

## Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung und themenbezogene Literaturübersicht</b>	<b>1</b>
1.1 Einleitung	1
1.2 Themenbezogene Literaturübersicht	3
1.2.1 Taxonomie und Eigenschaften der Enterokokken	3
1.2.2 Natürliches Vorkommen und Bedeutung der Enterokokken im Lebensmittelbereich	4
1.2.3 Potentielle Pathogenität der Enterokokken	5
1.2.4 Therapie von Enterokokken-Infektionen	6
1.2.5 Glycopeptid-Antibiotika	6
1.2.6 Natürliche und erworbene Resistzenzen der Enterokokken	7
1.2.7 Glycopeptid-Resistenz der Enterokokken	8
1.2.8 Epidemiologie Vancomycin-resistenter Enterokokken (VRE)	10
1.2.9 VRE in der Nutztierhaltung	13
1.2.10 Risikofaktoren für Kolonisation und Infektion durch VRE beim Menschen	14
1.2.11 Übertragungswege von Enterokokken im Krankenhaus	14
1.2.12 Prävention nosokomialer VRE-Fälle und VRE-Management im Krankenhaus	15
1.2.13 VRE-Management am Durchführungsstandort der Studie – einem Krankenhaus der Maximalversorgung in Südwesterdeutschland	18
1.2.14 Wirtschaftliche Bedeutung von Enterokokken-infektionen	20
<b>2. Material und Methoden</b>	<b>22</b>
2.1 Material	22
2.1.1 Bakterienstämme	22
2.1.1.1 Probenmaterial und Enterokokken-Isolate	22
2.1.1.2 Referenzstämme	24
2.1.2 Geräte	25
2.1.3 Verbrauchsmaterial	28
2.1.4 Kulturmedien	31
2.1.5 Chemikalien	33

2.1.6 Enzyme	35
2.1.7 Antibiotika-Testblättchen bzw. Etest®-Streifen	36
2.1.8 Lösungen und Puffer	37
2.1.9 Marker und Primer	44
2.1.10 Software	45
<b>2.2 Methoden</b>	<b>46</b>
2.2.1 Stammauswahl	46
2.2.2 Isolierung von Enterokokken-Stämmen aus Probenmaterial	48
2.2.3 Lagerung und Anzüchten der Enterokokken-Isolate	50
2.2.4 Speziesidentifizierung mittels API rapid ID 32 Strep	51
2.2.5 Untersuchung der <i>in vitro</i> -Empfindlichkeit der Isolate gegenüber verschiedenen Antibiotika mittels Agardiffusionstest	51
2.2.6 DNS-Isolierung	54
2.2.7 Polymerase-Kettenreaktion (PCR)	55
2.2.8 Gelelektrophorese	58
2.2.9 Makrorestriktionsanalyse des Gesamtgenoms in der Pulsfeldgelelektrophorese (PFGE)	58
2.2.10 <i>Multi Locus Sequence Typing</i> (MLST)	62
2.2.11 Erhebung der zugehörigen klinischen Daten	65
<b>3. Ergebnisse</b>	<b>66</b>
3.1 Isolierung von Enterokokken-Stämmen aus Probenmaterial	66
3.2 Speziesidentifizierung	66
3.3 Ergebnisse der Untersuchung der <i>in vitro</i> -Empfindlichkeit der Isolate gegenüber verschiedenen Antibiotika mittels Agardiffusionstest (Teicoplanin und Vancomycin siehe Punkt 3.4)	69
3.4 Ergebnisse der phäno- und genotypischen Untersuchung der Teicoplanin- und Vancomycin-Resistenz	73
3.4.1 Phänotyp	73
3.4.2 Genotyp	75
3.5 PCR-Detektion des <i>esp</i> ( <i>enterococcal surface protein</i> )-Gens	77
3.6 PCR-Detektion des <i>hyl</i> -Gens	78
3.7 Ergebnisse der Untersuchung des <i>E. faecalis</i> -Isolates	79

3.8 Ergebnisse der Makrorestriktionsanalyse des Gesamtgenoms in der Pulsfeldgelelektrophorese (PFGE)	79
3.9 Ergebnisse des <i>Multi Locus Sequence Typings</i> (MLST)	83
3.10 Klinische Daten	88
3.10.1 Geschlecht	88
3.10.2 Alter	88
3.10.3 Kliniken	88
3.10.4 Zeitraum zwischen erster Aufnahme des Patienten im Klinikum und erstem bekannten VRE-Nachweis	89
3.10.5 Herkunft bzw. Wohnort der Patienten	90
3.10.6 Grundleiden der Patienten	90
3.10.7 Letzte Informationen, die dem Klinikum über die in die Untersuchung einbezogenen Patienten vorliegen	91
<b>4. Diskussion</b>	<b>93</b>
4.1 Speziesidentifizierung	93
4.2 <i>In vitro</i> -Antibiotika-Empfindlichkeitstests der <i>E. faecium</i> -isolate	95
4.2.1 Ampicillin	96
4.2.2 Doxycyclin	97
4.2.3 Erythromycin	97
4.2.4 Gentamicin	97
4.2.5 Levofloxacin	98
4.2.6 Nitrofurantoin	99
4.2.7 Reserve-Antibiotika Daptomycin, Linezolid und Tigecyclin	99
4.2.8 Rifampicin	101
4.3 Vancomycin- und Teicoplanin-Resistenz der <i>E. faecium</i> -Isolate	101
4.3.1 Phäno- und genotypische Glycopeptid-Resistenz- Bestimmung	101
4.3.2 Epidemiologie der Glycopeptid-Resistenz-Determinanten	103
4.4 Nachweis des <i>esp</i> -Gens in <i>E. faecium</i>	107
4.5 Nachweis des <i>hyl</i> -Gens in <i>E. faecium</i>	109
4.6 Genotypische Charakterisierung repräsentativer <i>E. faecium</i> -Isolate mittels Makrorestriktionsanalyse des Gesamtgenoms in der PFGE und MLST – Analyse der Verwandtschaftsverhältnisse	111

4.6.1 Auswahl der zu untersuchenden Stämme	111
4.6.2 Die Methoden und ihre Ergebnisse im Überblick	113
4.6.3 Kombination genotypischer und epidemiologischer Daten	117
4.6.4 Hospitale Assoziation	118
4.7 Auswertung der erhobenen klinischen Daten	118
4.8 Epidemiologie animalärer und humaner VRE-Stämme inklusive Populations-analytischer Aspekte	118
4.9 VRE-Management am Durchführungsort der Studie – einem Krankenhaus der Maximalversorgung in Südwestdeutschland	124
<b>5. Zusammenfassung</b>	<b>128</b>
<b>6. Abstract</b>	<b>130</b>
<b>7. Literaturverzeichnis</b>	<b>132</b>
<b>8. Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>154</b>
<b>9. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis</b>	<b>158</b>
9.1 Abbildungen	158
9.2 Tabellen	159
<b>10. Eigene Publikationen und Kongressbeiträge</b>	<b>162</b>
<b>11. Anhang</b>	<b>163</b>
<b>12. Danksagung</b>	<b>164</b>
<b>13. Ehrenwörtliche Erklärung</b>	<b>165</b>