeden der 276 VRE-positiven Patienten wurde zwischen nosokomial erworbenen und mitgebrachten VRE-Isolaten unterschieden. Als nosokomial wurden alle VRE-Fälle definiert, die nach 48 Stunden oder später isoliert wurden, unabhängig davon, ob ein negatives Aufnahmescreening vorlag.

Abbildung 20 zeigt die Art des VRE-Erwerbs der Jahre 2013 bis 2015. Bei den im gesamten Beobachtungszeitraum eingesandten 276 Isolaten handelte es sich in 28,6 % (n = 79) der Fälle um nosokomial erworbene und in 25,7 % (n = 71) um mitgebrachte Isolate. 45,7 % (n = 126) waren unklare Fälle. Das daraus ableitbare Verhältnis nosokomial erworbener zu mitgebrachten VRE-Isolaten betrug unter Ausschluss der unklaren Isolate 52,7 % zu 47,3 %.

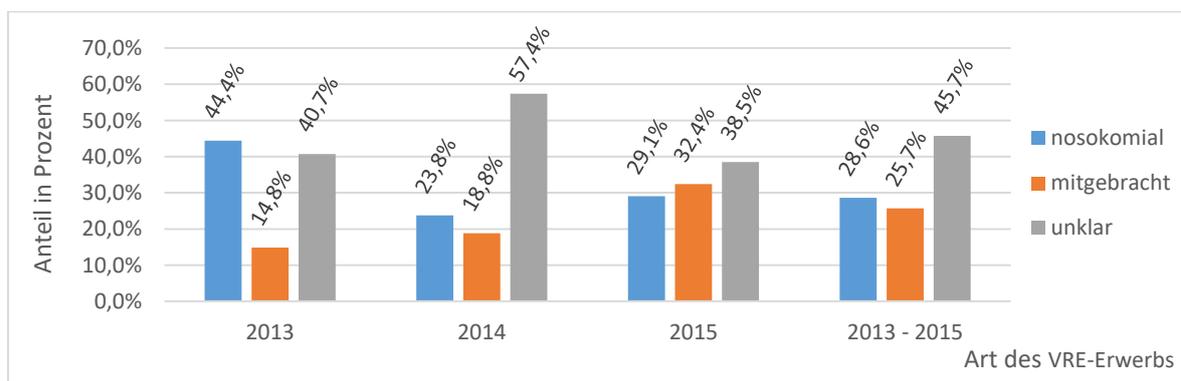


Abbildung 20 Art des VRE-Erwerbs am Universitätsklinikum Magdeburg der Jahre 2013 bis 2015 in Prozent

Die vorherrschende Art des VRE-Erwerbs änderte sich von 2013 bis 2015 von einem zumeist nosokomialen Erwerb im Jahr 2013 hin zu einem größeren Anteil an mitgebrachten Isolaten im Jahr 2015 (Trend: $p = 0,055$). Das ableitbare Verhältnis nosokomial erworbener zu mitgebrachten VRE-Isolaten betrug unter Ausschluss der unklaren Isolate im Jahre 2013 75,0 % zu 25,0 %, im Jahr 2014 55,8 % zu 44,2 % und im Jahr 2015 47,3 % zu 52,7 %.

3.6.1 Anteile nosokomial erworbener und mitgebrachter VRE-Isolate innerhalb der einzelnen Fachgebiete

Abbildung 21 zeigt die Art des VRE-Erwerbs in den einzelnen Fachgebieten. Sowohl auf den Intensivstationen, den chirurgischen Stationen und den weiteren Stationen waren nosokomial erworbene Isolate häufiger als mitgebrachte Isolate. Es konnte jedoch für keine Station ein signifikantes Übergewicht von nosokomialen oder mitgebrachten Isolaten gezeigt werden.

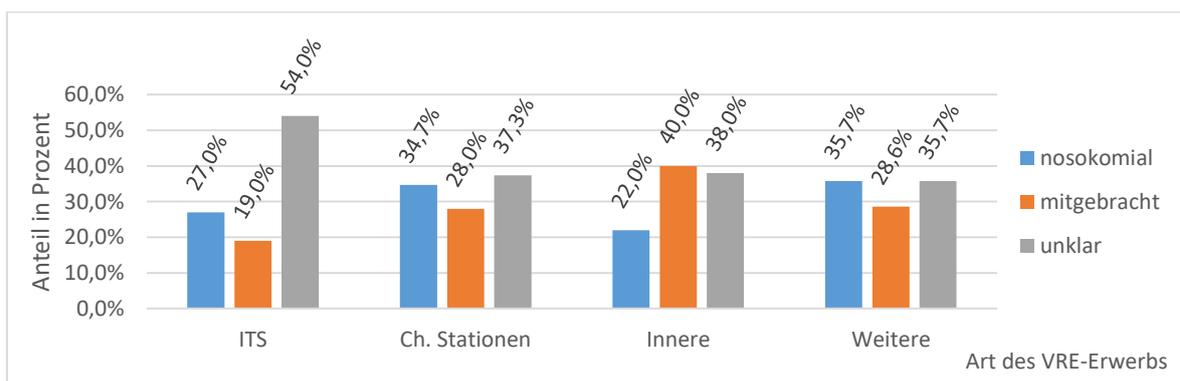


Abbildung 21 Art des VRE-Erwerbs in den einzelnen Fachgebieten des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2013 bis 2015 in Prozent.
 ITS: Intensivstationen; Ch. Stationen: Chirurgische Stationen; Innere: Innere Medizin inkl. Urologie; Weitere: Weitere Stationen

Bei den 137 Isolaten der Intensivstationen handelte es sich zu 27,0 % ($n = 37$) um nosokomial erworbene Isolate und zu 19,0 % ($n = 26$) um mitgebrachte. Die Anzahl unklarer Isolate war auf den Intensivstationen mit 54,0 % ($n = 74$) höher als in den anderen Bereichen.

Das Verhältnis nosokomial erworbener zu mitgebrachten VRE-Isolaten unter Ausschluss der unklaren Isolate lag hier bei 58,7 % zu 41,3 %.

Von den 75 Isolaten der chirurgischen Stationen waren 34,7 % ($n = 26$) nosokomial erworbene und 28,0 % ($n = 21$) mitgebrachte Isolate. Die unklaren Isolate machten hier 37,3 % ($n = 28$) aus. Das Verhältnis nosokomial erworbener zu mitgebrachten VRE-Isolaten unter Ausschluss der unklaren Isolate lag hier bei 55,3 % zu 44,7 %.

Die 14 Einsendungen der weiteren Stationen bestanden zu 35,7 % (n = 5) aus nosokomial erworbenen und zu 28,6 % (n = 4) aus mitgebrachten Isolaten. Die restlichen 35,7 % (n = 5) bildeten die unklaren Isolate. Das Verhältnis nosokomial erworbener zu mitgebrachten VRE-Isolaten unter Ausschluss der unklaren Isolate lag hier bei 55,6 % zu 44,4 %.

Auf den Stationen der Inneren Medizin inklusive Urologie machten die nosokomial erworbenen Isolate 22,0 % (n = 11) und die mitgebrachten Isolate 40,0 % (n = 20) der 50 eingeschickten VRE-Isolate aus. 38,0 % (n = 19) waren unklare Isolate. Das Verhältnis nosokomial erworbener zu mitgebrachten VRE-Isolaten unter Ausschluss der unklaren Isolate lag hier bei 35,5 % zu 64,5 %.

3.6.2 Anteile nosokomial erworbener und mitgebrachter VRE-Isolate unter den verschiedenen Materialien

Abbildung 22 zeigt die Anteile nosokomial erworbener und mitgebrachter VRE-Isolate unter den verschiedenen Materialien. Die VRE-Isolate aus Urinproben, Wundabstrichen und invasiv gewonnenem Material waren häufiger nosokomialer als mitgebrachter Herkunft. Es konnte jedoch für kein Untersuchungsmaterial ein signifikantes Übergewicht von nosokomial erworbenen oder mitgebrachten Isolaten gezeigt werden.

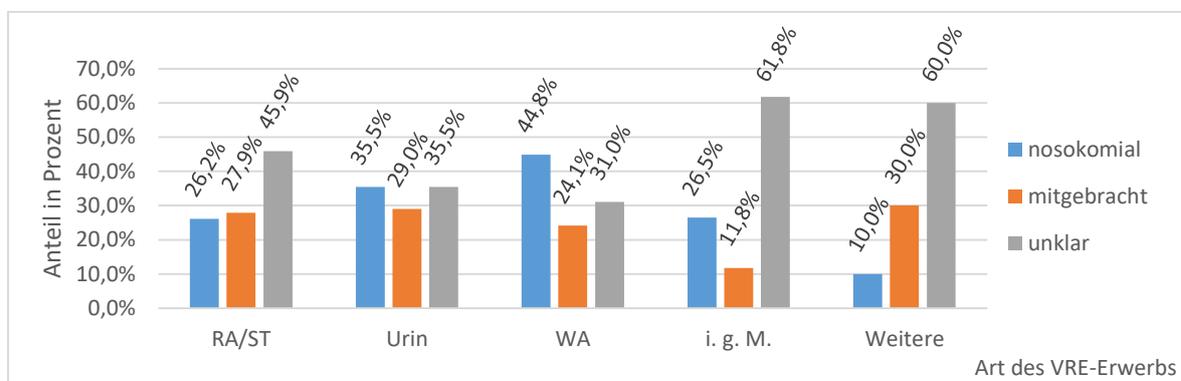


Abbildung 22 Anteile nosokomial erworbener und mitgebrachter VRE-Isolate unter den verschiedenen Materialien des Universitätsklinikums Magdeburg in Prozent
 RA/ST: Rektalabstrich/Stuhl; WA: Wundabstrich; i. g. M.: invasiv gewonnenes Material;
 Weitere: Weitere Materialien

Bei Urinproben machten nosokomial erworbene Isolate 35,5 % (n = 11) und mitgebrachte Isolate 29,0 % (n = 9) der insgesamt 31 eingesandten Proben aus. 35,5 % (n = 11) bestanden dabei aus unklaren Isolaten. Das Verhältnis nosokomial erworbener zu mitgebrachten VRE-Isolaten unter Ausschluss der unklaren Isolate lag hier bei 55,0 % zu 45,0 %.

Die 29 Wundabstriche waren zu 44,8 % (n = 13) nosokomialer und zu 24,1 % (n = 7) mitgebrachter Herkunft. Für 31,0 % (n = 9) der Isolate war die Herkunft unklar. Das Verhältnis nosokomial erworbener zu mitgebrachten VRE-Isolaten unter Ausschluss der unklaren Isolate lag hier bei 65,0 % zu 35,0 %.

Bei den invasiv gewonnenen Isolaten machten nosokomial erworbene Isolate 26,5 % (n = 9) und mitgebrachte Isolate 11,8 % (n = 4) aus. Die Anzahl der unklaren Isolate war mit 61,8 % (n = 21) ziemlich hoch. Das Verhältnis nosokomial erworbener zu mitgebrachten VRE-Isolaten unter Ausschluss der unklaren Isolate lag hier bei 69,2 % zu 30,8 %.

Bei Rektalabstrichen/Stühlen wurden mit 26,2 % (n = 46) nosokomial erworbene und mit 27,9 % (n = 48) mitgebrachte Isolate ähnlich häufig eingesandt. Der Anteil an unklaren Isolaten betrug 45,9 % (n = 79). Das Verhältnis nosokomial erworbener zu mitgebrachten VRE-Isolaten unter Ausschluss der unklaren Isolate lag hier bei 51,6 % zu 48,4 %.

Bei den weiteren Materialien, bei denen es sich in der Mehrzahl der Fälle um Abstriche ohne nähere Bezeichnung und um Haut- und Vaginalabstriche handelte, waren nosokomial erworbene Isolate mit 10,0 % (n = 1), mitgebrachte Isolate mit 30 % (n = 3) und unklare Isolate mit 60 % (n = 6) vertreten. Das Verhältnis nosokomial erworbener zu mitgebrachten VRE-Isolaten unter Ausschluss der unklaren Isolate lag hier bei 25,0 % zu 75,0 %.

3.7 VRE-Raten und Ergebnisse des VRE-Screenings

3.7.1 Übersicht der VRE-positiven Patienten des UKMD und der im Rahmen dieser Arbeit untersuchten VRE-Isolate

Von 2013 bis 2015 wurden von 276 Patienten des UKMD Vancomycin-resistente *E. faecium*-Isolate eingeschickt und jeweils das Erstisolat in dieser Arbeit analysiert.

Ein systematisches VRE-Eingangsscreening und monatliches Querschnittsscreening der Intensivstationen, der chirurgischen Stationen und der Gastroenterologie des UKMD begann im Januar 2014.

In Tabelle 9 sind alle VRE-positiven Patienten des UKMD der Jahre 2013 bis 2015 mit der Unterscheidung zwischen der Art des Nachweises aufgelistet.

Tabelle 9 Übersicht der VRE-positiven Patienten des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2013 bis 2015

Jahr	VRE- positive Patienten insgesamt	Patienten mit positivem VRE-Screening			Patienten mit aus- schließlich klinischem VRE- Nachweis	Patienten mit klinischer VRE- Manifestation insgesamt
		Insgesamt	davon nur pos. VRE- Screening	davon zusätz- lich klinische Manifestation		
2013	27	0	0	0	27	27
2014	101	70	35	35	31	66
2015	148	127	98	29	21	50
2013- 2015	276	197	133	64	79	143

In Tabelle 10 ist verzeichnet, welches Isolat/Material in dieser Arbeit von den Patienten untersucht wurde, die sowohl eine positive Screeninguntersuchung als auch eine klinische Manifestation hatten.

Tabelle 10 Übersicht der untersuchten Isolate der VRE-positiven Patienten des Universitätsklinikums Magdeburg mit positivem Screeningresultat und klinischer Manifestation der Jahre 2014 bis 2015

Jahr	Patienten mit pos. VRE- Screening und klinischer Manifestation	Untersuchung des Scree- ning-Isolats (spätere Ein- sendung des klinischen Materials)	Untersuchung des klinischen Ma- terials (späteres Screening, ver- mutlich im Rahmen des Quer- schnittsscreenings)
2014	35	14	21
2015	29	17	12
2014-2015	64	31	33

Der Tabelle 11 ist zu entnehmen, wie viele Isolate aus Screeninguntersuchungen und wie viele Isolate aus klinischen Nachweisen (klinische Manifestation) im Rahmen dieser Arbeit untersucht wurden.

Tabelle 11 Übersicht der Zusammensetzung der untersuchten VRE-Isolate des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2013 bis 2015

Jahr	Untersuchte Isolate insgesamt	Untersuchte klinische Materialien	Untersuchte Screening-Isolate
2013	27	27	0
2014	101	52	49
2015	148	33	115
2013-2015	276	112	164

Zusammengefasst wurden in dieser Arbeit die Vancomycin-resistenten *E. faecium*-Erstisolate aller 276 betroffenen Patienten des UKMD untersucht.

Bei den 197 positiv gescreenten Patienten handelte es sich bei 164 Patienten um ihr Erstisolat, sodass dieses in dieser Arbeit untersucht wurde. Die 164 Screening-Isolate kamen von 133 Patienten (2014: n = 35; 2015: n = 98), die ausschließlich positive Screeninguntersuchungen hatten und von 31 Patienten (2014: n = 14; 2015: n = 17), von denen im Nachhinein noch mindestens ein klinisches Isolat eingesandt wurde.

Die weiteren 112 Isolate der insgesamt 276 untersuchten Isolate stammten aus klinischen Materialien, die zum einen von den 79 Patienten (2013: n = 27; 2014: n = 31; 2015: n = 21) kamen, von denen ausschließlich klinische Materialien eingeschickt wurden, und zum anderen von 33 Patienten (2014: n = 21; 2015: n = 12), von denen neben klinischen Materialien im Nachhinein auch Rektalabstriche im Rahmen des VRE-Screenings eingesandt wurden (die restlichen 33 der 197 Screeningpatienten). Zu den klinischen Materialien zählten aus Definitionsgründen fünf Rektalabstriche aus dem Jahr 2013, da in diesem Jahr noch kein VRE-Screening durchgeführt wurde, sowie eine Stuhlprobe des Jahres 2013 und zwei Stuhlproben des Jahres 2014, die aufgrund unterschiedlicher klinischer Fragestellungen eingesandt wurden.

3.7.2 VRE-Raten

Die VRE-Rate des UKMD wurde ausschließlich aus klinischen Isolaten, unter Ausschluss von Folgeuntersuchungen (Copy-Strains) und der positiven Screeningnachweise, berechnet, da bei selektiven Methoden (chromID® VRE Agar), die für die Screeninguntersuchungen verwendet wurden, immer der Nachweis besonderer Merkmale (positive Resistenz) bevorzugt wird.

Wie der Tabelle 12 zu entnehmen ist, stieg die VRE-Rate (Anteil der VRE-Isolate bezogen auf alle *E. faecium*-Isolate) des UKMD von 7,1 % im Jahr 2013 signifikant ($p < 0,001$) auf 19,1 % im Jahr 2014 an und fiel im Jahr 2015 wieder signifikant ($p = 0,042$) auf 13,3 % ab. Die VRE-Rate des gesamten Beobachtungszeitraum 2013 bis 2015 betrug 13,0 %.

Tabelle 12 VRE-Raten des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2013 bis 2015 (Berücksichtigt wurden nur Patienten mit klinischen Isolaten)

Jahr	<i>E. faecium</i> gesamt	VSE	VRE	VRE-Rate (Anzahl VRE/Anzahl <i>E. faecium</i> gesamt)
2013	381	354	27	7,1%
2014	345	279	66	19,1%
2015	375	325	50	13,3%
2013-2015	1101	958	143	13,0%

3.7.3 Ergebnisse des VRE-Screenings

Für die Ergebnisse des VRE-Screenings wurden ausschließlich die Patienten/Isolate aus den Jahren 2014 und 2015, in denen das Screening durchgeführt wurde, berücksichtigt.

In Tabelle 13 sind alle VRE-positive Patienten des UKMD der Jahre 2014 und 2015 mit der Unterscheidung zwischen der Art des Nachweises aufgelistet.

Tabelle 13 Übersicht der VRE-positiven Patienten des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2014 und 2015

Jahr	VRE-positive Patienten insgesamt	Patienten mit positivem VRE-Screening			Patienten mit ausschließlich klinischem Nachweis	Patienten mit klinischer Manifestation insgesamt
		Insgesamt	davon nur pos. VRE-Screening	davon zusätzlich klinische Manifestation		
2014-2015	249	197	133	64	52	116

Wie der Tabelle 14 zu entnehmen ist, hatten 79,1 % (197/249) aller VRE-positiven Patienten der Jahre 2014 und 2015 eine positive Screeninguntersuchung. 20,9 % (52/249) der VRE-positiven Patienten wurden hingegen nicht gescreent und ausschließlich durch klinische Isolate identifiziert. Insgesamt 46,6 % (116/249) der VRE-positiven Patienten hatten eine klinische Manifestation und 53,4 % (133/249) waren lediglich kolonisiert (nur positive Screeninguntersuchung).

Tabelle 14 Prozentuale Anteile VRE-positiver Patienten mit positiven Screeninguntersuchungen sowie klinischen Manifestationen des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2014 und 2015

Anteil	VRE-positive Patienten insgesamt				Patienten mit positivem VRE-Screening		Patienten mit klinischer VRE-Manifestation	
	positiv gescreente Patienten insgesamt	nicht gescreente Patienten	ausschließlich positive Screeninguntersuchung	klinische Manifestationen insgesamt	nur positives VRE-Screening	zusätzlich klinische Manifestation	durch das Screening erfasst	nicht durch das Screening erfasst
	79,1% (197/249)	20,9% (52/249)	53,4% (133/249)	46,6% (116/249)	67,5% (133/197)	32,5% (64/197)	55,2% (64/116)	44,8% (52/116)

Bei 67,5 % (133/197) der positiv gescreenten Patienten wurde ausschließlich das Isolat aus den Screeninguntersuchungen detektiert (reine Kolonisation) und bei 32,5 % (64/197) wurde zusätzlich dazu ein klinisches Isolat nachgewiesen (klinische Manifestation – vgl. Abschnitt 3.7.3.1 – *Anteil der Patienten mit klinischer Manifestation nach vorherigen und späteren positiven Screeninguntersuchungen*).

Bei alleiniger Berücksichtigung der 116 klinischen Isolate wurden mit 55,2 % (64/116) etwas mehr als die Hälfte der Patienten mit klinischen Manifestationen durch das Screening erfasst und 44,8 % (52/116) nicht.

3.7.3.1 Anteil der Patienten mit klinischer Manifestation nach vorherigen und späteren positiven Screeninguntersuchungen

Von den 197 positiv gescreenten Patienten wurden von 31 Patienten im Nachhinein klinische Isolate eingesandt und von 33 Patienten zuvor (vgl. Tab. 10). Der gesamte Anteil der Patienten mit positiven Screeninguntersuchungen und klinischer Manifestation betrug entsprechend 32,5 % (n = 64/197) (vgl. Tab. 14).

Der Anteil der Patienten mit klinischer Manifestation nach vorherigen positiven Screeninguntersuchungen betrug 15,7 % (n = 31/197), was bedeutet, dass durch das durchgeführte VRE-Screening in 15,7 % der Fälle kolonisierte Patienten detektiert wurden, die im weiteren Verlauf eine klinische Manifestation entwickelten.

Der Anteil der Patienten mit klinischer Manifestation vor den nachgeschalteten positiven Screeninguntersuchungen betrug insgesamt 16,8 % (n = 33/197).

3.7.3.2 Anteil der Patienten mit klinischer Manifestation nach vorherigen und späteren positiven Screeninguntersuchungen innerhalb der einzelnen Fachgebiete

Auf den Intensivstationen, den chirurgischen Stationen und der Gastroenterologie wurden seit Anfang 2014 monatlich Querschnittsscreenings durchgeführt.

Mehr als die Hälfte der Screening-Isolate (nicht grafisch dargestellt) stammte von den Intensivstationen (54,3 %; n = 107), gefolgt von den chirurgischen Stationen (27,4 %; n = 54) und der Gastroenterologie (10,2 %; n = 20). Aus der Nephrologie/Urologie kamen Screening-Isolate von acht (4,1 %), und aus der Hämatologie/Onkologie von zwei (1,0 %) Patienten. Die restlichen sechs Isolate (3,0 %) der insgesamt 197 positiv gescreenten Patienten kamen aus den weiteren Abteilungen (Neurologie und Neurochirurgie inklusive neurochirurgischer Intensivstation: n = 2; Orthopädie: n = 3; Zentrale Notaufnahme und allgemeinchirurgische Ambulanz: n = 1).

Mit der Anzahl der Patienten, von denen im Verlauf neben einem positiven Screening-Isolat mindestens ein klinisches VRE-Isolat eingesandt wurde, konnte der prozentuale Anteil der Patienten mit klinischer VRE-Manifestation nach vorherigen und späteren positiven Screeninguntersuchungen für die einzelnen Fachgebiete berechnet werden (vgl. Abb. 23).

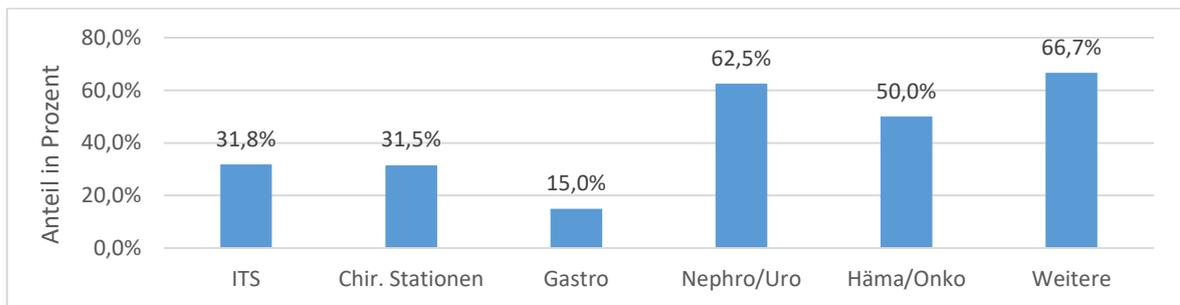


Abbildung 23 *Prozentuale Anteile der Patienten mit klinischer VRE-Manifestation nach vorherigen und späteren positiven Screeninguntersuchungen in den einzelnen Fachgebieten des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2014 und 2015*
 ITS: Intensivstationen; Chir. Stationen: Chirurgische Stationen; Gastro: Gastroenterologie; Häma/Onko: Hämatologie/Onkologie; Weitere: Weitere Stationen

Die klinische VRE-Manifestation bei positivem Screeningnachweis war in den einzelnen Fachgebieten unterschiedlich. So hatten Fachgebiete mit niedrigerem Screeningaufkommen einen recht hohen prozentualen Anteil an klinischen Manifestationen. Die Stationen der Nephrologie/Urologie hatten darunter einen Anteil von 62,5 % (n = 5/8), die der Hämatologie/Onkologie von 50,0 % (n = 1/2) und die der weiteren Stationen von 66,7 % (n = 4/6).

