

*AUS DER ABTEILUNG
FÜR KRANKENHAUSHYGIENE UND INFEKTILOGIE
UNIVERSITÄTSKLINIKUM REGENSBURG
PROF. DR. MED. WULF SCHNEIDER
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG*

*DER IR-BIOTYPER, EIN NEUES TYPISIERUNGSVERFAHREN ZUR DIFFERENZIERUNG
VON NOSOKOMIALEN BAKTERIELLEN KRANKHEITSERREGERN. ANALYSE DER
MÖGLICHEN TRANSMISSION VON VANCOMYCIN-RESISTENTEN ENTEROKOKKEN
AM UNIVERSITÄTSKLINIKUM REGENSBURG IN DEN JAHREN 2017-2018*

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Willmertinger Philipp

2021

*AUS DER ABTEILUNG
FÜR KRANKENHAUSHYGIENE UND INFEKTILOGIE
UNIVERSITÄTSKLINIKUM REGENSBURG
PROF. DR. MED. WULF SCHNEIDER
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG*

*DER IR-BIOTYPER, EIN NEUES TYPISIERUNGSVERFAHREN ZUR DIFFERENZIERUNG
VON NOSOKOMIALEN BAKTERIELLEN KRANKHEITSERREGERN. ANALYSE DER
MÖGLICHEN TRANSMISSION VON VANCOMYCIN-RESISTENTEN ENTEROKOKKEN
AM UNIVERSITÄTSKLINIKUM REGENSBURG IN DEN JAHREN 2017-2018*

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Willmertinger Philipp

Dekan : Prof. Dr. Dirk Hellwig

1. Berichterstatter: *Prof. Dr. Wulf Schneider*

2. Berichterstatter: *Prof. Dr. Thomas Glück*

Tag der mündlichen Prüfung: 17.05.2021

Für meine Eltern

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	10
1.1	Enterokokken	11
1.1.1	Charakteristika und Virulenz.....	11
1.1.2	Intrinsische und erworbene Antibiotikaresistenzen.....	12
1.2	Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE)	13
1.2.1	Epidemiologie	13
1.2.2	Resistenzmechanismen	14
1.3	Klinische Bedeutung von VRE	16
1.3.1	Infektionen durch Vancomycin-resistente Enterokokken	16
1.3.2	Transmissionskontrolle	16
1.3.3	Typisierungsmethoden	18
1.3.4	Risikofaktoren und gefährdetes Patientengut.....	20
1.3.5	Das Universitätsklinikum Regensburg	21
1.4	Ziele der Arbeit:.....	22
2	Material und Methoden.....	23
2.1	Allgemeines.....	23
2.2	Stammsammlung	24
2.2.1	Entstehung	24
2.2.2	Messungen: PCR	24
2.2.3	Messungen: MALDI-TOF.....	27
2.2.4	Messungen: Phönix	27
2.2.5	Auswahlkriterien	28
2.3	Stammtypisierung mittels IR-Biotyper	29
2.3.1	Allgemeines zum IR-Biotyper	29
2.3.2	Anzucht der Proben.....	33
2.3.3	Messung.....	33

2.3.4 Auswertung der Daten.....	35
2.3.5 Agar Test.....	39
2.3.6 Validierung	40
2.3.7 Kostenreduktion.....	40
2.4 Vergleich des Biotypers mit anderen Typisierungsverfahren	41
2.4.1 MLST-Typisierung	41
2.4.2 Pulsfeldgelelektrophorese	41
2.4.3 Whole-Genome-Sequenzierung	42
2.5 Herstellung der Nährmedien	43
2.5.1 Columbia-Frischblut-Agar.....	43
2.5.2 Müller-Hinton-II-Agar	43
2.5.3 Herz-Hirn-Agar	43
2.6 Statistik.....	44
3 Ergebnisse	45
3.1 Beschreibung des Patientenkollektivs.....	45
3.2 Agar Tests.....	67
3.2.1 Columbia-Frischblut-Agar.....	68
3.2.2 Müller-Hinton-II-Agar	70
3.2.3 Herz-Hirn-Agar	72
3.3 Validierung des IR-Biotypers.....	74
3.4 Clustereinteilung aller Proben	79
3.5 Vergleich mit anderen Typisierungsmethoden	81
3.5.1 Multilocus-sequence-typing (MLST)	82
3.5.2 Pulsfeldgelelektrophorese (PFGE)	87
3.5.3 Whole-Genome-Sequencing (WGS)	89
3.6 Test zur Kostenreduktion	91
3.7 Statistische Daten	95

3.7.1 Gesamtheit aller Stationen	95
3.7.2 Stationen	108
3.7.3 Station 14	109
3.7.4 Station 15	110
3.7.5 Station 17	112
3.7.6 Station 18	114
3.7.7 Station 20	115
3.7.8 Station 21	117
3.7.9 Station 56	119
3.7.10 Station 57	120
3.7.11 Station 90	121
3.7.12 Station 91	122
3.7.13 Station 92	123
3.7.14 Station 93	125
3.7.15 Station 97	126
3.7.16 Stationen mit gastroentero- oder onkologischem Patientengut	127
4 Diskussion	136
4.1 Patientenkollektiv	137
4.2 Diskussion der Cut-Off-Werte und Clustereinteilung	140
4.3 Agar Versuch	143
4.4 Validierung	146
4.5 Vergleich mit bekannten Messverfahren	150
4.6 Dynamik von VRE im Krankenhaus	154
4.6.1 Analyse der Cluster	154
4.6.2 Analyse der Stationen	159
4.6.3 Fazit der statistischen Untersuchung	164
4.7 Ausblick IR-Biotyper	166

5	Zusammenfassung	167
6	Anhang	170
6.1	Abkürzungsverzeichnis	170
6.2	Tabellenverzeichnis	172
6.3	Abbildungsverzeichnis	174
6.4	Literaturverzeichnis	180
6.5	Anlage (A)	191
6.6	Anlage (B)	198
7	Danksagung	200
8	Lebenslauf	201

1 Einleitung

Die Resistenzentwicklung von Mikroorganismen gegenüber Antibiotika stellt weltweit ein stetig wachsendes Problem dar (1), das zunehmend auch in den Fokus nationaler und internationaler Gesundheitsorganisationen rückt.

Basierend auf im Jahr 2007 erhobenen Daten schätzte das Europäische Zentrum für Krankheitskontrolle und Prävention (ECDC) die Zahl an in Europa durch multiresistente Erreger (MRE) verstorbene Patienten auf 25.000 pro Jahr (2). Auch in den USA gibt es in diesem Bereich mit über 23.000 durch MRE ausgelösten Todesfällen ein zunehmendes Problem, das bei Berücksichtigung der Dunkelziffer sogar noch größer sein dürfte (3).

Eine Studie der Charité geht dabei im Falle einer weiteren Ausbreitung der Resistenzen ohne suffiziente Bekämpfung im Jahre 2050 sogar schon von bis zu 390.000 Toten durch multiresistente Erreger alleine innerhalb Europas aus (4).

Auch wenn in den letzten Jahren bei multiresistenten Bakterien gram-negative Keime an Bedeutung gewonnen haben (5), handelt es sich nach wie vor bei den meisten Übertragungen um gram-positive Erreger, wie Staphylo- oder Enterokokken. Der größte Anteil an nosokomialen Infektionen ist dabei zwar dem Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* zuzuschreiben, während dessen Infektionszahlen sich aber bereits seit Jahren im Sinken befinden (6, 7), steigen sie in mehreren deutschen Bundesländern für einen anderen multiresistenten Keim stark an. Hierbei handelt es sich um den noch vor 30 Jahren völlig unbekanntem Vancomycin-resistenten Enterokokken (8), der neben einer hohen Widerstandskraft gegen Umwelteinflüsse zudem über eine enorme Bandbreite an Antibiotikaresistenzen verfügen kann.

In Zeiten, in denen immer weniger neue Antibiotika auf den Markt gebracht werden, gewinnt somit eine erfolgreiche Transmissionskontrolle durch verbesserte Hygiene, Screening und Typisierungsmaßnahmen zur Eindämmung dieser stetig resistenter werdenden Bakterien eine immer größere Bedeutung.

1.1 Enterokokken

Früher gehörten die Enterokokken dem Stamm der Streptokokken an, bevor sie in den 1980ern in ihre eigene Gattung umgegliedert wurden (9). Enterokokken gehören dabei zur physiologischen Darmflora jedes Menschen, kommen aber auch in vielen anderen Bereichen, wie der Vagina, Urethra, aber auch im Käse und Wasser vor (10, 11). Von allen Enterokokken besitzen die Spezies *E. faecium* und *E. faecialis* die bei weitem größte klinische Relevanz, wobei *E. faecium* mit etwa 90% an allen eingeschickten Enterokokken führend ist (12, 13). Enterokokken verursachen vor allem Harnweg- und Wundinfektionen. Zu einer Sepsis, von der in erster Linie immungeschwächte Patienten betroffen sind, kommt es eher selten (14).

1.1.1 Charakteristika und Virulenz

Enterokokken sind gram-positive fakultativ anaerobe Bakterien, die in kurzen Ketten, Paaren oder als einzelne Bakterien auf dem Ausstrich erscheinen können. Genau wie Streptokokken sind Enterokokken Katalase-negativ und bilden keine Sporen (10). Trotzdem sind sie sehr umweltbeständig, können für 10 Minuten bis zu 65°C überstehen und in seltenen Fällen sogar die standardmäßige Hitzedesinfektion bei 80°C überleben (15). Die Keime wachsen auch in 40 prozentigem Gallensalz, einer 6,5% Natrium Chlorid Lösung und bei einem pH-Wert zwischen 4.5 und 10.0 (10, 16). Auf trockenen Oberflächen ist es ihnen zudem möglich bis zu vier Monate zu persistieren (17, 18).

Enterokokken können zusätzlich über eine Reihe von Virulenzfaktoren verfügen. Das „enterococcal surface protein“ (esp) oder das „aggregation protein“ (agg) begünstigen dabei die Kolonisation eines Wirts durch eine verbesserte Adhäsion und Invasion an beziehungsweise von Epithelien. Esp erlaubt dem Keim darüber hinaus die Bildung eines Biofilms zum Beispiel auf Kathetern, aber auch im Herzen, was zu Endokarditiden führen kann (10, 19).

Enterokokken können außerdem über Hyaluronidasen, Gelatinasen und Serinproteasen verfügen. Diese führen zwar beim Wirt auch zu Gewebeschäden, die Hauptrolle der Gelatinase und Serinprotease scheint aber eher die Versorgung des Bakteriums mit Nahrung zu sein (10).

1.1.2 Intrinsische und erworbene Antibiotikaresistenzen

Neben ihrer Widerstandskraft gegen physikalische Umwelteinflüsse verfügen Enterokokken zusätzlich über eine breite Palette an intrinsischen Resistenzen gegen alle Cephalosporine, Monobactame, Isoxazolympenicilline, Lincosamide (*E. faecialis*), Streptogramine (*E. faecialis*), sowie eine low level Resistenz gegen Aminoglykoside und im Falle von *E. gallinarium* und *E. casseliflavus* sogar eine low level Resistenz gegen Vancomycin, die auf den Chromosomen der Bakterien kodiert ist (20).

Darüber hinaus können Enterokokken neben ihren bereits vorhandenen intrinsischen Resistenzen durch Mutationen in der eigenen DNA oder durch Gentransfer über den Austausch von Plasmiden ein zusätzliches Spektrum an Resistenzen gegen Antibiotika entwickeln oder erwerben, die gegen sie eingesetzt werden oder wurden. Es sind bereits Resistenzen gegen Ampicillin, Makrolide, Aminoglykoside Chloramphenicol, Fluorchinolone, Oxazolidone, Glycopeptide und sogar Tetracycline inklusive dem noch relativ neuen Tigacyclin bekannt (20, 21, 22).

Die Zunahme der Resistenzen resultiert dabei zum einen aus einem exzessiven Gebrauch antibiotischer Substanzen in der Tierhaltung, die zum Teil auch als Wachstumsbeschleuniger dienen, und zum anderen aus dem zu hohen und ungezielten Einsatz dieser Mittel im Gesundheitswesen. Dadurch ergibt sich ein Selektionsvorteil für resistente Bakterien, die aufgrund dessen in Krankenhäusern nicht resistente Organismen verdrängen können (3, 21, 23, 24).

1.2 Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE)

Von besonderer klinischer Bedeutung sind bei den Enterokokken vor allem die Resistenzen gegen die Glykopeptidantibiotika Vancomycin und Teicoplanin. Glykopeptide interagieren im Gegensatz zu Beta-Lactam-Antibiotika nicht mit einem Zellwandbiosynthese-Enzym, sondern bilden eine nicht kovalente Bindung mit den beiden endständigen D-Alanyl-D-Alanin-Resten der Zellwandgrundbausteine. Aufgrund der Größe der gebundenen Moleküle können diese durch sterische Behinderung nicht mehr mit den Enzymen, die für den Zellwandaufbau verantwortlich sind, interagieren. Durch diesen Mechanismus wird die Zellwandbiosynthese gestoppt. Glykopeptide können aufgrund ihrer Größe und Struktur die Membran von gram-negativen Bakterien nicht durchdringen und werden deshalb nur gegen gram-positive Bakterien eingesetzt (25).

Vancomycin und andere Glykopeptide stellen eine wichtige Alternative zur Therapie von Infektionen mit Beta-Lactam-resistenten Bakterien dar, zu denen unter anderem auch Enterokokken gehören.

Eine Resistenz gegen Vancomycin reduziert dadurch drastisch die Therapiemöglichkeiten für Enterokokken und erhöht damit die Kosten und Mortalität bei Infektionen (26, 27).

1.2.1 Epidemiologie

Erstmals isoliert wurden Vancomycin-resistente Enterokokken 1988 im Verlauf eines nosokomialen Ausbruchs bei Dialysepatienten. Aufgrund ihrer Antibiotikaresistenz und hohen Tenazität gegenüber Umweltfaktoren sind VRE prädestiniert für die epidemische Ausbreitung in Einrichtungen der stationären und ambulanten Krankenversorgung (28).

Vor allem in Osteuropa gibt es eine hohe Rate an Vancomycin-Resistenz unter den detektierten Enterokokken-Stämmen. In Polen, der Slowakei, Rumänien, aber mittlerweile auch in Ländern wie Griechenland oder Irland, waren 2016 bereits zwischen 25 und 50 Prozent aller detektierten Enterokokken gegen Vancomycin resistent. Was die Gentamycin-Resistenz von *E. faecialis* anging, war der Anteil sogar noch höher. In Deutschland, Italien, Spanien und den osteuropäischen Ländern waren etwa 25 bis 50 Prozent, in Rumänien sogar über 50 Prozent aller *E. faecialis* high-level Aminoglykosid resistent. Während europaweit der Anteil an

resistenten Enterokokken des Typs *faecialis* langsam zurückging, stiegen die Zahlen für die Vancomycin-Resistenz bei den Enterokokken des Typs *E. faecium* stark an. Deshalb wurde der Fokus dieser Studie vor allem auf diese Bakterien gerichtet (6).

Es existieren aber nicht nur innerhalb Europas große Unterschiede bei der Rate an resistenten Enterokokken. Auch in Deutschland treten regionale Abweichungen auf. Im Jahr 2016 erschienenen epidemiologischen Bulletin des Robert-Koch-Instituts ist ein klarer VRE Gürtel dargestellt, der sich quer durch Deutschland zieht. Besonders betroffen waren dabei Sachsen, Thüringen, Hessen und Nordrhein-Westfalen mit einer weiteren Ausbreitung seit 2013 auf die Gebiete der Bundesländer Brandenburg, Mecklenburg-Vorpommern und Sachsen-Anhalt (29, 30).

Eine schlüssige wissenschaftliche Erklärung für diesen VRE-Gürtel lag zu dem Zeitpunkt dieser Arbeit noch nicht vor. Mögliche Ursachen könnten die regionale Verbreitung verschiedener Stämme oder der unterschiedliche Selektionsdruck durch regionale Divergenzen in der Antibiotikaaanwendung sein. Insgesamt steigt aber die Zahl an Vancomycin-resistenten Enterokokken in fast allen Bundesländern stark an, was zusammen mit der schnellen Ausweitung des VRE-Gürtels deutlich zeigt, dass es sich hierbei um ein ganz Deutschland betreffendes Problem handelt (29).

1.2.2 Resistenzmechanismen

Enterokokken werden gegen Vancomycin resistent, indem die endständige Aminosäure des Peptidoglycans D-Alanyl-D-Alanin zu D-Alanyl-D-Lactat umgewandelt wird. Dies führt zu einer high level Resistenz, bei einem Austausch der Aminosäure Alanin mit Serin entsteht eine low level Resistenz (31). Der Austausch von Alanin gegen Lactat führt beispielsweise beim *vanA*-Typ, der bedeutendsten Genvariante, die vor allem in *E. faecium*-Isolaten gefunden werden kann (32), zu einer um bis zu 1000-fach gesunkenen Bindungsfähigkeit von Vancomycin an die Zellwandbestandteile und erklärt so die Glycopeptidresistenz des entsprechenden Enterokokken-Stamms. Gleichzeitig ergibt sich daraus auch eine Kreuzresistenz zu Teicoplanin.

Bei Enterokokken des *vanB*-Typs liegt ausschließlich eine Resistenz gegen Vancomycin vor, gegen Teicoplanin andererseits sind sie empfindlich. Allerdings kann die Vancomycin-Resistenz der Enterokokken unterschiedlich stark exprimiert sein. Trotzdem sollten *vanB*-positive *E. faecium* sicherheitshalber immer als

potenziell Vancomycinresistent betrachtet werden.

Zurzeit sind neun dieser van-Gen-Cluster bekannt, die in der Vancomycin-Resistenz der Enterokokken eine Rolle spielen. Die Gen-Cluster *vanA*, *vanB*, *vanD* und *vanM* verursachen dabei die Vancomycin-Resistenz durch die Bildung von D-Ala-D-Lac, *vanC*, *vanE*, *vanG*, *vanL* und *vanN* durch die Bildung von D-Ala-D-Ser. *VanC* gilt dabei als natürliche, intrinsische low level Vancomycin-Resistenz, die chromosomal kodiert und damit nicht übertragbar ist. Aber auch die anderen Gen-Cluster haben trotz teilweiser Übertragbarkeit zwischen den Bakterien bis auf *vanA* und *vanB* keine klinische Bedeutung.

VanA und *vanB* sind die beiden bedeutendsten und am häufigsten vorkommenden Vancomycinresistenzgene. Sie liegen auf mobilen Elementen, wie Transposons und Plasmiden, und erlauben dadurch eine Verbreitung der Vancomycin-Resistenz unter Enterokokken aber auch anderen gram-positiven Keimen. Dies stellt eine zusätzliche Bedrohung von Krankenhauspatienten durch andere nun resistente und zudem virulentere gram-positive Bakterien dar (22, 31, 33, 34).

Forschern ist es gelungen ein *vanA*-Plasmid von Vancomycin-resistenten Enterokokken auf Listerien und *Staphylococcus aureus* zu übertragen. Es hat sich darüber hinaus bereits gezeigt, dass eine solche Übertragung auch ohne Laborbedingungen möglich ist. Im Juni 2002 berichtete das CDC über den ersten Fall eines Patienten mit einem Vancomycin-resistenten *Staphylococcus aureus* (VRSA) in den USA. Seither wurden 14 Stämme von VRSA entdeckt, die alle aus bereits Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* Stämmen hervorgingen. Die Vancomycinresistenz entstand dabei in allen Fällen durch eine Übertragung einer *vanA*-Genkassette von einem Vancomycin-resistenten Enterokokken auf einen MRSA. Diese neuen *Staphylococcus aureus* Stämme sind zwar noch äußerst selten, treten sie allerdings auf, sind sie nur sehr schwer zu therapieren. Die betroffenen Patienten zeigen zudem ein deutlich schlechteres Outcome als solche mit gewöhnlichen MRSA Infektionen (35, 36, 37, 38).

1.3 Klinische Bedeutung von VRE

Wie schon beschrieben stellen Vancomycin-resistente Enterokokken ein Problem für die Patientenversorgung in Krankenhäusern dar, da sie aufgrund der mannigfaltigen Resistenzen schwer zu behandeln sind und zudem ihre Resistenz Gene auch auf andere Bakterien übertragen können (22).

1.3.1 Infektionen durch Vancomycin-resistente Enterokokken

In den USA gibt es etwa zwei bis vier Millionen nosokomiale Infektionen pro Jahr, von denen die zweit- bis drittmeisten durch einen Vancomycin-resistenten Enterokokken ausgelöst werden. Der Keim wurde dabei meist über die Hände und Kleidung des Personals übertragen. Patienten mit VRE in ihrem Blutkreislauf hatten ein erhöhtes Risiko eine Sepsis zu entwickeln (16.9% vs 3.7%, $P < 0.0001$), eine erhöhte Sterblichkeit bei schweren Verläufen der Infektion (Relatives Risiko [RR], 2.57; 95% Konfidenzintervall [CI]: 2.27-2.91) und eine durch die Bakteriämie erhöhte Gesamtmortalität. Außerdem bedeutete jede Blutstrominfektion für das behandelnde Krankenhaus zusätzliche Kosten von durchschnittlich 27.000\$ pro Fall (39). Eine Infektion mit VRE geht dabei häufig aus der intestinalen Besiedelung hervor. Typische Infektionen sind demzufolge Harnwegsinfektionen, postoperative Infektionen in besiedelten Bereichen und Katheterinfektionen. Diese können sich über die genannten Eintrittspforten sekundär bis hin zu lebensbedrohlichen Bakteriämien oder Septikämien weiterentwickeln (25).

1.3.2 Transmissionskontrolle

Für die Therapie von schweren Infektionen mit Vancomycin-resistenten Enterokokken sind Linezolid und Tigecyclin zurzeit die erste Wahl. Dabei ist zu beachten, dass bei Linezolid eine Myelomsuppression und Neurotoxizität beschrieben wird. Bei Tigecyclin wurde in einigen Studien sogar eine erhöhte Letalität nachgewiesen, weshalb es nur noch in einem eingeschränkten Anwendungsgebiet verwendet werden darf. Neben den massiven Nebenwirkungen dieser Antibiotika besteht ebenfalls das Problem der Resistenzentwicklung, die unter Linezolid- und Tigecyclin-Therapien bereits beobachtet werden konnte (40). Mit dem Voranschreiten der Resistenzen und dem Nachrücken nur weniger neuer, noch nicht ausreichend getesteter, Antibiotika, spielt somit die Transmissionskontrolle eine sehr wichtige Rolle (33).

Aus diesem Grund sollte der ungezielte Einsatz vor allem von Reserveantibiotika weiter eingeschränkt werden, um die Verbreitung von Resistenzen zu minimieren (41). Darüber hinaus ist eine Verbesserung der Standardhygiene unumgänglich.

Dabei ist bei VRE-kolonisierten Nicht-Risikopatienten auf Normalstationen die strikte Einhaltung der Standardhygiene, wie konsequente Händedesinfektion, patientenbezogene Pflegeutensilien sowie Kittel- und Handschuhpflege ausreichend. Aufgrund der erhöhten Tenazität von VRE auf unbelebten Oberflächen ist es zudem von Vorteil zusätzlich eine regelmäßige Flächendesinfektion der patientennahen Bereiche zur Verhütung von Übertragungen durchzuführen. Bei Ausbrüchen und auf Stationen mit einem gefährdeten Patientengut (Onkologie, Transplantationschirurgie, Dialysestationen und Neonatologie) sollte allerdings am besten eine Isolierung in einem Einzelzimmer erfolgen. Hierbei ist auch eine Kohortenisolierung möglich. Die Isolierung sollte erst bei drei negativen Rektalabstrichen und weiteren drei negativen Proben der Stelle des Primärnachweises aufgehoben werden. Der beste und wichtigste Schutz ist und bleibt aber die standardmäßige Händedesinfektion vor und nach jedem Patientenkontakt (42, 43).

Zusätzlich zu den bereits genannten Möglichkeiten gibt es auch noch die Option eines Eingangsscreenings auf VRE mit anschließender Typisierung der Enterokokken-Stämme, um die Verbreitung innerhalb eines Krankenhauses einzuschränken. Aus Kostengründen empfehlen Mutters et al. aber nur das Screenen und Typisieren von Hochrisikokollektiven und bei einem vermehrten Auftreten von VRE Infektionen innerhalb einer Station.

Ein Screening auf VRE kann helfen die Verbreitung innerhalb eines Krankenhauses zu verringern, da bereits im Vorfeld kolonisierte Patienten erkannt und isoliert werden können. Auf Stationen mit transplantierten oder immunsupprimierten Patienten hilft zusätzlich ein schnelles Typisierungsverfahren bei der Einschätzung des Risikos sowie dem Detektieren von neuen, möglicherweise virulenteren, VRE-Stämmen (43).

1.3.3 Typisierungsmethoden

Um das Ziel der Analyse von Antibiotikaresistenzen und geographischen Populationsstrukturen zu erreichen gibt es verschiedene Typisierungsmethoden. Darunter befinden sich seit langem etablierte Verfahren wie die Pulsfeldgelelektrophorese (PFGE), das Multilocus-sequence-typing (MLST) oder das Whole-Genom-Sequenzierung (WGS), aber auch relativ Neue wie die Infrarotspektroskopie (IR-Biotyper von Bruker).

Seit den Anfängen der Mikrobiologie wurden große Anstrengungen unternommen, um immer neuere und bessere Typisierungsverfahren zu entwickeln. Diese Mühen spiegelten das Verlangen der Wissenschaftler und Ärzte wider, ein noch größeres Verständnis für die verschiedenen Krankheitserreger zu erlangen und damit neue Heil- und Therapieansätze finden zu können. Die ersten Typisierungsverfahren, die den Ärzten in der Klinik zur Verfügung standen, waren sogenannte phänotypische Methoden, wie etwa die Phagentypisierung. Diesen ersten Typisierungsmethoden mangelte es allerdings noch an diskriminativer Stärke und verlässlicher Reproduzierbarkeit, weshalb sie nach der Entwicklung genotypischer Verfahren durch diese sukzessive abgelöst wurden. Die ersten genotypischen Verfahren waren noch bandenbasiert, wobei das wohl bekannteste Verfahren aus dieser Gruppe die im Jahre 1984 von David Schwartz und Charles Cantor entwickelte Pulsfeld-Gelelektrophorese ist. Hierbei wird die DNA mit Restriktionsenzymen geschnitten und anschließend durch elektrische Felder nach Größe aufgetrennt. Die Auswertung erfolgt anhand des Vergleiches der dadurch entstandenen Banden, wodurch die Verwandtschaftsbeziehungen von Mikroorganismen verschiedener Proben analysiert werden können. Diese neuen bandenbasierten Typisierungsverfahren waren aufgrund ihrer hohen Diskriminationsfähigkeit hervorragend geeignet zur Untersuchung von kleineren lokalen Ausbrüchen. Globale Geschehnisse brachten diese Methoden aber an ihre Grenzen, da die Ergebnisse nur schwer zwischen verschiedenen Laboren vergleichbar waren. Zudem erwiesen sich die auch heute noch oft genutzten Verfahren als sehr zeit- und arbeitsintensiv.

Die technische Entwicklung automatischer Sequenzierer und fluoreszierender statt radioaktiver Sequenzierungsschemie führte schließlich zur Einführung von neuen DNA-Sequenzbasierten genotypischen Methoden, die zunächst für den Nachweis von Resistenzen viraler oder bakterieller Infektionserreger verwendet wurden.

Erst mit der Entwicklung der Multilocus-Sequenz-Typisierung im Jahr 1998 wurden auch zunehmend weitere Typisierungsverfahren basierend auf der DNA-Sequenzierung entwickelt und eingesetzt. Bei diesem Verfahren zur Analyse von bakteriellen Populationen werden üblicherweise sechs bis acht interne Fragmente, sogenannte Haushaltsgene, sequenziert und verglichen, die für den Organismus essenziell und selektionsneutral sind. Ein großer Vorteil der DNA-Sequenzierung war dabei die relativ hohe Geschwindigkeit des Verfahrens, die es erlaubte, insbesondere in der Routinediagnostik oder Hygiene schnell Maßnahmen in Abhängigkeit vom Typisierungsergebnis umsetzen zu können. Darüber hinaus waren die gute Reproduzierbarkeit sowie die Möglichkeit, die gewonnenen Daten zu speichern und über das Internet weltweit abrufen oder vergleichen zu können, große Pluspunkte. Diese trugen zum Erfolg sequenzbasierter Typisierungsverfahren bei, obwohl sie im Vergleich zu älteren, bandenbasierten Verfahren höhere Kosten verursachten (44).

Mit dem neuen Jahrtausend kam dank dem Whole-Genome-Sequencing eine neue Technologie auf, durch die es möglich war, mithilfe von an dNTP angehängten Fluoreszenzmarkern, ohne Umwege direkt das Genom von Bakterien zu bestimmen. Der große Vorteil dieser noch relativ teuren Methode ist dabei, dass neben der Verwandtschaftsanalyse nun auch die Detektion einzelner Resistenz- und Virulenzgene möglich wurde. Leider ist diese Genauigkeit auch mit einer langen Vorlaufzeit bis zum fertigen Ergebnis verbunden, was die Untersuchung von akuten Ereignissen deutlich erschwert (45, 46).

Um die Lücke zwischen den älteren Typisierungsverfahren, die relativ zeitnah eine Verwandtschaftsanalyse ohne genaue Detektion aller Virulenz- und Resistenzgene erlauben, und dem Whole-Genom-Sequencing, das hierzu zwar in der Lage ist, aber aufgrund der langen Vorlaufzeit noch nicht für das Typisieren von akuten Ereignissen geeignet ist, zu schließen, wurde im Jahr 2018 von Bruker der IR-Biotyper vorgestellt. Dieser verspricht eine schnelle und günstige Routinetypisierung verschiedenster Mikroorganismen für die Analyse von Krankenhausinfektionen und Erregerausbrüchen, muss seine Tauglichkeit für diesen Einsatzbereich allerdings erst noch beweisen (47).

1.3.4 Risikofaktoren und gefährdetes Patientengut

Für eine Infektion mit VRE gibt es mehrere Risikofaktoren. Eine große Rolle spielt dabei die Immunsuppression in klinischen Bereichen wie der Hämatologie, Onkologie, auf Intensivstationen oder nach Organtransplantationen. Vor allem der weniger virulente, aber dafür mit mehr Resistenzen ausgestattete *E. faecium* kolonisiert oder infiziert fast ausschließlich diese Patienten mit schweren Grundleiden.

Ein weiterer Punkt ist der Einsatz von Fluorchinolonen und Cephalosporinen, die über eine Enterokokkenlücke verfügen und diese Bakterien somit nur unzureichend bekämpfen. Dies fördert die Verbreitung von resistenten Enterokokken. Das Hauptrisiko an einer VRE Infektion zu sterben, tragen vor allem ältere, schwer kranke Patienten mit Neutropenie, Krebserkrankungen, Niereninsuffizienz oder Leberzirrhose. Sie zeigen eine signifikant erhöhte Letalität, wenn die initiale empirische Antibiotikatherapie bei nosokomialen VRE-Infektionen unwirksam bleibt (25, 28).

Neben den genannten Risikofaktoren für Patienten und Krankenhäuser spielen zudem auch die Bedingungen in der Tiermast eine große Rolle. Der bei Weitem größte Teil an antibiotisch wirksamen Substanzen wird hier verbraucht. Allein im Jahr 2011 wurde vom Deutschen Institut für medizinische Dokumentation und Information in der Tiermast ein Verbrauch von 1734 Tonnen Antibiotika festgestellt dem gerade einmal etwa 450 bis 600 Tonnen in der Humanmedizin gegenüberstanden. Auch wenn die Zahlen in der Tiermast seitdem rückläufig sind (2014: 1238 Tonnen) zeigt sich dennoch, dass in diesem Bereich auch weiterhin der Großteil der antibiotisch wirksamen Substanzen eingesetzt wird. Der hohe Verbrauch und die Verwendung ähnlicher oder sogar gleicher Mittel wie in der Humanmedizin fördert zudem Kreuzresistenzen unter den Enterokokken, die über die Nahrung direkt in Kontakt mit dem Menschen gelangen (48, 49, 50).

1.3.5 Das Universitätsklinikum Regensburg

Im Universitätsklinikum Regensburg führten drei Stationen ein Eingangsscreening durch. Die Stationen 20, 21 und 92 screenen dabei jeden Patienten im Zuge der Aufnahme. Die onkologische Station 21 führte darüber hinaus bei allen Patienten ein wöchentliches Screening durch. Alle auf VRE positiv getesteten Patienten wurden, wenn möglich, in einem Einzelzimmer isoliert. Zusätzlich wurden die Patientenzimmer gekennzeichnet und die Pflege mit Einwegkittel und Handschuhen durchgeführt.

Die Händehygiene wurde im gesamten Krankenhaus mittels Hand-KISS fortlaufend kontrolliert und auch der Verbrauch der Desinfektionsmittel auf den Stationen wurde festgehalten, um einen hohen Hygiene Standard zu gewährleisten. Des Weiteren erfolgte der Versuch durch ein *antibiotic-stewardship* Programm die Menge an falsch eingesetzten Antibiotika zu verringern. Trotzdem hatte das Universitätsklinikum im Jahr 2017 mit 4,7 RDD/100 Pflgetagen einen sehr hohen Vancomycinverbrauch, der etwa drei Mal so hoch ausfiel wie der Median der Vergleichsgruppe.

Substanz	Verbrauchsdichte in RDD/100 Pflgetage				
	Vergleichsreport 2016/2017 Median (Interquartilber.)	UKR 2014	UKR 2015	UKR 2016	UKR 2017
Drittgenerations-Cephalosporine	3,7 (2,5 – 5,2)	4,5	4,2	4,2	4,5
Breitspektrum-Penicilline	5,0 (4,3 - 6,8)	7,8	8,7	8,8	8,9
Carbapeneme	3,1 (2,1 - 4,6)	5,3	5,7	6,4	6,1
Aminopenicilline/ BLH	5,8 (4,0 – 7,4)	4,1	4,7	5,6	5,9
Fluorochinolone	6,8 (5,9 - 8,5)	7,7	7,0	6,3	7,0
Glykopeptide	1,5 (0,8 - 2,3)	4,4	4,8	5,1	4,7
Linezolid	Kein Referenzwert	0,7	0,8	0,8	0,8

Abbildung 1: ADKA-If UKR Antiinfektiva-Report 2014-2018.

1.4 Ziele der Arbeit:

Die geplante Studie soll zur Prüfung und Validierung des IR-Biotypers als mögliches Verfahren für die schnelle Typisierung von Vancomycin-resistenten Enterokokken durchgeführt werden. Zusätzlich sollen mithilfe des IR-Biotypers alle binnen eines Jahres aufgetretenen VRE-positiven Patientenisolate analysiert und die Anzahl an möglichen Übertragungen ermittelt werden.

Neben einer deskriptiven statistischen Beschreibung der VRE-positiven Studiengruppe sollen folgende Fragen im Rahmen dieser Arbeit beantwortet werden:

- Wie viele potenzielle Übertragungen gab es im Universitätsklinikum Regensburg und gibt es einen Unterschied bei der Anzahl oder den Übertragungsmustern auf den verschiedenen Stationen?
- Gibt es im Krankenhaus einen vorherrschenden Stamm an Vancomycin-resistenten Enterokokken, der für einen Großteil aller potenziellen Übertragungen verantwortlich ist?
- Sind Stationen, die ein für Enterokokken gefährdetes Patientengut aufweisen von einer größeren Zahl an potenziellen Übertragungen betroffen?
- Was unterscheidet Stationen mit einer hohen VRE-Rate und geringen potenziellen Übertragungen von Stationen mit einer hohen Übertragungsrate?
- Inwiefern ist der IR-Biotyper mit anderen Typisierungsverfahren, wie der Pulsfeldgelelektrophorese, MLST-Typisierung oder dem Whole-Genom-Sequencing vergleichbar?
- Ist es möglich Kosten zu sparen, indem die Messungen mit dem IR-Biotyper ohne die Biotyper-Kits durchgeführt werden und kommt es hierbei zu einer Verschlechterung der Ergebnisse?

Hypothese: Der IR-Biotyper ist ein gutes, schnelles und kostengünstiges Typisierungsverfahren, das für eine erste Differenzierung von Vancomycin-resistenten Enterokokken eingesetzt werden kann.

2 Material und Methoden

2.1 Allgemeines

Um eine Kontamination mit ubiquitär vorkommenden Bakterien und Pilzen zu verhindern wurden bei Arbeiten wie dem Inokulieren von Nährmedien, dem Abimpfen von Reinkulturen und anderen kontaminationssensiblen Arbeitsschritten wie dem Herstellen und Auftragen der Messlösung stets Latexhandschuhe getragen. Es wurde außerdem auf eine strenge Trennung von infektiösen und nichtinfektiösen Arbeitsplätzen geachtet.

Die Verwendung der Handschuhe diente zusätzlich auch dem Infektionsschutz. Bei jedem Ablegen der Handschuhe wurde stets und unverzüglich eine hygienische Händedesinfektion durchgeführt. Nach Beendigung der Arbeit mit infektiösem Material und bei endgültigem Verlassen des Raumes erfolgte eine Flächendesinfektion des Arbeitsplatzes mit Incidin.

Die Messplatten des IR-Biotypers wurden nach Benutzung mit destilliertem Wasser und einem Tuch von groben Unreinheiten befreit. In einem zweiten Schritt erfolgte nach der endgültigen Desinfektion mit Isopropanol die Verpackung in luftdichte und wiederverschließbare Plastikbeutel. Der Abwurf von kontaminiertem Material, wie den Eppendorf Cups oder den Impfösen, erfolgte in einem Kunststoffbeutel direkt auf der Werkbank. Anschließend wurde der Beutel in einem Müllbehälter für Feststoffe entsorgt und autoklaviert. Verwendete Agarplatten wurden nach Benutzung in einen Müllbehälter für Flüssigkeiten gegeben. Anschließend wurden die Nährmedien durch Autoklavierung vollständig vernichtet. Wiederverwendbares Material wurde sterilisiert oder mit 70 prozentigem Alkohol desinfiziert.

Vor Aufnahme der Arbeiten im Rahmen dieser Dissertation lag bereits ein positives Ethikvotum vom 17.11.2016 für das Forschungsvorhaben „Molekulare Epidemiologie Vancomycin-resistenter Enterokokken am Universitätsklinikum Regensburg - eine retrospektive Auswertung“ (Zeichen 16-104-0057) vor. Darüber hinaus wurde für die weitere Dissertation ein neuer Ethikantrag mit dem Titel „Molekulare Epidemiologie von nosokomialen Krankheitserregern“ (Zeichen 18-989-104) gestellt. Am 25.04.2018 entschied auch hier die Ethikkommission des Universitätsklinikums Regensburg, dass keine berufsethischen oder rechtlichen Bedenken vorlägen.

2.2 Stammsammlung

2.2.1 Entstehung

Die VRE-Stammsammlung des Instituts für klinische Mikrobiologie und Hygiene des Universitätsklinikums Regensburg speist sich aus den an die diagnostische Abteilung eingesandten Proben des UKR sowie aus Isolaten von regionalen Krankenhäusern, wie dem Krankenhaus Barmherzige Brüder oder dem Caritas Krankenhaus St. Josef in Regensburg. Die Proben stammten dabei sowohl von Screeninguntersuchungen als auch von tiefgekühlten mikrobiologischen Probematerialien.

In der Diagnostik erfolgte die Identifikation von Vancomycin-resistenten Enterokokken auf verschiedene Weisen. Abstriche wurden angezchtet und dann auf verschiedene Erreger getestet. Bei VRE-Screeninguntersuchungen wurde die Probe in eine Anreicherungs- und Selektions-Bouillon gegeben, in der nicht resistente Bakterien durch Vancomycin abgetötet wurden. Anschließend erfolgte eine Auswertung mittels PCR, auf die im folgenden Kapitel näher eingegangen wird. Der Bakterienstamm und die *van*-Gen-Typisierung wurden mittels High-Resolution-Melting festgestellt.

2.2.2 Messungen: PCR

Bei der PCR oder auch Polymerase-Kettenreaktion handelt es sich um eine einfache Möglichkeit bestimmte Gensequenzen innerhalb einer doppelsträngigen DNA-Kette mit teilweise bekannter Sequenz zu vervielfältigen (51).

Zur Auswertung der PCR-Produkte verwendete die Diagnostik des Universitätsklinikums einen Light Cycler und das Schmelzkurvenverfahren. Bei der Schmelzkurvenanalyse handelt es sich um ein schnelles Auswertungsverfahren von PCR-Produkten. Hierbei wird der DNA ein fluoreszierender Farbstoff zugesetzt, der mit dem Doppelstrang stärker als mit dem Einzelstrang bindet. Mit steigender Temperatur beginnt die DNA zu denaturieren und die Fluoreszenz nimmt mit der sinkenden Anzahl an Doppelstrangbindungen ebenfalls ab. Durch kontinuierliche Messung kann hierdurch eine Schmelzkurve generiert werden (52), die abhängig ist vom Gehalt der DNA an Cytosin und Guanin, welche mit drei Wasserstoff Bindungen verbunden sind, sowie Adenin und Thymin, die dagegen nur durch zwei Bindungen im Doppelstrang zusammen

gehalten werden. Dies führt zu einem Unterschied in der für die Spaltung dieser Bindungen nötigen Energie (53). Jedem DNA-Stück kann so eine spezifische Schmelztemperatur zugeordnet werden, die als Punkt definiert ist, an dem die Hälfte des Doppelstrangs aufgetrennt wurde (54).

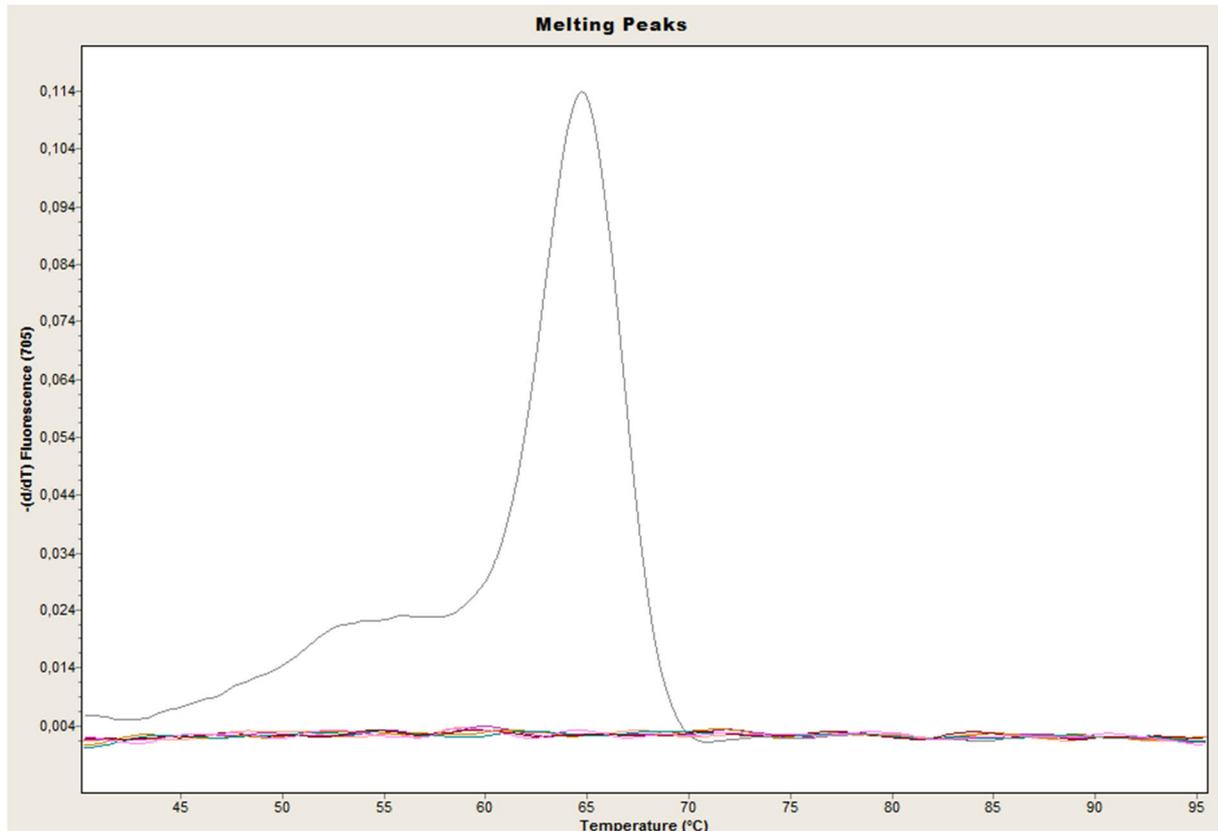


Abbildung 2: Light Cycler Ergebnis eines vanA-positiven Enterokokken.

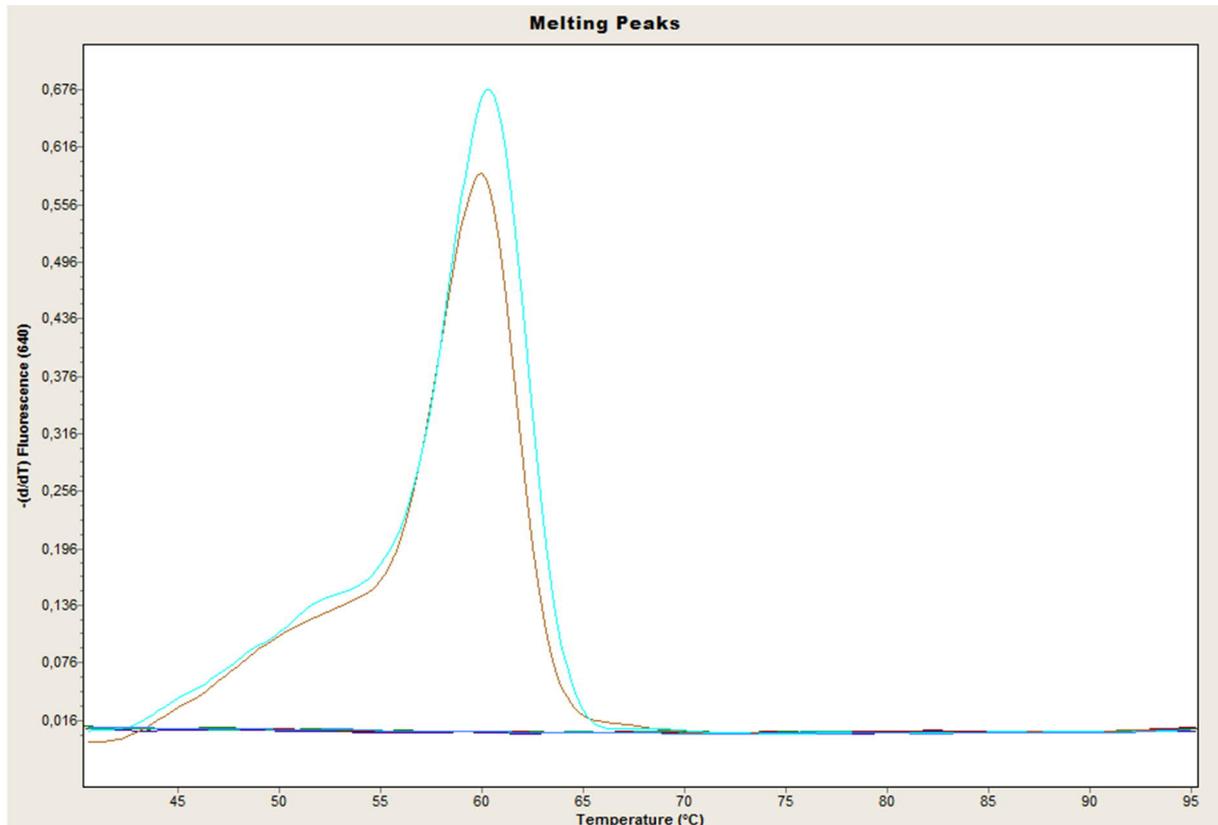


Abbildung 3: Light Cycler Ergebnis von *vanB*-positiven Enterokokken.

In den Abbildungen 2 und 3 sind die grafischen Ergebnisse des Light Cyclers der Diagnostik dargestellt. Die Schmelzkurve in der ersten Abbildung entspricht dabei *vanA*-, die der zweiten *vanB*-positiven Enterokokken.

Nach der positiven Bestimmung eines Vancomycin-resistenten Enterokokken durch die Diagnostik erfolgte eine weitere Differenzierung durch Anzucht und Isolierung eines Einzelklons durch das Institut für klinische Mikrobiologie und Hygiene.

Die Einzelklone wurden hierzu nochmals mittels PCR untersucht. Die Auswertung der DNA erfolgte hier allerdings durch eine Typisierung mittels Gelelektrophorese. Bei diesem Verfahren werden die DNA-Stücke mit Ethidiumbromid angefärbt und durch Gleichstrom auf einer Gelplatte nach ihrer Länge und Konformität getrennt (51). Auf diese Weise kann auch eine erste Einschätzung über die Verwandtschaft der Bakterien-Stämme zueinander getroffen werden.

2.2.3 Messungen: MALDI-TOF

Zusätzlich zu der erneuten Untersuchung mittels PCR wurden die durch die Diagnostik als VRE-positiv markierten Proben mithilfe eines MALDI-TOF untersucht.

Bei dem MALDI-TOF handelt es sich um einen Matrix-Assistierten-Laser-Desorption-Ionisierungs- (MALDI) Flugzeit- (TOF = time of flight) Massenspektrometer.

Die Bakterien werden hierfür auf Festmedien vorkultiviert. Anschließend wird auf die Probenplatte eine geringe Menge einer Einzelkolonie gegeben, die im Hochvakuum des Gerätes durch einen Laserschuss explosionsartig verdampft wird. Bei diesem Vorgang werden die Proteine der zu untersuchenden Erreger mitgerissen, ionisiert und mittels eines elektrischen Feldes beschleunigt. Die Flugzeit der Proteine kann dabei exakt bestimmt werden. Die unterschiedlichen Massen der Proteine können ausgewertet und in ein Gesamtspektrum eingeordnet werden, das für verschiedene Bakterien und Pilze typisch ist (55).

2.2.4 Messungen: Phönix

Nach den beiden oben genannten Verfahren wurden die Antibiotikaresistenzen der Keime mittels des Phönix-Systems überprüft.

Das Phönix-System enthält eine Platte, auf der mittels kontinuierlicher Indikator- und Absorptionmessung das Bakterienwachstum bestimmt werden kann.

Jeder der Messplätze für eine Probe enthält ein anderes Antibiotikum, so dass auf diese Weise die Wachstumsfähigkeit und Geschwindigkeit abhängig von verschiedenen Antibiotika getestet und ein Antibiogramm erstellt werden kann (56).

2.2.5 Auswahlkriterien

Für die vorliegende Arbeit wurden zuerst alle Proben mit Vancomycin-resistenten Enterokokken, die im Zeitraum vom 01.04.2017 bis zum 31.03.2018 abgenommen und an die diagnostische Abteilung des Universitätsklinikums gesendet wurden, ausgewählt.

In die Statistik und die IR-Biotyper-Analyse gingen aber nur Proben ein, die eine Reihe weiterer Auswahlkriterien erfüllten.

So mussten alle Proben direkt vom Universitätsklinikum Regensburg stammen. Desweiteren wurden nur Proben akzeptiert, in denen durch die in 2.2.2 beschriebenen Messmethoden ein Vancomycin-resistenter *Enterococcus faecium* nachgewiesen werden konnte. Die Proben mussten außerdem als Reinform vorliegen.

Alle Proben, die diese Anforderungen erfüllten, wurden ihren Patienten zugeordnet. Bei mehreren Proben eines Patienten wurde ausschließlich das Erstisolat mit dem IR-Biotyper typisiert.

2.3 Stammtypisierung mittels IR-Biotyper

2.3.1 Allgemeines zum IR-Biotyper



Abbildung 4: Bild des IR-Biotypers (Bruker, Broschüre des IR-Biotypers 2018, Verfügbar unter: https://www.bruker.com/fileadmin/user_upload/8-PDF-Docs/Separations_MassSpectrometry/Literature/Brochures/1852688_IR_Biotyoeer_05-2017_ebook.pdf Stand 17.06.2018 11:20 Uhr).

Das IR-Biotyper-System (Abbildung 4) für mikrobiologische Stammtypisierung basiert auf der Technologie der Fourier-Transformations-Infrarotspektroskopie. Es ergänzt Brukers MALDI-Biotyper-Massenspektrometer für die schnelle Identifizierung von mikrobiologischen Proben (57). Hierzu nutzt der IR-Biotyper viele verschiedene Moleküle, wie Lipide, Proteine, Nukleinsäuren und Polysaccharide gleichzeitig, um die Proben durch ihre spezifische Absorption im Infrarotbereich zu charakterisieren (57).

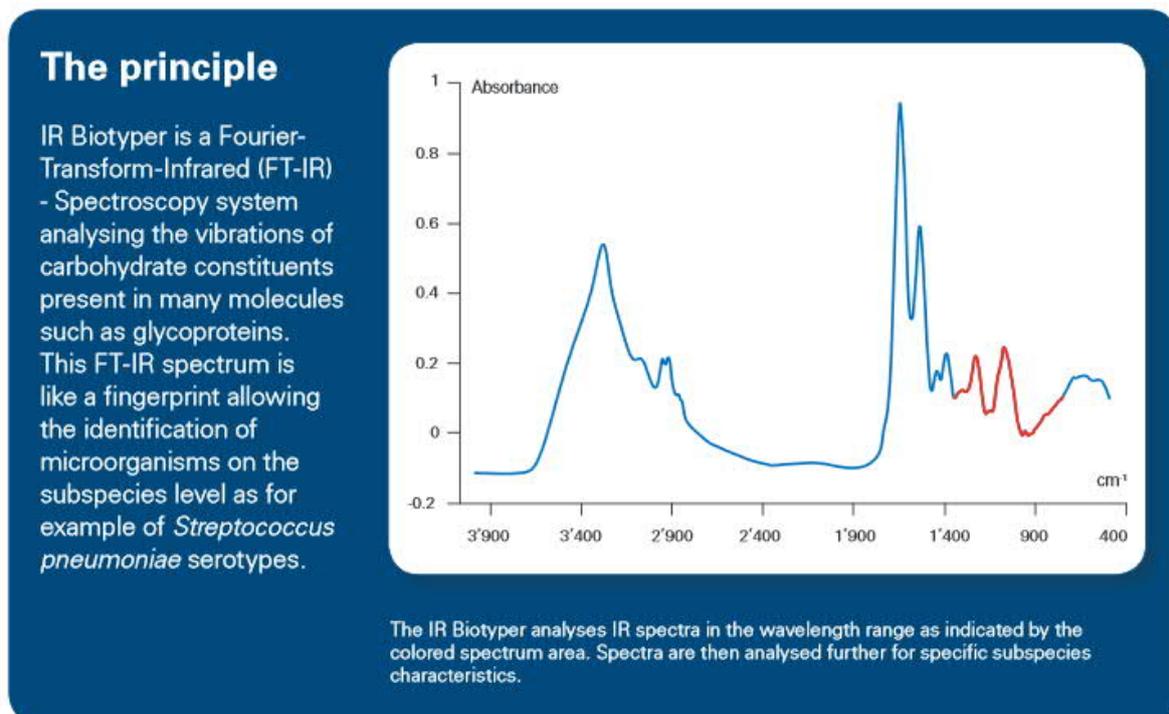


Abbildung 5: Darstellung eines Infrarot Fingerabdrucks einer Probe des IR-Biotypers (Bruker, Broschüre des IR-Biotypers 2018, Verfügbar unter: https://www.bruker.com/fileadmin/user_upload/8-PDF-Docs/Separations_MassSpectrometry/Literature/Brochures/1852688_IR_Biotyoeer_05-2017_ebook.pdf Stand 17.06.2018 11:20 Uhr).

Die Hersteller geben an, dass der IR-Biotyper sowohl alleine für die Infektionskontrolle und Routinediagnostik, als auch in Kombination mit dem MALDI-TOF zur parallelen Bestimmung der mikrobiologischen Spezies verwendet werden kann (57).

Auf jeder Biotyper-Messplatte liegen dabei insgesamt 96 Messpunkte, von denen vier für die Standards und einer für den Referenzwert vorbehalten sind. Bei mindestens drei Messpunkten je Isolat ist somit die Messung von bis zu 30 verschiedenen Proben gleichzeitig möglich. Es können aber auch andere Kombinationen, wie zum Beispiel 18 Proben mit jeweils fünf Messpunkten, erstellt werden.

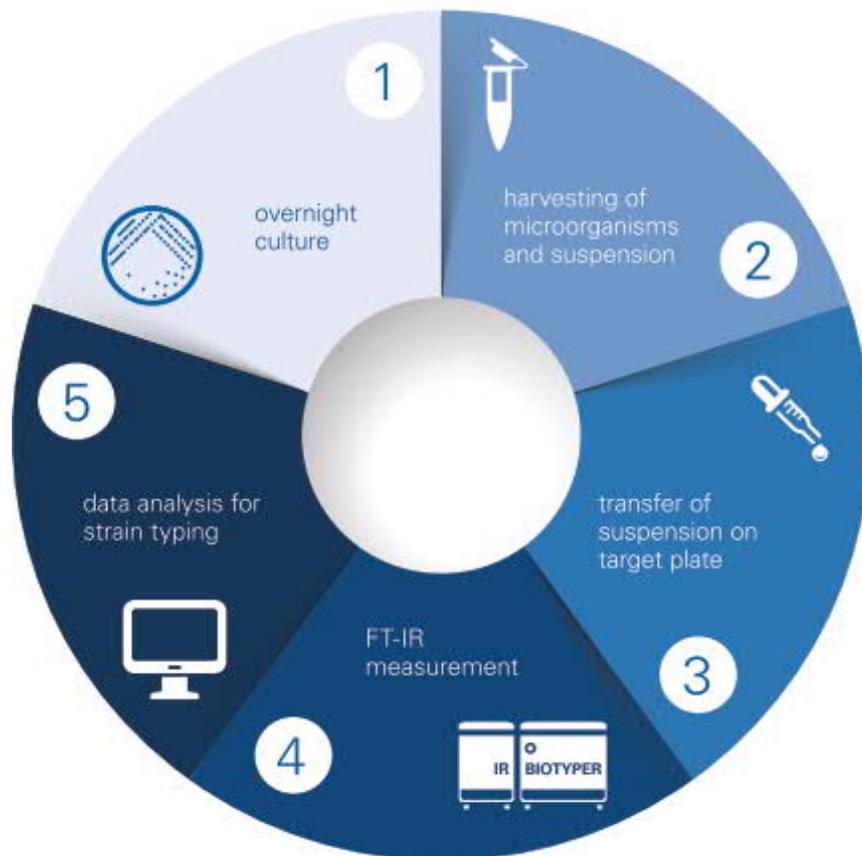


Abbildung 6: Arbeitsschritte einer Messung mit dem IR-Biotyper.
(Bruker, Broschüre des IR-Biotypers 2018, Verfügbar unter: https://www.bruker.com/fileadmin/user_upload/8-PDF-Docs/Separations_MassSpectrometry/Literature/Brochures/1852688_IR_Biotyoeer_05-2017_ebook.pdf
Stand 17.06.2018 11:20 Uhr).

Die einzelnen Schritte jeder Messung sind in Abbildung 6 grob dargestellt. Zuerst wird eine Kultur des zu messenden Mikroorganismus benötigt. Hierzu wird eine Einzelkolonie auf einer Agarplatte ausgestrichen und über Nacht in einem Brutschrank kultiviert. Die geerntete Biomasse wird anschließend in einem kleinen Gefäß mit Alkohol und Wasser gemischt und auf die Messplatte geträufelt. Die Ergebnisse der Messung können nach Beendigung des Messvorgangs direkt an der Maschine ausgewertet werden. Auf die einzelnen Arbeitsschritte wird in den folgenden Kapiteln nochmals genauer eingegangen.



