

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

**Untersuchungen zu Antibiotikaresistenzen sowie Virulenzgenen
von klinischen *Enterococcus faecium*- und *Enterococcus faecalis*-
Isolaten am Universitätsklinikum Magdeburg**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

Dr. med.

(doctor medicinae)

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

vorgelegt von

aus

Magdeburg

Stefanie Jörgens
Wippra
2013

Bibliographische Beschreibung

Jörgens, Stefanie:

Untersuchungen zu Antibiotikaresistenzen sowie Virulenzgenen von klinischen *Enterococcus faecium*- und *Enterococcus faecalis*-Isolaten am Universitätsklinikum Magdeburg. – 2013. - 95 Bl., 18 Abb., 9 Tab., 2 Anl.

Kurzreferat:

Enterokokken können eine Vielzahl von Infektionen auslösen. Diese sind ein zunehmendes Problem, da sich immer mehr Resistenzen gegenüber Antibiotika entwickeln. Vor allem das vermehrte Vorkommen von Vancomycin-Resistenzen in einigen Ländern spielt dabei eine große Rolle.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Resistenzlage und das Vorkommen einzelner Virulenzgene bei *E. faecium* und *E. faecalis* am Universitätsklinikum Magdeburg untersucht. Dabei wurden die Antibiotika Tetrazyklin, Erythromycin, Gentamicin HLR und Streptomycin HLR genauer betrachtet.

Weiterhin wurde nach einer Korrelation zwischen diesen beiden Faktoren gesucht. Es konnte für *E. faecium*-Isolate gezeigt werden, dass bei signifikant mehr resistenten Isolaten gegenüber Gentamicin HLR, Streptomycin HLR oder deren Kombination keines der Virulenzgene detektiert wurde. Für *E. faecalis*-Isolate war das Auftreten von *asa1* (gesamt) signifikant häufiger bei resistenten Isolaten nachzuweisen. Des Weiteren wurde das Profil „*gelE* + *asa1*“ signifikant häufiger bei Resistenzen gegenüber Erythromycin, Gentamicin HLR, Streptomycin HLR, sowie den Kombinationen aus Tetrazyklin + Erythromycin und Gentamicin HLR + Streptomycin HLR detektiert. Das Profil „*gelE* + *esp*“ wurde hingegen signifikant häufiger bei *E. faecalis*-Isolaten nachgewiesen, die entweder gegenüber Erythromycin oder dessen Kombination mit Tetrazyklin sensibel waren.

Schlüsselwörter:

Enterokokken, Antibiotikaresistenz, Virulenzgen

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	III
Abkürzungsverzeichnis	V
Abbildungsverzeichnis	VIII
Tabellenverzeichnis	VIII
1 Einleitung	1
1.1 Enterokokken	1
1.2 Taxonomie	1
1.3 <i>E. faecium</i> und <i>E. faecalis</i>	2
1.4 Virulenzfaktoren	4
1.5 Antibiotikaresistenz	5
1.6 Infektionen	8
2 Fragestellung und Zielsetzung	10
3 Material und Methoden	11
3.1 Geräte	11
3.2 Plastikmaterialien und Zubehör	11
3.3 kommerzielle Kits	11
3.4 Chemikalien, Enzyme, Reagenzien, Puffer und Lösungen	11
3.5 Probenmaterial	12
3.6 Phänotypische Identifizierung und Resistenztestung mittels VITEK® 2 ...	12
3.7 Grundlagen der molekularbiologischen Untersuchungen	13
3.8 DNA - Extraktion	14
3.9 Polymerasekettenreaktion (PCR)	15
3.10 Elektrophorese	16
3.11 Statistische Methodik	16
4 Ergebnisse	17
4.1 Patientenkollektiv	17
4.2 Antibiotikaresistenz	19
4.2.1 Antibiotikaresistenz in verschiedenen Kliniken	21
4.2.2 Antibiotikaresistenz nach Alter	26
4.2.3 Antibiotikaresistenz nach Geschlecht	30
4.3 Virulenzgene	30
4.3.1 <i>E. faecium</i>	31
4.3.2 <i>E. faecalis</i>	32
4.4 Zusammenhänge zwischen Antibiotikaresistenz und Virulenzgenen	33
4.4.1 <i>E. faecium</i>	35
4.4.2 <i>E. faecalis</i>	38

5 Diskussion	42
5.1 Antibiotikaresistenz	42
5.1.1 Vancomycin-resistente Enterokokken	45
5.2 Korrelation von Antibiotikaresistenz und Virulenzgenprofil	47
5.2.1 <i>E. faecium</i>	47
5.2.2 <i>E. faecalis</i>	48
5.3 Schlussfolgerung und Ausblick	49
6 Zusammenfassung	51
7 Literaturverzeichnis	52
8 Danksagung	65
9 Erklärung	66
10 Curriculum vitae	67
11 Anhang	68
11.1 SPSS-Tabellen für signifikante Unterschiede bei <i>E. faecium</i> -Isolaten....	68
11.2 SPSS-Tabellen für signifikante Unterschiede bei <i>E. faecalis</i> -Isolaten	69
11.3 Rohdaten von <i>E. faecium</i> und <i>E. faecalis</i>	78

Abkürzungsverzeichnis

µl	Mikroliter
A	Adenin
AAC(6')-I-Typ	Aminoglycosid 6'-N-Acetyltransferase Typ I
ABC-Transporter	ATP binding cassette - Transporter
AE-Puffer	Elutionspuffer
AIT	Anästhesiologie, ITS
AL-Puffer	Lysepuffer
AMP	Ampicillin
AMS	Ampicillin + Sulbactam
<i>Aqua dest.</i>	destilliertes Wasser
<i>asa1</i>	Aggregationssubstanz, Bezeichnung des Gens für Aggregationssubstanz
ATL-Puffer	Gewebelysepuffer
AUG	Augenheilkunde
AW1-, AW2-Puffer	Waschpuffer
bp	Basenpaare
bzw.	beziehungsweise
C	Cytosin
ca.	circa
CH	Chirurgie
CLI	Clindamycin
<i>cyIA</i>	Aktivator-Komponente des Cytolysins, Bezeichnung des Gens für Cytolysins A
DNA	desoxyribonucleinacid (Desoxyribonukleinsäure)
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphat
DR	diagnostische Radiologie
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>E. faecium</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
END	Endokrinologie
<i>ermB</i>	erythromycin ribosome methylation class B, Bezeichnung für Genklasse, welche Antibiotikaresistenzen vermittelt
ERY	Erythromycin
<i>esp</i>	Enterococcal Surface Protein, Bezeichnung des Gens für Enterococcal Surface Proteins
E-Test	Epsilometertest

g	Gramm
G	Guanin
<i>gelE</i>	Gelatinase, Bezeichnung des Gens für Gelatinase
GHI	Gastroenterologie
GNH	Gentamicin mit High-Level-Resistenz
GP-Identifizierungskarte	Identifizierungskarte für Gram-positive Keime
GYN	Gynäkologie
H60	Tagesklinik
HAE	Hämatologie
HAU	Dermatologie
HLR	High-Level-Resistenz
<i>hyl</i>	Hyaluronidase, Bezeichnung des Gens für Hyaluronidase
IMI	Imipenem
ITS	Intensivstation
KAR	Kardiologie
kb	Kilobasen
KISS	Krankenhaus Informations Surveillance System
LEV	Levofloxacin
LNZ	Linezolid
LSA	ABC-Transporter, verantwortlich für Resistenz gegenüber Lincosamiden und Streptogramin A
mg	Milligramm
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
MHK	minimalen Hemmkonzentration
ml	Milliliter
MOX	Moxifloxacin
NaCl	Natriumchlorid
NEP	Nephrologie
NEU	Neurologie
NIT	Nitrofurantoin
PAE	Pädiatrie
PBP	Penicillin-Bindeprotein
PCR	Polymerasekettenreaktion
PEN	Benzympenicillin
PNE	Pneumologie
PSY	Psychiatrie
<i>qnr</i>	Chinolonresistenzgen
QUD	Quinupristin/Dalfopristin

rpm	rotations per minute (Umdrehungen pro Minute)
rRNA	ribosomale Ribonukleinsäure
S	Svedberg, Sedimentationskoeffizient
IBM SPSS Statistics	Statistic Package for Social Sciences, Statistiksoftware des Unternehmens IBM
STR	Streptomycin mit High-Level-Resistenz
SRT	Strahlentherapie
SXT	Trimethoprim/Sulfamethoxazol
T	Thymin
Taq Polymerase	DNA-Polymerase aus <i>Thermus aquaticus</i>
TBE	TRIS-Borat-EDTA-Puffer
TEI	Teicoplanin
TET	Tetrazyklin
TIG	Tigecyclin
TRIS	Tris-(hydroxymethyl-)aminomethan
t-Test	Hypothesentest mit t-verteilter Testprüfgröße
u. a.	unter anderem
URO	Urologie
USA	United States of America (Vereinigte Staaten von Amerika)
UV-Licht	Ultraviolettes Licht
V	Volt, Einheit für elektrische Spannung
VAN	Vancomycin
<i>vanA</i> , <i>vanB</i> , <i>vanC</i> , <i>vanD</i> , <i>vanE</i>	verschiedene Phänotypen einer Vancomycin-Resistenz
VRE	Vancomycin-resistente Enterokokken
z.B.	zum Beispiel
ZNA	Zentrale Notaufnahme

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1.3-1 Enterokokkenkulturen.....	3
Abb. 3.8-1 Schrittreihenfolge der DNA-Extraktion mit QIAmp DNA - Mini Kit	15
Abb. 4.1-1 Häufigkeit der Materialeinsendungen mit <i>E. faecium</i> und <i>E. faecalis</i>	17
Abb. 4.2-1 <i>E. faecium</i> – Resistenzprofil.....	19
Abb. 4.2-2 <i>E. faecalis</i> – Resistenzprofil	20
Abb. 4.2-3 <i>E. faecium</i> und <i>E. faecalis</i> - Antibiotikaresistenzprofile der Kliniken.....	22
Abb. 4.2-4 <i>E. faecium</i> - Abweichung von der Gesamtresistenzrate	24
Abb. 4.2-5 <i>E. faecalis</i> - Abweichung von der Gesamtresistenzrate	25
Abb. 4.2-6 <i>E. faecium</i> (A) und <i>E. faecalis</i> (B) - vergleichende Altersverteilung der Antibiotikaresistenzen beider Spezies	28
Abb. 4.2-7 <i>E. faecium</i> – Durchschnittsalter in Abhängigkeit von der Antibiotikaresistenz.....	29
Abb. 4.2-8 <i>E. faecalis</i> – Durchschnittsalter in Abhängigkeit von der Antibiotikaresistenz.....	30
Abb. 4.3-1 repräsentative Gelabbildungen der Elektrophorese	31
Abb. 4.3-2 <i>E. faecium</i> - Einzelhäufigkeiten der Virulenzgene	31
Abb. 4.3-3 <i>E. faecalis</i> - Einzelhäufigkeiten der Virulenzgene	32
Abb. 4.4-1 <i>E. faecium</i> – Virulenzgenprofile für Tetrazyklin	36
Abb. 4.4-2 <i>E. faecium</i> – Virulenzgenprofile für Gentamicin und Streptomycin.....	37
Abb. 4.4-3 <i>E. faecalis</i> – Virulenzgenprofile für Tetrazyklin und Erythromycin	40
Abb. 4.4-4 <i>E. faecalis</i> – Virulenzgenprofile für Gentamicin und Streptomycin	41

Tabellenverzeichnis

Tab. 1.2-1 Taxonomie der Enterokokken	2
Tab. 3.7-1 PCR-Zyklus mit Einzelschritten, Inkubationstemperatur und -zeit.....	14
Tab. 3.7-2 Oligodesoxyribonukleotide zur Amplifikation der Virulenzgene.....	14
Tab. 4.2-1 <i>E. faecium</i> und <i>E. faecalis</i> – Resistenzprofil	21
Tab. 4.2-2 <i>E. faecium</i> und <i>E. faecalis</i> – Statistischer Vergleich der Durchschnittsalter	29
Tab. 4.4-1 <i>E. faecium</i> – Virulenzgenprofile mit absoluten und relativen Häufigkeiten	34
Tab. 4.4-2 <i>E. faecalis</i> – Virulenzgenprofile mit absoluten und relativen Häufigkeiten	34
Tab. 4.4-3 <i>E. faecium</i> – Virulenzgenprofile im Bezug auf Antibiotikaresistenz.....	35
Tab. 4.4-4 <i>E. faecalis</i> – Virulenzgenprofile im Bezug auf Antibiotikaresistenz	38

1 Einleitung

1.1 Enterokokken

Enterokokken sind grampositive, kokkoide, unbewegliche, fakultativ anaerobe, nicht-sporenbildende Bakterien und ordnen sich in Paaren oder kurzen Ketten an. Sie produzieren keine Katalase, können Äskulin hydrolysieren und verwerten Kohlenhydrate fermentativ. Enterokokken sind auch bei hohen Temperaturen (45°C), hohem pH (9,6) und hohen Salzkonzentrationen (6,5 % NaCl) vermehrungsfähig und resistent gegenüber Gallenflüssigkeit und Austrocknung [99, 124].

Enterokokken sind Bestandteil der Dickdarmflora von zahlreichen Säugetieren, Vögeln und Menschen. Sie sind ebenfalls im Vaginaltrakt und in der Mundhöhle des Menschen nachweisbar [140]. Deren Vorkommen in tierischen Lebensmitteln, wie z.B. in Milch- und Wurstprodukten, wurde von mehreren Arbeitsgruppen berichtet [47, 81, 133].

1.2 Taxonomie

Domäne *Bacteria*

Stamm *Firmicutes*

Klasse *Bacilli*

Ordnung *Lactobacillales*

Familie *Enterococcaceae*

Gattung *Enterococcus*

Bisher konnten insgesamt 48 Spezies differenziert werden [43]. Auf der Grundlage von Analysen der 16S rRNA-Gensequenzen wurden diese in Gruppen eingeteilt (siehe Tab. 1.2-1). Innerhalb einer Gruppe haben die Spezies ähnliche physiologische, biochemische und Wachstumseigenschaften [31, 132, 133].

Untergruppe	Spezies		
<i>E. faecium</i>	<i>E. faecium</i> <i>E. hirae</i> <i>E. villorum</i>	<i>E. canis</i> <i>E. mundtii</i> <i>E. thailandicus</i>	<i>E. durans</i> <i>E. ratti</i>
<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i> <i>E. moraviensis</i>	<i>E. caccae</i> <i>E. silesiacus</i>	<i>E. haemoperoxidus</i> <i>E. termitis</i>
<i>E. avium</i>	<i>E. avium</i> <i>E. gilvus</i>	<i>E. raffinosus</i> <i>E. malodoratus</i>	<i>E. devriesei</i> <i>E. pseudoavium</i>
<i>E. gallinarum</i>	<i>E. gallinarum</i>	<i>E. casseliflavus</i>	
<i>E. cecorum</i>	<i>E. cecorum</i>	<i>E. columbae</i>	
<i>E. italicus</i>	<i>E. italicus</i>	<i>E. camelliae</i>	
phylogenetisch verschiedene	<i>E. aquimarinus</i> <i>E. dispar</i> <i>E. phoeniculicola</i>	<i>E. asini</i> <i>E. hermanniensis</i> <i>E. saccharolyticus</i>	<i>E. canintestini</i> <i>E. pallens</i> <i>E. sulfureus</i>

Tab. 1.2-1 Taxonomie der Enterokokken
Zuordnung ausgewählter Spezies zu Untergruppen; modifiziert nach [31, 58, 132, 133]

1.3 *E. faecium* und *E. faecalis*

Zur Gattung der Enterokokken gehören zwei medizinisch relevante Spezies, *Enterococcus (E.) faecium* und *E. faecalis*. Dabei kann *E. faecalis* häufiger aus dem Verdauungstrakt isoliert werden. *E. faecium* kommt nur bei wenigen Menschen vor, was vermutlich vom Alter, von der Ernährung oder der physischen Verfassung des Organismus abhängig ist [30].

Die genetische Information liegt als zirkuläre DNA vor und umfasst bei *E. faecalis* 3000-3250 kb, bei *E. faecium* 2550-2995 kb. Enterokokken besitzen eine Vielfalt von Plasmiden und Transposons, die in den Austausch von Antibiotikaresistenzen und Virulenzfaktor-Determinanten involviert sind. So sind Pheromon-aktivierte Plasmide typisch für *E. faecalis* [133].

Der Peptidoglycan-Typ der Zellwand ist bei vielen Enterokokken, so auch bei *E. faecium*, Lysin-D-Asparagin. *E. faecalis* hingegen weist einen Lysin-Alanin₂₋₃-Typ auf. Den Hauptanteil an Fettsäuren in der Zellwand von *E. faecium* und *E. faecalis* haben Hexadecansäure, Octadecansäure und cis-11,12-Methylenoctadecansäure. Beide Spezies bilden das Gruppe-D-Antigen nach Lancefield [133].

Viele spezifische physiologische und biochemische Eigenschaften wurden für die einzelnen Enterokokken-Spezies beschrieben [133]. *E. faecalis* bildet eine Pseudokatalase auf bluthaltigen Medien, zeigt aber keine Hämolyse (siehe Abb. 1.3-1 A). Die Spezies reduziert Tetrazolium zu Formazan und bildet rote Kolonien auf Tetrazolium-haltigen Selektivagar (z. B. nach Slanetz und Bartley, siehe Abb. 1.3-1 B). *E. faecalis* wächst auch bei Anwesenheit von Natriumazid. Malat, Serin, Citrat, Pyruvat, Gluconat und Arginin werden als Energiequelle verwertet [133]. Einige *E. faecium*-Stämme zeigen eine α -Hämolyse und wachsen bei pH 9,6. Allerdings kann diese Spezies Citrat, Malat und Serin nicht verwerten, sowie Tellurit und - im Gegensatz zu *E. faecalis* -Tetrazolium nicht reduzieren [133].

Für *E. faecalis* wurde beschrieben, dass Gluconat zu 6-Phosphogluconat phosphoryliert und anschließend in Lactat und Kohlensäure gespalten wird. In aerobem, glycerolhaltigem Medium produziert *E. faecalis* hauptsächlich Acetat und Kohlensäure mit Spuren von Acetylmethylcarbinol. *E. faecium* oxidiert Glycerol zu Acetat, Kohlensäure und geringen Mengen Wasserstoffperoxid [133].

E. faecium und *E. faecalis* können Äskulin hydrolysieren und bilden Säure u. a. aus Ribose, D-Fruktose, Galaktose, D-Glukose, Laktose und Maltose [133].

Beide Spezies wachsen sowohl bei 10 °C als auch bei 45 °C und überleben eine Temperatur von 60 °C für 30 Minuten. Sie sind auch bei einer Salzkonzentration von 6,5 % NaCl kultivierbar [133].

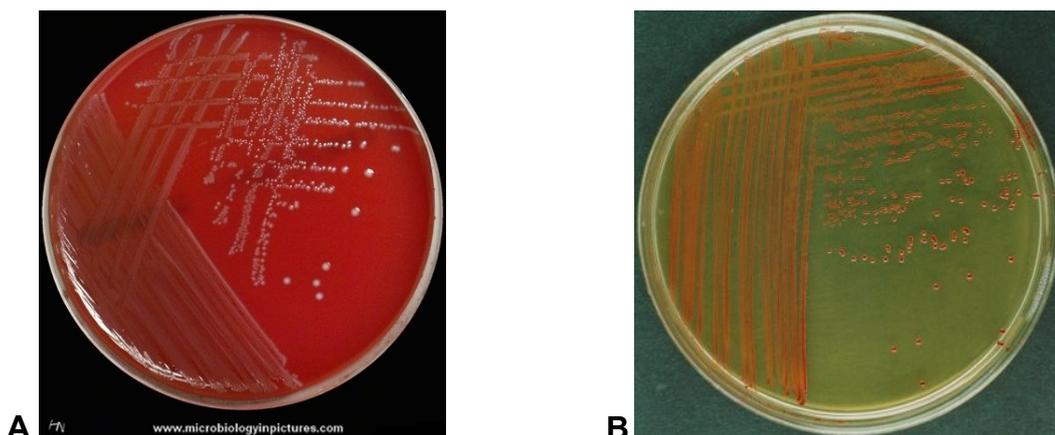


Abb. 1.3-1 Enterokokkenkulturen

- A: Enterokokkenkolonien auf Columbia-Blutagar-Platte, modifiziert nach [105]
- B: Enterokokken-Agar nach Slanetz und Bartley, rote Enterokokkenkulturen, modifiziert nach [66]

1.4 Virulenzfaktoren

Zu den verschiedenen von Enterokokken exprimierten Virulenzfaktoren gehören unter anderem Lipoteichonsäure [41], Lipase und Hämagglutinin [42]. Einige Virulenzfaktoren, deren Funktionen sehr gut charakterisiert wurden, sind die Aggregationssubstanz, Cytolysin, Gelatinase, das „Enterococcal Surface Protein“ und Hyaluronidase.

Die Aggregationssubstanz ist ein Oberflächenprotein der Enterokokken. Es dient der Zusammenlagerung der Bakterien und erleichtert so den Austausch von Plasmiden während der Konjugation [35]. Das Akzeptor-Bakterium sezerniert dabei spezifische Pheromone. Diese aktivieren Gene auf einem Plasmid des Donor-Bakteriums, welches dem Akzeptor-Bakterium fehlt. Die Aggregationssubstanz wird auf der Bakterienoberfläche exprimiert. Mit Hilfe der „Binding Substance“ kommt es zur Aneinanderlagerung der Bakterien. Diese ist auf der Oberfläche von fast allen *E. faecalis* nachzuweisen [22, 23, 50]. Des Weiteren können Enterokokken durch die Aggregationssubstanz auch an eukaryotische Zellen, wie intestinale und renale Zellen, adhären. Dabei sind Integrine auf den eukaryotischen Zellen die vermeintlichen Rezeptoren. Dies wird als Voraussetzung für Infektionen durch Enterokokken angesehen [82, 107].

Cytolysin, auch als Hämolyysin bezeichnet, scheint bei Infektionen synergistisch mit der Aggregationssubstanz zu wirken [21]. Es ist ein Protein mit zytotoxischer Aktivität gegenüber grampositiven Bakterien und eukaryotischen Zellen [24] und kann entzündliche Prozesse induzieren [64]. Für Cytolysin sind zwei Komponenten definiert; L für Lysin und A für Aktivator. Die Benennung basiert auf der Wechselwirkungskinetik der beiden Komponenten [56]. Erlangen Cytolysinempfindliche *E. faecalis* die genetische Information für die Aktivator-Komponente *cytA*, werden diese resistent gegenüber Cytolysin [121]. Des Weiteren wird die Cytolysin-Aktivität bei gleichzeitigem Vorliegen der Aktivator-Komponente in der Probe vermindert [56, 62]. Die zytolytische Aktivität geht bei Bestrahlung einiger *E. faecalis*-Stämme mit UV-Licht verloren [16].

Gelatinase ist eine Metalloendopeptidase und hydrolysiert Kollagen, Casein, Hämoglobin, humanes Endothelin und kleinere biologisch aktive Peptide [22, 64, 82, 96]. Diese Eigenschaft ermöglicht den Enterokokken den Durchtritt durch die Kolonwand [151].

Das „Enterococcal Surface Protein“ fördert zusammen mit speziellen Pili bei *E. faecalis* die Bildung von Biofilmen. Dies wurde insbesondere bei kardialen Vegetationen nachgewiesen [102, 134]. Es erhöht die Häufigkeit des Transposonaustausches und verbessert die Adhäsion an Kunststoffoberflächen [90]. Des Weiteren steigert dieses Oberflächenprotein die Persistenz von *E. faecalis* in der Blase, indem es die Adhäsion an eukaryotische Zellen wie Urothelzellen fördert [15, 123]. Es wird vermutet, dass es beim Umgehen des wirtseigenen Immunsystems hilft und eine Rolle bei der Resistenzentwicklung gegen bestimmte Antibiotika spielt [47].

Hyaluronidase lysiert Hyaluronsäure und ist bei Anwesenheit dieser induzierbar. Ebenso wird die Aktivität des Enzyms herunter reguliert, wenn das Bakterium einem Medium ohne Hyaluronsäure ausgesetzt wird. Die Aktivität kann allerdings wieder hochreguliert werden, wenn man dem Medium das Substrat zusetzt [118]. Hyaluronidase ist bei der Zerstörung von Geweben beteiligt, indem Mukopolysaccharide im intakten Gewebe depolymerisiert werden und so die Ausbreitung der Enterokokken erleichtert wird [68].

Einige Gene, die für Virulenzfaktoren von *E. faecalis* kodieren, kommen auch in klinisch weniger signifikanten *E. faecalis*-Stämmen, in Isolaten aus Nahrungsmitteln und bei gesunden Säuglingen vor. So können in diesem Zusammenhang unter anderen die Gene für Aggregationssubstanz (*asa*), Cytolysin (*cyl*), Gelatinase (*gel*) und Enterococcal Surface Protein (*esp*) nachgewiesen werden. Die Beobachtung zeigt, dass diese Gene bis jetzt nicht bekannte Funktionen bei der Kolonisation Gesunder zu haben scheinen. Das alleinige Vorhandensein dieser Virulenzgene scheint unzureichend für ein infektiöses Auftreten zu sein [3].

1.5 Antibiotikaresistenz

Für einige Antibiotika sind Resistenzen bei Enterokokken bekannt. Diese können natürlichen Ursprungs (intrinsisch) oder erworben sein. Dabei sind für *E. faecium* wesentlich mehr erworbene Resistenzen bekannt als für *E. faecalis*. Dies begünstigt deren Verbreitung unter hohem Antibiotika-Selektionsdruck [19, 75, 101].

Eine natürliche Resistenz besitzen Enterokokken gegenüber Cephalosporinen, semisynthetischen Beta-Lactamen wie Isoxazolylpenicilline und Monobactamen [99]. Des Weiteren sind sie gegen Aminoglykoside wie Gentamicin, Kanamycin und Streptomycin auf niedrigem Niveau intrinsisch resistent. Für diese wurde eine

verminderte Aufnahme durch die Bakterienzelle beschrieben. Bei *E. faecium* vermittelt ein modifiziertes Enzym, eine Acetyltransferase vom AAC(6')-I-Typ, die Resistenz gegenüber Tobramycin, Kanamycin und Netilmicin [28].

Penicilline sind gegen Enterokokken weniger aktiv als gegen die eng verwandten Streptokokken [99]. Es werden von den meisten Enterokokken-Spezies Penicillin-Bindungsproteine (PBP) mit geringerer Affinität gegenüber Penicillinen exprimiert. So entsteht auch eine Resistenz gegen weitere Beta-Lactamantibiotika [57, 99]. Nur selten wird die zusätzliche Bildung von Beta-Lactamasen beobachtet [137]. Dies erlangt bei *E. faecium* aber zunehmend an Bedeutung [116].

In vivo zeigte Trimethoprim/Sulfamethoxazol eine deutlich geringere Aktivität gegen Enterokokken als *in vitro*, da *in vivo* keine bakterizide Wirkung nachgewiesen werden konnte [99].

Fluorchinolone sind nur eingeschränkt wirksam [94], da *E. faecalis* *qnr*-verwandte Resistenzgene besitzt. Die dadurch exprimierten Proteine schützen die DNA-Gyrase vor einer Inhibition durch Chinolone [4].

E. faecalis exprimiert des Weiteren den ABC-Transporter LSA (lincosamide and streptogramin A resistance). Damit ist das Bakterium intrinsisch resistent gegenüber Lincosamiden wie Clindamycin und Streptograminen [97, 126].

Die erworbenen Resistenzen der Enterokokken weiten sich immer mehr aus. Eine erworbene Penicillinresistenz wird durch die gesteigerte Expression des PBP 5 oder dessen verminderte Affinität zu Penicillin vermittelt [45, 46, 77]. Weiterhin wurde in einigen *E. faecalis*-Isolaten die Produktion von Beta-Lactamasen beobachtet, die von *Staphylococcus aureus* stammen [152].

Im Gegensatz zu *E. faecalis* sind nosokomiale Stämme von *E. faecium* resistent gegenüber Ampicillin. Dies resultiert ebenfalls aus Veränderungen im PBP 5 [45, 67]. Die wohl bedeutendste erworbene Resistenz ist die zunehmende Unempfindlichkeit gegen Glycopeptide, da diese als wichtige Reserveantibiotika gegen multiresistente grampositive Bakterien gelten. In Frankreich und England wurden 1988 erstmals Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE) beschrieben [125, 138]. Mittlerweile werden immer häufiger VRE isoliert [19, 61, 78, 100]. Vor allem für *E. faecium*-Isolate ist eine Häufigkeitszunahme der Vancomycin-Resistenz zu verzeichnen [80, 146]. Es sind verschiedene Phänotypen des Resistenzmechanismus bekannt. Diese unterscheiden sich in ihren Transfereigenschaften, im Resistenzlevel und im Spektrum der Glykopeptide, gegen die sie den Enterokokken-Spezies Resistenz vermitteln. So zeigen Enterokokken mit dem *vanA*-Typ eine Hochresistenz

gegenüber Vancomycin und Teicoplanin, jene mit *vanB*-Typ eine Resistenz gegen variable Konzentrationen von Vancomycin, allerdings nicht gegenüber Teicoplanin [5]. Beide Typen wurden vorwiegend in *E. faecium*- und *E. faecalis*-Isolaten detektiert. Enterokokken mit *vanC*-Typ sind resistent gegen geringe Vancomycin-Konzentrationen. Diese Resistenz ist eine intrinsische Eigenschaft der Spezies *E. gallinarum*, *E. casseliflavus* und *E. flavescens* [89, 104]. Die Typen *vanD* und *vanE* kommen seltener vor. Der *vanD*-Typ vermittelt eine Resistenz gegen variable Konzentrationen von Vancomycin und Teicoplanin [112], der *vanE*-Typ gegen geringe Konzentrationen von Vancomycin. Der *vanE*-Typ konnte in *E. faecalis*-Isolaten nachgewiesen werden [44]. Der generelle Mechanismus der Vancomycin-Resistenz beruht auf dem Austausch des endständigen D-Alanins. Bei Enterokokken mit den Typen *vanA*, *vanB* und *vanD* wird dieses durch D-Lactat ersetzt, bei den Typen *vanC* und *vanE* durch D-Serin. Dadurch wird die Affinität des Antibiotikums reduziert und die Bindung Vancomycins an die Zellwandvorläufer erschwert [6, 111]. Zur Behandlung Glycopeptid-resistenter Enterokokken wurde unter anderen die semisynthetische Antibiotika-Kombination Quinupristin/Dalfopristin entwickelt. Jedoch wurden auch gegen diese Kombination schon Resistenzgene wie das *ermB*-Gencluster identifiziert [79, 136]. Weiterhin kann Linezolid als Reserveantibiotikum verwendet werden, wogegen aber ebenfalls Resistenzen bekannt sind [55]. *E. faecium* hat im Gegensatz zu *E. faecalis* eine High-Level-Resistenz (HLR) gegenüber Fluorchinolonen entwickelt. Es wurden Mutationen in den Genen, die für die DNA-Gyrase und die DNA-Topoisomerase IV exprimieren, nachgewiesen [87].