Die Stationen mit regelmäßigen Screeninguntersuchungen (zusätzlich monatliches Querschnittsscreening) hatten hingegen einen geringeren Anteil an klinischen VRE-Manifestationen, dennoch auf hohem Niveau. Die chirurgischen Stationen und die Intensivstationen hatten darunter einen doppelt so hohen Anteil (31,5 %; n = 17/54 bzw. 31,8 %; n = 34/107) wie die Gastroenterologie (15,0 %; n = 3/20).

3.8 Analyse der VRE-Isolate von Patienten mit VRE-Infektion

Berücksichtigt wurden nur die Isolate der 143 Patienten mit klinischer VRE-Manifestation (vgl. Tab. 9, S. 48). Dabei wurde jeweils das klinisch relevanteste Material/Isolat eines jeden Patienten, das maximal zwei Monate nach Erstnachweis eingesandt wurde, betrachtet. Invasiv gewonnene Materialien und vor allem Blutkulturen wurden bei der Untersuchung als schwerwiegendere, also relevantere Infektionen als Harnwegs- und Wundinfektionen angesehen.

Von den 164 in dieser Arbeit untersuchten Screeninguntersuchungen der Jahre 2014 und 2015 kam es bei 31 Patienten (18,9 %) in der Folgezeit zur Einsendung eines klinischen Isolats und somit zu einer klinischen VRE-Manifestation (vgl. Tab. 10, S. 48 u. Abschnitt 3.7.3.1.).

Bei 11 (9,8 %) der 112 Patienten, von denen schon zuvor ein klinisches VRE-Isolat eingeschickt und in dieser Arbeit analysiert wurde (2013 bis 2015, vgl. Tab. 11, S. 48), kam es in der Folgezeit zur Einsendung eines invasiv gewonnen Isolats und somit zu einer invasiven VRE-Manifestation.

3.8.1 Entnahmeort der klinischen VRE-Isolate

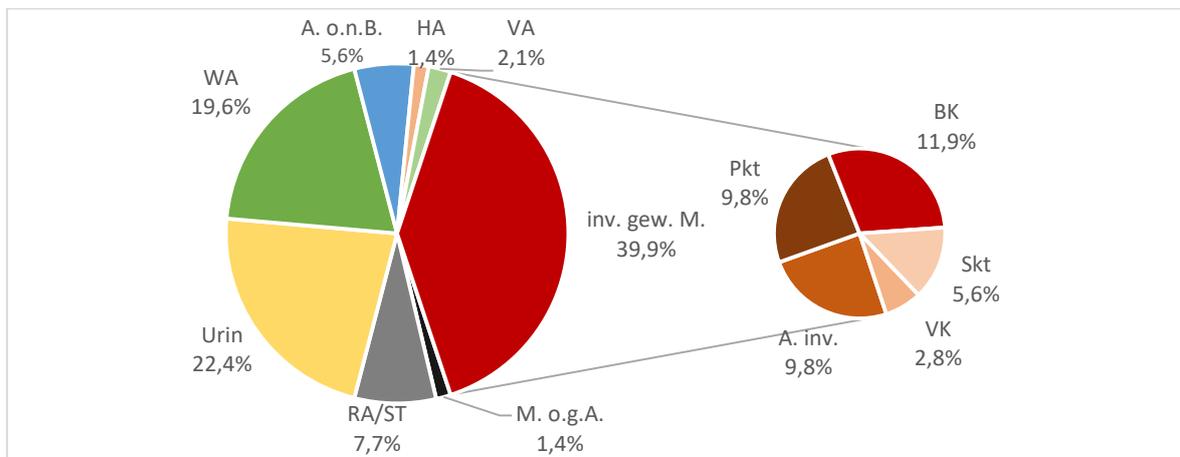


Abbildung 24 Häufigkeitsverteilung der klinischen VRE-positiven Probenmaterialien des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2013 bis 2015
 RA/ST: Rektalabstrich/Stuhl; WA: Wundabstrich; A. o.n.B.: Abstrich ohne nähere Bezeichnung; HA: Hautabstrich; VA: M. o.g.A.: Material ohne genaue Angaben; Vaginalabstrich; inv. gew. M.: invasiv gewonnenes Material; BK: Blutkultur; Skt: Sekret; VK: Venenkatheter; A. inv.: Abstrich invasiv; Pkt: Punktat

Unter alleiniger Berücksichtigung der Materialien der 143 Patienten mit klinischer VRE-Manifestation der Jahre 2013 bis 2015 (vgl. Abb. 24) waren Rektalabstriche/Stuhlproben mit 7,7 % (n = 11), Urinproben mit 22,4 % (n = 32) und Wundabstriche mit 19,6 % (n = 28) vertreten.

39,9 % (n = 57) der klinischen Einsendungen bestanden aus invasiv gewonnenen Materialien, wovon in absteigender Reihenfolge Blutkulturen mit 11,9 % (n = 17), invasive Abstriche und Punktate jeweils mit 9,8 % (n = 14), Sekrete mit 5,6 % (n = 8) und Venenkatheter mit 2,8 % (n = 4) vertreten waren.

Weitere klinische Isolate stammten aus Abstrichen ohne nähere Bezeichnung (5,6 %; n = 8), Hautabstrichen (1,4 %; n = 2), Vaginalabstrichen (2,1 %; n = 3) sowie aus Materialien ohne genaue Angaben (1,4 %; n = 2).

3.8.2 Herkunft der klinischen VRE-Isolate

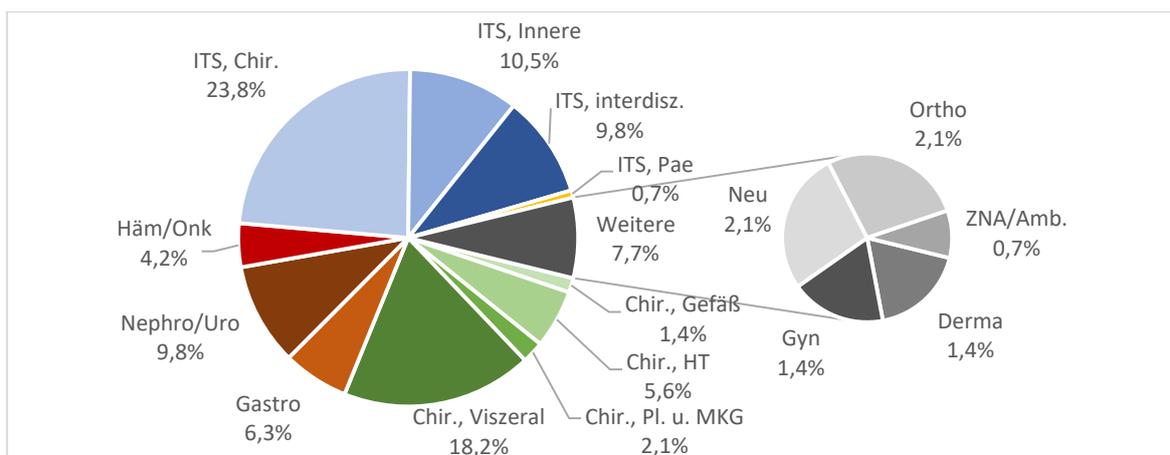


Abbildung 25 Häufigkeitsverteilung der eingesandten klinischen VRE-positiven Isolate der Abteilungen des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2013 bis 2015
 ITS: Intensivstation; Chir.: Chirurgie; HT: Herz-Thorax inkl. ITS; Pl. u. MKG: Plastische und Mund-Kiefer-Gesicht; Gastro: Gastroenterologie; Nephro/Uro: Nephrologie und Urologie; Häm/Onk: Hämatologie und Onkologie; Innere: Innere Medizin; interdisz.: interdisziplinäre; Pae: Pädiatrie; Ortho: Orthopädie; ZNA/Amb.: Zentrale Notaufnahme und allg. chirurgische Ambulanz; Derma: Dermatologie; Gyn: Gynäkologie; Neu: Neurologie und Neurochirurgie inkl. neurochir. ITS

Ausgehend von den 143 Patienten mit klinischer VRE-Manifestation der Jahre 2013 bis 2015 (vgl. Abb. 25) wurden von den Intensivstationen insgesamt 44,8 % (n = 64) der klinischen VRE-Isolate eingesandt. Darunter war die Intensivstation der chirurgischen Abteilungen mit 23,8 % (n = 34) für die meisten Einsendungen verantwortlich. Isolate der Intensivstation der Inneren Medizin machten 10,5 % (n = 15), Isolate der interdisziplinären Intensivstation 9,8 % (n = 14) und Isolate der pädiatrischen Intensivstation 0,7 % (n = 1) der Einsendungen aus.

Aus den chirurgischen Abteilungen stammten 27,3 % (n = 39) der Einsendungen. Die Viszeralchirurgie war mit 18,2 % (n = 26) am häufigsten vertreten. Aus der Herz-Thorax-Chirurgie mit eigenständiger Intensivstation wurden 5,6 % (n = 8), aus den Abteilungen der Plastischen- und Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie zusammen 2,1 % (n = 3) und aus der Gefäß-chirurgie 1,4 % (n = 2) der Isolate eingeschickt.

Die Isolate der Abteilungen der Inneren Medizin inklusive Urologie machten 20,3 % (n = 29) aller Einsendungen aus. Isolate der Nephrologie/Urologie wurden dabei mit 9,8 % (n = 14) am häufigsten eingeschickt. Aus der Gastroenterologie kam es zur Einsendung von 6,3 % (n = 9) und aus der Hämatologie/Onkologie zur Einsendung von 4,2 % (n = 6) aller klinischen Isolate.

Die weiteren 7,7 % (n = 11) der klinischen Isolate stammten aus der Neurologie und Neurochirurgie, der Orthopädie (je 2,1 %; n = 3), der Dermatologie und der Gynäkologie (je 1,4 %; n = 2) sowie aus der Zentralen Notaufnahme und allgemeinchirurgischen Ambulanz (0,7 %; n = 1).

4 Diskussion

Enterokokken und vor allem *E. faecium* sind in zunehmendem Maße für nosokomiale Infektionen verantwortlich [42,19]. Bis heute ist die genaue Art und Weise der VRE-Verbreitung noch nicht vollständig geklärt [51]. Die nationalen Resistenzraten von *E. faecium* gegen viele Antibiotika und speziell gegen Vancomycin mit einem Anteil von meist über 10 % stellen daher ein ernstzunehmendes Problem dar.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden epidemiologische Untersuchungen von Vancomycin-resistenten *E. faecium*-Erstisolaten von 276 Patienten aus den Jahren 2013 bis 2015 am UKMD hinsichtlich der stationären Herkunft, des Probenmaterials, der Geschlechts- und Altersverteilung, des Glykopeptid-Resistenzgenotyps, des MLST-Sequenztyps sowie der zeitlichen Akquirierung untersucht, deren Ergebnisse nachfolgend im Einzelnen diskutiert werden.

4.1 VRE-Raten

Die VRE-Rate (Anteil der VRE-Isolate aus klinischen Untersuchungsmaterialien bezogen auf alle klinischen *E. faecium*-Isolate) des UKMD stieg von 7,1 % im Jahr 2013 signifikant ($p < 0,001$) auf 19,1 % im Jahr 2014 an und fiel im Jahr 2015 wieder signifikant ($p = 0,042$) auf 13,3 % ab. Die VRE-Rate des gesamten Beobachtungszeitraums 2013 bis 2015 betrug 13,0 %.

In Deutschland wurden nach dem Anstieg von VRE der Jahre 2009/2010 [54] wiederholt hohe Werte Vancomycin-resistenter Enterokokken festgestellt (vgl. Tab. 15 bis 19 im Anhang). So zeigten die aktuellsten Daten der Surveillance-Systeme Raten auf einem hohen Niveau von meist über 10,0 % [54,141]. Die Raten des ARS (Antibiotika-Resistenz-Surveillance in Deutschland), die nur Blutkulturoisolate berücksichtigten, lagen 2013 bei 12,9 %, 2014 bei 11,3 % und 2015 bei 12,3 % [4]. Die Raten des SARI (Surveillance der Antibiotika-Anwendung und bakteriellen Resistenzen auf Intensivstationen), die nur Isolate von Intensivstationen berücksichtigten, lagen 2013 bei 12,8 %, 2014 bei 14,3 % und 2015 bei 13,1 % [157]. Die Raten des EARS-Net (European Antimicrobial Resistance Surveillance Network), die nur invasive Isolate berücksichtigten, lagen 2013 bei 14,6 %, 2014 bei 9,1 % und 2015 bei 10,2 % [43]. Die Raten des Labors Dr. Limbach und Kollegen, Heidelberg, in die wie auch in dieser Arbeit alle VRE-Isolate einfließen, lagen 2013-1 bei 16,0 %, 2013-2 bei 14,0 %, 2014-1 bei 13,0 % und 2014-2 bei 11,0 % [54].

Laut EARS-Net kam es ab 2012 bis 2015 zu einem signifikanten Rückgang von Vancomycin-resistenten *E. faecium*-Isolaten in Deutschland [43]. Auch das NRZ konnte von 2011/2012 bis 2013/2014 keinen weiteren Anstieg des Anteils VRE/Enterokokken verzeichnen [142]. Dennoch lagen die Raten mit über 10 % weiterhin über dem europäischen Durchschnitt [148,43].

Abbildung 26 zeigt den zeitlichen Verlauf der VRE-Raten der einzelnen Surveillance-Systeme und des UKMD von 2008 bis 2015.

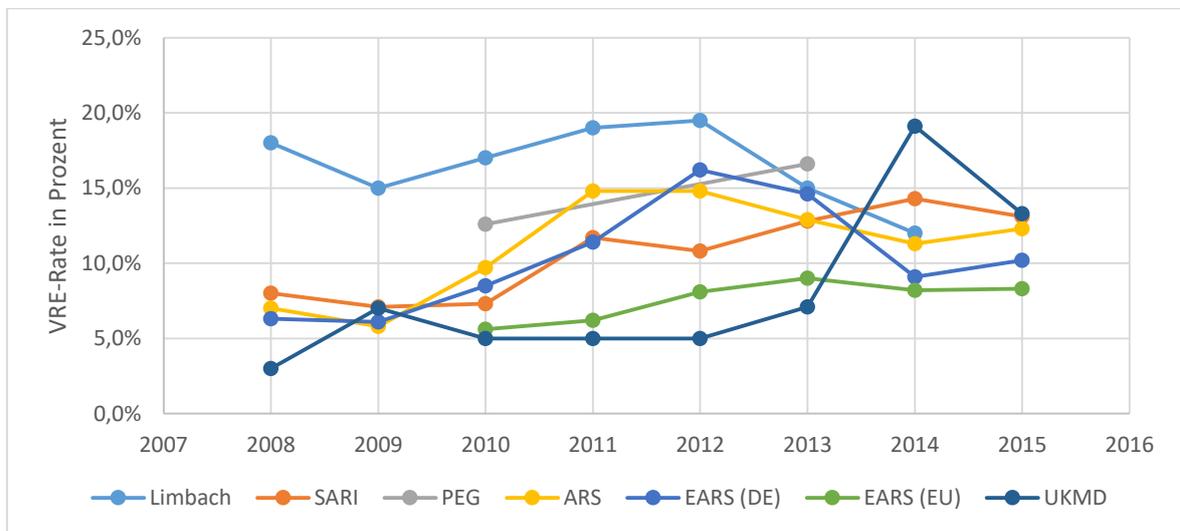


Abbildung 26 *E. faecium* Vancomycin-Resistenzraten der Jahre 2000 bis 2015 der Surveillance-Systeme Labor Dr. Limbach und Kollegen (Limbach), Surveillance der Antibiotika-Anwendung und bakteriellen Resistenzen auf Intensivstationen für Deutschland (SARI), Resistenzstudien der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Deutschland (PEG), Antibiotika-Resistenz-Surveillance in Deutschland (ARS), EARS-Net für Deutschland (EARS (DE)), EARS-Net für die EU/EAA (EARS (EU)), Universitätsklinikum Magdeburg (UKMD) – vor 2013 inkl. MRE-Screening, vgl. auch Tab. 15-21 im Anhang

Zu einer deutlichen Zunahme von VRE-Nachweisen kam es am UKMD erst ab dem vierten Quartal des Jahres 2013, woraufhin die VRE-Surveillance intensiviert wurde.

Im Jahr 2013 lag die VRE-Rate mit 7,1 % noch unter dem Durchschnitt der Surveillance-Systeme. Im Jahr 2014 hingegen war die VRE-Rate im UKMD mit 19,1 % überdurchschnittlich hoch. Durch eingeleitete Hygienemaßnahmen (s.u.) sank die Rate 2015 mit 13,3 % wieder auf Werte, die in etwa mit denen der Surveillance-Systeme übereinstimmten. Bei Betrachtung der VRE-Rate für den gesamten Beobachtungszeitraum (13,0 %) fanden sich im Vergleich mit den Raten der Surveillance-Systeme insgesamt ähnliche Werte auf einem leicht höheren Niveau, wobei die Intensivstationen, auch aufgrund des intensivieren Screenings, den größten Anteil der Einsendungen von VRE am UKMD ausmachten (vgl. Abschnitt 4.3.1. - *Herkunft der VRE-Isolate*). In diesen Abteilungen nahmen die Resistenzraten, vor allem in der Mitte Deutschlands, in den letzten Jahren kontinuierlich zu [157,148].

Die ansteigenden VRE-Raten in Deutschland entwickelten sich regional sehr unterschiedlich [148,78]. Im Vergleich zu den nationalen Surveillance-Systemen kam es so am UKMD erst später zu einer deutlichen Zunahme der VRE-Rate. Genaue Gründe hierfür ließen sich im Nachhinein nicht

eruierten. Hospitalassoziierte *E. faecium*-Stämme bzw. VRE können sich durch Patientenverlegungen zwischen Krankenhäusern schnell ausbreiten. Im Krankenhaus erfolgt die Ausbreitung ausgehend von den Patienten bzw. der Patientenumgebung, insbesondere durch Handkontakte des medizinischen Personals, wenn die Regeln der Händehygiene nicht eingehalten werden [11,153,184,9,78,79,84].

Zur Reduktion von VRE im klinischen Umfeld wurden multimodale VRE-Maßnahmenbündel von verschiedenen Kliniken erfolgreich angewandt [11,184,115,145,3]. Nach der Zunahme von VRE am UKMD wurde ein VRE-Präventionsbündel eingeführt, das, neben einem risikobasiertem Aufnahmescreening, aus einem intensivierten aktiven Screening in allen Bereichen mit einer erhöhten VRE-Prävalenz, Isolierung der VRE-positiven Patienten, intensivierter Unterhaltsreinigung in allen Patientenzimmern, Schlussdesinfektion der Patientenzimmer von VRE-positiven Patienten nach Entlassung sowie Schulung der Mitarbeiter zu VRE-spezifischen Hygienemaßnahmen und zur Handhygiene bestand. Dieses VRE-Bündel führte dann (s.o.) schnell zum Rückgang der VRE-Rate am UKMD. Die genannten Maßnahmen zählen zu den wichtigsten bei der Kontrolle von VRE [11,184,115,145,3,84]. Zusätzlich zur strikten Isolierung der VRE-infizierten und -kolonisierten Patienten kam es zur Anwendung erweiterter Barrieremaßnahmen wie dem patientenbezogenen Einsatz von Pflegeutensilien und dem Tragen von Einmalkitteln und -handschuhen. Da der kontrollierte und kritische Einsatz von Antibiotika weiterhin einer der wichtigsten Maßnahmen bei der Eindämmung der Verbreitung von VRE, aber ebenso aller anderen multiresistenten Erregern ist [153,11], wurde das Antibiotic Stewardship (Beratung) in Bezug auf die Verordnung von Vancomycin auf den Intensivstationen des UKMD eingeführt.

Zur weiteren Prävention von Infektionen könnte am UKMD eine antiseptische Waschung bei Patienten mit ZVK [29] und auf Intensivstationen [22,84] beitragen, die derzeit ebenfalls am UKMD im Rahmen der multizentrischen EFFECT-Studie erprobt werden.

4.2 Geschlechts- und Altersverteilung

Im Zeitraum der Untersuchung waren am UKMD männliche Patienten (64,9 %) signifikant häufiger ($p < 0,001$) von VRE-Kolonisationen und -Infektionen betroffen als weibliche Patienten (35,1 %). Die Studienlage zur Geschlechtsverteilung bezüglich einer Kolonisation bzw. Infektion mit VRE ist uneinheitlich und lässt keine allgemeingültigen Schlüsse zu. Manche Untersuchungen sahen das männliche [124,73] und mehrere andere das weibliche Geschlecht als Risikofaktor [34,98,133,165,33]. Andere Untersuchungen zeigten keinen Unterschied zwischen den Geschlechtern [163]. Ursachen hierfür sind nur schwer zu eruieren, könnten aber in demographischen und strukturellen Unterschieden begründet sein.

Eine vergleichsweise stärkere Häufigkeitszunahme von VRE am UKMD zeigte sich mit zunehmendem Lebensalter der Patienten. 93,5 % aller VRE-positiven Patienten waren älter als 45 Jahre. Patienten vor dem 45. Lebensjahr waren dabei signifikant seltener ($p < 0,001$) und Patienten ab dem 65. Lebensjahr signifikant häufiger ($p < 0,001$) von VRE betroffen.

Hohes Lebensalter wurde bereits in mehreren Studien als unabhängiger Risikofaktor dargestellt, der mit der Prävalenz von VRE signifikant verbunden ist [55,210,133,165].

4.3 Herkunft und Entnahmeort der VRE-Isolate

Die aus Screeninguntersuchungen und klinischen Untersuchungsmaterialien stammenden VRE-Isolate wurden von verschiedenen Stationen des UKMD mittels verschiedener Materialien unterschiedlicher körperlicher Lokalisationen eingesandt.

Im folgenden Abschnitt wurden zum einen alle 276 VRE-Erstnachweis-Isolate des UKMD betrachtet, die sowohl aus Screeninguntersuchungen als auch aus klinisch relevanten Materialien bestanden. Zum anderen wurden die 143 Patienten mit mindestens einem klinischen VRE-Material/Nachweis separat betrachtet und die 133 Patienten mit ausschließlich positivem Screeningnachweis vernachlässigt, um einen gesonderten Überblick über die klinischen Manifestationen (klinisch relevante Isolate) zu erhalten. Bei den hier untersuchten klinischen Isolaten handelte es sich immer um das klinisch relevanteste Material (schwerwiegendste klinische Manifestation) eines jeden VRE-positiven Patienten, das innerhalb von maximal zwei Monaten nach Erstnachweis eingesandt wurde.

4.3.1 Herkunft der VRE-Isolate

Von den in dieser Arbeit untersuchten 276 Isolaten stammte fast die Hälfte aller Einsendungen von Patienten aus den intensivmedizinischen Stationen (49,7 %). Die chirurgische Intensivstation war hier wie auch insgesamt für die meisten Einsendungen verantwortlich (27,2 %).

Außerhalb der Intensivstationen stammte der größte Anteil an Isolaten aus den operativen Abteilungen (27,2 %). Darauf folgten mit 18,1 % die Abteilungen der Inneren Medizin inklusive Urologie (Gastroenterologie 9,4 %; Nephrologie/Urologie 6,2 %; Hämatologie/Onkologie 2,5 %).