Abbildung 7: IR-Biotyper-Kit.

Um den Prozess zu beschleunigen und zu standardisieren hat Bruker das in Abbildung 7 gezeigte IR-Biotyper-Kit entwickelt. In ihm befinden sich Behälter für 50 Proben, die mit drei kleinen Metallstäbchen gefüllten Eppendorf Cups ähneln. Außerdem enthalten sie genug Teststandards (IRTS1 und IRTS2) zur Durchführung von fünf Messungen (58).



Abbildung 8: OVP-Test Platte für den IR-Biotyper.

Um eine gleichbleibend hohe Qualität zu erhalten ist es zusätzlich erforderlich jede Woche mittels des Programms OPUS einen OVP-Test durchzuführen. Hierzu gibt es eine eigene Testplatte, mit deren Hilfe der Biotyper selbstständig und innerhalb von wenigen Minuten die richtige Positionierung der Platte und seines Lasers erkennen kann. Die Platte ist in Abbildung 8 dargestellt.

2.3.2 Anzucht der Proben

Bevor die Proben angezüchtet werden konnten, mussten sie aus dem Gefrierschrank (-80°C) aufgetaut werden. Hierzu wurden die Isolate der Stammsammlung direkt nach der Entnahme für den Transport in einen Kühlbehälter gegeben, um die Proben in einem guten Zustand für weitere Versuche zu bewahren.

Die auf Plastikkügelchen eingefrorenen Bakterien wurden mittels einer Pipette (Gilson Pipetman) in der Mitte aufgespießt und auf einem Columbia-Frischblut-Agar ausgestrichen. Die Blut-Agarplatten wurden anschließend über Nacht bei 35°C in einen Brutschrank gegeben. Am nächsten Morgen wurde von jeder Platte mittels einer 10 µl Impfschlinge von Sarstedt eine einzelne Bakterienkolonie abgelöst und auf einer Müller-Hinton-II-Agarplatte dreifach ausgestrichen.

In diesem Schritt wurde für alle Proben der Müller-Hinton-II-Agar verwendet. Der Validierung war ein Versuch vorausgegangen, bei dem, auf der Suche nach dem optimalen Nährmedium, Vollblut-, Müller-Hinton-II- und Herz-Hirn-Agar getestet und miteinander verglichen wurden. Der genaue Ablauf dieses Versuchs ist in Kapitel 2.3.5 dargestellt.

Nach dem Beimpfen der Müller-Hinton-II-Agar wurden diese für exakt 24 Stunden erneut bei 35°C in einem Brutschrank inkubiert.

2.3.3 Messung

Vor dem eigentlichen Messvorgang mussten die Teststandards (IRTS1 und 2) hergestellt werden. Hierzu wurden die in separaten Plastikcups gelieferten Standards verdünnt und aufgelöst. Zuerst wurde durch Zentrifugation sichergestellt, dass sich alle Teile des IRTS auf dem Grund des Gefäßes befanden. Nach der Zugabe von 90µl destilliertem Wasser erfolgte anschließend die Vermischung mittels eines Vortexers. Nach einer Ruhezeit von etwa zehn Minuten und der vollständigen Auflösung des Standards im Wasser wurden 90µl Ethanol hinzugegeben. Es hat sich gezeigt, dass es zielführend war, vor der Verwendung der Teststandards die Cups erneut für mehrere Sekunden durchzumischen, um ein Verklumpen zu vermeiden (59).

Bei der eigentlichen Messung wurden die von Bruker im Biotyper-Kit mitgelieferten Cups erst beschriftet und anschließend in eine Halterung gestellt. Mittels eines Gilson Pipetman wurden dann jeweils 50µl eines 70 prozentigen Ethanol in jedes Gefäß gegeben. Anschließend wurde mit Hilfe einer 1µl Impföse eine gehäufte Öse voll Vancomycin-resistenter Enterokokken von dem seit 24 Stunden bebrüteten Nährmedium abgelöst und eingerührt. Wichtig war hierbei, dass möglichst kein Agar mit übertragen wurde (59).

Anschließend erfolgte ein Mischen der Lösung für etwa zehn Sekunden, wobei der Alkohol durch Abtötung der Bakterien deren Metabolismus stoppte (59). Nachdem mit allen Proben auf diese Weise verfahren worden war, erfolgte die Zugabe von 50µl destilliertem Wasser und ein erneutes Durchmischen der Bakterien.

Nach der Herstellung dieser Suspension wurden von jeder Probe mindestens drei Mal je 15µl pro Testfeld auf die Messplatte aufgetragen. Hierbei kam die Research pro Pipette von Eppendorf zum Einsatz, die eine genauere und gleichmäßigere Dosierung als von Hand erlaubt.

Als letztes wurden jeweils 12µl der Teststandards auf die für sie reservierten Plätze aufgetragen, bevor die gesamte Platte für eine halbe Stunde zum Trocknen in einen Brutschrank gegeben wurde. Hierbei war es wichtig, dass alle Proben vor dem Messvorgang zwar getrocknet, aber nicht zu lange der warmen Umgebung ausgesetzt waren, da dies zu einem Abbröckeln und somit zu einer Verschlechterung des Messergebnisses führen konnte. Vor dem Start der Messung erfolgte die Zuweisung der Probennummern für die einzelnen Messplätze. Bei guter Vorarbeit und mithilfe der Option ganze Excel-Listen auf einmal importieren zu können, nahm dieser Schritt angenehm wenig Zeit in Anspruch.

Die eigentliche Messung dauerte nach dem Einführen der Platte in den IR-Biotyper nur etwa eineinhalb Stunden, diese Zeit konnte sich aber bei einer großen Anzahl an nicht messbaren Proben auch verlängern.

2.3.4 Auswertung der Daten

Bereits nach wenigen Minuten lag das Ergebnis des Selbsttests vor, den der IR-Biotyper mithilfe der Standards vor jeder Messung durchführte. Da bei einem negativen Ergebnis dieses Tests der gesamte Messvorgang abgebrochen wurde, war es von Vorteil die Zeit bis zur Beendigung abzuwarten und falls nötig die Standards erneut aufzutragen um den Messvorgang zu wiederholen.

Nach dem Abschluss der Messung konnte mit Hilfe des Biotyper-Menüs, das in Abbildung 9 dargestellt ist, der Messerfolg kontrolliert werden. In dieser Abbildung sind alle Proben, die der Biotyper erfolgreich messen konnte, grün und alle fehlerhaften Proben rot markiert. In der weiterführenden Auswertung wurden die fehlerhaften Proben automatisch von der Software ausgeblendet.

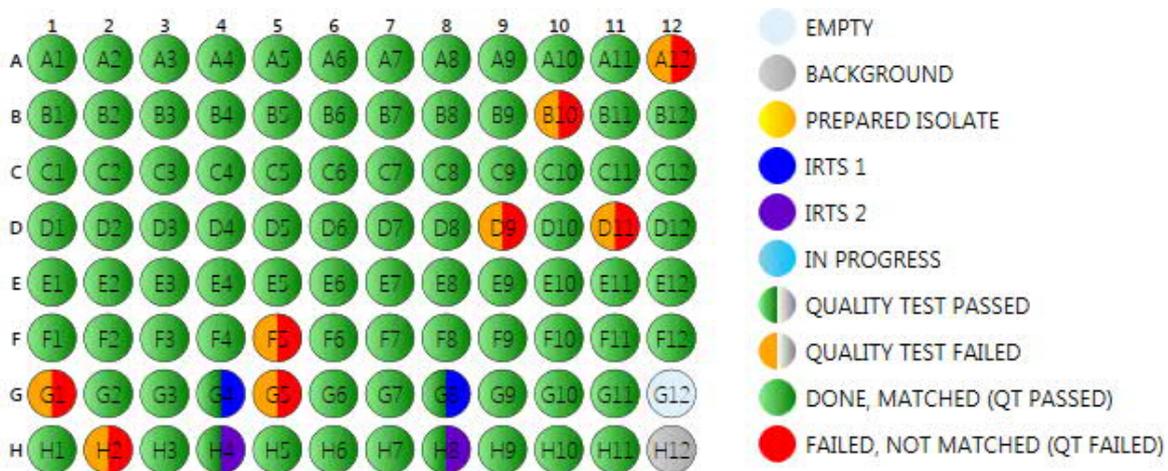


Abbildung 9: Darstellung der gemessenen Proben (Aus dem IR-Biotyper Programm von Bruker).

Das Misslingen der Messung von einzelnen Proben konnte sowohl an zu wenig oder zu viel Absorption, abhängig von der eingerührten Menge an Mikroorganismen, liegen. Um die richtige Menge an Probenmaterial abschätzen zu können, ging dieser Dissertation eine zweiwöchige Einarbeitungsphase voraus.

Am Anfang jeder Auswertung der gemessenen Proben stand dabei die Auswahl der verschiedenen Analyseverfahren des Biotypers, wie etwa des Euclidean-average-linkage. Die Verwandtschaftsanalysen der damit ausgewerteten Daten konnte dann anschließend mittels zweier verschiedener Grafiken betrachtet werden, der Entfernungsmatrix und dem Dendrogramm.

Eine weitere Auswertungsmöglichkeit bot das Dendrogramm. Hierbei wurde genau wie in der Entfernungsmatrix in den Spalten die Clusterpurity und die Label Coherence angezeigt.

Die Clusterpurity gab an, ob sich in einem Cluster mehrere verschiedene Proben befanden. Gelbe oder rote Farbe deutete also nicht auf einen Fehler hin, sondern zeigte, dass in einem Cluster mehrere Proben enthalten waren, die alle eingestellten Voraussetzungen erfüllten, um als ähnlich oder miteinander verwandt eingestuft zu werden.

Die Label Coherence zeigte an, ob alle Messpunkte einer Probe in den selben Cluster eingeordnet wurden und half somit bei der Erkennung und Beseitigung von Messfehlern.

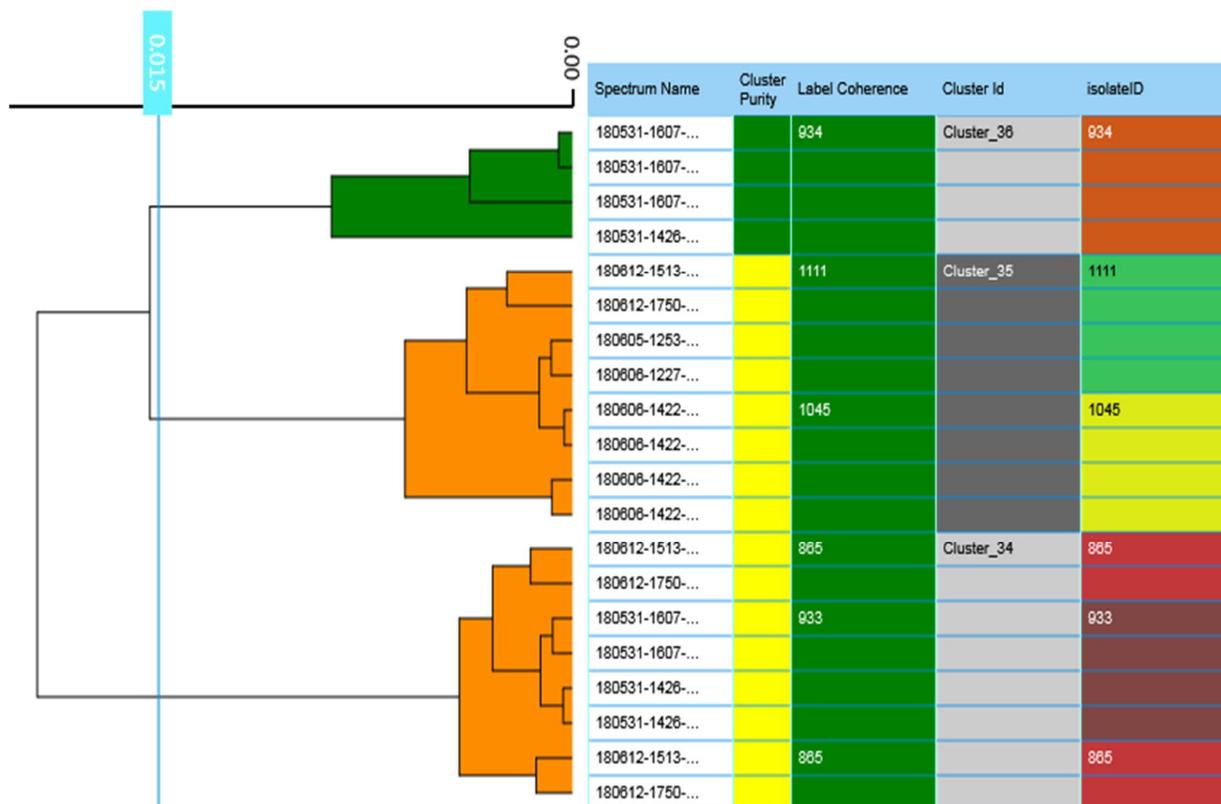


Abbildung 11: Dendrogramm (Aus dem IR Biotyper Auswertungsprogramm).

Das Dendrogramm in Abbildung 11 kann ähnlich einem Stammbaum gelesen werden. Je früher sich die Linien trennen und je weiter zwei Proben auseinander liegen, desto weniger ähneln sie sich. Proben, die sich dagegen gemäß dem eingestellten Cut-Off-Wert sehr stark ähneln, finden sich im gleichen Cluster wieder.

Bei allen Proben, die für diese Dissertation gemessen und ausgewertet wurden, erfolgte die Messung auf zwei verschiedenen Platten mit jeweils drei Messpunkten je Probe. Dabei mussten mindestens vier der sechs Messungen je Probe erfolgreich gewesen sein. War dies nicht der Fall, wurden die Proben am Ende der gesamten experimentellen Arbeit erneut angezchtet und gemessen.

Als Cut-Off-Wert wurde bei der Auswertung und Suche nach den Beziehungen der Isolate zueinander der von Bruker für Enterokokken empfohlene Cut-Off-Bereich von 0,15 - 0,2 für den Euclidean-average-linkage verwendet.

Die folgende Tabelle wurde freundlicherweise durch Herrn Mauder von Bruker Daltonic für diese Doktorarbeit zur Verfügung gestellt. In ihr sind die optimalen Cut-Off-Werte für verschiedene häufig vorkommende Bakterien und Pilze aufgeführt. Die Tabelle hat selbstverständlich keinen Anspruch auf Vollständigkeit. Mit dem IR-Biotyper können auch viele hier nicht erfasste Mikroorganismen analysiert werden. In der Tabelle befinden sich auch die von Bruker vorgeschlagenen Inkubationsprotokolle, Präparationsanweisungen, Akquisitionsmethoden und mögliche Auswertungsprogramme. Unter Discriminates ist zudem aufgeführt, inwieweit die Organismen untereinander differenziert werden können. Enterokokken des Typs *E. faecium* können zum Beispiel bis auf die Serotyp Ebene (Variationen innerhalb von Subspezies von Bakterien oder Viren) unterschieden werden.

Tabelle 1: Inkubationsprotokolle und optimale Cut-Off-Werte für den IR-Biotyper.

Species	Incubation / Cultivation				Preparation	Acquisition	Data Exploration		Optimal Cut-Off-Value	Discriminates
	Medium	Time	Temp.	Atmosphere			Metric	Linkage		
Bacteria										
<i>Acinetobacter baumannii</i>	COL-SB	24 h	37 °C	aerobe	suspension vials	default	Euclidean	average	0.40 - 0.48	strains
<i>Enterococcus faecium</i>	COL-SB	24 h	37 °C	aerobe	suspension vials	default	Euclidean	average	0.15 - 0.20 ¹	strains; MLST level
<i>Escherichia / Shigella spp.</i>	COL-SB	24 h	37 °C	aerobe	suspension vials	default	Euclidean	average	0.15 - 0.18	strains
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	COL-SB	24 h	37 °C	aerobe	suspension vials	default	Euclidean	average	0.30 - 0.40	strains
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	COL-SB	24 h	37 °C	aerobe	suspension vials	default	Euclidean	average	0.20 - 0.25	strains
<i>Staphylococcus aureus</i>	TSA	24 h	37 °C	aerobe	suspension vials	default	Euclidean	average	0.17 - 0.20	strains; MLST level
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	COL-SB	24 h	37 °C	CO ₂	smear + UV	default	Euclidean	average	0.20 - 0.25	serotypes
Yeasts										
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	SAB	24 h	30 °C	aerobe	suspension vials	default	Euclidean	average	0.20 - 0.25	strains
<i>Malassezia furfur</i>	mDIX	24 h	30 °C	aerobe	suspension vials	default	no reliable results!			

Für die Clustereinteilung aller Proben wurden deren Messpunkte zuerst auf Labelkohärenz geprüft. Bei einer zu starken Zersplitterung kam es zu einer erneuten Messung der Isolate. Anschließend erfolgte die Auswertung für die Clusteranalyse bei einem Cut-Off-Wert von 0,166. Dafür wurden gleichzeitig von allen gemessenen Proben jeweils zwei nicht gesplitterte Messwerte, wenn möglich aus verschiedenen Messungen, ausgewählt. Wenn die Einordnung einer Probe nicht eindeutig war, wurden alle verfügbaren Messwerte für diese Probe zusätzlich hinzugefügt.

Es war nicht möglich für die Einteilung in die Cluster mehr als zwei Messpunkte zu verwenden, da in der mitgelieferten Software nur etwa 700 Messpunkte gleichzeitig analysiert werden konnten. Zudem verfügte die Version 1.5, mit der in dieser Studie gearbeitet wurde, noch nicht über eine Exportfunktion. Die Cluster dieser Gesamtanalyse wurden nach der jeweils ersten Probe benannt.

2.3.5 Agar Test

Nach einer Einarbeitungsphase von zwei Wochen und noch vor den eigentlichen Versuchen wurde getestet, mit welchem Agar der IR-Biotyper die besten Ergebnisse für die Typisierung von Enterokokken lieferte. Untersucht wurden hierfür Columbia-Frischblut-Agar, Müller-Hinton-II- sowie Herz-Hirn-Agar. Die genauen Spezifikationen werden unter 2.5 aufgelistet.

Für die Gewinnung von Einzelklonen wurde in der gesamten Arbeit der Columbia-Frischblut-Agar verwendet. Die Agar Tests bezogen sich ausschließlich auf den Nährboden, von dem die Biomasse für die direkte IR-Biotyper Messung stammte.

Für den Versuch wurden hierfür elf Proben auf den verschiedenen Agars angezüchtet und anschließend 64 Mal gemessen. Abschließend erfolgte ein Vergleich der Ergebnisse. Bei diesem wurde sowohl die Anzahl nicht messbarer als auch die Zahl falsch einsortierter Messpunkte betrachtet. Besonderes Augenmerk lag dabei auf dem Auswertungsfehler, da dieser direkt mit der Messgenauigkeit zusammenhing.

Zusätzlich flossen auch die subjektiven Erfahrungen, die bei der Anzucht und Handhabung der Nährmedien sowie dem Ablösen der Bakterien gemacht wurden in das Ergebnis der Untersuchung mit ein.

Dieser Versuch, sowie die Validierung und der Versuch der Kostenreduktion wurden in Zusammenarbeit mit Herrn Ruffner, einem weiteren Doktoranten des Instituts für klinische Mikrobiologie und Hygiene, durchgeführt.

2.3.6 Validierung

Ein wichtiger Teil der Arbeit umfasste die Validierung und den Vergleich der IR-Biotyper-Ergebnisse mit anderen seit langem etablierten Typisierungsmethoden. Für die Validierung wurden 30 Proben durch das Institut für klinische Mikrobiologie und Hygiene zur Verfügung gestellt, deren MLST-Typ, Pulsfeldgelelektrophorese-Cluster und Whole-Genom-Sequenz bereits bekannt waren.

Die Proben wurden in zehn Validierungsmessungen über zwei Wochen insgesamt 900 Mal gemessen und auf die Anzahl an abgebrochenen Messungen und in falsche Cluster einsortierte Messpunkte hin untersucht. Auf diese Weise wurde die Wahrscheinlichkeit der Einsortierung eines Messpunktes in einen falschen Cluster und somit die Messgenauigkeit und Reproduzierbarkeit ermittelt.

2.3.7 Kostenreduktion

In Zusammenarbeit mit Herrn Ruffner wurde ein Versuch durchgeführt, durch den die laufenden Kosten für das Messverfahren minimiert werden sollten. Hierbei war das Ziel, die Messungen ohne die von Bruker verkauften IR-Biotyper-Kits durchführen zu können.

Die Teststandards wurden hierfür mittels MALDI-TOF vom Institut für klinische Mikrobiologie und Hygiene des Universitätsklinikums Regensburg auf ihre Bestandteile analysiert. Bei den Bakterien, die in den Teststandards enthalten waren, handelte es sich um gewöhnliche *Escherichia coli* und *Enterobacter cloacae*. Diese wurden genau wie alle anderen Isolate angezüchtet und für die Messung vorbereitet. Um herauszufinden, ob sich bei der Anzahl der nichtmessbaren Proben oder bei der Messgenauigkeit eine Verschlechterung einstellte, wurden die 30 bereits in der Validierung verwendeten Proben diesmal nicht mit den Biotyper-Kits, sondern mit autoklavierten Eppendorf Cups und den selbst hergestellten Teststandards gemessen und ausgewertet. Das Ergebnis wurde anschließend mit dem der Validierung verglichen. Die Priorität lag hierbei auf dem Vergleich der Messgenauigkeit.

2.4 Vergleich des Biotypers mit anderen Typisierungsverfahren

Um die Gemeinsamkeiten, aber auch die Unterschiede des IR-Biotypers gegenüber anderen in der Mikrobiologie oft benutzten Typisierungsverfahren zu untersuchen, wurden die 30 Proben der Validierung verwendet. Die Clustereinteilung dieser Proben durch den IR-Biotyper wurde dafür mit den Ergebnissen der Pulsfeldgelelektrophorese, MLST-Typisierung und Whole-Genome-Sequencing verglichen.

2.4.1 MLST-Typisierung

Das Multilocus-Sequence-Typing, kurz MLST, ist ein Verfahren, bei dem sechs bis acht interne Haushaltsgene, auch Housekeeping-Gene genannt, mit jeweils etwa 500 Basenpaaren Länge sequenziert und verglichen werden.

Die Housekeeping-Gene zeichnen sich dadurch aus, dass sie für den Organismus essenziell und selektionsneutral sind und somit nur einer geringen Änderung im Laufe der Zeit unterliegen.

Für jedes Gen werden den unterschiedlichen Allelen fortlaufende Nummern zugeordnet. Der numerische Sequenztyp (ST) setzt sich dann aus der Kombination der sechs bis acht Allele zusammen und kann mittels Internet-Datenbank (<http://www.mlst.net>) weltweit verglichen werden (44, 61).

Neben den 30 Proben, die mit allen Messverfahren verglichen wurden, erfolgte die DNA-Isolierung mittels PCR auch für alle Isolate von Patienten, die im Studienzeitraum einen Aufenthalt auf der Station 20 oder 21 des Universitätsklinikums vorzuweisen hatten.

Die Auswertung erfolgte durch Eingabe in die Internet-Datenbank.

2.4.2 Pulsfeldgelelektrophorese

Die Pulsfeldgelelektrophorese ist ein Verfahren, bei dem die DNA-Fragmente von Bakterien durch wechselnde elektrische Spannungen nach ihrer molekularen Masse und Gestalt aufgetrennt werden können.

Hierzu werden die Erreger nach dem Kultivieren mit verschiedenen enzymatischen Reaktionen so lange aufgeschlossen, bis nur noch die reine chromosomale DNA vorliegt.

Die DNA wird im Anschluss mittels Restriktionsenzymen in kleinere Stücke geschnitten und mit Hilfe von elektrischen Feldern in einem Agarosegel nach Größe getrennt.

Die entstehenden Bandenmuster (ca. 10-15 Banden pro Probe werden angestrebt) können anschließend miteinander verglichen werden. Bei kleineren Ausbrüchen hat sich hier die vereinfachte Auswertung nach Tenover et al. etabliert (62). Bei dieser werden Proben, die sich in höchstens drei Banden unterscheiden, als nahe miteinander verwandt eingestuft. Bei vier bis sechs unterschiedlichen Banden wird nur noch von einer möglichen Verwandtschaft gesprochen und bei mehr als sechs wird das untersuchte Isolat nicht mehr als Teil des Ausbruch-Stammes gewertet (44).

2.4.3 Whole-Genome-Sequenzierung

Bei dem Whole-Genome-Sequenzierung handelt es sich um ein Verfahren, für das es eine Vielzahl verschiedener Plattformen gibt, die aber alle zum Ziel haben, das gesamte Genom in kleinere reads zu spalten, zu sequenzieren und wieder zusammensetzen. Die Ergebnisse können dann entweder für sich genommen betrachtet oder mit bestehenden Referenzquellen verglichen werden (45).

2.5 Herstellung der Nährmedien

Die Columbia-Vollblut-Agarplatten wurden über die Firma Oxid bezogen.

Die Herstellung der übrigen Nährmedien erfolgte durch die Nährbodenküche des Instituts für klinische Mikrobiologie und Hygiene der Universität Regensburg.

Alle Agarplatten wurden in nicht verwendetem Zustand in einem Kühlraum höchstens sechs Wochen gelagert.

2.5.1 Columbia-Frischblut-Agar

Zur Gewinnung dieses Agars wurden 39g der Columbia-Blut-Agar-Basis in einem Liter destillierten Wassers durch Kochen gelöst. Anschließend wurde das Gemisch für 15 Minuten bei 121°C autoklaviert. Im letzten Schritt wurde nach dem Abkühlen der Lösung auf 50°C fünf Prozent steriles und defibriniertes Blut hinzugegeben (63).

2.5.2 Müller-Hinton-II-Agar

Zur Herstellung dieses Nährmediums wurden von der Nährbodenküche 38g Müller-Hinton-II-Agar von BIOMERIEUX (51075) in einen Liter destilliertes Wasser gegeben und mit einem Magnetrührer suspendiert.

Nach dem 15-minütigen Autoklavieren bei 116°C wurden je 25ml der Flüssigkeit über eine Abfüllanlage in Petrischalen abgefüllt. Abschließend erfolgte eine Überprüfung des pH-Werts (Sollwert $7,3 \pm 0,2$).

2.5.3 Herz-Hirn-Agar

Für die Herstellung des Herz-Hirn-Agar wurden 37g Herz-Hirn-Bouillon von MERCK (10493) mit 15g Agar-Agar ebenfalls von der Firma MERCK (1614) in einem Liter Wasser mittels eines Magnetrührers vermischt. Der pH-Wert wurde auf $7,4 \pm 0,2$ eingestellt. Anschließend wurde das Gemisch elf Minuten bei 120°C autoklaviert und über eine Abfüllanlage je 16ml in Petrischalen gegossen.

2.6 Statistik

Für alle Patienten die im Zeitraum vom 01.04.2017 bis zum 31.03.2018 VRE-positiv waren, wurde aus dem SAP-System der Uniklinik Regensburg eine Auflistung aller stationären und teilstationären Aufenthalte erstellt. Erfasst wurden dabei alle Verlegungsdaten ausgehend vom 01.01.2016 bis zum Stichtag 10.06.2018. Zusätzlich wurde zu jedem Patienten die Labornummer des ersten positiven VRE Befundes und die Studiennummer angefügt. Aus dem Laborblatt des VRE-Erstnachweises kamen die Abnahmeklinik, die Station, das Abnahmedatum und auch der Ort der Probenentnahme hinzu.

Mithilfe der Verlegungsberichte erhielt jeder Patient zudem für jeden Aufenthalt auf einer Station eine Zeile mit Informationen zum Aufnahme- und Entlassungsdatum. Aus den eingetragenen Werten wurden damit die VRE-Tage, Fälle und Patienten pro Station und Cluster berechnet. Außerdem dienten sie für die Anfertigung einer taggenauen Belegungsgrafik, in der Zeiten ab dem ersten positiven VRE-Befund des Patienten farblich hervorgehoben wurden. Durch die von der Klinikverwaltung zur Verfügung gestellten Daten war es zudem möglich, die durchschnittliche Inzidenzdichte und tägliche VRE-Last auf den Stationen zu berechnen.

Von allen 272 Patienten, die im Untersuchungszeitraum einen positiven VRE-Befund zu verzeichnen hatten, wurden auch die entsprechende Labornummer, Geschlecht, Alter, Probenanzahl, PCR-Befund, Spezies und Biotyper-Cluster erfasst. Zusätzlich wurde festgehalten, ob die erste VRE-positive Probe eines Patienten als nosokomial, mitgebracht oder durch ein Eingangsscreening detektiert bewertet wurde. Als Definition für nosokomiale Fälle galt, dass Patienten bei einem positiven VRE-Befund bereits mindestens 72 Stunden vor Probenabnahme stationär im Krankenhaus liegen mussten. Für 2018 wurde die neue Regelung des Robert Koch-Instituts (RKI) übernommen und bereits ab 48 Stunden in stationärer Behandlung ein positiver Befund als nosokomial eingestuft (64, 65). An dieser Stelle ist es wichtig anzumerken, dass es sich trotz dieser Definition bei den als nosokomial klassifizierten Fällen nicht zwingend um eine Übertragung innerhalb des Krankenhauses handeln muss. Auf den meisten Stationen des UKR erfolgte kein VRE-Eingangsscreening. Es ist somit möglich, dass bei mehreren der als nosokomial eingestuften Fälle die Übertragung vor diesem Aufenthalt oder im häuslichen Umfeld, die Detektion allerdings erst im Laufe des stationären Aufenthalts erfolgte.

3 Ergebnisse

3.1 Beschreibung des Patientenkollektivs

Insgesamt wurden in dem zu erfassenden Zeitraum 708 Proben von 384 VRE-positiven Patienten eingeschickt.

Davon stammten 194 (26,9%) Proben und 108 (28,1%) Patienten nicht aus dem Universitätsklinikum Regensburg (UKR) und wurden somit nicht für die Arbeit verwendet. Aus dem UKR wurden 527 (73,1%) Proben von 276 (71,9%) Patienten eingeschickt und weiter ausgewertet.

Tabelle 2: Anzahl an VRE-positiven Proben und Patienten abhängig von den einsendenden Kliniken.

VRE-POSITIV	PROBEN	PATIENTEN
UNIKLINIK REGENSBURG	527 (73,1%)	276
ST. JOSEF	136 (18,9%)	64
MEDBO	23 (0,3%)	18
BARMHERZIGE BRÜDER	14 (1,9%)	8
KLINIKUM LANDSHUT	7 (1,0%)	7
KHS DONAUSTAUF	6 (0,8%)	5
ASKLEPIOS	4 (0,6%)	3
KHS BOGEN	3 (0,4%)	2
KHS WÖRTH	1 (0,1%)	1
INSGESAMT	721 (100%)	384

Anmerkungen zu den Kliniken:

Das St. Josefs Krankenhaus, das Krankenhaus Barmherzige Brüder und die medizinischen Einrichtungen des Bezirks Oberpfalz (medbo) befinden sich alle in Regensburg.

Bei dem einsendenden Asklepios Klinikum handelt es sich um eine Orthopädische Fachklinik in Bad Abbach.

Die Abkürzung KHS steht in dieser Tabelle für Krankenhaus.

Tabelle 3: Qualität der durch das UKR eingesendeten Proben.

UKR	PROBEN	PATIENTEN
INSGESAMT	527	276
VANCOMYCIN SENSIBEL	8	4
KEIN E. FAECIUM	10	5
MIX VERSCHIEDENER E.	1	1
NICHT ANZÜCHTBAR	18	12
VERWENDET	483	254

Anmerkungen: E. steht für *Enterococcus*

Von den 527 Vancomycin-positiven Proben des UKRs lieferten 18 auch nach mehrmaligem Anzüchten und Messen keine PCR Ergebnisse. Aus diesem Grund erfolgte keine Konservierung der Proben in einem Gefrierschrank, womit eine Messung durch den IR-Biotyper ebenfalls nicht mehr möglich war. Acht Proben erwiesen sich bei genauerer Überprüfung als Vancomycin-sensibel und bei zehn handelte es sich zwar um Vancomycin-resistente Enterokokken, diese gehörten aber nicht dem Subtyp *E. faecium* an. Eine weitere Probe enthielt einen nicht genau zu unterscheidenden Mix verschiedener Enterokokken.

Da nur das Erstisolat in die Arbeit aufgenommen werden sollte, wurden alle Proben den 276 Patienten zugeordnet. Insgesamt erfüllten 254 Proben alle Auswahlkriterien und wurden mittels IR-Biotyper analysiert.

Um eine Verfälschung der statistischen Daten zu verhindern, wurden unabhängig vom Ergebnis der Typisierung mit dem Biotyper alle Daten der Erstisolate in dem untersuchten Zeitraum für die Berechnung der Statistik erfasst. Von vier Patienten mit insgesamt sieben Proben fehlen allerdings die Daten in der Statistik, da zwar alle Auswahlkriterien erfüllt wurden und somit auch eine Typisierung mit dem IR-Biotyper erfolgte, aber im Untersuchungszeitraum keine stationären Aufenthalte vorlagen. Eine Liste mit allen eingeschlossenen Patienten ist im Anlage A zu finden.

23 der in die Arbeit eingeschlossenen Patienten wurden bereits vor dem 01.04.2017 im Universitätsklinikum positiv auf VRE getestet. Aus diesem Grund erfolgte die Messung dieser Proben durch einen Doktoranden, der die VRE-Fälle des Vorjahres untersuchte.

Das Durchschnittsalter der in die Studie eingeschlossenen Patienten (n=272) lag bei 62,75 (SD 14,8) Jahren, wobei der jüngste Patient acht Monate und der älteste 88 Jahre alt war. Die Daten bezüglich des Alters waren, wie in Abbildung 12 dargestellt, annähernd normalverteilt.

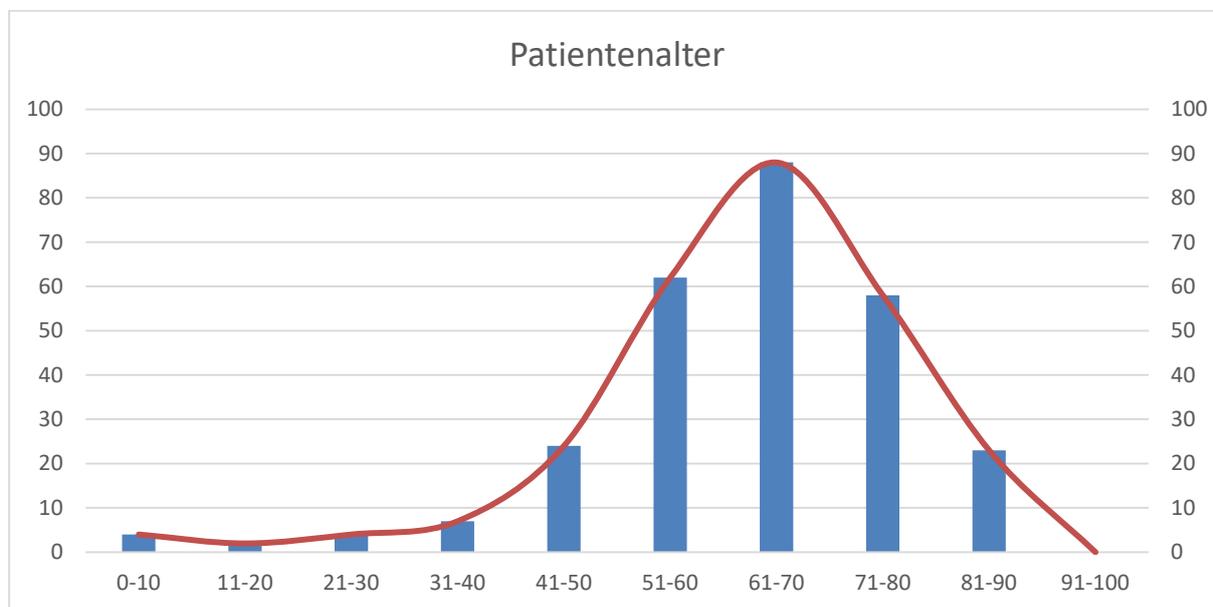


Abbildung 12: Darstellung der Altersverteilung.

Das gesamte Patientenkollektiv bestand dabei aus 179 (65,81%) Männern und 93 (34,19%) Frauen.

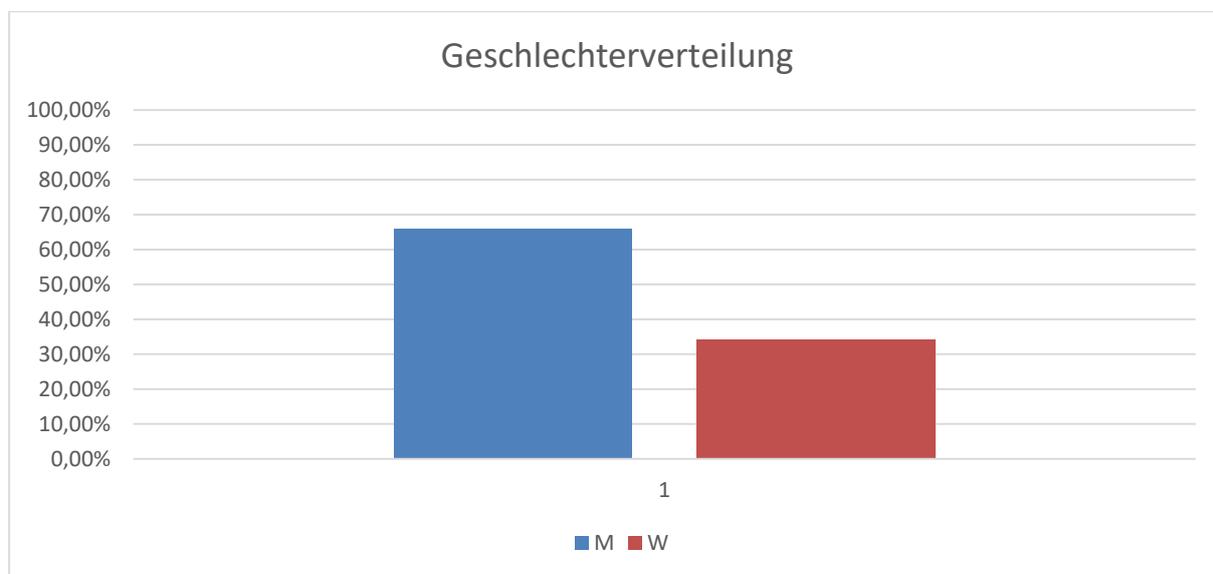


Abbildung 13: Geschlechterverteilung in Prozent des Patientenkollektivs. M steht für männlich, W für weiblich.

Diese 272 in der Statistik vertretenen Patienten wiesen 520 VRE-Isolate auf. Die Anzahl je Patienten reichte dabei von einer einzigen bis zu elf VRE-positiven Proben. In Abbildung 14 ist die Menge an Patienten abhängig von der Anzahl abgenommener Proben dargestellt. Der Durchschnitt an positiven Proben lag bei 1,9 je Patient mit einer Standard Abweichung von 1,6.

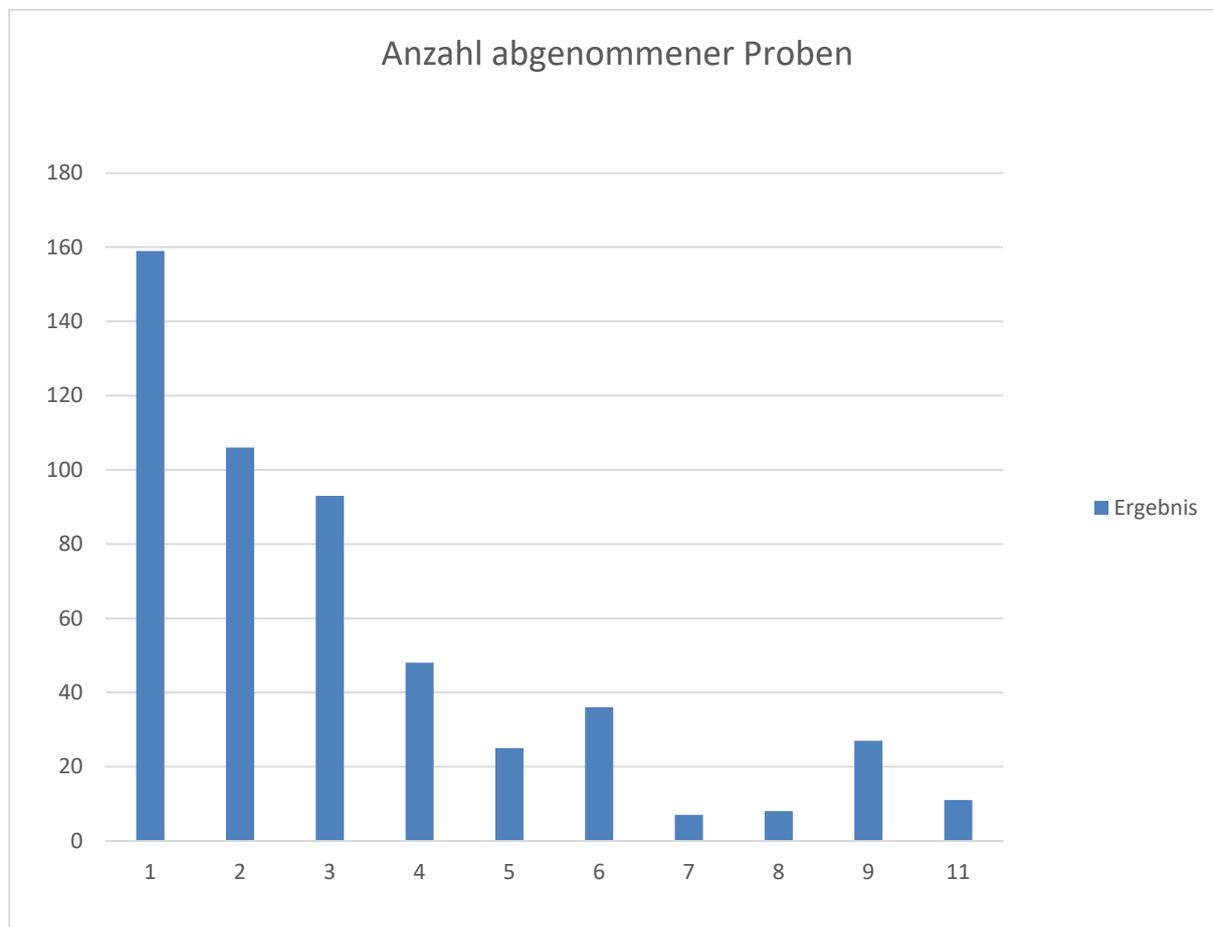


Abbildung 14: Häufigkeit der Patienten abhängig von der VRE-positiven Probenanzahl.

Tabelle 4: Anzahl der Erstisolate je Monat.

Zeitraum	Probenanzahl	Zeitraum	Probenanzahl
Vorbekannt	19	Sep 17	21
Mrz 17	5	Okt 17	25
Apr 17	16	Nov 17	38
Mai 17	15	Dez 17	32
Jun 17	15	Jan 18	17
Jul 17	6	Feb 18	21
Aug 17	12	Mrz 18	30

Bei 19 (7%) der positiv auf VRE getesteten Patienten stammte das Erstisolat aus dem Zeitraum vor dem Studienbeginn. Alle Patienten, die diese Besonderheit aufwiesen, verfügten aber auch über positive Testungen innerhalb des Untersuchungszeitraums, die für den Einschluss in die Studie ausreichend waren. In Tabelle 4 wurden alle Erstdiagnosen des Instituts für Mikrobiologie und Hygiene den Monaten ihrer Probenabnahme zugeordnet. Hierbei wurde nicht nach der Herkunft der Isolate (Screening, nosokomial oder mitgebracht) unterschieden. Die Daten dienen somit nur als epidemiologischer Kontext für das Jahr 2017/2018. Die höchste Anzahl gab es dabei im November 2017 mit 38 (14%) Erstisolaten innerhalb eines Monats. Abbildung 15 verdeutlicht diesen Anstieg der Anzahl an Erstisolaten während des Untersuchungszeitraums, mit einer Spitze im Winter 2017.

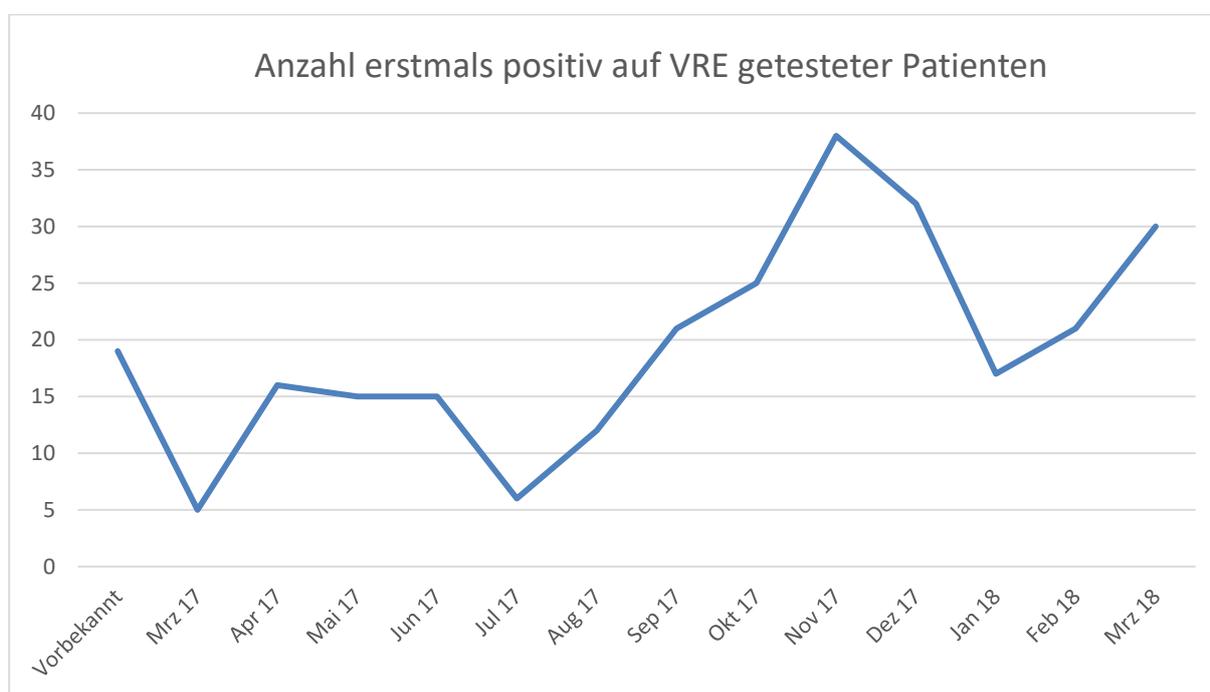


Abbildung 15: Anzahl erstmals positiv auf VRE getestete Patienten.

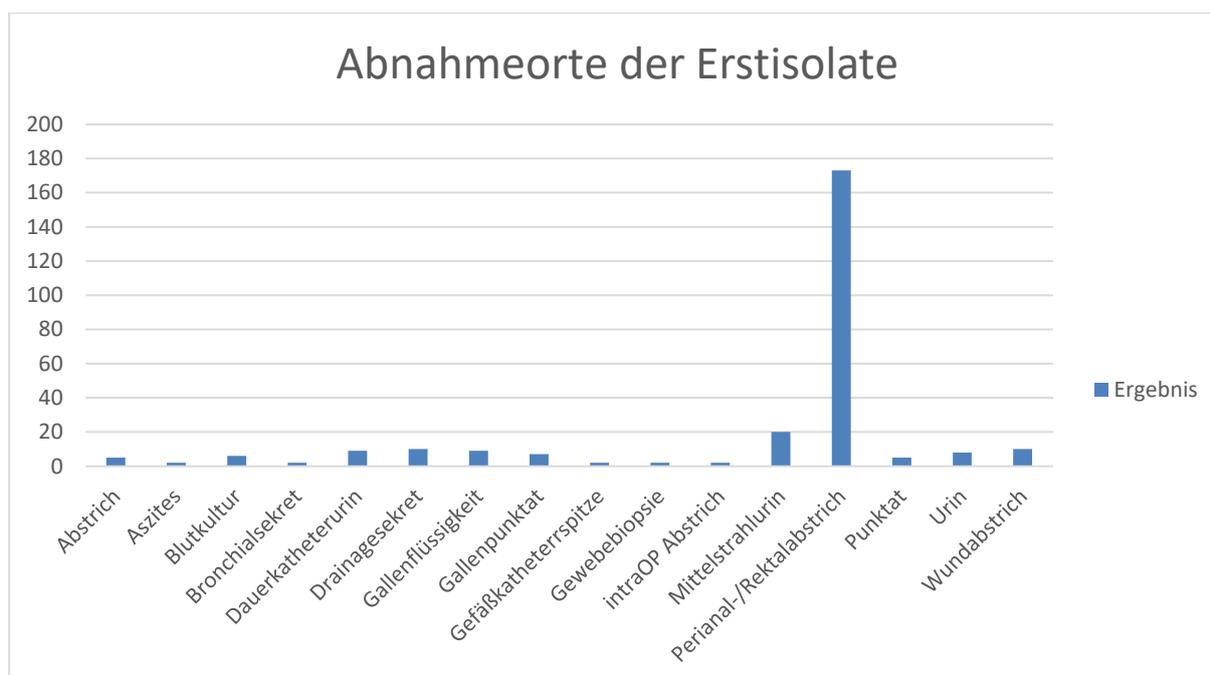


Abbildung 16: Abnahmeorte der Erstisolate.

Die Proben (n=272) der mit VRE-kolonisierten Patienten stammten von insgesamt 16 verschiedenen Abnahmeorten. Da Enterokokken ein Bestandteil der natürlichen Darmflora sind, überraschte es nicht, dass die meisten Proben von Perianal-/Rektalabstrichen (63,6%), gefolgt von Isolat aus dem Urin (insgesamt 13,6%) stammten. Auch Isolate, die von Wundabstrichen und Drainagesekret stammten, waren mit je 3,68% vergleichsweise häufig.

Tabelle 5: Abnahmeort der ersten positiven Probe.

Materialart	Anzahl (n/%)	
Abstrich	5	1,84%
Aszites	2	0,74%
Blutkultur	6	2,21%
Bronchialsekret	2	0,74%
Urin (Katheter)	9	3,31%
Drainagesekret	10	3,68%
Gallenflüssigkeit	9	3,31%
Gallenpunktat	7	2,57%
Gefäßkatheterspitze	2	0,74%
Gewebebiopsie	2	0,74%
Intraoperativer Abstrich	2	0,74%
Mittelstrahlurin	20	7,35%
Peranal-/Rektalabstrich	173	63,60%
Punktat	5	1,84%
Urin	8	2,94%
Wundabstrich	10	3,68%

Wie unter 2.2.2 beschrieben, wurden alle Erstisolate (n=272) mittels MALDI-TOF auf ihre genaue Spezies überprüft. 266 Patienten hatten hierbei einen positiven Befund auf Enterokokken des Typs *E. faecium*. Es gab aber auch drei Patienten, die Träger eines *E. gallinarium* waren. Bei drei weiteren konnte der genaue Enterokokken-Spezies nicht genau bestimmt werden.

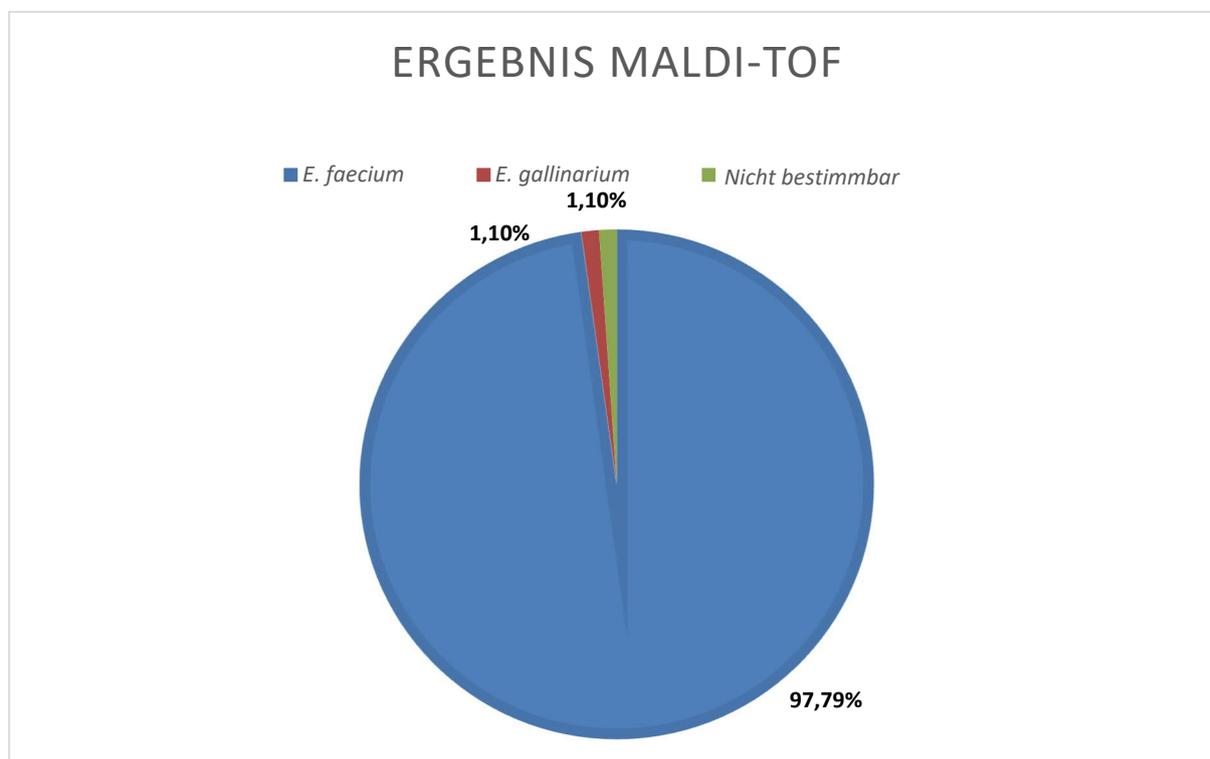


Abbildung 17: Ergebnisse des MALDI-TOF.

Die Proben wurden wie unter 2.2.2 beschrieben erstmals durch die Diagnostik und zu einem späteren Zeitpunkt ein weiteres Mal durch das Institut für klinische Mikrobiologie und Hygiene auf ihre *van*-Gene untersucht. Auch wenn die Ergebnisse der beiden PCRs vergleichbar ausfielen, gab es bei manchen Proben Unterschiede in der Einordnung. Bei allen folgenden Untersuchungen wurden stets die Daten des Institutes für klinische Mikrobiologie und Hygiene verwendet, da die PCRs der Diagnostik aus einer Bouillon und nicht aus sauber angezüchteten Einzelkolonien erfolgten und so durch andere Darmbakterien eine Verunreinigung möglich war.

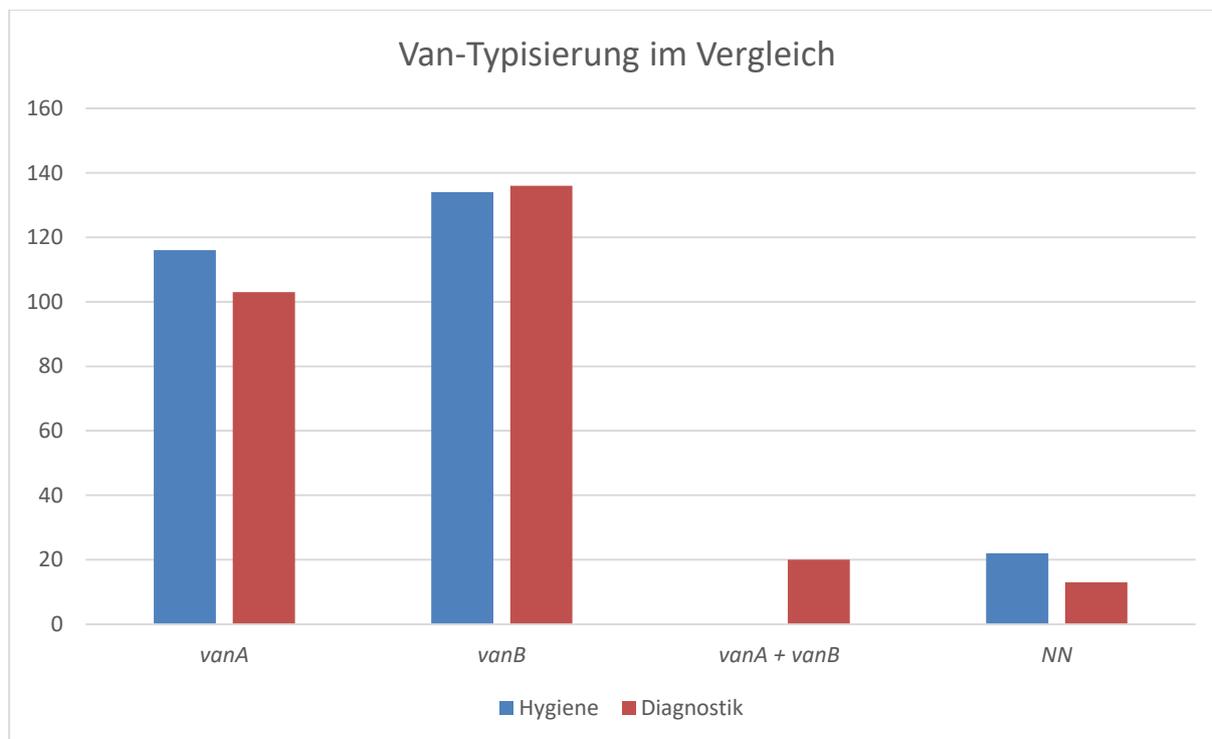


Abbildung 18: Van-Typisierung im Vergleich.

Von den durch die Hygiene mittels Gelelektrophorese untersuchten Proben waren 116 (42,65%) *vanA*- und 134 (49,26%) *vanB*-positiv. 22 (8,9%) Isolate konnten aufgrund qualitativer Ausschlusskriterien nicht ausgewertet werden.

Die Ergebnisse der Diagnostik unterschieden sich nur wenig, wiesen aber einen Anteil sowohl *vanA*- als auch *vanB*-positiver Isolate auf. Dies konnte aber bei genauerer Untersuchung durch das Hygienelabor nicht bestätigt werden, so dass dieser Umstand vermutlich auf eine Verunreinigung mit anderen Darmbakterien zurückzuführen war.

Tabelle 6: Anzahl an Proben je Cluster.

Cluster	Anzahl (n/%)		Cluster	Anzahl (n/%)	
534	7	2,57%	891	2	0,74%
540	42	15,44%	912	2	0,74%
549	11	4,04%	926	1	0,37%
557	1	0,37%	939	1	0,37%
627	2	0,74%	948	103	37,87%
693	1	0,37%	978	1	0,37%
707	2	0,74%	1027	1	0,37%
711	4	1,47%	1036	1	0,37%
715	1	0,37%	1059	9	3,31%
740	1	0,37%	1111	8	2,94%
742	1	0,37%	1186	1	0,37%
753	1	0,37%	487M	2	0,74%
755	3	1,10%	489M	1	0,37%
788	6	2,21%	491M	1	0,37%
791	1	0,37%	518M	13	4,78%
793	5	1,84%	L328	3	1,10%
803	3	1,10%	L482	2	0,74%
805	1	0,37%	L99	1	0,37%
809	1	0,37%	X	22	8,09%
854	1	0,37%	Zersplittert	1	0,37%
886	1	0,37%			

Die Einteilung der VRE-Stämme in die 39 Cluster erfolgte durch den IR-Biotyper, indem die jeweils ersten VRE-positiven Proben der Patienten gemessen und ausgewertet wurden.