Es existiert ebenfalls eine High-Level-Resistenz gegenüber Aminoglykoside. Diese sind durch den Erwerb von modifizierenden Enzymen zu erklären. Es sind Gene für eine Aminoglykosid-Nukleotidyl-Transferase, eine Aminoglykosid-Acetyltransferase und eine Aminoglykosid-Phosphotransferase in der Literatur beschrieben. Darüber hinaus wird durch ein Fusionsprotein mit 2'-Aminoglykosid-Phosphatase und 6'-Aminoglykosid-Acetyltransferase-Aktivität eine High-Level-Resistenz gegenüber weiteren Aminoglykosiden außer Streptomycin vermittelt. Dieses Antibiotikum kann durch eine Aminoglykosid-Nucleotidyl-Transferase enzymatisch verändert sein oder die Unempfindlichkeit basiert auf einer ribosomalen Resistenz der Bakterienzelle [53, 110].

Andere erworbene Hochresistenzen sind für Makrolide, Lincosamide, Tetrazyklin und Chloramphenicol bekannt. Chromosomale Mutationen können die Resistenz gegen Rifampicin und Fusidinsäure bedingen [52, 79].

1.6 Infektionen

Enterokokken können eine Vielzahl von Infektionskrankheiten auslösen. Verglichen mit *E. faecium* gilt *E. faecalis* in Studien als die höher virulente Spezies. *E. faecalis* ist ursächlich für 80 % bis 90 % aller Enterokokken-Infektionen, *E. faecium* für 10 % bis 20 %. Die anderen Spezies (siehe Tab. 1.2-1) sind beim Menschen nur selten Auslöser einer Infektion [98, 99, 119].

Enterokokken, meist *E. faecalis*, sind in 5 bis 15 % der Fälle Erreger einer Endokarditis [69]. Die Infektion geht häufig vom Urogenitaltrakt aus [95]. Es sind oft ältere Männer mit Erkrankungen der Prostata oder jüngere Frauen mit Schwangerschafts-assoziierten Beschwerden betroffen [69]. Die zugrundeliegenden Harnwegsinfekte sind dabei oft asymptomatisch [60] und häufig mit der Anwendung von Kathetern verbunden [99].

Des Weiteren werden Enterokokken bei bakterieller Meningitis nachgewiesen [113] und gelten als Erreger von Wundinfektionen und intraabdominellen Infektionen [99].

Da die Bakterien auf Kunststoffoberflächen von Kathetern adhären können, sind sie mögliche Erreger einer Sepsis bei liegendem zentralen Venenkatheter oder einer Ventrikulitis bei einem ventrikuloperitonealen Shunt [9, 20, 33, 99, 120]. Weichgewebsinfektionen [60], Infektionen der Nasennebenhöhlen [34], der Augen [130] und des Parodontalgewebes [54] sind selten durch Enterokokken verursacht.

Als sekundäre Infektionen sind eine Cholecystitis oder Pyelonephritis möglich [93, 148].

Oft ist bei Infektionen durch Enterokokken der Abwehrmechanismus des Wirts durch andere Erkrankungen geschwächt [99, 142]. Eine Enterokokkensepsis wird durch Splenektomie [128], hämorrhagischen Schock [8], Hypoxie der Darmzellen [144], Immunsuppression [10, 142] oder Veränderung der gastrointestinalen Mikroflora [11, 12] begünstigt, da dabei das Risiko für die Translokation der Bakterien erhöht wird. Außerdem gelten maschinelle Beatmung, ein liegender Blasenkatheter [17], Verbrennungen [92], chirurgische Eingriffe, lange Krankenhausaufenthalte und parenterale Ernährung als Risikofaktoren. Die Enterokokken werden z.B. über die Darmepithelzellen oder intraepitheliale Makrophagen aufgenommen und gelangen in

die Lymphknoten. Dort können sie sich vermehren und später über die Lymphgefäße in die Blutbahn gelangen [140, 143].

Enterokokken-Bakteriämien verlaufen zu 33 – 68 % tödlich. Sind die Isolate Vancomycin-resistent (VRE), wird eine Letalität zwischen 17 % und 100 % vermutet [39]. Werden Grunderkrankungen und andere Faktoren mit berücksichtigt, liegt die Letalität der Sepsis bei 31 %; für VRE bei 37 % [40, 85].

Als Erreger nosokomialer Infektionen erlangen Enterokokken zunehmend an Bedeutung [86, 135]. Enterokokken sind die zweithäufigsten Erreger nosokomialer Harnwegsinfekte [29]. Zwischen 1989 und 1998 wurden Informationen im amerikanischen „National Nosocomial Infections Surveillance System“ gesammelt. Diese zeigen, dass Enterokokken zu den häufigsten Erregern postoperativer Wundinfektionen auf Intensivstationen gehören. Des Weiteren zählen sie zu den drei häufigsten Isolaten bei Intensivpatienten, die aus Blutkulturen und bei Harnwegsinfekten nachgewiesen werden konnten [48].

Im „Krankenhaus Informations Surveillance System“ (KISS) wurden von 1997 bis 1999 entsprechende Daten über nosokomiale Erreger in deutschen Krankenhäusern erhoben. Diese belegen, dass 10 % der nosokomialen Infektionen durch Enterokokken verursacht wurden. Am häufigsten waren diese Auslöser von Harnwegsinfekten (23 %) und Katheter-assoziiertes Sepsis (12 %) [129]. Neuere Daten von 2007 bis 2011 belegten eine Beteiligung von 16,4 % an chirurgischen Wundinfektionen. Betrachtete man nur abdominalchirurgische Patienten, stieg der Anteil auf 25,5 %. Enterokokken als einziges Isolat wurden bei 10,9 % der Katheter-assoziierten Harnwegsinfekte und bei 12,9 % Katheter-assoziiertes Sepsis nachgewiesen. In Kombination mit anderen Erregern stieg die Nachweisrate auf 27,9 % der Harnwegsinfekte und 17,4 % der Katheter-assoziiertes Sepsis. Im Vergleich zu den gesammelten Daten aus den Vorjahren stiegen oben genannte Infektionsraten mit Enterokokken somit gering an [103].

2 Fragestellung und Zielsetzung

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Untersuchung der Antibiotikaresistenz sowie die Detektion von Virulenzgenen klinischer *E. faecium*- und *E. faecalis*-Isolate. Es wurden Isolate aus Urinproben unterschiedlicher Patienten des Universitätsklinikums Magdeburg analysiert.

Die phänotypische Antibiotikaresistenz wurde routinemäßig untersucht. Daraus konnte die derzeitige Resistenzlage ermittelt werden. Es wurden Unterschiede im Resistenzprofil verschiedener Altersgruppen und im Bezug auf das Geschlecht analysiert.

Des Weiteren wurden alle Isolate auf das Vorhandensein der Virulenzgene für die Aggregationssubstanz, Cytolysin, Gelatinase, Enterococcal Surface Protein und Hyaluronidase untersucht.

Die Fragestellung der Arbeit beschäftigt sich mit den Zusammenhängen zwischen Resistenzmerkmalen und dem Vorkommen der oben genannten Virulenzgene. Dabei wurden insbesondere die Antibiotika Tetrazyklin, Erythromycin, Gentamicin und Streptomycin näher betrachtet.

3 Material und Methoden

3.1 Geräte

Drucker „Copy Processor P91D“	Mitsubishi Electronic Europe B.V., Ratingen, Deutschland
Elektrophoresekammer	BioRad, München, Deutschland
PCR-Cycler (Tetrad PTC-225 Thermo Cycler)	MJ Research Inc., St. Bruno, Kanada
Reagenzglasschüttler REAX top	Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Schwabach, Deutschland
Spannungsgerät (Electrophoresis Power Supply PHERO-stab 500)	BIOTEC FISCHER GmbH, Reiskirchen, Deutschland
Sterilwerkbank (HERAguard)	Heraeus Holding GmbH, Hanau, Deutschland
Thermomixer® comfort	Eppendorf AG, Hamburg Deutschland
UV-Transilluminator (Gel Logic 100 Imaging System)	Kodak GmbH, Stuttgart, Deutschland
VITEK® 2	bioMérieux, Marcy-l’Etoile, Frankreich
Zentrifuge (Multifuge 1 S-R)	Heraeus Holding GmbH, Hanau, Deutschland

3.2 Plastikmaterialien und Zubehör

Pipetten (Eppendorf Research)	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Pipettenspitzen (MultiGuard Barrier Tips)	Sorenson BioScience, Salt Lake City, Utah
Safe Lock Reaktionsgefäße	Eppendorf AG, Hamburg Deutschland

3.3 kommerzielle Kits

QIAmp DNA - Mini Kit	Qiagen, Hilden, Deutschland
Taq DNA Polymerase Kit	Qiagen, Hilden, Deutschland

3.4 Chemikalien, Enzyme, Reagenzien, Puffer und Lösungen

Agarose (Biozym LE Agarose)	Biozym Scientific GmbH, Hessisch Oldendorf, Deutschland
DNA Loading Dye	Fermentas GmbH, St. Leon-Rot, Deutschland
GeneRuler™ 100bp Plus DNA Ladder	Fermentas GmbH, St. Leon-Rot, Deutschland

dNTP	Roche Deutschland Holding GmbH, Grenzach-Wyhlen
Ethidiumbromid	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Lysozym	Sigma, Taufkirchen, Deutschland
Proteinase K	Roche Deutschland Holding GmbH, Grenzach-Wyhlen
Primer	Eurofins MWG Operon, Ebersberg, Deutschland
TRIS-Borat-EDTA-Puffer (TBE)	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
- 100mM Tris-Base (Ultra)	
- 100mM Borsäure	
- 2,5mM EDTA	

3.5 Probenmaterial

Untersucht wurden Enterokokken aus Urinkulturen von Patienten verschiedener Stationen des Universitätsklinikums Magdeburg. Diese wurden aus Mittelstrahlurin, Katheterurin und Urin perkutaner Nephrostomie gewonnen. Die Proben wurden zwischen März und September 2010 gesammelt. Dabei stammt jede einzelne Probe von unterschiedlichen Patienten. Alle personenbezogenen Daten wurden gemäß den Datenschutzbestimmungen des Universitätsklinikums und der Medizinischen Fakultät behandelt und zur statistischen Auswertung anonymisiert.

Der Urin wurde für die quantitative Analyse mit einer kalibrierten Öse (1 µl) aus dem Urinröhrchen entnommen und auf einer Columbia-Blutagar-Platte ausgestrichen. Die Platte wurde für 16-24 Stunden bei $36 \pm 1^\circ\text{C}$ inkubiert. Nun konnte die Keimzahl bestimmt und die gewachsenen Kulturen weiter analysiert werden.

3.6 Phänotypische Identifizierung und Resistenztestung mittels VITEK[®] 2

Das VITEK[®] 2-System (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Frankreich) diente der automatischen Identifizierung der Bakterien. Mit den GP-Identifizierungskarten können grampositive Bakterien bestimmt werden. Für die Identifizierung der Enterokokken wurden GPS-544-Karten eingesetzt. Die Bestimmung basiert auf etablierten biochemischen Methoden und beinhaltet 43 verschiedene biochemische Tests, die unter anderem die Verwertung von Kohlenstoff, enzymatische Aktivitäten und Resistenzen bestimmen.

Die Messungen werden mit einer Datenbank abgeglichen, die Spezies-typische Reaktionen auf eine Auswahl biochemischer Substrate enthält. Anhand des erstellten Reaktionsprofils gibt eine prozentuale Wahrscheinlichkeit an, wie gut die ermittelten Reaktionen mit den erwarteten, typischen Reaktionen der einzelnen Keime übereinstimmen.

Zur Verarbeitung wurden von einer Primärplatte isolierte Kolonien einer Reinkultur abgenommen. Die Bakterien wurden in 3,0 ml sterile Kochsalzlösung (0,45 % bis 0,50 % NaCl, pH 4,5 bis 7,0) gegeben und eine homogene Keimsuspension wurde hergestellt. Entsprechend der Dichte der Suspension dem McFarland-Standard 0,50 bis 0,63, konnte sie dem Identifizierungsprozess mittels VITEK[®] 2-System unterzogen werden.

Mittels VITEK[®] 2-Resistenzkarte (AST-P534-Karte) wurde die Empfindlichkeit der Enterokokken für ausgewählte Antibiotika bestimmt. Die automatische Testmethode basierte auf der Technik der minimalen Hemmkonzentration (MHK) nach DIN-Norm [51, 91]. Auf jeder Karte befanden sich neben einer Wachstumskontrolle genau abgemessene Mengen spezifischer Antibiotika und Kulturmedium. Die Keimsuspension wurde wie zur Identifizierung oben beschrieben aufgearbeitet und bis zu 18 Stunden inkubiert. Währenddessen verglich das System das Wachstumsprofil der einzelnen Kolonien in Abhängigkeit vom Antibiotikum mit dem Wachstum der Wachstumskontrolle. Am Ende der Inkubationszeit wurden die MHK-Werte für jedes auf der Karte enthaltene Antibiotikum ermittelt.

Beim Nachweis einer Vancomycin-Resistenz wurde diese mittels E-Test phänotypisch bestätigt. Dazu wurde in der Enterokokkenkultur die MHK mit Hilfe eines Vancomycin-Gradienten auf einem Papierteststreifen ermittelt.

3.7 Grundlagen der molekularbiologischen Untersuchungen

Um die Enterokokken auf das Vorhandensein der Virulenzgene zu untersuchen, wurde eine Polymerasekettenreaktion nach folgendem Schema durchgeführt (siehe Tab. 3.7-1).

Im Verfahren der Multiplex-PCR konnten mehrere DNA- Sequenzen nebeneinander amplifiziert werden.

Im Anschluss wurden die DNA-Fragmente in einer Gelelektrophorese nach ihrer Größe getrennt. Da die DNA aufgrund der negativen Ladung der Phosphatreste ein Polyanion ist, wandert sie im elektrischen Feld zur Anode. Dabei wandern die

kleineren Fragmente schneller und sind nach 20 Minuten bei 180 V näher an der Anode lokalisiert als die größeren Fragmente.

initiales Denaturieren	95°C	15 min	
Denaturieren	94°C	1 min	} 30x
Annealing	56°C	1 min	
Elongation	72°C	1 min	
finale Elongation	72°C	10 min	
Kühlen	4°C	∞	

Tab. 3.7-1 PCR-Zyklus mit Einzelschritten, Inkubationstemperatur und –zeit [139]

Gen	Produktgröße (bp)	Primer-Sequenz (5' → 3')	Referenz
<i>asa1</i>	375	GCACGCTATTACGAACTATGA TAAGAAAGAACATCACCACGA	[49, 139]
<i>cylA</i>	688	ACTCGGGGATTGATAGGC GCTGCTAAAGCTGCGCTT	[25, 139]
<i>gelE</i>	213	TATGACAATGCTTTTTGGGAT AGATGCACCCGAAATAATATA	[131, 139]
<i>esp</i>	510	AATTGATTCTTTAGCATCTGG AGATTTTCATCTTTGATTCTTGG	[139, 149]
<i>hyl</i>	276	GACTGACGTCCAAGTTTCCAA ACAGAAGAGCTGCAGGAAATG	[117, 139]

Tab. 3.7-2 Oligodesoxyribonukleotide zur Amplifikation der Virulenzgene
asa1-Aggregationssubstanz; *cylA*-Aktivator-Komponente des Cytolysins;
esp-Enterococcal Surface Protein; *gelE*-Gelatinase; *hyl*-Hyaluronidase
 A-Adenin, C-Cytosin, G-Guanin, T-Thymin

3.8 DNA - Extraktion

Die Bakterienkulturen wurden mit Hilfe eines QIAmp DNA - Mini Kits (Qiagen, Hilden, Deutschland) aufgearbeitet, um die DNA zu extrahieren (siehe Abb. 3.8-1).

Dazu wurden einige Kolonien einer Kulturplatte mit 160 µl ATL-Puffer und 20 µl Lysozym in einer Konzentration von 100 mg/ml resuspendiert. Nach dem Durchmischen mittels Reagenzglasschüttler wurde der Ansatz 30 Minuten bei 37°C inkubiert. Nun wurden 20 µl Proteinase K und 200 µl Lysepuffer (AL-Puffer)

zugegeben, erneut durchmischt, nochmals 30 Minuten bei 70°C und weitere 15 Minuten bei 95°C inkubiert. Nach Zugabe von 200 µl 100 %-igem Ethanol zum Ausfällen und nochmaligem Mixen wurde der Ansatz auf eine Zentrifugensäule „QIAamp Mini Spin Column“ gegeben und bei 8000 rotations per minute (rpm) eine Minute zentrifugiert. Nun wurden nach Abkippen des Überstandes 500 µl des ersten Waschpuffers AW1 hinzugegeben und eine Minute bei 8000 rpm zentrifugiert. Nach Abkippen des Überstandes und Zugabe von 500 µl des zweiten Waschpuffers AW2 wurde der Ansatz nochmals 10 Minuten bei 14000 rpm zentrifugiert. Der Filter mit dem Rest des Ansatzes, der die DNA enthält, wurde nun in ein 1,5 ml - Eppendorf-Gefäß gestellt, 100 µl Elutionspuffer AE hinzugegeben und eine Minute bei Raumtemperatur belassen, bevor nochmals eine Minute bei 8000 rpm zentrifugiert wurde. Somit wurde die DNA in das Eppendorf-Gefäß überführt und konnte weiterverarbeitet oder bei -80°C gelagert werden.

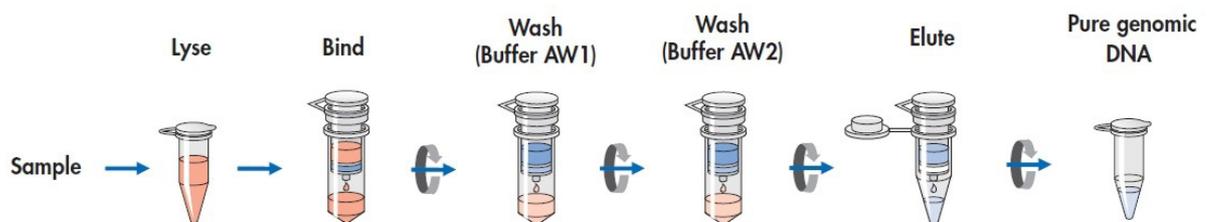


Abb. 3.8-1 Schrittreihenfolge der DNA-Extraktion mit QIAamp DNA - Mini Kit modifiziert nach [114]

3.9 Polymerasekettenreaktion (PCR)

Aus jeder Probe wurden mittels Multiplex-PCR [139] die codierenden Regionen, falls vorhanden, der zu untersuchenden Virulenzfaktoren amplifiziert (Taq DNA Polymerase Kit, Qiagen). Zu 5 µl 10x Puffer wurden 1,5 µl MgCl₂, je 0,5 µl der Primer (Eurofins MWG Operon, Ebersberg, Deutschland; siehe Tab. 3.7-2), 3 µl dNTP (Roche Deutschland Holding GmbH, Grenzach-Wyhlen), 30,25 µl *Aqua dest.* und 0,25 µl HotStar Taq-Polymerase zugegeben. Nach Durchmischen wurden 5 µl DNA der zu untersuchenden Probe hinzugegeben und nochmals gemischt. Anschließend wurde der Ansatz für 15 Minuten bei 95°C im PCR-Cycler (Tetrad PTC-225 Thermo Cycler, MJ Research Inc., St. Bruno, Kanada) inkubiert. Weiter wurde je eine Minute bei 94°C, 56°C und 72°C inkubiert. Die letzten drei Schritte wurden 30-mal wiederholt, bevor letztlich 10 Minuten bei 72°C inkubiert wurde. Dann

wurde die Temperatur auf 4°C abgesenkt, bis die Probe zur Weiterverarbeitung entnommen wurde (siehe Tab. 3.7-1).

3.10 Elektrophorese

Für die Elektrophorese wurde ein Agarosegel (1,5 %) hergestellt. Es wurden 6 g Agarosepulver mit 400 ml 1x TRIS-Borat-EDTA-Puffer (TBE) angesetzt und in der Mikrowelle erwärmt, bis sich das Pulver komplett löste. Dann wurden 25 µl Ethidiumbromid hinzu pipettiert. Der Ansatz wurde vermischt und in einem 70°C heißem Wasserbad flüssig gehalten. Zur Verwendung wurde diese Flüssigkeit in eine spezielle Form gegossen, mit einem Kamm als Platzhalter für die Geltaschen versehen und polymerisierte durch Abkühlung auf Raumtemperatur. Das entstandene Gel wurde in eine Elektrophoresekammer gelegt, welche mit TBE aufgefüllt wurde.

In die erste Tasche des Gels wurden 5 µl DNA Ladder (Fermentas GmbH, St. Leon-Rot, Deutschland) gegeben, welcher als Maßstab für die Basenlänge der amplifizierten DNA-Fragmente diente.

Je 6 µl des PCR-Produktes, welches die amplifizierten DNA-Sequenzen enthält, wurden mit 4 µl Loading Dye (Fermentas GmbH) vermischt und in die restlichen Taschen des Agarosegels gegeben.

Die Elektrophorese wurde 20 Minuten bei 180 V durchgeführt. Nach Ablauf des Vorgangs wurde von dem Gel unter UV-Beleuchtung ein Bild angefertigt.

Die Intensitätssteigerung der Ethidiumbromid-Fluoreszenz nach DNA-Interkalation wurde ausgenutzt, um die Banden unter UV-Licht sichtbar zu machen.

3.11 Statistische Methodik

Die statistische Auswertung der Ergebnisse wurde mittels IBM SPSS Statistics 19 vorgenommen. Es wurden die Korrelationen von Antibiotikaresistenz und Virulenzgenvorkommen mittels Chi-Quadrat (χ^2)-Tests verglichen. Des Weiteren wurden die Durchschnittsalter der Patienten mit resistenten und sensiblen Isolaten mittels t-Test verglichen.

4 Ergebnisse

4.1 Patientenkollektiv

Es wurden Urinproben von 240 Patienten untersucht, in denen *E. faecium* oder *E. faecalis* nachweisbar waren. Diese wurden von verschiedenen Stationen des Universitätsklinikums Magdeburg zur mikrobiologischen Diagnostik eingesandt (siehe Abb. 4.1-1A).

Die zu einer Klinik gehörenden Stationen wurden im Folgenden zusammengefasst.

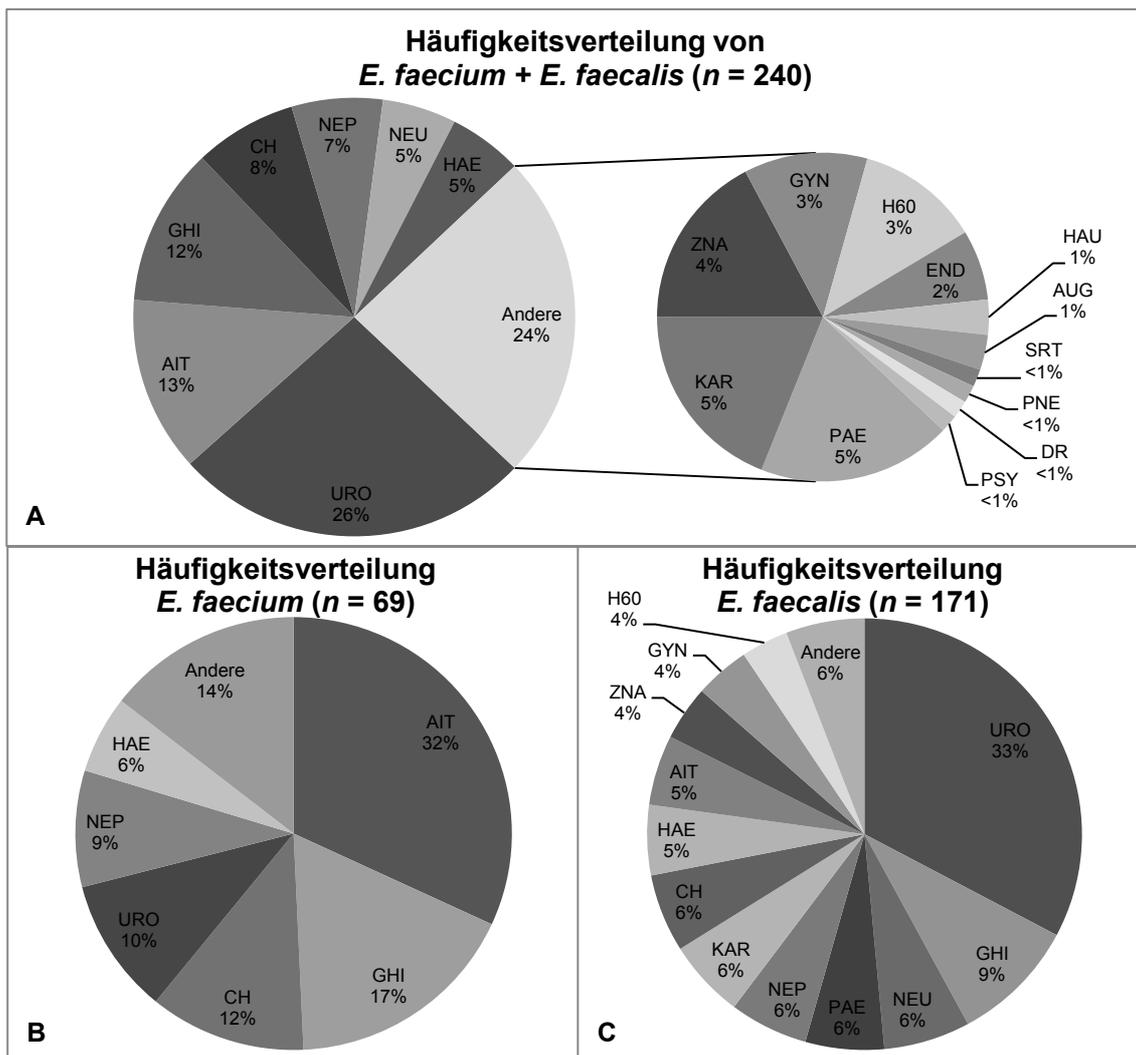


Abb. 4.1-1 Häufigkeit der Materialeinsendungen mit *E. faecium* und *E. faecalis* von verschiedenen Stationen des Universitätsklinikums Magdeburg; unterteilt in Gesamtmaterial (A) und getrennt nach Spezies (B und C); als „Andere“ wurden Stationen zusammengefasst, von denen weniger als 10 (A) bzw. weniger als 4 (B und C) Isolate vorlagen; AIT-Anästhesiologie/ITS; AUG-Augenheilkunde; CH-Chirurgie; DR-Radiologie; END-Endokrinologie; GHI-Gastroenterologie; GYN-Gynäkologie; H60-Tagesklinik; HAE-Hämatologie; HAU-Dermatologie; KAR-Kardiologie; NEP-Nephrologie; NEU-Neurologie; PAE-Pädiatrie; PNE-Pneumologie; PSY-Psychiatrie; SRT-Strahlentherapie; URO-Urologie; ZNA-Zentrale Notaufnahme

Der größte Anteil an Isolaten stammte aus der Klinik für Urologie (26 %). Isolate der anästhesiologischen ITS machten 13 % an der Gesamtanzahl aus; die der Gastroenterologie 12 %. Alle anderen Kliniken trugen jeweils weniger als 10 % bei. Die Einsendehäufigkeit unterschied sich für *E. faecium* und *E. faecalis* (siehe Abb. 4.1-1 B und C).

Die *E. faecium*-Isolate der Patienten der anästhesiologischen ITS betragen 1/3 aller *E. faecium*-Isolate. Die Proben der Patienten aus den Kliniken für Gastroenterologie (17 %), Chirurgie (12 %), Urologie (10 %), Nephrologie (9 %) und Hämatologie (6 %) machten zusammen die Hälfte der identifizierten *E. faecium*- Isolate aus. Der fehlende Anteil von 14 % setzte sich aus Proben aus anderen Kliniken zusammen (siehe Abb. 4.1-1B).

E. faecalis wurde am häufigsten in Proben von urologischen Patienten nachgewiesen. Sie betragen 1/3 aller *E. faecalis*-Isolate. Die klinischen Proben mit *E. faecalis*-Isolaten aus allen anderen Kliniken machten jeweils weniger als 10 % aus (siehe Abb. 4.1-1 C).

Das Patientenkollektiv wurde in Altersgruppen unterteilt, um zwischen diesen vergleichen zu können und eine Abhängigkeit des Auftretens von Antibiotikaresistenzen vom Alter zu erfassen. Die insgesamt fünf Altersgruppen umfassten Patienten von 0 bis einschließlich 18 Jahren, 19- bis 50-Jährige, 51- bis 65-Jährige, 66- bis 79-Jährige und über 79-Jährige.

Dabei fiel die Gruppe der bis 18-Jährigen für *E. faecium* ($n = 1$) und *E. faecalis* ($n = 10$) aus der Betrachtung, da die Stichproben zu klein waren. In der Gruppe der 19- bis 50-Jährigen konnte nur einmal *E. faecium*, aber 26-mal *E. faecalis* nachgewiesen werden. Aus diesem Grund fiel für *E. faecium* diese Gruppe ebenfalls aus der Betrachtung. In den übrigen Altersgruppen konnte annähernd jeweils doppelt so häufig *E. faecalis*- wie *E. faecium*-Isolate detektiert werden. Die meisten Patienten waren der Altersgruppe zwischen 66 und 79 Jahren zuzuordnen.