Auch unter alleiniger Berücksichtigung der 143 Patienten mit Verdacht auf VRE-Infektion war die Verteilung der einsendenden Stationen am UKMD annähernd deckungsgleich mit den Untersuchungen des RKI aus den Jahren 2011 bis 2014 [147,141].

Somit stammten die Isolate des UKMD wie auch die untersuchten Isolate des RKI vor allem aus den klinischen Risikobereichen für Kolonisationen und ggf. auch Infektionen mit Enterokokken bzw.

VRE, zu denen neben den Intensivstationen die chirurgischen Disziplinen und Transplantations-einheiten, die Innere Medizin, die Nephrologie und Urologie, die Hämatologie und Onkologie sowie zunehmend auch die Neonatologie und Pädiatrie zählen [131,147,141]. In Bezug auf die Häufigkeitsverteilung am UKMD ist aber zu berücksichtigen, dass das VRE-Screening nicht flächendeckend, sondern in den Bereichen eingeführt wurde, in denen in diagnostischen Materialien eine erhöhte VRE-Prävalenz festgestellt wurde.

Das häufigere Aufkommen von VRE in den genannten Risikobereichen und vor allem der Intensivstationen hängt mit der Erkrankungsschwere zusammen [142]. So führen komplizierte Krankheitsverläufe, lange Liegedauern [171,75,166], vermehrte Antibiotikagaben mit erhöhten Antibiotikaselektionsdrücken [209,106,7,75,61,166,142], Intubation, mechanische Beatmung und weitere invasive Maßnahmen [106,61,44,32] dazu, dass diese Patienten wesentlich häufiger nosokomiale Besiedlungen und Infektionen erlangen als Patienten der Normalstationen. Der Grund für mehr Einsendungen aus den chirurgischen als aus den übrigen Abteilungen wird mit den chirurgischen Eingriffen, die als eigenständiger Risikofaktor für VRE-Kolonisationen und -Infektionen gelten, zusammenhängen. [106,32] Besonders intraabdominale Eingriffe stellen dabei große Risiken dar, was auch an den vergleichsweise häufigen VRE-Einsendungen aus der Viszeralchirurgie des UKMD (19,2 % aller Einsendungen) zu erkennen war.

Weitere Risikofaktoren, die eine VRE-Kolonisation und dementsprechend eine mögliche anschließende Infektion begünstigen, sind neben den genannten eine vorherige Hospitalisierung [171, 75,166], Kontakt zu VRE-Trägern (direkt und indirekt über kontaminierte Patientenumgebung) [32], chronische Hämodialysepflichtigkeit [171,7,75], Diarrhö [44], das Alter der Patienten (v.a. ältere multimorbide Patienten) [25,115], sowie die Gabe von Immunsuppressiva [61].

Aus der Hämatologie/Onkologie, die aufgrund von Immunsuppression und schwerem Grundleiden sehr stark gefährdete Patienten für Kolonisationen und Infektionen mit VRE beherbergt [202], wurden aus dem UKMD vergleichsweise relativ wenige VRE-Isolate eingesandt. Eine wichtige Motivation für die Implementierung des oben dargestellten VRE-Bündels war gerade die Ausbreitung von VRE in sensiblen Bereichen, wie der Hämatologie, zu vermeiden, was bisher gelungen ist. Aufgrund der geringen VRE-Prävalenz wurde auf der Hämatologie kein systematisches wöchentliches Querschnittsscreening aller Patienten durchgeführt, weshalb nicht ausgeschlossen werden kann, dass einzelne Kolonisationen übersehen wurden. Es gab allerdings auch keinen deutlichen Anstieg von VRE in primär sterilen Materialien wie Blutkulturen, was darauf hindeutet, dass die eingeschlagene Strategie bisher erfolgreich war.

4.3.2 Antibiotic Stewardship

Viele häufig verabreichte Antibiotika-Gruppen fördern die Selektion von hospitalassoziierten-Isolaten sowie folglich von VRE, insbesondere Cephalosporine der zweiten Generation (14,6 %) und Fluorchinolone (14 %), gefolgt von Penicillinen mit b-Lactamase-Inhibitoren (12,6 %) und Cephalosporinen der dritten Generation (10,6 %) [63,13]. Ziel dieser Arbeit war es, Daten zur Epidemiologie von VRE zu sammeln und im regionalen und nationalen Kontext zu vergleichen, weshalb die Antibiotikaverbräuche der einzelnen Stationen des UKMD nicht weiter analysiert wurden.

4.3.3 Entnahmeort der VRE-Isolate

Die in dieser Arbeit untersuchten 276 Isolate wurden überwiegend als Rektalabstrich/Stuhlproben (62,3 %) eingeschickt. Weitere häufige Materialien waren Urinproben (11,2 %), Wundabstriche (10,5 %) und invasiv gewonnene Materialien (12,3 %), welche sich aus invasiven Abstrichen (3,6 %), Punktaten (3,3 %), Blutkulturen (2,9%), Sekreten (1,4 %) und Venenkathetern (1,1 %) zusammensetzten.

Bei VRE-Isolaten aus Urinproben wie auch aus Wundabstrichen kann es sich neben Kolonisationen [168] ebenso wie bei invasiv gewonnenen Materialien um Infektionen gehandelt haben. Entsprechend waren mindestens 62,3 % (Rektalabstriche/Stuhlproben) der 276 untersuchten Patienten zum Zeitpunkt des Erstnachweises lediglich kolonisiert. Dieser Befund entspricht auch den Beobachtungen anderer Arbeiten, dass die Mehrzahl der VRE-positiven Patienten nur kolonisiert und eher wenige infiziert sind [199]. Da *E. faecium* Bestandteil der natürlichen Darmflora ist [46], war es zudem nicht verwunderlich, dass die meisten Einsendungen auch aufgrund der durchgeführten Screeninguntersuchungen per Rektalabstrich aus Rektalabstrichen/Stuhlproben stammten.

Die Verteilung des eingesandten Probenmaterials des UKMD entsprach in etwa den Beobachtungen des RKI aus den Jahren 2011 bis 2014 [147,141], bei denen Rektalabstriche, Urinproben, Wundabstriche und weitere Abstriche sowie Blutkulturen und weitere invasive Materialien der Reihenfolge nach am häufigsten vorkamen.

Bei alleiniger Berücksichtigung der 143 Patienten mit Verdacht auf VRE-Infektion, aufgrund des Erregernachweises in klinisch relevanten Untersuchungsmaterialien, verändert sich die Materialverteilung. Invasiv gewonnene Materialien (39,9 %) machten den größten Anteil der klinisch relevanten Einsendungen aus. Urinproben (22,4 %) und Wundabstriche (19,6 %) waren am zweit- beziehungsweise dritthäufigsten. Unter den invasiv gewonnenen Materialien wurden in absteigender Reihenfolge Blutkulturen (11,9 %), invasive Abstriche (9,8 %), Punktate (9,8 %), Sekrete (5,6 %) und Venenkatheter (2,8 %) eingesandt.

Ein VRE-Nachweis in invasiv gewonnenen, primär sterilen Materialien, insbesondere Blutkulturen, ist immer als Hinweis auf eine schwerwiegende Infektion zu werten, da ein Erregernachweis im Blut, abgesehen von relativ seltenen Kontamination bei der Blutabnahme, immer als Infektion zu werten ist. Ein VRE-Nachweis im Mittelstrahlurin oder im Wundabstrich kann ein Hinweis auf einen Harnwegsinfekt oder eine Wundinfektion sein, in vielen Fällen handelt es sich aber nur um eine Besiedlung der distalen Urethra oder der Wundoberfläche.

Die Analyse der Isolate von Patienten mit Verdacht auf VRE-Infektion zeigte die wesentliche klinische Infektionsverteilung sowie die Entwicklung auf, die bei einer Kolonisation oder einer Infektion mit Vancomycin-resistenten *E. faecium*-Stämmen eintreten kann (Kolonisierungs- bzw. Infektionsverlauf).

Es zeigte sich, dass zuvor kolonisierte Patienten im Verlauf eine klinische Manifestation entwickeln können. Bei 31 der 164 (18,9 %) positiv gescreenten Patienten der Jahre 2014 und 2015 kam es im weiteren zeitlichen Verlauf zur Einsendung eines klinischen Materials (klinische Manifestation). Dies entspricht den Angaben der Literatur, dass Infektionen mit Enterokokken und entsprechend *E. faecium* klassischerweise intestinale Besiedlungen mit anschließender intestinaler Anreicherung vorausgehen [213,179].

Bei 11 der 112 Patienten (9,8 %), von denen zuvor ein klinisches VRE-Isolat vorlag, wurde im weiteren klinischen Verlauf ebenfalls ein VRE-Isolat in einem invasiv gewonnenen Material nachgewiesen, was als Entwicklung einer generalisieren Infektion nach einer initial lokalisierten Infektion gewertet werden könnte.

Besonders bei Patienten mit schweren Grundleiden und/oder einer Immunsuppression ist das Risiko einer VRE-Infektion im Allgemeinen und mit schwerem Verlauf signifikant erhöht [27,209,108,131,184].

4.4 Verteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen

Für jedes der 276 untersuchten Isolate erfolgte die Bestimmung des Glykopeptid-Resistenzgenotyps mittels PCR. Im Vergleich zur Bestimmung des Phänotyps ist die Bestimmung des Genotyps genauer. Bei alleiniger Bestimmung des Phänotyps kann es vorkommen, dass Isolate mit niedrig exprimierten Resistenzen, wie z.B. bei vanB, nicht erfasst werden [199,79].

Ein Reservoir von vanB in anaeroben Darmkommensalen kann bei der direkten Detektion aus Rektalabstrichen zu falsch positiven Ergebnissen führen [204,57], weshalb die molekulare Bestimmung des Genotyps aus kulturellen Isolaten durchgeführt wurde.

Am UKMD kam es zwischen 2013 und 2015 zu einem signifikanten Wechsel des vorherrschenden Glykopeptid-Resistenzgenotyps von vanA hin zu vanB ($p < 0,001$).

In den Jahren 2013 und 2014 war der vanA-Genotyp (2013: 85,2 %; 2014: 70,3 %) häufiger als der vanB-Genotyp (2013: 14,8 %; 2014: 29,7 %), dessen Anteil sich jedoch von 2013 zu 2014 in etwa verdoppelte. Auch im Jahr 2015 nahm der Anteil vanB-positiver Isolate im Vergleich zum Vorjahr um knapp die Hälfte zu, sodass 56,8 % der Isolate aus 2015 vanB-positiv und 43,2 % vanA-positiv waren.

Im gesamten Untersuchungszeitraum von 2013 bis 2015 war dennoch der vanA-Genotyp mit 57,2 % signifikant häufiger (CI 51,2 % - 63,2 %) vertreten als der vanB-Genotyp mit 42,8 %.

Die Surveillance-Systeme PEG, ARS, Sari, Labor Dr. Limbach und das NRZ, die alle die VRE-Entwicklungen für Deutschland dokumentieren, hatten bereits seit 2009/2010 einen beginnenden Wechsel des vorherrschenden Glykopeptid-Resistenzgenotyps von vanA hin zu vanB beobachtet. So war der Anstieg von Vancomycin-resistenten Enterokokken in Deutschland ab 2009/2010 verstärkt auf einer Zunahme vanB-positiver Isolate zurückzuführen, die bis dahin im Gegensatz zu vanA-positiven Isolaten eher selten vorkamen [54].

Im NRZ waren vanB-positive *E. faecium*-Isolate 2011 mit 32,8 % und 2012 mit 40 % Häufigkeit vertreten [54]. In den Jahren 2013 und 2014 waren die eingesendeten Vancomycin-resistenten *E. faecium*-Isolate an das NRZ etwa zur Hälfte vanA- beziehungsweise vanB-positiv [141]. Auch die Daten von PEG, ARS und SARI zeigten, dass seit ca. 2012 beide Typen in etwa gleichhäufig vertreten waren [54,4,43,83,157].

Im Vergleich zu den Daten der Surveillance-Systeme zeigte sich am UKMD eine ähnliche, aber verzögerte Entwicklung der Inzidenz von VRE und der Glykopeptid-Resistenzgenotyp-Verteilung. Da in der vorliegenden Arbeit lediglich Daten aus den Jahren 2013 bis 2015 analysiert wurden, lässt sich über die zeitliche Entwicklung der Verteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen vor 2013 keine Aussage treffen.

Die Gründe für das verstärkte Auftreten bzw. Erkennen von vanB-positiven *E. faecium*-Isolaten sind ebenso wie die Ursachen des allgemeinen Anstiegs von VRE nicht abschließend geklärt und vermutlich multifaktoriell bedingt.

Neben den eher methodischen und strukturellen Argumenten wie den veränderten EUCAST-Grenzwerten aus dem Jahr 2010, den neuen chromogenen Screeningmedien und die neuerdings breite Anwendung genotypbasierter Nachweisverfahren [191,79,56,76,169,211,204,146], können ebenso andere mikrobiologische Aspekte ursächlich zugrunde liegen. So ist weder die Rolle des vanB-Reservoirs in Darmkommensalen bezüglich der Funktion als Ursprung der vanB-bedingten Resistenz in Enterokokken einzuschätzen, noch inwieweit eine Übertragbarkeit des mobilen vanB-Genclusters zwischen nicht verwandten Stämmen Einfluss auf eine zunehmende Verbreitung hat. [191,79,8] Die Aufklärung dieser Fragestellung bedarf weiterer Studien und wird zurzeit durch das NRZ untersucht [141].

4.4.1 Verteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen innerhalb der einzelnen Fachgebiete

Im gesamten Beobachtungszeitraum von 2013 bis 2015 war in den meisten klinischen Fachgebieten der vanA-Genotyp häufiger als der vanB-Genotyp, was vor allem dadurch begründet war, dass vanA-positive Isolate im gesamten Beobachtungszeitraum häufiger waren.

Nur in den chirurgischen Abteilungen waren vanA-positive Isolate (65,3 %) signifikant häufiger ($p = 0,01$; CI 53,5 % - 76,0 %) vertreten als vanB-positive Isolate (34,7 %).

Auf den Intensivstationen sowie den Bereichen der Inneren Medizin inklusive Urologie waren die Anteile an vanA- und vanB-positiven Isolaten ausgeglichener und die zwei Resistenzgenotypen kamen etwa gleich häufig vor (54,7 % zu 45,3 % bzw. 48,0 % zu 52,0 %).

Unter den verschiedenen Bereichen der Inneren Medizin war der vanA-Typ auf der Hämatologie/Onkologie sowie der Nephrologie/Urologie etwas zahlreicher als der vanB-Typ (57,1 % zu 42,9 % bzw. 58,8 % zu 41,2 %). Nur auf der Gastroenterologie waren vanA-positive Isolate seltener als vanB-positive Isolate (38,5 % zu 61,5 %).

Nach getrennter Darstellung der Erfassungsjahre war bei fast allen Fachgebieten der Wechsel des vorherrschenden Glykopeptid-Resistenzgenotyps von vanA hin zu vanB zu beobachten. Lediglich für die Hämatologie/Onkologie war aufgrund der wenigen Isolate pro Jahr kein spezieller Trend zu erkennen.

Auch Ergebnisse des RKI aus den Jahren 2010/2011 zeigten eine bevorzugte Verteilung des jeweiligen Glykopeptid-Resistenzgenotyps unter verschiedenen Fachabteilungen [79]. Zum Teil war die Verteilung jedoch eine andere als in dieser Arbeit. So zeigten die Ergebnisse des RKI eine ähnliche Aufteilung des Glykopeptid-Resistenzgenotyps für Intensivstationen (51,2 % zu 48,8 %), Hämatologie/Onkologie (52,1 % zu 47,9 %) sowie Nephrologie/Urologie (57,4 % zu 42,6 %). VRE-Isolate von chirurgischen Abteilungen sowie aus der Gastroenterologie (RKI - Inneren Medizin) zeigten aber im Vergleich zum UKMD entgegengesetzte Verhältnisse der Verteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen (46,0 % zu 54,0 % bzw. 55,8 % zu 44,2 %).

Dementsprechend kann keine allgemeingültige Aussage über eine fachspezifische Verteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen getroffen werden.

4.4.2 Verteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen unter den verschiedenen Materialien

Im gesamten Beobachtungszeitraum waren vanA-positive Isolate bei fast allen Materialien häufiger als vanB-positive Isolate. Bei den weiteren Materialien, bestehend aus Abstrichen ohne nähere Bezeichnung, Haut- und Vaginalabstrichen überwog der vanA-Genotyp (90,0% zu 10,0 %). Ähnlich sah es bei den Urinproben aus (74,2 % zu 25,8 %). Bei den Wundabstrichen (65,5 % zu 34,5 %) und invasiv gewonnenen Materialien (58,8 % zu 41,2 %) war ebenfalls der vanA-Typ häufiger, wobei vanB-positive Isolate einen bedeutsamen Anteil ausmachten.

Bei den Rektalabstrichen/Stuhlproben kamen vanA- und vanB-positive Isolate etwa gleich häufig vor (50,6 % zu 49,4 %). Im Beobachtungszeitraum waren somit vanA- und vanB-positive Isolate etwa gleichermaßen für reine Kolonisationen verantwortlich (Rektalabstriche/Stuhlproben).

Bei den Isolaten aller anderen Materialien, die nicht aus dem natürlichen Habitat für Enterokokken (Gastrointestinaltrakt) stammten und neben Kolonisationen (z.B. Wundkolonisation) Infektionen darstellten, waren vanA positive Isolate häufiger (s.o.).

Von 2013 hin zu 2015 kam es bei allen eingesandten Materialien zur Zunahme vanB-positiver Isolate im Verhältnis zu vanA-positiven Isolaten. Der Wechsel des vorherrschenden Glykopeptid-Resistenzgenotyps von vanA hin zu vanB konnte allerdings nur bei den Rektalabstrichen/Stuhlproben und bei den invasiv gewonnenen Materialien festgestellt werden.

Der Wechsel des vorherrschenden Glykopeptid-Resistenzgenotyps hing somit vornehmlich mit der Zunahme vanB-positiver Isolate im Verhältnis zu vanA-positiven Isolaten unter den 172 Rektalabstrichen/Stuhlproben zusammen. Dies könnte ein Hinweis auf die bereits vermutete Möglichkeit der Übertragung des mobilen vanB-Genclusters zwischen nicht verwandten Stämmen sein und damit die Rolle eines vanB-Reservoirs in Darmkommensalen als Ursprung der vanB-bedingten Resistenz in Enterokokken unterstreichen [191,79,8].

Vergleiche unserer Ergebnisse mit Ergebnissen des RKI aus den Jahren 2010/2011 [79] zeigten zum Teil unterschiedliche Verteilungen des vorherrschenden Glykopeptid-Resistenzgenotyps unter den verschiedenen Materialien, sodass keine allgemeingültige Aussage über eine bevorzugte Assoziation des Genotyps mit bestimmten Lokalisationen/Materialien getroffen werden konnte. Die Ergebnisse des RKI zeigten bei allen Materialien meist eine ausgeglichene Verteilung, wobei bei invasiv gewonnenen Materialien sowie Wundabstrichen der vanB-Typ und bei Urinproben und Rektalabstrichen/Stuhlproben der vanA-Typ überwog. Aufgrund der eher geringen Anzahl an untersuchten Isolaten in dieser Arbeit, insbesondere aus klinisch relevantem Material, ist es schwierig, allgemeingültige Schlüsse aus der Verteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen zu ziehen.

4.5 Ergebnisse des Multilocus Sequence Typings

Um einen Überblick über die *E. faecium*-Populationsstruktur des Universitätsklinikums Magdeburg zu erhalten, wurde für jedes Isolat der entsprechende Sequenztyp mittels MLST bestimmt.

Da das Hauptaugenmerk auf der Erfassung der *E. faecium*-Populationsstruktur lag, wurde die MLST-Methode verwendet, die, auch wenn sie vergleichbar aufwendig und teuer ist, seit Jahren als Goldstandard gilt [199].

Für Ausbruchsuntersuchungen ist die PFGE zwar besser geeignet, jedoch ist sie für Populationsstrukturanalysen überdiskriminierend und der laborübergreifende Austausch und Vergleich der gewonnenen Daten ist zudem nicht so gut und einfach möglich wie beim MLST [199].

4.5.1 MLST-Sequenztypen

Im gesamten Zeitraum der Erfassung von 2013 bis 2015 wurden unter allen 276 untersuchten Isolaten zusammengenommen 20 unterschiedliche Sequenztypen bestimmt: ST117: 59,4 %; ST203: 9,8 %; ST17: 8,0 %; ST192: 5,4 %; ST80: 4,3 %; ST78: 3,3 %; ST202: 2,2 %; ST780: 1,4 %; ST233, ST262: je 1,1 %; ST18: 0,7 %; ST64, ST280, ST375, ST551, ST612, ST811, ST1322, ST1323, ST1324: je 0,4 %.

Die Sequenztypen ST1322, ST1323 und ST1324 wurden erstmals im Rahmen dieser Arbeit entdeckt und waren anfangs aufgrund unbekannter Allelkombinationen keinen Sequenztypen zuzuordnen.

Die fünf häufigsten Sequenztypen des UKMD, die jeweils in mindestens über vier Prozent der Fälle detektiert und zusammengenommen bei mehr als 85,0 % aller Isolate bestimmt wurden, waren ST117, ST203, ST17, ST192 und ST80.

Die Verteilung der fünf häufigsten Sequenztypen des UKMD war in etwa deckungsgleich mit den Ergebnissen des NRZ, welches von 2011 bis 2014 [141] beziehungsweise bis 2015 [192] MLST-Bestimmungen von Blutkulturisolaten durchgeführt hat. (ST117: 30 %; ST203: 18 %; ST192: 14 %; ST17: 11 %; ST80: 9 % [192]).

Die ansteigenden VRE-Raten gehen demnach vor allem mit der Verbreitung bestimmter MLST-Sequenztypen von *E. faecium* einher [32,192].

Die Ergebnisse dieser Arbeit, in der sowohl klinisch relevante Isolate (Infektionen), als auch Isolate aus Screeninguntersuchungen (Kolonisationen) untersucht wurden, stimmten mit den Ergebnissen des NRZ, die nur Blutkulturisolate untersuchten, weitestgehend überein. Dies lässt darauf schließen, dass am UKMD die gleichen Sequenztypen vorherrschen wie im Rest Deutschlands (in Blutkulturen). Des Weiteren zeigten die Ergebnisse, dass es sich bei den Sequenztypen, die vorwiegend für

Bakteriämien/Sepsen verantwortlich sind, um dieselben Sequenztypen handelt, die allgemein auch in anderen Materialien/Lokalisationen (wie in dieser Arbeit) am häufigsten zu finden sind.

Werner et al. haben im Laufe der letzten Jahre (2006 bis 2015) eine gewisse Dynamik unter den verschiedenen Sequenztypen mit einer Zunahme der Sequenztypen ST117, ST203 und ST80 und einer Abnahme der Sequenztypen ST192 und ST78 festgestellt [194].

ST117 war am UKMD signifikant der häufigste Sequenztyp ($p < 0,001$). Ob der Grund der Häufung von ST117 ein möglicher Ausbruch (Outbreak) war, ließ sich durch die MLST-Methode nicht aufklären, worauf im Abschnitt 4.5.4 – *Limitation des MLST und zukünftige Entwicklung* näher eingegangen wird. Nicht nur in Deutschland, sondern auch in anderen Europäischen Ländern wie den Niederlanden, Norwegen und Polen ist ST117 der häufigste Sequenztyp [194].

Über den gesamten Beobachtungszeitraum wurde am UKMD jedoch ein epidemiologischer Wandel deutlich. Die Dominanz des ST117 in den Jahren 2013 und 2014 wurde durch häufigeres Auftreten verschiedener Sequenztypen im Jahr 2015 abgelöst, was an den eingeleiteten Maßnahmen zur VRE-Prävention und -Infektionskontrolle, wie Isolierung und Barrieremaßnahmen nach aktivem Screening, liegen könnte.