Von den 272 Patienten konnten 249 einem spezifischen Cluster zugeordnet werden. 22 (8,1%) Proben wurden aus qualitativen Gründen nicht in die Studie aufgenommen, womit auch keine Clustereinteilung ihrer Patienten möglich war. Eine weitere Probe (996) konnte auch nach mehrfach wiederholtem Messen nicht eindeutig einem Cluster zugeordnet werden, da sie sich immer auf verschiedene Cluster aufspaltete.

Bei der Clustergröße gab es dabei enorme Unterschiede. 28 Cluster enthielten nur ein Isolat, dagegen waren die beiden mit Abstand größten Cluster 948 mit 103 (37,9%) und Cluster 540 mit 42 (15,4%) Isolaten so groß, dass mehr als die Hälfte der VRE-Stämme aller VRE-positiven Patienten einem dieser beiden Cluster angehörten.

In Abbildung 19 ist die Zusammensetzung der Cluster aus *vanA*- und *vanB*-positiven Proben dargestellt. Zur besseren Übersicht wurden Cluster mit nur einem Patienten ausgeblendet, da sie keine Mischung enthalten konnten.

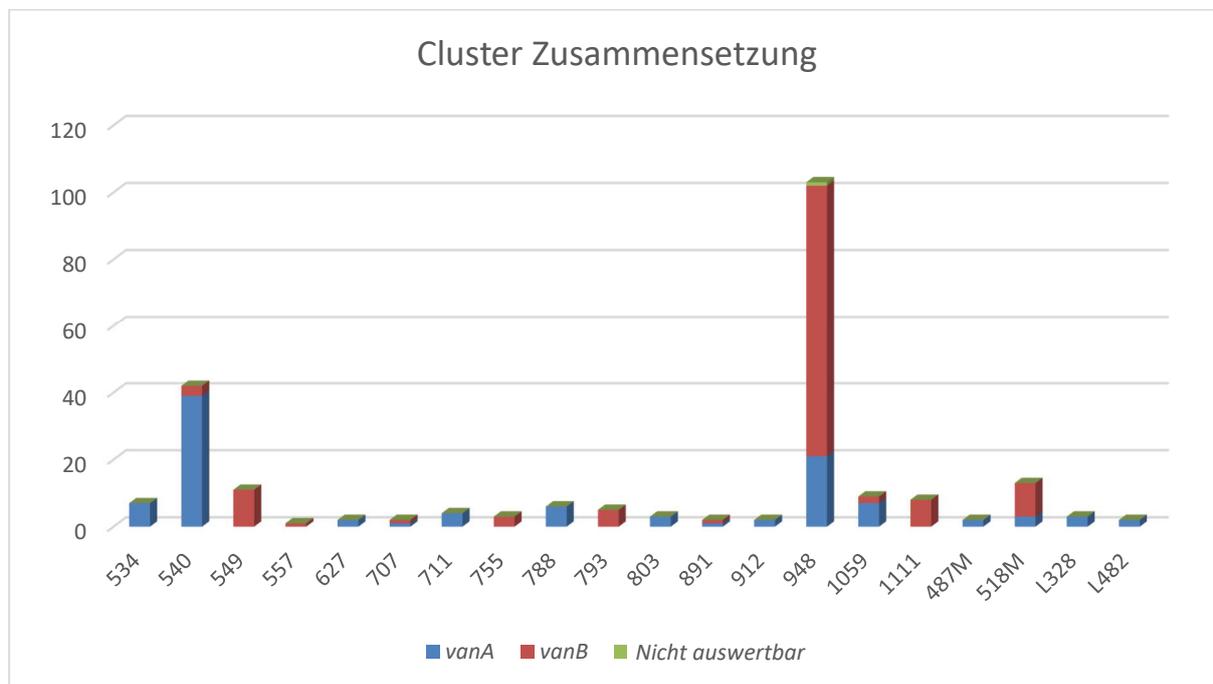


Abbildung 19: Zusammensetzung der Cluster aus *vanA*- oder *vanB*-positiven Isolat.

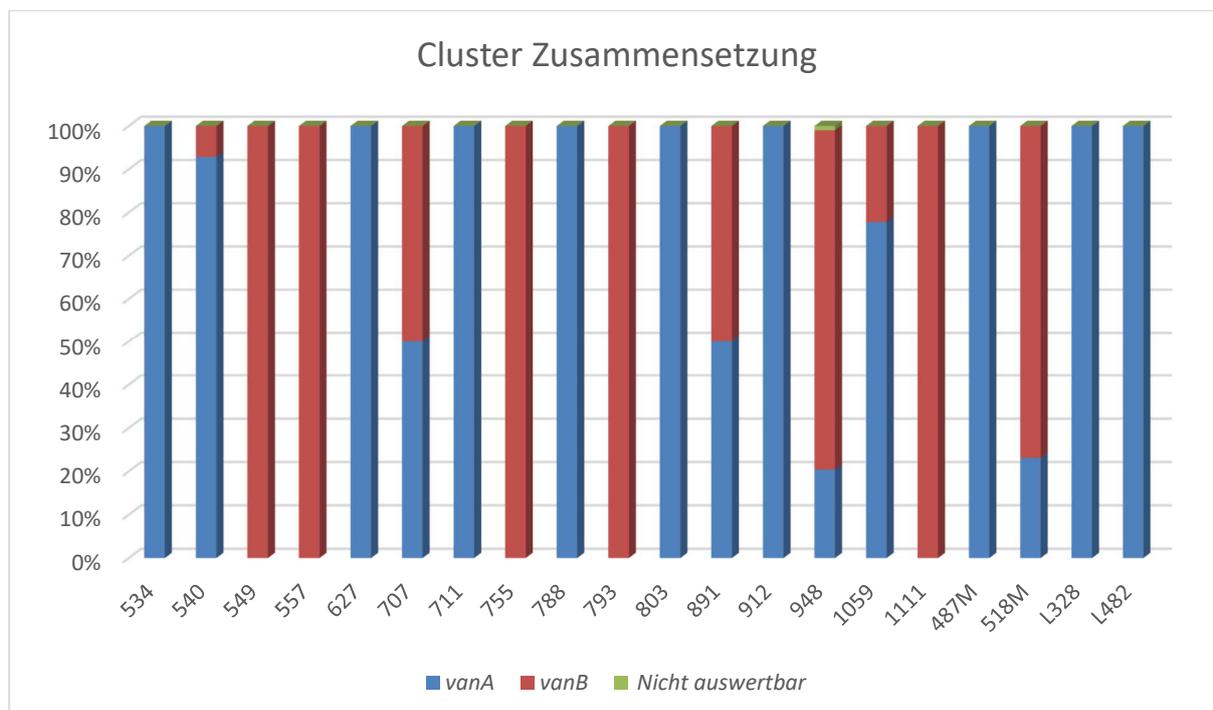


Abbildung 20: Zusammensetzung der Cluster aus *vanA* und *vanB*.

In den beiden Darstellungen 19 und 20 wird verdeutlicht, dass es in fast allen Clustern einen präferierten *van*-Gen-Typ gab. Nur Cluster 707 teilte sich jeweils zur Hälfte in *vanA*- und *vanB*-positive Proben, dies könnte aber an der geringen Patientenzahl von nur zwei liegen.

Das größte Cluster 948 bestand vor allem aus *vanB*- (79,4%), das zweitgrößte Cluster 540 fast ausschließlich aus *vanA*-positiven (92,9%) Isolaten.

Weitere *vanA*-Cluster waren 534 und 788, die *vanB*-positiven Enterokokken häuften sich dagegen in den Clustern 549 und 518M.

Die Cluster wurden auch nach den Abnahmeorten ihrer Proben betrachtet. Dabei wurden auch hier nur Cluster abgebildet, die aus mehr als einem Patienten bestanden.

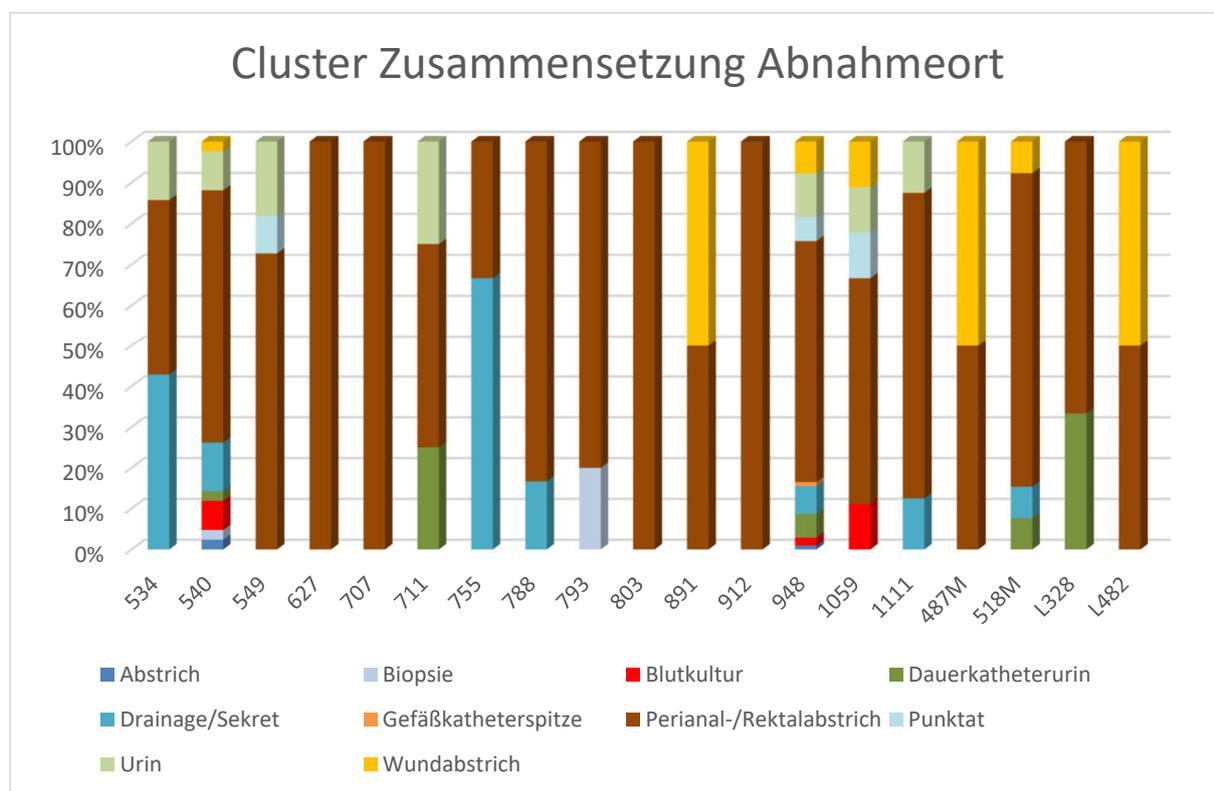


Abbildung 21: Clusterzusammensetzung abhängig von den Abnahmeorten der Proben.

Eine Gemeinsamkeit der Cluster bestand darin, dass alle Proben Abstriche aus der Perianalregion aufwiesen. Dies stellte allerdings bei einem im Darm vorkommenden Bakterium keine allzu große Überraschung dar. 42% der Cluster konnten darüber hinaus in Drainagen, 37% im Urin nachgewiesen werden und 32% aller Cluster hatten mindestens eine Probe, die aus einem Wundabstrich stammte.

Durchschnittlich waren die Bakterien eines Clusters in drei unterschiedlichen Materialien zu finden. Das Ergebnis wurde aber von den Enterokokken der beiden Großen Cluster 540 und 948 verzerrt, die in acht beziehungsweise neun unterschiedlichen Abnahmeorten detektiert werden konnten. In Abbildung 22 wurden die Enterokokken der 21 größten Cluster den verschiedenen Abnahmeorten zugeteilt.

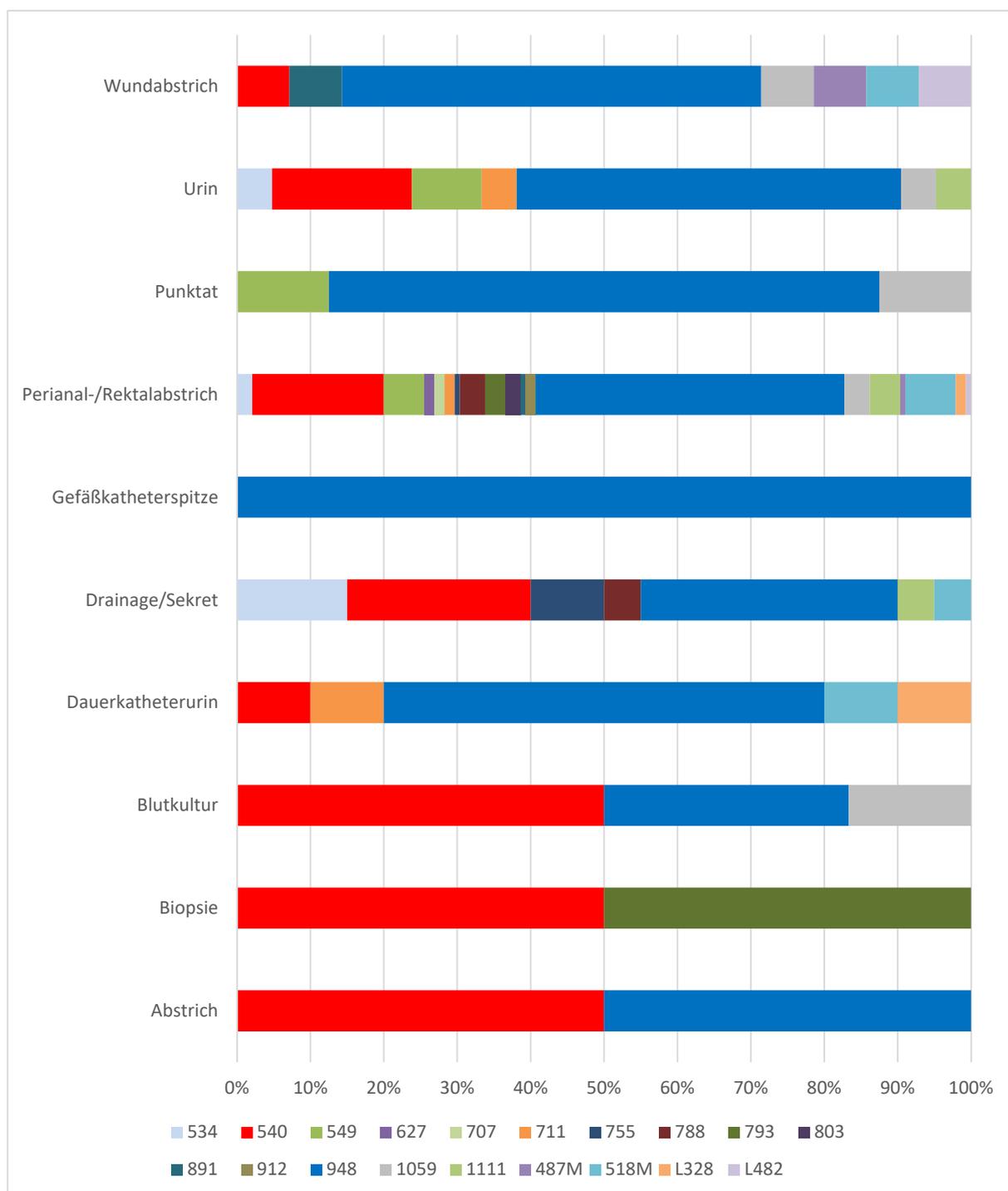


Abbildung 22: Clusterverteilung der Abnahmematerialien.

Bei der Einteilung der Cluster in die verschiedenen Abnahmeorte war ebenfalls gut zu erkennen, dass die beiden großen Cluster 540 (rot) und 948 (blau) aufgrund der Masse an Patienten dominierten und in fast allen Materialien gefunden werden konnten. Es gab aber auch mittelgroße Cluster wie etwa 1059, die in vielen verschiedenen Materialien detektiert werden konnten.

Die Abnahmeorte Abstrich (n=2), Biopsie (n=2) und Gefäßkatheterspitze (n=1) schienen auf den ersten Blick von nur sehr wenigen Clustern besetzt. Aufgrund der geringen Zahl an analysierten Proben aus diesen Gebieten konnte hier aber keine klare Aussage getroffen werden.

Insgesamt war es nicht möglich von einem Abnahmeort auf einen bestimmten Cluster oder von einem Cluster auf das Abnahmematerial zu schließen.

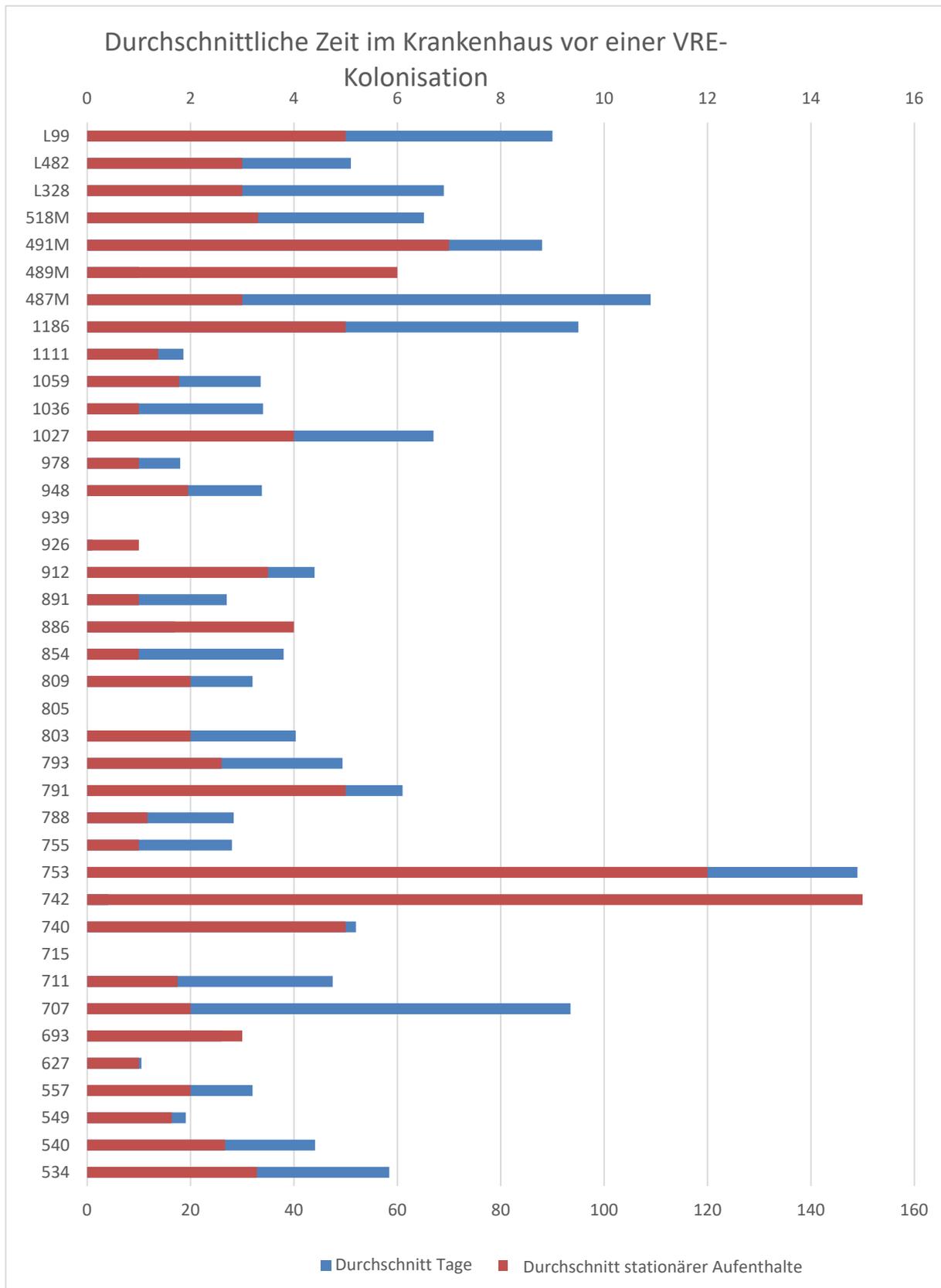


Abbildung 23: Durchschnittliche Krankenhaustage und stationäre Aufenthalte vor positivem VRE-Befund.

Abbildung 23 veranschaulicht die durchschnittlichen Liegezeiten und Krankenhausaufenthalte der Patienten in den zwölf Monaten vor dem ersten VRE-positiven Befund. Die Daten enthielten aber einen nicht zu vermeidenden Fehler, da die Patienten schon lange vor ihrem ersten positiven Befund Träger von Vancomycin-resistenten Enterokokken sein konnten.

Aus diesem Grund reichten die Daten für die Schlussfolgerung, dass Cluster, deren Patienten viele Krankenhaustage vor ihrem ersten VRE-Befund vorzuweisen hatten, weniger ansteckend und Cluster bei denen Patienten bereits nach wenigen Tagen positiv wurden, virulenter waren, nicht aus.

Insgesamt hatten die 249 in Cluster eingeteilten Patienten in den zwölf Monaten vor ihrem ersten VRE-positiven Testergebnis 9344 Tage stationär im UKR verbracht, was einem Durchschnittswert von 43,2 (SD 33,5) Tagen pro Patienten entsprach. Den höchsten Wert hatte der Cluster 753 mit durchschnittlich 149 Tagen vorzuweisen. Es gab aber auch mehrere Cluster mit dem Wert Null, bei denen eine mitgebrachte Kolonisation in Betracht gezogen werden sollte.

In den zwölf Monaten vor ihrem ersten positiven Befund waren die Patienten insgesamt 552 Mal stationär im Krankenhaus, was einem Durchschnitt von 2,2 (SD 2,3) Aufenthalten entsprach. Die Menge der stationären Tage zeigte hierbei eine positive Korrelation mit der Anzahl der Krankenhausaufenthalte.

In der folgenden Grafik wurden die Proben den Fachgebieten ihrer Abnahme zugeordnet. In der Gastroenterologie wurden die meisten neuen VRE-positiven Patienten entdeckt, in der Dermatologie die wenigsten. Sowohl in der Inneren III (Onkologie) als auch in der Nephrologie gab es vergleichsweise viele neu aufgetretene VRE-Fälle, was bei deren oft chronisch kranken und zum Teil immunsupprimierten Patientengut von besonderer Bedeutung war.

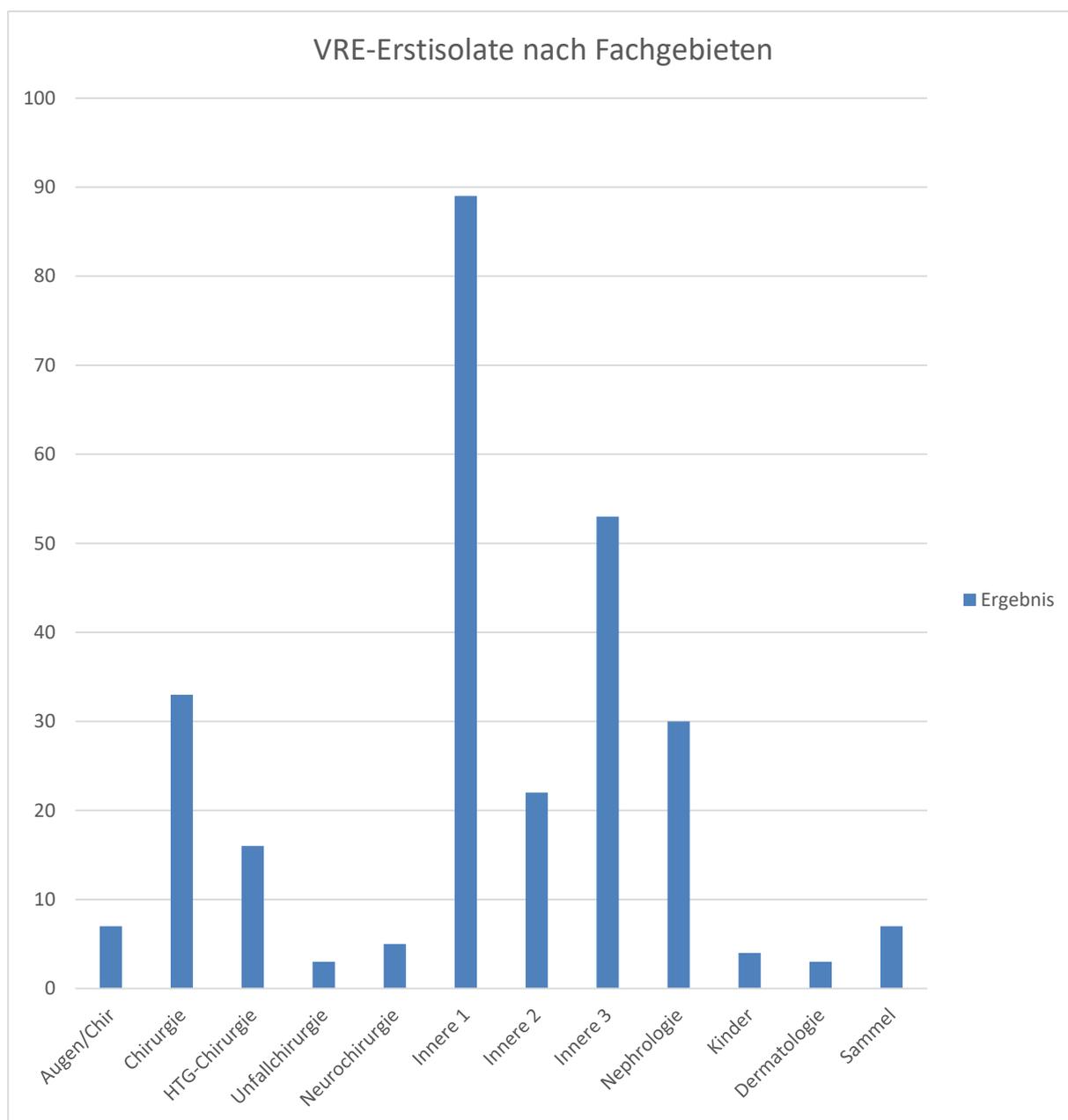


Abbildung 24: Erstmals positiv auf VRE getestete Patienten nach Fachgebieten.

Von allen 272 Patienten wurde zusätzlich festgehalten, ob es sich bei dem ersten positiven Befund um einen nosokomialen, mitgebrachten oder durch Eingangsscreening festgestellten Fall handelte. Patienten, die nicht durch ein Eingangsscreening, sondern durch ein Screening in Folge von Ausbrüchen oder Kontakt zu einem VRE-positiven Patienten auffielen, wurden entweder unter nosokomial oder mitgebracht eingeordnet.

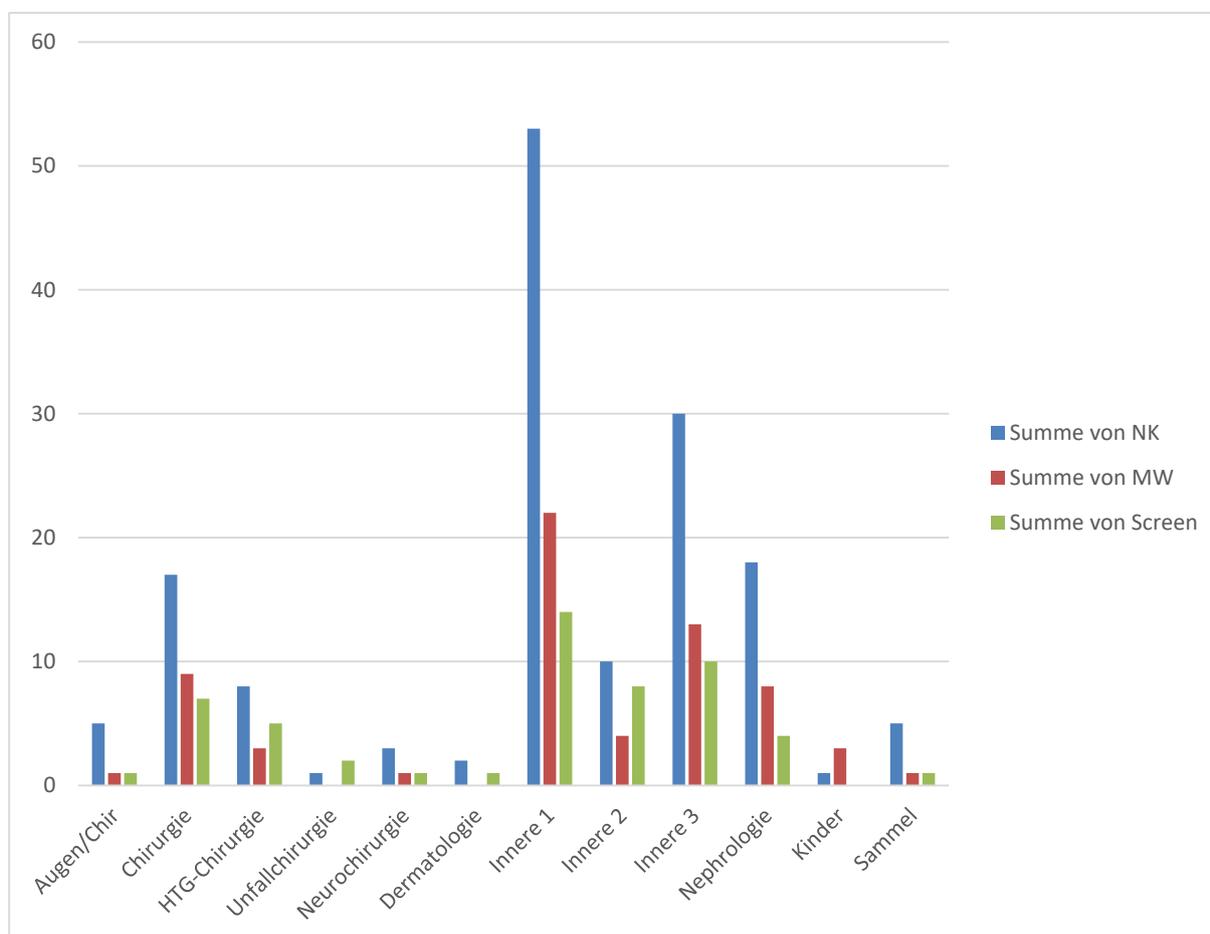


Abbildung 25: Summe von als nosokomial (NK), mitgebracht (MW) und durch Screening (Screen) eingruppierte Patientenisolats.

In der Auswertung wies die Innere I, die der Gastroenterologie entsprach, die meisten nosokomialen, aber auch durch Screening detektierten Patienten auf. Auch die Innere III (Onkologie) hatte sowohl viele nosokomiale als auch durch Screening detektierte Fälle zu verzeichnen. In den chirurgischen Stationen gab es ebenfalls eine sehr hohe Anzahl an potenziell nosokomialen Isolat. Im Vergleich zu den beiden Inneren Fachbereichen wurden aber so gut wie keine Detektionen durch Screening erzielt, da in keiner dieser Stationen ein flächendeckendes Eingangsscreening durchgeführt wurde.

Bei den Daten der Abbildung 25 ist zu berücksichtigen, dass Patienten, deren Enterokokken als mitgebracht eingestuft wurden, durchaus zu einem früheren Zeitpunkt in einem anderen Krankenhaus als nosokomial gezählt werden konnten. Die Zahl der Patienten, die sich eventuell nosokomial einen VRE zugezogen hatten, wäre damit also vermutlich höher als es hier den Anschein hat. Nosokomial darf jedoch in diesem Zusammenhang nicht mit gesicherten Übertragungen innerhalb eines Krankenhauses bzw. während eines stationären Aufenthaltes verwechselt werden. Viele der als nosokomial gezählten Fälle dürften aufgrund eines nicht erfolgten Eingangsscreening mitgebracht aber erst im Verlauf der stationären Therapie detektiert worden sein. Die Definition ist somit nicht kausal, sondern nur auf den Zeitraum der Diagnose bezogen. Die Daten bezüglich der Herkunft der Isolate (Screening, nosokomial oder mitgebracht) stammten aus dem Institut für klinische Mikrobiologie und Hygiene des Uniklinikums Regensburg und wurden hier analog nach den Regeln des MRSA-KISS erfasst. Für alle Patienten erfolgte die Zuordnung auf die Stationen abhängig von ihrem ersten positiven VRE-Befund. Aus Tabelle 7 können die einzelnen Stationen der Kliniken und deren Intensivstation entnommen werden. Dies ist wichtig, da Patienten sehr häufig aus medizinischen oder Platzgründen innerhalb der Stationen einer Klinik verlegt wurden. Die Sammelstationen 46 und 60 waren an die Notaufnahme angebunden und dienten nur als Übergangslösung, bis ein Platz in den eigentlich zuständigen Stationen frei wurde. Somit erfolgte keine Bevorzugung einer Intensivstation.

Tabelle 7: Zuordnung der Stationen zu den einzelnen Kliniken und Darstellung der jeweils zum Fachgebiet zugeordnete Intensivstation (ITS).

Klinik	Stationen	Zugeordnete ITS
Augen/Chirurgie	48	90
Chirurgie	54, 56, 57	90
Herz-Chirurgie	61	91
Neurochirurgie	59	97
Unfallchirurgie	55	90
Innere I	14, 15	92
Innere II	18, 19	93
Innere III	20, 21	93
Nephrologie	16, 17	93
Dermatologie	52, 53	90
Sammelstation	46, 60	/
Kinderstation	83, 84	81

Alle mit dem IR-Biotyper gemessenen Proben, bei denen eine Clustereinteilung möglich war (n=249), wurden 27 Stationen und zwei Ambulanzen zugeordnet. In Abbildung 26 ist zusätzlich auch die Zahl an unterschiedlichen Clustern, die auf einer Station zu finden waren, dargestellt.

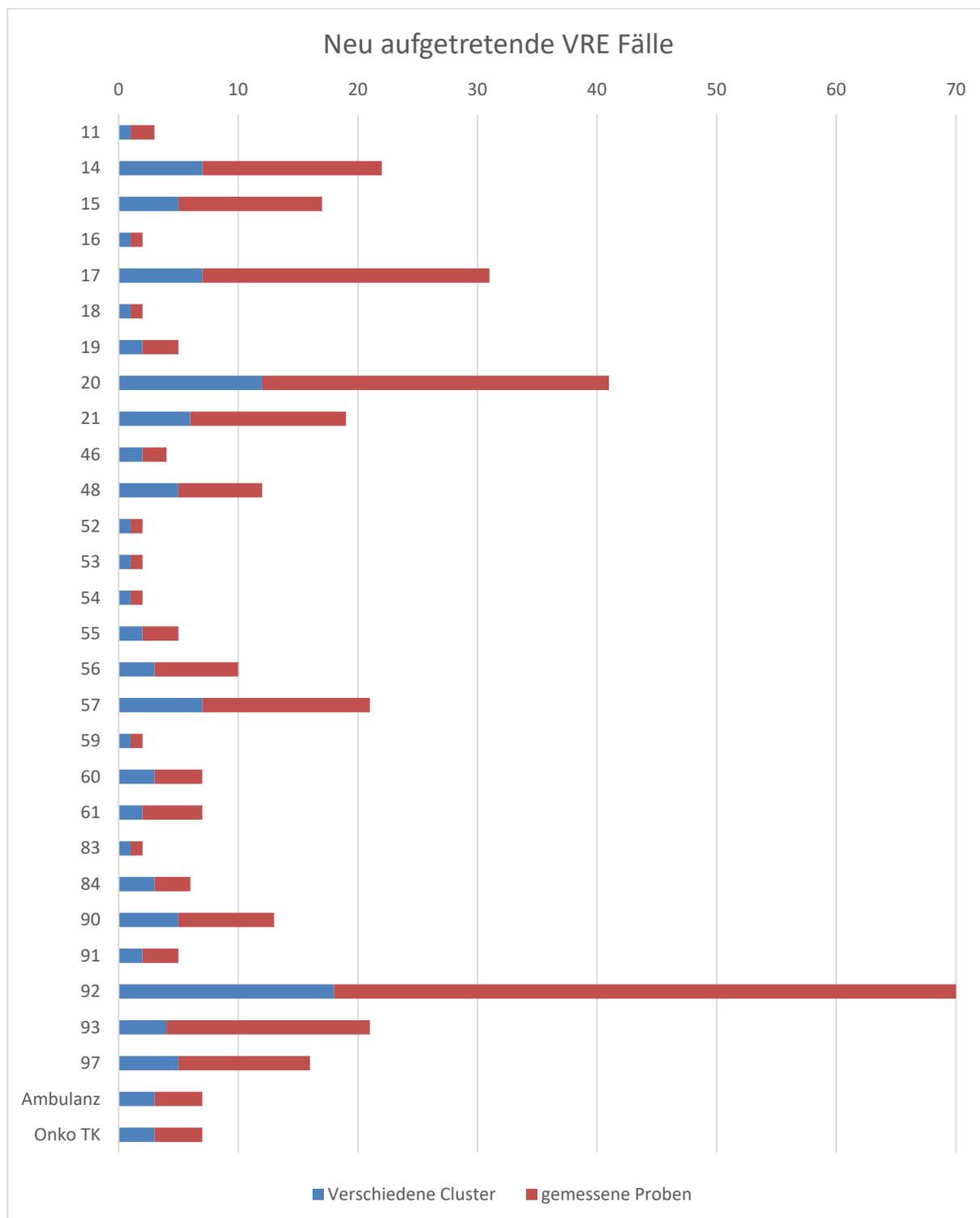


Abbildung 26: Neu aufgetretene VRE-Fälle nach Stationen.

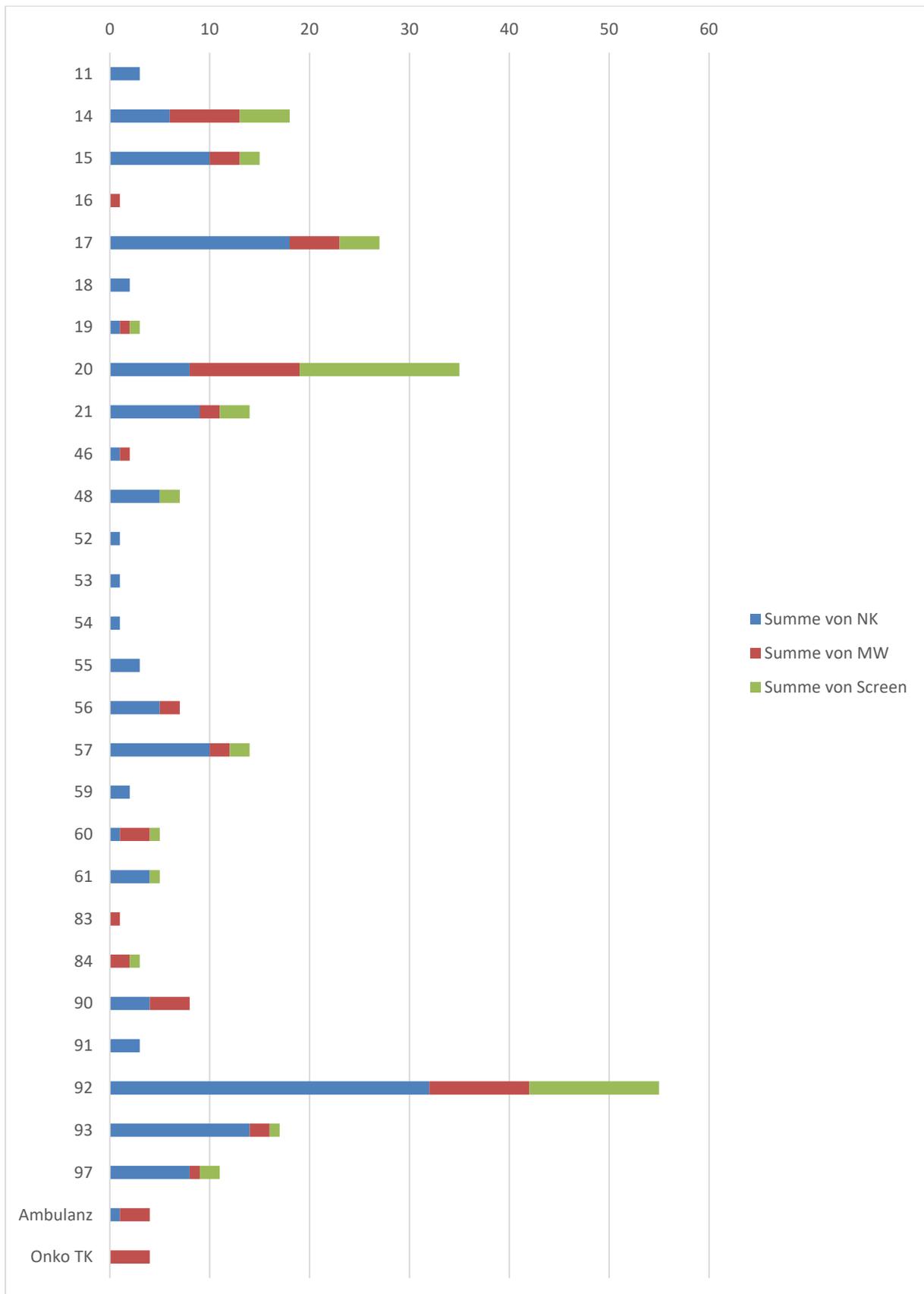


Abbildung 27: Summe der nosokomialen (NK), mitgebrachten (MW), oder durch Eingangsscreening (Screen) klassifizierten neuen VRE-Fälle.

Wie auch für die Kliniken wurde in Abbildung 27 abhängig von den einzelnen Stationen die Summe der nosokomialen, mitgebrachten und durch Eingangsscreening festgestellten neuen VRE-Fälle dargestellt. Hierzu wurden, wie auch in Abbildung 25, nur die Erstisolate (n=272) erfasst, da nach dem ersten positiven Befund alle Patienten bei weiteren Aufenthalten im UKR unter mitgebracht geführt wurden.

Die größte Menge an VRE-Erstnachweisen besaß mit Abstand die Station 92 (20,2%), die als Intensivstation der Gastroenterologie Durchgangsstation für viele Patienten war. Die Station 92 hatte auch ein Eingangsscreening etabliert und führte die zweitmeisten Screenings (24% aller Screenings) durch. Trotzdem detektierte sie nur etwa 23,6% aller VRE-Fälle auf diese Weise. 58% aller erstmalig nachgewiesenen VRE-Fälle waren nosokomialen Ursprungs, womit die 92 zu den Stationen mit einem sehr hohen Anteil an im Krankenhaus erworbener Vancomycin-resistenter Enterokokken gehörte. Eine weitere starke Häufung nosokomialer Fälle gab es zudem auf der Station 17, die als Nephrologie viele chronisch kranke Patienten beheimatete. Auf dieser Station waren sogar 66,7% aller erstmalig nachgewiesenen VRE-Fälle nosokomialen Ursprungs.

Neben der Station 92 führten auch die Stationen 20 und 21 ein Eingangsscreening durch. Die Station 20 identifizierte dabei im Vergleich zu den anderen Stationen mit 45,7% die meisten VRE-positiven Patienten durch ein solches Screening.

Da vor allem die Intensivstationen von vielen Verlegungen und multimorbiden Patienten betroffen waren, wurden diese nochmals gesondert betrachtet.

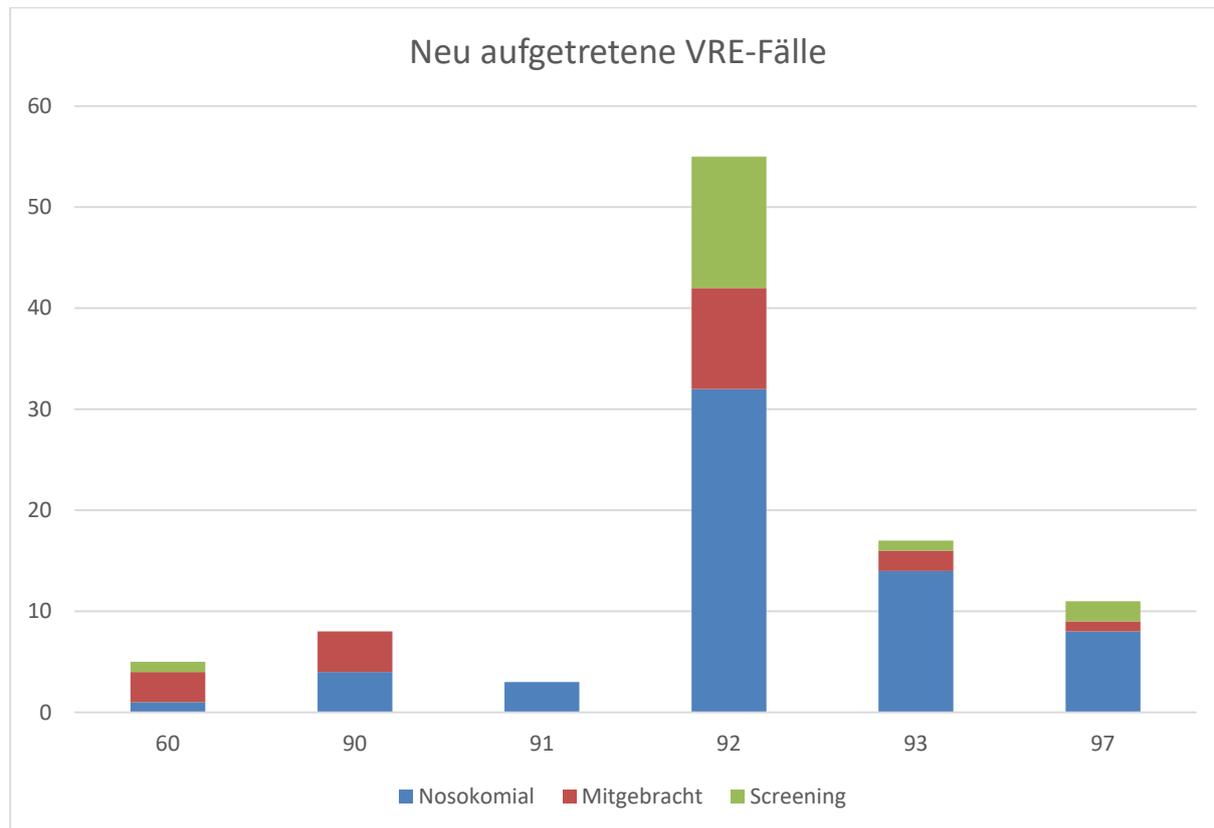


Abbildung 28: Neu detektierte VRE-Fälle auf den Intensivstationen des Universitätsklinikums Regensburg.

Auf den sechs Intensivstationen des Universitätsklinikums gab es im Untersuchungszeitraum 99 neu aufgetretene VRE-Fälle. Das entsprach 36,4% aller Patienten, die im UKR erstmals positiv getestet wurden. Die Station 92 führte hier gefolgt von der Station 93 bei der Anzahl an nosokomialen Fällen. Als einzige Intensivstation mit einem Eingangsscreening detektierte die Station 92 in diesem Vergleich aber auch die meisten (23,6%) Patienten durch ein Screening. Die geringste Anzahl an nosokomialen Fällen hatten die Stationen 91 (Neurochirurgie) und 60 zu verzeichnen. Bei Station 60 handelte es sich allerdings nur um eine Intermediate-Care-Einheit und keine echte Intensivstation.

3.2 Agar Tests

Im Rahmen der Einführung des IR-Biotypers als VRE-Typisierungsmethode wurde getestet, mit welchem Agar in der Messung und Auswertung die besten Ergebnisse erzielt werden konnten.

Tabelle 8: Verwendete Isolate für den Vergleich der Nährmedien.

Proben Nummern:	487	489	491	499	506	507	509	510	512	518	522
-----------------	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Für den Vergleich der Nährböden wurden die elf in Tabelle 8 dargestellten Proben auf den drei verschiedenen Nährmedien angezüchtet und anschließend 64 mal gemessen. Die Ergebnisse dieser Messungen wurden nach Agar getrennt in drei IR-Biotyper Projekten ausgewertet. Dabei wurden die nicht messbaren und fehlerhaften Messpunkte gezählt. Als fehlerhaft galt ein Messpunkt, wenn er nicht im gleichen Cluster wie die übrigen Messpunkte einer Probe vorzufinden war. Insgesamt wurden 704 Messpunkte des IR-Biotyper auf Fehler in der Messung oder Auswertung analysiert, die genaue Aufteilung ist in Tabelle 9 dargestellt.

Tabelle 9: Anzahl der Messpunkte pro Agar.

Agar	Messpunkte
Columbia-Frischblut-Agar	220
Müller-Hinton-II-Agar	264
Herz-Hirn-Agar	220

Für die Auswertung der Daten wurde ein Cut-Off-Wert von 0,191 verwendet.

Tabelle 10: Fehler bei Messung und Auswertung der Columbia-Blut-Agar Proben mit dem IR-Biotyper.

Proben	Fehler	
	Messung	Auswertung
487	17	0
489	8	1
491	9	0
499	9	0
506	9	2
507	3	0
509	5	4
510	7	1
512	8	2
518	6	0
522	5	2
Gesamt	86	12

Von den 220 Messpunkten konnten nur 134 erfolgreich gemessen werden, dies entsprach einer Erfolgsquote von lediglich 60,9% (SD 18,1%). Hierbei war die Probe 487 mit 17 von 20 (85,0%) abgebrochenen Messpunkten die schlechteste der untersuchten Proben.

In der Auswertung aller erfolgreich gemessener Messpunkte, bei einem Cut-Off-Wert von 0,191, durch die Biotyper Software mussten zwölf der 134 Messpunkte entfernt werden um eine Splitterung zu verhindern. Dies entsprach einem Fehler von 9% (SD 9,4%), der die Wahrscheinlichkeit angab, dass ein Messpunkt in einen falschen Cluster angezeigt wurde.

3.2.2 Müller-Hinton-II-Agar

Die Spezifikationen des Müller-Hinton-II-Agar, dessen Produktion die Nährbodenküche des Instituts für klinische Mikrobiologie und Hygiene in Regensburg übernommen hatte, wurden unter Punkt 2.5.2 aufgeführt.

Das Wachstum der Enterokokken fiel auf dem Müller-Hinton-II-Agar schlechter aus als auf Frischblut. Aus diesem Grund war es erforderlich, die Bakterien dreifach auszustreichen. Mithilfe dieser Technik war es dann aber ohne Probleme möglich genug Biomasse für die nachfolgende Messung zu kultivieren. Die Enterokokken ließen sich zudem sehr leicht vom Agar ablösen und weiterverarbeiten.

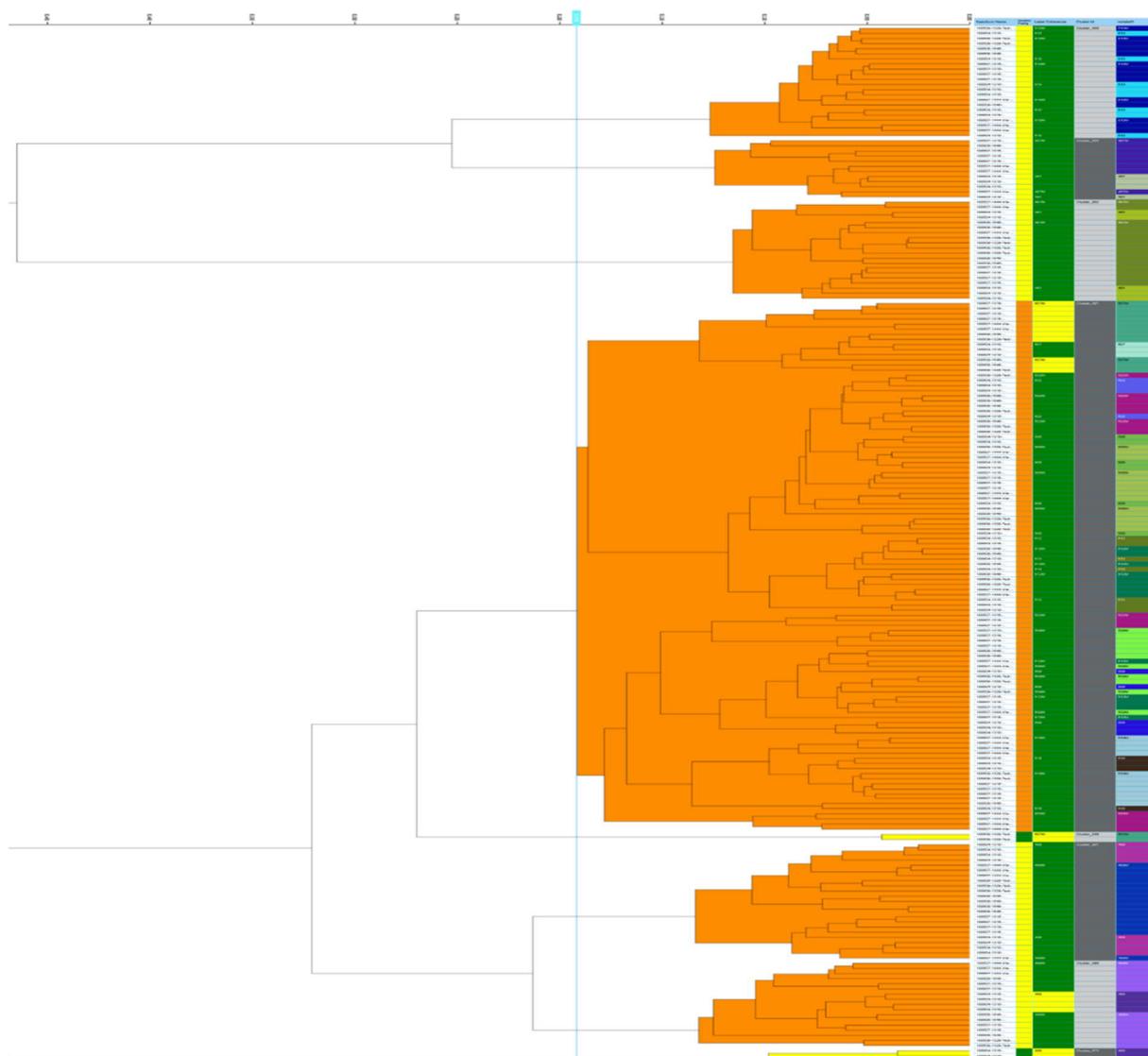


Abbildung 30: Auswertung der mit Müller-Hinton-II-Agar angezchteten Proben.

In Abbildung 30 wird deutlich, wie wenige der mittels Müller-Hinton-II-Agar angezchteten Proben Splitter in anderen Clustern aufwiesen.

Tabelle 11: Fehler bei Messung und Auswertung der mit Müller-Hinton-II-Agar angezüchteten Proben mit dem IR-Biotyper.

Proben	Fehler	
	Messung	Auswertung
487	12	0
489	1	0
491	4	0
499	4	3
506	4	0
507	8	2
509	8	0
510	2	0
512	4	0
518	9	0
522	5	0
Gesamt	61	5

Von 264 Messpunkten, die aus insgesamt fünf verschiedenen Messungen stammten, konnten 203 erfolgreich biotypisiert werden. Die Erfolgsquote lag damit bei 76,9 Prozent (SD 13,7%), wobei die Probe 487 mit zwölf von 24 (50,0%) Messpunkten die meisten Fehler aufwies.

Von den 203 erfolgreich gemessenen Werten splitterten fünf und mussten in der nachfolgenden Auswertung entfernt werden. Die Qualität der Auswertung eines Messpunktes lag somit bei einem Fehler von 2,25 Prozent bei 97,75% (SD 5,6%).

3.2.3 Herz-Hirn-Agar

Der Herz-Hirn-Agar wurde wie der Müller-Hinton-II-Agar von der hauseigenen Nährbodenküche (siehe 2.5.3) hergestellt. Die Enterokokken wuchsen kräftig und konnten auch leicht von den Nährböden abgelöst werden.

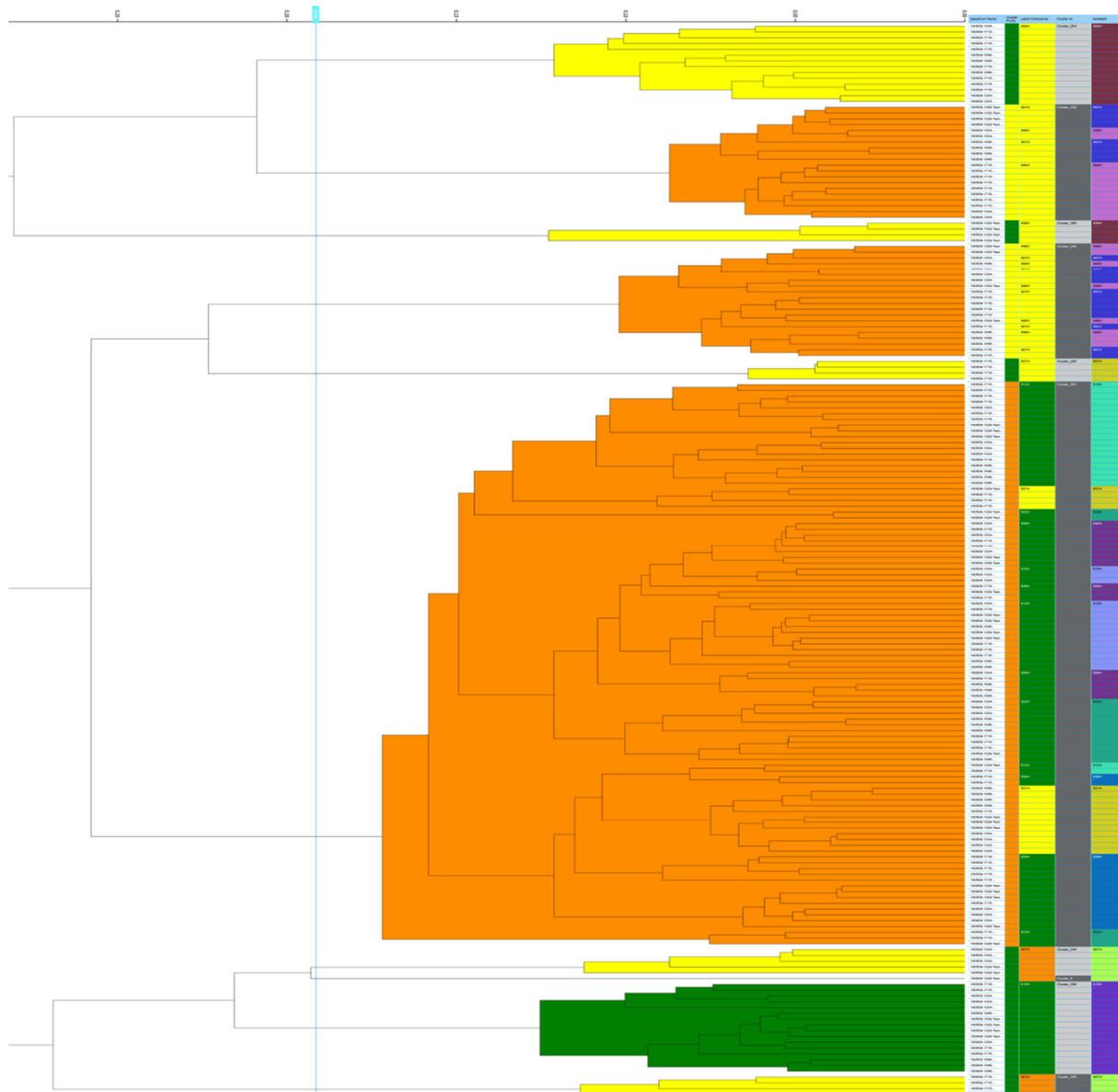


Abbildung 31: Analyse aller mit Herz-Hirn-Agar angezüchteten Proben.

Auf Abbildung 31 ist die Analyse der mit Herz-Hirn-Agar angezüchteten Proben dargestellt. Auffällig waren hier die oberen Cluster, deren Proben alle eine große Anzahl an Splitter aufwiesen.

Tabelle 12: Fehler bei Messung und Auswertung der mit Herz-Hirn-Agar angezüchteten Proben mit dem IR-Biotyper.