Die untersuchten Proben stammten von insgesamt 123 männlichen und 117 weiblichen Patienten. Bei den Proben, in denen *E. faecium* nachgewiesen wurde, waren doppelt so viele weibliche ($n = 45$) wie männliche Patienten ($n = 24$) zu verzeichnen. Weiterhin fiel auf, dass *E. faecalis*-Isolate im Alter zwischen 20 und 30 Jahren ($n = 12$) fast ausschließlich bei weiblichen Patienten ($n = 10$) nachgewiesen wurden. Insgesamt wurde *E. faecalis* bei 99 männlichen und 72 weiblichen Patienten

detektiert. In den restlichen Altersgruppen war die Verteilung von männlichen und weiblichen Patienten relativ ausgeglichen.

4.2 Antibiotikaresistenz

Die Antibiotikaresistenz der 69 untersuchten *E. faecium*- Isolate (siehe Abb. 4.2-1) wies ein anderes Resistenzprofil verglichen mit den 171 getesteten *E. faecalis*-Isolaten auf (siehe Abb. 4.2-2). Insgesamt wurden bei *E. faecium* phänotypisch mehr Resistenzen nachgewiesen als bei *E. faecalis*. Für einige Antibiotika wurde eine intermediäre Resistenz ermittelt. Die MHK lag dabei zwischen den Grenzwerten, die eine eindeutige Sensibilität bzw. Resistenz definieren.

Da *E. faecium* eine intrinsische Resistenz gegenüber Imipenem [108] und *E. faecalis* gegenüber Quinupristin/Dalfopristin [79] aufweist, sind diese Antibiotika in den Diagrammen bei den jeweiligen Isolaten nicht aufgeführt.

Beide Spezies zeigten hohe Resistenzraten gegenüber Penicillin, Clindamycin und Trimethoprim/Sulfamethoxazol. Gegenüber Linezolid und Teicoplanin war sowohl bei *E. faecium*- als auch bei *E. faecalis*-Isolaten nur eine geringe Resistenzrate (<5 %) zu verzeichnen; gegenüber Tigecyclin wurde keine Resistenz nachgewiesen.

E. faecium-Isolate wiesen hohe Resistenzraten gegenüber Ampicillin +/- Sulbactam, Levofloxacin und Moxifloxacin auf. Die *E. faecalis*-Isolate waren sensibel gegenüber Ampicillin +/- Sulbactam und nur ca. die Hälfte der Isolate waren resistent gegenüber Levofloxacin und Moxifloxacin.

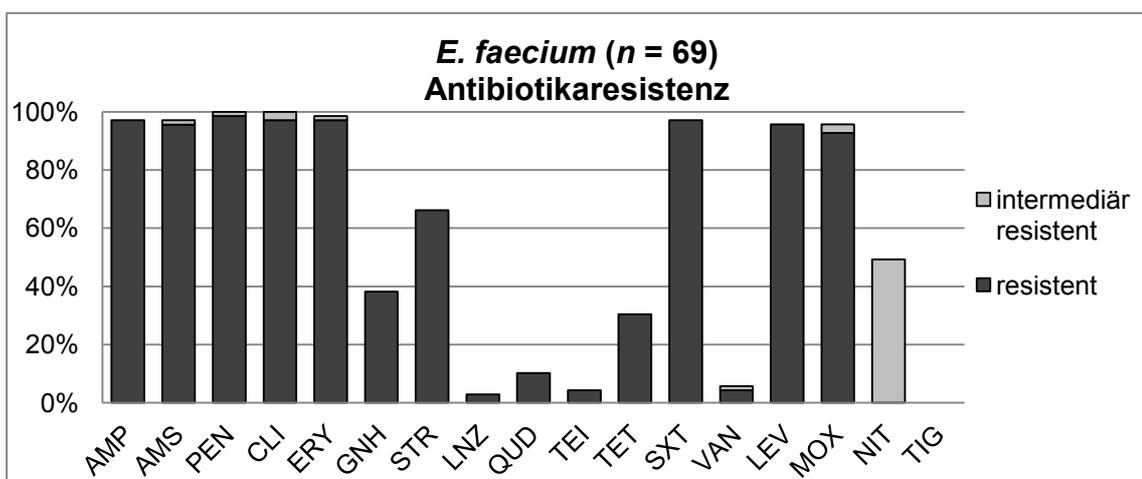


Abb. 4.2-1 *E. faecium* – Resistenzprofil
 AMP-Ampicillin; AMS-Ampicillin / Sulbactam; PEN-Benzylpenicillin; CLI-Clindamycin;
 ERY-Erythromycin; GNH-Gentamicin HLR; STR-Streptomycin HLR; LNZ-Linezolid;
 QUD-Quinupristin/Dalfopristin; TEI-Teicoplanin; TET-Tetrazyklin; SXT-Trimethoprim/
 Sulfamethoxazol; VAN-Vancomycin; LEV-Levofloxacin; MOX-Moxifloxacin;
 NIT-Nitrofurantoin; TIG-Tigecyclin

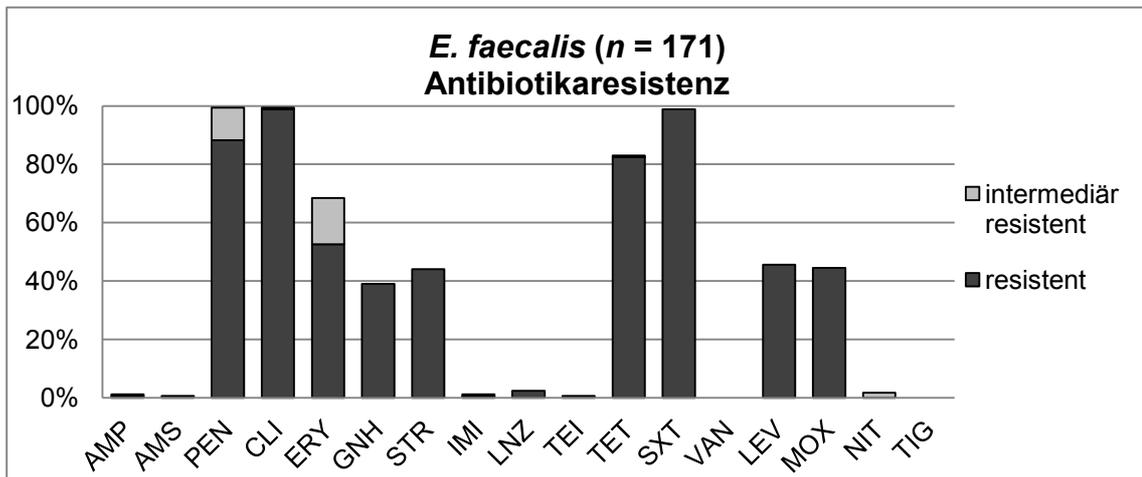


Abb. 4.2-2 *E. faecalis* – Resistenzprofil

AMP-Ampicillin; AMS-Ampicillin / Sulbactam; PEN-Benzylpenicillin; CLI-Clindamycin; ERY-Erythromycin; GNH-Gentamicin HLR; STR-Streptomycin HLR; IMI-Imipenem; LNZ-Linezolid; TEI-Teicoplanin; TET-Tetrazyklin; SXT-Trimethoprim/Sulfamethoxazol; VAN-Vancomycin; LEV-Levofloxacin; MOX-Moxifloxacin; NIT-Nitrofurantoin; TIG-Tigecyclin

Gegen Nitrofurantoin wurde bei beiden Spezies nur eine intermediäre Resistenz ermittelt, welche bei *E. faecium* 49,3 % der Isolate umfasste, bei *E. faecalis* hingegen nur 1,8 %.

Vancomycin-resistente Isolate wurden nur bei *E. faecium* detektiert. Allerdings waren bei 69 getesteten *E. faecium*-Isolaten nur drei VRE und ein Isolat mit intermediärem Ergebnis zu verzeichnen.

Besonderes Augenmerk wurde auf die Antibiotika Tetrazyklin, Erythromycin, Gentamicin mit High-Level-Resistenz (HLR) und Streptomycin HLR gelegt.

Gegenüber Tetrazyklin zeigten 30,4 % der getesteten *E. faecium*-Isolate und 82,5 % der *E. faecalis*-Isolate eine Resistenz. Bei Erythromycin drehte sich das Verhältnis um. Es waren 97,1 % der *E. faecium*- und 52,6 % der *E. faecalis*-Isolate Erythromycin-resistent und 15,8 % der *E. faecalis*-Isolate waren intermediär resistent.

Die HLR gegenüber Gentamicin war mit 38,2 % für *E. faecium*- und 39,0 % für *E. faecalis*-Isolate vergleichbar. Dagegen zeigten 66,2 % der *E. faecium*- und 44,0 % der *E. faecalis*-Isolate eine HLR gegenüber Streptomycin (siehe Tab. 4.2-1).

	TET	ERY	GNH	STR
<i>E. faecium</i>				
resistent	30,4 %	97,1 %	38,2 %	66,2 %
intermediär resistent	-	-	-	-
<i>E. faecalis</i>				
resistent	82,5 %	52,6 %	39,0 %	44,0 %
intermediär resistent	-	15,8 %	-	-

Tab. 4.2-1 *E. faecium* und *E. faecalis* – Resistenzprofil
TET-Tetrazyklin, ERY-Erythromycin, GNH-Gentamicin HLR, STR-Streptomycin HLR

4.2.1 Antibiotikaresistenz in verschiedenen Kliniken

Für Tetrazyklin, Erythromycin, Gentamicin HLR und Streptomycin HLR zeigte sich für beide Spezies bezogen auf die einzelnen Kliniken (siehe Abb. 4.2-3) ein ähnliches Resistenzprofil, wie für das Gesamtkollektiv (siehe Tab. 4.2-1).

Es wurden nur Kliniken betrachtet und in den Diagrammen dargestellt, von denen mindestens vier Patientenisolat vorlagen.

Die Tetrazyklin-Resistenzrate der *E. faecium*-Isolate lag bei 30 %. Für Isolate aus der Klinik für Hämatologie war sie jedoch höher (50 %). Bei *E. faecalis*-Isolaten betrug die Resistenz meist etwa 80 %. Abweichungen nach oben waren bei endokrinologischen (100 %), gastroenterologischen (94 %) und neurologischen Patientenisolaten (90 %) zu verzeichnen. Abweichungen nach unten gab es bei Isolaten aus der kardiologischen Klinik (70 %).

Die Erythromycin-Resistenzrate der *E. faecium*-Isolate war bei Patienten aller Kliniken sehr hoch. Für *E. faecalis* zeigte sie große Schwankungen. Bei endokrinologischen (75 %), neurologischen (73 %) und urologischen Patientenisolaten (63 %) war sie relativ hoch, wohingegen sie bei Isolaten der Nephrologie mit 30 % und der Kardiologie mit 20 % niedriger war.

Die Gentamicin HLR bewegte sich für *E. faecium*-Isolate bei fast allen betrachteten Kliniken um den Durchschnitt von 38 %. Einzig Isolate nephrologischer Patienten zeigten eine geringere Resistenzrate von 17 %. Die Gentamicin HLR der *E. faecalis*-Isolate war sehr heterogen verteilt und bei Isolaten von neurologischen Patienten mit 64 % am höchsten. In einigen Kliniken bewegte sich die Resistenzrate um 50 % und war mit 25 % bei Isolaten von endokrinologischen Patienten bzw. 20 % bei pädiatrischen, nephrologischen und kardiologischen Patienten relativ niedrig. In der

Tagesklinik, der Gynäkologie und der anästhesiologischen ITS lag die Gentamicin HLR der zuzuordnenden *E. faecalis*-Isolate sogar unter 20 %.

Gegenüber Streptomycin zeigten 83 % der *E. faecium*-Isolate der Nephrologie eine HLR. Bei Patientenisolaten der übrigen Kliniken sank diese Resistenzrate nicht unter 50 %. Für *E. faecalis*-Isolate lag die Resistenzrate gegenüber Streptomycin HLR zwischen 60 % bei chirurgischen Patienten und 17 % bei Patienten der Tagesklinik.

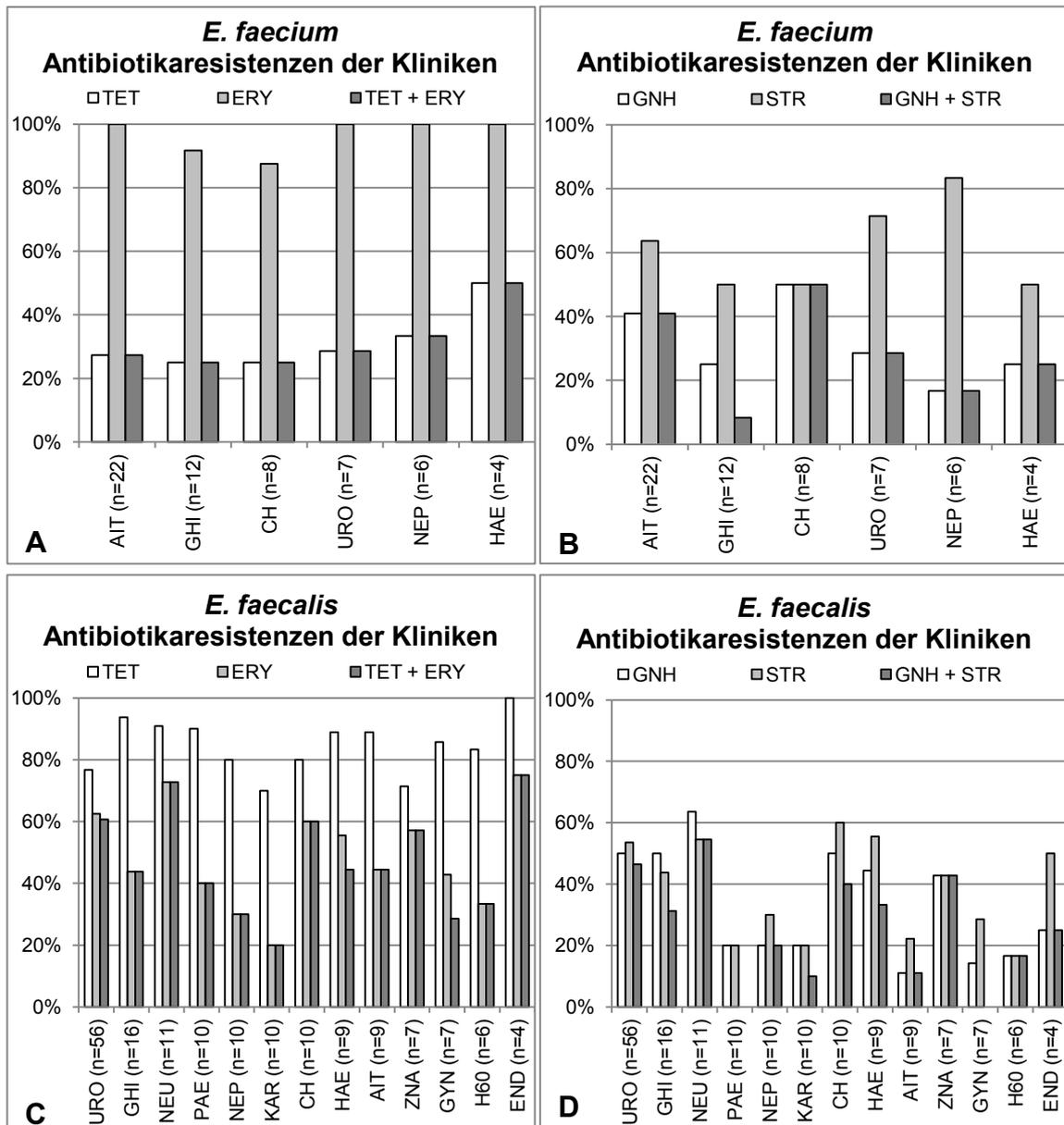


Abb. 4.2-3 *E. faecium* und *E. faecalis* - Antibiotikaresistenzprofile der Kliniken
E. faecium (A) Tetrazyklin und Erythromycin; (B) Gentamicin HLR und Streptomycin HLR
E. faecalis (C) Tetrazyklin und Erythromycin; (D) Gentamicin HLR und Streptomycin HLR
getrennt betrachtet für die Kliniken mit mindestens vier Materialeinsendungen
AIT-Anästhesiologie/ITS; CH-Chirurgie; END-Endokrinologie; GHI-Gastroenterologie;
GYN-Gynäkologie; H60-Tagesklinik; HAE-Hämatologie; KAR-Kardiologie; NEP-
Nephrologie; NEU-Neurologie; PAE-Pädiatrie; URO-Urologie; ZNA-Zentrale Notaufnahme;
TET-Tetrazyklin; ERY-Erythromycin; GNH-Gentamicin HLR; STR-Streptomycin HLR

Um diese Resistenzprofile für die einzelnen Patientengruppen von verschiedenen Kliniken miteinander vergleichen zu können, wurde jeweils für *E. faecium* und *E. faecalis* die durchschnittliche Resistenz für ein bestimmtes Antibiotikum (siehe Tab. 4.2-1) als Ausgangswert festgelegt. In Bezug auf diesen Wert wurde die Differenz zur Resistenz gegen das jeweilige Antibiotikum für Patienten in den einzelnen Kliniken errechnet.

4.2.1.1 *E. faecium*

Von 69 untersuchten *E. faecium*-Isolaten waren 30,4 % gegenüber Tetrazyklin und 97,1 % gegenüber Erythromycin resistent. Gegen die Kombination der Antibiotika waren 30,4 % resistent (siehe Tab. 4.2-1). Größere Abweichungen von dieser durchschnittlichen Resistenz ließen sich in der Hämatologie feststellen. Hier war die Resistenz gegenüber Tetrazyklin und die Kombination aus Tetrazyklin und Erythromycin um 20 % höher. Bei chirurgischen Patienten waren 10 % weniger Erythromycin-resistente *E. faecium*-Isolate nachweisbar als im Durchschnitt. Bei Patienten der übrigen Kliniken, die in die Betrachtung mit einbezogen wurden, betrug die Abweichungen von der durchschnittlichen Resistenz nur bis zu 5 % (siehe Abb. 4.2-4 A).

Gegenüber Gentamicin zeigten 38,2 %, gegenüber Streptomycin 66,2 % und gegen die Kombination aus beiden Antibiotika 35,3 % der *E. faecium*-Isolate eine HLR (siehe Tab. 4.2-1). Abweichungen von dieser durchschnittlichen Resistenzrate waren bei Patientengruppen verschiedener Kliniken zu detektieren. Bei gastroenterologischen Patienten und denen der Hämatologie war die Resistenzrate der Isolate für alle drei Betrachtungen um 10 % bis 27 % niedriger als der Durchschnitt. Die HLR gegenüber Streptomycin war bei chirurgischen Patienten um 16 % niedriger, gegenüber Gentamicin allerdings um 12 % höher und gegen die Kombination aus beiden um 15 % höher als im Durchschnitt. Bei nephrologischen Patientenisolaten zeigte sich ein umgekehrtes Resistenzprofil. Hier war die HLR gegenüber Gentamicin 22 % und gegen die Kombination aus Gentamicin und Streptomycin 19 % niedriger als der Durchschnitt. Für Streptomycin HLR waren die Resistenzraten allerdings um 17 % höher als im Durchschnitt (siehe Abb. 4.2-4 B).

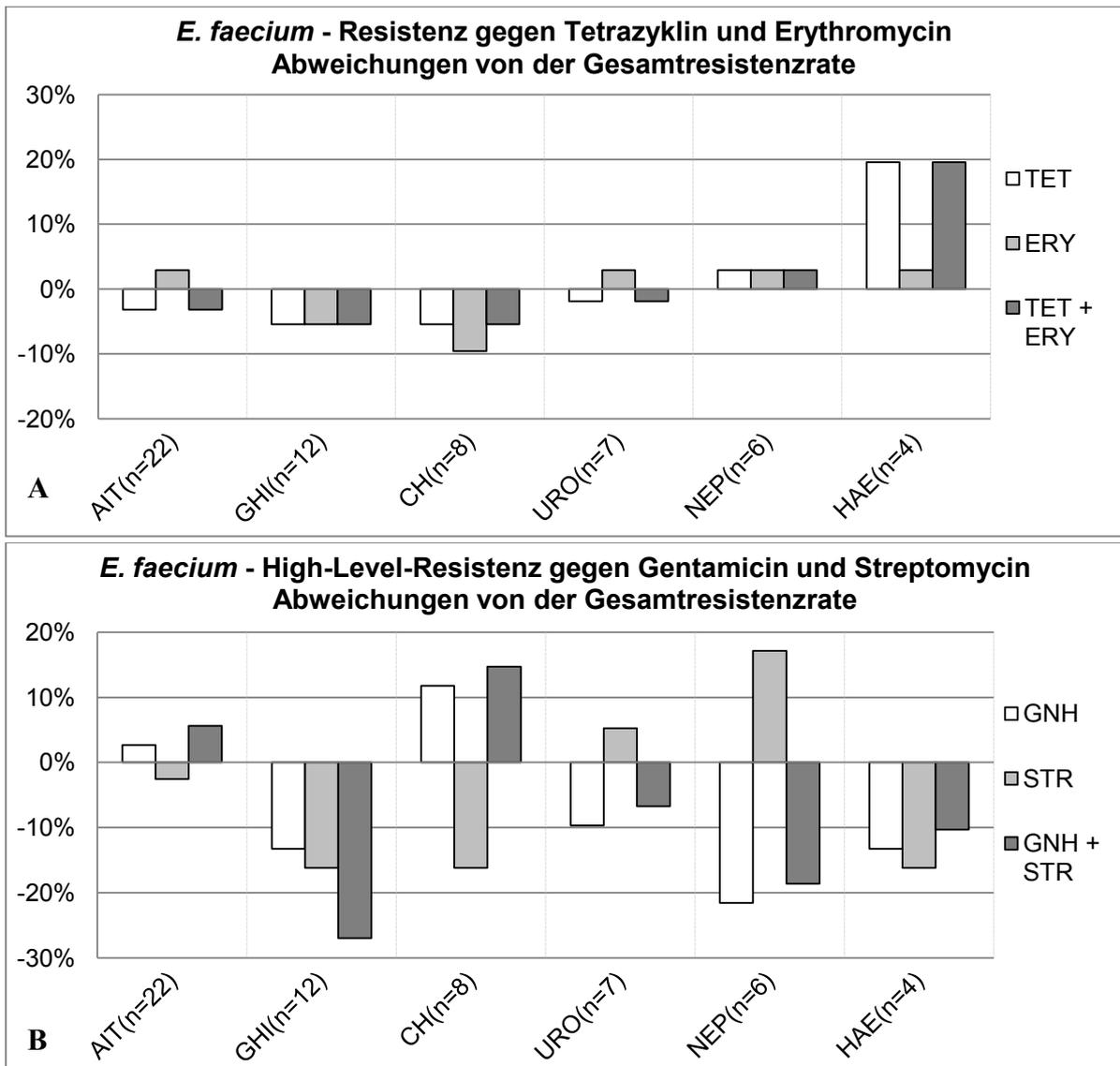


Abb. 4.2-4 *E. faecium* - Abweichung von der Gesamtresistenzrate
 Resistenzraten für **(A)** Tetrazyklin und Erythromycin sowie **(B)** Gentamicin HLR und Streptomycin HLR; betrachtet für Kliniken mit mindestens vier Materialeinsendungen; AIT-Anästhesiologie/ITS; CH-Chirurgie; GHI-Gastroenterologie; HAE-Hämatologie; NEP-Nephrologie; URO-Urologie; TET-Tetrazyklin; ERY-Erythromycin; GNH-Gentamicin HLR; STR-Streptomycin HLR

4.2.1.2 *E. faecalis*

Von den 171 untersuchten *E. faecalis*-Isolaten waren 82,5 % resistent gegenüber Tetrazyklin, 52,6 % gegenüber Erythromycin und 50,9 % gegen die Kombination aus beiden Antibiotika (siehe Tab. 4.2-1). Bei den Isolaten der meisten Kliniken wich die Resistenzrate um weniger als 10 % von diesem Durchschnitt ab. Allerdings lag sie bei Patienten aus einigen Kliniken auch unter dem durchschnittlichen Wert, vor allem für Erythromycin und die Kombination aus Tetrazyklin und Erythromycin. Bei

kardiologischen Patienten konnten 33 % weniger Erythromycin-Resistenzen und 31 % weniger Resistenzen gegen die Antibiotikakombination detektiert werden. Bei Patientenisolaten der Nephrologie, Gynäkologie und Tagesklinik wich die Resistenzrate gegen Erythromycin und die Kombination mit Tetrazyklin um ca. 20 % nach unten ab.

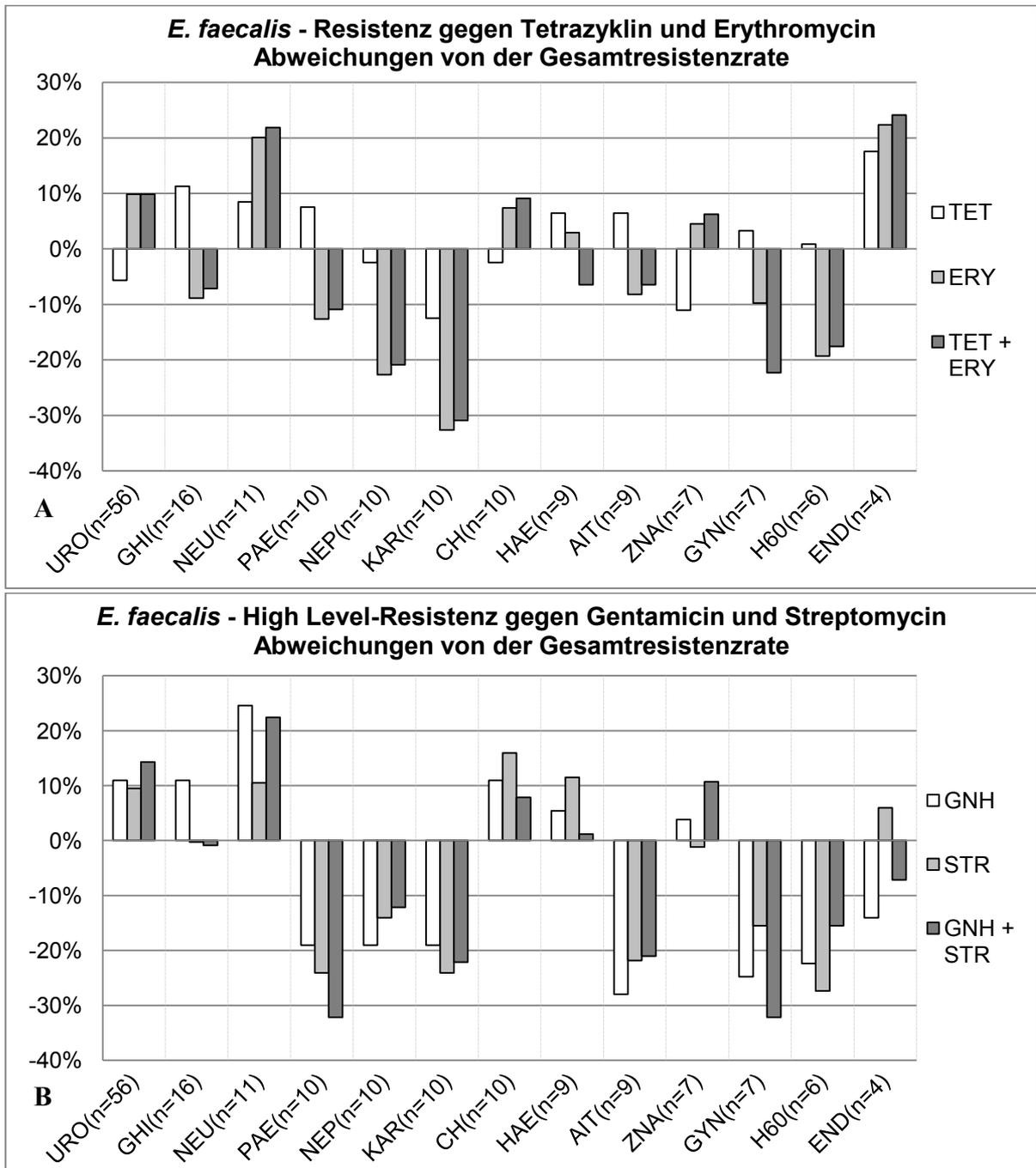


Abb. 4.2-5 E. faecalis - Abweichung von der Gesamtresistenzrate
Resistenzraten für (A) Tetrazyklin und Erythromycin sowie (B) Gentamicin HLR und Streptomycin HLR; betrachtet für Kliniken mit mindestens vier Materialeinsendungen; AIT-Anästhesiologie/ITS; CH-Chirurgie; END-Endokrinologie; GHI-Gastroenterologie; GYN-Gynäkologie; H60-Tagesklinik; HAE-Hämatologie; KAR-Kardiologie; NEP-Nephrologie; NEU-Neurologie; PAE-Pädiatrie; URO-Urologie; ZNA-Zentrale Notaufnahme; TET-Tetrazyklin; ERY-Erythromycin; GNH-Gentamicin HLR; STR-Streptomycin HLR

Eine höhere Resistenzrate als durchschnittlich wurde hingegen bei Isolaten von endokrinologischen Patienten nachgewiesen. Hier war die Resistenzrate gegenüber Tetrazyklin um 18 %, gegenüber Erythromycin um 22 % und gegen die Kombination aus beiden Antibiotika um 24 % höher als der Durchschnitt (siehe Abb. 4.2-5 A).