Der zweithäufigste Sequenztyp dieser Arbeit (ST203) wurde 2013 keinmal und 2014 lediglich einmal bestimmt und trat vor allem im Jahr 2015 auf. Auch in Dänemark wurde ein Anstieg des ST203 in jüngster Vergangenheit, vor allem im Jahr 2015, verzeichnet [62].

ST192 war als vanB-Variante mitverantwortlich für den deutlichen Anstieg von VRE in Deutschland in den Jahren 2009 bis 2011 [195] und rangiert heutzutage noch an dritter (NRZ) beziehungsweise vierter (diese Arbeit) Stelle der häufigsten Sequenztypen.

Für ST80, der heutzutage im NRZ wie auch in dieser Arbeit der fünfthäufigste Sequenztyp ist, verzeichneten Werner et. al in den letzten Jahren einen sogar deutlichen Anstieg [194].

4.5.2 Verteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen in Abhängigkeit zum Sequenztyp

Bestimmte Sequenztypen sind bevorzugt mit vanA- beziehungsweise vanB-Genotypen assoziiert [78,15], was in dieser Arbeit bestätigt wurde.

Vorwiegend vanA-positiv waren ST117 mit 62,2 %, ST203 mit 77,8 % und ST80 mit 83,3 %. Ein signifikanter Zusammenhang zum vanA-Genotyp bestand dabei für ST117 ($p = 0,048$) und ST203 ($p = 0,025$). Eine signifikante Korrelation zum vanB-Genotyp konnte für die Sequenztypen ST17 (81,8 %; $p < 0,001$) und ST192 (93,3 %; $p < 0,001$) gezeigt werden.

Seltenere Sequenztypen zeigten zwar Korrelationen zu jeweils einem der zwei Resistenzgenotypen, ließen aber nur Tendenzen erkennen. So trugen Isolate der Sequenztypen ST78 mit 66,7 % und

ST233 mit 100 % vorwiegend das vanA- und Isolate der Sequenztypen ST202 mit 83,3 % und ST780 mit 100 % hauptsächlich das vanB-Gencluster.

Auch das NRZ konnte für die häufigen Sequenztypen ST117, ST192 sowie ST203 ähnliche Korrelationen zwischen Sequenztyp und vorherrschendem Resistenzgenotyp feststellen.

So sind laut NRZ, wie auch am UKMD nachgewiesen, VRE-Isolate von ST192 fast ausschließlich mit vanB assoziiert, wohingegen Isolate von ST203 hauptsächlich vanA-positiv sind [194]. Bei anderen Sequenztypen scheint laut NRZ eine solche Assoziation allerdings weniger stark ausgeprägt zu sein, wie zum Beispiel für ST117 [141], der allerdings am UKMD signifikant mit vanA assoziiert war. Somit stimmten die Ergebnisse dieser Arbeit mit denen des NRZ weitestgehend überein und ließen zudem darauf schließen, dass eine Korrelation zu einem der zwei Glykopeptid-Resistenzgenotypen auch bei selteneren Sequenztypen besteht, was jedoch durch weitere Studien mit einer größeren Anzahl an Isolaten bestätigt werden müsste.

4.5.3 Einordnung der in dieser Arbeit bestimmten Sequenztypen in die *E. faecium* Populationsstruktur

Mit Hilfe der Software goeBURST 1.2.1 [47] und der Software MEGA6 [172] erfolgte die Einordnung der in dieser Arbeit bestimmten Sequenztypen in die *E. faecium*-Gesamtpopulation und die Darstellung der Verwandtschaftsverhältnisse zwischen den unterschiedlichen Sequenztypen.

Durch den BURST-Algorithmus kommt es bei Organismen mit einer hohen Rekombinationsrate, wie es für *E. faecium* der Fall ist, zu einzelnen großen, weitläufigen BURST-Gruppen [178]. Dieses Verfahren wurde jedoch in vielen Studien [45,205,202,207,208,89,85,161,192,194] verwendet und verdeutlicht sehr gut die Unterteilung zwischen hospitalassoziierten und nicht-hospitalassoziierten Isolaten. Zudem ermöglicht es einen Überblick über die Populationsstruktur am UKMD und die Einordnung dieser in die *E. faecium* Gesamtpopulation.

Alle in dieser Arbeit identifizierten Sequenztypen, inklusive der drei erstmals entdeckten, waren Teil des CC17, der die Gesamtpopulation der hospitalassoziierten Isolate darstellt [205,87,176,177]. Demzufolge gehörten alle zwischen 2013 bis 2015 eingesandten VRE-Isolate des UKMD ausschließlich zur Subpopulation der hospitalassoziierten Stämme.

Willems et al. konnten 2012 mit dem Programm BAPS (Bayesian analysis of the population structure) den CC17 bereits in die drei Hauptkrankenhauslinien ST17, ST18 und ST78 unterteilen [208]. Die Sequenztypen des CC17 finden sich nach BAPS in zwei unterschiedlichen Untergruppen, den BAPS-Gruppen 2-1 und 3-3, wieder. BAPS-Gruppe 3-3 ist v. a. mit hospitalassoziierten Isolaten assoziiert und enthält ST17 und ST18 sowie ihre Abkömmlinge, wohingegen BAPS-Gruppe 2-1 v. a. mit Nutztier-Isolaten assoziiert ist und ST78 und seine Abkömmlinge enthält [208].

Die am UKMD detektierten Sequenztypen fanden sich entsprechend alle in den BAPS-Gruppen 2-1 und 3-3 beziehungsweise der krankenhausbezogenen Gruppe A1 (WGS) wieder [175,89] und teilten sich auf die drei durch Willems et al. [208] bestimmten Abstammungslinien auf, was durch die evolutionäre Analyse mit MEGA6 [172] veranschaulicht wurde (vgl. Abschnitt 3.5.2 - *Einordnung der in dieser Arbeit bestimmten Sequenztypen in die E. faecium Populationsstruktur*).

Zur Lineage 17 (BAPS 3-3) gehörten die fünf Sequenztypen ST17, ST202, ST233, ST280 und ST1322. Zur Lineage 18 (BAPS 3-3) gehörten die drei Sequenztypen ST18, ST64 und ST262. Zur Lineage 78 (BAPS 2-1) gehörten die zwölf Sequenztypen ST78, ST80, ST117, ST192, ST203, ST375, ST551, ST612, ST780, ST811, ST1323 und ST1324.

Demnach gehörten insgesamt zwölf der zwanzig detektierten Sequenztypen sowie vier der fünf häufigsten Sequenztypen (ST117, ST192, ST203, ST80) zur Lineage 78, deren Abstammungslinie somit am UKMD mit 85,9 % (n = 237) aller Isolate im Vergleich zur Lineages 17 mit 12,0 % (n = 33) und Lineage 18 mit 2,2 % (n = 6) überwog.

Lineage 17 (ST17) und Lineage 18 (ST18) repräsentierten die erste Welle von hospitalerworbenen Infektionen in den 80er und 90er Jahren, wohingegen Lineage 78 (ST78) seit 2005 gehäuft auftritt [78,49,208] und heutzutage nicht nur am UKMD durch den Sequenztyp ST117 vorherrscht.

So ist die jüngste weltweite Zunahme multiresistenter *E. faecium*-Stämme, die Infektionen in Krankenhäusern verursachen, vor allem mit der Zunahme von Stämmen der Lineage 78 assoziiert. Unter den Isolaten dieser Lineage (sowie im Allgemeinen) ist ST117 heutzutage der am häufigsten identifizierte Sequenztyp in vielen europäischen Gesundheitseinrichtungen [193,5,208,175,48,173,174,52,60].

Die Gruppierung von ST78 und seinen Abkömmlingen in eine andere Gruppe als ST17 und ST18 lässt auf eine unterschiedliche Evolutionsgeschichte dieses Sequenztyps schließen, wobei ST78 ursprünglich wahrscheinlich von Haustieren oder Geflügel ausging (BAPS 2-1 v. a. Geflügel-Isolate; ST78 signifikant mit Haustier-Isolaten assoziiert) [208]. Aber auch für ST17 und ST18 ist eine Urabstammung von Tieren nicht ausgeschlossen [208].

4.5.4 Limitationen des MLST und zukünftige Entwicklung

Der Nachteil des MLST liegt in der zu geringen Diskriminierungsstärke für Ausbruchsuntersuchungen [135,203], weshalb in dieser Arbeit keine Aussagen über einen möglichen Ausbruch (Outbreak) getroffen werden konnten. Insbesondere im Hinblick auf Untersuchungen von Ausbruchsgeschehen und bezüglich der geringeren Kosten im Vergleich zum klassischen MLST [86] sind neue WGS-basierte Methoden (Whole-genome Sequencing) mit höherem Diskriminierungsvermögen (wie cgMLST [12] oder cgANI [97]) vorteilhaft.

Gegen eine initiale Verwendung des WGS sprach zu Beginn der Arbeit, neben der fehlenden Verfügbarkeit eines entsprechenden WGS-Sequenziergeräts, dass bis dahin beim WGS zumeist mit SNPs (Single Nucleotide Polymorphism - wgSNP) gearbeitet wurde und bei den durchgeführten Studien unterschiedliche Referenzstämme verwendet wurden [134], was zu einer schlechten Vergleichbarkeit der durchgeführten Studien untereinander und mit unseren Ergebnissen geführt hätte. Zudem bestand ein weiteres Problem des WGS in der Datenanalyse, die bis dahin für nicht Bioinformatiker erhebliche Probleme darstellte [66].

Die während der Durchführung dieser Arbeit in den Jahren 2015 (cgMLST) beziehungsweise 2017 (cgANI) eingeführten WGS-basierten Methoden funktionieren mit einer deutlich benutzerfreundlicheren Software, können auf einem Desktop-Computer ausgeführt werden und erfordern nicht die Verwendung von erweiterten bioinformatischen Werkzeugen. Beide Verfahren können sowohl für Populationsstrukturanalysen als auch für Routine-Ausbruchsuntersuchungen verwendet werden und beschleunigen im Vergleich zum klassischen MLST oder PFGE den Ablauf. Sie stellen durch die höhere Diskriminierungsstärke die epidemiologischen Verwandtschaftsgrade deutlicher dar als das klassische MLST mit seinen lediglich sieben untersuchten Haushaltsgenen, sodass sogar Unterschiede in derselben Spezies nachweisbar sind [12,97].

So ist Whole-Genome Sequencing (WGS) nützlich für Trend-Studien, Diagnostik, real-time Surveillance und schnelle Ausbruchsuntersuchungen [86]. Aus den neuen WGS-Daten lassen sich durch Larsen et al. über die Website www.cbs.dtu.dk/services/MLST die alten MLST Sequenztypen in silico bestimmen [86].

Aufgrund der eigenen Nomenklatur (CT-Nummern) und der damit verbundenen Standardisierung und vereinfachten laborübergreifenden Vergleichbarkeit und Austauschbarkeit der Daten des cgMLST von de Been et al. [12] ist dieses Schema für zukünftige Arbeiten vermutlich besser geeignet als das cgANI Schema von Lytsy et al. [97]. Für cgMLST existiert zudem bereits eine eigene Website <http://www.cgmlst.org/ncs/schema/>.

Die Verwendung des MLST-Schemas in dieser Arbeit war dennoch eine sehr gute Wahl, da zum einen die Stammuordnung beim MLST sehr genau ist [97] und es zum anderen auch in Zukunft die Basis zur Rückwärtskompatibilität bleiben wird [140]. Die gewonnenen Daten dieser Arbeit können somit auch noch zukünftig mit den neuen WGS-Daten verglichen werden.

Durch das NRZ wird angeregt, die Ergebnisse der MLST-Analysen (sowie vergleichbarer Analysen wie PFGE) durch weitere Typisierungsergebnisse wie Antibiogramme und Nachweise bestimmter PCR-Marker, wie esp_{Efm} (enterococcal surface protein) und hyl_{Efm} (hyalorinidase-like protein), zu konkretisieren und zu unterstützen [141].

Eine weitere Möglichkeit, um die hospitalassoziierten Stämme (VRE und VSE), die meist erst nach

Akquirierung der Vancomycin-Resistenz im mikrobiologischen Labor auffallen [146,199], zu detektieren, ist die alleinige Bestimmung der Insertionssequenz IS16. IS16 kann bei nahezu 100 % der hospitalassoziierten Stämme nachgewiesen werden [196,20]. Für zukünftige Untersuchungen bieten diese Vorgehensweisen noch genauere Ergebnisse, beziehungsweise beschleunigen den Informationsgewinn bezüglich der hospitalassoziierten Isolate.

4.6 Analyse des VRE-Erwerbs

4.6.1 Anteile nosokomial erworbener und mitgebrachter VRE-Isolate innerhalb der einzelnen Fachgebiete

VRE können entweder schon bei Aufnahme nachgewiesen werden (mitgebrachte Fälle) oder nach Aufnahme erworben werden (nosokomiale Fälle). Aus krankenhaushygienischer Sicht ist diese Unterscheidung sehr wichtig, da eine hohe Zahl nosokomialer Fälle ein Hinweis auf ein insuffizientes Hygienemanagement ist.

Bei den im gesamten Beobachtungszeitraum eingesandten 276 Isolaten handelte es sich in 28,6 % der Fälle um nosokomial erworbene und in 25,7 % um mitgebrachte Isolate. Da die Daten retrospektiv erhoben wurden, konnte für etwa die Hälfte der untersuchten Patienten keine sichere Aussage über den Status des VRE-Erwerbs getroffen werden (45,7 % unklare Isolate).

Unter Ausschluss der unklaren Isolate lag das daraus ableitbare Verhältnis nosokomial erworbener zu mitgebrachten VRE-Isolaten bei 52,7 % zu 47,3 %. Das heißt, dass am UKMD etwas mehr als die Hälfte aller VRE-Isolate nosokomial erworben wurden, aber auch, dass etwa die Hälfte der betroffenen Patienten schon vorher besiedelt beziehungsweise infiziert war.

Die von Ziakas et al. 2013 durchgeführte Metaanalyse für Patienten auf Intensivstationen ergab, dass bis zu 10,6 % aller Patienten bereits vor Krankenhausaufnahme mit VRE befallen waren und ein ähnlicher Prozentsatz an Patienten VRE während des ITS-Aufenthalts erwarb [212]. Entsprechend war etwa die Hälfte der VRE-Patienten bereits vor Krankenhausaufnahme befallen und die andere Hälfte erwarb VRE während des Aufenthalts, was mit den Ergebnissen dieser Arbeit, in der allerdings alle untersuchten Stationen einfließen (ITS jedoch größter Anteil), in etwa übereinstimmte. Ähnliche Werte zeigte das ITS-KISS-Modul des NRZ für Stationen mit Aufnahmescreening für Risikopatienten [116]. Hier machten nosokomial erworbene Isolate 46,2 % und bereits mitgebrachte Isolate 53,8 % aus.

Das Stations-KISS-Modul des NRZ für Stationen mit Aufnahmescreening für Risikopatienten [117] (für alle Stationen ohne ITS) zeigte hingegen, dass mit 65,0 % der Großteil der VRE-positiven Patienten bereits vor Krankenhausaufnahme besiedelt war und nur 35,0 % der VRE-positiven Patienten

im Verlauf des Krankenhausaufenthalts VRE erwerben.

Für die internistischen und chirurgischen Stationen war das Verhältnis von nosokomial erworbenen zu mitgebrachten Isolaten im Stations-KISS-Modul des NRZ für Stationen mit Aufnahmescreening für Risikopatienten [117] jeweils etwa bei 40,0 % zu 60,0 %.

Unter den einzelnen Abteilungen des UKMD gab es auf den Intensivstationen, den chirurgischen Stationen sowie den weiteren Stationen prozentual mehr Patienten, die VRE nosokomial erwerben, als Patienten, die bereits vor der Krankenhausaufnahme befallen waren. Die Verhältnisse von nosokomial erworbenen zu mitgebrachten Isolaten lagen hier bei 58,7 % zu 41,3 %, 55,3 % zu 44,7 % und 55,6 % zu 44,4 %.

Auf den Stationen der Inneren Medizin inklusive Urologie lag das Verhältnis von nosokomial erworbenen zu mitgebrachten Isolaten bei 35,5 % zu 64,5 %. Hier waren prozentual mehr Patienten bereits bei/vor der Krankenhausaufnahme kolonisiert bzw. infiziert, als dass Patienten VRE während des Aufenthalts erwerben.

Das Verhältnis in der Inneren Medizin entspricht in etwa dem des Stations-KISS-Moduls des NRZ. Bei den anderen genannten Abteilungen gab es im Vergleich zu den Werten des NRZ am UKMD höhere Anteile an nosokomial erworbenen VRE.

Die Gründe hierfür werden multifaktoriell bedingt sein und können eventuell für höhere Transmissionsraten sprechen. Aber auch bei anderen vergleichbaren Arbeiten lag der Anteil an nosokomial erworbenen Isolaten höher als der Anteil an mitgebrachten Isolaten [133]. Aufgrund der fast fünfzig Prozent an unklaren Fällen und der Art der Datenerhebung kann an diesem Punkt keine eindeutige Schlussfolgerung getroffen werden.

Die vorherrschende Art des VRE-Erwerbs änderte sich am UKMD von 2013 bis 2015 von einem zumeist nosokomialen Erwerb im Jahr 2013 hin zu einem größeren Anteil an mitgebrachten Isolaten im Jahr 2015 (Trend: $p = 0,055$). Das ableitbare Verhältnis nosokomial erworbener zu mitgebrachten VRE-Isolaten betrug unter Ausschluss der unklaren Isolate im Jahre 2013 75,0 % zu 25,0 %, im Jahr 2014 55,8 % zu 44,2 % und im Jahr 2015 47,3 % zu 52,7 %. Laut Klare et al. liegt dennoch eher kein VRE-Reservoir außerhalb der Krankenhäuser vor. Vielmehr sei es so, dass ehemalige und nun in den ambulanten Bereich entlassene Krankenhauspatienten die entsprechenden multiresistenten VRE-Stämme aus dem Krankenhaus mitnahmen [79]. Zur genauen Dauer einer VRE-Kolonisation gibt es bisher noch keine ausreichenden Daten. Allerdings liegen Hinweise vor, dass zumindest ein Teil der VRE-positiven Patienten langfristig kolonisiert bleibt [93,130,115]. Entsprechend sei es in diesem Zusammenhang zum Teil schwierig, eine genaue Trennlinie zwischen stationären und ambulanten Patienten beziehungsweise zwischen nosokomial erworbenen und mitgebrachten Isolaten festzulegen [79].

Mitgebrachte VRE-Fälle erfordern ein effizientes VRE-Screening. Diverse Arbeiten haben inzwischen gezeigt, dass ein einmaliges rektales Screening nicht ausreichend ist um eine Besiedlung auszuschließen [186]. Demnach kann ein technisch nicht optimal durchgeführtes Screening den Anteil der nosokomialen VRE-Fälle überschätzen.

4.6.2 Anteile nosokomial erworbener und mitgebrachter VRE-Isolate unter den verschiedenen Materialien

Durch Analyse der eingesandten Materialien war zu erkennen, dass Isolate aus Materialien, die eine Infektion darstellen konnten, zumeist nosokomial erworben wurden. So lag das Verhältnis nosokomialer zu mitgebrachter VRE-Isolate bei Urinproben bei 55,0 % zu 45,0 %, bei Wundabstrichen bei 65,0 % zu 35,0 % und bei invasiv gewonnenen Materialien bei 69,2 % zu 30,8 %.

Bei den Abstrichen ohne nähere Bezeichnung sowie den Haut- und Vaginalabstrichen, die unter weitere Materialien zusammengefasst wurden, handelte es sich hingegen in der Mehrzahl um mitgebrachte Isolate (25,0 % zu 75,0 %).

Bei den Rektalabstrichen/Stuhlproben betrug das Verhältnis von nosokomialen zu mitgebrachten VRE-Isolaten 51,6 % zu 48,4 %. Entsprechend war die Hälfte der Patienten mit positivem Isolat aus Rektalabstrich/Stuhlprobe bereits vor Krankenhausaufnahme kolonisiert und die andere Hälfte erwarb die Kolonisation im Verlauf des Krankenhausaufenthalts.

Für Harnwegsinfektionen im Allgemeinen ergab eine Studie von Horcajada et al. aus dem Jahr 2013, dass 58,0 % der Infektionen nosokomial und 42,0 % ambulant erworben werden [68]. 2015 zeigten McKay und Bamford weiterhin, dass fast drei Viertel aller Bakteriämien nosokomial entstehen [105]. Die Ergebnisse dieser Arbeit stimmten entsprechend weitestgehend mit den beiden Studien überein, beziehungsweise bestätigten deren Beobachtungen. Ott et al. analysierten 2013 Infektionen im Allgemeinen und kamen zu dem Ergebnis, dass Infektionen etwas häufiger durch nosokomial erworbene als durch ambulant erworbene (mitgebrachte) Isolate ausgelöst werden [125].

4.7 Screening

Ein VRE-Screening ist ein wichtiges Mittel zur Detektion kolonisierter Patienten und damit folglich zur Reduktion einer weiteren Transmission von VRE, wenn weitere Maßnahmen eines Bündels, wie Isolierung, umgesetzt werden. Vor allem bei Risikopatienten (Immunsuppression usw. s.o.) ist das Stuhlscreeing eine effektive Methode um Patienten zu detektieren, die durch eine VRE-Kolonisation einer erhöhten Gefahr für invasive Infektionen (z. B. Blutinfektion) ausgesetzt sind [188,84].

Ob ein Screening für jedes Krankenhaus oder jede Station sinnvoll ist, ist unklar und hängt unter anderem von der lokalen Prävalenz und der Kostenpolitik des Hauses ab. Man geht jedoch davon aus, dass ähnlich wie bei MRSA zumindest ein aktives risikobasiertes Screening mit Stuhlproben oder Rektalabstrichen von bestimmten Patienten zur Identifikation der meisten kolonisierten Patienten führen kann [171,147,115].

Neben einem risikobasierten Aufnahmescreening kann ein routinemäßiges Screening in Hochrisikobereichen mit besonders gefährdeten Patienten (beziehungsweise die Einrichtung einer Sentinel-Station) für die Surveillance und Prävention von Ausbrüchen sowie zur Erfassung von Trendentwicklungen erforderlich und nützlich sein [115].

Als Reaktion auf eine steigende Anzahl von VRE-Nachweisen ab dem vierten Quartal 2013 wurde am UKMD seit Januar 2014 sowohl ein risikobasiertes VRE-Aufnahmescreening angewandt als auch ein monatliches VRE-Querschnittsscreening bei allen Patienten der chirurgischen Stationen, der Gastroenterologie und der Intensivstationen durchgeführt. Von Anfang 2014 bis Ende 2015 kam es von insgesamt 197 Patienten unterschiedlicher Stationen zur Einsendungen VRE-positiver Rektalabstriche im Rahmen der Screeninguntersuchungen.

Es wurde überprüft, inwieweit das durchgeführte VRE-Screening in der Lage war, kolonisierte Patienten zu detektieren, die im weiteren Verlauf von einer klinischen Manifestation betroffen waren. Insgesamt trat bei 64 der 197 positiv gescreeenten (kolonisierten) Patienten eine klinische Manifestation auf. 31 Patienten entwickelten diese nach einem vorherigen positiven Screeningbefund und bei 33 Patienten bestand die klinische Manifestation bereits vor der durchgeführten Screeninguntersuchung. Der Anteil der Patienten mit klinischer Manifestation nach einem vorherigen positiven Screeningbefund beziehungsweise bestehender Kolonisation betrug 15,7 %. Der Anteil der Patienten mit klinischer Manifestation vor den nachgeschalteten positiven Screeninguntersuchungen betrug 16,8 % und der gesamte Anteil der Patienten mit positivem Screening und klinischer Manifestation betrug 32,5 %.

In beiden Raten, sowohl der Rate der Patienten mit klinischer Manifestation nach vorherigem Screening als auch der Rate der Patienten mit klinischer Manifestation vor den nachgeschalteten Screeninguntersuchungen, befanden sich sowohl Isolate aus dem risikobasierten Aufnahmescreening als auch aus den durchgeführten Querschnittsuntersuchungen, weshalb hier keine genauen Aussagen zur Effektivität der einzelnen Screeningvarianten getroffen werden konnte.