Proben	Fehler	
	Messung	Auswertung
487	10	5
489	2	4
491	0	8
499	0	8
506	0	0
507	4	4
509	5	0
510	4	0
512	0	0
518	5	0
522	4	0
Gesamt	34	29

Von den auf Herz-Hirn-Agar angezüchteten Proben erfolgte die Messung von 220 Messpunkten. Davon konnten 186 mit dem IR-Biotyper analysiert werden, bei 34 Messpunkten erfolgte ein Abbruch. Dies entsprach einem Messerfolg von 84,5% (SD 15,6%).

Von allen erfolgreichen Messungen mussten allerdings 29 Messpunkte entfernt werden, um eine eindeutige und einheitliche Clusterzusammensetzung zu generieren. Bei der Analyse dieser Isolate ergab sich somit ein Auswertungserfolg von 84,4% (SD 19,9%).

Auffällig war hier, dass nur von fünf Proben Messpunkte entfernt werden mussten, bei diesen Isolaten sich aber die Fehler häuften. Dadurch war zum Teil eine sichere Clusterzuordnung aufgrund der hohen Anzahl an falsch einsortierten Messpunkten nicht mehr möglich.

3.3 Validierung des IR-Biotypers

Ein wichtiger Teil der Arbeit umfasste die Validierung des IR-Biotypers. Zu diesem Zweck wurden 30 bereits mittels Multilocus-Sequence-Typing (siehe 2.4.1), Pulsfeldgelelektrophorese (siehe 2.4.2) und Whole-Genome-Sequencing typisierten Proben binnen zwei Wochen zehn Mal mit dem IR-Biotyper gemessen. Das Hauptaugenmerk lag bei der Messgenauigkeit und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse.

Tabelle 13: Ausbeute der Messungen und Fehler bei der Clustereinordnung in allen Validierungsmessungen.

Nr.	Fehler		Nr.	Fehler	
	Messung	Auswertung		Messung	Auswertung
3091	9	1	5925	11	0
3357	4	2	5940	4	3
3442	7	6	6496	8	0
3576	8	3	6927	9	1
3758	15	2	7712	8	1
3805	9	0	7903	3	0
3954	10	2	7956	9	1
3967	7	0	8133	0	3
3986	7	7	8274	9	1
4337	1	4	9106	3	0
4433	4	0	9700	10	2
4707	11	2	9895	9	3
4762	1	1	10272	2	2
5028	4	1	10432	1	1
5405	11	0	Gesamt	206	49
5844	12	0			

Insgesamt wurden von den in Tabelle 13 aufgelisteten Proben 900 Messpunkte analysiert. 206 Messpunkte konnten aus Gründen unpassender Absorption oder anderer Fehler nicht durch den IR-Biotyper gemessen werden. Die durchschnittliche Ausbeute der Messung lag somit bei 77,1 Prozent (SD 12,86%). Alle messbaren Proben wurden mithilfe des integrierten Biotyper Programms ausgewertet. Dabei mussten 49 der 694 Messpunkte entfernt werden um eine klare Clustereinteilung zu erzeugen, dies entsprach einem Fehler von 7,1 Prozent (SD 7,6%).

Die Wahrscheinlichkeit, dass ein Messpunkt sich in einen falschen Cluster einsortierte, lag somit durchschnittlich bei 7,1 Prozent (SD 7,6%).

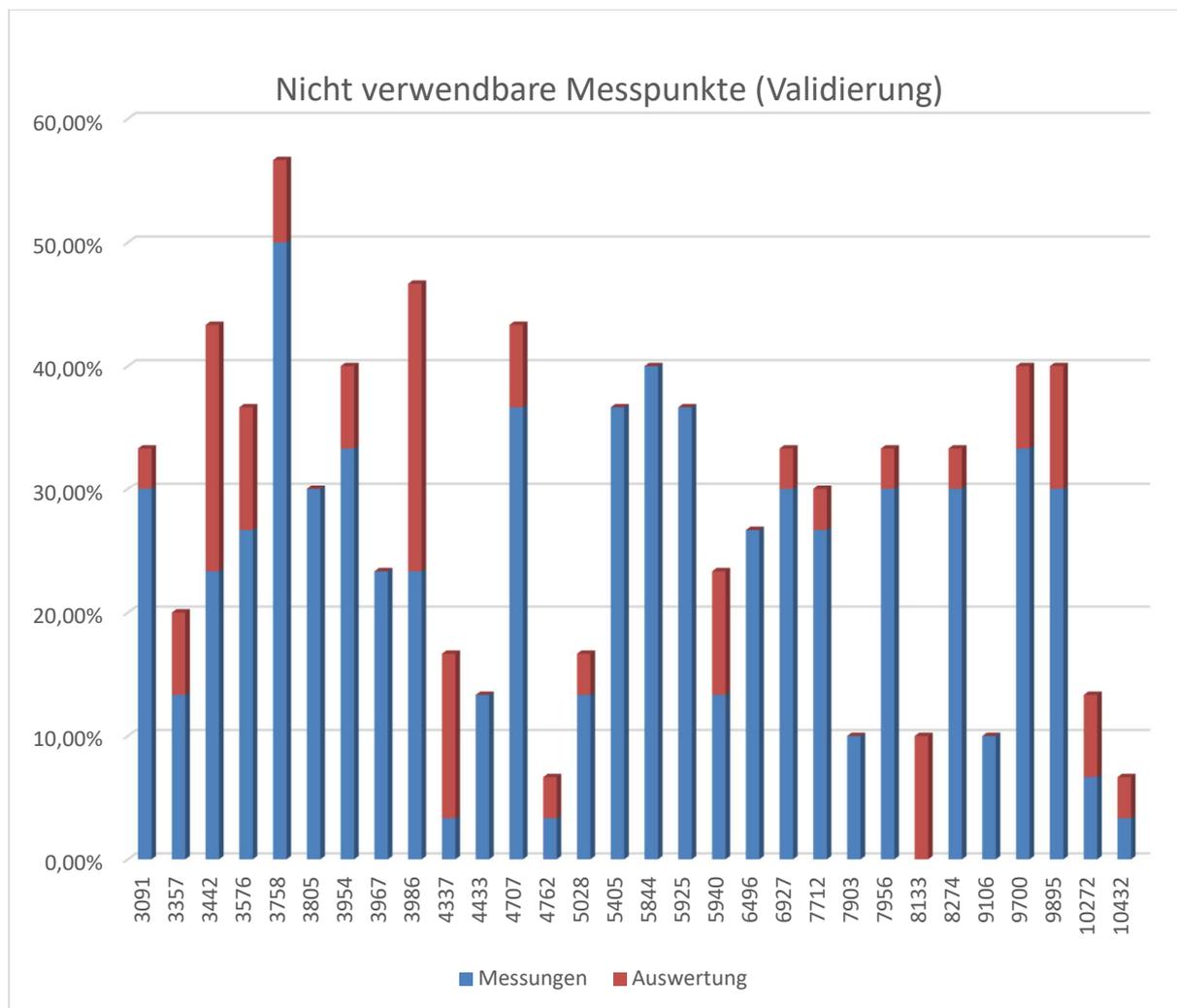


Abbildung 32: Anzahl der nicht möglichen Messungen und Auswertungsfehler.

In Abbildung 32 sind die nichtmessbaren und falsch einsortierten Messpunkte je Probe in Prozent aufgeführt. Die Anzahl abgebrochener Messungen reichte dabei von keiner wie zum Beispiel bei der Probe 8133 bis zu 15 bei Probe 3758. Durchschnittlich hatte jede Probe 6,9 (SD 3,9) nicht messbare Messpunkte zu verzeichnen.

Die Zahl falsch eingeordneter Messpunkte reichte von null bis sieben, wie etwa bei Probe 3986. Durchschnittlich befanden sich von jeder Probe 1,6 (SD 1,8) der 30 Messpunkte in einem falschen Cluster.

Insgesamt betrachtet konnten 28,3% (SD 13,4%) aller Messpunkte entweder wegen abgebrochener Messung oder fehlerhafter Clusterzuordnung nicht verwendet werden.

Neben der Untersuchung aller Messwerte wurde auch der zeitliche Verlauf der Ergebnisse der einzelnen Messungen betrachtet.

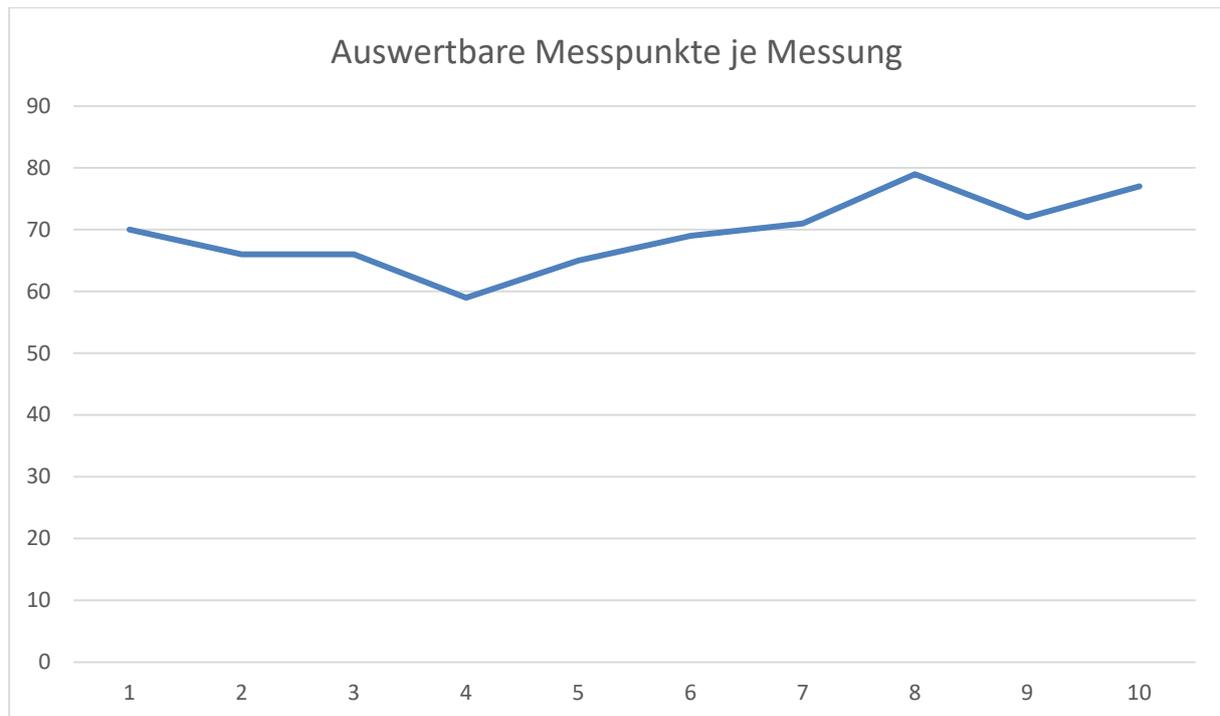


Abbildung 33: Auswertbare Messpunkte je Messung im zeitlichen Verlauf.

Wie in Abbildung 33 gut veranschaulicht wird, stieg die Anzahl der auswertbaren Messpunkte je Messung im Laufe der zwei Wochen dauernden Validierungsphase leicht an.

Um diesen Effekt besser untersuchen zu können, wurden die Daten der zweiten Woche, was den Validierungsmessungen 6 bis 10 entsprach, zusätzlich noch einmal getrennt ausgewertet. Anschließend erfolgte ein Vergleich mit den Daten der ersten Woche und dem Gesamtergebnis.

Tabelle 14: Ausbeute der Messungen und Fehler bei der Clustereinordnung in den Validierungsmessungen 6-10.

Validierungsmessungen 6-10					
Nr.	Fehler		Nr.	Fehler	
	Messung	Auswertung		Messung	Auswertung
3091	1	1	5925	8	0
3357	1	0	5940	0	0
3442	4	2	6496	4	0
3576	2	3	6927	2	1
3758	9	0	7712	4	0
3805	2	0	7903	0	0
3954	4	2	7956	3	0
3967	2	0	8133	0	0
3986	1	4	8274	5	5
4337	0	0	9106	1	0
4433	2	0	9700	3	0
4707	6	0	9895	5	0
4762	0	0	10272	1	0
5028	3	0	10432	1	1
5405	3	0	Gesamt	82	19
5844	5	0			

Von den 450 Messpunkten der Validierungen 6 bis 10 konnten 82 nicht verwendet werden. Das ergab eine Erfolgsquote von 81,8% (SD 15,6%).

Die 368 erfolgreich gemessenen Punkte wurden der Auswertung zugeführt. Hierbei ergab sich nach dem Entfernen von 19 Proben eine splitterfreie Clustereinteilung. Der Messfehler der zweiten Woche lag somit nur bei 5,2% (SD 11,5%).

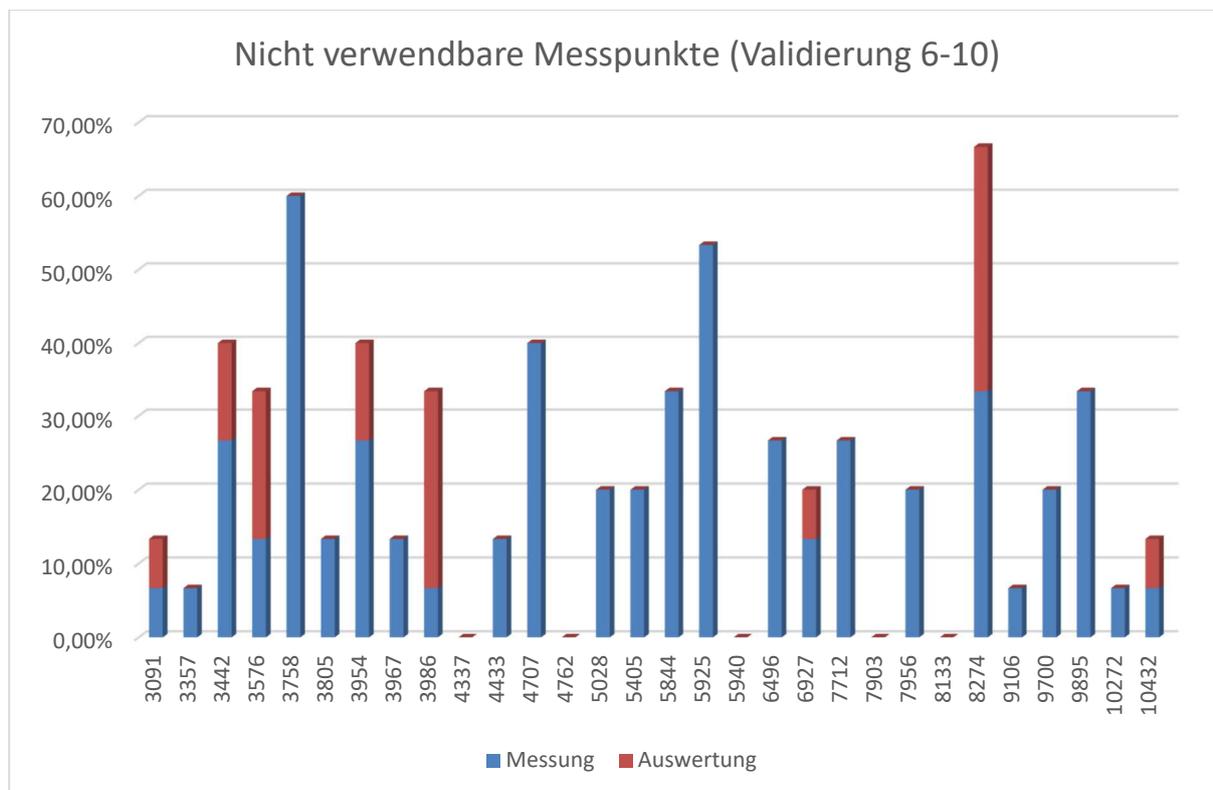


Abbildung 34: Anzahl der nicht möglichen Messungen und Auswertungsfehler der Validierungsmessungen 6 - 10.

Die Anzahl der nicht messbaren Punkte lag in einem Bereich zwischen null und neun, die Anzahl an im falschen Cluster eingeordneter Messpunkte zwischen null und fünf. Durchschnittlich konnten bei den Messungen der zweiten Woche 22,4 Prozent (SD 18,1%) aller Messwerte nicht ausgewertet werden.

Tabelle 15: Vergleich der ersten und zweiten Validierungswoche.

Validierung 1-5		Validierung 6 - 10	
Messung	Auswertung	Messung	Auswertung
72,4%	90,8%	81,8%	94,8%

In Tabelle 15 ist der Mess- und Auswertungserfolg der ersten und zweiten Hälfte der Validierungsphase gegenübergestellt. Dabei wird deutlich, dass die zweite Hälfte der Validierung bei den Messungen um 33,9% und bei der Anzahl an richtig einsortierten Proben um 36,7% besser abschnitt.

Sowohl im Bereich der Messungen als auch bei der Qualität der Clustereinteilung verbesserten sich somit die Ergebnisse der zweiten Woche im Vergleich zur ersten um etwa ein Drittel. Verglichen mit den Werten der gesamten Validierung ergab sich immer noch eine Verbesserung der messbaren Proben um 5,7% und eine Verbesserung der Messgenauigkeit um 2,0%.

3.4 Clustereinteilung aller Proben

Für die Einteilung aller Proben der Studie wurden wie in 2.3.4 beschrieben jeweils zwei Messpunkte aus verschiedenen Messungen ausgewählt. Bei der Auswahl wurden ausschließlich Messpunkte verwendet, die in einer Voranalyse nicht gesplittet und sauber im Hauptcluster einer Probe beheimatet waren.

Die Wahrscheinlichkeit, dass ein Messpunkt in einen falschen Cluster eingeordnet wurde lag bei 7,1% (SD 7,6%). Da für die Gesamtclustereinteilung zwei Messpunkte je Isolat verwendet wurden, lag die Wahrscheinlichkeit einer falschen Einordnung hier sogar nur bei 0,5% ($\pm 0,19\%$).

Der verwendete Cut-Off-Wert der Clustereinteilung wurde bei 0,188 festgesetzt.

Um die Cluster Einteilung zu überprüfen, wurden für alle Stationen je Isolat vier zufällig ausgewählte Messpunkte ausgewertet und mit der Gesamtclustereinteilung verglichen. Als Beispiele wurden in diese Arbeit die Ergebnisse der Stationen 54 und 97 eingefügt.

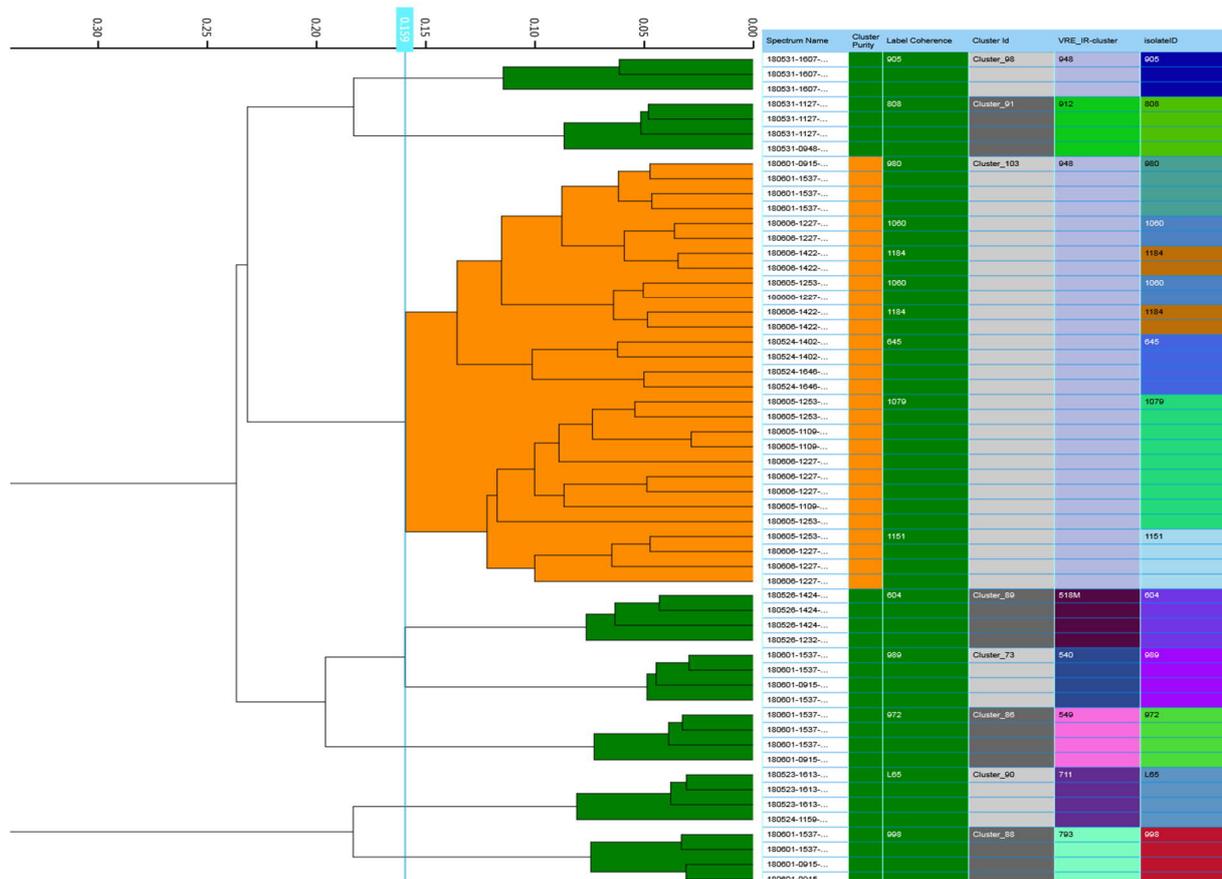


Abbildung 35: Vergleich aller Cluster der Station 54.

Dabei zeigte sich, dass vor allem in kleinen Stationen, wie etwa der 54 (Abbildung 35) eine sehr gute Reproduzierbarkeit gegeben war. In größeren Stationen mit über 100 verschiedenen Patienten kam es allerdings wie in der Station 97 zu vereinzelt Clusterverschiebungen. In der in Abbildung 36 dargestellten Station unterschieden sich die beiden Analysen in elf der 400 analysierten Messpunkte, was aber im Rahmen der Messungenauigkeit von 7,1% lag.

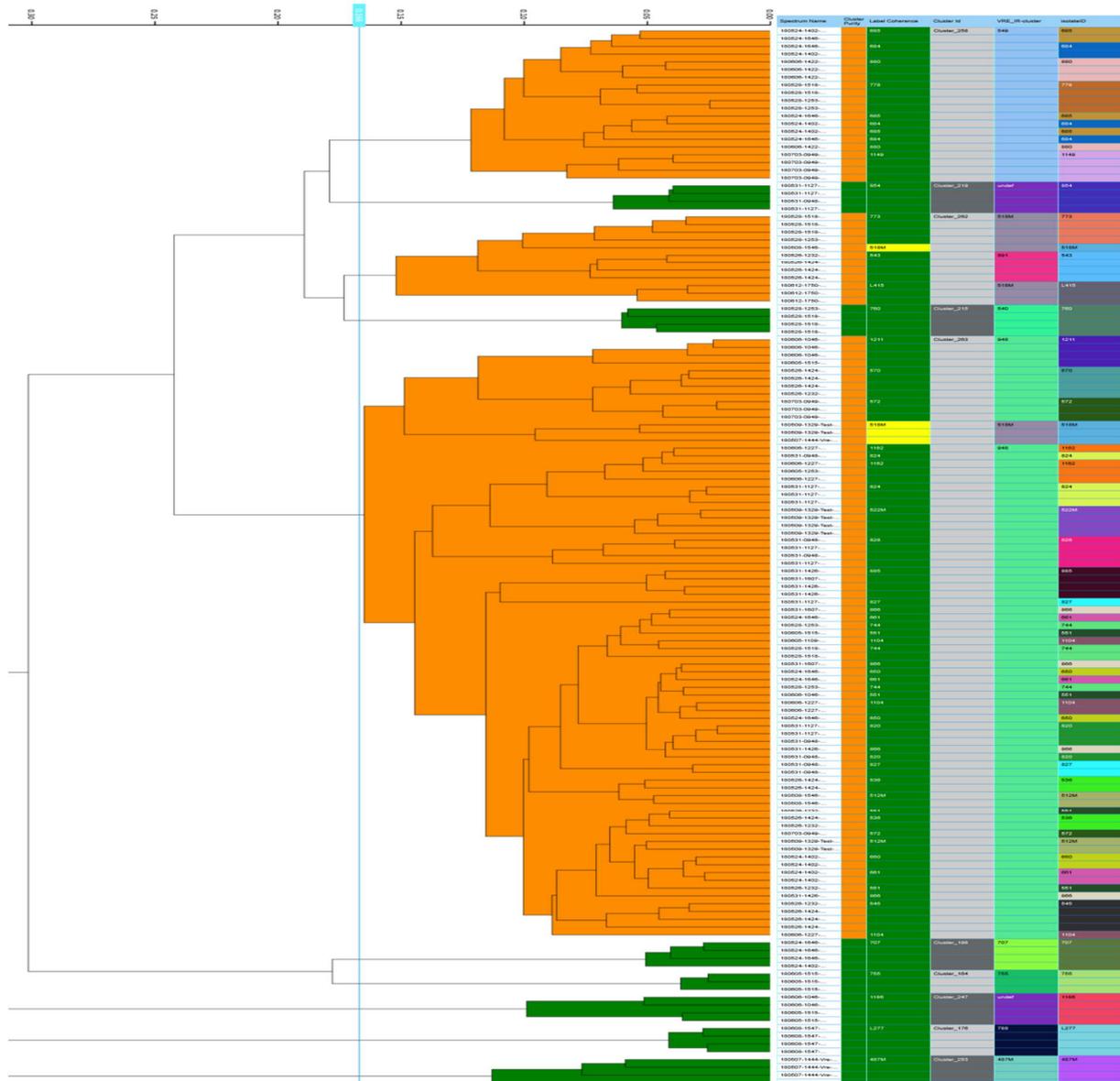


Abbildung 36: Station 97 mit 108 verschiedenen Patienten.

3.5 Vergleich mit anderen Typisierungsmethoden

Für den Vergleich der Methoden wurden die 30 bereits für die Validierung verwendeten Isolate herangezogen, von denen bereits MLST, PFGE und WGS Daten vorlagen. Für die Whole-Genome-Sequenzierung wurde eine Stichprobe bestehend aus den zwölf in Tabelle 16 dargestellten Proben ausgewählt. Der Vergleich des IR-Biotypers mit dem Multilocus-Sequence-Typing wurde durch die MLST Daten aller Patienten der Stationen 20 und 21 ergänzt.

Tabelle 16: Probennummern der WGS-Stichprobe.

Proben Nummern:	3954	3576	6496	4707	6927	5405	8133	4433	3967	3986	9106	5940
-----------------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------

Ausgewertet wurde dabei die Vereinbarkeit der Ergebnisse zwischen dem IR-Biotyper und der jeweils anderen Messmethode. Es erfolgte aber auch ein Vergleich der diskriminativen Kraft, des Messaufwandes und der Kosten der verschiedenen Methoden.

3.5.1 Multilocus-sequence-typing (MLST)

Für den Vergleich des IR-Biotypers mit der Messmethode des Multilocus-sequence-typing wurden neben den 30 Proben der Validierung auch die MLST Daten von allen Patienten mit Aufenthalt auf den Stationen 20 und 21 gewonnen (Anlage B).

Tabelle 17: MLST-Typisierung der Stichprobe.

Nr.	MLST	vanA/B
3576	17	vanB
3805	17	vanB
3954	17	vanB
6496	18	vanB
4433	78	vanB
4707	78	vanB
5925	78	vanB
8274	80	vanA
9700	80	vanA
10432	80	vanA
5405	117	vanA
5844	117	vanB
6927	117	vanB
9895	117	vanA
10272	117	vanA
3442	125	vanB
3357	186	vanB
3967	192	vanB
3986	192	vanB
4337	192	vanB
5028	192	vanB
8133	192	vanB
4762	203	vanB
5940	203	vanB
7712	203	vanB
9106	203	vanB
3091	208	vanB
7903	262	vanB
3758	780	vanB
7956	926	vanB

Von den 30 in Tabelle 17 dargestellten Proben entsprachen je fünf (16,7%) den MLST-Typen 192 und 117, der drittgrößte MLST-Typ 203 wies 4 Proben auf.

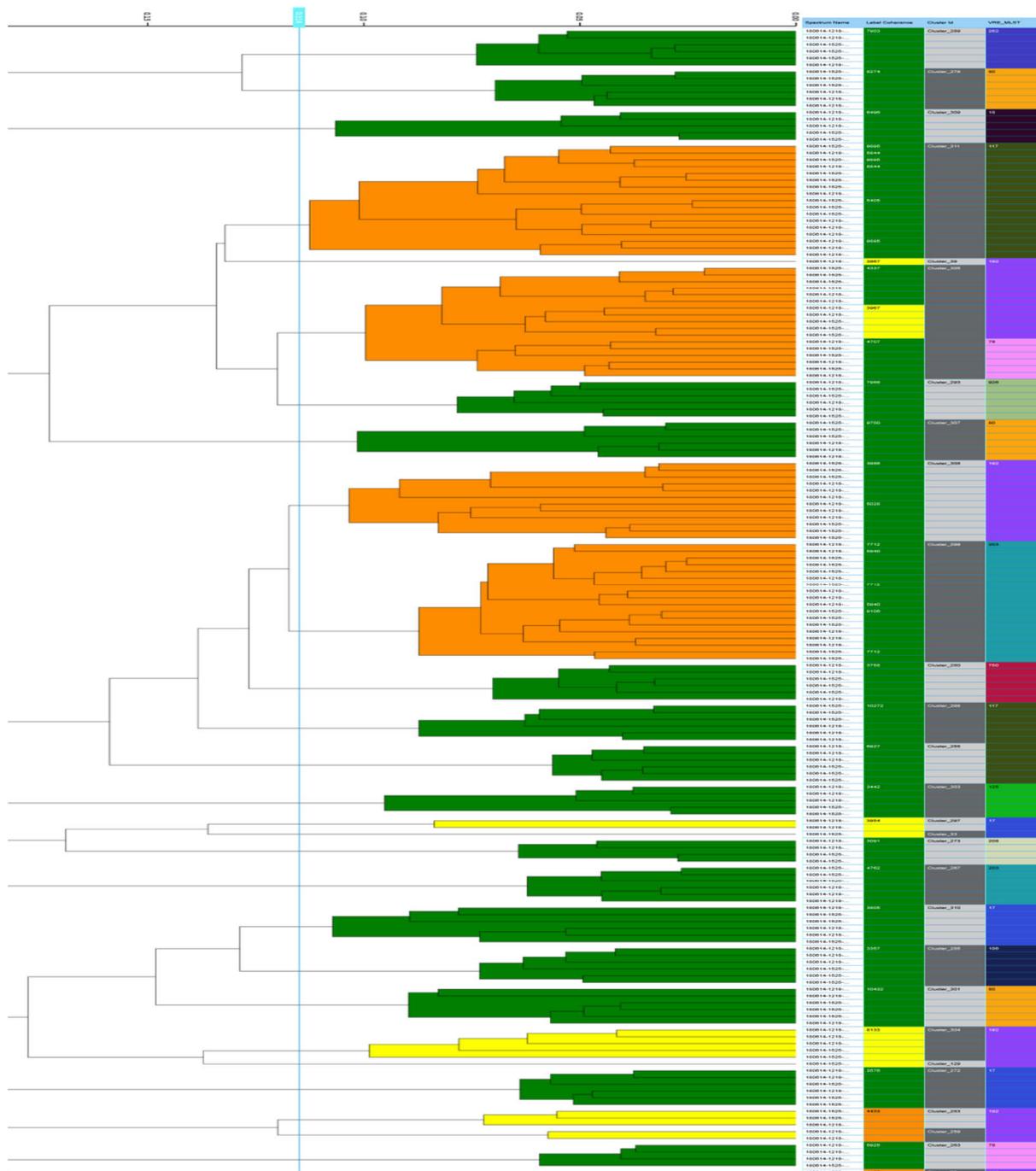


Abbildung 37: Vergleich des IR-Biotypers mit den MLST-Daten.

Bei dem Vergleich des IR-Biotypers mit den MLST-Daten konnte festgestellt werden, dass bis auf eine Ausnahme die Cluster des Biotypers nur einen MLST-Typ enthielten. Es konnte zudem festgestellt werden, dass die MLST-Typen nicht zusammen mit den Infrarotspektren clusternten, sondern durch den IR-Biotyper weiter subdifferenziert werden konnten.

Bei der Analyse der Patienten der beiden onkologischen Stationen mithilfe der MLST-Methode gelang es auch nach mehrmaliger Typisierung nicht, den pstS-Allel-Typ von neun der insgesamt 49 untersuchten Proben zu ermitteln. Trotzdem war es durch die Eingabe der vorhandenen Daten möglich den wahrscheinlichen ST-Typ mit einer sehr hohen Wahrscheinlichkeit zu bestimmen. Alle Proben, deren pstS-Allele nicht genau ermittelt werden konnten gehörten demnach dem im UKR weitverbreiteten ST-Typ 117 an.

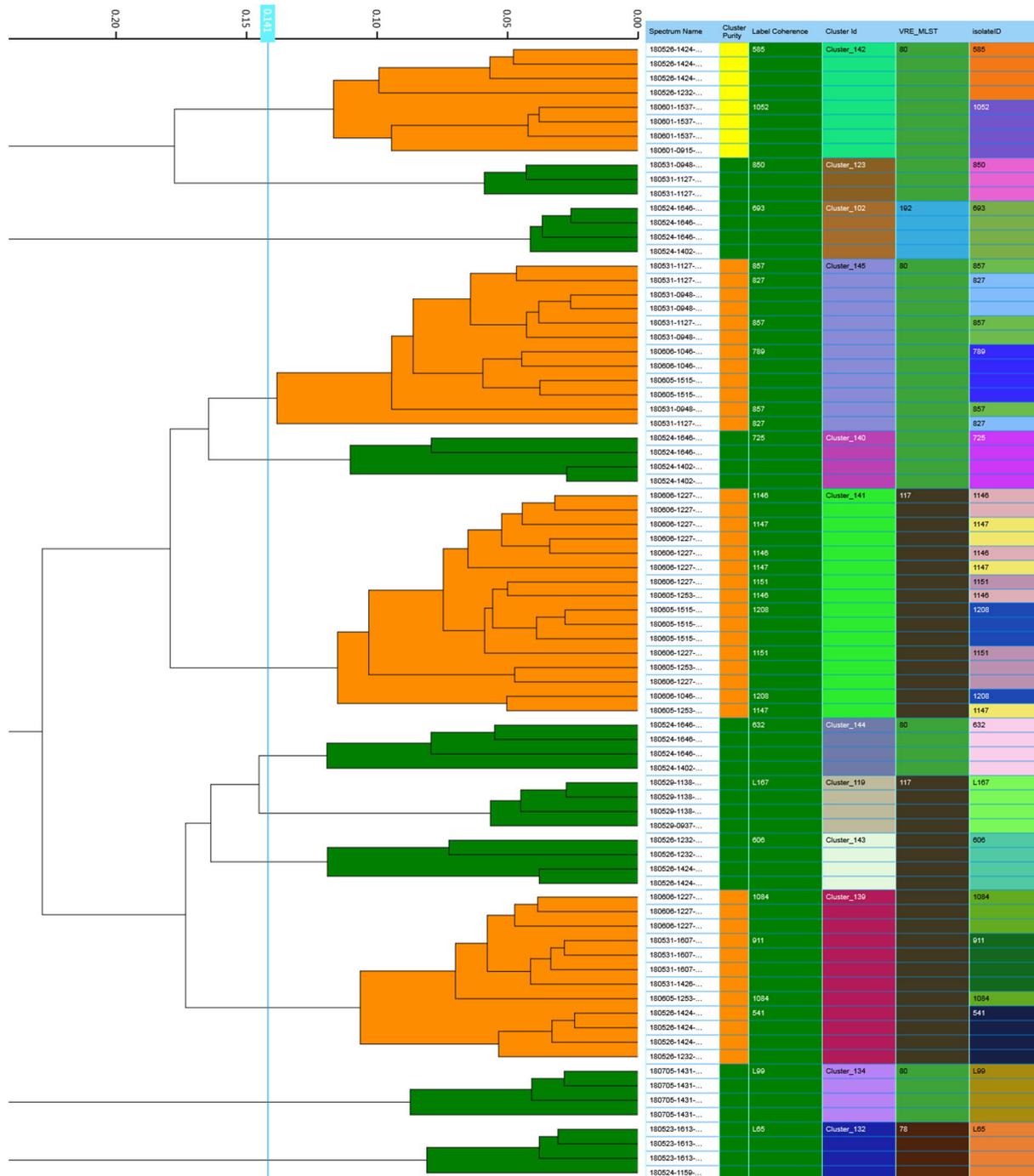


Abbildung 39: MLST-Daten der Station 21 im Vergleich zu der Clustereinteilung durch den IR-Biotyper.

Von den 35 Proben der Station 20 konnten zwei nicht richtig in die Cluster eingeordnet werden, da ihre Messpunkte sich in mehreren Clustern verteilt wiederfanden. Bei allen anderen Isolaten wiederholte sich das in Abbildung 37 dargestellte Bild. Die ST-Typen wurden von den Biotyper Clustern weiter unterteilt. Nur bei Station 20 kam es einmal vor, dass ein Biotyper Cluster zwei Enterokokken-Stämme verschiedener ST-Typen vereinigte. In Abbildung 39 der Station 21 gab es kein solches Ereignis. Auch mittels der MLST-Clustereinteilung wurden Diagramme erstellt, um mögliche Übertragungen detektieren zu können. Diese wurden den jeweiligen Stationen in Kapitel 3.7.2 angehängt.

3.5.2 Pulsfeldgelelektrophorese (PFGE)

Die Daten der Pulsfeldgelelektrophorese wurden ebenfalls mit der Clustereinteilung des IR-Biotypers verglichen. Hierzu erfolgte die Einteilung der Proben in sieben PFGE Cluster.

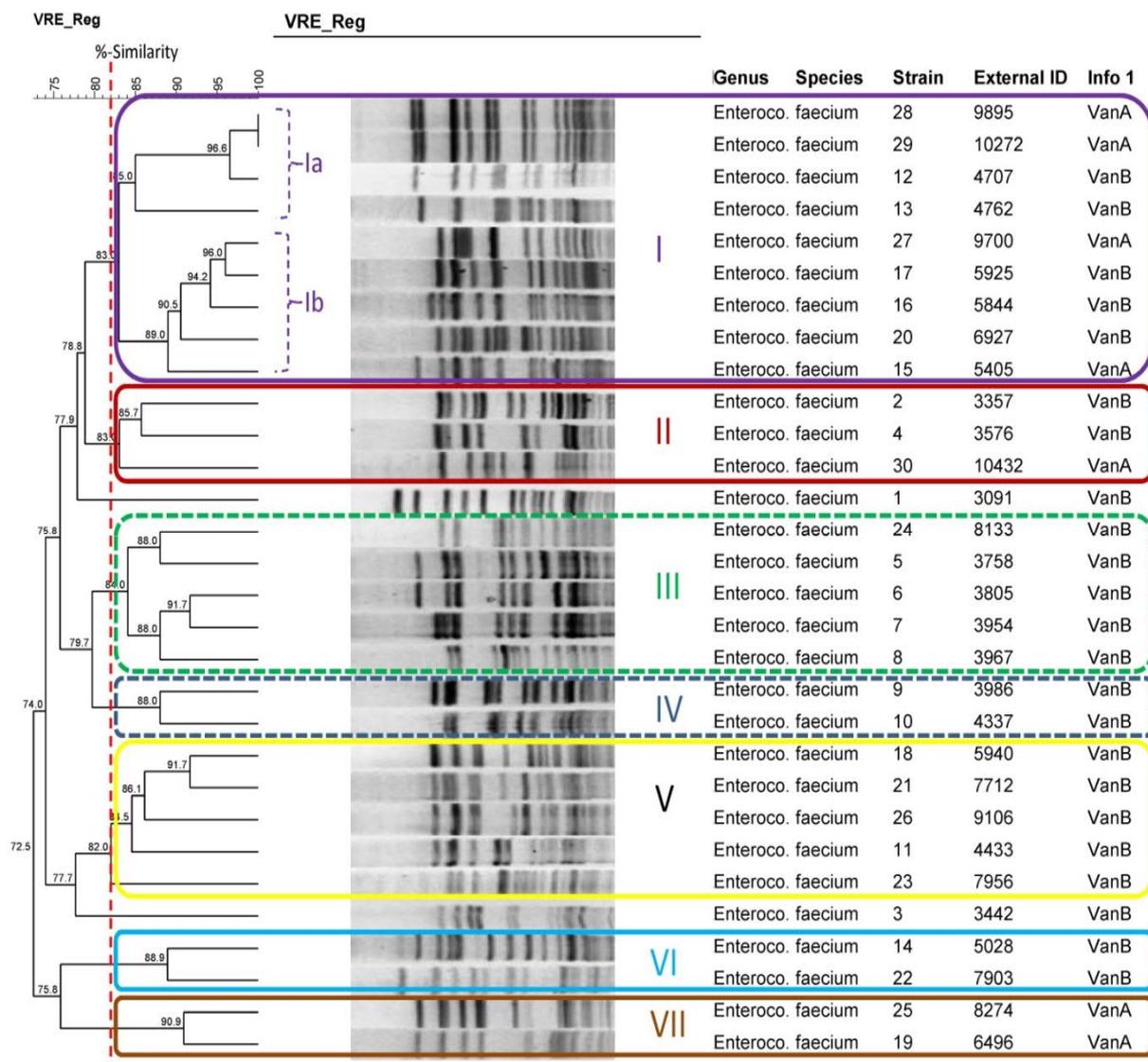


Abbildung 40: Einteilung der 30 mittels PFGE eingeteilten Proben in Cluster.

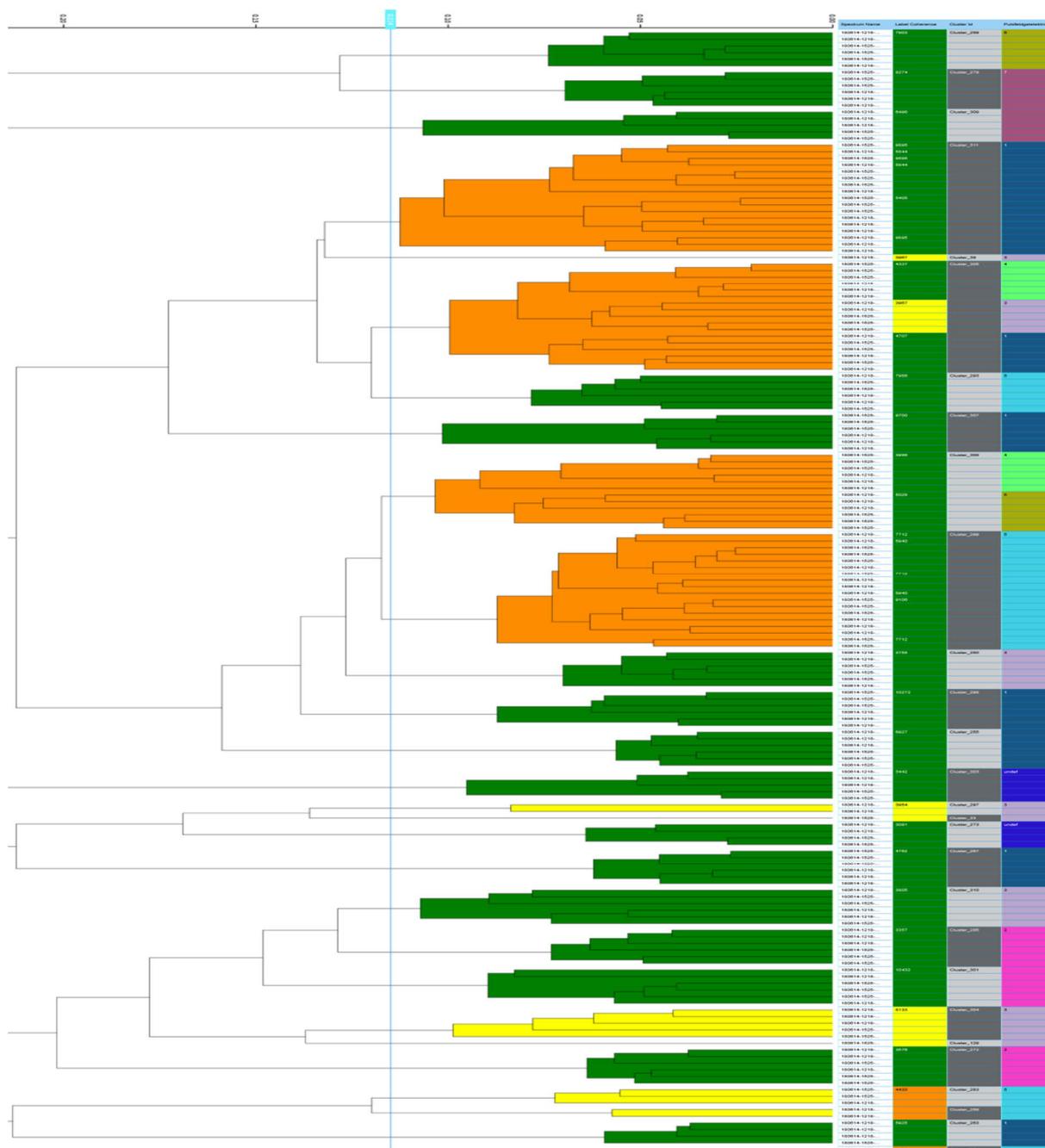


Abbildung 41: Vergleich des Biotypers mit der Pulsfeldgelelektrophorese.

Die Cluster der Gelelektrophorese und des Biotypers konnten nicht miteinander in Einklang gebracht werden. Auch wenn viele PFGE-Proben desselben Clusters durch den Biotyper in ähnliche Bereiche eingeordnet wurden, gab es ebenso etliche, wie die PFGE-Cluster eins und drei, deren Isolate durch den IR-Biotyper sehr weit voneinander entfernt dargestellt wurden.

3.5.3 Whole-Genome-Sequencing (WGS)

Die WGS Daten wurden mittels eines 3D-Stammbaums dargestellt. Anhand dessen wurden vier Cluster mit relativ nahen miteinander verwandten *E. faecium*-Stämmen erstellt.

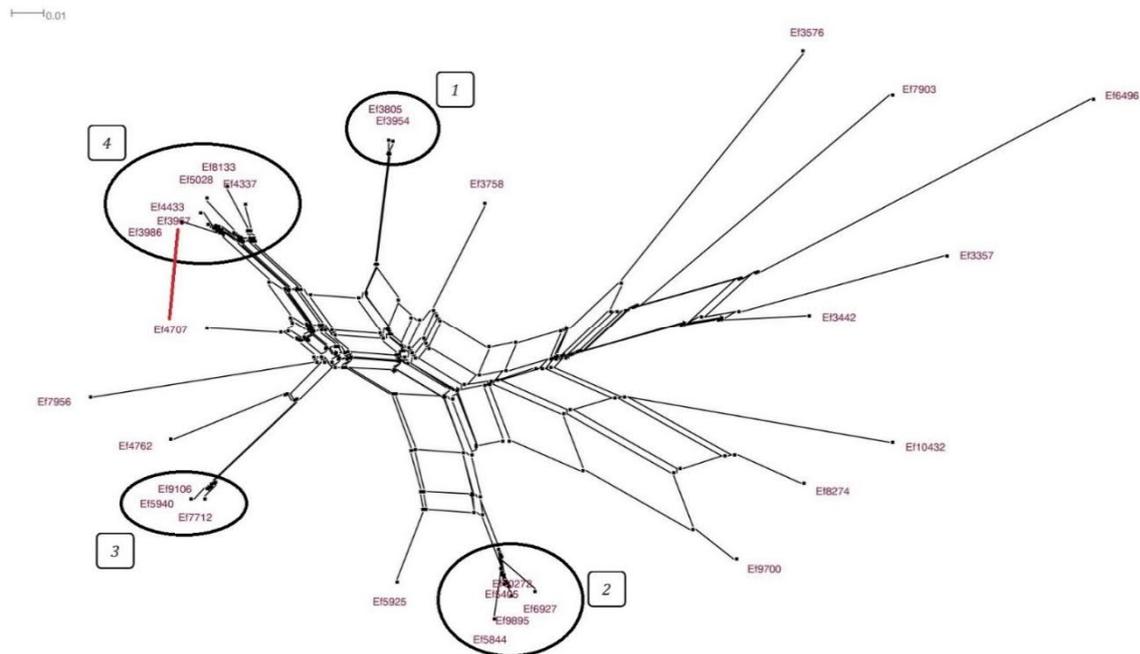


Abbildung 42: 3D-Stammbaum der WGS Daten.

Von den 30 zur Verfügung stehenden Isolaten wurde anschließend eine Auswahl von zwölf Proben einer näheren WGS-Analyse unterzogen. Bei der Analyse des Core-Genoms konnten etwa zwei Drittel der Targets verwendet werden. Es wurde hierbei auch die Zahl an Abweichungen in den Genen der am nächsten miteinander verwandten Proben ermittelt.

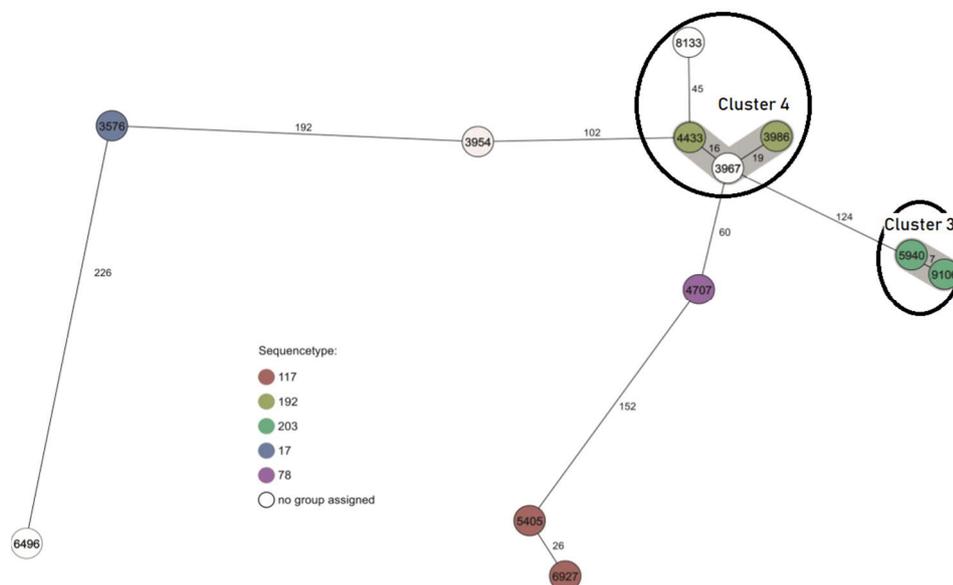


Abbildung 43: Analyse der Core-Genome.

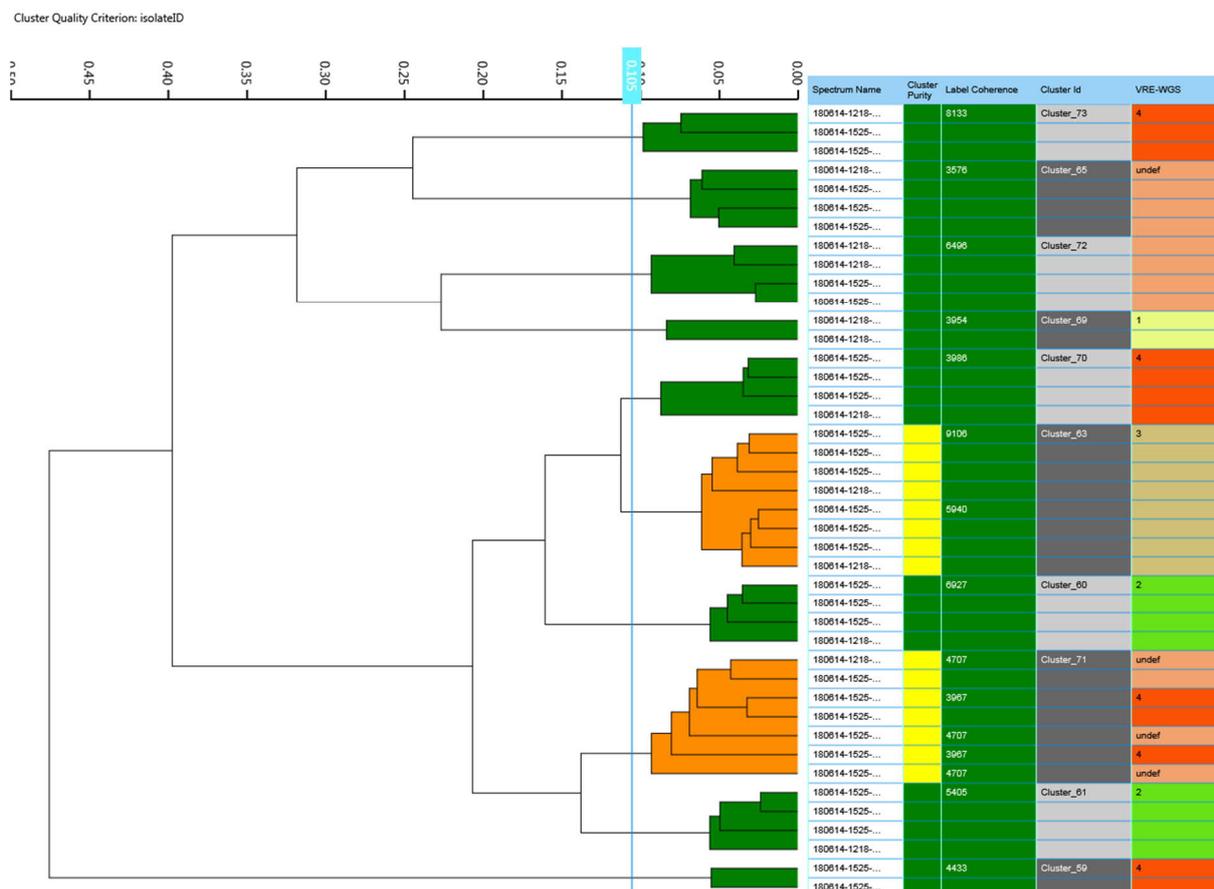


Abbildung 44: Whole-Genom-Daten der Stichprobe.

Der IR-Biotyper trennte die Isolate des vierten WGS-Clusters in verschiedene Cluster auf, deren Proben allerdings bereits in der WGS-Analyse mit 16 bis 45 Abweichungen relativ weit voneinander entfernt lagen. Die beiden sehr viel näher aneinander gelegenen Isolate 5940 und 9106 klassifizierte der Biotyper genau wie das WGS in denselben Cluster ein. Insgesamt zeigte sich bei der Verwandtschaftsanalyse mittels IR-Biotyper eine gewisse Abhängigkeit von den Core-Genom-Daten. So waren für den Biotyper etwa die Isolate 5940 und 9106 oder die Isolate 3967 und 4707 relativ ähnlich. Dies entsprach zwar nicht ganz den WGS-Entfernungsdaten, der Biotyper grenzte diese Isolate aber recht deutlich von den laut WGS weiter entfernten Proben (wie etwa 6496, 3576 oder 3954) ab. Im Gegensatz dazu gab es aber auch Beispiele, bei denen laut WGS nahe miteinander verwandte Isolate durch den Biotyper relativ weit voneinander entfernt eingeordnet wurden.

3.6 Test zur Kostenreduktion

Wie bereits unter 2.3.5 beschrieben, waren für die Messung der Proben Bruker-Biotyper-Kits notwendig, die für den Großteil der Kosten des Verfahrens verantwortlich waren. Im Kostenreduktionsversuch wurden aus diesem Grund dieselben 30 bereits in der Validierung verwendeten Proben nun aber mit selbst hergestellten Teststandards und einfachen autoklavierten Eppendorf Cups gemessen. Nach zweimaliger Messung der Proben wurden die Ergebnisse mit denen der Validierung verglichen. Für alle Auswertungen kam der gleiche, auch bei der Validierung verwendete Cut-Off-Wert von 0,188 zum Einsatz.

Tabelle 18: Mess- und Auswertungsfehler des Kostenreduktionsversuchs.

Nr.	Fehler		Nr.	Fehler	
	Messung	Auswertung		Messung	Auswertung
3091	2	0	5925	2	0
3357	0	0	5940	0	0
3442	1	0	6496	1	0
3576	0	0	6927	0	0
3758	0	0	7712	0	0
3805	0	0	7903	0	0
3954	3	0	7956	0	0
3967	0	0	8133	0	0
3986	0	0	8274	0	0
4337	0	0	9106	0	0
4433	0	1	9700	0	0
4707	0	0	9895	1	0
4762	0	0	10272	0	0
5028	0	0	10432	0	0
5405	0	0	Gesamt	10	1
5844	0	0			

In Tabelle 18 sind die Ergebnisse der Messung und Auswertung des Kostenreduktionsversuchs dargestellt. Von den 180 Messpunkten der beiden Messungen des Versuchs waren 170 erfolgreich, was einer Erfolgsquote von 94,4% (SD 12,6%) entspricht.

Bei der Auswertung der Isolate gab es nur einen einzigen Ausreißer der Probe 4433, alle anderen 169 (99,4% SD 3,0%) Messpunkte fügten sich sofort und sauber in ihre Cluster.

Tabelle 19: Vergleich der Ergebnisse des Kostenreduktionsversuchs mit denen der Validierung.

Kostenreduktion		Validierung	
Messung	Auswertung	Messung	Auswertung
94,4% (SD 12,6%)	99,4% (SD 3,0%)	77,1% (SD 12,86%)	92,8% (SD 7,6%)

In Tabelle 19 wird der Kostenreduktionsversuch mit der Validierung bezüglich der Messqualität und Auswertungsgenauigkeit verglichen. In diesem Vergleich wurde deutlich, dass die Messungen mit dem kostensparenden Ansatz die der Validierung in Sachen Messbarkeit um 18,3 % und Genauigkeit der Clustereinteilung um 6,6 % übertrafen.

Die Proben des Kostenreduktionsversuchs wurden zusätzlich mit denen der zehn Validierungsmessungen zusammengeführt und gemeinsam ausgewertet. Damit sollte die Frage geklärt werden, ob es zu einem Unterschied der Clustereinteilung aufgrund des veränderten Teststandards gekommen war.

Tabelle 20: Ausbeute der Messungen und Fehler bei der Clustereinordnung in den Validierungsmessungen inklusive des Kostenreduktionsversuchs.

Nr.	Fehler		Nr.	Fehler	
	Messung	Auswertung		Messung	Auswertung
3091	11	1	5925	13	0
3357	4	0	5940	4	3
3442	8	6	6496	9	0
3576	8	3	6927	9	1
3758	15	1	7712	8	1
3805	9	3	7903	3	0
3954	13	5	7956	9	1
3967	7	0	8133	0	3
3986	7	7	8274	9	1
4337	1	4	9106	3	0
4433	4	1	9700	10	2
4707	11	2	9895	10	3
4762	1	2	10272	2	2
5028	4	1	10432	1	1
5405	11	0	Gesamt	102	55
5844	12	1			

Von den 1080 Messpunkten des Versuchs führten 216 (20%) zu keinem Ergebnis, dies entsprach einer Erfolgsquote von rund 80% (SD 11,5%). Von allen messbaren Werten mussten dann nochmals 55 (6,4% SD 6,5%) entfernt werden, da diese sich in falschen Clustern einordneten. Der durchschnittliche Fehler der Clustereinteilung entsprach somit 6,4%.