Bei den getesteten *E. faecalis*-Isolaten betrug die Resistenzrate gegenüber Gentamicin HLR 39 %, gegenüber Streptomycin HLR 44 % und gegen die Kombination aus beiden Antibiotika 32,1 % (siehe Tab. 4.2-1). Bei den Patientenisolaten aus einigen Kliniken war die Resistenzrate gegen diese Antibiotika niedriger als der Durchschnitt. Bei Gentamicin HLR war sie bei Isolaten von Patienten der anästhesiologischen ITS um 28 % niedriger und bei Isolaten der gynäkologischen Patienten um 25 % niedriger als durchschnittlich. Die Resistenzrate gegenüber Streptomycin HLR war für Patientenisolate aus der Pädiatrie um 24 % niedriger und aus der Tagesklinik um 27 % niedriger als der Durchschnitt. Für pädiatrische und gynäkologische Patientenisolate war die Resistenz gegen die Kombination aus beiden Antibiotika 32 % niedriger als durchschnittlich. Bei *E. faecalis*-Isolaten aus einigen Kliniken war die Resistenz höher als der Durchschnitt. Bei neurologischen Patientenisolaten war die Resistenzrate gegenüber Gentamicin HLR um 25 % höher und gegenüber dessen Kombination mit Streptomycin HLR um 22 % höher als durchschnittlich. Bei Isolaten aus den chirurgischen Kliniken war die Resistenzrate gegenüber Streptomycin HLR 16 % höher als der Durchschnitt (siehe Abb. 4.2-5 B).

4.2.2 Antibiotikaresistenz nach Alter

Anhand der Daten der Patienten, von denen die untersuchten Proben stammen, wurde eine Altersverteilung aufgestellt (siehe Abb. 4.2-6). Dabei wurden *E. faecium* und *E. faecalis* getrennt betrachtet.

4.2.2.1 *E. faecium*

Bei *E. faecium* unterschieden sich die Resistenzraten am deutlichsten für Tetrazyklin, Gentamicin HLR, Streptomycin HLR, Vancomycin und Quinupristin/Dalfopristin innerhalb der Altersgruppen.

Gegenüber Tetrazyklin waren jeweils 20 % der *E. faecium*-Isolate der 51- bis 65-Jährigen und 66- bis 79-Jährigen resistent. Die Resistenz stieg bei Patienten, die älter als 79 Jahre waren, auf 64,7 % an.

Die Erythromycin-Resistenz der *E. faecium*-Isolate zeigte sich keine deutliche Abweichung innerhalb der Altersgruppen. In der Gruppe der 51- bis 65-Jährigen konnte für 95 % und in den Gruppen der 66- bis 79-Jährigen sowie den über 79-Jährigen für 100 % der *E. faecium*-Isolate Resistenzen nachgewiesen werden.

Gegenüber Gentamicin zeigten 35 % der *E. faecium*-Isolate der 51- bis 65-Jährigen und 27,6 % der 66- bis 79-Jährigen eine HLR. Auch hier stieg diese bei den über 79-Jährigen auf 58,8 % an.

Die HLR gegenüber Streptomycin bei den *E. faecium*-Isolaten bei 51- bis 65-Jährigen betrug 75 %. Sie war mit 51,7 % in der Patientengruppe der 66- bis 79-Jährigen immer noch hoch und stieg bei den über 79-Jährigen auf 82,4 % an.

Eine Resistenz gegenüber Vancomycin wurde nur in Isolaten älterer Patientengruppen nachgewiesen. Dabei wurden zwei Isolate (0,07 %) bei den 66- bis 79-Jährigen und ein Isolat (0,06 %) bei den über 79-Jährigen detektiert.

Für Quinupristin/Dalfopristin bestand eine steigende Tendenz der Resistenzrate der *E. faecium*-Isolate von 5 % in der Gruppe der 51- bis 65-Jährigen auf 20,7 % in der Gruppe der 66- bis 79-Jährigen. Jedoch wurde in keinem Isolat in der Patientengruppe der über 79-Jährigen eine Resistenz nachgewiesen werden.

4.2.2.2 *E. faecalis*

Bei *E. faecalis*-Isolaten zeigte sich der Trend zu höheren Resistenzraten bei älteren Patienten ebenfalls für Gentamicin HLR und Streptomycin HLR, sowie für Levofloxacin und Moxifloxacin.

In der Patientengruppe der 19- bis 50-Jährigen lag die HLR gegenüber Gentamicin bei 15,4 % und gegenüber Streptomycin bei 19,2 %.

Bei Patienten im Alter von 66 bis 79 Jahren wurde für 51,6 % der *E. faecalis*-Isolate eine HLR gegenüber Gentamicin und für 59,7 % gegenüber Streptomycin nachgewiesen. Die HLR fiel bei den über 79-Jährigen für Gentamicin auf 37,8 % und für Streptomycin auf 44,4 % wieder ab.

Gegenüber Levofloxacin und Moxifloxacin waren bei den 19- bis 50-Jährigen 19,2 % und bei 66- bis 79-Jährigen 58,7 % der *E. faecalis*-Isolate resistent.

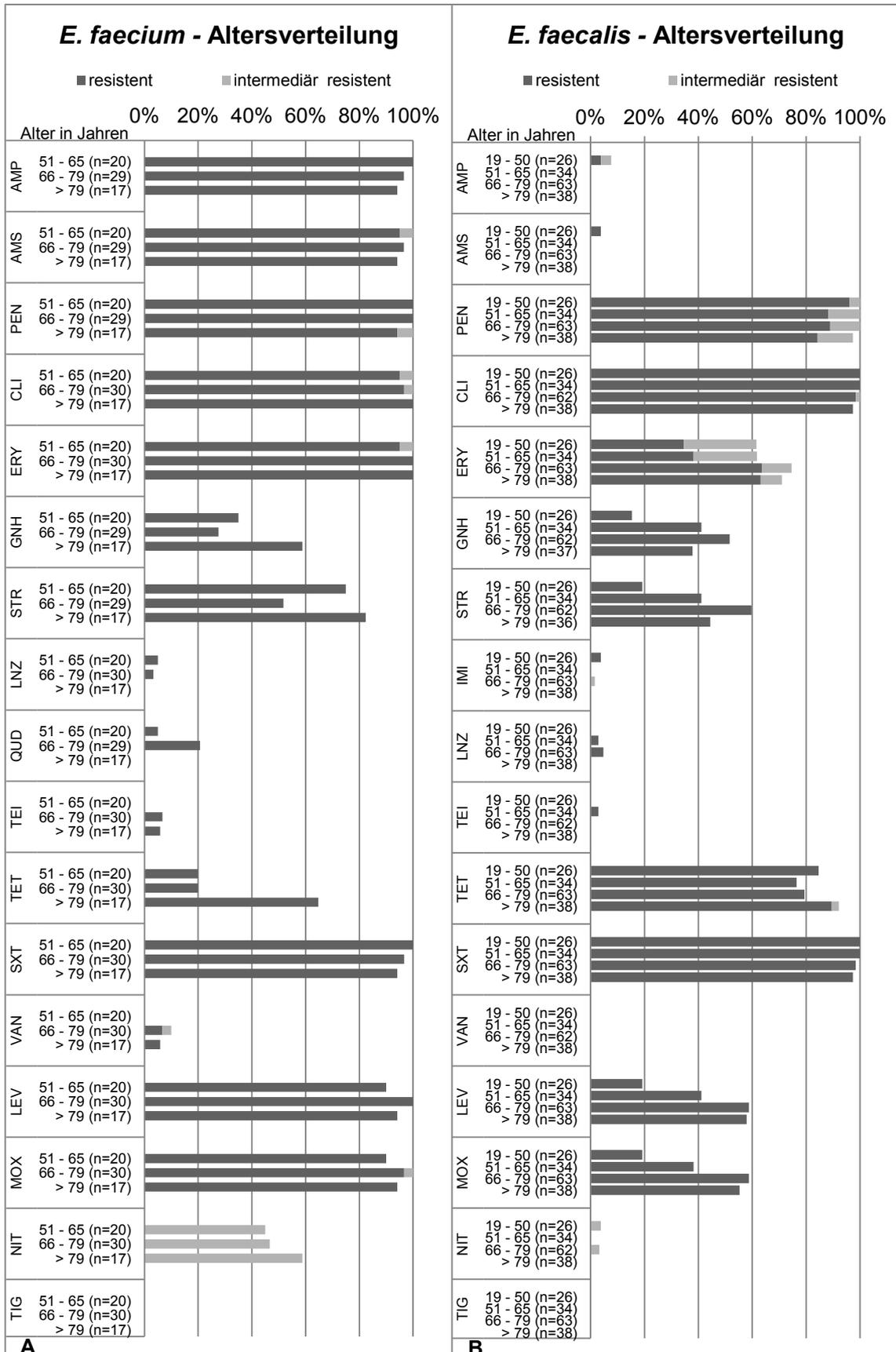


Abb. 4.2-6 *E. faecium* (A) und *E. faecalis* (B) - vergleichende Altersverteilung der Antibiotika-resistenzen beider Spezies
 AMP-Ampicillin; AMS-Ampicillin / Sulbactam; PEN-Benzylpenicillin; CLI-Clindamycin; ERY-Erythromycin; GNH-Gentamicin HLR; STR-Streptomycin HLR; IMI-Imipenem; LNZ-Linezolid; QUD-Quinupristin/Dalfopristin; TEI-Teicoplanin; TET-Tetracyclin; SXT-Trimethoprim/Sulfamethoxazol; VAN-Vancomycin; LEV-Levofloxacin; MOX-Moxifloxacin; NIT-Nitrofurantoin; TIG-Tigecyclin

4.2.2.3 Statistische Betrachtung der Altersdarstellung

Für beide Spezies wurde ein statistischer Vergleich des Durchschnittsalters der Patienten durchgeführt. Dabei wurde das Verhalten auf die Antibiotika Tetrazyklin, Erythromycin, Gentamicin HLR und Streptomycin HLR betrachtet. Die Durchschnittsalter wurden für die einzelnen Antibiotika mittels t-Test verglichen um signifikante Unterschiede zwischen resistenten und sensiblen Isolaten festzustellen (siehe Tab. 4.2-2).

Da nur ein *E. faecium*-Isolat sensibel gegenüber Erythromycin war, konnte aufgrund der zu kleinen Referenzgruppe keine statistische Auswertung für die Erythromycin-Resistenz durchgeführt werden. Somit war auch eine Betrachtung der Kombination von Tetrazyklin- und Erythromycin-Resistenz nicht möglich.

	TET	ERY	TET + ERY	GNH	STR	GNH + STR
<i>E. faecium</i>						
p	0,009 (**)	#	#	0,487	0,905	0,587
<i>E. faecalis</i>						
p	0,896	0,069	0,297	0,016 (*)	0,002 (**)	0,001 (**)

Tab. 4.2-2 *E. faecium* und *E. faecalis* – Statistischer Vergleich der Durchschnittsalter verglichen wurden resistente und sensible Isolate folgender Antibiotika: TET-Tetrazyklin; ERY-Erythromycin; GNH-Gentamicin HLR; STR-Streptomycin HLR # statistische Auswertung nicht möglich; * p<0,05; ** p<0,01

Für *E. faecium*-Isolate zeigte sich nur für Tetrazyklin ein signifikanter Unterschied der Durchschnittsalter. Patienten mit Tetrazyklin-resistenten Isolaten sind durchschnittlich älter als Patienten mit sensiblen Isolaten (siehe Abb. 4.2-7).

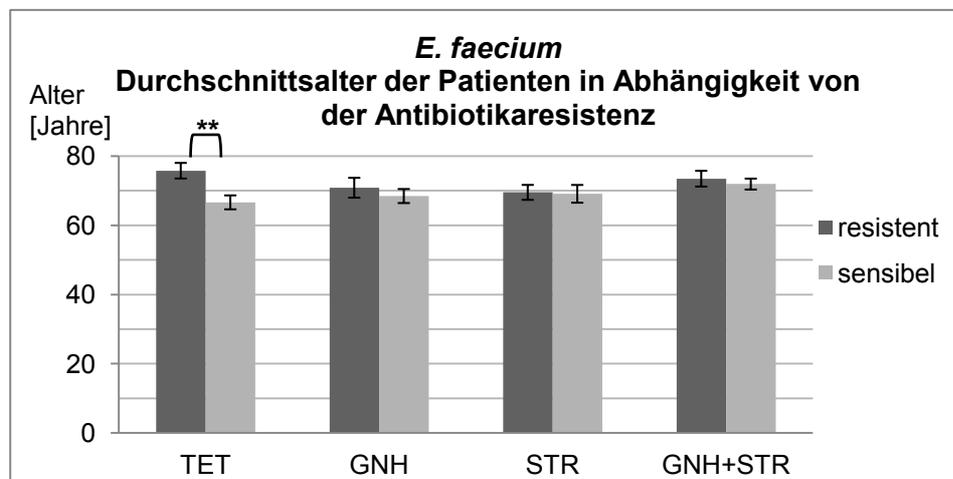


Abb. 4.2-7 *E. faecium* – Durchschnittsalter in Abhängigkeit von der Antibiotikaresistenz Angaben in Mittelwert +/- Standardfehler TET-Tetrazyklin; GNH-Gentamicin HLR; STR-Streptomycin HLR ** p<0,01

Für *E. faecalis*-Isolate galt dies in gleicher Weise bei einer HLR gegen Gentamicin, Streptomycin und die Kombination aus beiden Antibiotika (siehe Abb. 4.2-8). Somit ist der in Abb. 4.2-6 vermutete Trend zu höheren Resistenzraten bei älteren Patienten in einigen Beispielen statistisch nachweisbar.

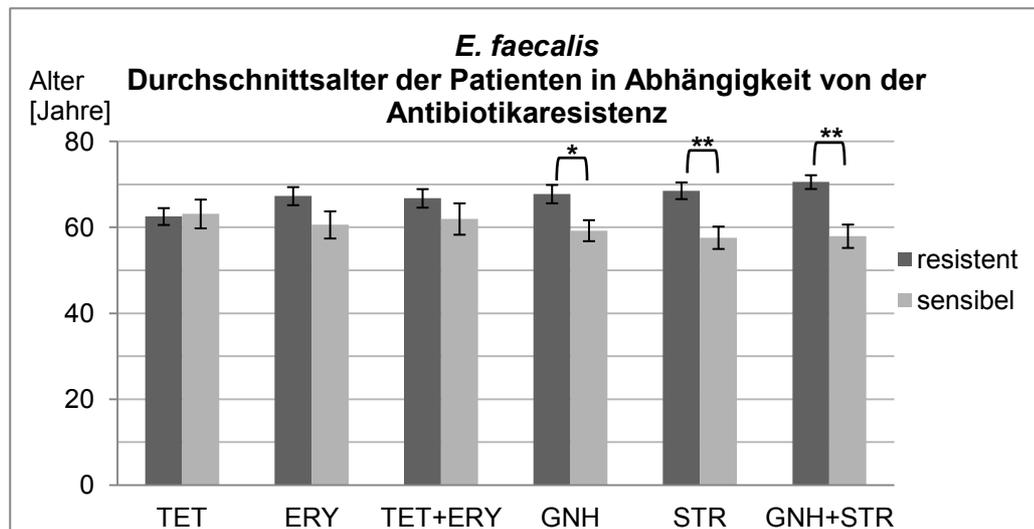


Abb. 4.2-8 *E. faecalis* – Durchschnittsalter in Abhängigkeit von der Antibiotikaresistenz
Angaben in Mittelwert +/- Standardfehler
TET-Tetrazyklin; ERY-Erythromycin; GNH-Gentamicin HLR; STR-Streptomycin HLR
* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

4.2.3 Antibiotikaresistenz nach Geschlecht

Bezogen auf das Geschlecht ließ sich bei den *E. faecium*-Isolaten kaum ein Unterschied für die Antibiotikaresistenz feststellen. Lediglich für Quinupristin/Dalfopristin wurden häufiger resistente Isolate bei weiblichen als bei männlichen Patienten detektiert.

Bei den *E. faecalis*-Isolaten gab es für Gentamicin HLR, Streptomycin HLR, Levofloxacin und Moxifloxacin wesentlich mehr resistente Isolate bei männlichen als bei weiblichen Patienten. Das Resistenzprofil der anderen Antibiotika unterschied sich hingegen kaum im Bezug auf die Herkunft der Isolate.

4.3 Virulenzgene

Die amplifizierten Gensequenzen der Virulenzgene wurden mittels Gelelektrophorese aufgetrennt. Für jedes *E. faecium*- und *E. faecalis*-Isolat wurde somit das Auftreten der Gene ermittelt (siehe Abb. 4.3-1).

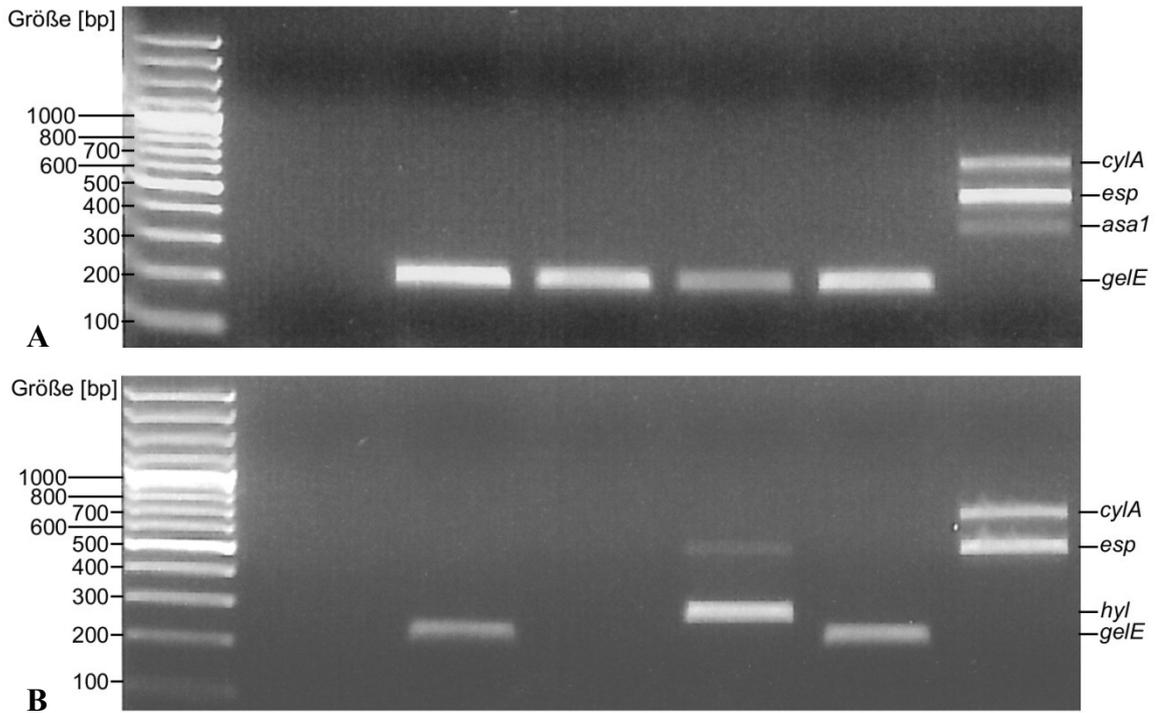


Abb. 4.3-1 repräsentative Gelabbildungen der Elektrophorese
 Darstellung der Virulenzgene:
asa1-Aggregationssubstanz; *cyIA*-Aktivator-Komponente des Cytolysins;
esp-Enterococcal Surface Protein; *gelE*-Gelatinase; *hyl*-Hyaluronidase

4.3.1 *E. faecium*

Für jedes Enterokokken-Isolat wurde das Vorkommen der fünf Virulenzgene molekularbiologisch untersucht.

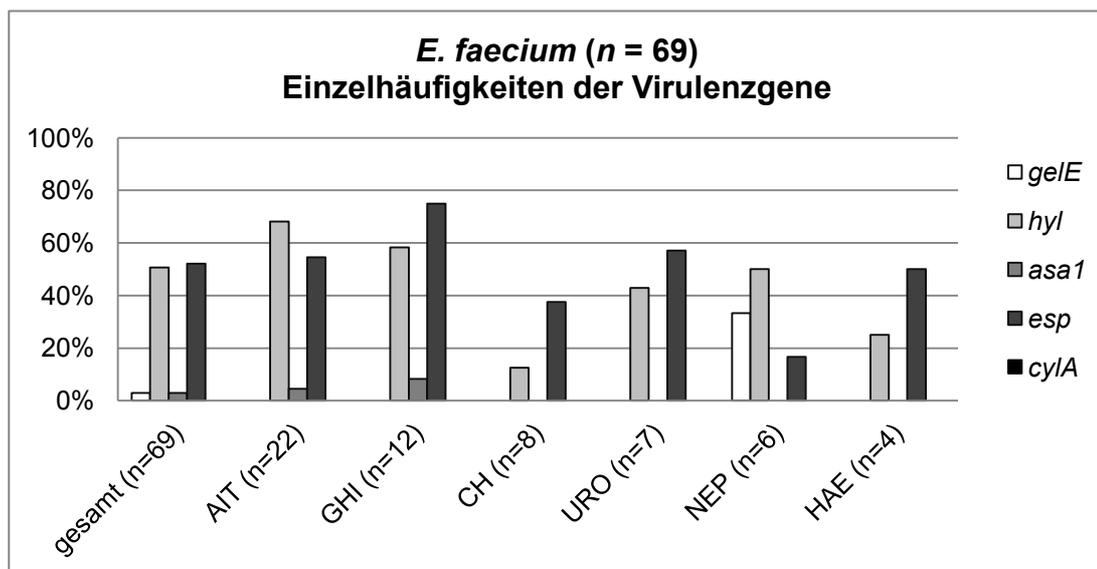


Abb. 4.3-2 *E. faecium* - Einzelhäufigkeiten der Virulenzgene
 betrachtet für Kliniken mit mindestens vier Materialeinsendungen;
 AIT-Anästhesiologie/ITS; CH-Chirurgie; GHI-Gastroenterologie; HAE-Hämatologie;
 NEP-Nephrologie; URO-Urologie
asa1-Aggregationssubstanz; *cyIA*-Aktivator-Komponente des Cytolysins;
esp-Enterococcal Surface Protein; *gelE*-Gelatinase; *hyl*-Hyaluronidase

Über die Hälfte der *E. faecium*-Isolate besaßen die Gene *hyl* oder *esp* und bei 2,9 % der Isolate wurden die Gene *gelE* oder *asa1* detektiert. Allerdings konnte bei keinem der getesteten Isolate *cylA* nachgewiesen werden.

Im Durchschnitt wurden bei 50 % der Isolate aus den verschiedenen Kliniken die Gene *hyl* und *esp* detektiert. Das Virulenzgen *hyl* wurde nur in *E. faecium*-Isolaten chirurgischer (12,5 %) und hämatologischer Patienten (25,0 %) deutlich seltener nachgewiesen. Das Gen *esp* wurde bei Isolaten gastroenterologischer Patienten häufiger (75,0 %) und bei Isolaten nephrologischer Patienten seltener (16,7 %) detektiert als im Durchschnitt. Außer in *E. faecium*-Isolaten nephrologischer Patienten (33,3 %) wurde in keinem anderen Isolat *gelE* detektiert (siehe Abb. 4.3-2).

4.3.2 *E. faecalis*

In 84,2 % der getesteten *E. faecalis*-Isolate wurde das Gen *gelE*, in 38 % *asa1*, in 24,6 % *esp* und in 8,2 % *cylA* detektiert. Allerdings konnte bei keinem *E. faecalis*-Isolat *hyl* nachgewiesen werden.

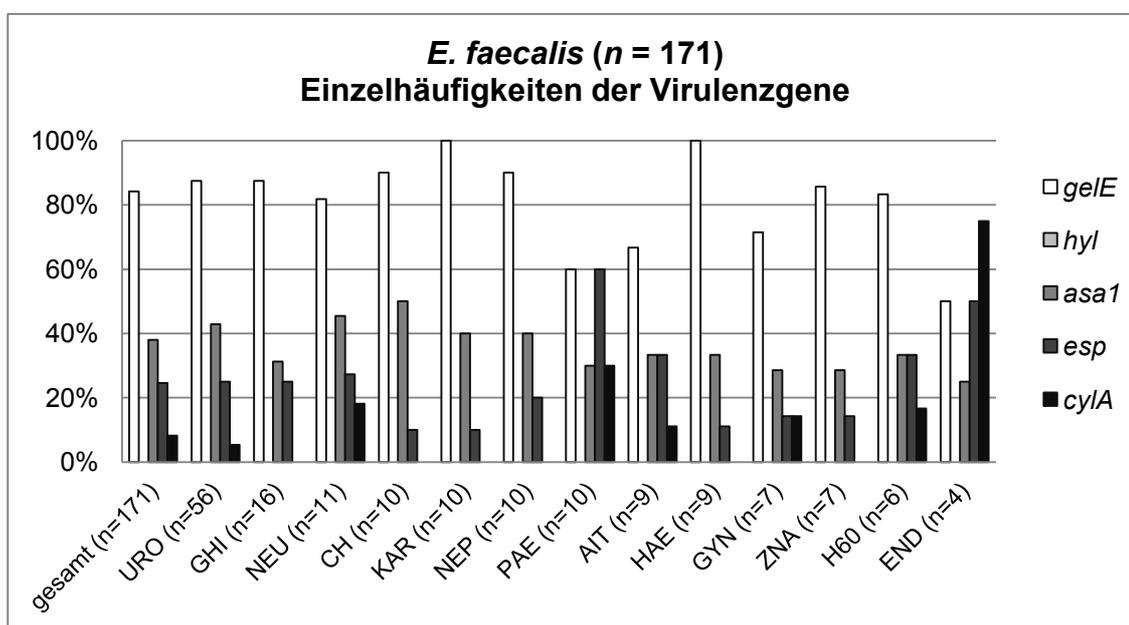


Abb. 4.3-3 *E. faecalis* - Einzelhäufigkeiten der Virulenzgene betrachtet für Kliniken mit mindestens vier Materialeinsendungen
 AIT-Anästhesiologie/ITS; CH-Chirurgie; END-Endokrinologie; GHI-Gastroenterologie;
 GYN-Gynäkologie; H60-Tagesklinik; HAE-Hämatologie; KAR-Kardiologie;
 NEP-Nephrologie; NEU-Neurologie; PAE-Pädiatrie; URO-Urologie; ZNA-Zentrale Notaufnahme
asa1-Aggregationssubstanz; *cylA*-Aktivator-Komponente des Cytolysins;
esp-Enterococcal Surface Protein; *gelE*-Gelatinase; *hyl*-Hyaluronidase

Dieses Verteilungsprofil spiegelte sich bei Proben fast aller Kliniken wider. Bei einem Großteil (60 – 100 %) der *E. faecalis*-Isolate konnte *gelE* und bei 25 % bis 50 % *asa1* nachgewiesen werden. Verglichen mit Patienten aus den übrigen Kliniken konnten in der Endokrinologie und Pädiatrie bei relativ vielen *E. faecalis*-Isolaten *esp* (50 % bzw. 60 %) und *cyfA* (75 % bzw. 30 %) detektiert werden (siehe Abb. 4.3-3).

4.4 Zusammenhänge zwischen Antibiotikaresistenz und Virulenzgenen

Um einen möglichen Zusammenhang zwischen der Antibiotikaresistenz und dem Vorliegen bestimmter Virulenzgene festzustellen, wurde die Häufigkeit des Auftretens der einzelnen Gene untersucht. Dabei wurde für *E. faecium*- und *E. faecalis*-Isolate getrennt betrachtet, wie oft das jeweilige Virulenzgen bei einer bestimmten Antibiotikaresistenz auftrat. Es wurden insbesondere die Antibiotika Tetrazyklin, Erythromycin, Gentamicin HLR und Streptomycin HLR sowie die häufiger auftretenden Virulenzgenprofile näher betrachtet. Als Virulenzgenprofile wurden im Folgenden die verschiedenen Kombinationen der Virulenzgene bezeichnet. Dabei wurden nur die Profile berücksichtigt, die mindestens zu 5 % bei der jeweiligen Enterokokken-Spezies bzw. bei einer bestimmten Antibiotikaresistenz auftraten.

Bei *E. faecium*-Isolaten konnten die Virulenzgene *esp* oder *hyl* am häufigsten detektiert werden (siehe Tab. 4.4-1).

Bei *E. faecalis*-Isolaten hingegen wurden alle der fünf betrachteten Virulenzgene außer *hyl* in unterschiedlichen Kombinationen detektiert (siehe Tab. 4.4-2).

Mittels Chi-Quadrat (χ^2)-Tests wurde ermittelt, ob die detektierten Virulenzgenprofile bei einer bestimmten Antibiotikaresistenz signifikant häufiger auftraten als bei sensiblen Isolaten oder umgekehrt (siehe Tab. 4.4-3 und Tab. 4.4-4). Das Signifikanzniveau wurde auf eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % festgesetzt.

Es wurden nur die Profile aufgeführt, die einen signifikanten Unterschied ($p < 0,05$) oder eine Tendenz ($0,05 < p < 0,15$) zu einem signifikanten Unterschied zeigten. Für letztere wäre eine Signifikanz bei Betrachtung größerer Stichproben erreichbar.