Ersichtlich war allerdings, dass durch das durchgeführte VRE-Screening in 15,7 % der Fälle kolonisierte Patienten detektiert wurden, die im weiteren Verlauf eine klinische Manifestation (Infektion) entwickelten.

Wären alle Screeninguntersuchungen vor der Entwicklung von klinischen Manifestationen durchgeführt worden, wäre es durch das Screening eventuell sogar möglich gewesen, in bis zu 32,5 % der

Fälle kolonisierte Patienten zu erfassen, bevor diese eine klinische Manifestation entwickelten. Dieser Umstand verdeutlicht die Notwendigkeit einer zeitlich akkurateren Screeninguntersuchung, damit die kolonisierten Patienten nicht erst nach, sondern vor Akquirierung einer Infektion entdeckt und entsprechende infektionspräventive Maßnahmen zeitnah eingeleitet werden [11,184,145,153,63,13].

In der Literatur schwankte die Rate für VRE-Infektionen bei bestehenden VRE-Kolonisationen zwischen 0,0 % [127,10] und Höchstwerten von 45,0 % [65,212]. Das Risiko einer VRE-Infektion bei nichtkolonisierten Patienten war hingegen vernachlässigbar [212]. Mit 32,5 % lag die Rate der VRE-Infektionen (klinische Manifestationen) bei bestehenden VRE-Kolonisationen (gesamter Anteil der Patienten mit positiven Screeninguntersuchungen und zusätzlicher klinischer Manifestation) des UKMD entsprechend im oberen Mittelfeld. Die unterschiedlichen Raten der verschiedenen Studien und Gesundheitseinrichtungen/Kliniken kommen durch lokal unterschiedliche epidemiologische Situationen zustande [212,3].

Bei alleiniger Berücksichtigung der Patienten dieses Zeitraums mit klinischen Isolaten (n = 116) konnten mit 55,2 % (n = 64/116) etwas mehr als die Hälfte der Patienten mit klinischen Manifestationen durch die Screeninguntersuchungen erfasst werden und 44,8 % (n = 52/116) nicht.

Zur Detektion dieser von klinischen Manifestationen betroffenen Patienten durch die Screeninguntersuchungen bedurfte es allerdings einer großen Anzahl an positiv gescreenten Patienten. So hatten insgesamt 46,6 % (n = 116) aller 249 VRE-positiven Patienten dieses Zeitraums eine klinische Manifestation. Bei den 197 gescreenten Patienten betrug der Anteil der klinischen Manifestationen jedoch nur 32,5 % (n = 64). Entsprechend wurden durch das Screening mit 67,5 % (n = 133/197) zu einem größeren Teil lediglich kolonisierte Patienten entdeckt.

In der Literatur wird das Verhältnis von kolonisierten zu infizierten Patienten mit zehn bis zwanzig zu eins angegeben [191]. Wird also eine VRE-Infektion nachgewiesen, so ist von einer Vielzahl weiterer kolonisierter Patienten auszugehen [191]. Mit alleinigem Blick auf die positiv gescreenten Patienten lag das Verhältnis am UKMD bei zwei zu eins. Demnach wurden mit dem durchgeführten Screening des UKMD sehr gute Ergebnisse bei der Detektion der von einer klinischen Manifestation betroffenen Patienten erzielt.

Beim VRE-Screening gibt es allerdings noch nicht abschließend geklärte, präanalytische Probleme [186]. So bleibt unklar, wie oft bei einem kolonisierten Patienten Rektalabstriche abgenommen werden müssen, um auch tatsächlich VRE nachzuweisen. Ein weiteres Problem, zu dem ebenfalls mehr Informationsbedarf besteht, ist die Technik des Abstreichens [186], die für eine erfolgreiche VRE-Bestimmung entscheidend ist. Da die Ampulle nicht immer mit Stuhl gefüllt ist [159], könnten durch perianale Abstriche mit VRE kolonisierte Patienten übersehen werden, weshalb intraanale Abstriche oder Stuhluntersuchung zur Detektion von VRE besser geeignet sein könnten [186].

4.7.1 Screening innerhalb der einzelnen Fachgebiete

Von den insgesamt 197 gescreenten Patienten stammten die meisten Patienten von den Intensivstationen (54,3 %), gefolgt von den chirurgischen Stationen (27,4 %) und der Gastroenterologie (10,2 %), den drei Abteilungen, auf denen das monatliche Querschnittsscreening durchgeführt wurde. Aus der Nephrologie/Urologie (4,1 %) und der Hämatologie/Onkologie (1,0 %) kamen weniger Screening-Isolate. Die restlichen Isolate (3,0 %) wurden aus den weiteren Abteilungen eingeschickt.

Der Anteil klinischer Manifestationen nach vorherigen und späteren Screeninguntersuchungen innerhalb der einzelnen Fachgebiete lag auf der Nephrologie/Urologie bei 62,5 %, auf der Hämatologie/Onkologie bei 50,0 % und bei den weiteren Stationen bei 66,7 %.

Die chirurgischen Stationen und die Intensivstationen, die jeweils Risikobereiche für VRE-Kolonisationen und -Infektionen darstellen [131,147,141], hatten einen doppelt so hohen Anteil an klinischen Manifestationen (31,5 % bzw. 31,8 %) wie die Gastroenterologie (15,0 %).

Unter den Stationen/Fachabteilungen mit monatlichem Querschnittsscreening zeigte sich, dass vor allem die gescreenten Patienten der chirurgischen Stationen und der Intensivstationen von klinischen Manifestationen (Infektionen) mit Raten über 30,0 % betroffen waren. Die gescreenten Patienten der Gastroenterologie schienen in den meisten Fällen lediglich kolonisiert zu sein.

In Bezug auf die Detektion der für Infektionen anfälligen Patienten schien das durchgeführte Screening auf den chirurgischen Stationen und den Intensivstationen des UKMD am wirkungsvollsten zu sein. Dennoch ist das Screening auch in den anderen Fachabteilungen eine sinnvolle Maßnahme, da zum einen die Mortalitätsrate bei VRE-kolonisierten Patienten zweieinhalbmal höher ist als bei VSE-kolonisierten Patienten [155,28] und kolonisierte Patienten ein ständiges Keimreservoir darstellen, von dem die Enterokokken auf andere Patienten und Mitmenschen sowie die Umwelt übertragen werden können [21,131,44,119].

Die Anteile klinischer Manifestationen nach vorherigen und späteren Screeninguntersuchungen waren bei den Stationen ohne Querschnittsscreening höher als bei den Stationen mit Querschnittsscreening. Dieser Umstand könnte vor allem damit zusammenhängen, dass aus den Bereichen, in denen zusätzlich das Querschnittsscreening durchgeführt wurde, insgesamt mehr Screening-Isolate eingeschickt wurden und somit mehr kolonisierte Patienten erfasst wurden. Bei Enterokokken und v.a. *E. faecium* ist die Manifestationsrate („colonization pressure“) gering und die Mehrzahl der VRE-positiven Patienten ist lediglich kolonisiert und nur wenige sind infiziert. [191]

Auf der Hämatologie/Onkologie, der Nephrologie/Urologie und den weiteren Abteilungen waren prozentual eventuell ebenso viele Patienten kolonisiert, die jedoch aufgrund des geringeren Screeningaufkommens nicht erfasst werden konnten. Auf diesen Stationen ohne Querschnittsscreening

entwickelten die Patienten mit einem positiven risikobasierten Eingangsscreening in über 50,0 % der Fälle eine klinische Manifestation. Somit war das risikobasierte Eingangsscreening hier ein gutes Mittel, um kolonisierte Patienten zu entdecken, die eine klinische Manifestation entwickeln.

Mit einem alleinigen und einmaligen risikobasierten Aufnahmescreening bleiben laut Literatur jedoch eventuell einige kolonisierte Patienten unentdeckt [132,24,187,186]. Da die Hämatologie/ Onkologie Patienten mit schwerem Grundleiden und/oder einer Immunsuppression beherbergt, die sehr stark für/von Kolonisationen und Infektionen mit VRE gefährdet sind [202,2], sollte das Querschnittsscreening bzw. ein erweitertes Screening vor allem auf diese Station ausgeweitet werden. Dies insbesondere vor dem Hintergrund, dass der Großteil der Infektionen bei diesen Risikopatienten auf dem Boden einer vorherigen Kolonisation stattfindet [213,179].

Mit einem guten Screening können besonders gefährdete Patienten schnell detektiert und Isolierungs- und Schutzmaßnahmen der betroffenen wie auch der nicht betroffenen Patienten zeitnah eingeleitet werden [11,184,115,145,153].

Ein routinemäßiges Screening ist zwar nicht kostengünstig und bedarf unter anderem der Berücksichtigung der lokalen Prävalenz und Kostenpolitik des jeweiligen Klinikums [53], jedoch fanden Kampmeier et al. 2017 heraus, dass ein wöchentliches Screening zur Beendigung nosokomialer Transmissionen führte [72]. Bereits 2001 wurde von Hendrix et al. die zweimalige wöchentliche rektale VRE-Überwachung von kritisch kranken Patienten als eine wirksame Strategie zur frühzeitigen Identifizierung von kolonisierten Patienten mit erhöhtem Risiko für VRE-Übertragung, -Infektion und Tod dargestellt [65].

Hingegen führt ein generelles Aufnahmescreening aller Patienten, wie Huskins et al. (2011) auf einer Intensivstation nachwies, nicht zu einer Reduktion von VRE-Kolonisationen und -Infektionen unter den Patienten [69].

Entsprechend ist das gewählte aktive risikobasierte Aufnahmescreening des UKMD eine gute Entscheidung und sollte in Zukunft gleichermaßen fortgeführt werden. Das Querschnittsscreening bzw. ein erweitertes Screening sollte vor allem auf die Hämatologie/Onkologie ausgeweitet werden und, wenn es die Ressourcen zulassen, aus genannten Gründen in der Frequenz erhöht werden [84, 132,24].

Eine weitere erfolgsversprechende und leicht umzusetzende Maßnahme scheint die Einführung eines passiven Screenings auf VRE aus Stuhluntersuchungen, die zur *Clostridioides difficile*-Diagnostik eingeschickt werden, zu sein [84]. Die Prävalenz von VRE kann bei *Clostridioides difficile*-Infektion signifikant erhöht sein [50,126].

4.8 Epidemiologische Entwicklung nach 2015

Nach dem beschriebenen Rückgang der VRE-Rate in Deutschland von 2012 bis circa 2015 kam es in der Folgezeit abermals zu einem deutlichen Anstieg, der von den Surveillance-Systemen dokumentiert wurde (vgl. Abb. 27).

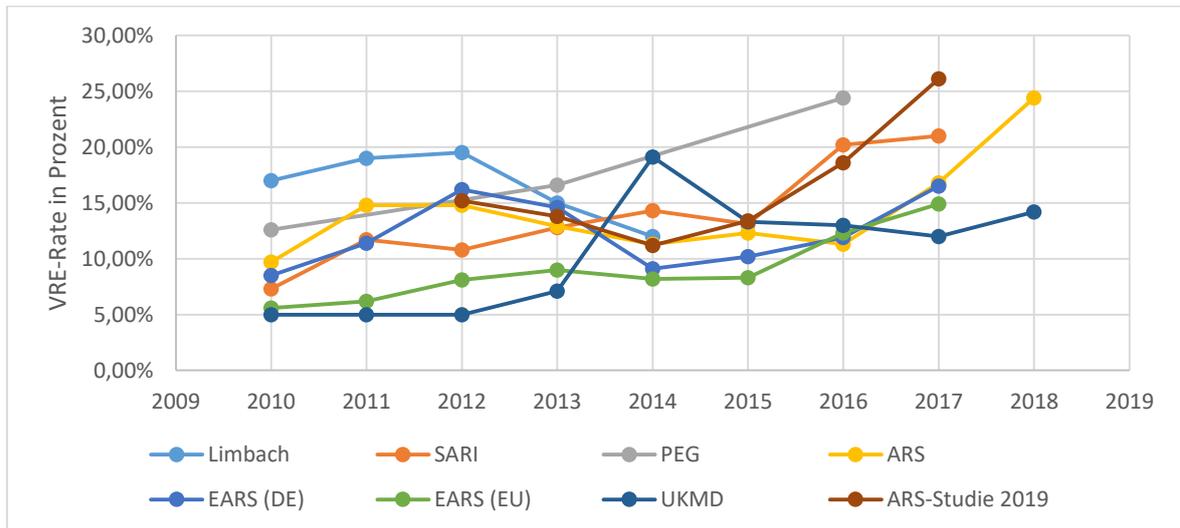


Abbildung 27 *E. faecium* Vancomycin-Resistenzraten der Jahre 2000 bis 2018 der Surveillance-Systeme Labor Dr. Limbach und Kollegen (Limbach), Surveillance der Antibiotika-Anwendung und bakteriellen Resistenzen auf Intensivstationen für Deutschland (SARI), Resistenzstudien der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Deutschland (PEG), Antibiotika-Resistenz-Surveillance in Deutschland (ARS), EARS-Net für Deutschland (EARS (DE)), EARS-Net für die EU/EAA (EARS (EU)), Universitätsklinikum Magdeburg (UKMD), ARS-Studie [102] vgl. auch Tab. 15-21 im Anhang mit Ergänzung der Jahre ab 2016 im September 2019 [150,35,118,143, 102]

Die Raten des ARS lagen 2017 bei 16,8 % und 2018 bei 24,4 % [143]. Eine mit Daten des ARS durchgeführte Studie [102] zeigte diesen starken Anstieg bereits ein Jahr früher. Hier stiegen die Raten bereits 2016 auf 18,6 % und 2017 auf 26,1 %. Bei den erhobenen Daten und Werten der Studie muss allerdings berücksichtigt werden, dass nicht das erste Isolat eines jeden von VRE betroffenen Patienten pro Jahr, sondern pro Quartal untersucht wurde. Es könnte sich entsprechend vermehrt um Copy-Strains gehandelt haben. Zudem wurden nur solche *E. faecium*-Isolate berücksichtigt, die einer Vancomycin-Testung unterzogen wurden. Beide Umstände führen zwangsweise zu einer Erhöhung der VRE-Rate. Hier wäre es wünschenswert, wenn es, zur besseren Vergleichbarkeit, zu einer Einführung einer einheitlichen und verbindlichen Vorgehensweise zur Bestimmung der VRE-Raten kommen würde. Allerdings scheint die Herangehensweise der Studie die Epidemiologie in diesem Fall gegebenenfalls früher zu erfassen (bisher nur ARS-Raten bis 2018).

EARS-Net dokumentierte von 2014 bis 2017 einen signifikant ansteigenden Trend der Vancomycin-Resistenzen bei invasiven *E. faecium*-Isolaten (2016: 11,9 %; 2017: 16,5 %). Ebenfalls ist die Rate der PEG, die im Drei-Jahres-Rhythmus erhoben wird, im Jahr 2016 auf 24,4 % gestiegen. Auch speziell auf den Intensivstationen stiegen die VRE-Raten weiter an. Hier zeigte SARI für 2016 eine Rate von 20,2 % und 2017 von 21,0 % [150,35,118].

Entgegengesetzt zu den Surveillance-Systemen blieb die VRE-Rate am UKMD in den Jahren nach 2015 zuerst konstant beziehungsweise fiel weiter ab. Im Jahr 2016 lag diese bei 13,0 % und im Jahr 2017 bei 12,0 %. Im Jahr 2018 stieg die Rate wieder leicht auf 14,2 % an.

Die beschriebene Häufung von VRE in Mitteldeutschland und Nordrhein-Westfalen, der sogenannte „VRE-Gürtel“, konnte nach 2015 nicht mehr bestätigt werden. Vielmehr sei VRE in Deutschland mittlerweile als endemisch anzusehen. Die erneute Zunahme von VRE nach 2015 sei nun vorwiegend im Süden Deutschlands auffällig, wobei größere, regionale Ausbruchsgeschehen eine Rolle spielen [149,150].

Abbildung 28 zeigt die zeitliche Entwicklung der VRE-Rate ab 2010 am UKMD im Vergleich zum Durchschnitt aller Surveillance-Systeme in Deutschland. Die verspätete drastische Zunahme der VRE-Prävalenz im Jahr 2014 ist deutlich zu erkennen. Bemerkenswert ist ebenfalls, dass der erneute starke Anstieg der VRE-Rate des gesamtdeutschen Durchschnitts ab 2016 am UKMD bisher nicht zu beobachten ist. Aufgrund der initial am UKMD festgestellten Zeitdifferenz des VRE-Anstiegs von circa drei Jahren wäre zu erwarten, dass es zu einer weiteren Zunahme der VRE-Rate am UKMD im Jahr 2019 kommen könnte.

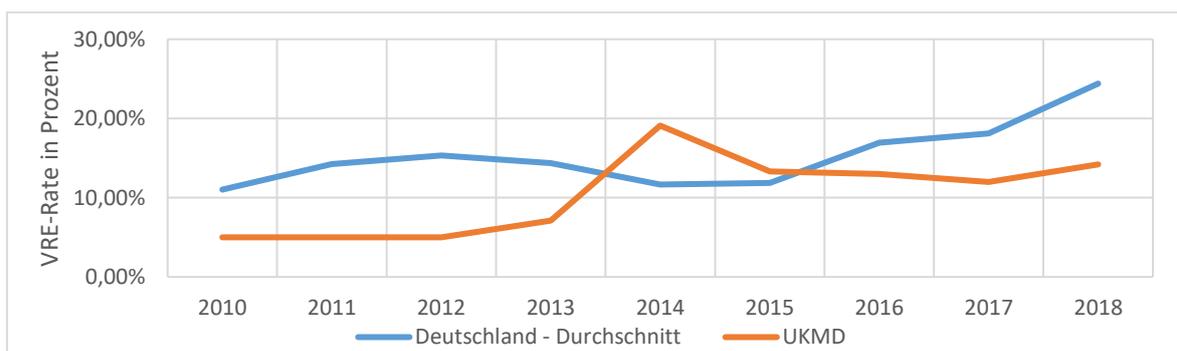


Abbildung 28 *E. faecium* Vancomycin-Resistenzraten der Jahre 2000 bis 2018 der Surveillance-Systeme Labor Dr. Limbach und Kollegen (Limbach), Surveillance der Antibiotika-Anwendung und bakteriellen Resistenzen auf Intensivstationen für Deutschland (SARI), Resistenzstudien der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Deutschland (PEG), Antibiotika-Resistenz-Surveillance in Deutschland (ARS) und EARS-Net für Deutschland (EARS (DE)) - als deutschlandweiter Durchschnitt dargestellt - und des Universitätsklinikums Magdeburg (UKMD) – vor 2013 inkl. MRE-Screening, vgl. auch Tab. 15-21 im Anhang mit Ergänzung der Jahre ab 2016 im September 2019 [118,150,35,143]

Neben der Entwicklung der VRE-Raten war auch bei der Verteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen sowie der Sequenztypen eine weitere Dynamik erkennbar.

Während bei den Surveillance-Systemen in Deutschland zwischen 2012 und 2015 die beiden Glykopeptid-Resistenzgenotypen vanA und vanB annähernd gleichermaßen vertreten waren, kam es am UKMD bereits von 2014 auf 2015 zu einem signifikanten Wechsel des vorherrschenden Glykopeptid-Resistenzgenotyps von vanA hin zu vanB (vgl. Abschnitt 4.4 – *Verteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen*). Dieser Wechsel zeichnete sich in der Folge auch in den Daten des NRZ für VRE ab. Ab 2016/2017 wurden auch hier erstmals deutlich mehr vanB-positive als vanA-positive *E. faecium*-Isolate nachgewiesen (2016: vanA 37 %/vanB 45 %; 2017 vanA 30 %/vanB 57 %; 2018: vanA 19 %/vanB 68 %) [148,150]. Dieser Befund ist bemerkenswert, da die Daten am UKMD, trotz des verspäteten Anstiegs der VRE-Raten, den vollzogenen Wechsel des vorherrschenden Glykopeptid-Resistenzgenotypen von vanA hin zu vanB früher abzeichneten.

Die neuen Whole-Genome Sequencing- (WGS) respektive Next-Generation Sequencing- (NGS) Analysen haben ergeben, dass sich Isolate des gleichen MLST-Sequenztyps in unterschiedliche cgMLST- (WGS/NGS) Gruppen, die sogenannten CT-Gruppen, einteilen lassen. Ein gleicher MLST-Sequenztyp kann also eine scheinbare Verwandtschaft simulieren. Das heißt, gleiche MLST-Sequenztypen müssen nicht zwangsläufig auf eng verwandte Stämme und somit auf epidemiologische Zusammenhänge hinweisen [150,148]. Im NRZ wird bereits seit 2015/2016 Next-Generation-Sequencing (NGS) von *E. faecium*-Isolaten aus invasiven Infektionen durchgeführt. Ab Herbst 2019 sollen aufgrund der oben geschilderten Problematik nur noch NGS-basierte Typisierungen vorgenommen werden [148,150]. Verwendet wird das cgMLST-Schema von de Been et al. [12]. Aus den cgMLST-Daten können die (alten) MLST-Sequenztypen abgeleitet werden [86,150] (vgl. Abschnitt 4.5.4 – *Limitation des MLST und zukünftige Entwicklung*).

Nach 2015 blieb deutschlandweit (NRZ) ST117 weiterhin der häufigste Sequenztyp und wurde 2016 bei mehr als der Hälfte aller Isolate detektiert (53 %). Am zweithäufigsten war ST203 (14 %), gefolgt von ST80 (11 %) [148]. In den Folgejahren veränderte sich das Bild leicht. ST117 blieb weiterhin der vorherrschende Sequenztyp (2017: 50 %; 2018: 58 %). Ein weiterer Anstieg des ST203, der ab 2015 vermehrt nachgewiesen werden konnte [62,148] und auch am UKMD der zweithäufigste Sequenztyp war, blieb aus (2017: 5 %; 2018: 2 %). Hingegen kam es zu einer weiteren Zunahme des Sequenztyps ST80 (2017: 16 %; 2018: 19 %), sowie ebenfalls zu einem Anstieg von ST78 (2017: 11 %; 2018: 10 %). Die Häufigkeit von ST192 (2017: 3 % und 2018: 2 %) nahm weiterhin ab [194, 150].

Die Lineage 78 mit Vertretern wie ST80, ST78, aber auch ST203 und ST192 sowie vor allem ST117, unterteilt in die neuen CT-Gruppen (cgMLST) [150], bleibt entsprechend weiterhin dominant in Deutschland.

4.9 Schlussfolgerung für das Hygienemanagement bei VRE

Insgesamt ergab die Analyse der VRE-Fälle am UKMD, trotz des verspäteten Beginns, einen ganz ähnlichen Verlauf wie in anderen Bundesländern. Diese Parallelität betraf das Verhältnis der VRE-Resistenzgenotypen vanA und vanB sowie der dominanten Sequenztypen. Daher ist sehr wahrscheinlich davon auszugehen, dass die epidemiologische Entwicklung am UKMD als Folge der regionalen und überregionalen Ausbreitung von verschiedenen VRE-Sequenztypen bzw. -Resistenzgenotypen sowie zusätzlich als lokaler Ausbruch am UKMD zu werten ist. Das verspätete zunehmende Auftreten von VRE am UKMD könnte durch die relativ isolierte Lage des UKMD, mit Abständen von über 80 km Luftlinie zu anderen Kliniken der Maximalversorgung, und den, durch die große Entfernung, relativ geringen Austausch von Patienten bedingt sein.