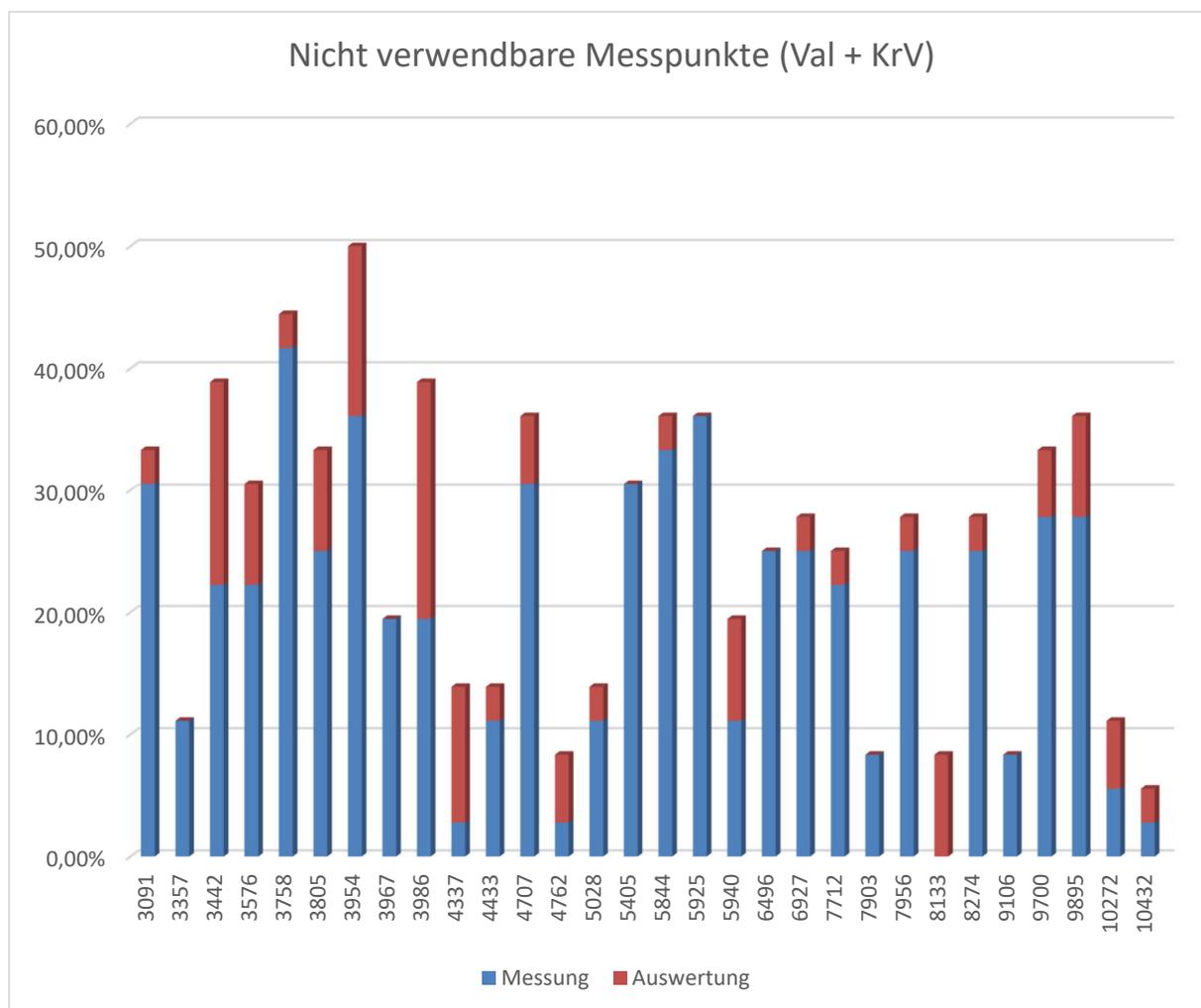


Abbildung 45: Nicht verwendbare Messpunkte des Validierungs- (Val) und Kostenreduktionsversuchs (KrV).

Wie aus der Abbildung 45 entnommen werden kann, lag die Anzahl an nicht messbaren Punkten zwischen null und 15 (41,7%), die Fehler des IR-Biotypers bei der Einordnung in die Cluster zwischen null und sieben (19,4%). Durchschnittlich konnten 25,1% (SD 12,4%) aller Messpunkte wegen Mess- oder Auswertungsfehler nicht für eine Clustereinordnung verwendet werden.

Tabelle 21: Vergleich der Ergebnisse der Validierung inklusive und exklusive des kostensparenden Versuchs.

Kostenreduktion/Val		Validierung	
Messung	Auswertung	Messung	Auswertung
80,0% ($\pm 2,1\%$)	93,6% ($\pm 1,2\%$)	77,1% ($\pm 2,3\%$)	92,8% ($\pm 1,4\%$)

Der aus Validierung und kostensparend gemessenen Proben bestehende Versuch schnitt im Vergleich zu der Validierung allein minimal besser ab. Es konnten 3,6% mehr Messpunkte erfolgreich gemessen werden und es mussten 0,9% weniger Splitter entfernt werden. Eine Verschlechterung der Ergebnisse durch die Einsparung der Biotyper-Kits konnte somit nicht festgestellt werden. Die Kosten je Typisierung lagen ohne die relativ teuren Biotyper-Kits unter einem Euro.

3.7 Statistische Daten

Die durch die Statistik gewonnenen Daten über die VRE-positiven Patienten wurden sowohl für die Gesamtheit aller Stationen als auch für jede einzelne Station, auf der es mögliche Übertragungen gegeben hatte, ausgewertet.

Mögliche Übertragungen wurden angenommen wenn zwei VRE-positive Patienten, deren Enterokokken sich im selben Cluster befanden und die sich auf derselben Station zur selben Zeit aufhielten, vorlagen. Die zeitliche Begrenzung einer direkten Übertragung wurde hierbei auf 24 Stunden eingegrenzt. Des Weiteren durften nur Patienten, die auf der untersuchten Station einen nosokomialen Erstdnachweis von VRE vorzuweisen hatten als Empfänger einer möglichen Übertragung gewertet werden. Als Überträger kamen alle bekannten positiven VRE-Patienten in Frage.

3.7.1 Gesamtheit aller Stationen

Zuerst wurde die Gesamtheit aller Stationen betrachtet, später erfolgte eine genauere Kontrolle der einzelnen Stationen. Mehrere Werte der Station 70 wurden mit NN (Nicht nachweisbar / vorhanden) abgekürzt, da in der Station, die der Notaufnahme unterstand, keine Gesamtpatiententage zur Verfügung standen.

Insgesamt verfügten alle Stationen gemeinsam über 235.073 Patiententage, davon gehörten 8.551 Tage Patienten, die nachweislich mit Vancomycin-resistenten Enterokokken kolonisiert waren. Die mittlere tägliche VRE-Last lag somit bei 3,75% (SD 4,9%). Die durchschnittliche Zahl an VRE-Tagen pro Fall lag bei 9,81 (SD 7,1), und im Untersuchungszeitraum konnten für die 272 VRE-positiven Patienten insgesamt 824 stationäre Aufenthalte im UKR gezählt werden. Die Inzidenzdichte für alle Stationen betrug 3,95 (SD 6,3) VRE-Fälle pro 1000 Patiententage. Zusätzlich wurden im Untersuchungszeitraum 63 mögliche Übertragungen gezählt.

Tabelle 22: Statistische Daten aller untersuchten Stationen.

St.	Pat. Tage	Tage	Fälle	Patienten	Mögliche Übertragungen	Mittlere tägliche VRE Last	Mittlere VRE Tage pro Fall	Inzidenzdichte VRE Tage
11	8099	32	4	4	0	0,4	8	0,49
12	5551	7	1	1	0	0,13	7	0,18
13	1378	9	5	4	0	0,65	1,8	3,63
14	9163	761	83	50	2	8,31	9,17	9,06
15	9283	958	103	53	5	10,32	9,3	11,1
17	8465	665	51	36	13	7,86	13,04	6,02
18	9403	106	9	8	1	1,13	11,78	0,96
19	8877	67	10	8	0	0,75	6,7	1,13
20	8438	1087	82	42	2	12,88	13,26	9,72
21	7077	661	35	22	4	9,34	18,89	4,95
22	71	13	2	1	0	18,31	6,5	28,17
46	7260	191	16	8	0	2,63	11,94	2,2
47	8533	20	4	3	0	0,23	5	0,47
48	7933	314	19	11	0	3,96	16,53	2,4
49	7980	4	2	1	0	0,05	2	0,25
50	8053	9	3	3	0	0,11	3	0,37
51	6683	90	5	2	0	1,35	18	0,75
52	5952	20	4	4	0	0,34	5	0,67
53	8615	3	1	1	0	0,03	3	0,12
54	8569	185	13	8	0	2,16	14,23	1,52
55	8625	73	5	5	0	0,85	14,6	0,58
56	7540	447	42	21	3	5,93	10,64	5,57
57	7065	484	35	24	7	6,85	13,83	4,95
58	7963	54	5	4	0	0,68	10,8	0,63
59	7106	91	7	5	0	1,28	13	0,99
60	5870	165	14	12	0	2,81	11,79	2,39
61	8835	133	27	13	0	1,51	4,93	3,06
70	NN	58	28	18	0	NN	2,07	NN
81	1513	1	1	1	0	0,07	1	0,66
82	1451	0	0	0	0	0	0	0
83	2956	40	1	1	0	1,35	40	0,34
84	4703	64	10	3	0	1,36	6,4	2,13
90	8838	436	41	28	2	4,93	10,63	4,64
91	3409	85	7	6	1	2,49	12,14	2,05
92	4199	797	106	65	10	18,98	7,52	25,24
93	4982	253	24	24	9	5,08	10,54	4,82
97	4635	168	19	15	4	3,62	8,84	4,1
Gesamt	235073	8551	824	272	63	138,73	362,87	146,31
Durchschnitt	6353,32	231,11	22,27	7,35	1,70	3,75	9,81	3,95
Standard Abweichung	2590,3	298,4	28,7	16,4	3,21	4,9	7,1	6,3

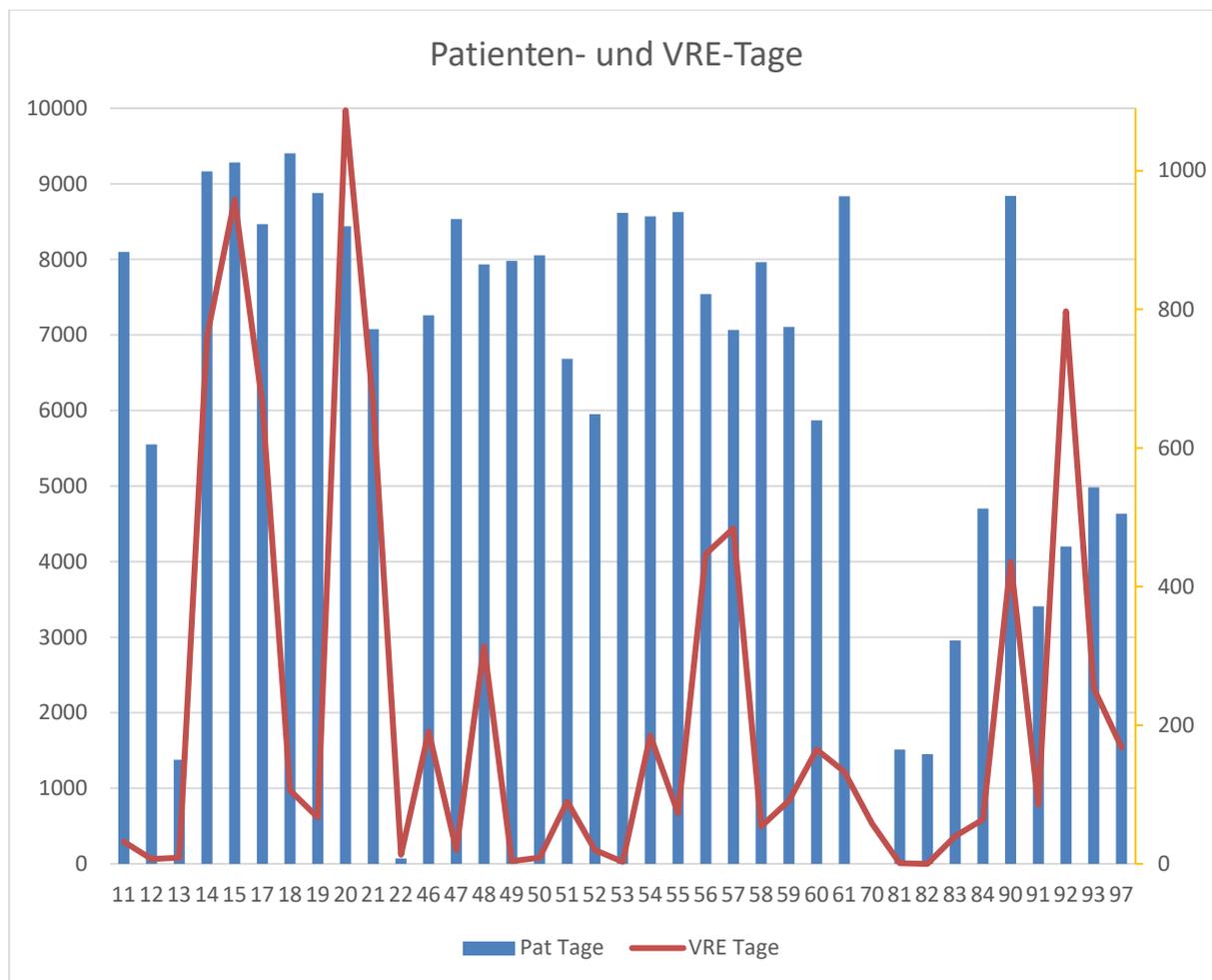


Abbildung 46: Patienten- und VRE-Tage abhängig von den Stationen.

In Abbildung 46 sind die Patiententage pro Station aufgeführt. Der Durchschnitt lag bei 6353 (SD 2590). Bei den Patiententagen gab es aber große Unterschiede zwischen den Stationen. Die kleinen Stationen 22, 13, 70, 81 und 82 besaßen alle weniger als 1800 Tage, während die Station mit den meisten Belegungstagen (Station 18) dagegen mit 9403 Tagen über den fünffachen Wert verfügte.

Ebenfalls zu erkennen ist die Linie der VRE-Tage, deren Größentabelle auf der rechten Achse zu finden ist. Durchschnittlich wies jede Station 231 (SD 298) VRE-Tage im untersuchten Zeitraum von zwölf Monaten auf. Vor allem die Stationen 15 (n=958), 20 (n=1087) und 92 (n=797) stachen hierbei durch sehr hohe Zahlen hervor.

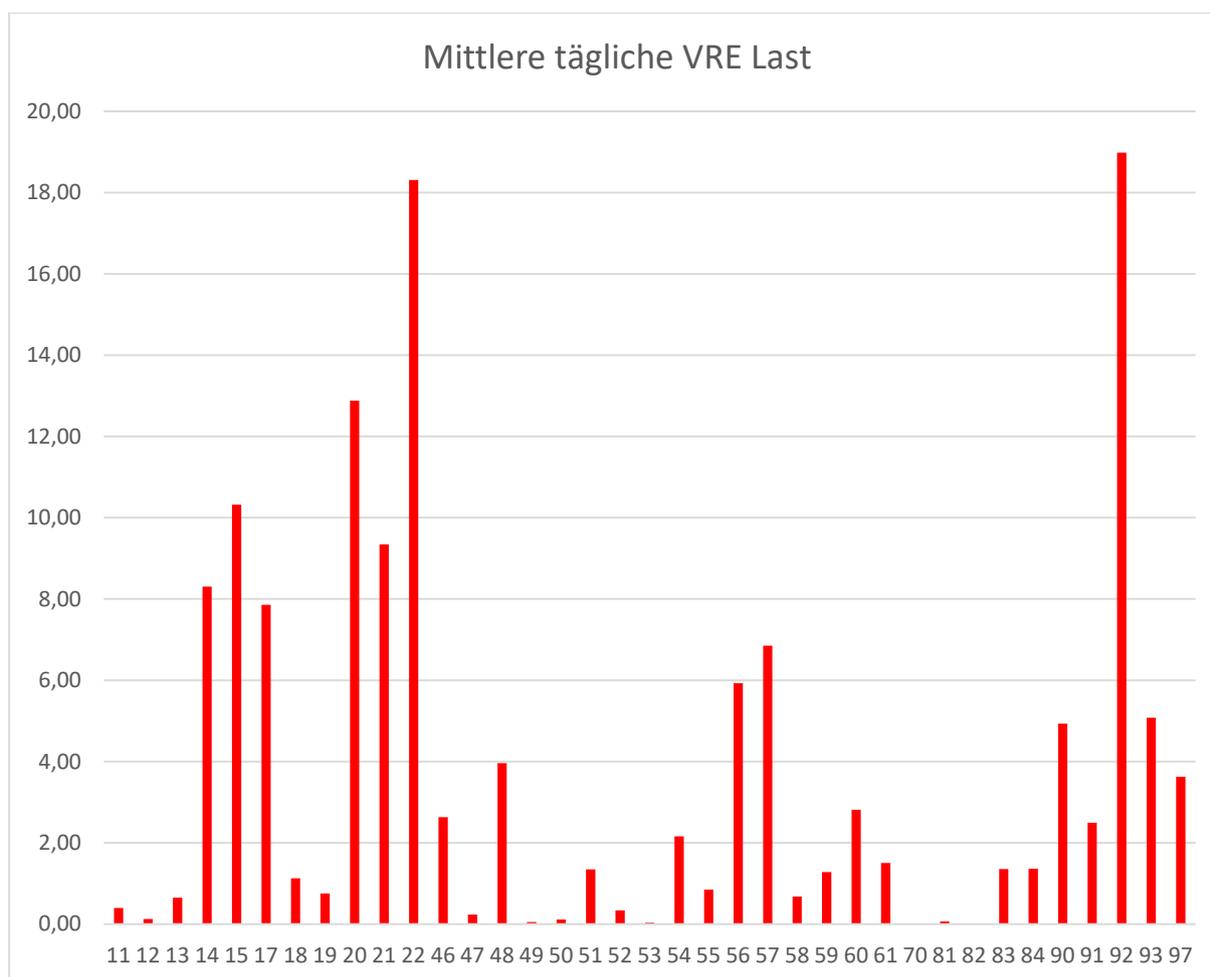


Abbildung 47: Mittlere tägliche VRE-Last der einzelnen Stationen in Prozent.

Die mittlere tägliche VRE-Last, die in Abbildung 47 zu finden ist, bestätigte die erhöhte VRE-Belastung der drei Stationen. In Station 15 waren 10,3 % aller Patienten, die zur selben Zeit stationär aufgenommen waren VRE-positiv. In der Station 20 waren es 12,9 % und auf Station 92, der Intensivstation der Gastroenterologie sogar 19%. Die beiden anderen onkologischen Stationen 21 und 22, die aufgrund geringer Patientenzahlen in Abbildung 46 noch unscheinbar wirkten, befinden sich jetzt unter den fünf Stationen mit der höchsten VRE-Last. In der Grafik wird deutlich, dass vor allem Stationen der Gastroenterologie oder Onkologie über eine hohe VRE-Last verfügten.

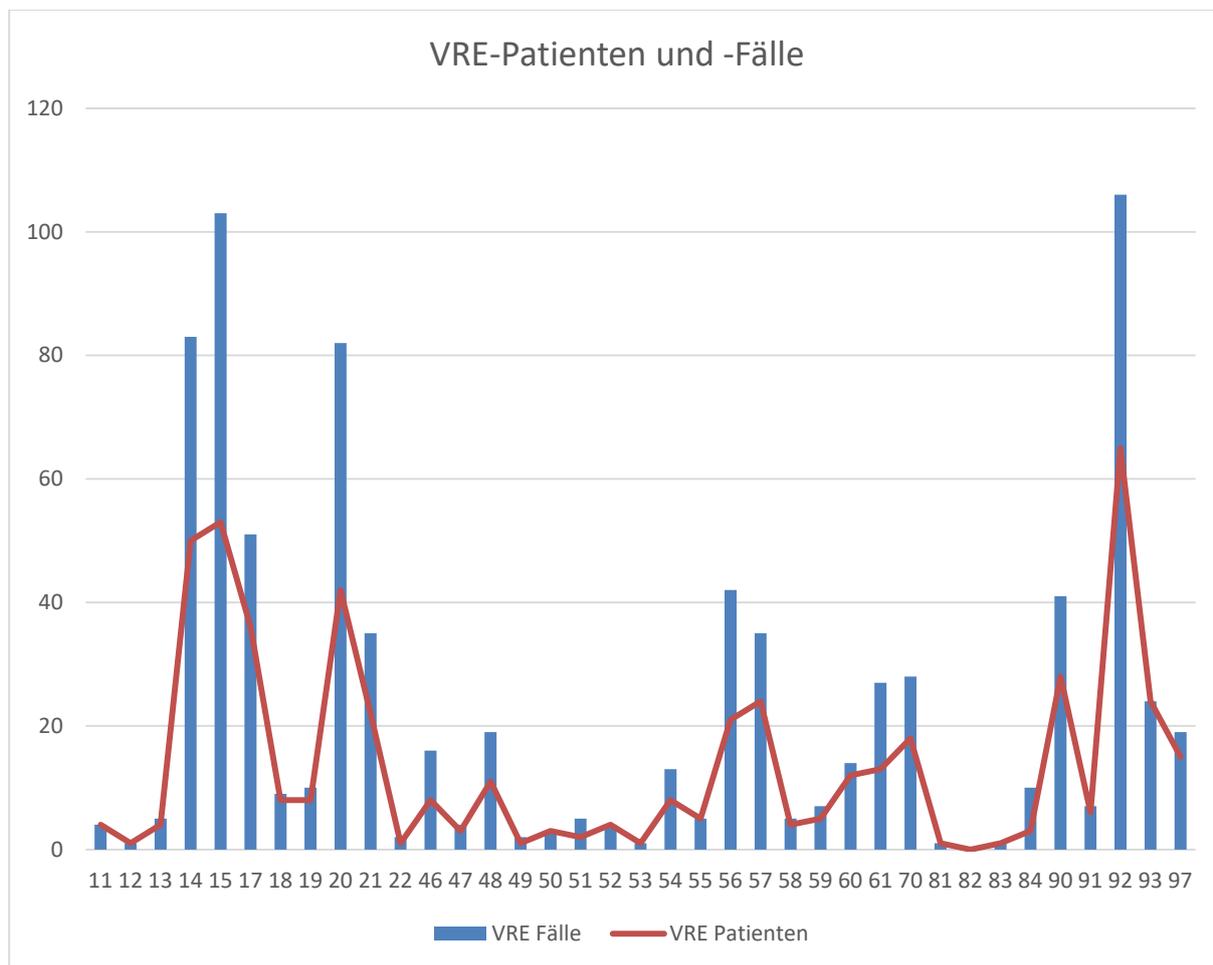


Abbildung 48: VRE-positive Patienten und Fälle.

Bei der Betrachtung der VRE-Fälle und -Patienten verbuchte jede Station in den untersuchten zwölf Monaten durchschnittlich 22 Fälle von sieben VRE-positiven Patienten. Die drei Stationen (15, 20, 92), die auch über die meisten VRE-Tage verfügten, fanden sich hier sowohl bei der Anzahl der Fälle als auch der Patienten erneut weit vorne. Vor allem die Stationen der Gastroenterologie (14, 15 und 92) verfügten über ein Patientengut, das eine große Anzahl stationärer Aufenthalte vorzuweisen hatte und führten aus diesem Grund, was die Fälle und Patientenzahl anging, deutlich.

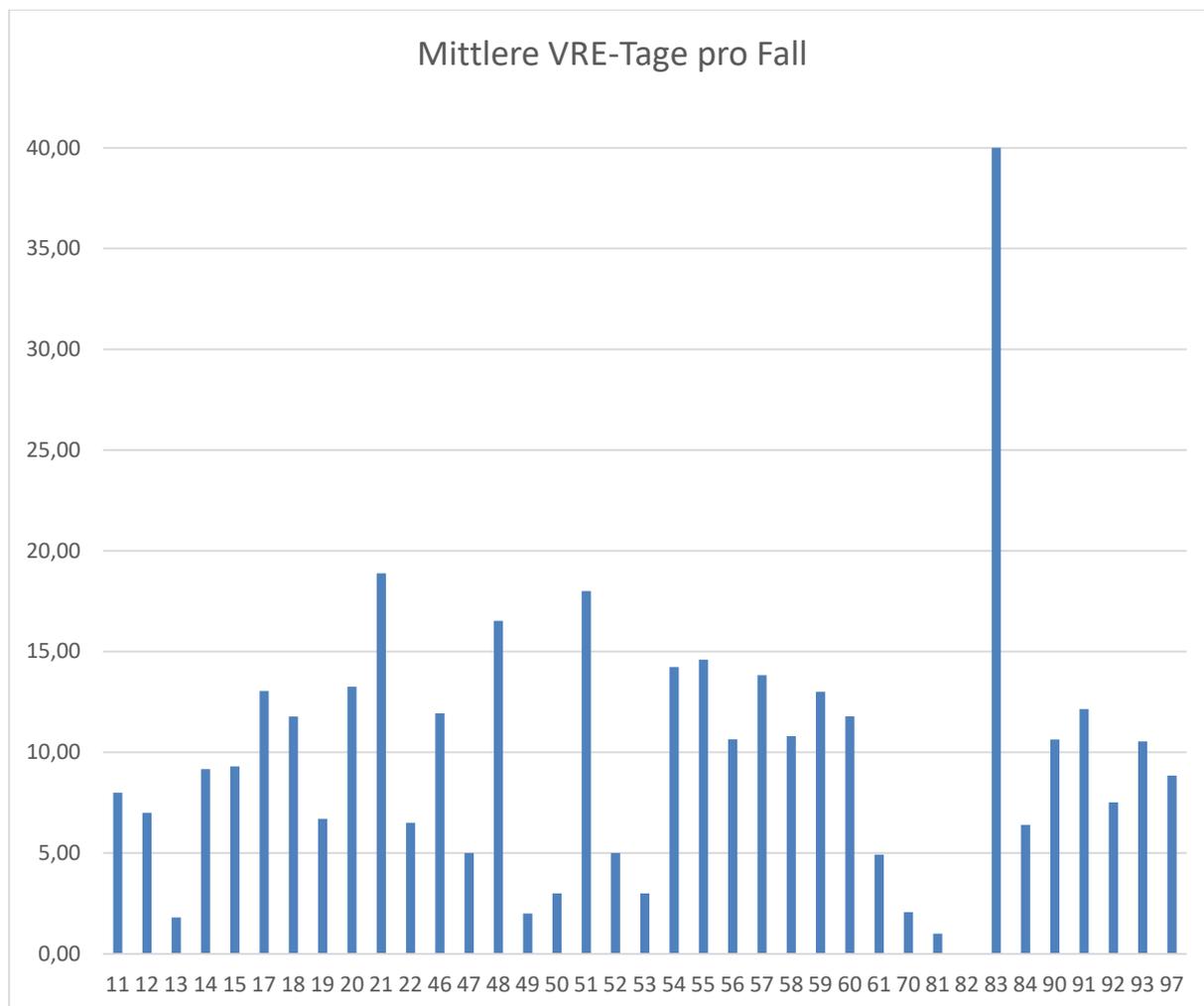


Abbildung 49: Mittlere VRE-Tage pro Fall.

Die mittlere Anzahl an VRE-Tagen pro Fall war ein Hinweis für die Länge der stationären Aufenthalte der Patienten. Den höchsten Wert mit 40 Tagen wies hier die onkologische Station der Kinderklinik des UKR (Station 83) auf. Da diese aber nur über einen einzigen registrierten VRE-Fall verfügte, war das Ergebnis nicht repräsentativ.

Stationen mit mehreren Fällen und langen Liegezeiten waren die 21 (18,9 Tage), 51 (18,0 Tage) und 48 (16,5 Tage). Die Stationen hatten weder einen medizinischen Zusammenhang noch gehörten sie derselben Klinik an.

Die Gastroenterologie mit den Stationen 14 (9,2 Tagen), 15 (9,3 Tagen) und 92 (7,5 Tagen) war bei der Dauer der Aufenthalte ihrer VRE-positiven Patienten im unteren Bereich angesiedelt, die Onkologie dagegen lag mit durchschnittlich 14,23 Tagen im Vergleich relativ weit oben.

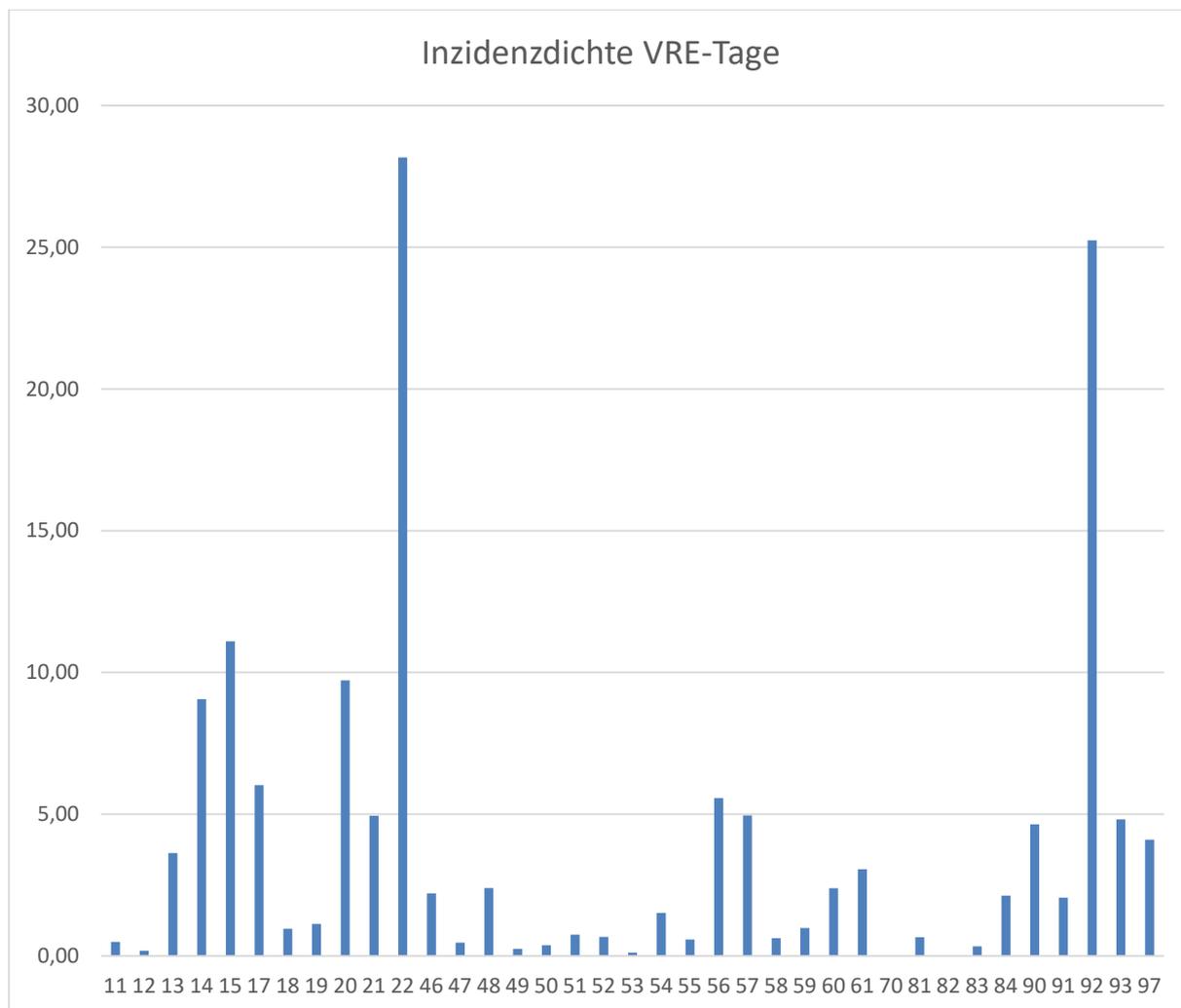


Abbildung 50: Anzahl VRE-Fälle pro 1000 Patiententage.

Die Anzahl an VRE-Fällen pro 1000 Patiententage ist in Abbildung 50 veranschaulicht. Im Durchschnitt lag sie bei 3,95 (SD 6,3) Fällen. Die Station 22 führte hier deutlich, war aber mit nur 71 Patiententagen und 2 VRE-Fällen nicht besonders aussagekräftig. Station 92, die im Gegensatz dazu über 4199 Patiententage verfügte, besaß ebenfalls einen sehr hohen Wert von 25 Fällen pro 1000 Tage und wies damit eine enorme VRE-Belastung auf.

Tabelle 23: Cluster aller Stationen.

Cluster	Tage	Fälle	Patienten	Mögliche Übertragungen
534	240	26	7	2
540	1665	150	41	15
549	286	36	12	1
557	52	7	1	0
627	64	8	2	0
693	73	3	1	0
707	65	5	2	0
711	146	13	4	1
715	11	2	1	0
740	26	3	1	0
742	25	1	1	0
753	124	5	1	0
755	109	11	3	0
788	161	25	6	0
791	6	1	1	0
793	215	21	5	0
803	151	23	3	0
805	12	1	1	0
809	14	1	1	0
854	22	1	1	0
886	8	1	1	0
891	74	5	2	0
912	55	9	2	0
926	3	1	1	0
939	12	1	1	0
948	2226	240	100	41
978	2	1	1	0
1027	26	3	1	0
1036	23	1	1	0
1059	212	22	9	2
1111	236	14	8	0
1186	6	1	1	0
487M	117	14	2	0
489M	39	2	1	0
491M	85	16	1	0
518M	733	52	13	1
L328	154	17	3	0
L482	110	6	2	0
L99	80	1	1	0
Gesamt	7668	750	249	63
Durchschnitt	196,62	19,23	6,38	1,62
Standard Abweichung	436,3	44,13	16,85	6,91

Die 249 Patienten, bei denen eine Clustereinteilung möglich war, wurden wie in Tabelle 23 ersichtlich in 39 verschiedene Cluster einsortiert. Die Patienten waren im untersuchten Zeitraum für 7668 VRE-Tage verantwortlich, die sich auf 750 Fälle verteilen.

Jedes Cluster verfügte dabei im Durchschnitt über 196,6 (SD 436,3) VRE-Tage, 19,2 (SD 44,1) VRE-Fälle und 6,4 (SD 16,9) VRE-positive Patienten. Außerdem hatte jedes Cluster im Mittel 1,62 (SD 6,91) mögliche Übertragungen zu verzeichnen.

Da es aber wenige sehr große und viele kleine Cluster gab, waren die Mittelwerte nicht besonders aussagekräftig und die Standardabweichungen relativ groß.

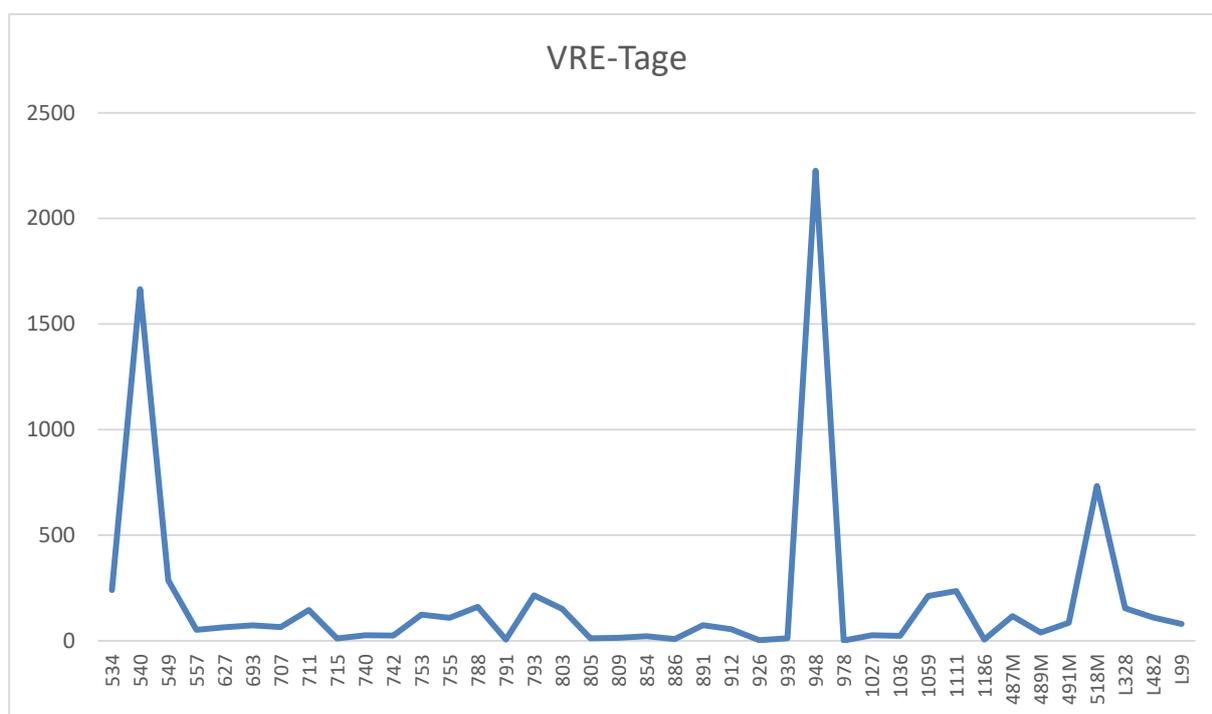


Abbildung 51: VRE-Tage je Cluster.

Die meisten VRE-Tage verursachten Enterokokken der Cluster 540 (21,7%), 948 (29%) und 518M (9,6%). Die überwiegende Mehrzahl der anderen Cluster (59,0%) überschreitet dagegen die Grenze von 100 VRE-Tagen nicht.

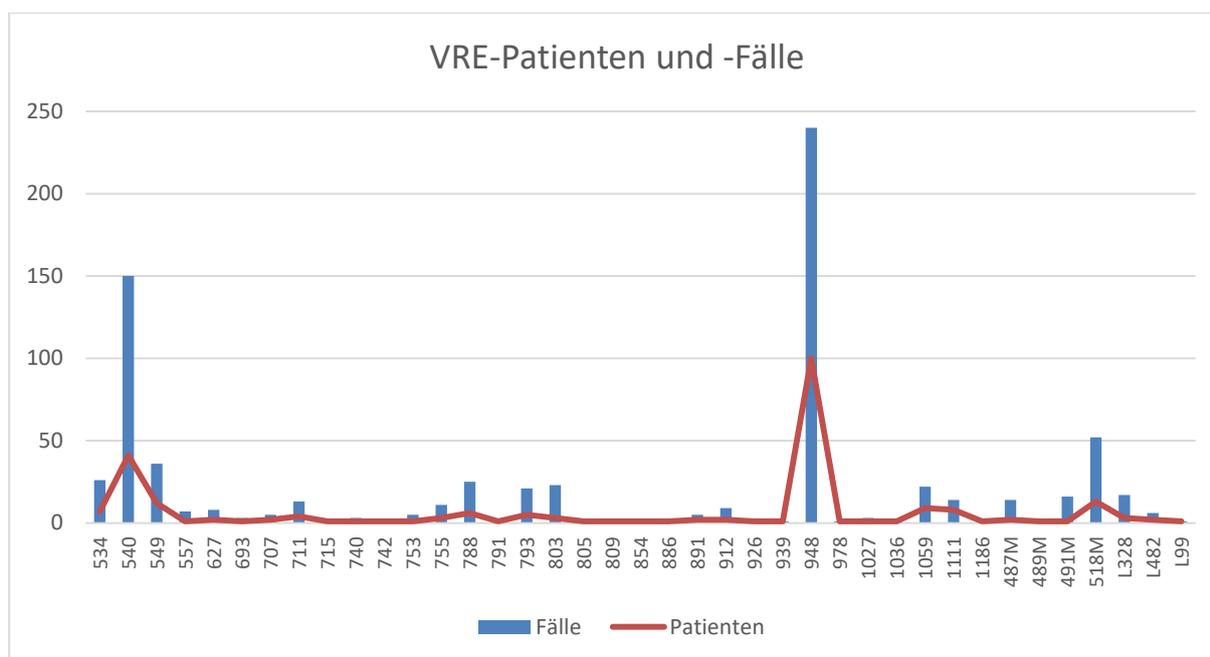


Abbildung 52: VRE-Patient und -Fälle der verschiedenen Cluster.

Das in Abbildung 51 gezeichnete Bild der drei dominierenden Cluster wiederholt sich auch in Abbildung 52, in der die VRE-Fälle und Patienten dargestellt werden. Die Cluster 540 mit 20,0% und 16,5%, 948 mit 32,0% und 40,1% sowie der Cluster 518M mit 6,9% aller Fälle und 5,2% aller Patienten dominierten hier das Gesamtbild.

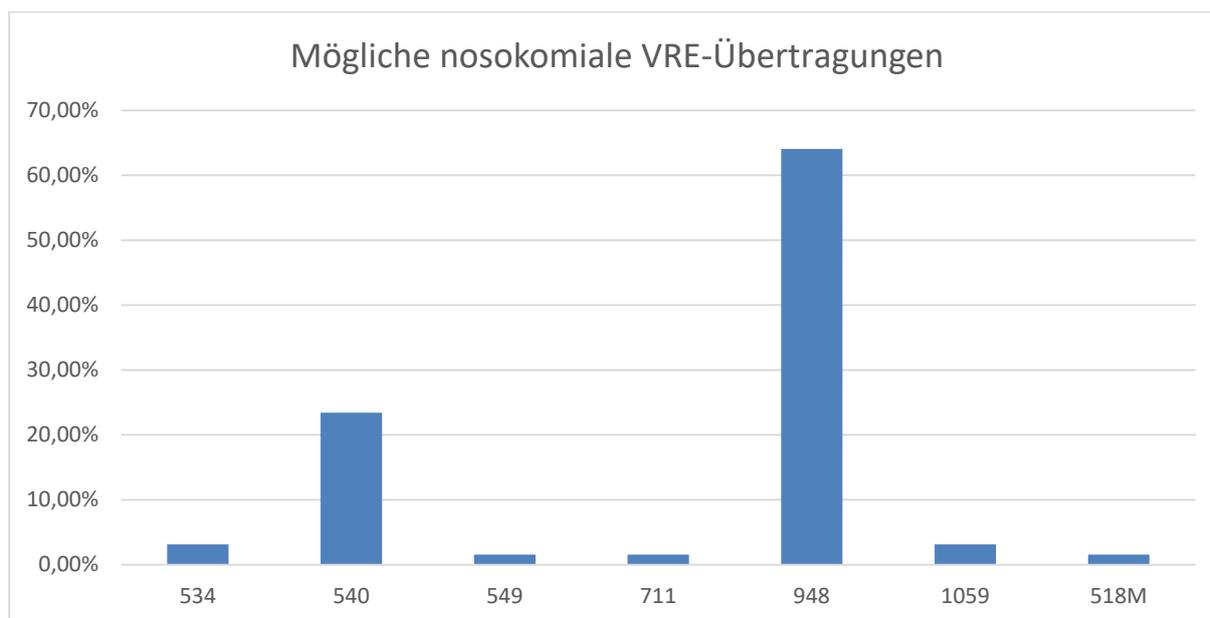


Abbildung 53: Mögliche nosokomiale Übertragungen je Cluster.

Der Trend setzte sich auch in Abbildung 53 teilweise weiter fort. Hier dominierten die beiden Cluster 540 (23,4%) und 948 (64,1%) bei der Anzahl an möglichen Übertragungen sogar noch deutlicher. Nach den beiden großen Clustern

unterschieden sich die nächstgrößeren mit je nur zwei angenommenen Übertragungen binnen zwölf Monaten in allen 37 untersuchten Stationen kaum noch voneinander. Ihre Zahlen an möglichen Übertragungen standen auch in keinem Vergleich mehr zu denen der großen Cluster. Der Cluster 518M verfügte hier sogar nur über eine einzige potenzielle Übertragung und war damit in diesem Vergleich eines der Schlusslichter.

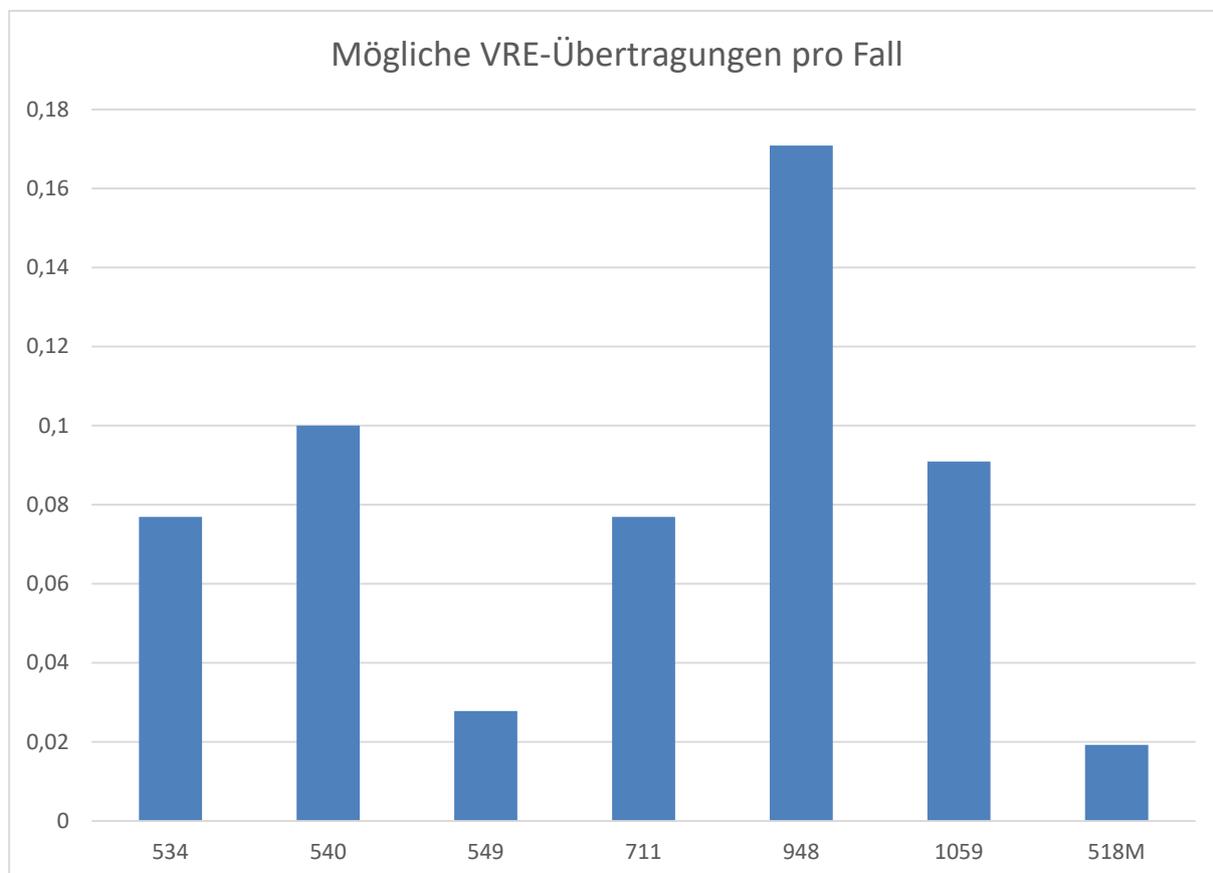


Abbildung 54: Mögliche VRE-Übertragungen der Cluster pro Fall.

Bei einer Betrachtung der möglichen VRE-Übertragungen pro Fall zeigte sich, dass auch hier der Cluster 948 weit vorne lag, gefolgt von den Clustern 540 und 1059. Cluster 948 hatten also nicht nur die meisten möglichen Übertragungen wegen seiner hohen Patientenzahl, sondern auch wegen einer hohen relativen Übertragungswahrscheinlichkeit.

Die möglichen Übertragungen wurden zusätzlich auch auf die einzelnen Stationen aufgeschlüsselt, um vorherrschende Muster erkennen zu können.

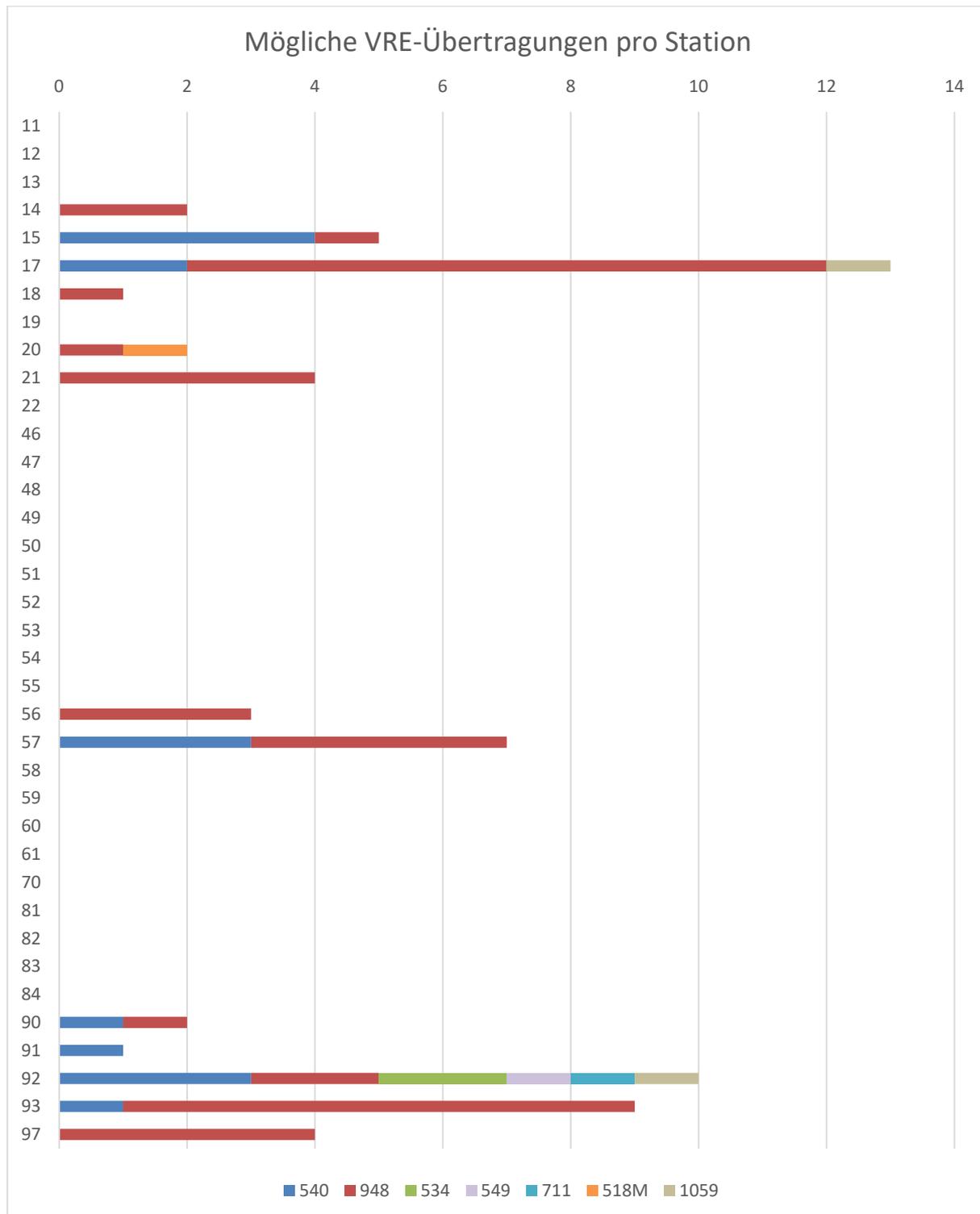


Abbildung 55: Mögliche VRE-Übertragungen nach Clustern pro Station.

Auffällig war hierbei, dass alle wahrscheinlichen Übertragungen von VRE-Stämmen verursacht wurden, die einem der sieben in Abbildung 55 dargestellten Clustern angehörten. Für die Bakterien der anderen 32 Cluster konnte im selben Zeitraum keine einzige potenzielle Übertragung detektiert werden.

Die Station der Nephrologie (17) war hierbei mit knapp 20% aller potenziellen Übertragungen weit führend, aber auch die Intensivstationen 92 (15,9%) und 93 (14,3%) besaßen hohe Zahlen an wahrscheinlichen Übertragungen. Auch die Menge an möglichen Übertragungen in den beiden Normalstationen der Chirurgie (Station 56 und 57), Gastroenterologie (Station 14 und 15) und Onkologie (Station 20 und 21) war im Vergleich zur Gesamtheit erhöht.

Eine Besonderheit war, dass die Station 17 der Nephrologie, wie bereits gezeigt, die meisten möglichen Übertragungen zu verzeichnen hatte, obwohl sie sich sowohl bei den VRE-Tagen als auch bei den VRE-Fällen eher im Mittelfeld befand. Interessant war hierbei auch, dass die möglichen Übertragungen der Nephrologie zu 76,9 % von Bakterien aus nur einem Cluster (948) stammten.

Neben der Station 17 stammten auch auf den meisten anderen Stationen fast alle möglichen Übertragungen von Erregern aus nur einem Cluster. Nur auf vier Stationen war dies nicht der Fall. Auf der Station 90 und 57 teilten sich dabei die möglichen Übertragungen etwa hälftig auf die Cluster 540 und 948 auf. In der größten Onkologischen Station 20 waren Enterokokken der Beiden Cluster 948 und 518M je hälftig für die beiden potentiellen Übertragungen verantwortlich und in der gastroenterologischen Intensivstation gab es sogar möglichen Übertragungen von VRE-Stämmen aus sechs verschiedenen Clustern, von denen auch keiner klar dominierte. Bis auf die vier eben genannten Stationen, von denen zwei aufgrund ihrer geringen Anzahl an potenziellen Übertragungen nicht aussagekräftig waren, hatten alle anderen Stationen ein präferiertes Cluster, aus dem fast alle potenziellen Übertragungen von Vancomycin-resistenten Enterokokken stammten. In 61,5% aller Stationen war dies der Cluster 948, in 15,4% aller Stationen der Cluster 540 und in 23,0% konnte ein klar führendes Cluster nicht bestimmt werden.

An dieser Stelle sollte allerdings darauf hingewiesen werden, dass die beiden in dieser Analyse dominierenden Cluster 948 und 540 für etwa 88,90% aller möglichen Übertragungen verantwortlich waren, womit diese Dominanz zum Teil erklärt werden könnte.

3.7.2 Stationen

Alle Stationen, auf denen es mögliche Übertragungen gegeben hatte, wurden jeweils einzeln betrachtet und mit dem Durchschnitt der Gesamtheit aller Stationen verglichen. Des Weiteren erfolgte die Bestimmung der Anzahl und zeitlichen Verteilung der möglichen Übertragungen.

Die taggenaue Darstellung wurde nur für Cluster beigefügt, auf denen es die Möglichkeit einer Übertragung gegeben hatte. In den Abbildungen entspricht je eine Zeile einem Patienten, in grün sind Zeiten ohne bekannten VRE-Befund, in rot bekannte VRE-positive Zeiten eingezeichnet. Stationsaufenthalte, in denen der Patient weder VRE-positiv war, noch geworden ist, wurden aus Übersichtsgründen ausgeblendet.

Es erfolgte zudem eine Markierung aller Patienten, die auf der jeweiligen Station zum ersten Mal VRE-positiv getestet wurden. Hellblau steht hierbei für einen mitgebrachten Keim, dunkelgrau für einen nosokomial und hellgrün für einen durch Eingangsscreening detektierten Erreger.

In der Auswertung fielen vor allem Stationen der Gastroenterologie und Onkologie aufgrund ihrer hohen VRE-Belastung auf. Da deren Patienten sehr häufig die Stationen innerhalb dieser Kliniken wechselten, wurden diese beiden Fachgebiete noch einmal gesondert betrachtet.

Aus datenschutzrechtlichen Gründen mussten in den taggenauen Darstellungen die Datumsangaben entfernt werden. Zur besseren Einordnung sei aus diesem Grund hier angemerkt, dass jeder Tag durch eine senkrechte Spalte dargestellt wird. Montage wurden darüber hinaus zur besseren Lesbarkeit in den Tabellen verbreitert. Dieses Schema wurde in Abbildung 56 exemplarisch anhand der Station 91 veranschaulicht.

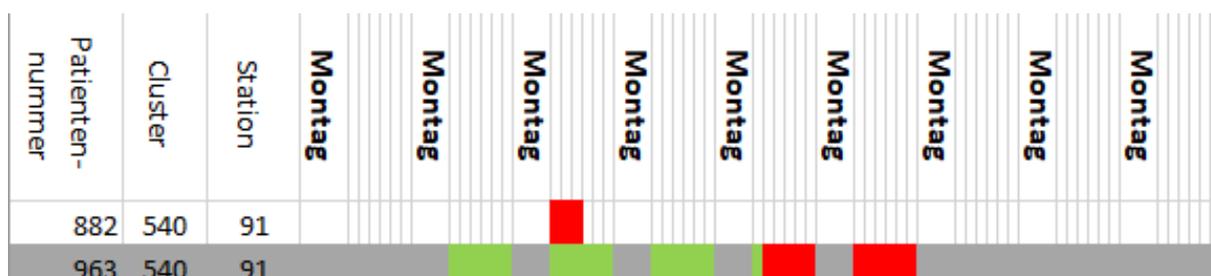


Abbildung 56: Exemplarische Darstellung der weiter unten folgenden taggenauen Darstellungen anhand Station 91.

3.7.3 Station 14

Die Station war eine von zwei Normalstationen der Gastroenterologie.

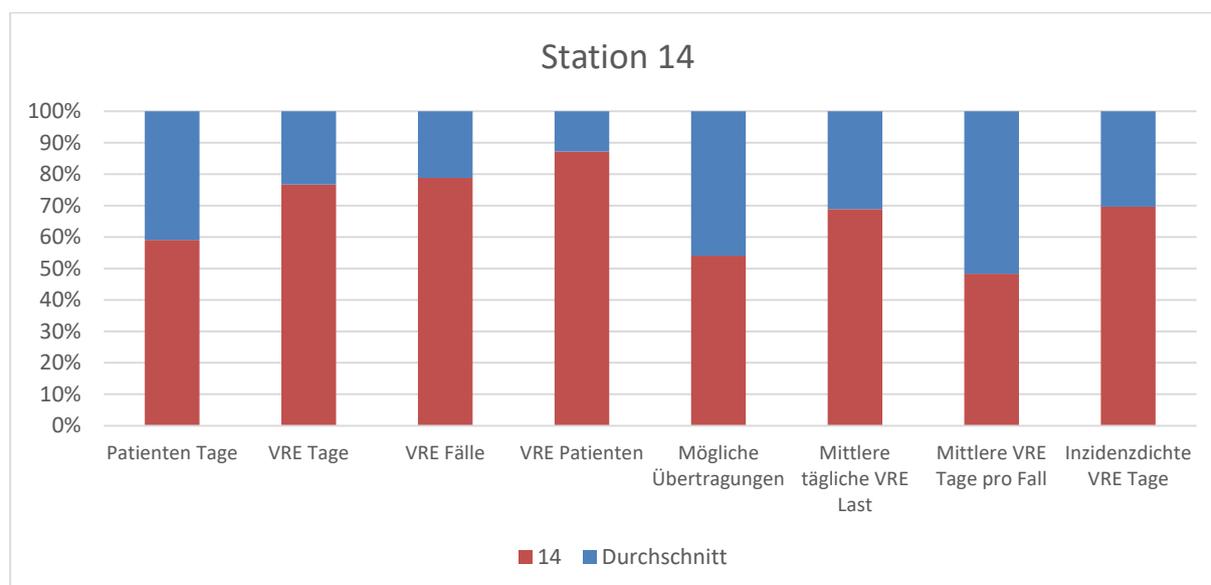


Abbildung 57: Statistische Daten der Station 14 im Vergleich zur Gesamtheit.