Dargestellt wurde, wie häufig ein Virulenzgen insgesamt unabhängig von den anderen Genen bzw. wie häufig eine bestimmte Kombination von Virulenzgenen unter den resistenten und den sensiblen Enterokokken-Isolaten auftrat. Die Virulenzgenprofile sind jeweils in den Zeilen der Tabellen Tab. 4.4-1 und Tab. 4.4-2 abgebildet. Die Summe eines einzelnen Virulenzgens unabhängig von anderen

Genen wird als „gesamt“ bezeichnet und ist in den Spalten der Tabellen Tab. 4.4-1 und Tab. 4.4-2 zusammengefasst.

gelE	hyl	asa1	esp	cylA	absolute Häufigkeit	relative Häufigkeit (%)
			x		19	27,5
	x				17	24,6
	x		x		16	23,2
					13	18,8
x					2	2,9
	x	x			1	1,4
	x	x	x		1	1,4
Summe: 69						

Tab. 4.4-1 *E. faecium* – Virulenzgenprofile mit absoluten und relativen Häufigkeiten dabei sind häufigere Profile (>5 %) schwarz und seltenere Profile grau dargestellt; absteigend nach den Häufigkeiten geordnet; *asa1*-Aggregationssubstanz; *cylA*-Aktivator-Komponente des Cytolysins; *esp*-Enterococcal Surface Protein; *gelE*-Gelatinase; *hyl*-Hyaluronidase

<i>gelE</i>	<i>hyl</i>	<i>asa1</i>	<i>esp</i>	<i>cylA</i>	absolute Häufigkeit	relative Häufigkeit (%)
x					74	43,3
x		x			46	26,9
x		x	x		13	7,6
x			x		10	5,8
			x	x	9	5,3
					7	4,1
			x		4	2,3
		x	x		3	1,8
		x	x	x	3	1,8
				x	1	0,6
x				x	1	0,6
Summe: 171						

Tab. 4.4-2 *E. faecalis* – Virulenzgenprofile mit absoluten und relativen Häufigkeiten dabei sind häufigere Profile (>5 %) schwarz und seltenere Profile grau dargestellt; absteigend nach den Häufigkeiten geordnet; *asa1*-Aggregationssubstanz; *cylA*-Aktivator-Komponente des Cytolysins; *esp*-Enterococcal Surface Protein; *gelE*-Gelatinase; *hyl*-Hyaluronidase

4.4.1 *E. faecium*

Bei *E. faecium*-Isolaten wurden die Virulenzgene *hyl* und *esp* am häufigsten detektiert und bestimmten somit die Kombination in den Profilen (siehe Tab. 4.4-3).

	Virulenzgen					Häufigkeit				Signifikanz	
	<i>gelE</i>	<i>hyl</i>	<i>asa1</i>	<i>esp</i>	<i>cyIA</i>	resistente Isolate		sensible Isolate			
						absolut	(relativ)	absolut	(relativ)	<i>p</i>	
TET	esp gesamt					14/21	(66,67%)	22/48	(45,83%)	0,126	
				x		9/21	(42,86%)	10/48	(20,83%)	0,081	
GNH						10/26	(38,46%)	3/42	(7,14%)	0,003	**
		x				3/26	(11,54%)	13/42	(30,95%)	0,083	
STR						12/45	(26,67%)	1/23	(4,35%)	0,047	*
		x				8/45	(17,78%)	8/23	(34,78%)	0,139	
GNH+ STR						10/24	(41,67%)	1/21	(4,76%)	0,005	**
		x				2/24	(8,33%)	7/21	(33,33%)	0,061	

Tab. 4.4-3 *E. faecium* – Virulenzgenprofile im Bezug auf Antibiotikaresistenz

dargestellt sind nur die häufigen Profile (>5 %) für die einzelnen Antibiotika mit absoluter und relativer Häufigkeit für resistente und sensible Isolate; Aufgliederung, ob die Profile signifikant sind bzw. Tendenz zur Signifikanz zeigen „gesamt“ bedeutet: summiertes Auftreten des Virulenzgens in allen Profilen, unabhängig vom Vorhandensein anderer Virulenzgene; TET-Tetrazyklin; GNH-Gentamicin HLR; STR-Streptomycin HLR; *asa1*-Aggregationssubstanz; *cyIA*-Aktivator-Komponente des Cytolysins; *esp*-Enterococcal Surface Protein; *gelE*-Gelatinase; *hyl*-Hyaluronidase
* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Da nur ein *E. faecium*-Isolat sensibel gegenüber Erythromycin war, konnte aufgrund der zu kleinen Referenzgruppe keine statistische Auswertung für Erythromycin-Resistenz durchgeführt werden. Somit war auch eine Betrachtung der Kombination von Tetrazyklin- und Erythromycin-Resistenz ungeeignet.

Hinsichtlich der Tetrazyklin-Empfindlichkeit zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen resistenten und sensiblen Isolaten in Bezug auf die Detektion bestimmter Virulenzgene, obwohl Tendenzen zur Signifikanz festgestellt werden konnten. Diese Tendenzen zeigten sich bei der Detektion des Virulenzgens *esp*. Wurde das Vorkommen von *esp* unabhängig von einem Virulenzgenprofil (*esp* gesamt) betrachtet, konnte bei Tetrazyklin-resistenten Isolaten häufiger *esp* nachgewiesen werden, als bei Tetrazyklin-sensiblen Isolaten. Gleiches war für die Detektion von *esp* in Abhängigkeit vom Auftreten der anderen Virulenzgene festzustellen. Das Virulenzgenprofil „nur *esp*“ findet sich bei Tetrazyklin-resistenten Isolaten häufiger.

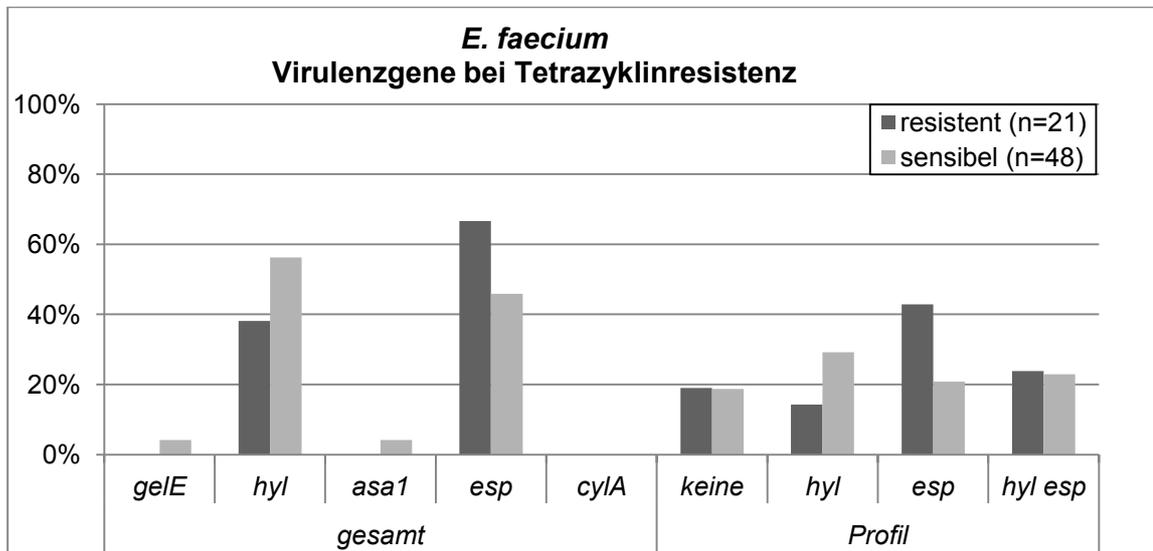


Abb. 4.4-1 *E. faecium* – Virulenzgenprofile für Tetrazyklin

„gesamt“ bedeutet: summiertes Auftreten eines Virulenzgens in allen Profilen, unabhängig vom Vorhandensein anderer Virulenzgene; „Profil“ bedeutet: Auftreten eines Virulenzgens unter Berücksichtigung der anderen Virulenzgene

asa1-Aggregationssubstanz; *cyIA*-Aktivator-Komponente des Cytolysins; *esp*-Enterococcal Surface Protein; *gelE*-Gelatinase; *hyl*-Hyaluronidase

Das Vorkommen der Virulenzgene *hyl* und *esp* bei *E. faecium*-Isolaten im Bezug auf die HLR gegenüber Gentamicin und Streptomycin war ebenfalls relativ hoch. Allerdings ließ sich zwischen resistenten und sensiblen Isolaten kein signifikanter Unterschied für das Auftreten bestimmter Virulenzgene feststellen. Dies traf sowohl für das alleinige Auftreten der Gene als auch für Kombination mit den anderen Virulenzgenen zu. Das Virulenzgenprofil „nur *hyl*“ zeigte allerdings eine Tendenz zum signifikanten Unterschied zwischen resistenten und sensiblen *E. faecium*-Isolaten. Diese Tendenz ist sowohl für die Einzelbetrachtungen als auch für die Kombination der Antibiotika Gentamicin und Streptomycin erkennbar.

Es zeigte sich nur ein einziger signifikanter Unterschied zwischen resistenten und sensiblen Isolaten. Fast 40 % der resistenten *E. faecium*-Isolate trugen keines der untersuchten Virulenzgene. Dieser Unterschied ist hochsignifikant für die Isolate, die eine HLR gegenüber Gentamicin oder gegen die Kombination aus Gentamicin und Streptomycin zeigten (siehe Abb. 4.4-2).

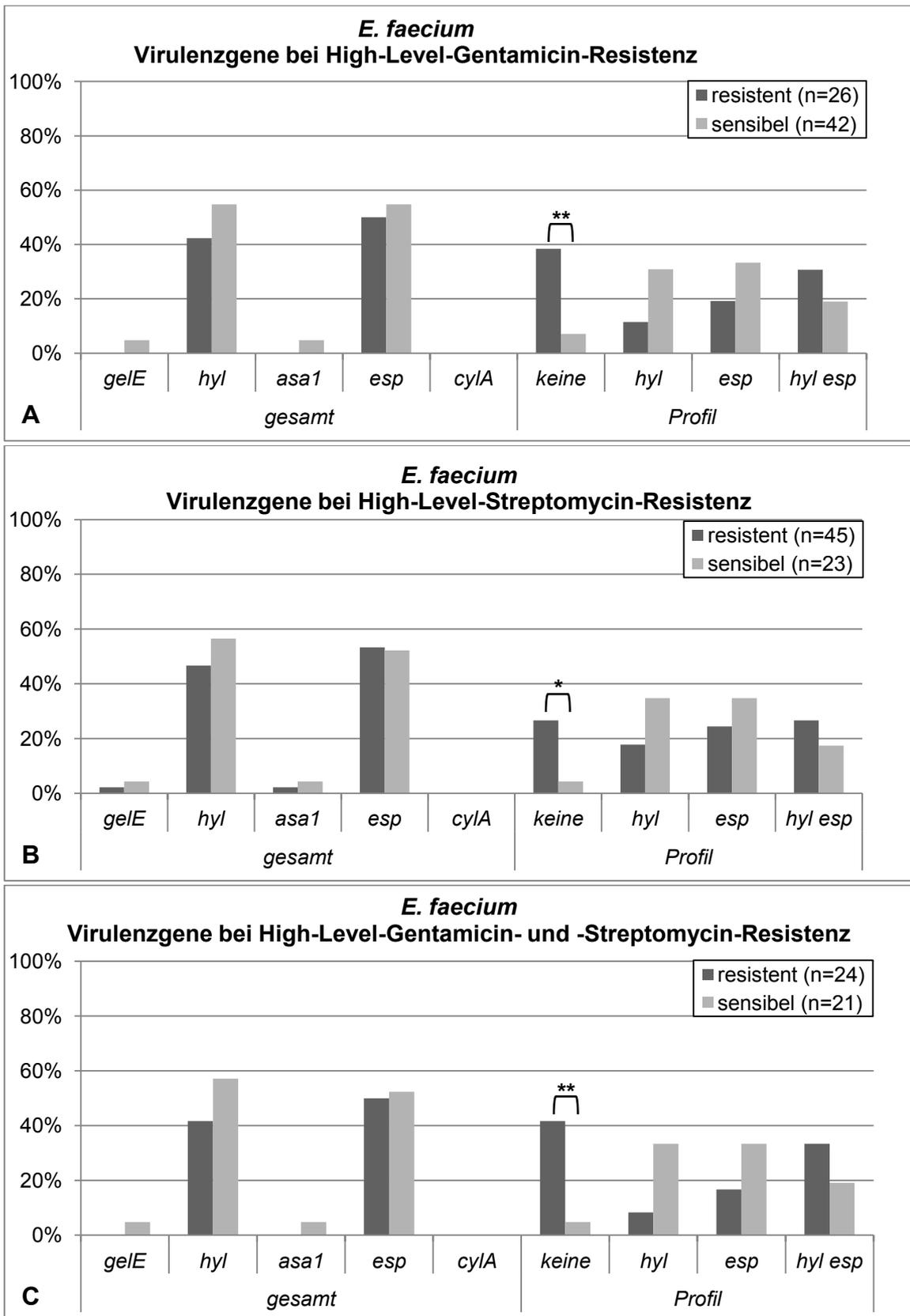


Abb. 4.4-2 *E. faecium* – Virulenzgenprofile für Gentamicin und Streptomycin
(A) Gentamicin HLR; **(B)** Streptomycin HLR; **(C)** Kombination aus beiden
 „gesamt“ bedeutet: summiertes Auftreten eines Virulenzgens in allen Profilen, unabhängig vom Vorhandensein anderer Virulenzgene; „Profil“ bedeutet: Auftreten eines Virulenzgens unter Berücksichtigung der anderen Virulenzgene
asa1-Aggregationssubstanz; *cylA*-Aktivator-Komponente des Cytolysins; *esp*-Enterococcal Surface Protein; *gelE*-Gelatinase; *hyl*-Hyaluronidase
 * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

4.4.2 *E. faecalis*

Bei den *E. faecalis*-Isolaten wurde am häufigsten das Virulenzgen *gelE* detektiert, aber es konnte bei keinem der getesteten Isolate das Gen *hyl* nachgewiesen werden. Bei jeder betrachteten Antibiotikaresistenz wurde das Virulenzgen *asa1* (gesamt) unabhängig vom Vorkommen anderer Gene detektiert (siehe Tab. 4.4-4).

	Virulenzgen					Häufigkeit				Signifikanz	
	<i>gelE</i>	<i>hyl</i>	<i>asa1</i>	<i>esp</i>	<i>cylA</i>	resistente Isolate		sensible Isolate		<i>p</i>	
						absolut	(relativ)	absolut	(relativ)		
TET	asa1 gesamt					59/141	(41,84%)	6/29	(20,69%)	0,037	*
	cylA gesamt					14/141	(9,93%)	0/29	(0%)	0,131	
	x			x		6/141	(4,26%)	4/29	(13,79%)	0,069	
ERY	asa1 gesamt					45/90	(50%)	15/54	(27,78%)	0,009	**
	cylA gesamt					13/90	(14,44%)	1/54	(1,85%)	0,017	*
				x	x	9/90	(10%)	0/54	(0%)	0,014	*
	x			x		2/90	(2,22%)	7/54	(12,96%)	0,027	*
	x		x			33/90	(36,67%)	10/54	(18,52%)	0,024	*
TET+ ERY	asa1 gesamt					43/87	(49,43%)	4/23	(17,39%)	0,008	**
	x			x		2/87	(2,3%)	4/23	(17,39%)	0,017	*
	x		x			31/87	(35,63%)	3/23	(13,04%)	0,044	*
	cylA gesamt					13/87	(14,94%)	0/23	(0%)	0,066	
GNH	asa1 gesamt					33/66	(50%)	31/103	(30,1%)	0,014	*
	x		x			29/66	(43,94%)	16/103	(15,53%)	<0,001	***
	x		x	x		1/66	(1,52%)	12/103	(11,65%)	0,017	*
	esp gesamt					11/66	(16,67%)	31/103	(30,1%)	0,067	
STR	asa1 gesamt					39/74	(52,7%)	25/94	(26,6%)	<0,001	***
	x		x			31/74	(41,89%)	14/94	(14,89%)	<0,001	***
	gelE gesamt					67/74	(90,54%)	75/94	(79,79%)	0,084	
GNH+ STR	asa1 gesamt					29/54	(53,7%)	21/82	(25,61%)	0,001	**
	x		x			27/54	(50%)	12/82	(14,63%)	<0,001	***
	esp gesamt					7/54	(12,96%)	23/82	(28,05%)	0,056	

Tab. 4.4-4 *E. faecalis* – Virulenzgenprofile im Bezug auf Antibiotikaresistenz dargestellt sind nur die häufigen Profile (>5 %) für die einzelnen Antibiotika mit absoluter und relativer Häufigkeit für resistente und sensible Isolate; Aufgliederung, ob die Profile signifikant sind bzw. Tendenz zur Signifikanz zeigen „gesamt“ bedeutet: summiertes Auftreten des Virulenzgens in allen Profilen, unabhängig vom Vorhandensein anderer Virulenzgene; TET-Tetrazyklin; ERY-Erythromycin; GNH-Gentamicin HLR; STR-Streptomycin HLR; *asa1*-Aggregationssubstanz; *cylA*-Aktivator-Komponente des Cytolysins; *esp*-Enterococcal Surface Protein; *gelE*-Gelatinase; *hyl*-Hyaluronidase
* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

Es konnte gezeigt werden, dass bei Tetrazyklin-resistenten *E. faecalis*-Isolaten signifikant häufiger als bei Tetrazyklin-sensiblen Isolaten das Virulenzgen *asa1* detektiert wurde. Eine Tendenz zur Signifikanz zeigte sich in gleicher Weise für die Detektion von *cylA*. Des Weiteren wurde das Virulenzgenprofil „*gelE* + *esp*“

tendenziell häufiger bei Tetrazyklin-sensiblen Isolaten nachgewiesen (siehe Abb. 4.4-3 A).

Für die Erythromycin-Empfindlichkeit der *E. faecalis*-Isolate wurden mehrere signifikante Unterschiede zwischen resistenten und sensiblen Isolaten festgestellt. Bei resistenten Isolaten wurden *asa1* (gesamt) und *cylA* (gesamt) signifikant häufiger detektiert als bei sensiblen Isolaten. Dies traf auch für die Virulenzgenprofile „*gelE* + *asa1*“ und „*esp* + *cylA*“ zu. Die Kombination „*gelE* + *esp*“ war signifikant häufiger bei den sensiblen Isolaten nachweisbar. Für das Virulenzgenprofil „nur *gelE*“ konnte eine Tendenz zur Signifikanz bei Erythromycin-sensiblen Isolaten festgestellt werden (siehe Abb. 4.4-3 B).

Für die Tetrazyklin- und Erythromycin-resistenten *E. faecalis*-Isolate wurde *asa1* (gesamt) häufiger detektiert. Dieser Unterschied war hochsignifikant. Das Virulenzgenprofil „*gelE* + *asa1*“ wurde bei den resistenten Isolaten ebenfalls signifikant häufiger nachgewiesen. Bei *E. faecalis*-Isolaten, die für diese Antibiotikakombination sensibel waren, konnte hingegen signifikant häufiger das Virulenzgenprofil „*gelE* + *esp*“ nachgewiesen werden. Eine Tendenz zur signifikant häufigeren Detektionsrate von *cylA* (gesamt) war für die resistenten Isolate zu erkennen (siehe Abb. 4.4-3 C).

Im Zusammenhang mit der HLR von *E. faecalis*-Isolaten gegenüber Gentamicin und Streptomycin wurde das Virulenzgen *asa1* signifikant häufiger bei resistenten als bei sensiblen Isolaten detektiert. Dies traf sowohl für die Einzelresistenzen als auch für die kombinierte Resistenz der beiden Antibiotika zu.

Des Weiteren wurde ein hochsignifikanter Unterschied in der Detektion des Virulenzgenprofils „*gelE* + *asa1*“ nachgewiesen, da dieses Profil häufiger bei den resistenten *E. faecalis*-Isolaten auftrat.

Das Virulenzgenprofil „*gelE* + *asa1* + *esp*“ wurde signifikant häufiger in *E. faecalis*-Isolaten detektiert, die sensibel gegenüber Gentamicin waren.

Hinsichtlich der Empfindlichkeit der *E. faecalis*-Isolate gegenüber Gentamicin bzw. dessen Kombination mit Streptomycin konnte eine Tendenz zum signifikant häufigeren Vorkommen von *esp* (gesamt) bei sensiblen Isolaten gezeigt werden. Für Streptomycin-sensible *E. faecalis*-Isolate konnte eine Tendenz zum signifikant höheren Vorkommen des Virulenzgenprofils „nur *gelE*“ nachgewiesen werden. Bei resistenten Isolate hingegen wurde *gelE* (gesamt) tendenziell häufiger nachgewiesen (siehe Abb. 4.4-4).

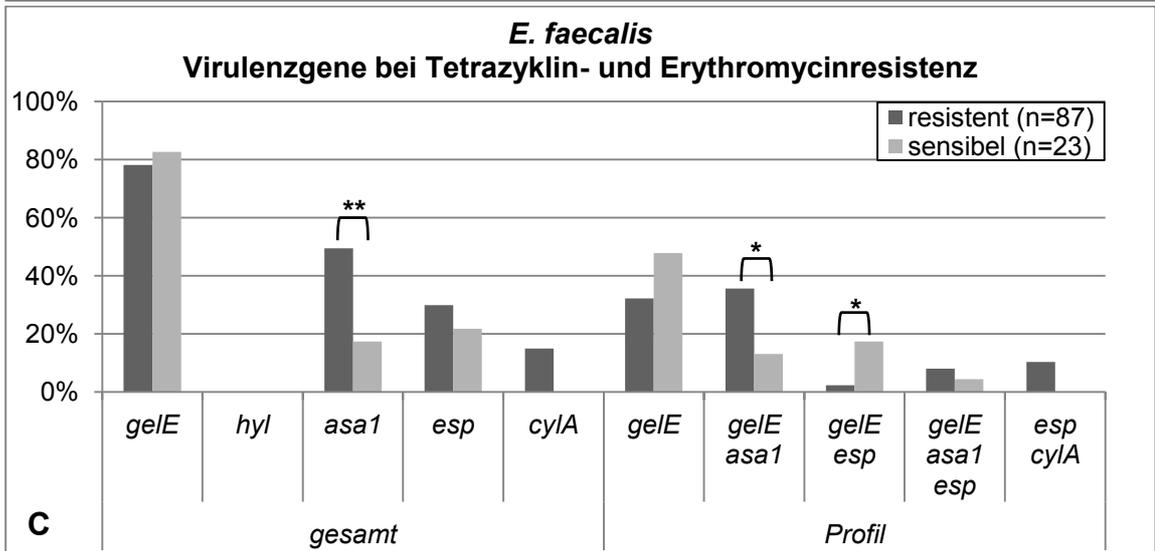
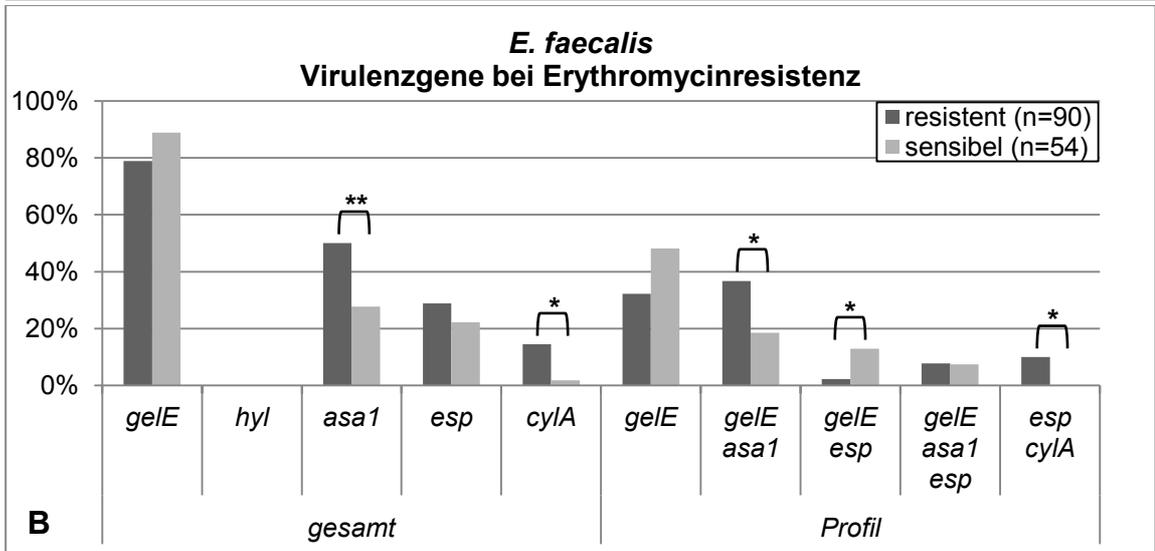
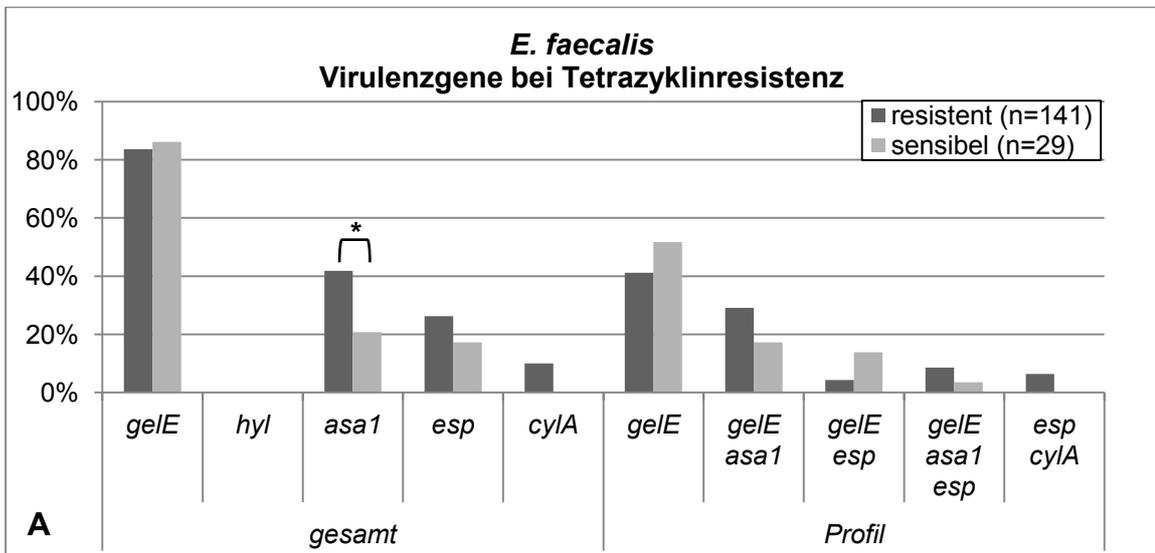


Abb. 4.4-3 *E. faecalis* – Virulenzgenprofile für Tetrazyklin und Erythromycin
(A) Tetrazyklinresistenz; **(B)** Erythromycinresistenz und **(C)** Kombination aus beiden
 „gesamt“ bedeutet: summiertes Auftreten eines Virulenzgens in allen Profilen, unabhängig vom Vorhandensein anderer Virulenzgene; „Profil“ bedeutet: Auftreten eines Virulenzgens unter Berücksichtigung der anderen Virulenzgene
 asa1-Aggregationssubstanz; cylA-Aktivator-Komponente des Cytolysins;
 esp-Enterococcal Surface Protein; gelE-Gelatinase; hyl-Hyaluronidase
 * p<0,05; ** p<0,01

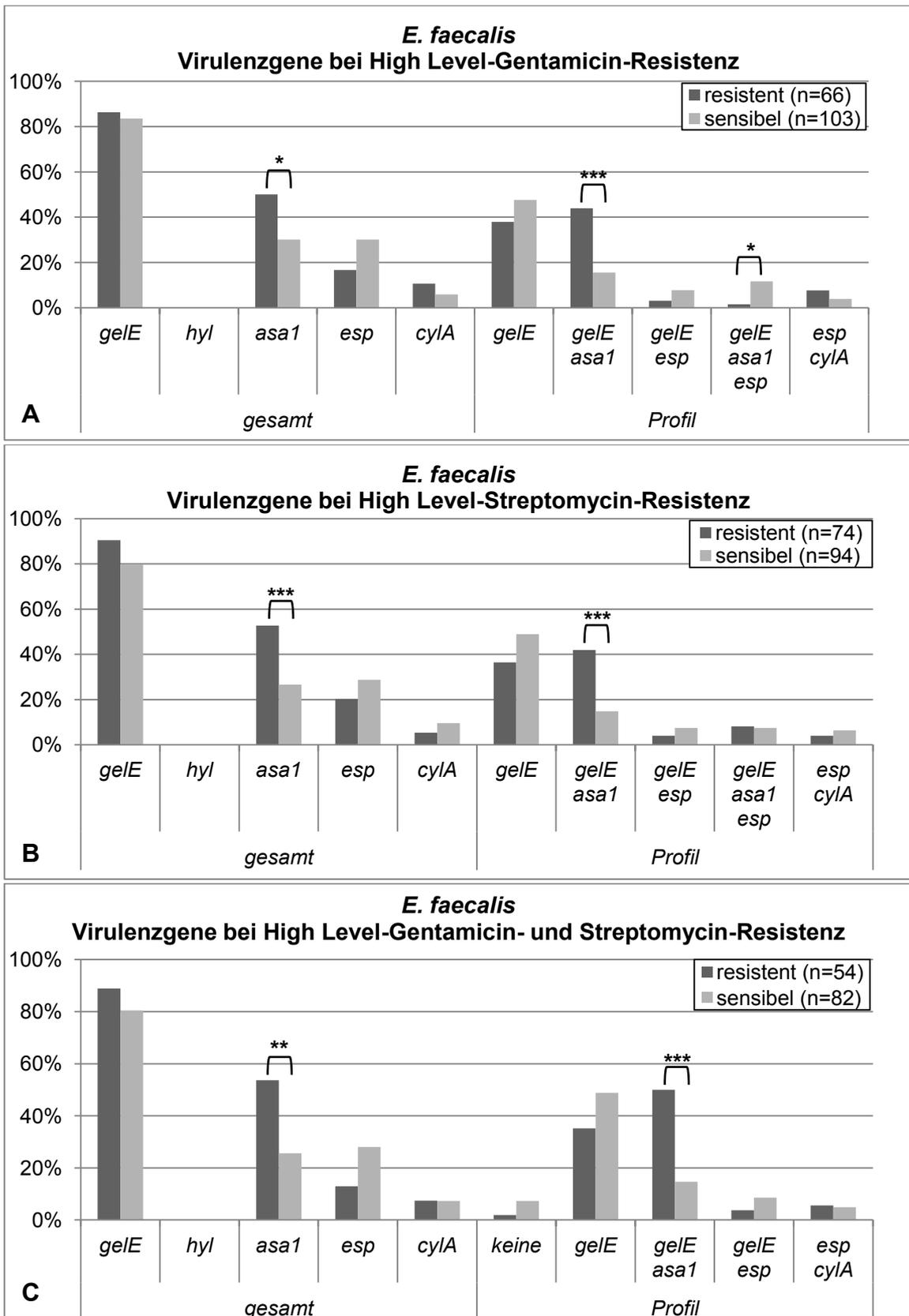


Abb. 4.4-4 E. faecalis – Virulenzgenprofile für Gentamicin und Streptomycin
(A) Gentamicin HLR; **(B)** Streptomycin HLR und **(C)** Kombination aus beiden „gesamt“ bedeutet: summiertes Auftreten eines Virulenzgens in allen Profilen, unabhängig vom Vorhandensein anderer Virulenzgene; „Profil“ bedeutet: Auftreten eines Virulenzgens unter Berücksichtigung der anderen Virulenzgene
asa1-Aggregationssubstanz; *cylA*-Aktivator-Komponente des Cytolysins; *esp*-Enterococcal Surface Protein; *gelE*-Gelatinase; *hyl*-Hyaluronidase
 * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001

5 Diskussion

Von den insgesamt 240 untersuchten Isolaten wurden 69 als *E. faecium* und 171 als *E. faecalis* identifiziert. Auch in anderen Untersuchungen wurde *E. faecalis* als die häufigste nachgewiesene Spezies bei Infektionen durch Enterokokken identifiziert [74]. Das Auftreten beider Spezies hängt von mehreren Faktoren ab. Zum einen hat die Art des Krankenhauses (Maximalversorgung oder Primärversorgung ausgewählter Patientengruppen) und dessen verschiedene Kliniken mit einem unterschiedlichen Patientenspektrum Einfluss darauf. So sind ältere und immunsupprimierte Patienten häufiger mit diesen Spezies infiziert. Des Weiteren hat die Auswahl der Antibiotika Auswirkungen auf den Selektionsdruck der Bakterien. Dies betrifft vor allem Antibiotika, die gegen eine Vielzahl von Bakterien wirksam sind, gegen die Enterokokken allerdings eine natürliche oder erworbene Resistenz aufweisen. Durch den Einsatz von Cephalosporinen oder Fluorchinolonen können Enterokokken somit selektiert werden, insbesondere bei oraler Gabe der Antibiotika. Es besteht bei zusätzlicher Applikation von Glykopeptiden außerdem die Gefahr, Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE) zu selektieren [78, 80].