Der initial hohe Anteil neu aufgetretener VRE-Fälle hatte die Implementierung von intensivierten VRE-spezifischen Hygienemaßnahmen zur Folge, die dann zu einer relativen Reduktion des initial dominanten Sequenztyps ST117 führten. In der Folge nahmen dann andere Genotypen zu, von denen anzunehmen ist, dass diese durch Patienten mitgebracht wurden. Diese jeweils neuen Genotypen konnten sich aber, möglicherweise bedingt durch die zu diesem Zeitpunkt bereits strikt implementierten Hygienemaßnahmen, nicht mehr in dem Umfang wie der initial dominante Genotyp ST117 ausbreiten.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit kann nicht unterschieden werden, ob die im Verlauf positive epidemiologische Entwicklung am UKMD die Folge der lokal implementierten Hygienemaßnahmen war, oder ob der Rückgang von VRE am UKMD nach 2014 stärker durch die regionale und überregionale VRE-Epidemiologie bedingt war. Zur Klärung wäre die Untersuchung einer Kontrollgruppe ohne VRE-spezifische Hygienemaßnahmen notwendig, die aber schon aus ethischen Gründen nicht verfügbar ist. Umgekehrt argumentiert kann die überregionale epidemiologische Entwicklung mit Zunahme von vanB und leichtem Rückgang des initial sehr dominanten Genotyps ST117 genauso als Folge der regional und überregional relativ ähnlichen VRE-spezifischen Hygienemaßnahmen angesehen werden. Die Frage der Effizienz der durchgeführten Hygienemaßnahmen ist daher anhand der vorliegenden epidemiologischen Analyse ebenfalls nicht eindeutig zu klären, es spricht aber kein Argument gegen diese Annahme.

In jedem Fall war das intensivierte VRE-Screening zusammen mit den eingeleiteten Hygienemaßnahmen im Hinblick auf die VRE-Rate, die von 19,7 % im Jahr 2014 signifikant auf 13,3 % im Jahr 2015 fiel, sowie dem Anteil an nosokomial übertragenen VRE, der von 75 % im Jahr 2013 auf 47,3 % im Jahr 2015 zurückging, erfolgreich.

5 Zusammenfassung

Enterokokken und insbesondere *E. faecium* zählen weltweit zu den häufigsten Erregern nosokomialer Infektionen. Die Resistenzen von *E. faecium* gegen viele Antibiotika und speziell gegen Vancomycin mit Resistenzraten von meist über 10 % in Deutschland stellen daher ein ernstzunehmendes Problem dar. Im Vergleich zum Deutschlandtrend kam es am UKMD verspätet und erstmals ab dem vierten Quartal des Jahres 2013 zu einer nennenswerten Zunahme der VRE-Rate mit Höchstwerten von 19,1 % im Jahr 2014. (2013 bis 2015: 13,0 %). Bis heute ist die vorherrschende Art und Weise der VRE-Verbreitung noch nicht abschließend geklärt. Deshalb wurden im Rahmen dieser Arbeit von 2013 bis 2015 Vancomycin-resistente *E. faecium*-Erstisolate aller 276 betroffenen Patienten des UKMD analysiert. Dazu wurden die Liegedaten der Patienten, Daten zu Probenmaterial, Geschlechts- und Altersverteilung, Glykopeptid-Resistenzgenotypen, MLST-Sequenztypen sowie der zeitliche Verlauf der VRE-Akquirierung während des stationären Aufenthaltes der Patienten für alle Patienten mit einem positiven VRE-Nachweis im Untersuchungszeitraum analysiert.

Die meisten VRE-Nachweise kamen von den Intensivstationen und den chirurgischen Abteilungen. Bei den eingesandten Materialien handelte es sich zumeist um Rektalabstriche, aber auch um klinisch relevante Materialien. Die Mehrzahl der VRE-positiven Patienten war lediglich kolonisiert. Es waren signifikant mehr männliche als weibliche Patienten betroffen und der VRE-Nachweis stieg signifikant mit dem Alter der Patienten an. Etwa bei der Hälfte der VRE-positiven Patienten war der VRE-Nachweis bereits im Aufnahmescreening bei Krankenhausaufnahme positiv. Die andere Hälfte der Patienten erwarb den VRE während des Aufenthalts. 57,2 % aller Isolate waren vanA-positiv. Von 2013 zu 2015 kam es zu einem signifikanten Wechsel des vorherrschenden Glykopeptid-Resistenzgenotyps von vanA hin zu vanB (2015: vanB 56,8 %).

Die Isolate konnten zwanzig unterschiedlichen Sequenztypen zugeordnet werden, wovon drei Sequenztypen (ST1322, ST1323 und ST1324) erstmals im Rahmen dieser Arbeit beschrieben wurden. Alle identifizierten Sequenztypen waren Teil des CC17 und gehörten entsprechend zur Subpopulation der hospitalassoziierten, meist multiresistenten *E. faecium*-Stämme.

Die fünf häufigsten Sequenztypen waren ST117, ST203, ST17, ST192 und ST80, wobei ST117 (59,4 %) und insgesamt die Lineage 78 dominierte.

Insgesamt ergab die Analyse der VRE-Fälle am UKMD, trotz des um circa drei Jahren verspäteten Beginns, einen ganz ähnlichen Verlauf wie in anderen Bundesländern im Hinblick auf das Verhältnis der VRE-Resistenzgenotypen vanA und vanB sowie der dominanten Sequenztypen. Nach der Implementierung von VRE-spezifischen Hygienemaßnahmen reduzierte sich der Anteil des initial dominanten VRE-Sequenztyps ST117 und andere Sequenztypen nahmen zu. Im Rahmen der Arbeit konnte nicht geklärt werden, ob dies Folge der implementierten Hygienemaßnahmen oder der regionalen und überregionalen epidemiologischen Situation war.

6 Literaturverzeichnis

- [1] Aksoy DY, Unal S: New antimicrobial agents for the treatment of Gram-positive bacterial infections. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 14. pp. 411–420 (2008).
- [2] Alevizakos M, Gaitanidis A, Nasioudis D, Tori K, Flokas ME, Mylonakis E: Colonization With Vancomycin-Resistant Enterococci and Risk for Bloodstream Infection Among Patients With Malignancy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Open forum infectious diseases*. 4. pp. ofw246 (2017).
- [3] Amberpet R, Sistla S, Parija SC, Thabab MM: Screening for Intestinal Colonization with Vancomycin Resistant Enterococci and Associated Risk Factors among Patients Admitted to an Adult Intensive Care Unit of a Large Teaching Hospital. *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR*. 10. pp. DC06-DC09 (2016).
- [4] Antibiotika-Resistenz-Surveillance in Deutschland (ARS): Datenbank: Resistenzübersicht *E. faecium*, *E. faecalis*; Blutkulturen bzw. ambulanter Bereich, 2008–2016
- [5] Arias CA, Murray BE: The rise of the Enterococcus: beyond vancomycin resistance. *Nature reviews. Microbiology*. 10. pp. 266–278 (2012).
- [6] Arthur M, Courvalin P: Genetics and mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 37. pp. 1563–1571 (1993).
- [7] Askarian M, Afkhamzadeh R, Monabbati A, Daxboeck F, Assadian O: Risk factors for rectal colonization with vancomycin-resistant enterococci in Shiraz, Iran. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*. 12. pp. 171–175 (2008).
- [8] Ballard SA, Pertile KK, Lim M, Johnson PDR, Grayson ML: Molecular characterization of vanB elements in naturally occurring gut anaerobes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 49. pp. 1688–1694 (2005).
- [9] Barwolff S, Grundmann H, Schwab F, Tami A, Behnke M, Geffers C, Halle E, Gobel U, Schiller R, Jonas D, Klare I, Weist K, Witte W, Dinger E, Beilecke K, Ruden H, Gastmeier P: Inzidenz der Übertragung von Infektionserregern von einem Intensivpatienten zum anderen. Ergebnisse der SIR-3-Studie. *Der Anaesthesist*. 54. pp. 560–566 (2005).
- [10] Batistão DWdF, Gontijo-Filho PP, Conceição N, Oliveira AGd, Ribas RM: Risk factors for vancomycin-resistant enterococci colonisation in critically ill patients. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 107. pp. 57–63 (2012).
- [11] Baum H von, Dettenkofer M, Fahr AM, Heeg P, Wendt C: Konsensusempfehlung Baden-Württemberg: Umgang mit Patienten mit Glykopeptid-resistenten Enterokokken (GRE)/Vancomycin-resistenten. *Hyg Med*. 31. pp. 30–32 (2006).
- [12] Been M de, Pinholt M, Top J, Bletz S, Mellmann A, van Schaik W, Brouwer E, Rogers M, Kraat Y, Bonten M, Corander J, Westh H, Harmsen D, Willems RJL: Core Genome Multi-locus Sequence Typing Scheme for High- Resolution Typing of *Enterococcus faecium*. *Journal of Clinical Microbiology*. 53. pp. 3788–3797 (2015).
- [13] Behnke M, Hansen S, Leistner R, Diaz LAP, Gropmann A, Sohr D, Gastmeier P, Piening B: Nosocomial infection and antibiotic use: a second national prevalence study in Germany. *Deutsches Arzteblatt international*. 110. pp. 627–633 (2013).
- [14] Bonten MJM, Willems R, Weinstein RA: Vancomycin-resistant enterococci. Why are they here, and where do they come from? *The Lancet Infectious Diseases*. 1. pp. 314–325 (2001).
- [15] Borgmann S, Schulte B, Wolz C, Gruber H, Werner G, Goerke C, Klare I, Beyser K, Heeg P, Autenrieth IB: Discrimination between epidemic and non-epidemic glycopeptide-resistant *E. faecium* in a post-outbreak situation. *The Journal of hospital infection*. 67. pp. 49–55 (2007).
- [16] Bradley CR, Fraise AP: Heat and chemical resistance of enterococci. *The Journal of hospital infection*. 34. pp. 191–196 (1996).

- [17] Carmeli Y, Eliopoulos G, Mozaffari E, Samore M: Health and economic outcomes of vancomycin-resistant enterococci. *Arch Intern Med.* 162. pp. 2223–2228 (2002).
- [18] Cattoir V, Giard J-C: Antibiotic resistance in *Enterococcus faecium* clinical isolates. *Expert review of anti-infective therapy.* 12. pp. 239–248 (2014).
- [19] Cetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG: Vancomycin-resistant enterococci. *Clinical microbiology reviews.* 13. pp. 686–707 (2000).
- [20] Chabros L, Szymanek-Majchrzak K, Mlynarczyk A, Sawicka-Grzelak A, Durlik M, Paczek L, Chmura A, Mlynarczyk G: Evaluation of the prevalence of insertion element IS16 in vancomycin-resistant enterococci strains of *Enterococcus faecium* isolated from transplantology patients from a Warsaw Hospital between 2010 and 2012. *Transplantation proceedings.* 46. pp. 2583–2585 (2014).
- [21] Chavers LS, Moser SA, Benjamin WH, Banks SE, Steinhauer JR, Smith AM, Johnson CN, Funkhouser E, Chavers LP, Stamm AM, Waites KB: Vancomycin-resistant enterococci: 15 years and counting. *The Journal of hospital infection.* 53. pp. 159–171 (2003).
- [22] Chen W, Li S, Li L, Wu X, Zhang W: Effects of daily bathing with chlorhexidine and acquired infection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus*. A meta-analysis. *Journal of thoracic disease.* 5. pp. 518–524 (2013).
- [23] Courvalin P: Resistance of enterococci to glycopeptides. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 34. pp. 2291–2296 (1990).
- [24] D'Agata EMC, Gautam S, Green WK, Tang Y-W: High rate of false-negative results of the rectal swab culture method in detection of gastrointestinal colonization with vancomycin-resistant enterococci. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America.* 34. pp. 167–172 (2002).
- [25] De Vecchi E, Sitia S, Romanò CL, Ricci C, Mattina R, Drago L.: Aetiology and antibiotic resistance patterns of urinary tract infections in the elderly: a 6-month study. *Journal of medical microbiology.* 62. pp. 859–863 (2013).
- [26] Deutscher Ärzteverlag GmbH, Ärzteblatt RD: MRSA: Vancomycin-Resistenzen entstehen einzeln (23.05.2012). <https://www.aerzteblatt.de/nachrichten/50276/MRSA-Vancomycin-Resistenzen-entstehen-einzeln>, zuletzt geprüft am: 27.04.2017.
- [27] DiazGranados CA, Jernigan JA: Impact of vancomycin resistance on mortality among patients with neutropenia and enterococcal bloodstream infection. *The Journal of infectious diseases.* 191. pp. 588–595 (2005).
- [28] DiazGranados CA, Zimmer SM, Klein M, Jernigan JA: Comparison of mortality associated with vancomycin-resistant and vancomycin-susceptible enterococcal bloodstream infections: a meta-analysis. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America.* 41. pp. 327–333 (2005).
- [29] Dicks KV, Lofgren E, Lewis SS, Moehring RW, Sexton DJ, Anderson DJ: A Multicenter Pragmatic Interrupted Time Series Analysis of Chlorhexidine Gluconate Bathing in Community Hospital Intensive Care Units. *Infection control and hospital epidemiology.* 37. pp. 791–797 (2016).
- [30] Donskey CJ, Chowdhry TK, Hecker MT, Huyen CK, Hanrahan JA, Hujer AM, Hutton-Thomas RA, Whalen CC, Bonomo RA, Rice LB: Effect of antibiotic therapy on the density of vancomycin-resistant enterococci in the stool of colonized patients. *The New England journal of medicine.* 343. pp. 1925–1932 (2000).
- [31] Donskey CJ, Schreiber JR, Jacobs MR, Shekar R, Salata RA, Gordon S, Whalen CC, Smith F, Rice LB: A polyclonal outbreak of predominantly VanB vancomycin-resistant enterococci in northeast Ohio. *Northeast Ohio Vancomycin-Resistant Enterococcus Surveillance Program. CLIN INFECT DIS.* 29. pp. 573–579 (1999).
- [32] Dr. Ingo Klare: Aktuelles zu Vancomycin-resistenten Enterokokken (VRE). pp. 57. Halle/S. (2014).
- [33] E. Aldag, G. Fouth, R. Pedersen, L. Fehrenbacher, et al.: Evaluation of Vancomycin Resistant *Enterococcus* (VRE) Colonization and Infection Rate in Adult Liver Transplant Patients. -

- ATC Abstracts. <http://atcmeetingabstracts.com/abstract/evaluation-of-vancomycin-resistant-enterococcus-vre-colonization-and-infection-rate-in-adult-liver-transplant-patients/>, zuletzt geprüft am: 27.09.2017.
- [34] E. Meyer, F. Schwab, C. Geffers, P. Gastmeier: Gender and multidrug-resistant pathogens: data from 734 intensive care units, 2005-2011. pp. 1. Berlin, Deutschland (2011).
- [35] ECDC: SURVEILLANCE REPORT. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2016. pp. 108 (2018).
- [36] Edelsberg J, Weycker D, Barron R, Li X, Wu H, Oster G, Badre S, Langeberg WJ, Weber DJ: Prevalence of antibiotic resistance in US hospitals. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 78. pp. 255–262 (2014).
- [37] European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC): SURVEILLANCE REPORT. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2009. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). pp. 208 (2009).
- [38] European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC): SURVEILLANCE REPORT. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2010. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). pp. 208 (2010).
- [39] European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC): SURVEILLANCE REPORT. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2011. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). pp. 212 (2011).
- [40] European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC): SURVEILLANCE REPORT. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2012. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). pp. 218 (2012).
- [41] European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC): SURVEILLANCE REPORT. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2013. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). pp. 211 (2013).
- [42] European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC): SURVEILLANCE REPORT: Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2014. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). pp. 130 (2014).
- [43] European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC): SURVEILLANCE REPORT. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2015. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). pp. 120. Stockholm (2015).
- [44] Falk PS, Winnike J, Woodmansee C, Desai M, Mayhall CG: Outbreak of vancomycin-resistant enterococci in a burn unit. *Infection control and hospital epidemiology*. 21. pp. 575–582 (2000).
- [45] Feil EJ, Li BC, Aanensen DM, Hanage WP, Spratt BG: eBURST: inferring patterns of evolutionary descent among clusters of related bacterial genotypes from multilocus sequence typing data. *Journal of bacteriology*. 186. pp. 1518–1530 (2004).
- [46] Fisher K, Phillips C: The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology* (Reading, England). 155. pp. 1749–1757 (2009).
- [47] Francisco AP, Bugalho M, Ramirez M, Carrico JA: Global optimal eBURST analysis of multilocus typing data using a graphic matroid approach. *BMC bioinformatics*. 10. pp. 152 (2009).
- [48] Freitas AR, Tedim AP, Francia MV, Jensen LB, Novais C, Peixe L, Sanchez-Valenzuela A, Sundsfjord A, Hegstad K, Werner G, Sadowy E, Hammerum AM, Garcia-Migura L, Willems RJ, Baquero F, Coque TM: Multilevel population genetic analysis of *vanA* and *vanB* *Enterococcus faecium* causing nosocomial outbreaks in 27 countries (1986-2012). *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 71. pp. 3351–3366 (2016).
- [49] Galloway-Pena JR, Nallapareddy SR, Arias CA, Eliopoulos GM, Murray BE: Analysis of clonality and antibiotic resistance among early clinical isolates of *Enterococcus faecium* in the United States. *The Journal of infectious diseases*. 200. pp. 1566–1573 (2009).
- [50] Garbutt JM, Littenberg B, Evanoff BA, Sahn D, Mundy LM: Enteric carriage of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in patients tested for *Clostridium difficile*. *Infection control and hospital epidemiology*. 20. pp. 664–670 (1999).

- [51] Gastmeier P, Schroder C, Behnke M, Meyer E, Geffers C: Dramatic increase in vancomycin-resistant enterococci in Germany. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 69. pp. 1660–1664 (2014).
- [52] Gawryszewska I, Żabicka D., Bojarska K, Malinowska K, Hryniewicz W, Sadowy E: Invasive enterococcal infections in Poland: the current epidemiological situation (2016).
- [53] Gedik H, Şimşek F, Kantürk A, Yıldırım T, Arica D, Aydın D, Yokuş O, Demirel N: Vancomycin-resistant enterococci colonization in patients with hematological malignancies: screening and its cost-effectiveness. *African health sciences*. 14. pp. 899–905 (2014).
- [54] GERMAP15: GERMAP 2015 – Bericht über den Antibiotikaverbrauch und die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen in der Human- und Veterinärmedizin in Deutschland. *Antinfectives Intelligence*, Rheinbach, 2016. Bericht über den Antibiotikaverbrauch und die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen in der Human- und Veterinärmedizin in Deutschland. *Antinfectives Intelligence*, Rheinbach, 2016. pp. 196. Rheinbach (2016).
- [55] Getachew Y, Hassan L, Zakaria Z, Zaid CZM, Yardi A, Shukor RA, Marawin LT, Embong F, Aziz SA: Characterization and risk factors of vancomycin-resistant Enterococci (VRE) among animal-affiliated workers in Malaysia. *Journal of applied microbiology*. 113. pp. 1184–1195 (2012).
- [56] Grabsch EA, Ghaly-Derias S, Gao W, Howden BP: Comparative study of selective chromogenic (chromID VRE) and bile esculin agars for isolation and identification of vanB-containing vancomycin-resistant enterococci from feces and rectal swabs. *Journal of Clinical Microbiology*. 46. pp. 4034–4036 (2008).
- [57] Graham M, Ballard SA, Grabsch EA, Johnson PDR, Grayson ML: High rates of fecal carriage of nonenterococcal vanB in both children and adults. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 52. pp. 1195–1197 (2008).
- [58] Grayson ML, Eliopoulos GM, Wennersten CB, Ruoff KL, Girolami PC de, Ferraro MJ, Moellering RCJR: Increasing resistance to beta-lactam antibiotics among clinical isolates of *Enterococcus faecium*: a 22-year review at one institution. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 35. pp. 2180–2184 (1991).
- [59] Grundmann H, Barwolff S, Tami A, Behnke M, Schwab F, Geffers C, Halle E, Gobel UB, Schiller R, Jonas D, Klare I, Weist K, Witte W, Beck-Beilecke K, Schumacher M, Ruden H, Gastmeier P: How many infections are caused by patient-to-patient transmission in intensive care units? *Critical care medicine*. 33. pp. 946–951 (2005).
- [60] Gudiol C, Ayats J, Camoez M, Dominguez MA, Garcia-Vidal C, Bodro M, Ardanuy C, Obed M, Arnan M, Antonio M, Carratala J: Increase in bloodstream infection due to vancomycin-susceptible *Enterococcus faecium* in cancer patients: risk factors, molecular epidemiology and outcomes. *PloS one*. 8. pp. e74734 (2013).
- [61] Haas EJ, Zaoutis TE, Prasad P, Li M, Coffin SE: Risk Factors and Outcomes for Vancomycin-Resistant *Enterococcus* Bloodstream Infection in Children. *Infection control and hospital epidemiology* (2010).
- [62] Hammerum AM, Baig S, Kamel Y, Roer L, Pinholt M, Gumpert H, Holzknicht B, Røder B, Justesen US, Samulionienė J, Kjærsgaard M, Østergaard C, Holm A, Dzajic E, Søndergaard TS, Gaini S, Edquist P, Alm E, Lilje B, Westh H, Stegger M, Hasman H: Emergence of vanA *Enterococcus faecium* in Denmark, 2005–15. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* (2017).
- [63] Hansen S, Sohr D, Piening B, Pena Diaz L, Gropmann A, Leistner R, Meyer E, Gastmeier P, Behnke M: Antibiotic usage in German hospitals: results of the second national prevalence study. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 68. pp. 2934–2939 (2013).
- [64] Hendrickx APA, Willems RJL, Bonten MJM, van Schaik W: LPxTG surface proteins of enterococci. *Trends in microbiology*. 17. pp. 423–430 (2009).
- [65] Hendrix CW, Hammond JM, Swoboda SM, Merz WG, Harrington SM, Perl TM, Dick JD, Borschel DM, Halczenko PW, Pelz RK, Rocco LE, Conway JE, Brower RG, Lipsett PA: Surveillance strategies and impact of vancomycin-resistant enterococcal colonization and infection in critically ill patients. *Annals of Surgery*. 233. pp. 259–265 (2001).