Station 14 war eine überdurchschnittlich große Station. Sie hatte wie die gesamte Gastroenterologie eine vergleichsweise hohe VRE-Last. Durchschnittlich 8,3 % aller Patienten, die gleichzeitig auf der Station lagen, waren mit Vancomycin-resistenten Enterokokken kontaminiert. Die Inzidenzdichte war mit 9,1 Fällen pro 1000 Patiententagen ebenfalls stark erhöht. Die Station besaß aber trotz dieser hohen Belastung nur eine durchschnittliche Zahl an möglichen Übertragungen.

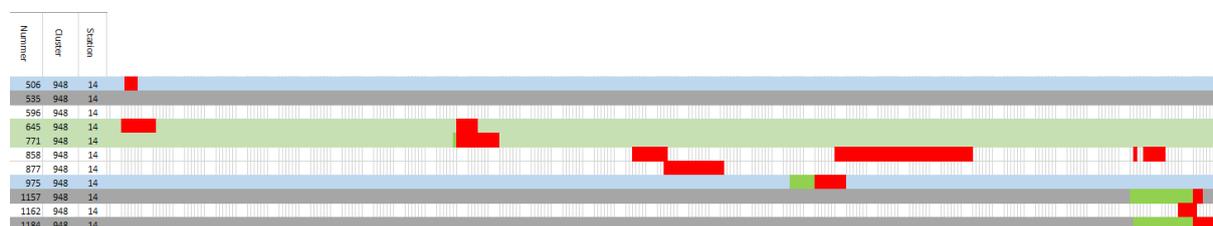


Abbildung 58: Taggenaue Abbildung der beiden Hauptcluster der Station 14 im zeitlichen Verlauf.

Im Studienzeitraum ereigneten sich zwei potenzielle Übertragungen des Clusters 948. Der Cluster war dabei zwar über einen längeren Zeitraum präsent, führte aber trotzdem erst am Ende des Beobachtungszeitraums binnen einer Woche zu den beiden Übertragungen.

3.7.4 Station 15

Station 15 war die zweite Normalstation der Gastroenterologie am Universitätsklinikum Regensburg.

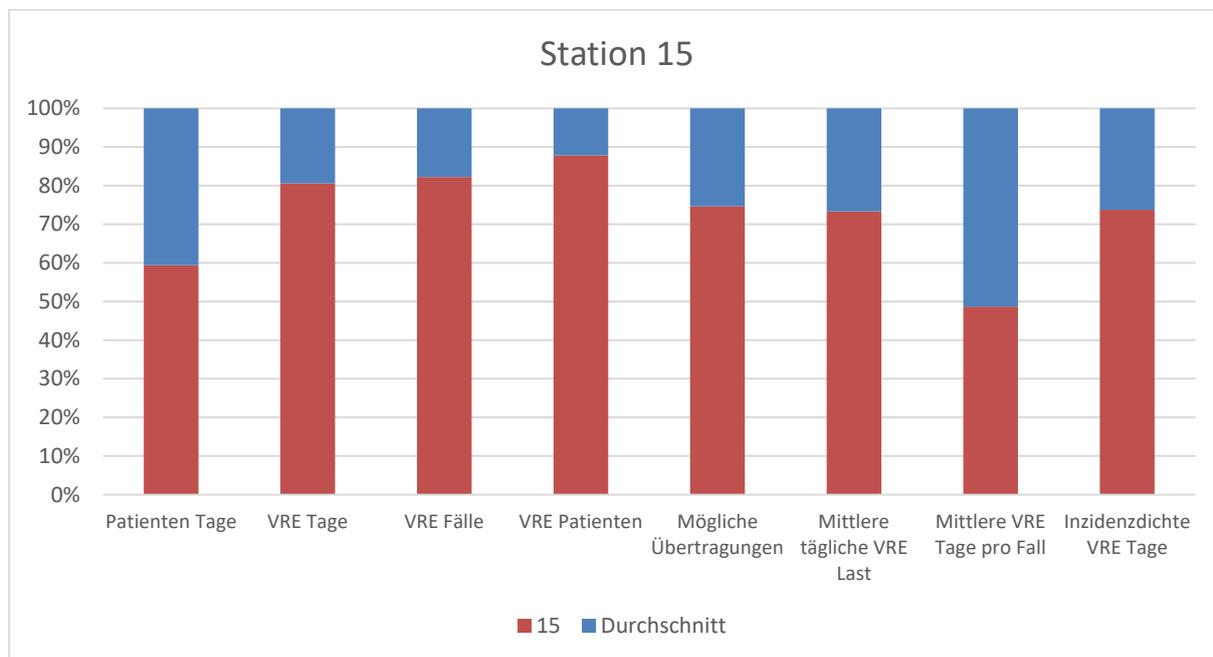


Abbildung 59: Statistische Daten der Station 15 im Vergleich zur Gesamtheit.

Die Station 15 gehörte zu den überdurchschnittlich großen Stationen und hatte etwa 50% mehr Patiententage als der Durchschnitt. Die VRE-Tage, -Fälle und -Patienten waren aber noch weit stärker gegenüber der Gesamtheit erhöht. Genau wie Station 14 war auch diese Station von einer überproportionalen VRE-Last, die fast drei Mal so hoch wie der Durchschnitt war, betroffen. Im Gegensatz zu deren Schwesterstation war aber auch die Anzahl an potenziellen Übertragungen mit fünf gegenüber den 1,7 der Gesamtheit stark erhöht.

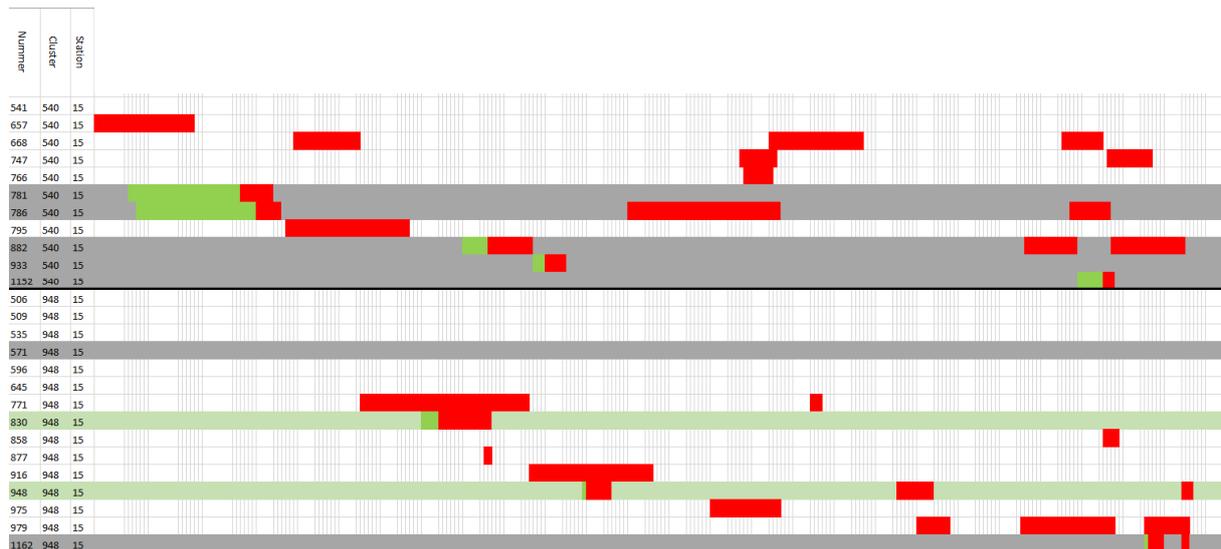


Abbildung 60: Taggenaue Abbildung der Cluster 540 und 948 der Station 15 im zeitlichen Verlauf.

Cluster 540 war auf der Station über längere Zeit vertreten und führte in drei kleineren Ausbrüchen zu vier möglichen Übertragungsereignissen innerhalb der untersuchten zwölf Monate. Der zweite große Cluster 948 war ab dem zweiten Viertel des Untersuchungszeitraums auf der Station präsent, führte aber erst kurz vor dem Ende der Aufzeichnungen zu einer möglichen Übertragung.

3.7.5 Station 17

Station 17 hatte als Nephrologie viele immungeschwächte Patienten zu versorgen. Ihre Patienten waren somit zusammen mit denen der Onkologie besonders anfällig für schwerwiegende Konsequenzen bei einer Infektion mit Vancomycin-resistenten Enterokokken.

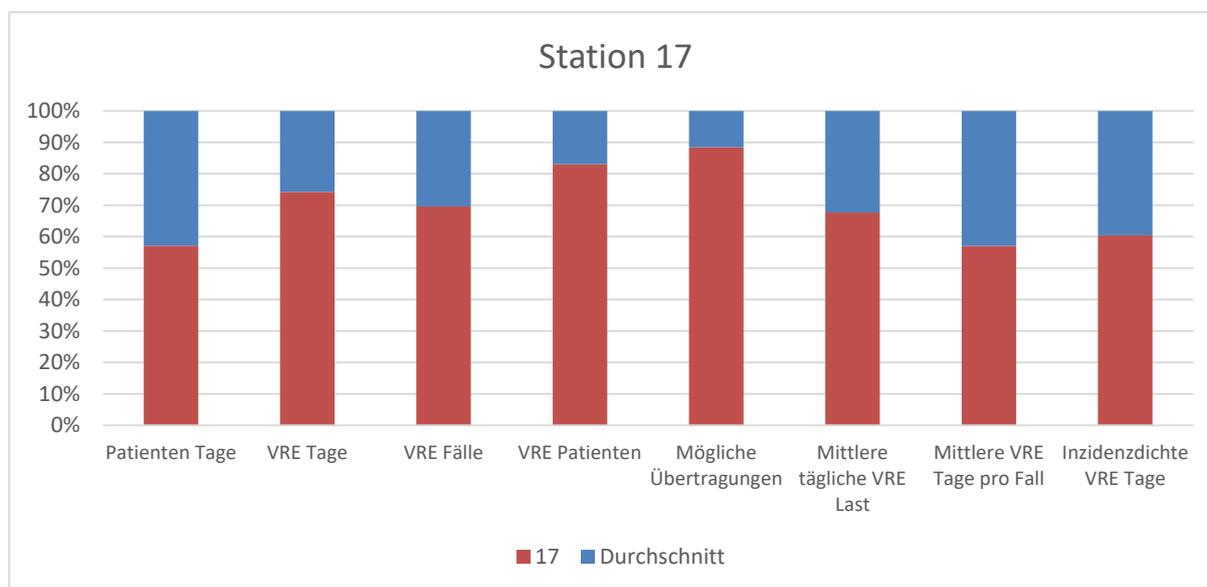


Abbildung 61: Statistische Daten der Station 17 im Vergleich zur Gesamtheit.

Die 17 war eine Station mit einer durchschnittlichen Zahl an Patiententagen, aber sie verfügte über eine große Menge an VRE-positiven Patienten und Fällen. Die mittlere tägliche VRE-Last lag dabei um die 8% Marke herum. Die Anzahl an potenziellen Übertragungen war mit 13 die höchste, die in dieser Studie für eine einzelne Station gemessen werden konnte.

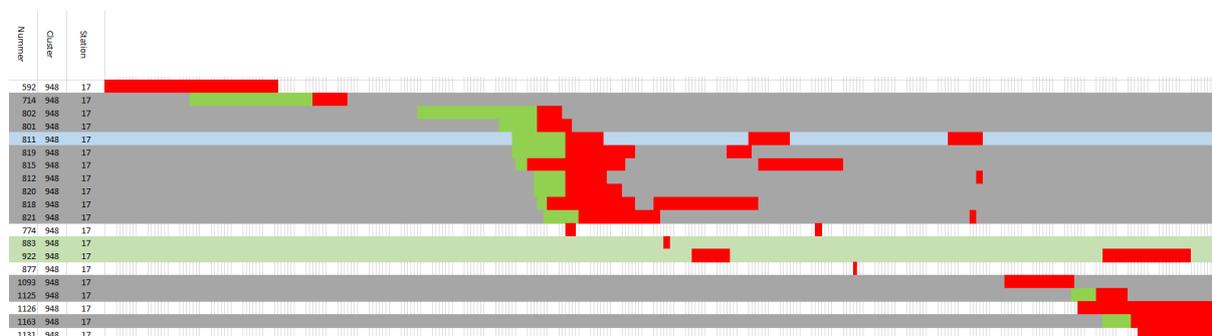


Abbildung 62: Taggenaue Belegungsabbildung des Clusters 948 der Station 17 im zeitlichen Verlauf.

Station 17 wurde von dem großen Cluster 948 dominiert. Nach einer einzelnen potenziellen Übertragung im August des Jahres 2017 häuften sich die übrigen neun Ereignisse des Clusters an zwei Stellen, im November 2017 und März 2018, was auf

mögliche große Ausbrüche in diesen Zeiträumen hindeutete. Vor allem die Häufung im November war die Größte, die in allen untersuchten Stationen beobachtet werden konnte.

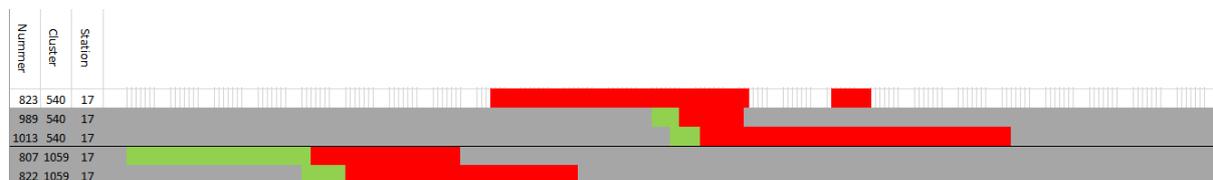


Abbildung 63: Taggenaue Abbildung der Belegung der Cluster 540 und 1059 auf der Station 17 im zeitlichen Verlauf.

Die beiden kleineren Cluster der Station hatten im Untersuchungszeitraum nur zwei (Cluster 540) und eine (Cluster 1059) potenzielle Übertragungen vorzuweisen und kamen auch nicht dauerhaft auf der Station vor.

3.7.6 Station 18

Eine der beiden Normalstationen der Kardio- und Pneumologie.

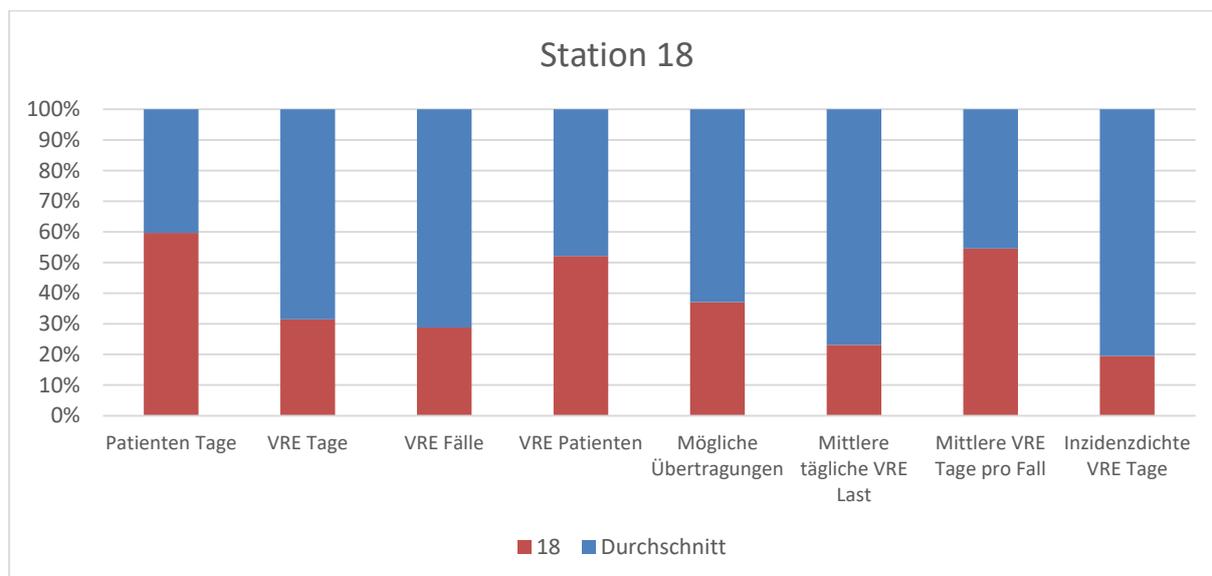


Abbildung 64: Statistische Daten der Station 18 im Vergleich zur Gesamtheit.

Station 18 war eine Station mit einer überdurchschnittlichen Patiententage-Zahl aber einer unterdurchschnittlichen Zahl an VRE-Fällen, -Patienten und -Tagen. Auf der Station der Kardiologie gab es im untersuchten Zeitraum nach den Kriterien der Studie nur eine einzige potenzielle Übertragung, im August 2017. Der dafür verantwortliche Cluster 948 war bis auf die in Abbildung 65 dargestellte Zeit nicht auf der Station vertreten.



Abbildung 65: Taggenaue Abbildung der Belegung des Clusters 948 der Station 18 im zeitlichen Verlauf.

3.7.7 Station 20

Bei der Station 20 handelte es sich um die größte onkologische Station.

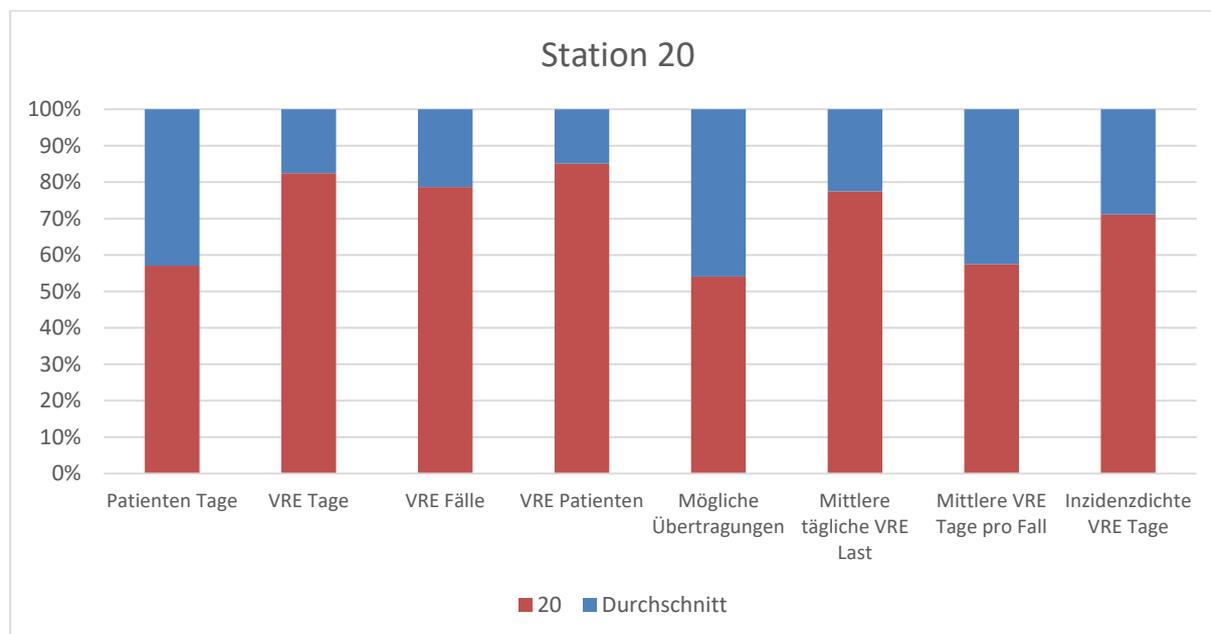


Abbildung 66: Statistische Daten der Station 20 im Vergleich zur Gesamtheit.

Die Station zeichnete sich bei durchschnittlicher Belegung durch eine sehr hohe Anzahl an VRE-positiven Patienten und VRE-Tagen aus. Die VRE-Last war mit fast 13% eine der höchsten gemessenen innerhalb dieser Studie. In dieser onkologischen Station konnten aber trotz dieser hohen VRE-Last nur zwei mögliche Übertragungen aus zwei verschiedenen Clustern detektiert werden.

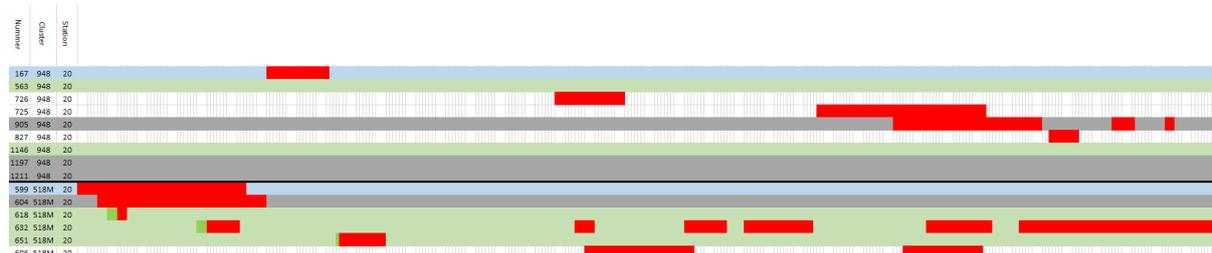


Abbildung 67: Taggenaue Abbildung der Belegung der Cluster der Station 20 im zeitlichen Verlauf.

Die potenzielle Übertragung des Clusters 540 ereignete sich im Dezember 2017, die des Clusters 518M bereits im Juni 2017.

Zusätzlich zu den IR-Biotyper Ergebnissen wurden die beiden onkologischen Normalstationen auch mittels MLST untersucht, mit deren Hilfe ebenfalls die möglichen Übertragungen gezählt wurden.

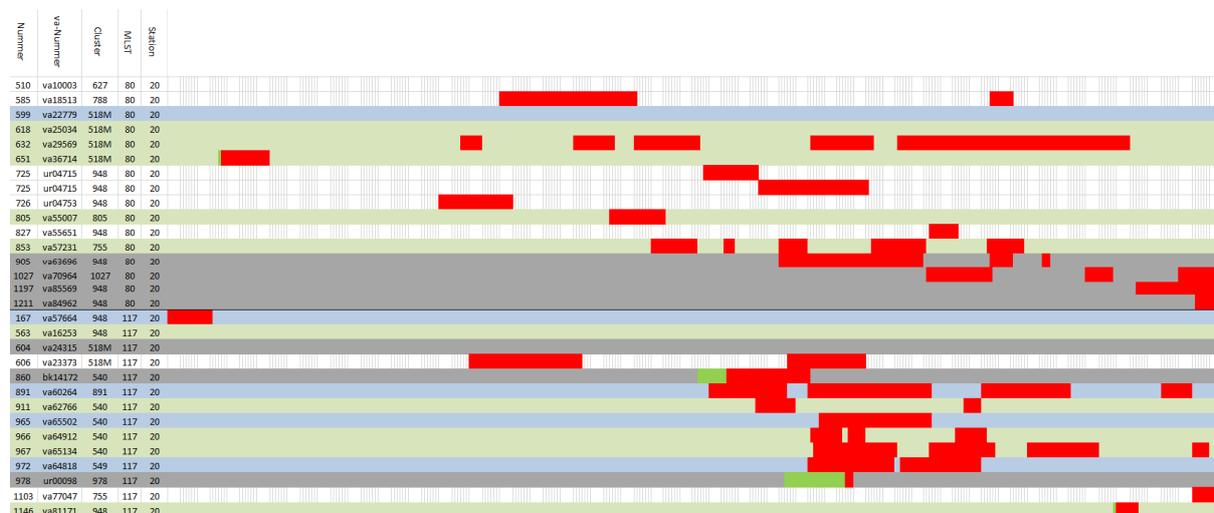


Abbildung 68: MLST-Daten der Station 20 im zeitlichen Verlauf.

Die MLST-Daten von Station 20 wiesen auf sechs mögliche Übertragungen hin, was dem dreifachen der Biotyper-Analyse entsprach. Alle potenziellen Übertragungen stammten dabei von Proben, die den ST-Typen 117 oder 80 zugeordnet werden konnten. Der große Unterschied in der Zahl der möglichen Übertragungen kam aufgrund der unterschiedlichen Herangehensweise der Typisierungsverfahren zustande. Bei dem Multilocus-sequence-typing (MLST) werden, wie bereits im Material und Methoden Teil beschrieben, nur 7 sogenannte Housekeeping-Gene analysiert, die sehr mutationsträge sind und Beobachtungen über große Zeiträume zulassen. Der Biotyper dagegen erstellt mittels Infrarotspektroskopie einen individuellen Fingerabdruck für jede gemessene Probe und vergleicht anschließend alle analysierten Proben miteinander im Rahmen einer Verwandtschaftsanalyse.

3.7.8 Station 21

Bei dieser Station handelte es sich um eine weitere onkologische Normalstation.

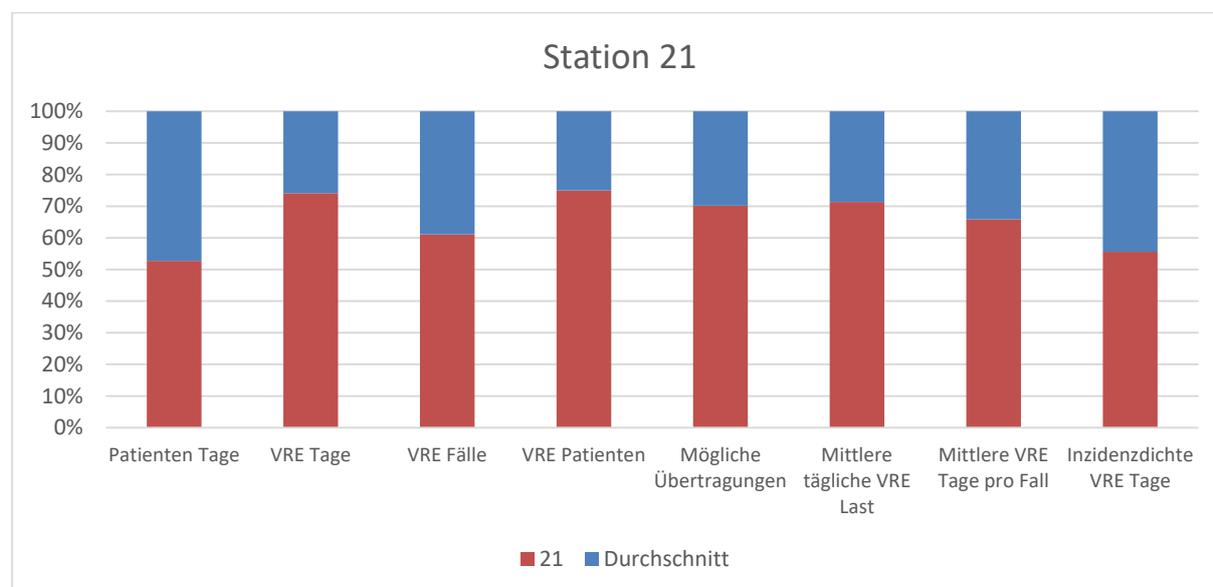


Abbildung 69: Statistische Daten der Station 21 im Vergleich zur Gesamtheit.

Station 21 verfügte im Zeitraum der Studie über eine erhöhte VRE-Last. Verglichen mit der onkologischen Station 20 hatte sie aber weniger VRE-Patienten, -Fälle und -Tage vorzuweisen, dafür war die Zeit, die ein positiver Patient stationär verbrachte erhöht. Die Zahl der möglichen Übertragungen war mit vier etwas mehr als doppelt so hoch wie der Klinikdurchschnitt oder der Wert der größeren Schwesterstation.

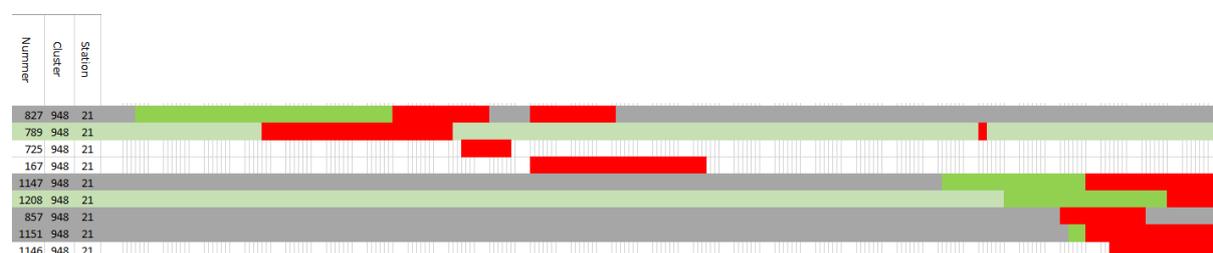


Abbildung 70: Taggenaue Abbildung der Belegung des Clusters 948 der Station 21 im zeitlichen Verlauf.

Alle potenziellen Ereignisse wurden auf der Station bei Patienten, die Träger von VRE des Clusters 948 waren detektiert. Dabei gab es einen Fall, der im November 2017 auftrat und eine größere Häufung am Ende des Auswertungszeitraums. Innerhalb von nur einer Woche gab es hier drei potenzielle Übertragungen von resistenten Enterokokken.

Anders als auf der Schwesterstation 20 gab es auf dieser Station keine Verdachtsfälle von Ansteckungen durch Enterokokken aus anderen Clustern.

Auch die Station 21 wurde nochmals mithilfe des Multilocus-sequence-typings auf potenzielle Übertragungen untersucht.



Abbildung 71: MLST-Daten der Station 21 im zeitlichen Verlauf.

Mittels der MLST-Cluster wurden fünf mögliche Übertragungen festgestellt. Dies entsprach nur einem kleinen Anstieg gegenüber den vier aus der IR-Biotyper Analyse. Auch hier waren, wie in der Schwesterstation, ausschließlich Proben mit den ST-Typen 117 und 80 für potenzielle Übertragungen verantwortlich.

3.7.9 Station 56

Die Station 56 war ein Vertreter der chirurgischen Stationen des Krankenhauses. Der Schwerpunkt lag bei der Viszeral- und Allgemeinchirurgie.

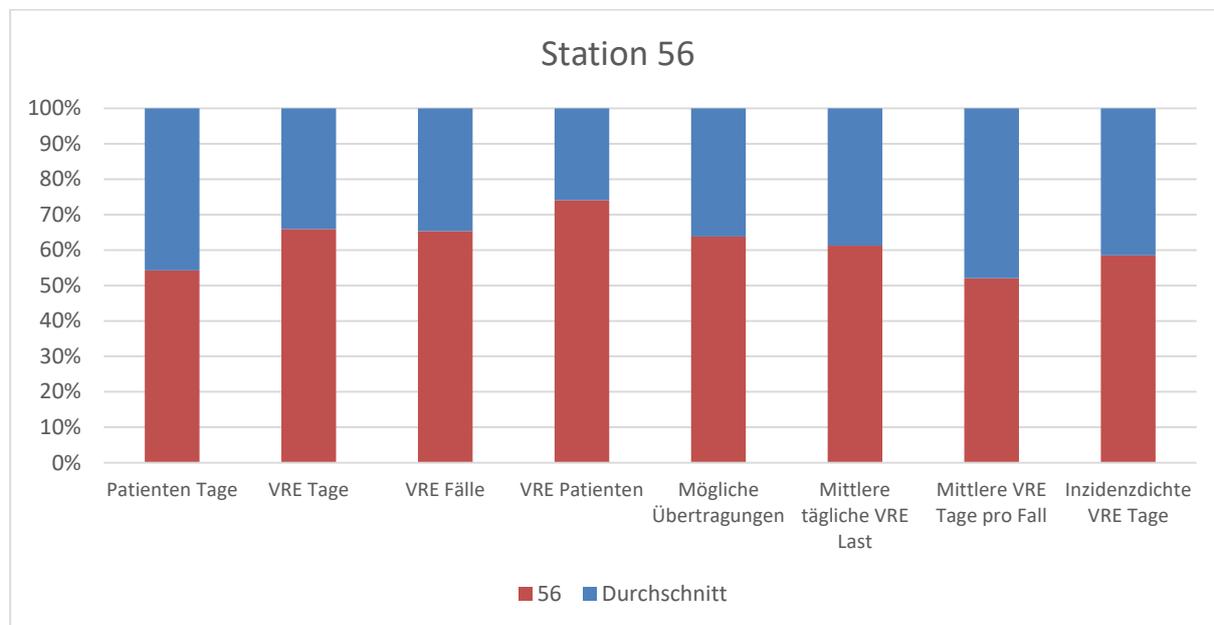


Abbildung 72: Statistische Daten der Station 56 im Vergleich zur Gesamtheit.

Bei einer eher durchschnittlichen Patientenzahl waren auf dieser Station die VRE-Tage, -Fälle und die Zahl, der mit VRE-besiedelten Patienten deutlich erhöht. Die Inzidenzdichte und VRE-Last waren dagegen nur leicht erhöht. Die Anzahl möglicher Übertragungen war mit drei Fällen des Clusters 948 ebenfalls nur wenig höher als in der Gesamtheit.

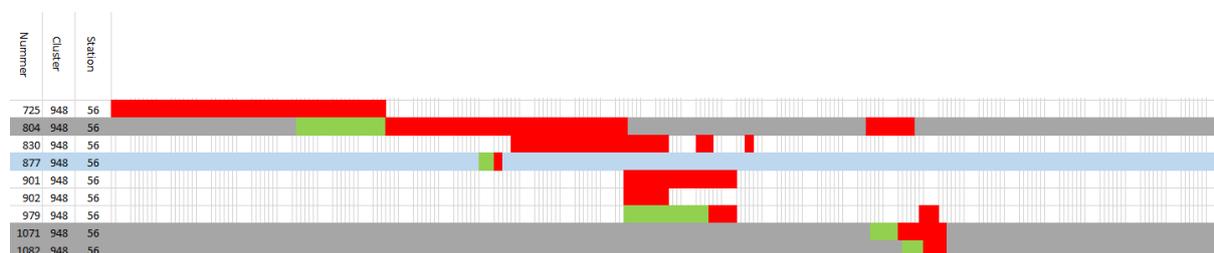


Abbildung 73: Taggenaue Abbildung der Belegung des Clusters 948 der Station 56 im zeitlichen Verlauf.

Mit drei potenziellen Verbreitungen war der Cluster 948 auf dieser Station der größte und auch einzige Cluster mit potenziellen Ereignissen, die eine Häufung Ende Dezember 2017 aufwiesen.

3.7.10 Station 57

Bei Station 57 handelte es sich um eine weitere chirurgische Station. Der Schwerpunkt lag hier auf der Viszeralchirurgie.

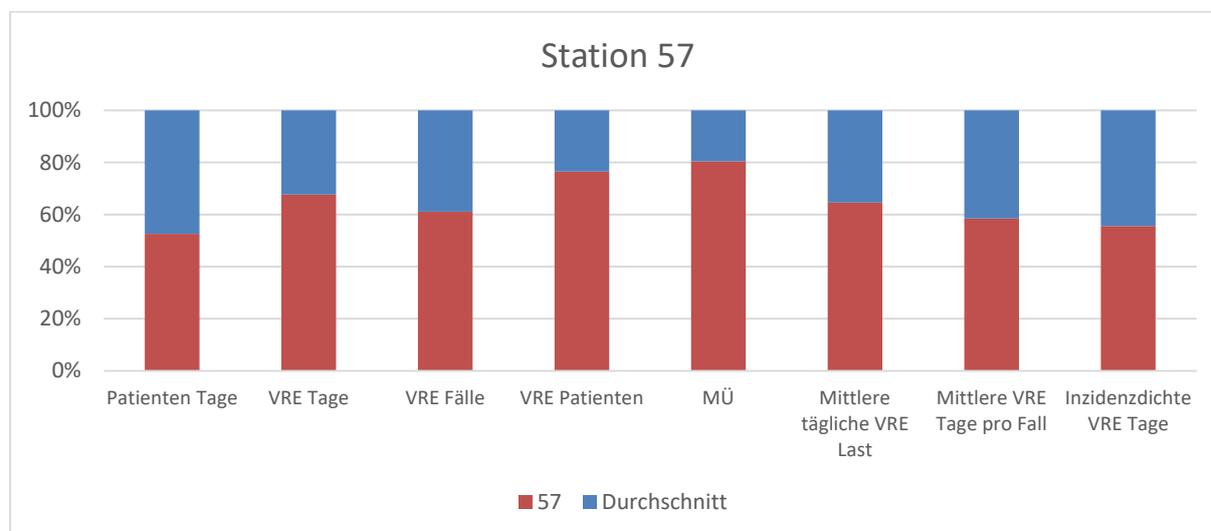


Abbildung 74: Statistische Daten der Station 57 im Vergleich zur Gesamtheit.

Da die Station 57 über ein fast identisches Patientenkollektiv verfügte wie Station 56, war es nicht verwunderlich, dass eine große Ähnlichkeit bezüglich der statistischen Daten bestand. Auch auf dieser Station gab es überdurchschnittlich viele VRE-Tage, -Fälle und vor allem VRE-positive Patienten. Sowohl die tägliche VRE-Last als auch die durchschnittliche Liegezeit der VRE-positiven Patienten waren zudem erhöht. Im Unterschied zu ihrer Schwesterstation gab es aber auf dieser chirurgischen Station zwei unterschiedliche Cluster, die für sieben Fälle einer möglichen Übertragung verantwortlich waren.

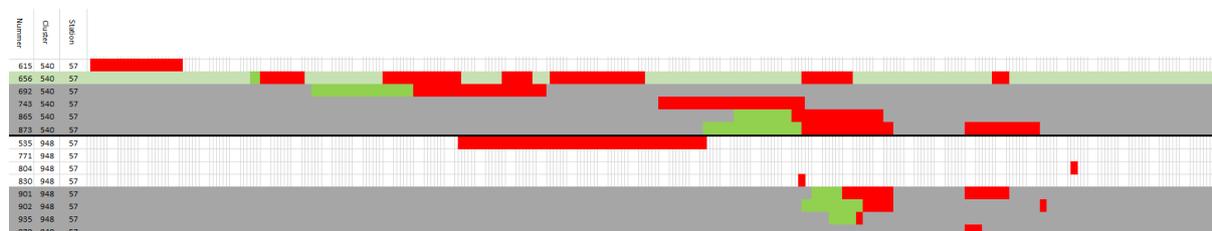


Abbildung 75: Taggenaue Abbildung der Belegung der Cluster 948 und 540 der Station 56 im zeitlichen Verlauf.

Der Cluster 540 war über die gesamte Beobachtungszeit auf der Station präsent. In diesem Zeitraum kam es zu drei möglichen Übertragungen. Bakterien des Clusters 948 waren dagegen lange nicht auf dieser Station heimisch. Elf Wochen nach ihrem ersten Erscheinen führten sie dann allerdings innerhalb einer Woche zu drei potenziellen Übertragungen und nur wenig später zu einer vierten.

3.7.11 Station 90

Die in drei kleinere Bereiche aufgeteilte Station 90 war die operative Intensivstation des UKR. Da die Unterstationen sich aber einen Personalpool teilten und räumlich nicht getrennt waren, wurden sie in dieser Arbeit wie eine Station behandelt.

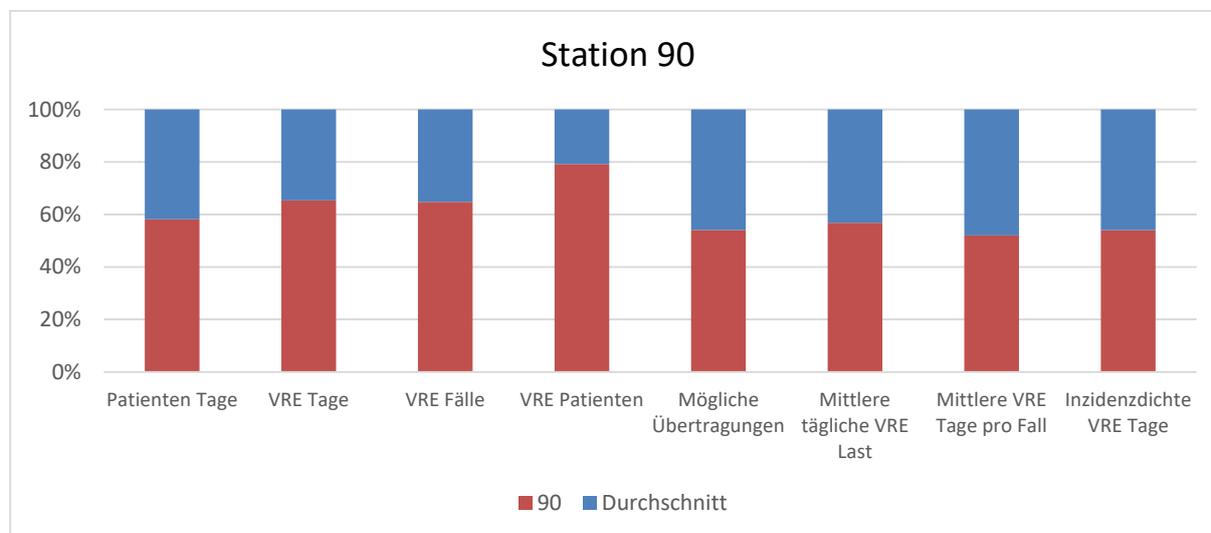


Abbildung 76: Statistische Daten der Station 90 im Vergleich zur Gesamtheit.

Auf Station 90 konnte eine weit überdurchschnittliche Anzahl an VRE-positiven Patienten gezählt werden und auch die VRE-Last war im Vergleich zu der Gesamtheit aller Stationen deutlich erhöht. Mit zwei potenziellen Übertragungen rangierte die Station in diesem Punkt aber eher im Mittelfeld.

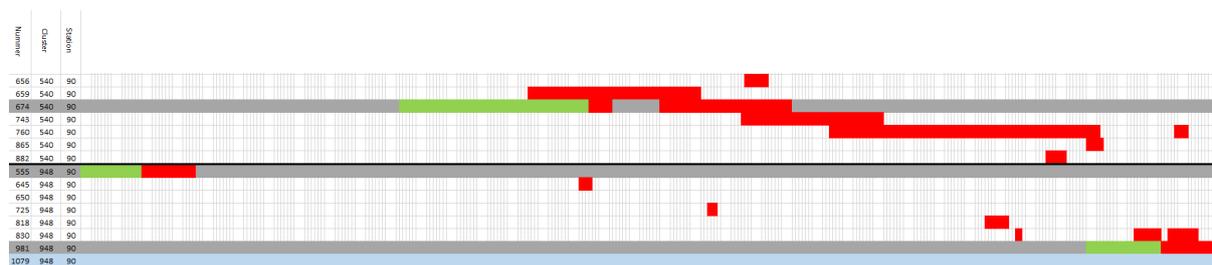


Abbildung 77: Taggenaue Abbildung der Belegung der Cluster 540 und 948 der Station 90 im zeitlichen Verlauf.

Im Zeitraum vom 11.08.2017 bis zum 20.12.2017 war der Cluster 540 zu jedem Zeitpunkt auf der Station mit mindestens einem Patienten vertreten. Innerhalb dieser Zeit erfolgte aber nur eine potenzielle Verbreitung. Vor und nach diesem Zeitraum kamen Enterokokken dieses Clusters so gut wie nicht auf der Station vor.

Cluster 948 hatte ebenfalls nur eine mögliche Übertragung zu verzeichnen und war während des Untersuchungszeitraums auch nicht gehäuft oder über einen längeren Zeitraum auf der Station zu finden.

3.7.12 Station 91

Bei dieser Station handelte es sich um die Intensivstation der Neurochirurgie.

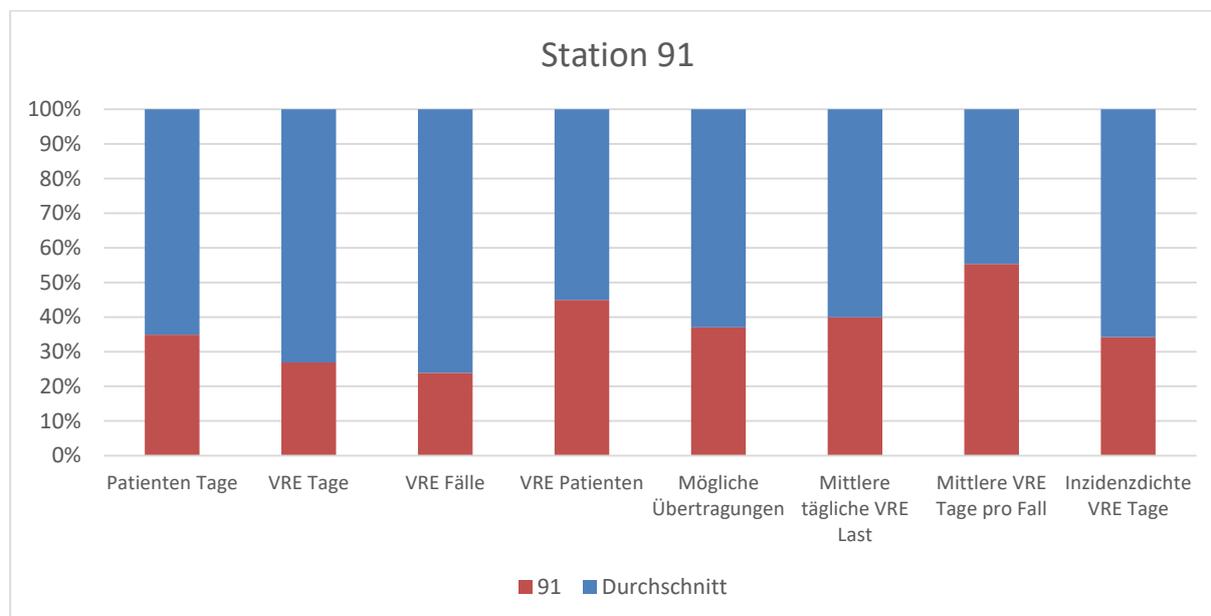


Abbildung 78: Statistische Daten der Station 91 im Vergleich zur Gesamtheit.

Station 91 befand sich bei den Patiententagen unter dem Durchschnitt. Dies war aber bei einer Intensivstation mit deutlich weniger Betten im Vergleich zu einer Normalstation nicht weiter verwunderlich. Auch bei den anderen statistischen Werten fand sich die Station immer im unteren Bereich wieder. Einzig bei der Liegezeit VRE-positiver Patienten lag die Station über dem Schnitt der Gesamtheit.

Die Intensivstation hatte nur eine potenzielle Übertragung des Clusters 540 Mitte Dezember 2017 zu verzeichnen, ansonsten waren Erreger dieses Clusters nicht auf der Station heimisch.



Abbildung 79: Taggenaue Abbildung der Belegung des Clusters 540 der Station 91 im zeitlichen Verlauf.

3.7.13 Station 92

Station 92 war die Intensivstation der Medizinischen Klinik I.

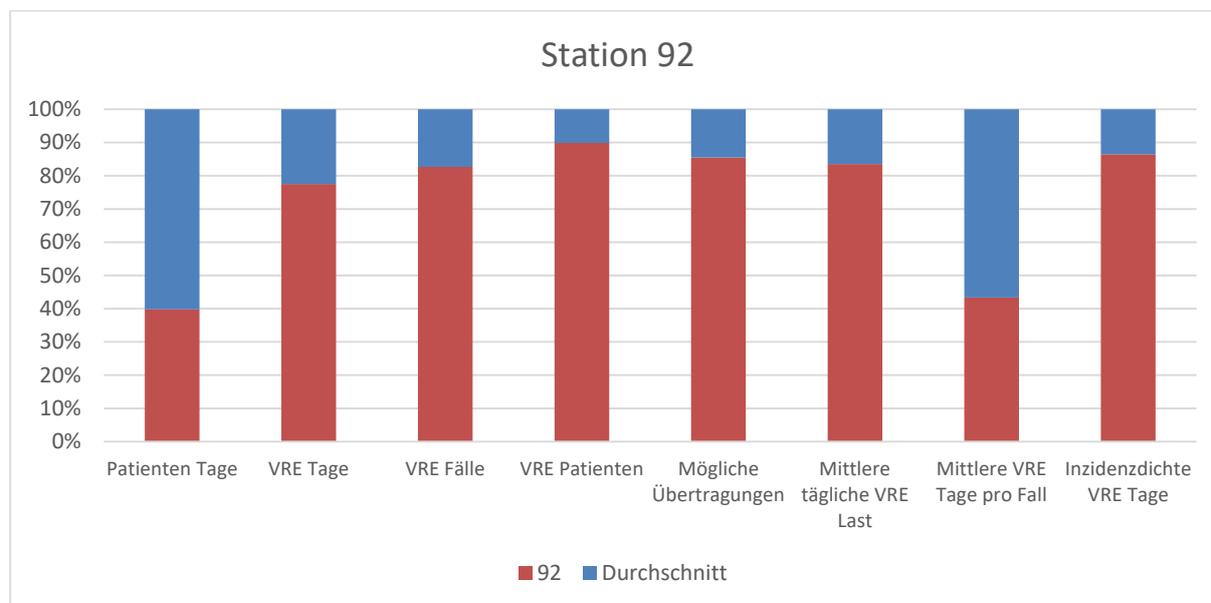


Abbildung 80: Statistische Daten der Station 92 im Vergleich zur Gesamtheit.

Bei relativ wenigen Patiententagen wies die Station 92 die meisten VRE-positiven Patienten und Fälle auf, auch bei der täglichen VRE-Last lag die Station mit 19% an erster Stelle. Mit zehn möglichen Übertragungen lag die Station auch in diesem Punkt weit über dem Durchschnitt und sicherte sich nach der Station 17 den zweiten Platz in dieser Kategorie.

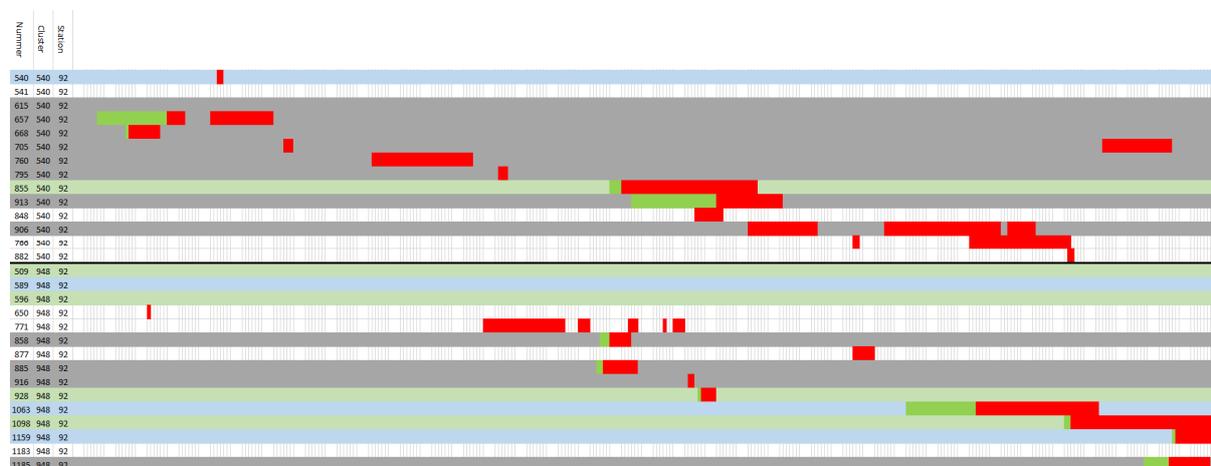


Abbildung 81: Taggenaue Abbildung der Belegung der Cluster 540 und 948 der Station 91 im zeitlichen Verlauf.

Im Cluster 540 gab es drei potenzielle Verbreitungen eines Vancomycin-resistente *Enterococcus faecium*, mit einer Häufung im Dezember 2017. Im zweiten auf allen Stationen weit verbreiteten Cluster 948 gab es nur zwei mögliche Übertragungen.

Während Enterokokken des Clusters 540 bereits zu Beginn des untersuchten Zeitraumes auf der Station präsent waren, erschienen Patienten, die Träger eines Bakteriums des Clusters 948 waren, erst ab Oktober 2017 in größeren Zahlen.

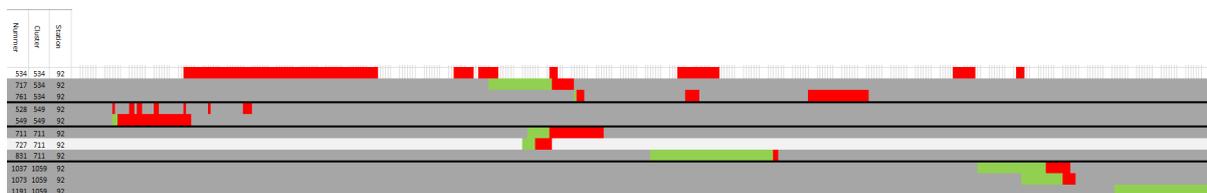


Abbildung 82: Taggenaue Abbildung der Belegung der Cluster 534, 549, 711 und 1059 der Station 92 im zeitlichen Verlauf.

Neben dem zweiten großen Cluster 948, wurden weitere fünf Ereignisse von vier verschiedenen kleineren Clustern detektiert. Cluster 534 war hier der Cluster, der die meiste Zeit auf der Station anzutreffen war. Außerdem hatte er mit zwei Ereignissen innerhalb der kleinen Cluster die meisten potenziellen Übertragungen. Die anderen drei Cluster 549, 711 und 1059 verzeichneten nur je eine mögliche Übertragung und waren auch nur für kurze Zeit auf der Station anzutreffen.

Insgesamt wurden die wahrscheinlichen Übertragungen der Station 92 von Enterokokken-Stämmen aus sechs verschiedenen Clustern verursacht. Damit wies diese Station die größte Diversität bei den für potenzielle Übertragungen verantwortlichen Erregerstämmen auf. Zusätzlich gehörte die 92 zu den wenigen Stationen, bei denen keiner der Cluster bei der Zahl möglicher Übertragungen klar dominierte.

3.7.14 Station 93

In dieser Station war die Intensivereinheit der Medizinischen Klinik II (Kardiologie, Pulmologie, Nephrologie) und der Medizinischen Klinik III (Hämato-Onkologie) untergebracht.

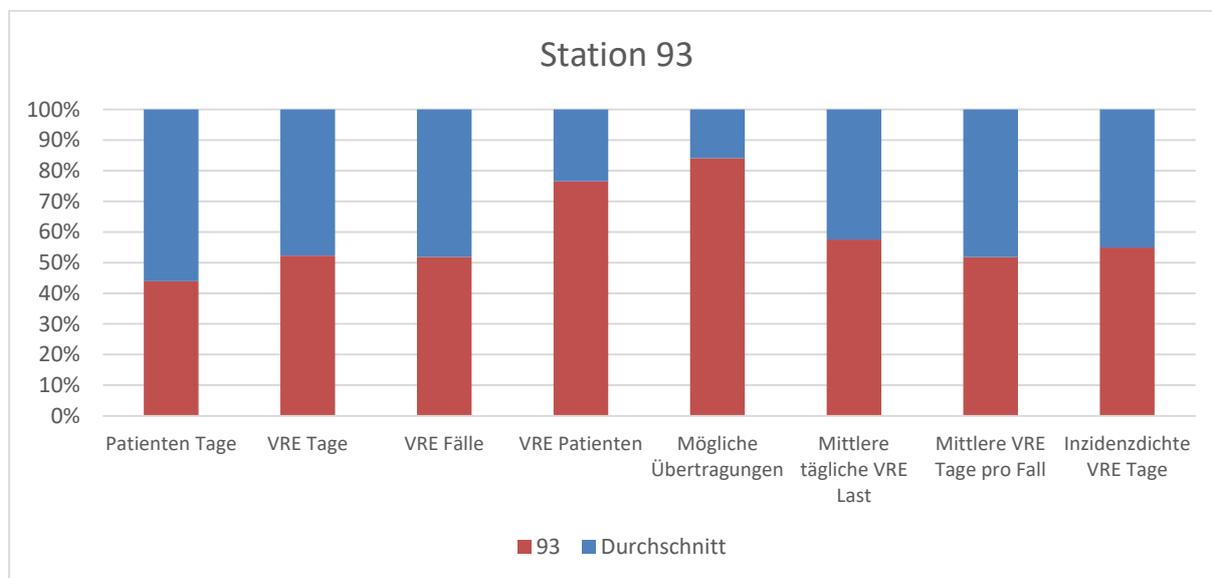


Abbildung 83: Statistische Daten der Station 93 im Vergleich zur Gesamtheit.

Ähnlich wie die 92 hatte auch diese Station bei einer eher unterdurchschnittlichen Patiententagezahl eine weit überdurchschnittliche Anzahl an VRE-positiven Patienten und möglichen Übertragungen. Die VRE-Last war dagegen nur leicht erhöht. Insgesamt ereigneten sich im Untersuchungszeitraum auf dieser Station neun potenzielle Übertragungen. Acht dieser Ereignisse waren Patienten, die Träger von VRE des Clusters 948 waren, zuzuschreiben. Ab Ende Oktober 2017 war der Cluster immer wieder für potenzielle Übertragungen verantwortlich, vier davon ereigneten sich Ende 2017.

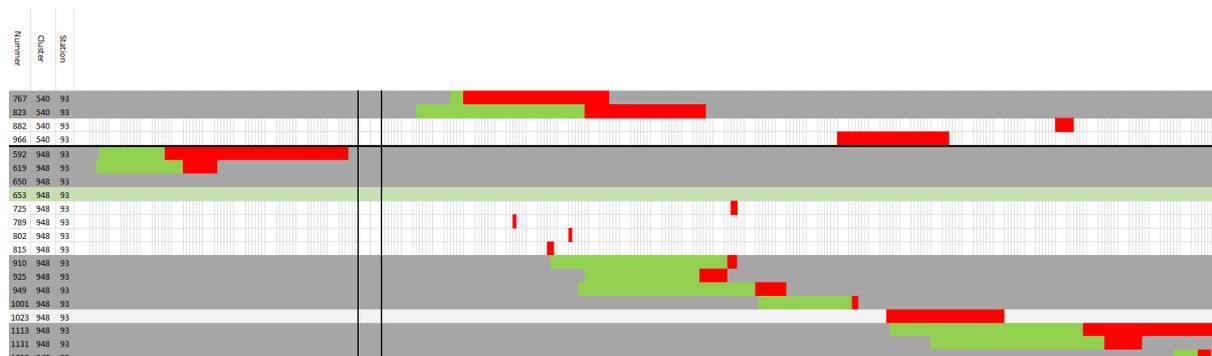


Abbildung 84: Taggenaue Abbildung der Belegung der Cluster 540 und 948 der Station 93 im zeitlichen Verlauf. Die beiden senkrechten Linien bilden einen Zeitsprung von 8 Wochen ab.

3.7.15 Station 97

Station 97 war die Intensivstation der Herz-Thorax-Chirurgie.

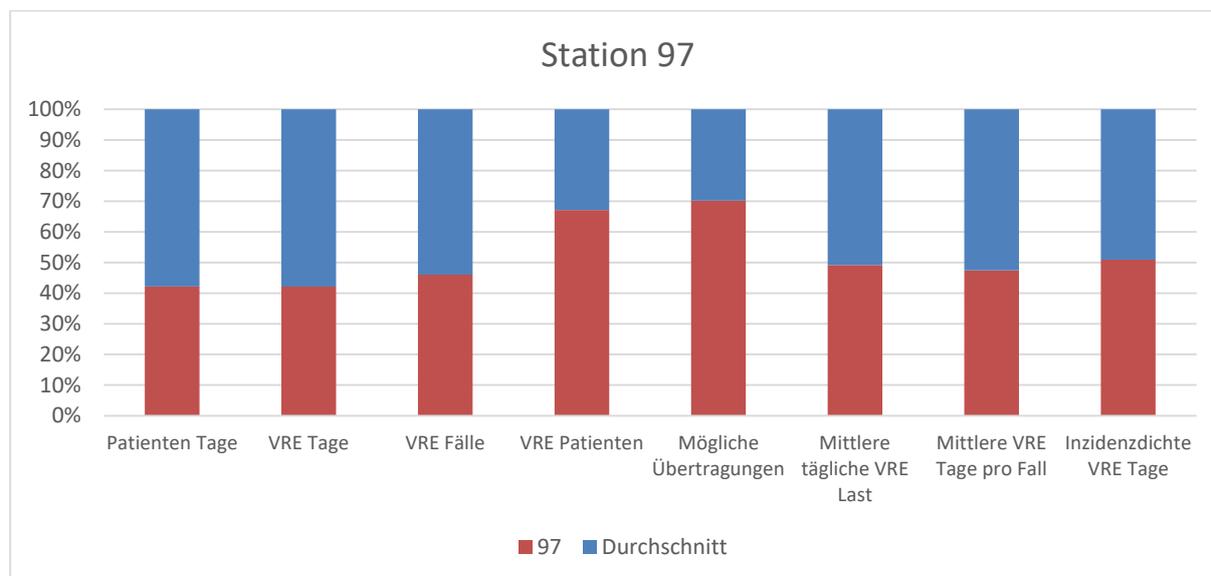


Abbildung 85: Statistische Daten der Station 97 im Vergleich zur Gesamtheit.