5.1 Antibiotikaresistenz

Die *E. faecium*-Isolate wiesen insgesamt höhere Antibiotika-Resistenzraten auf als die *E. faecalis*-Isolate. Dies konnte auch in anderen Arbeiten belegt werden [1, 18]. Beide Spezies waren aber auf die Reserveantibiotika wie Linezolid und Tigecyclin sowie Vancomycin und Teicoplanin sensibel. In Übereinstimmung mit dem Phänotyp der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Isolate wurden von Hidron *et al.* bei *E. faecium* gehäuft Resistenzgene gegen klinisch relevante Antibiotika wie Ampicillin und Vancomycin nachgewiesen. Bei *E. faecalis* blieb die Resistenz gegen diese Antibiotika relativ gering [59].

Gegenüber den vier genauer betrachteten Antibiotika Tetrazyklin, Erythromycin, Gentamicin HLR und Streptomycin HLR bestanden insgesamt hohe Resistenzraten für beide Spezies. Lediglich gegenüber Tetrazyklin waren nur weniger als ein Drittel der *E. faecium*-Isolate resistent.

In einer australischen Studie konnte für ca. 15 % der *E. faecium*-Isolate eine Tetrazyklin-Resistenz nachgewiesen werden. Die Resistenz der *E. faecalis*-Isolate gegenüber Tetrazyklin ist mit 72,9 % bedeutend höher [115]. Cariolato *et al.* wiesen

diese Resistenz bei ca. 20 % der untersuchten *E. faecium*-Isolate und bei 65,8 % der *E. faecalis*-Isolate nach [18]. Dicuonzo *et al.* detektierten eine Tetrazyklin-Resistenz bei 67 % der *E. faecalis*-Isolate [32]. Aarestrup *et al.* wiesen diese bei 12 % der untersuchten *E. faecium*-Isolate nach [1]. Diese Ergebnisse waren mit denen der vorliegenden Arbeit vergleichbar. Eine Abweichung ergibt sich aus den Untersuchungen von Dicuonzo *et al.*, in denen mit 61 % eine höhere Resistenzrate bei *E. faecium*-Isolaten nachgewiesen wurde [32]. Weiterhin detektierten Aarestrup *et al.* bei *E. faecalis*-Isolaten mit 37 % eine geringere Tetrazyklin-Resistenzrate als in der vorliegenden Arbeit und den anderen aufgeführten Arbeiten [1].

In der vorliegenden Arbeit lagen die Resistenzraten gegenüber Erythromycin bei 97 % für *E. faecium*- und 52,6 % (+ 15,8 % intermediäre Resistenz) für *E. faecalis*-Isolate. Aarestrup *et al.* detektierten diese Resistenz bei 20 % der *E. faecium*- und bei 22 % der *E. faecalis*-Isolate und damit seltener als in der vorliegenden Arbeit [1]. Cariolato *et al.* beobachteten bei ca. 40 % der *E. faecium*- und bei 28,9 % der *E. faecalis*-Isolate eine Resistenz gegenüber Erythromycin [18]. Die Resistenzrate war damit bedeutend geringer als in der vorliegenden Arbeit. Allerdings wurden in die Betrachtung von Cariolato *et al.* auch Isolate aus Milchprodukten mit einbezogen. Die Enterokokken-Isolate aus klinischen Proben wiesen eine signifikant höhere Antibiotika-Resistenzrate auf als die Isolate aus nicht-klinischen Proben. Zwischen diesen beiden Gruppen wurde in der Darstellung der Resistenzraten für *E. faecium* und *E. faecalis* getrennt betrachtet allerdings nicht unterschieden [18].

Eine Streptomycin HLR wurde in der vorliegenden Arbeit bei 66 % der *E. faecium*- und bei 44 % der *E. faecalis*-Isolate detektiert. Cariolato *et al.* konnten diese Resistenz bei ca. 45 % der *E. faecium*- und bei 42,1 % der *E. faecalis*-Isolate nachweisen [18]. Dicuonzo *et al.* detektierten bei 31 % der *E. faecium*- und bei 39 % der *E. faecalis*-Isolate eine Resistenz gegenüber Streptomycin [32]. Die in der vorliegenden Arbeit detektierten Resistenzraten stimmen damit in etwa mit diesen Ergebnissen überein.

Eine HLR gegenüber Gentamicin wiesen 38 % der *E. faecium*- und 39 % der *E. faecalis*-Isolate auf. In der Literatur sind große Abweichungen der angegebenen Resistenzraten zu finden. Cariolato *et al.* beobachteten bei ca. 28 % der *E. faecium*- und bei 10,5 % der *E. faecalis*-Isolate aus Norditalien eine Gentamicin-Resistenz [18]. Eine italienische Gruppe um Dicuonzo *et al.* detektierte diese Resistenz bei 15 % der *E. faecium*- und bei 39 % der *E. faecalis*-Isolate [32]. Eine australische Gruppe um Rathnayake *et al.* wies bei 70,4 % der *E. faecium*- und bei 77,9 % der

E. faecalis-Isolate eine Resistenz gegenüber Gentamicin nach [115]. Eine schwedische Gruppe um Billström *et al.* detektierte eine HLR gegenüber Gentamicin nur bei 2 % der *E. faecium*-Isolate [13]. Die Resistenzraten der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Isolate liegen damit in der Mitte der in der Literatur gefundenen Spanne. Die schwankenden Resistenzraten könnten mit den unterschiedlich starken Gebrauch von Gentamicin in der Behandlung von Infektionen durch Enterokokken in den unterschiedlichen Ländern erklärt werden.

Antibiotikaresistenzen können durch verschiedene Mechanismen verbreitet werden. Zum einen steigert die prophylaktische Gabe von Antibiotika den Selektionsdruck, sodass resistente Enterokokken dominieren. Des Weiteren verbreiten sich Resistenzen durch unzureichende Isolierungs- und Hygienemaßnahmen von hospitalisierten Patienten, die bereits Träger resistenter Stämme sind [75].

Enterokokken, vor allem *E. faecium* und *E. faecalis*, kommen gehäuft in Lebensmitteln vor. *E. faecium* wurde am häufigsten aus Hühner- und Schweinefleisch isoliert [72]. Antibiotika werden außerdem in subtherapeutischer Dosierung als Futterzusatz in der Tierhaltung eingesetzt. Dadurch können resistente Stämme selektiert werden [75]. Die Verunreinigung der Lebensmittel durch die intestinale Flora der Tiere kann trotz hoher Hygienestandards bei der Schlachtung oft nicht vermieden werden [72]. Da Enterokokken somit in Milch- und Wurstprodukten vorkommen, können Antibiotikaresistenzen über diese weiter verbreitet werden [47, 81, 133]. Aarestrup *et al.* konnten bei *E. faecalis*-Isolaten ein vermehrtes Vorkommen von Antibiotikaresistenzen bei Tieren (Hühner und Schweine) im Vergleich zum Menschen nachweisen [1].

In der Tierhaltung wurde bis 1997 Avoparcin, welches eine Kreuzresistenz gegenüber Vancomycin und Teicoplanin vermittelt, zur Wachstumsförderung eingesetzt. In den Stuhlproben so behandelter Tiere wurden vermehrt *vanA*-Typ *E. faecium*-Stämme nachgewiesen [72, 73]. Über die Nahrungskette könnten diese Enterokokken somit auf den Menschen übertragen werden. Klare *et al.* konnten in diesem Zusammenhang in Stuhlproben ambulant untersuchter Patienten VRE nachweisen [72, 75]. Andererseits wurden in Ländern wie den USA, in denen Avoparcin nicht verwendet wurde, keine VRE in Fleischprodukten oder beim Menschen detektiert [26]. Durch das Verbot dieser Futterzusätze konnte ein Rückgang der Vancomycin-Resistenzen von Enterokokken bei Tieren, in tierischen Produkten und beim Menschen verzeichnet werden [2, 7, 14, 71, 109].

5.1.1 Vancomycin-resistente Enterokokken

Eine Vancomycin-Resistenz wurde in der vorliegenden Arbeit lediglich bei *E. faecium*-Isolaten beobachtet. *E. faecium* ist als Hauptreservoir für diese Resistenz bekannt [18, 74, 145]. Bei *E. faecalis* sind Glycopeptid-Resistenzen weltweit jedoch selten mit Ausnahme von Australien und Neuseeland [80].

Es wurden unter 69 *E. faecium*-Isolaten insgesamt nur drei VRE (4 %) nachgewiesen. Dies korreliert mit älteren Untersuchungen aus europäischen Ländern (2001: 2,7 % [83]; 2000-2005: 5 % [13]) und speziell auch in deutschen Krankenhäusern (1994: 1,8 % [141]; 2003: 2-4 % [75]). Bei neueren Untersuchungen wurde allerdings von höheren Resistenzraten (2007: 10,8 % [84]; 2011-2012: 8-15 % [78]) berichtet. Eine Erklärung für ein niedrigeres Vorkommen von VRE in Deutschland im Vergleich zu den USA könnte der begrenztere Einsatz von Vancomycin bei Infektionen mit Enterokokken sein [70, 75]. Aarestrup *et al.* detektierten unter den klinischen *E. faecium*-Isolaten keine Vancomycin-Resistenz. Es konnte in diesem Zusammenhang ein signifikanter Unterschied zu tierischen Isolaten ermittelt werden. In den Isolaten aus Hähnchen waren 10 %, in denen aus Schweinen 17 % Vancomycin-resistent. Eine Begründung dafür sei, dass Vancomycin in Dänemark selten zur Behandlung eingesetzt würde [1].

Die Glycopeptid-Resistenz wird durch verschiedene *van*-Genotypen vermittelt. Danach werden unterschiedliche Typen einer erworbenen Resistenz beschrieben (siehe Abschnitt 1.5).

Der *vanA*-Typ wurde bei den VRE in mehreren Studien am häufigsten detektiert [74, 75]. Allerdings konnte bei Untersuchungen an deutschen Krankenhäusern von 2006 zu 2009 ein signifikanter Anstieg von Vancomycin-resistenten *E. faecium*-Isolaten mit *vanB*-Typ beobachtet werden [145]. Im Jahre 2008 detektierten Klare *et al.* den *vanB*-Typ bei 28 % der untersuchten *E. faecium*-Isolate und bei 0,8 % der *E. faecalis*-Isolate; im Jahre 2009 bei 41,5 % der *E. faecium*-Isolate und bei 2,4 % der *E. faecalis*-Isolate [80]. Ähnliche Ergebnisse wurden auch in anderen europäischen Staaten wie Schweden ermittelt [127, 145].

E. faecium gilt sowohl für den *vanA*-Typ als auch für den *vanB*-Typ als Hauptreservoir [80]. Inzwischen wird der *vanB*-Typ fast genau so häufig bei *E. faecium*-Isolaten detektiert, wie der *vanA*-Typ [78]. Die anderen Resistenztypen treten seltener auf und sind klinisch weniger relevant [106].

Unter den VRE wurde die Häufigkeit des Vorkommens der Virulenzgene ermittelt. Das Virulenzgen *esp* wurde in allen drei VRE-Isolaten bestimmt (100 %). Der signifikant erhöhte Nachweis von *esp* unter den VRE konnte auch in anderen Arbeiten belegt werden. So detektierte die Gruppe um Rice *et al.* unter VRE-Isolaten aus verschiedenen Ländern (USA, Argentinien, Belgien, Frankreich, Deutschland, Norwegen, Saudi-Arabien, Spanien, Großbritannien) bei 81 % das Gen *esp* [117]. Die Gruppe um Vankerckhoven analysierten Proben aus Australien, Belgien, Frankreich, Deutschland, Italien, den Niederlanden, Spanien und Großbritannien. Dabei wiesen sie bei 77 % der untersuchten VRE-Isolate *esp* nach [139]. Weitere Studien zwischen 2001 und 2003 zeigten sowohl gegenteilige Ergebnisse [27, 36, 88] als auch eine gleiche Verteilung von *esp* unter Vancomycin-resistenten und -sensiblen Isolaten [117, 150]. Werner *et al.* [147] konnten in Untersuchungen von 2004 bis 2006 unter 51 VRE 26 Isolate nachweisen, die das Gen *esp* trugen. Zusammen mit den 8 Isolaten, bei denen beide Gene (*esp* und *hyl*) detektiert wurden, konnten also bei 34 von 51 (66,7 %) der VRE *esp* nachgewiesen werden. Im Vergleich zu den Isolaten der vorliegenden Arbeit wurden von Werner *et al.* weniger *esp*-positive VRE detektiert. Allerdings traf dies immerhin auf zwei Drittel zu. Die Anzahl der von Werner *et al.* untersuchten Isolate war bedeutend größer, als in der vorliegenden Arbeit, da hier unter 240 Enterokokken nur 3 VRE nachgewiesen wurden.

Weiterhin konnten Werner *et al.* bei 12 Isolaten *hyl* detektieren. Zusammen mit den 8 oben genannten Isolaten, die beide Gene trugen, konnte *hyl* bei 20 von 51 (39,2 %) der VRE nachgewiesen werden. In der vorliegenden Arbeit wurde das Gen *hyl* bei einem VRE-Isolat detektiert (33,3 %). Die Anteile sind also vergleichbar. Ein selteneres Auftreten von *hyl* wurde von Vankerckhoven *et al.* nachgewiesen. Hier wurde das Gen nur bei 16 % der VRE detektiert [139].

Wie oben erwähnt, konnten Werner *et al.* in 8 Isolaten (15,7 %) *esp* und *hyl* nachweisen. In der vorliegenden Arbeit wurde diese Kombination bei einem VRE detektiert (33,3 %). Werner *et al.* konnten bei den überbleibenden 5 Isolaten keins der beiden Gene nachweisen. In der vorliegenden Arbeit wurde jedoch mindestens eins der beiden Gene bei jedem VRE detektiert. Allerdings wurden weniger Isolate untersucht, wodurch sich die abweichenden Ergebnisse erklären lassen könnten.

Vankerckhoven *et al.* [139] konnten außerdem ein signifikant häufigeres Vorkommen von *esp* (85 %) bei Ampicillin-resistenten VRE im Vergleich zu Ampicillin-sensiblen (42 %) VRE detektieren. Gleiches wurde für das Gen *hyl* beobachtet. Es wurde bei

15 % der Ampicillin-resistenten VRE, aber nur bei 2 % der Ampicillin-sensiblen VRE nachgewiesen. Beide Korrelationen von *esp* und *hyl* mit Ampicillin-resistenten VRE konnten auch in anderen Studien aus verschiedenen europäischen Ländern (darunter Portugal, Deutschland, Großbritannien, Frankreich, Spanien, Italien, Österreich, Türkei, Schweiz, Griechenland und Polen) gezeigt werden [27, 88].

5.2 Korrelation von Antibiotikaresistenz und Virulenzgenprofil

5.2.1 *E. faecium*

Bei keinem der untersuchten *E. faecium*-Isolate wurde das Virulenzgen *cyIA* detektiert. Dies stimmt mit dem Ergebnis von anderen Gruppen überein [13, 122, 139].

Weiterhin konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Resistenz gegen ein bestimmtes Antibiotikum und der Detektion bestimmter Virulenzgene festgestellt werden. Allerdings wurde ein signifikanter Zusammenhang für *E. faecium*-Isolate festgestellt, bei denen keines der getesteten Virulenzgene nachgewiesen wurde. Diese Isolate wiesen eine HLR entweder gegenüber Streptomycin, Gentamicin oder die Kombination aus beiden Antibiotika auf.

In anderen Arbeiten konnten Korrelationen zwischen Resistenzen gegen andere Antibiotika und dem Vorkommen von Virulenzgenen festgestellt werden. So belegte eine australische Gruppe um Rathnayake einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein bestimmter Virulenzgene (z.B. *cyIA*, *esp*, *gelE*) und einigen Antibiotikaresistenzen (Tetrazyklin, Ciprofloxacin, Gentamicin, Ampicillin, Vancomycin, Linezolid) bei *E. faecium*-Isolaten [115].

Billström *et al.* [13] zeigten, dass *E. faecium*-Isolate einer schwedischen Klinik, die das Gen *esp* trugen, eine höhere Resistenz gegenüber Ampicillin, Ciprofloxacin und Imipenem aufwiesen als Isolate, bei denen dieses Gen nicht nachgewiesen wurde. Diese Korrelation zwischen der Detektion von *esp* und den oben genannten Antibiotika-Resistenzen war hochsignifikant. Dies könnte durch die höhere Konjugationsrate der *esp*-positiven Isolate erklärt werden [90].

Insgesamt konnten Billström *et al.* *esp* bei 56 % der untersuchten *E. faecium*-Isolate nachweisen. Das Gen *hyl* wurde bei 4 % detektiert; alle weiteren getesteten Virulenzgene waren nur sporadisch nachweisbar (≤ 1 %) [13].

In der vorliegenden Arbeit wurde *esp* bei 52,2 % und *hyl* bei 50,7 % der *E. faecium*-Isolate nachgewiesen. Ein vermehrtes Vorkommen von *esp* konnte auch in anderen Untersuchungen gezeigt werden (70,4 % [115], 78 % [37], 68 % [38], 65 % [139]). Das erhöhte Vorkommen von *hyl* im Gegensatz zu den Ergebnissen von Billström *et al.* korrelierte mit den Daten anderer Arbeitsgruppen (Westeuropa: 17 % [139], Deutschland: 10/19 (53 %) [76]).

5.2.2 *E. faecalis*

Im Allgemeinen besitzen *E. faecalis*-Isolate ein breiteres Spektrum an Virulenzfaktoren als *E. faecium*-Isolate [115].

In der vorliegenden Arbeit konnte bei keinem der untersuchten *E. faecalis*-Isolate das Virulenzgen *hyl* nachgewiesen werden, allerdings wurde *gelE* bei den meisten Isolaten (84,2 %) detektiert. Dies traf für resistente sowie sensible Isolate gleichermaßen zu. Die Australier Rathnayake *et al.* konnten das Gen bei 64,4 % der klinischen *E. faecalis*-Isolate nachweisen [115]. Jankoska *et al.* detektierten *gelE* bei 68 % der Isolate [63]. Damit sind die Inzidenzen zwar geringer, als bei den Isolaten der vorliegenden Arbeit, aber trotzdem relativ hoch. Eine weitere Arbeit von Johansson *et al.* zeigte ebenfalls ein hohes Vorkommen von *gelE*. Hier konnte das Gen bei 80 % der klinischen, Endokarditis verursachenden *E. faecalis*-Isolate und bei 75 % der Isolate aus der Normalflora nachgewiesen werden [65]. Die Häufigkeiten gleichen somit denen der vorliegenden Arbeit.

Das Gen *esp* wurde in der vorliegenden Arbeit bei 24,6 % der untersuchten *E. faecalis*-Isolate nachgewiesen. Rathnayake *et al.* konnten *esp* bei 67,8 % der Isolate und damit wesentlich häufiger detektieren [115]. In einer britischen Studie wurde *esp* ebenfalls häufiger (44 %) nachgewiesen [37]. Jankoska *et al.* wiesen *esp* bei 76 % der *E. faecalis*-Isolate nach [63]. In der Arbeit von Johansson *et al.* ist die Häufigkeit in klinischen Isolaten und denen aus der Normalflora jeweils mit 48 % beschrieben [65]. Insgesamt schwanken die Inzidenzen von *esp* in der Literatur. Meist waren sie jedoch höher als in den Untersuchungen dieser Arbeit.

Die Häufigkeit von *asa1* lag bei den *E. faecalis*-Isolaten bei 38 %. Johansson *et al.* wiesen *asa1* bei 80 % der klinischen Isolate und bei 72 % der Isolate aus der Normalflora und damit weitaus häufiger nach [65]. In einer Arbeit von Coque *et al.* wurde *asa1* bei 54 % der klinischen Isolate detektiert und damit ebenfalls häufiger als in den Isolaten der vorliegenden Arbeit [25].

Das Gen *asa1* wurde signifikant häufiger in *E. faecalis*-Isolaten nachgewiesen, die resistent gegen Tetrazyklin, Erythromycin, Gentamicin HLR oder Streptomycin HLR waren. Weiterhin trat das Virulenzgenprofil „*gelE* + *esp*“ signifikant häufiger bei den *E. faecalis*-Isolaten auf, die sowohl sensibel gegenüber Erythromycin als auch gegen die Kombination von Erythromycin mit Tetrazyklin waren. Bei Isolaten, die nur auf Tetrazyklin sensibel reagierten, konnte dieses Virulenzgenprofil ebenfalls häufiger detektiert werden. Allerdings wurde hierbei kein signifikanter Unterschied zu Tetrazyklin-resistenten Isolaten nachgewiesen.

Das Virulenzgenprofil „*gelE* + *asa1*“ wurde signifikant häufiger bei *E. faecalis*-Isolaten detektiert, die resistent gegenüber Erythromycin und dessen Kombination mit Tetrazyklin waren. Dieser Unterschied war für Isolate, die gegen Streptomycin oder Gentamicin sowie gegen die Kombination beider Antibiotika eine HLR zeigten, sogar hochsignifikant.

Die Australier Rathnayake *et al.* konnten ebenfalls einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein bestimmter Virulenzgene und Antibiotikaresistenzen bei *E. faecalis*-Isolaten nachweisen [115].

Jankoska *et al.* konnten einen solchen Zusammenhang bei einer Resistenz gegenüber Ampicillin, Ceftriaxon und Ciprofloxacin nicht bestätigen [63].

5.3 Schlussfolgerung und Ausblick

Die Resistenzlage der untersuchten Enterokokken-Isolate des Universitätsklinikums in Magdeburg ist mit anderen Daten vergleichbar. Es wurden hohe Resistenzraten gegen klinisch häufig eingesetzte Antibiotika-Gruppen wie Penicilline und Aminoglykoside detektiert. Außerdem waren die in den Urinkulturen nachgewiesenen Enterokokken-Isolate häufig resistent gegen die bei Harnwegsinfekten eingesetzte kalkulierte Antibiotika-Therapie (z.B. Trimethoprim/Sulfamethoxazol). Auch gegen die vier näher untersuchten Antibiotika waren – vor allem bei älteren Patienten – hohe Resistenzraten detektierbar. Diese haben meist einen reduzierten Gesundheits- sowie Immunstatus und wurden eventuell schon häufiger im Krankenhaus bzw. schon öfter mit Antibiotika behandelt. Der resultierende Selektionsprozess könnte den vermehrten Nachweis von Enterokokken mit höheren Resistenzraten erklären. Vancomycin als Reserveantibiotikum stellt allerdings weiterhin eine Therapiealternative dar.

Des Weiteren konnten Unterschiede bei den Resistenzraten der Patientenisolate einzelner Stationen nachgewiesen werden. Dies lässt vermuten, dass es hier einen Zusammenhang zwischen den verschiedenen Krankheitsspektren und dem daher eingesetzten Antibiotika-Regime gibt. Für den Nachweis hierfür sind retrospektive Studien denkbar, die die verwendeten Antibiotika-Schemata der Fachdisziplinen überprüfen.

Das Vorkommen der Virulenzgene ist ebenfalls mit anderen Arbeitsgruppen vergleichbar. Allein das Gen *asa1* wurde in der vorliegenden Arbeit unter den *E. faecalis*-Isolaten seltener nachgewiesen als in anderen Arbeiten. Allerdings wurde dieses Virulenzgen signifikant häufiger bei *E. faecalis*-Isolaten detektiert, die resistent gegen die genauer untersuchten Antibiotika waren. Die Aggregationssubstanz, die durch das Gen *asa1* kodiert wird, beeinflusst den Austausch von Plasmiden unter den Enterokokken. Da sich auf den Plasmiden auch Resistenzgene befinden können, wäre dies eine mögliche Erklärung für das gehäufte Vorkommen von *asa1* bei bestimmten Antibiotika-Resistenzen.

Für *E. faecium*-Isolate ist das Fehlen der untersuchten Virulenzgene bei HLR gegen Gentamicin, Streptomycin und der Kombination beider Antibiotika häufiger. Womöglich beeinflusst das Vorhandensein der exprimierten Virulenzfaktoren den Selektionsprozess der Enterokokken. Um diesen Prozess genauer untersuchen zu können, wären allerdings weitere Studien erforderlich.

6 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit beschäftigte sich mit der Resistenzlage und dem Vorkommen bestimmter Virulenzgene bei Enterokokken-Spezies am Universitätsklinikum Magdeburg im Zeitraum von März bis September 2010. Es wurden 171 *E. faecium*- und 69 *E. faecalis*-Isolate untersucht, die routinemäßig aus Urinproben von Patienten der verschiedenen Kliniken des Universitätsklinikums angezüchtet wurden.

Für *E. faecium* wurden mittels VITEK® 2-System phänotypisch mehr Resistenzen nachgewiesen als für *E. faecalis*. VRE wurden nur bei *E. faecium* detektiert.

Die Antibiotika-Resistenzen gegenüber Tetrazyklin, Erythromycin, Gentamicin HLR und Streptomycin HLR wurden genauer betrachtet. Bei den *E. faecium*-Isolaten wiesen 30,4 % eine Resistenz gegenüber Tetrazyklin, 97,1 % gegenüber Erythromycin, 38,2 % eine HLR gegenüber Gentamicin und 66,2 % gegenüber Streptomycin auf. Für *E. faecalis*-Isolate wurden die Resistenzraten in gleicher Weise detektiert: 82,5 %, 52,6 %, 39 % und 44 %. Für die Isolate der Patienten aus den verschiedenen Kliniken gab es kaum Abweichungen von diesen durchschnittlichen Resistenzraten.

Weiterhin wurde die Häufigkeit des Auftretens der Gene *asa1*, *cylA*, *gelE*, *esp* und *hyl* mittels PCR untersucht. Für *E. faecium*-Isolate wurden folgende Häufigkeiten detektiert: *esp*: 52,2 %, *hyl*: 50,7 %, *gelE*: 2,9 %, *asa1*: 2,9 %, *cylA*: 0 %. Die Häufigkeiten der *E. faecalis*-Isolate unterscheiden sich meist deutlich: *esp*: 24,6 %, *hyl*: 0 %, *gelE*: 84,2 %, *asa1*: 38 %, *cylA*: 8,2 %. Das Vorkommen dieser Gene wurde ebenfalls für Isolate von Patienten aus den einzelnen Kliniken miteinander verglichen.

Letztendlich wurde nach einem möglichen Zusammenhang der Antibiotika-resistenzen und dem Virulenzgenvorkommen gesucht. Für *E. faecium*-Isolate wurde gezeigt, dass bei signifikant mehr resistenten Isolaten gegenüber Gentamicin HLR, Streptomycin HLR oder deren Kombination keines der Virulenzgene detektiert wurde. Für *E. faecalis*-Isolate war das Auftreten von *asa1* (gesamt) signifikant häufiger bei resistenten Isolaten nachzuweisen. Des Weiteren wurde das Profil „*gelE* + *asa1*“ signifikant häufiger bei Resistenzen gegenüber Erythromycin, Gentamicin HLR, Streptomycin HLR und den Kombinationen aus Tetrazyklin + Erythromycin und Gentamicin HLR + Streptomycin HLR detektiert. Das Profil „*gelE* + *esp*“ wurde hingegen signifikant häufiger bei *E. faecalis*-Isolaten nachgewiesen, die entweder gegenüber Erythromycin oder dessen Kombination mit Tetrazyklin sensibel waren.