- [66] Higgins PG, Prior K, Harmsen D, Seifert H: Development and evaluation of a core genome multilocus typing scheme for whole-genome sequence-based typing of *Acinetobacter baumannii*. *PloS one*. 12. pp. e0179228 (2017).
- [67] Homan WL, Tribe D, Poznanski S, Li M, Hogg G, Spalburg E, van Embden, J. D. A., Willems RJJ: Multilocus Sequence Typing Scheme for *Enterococcus faecium*. *Journal of Clinical Microbiology*. 40. pp. 1963–1971 (2002).
- [68] Horcajada JP, Shaw E, Padilla B, Pintado V, Calbo E, Benito N, Gamallo R, Gozalo M, Rodríguez-Baño J: Healthcare-associated, community-acquired and hospital-acquired bacteraemic urinary tract infections in hospitalized patients: a prospective multicentre cohort study in the era of antimicrobial resistance. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 19. pp. 962–968 (2013).
- [69] Huskins WC, Huckabee CM, O'Grady NP, Murray P, Kopetskie H, Zimmer L, Walker ME, Sinkowitz-Cochran RL, Jernigan JA, Samore M, Wallace D, Goldmann DA: Intervention to reduce transmission of resistant bacteria in intensive care. *The New England journal of medicine*. 364. pp. 1407–1418 (2011).
- [70] Jolley KA, Maiden MCJ: BIGSdb: Scalable analysis of bacterial genome variation at the population level. *BMC bioinformatics*. 11. pp. 595 (2010).
- [71] Jukes T.H. and Cantor C.R.: Evolution of protein molecules. In: H. N. Munro (ed.): *Mammalian Protein Metabolism*. pp. 21–132. Academic Press, Inc. New York (1969).
- [72] Kampmeier S, Knaack D, Kossow A, Willems S, Schliemann C, Berdel WE, Kipp F, Mellmann A: Weekly screening supports terminating nosocomial transmissions of vancomycin-resistant enterococci on an oncologic ward - a retrospective analysis. *Antimicrobial resistance and infection control*. 6. pp. 48 (2017).
- [73] Kang M-S, Lee B-S, Lee H-J, Hwang S-W, Han Z-A: Prevalence of and Risk Factors for Multidrug-Resistant Bacteria in Urine Cultures of Spinal Cord Injury Patients. *Annals of rehabilitation medicine*. 39. pp. 686–695 (2015).
- [74] Kauffman CA: Therapeutic and preventative options for the management of vancomycin-resistant enterococcal infections. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 51 Suppl 3. pp. iii23-30 (2003).
- [75] Kee SY, Park CW, Lee JE, Kwon YJ, Pyo HJ, Kim WJ, Cheong HJ: Healthcare-associated risk factors of vancomycin-resistant *Enterococci* colonization among outpatients undergoing hemodialysis. *Japanese journal of infectious diseases*. 65. pp. 57–60 (2012).
- [76] Klare I, Fleige C, Geringer U, Witte W, Werner G: Performance of three chromogenic VRE screening agars, two Etest(R) vancomycin protocols, and different microdilution methods in detecting vanB genotype *Enterococcus faecium* with varying vancomycin MICs. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 74. pp. 171–176 (2012).
- [77] Klare I, Konstabel C, Badstubner D, Werner G, Witte W: Occurrence and spread of antibiotic resistances in *Enterococcus faecium*. *International journal of food microbiology*. 88. pp. 269–290 (2003).
- [78] Klare I, Konstabel C, Mueller-Bertling S, Werner G, Strommenger B, Kettlitz C, Borgmann S, Schulte B, Jonas D, Serr A, Fahr AM, Eigner U, Witte W: Spread of ampicillin/vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* of the epidemic-virulent clonal complex-17 carrying the genes *esp* and *hyl* in German hospitals. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology*. 24. pp. 815–825 (2005).
- [79] Klare I, Witte W, Wendt C, Werner G: Vancomycin-resistant enterococci (VRE). Recent results and trends in development of antibiotic resistance. *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz*. 55. pp. 1387–1400 (2012).
- [80] Kolar M, Urbanek K, Vagnerova I, Koukalova D: The influence of antibiotic use on the occurrence of vancomycin-resistant enterococci. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*. 31. pp. 67–72 (2006).
- [81] Kos VN, Desjardins CA, Griggs A, Cerqueira G, van Tonder A, Holden MTG, Godfrey P, Palmer KL, Bodi K, Mongodin EF, Wortman J, Feldgarden M, Lawley T, Gill SR, Haas

- BJ, Birren B, Gilmore MS: Comparative genomics of vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* strains and their positions within the clade most commonly associated with Methicillin-resistant *S. aureus* hospital-acquired infection in the United States. *mBio*. 3 (2012).
- [82] Kraker MEA de, Jarlier V, Monen JCM, Heuer OE, van de Sande N, Grundmann H: The changing epidemiology of bacteraemias in Europe: trends from the European Antimicrobial Resistance Surveillance System. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 19. pp. 860–868 (2013).
- [83] Kresken M, Hafner D, Schmitz FJ, Wichelhaus TA: Deutschland und im mitteleuropäischen Raum. Bericht über die Ergebnisse einer multizentrischen Studie der Arbeitsgemeinschaft Empfindlichkeitsprüfungen & Resistenz der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V. aus dem Jahre 1995/1998/2001/2004/2007/2010/2013 (Online: <http://www.p-e-g.org/resistenz/database/auswertung.php>). (2013).
- [84] KRINKO: Hygienemaßnahmen zur Prävention der Infektion durch Enterokokken mit speziellen Antibiotikaresistenzen. Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut. pp. 52 (2018).
- [85] Kuo A-J, Su L-H, Shu J-C, Wang J-T, Wang J-H, Fung C-P, Chia J-H, Lu J-J, Wu T-L: National surveillance on vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in Taiwan: emergence and widespread of ST414 and a Tn1546-like element with simultaneous insertion of IS1251-like and IS1678. *PLoS one*. 9. pp. e115555 (2014).
- [86] Larsen MV, Cosentino S, Rasmussen S, Friis C, Hasman H, Marvig RL, Jelsbak L, Sicheritz-Pontén T, Ussery DW, Aarestrup FM, Lund O: Multilocus sequence typing of total-genome-sequenced bacteria. *Journal of Clinical Microbiology*. 50. pp. 1355–1361 (2012).
- [87] Leavis HL, Bonten MJM, Willems RJL: Identification of high-risk enterococcal clonal complexes: global dispersion and antibiotic resistance. *Current opinion in microbiology*. 9. pp. 454–460 (2006).
- [88] Leavis HL, Willems RJL, Top J, Bonten MJM: High-level ciprofloxacin resistance from point mutations in *gyrA* and *parC* confined to global hospital-adapted clonal lineage CC17 of *Enterococcus faecium*. *Journal of Clinical Microbiology*. 44. pp. 1059–1064 (2006).
- [89] Lebreton F, van Schaik W, McGuire AM, Godfrey P, Griggs A, Mazumdar V, Corander J, Cheng L, Saif S, Young S, Zeng Q, Wortman J, Birren B, Willems RJL, Earl AM, Gilmore MS: Emergence of epidemic multidrug-resistant *Enterococcus faecium* from animal and commensal strains. *mBio*. 4 (2013).
- [90] Leclercq R, Derlot E, Duval J, Courvalin P: Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. *The New England journal of medicine*. 319. pp. 157–161 (1988).
- [91] Leclercq R, Derlot E, V M, Eber, Duval J, Courvalin P: Transferable vancomycin and teicoplanin resistance in *Enterococcus faecium*. *Infectious Diseases Newsletter*. 8. pp. 31 (1989).
- [92] Leclercq R, Oberle K, Galopin S, Cattoir V, Budzinski H, Petit F: Changes in enterococcal populations and related antibiotic resistance along a medical center-wastewater treatment plant-river continuum. *Applied and environmental microbiology*. 79. pp. 2428–2434 (2013).
- [93] Lee WG, Park IJ, Jin HY, Park MH: Relapse and reacquisition of rectal colonization by vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* after decolonization. *Epidemiology and infection*. 138. pp. 1449–1453 (2010).
- [94] Lester CH, Frimodt-Møller N, Sørensen TL, Monnet DL, Hammerum AM: In vivo transfer of the *vanA* resistance gene from an *Enterococcus faecium* isolate of animal origin to an *E. faecium* isolate of human origin in the intestines of human volunteers. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 50. pp. 596–599 (2006).
- [95] Levine DP: Vancomycin: a history. *CLIN INFECT DIS*. 42 Suppl 1. pp. S5-12 (2006).
- [96] Low DE, Keller N, Barth A, Jones RN: Clinical prevalence, antimicrobial susceptibility, and geographic resistance patterns of enterococci: results from the SENTRY Antimicrobial

- Surveillance Program, 1997-1999. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 32 Suppl 2. pp. S133-45 (2001).
- [97] Lytsy B, Engstrand L, Gustafsson Å, Kaden R: Time to review the gold standard for genotyping vancomycin-resistant enterococci in epidemiology: Comparing whole-genome sequencing with PFGE and MLST in three suspected outbreaks in Sweden during 2013-2015. *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*. 54. pp. 74–80 (2017).
- [98] M. Papadimitriou-Olivgeris, E. Drougka, F. Fligou, M. Marangos, C. Sklavou, E. D. Anastassiou, I. Spiliopoulou, K. Filos: Morbidity and mortality of Intensive Care Unit patients with Vancomycin-resistant enterococcal colonization at ICU admission. pp. 1. London, United Kingdom (2012).
- [99] Maiden MCJ: Multilocus sequence typing of bacteria. *Annual review of microbiology*. 60. pp. 561–588 (2006).
- [100] Malani PN, Kauffman CA, Zervos MJ: Enterococcal Disease, Epidemiology, and Treatment. In: M. S. Gilmore, D. B. Clewell, P. Courvalin, G. M. Dunny, et al. (eds.): *The Enterococci*. pp. 385–408. American Society of Microbiology (2002).
- [101] Malathum K, Singh KV, Murray BE: In vitro activity of moxifloxacin, a new 8-methoxyquinolone, against gram-positive bacteria. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 35. pp. 127–133 (1999).
- [102] Markwart R, Willrich N, Haller S, Noll I, Koppe U, Werner G, Eckmanns T, Reuss A: The rise in vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in Germany. Data from the German Antimicrobial Resistance Surveillance (ARS). pp. 11 (2019).
- [103] Mascini EM, Bonten MJM: Vancomycin-resistant enterococci: consequences for therapy and infection control. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 11 Suppl 4. pp. 43–56 (2005).
- [104] Massachusetts Eye and Ear Infirmary: Enterococcal Infection—Treatment and Antibiotic Resistance. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK190420/>, zuletzt geprüft am: 27.08.2019.
- [105] McKay R, Bamford C: Community- versus healthcare-acquired bloodstream infections at Groote Schuur Hospital, Cape Town, South Africa. *South African medical journal = Suid-Afrikaanse tydskrif vir geneeskunde*. 105. pp. 363–369 (2015).
- [106] McNeil SA, Malani PN, Chenoweth CE, Fontana RJ, Magee JC, Punch JD, Mackin ML, Kauffman CA: Vancomycin-resistant enterococcal colonization and infection in liver transplant candidates and recipients: a prospective surveillance study. *CLIN INFECT DIS*. 42. pp. 195–203 (2006).
- [107] Meyer E, Gastmeier P, Deja M, Schwab F: Antibiotic consumption and resistance: data from Europe and Germany. *International journal of medical microbiology : IJMM*. 303. pp. 388–395 (2013).
- [108] Moellering JRC: Vancomycin-Resistant Enterococci. *CLIN INFECT DIS*. 26. pp. 1196–1199 (1998).
- [109] Montealegre MC, Roh JH, Rae M, Davlieva MG, Singh KV, Shamoo Y, Murray BE: Differential Penicillin-Binding Protein 5 (PBP5) Levels in the *Enterococcus faecium* Clades with Different Levels of Ampicillin Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 61 (2017).
- [110] Montero CI, Stock F, Murray PR: Mechanisms of resistance to daptomycin in *Enterococcus faecium*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 52. pp. 1167–1170 (2008).
- [111] Murray BE: The life and times of the *Enterococcus*. *Clinical microbiology reviews*. 3. pp. 46–65 (1990).
- [112] Murray BE: Diversity among multidrug-resistant enterococci. *Emerging infectious diseases*. 4. pp. 37–47 (1998).
- [113] Mutters NT, Brooke RJ, Frank U, Heeg K: Low risk of apparent transmission of vancomycin-resistant *Enterococci* from bacteraemic patients to hospitalized contacts. *American journal of infection control*. 41. pp. 778–781 (2013).

- [114] Mutters NT, Frank U: Sources of systematic errors in the epidemiology of vancomycin-resistant enterococci. *Infection*. 41. pp. 305–310 (2013).
- [115] Mutters NT, Mersch-Sundermann V, Mutters R, Brandt C, Schneider-Brachert W, Frank U: Control of the spread of vancomycin-resistant enterococci in hospitals: epidemiology and clinical relevance. *Deutsches Arzteblatt international*. 110. pp. 725–731 (2013).
- [116] Nationales Referenzzentrum für Surveillance: Erreger-Surveillance im Modul ITS-KISS. Stratifizierung: Stationen mit Aufnahmescreening für Risikopatienten. Berechnungszeitraum: Januar 2013 bis Dezember 2016 Erstellungsdatum: 2.Mai 2017. pp. 109 (2017).
- [117] Nationales Referenzzentrum für Surveillance: Erreger-Surveillance im Modul STATIONS-KISS. Stratifizierung: Stationen mit Aufnahmescreening für Risikopatienten. Berechnungszeitraum: Januar 2013 bis Dezember 2016 Erstellungsdatum: 2.Mai 2017. pp. 113 (2017).
- [118] Nationales Referenzzentrum für Surveillance von nosokomialen Infektionen: SARI Resistenzraten (RR) im Zeitverlauf. http://sari.eu-burden.info/auswertung/down/RR_ZEIT.pdf
- [119] Neely AN, Maley MP: Survival of enterococci and staphylococci on hospital fabrics and plastic. *Journal of Clinical Microbiology*. 38. pp. 724–726 (2000).
- [120] Newman L, Duffus ALJ, Lee C: Using the Free Program MEGA to Build Phylogenetic Trees from Molecular Data. pp. 31 (2016).
- [121] Niebel M, Quick J, Prieto AMG, Hill RLR, Pike R, Huber D, David M, Hornsey M, Wareham D, Oppenheim B, Woodford N, van Schaik W, Loman N: Deletions in a ribosomal protein-coding gene are associated with tigecycline resistance in *Enterococcus faecium*. *International journal of antimicrobial agents*. 46. pp. 572–575 (2015).
- [122] Nilsson O: Vancomycin resistant enterococci in farm animals - occurrence and importance. *Infection ecology & epidemiology*. 2 (2012).
- [123] NNIS System: National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. *American journal of infection control*. 32. pp. 470–485 (2004).
- [124] Oh HS, Kim EC, Oh MD, Choe KW: Outbreak of vancomycin resistant enterococcus in a hematology/oncology unit in a Korean University Hospital, and risk factors related to patients, staff, hospital care and facilities. *Scandinavian journal of infectious diseases*. 36. pp. 790–794 (2004).
- [125] Ott E, Saathoff S, Graf K, Schwab F, Chaberny IF: The prevalence of nosocomial and community acquired infections in a university hospital: an observational study. *Deutsches Arzteblatt international*. 110. pp. 533–540 (2013).
- [126] Özsoy S, İlki A: Detection of vancomycin-resistant enterococci (VRE) in stool specimens submitted for *Clostridium difficile* toxin testing. *Brazilian journal of microbiology : [publication of the Brazilian Society for Microbiology]*. 48. pp. 489–492 (2017).
- [127] Padiglione AA, Wolfe R, Grabsch EA, Olden D, Pearson S, Franklin C, Spelman D, Mayall B, Johnson PDR, Grayson ML: Risk Factors for New Detection of Vancomycin-Resistant Enterococci in Acute-Care Hospitals That Employ Strict Infection Control Procedures. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 47. pp. 2492–2498 (2003).
- [128] PAHO/WHO: Epidemiological Alert: Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Epidemiological Alert* (2013).
- [129] Palmer KL, Godfrey P, Griggs A, Kos VN, Zucker J, Desjardins C, Cerqueira G, Gevers D, Walker S, Wortman J, Feldgarden M, Haas B, Birren B, Gilmore MS: Comparative genomics of enterococci: variation in *Enterococcus faecalis*, clade structure in *E. faecium*, and defining characteristics of *E. gallinarum* and *E. casseliflavus*. *mBio*. 3. pp. e00318-11 (2012).
- [130] Park I, Park RW, Lim S-K, Lee W, Shin JS, Yu S, Shin G-T, Kim H: Rectal culture screening for vancomycin-resistant enterococcus in chronic haemodialysis patients: false-negative rates and duration of colonisation. *The Journal of hospital infection*. 79. pp. 147–150 (2011).
- [131] Patel R: Clinical impact of vancomycin-resistant enterococci. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 51. pp. iii13-21 (2003).

- [132] Pearman JW: 2004 Lowbury Lecture. The Western Australian experience with vancomycin-resistant enterococci - from disaster to ongoing control. *The Journal of hospital infection*. 63. pp. 14–26 (2004).
- [133] Philipp Balmer: Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE) in einem Universitätsklinikum (1998-2005) unter besonderer Beobachtung von Verteilung, Infektion und Letalität. Dissertation. pp. 92. Berlin, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Medizinischen Fakultät (2012).
- [134] Pightling AW, Petronella N, Pagotto F: The *Listeria monocytogenes* Core-Genome Sequence Typer (LmCGST): a bioinformatic pipeline for molecular characterization with next-generation sequence data. *BMC microbiology*. 15. pp. 224 (2015).
- [135] Pinholt M, Lerner-Svensson H, Littauer P, Moser CE, Pedersen M, Lemming LE, Ejlertsen T, Sondergaard TS, Holznecht BJ, Justesen US, Dzajic E, Olsen SS, Nielsen JB, Worning P, Hammerum AM, Westh H, Jakobsen L: Multiple hospital outbreaks of vanA Enterococcus faecium in Denmark, 2012-13, investigated by WGS, MLST and PFGE. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 70. pp. 2474–2482 (2015).
- [136] QIAGEN GmbH, Hilden, Deutschland: DyeEx™ Handbook. pp. 24 (2002).
- [137] QIAGEN GmbH, Hilden, Deutschland: EZ1® Virus Handbook. EZ1 Virus Mini Kit v2.0. pp. 48 (2010).
- [138] QIAGEN GmbH, Hilden, Deutschland: artus® VanR QS-RGQ Kit Handbuch. pp. 56 (2015).
- [139] Rice LB: The complex dynamics of antimicrobial activity in the human gastrointestinal tract. *Transactions of the American Clinical and Climatological Association*. 124. pp. 123–132 (2013).
- [140] Ridom GmbH G: Ridom SeqSphere+ cgMLST. <http://www.ridom.de/seqsphere/cgmlst/>, zuletzt geprüft am: 23.08.2017.
- [141] Robert Koch-Institut: Epidemiologisches Bulletin 40/2015. Eigenschaften, Häufigkeit und Verbreitung Vancomycinresistenter Enterokokken (VRE) in Deutschland. pp. 10. RKI-Bibl (Robert Koch-Institut) (2015).
- [142] Robert Koch-Institut: Epidemiologisches Bulletin 22/2016. Regionale Verteilung des Anteils von MRSA und VRE bei nosokomialen Infektionen mit *S. aureus* und Enterokokken. pp. 6. RKI-Bibl (Robert Koch-Institut) (2016).
- [143] Robert Koch-Institut: ARS - Antibiotika Resistenz Surveillance. <https://ars.rki.de/Content/Database/ResistanceDevelopment.aspx>, zuletzt geprüft am: 16.09.2019.
- [144] Robert Koch-Institut (RKI): Epidemiologisches Bulletin 17 / 2005. Zum Auftreten und zur Verbreitung glycopeptidresistenter Enterokokken. pp. 7 (2005).
- [145] Robert Koch-Institut (RKI): Epidemiologisches Bulletin 23/2008. Vancomycin-resistente Enterokokken in deutschen Krankenhäusern 2006/2007. pp. 14 (2008).
- [146] Robert Koch-Institut (RKI): Epidemiologisches Bulletin 44/2010. Enterokokken mit Vancomycin-Resistenz in deutschen Krankenhäusern 2008/2009. pp. 14 (2010).
- [147] Robert Koch-Institut (RKI): Epidemiologisches Bulletin 33/2013. Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE): Aktuelle Daten und Trends zur Resistenzentwicklung aus dem NRZ für Staphylokokken und Enterokokken, 2011 – 2012. pp. 10 (2013).
- [148] Robert Koch-Institut (RKI): Epidemiologisches Bulletin des Robert Koch-Institut Ausgabe 46/2017. Eigenschaften, Häufigkeit und Verbreitung von Vancomycinresistenten Enterokokken (VRE) in Deutschland. pp. 12 (2017).
- [149] Robert Koch-Institut (RKI): Epidemiologisches Bulletin 27/2019. Bericht zum 6. Treffen der Moderatoren der MRE-Netzwerke am RKI Verbreitung, Krankheitslast, Therapieoptionen und Prävention von Infektionen mit Vancomycin-resistenten Enterokokken. pp. 14 (2019, Juli).
- [150] Robert Koch-Institut (RKI): Epidemiologisches Bulletin des Robert Koch-Instituts Ausgabe 35/2019. Eigenschaften, Häufigkeit und Verbreitung von Vancomycinresistenten Enterokokken in Deutschland. Update 2017/2018. pp. 12 (2019 August).
- [151] Rossi F, Diaz L, Wollam A, Panesso D, Zhou Y, Rincon S, Narechania A, Xing G, Di Gioia TSR, Doi A, Tran TT, Reyes J, Munita JM, Carvajal LP, Hernandez-Roldan A, Brandao D,

- van der Heijden IM, Murray BE, Planet PJ, Weinstock GM, Arias CA: Transferable vancomycin resistance in a community-associated MRSA lineage. *The New England journal of medicine*. 370. pp. 1524–1531 (2014).
- [152] Ruiz-Garbajosa P, Regt M de, Bonten M, Baquero F, Coque TM, Canton R, Harmsen HJM, Willems RJL: High-density fecal *Enterococcus faecium* colonization in hospitalized patients is associated with the presence of the polyclonal subcluster CC17. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology. 31. pp. 519–522 (2012).
- [153] Sächsisches Staatsministerium für Soziales und Verbraucherschutz Referat Presse- und Öffentlichkeitsarbeit: Multiresistente Erreger. Informationsbroschüre. pp. 35 (2010).
- [154] Saitou N, Nei M: The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular biology and evolution*. 4. pp. 406–425 (1987).
- [155] Salgado CD, Farr BM: Outcomes associated with vancomycin-resistant enterococci: a meta-analysis. *Infection control and hospital epidemiology*. 24. pp. 690–698 (2003).
- [156] Sanger F, Nicklen S, Coulson AR: DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 74. pp. 5463–5467 (1977).
- [157] SARI: Surveillance der Antibiotika-Anwendung und der bakteriellen Resistenzen auf Intensivstationen, 2000–2015; <http://sari.eu-burden.info/>. <http://sari.eu-burden.info/>
- [158] Scheetz MH, Knechtel SA, Malczynski M, Postelnick MJ, Qi C: Increasing incidence of linezolid-intermediate or -resistant, vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* strains parallels increasing linezolid consumption. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 52. pp. 2256–2259 (2008).
- [159] Schünke, Michael; Schulte, Erik; Schumacher, Udo: PROMETHEUS. Organe des Verdauungssystems und ihre Leitungsbahnen (2015).
- [160] Sherman JM: *The Streptococci*. pp. 95. Ithaca, New York (1937).
- [161] Shokoohzadeh L, Mobarez AM, Alebouyeh M, Zali MR, Ranjbar R: Genotyping of clinical and environmental multidrug resistant *Enterococcus faecium* strains. *Indian journal of pathology & microbiology*. 60. pp. 74–78 (2017).
- [162] Sievert DM, Ricks P, Edwards JR, Schneider A, Patel J, Srinivasan A, Kallen A, Limbago B, Fridkin S: Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009–2010. *Infection control and hospital epidemiology*. 34. pp. 1–14 (2013).
- [163] Simner PJ, Adam H, Baxter M, McCracken M, Golding G, Karlowsky JA, Nichol K, Lagacé-Wiens P, Gilmour MW, Hoban DJ, Zhanel GG: Epidemiology of vancomycin-resistant enterococci in Canadian hospitals (CANWARD study, 2007 to 2013). *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 59. pp. 4315–4317 (2015).
- [164] Simon A, Gröger N, Engelhart S, Molitor G, Exner M, Bode U, Fleischhack G: Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE) - Übersicht zur Bedeutung, Prävention und Management in der Pädiatrie. *Hyg Med*. 29 (2004).
- [165] Sohn KM, Peck KR, Joo E-J, Ha YE, Kang C-I, Chung DR, Lee NY, Song J-H: Duration of colonization and risk factors for prolonged carriage of vancomycin-resistant enterococci after discharge from the hospital. *International journal of infectious diseases* : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases. 17. pp. e240–6 (2013).
- [166] Song JY, Cheong HJ, Jo YM, Choi WS, Noh JY, Heo JY, Kim WJ: Vancomycin-resistant *Enterococcus* colonization before admission to the intensive care unit: a clinico-epidemiologic analysis. *American journal of infection control*. 37. pp. 734–740 (2009).
- [167] Song X, Srinivasan A, Plaut D, Perl TM: Effect of nosocomial vancomycin-resistant enterococcal bacteremia on mortality, length of stay, and costs. *Infection control and hospital epidemiology*. 24. pp. 251–256 (2003).
- [168] Sood S, Malhotra M, Das BK, Kapil A: Enterococcal infections & antimicrobial resistance. *The Indian journal of medical research*. 128. pp. 111–121 (2008).