Der einzige Wert dieser Station, der neben den überdurchschnittlichen VRE-Patientenzahl vom Durchschnitt aller Stationen stark abwich, war die Anzahl an möglichen Übertragungen. Die Intensivstation hatte insgesamt vier dieser Ereignisse vorzuweisen, alle stammten von Enterokokken des Clusters 948.

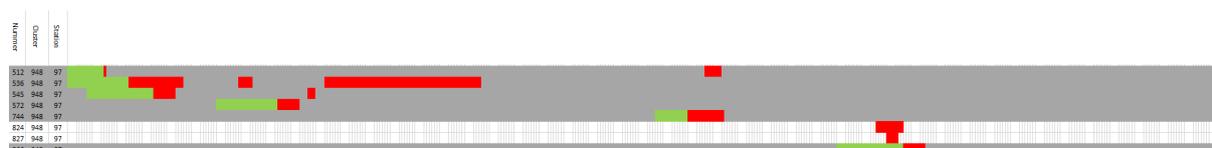


Abbildung 86: Taggenaue Abbildung der Belegung des Clusters 948 der Station 97 im zeitlichen Verlauf.

Vor allem zu Beginn des Studienzeitraums verzeichnete die Station mehrere potenzielle Übertragungen. Anfang Dezember 2017 ereignete sich noch eine Vierte und Letzte.

3.7.16 Stationen mit gastroenterologischem oder onkologischem Patientengut

Tabelle 24: Statistische Daten der Gastroenterologie und Onkologie, sowie der Intensivstation 93.

NN = nicht nachweisbar

MÜ = Mögliche Übertragungen

Pat Tage = Patienten Tage

St. = Stationen

	Pat Tage	VRE Tage	VRE Fälle	VRE Patienten	Mögliche Übertragungen	Mittlere tägliche VRE Last	Mittlere VRE Tage pro Fall	Inzidenzdichte VRE Tage
14/15/92	22645	2516	292	98	17	11,1	8,61	12,9
20/21/93	20497	2001	141	73	15	9,8	14,19	6,9

Die Stationen der Onkologie, Gastroenterologie sowie die eigentlich zur Inneren Medizin II gehörende interdisziplinäre Intensivstation 93, auf der Patienten der Onkologie, Pulmologie, Nephrologie und Kardiologie versorgt wurden, gehörten zu den Bereichen, die einer sehr hohen Belastung an Vancomycin-resistenten Enterokokken ausgesetzt waren. So standen diese Stationen zwar nur für 18,3% aller Patiententage, aber gleichzeitig auch für 52,5% aller VRE-Fälle und 52,8% aller VRE-Tage. Mit 50,7% aller möglichen Übertragungen waren diese sechs Stationen, die vor allem Patienten der Onkologie und Gastroenterologie versorgten, für diese Arbeit von hervorgehobenem Interesse. Von allen in die Studie eingeschlossenen Patienten besuchten im Untersuchungszeitraum 62,9% zu einem beliebigen Zeitpunkt entweder die Stationen der Onkologie oder die der Gastroenterologie.

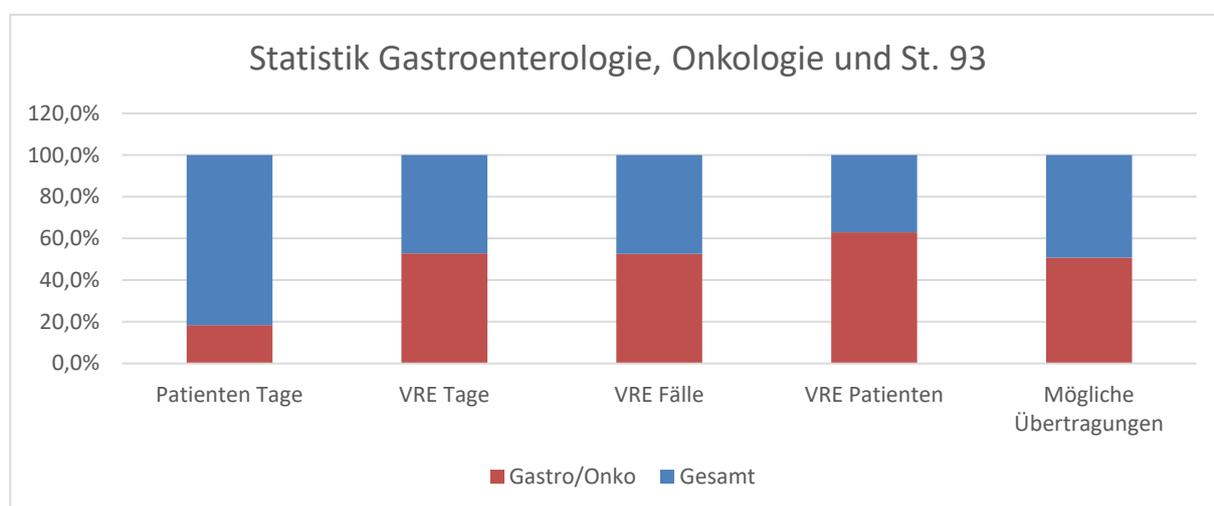


Abbildung 87: Statistik der Stationen 14, 15, 20, 21 92 und 93.

Die Daten der drei gastroenterologischen Stationen wurden in Abbildung 88 mit den Daten von drei durchschnittlichen Stationen verglichen.

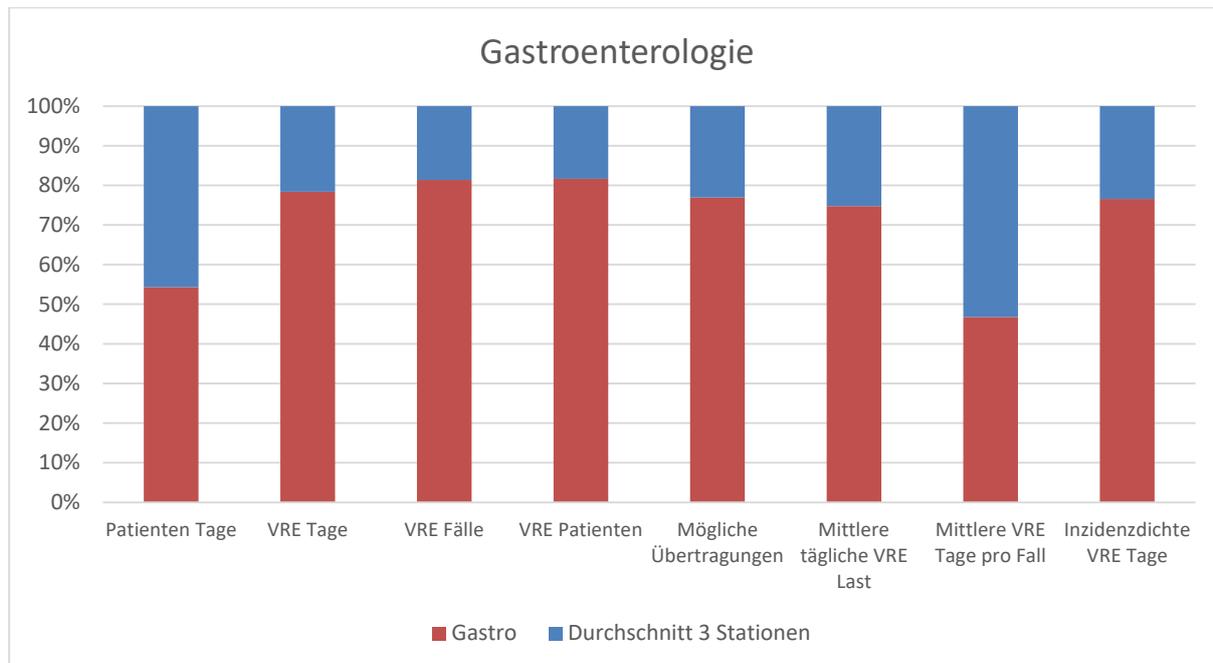


Abbildung 88: Statistische Daten der Gastroenterologie verglichen mit drei durchschnittlichen Stationen.

Neben der bereits erwähnten hohen VRE-Tage und -Fallzahl, stach die Innere I durch eine fast drei Mal so hohe VRE-Last im Vergleich zum Gesamtkollektiv hervor. Dies äußerte sich auch durch eine sehr hohe Inzidenzdichte von 12,9 Fällen pro 1000 Patiententagen. Die mittlere Liegezeit von VRE-positiven Patienten war dagegen nicht erhöht.

Im Untersuchungszeitraum konnten in den Stationen der Gastroenterologie insgesamt 17 mögliche Übertragungen nachgewiesen werden. Die folgenden beiden Abbildungen dienen dazu, die Verteilung der Cluster über den Untersuchungszeitraum darzustellen.

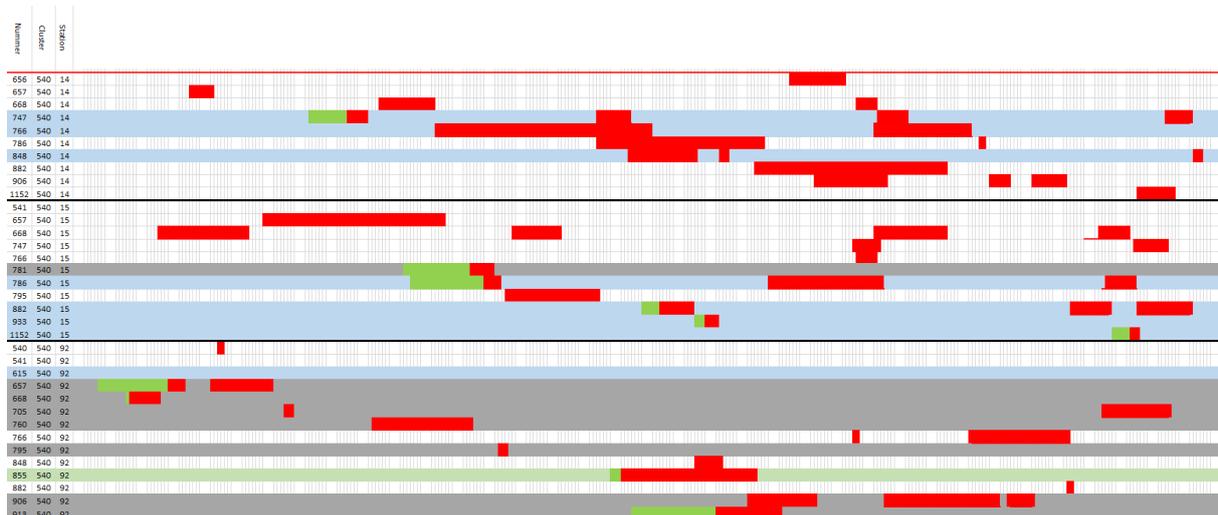


Abbildung 89: Cluster 540 der Gastroenterologie im zeitlichen Verlauf.

Bei Cluster 540 wurde deutlich, dass eine Häufung in der zweiten Hälfte des Untersuchungszeitraums auftrat. Insgesamt war der Cluster für sieben potenzielle Übertragungen verantwortlich.

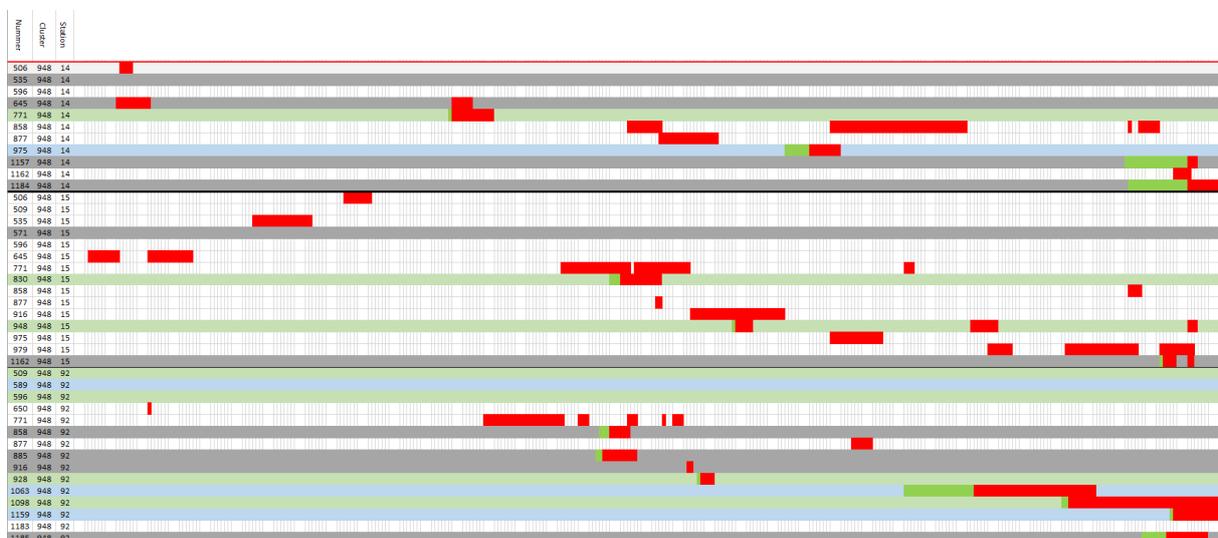


Abbildung 90: Cluster 948 der Gastroenterologie im zeitlichen Verlauf.

Zusätzlich hatte die Gastroenterologie auch fünf mögliche Übertragungen des Clusters 948 zu verzeichnen. Bemerkenswert war, dass sich hier sogar noch deutlicher eine Häufung in der zweiten Hälfte des Untersuchungszeitraums ergab.

Von den fünf möglichen Ereignissen stammten je zwei von den Stationen 92 und 14, sowie eins von Station 15.

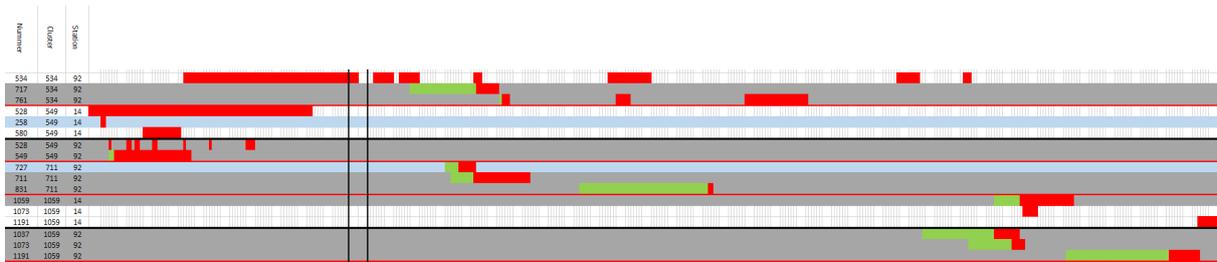


Abbildung 91: Kleinere Cluster der Gastroenterologie im zeitlichen Verlauf.

In den Stationen der Inneren Medizin I wurden im Zeitraum der Datenerhebung neben den beiden großen Clustern auch potenzielle Übertragungen aus weiteren vier kleineren Clustern detektiert. Die Bakterien dieser Cluster waren dabei meist nicht die ganze Zeit auf der Station präsent und führten jeweils nur zu zwei (Cluster 534) oder weniger potenziellen Übertragungen.

Bei den kleineren Clustern konnte ebenfalls eine zeitliche Differenzierung festgestellt werden. Die Cluster 549 und 534 waren vor allem am Anfang des Untersuchungszeitraumes auf den Stationen zu finden, die anderen beiden Cluster tauchten erst im Verlauf und eher zum Ende der Datenerfassung hin auf.

Die Stationen der Gastroenterologie teilten sich dieselbe Diagnostik und verlegten bei räumlicher Nähe und einem sich überlappenden Mitarbeiterpool die Patienten sehr häufig zwischen den einzelnen Stationen dieser Klinik. Aus diesem Grund wurden die Patienten in der folgenden Auswertung nicht mehr nach der jeweiligen Station getrennt. Alle Aufenthalte wurden so vermerkt, als wäre die Gastroenterologie nur eine Station.

Dabei konnten 30 mögliche Übertragungen festgestellt werden. Während sich bei den kleineren Clustern kaum etwas änderte, kam es bei den beiden Großen Clustern 540 und 948 fast zu einer Verdopplung.

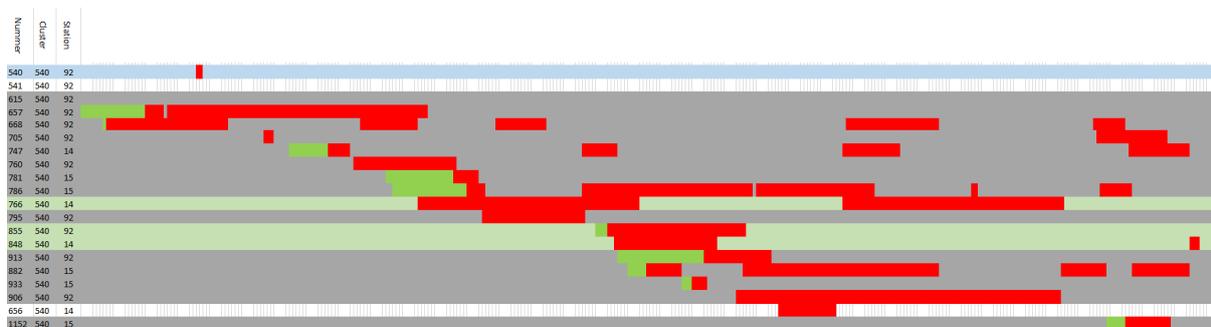


Abbildung 92: Taggenaue Abbildung der Belegung des Clusters 540 der Gastroenterologie im zeitlichen Verlauf.

Mithilfe dieser neuen Betrachtungsweise konnte der Zeitraum verdeutlicht werden, in dem Enterokokken eines Clusters in der Klinik präsent waren. Auch hier gab es eine deutliche Häufung gegen Ende des Untersuchungszeitraumes. Cluster 540 hatte sein Maximum an VRE-Fällen und potenziellen Übertragungen dabei wie in Abbildung 92 ersichtlich im Dezember 2017. Während die Häufigkeit der Enterokokken dieses Clusters im Jahr 2018 leicht abnahm, stieg sie dagegen für die Bakterien des Clusters 948 stark an. Cluster 948 erreichte sein Maximum an möglichen Übertragungen und VRE-Fällen erst im März 2018 (Abbildung 93), was dem Ende der Datenerhebung entsprach. Eine Reduktion der VRE-Fallzahlen konnte bei diesem Cluster somit nicht beobachtet werden.

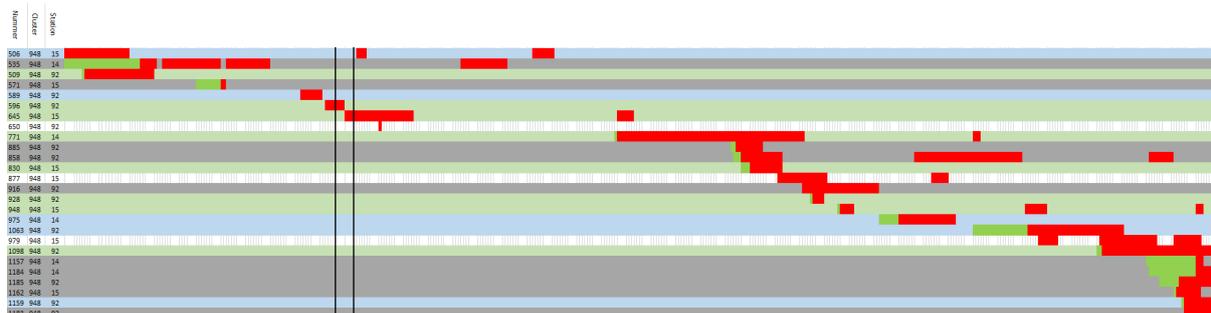


Abbildung 93: Taggenaue Abbildung der Belegung des Clusters 948 der Gastroenterologie im zeitlichen Verlauf.

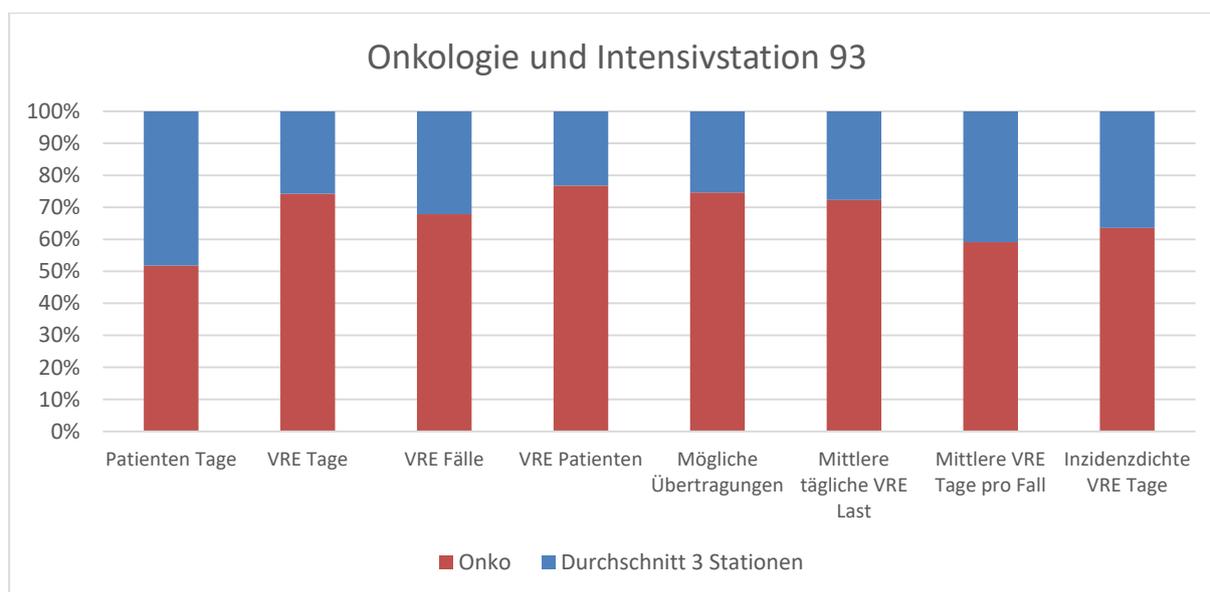


Abbildung 94: Statistische Daten der Stationen 20, 21 und 93 verglichen mit der Klinikgesamtheit.

Auch die Onkologie und die onkologische Patienten versorgende Intensivstation 93 verfügten über hohe Raten an VRE-Tagen und -Fällen, die aber unter dem Niveau der Gastroenterologie lagen. Gegenüber dem Durchschnitt aller Stationen war die mittlere tägliche VRE-Last mit 9,8% deutlich erhöht. Auch die Inzidenzdichte war mit 6,9 Fällen je 1000 Patiententage gegenüber der Grundgesamtheit erhöht.

Im Gegensatz zur Gastroenterologie war in den hier untersuchten Stationen auch die Liegezeit der VRE-positiven Patienten mit 14,2 Tagen pro Fall beträchtlich erhöht. Allen 15 Übertragungen der drei Stationen konnten Enterokokken aus den Clustern 540, 948 und 518M zugeordnet werden.

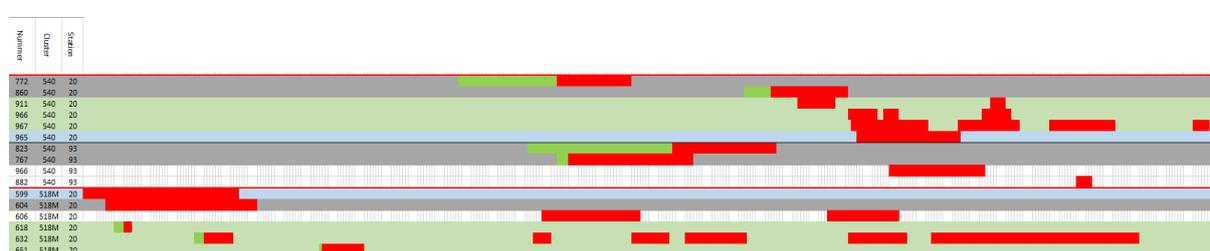


Abbildung 95: Taggenaue Abbildung der Belegung der Cluster 540 und 518M der Stationen 20, 21 und 93 im zeitlichen Verlauf.

Das kleinste der drei Cluster (518M) war dabei zwar durchgehend auf der Station 20 präsent, führte im Verlauf aber nur zu einer potenziellen Übertragung. Der Cluster 540 verzeichnete seine einzige Übertragung auf Station 93. Bei diesem Cluster wurde eine deutliche Bevorzugung des zweiten Studienabschnitts beobachtet. Vor Oktober 2017 konnten auf keiner der drei Stationen VRE-positive Enterokokken dieses Clusters nachgewiesen werden.

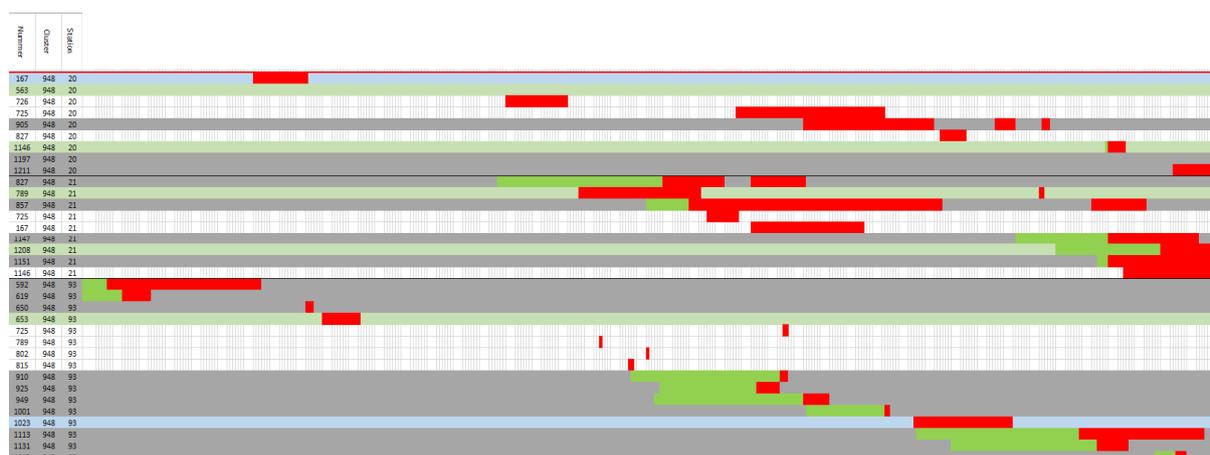


Abbildung 96: Taggenaue Abbildung der Belegung des Clusters 948 der Stationen 20, 21 und 93 im zeitlichen Verlauf.

Der größte Cluster auf den drei untersuchten Stationen mit onkologischen Patienten war der Cluster 948 mit 13 möglichen Übertragungen, dabei war dieser Cluster bereits am Anfang des Studienzeitraums auf Station 93 präsent und breitete sich erst auf Station 20 und später auch auf Station 21 aus. Cluster 948 war wie auch in der Gastroenterologie vor allem in der zweiten Hälfte der untersuchten Zeit aktiv. Große Häufungen an VRE-Tagen und auch Übertragungen wurde im November 2017 und im März 2018 auf den Stationen 93 und 21 beobachtet. Auf Station 20 kam es dagegen nur zu einer einzigen Übertragung.

Die Onkologie des Universitätsklinikums hatte wie die Gastroenterologie einen überlappenden Personal Pool und verlegte ebenso häufig Patienten in den räumlich nahe beieinanderliegenden und im Falle der Normalstationen nur auf dem Papier getrennten Stationen hin und her. Aus diesem Grund wurde auch hier ein Diagramm erstellt, das die beiden Hauptstationen der Onkologie und die mitgenutzte Intensivstation 93 als eine Station darstellte.

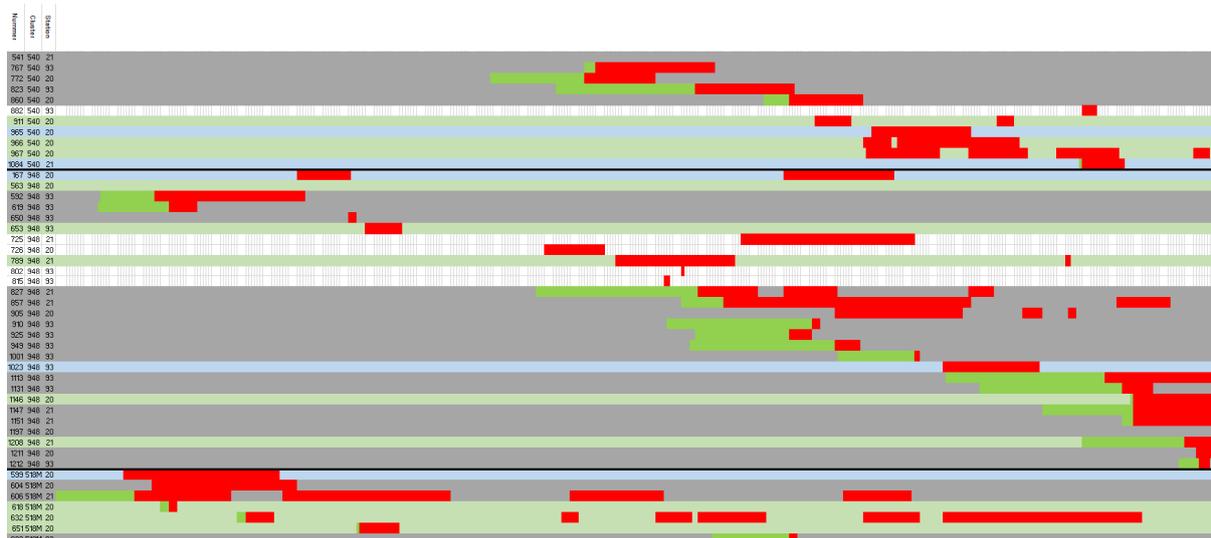


Abbildung 97: Taggenaue Abbildung der Belegung der Cluster der Stationen 20, 21 und 93 im zeitlichen Verlauf.

In Abbildung 97 konnten mit 21 sechs mögliche Übertragungen mehr als in den getrennten Stationen gezählt werden, davon betrafen drei den Cluster 518M, drei den Cluster 540 und 15 den Cluster 948. Genau wie in der Gastroenterologie dienten diese Diagramme vor allem der Verdeutlichung, dass die beiden Cluster 948 und 540 erst zu einem späteren Zeitpunkt auf den onkologische Patienten versorgenden Stationen heimisch geworden waren und von dem Punkt an ihre Präsenz bis zum Ende des zu erfassenden Zeitraums weiter zunahm.

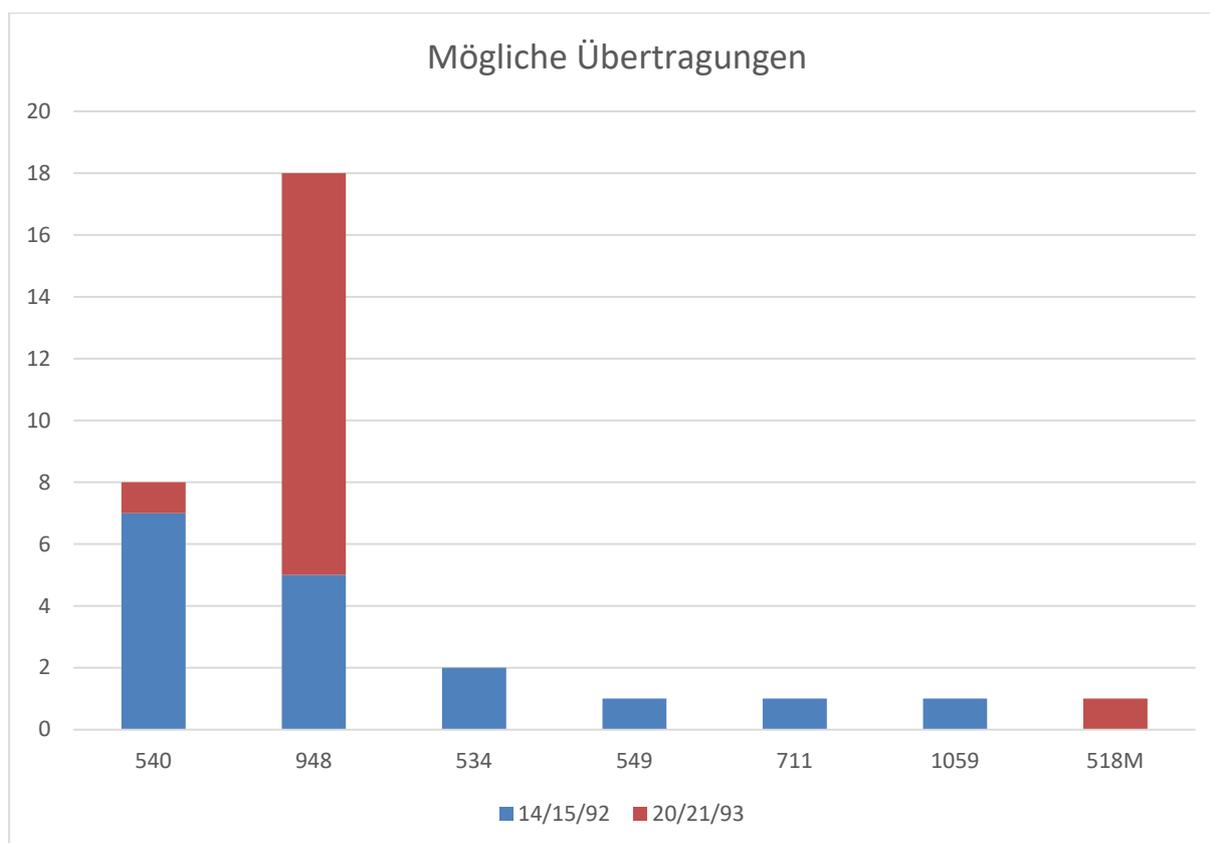


Abbildung 98: Mögliche Übertragungen der Stationen 14, 15 und 92 im Vergleich zu den Stationen 20, 21 und 93.

Die möglichen Übertragungen der beiden Kliniken wurden in Bezug auf die Clusterzusammensetzung in Abbildung 98 nochmals dargestellt. In den onkologische Patienten versorgenden Stationen 20, 21 und 93 wurden alle möglichen Übertragungen von Enterokokkenstämmen verursacht, die nur drei verschiedenen Clustern zugeordnet werden konnten. Die Gastroenterologie hatte dagegen mit sechs verschiedenen Clustern ein bei weitem größeres Repertoire an Enterokokkenstämmen, die für mögliche Übertragungen verantwortlich waren.

4 Diskussion

Die Resistenzentwicklung von Bakterien gegen Antibiotika stellt eine der großen Herausforderungen der Medizin des 21. Jahrhunderts dar. Aus diesem Grund gibt es seit dem Jahr 2015 sogar einen globalen Aktionsplan der Welt-Gesundheits-Organisation (WHO) um die Zunahme von Resistenzen bei Erregern einzudämmen (66). Durch Bemühungen bei der Weiterentwicklung von Antibiotika und durch eine Verbesserung der Hygienemaßnahmen ist es zwar bereits gelungen den für die meisten nosokomialen Infektionen verantwortlichen Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* in den Krankenhäusern zurückzudrängen (29), die Vancomycin-resistenten Enterokokken dagegen befinden sich in Deutschland und Europa weiter auf dem Vormarsch (67, 68).

4.1 Patientenkollektiv

In diesem Kapitel wird das für diese Studie verwendete Patientenkollektiv sowie die Beschaffenheit der analysierten Proben und Bakterien mit Daten aus anderen Arbeiten verglichen.

Die 272 Patienten dieser Studie setzten sich aus 65,8% Männern und nur 34,2% Frauen zusammen. Die Anzahl an Männern in dieser Studie war damit deutlich erhöht. Dies kann aber auch in anderen Arbeiten beobachtet werden, etwa in einer von Goll et al. publizierten Studie, in der 54,3% der Vancomycin-positiven Patienten männlichen Geschlechts waren (69), oder in einer erst 2018 erschienenen Dissertation der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, in der sogar 133 (59,6%) der 223 VRE-positiven Patienten Männer waren (70). Die erhöhte Anzahl an männlichen VRE-positiven Patienten in dieser Dissertation scheint also durchaus in einem normalen Bereich zu liegen.

Das durchschnittliche Alter der untersuchten Patienten lag bei 62,75 Jahren (SD 14,8) und schwankte zwischen acht Monaten und 88 Jahren. Das Durchschnittsalter der Patienten der bereits beschriebenen Dissertation aus Düsseldorf lag mit 60,0 Jahren bei einer ebenfalls verminderten Streubreite von 18 bis 83 Jahren nur wenig darunter. Da alle Patienten dieser Studie aus der Onkologie stammten, war der Patientenpool zwar nicht vollständig vergleichbar, es zeigte sich aber eine starke Ähnlichkeit auch bei der Altersverteilung der Patienten aus Düsseldorf und Regensburg (70).

Die in diese Studie eingeschlossenen Proben bestanden zum Großteil aus Enterokokken des Typs *E. faecium* (97,8%). Auch Mutters et al. gaben für einen Beobachtungszeitraum von über fünf Jahren an der Universitätsklinik Heidelberg eine *E. faecium* Rate bei Vancomycin-resistenten Enterokokken von 94,8% an (71). Das epidemiologische Bulletin des Robert Koch-Instituts beschrieb für den Zeitraum 2013/14 mit 92% aller eingesendeten Enterokokken-Stämme zwar eine etwas niedrigere, aber immer noch sehr hohe Quote an *E. faecium*. Die Verteilung der *van*-Gene lag hier bei 44,6% *vanA*- und 45,1% *vanB*-positiven Bakterien (72).

Klare et al. beschrieben in ihrer Auswertung der Daten des nationalen Referenzzentrums für Staphylokokken und Enterokokken von 2011 einen leichten Überhang an *vanA*-positiven Enterokokken (56,8%) (22). Die Daten des

Universitätsklinikums Regensburg zeigten dagegen, dass in den Anfangsjahren der VRE-Ausbreitung der *vanB*-Genotyp in Regensburg deutlich dominierte, wohingegen die neuesten Daten des RKI für ganz Deutschland von 2017 (13) genau wie die Daten dieser Arbeit nur eine leichte Häufung von *vanB*-positiven Enterokokken (53,6%) aufweisen. Hier scheint bei den *van*-Genen eine Anpassung Regensburgs an die Gesamtheit Deutschlands stattgefunden zu haben.

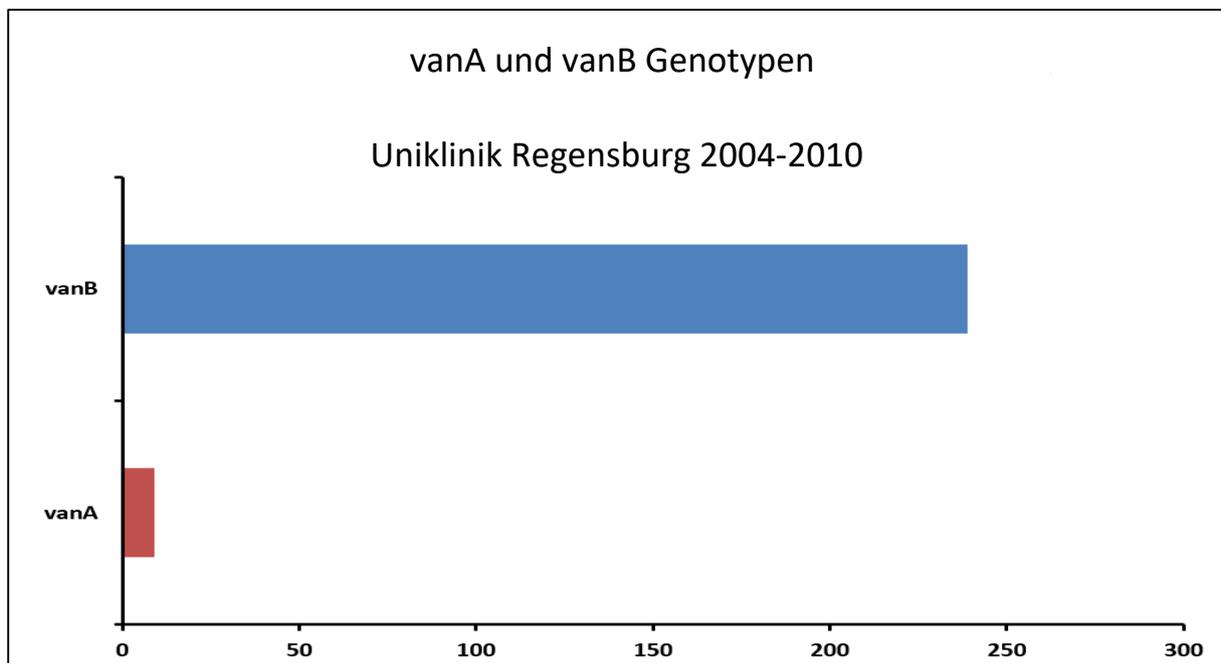


Abbildung 99: *vanA*- und *vanB*-Aufteilung der Isolate des UKR im Zeitraum von 2004 bis 2010.

Ein deutlicher Unterschied zu den Daten des nationalen Referenzzentrums fand sich dagegen bei den Abnahmeorten der Proben. Die in dieser Arbeit verwendeten Proben stammten zu 63,6% aus Perianalabstrichen und zu 13,6% aus Urin. Die Publikation des epidemiologischen Bulletins 2007 gab dagegen nur in 22,4% aller Einsendungen Perianalabstriche und in 10,8% Urin als Abnahmeort an. Bei der Publikation des RKI muss allerdings darauf geachtet werden, dass 28,4% aller Isolate als un spezifiziert kategorisiert wurden (73). Zehn Jahre später (2017) lag der Wert an unbestimmbaren Proben nur noch bei 7%. Dafür erhöhten sich die von Rektalabstrichen gewonnenen Isolate auf 43,5% und die aus Urin stammenden auf 16,5% (13). Nichtsdestotrotz blieb auch mit dieser Steigerung die Rate des UKR an eingesendeten Perianalabstrichen im direkten Vergleich zum Nationalen Referenzzentrum erhöht. Der Grund für diese Abweichung lag höchstwahrscheinlich an den in dieser Arbeit überrepräsentierten VRE-Nachweisen aus der Gastroenterologie, die 32,7% aller Einsendungen ausmachten.

Vor allem die Intensivstation der Klinik für Innere Medizin I (Gastroenterologie) (ITS-Station 92) war mit 20,9% aller eingesandten Isolate für diesen Überschuss verantwortlich. Im Vergleich dazu kamen in der Studie des nationalen Referenzzentrums 2016 nur 23,9% der Isolate aus der Inneren Medizin (inklusive Innere ITS).

Mit 31,6% stammte ein sehr hoher Anteil aller Einsendungen an das Referenzzentrum von Intensivstationen (13). Dies deckte sich weitestgehend mit den Daten dieser Dissertation (36,4%), wobei auch hier die leichte Erhöhung durch die erhöhte Probeneinsendung der Intensivstation der Gastroenterologie verursacht wurde.

Von den 272 VRE-Patienten dieser Studie wurden 20,2% durch ein Eingangsscreening detektiert. 18,0% aller Patienten hatten die Enterokokken mitgebracht und bei 61,8% wurde eine nosokomiale Übertragung vermutet. Hier muss noch einmal betont werden, dass für die Klassifikation als nosokomial allein der zeitliche Abstand von der Aufnahme des Patienten bis zur Abnahme der VRE-positiven Untersuchungsprobe definiert ist und keine tatsächliche nosokomiale Übertragung (zeitlicher, nicht kausaler Zusammenhang) bestehen muss. Diese Daten ließen sich gut mit denen von Goll et al. in Einklang bringen, die in ihrer sechsjährigen Studie eine durchschnittliche nosokomiale Quote von 62,9% auswiesen (69).

In den Grafiken der Stationen ist zu beachten, dass Patienten, die bereits vor dem Untersuchungszeitraum VRE-positiv getestet wurden, immer als mitgebrachte Fälle markiert wurden. Diese Einteilung erfolgte auch bei Patienten, deren ursprüngliche Übertragung vor dem Untersuchungszeitraum als nosokomial eingestuft wurde.

Das für diese Studie verwendete Patientengut ist somit insgesamt mit dem anderer zum Thema VRE durchgeführter Studien vergleichbar. Auch die eingesendeten Isolate unterscheiden sich, abgesehen vom Abnahmeort, nur wenig von den Daten des nationalen Referenzzentrums. Die Ergebnisse dieser Arbeit bestätigen somit auch die in anderen Studien ermittelten Daten.

4.2 Diskussion der Cut-Off-Werte und Clustereinteilung

Der IR-Biotyper ermittelte für jede Auswertung automatisch einen Cut-Off-Wert. Dabei versuchte das Programm diesen Wert möglichst niedrig zu halten, ohne dass dabei Proben zersplitterten. Ein Cut-Off-Wert von eins stand dabei für die Vereinigung aller Messpunkte in nur einem Cluster, bei null entsprach die Anzahl der Cluster der Anzahl an einzuteilenden Messpunkten, womit jeder Wert sein eigenes Cluster besaß. Die zu verwendenden Cut-Off-Werte unterscheiden sich je nach Spezies, eine Liste von Bruker ist unter 2.3.4 zu finden.

Um die Ergebnisse des IR-Biotypers aus mehreren Projekten miteinander vergleichen zu können, war es nötig, den Cut-Off-Wert immer an dieselbe Stelle zu legen. Dies war nur in der Auswertungsmethode Euclidean-average-linkage möglich, da nur hier die Skalierung der X-Achse sich nicht abhängig von der Probenanzahl veränderte. Die Cut-Off-Werte aller anderen Auswertungsfunktionen des Biotypers konnten nicht miteinander verglichen werden und dienten nur der besseren Veranschaulichung der Ergebnisse eines Projekts (60).

Für diese Arbeit wurde bei den zu vergleichenden Auswertungen, wie der Validierung oder den Agar Tests, darauf geachtet, dass immer derselbe Cut-Off-Wert für eines dieser Projekte verwendet wurde.

Die Werte wurden so eingestellt, dass bei einem möglichst kleinen Cut-Off (der bei Enterokokken zwischen 0,15 und 0,2 liegen sollte) so wenig Proben wie möglich streuten.

Als Beispiel dient hier der Agar-Versuch, bei dem drei Nährböden miteinander verglichen werden sollten und aus diesem Grund ein gemeinsamer Cut-Off-Wert gesucht wurde. Wie in Abbildung 100 deutlich wird, teilen sich bei einem Cut-Off-Wert von 0,190 viele Proben zwischen den beiden umrahmten Clustern auf. Dies ist ein Zeichen, dass es sich bei den beiden kleineren Clustern eigentlich um einen Großen handelt, aber der Cut-Off-Wert zu niedrig eingestellt ist. Bei einer minimalen Erhöhung auf 0,191 zeigt sich, dass nun alle Proben sauber in den neuen größeren Cluster eingeordnet werden.

Bei einem Blick auf die Abbildung mit dem Cut-Off-Wert 0,191 fällt zudem auf, dass alle noch übrigen Cluster nur sehr entfernt miteinander verwandt sind. Bei einer weiteren Cut-Off Verschiebung kann also erst bei einer extremen Erhöhung (über die Grenze von 0,2 hinaus) mit einer weiteren Verbesserung der Splitterung gerechnet werden. Auf diese Weise war es möglich für jedes Projekt einen möglichst optimalen Cut-Off-Wert zu finden.

An dieser Stelle muss angemerkt werden, dass der Cut-Off-Wert untersucherabhängig ist. Durch das Auffinden von Werten, bei denen eine minimale Senkung eine starke Zersplitterung zwischen zwei neu entstandenen Clustern und eine Linksverschiebung erst bei einer unverhältnismäßigen Erhöhung oder dem Überschreiten des empfohlenen Höchstwerts für Enterokokken eine Verbesserung brachte, war es trotzdem möglich einen guten und reproduzierbaren Cut-Off-Wert zu finden.

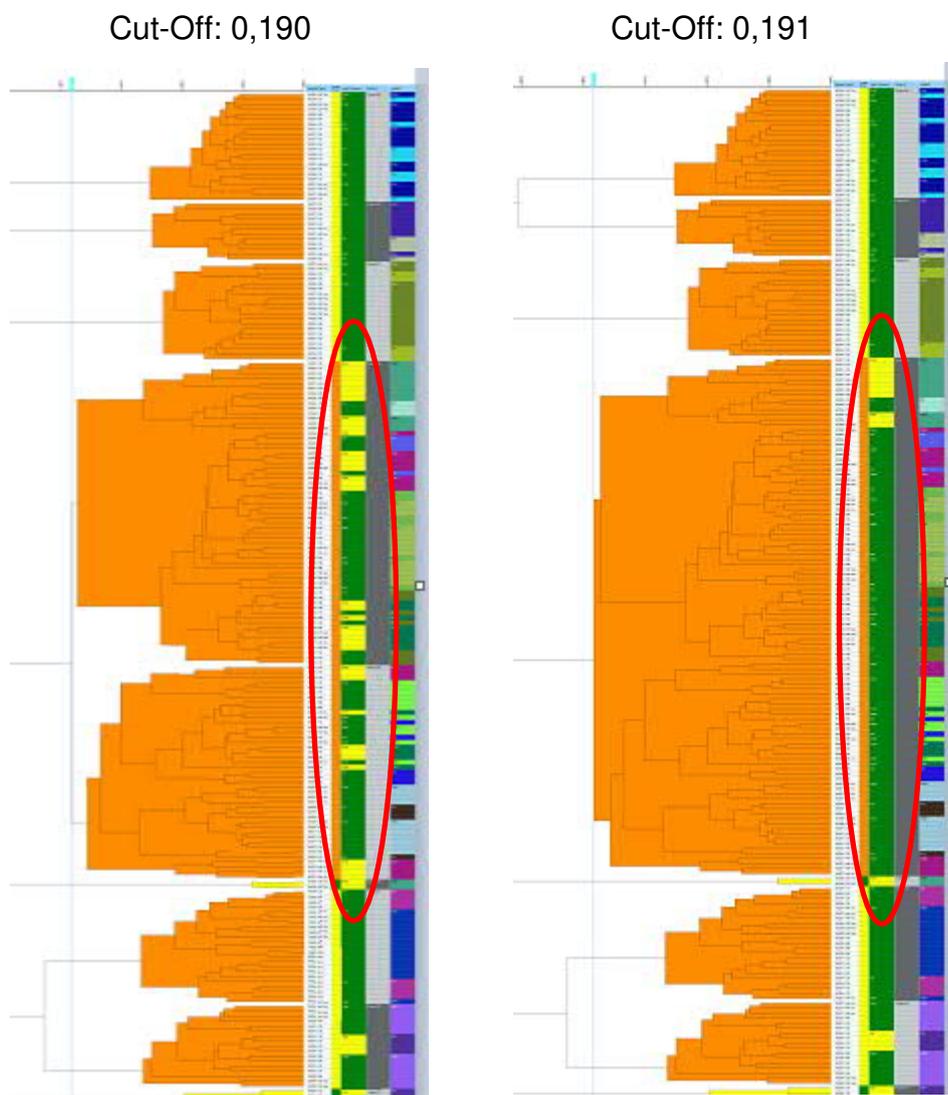


Abbildung 100: Ausschnitt aus dem Biotyper Programm, Auswertung Müller-Hinton-Agar Versuch.

Die Einteilung der Isolate dieser Arbeit in Cluster erfolgte bei einem Cut-Off-Wert von 0,188. Auch hier hatte es wie in Abbildung 100 einen Punkt gegeben, an dem viele Proben zwischen zwei Clustern splitterten und vereint werden konnten.

Die Wahrscheinlichkeit, dass die beiden Messpunkte jeder Probe dabei falsch einsortiert wurden, lag wie unter 3.4 beschrieben bei 0,5% ($\pm 0,19$).

Bei 250 eingeteilten Proben bedeutete dies, dass höchstwahrscheinlich ein bis zwei Patienten in einen falschen Cluster eingeteilt wurden. Dies ist ein durch die Messungenauigkeit der Maschine hervorgerufener und nicht vermeidbarer Fehler, wie er bei allen Typisierungs- und Messverfahren auftritt (74, 75).

Die Gesamtclustereinteilung wurde zusätzlich auch noch durch einen Versuch überprüft, bei dem für alle Isolate einer Station vier Messpunkte analysiert wurden. Dabei zeigte sich, dass vor allem in kleinen Stationen eine sehr gute Reproduzierbarkeit gegeben war. In den größeren Stationen mit mehreren hundert Messpunkten kam es zwar zu vereinzelt Clusterverschiebungen, dies konnte aber sowohl auf den nicht zu umgehenden Messfehler von 7,1%, als auch auf Verunreinigungen, die mit dem Einfügen splitternder Messpunkte, die in der Gesamtclustereinteilung in einem Vorversuch identifiziert und ausgeschlossen worden waren, zurückgeführt werden. Die Gesamtauswertung dieses Kontrollversuchs machte deutlich, dass die Clustereinteilung auch bei einem Einfügen von mehr und anderen Messpunkten reproduzierbar blieb.

4.3 Agar Versuch

In der Arbeitsanweisung gab Bruker für die Kultivierung aller Bakterien den Columbia-Blut-Agar als Nährmedium an. Um aber speziell für Enterokokken den optimalen Agar zu finden, wurde trotzdem ein Versuch durchgeführt, in dem drei vielversprechende Nährmedien miteinander verglichen wurden.

Bei den drei Nährmedien handelte es sich um Columbia-Frischblut-, Müller-Hinton-II- und Herz-Hirn-Agar, deren Herstellung und Zusammensetzung unter 2.5 beschrieben wurden.

Für den Vergleich dieser Nährmedien wurden die Erfolgsquoten der Messungen, Auswertungen und der Gesamtwert aller für spätere Untersuchungen verwendbaren Messpunkte betrachtet. Am wichtigsten war hierbei eine hohe Messgenauigkeit, die mit der Anzahl an falsch eingeordneten Messpunkten zusammenhing.

Ob ein Messpunkt falsch eingeordnet worden war zeigte sich dadurch, dass er nicht mit den anderen Messpunkten seines Isolats im selben Cluster zu finden war. Als richtiger Cluster galt dabei der, in dem die Mehrheit der Messpunkte einer Probe landeten. Bei 20 und mehr Messpunkten je Probe gab es nur selten Probleme einzelne Splitter zu identifizieren.

Um den Einfluss vermehrter Erfahrung auf die Ergebnisse der Agar Tests einzuschränken, wurden die Nährmedien nicht nacheinander, sondern nebeneinander über einen Zeitraum von zehn Tagen analysiert. Auf diese Weise profitierten alle Agar gleichmäßig vom Erfahrungsgewinn. Um zusätzlich weitere Störfaktoren zu vermeiden, wurden bevorzugt Proben, die auf verschiedenen Nährmedien angezüchtet wurden, auf dieselbe Platte aufgetragen und somit gleichzeitig gemessen.

Tabelle 25: Verschiedene Agar im Vergleich.

Nährmedium/Agar	Erfolgsquote		
	Messung	Auswertung	Gesamt
Columbia-Frischblut	60,9% ($\pm 5,5\%$)	91,0% ($\pm 2,8\%$)	55,5% ($\pm 5,2\%$)
Herz-Hirn	84,5% ($\pm 4,7\%$)	84,4% ($\pm 6,0\%$)	71,4% ($\pm 5,3\%$)
Müller-Hinton-II	76,9% ($\pm 4,1\%$)	97,8% ($\pm 1,7\%$)	75,0% ($\pm 4,4\%$)

Der von Bruker empfohlene Frischblut-Agar hatte bei den Messungen nur eine etwa 61 prozentige ($\pm 5,5\%$) Erfolgsquote. Die Wahrscheinlichkeit einen Messpunkt falsch einzusortieren lag bei 9% ($\pm 2,8\%$). Insgesamt konnte nur etwa die Hälfte der in den IR-Biotyper gegebenen Proben verwendet werden, was einen hohen zusätzlichen Material- und Zeitaufwand bedeutete. Für die hohe Anzahl an nicht messbaren Proben war möglicherweise die proteinreiche Zusammensetzung des Agars gekoppelt mit dem tiefen Eingraben und der schlechten Ablösbarkeit der Bakterien vom Agar verantwortlich. Da der Biotyper ein Verfahren ist, bei dem die Proben mittels Protein-Fingerabdruck analysiert werden, sind bereits kleine Mengen des rötlichen Blut-Agars innerhalb der sonst weiß- bis gelblichen Enterokokken ausreichend, um zu Messfehlern oder einer Überschreitung der Absorption zu führen (59).

Der Herz-Hirn-Agar schnitt bei der Zahl erfolgreicher Messungen wesentlich besser ab. 84,5% ($\pm 4,7\%$) aller Messungen waren erfolgreich, dafür betrug die Fehlerquote bei der Auswertung 15,6% ($\pm 6,0\%$) und war mit einer extremen Splitterung verbunden. Dies kostete nicht nur ein hohes Maß an Zeit, um die falsch eingeordneten Messpunkte per Hand zu entfernen, sondern führte auch zu einer sehr hohen Messungenauigkeit. Zusätzlich splitteten einige Proben in etwa gleich große Lager, was eine Unterscheidung zwischen falsch und richtig einsortierten Messpunkten nicht mehr sicher zuließ und die Auswertbarkeit weiter einschränkte. Da der Herz-Hirn-Agar vor allem für anspruchsvolle Organismen gedacht ist (76), lag diese Zersplitterung möglicherweise an einem Überangebot an Nahrung und einer dadurch zu starken Differenzierung der Proteinexpression während der Bebrütung.

Insgesamt betrachtet führte der Müller-Hinton-II-Agar mit 75% ($\pm 4,1\%$) verwendbaren Messpunkten. Auch wenn er bei der Anzahl an auswertbaren Messergebnissen durch den Herz-Hirn-Agar leicht übertroffen wurde, schlug er doch mit nur 2,3% ($\pm 1,7\%$) falsch eingeordneten Messpunkten die konkurrierenden Nährböden die Messgenauigkeit betreffend deutlich.