7 Literaturverzeichnis

- [1] Aarestrup FM, Agero Y, Gerner-Smidt P, Madsen M und Jensen LB: *Comparison of antimicrobial resistance phenotypes and resistance genes in Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium from humans in the community, broilers, and pigs in Denmark*. Diagn Microbiol Infect Dis. 37(2). 127–137 (2000).
- [2] Aarestrup FM, Seyfarth AM, Emborg HD, Pedersen K, Hendriksen RS und Bager F: *Effect of abolishment of the use of antimicrobial agents for growth promotion on occurrence of antimicrobial resistance in fecal enterococci from food animals in Denmark*. Antimicrob Agents Chemother. 45(7). 2054–2059 (2001).
- [3] Abriouel H, Omar NB, Molinos AC, López RL, Grande MJ, Martínez-Viedma P, Ortega E, Cañamero MM und Galvez A: *Comparative analysis of genetic diversity and incidence of virulence factors and antibiotic resistance among enterococcal populations from raw fruit and vegetable foods, water and soil, and clinical samples*. Int J Food Microbiol. 123(1-2). 38–49 (2008).
- [4] Arsène S und Leclercq R: *Role of a qnr-like gene in the intrinsic resistance of Enterococcus faecalis to fluoroquinolones*. Antimicrob Agents Chemother. 51(9). 3254–3258 (2007).
- [5] Arthur M, Molinas C, Depardieu F und Courvalin P: *Characterization of Tn1546, a Tn3-related transposon conferring glycopeptide resistance by synthesis of depsipeptide peptidoglycan precursors in Enterococcus faecium BM4147*. J Bacteriol. 175(1). 117–127 (1993).
- [6] Arthur M, Reynolds P und Courvalin P: *Glycopeptide resistance in enterococci*. Trends Microbiol. 4(10). 401–407 (1996).
- [7] Bager F, Aarestrup FM, Madsen M und Wegener HC: *Glycopeptide resistance in Enterococcus faecium from broilers and pigs following discontinued use of avoparcin*. Microb Drug Resist. 5(1). 53–56 (1999).
- [8] Baker JW, Deitch EA, Li M, Berg RD und Specian RD: *Hemorrhagic shock induces bacterial translocation from the gut*. J Trauma. 28(7). 896–906 (1988).
- [9] Bar K, Wisplinghoff H, Wenzel RP, Bearman GML und Edmond MB: *Systemic inflammatory response syndrome in adult patients with nosocomial bloodstream infections due to enterococci*. BMC Infect Dis. 6. 145 (2006).
- [10] Berg RD: *Bacterial translocation from the gastrointestinal tracts of mice receiving immunosuppressive chemotherapeutic agents*. Current Microbiology. 8. 285–292 (1983).
- [11] Berg RD und Owens WE: *Inhibition of translocation of viable Escherichia coli from the gastrointestinal tract of mice by bacterial antagonism*. Infect Immun. 25(3). 820–827 (1979).

- [12] Berg RD, Wommack E und Deitch EA: *Immunosuppression and intestinal bacterial overgrowth synergistically promote bacterial translocation*. Arch Surg. 123(11). 1359–1364 (1988).
- [13] Billström H, Lund B, Sullivan A und Nord CE: *Virulence and antimicrobial resistance in clinical Enterococcus faecium*. Int J Antimicrob Agents. 32(5). 374–377 (2008).
- [14] Boerlin P, Wissing A, Aarestrup FM, Frey J und Nicolet J: *Antimicrobial growth promoter ban and resistance to macrolides and vancomycin in enterococci from pigs*. J Clin Microbiol. 39(11). 4193–4195 (2001).
- [15] Borgmann S, Niklas DM, Klare I, Zabel LT, Buchenau P, Autenrieth IB und Heeg P: *Two episodes of vancomycin-resistant Enterococcus faecium outbreaks caused by two genetically different clones in a newborn intensive care unit*. Int J Hyg Environ Health. 207(4). 386–389 (2004).
- [16] Brock TD und Davie JM: *Probable identity of a group D hemolysin with a bacteriocine*. J Bacteriol. 86. 708–712 (1963).
- [17] Caballero-Granado FJ, Becerril B, Cisneros JM, Cuberos L, Moreno I und Pachón J: *Case-control study of risk factors for the development of enterococcal bacteremia*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 20(2). 83–90 (2001).
- [18] Cariolato D, Andrighetto C und Lombardi A: *Occurrence of virulence factors and antibiotic resistances in Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium collected from dairy and human samples in North Italy*. Food Control. 19(9). 886–892 (2008).
- [19] Cetinkaya Y, Falk P und Mayhall CG: *Vancomycin-resistant enterococci*. Clin Microbiol Rev. 13(4). 686–707 (2000).
- [20] Choksey MS und Malik IA: *Zero tolerance to shunt infections: can it be achieved?* J Neurol Neurosurg Psychiatry. 75(1). 87–91 (2004).
- [21] Chow JW, Thal LA, Perri MB, Vazquez JA, Donabedian SM, Clewell DB und Zervos MJ: *Plasmid-associated hemolysin and aggregation substance production contribute to virulence in experimental enterococcal endocarditis*. Antimicrob Agents Chemother. 37(11). 2474–2477 (1993).
- [22] Clewell DB: *Bacterial sex pheromone-induced plasmid transfer*. Cell. 73(1). 9–12 (1993).
- [23] Clewell DB und Weaver KE: *Sex pheromones and plasmid transfer in Enterococcus faecalis*. Plasmid. 21(3). 175–184 (1989).
- [24] Coburn PS und Gilmore MS: *The Enterococcus faecalis cytolysin: a novel toxin active against eukaryotic and prokaryotic cells*. Cell Microbiol. 5(10). 661–669 (2003).

- [25] Coque TM, Patterson JE, Steckelberg JM und Murray BE: *Incidence of hemolysin, gelatinase, and aggregation substance among enterococci isolated from patients with endocarditis and other infections and from feces of hospitalized and community-based persons.* J Infect Dis. 171(5). 1223–1229 (1995).
- [26] Coque TM, Tomayko JF, Ricke SC, Okhyusen PC und Murray BE: *Vancomycin-resistant enterococci from nosocomial, community, and animal sources in the United States.* Antimicrob Agents Chemother. 40(11). 2605–2609 (1996).
- [27] Coque TM, Willems R, Cantón R, Del Campo R und Baquero F: *High occurrence of esp among ampicillin-resistant and vancomycin-susceptible Enterococcus faecium clones from hospitalized patients.* J Antimicrob Chemother. 50(6). 1035–1038 (2002).
- [28] Costa Y, Galimand M, Leclercq R, Duval J und Courvalin P: *Characterization of the chromosomal aac(6)-li gene specific for Enterococcus faecium.* Antimicrob Agents Chemother. 37(9). 1896–1903 (1993).
- [29] de Fátima Silva Lopes M, Ribeiro T, Abrantes M, Figueiredo Marques JJ, Tenreiro R und Crespo MTB: *Antimicrobial resistance profiles of dairy and clinical isolates and type strains of enterococci.* Int J Food Microbiol. 103(2). 191–198 (2005).
- [30] Devriese L, Baele M und Butaye P: *The Genus Enterococcus: Taxonomy.* In: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer KH und Stackebrandt E (eds.): The Prokaryotes. pp. 163–174. Springer New York. 2006.
- [31] Devriese LA, Pot B und Collins MD: *Phenotypic identification of the genus Enterococcus and differentiation of phylogenetically distinct enterococcal species and species groups.* J Appl Bacteriol. 75(5). 399–408 (1993).
- [32] Dicuonzo G, Gherardi G, Lorino G, Angeletti S, Battistoni F, Bertuccini L, Creti R, Di Rosa R, Venditti M und Baldassarri L: *Antibiotic resistance and genotypic characterization by PFGE of clinical and environmental isolates of enterococci.* FEMS Microbiol Lett. 201(2). 205–211 (2001).
- [33] Donelli G und Guaglianone E: *Emerging role of Enterococcus spp in catheter-related infections: biofilm formation and novel mechanisms of antibiotic resistance.* J Vasc Access. 5(1). 3–9 (2004).
- [34] Doyle PW und Woodham JD: *Evaluation of the microbiology of chronic ethmoid sinusitis.* J Clin Microbiol. 29(11). 2396–2400 (1991).
- [35] Dunny GM: *Genetic functions and cell-cell interactions in the pheromone-inducible plasmid transfer system of Enterococcus faecalis.* Mol Microbiol. 4(5). 689–696 (1990).
- [36] Duprè I, Zanetti S, Schito AM, Fadda G und Sechi LA: *Incidence of virulence determinants in clinical Enterococcus faecium and Enterococcus faecalis isolates collected in Sardinia (Italy).* J Med Microbiol. 52(Pt 6). 491–498 (2003).

- [37] Eaton TJ und Gasson MJ: *Molecular screening of Enterococcus virulence determinants and potential for genetic exchange between food and medical isolates*. Appl Environ Microbiol. 67(4). 1628–1635 (2001).
- [38] Eaton TJ und Gasson MJ: *A variant enterococcal surface protein Esp(fm) in Enterococcus faecium; distribution among food, commensal, medical, and environmental isolates*. FEMS Microbiol Lett. 216(2). 269–275 (2002).
- [39] Edmond MB, Ober JF, Dawson JD, Weinbaum DL und Wenzel RP: *Vancomycin-resistant enterococcal bacteremia: natural history and attributable mortality*. Clin Infect Dis. 23(6). 1234–1239 (1996).
- [40] Edmond MB, Ober JF, Weinbaum DL, Pfaller MA, Hwang T, Sanford MD und Wenzel RP: *Vancomycin-resistant Enterococcus faecium bacteremia: risk factors for infection*. Clin Infect Dis. 20(5). 1126–1133 (1995).
- [41] Ehrenfeld EE, Kessler RE und Clewell DB: *Identification of pheromone-induced surface proteins in Streptococcus faecalis and evidence of a role for lipoteichoic acid in formation of mating aggregates*. J Bacteriol. 168(1). 6–12 (1986).
- [42] Elsner HA, Sobottka I, Mack D, Claussen M, Laufs R und Wirth R: *Virulence factors of Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium blood culture isolates*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 19(1). 39–42 (2000).
- [43] Euzéby JP: *List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature: a folder available on the Internet. (List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. <http://www.bacterio.net>; Stand 03/2013)*. Int J Syst Bacteriol. 47(2). 590–592 (1997).
- [44] Fines M, Perichon B, Reynolds P, Sahm DF und Courvalin P: *VanE, a new type of acquired glycopeptide resistance in Enterococcus faecalis BM4405*. Antimicrob Agents Chemother. 43(9). 2161–2164 (1999).
- [45] Fontana R, Cerini R, Longoni P, Grossato A und Canepari P: *Identification of a streptococcal penicillin-binding protein that reacts very slowly with penicillin*. J Bacteriol. 155(3). 1343–1350 (1983).
- [46] Fontana R, Ligozzi M, Pittaluga F und Satta G: *Intrinsic penicillin resistance in enterococci*. Microb Drug Resist. 2(2). 209–213 (1996).
- [47] Foulquié Moreno MR, Sarantinopoulos P, Tsakalidou E und De Vuyst L: *The role and application of enterococci in food and health*. Int J Food Microbiol. 106(1). 1–24 (2006).
- [48] Fridkin SK und Gaynes RP: *Antimicrobial resistance in intensive care units*. Clin Chest Med. 20(2). 303–316 (1999).
- [49] Galli D, Lottspeich F und Wirth R: *Sequence analysis of Enterococcus faecalis aggregation substance encoded by the sex pheromone plasmid pAD1*. Mol Microbiol. 4(6). 895–904 (1990).

- [50] Galli D, Wirth R und Wanner G: *Identification of aggregation substances of Enterococcus faecalis cells after induction by sex pheromones. An immunological and ultrastructural investigation.* Arch Microbiol. 151(6). 486–490 (1989).
- [51] Gerlach EH: *Microdilution 1: A Comparative Study.* In: Balows A (ed.): Current Techniques for Antibiotic Susceptibility Testing. pp. 63–76. Charles C. Thomas, Springfield, IL. 1974.
- [52] Gold HS: *Vancomycin-resistant enterococci: mechanisms and clinical observations.* Clin Infect Dis. 33(2). 210–219 (2001).
- [53] Gold HS und Moellering R Jr: *Antimicrobial-drug resistance.* N Engl J Med. 335(19). 1445–1453 (1996).
- [54] Gold OG, Jordan HV und van Houte J: *The prevalence of enterococci in the human mouth and their pathogenicity in animal models.* Arch Oral Biol. 20(7). 473–477 (1975).
- [55] Gonzales RD, Schreckenberger PC, Graham MB, Kelkar S, DenBesten K und Quinn JP: *Infections due to vancomycin-resistant Enterococcus faecium resistant to linezolid.* Lancet. 357(9263). 1179 (2001).
- [56] Granato PA und Jackson RW: *Bicomponent nature of lysin from Streptococcus zymogenes.* J Bacteriol. 100(2). 865–868 (1969).
- [57] Gray JW und Pedler SJ: *Antibiotic-resistant enterococci.* J Hosp Infect. 21(1). 1–14 (1992).
- [58] Hardie JM und Whiley RA: *Classification and overview of the genera Streptococcus and Enterococcus.* Soc Appl Bacteriol Symp Ser. 26. 1S–11S (1997).
- [59] Hidron AI, Edwards JR, Patel J, Horan TC, Sievert DM, Pollock DA, Fridkin SK, National Healthcare Safety Network Team und Participating National Healthcare Safety Network Facilities: *NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007.* Infect Control Hosp Epidemiol. 29(11). 996–1011 (2008).
- [60] Horvitz RA und Von Graevenitz A: *A clinical study of the role of enterococci as sole agents of wound and tissue infection.* Yale J Biol Med. 50(4). 391–395 (1977).
- [61] Huycke MM, Sahm DF und Gilmore MS: *Multiple-drug resistant enterococci: the nature of the problem and an agenda for the future.* Emerg Infect Dis. 4(2). 239–249 (1998).
- [62] Ike Y, Clewell DB, Segarra RA und Gilmore MS: *Genetic analysis of the pAD1 hemolysin/bacteriocin determinant in Enterococcus faecalis: Tn917 insertional mutagenesis and cloning.* J Bacteriol. 172(1). 155–163 (1990).

- [63] Jankoska G, Trajkovska-Dokic E, Panovski N, Popovska-Jovanovska K und Petrovska M: *Virulence factors and antibiotic resistance in Enterococcus faecalis isolated from urine samples*. Prilozi. 29(1). 57–66 (2008).
- [64] Jett BD, Huycke MM und Gilmore MS: *Virulence of enterococci*. Clin Microbiol Rev. 7(4). 462–478 (1994).
- [65] Johansson D und Rasmussen M: *Virulence factors in isolates of Enterococcus faecalis from infective endocarditis and from the normal flora*. Microb Pathog. 55. 28–31 (2013).
- [66] Jørgensen K, Hilberg C und Vintov J: *Enterococcus Agar according to Slanetz and Bartley (Enterococcus Agar)*. <http://pictures.life.ku.dk/atlas/microatlas/> (Stand 03/2013)
- [67] Jureen R, Mohn SC, Harthug S, Haarr L und Langeland N: *Role of penicillin-binding protein 5 C-terminal amino acid substitutions in conferring ampicillin resistance in Norwegian clinical strains of Enterococcus faecium*. APMIS. 112(4-5). 291–298 (2004).
- [68] Kayaoglu G und Ørstavik D: *Virulence factors of Enterococcus faecalis: relationship to endodontic disease*. Crit Rev Oral Biol Med. 15(5). 308–320 (2004).
- [69] Kaye D: *Enterococci. Biologic and epidemiologic characteristics and in vitro susceptibility*. Arch Intern Med. 142(11). 2006–2009 (1982).
- [70] Kirst HA, Thompson DG und Nicas TI: *Historical yearly usage of vancomycin*. Antimicrob Agents Chemother. 42(5). 1303–1304 (1998).
- [71] Klare I, Badstübner D, Konstabel C, Böhme G, Claus H und Witte W: *Decreased incidence of VanA-type vancomycin-resistant enterococci isolated from poultry meat and from fecal samples of humans in the community after discontinuation of avoparcin usage in animal husbandry*. Microb Drug Resist. 5(1). 45–52 (1999).
- [72] Klare I, Heier H, Claus H, Böhme G, Marin S, Seltmann G, Hakenbeck R, Antanassova V und Witte W: *Enterococcus faecium strains with vanA-mediated high-level glycopeptide resistance isolated from animal foodstuffs and fecal samples of humans in the community*. Microb Drug Resist. 1(3). 265–272 (1995).
- [73] Klare I, Heier H, Claus H, Reissbrodt R und Witte W: *vanA-mediated high-level glycopeptide resistance in Enterococcus faecium from animal husbandry*. FEMS Microbiol Lett. 125(2-3). 165–171 (1995).
- [74] Klare I, Konstabel C, Badstübner D, Werner G und Witte W: *Glycopeptid-resistente Enterokokken in deutschen Krankenhäusern 1998*. Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz. 42. 847–853 (1999).
- [75] Klare I, Konstabel C, Badstübner D, Werner G und Witte W: *Occurrence and spread of antibiotic resistances in Enterococcus faecium*. Int J Food Microbiol. 88(2-3). 269–290 (2003).

- [76] 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 und 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*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 24(12). 815–825 (2005).
- [77] Klare I, Rodloff AC, Wagner J, Witte W und Hakenbeck R: *Overproduction of a penicillin-binding protein is not the only mechanism of penicillin resistance in Enterococcus faecium*. Antimicrob Agents Chemother. 36(4). 783–787 (1992).
- [78] Klare I und Werner G: *Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE): Aktuelle Daten und Trends zur Resistenzentwicklung aus dem NRZ für Staphylokokken und Enterokokken, 2011 – 2012*. Robert Koch-Institut, Epidemiologisches Bulletin. 33. 303–309 (2013).
- [79] Klare I, Werner G und Witte W: *Enterococci. Habitats, infections, virulence factors, resistances to antibiotics, transfer of resistance determinants*. Contrib Microbiol. 8. 108–122 (2001).
- [80] Klare I, Werner G und Witte W: *Enterokokken mit Vancomycin-Resistenz in deutschen Krankenhäusern 2008/2009*. Robert Koch-Institut, Epidemiologisches Bulletin. 44. 427–436 (2010).
- [81] Klein G: *Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract*. Int J Food Microbiol. 88(2-3). 123–131 (2003).
- [82] Kreft B, Marre R, Schramm U und Wirth R: *Aggregation substance of Enterococcus faecalis mediates adhesion to cultured renal tubular cells*. Infect Immun. 60(1). 25–30 (1992).
- [83] Kresken M, Hafner D, Schmitz FJ und Wichelhaus TA für die Studiengruppe: *Resistenzsituation bei klinisch wichtigen Infektionserregern gegenüber Antibiotika in Deutschland und im mitteleuropäischen Raum. Bericht über die Ergebnisse einer multizentrischen Studie der Arbeitsgemeinschaft Empfindlichkeitsprüfungen & Resistenz der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V. aus dem Jahre 2001*. Antiinfectives Intelligence, Bonn (2003).
- [84] Kresken M, Hafner D, Schmitz FJ und Wichelhaus TA für die Studiengruppe: *Resistenzsituation bei klinisch wichtigen Infektionserregern gegenüber Antibiotika in Deutschland und im mitteleuropäischen Raum. Bericht über die Ergebnisse einer multizentrischen Studie der Arbeitsgemeinschaft Empfindlichkeitsprüfungen & Resistenz der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V. aus dem Jahre 2007*. Antiinfectives Intelligence, Rheinbach (2009).
- [85] Landry SL, Kaiser DL und Wenzel RP: *Hospital stay and mortality attributed to nosocomial enterococcal bacteremia: a controlled study*. Am J Infect Control. 17(6). 323–329 (1989).
- [86] Leavis HL, Bonten MJM und Willems RJL: *Identification of high-risk enterococcal clonal complexes: global dispersion and antibiotic resistance*. Curr Opin Microbiol. 9(5). 454–460 (2006).

- [87] Leavis HL, Willems RJL, Top J und Bonten MJM: *High-level ciprofloxacin resistance from point mutations in gyrA and parC confined to global hospital-adapted clonal lineage CC17 of Enterococcus faecium*. J Clin Microbiol. 44(3). 1059–1064 (2006).
- [88] Leavis HL, Willems RJL, Top J, Spalburg E, Mascini EM, Fluit AC, Hoepelman A, de Neeling AJ und Bonten MJM: *Epidemic and nonepidemic multidrug-resistant Enterococcus faecium*. Emerg Infect Dis. 9(9). 1108–1115 (2003).
- [89] Leclercq R, Dutka-Malen S, Duval J und Courvalin P: *Vancomycin resistance gene vanC is specific to Enterococcus gallinarum*. Antimicrob Agents Chemother. 36(9). 2005–2008 (1992).
- [90] Lund B, Billström H und Edlund C: *Increased conjugation frequencies in clinical Enterococcus faecium strains harbouring the enterococcal surface protein gene esp*. Clin Microbiol Infect. 12(6). 588–591 (2006).
- [91] MacLowry JD und Marsh HH: *Semiautomatic microtechnique for serial dilution-antibiotic sensitivity testing in the clinical laboratory*. J Lab Clin Med. 72(4). 685–687 (1968).
- [92] Maejima K, Deitch EA und Berg RD: *Bacterial translocation from the gastrointestinal tracts of rats receiving thermal injury*. Infect Immun. 43(1). 6–10 (1984).
- [93] Malani PN, Kauffman CA und Zervos MJ: *Enterococcal disease, epidemiology, and treatment*. In: Gilmore MS (ed.): The Enterococci: Pathogenesis, Molecular Biology, and Antibiotic Resistance. pp. 385–408. ASM Press, Washington DC. 2002.
- [94] Malathum K, Singh KV und Murray BE: *In vitro activity of moxifloxacin, a new 8-methoxyquinolone, against gram-positive bacteria*. Diagn Microbiol Infect Dis. 35(2). 127–133 (1999).
- [95] Mandell GL, Kaye D, Levison ME und Hook EW: *Enterococcal endocarditis. An analysis of 38 patients observed at the New York Hospital-Cornell Medical Center*. Arch Intern Med. 125(2). 258–264 (1970).
- [96] Mäkinen PL und Mäkinen KK: *The Enterococcus faecalis extracellular metalloendopeptidase (EC 3.4.24.30; coccolysin) inactivates human endothelin at bonds involving hydrophobic amino acid residues*. Biochem Biophys Res Commun. 200(2). 981–985 (1994).
- [97] Moellering R Jr: *The Garrod Lecture. The enterococcus: a classic example of the impact of antimicrobial resistance on therapeutic options*. J Antimicrob Chemother. 28(1). 1–12 (1991).
- [98] Moellering R Jr: *Emergence of Enterococcus as a significant pathogen*. Clin Infect Dis. 14(6). 1173–1176 (1992).
- [99] Murray BE: *The life and times of the Enterococcus*. Clin Microbiol Rev. 3(1). 46–65 (1990).

- [100] Murray BE: *Diversity among multidrug-resistant enterococci*. Emerg Infect Dis. 4(1). 37–47 (1998).
- [101] Murray BE: *Vancomycin-resistant enterococcal infections*. N Engl J Med. 342(10). 710–721 (2000).
- [102] Nallapareddy SR, Singh KV, Sillanpää J, Garsin DA, Höök M, Erlandsen SL und Murray BE: *Endocarditis and biofilm-associated pili of Enterococcus faecalis*. J Clin Invest. 116(10). 2799–2807 (2006).
- [103] Nationales Referenzzentrum für Surveillance von nosokomialen Infektionen (NRZ): *Surveillance System postoperative Wundinfektionen (OP-KISS) und nosokomiale Infektionen (STATIONS-KISS - Infektionen) - Referenzdaten 01/2007 bis 12/2011*. <http://www.nrz-hygiene.de> (Stand 03/2013)
- [104] Navarro F und Courvalin P: *Analysis of genes encoding D-alanine-D-alanine ligase-related enzymes in Enterococcus casseliflavus and Enterococcus flavescens*. Antimicrob Agents Chemother. 38(8). 1788–1793 (1994).
- [105] Newman H: *Enterococcus faecalis*. <http://www.microbiologyinpictures.com> (Stand 03/2013)
- [106] Nicolau DP, Marangos MN, Nightingale CH, Patel KB, Cooper BW, Quintiliani R Jr, Courvalin P und Quintiliani R: *Efficacy of vancomycin and teicoplanin alone and in combination with streptomycin in experimental, low-level vancomycin-resistant, VanB-type Enterococcus faecalis endocarditis*. Antimicrob Agents Chemother. 40(1). 55–60 (1996).
- [107] Olmsted SB, Dunny GM, Erlandsen SL und Wells CL: *A plasmid-encoded surface protein on Enterococcus faecalis augments its internalization by cultured intestinal epithelial cells*. J Infect Dis. 170(6). 1549–1556 (1994).
- [108] Ono S, Muratani T und Matsumoto T: *Mechanisms of resistance to imipenem and ampicillin in Enterococcus faecalis*. Antimicrob Agents Chemother. 49(7). 2954–2958 (2005).
- [109] Pantosti A, Del Grosso M, Tagliabue S, Macrì A und Caprioli A: *Decrease of vancomycin-resistant enterococci in poultry meat after avoparcin ban*. Lancet. 354(9180). 741–742 (1999).
- [110] Patterson JE und Zervos MJ: *High-level gentamicin resistance in Enterococcus: microbiology, genetic basis, and epidemiology*. Rev Infect Dis. 12(4). 644–652 (1990).
- [111] Perichon B und Courvalin P: *Update on vancomycin resistance*. Int J Clin Pract Suppl. (115). 88–93 (2000).
- [112] Perichon B, Reynolds P und Courvalin P: *VanD-type glycopeptide-resistant Enterococcus faecium BM4339*. Antimicrob Agents Chemother. 41(9). 2016–2018 (1997).
- [113] Pintado V, Cabellos C, Moreno S, Meseguer MA, Ayats J und Viladrich PF: *Enterococcal meningitis: a clinical study of 39 cases and review of the literature*. Medicine (Baltimore). 82(5). 346–364 (2003).

- [114] Qiagen: *QIAamp DNA Mini and Blood Mini Handbook*. www.qiagen.com (Stand 03/2013)
- [115] Rathnayake IU, Hargreaves M und Huygens F: *Antibiotic resistance and virulence traits in clinical and environmental Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium isolates*. Syst Appl Microbiol. 35(5). 326–333 (2012).
- [116] Rüden H, Wendt C und Edmond M: *Vancomycin-resistente Enterokokken: Epidemiologie, Risikofaktoren und Prävention*. Dtsch Arztebl. 95(25). A–1604–A–1611 (1998).
- [117] Rice LB, Carias L, Rudin S, Vael C, Goossens H, Konstabel C, Klare I, Nallapareddy SR, Huang W und Murray BE: *A potential virulence gene, hylEfm, predominates in Enterococcus faecium of clinical origin*. J Infect Dis. 187(3). 508–512 (2003).
- [118] Rosan B und Williams NB: *Hyaluronidase production by oral enterococci*. Arch Oral Biol. 9. 291–298 (1964).
- [119] Ruoff KL, de la Maza L, Murtagh MJ, Spargo JD und Ferraro MJ: *Species identities of enterococci isolated from clinical specimens*. J Clin Microbiol. 28(3). 435–437 (1990).
- [120] Sandoe JAT, Witherden IR, Au-Yeung HKC, Kite P, Kerr KG und Wilcox MH: *Enterococcal intravascular catheter-related bloodstream infection: management and outcome of 61 consecutive cases*. J Antimicrob Chemother. 50(4). 577–582 (2002).
- [121] Segarra RA, Booth MC, Morales DA, Huycke MM und Gilmore MS: *Molecular characterization of the Enterococcus faecalis cytolysin activator*. Infect Immun. 59(4). 1239–1246 (1991).
- [122] Semedo T, Santos MA, Lopes MFS, Figueiredo Marques JJ, Barreto Crespo MT und Tenreiro R: *Virulence factors in food, clinical and reference Enterococci: A common trait in the genus?* Syst Appl Microbiol. 26(1). 13–22 (2003).
- [123] Shankar N, Lockett CV, Baghdayan AS, Drachenberg C, Gilmore MS und Johnson DE: *Role of Enterococcus faecalis surface protein Esp in the pathogenesis of ascending urinary tract infection*. Infect Immun. 69(7). 4366–4372 (2001).
- [124] Sherman JM: *The streptococci*. Bacteriol Rev. 1(1). 3–97 (1937).
- [125] Shlaes DM, Bouvet A, Devine C, Shlaes JH, al Obeid S und Williamson R: *Inducible, transferable resistance to vancomycin in Enterococcus faecalis A256*. Antimicrob Agents Chemother. 33(2). 198–203 (1989).
- [126] Singh KV, Malathum K und Murray BE: *Disruption of an Enterococcus faecium species-specific gene, a homologue of acquired macrolide resistance genes of staphylococci, is associated with an increase in macrolide susceptibility*. Antimicrob Agents Chemother. 45(1). 263–266 (2001).

- [127] Soderblom T, Aspevall O, Erntell M, Hedin G, Heimer D, Hokeberg I, Kidd-Ljunggren K, Melhus A, Olsson-Liljequist B, Sjogren I, Smedjegard J, Struwe J, Sylvan S, Tegmark-Wisell K und Thore M: *Alarming spread of vancomycin resistant enterococci in Sweden since 2007*. Euro Surveill. 15(29) (2010).
- [128] Spaeth G, Specian RD, Berg RD und Deitch EA: *Splenectomy influences endotoxin-induced bacterial translocation*. J Trauma. 30(10). 1267–1272 (1990).
- [129] Steinbrecher ED, Sohr D, Nassauer A, Daschner F, Ruden H und Gastmeier P: *Die häufigsten Erreger bei Intensivpatienten mit nosokomialen Infektionen*. Chemotherapie Journal. 5/2000. 179–183 (2000).
- [130] Stevens SX, Jensen HG, Jett BD und Gilmore MS: *A hemolysin-encoding plasmid contributes to bacterial virulence in experimental Enterococcus faecalis endophthalmitis*. Invest Ophthalmol Vis Sci. 33(5). 1650–1656 (1992).
- [131] Su YA, Sulavik MC, He P, Makinen KK, Makinen PL, Fiedler S, Wirth R und Clewell DB: *Nucleotide sequence of the gelatinase gene (gelE) from Enterococcus faecalis subsp. liquefaciens*. Infect Immun. 59(1). 415–420 (1991).
- [132] Sukontasing S, Tanasupawat S, Moonmangmee S, Lee JS und Suzuki KI: *Enterococcus camelliae sp. nov., isolated from fermented tea leaves in Thailand*. Int J Syst Evol Microbiol. 57(9). 2151–2154 (2007).
- [133] Svec P und Devriese LA: *Genus I. Enterococcus*. In: Vos PD, Garrity GM, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, Rainey FA, Schleifer KH und Whitman WB (eds.): *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 3. pp. 594–607. Springer-Verlag New York. 2009.
- [134] Tendolkar PM, Baghdayan AS, Gilmore MS und Shankar N: *Enterococcal surface protein, Esp, enhances biofilm formation by Enterococcus faecalis*. Infect Immun. 72(10). 6032–6039 (2004).
- [135] Tendolkar PM, Baghdayan AS und Shankar N: *Pathogenic enterococci: new developments in the 21st century*. Cell Mol Life Sci. 60(12). 2622–2636 (2003).
- [136] Thal LA und Zervos MJ: *Occurrence and epidemiology of resistance to virginiamycin and streptogramins*. J Antimicrob Chemother. 43(2). 171–176 (1999).
- [137] Thornsberry C: *Emerging resistance in clinically important gram-positive cocci*. West J Med. 164(1). 28–32 (1996).
- [138] Uttley AH, George RC, Naidoo J, Woodford N, Johnson AP, Collins CH, Morrison D, Gilfillan AJ, Fitch LE und Heptonstall J: *High-level vancomycin-resistant enterococci causing hospital infections*. Epidemiol Infect. 103(1). 173–181 (1989).