- [169] Stamper PD, Cai M, Lema C, Eskey K, Carroll KC: Comparison of the BD GeneOhm VanR assay to culture for identification of vancomycin-resistant enterococci in rectal and stool specimens. *Journal of Clinical Microbiology*. 45. pp. 3360–3365 (2007).
- [170] Stosor V, Peterson LR, Postelnick M, Noskin GA: Enterococcus faecium bacteremia: does vancomycin resistance make a difference? *Arch Intern Med*. 158. pp. 522–527 (1998).
- [171] Tacconelli E, Karchmer AW, Yokoe D, D'Agata EMC: Preventing the influx of vancomycin-resistant enterococci into health care institutions, by use of a simple validated prediction rule. *CLIN INFECT DIS*. 39. pp. 964–970 (2004).
- [172] Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S: MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular biology and evolution*. 30. pp. 2725–2729 (2013).
- [173] Tedim AP, Lanza VF, Manrique M, Pareja E, Ruiz-Garbajosa P, Cantón R, Baquero F, Coque TM, Tobes R: Complete Genome Sequences of Isolates of Enterococcus faecium Sequence Type 117, a Globally Disseminated Multidrug-Resistant Clone. *Genome announcements*. 5 (2017).
- [174] Tedim AP, Lanza VF, Rodriguez CM, Ruiz-Garbajosa P, Moreno RC, Baquero F, Coque TM: Comparative genomics of the pandemic Enterococcus faecium ST117 lineage. pp. 1
- [175] Tedim AP, Ruiz-Garbajosa P, Corander J, Rodriguez CM, Canton R, Willems RJ, Baquero F, Coque TM: Population biology of intestinal enterococcus isolates from hospitalized and nonhospitalized individuals in different age groups. *Applied and environmental microbiology*. 81. pp. 1820–1831 (2015).
- [176] Top J, Willems R, Blok H, Regt M de, Jalink K, Troelstra A, Goorhuis B, Bonten M: Ecological replacement of Enterococcus faecalis by multiresistant clonal complex 17 Enterococcus faecium. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 13. pp. 316–319 (2007).
- [177] Top J, Willems R, Bonten M: Emergence of CC17 Enterococcus faecium: from commensal to hospital-adapted pathogen. *FEMS immunology and medical microbiology*. 52. pp. 297–308 (2008).
- [178] Turner KME, Hanage WP, Fraser C, Connor TR, Spratt BG: Assessing the reliability of eBURST using simulated populations with known ancestry. *BMC microbiology*. 7. pp. 30 (2007).
- [179] Ubeda C, Taur Y, Jenq RR, Equinda MJ, Son T, Samstein M, Viale A, Succi ND, van den Brink MRM, Kamboj M, Pamer EG: Vancomycin-resistant Enterococcus domination of intestinal microbiota is enabled by antibiotic treatment in mice and precedes bloodstream invasion in humans. *The Journal of clinical investigation*. 120. pp. 4332–4341 (2010).
- [180] Uttley AH, Collins CH, Naidoo J, George RC: Vancomycin-resistant enterococci. *Lancet (London, England)*. 1. pp. 57–58 (1988).
- [181] van Schaik W, Top J, Riley DR, Boekhorst J, Vrijenhoek JEP, Schapendonk CME, Hendrickx APA, Nijman IJ, Bonten MJM, Tettelin H, Willems RJL: Pyrosequencing-based comparative genome analysis of the nosocomial pathogen Enterococcus faecium and identification of a large transferable pathogenicity island. *BMC genomics*. 11. pp. 239 (2010).
- [182] van Schaik W, Willems RJL: Genome-based insights into the evolution of enterococci. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 16. pp. 527–532 (2010).
- [183] van Tyne D, Gilmore MS: Friend turned foe: evolution of enterococcal virulence and antibiotic resistance. *Annual review of microbiology*. 68. pp. 337–356 (2014).
- [184] Vonberg R-P, Chaberny IF, Kola A, Mattner F, Borgmann S, Dettenkofer M, Jonas D, Fahr A-M, Klare I, Werner G, Weist K, Wendt C, Gastmeier P: Prevention and control of the spread of vancomycin-resistant enterococci: results of a workshop held by the German Society for Hygiene and Microbiology. *Der Anaesthetist*. 56. pp. 151–157 (2007).
- [185] Waar K, van der Mei, Henny C, Harmsen HJM, Degener JE, Busscher HJ: Adhesion to bile drain materials and physicochemical surface properties of Enterococcus faecalis strains grown in the presence of bile. *Applied and environmental microbiology*. 68. pp. 3855–3858 (2002).

- [186] Warnke P, Johanna Pohl FP, Kundt G, Podbielski A: Screening for Gram-negative bacteria. Impact of preanalytical parameters. *Scientific reports*. 6. pp. 30427 (2016).
- [187] Warnke P, Warning L, Podbielski A: Some are more equal--a comparative study on swab up-take and release of bacterial suspensions. *PLoS one*. 9. pp. e102215 (2014).
- [188] Weinstock DM, Conlon M, Iovino C, Aubrey T, Gudiol C, Riedel E, Young JW, Kiehn TE, Zuccotti G: Colonization, bloodstream infection, and mortality caused by vancomycin-resistant enterococcus early after allogeneic hematopoietic stem cell transplant. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 13. pp. 615–621 (2007).
- [189] Wendt C, Rüdén H, Edmond M: Vancomycin-resistente Enterokokken. Epidemiologie, Risikofaktoren und Prävention. *Deutsches Ärzteblatt international*. 95. pp. A-1604 - A-1611 (1998).
- [190] Wendt C, Wiesenthal B, Dietz E, Ruden H: Survival of vancomycin-resistant and vancomycin-susceptible enterococci on dry surfaces. *Journal of Clinical Microbiology*. 36. pp. 3734–3736 (1998).
- [191] Werner G: Vancomycin-resistente Enterokokken – Epidemiologie, Diagnostik, Typisierung, Trends. *Krankenh. hyg. up2date*. 07. pp. 291–304 (2012).
- [192] Werner G: Recent advances of genome-based surveillance for tracing emergence and spread of MDR hospital pathogens – the perspective of the National Reference Centre for Staphylococci and Enterococci. pp. 14. Hamburg (2016).
- [193] Werner G, Coque TM, Hammerum AM, Hope R, Hryniewicz W, Johnson A, Klare I, Kristinsson KG, Leclercq R, Lester CH, Lillie M, Novais C, Olsson-Liljequist B, Peixe LV, Sadowy E, Simonsen GS, Top J, Vuopio-Varkila J, Willems RJ, Witte W, Woodford N: Emergence and spread of vancomycin resistance among enterococci in Europe. *Euro surveillance : bulletin Européen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*. 13 (2008).
- [194] Werner G, Fleige C, Geringer U, Bender J, Klare I: MLST typing of bloodstream isolates of VRE/Enterococcus faecium from German hospital patients reveals prevalence of prominent strain types and a distinct level of strain dynamics over time. pp. 1 (2016).
- [195] Werner G, Fleige C, Geringer U, Klare I: Spread of vanB-type Enterococcus faecium of MLST ST192 in German hospitals, 2009 - 2011. pp. 1. Berlin (2013).
- [196] Werner G, Fleige C, Geringer U, van Schaik W, Klare I, Witte W: IS element IS16 as a molecular screening tool to identify hospital-associated strains of Enterococcus faecium. *BMC infectious diseases*. 11. pp. 80 (2011).
- [197] Werner G, Freitas AR, Coque TM, Sollid JE, Lester C, Hammerum AM, Garcia-Migura L, Jensen LB, Francia MV, Witte W, Willems RJ, Sundsfjord A: Host range of enterococcal vanA plasmids among Gram-positive intestinal bacteria. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 66. pp. 273–282 (2011).
- [198] Werner G, Gfrorer S, Fleige C, Witte W, Klare I: Tigecycline-resistant Enterococcus faecalis strain isolated from a German intensive care unit patient. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 61. pp. 1182–1183 (2008).
- [199] Werner G, Klare I, Fleige C, Geringer U, Witte W, Just H-M, Ziegler R: Vancomycin-resistant vanB-type Enterococcus faecium isolates expressing varying levels of vancomycin resistance and being highly prevalent among neonatal patients in a single ICU. *Antimicrobial resistance and infection control*. 1. pp. 21 (2012).
- [200] Werner G, Klare I, Heier H, Hinz KH, Bohme G, Wendt M, Witte W: Quinupristin/dalfopristin-resistant enterococci of the satA (vatD) and satG (vatE) genotypes from different ecological origins in Germany. *Microbial drug resistance (Larchmont, N.Y.)*. 6. pp. 37–47 (2000).
- [201] Werner G, Klare I, Spencker F-B, Witte W: Intra-hospital dissemination of quinupristin/dalfopristin- and vancomycin-resistant Enterococcus faecium in a paediatric ward of a German hospital. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 52. pp. 113–115 (2003).
- [202] Werner G, Klare I, Wernigerode, Hübner J, Kern WV, Freiburg, Witte W: Vancomycin-resistente Enterokokken. *Chemotherapie Journal*. 17. pp. 183–193 (2008).

- [203] Werner G, Klare I, Witte W: The current MLVA typing scheme for *Enterococcus faecium* is less discriminatory than MLST and PFGE for epidemic-virulent, hospital-adapted clonal types. *BMC microbiology*. 7. pp. 28 (2007).
- [204] Werner G, Serr A, Schutt S, Schneider C, Klare I, Witte W, Wendt C: Comparison of direct cultivation on a selective solid medium, polymerase chain reaction from an enrichment broth, and the BD GeneOhm VanR Assay for identification of vancomycin-resistant enterococci in screening specimens. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 70. pp. 512–521 (2011).
- [205] Willems RJ, Top J, van Santen M, Robinson DA, Coque TM, Baquero F, Grundmann H, Bonten MJ: Global Spread of Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* from Distinct Nosocomial Genetic Complex. *Emerg. Infect. Dis*. 11. pp. 821–828 (2005).
- [206] Willems RJ, van Schaik W: Transition of *Enterococcus faecium* from commensal organism to nosocomial pathogen. *Future microbiology*. 4. pp. 1125–1135 (2009).
- [207] Willems RJL, Hanage WP, Bessen DE, Feil EJ: Population biology of Gram-positive pathogens: high-risk clones for dissemination of antibiotic resistance. *FEMS microbiology reviews*. 35. pp. 872–900 (2011).
- [208] Willems RJL, Top J, van Schaik W, Leavis H, Bonten M, Siren J, Hanage WP, Corander J: Restricted gene flow among hospital subpopulations of *Enterococcus faecium*. *mBio*. 3. pp. e00151-12 (2012).
- [209] Worth LJ, Thursky KA, Seymour JF, Slavin MA: Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* infection in patients with hematologic malignancy: patients with acute myeloid leukemia are at high-risk. *European journal of haematology*. 79. pp. 226–233 (2007).
- [210] Yeung C-S, Cheung C-Y, Chan Y-H, Chak W-L: Risk Factors and Outcomes of Vancomycin-Resistant *Enterococcus* Colonization in Patients on Peritoneal Dialysis: A Single-Center Study in Hong Kong. *Peritoneal dialysis international : journal of the International Society for Peritoneal Dialysis*. 37. pp. 556–561 (2017).
- [211] Young HL, Ballard SA, Roffey P, Grayson ML: Direct detection of vanB2 using the Roche LightCycler vanA/B detection assay to indicate vancomycin-resistant enterococcal carriage--sensitive but not specific. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 59. pp. 809–810 (2007).
- [212] Ziakas PD, Thapa R, Rice LB, Mylonakis E: Trends and significance of VRE colonization in the ICU: a meta-analysis of published studies. *PloS one*. 8. pp. e75658 (2013).
- [213] Zirakzadeh A, Patel R: Vancomycin-resistant enterococci: colonization, infection, detection, and treatment. *Mayo Clinic proceedings*. 81. pp. 529–536 (2006).

7 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1	E. faecium Vancomycin-Resistenzraten der Jahre 2000 bis 2015.....	10
Abbildung 2	Entwicklung der regionalen Verbreitung der VRE-Rate	11
Abbildung 3	Anteil von invasiven Isolaten mit Vancomycin-Resistenz, pro Land, EU/EEA Länder ...	11
Abbildung 4	MLST-Typen von E.-faecium-Einsendungen aus Blutkulturen 2011 bis 2014	13
Abbildung 5	Gelelektrophorese: Amplifizierte Genfragmente der sieben Haushaltsgene für MLST E. faecium - adk, atpA, ddl, gdh, gyd, purK, pstS	25
Abbildung 6	Häufigkeitsverteilung der eingesandten VRE-positiven Isolate der Abteilungen des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2013 bis 2015.....	31
Abbildung 7	Häufigkeitsverteilung der VRE-positiven Probenmaterialien des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2013 bis 2015.....	32
Abbildung 8	Altersverteilung der stationär behandelten Patienten und der VRE-positiven Patienten des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2013 bis 2015 in Prozent .	33
Abbildung 9	Anteil/Quotient der VRE-positiven Patienten aller stationär behandelten Patienten des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2013 bis 2015 separiert nach Altersgruppen in Prozent	34
Abbildung 10	Häufigkeitsverteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen am Universitätsklinikum Magdeburg der Jahre 2013 bis 2015 in Prozent.....	34
Abbildung 11	Häufigkeitsverteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen in den einzelnen Fachgebieten des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2013 bis 2015 in Prozent...	35
Abbildung 12	Entwicklung der Häufigkeitsverteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen in den einzelnen Fachgebieten des Universitätsklinikums Magdeburg über die Jahre 2013 bis 2015	36
Abbildung 13	Häufigkeitsverteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen unter den verschiedenen Materialien des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2013 bis 2015 in Prozent	37
Abbildung 14	Entwicklung der Häufigkeitsverteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen der verschiedenen Materialien des Universitätsklinikums Magdeburg über die Jahre 2013 bis 2015.....	37
Abbildung 15	Häufigkeitsverteilung der MLST-Sequenztypen des Universitätsklinikums Magdeburg von 2013 bis 2015 in Prozent	38
Abbildung 16	Häufigkeitsverteilung der MLST-Sequenztypen des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2013, 2014 und 2015	39
Abbildung 17	Häufigkeitsverteilung der Glykopeptid-Resistenzgenotypen der fünf häufigsten Sequenztypen des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2013 bis 2015	40
Abbildung 18	Ausschnitt aus der auf MLST-Daten basierenden Populationsstruktur von E. faecium mit Darstellung des CC17	42
Abbildung 19	Phylogenetischer Stammbaum der 20 Sequenztypen des Universitätsklinikums Magdeburg	43
Abbildung 20	Art des VRE-Erwerbs am Universitätsklinikum Magdeburg der Jahre 2013 bis 2015 ...	44
Abbildung 21	Art des VRE-Erwerbs in den einzelnen Fachgebieten des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2013 bis 2015 in Prozent.....	45
Abbildung 22	Anteile nosokomial erworbener und mitgebrachter VRE-Isolate unter den verschiedenen Materialien des Universitätsklinikums Magdeburg in Prozent	46
Abbildung 23	Prozentuale Anteile der Patienten mit klinischer VRE-Manifestation nach vorherigen und späteren positiven Screeninguntersuchungen in den einzelnen Fachgebieten des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2014 und 2015.....	52
Abbildung 24	Häufigkeitsverteilung der klinischen VRE-positiven Probenmaterialien des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2013 bis 2015	53
Abbildung 25	Häufigkeitsverteilung der eingesandten klinischen VRE-positiven Isolate der Abteilungen des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2013 bis 2015	54
Abbildung 26	E. faecium Vancomycin-Resistenzraten der Jahre 2000 bis 2015 der Surveillance-Systeme und des UKMD.....	56

Abbildung 27	E. faecium Vancomycin-Resistenzraten der Jahre 2000 bis 2018 der Surveillance-Systeme und des UKMD.....	77
Abbildung 28	E. faecium Vancomycin-Resistenzraten der Jahre 2000 bis 2018 der Surveillance-Systeme als Deutschlanddurchschnitt und des UKMD	78

8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Vorwärtsprimer für die Amplifikation und Sequenzierung	21
Tabelle 2	Rückwärtsprimer für die Amplifikation und Sequenzierung	22
Tabelle 3	Haushaltsgene für MLST E. faecium	23
Tabelle 4	PCR-Ansatz – Mastermix für MLST E. faecium	24
Tabelle 5	Cyclerprofil zur Amplifizierung der E. faecium Haushaltsgene (GeneAmp 9700)	24
Tabelle 6	Cyclerprofil zur PCR-Reinigung (ExoSap-IT) (GeneAmp 9700)	26
Tabelle 7	Ansatz Sequenzierreaktion	27
Tabelle 8	Cyclerprofil der Sequenzierungs-PCR	27
Tabelle 9	Übersicht der VRE-positiven Patienten des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2013 bis 2015	48
Tabelle 10	Übersicht der untersuchten Isolate der VRE-positiven Patienten des Universitätsklinikums Magdeburg mit positivem Screeningresultat und klinischer Manifestation der Jahre 2014 bis 2015	48
Tabelle 11	Übersicht der Zusammensetzung der untersuchten VRE-Isolate des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2013 bis 2015	48
Tabelle 12	VRE-Raten des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2013 bis 2015	49
Tabelle 13	Übersicht der VRE-positiven Patienten des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2014 und 2015	50
Tabelle 14	Prozentuale Anteile VRE-positiver Patienten mit positiven Screeninguntersuchungen sowie klinischen Manifestationen des Universitätsklinikums Magdeburg der Jahre 2014 und 2015	50
Tabelle 15	E. faecium Resistenzraten der Antibiotika-Resistenz-Surveillance in Deutschland (ARS)	97
Tabelle 16	E. faecium Resistenzraten der Surveillance der Antibiotika-Anwendung und bakteriellen Resistenzen auf Intensivstationen - SARI – für Deutschland	97
Tabelle 17	E. faecium Resistenzraten der Resistenzstudien der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V. für Deutschland	97
Tabelle 18	E. faecium Resistenzraten des Labors Dr. Limbach und Kollegen, Heidelberg	98
Tabelle 19	E. faecium Resistenzraten des European Antimicrobial Resistance Surveillance Network - EARS-Net - für Deutschland	98
Tabelle 20	E. faecium Resistenzrate des European Antimicrobial Resistance Surveillance Network - EARS-Net - für die EU/EAA	99
Tabelle 21	E. faecium VRE-Raten am Universitätsklinikum Magdeburg	99
Tabelle 22	Allelkombinationen der 20 detektierten MLST-Sequenztypen des Universitätsklinikums Magdeburg von 2013 bis 2015	99

9 Anhang

9.1 Tabellen zu den Resistenzraten

Tabelle 15 E. faecium Resistenzraten der Antibiotika-Resistenz-Surveillance in Deutschland (ARS) - nur Blutkulturisolat (04.04.2017) [4]

Jahr	Resistenzhäufigkeit in %		
	Vancomycin	Teicoplanin	Ampicillin
2008	7,0	3,9	97,0
2009	5,8	3,0	98,2
2010	9,7	3,0	94,8
2011	14,8	6,6	96,7
2012	14,8	9,0	93,4
2013	12,9	8,3	93,5
2014	11,3	7,9	92,5
2015	12,3	9,7	93,3

Tabelle 16 E. faecium Resistenzraten der Surveillance der Antibiotika-Anwendung und bakteriellen Resistenzen auf Intensivstationen - SARI – für Deutschland (04.04.2017) [157]

Jahr	Resistenzhäufigkeit in %		
	Vancomycin	Teicoplanin	Ampicillin
2000	2,5	0,5	100
2001	2,3	0,6	93,8
2002	1,2	0,8	93,3
2003	1,2	0,5	100
2004	5,4	2,2	85,2
2005	5,4	1,5	87,1
2006	2,9	0,9	91,4
2007	3,4	2,6	94,7
2008	8,0	7,1	95,6
2009	7,1	4,1	95,0
2010	7,3	3,6	93,8
2011	11,7	5,4	95,9
2012	10,8	5,6	89,3
2013	12,8	8,3	93,7
2014	14,3	6,1	92,8
2015	13,1	5,5	91,1

Tabelle 17 E. faecium Resistenzraten der Resistenzstudien der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V. für Deutschland (04.04.2017) [83]

Jahr	Resistenzhäufigkeit in %			E. faecium-Isolate
	Vancomycin	Teicoplanin	Ampicillin	
1995	3,8	/	49	78
1998	5,1	2,6	75,6	78
2001	3,6	2,7	74,5	110
2004	13,5	/	89,1	193
2007	11,2	8,8	88	250
2010	12,6	5,0	91,7	301
2013	16,6	7,5	90,6	320

Tabelle 18 *E. faecium* Resistenzraten des Labors Dr. Limbach und Kollegen, Heidelberg (04.04.2017) [54]

Jahr	Resistenzhäufigkeit in %	
	Vancomycin	Teicoplanin
2001-1	2	1
2001-2	3	3
2002-1	2	2
2002-2	1	1
2003-1	4	1
2003-2	11	7
2004-1	13	10
2004-2	13	8
2005-1	24	14
2005-2	20	10
2006-1	20	10
2006-2	15	5
2007-1	21	10
2007-2	21	10
2008-1	20	8
2008-2	16	6
2009-1	17	5
2009-2	13	4
2010-1	18	6
2010-2	16	4
2011-1	17	3
2011-2	21	6
2012-1	22	5
2012-2	17	3
2013-1	16	4
2013-2	14	4
2014-1	13	4
2014-2	11	3

Tabelle 19 *E. faecium* Resistenzraten des European Antimicrobial Resistance Surveillance Network - EARS-Net - für Deutschland – nur invasive Isolate (04.04.2017) [37–43]

Jahr	Resistenzhäufigkeit in %		<i>E. faecium</i> -Isolate
	Vancomycin	Ampicillin	
1999	0	/	10
2000	0	/	2
2001	1,4	/	70
2002	4,2	80	71
2003	3	78	99
2004	10,6	93	198
2005	10,1	96	247
2006	8,3	94	242
2007	15,3	95	274
2008	6,3	95	175
2009	6,1	94	408
2010	8,5	94	437
2011	11,4	96	535
2012	16,2	93	647
2013	14,6	93	855
2014	9,1	92	882
2015	10,2	/	1312

Tabelle 20 *E. faecium* Resistenzrate des European Antimicrobial Resistance Surveillance Network - EARS-Net - für die EU/EAA – nur invasive Isolate (04.04.2017) [37–43]

Jahr	Resistenzhäufigkeit in %
	Vancomycin
2010	5,6
2011	6,2
2012	8,1
2013	9
2014	8,2
2015	8,3

Tabelle 21 *E. faecium* VRE-Raten am Universitätsklinikum Magdeburg (* ohne MRE-Screening)

Jahr	VRE-Rate in %
2008	3,0
2009	7,0
2010	5,0
2011	5,0
2012	5,0
2013*	7,1
2014*	19,1
2015*	13,3
2016*	13,0
2017*	12,0
2018*	14,2

9.2 Allelkombinationen

Tabelle 22 Allelkombinationen der 20 detektierten MLST-Sequenztypen des Universitätsklinikums Magdeburg von 2013 bis 2015

ST	atpA	ddl	gdh	purK	gyd	pstS	adk
17	1	1	1	1	1	1	1
18	7	1	1	1	5	1	1
64	7	1	1	1	1	1	1
78	15	1	1	1	1	1	1
80	9	1	1	1	12	1	1
117	9	1	1	1	1	1	1
192	15	1	1	1	1	7	1
202	1	1	1	1	1	7	1
203	15	1	1	1	1	20	1
233	1	1	1	1	1	20	1
262	7	1	1	1	5	7	1
280	1	3	1	1	1	1	1
375	9	3	1	1	12	1	1
551	9	3	1	1	1	1	1
612	9	1	1	1	5	1	1
780	9	1	1	1	1	7	1
811	9	1	1	12	1	1	1
1322 (MD1)	1	1	1	5	12	1	1
1323 (MD2)	9	4	1	1	1	1	1
1324 (MD3)	5	3	1	2	2	7	1

10 Danksagung

Die Danksagung ist in der Version aus Datenschutzgründen nicht enthalten.

11 Erklärung

Ich erkläre, dass ich die der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg zur Promotion eingereichte Dissertation mit dem Titel

**„Surveillance Vancomycin-resistenter Enterokokken
am Universitätsklinikum Magdeburg“**

im Institut für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene

mit Unterstützung durch Frau Dr. Färber und Herrn Prof. Dr. Geginat

ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Dissertation keine anderen als die dort aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Bei der Abfassung der Dissertation sind Rechte Dritter nicht verletzt worden.

Ich habe diese Dissertation bisher an keiner in- oder ausländischen Hochschule zur Promotion eingereicht. Ich übertrage der Medizinischen Fakultät das Recht, weitere Kopien meiner Dissertation herzustellen und zu vertreiben.

Salzbergen, den 24.11.2019

Marius Post

12 Curriculum vitae

Der Lebenslauf ist in der Version aus Datenschutzgründen nicht enthalten.