- [139] Vankerckhoven V, Van Autgaerden T, Vael C, Lammens C, Chapelle S, Rossi R, Jabes D und Goossens H: *Development of a multiplex PCR for the detection of asa1, gelE, cylA, esp, and hyl genes in enterococci and survey for virulence determinants among European hospital isolates of Enterococcus faecium*. J Clin Microbiol. 42(10). 4473–4479 (2004).
- [140] Vollaard EJ und Clasener HA: *Colonization resistance*. Antimicrob Agents Chemother. 38(3). 409–414 (1994).
- [141] Wallrauch C, Elsner E, Milatovic D, Cremer J und Braveny I: *Antibiotikaresistenz der Enterokokken in Deutschland*. Medizinische Klinik - Intensivmedizin und Notfallmedizin. 92. 464–468 (1997).
- [142] Weinstock DM, Conlon M, Iovino C, Aubrey T, Gudiol C, Riedel E, Young JW, Kiehn TE und Zuccotti G: *Colonization, bloodstream infection, and mortality caused by vancomycin-resistant enterococcus early after allogeneic hematopoietic stem cell transplant*. Biol Blood Marrow Transplant. 13(5). 615–621 (2007).
- [143] Wells CL, Maddaus MA und Simmons RL: *Proposed mechanisms for the translocation of intestinal bacteria*. Rev Infect Dis. 10(5). 958–979 (1988).
- [144] Wells CL, VandeWesterlo EM, Jechorek RP und Erlandsen SL: *Effect of hypoxia on enterocyte endocytosis of enteric bacteria*. Crit Care Med. 24(6). 985–991 (1996).
- [145] Werner G: *Current Trends of Emergence and Spread of Vancomycin-Resistant Enterococci*. In: Pana M (ed.): Antibiotic Resistant Bacteria - A Continuous Challenge in the New Millennium. pp. 303–354. InTech, Rijeka, Kroatien. 2012.
- [146] Werner G: *Vancomycin-resistente Enterokokken – Epidemiologie, Diagnostik, Typisierung, Trends*. Krankenhaushygiene up2date. 7. 291–304 (2012).
- [147] Werner G, Klare I, Fleige C und Witte W: *Increasing rates of vancomycin resistance among Enterococcus faecium isolated from German hospitals between 2004 and 2006 are due to wide clonal dissemination of vancomycin-resistant enterococci and horizontal spread of vanA clusters*. Int J Med Microbiol. 298(5-6). 515–527 (2008).
- [148] Werner G, Klare I, Hübner J, Kern WV und Witte W: *Vancomycin-resistente Enterokokken*. Chemother J. 17. 183–193 (2008).
- [149] Willems RJ, Homan W, Top J, van Santen-Verheувel M, Tribe D, Manzioros X, Gaillard C, Vandenbroucke-Grauls CM, Mascini EM, van Kregten E, van Embden JD und Bonten MJ: *Variant esp gene as a marker of a distinct genetic lineage of vancomycin-resistant Enterococcus faecium spreading in hospitals*. Lancet. 357(9259). 853–855 (2001).
- [150] Woodford N, Soltani M und Hardy KJ: *Frequency of esp in Enterococcus faecium isolates*. Lancet. 358(9281). 584 (2001).

- [151] Zeng J, Teng F und Murray BE: *Gelatinase is important for translocation of Enterococcus faecalis across polarized human enterocyte-like T84 cells*. Infect Immun. 73(3). 1606–1612 (2005).
- [152] Zscheck KK und Murray BE: *Nucleotide sequence of the beta-lactamase gene from Enterococcus faecalis HH22 and its similarity to staphylococcal beta-lactamase genes*. Antimicrob Agents Chemother. 35(9). 1736–1740 (1991).

8 Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Wolfgang König, dem damaligen Direktor des Instituts für Medizinische Mikrobiologie, danke ich für die Möglichkeit, die experimentellen Arbeiten in den Laboren des Instituts durchführen zu können und für sein Interesse am Fortgang dieser Arbeit.

Herrn PD Dr. med. Dipl.-Biochem. Beniam Ghebremedhin möchte ich für Überlassung des interessanten Themas, seine wissenschaftliche Beratung, seine Unterstützung während der experimentellen Phase und rückhaltlose Förderung danken, die, trotz des Wechsels der Universität, zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Danken möchte ich auch Herrn Dr. med. Reinhard Ebbeler für seine Unterstützung und seine aufmunternden Worte. Er nahm sich immer Zeit und hatte ein offenes Ohr für mich.

Im Allgemeinen danke ich allen derzeitigen und ehemaligen Mitarbeitern des Instituts für Medizinische Mikrobiologie des Universitätsklinikums Magdeburg, im Besonderen Frau Stokkou. Allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe möchte ich ein herzliches Dankeschön für das gute Arbeitsklima und die große Hilfsbereitschaft im Laboralltag aussprechen.

Herrn Dr. rer. nat. Friedrich-Wilhelm Röhl aus dem Institut für Biometrie und Medizinische Informatik danke ich für seine Mithilfe bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse.

Im Besonderen möchte ich Benjamin Lucas für seine Unterstützung und konstruktive Kritik danken. Er war mir immer eine große Hilfe bei der Lösung von Problemen, seelische und moralische Stütze und stand mir vom Anfang bis zum Ende in jeder Situation bei.

Abschließend danke ich meiner Familie und meinen Freunden, die mir während meines Studiums immer beistanden, mich ermutigten und in jeder Hinsicht förderten.

9 Erklärung

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

„Untersuchungen zu Antibiotikaresistenzen sowie Virulenzgenen von klinischen *Enterococcus faecium*- und *Enterococcus faecalis*-Isolaten am Universitätsklinikum Magdeburg“

im Institut für Medizinische Mikrobiologie

mit Unterstützung durch Herrn PD Dr. med. Dipl.-Biochem. Beniam Ghebremedhin

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.

Alle personenbezogenen Daten wurden gemäß den Datenschutzbestimmungen des Universitätsklinikums und der Medizinischen Fakultät behandelt und zur statistischen Auswertung anonymisiert.

Magdeburg, den 25.11.2013

Stefanie Jörgens

10 Curriculum vitae

Stefanie Jörgens
geboren am 18.09.1988
in Wippra

Ausbildung

1995 – 1999	Grundschule Mansfeld
1999 – 2001	Sekundarschule Mansfeld
2001 – 2007	Gottfried-August-Bürger-Gymnasium Benndorf
06/2007	Abitur (Durchschnittsnote: 1,2)
2007 – 2013	Studium der Humanmedizin an der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

Famulaturen, PJ

03/2010	Famulatur Innere Medizin, Helios Klinik Hettstedt
09-10/2010	Praxisfamulatur Allgemeinmedizin, Mansfeld
02-03/2011	Famulatur Pädiatrie, Universitätsklinikum Magdeburg
03-04/2011	Famulatur Anästhesie, Universitätsklinikum Magdeburg
08/2011	Famulatur Pädiatrie, Klinikum Magdeburg
08-09/2011	Famulatur Innere Medizin, Klinikum Magdeburg
09/2011	Famulatur Chirurgie, Universitätsklinikum Magdeburg
09-10/2011	Praxisfamulatur Pädiatrie, Magdeburg
08-12/2012	PJ Pädiatrie, Ameos Klinikum Aschersleben
12/2012-03/2013	PJ Chirurgie, Klinikum Magdeburg
03-07/2013	PJ Innere Medizin, Ameos Klinikum Aschersleben

Magdeburg, den 25.11.2013

Stefanie Jörgens

11 Anhang

11.1 SPSS-Tabellen für signifikante Unterschiede bei *E. faecium*-Isolaten

Virulenzgenprofil „keine“ * GNH

Kreuztabelle			GNH		Gesamt
			R	S	
Profil	ja	Anzahl	10	3	13
		% der Gesamtzahl	14,7%	4,4%	19,1%
	nein	Anzahl	16	39	55
		% der Gesamtzahl	23,5%	57,4%	80,9%
Gesamt	Anzahl		26	42	68
	% der Gesamtzahl		38,2%	61,8%	100,0%

Chi-Quadrat-Tests	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (1-seitig)
Kontinuitätskorrektur ^b	8,262	1	,004		
Likelihood-Quotient	10,096	1	,001		
Exakter Test nach Fisher					
Anzahl der gültigen Fälle		68			

a. 1 Zellen (25,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 4,97.

b. Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

Virulenzgenprofil „keine“ * STR

Kreuztabelle			STR		Gesamt
			R	S	
Profil	ja	Anzahl	12	1	13
		% der Gesamtzahl	17,6%	1,5%	19,1%
	nein	Anzahl	33	22	55
		% der Gesamtzahl	48,5%	32,4%	80,9%
Gesamt	Anzahl		45	23	68
	% der Gesamtzahl		66,2%	33,8%	100,0%

Chi-Quadrat-Tests	Wert	df	Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (2-seitig)	Exakte Signifikanz (1-seitig)
Kontinuitätskorrektur ^b	3,566	1	,059		
Likelihood-Quotient	5,938	1	,015		
Exakter Test nach Fisher					
Anzahl der gültigen Fälle		68			

a. 1 Zellen (25,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 4,40.

b. Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

Virulenzgenprofil „keine“ * GNH+STR

Kreuztabelle			GNH+STR		Gesamt
			R	S	
Profil	ja	Anzahl	10	1	11
		% der Gesamtzahl	22,2%	2,2%	24,4%
	nein	Anzahl	14	20	34
		% der Gesamtzahl	31,1%	44,4%	75,6%
Gesamt	Anzahl		24	21	45
	% der Gesamtzahl		53,3%	46,7%	100,0%

Chi-Quadrat-Tests	Wert	df	Asymptotische	Exakte	Exakte
			Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	8,259 ^a	1	,004		
Kontinuitätskorrektur ^b	6,382	1	,012		
Likelihood-Quotient	9,411	1	,002		
Exakter Test nach Fisher				,005	,004
Anzahl der gültigen Fälle	45				

a. 0 Zellen (,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 5,13.

b. Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

11.2 SPSS-Tabellen für signifikante Unterschiede bei *E. faecalis*-Isolaten

Virulenzgenprofil „asa1 gesamt“ * TET

Kreuztabelle		asa1		Gesamt
		n	p	
TET	R	82	59	141
	S	23	6	29
Gesamt		105	65	170

Chi-Quadrat-Tests	Wert	df	Asymptotische	Exakte	Exakte
			Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	4,558 ^a	1	,033		
Kontinuitätskorrektur ^b	3,706	1	,054		
Likelihood-Quotient	4,901	1	,027		
Exakter Test nach Fisher				,037	,024
Anzahl der gültigen Fälle	170				

a. 0 Zellen (,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 11,09.

b. Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

Virulenzgenprofil „asa1 gesamt“ * ERY

Kreuztabelle		asa1		Gesamt
		n	p	
ERY	R	45	45	90
	S	39	15	54
Gesamt		84	60	144

Chi-Quadrat-Tests	Wert	df	Asymptotische	Exakte	Exakte
			Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	6,857 ^a	1	,009		
Kontinuitätskorrektur ^b	5,973	1	,015		
Likelihood-Quotient	7,030	1	,008		
Exakter Test nach Fisher				,009	,007
Anzahl der gültigen Fälle	144				

a. 0 Zellen (,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 22,50.

b. Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

Virulenzgenprofil „cylA gesamt“ * ERY

Kreuztabelle		cylA		Gesamt
		n	p	
ERY	R	77	13	90
	S	53	1	54
Gesamt		130	14	144

Chi-Quadrat-Tests	Wert	df	Asymptotische	Exakte	Exakte
			Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	6,098 ^a	1	,014		
Kontinuitätskorrektur ^b	4,747	1	,029		
Likelihood-Quotient	7,563	1	,006		
Exakter Test nach Fisher				,017	,010
Anzahl der gültigen Fälle	144				

a. 0 Zellen (,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 5,25.

b. Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

Virulenzgenprofil „geIE + asa1“ * ERY

Kreuztabelle			ERY		Gesamt
			R	S	
Profil	ja	Anzahl	33	10	43
		% der Gesamtzahl	22,9%	6,9%	29,9%
	nein	Anzahl	57	44	101
		% der Gesamtzahl	39,6%	30,6%	70,1%
Gesamt	Anzahl		90	54	144
	% der Gesamtzahl		62,5%	37,5%	100,0%

Chi-Quadrat-Tests	Wert	df	Asymptotische	Exakte	Exakte
			Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	5,307 ^a	1	,021		
Kontinuitätskorrektur ^b	4,476	1	,034		
Likelihood-Quotient	5,550	1	,018		
Exakter Test nach Fisher				,024	,016
Anzahl der gültigen Fälle	144				

a. 0 Zellen (,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 16,13.

b. Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

Virulenzgenprofil „geIE + esp“ * ERY

Kreuztabelle			ERY		Gesamt
			R	S	
Profil	ja	Anzahl	2	7	9
		% der Gesamtzahl	1,4%	4,9%	6,3%
	nein	Anzahl	88	47	135
		% der Gesamtzahl	61,1%	32,6%	93,8%
Gesamt	Anzahl		90	54	144
	% der Gesamtzahl		62,5%	37,5%	100,0%

Chi-Quadrat-Tests	Wert	df	Asymptotische	Exakte	Exakte
			Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	6,645 ^a	1	,010		
Kontinuitätskorrektur ^b	4,938	1	,026		
Likelihood-Quotient	6,496	1	,011		
Exakter Test nach Fisher				,027	,014
Anzahl der gültigen Fälle	144				

a. 1 Zellen (25,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 3,38.

b. Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

Virulenzgenprofil „esp + cyaA“ * ERY

Kreuztabelle			ERY		Gesamt
			R	S	
Profil	ja	Anzahl	9	0	9
		% der Gesamtzahl	6,3%	,0%	6,3%
	nein	Anzahl	81	54	135
		% der Gesamtzahl	56,3%	37,5%	93,8%
Gesamt	Anzahl		90	54	144
	% der Gesamtzahl		62,5%	37,5%	100,0%

Chi-Quadrat-Tests	Wert	df	Asymptotische	Exakte	Exakte
			Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	5,760 ^a	1	,016		
Kontinuitätskorrektur ^b	4,180	1	,041		
Likelihood-Quotient	8,817	1	,003		
Exakter Test nach Fisher				,014	,012
Anzahl der gültigen Fälle	144				

a. 1 Zellen (25,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 3,38.

b. Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

Virulenzgenprofil „asa1 gesamt“ * TET + ERY

Kreuztabelle		asa1		Gesamt
		n	p	
TET + R		44	43	87
ERY S		19	4	23
Gesamt		63	47	110

Chi-Quadrat-Tests	Wert	df	Asymptotische	Exakte	Exakte
			Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	7,628 ^a	1	,006		
Kontinuitätskorrektur ^b	6,375	1	,012		
Likelihood-Quotient	8,307	1	,004		
Exakter Test nach Fisher				,008	,005
Anzahl der gültigen Fälle	110				

a. 0 Zellen (,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 9,83.

b. Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

Virulenzgenprofil „*gelE* + *asa1*“ * TET+ERY

Kreuztabelle			TET+ERY		Gesamt
			R	S	
Profil	ja	Anzahl	31	3	34
		% der Gesamtzahl	28,2%	2,7%	30,9%
	nein	Anzahl	56	20	76
		% der Gesamtzahl	50,9%	18,2%	69,1%
Gesamt	Anzahl		87	23	110
	% der Gesamtzahl		79,1%	20,9%	100,0%

Chi-Quadrat-Tests	Wert	df	Asymptotische	Exakte	Exakte
			Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	4,346 ^a	1	,037		
Kontinuitätskorrektur ^b	3,353	1	,067		
Likelihood-Quotient	4,909	1	,027		
Exakter Test nach Fisher				,044	,029
Anzahl der gültigen Fälle	110				

a. 0 Zellen (,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 7,11.

b. Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

Virulenzgenprofil „*gelE* + *esp*“ * TET+ERY

Kreuztabelle			TET+ERY		Gesamt
			R	S	
Profil	ja	Anzahl	2	4	6
		% der Gesamtzahl	1,8%	3,6%	5,5%
	nein	Anzahl	85	19	104
		% der Gesamtzahl	77,3%	17,3%	94,5%
Gesamt	Anzahl		87	23	110
	% der Gesamtzahl		79,1%	20,9%	100,0%

Chi-Quadrat-Tests	Wert	df	Asymptotische	Exakte	Exakte
			Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	8,035 ^a	1	,005		
Kontinuitätskorrektur ^b	5,375	1	,020		
Likelihood-Quotient	6,273	1	,012		
Exakter Test nach Fisher				,017	,017
Anzahl der gültigen Fälle	110				

a. 2 Zellen (50,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 1,25.

b. Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

Virulenzgenprofil „asa1 gesamt“ * GNH

Kreuztabelle		asa1		Gesamt
		n	p	
GNH	R	33	33	66
	S	72	31	103
Gesamt		105	64	169

Chi-Quadrat-Tests	Wert	df	Asymptotische	Exakte	Exakte
			Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	6,772 ^a	1	,009		
Kontinuitätskorrektur ^b	5,953	1	,015		
Likelihood-Quotient	6,735	1	,009		
Exakter Test nach Fisher				,014	,007
Anzahl der gültigen Fälle	169				

a. 0 Zellen (,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 24,99.

b. Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

Virulenzgenprofil „gelE + asa1“ * GNH

Kreuztabelle			GNH		Gesamt
			R	S	
Profil	ja	Anzahl	29	16	45
		% der Gesamtzahl	17,2%	9,5%	26,6%
	nein	Anzahl	37	87	124
		% der Gesamtzahl	21,9%	51,5%	73,4%
Gesamt	Anzahl		66	103	169
	% der Gesamtzahl		39,1%	60,9%	100,0%

Chi-Quadrat-Tests	Wert	df	Asymptotische	Exakte	Exakte
			Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	16,613 ^a	1	,000		
Kontinuitätskorrektur ^b	15,190	1	,000		
Likelihood-Quotient	16,390	1	,000		
Exakter Test nach Fisher				,000	,000
Anzahl der gültigen Fälle	169				

a. 0 Zellen (,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 17,57.

b. Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

genauer Wert: 7.1421231678091E-5

Virulenzgenprofil „gelE + asa1 + esp“ * GNH

Kreuztabelle			GNH		Gesamt
			R	S	
Profil	ja	Anzahl	1	12	13
		% der Gesamtzahl	,6%	7,1%	7,7%
	nein	Anzahl	65	91	156
		% der Gesamtzahl	38,5%	53,8%	92,3%
Gesamt	Anzahl		66	103	169
	% der Gesamtzahl		39,1%	60,9%	100,0%

Chi-Quadrat-Tests	Wert	df	Asymptotische	Exakte	Exakte
			Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	5,819 ^a	1	,016		
Kontinuitätskorrektur ^b	4,480	1	,034		
Likelihood-Quotient	7,158	1	,007		
Exakter Test nach Fisher				,017	,012
Anzahl der gültigen Fälle	169				

a. 0 Zellen (,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 5,08.

b. Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

Virulenzgenprofil „asa1 gesamt“ * STR

Kreuztabelle		asa1		Gesamt
		n	p	
STR	R	35	39	74
	S	69	25	94
Gesamt		104	64	168

Chi-Quadrat-Tests	Wert	df	Asymptotische	Exakte	Exakte
			Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	11,967 ^a	1	,001		
Kontinuitätskorrektur ^b	10,885	1	,001		
Likelihood-Quotient	12,023	1	,001		
Exakter Test nach Fisher				,001	,000
Anzahl der gültigen Fälle	168				

a. 0 Zellen (,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 28,19.

b. Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

Virulenzgenprofil „geIE + asa1“ * STR

Kreuztabelle			STR		Gesamt
			R	S	
Profil	ja	Anzahl	31	14	45
		% der Gesamtzahl	18,5%	8,3%	26,8%
	nein	Anzahl	43	80	123
		% der Gesamtzahl	25,6%	47,6%	73,2%
Gesamt	Anzahl		74	94	168
	% der Gesamtzahl		44,0%	56,0%	100,0%

Chi-Quadrat-Tests	Wert	df	Asymptotische	Exakte	Exakte
			Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	15,389 ^a	1	,000		
Kontinuitätskorrektur ^b	14,044	1	,000		
Likelihood-Quotient	15,502	1	,000		
Exakter Test nach Fisher				,000	,000
Anzahl der gültigen Fälle	168				

a. 0 Zellen (,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 19,82.

b. Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

genauer Wert: 1.0644760668963351E-4

Virulenzgenprofil „asa1 gesamt“ * GNH + STR

Kreuztabelle		asa1		Gesamt
		n	p	
GNH + R		25	29	54
STR S		61	21	82
Gesamt		86	50	136

Chi-Quadrat-Tests	Wert	df	Asymptotische	Exakte	Exakte
			Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	11,054 ^a	1	,001		
Kontinuitätskorrektur ^b	9,878	1	,002		
Likelihood-Quotient	11,023	1	,001		
Exakter Test nach Fisher				,001	,001
Anzahl der gültigen Fälle	136				

a. 0 Zellen (,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 19,85.

b. Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

Virulenzgenprofil „geIE + asa1“ * GNH + STR

Kreuztabelle			GNH+STR		Gesamt
			R	S	
Profil	ja	Anzahl	27	12	39
		% der Gesamtzahl	19,9%	8,8%	28,7%
	nein	Anzahl	27	70	97
		% der Gesamtzahl	19,9%	51,5%	71,3%
Gesamt	Anzahl		54	82	136
	% der Gesamtzahl		39,7%	60,3%	100,0%

Chi-Quadrat-Tests	Wert	df	Asymptotische	Exakte	Exakte
			Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (2-seitig)	Signifikanz (1-seitig)
Chi-Quadrat nach Pearson	19,910 ^a	1	,000		
Kontinuitätskorrektur ^b	18,219	1	,000		
Likelihood-Quotient	19,856	1	,000		
Exakter Test nach Fisher				,000	,000
Anzahl der gültigen Fälle	136				

a. 0 Zellen (,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 15,49.

b. Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet
genauer Wert: 1.3625353115953225E-5

11.3 Rohdaten von *E. faecium* und *E. faecalis*

	<i>cyIA</i>	<i>esp</i>	<i>asa1</i>	<i>hyl</i>	<i>gelE</i>	CLA	CFX	CTX	CFC	AZT	AMC	TIG	NIT	MOX	LEV	CEA	CXM	VAN	SXT	TET	TEI	QUD	LNZ	IMI	STR	GNH	ERY	CLI	PEN	AMS	AMP	Station	Alter	Geschlecht	Spezies	
	r	r	p	r	p	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	S	S	S	UROA	73	m	<i>E. faecalis</i>
	r	r	r	r	p	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R	S	S	R	S	S	R	R	R	R	R	R	S	URO8A	57	w	<i>E. faecalis</i>
	r	r	p	r	p	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	S	URO8A	82	m	<i>E. faecalis</i>
	r	r	p	r	p																												NEP7	74	m	<i>E. faecium</i>
	r	r	p	r	p	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	S	URO8A	82	m	<i>E. faecalis</i>
	r	r	p	r	p	S	R	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	S	NEP7	28	w	<i>E. faecalis</i>
	r	r	r	r	r	R	R	R	R	R	R	S	S	-	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	AIT2I	55	w	<i>E. faecium</i>
	r	r	r	r	r	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	HAE06	60	w	<i>E. faecium</i>
	r	r	r	r	r	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	KARI	73	m	<i>E. faecalis</i>
	r	r	r	r	r	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	UROA	80	m	<i>E. faecalis</i>
	r	r	r	r	r	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	URO8A	79	m	<i>E. faecalis</i>
	r	r	r	r	r	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	KARI	65	w	<i>E. faecalis</i>
	r	r	r	r	r	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	URO8A	76	m	<i>E. faecalis</i>
	r	r	r	r	r	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	URO8A	90	w	<i>E. faecalis</i>
	r	r	r	r	r	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	AIT2I	55	w	<i>E. faecium</i>
	r	r	r	r	r	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	GH14	66	m	<i>E. faecalis</i>
	r	r	r	r	r	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	URO8B	78	m	<i>E. faecium</i>
	r	r	r	r	r	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	URO8A	74	m	<i>E. faecalis</i>
	r	r	r	r	r	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	KAR3I	42	m	<i>E. faecalis</i>
	r	r	r	r	r	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	H60TK	75	w	<i>E. faecalis</i>
	r	r	r	r	r	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	HAE06	69	m	<i>E. faecalis</i>
	r	r	r	r	r	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	GYNKR	25	w	<i>E. faecalis</i>
	r	r	r	r	r	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	URO8A	89	m	<i>E. faecalis</i>
	r	r	r	r	r	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	GH14	66	m	<i>E. faecalis</i>
	r	r	r	r	r	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	NEPA	75	w	<i>E. faecalis</i>
	r	r	r	r	r	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	URO8A	83	m	<i>E. faecalis</i>

Station	Alter	Geschlecht	Spezies	AMP	AMS	PEN	CLI	ERY	GNH	STR	IMI	LNZ	QUD	TEI	TET	SXT	VAN	CXM	CEA	LEV	MOX	NIT	TIG	AMC	AZT	CFC	CTX	CFX	CLA	gelE	hyl	asa1	esp	cylA
URO8A	79	w	<i>E. faecalis</i>	S	S	R	R	I	S	S	S	S	R	S	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	I	R	R	I	p	n	n	n		
AUG10 A	71	w	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	n	n	n	n	
URO8A	85	m	<i>E. faecalis</i>	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	p	n	n	n	n	
URO8A	72	m	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	p	n	n	n	n	
PAEAA	7	w	<i>E. faecalis</i>	S	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S	p	n	n	n	
URO8B	83	m	<i>E. faecalis</i>	S	S	R	R	R	S	R	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	p	n	n	n	n	
AIT2I	84	w	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	p	n	n	n	n	
AIT2I	64	m	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	p	n	n	n	n	
URO8A	74	m	<i>E. faecalis</i>	S	S	R	R	I	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	I	R	R	I	p	n	n	n	n	
URO8A	74	m	<i>E. faecalis</i>	S	S	R	R	R	R	R	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	p	n	n	n	n	
URO8A	67	m	<i>E. faecalis</i>	S	S	R	R	R	R	R	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	p	n	n	n	n	
AIT2I	84	w	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	p	n	n	n	n	
HAU04	67	w	<i>E. faecalis</i>	S	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	p	n	n	n	n	
END11	77	w	<i>E. faecalis</i>	S	S	R	R	R	S	R	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	p	n	n	n	n	
URO8A	72	m	<i>E. faecalis</i>	S	S	R	R	R	R	R	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	p	n	n	n	n	
UROA	45	m	<i>E. faecalis</i>	S	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	p	n	n	n	n	
NEP7	74	m	<i>E. faecalis</i>	S	S	R	R	R	R	R	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	p	n	n	n	n	
NEP7	74	m	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	p	n	n	n	n	
GHI4	33	m	<i>E. faecalis</i>	I	S	R	R	R	S	R	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	p	n	n	n	n	
PSY02	82	w	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	p	n	n	n	n	
URO8A	22	w	<i>E. faecalis</i>	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	p	n	n	n	n	
HAE06	84	w	<i>E. faecalis</i>	S	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	p	n	n	n	n	
HAE06	68	w	<i>E. faecium</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	p	n	n	n	n	
ZNA	90	m	<i>E. faecalis</i>	S	S	R	R	R	R	R	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	p	n	n	n	n	
H60TK	80	w	<i>E. faecalis</i>	S	S	R	R	R	R	R	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	p	n	n	n	n	
NEU12 A	85	w	<i>E. faecalis</i>	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	p	n	n	n	n	

cyIA	u	u	u	p	u	u	u
esp	u	u	p	p	p	u	p
asa1	p	p	u	p	p	p	p
hyl	u	u	p	u	u	u	u
gelE	p	p	u	u	p	p	p
CLA	R	R	R	R	R	R	
CFX	R	R	R	R	R	R	
CTX	R	R	R	R	R	R	
CFC	R	R	R	R	R	R	
AZT	R	R	R	R	R	R	
AMC	S	S	R	S	S	S	
TIG	S	S	S	S	S	S	S
NIT	S	-	-	S	S	S	S
MOX	R	R	R	S	R	R	R
LEV	R	R	R	S	R	R	R
CEA	R	R	R	R	R	R	R
CXM	R	R	R	R	R	R	R
VAN	S	S	S	S	S	S	S
SXT	R	R	S	R	R	R	S
TET	R	R	S	R	R	R	R
TEI	S	S	S	S	S	S	S
QUD	R	R	S	R	R	R	S
LNZ	S	S	S	S	S	S	S
IMI	S	S	R	S	S	S	S
STR	R	S	R	S	R	R	S
GNH	R	S	R	S	S	R	S
ERY	R	R	R	R	R	R	R
CLI	R	R	R	R	R	R	I
PEN	R	R	R	R	R	R	I
AMS	S	S	R	S	S	S	S
AMP	S	S	R	S	S	S	S
Station	ZNA	URO8A	GH14	NEU14	HAE06	URO8A	URO8B
Alter	57	75	84	65	63	60	75
Geschlecht	m	m	m	w	w	m	m
Spezies	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecalis</i>