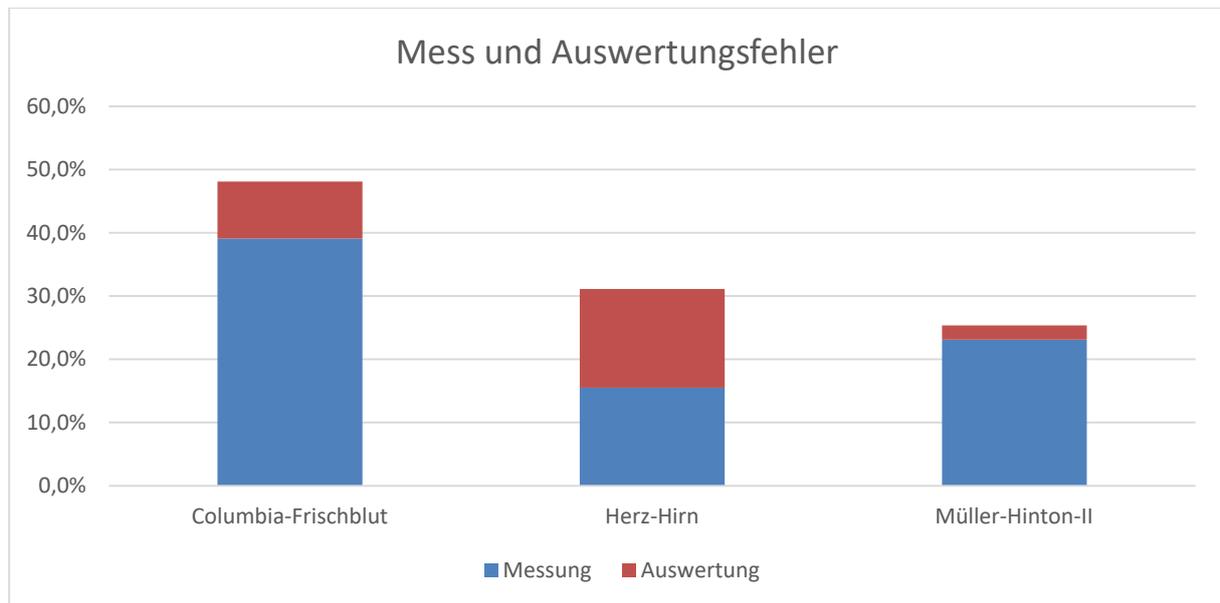


Abbildung 101: Mess- und Auswertungsfehler der verschiedenen untersuchten Agar.

In Abbildung 101 wird deutlich, dass der Müller-Hinton-II-Agar bei der Menge an auswertbaren Proben, aber vor allem auch beim Anteil falsch eingeordneter Messpunkte, klar führte. Da die Messgenauigkeit als Hauptvergleichskriterium galt, konnte sich hiermit der Müller-Hinton-II-Agar klar gegen seine Konkurrenten durchsetzen.

Aufgrund dieses Ergebnisses wurden die Isolate für alle weiterführenden Tests und Versuche ausschließlich auf dem Müller-Hinton-II-Agar angezüchtet.

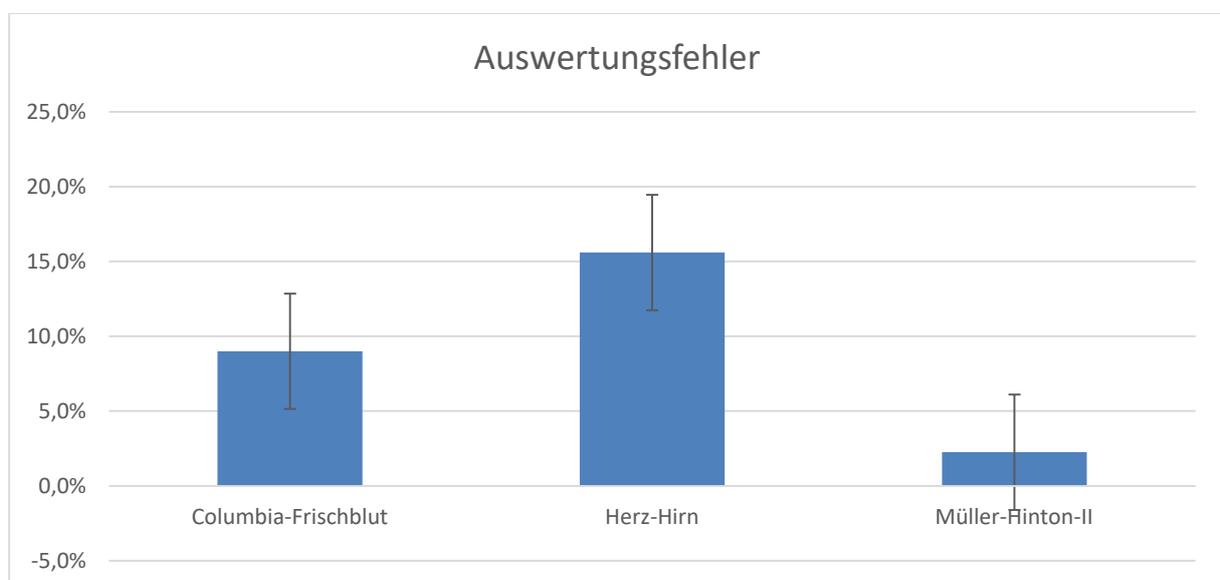


Abbildung 102: Auswertungsfehler der verschiedenen Agar mit Standardfehler.

4.4 Validierung

Ein wichtiger Teil der Arbeit umfasste die Validierung des IR-Biotypers. Zu diesem Zweck wurden die 30 unter 3.3 zu findenden Proben binnen zwei Wochen zehnmal mit dem IR-Biotyper gemessen und die Ergebnisse untereinander verglichen.

Von den 900 Messpunkten konnten 206 nicht richtig gemessen werden. 49 Punkte wurden in einen falschen Cluster eingeordnet. Dies entsprach einem 77,1 prozentigen ($\pm 2,3\%$) Mess- und einem 92,9 prozentigen ($\pm 1,4\%$) Auswertungserfolg. Die Wahrscheinlichkeit, dass ein Messwert in einen falschen Cluster eingeordnet wurde, lag damit bei 7,1% ($\pm 1,4\%$). Bei der Verwendung von zwei Messpunkten, wie in der Gesamtclustereinteilung aller Proben (4.2), lag die Wahrscheinlichkeit, dass beide in einen falschen Cluster einsortiert wurden, sogar nur bei 0,5% ($\pm 0,19\%$).

In zukünftigen Typisierungen sollten gemäß Bruker pro Isolat vier Messpunkte ausgewertet werden, von denen nur einer nicht im Cluster der anderen (Splitter) zu finden sein darf. Die Wahrscheinlichkeit, dass eine Probe in diesem Fall richtig eingeordnet wird, beträgt $P(4/4, 3/4) = 97,2\%$ ($\pm 0,11\%$).

An dieser Stelle muss vermerkt werden, dass bei einer Aufsplitterung in je zwei Messpunkte oder wenn das Erkennen des richtigen Clusters nicht möglich ist, die Messung für ungültig erklärt und neu durchgeführt werden muss.

In der Validierung wurde auch untersucht, ob die Anzahl auswertbarer Messpunkte sich mit größerer Erfahrung steigern ließ. Zu diesem Zweck wurden die Daten der ersten mit denen der zweiten Validierungswoche verglichen.

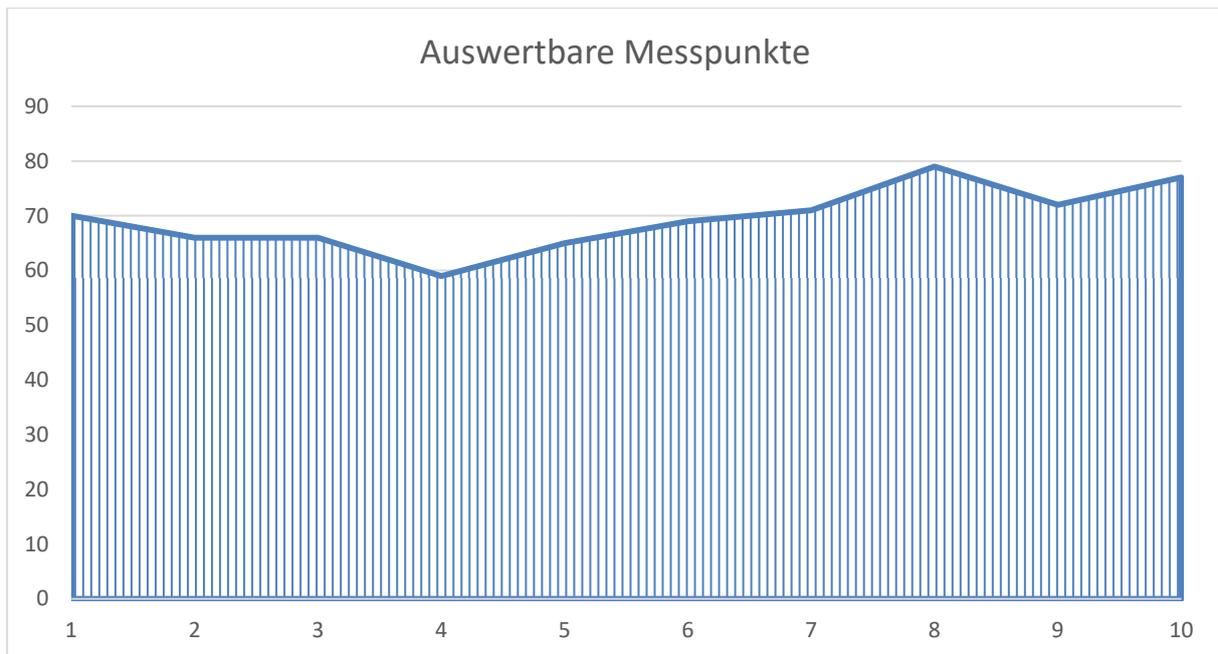


Abbildung 103: Auswertbare Messpunkte abhängig von den Messungen.

In Abbildung 103 wird deutlich, dass innerhalb der Messungen eine leichte Steigerung der auswertbaren Messpunkte stattgefunden hat. In Tabelle 14 wird diese Tatsache bestätigt. Insgesamt konnten die Erfolgsquoten der Messung und Auswertung um etwa ein Drittel gesteigert werden. Dies wies auf einen hohen Einfluss der Erfahrung des Durchführenden auf die Qualität der Ergebnisse hin.

Tabelle 15: Vergleich der ersten und zweiten Validierungswoche.

Validierung 1-5		Validierung 6 - 10	
Messung	Auswertung	Messung	Auswertung
72,4%	90,8%	81,8%	94,8%

Für die Messungsgenauigkeit des IR-Biotypers wurde in dieser Arbeit trotzdem der Wert der gesamten Validierung (7,1%) verwendet. Da aber mit steigender Erfahrung die Messungsgenauigkeit abnahm und für die Clustereinteilung eher auf dem Wert der zweiten Validierungswoche (5,2%) beruhte, ist der tatsächliche Messfehler sehr wahrscheinlich geringer als in dieser Studie ausgewiesen.

Die Entscheidung, die Daten der ersten Woche trotzdem mit zu verwenden, wurde getroffen, um eine Verfälschung der Validierung durch eine ausschließliche Wertung guter Ergebnisse zu verhindern. Dafür wurde auch das Ausweisen einer zu hohen Messungsgenauigkeit in Kauf genommen.

Die Validierung diente darüber hinaus auch als Vergleich für den Versuch zur Kosteneinsparung, bei dem die gleichen Proben jedoch ohne Biotyper Kits, sondern mit selbst angezüchteten Teststandards und handelsüblichen autoklavierten Eppendorf Cups gemessen wurden.

Die Messungen des Kostenreduktionsversuchs wurden wie die der Validierung durchgeführt. Sogar bei Arbeitsschritten wie dem Vortexen wurde sekundengenau dieselbe Zeit eingehalten, um eine möglichst große Vergleichbarkeit zu erhalten.

Von den 180 Messpunkten führten 170 zu einem auswertbaren Ergebnis. Bei der Auswertung dieser Punkte ordnete sich nur ein einziger Messpunkt in einen falschen Cluster ein.

Tabelle 19: Vergleich der Ergebnisse des Kostenreduktionsversuchs mit denen der Validierung.

Kostenreduktion		Validierung	
Messung	Auswertung	Messung	Auswertung
94,4% ($\pm 2,3\%$)	99,4% ($\pm 0,6\%$)	77,1% ($\pm 2,3\%$)	92,8% ($\pm 1,4\%$)

Die Ergebnisse der Messungen des Kostenreduktionsversuchs waren damit deutlich besser als die mittels IR-Biotyper-Kit gemessenen der Validierung. Dieser Umstand war aber möglicherweise der gestiegenen Erfahrung geschuldet, da der kostensparende Ansatz zu einem späteren Zeitpunkt als die Validierung erfolgte. Neben dem Vergleich der beiden Versuche wurden die Messdaten zudem auch gemeinsam ausgewertet um die Vereinbarkeit der Ergebnisse zu prüfen.

Tabelle 21: Vergleich der Ergebnisse der Validierung inklusive und exklusive des kostensparenden Versuchs.

Kostenreduktion/Val		Validierung	
Messung	Auswertung	Messung	Auswertung
80,0% ($\pm 2,1\%$)	93,6% ($\pm 1,2\%$)	77,1% ($\pm 2,3\%$)	92,8% ($\pm 1,4\%$)

Die Messpunkte der billigeren Messungen ordneten sich dabei sehr gut innerhalb der Messpunkte der Validierung ein. Es konnte kein Anstieg an in falsche Cluster eingeordneten Messpunkten festgestellt werden.

Dem Biotyper war es zusätzlich nicht möglich zwischen den Proben der verschiedenen Versuche eine klare Unterscheidung zu treffen, er vermischte die Proben oft vollständig in einem Cluster.

Das Ergebnis zeigte somit, dass eine Messung und Auswertung von Proben ohne die teuren IR-Biotyper-Kits nicht nur möglich waren, sondern auch ein Abfall der Qualität nicht befürchtet werden musste. Die Schlussfolgerung aus diesem Ergebnis war somit, dass gerade bei einem schnellen Typisierungsverfahren, welches nur eine Vorauswahl an weiter zu untersuchenden Proben trifft und bei dem die Kostenfrage von enormer Bedeutung ist, auf die Biotyper-Kits verzichtet werden kann und sollte.

4.5 Vergleich mit bekannten Messverfahren

Um die Diversität der zu untersuchenden Bakterien zu analysieren, wurden Verwandtschaftsanalysen (Clusteranalysen) durchgeführt. Die Mikroorganismen konnten so in Gruppen eingeteilt und mithilfe von Stammbäumen verglichen werden. Die Einteilung in diese Cluster wurde mit dem IR-Biotyper durchgeführt und mit den Ergebnissen der Gelelektrophorese (PFGE), MLST-Typisierung und Whole-Genom-Sequencing verglichen.

Die Pulsfeldgelelektrophorese gilt immer noch als Goldstandard bei der Typisierung von lokalen und zeitlich begrenzten Ausbrüchen von Vancomycin-resistenten Enterokokken (77, 78). Hierbei wird die DNA der Bakterien in 15 bis 20 relativ große Fragmente zerschnitten und nach Größe getrennt. Die PFGE zeichnet sich dabei durch ihre hohe diskriminative Kraft, eine gute Reproduzierbarkeit und die leichte Auswertbarkeit aus. Der Nachteil der Methode besteht allerdings im technischen und vor allem zeitlichen Aufwand. Je nach Protokoll dauert eine Auswertung von Erregern vier bis sieben Tage. Außerdem ist der Einsatz der PFGE nur bei lokalen und zeitlich begrenzten Ausbrüchen sinnvoll, da die Elektrophorese für längere Zeiträume zu diskriminativ ist (79, 80). Aus diesem Grund konnte die PFGE auch nicht als Vergleich herangezogen werden, da die zur Validierung verwendeten VRE-Stämme zum Teil über mehrere Jahre auseinander liegende Abnahmezeitpunkte hatten. Dies zeigte sich auch bei einem Vergleich der Clustereinteilung der PFGE mit der des IR-Biotypers, bei dem sich zwar die meisten PFGE Cluster in bestimmten Bereichen wiederfanden, die Ergebnisse aber wie erwartet nicht mit denen des Biotypers komplett in Übereinstimmung gebracht werden konnten.

Ein Vorteil des IR-Biotypers war damit, dass die Reproduzierbarkeit und diskriminative Kraft auch für eine Betrachtung eines größeren Zeitraums geeignet waren, ohne dass durch die leichten Veränderungen der Enterokokken im Laufe der Zeit eine Einteilung in gleiche Cluster verhindert wurde. Dies zeigte sich deutlich anhand der großen Cluster 540 und 948, die Bakterien aus Abnahmen mit fast zwölf Monaten Abstand enthielten. Ein weiterer Vorteil war, dass, anders als bei der Pulsfeldgelelektrophorese, die Diskriminierungsstärke bei Analysen mit dem IR-Biotyper durch Verstellung des Cut-Off-Wertes verändert werden konnte.

Dadurch war sowohl die Betrachtung von kleineren, zeitlich begrenzten Ausbrüchen als auch eine Analyse aller Proben eines Krankenhauses über mehrere Jahre möglich.

Ein weiteres häufig benutztes Verfahren in der mikrobiologischen Diagnostik ist das 1998 beschriebene Verfahren der Multilocus-Sequenz-Typisierung (MLST). Hierbei werden bei Enterokokken sieben Housekeeping-Gene gemessen und die Ergebnisse anschließend weltweit miteinander verglichen (44, 81, 82). Da die Housekeeping-Gene speziell aufgrund ihrer geringen Mutationsrate ausgesucht wurden, können mit dieser Methode auch längere Zeiträume untersucht werden (83). Dies führt allerdings auch zu einer niedrigeren diskriminativen Stärke des Verfahrens. Das kann in Situationen, wie etwa bei der Untersuchung von nosokomialen Ausbrüchen, in denen eine höhere Trennschärfe von Nöten ist, von Nachteil sein (84). Weitere Nachteile der MLST-Typisierung sind der hohe Aufwand, da für jede Enterokokkenprobe sieben PCRs durchgeführt werden müssen, die Auswertung und Kontrolle der Laborergebnisse per Hand und die relativ hohen Kosten (80). Bei dem Vergleich der MLST-Typisierung mit dem IR-Biotyper befanden sich nur in einem Fall zwei verschiedene MLST-Typen in einem Biotyper Cluster, aber viele der MLST-Cluster wurden durch den Biotyper weiter unterteilt. Die Daten der Studie wiesen somit darauf hin, dass es dem Biotyper möglich war, eine Subdifferenzierung der MLST-Typen zu treffen. Dies zeigte sich auch in der Auswertung der Stationen 20 und 21, in der die MLST-Cluster ebenfalls durch den IR-Biotyper weiter unterteilt wurden. Dieser Umstand führte bei einer Untersuchung der Stationen mithilfe der MLST-Daten durch dessen geringere Trennschärfe zu einer teils starken Zunahme an möglichen Übertragungen.

Die stärkere diskriminative Kraft des IR-Biotypers konnte damit erklärt werden, dass im Gegensatz zu der MLST-Typisierung oder dem Core-Genom-Sequencing der IR-Biotyper die Mikroorganismen inklusive aller Plasmide analysierte und somit empfänglicher für Veränderungen war als Messungen, deren Ergebnisse nur auf sieben Housekeeping- oder auf dem Core-Genom gelegenen Genen beruhten.

Neben den beiden älteren Verfahren ist es seit geraumer Zeit auch möglich ohne Umwege direkt das Genom der Bakterien zu untersuchen. Durch das Anhängen und detektieren von Fluoreszenzmarkern an jedes einzelne dNTP ist es sogar möglich einzelne Single Nukleotide Polymorphismen (SNP) zu erkennen (45). Mit dem Whole-Genome-Sequencing ist somit nicht nur eine Verwandtschaftsanalyse, sondern auch ein Detektieren einzelner Resistenzgene möglich (85). Die Methode ist dabei so genau, dass zum Beispiel bei einem Linezolid-resistenten *Enterococcus faecium* sogar eine Unterscheidung zwischen auf dem Chromosom verankerten oder auf Plasmiden befindlichen Resistenzgenen getroffen werden kann (86). Dies kann helfen die von einzelnen Bakterien ausgehende Gefahr zu konkretisieren, da ausschließlich Enterokokken, die das Resistenzgen auf einem Plasmid mit sich führen, dies auch auf andere Bakterien übertragen können. Darüber hinaus kann das Whole-Genome-Sequencing auch gut bei lokalen, zeitlich begrenzten Ausbrüchen verwendet werden (87). Neben der hohen diskriminativen Kraft kann hier zusätzlich von der Möglichkeit profitiert werden, dass neben der Antibiotikaresistenz auch eine Analyse von Virulenzfaktoren möglich ist (88). Vor allem bei dem normalerweise wenig virulenten *Enterococcus faecium* kann diese Information vor einem großen Ausbruch eines neuen, mit vielen Virulenz-steigernden Faktoren ausgestatteten Stamms warnen.

Ein Nachteil der Methode ist allerdings, dass bis zur fertigen Analyse der Proben vier bis fünf Tage vergehen können. Der größte negative Aspekt bleiben aber die enormen Kosten, die entgegen der Erwartungen in den letzten Jahren nicht signifikant gesunken sind (89). Bei zirka 202 € pro Typisierung wären allein für eine Untersuchung aller neuen VRE-positiven Patienten des UKR binnen zwölf Monaten Kosten in Höhe von 55.000 € entstanden. Die Anschaffungskosten für ein Gerät zur WGS-Typisierung sind hierbei noch nicht einmal mitgerechnet (90, 91).

Bei den WGS-Daten dieser Studie handelte es sich um Core-Genome-Daten. Bei dem Vergleich mit dem Biotyper zeigte sich, dass Proben, die sehr wenige SNP-Abweichungen enthielten, auch durch den Biotyper in denselben Cluster eingeordnet wurden. In manchen Fällen trennte der Biotyper allerdings Isolate, die laut den WGS-Daten relativ nahe zusammen lagen. Hierbei muss aber beachtet werden, dass zum Beispiel bei *E. faecialis* jedes Jahr etwa zwei bis drei SNP Unterschiede entstehen und die Isolate 3986 und 3967 mit 19 SNP Unterschieden somit bereits sieben Jahre

auseinander liegen könnten (92). In dieser Zeit war eine Aufnahme verschiedener Plasmide und Resistenzgene möglich, die durch den Biotyper gemessen wurden und zu der Einteilung in andere Cluster führten.

Zusammenfassend konnte in dieser Studie somit festgestellt werden, dass für die untersuchten Proben keine der drei Typisierungsmethoden, die zum Vergleich mit dem Biotyper verwendet wurden, mit diesem komplett identische Ergebnisse lieferte. Bei der MLST-Typisierung sorgte der IR-Biotyper für eine weitere Subdifferenzierung. Auch bei einem Vergleich mit WGS-Daten konnte hier eine gewisse Abhängigkeit, vor allem bei sehr nahen miteinander verwandten Isolaten, festgestellt werden. Die Unterschiede entstanden dabei, wie bereits in diesem Kapitel thematisiert, aufgrund der verschiedenen Herangehensweisen der Typisierungsverfahren (Fragmentgröße, Housekeeping-Gene, Core-Genom und Absorptionsmessung). Durch die Analyse aller Proteine, inklusive der Plasmid-codierten, war es dem Biotyper möglich bei einem niedrigen Cut-Off-Wert eine relativ hohe diskriminative Kraft zu entwickeln, während hohe Cut-Off-Werte eine Betrachtung längerer Zeiträume erlaubten. Enorme Vorteile des Biotypers gegenüber den anderen Verfahren waren zudem der geringe Zeiteinsatz von unter 48 Stunden, die leichte Erlern- und Bedienbarkeit des Verfahrens und vor allem die geringen Kosten. Diese lagen durch die selbst hergestellten Teststandards bei nur etwa einem Euro pro Isolat. Ein Nachteil war dagegen, dass mit dem Biotyper ausschließlich die Bestimmung von Verwandtschaftsbeziehungen möglich war, einzelne Resistenz- oder Virulenzgene konnten nicht ermittelt werden.

4.6 Dynamik von VRE im Krankenhaus

4.6.1 Analyse der Cluster

Neben den Stationen sollten auch die Cluster, die mittels IR-Biotyper gemessen wurden, untersucht werden. Eine der Besonderheiten der Clustereinteilung war dabei, dass fast alle Cluster einem präferierten *van*-Gen-Typ zugeordnet werden konnten. Dies ist hier nochmals in Abbildung 19 dargestellt.

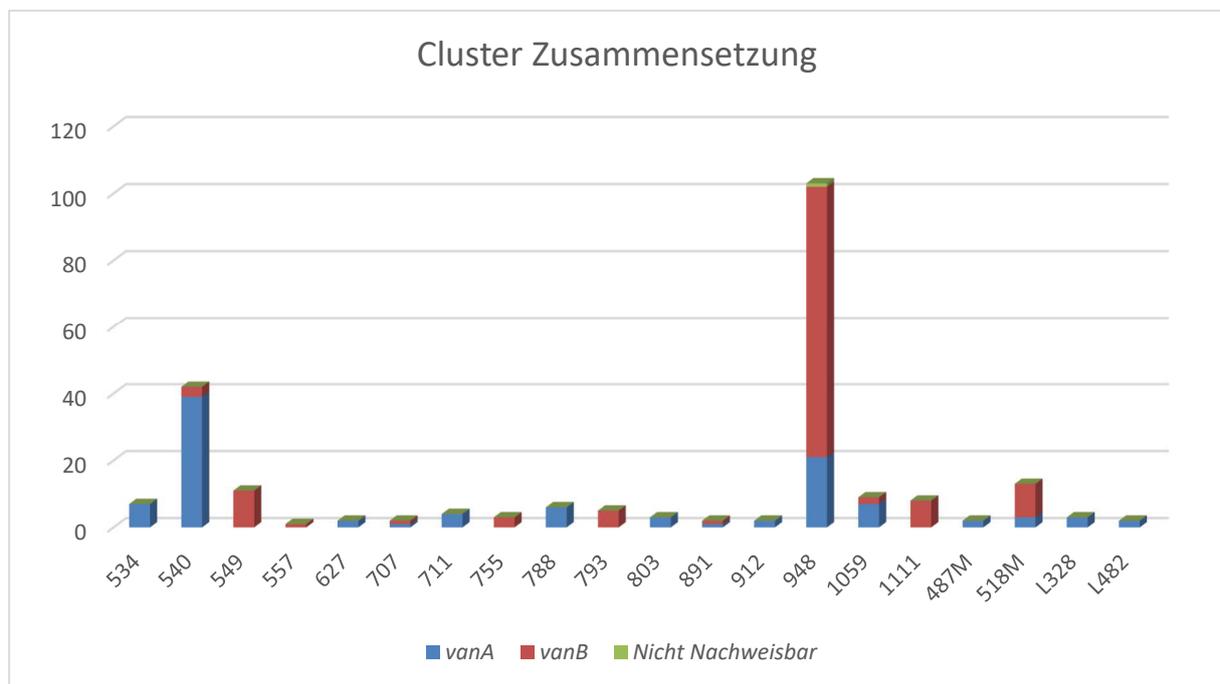


Abbildung 19: Zusammensetzung der Cluster aus *vanA*- oder *vanB*-positiven Isolat.

Die *van*-Gene können sowohl im Genom als auch in eigenständigen Plasmiden vorliegen (93) und sorgen unter anderem für einen Umbau der Vancomycinbindungsstellen der Zellwand (28). Die vom IR-Biotyper detektierten Bakterien waren in der Clustereinteilung, was den *van*-Gen-Typ betraf, sehr homogen. Dies deutete auf eine sehr nahe Verwandtschaft innerhalb der Cluster hin, da sich die Bakterien nicht nur in der Proteinzusammensetzung, sondern auch bei den Resistenzgenen stark ähnelten.

Bei der Betrachtung der Gesamtheit aller Cluster stachen vor allem die Cluster 948 und 540 hervor. Sowohl bei der Anzahl an VRE-Tagen, Fällen oder Patienten führten diese deutlich. In Abbildung 104 ist die Anzahl an Fällen der verschiedenen Cluster pro Station, auf denen es mögliche Übertragungen gegeben hatte, dargestellt. Auch hier dominierten die beiden großen Cluster deutlich.

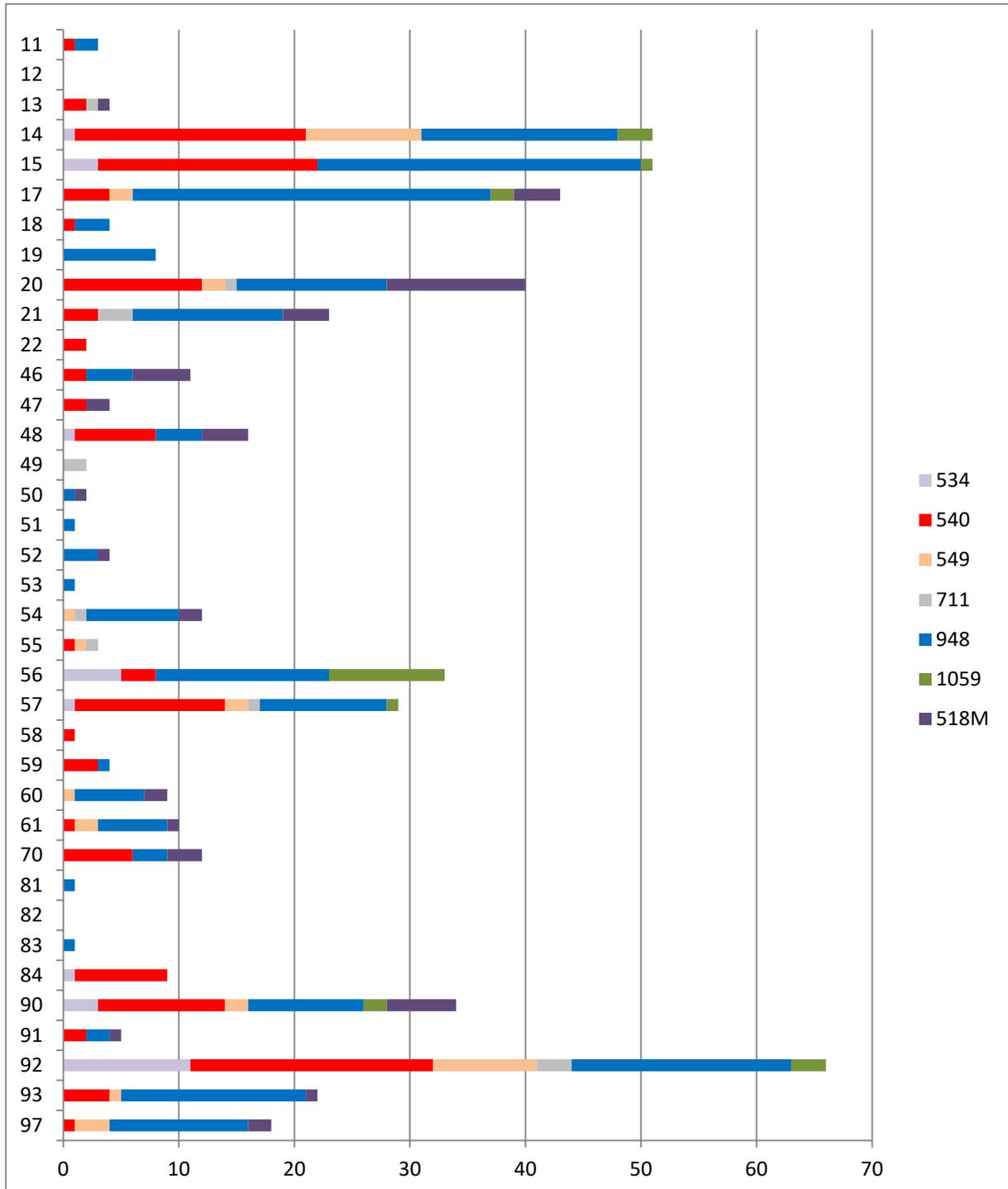


Abbildung 104: Anzahl der sieben für mögliche Übertragungen verantwortlichen Cluster auf den Stationen.

Der Cluster 948 war im Untersuchungszeitraum dabei auf 75,7% aller Stationen präsent, mit 29,0% aller VRE-Tage und 32,0% aller VRE-Fälle war er der Größte unter den gemessenen Clustern. Direkt danach kam der Cluster 540, der auf 67,6% aller Stationen beheimatet war und mit 21,7% der VRE-Patiententage und 20,0% aller VRE-positiven Fälle den zweiten Platz einnahm. Etwas abseits, mit nur 9,6% der VRE-Tage und einem Anteil von 6,9% aller VRE-Fälle, landete der Cluster 518M, er war aber trotzdem noch auf 45,9% aller Stationen zu finden.

Insgesamt konnte somit festgestellt werden, dass die beiden großen Cluster nicht mehr nur ein Problem für einzelne Stationen darstellten, sondern das gesamte Universitätsklinikum betrafen. Die hohe Dunkelziffer an noch nie getesteten, aber eigentlich positiven Patienten dürfte zudem dazu führen, dass die Ausbreitung der großen Cluster, denen fast 60% aller VRE-positiven Fälle zuzuordnen sind, noch unterschätzt wurde.

Die Cluster wurden zusätzlich auch auf die relative von ihnen ausgehende Gefahr hin untersucht. Dabei handelte es sich allerdings nur um eine Abschätzung, da natürlich nicht alle Patienten, die Träger von Vancomycin-resistenten Enterokokken waren, auch detektiert wurden und selbst die als positiv Erkannten, möglicherweise schon lange vor ihrem ersten positiven Testergebnis, die resistenten Enterokokken verbreiten konnten.

Zu diesem Zweck wurden die möglichen Übertragungen von allen 37 untersuchten Stationen mit VRE-positiven Patienten im Untersuchungszeitraum gesammelt. Als wahrscheinliche Übertragung galt dabei, wie unter 3.7 beschrieben, der Aufenthalt von zwei Patienten, deren Enterokokken-Stämme aus demselben Cluster stammten, auf derselben Station zur selben Zeit (± 24 h). Darüber hinaus wurden ausschließlich Patienten mit nosokomialen Übertragungen als Empfänger zugelassen. Nur in sieben der 39 Cluster gab es Ereignisse, bei denen eine Übertragung angenommen werden konnte. Natürlich ist die schon vorher erwähnte Dunkelziffer an (noch) nicht erkannten VRE-positiven Patienten zu berücksichtigen. Es sei auch nochmals darauf hingewiesen, dass die Klassifikation als nosokomiale Übertragung nicht mit einer gesicherten Übertragung innerhalb des Krankenhauses verwechselt werden darf. Ohne ein flächendeckendes Eingangsscreening ist es durchaus möglich, dass manche der Patienten bereits Träger von nur noch nicht detektierten Vancomycin-resistenten Enterokokken waren. Nichtsdestotrotz gab diese Analyse einen guten

Hinweis darauf, wie hoch die Wahrscheinlichkeit war, dass ein VRE-positiver Fall zu einer Übertragung führte. Auch die VRE-Cluster konnten untereinander gut verglichen werden.

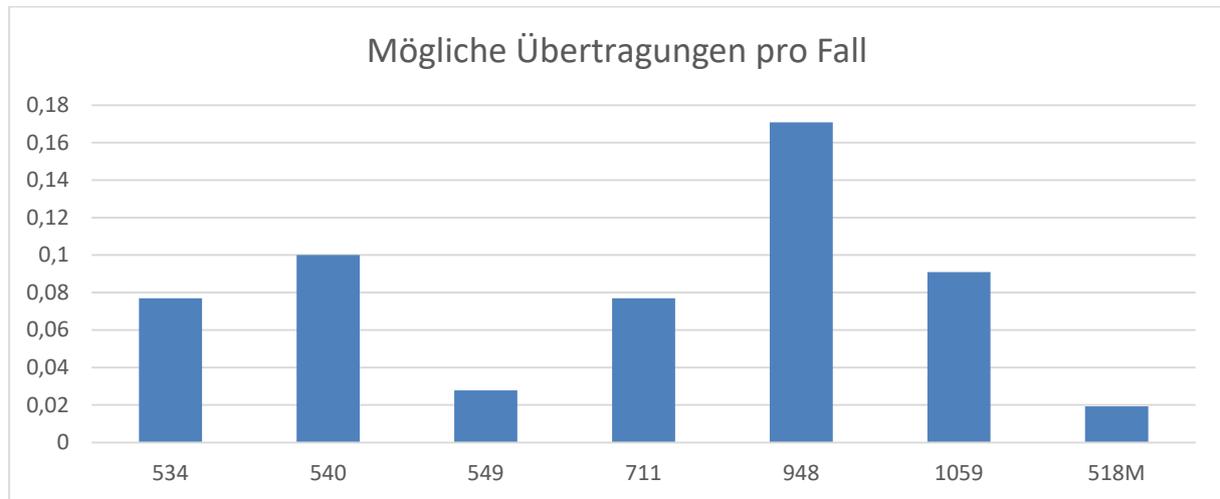


Abbildung 54: Mögliche VRE-Übertragungen der Cluster pro Fall.

Die Cluster mit hohen VRE-Raten und einer großen Anzahl an wahrscheinlichen Übertragungen wiesen auch in den meisten Fällen eine hohe relative Gefahr auf. Vor allem der Cluster 948 hob sich in dieser Analyse deutlich von allen anderen Clustern ab und hatte die bei weitem höchste Rate an möglichen Übertragungen pro Fall zu verzeichnen. Eine Ausnahme war dagegen der Cluster 1059, der über die dritthöchste relative Übertragungsrate verfügte, aber eher zu den mittleren Clustern zählte was VRE-Fall- und Patientenzahl anging.

Zusätzlich zu der relativen Gefahr, die von den Clustern ausging, wurden auch die Muster der Übertragungen der relevantesten Cluster bewertet. Cluster 1059 hatte nur zwei potenzielle Übertragungen zu verzeichnen und wurde deshalb, obwohl er zu den Clustern mit verhältnismäßig hohem relativem Risiko zählte, nicht weiter beachtet.

Der Cluster 540 hatte im Untersuchungszeitraum viele Einzelübertragungen zu verzeichnen, große Häufungen von mehr als vier möglichen Übertragungen binnen zwei Wochen konnten aber nicht festgestellt werden.

In der Analyse der Stationen mit gastroenterologischen und onkologischen Patienten zeigte sich zudem deutlich, dass der Cluster zu Beginn des Zeitraums nur wenig vertreten war und erst zur Mitte hin (Oktober 2017 – Februar 2018) stark zunahm. Danach erfolgte wieder ein leichter Rückgang an positiven Patienten und Übertragungen.

Ein anderes Bild zeichnete sich bei Cluster 948 ab. Hier gab es ebenfalls eine große Zahl an einzelnen wahrscheinlichen Übertragungen und mittleren Ausbrüchen. Der Cluster neigte aber auch, wie auf den Stationen 17 und 21, zu großen Häufungen. In der Analyse der beiden aus je drei Stationen zusammengefassten Fachgebiete der Gastroenterologie und Onkologie, inklusive der Intensivstation 93, zeigte sich, dass der Cluster nach einem leichten Rückgang im September verstärkt am Ende des Untersuchungszeitraums zu möglichen Übertragungen führte. Ein Rückgang der VRE-Last oder Übertragungszahlen war bei Enterokokken dieses Clusters somit noch nicht in Sicht.

Da die Daten nur über einen Zeitraum von zwölf Monaten gesammelt wurden, war eine Zunahme der VRE-positiven Patientenzahl mit fortschreitender Zeit bereits erwartet worden. Doch auch im Vergleich mit anderen Clustern, bei denen sogar in etlichen Fällen die Präsenz auf den Stationen zum Studienende hin weniger wurde oder gleichblieb, waren die graphischen Daten der beiden großen Cluster mit einem massiven Ansteigen erst ab der zweiten Jahreshälfte doch aussagekräftig. Sie zeigten auch, dass hier eine Verbreitung von einer Station auf die nächste (siehe 3.7.16) mit einer generellen Zunahme der mit Enterokokken dieser Cluster kolonisierten Patienten vorlag.

Die Ergebnisse dieser Studie ließen somit den Schluss zu, dass vor allem die Cluster 540 und 948 eine klinikweite Gefährdung darstellten, da sie über eine sehr hohe Verbreitung auf fast allen Stationen, kombiniert mit einer hohen relativen Übertragungsgefahr, verfügten. Vor allem Cluster 948, der zu größeren potentiellen Ausbrüchen geführt hatte und dessen Zahlen an wahrscheinlichen Übertragungen auch zum Ende der Arbeit noch wuchsen, dürfte auch in naher Zukunft für das UKR ein Problem bleiben und sollte aus diesem Grund weiter beobachtet werden.

4.6.2 Analyse der Stationen

Neben den Clustern wurden auch die Stationen auf ihre jeweilige Transmissionskonstellation hin untersucht. Ein Problem war hierbei der unterschiedliche Umgang der Stationen mit dem Thema VRE. Drei Stationen (Station 20, 21 und 92) führten ein Eingangsscreening durch, die Anderen detektierten VRE-Fälle zum Großteil als Zufallsbefunde oder bei bereits aufgetretenen Komplikationen.

Bei der Betrachtung der unter 3.7.1 aufgeführten Daten führten sowohl bei der Anzahl der VRE-Tage, -Fälle als auch -Patienten die drei Fachgebiete der Gastroenterologie, Onkologie und Nephrologie. In diesen Stationen waren auch die VRE-Last und die Inzidenz der VRE-Tage stark erhöht. Für die Nephrologie wurde nur die Station 17 betrachtet, da das Dialysezentrum der Schwesterstation als Ambulanz zu werten war und alle stationären Patienten der Nephrologie über Betten auf der Station 17 verfügten.

Tabelle 26: Daten der Gastroenterologie, Onkologie und der Station 17.

	Onkologie	Gastroenterologie	Nephrologie	Chirurgie
Anteil NK	47,00%	54,50%	66,70%	71,40%
VRE-Last	9,76	11,11	7,86	5,27
Inzidenz mögliche Übertragungen	0,73	0,75	1,54	0,68

Die Onkologie hatte die geringste Quote an nosokomialen Fällen, die chirurgischen Stationen 56 und 57 mit 71,4% die höchste. Hierbei ist allerdings zu beachten, dass innerhalb der hier untersuchten Kliniken die Onkologie die meisten Eingangsscreenings durchführte und die Chirurgie die wenigsten. Dies dürfte die Werte verfälscht haben, da die Patienten in der Chirurgie meistens erst 48 Stunden nach der Aufnahme getestet und bei einem positiven Resultat somit als nosokomial erfasst wurden.

Die VRE-Last war in allen Kliniken hoch, mit einer Spitze in der Gastroenterologie. Dies wurde teilweise damit erklärt, dass die Gastroenterologie traditionell über mehr VRE-Probleme aufgrund der Ausrichtung des Fachgebiets verfügte. Die Gastroenterologie bestand neben den Normalstationen auch aus der Intensivstation 92. Diese Station hatte klinikweit die höchste VRE-Last zu tragen, sie verfügte auch über die höchste Anzahl an VRE-Tagen, -Fällen und -Patientenzahlen.

Da die Gastroenterologie und Onkologie, inklusive der Intensivstation 93, aus je drei Stationen bestanden und die Nephrologie mit nur einer Station deutlich kleiner war, wurde besonderes Augenmerk auf die Inzidenz der möglichen Übertragungen pro 1000 Patiententage gelegt. Hier führte die Nephrologie deutlich. Station 17 (n=13) hatte dabei zusätzlich auch die höchste nominelle Anzahl wahrscheinlicher Übertragungen in allen untersuchten Stationen zu verzeichnen, gefolgt von den Stationen 92 (n=10) und 93 (n=9).

Bei der Betrachtung der Cluster wurde deutlich, dass die Stationen der Gastroenterologie potenzielle Übertragungen aus sechs verschiedenen Clustern zu verzeichnen hatten, aber nur die beiden größten Cluster 540 und 948 über längere Zeiträume präsent waren. Wie bereits unter 4.6.1 beschrieben, hatte der Cluster 540 seinen Höhepunkt zur Jahreswende 2017/2018, während der Cluster 948 sein Maximum erst gegen Ende der Studienzeit im Frühjahr 2018 erreichte.

Die Onkologie verfügte dagegen nur über Bakterien aus drei verschiedenen Clustern. Hierbei stach der Cluster 948 stark hervor. Er hatte hier ebenfalls sein Maximum an möglichen Übertragungen gegen Ende der Datenerfassung. Station 17 hatte zwar ebenfalls mögliche Übertragungen aus zwei kleineren Clustern (n=3), aber der Cluster 948 führte hier klar mit einem großen Ausbruchsgeschehen im November 2017. Es zeigte sich also, dass die Nephrologie vor allem ein Problem mit VRE-Stämmen dieses einen Clusters hatte, während auf den Stationen der Onkologie und vor allem Gastroenterologie trotz der hohen VRE-Last kein einzelner Cluster zu großen Ausbrüchen führte oder massiv dominierte.

Neben den Stationen der Chirurgie, Gastroenterologie und Onkologie waren vor allem die Intensivstationen von hohen VRE-Raten betroffen.

Tabelle 27: Daten der Intensivstationen des Universitätsklinikums Regensburg.

	60	90	91	92	93	97
Anteil NK	0,2	0,5	1	0,58	0,82	0,72
VRE-Last	2,81	4,93	2,49	18,9	5,08	3,62
Inzidenz mögliche Übertragungen	0	0,23	0,29	2,38	1,81	0,86

Die Station 60 stellte dabei nur eine Intermediate-Care-Einheit mit einer vergleichsweise niedrigen VRE-Last dar. Auch die Intensivstationen der Neurochirurgie (Station 91) und Thoraxchirurgie (Station 97) hatten kein größeres VRE-Problem. Auf der allgemeinchirurgischen Intensivstation 90 waren dagegen die Zahlen der VRE-Last und die Zahl der mit VRE-kolonisierten Patienten erhöht. Dies lag sehr wahrscheinlich am Patientengut der Viszeralchirurgie, ähnlich wie in der Klinik für Innere Medizin I. Die höchsten Raten an VRE-Last und auch die höchste Inzidenz möglicher Übertragungen hatten im Untersuchungszeitraum allerdings die Stationen der Inneren Medizin. Besonders die Intensivstation 92 der Klinik für Innere Medizin I stach hier deutlich hervor, was wie bei den Normalstationen der Gastroenterologie oder Viszeralchirurgie auf das besondere Patientenkollektiv zurückzuführen war.

Die möglichen Übertragungen sollten allerdings nicht mit gesicherten nosokomialen Verbreitungen verwechselt werden. Da aber bei allen möglichen Empfängern einer nosokomialen VRE-Übertragung ein Indexpatient mit Bakterien desselben Clusters zur selben Zeit auf der Station liegen musste, war die Wahrscheinlichkeit, dass es sich tatsächlich um eine echte Übertragung (wenn auch nicht unbedingt von diesem Indexpatienten aus) handeln könnte, jedoch relativ hoch. Somit gab die Anzahl an wahrscheinlichen Übertragungen auch einen guten Hinweis auf die Gefährdung einzelner Stationen oder Kliniken und zeigte zudem eine Tendenz für die Zukunft an.

Vor allem auf den Stationen 92 und 17 gab es ein Problem mit möglichen Übertragungen. Das besondere war, dass, obwohl die Intensivstation der Gastroenterologie eine 240% höhere VRE-Last als die Nephrologie hatte, die Inzidenz der Übertragungen nur um etwa 150% erhöht war. Vor allem vor dem Hintergrund, dass hier eine Normalstation der Nephrologie mit einer Intensivstation der Gastroenterologie verglichen wurde, verdeutlichte diese Gegenüberstellung das Problem der Station 17. Der Grund lag vermutlich bei der hohen Last an nosokomialen VRE-Fällen, die die Nephrologie zu stemmen hatte. Im Gegensatz zur Onkologie und Station 92 führte die Nephrologie kein Eingangsscreening durch und detektierte somit auch Patienten mit mitgebrachten Vancomycin-resistenten Enterokokken erst nach den für die Einteilung als nosokomial erworben ausschlaggebenden 48 Stunden.

Insgesamt ließ sich im Untersuchungszeitraum eine steigende Zahl an VRE-Tagen, Fällen und auch potenziellen Übertragungen vor allem in den beiden größten Clustern zeigen. Da zum Ende des Studienzeitpunkts eine Änderung der dokumentierten Dynamik noch nicht in Sicht war, dürfte dies auch für die Zukunft einen weiteren Bedeutungsgewinn des VRE-Problems im Universitätsklinikum Regensburg, vor allem in Stationen mit vielen immungeschwächten Patienten, mit sich bringen.

In dieser Studie konnte zudem auch eine deutliche Reduktion der potenziellen Übertragungen in Stationen mit Eingangsscreening festgestellt werden. Zum einen wurden auf diese Weise Patienten, die bereits Träger von VRE waren, frühzeitig erkannt und isoliert. Zum anderen tauchten sie auch nicht in der Grafik als mögliche Empfänger einer Ansteckung auf. Vor allem in der Onkologie konnte trotz einer stark erhöhten VRE-Last durch ein rigoroses Eingangsscreening die Zahl an nosokomialen Isolaten unter allen VRE-Erstnachweisen auf 47% verringert werden. Die Station 17 wies bei den nosokomialen Nachweisen ohne jegliches Eingangsscreening eine Quote von 66,7% auf und hatte dementsprechend trotz geringerer VRE-Last eine doppelt so hohe Inzidenz an möglichen nosokomialen Übertragungen zu verzeichnen.

Neben dem Eingangsscreening ist auch die Standardhygiene, darunter vor allem die Händedesinfektion, eine der besten Präventionsmöglichkeiten gegen nosokomiale Infektionen und die Ausbreitung von nosokomialen Erregern (94, 95).

Tabelle 28: Verbrauch von Desinfektionsmittel und Händehygiene 2017. Die Stationen 92 und 93 teilten sich ein Lager für Desinfektionsmittel und können somit nicht einzeln bewertet werden.

	20	21	14	92	93	17
Verbrauch ml/Patient/Tag	63	105	46	177		49
Compliance Händedesinfektion	71,40%	75,60%	79,00%	73,60%	46,10%	65,00%

Hier zeigte sich, dass in den Stationen mit gefährdeten Patienten der Verbrauch an Infektionsmittel und die Einhaltung der Händedesinfektion normalerweise überdurchschnittlich hoch war. Die Station 17 lag aber zusammen mit der Station 93 unter dem Klinikdurchschnitt, was die Compliance bei der hygienischen Händedesinfektion betraf.

Beide Stationen hatten mit einer hohen Inzidenz an möglichen Übertragungen gekoppelt mit einer hohen VRE-Last und einem großen Anteil an nosokomialen Übertragungen zu kämpfen. Dies war möglicherweise eine Folge einer nicht ausreichenden Umsetzung der Infektionsprävention.

4.6.3 Fazit der statistischen Untersuchung

Die Auswertung der statistischen Ergebnisse ergab, dass stationsunabhängig die beiden Cluster 540 und 948 krankenhaushausweit dominierten und für 87,5% aller potenziellen Übertragungen verantwortlich waren. Vor allem der Cluster 948 war für viele mögliche Übertragungen, zum Teil auch in großen Ausbrüchen, verantwortlich. Zudem gab es nur wenige Stationen, in denen er nicht vertreten war. Top et. al. beschrieben ebenfalls die Ausbreitung und Dominanz des am besten angepassten Enterokokken-Stamms mit anschließender genetischer Diversifikation und der Entwicklung von vielen nahe verwandten Genotypen (96). Dazu passte auch, dass die VRE-Stämme des Clusters 948 im Verlauf der Zeit auf immer mehr Stationen zu finden waren.

In den untersuchten Stationen gab es 63 Fälle von wahrscheinlichen Übertragungen. Größere Ausbrüche kamen hierbei zwar vor, blieben aber eher die Ausnahme. Mit über 90% aller möglichen Übertragungen ereigneten sich diese vor allem auf Stationen mit für Enterokokken-Infektionen stark gefährdeten Patienten und in Fachgebieten, mit traditionell mehr VRE-Problemen. So waren etwa 44,4% aller potenziellen Übertragungen in den Stationen der Onkologie oder Nephrologie mit ihren jeweiligen Intensivstationen zu finden. Weitere 27% traten in der Gastroenterologie und 19% in der Viszeralchirurgie auf.

Bei den untersuchten Fachgebieten fiel auch auf, dass Stationen mit Eingangsscreening die Zahl möglicher Übertragungen trotz hoher VRE-Last unter Kontrolle halten konnten. Das beste Beispiel hierfür war die Onkologie, die mit ihrem Eingangsscreening trotz hoher VRE-Last und einem sehr sensiblen und gefährdeten Patientengut nur sechs wahrscheinliche Übertragungen zu verzeichnen hatte.

Die Intensivstation 92 der Gastroenterologie führte ebenfalls ein Eingangsscreening durch und auch wenn hier keine weiteren wöchentlichen Screenings aller Patienten erfolgten, konnten trotz der zehn möglichen Übertragungen wahrscheinlich größere Ausbruchsgeschehen verhindert werden. Die potenziellen Übertragungen stammten zudem von VRE-Stämmen aus sechs verschiedenen Clustern, von denen keiner dominierte. Eine Ausbreitung eines Problem-Clusters konnte hier also ebenfalls erfolgreich verhindert werden.

Als Gegenpol galt Station 17, die ebenfalls über viele Hochrisikopatienten in dialysiertem oder transplantiertem Zustand verfügte, die für eine Infektion mit

Enterokokken eine starke Gefährdung aufwiesen. Anders als in den zuvor genannten Stationen führte die Nephrologie allerdings keinerlei Eingangsscreening durch und verzeichnete mit 13 wahrscheinlichen Übertragungen den höchsten Wert aller Stationen. Dies verdeutlichte den Nutzen eines Eingangsscreenings, das bei Stationen mit einem hohen Gefährdungspotential in Verbindung mit Maßnahmen der Standardhygiene helfen kann, mögliche Übertragungen durch frühzeitige Isolierung von VRE-positiven Patienten zu verringern. Auch die Inzidenz von nosokomialen VRE-Infektionen und Septikämien kann mithilfe von verstärkten Screening- und Hygienemaßnahmen, genau wie die horizontale Ausbreitung von resistenten Enterokokken eines Stammes, wie etwa Bakterien des Clusters 948, gesenkt werden (97, 98, 99, 100, 101).

Dass es in den vielen anderen Stationen ohne Eingangsscreening nicht ebenfalls zu einem Anstieg der Übertragungszahlen gekommen war lag höchstwahrscheinlich an der geringen Virulenz des *Enterococcus faecium*, der fast nur bei immungeschwächten, transplantierten oder anderweitig schwer erkrankten Patienten zu Infektionen führt (25).

Somit konnte der Schluss gezogen werden, dass die Enterokokken-Stämme der beiden größeren Cluster auch in naher Zukunft ein Problem für das gesamte Uniklinikum darstellen dürften.

Es konnte zudem auch gezeigt werden, dass Stationen, die sich der Gefahr durch VRE bewusst waren und Gegenmaßnahmen, wie etwa ein Eingangs- oder wöchentliches Screening sowie eine verbesserte Händedesinfektion etabliert hatten, die Zahl der möglichen Übertragungen vor allem der beiden großen Cluster geringhalten konnten. Die Nephrologie und die Intensivstation der Inneren Medizin II (Station 93), auf der auch viele Patienten der Pulmologie, Nephrologie und Onkologie versorgt wurden, waren in dieser Dissertation Stationen mit einer hohen Prävalenz von Vancomycin-resistenten Enterokokken und einem besonders gefährdeten Patientengut. Hier könnte ein Eingangsscreening und zeitnahes Typisieren der VRE-Stämme empfohlen werden (43). Darüber hinaus könnte auch auf der Station 92 das Screening ähnlich wie auf der Station 21 weiter ausgeweitet werden, da ein wöchentliches Screening der VRE-negativen Patienten die Zahl an nosokomialen Infektionen noch weiter verringern könnte (102). Um auf eine Ausbreitung von Enterokokken der Problem-Cluster frühzeitig reagieren zu können, würde sich zudem eine Weiterführung der Typisierung aller positiven Isolate lohnen.

4.7 Ausblick IR-Biotyper

Trotz der anfänglichen Probleme genug Probenmaterial zu kultivieren, erfolgte die Anzucht aller Isolate dieser Studie mit Müller-Hinton-II-Agar, da mit diesem bei weitem die beste Messgenauigkeit erzielt werden konnte. Die Wahl dieses Nährmediums hatte auch Anteil an der erfolgreichen Validierung des IR-Biotypers, bei der einzelne Messpunkte mit einer Genauigkeit von 92,9% ($\pm 1,4\%$) den verschiedenen Clustern zugewiesen werden konnten. Durch die Verwendung von vier Messpunkten je Isolat konnte die Genauigkeit sogar auf 97,2% ($\pm 0,11\%$) gesteigert werden, womit der Biotyper auch den Vergleich mit anderen Typisierungsverfahren nicht mehr scheuen muss. Eine Kontrolle der Clustereinteilung durch einen Vergleich mit einer erneuten Analyse, bei der mehr und andere Messpunkte verwendet wurden, bestätigte darüber hinaus die gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse. Der Biotyper zeichnete sich zudem durch seine Benutzerfreundlichkeit, den auch bereits in anderen Arbeiten beschriebenen geringen Zeitaufwand und vor allem durch seine Wirtschaftlichkeit aus (103). Mit Kosten von weniger als einem Euro pro Typisierung schlug der IR-Biotyper in diesem Punkt alle Konkurrenten deutlich (89). Ein Nachteil der Methode war dagegen, dass ausschließlich eine Verwandtschaftsanalyse der untersuchten Isolate möglich war. Eine Ermittlung von Resistenz- oder Virulenzgenen wie mit dem Whole-Genome-Sequencing konnte nicht durchgeführt werden (88). Des Weiteren war es zum Zeitpunkt dieser Studie noch nicht möglich die Daten zu exportieren, womit ein Vergleich von Proben zwischen verschiedenen Laboren schwierig war.

Trotz dieser beiden Punkte brachte die Typisierung aller VRE-positiven Patienten einer Station durch den IR-Biotyper viele Vorteile. So könnten Ausbrüche schnell und einfach analysiert und Stationen auf die Qualität ihrer Infektionsprävention getestet werden. Darüber hinaus war es durch die Betrachtung des gesamten Krankenhauses möglich Problem-Cluster zu detektieren, deren Bakterien für einen Großteil der nosokomialen Übertragungen verantwortlich waren. Zusätzlich zu den genannten Punkten könnte der Biotyper in Zukunft auch eingesetzt werden, um eine schnelle Vorauswahl für die weitere Typisierung von an Ausbrüchen beteiligten Enterokokken zu treffen. Auf diese Weise wäre es möglich die Anwendung des Whole-Genome-Sequencing auf Enterokokken des Ausbruchstammes zu begrenzen, was zu einer deutlich besseren Kosteneffizienz führen würde.

5 Zusammenfassung

Da die Therapie von Vancomycin-resistenten Enterokokken durch deren mannigfaltige Resistenzen und hohe Tenazität zunehmend an ihre Grenzen stößt, kommt der Prävention von Übertragungen und Ausbrüchen eine immer größere Bedeutung zu. Gerade was die Typisierung der VRE-positiven Isolate angeht gibt es vor allem die Wirtschaftlichkeit betreffend noch keine zufriedenstellende Lösung. In der vorliegenden Arbeit erfolgte aus diesem Grund die Prüfung und Validierung des IR-Biotypers als mögliches Verfahren für die schnelle und kostengünstige Typisierung von Vancomycin-resistenten Enterokokken. Zusätzlich wurden mit Hilfe des Biotypers auch alle im UKR in den Jahren 2017/18 neu aufgetretenen VRE-positiven Patienten typisiert und auf mögliche Übertragungen hin untersucht.

Hierzu wurde der Biotyper bereits im Voraus mittels MLST, PFGE und WGS typisierten Proben validiert und verglichen. In einem weiteren Versuch erfolgte zudem der Test, ob die Messgenauigkeit durch den Einsatz selbst hergestellter, und somit günstigerer, Teststandards verschlechtert wurde. Die statistischen Daten dieser Studie wurden darüber hinaus dazu genutzt alle Stationen auf ihre jeweilige VRE-Last hin zu untersuchen und mithilfe des IR-Biotypers mögliche Übertragungen zu detektieren.

Durch die Verwendung von vier Messpunkten je Isolat, von denen sogar einer in einen falschen Cluster eingeordnet werden durfte, erreichte der IR-Biotyper eine relativ hohe Messgenauigkeit von 97,2% ($\pm 0,11\%$). Die gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse konnte darüber hinaus auch in einem weiteren Versuch, bei dem mehr und andere Messpunkte für die Isolate verwendet wurden, bestätigt werden. Durch die Verwendung eigener Teststandards konnte bei einer Messgenauigkeit von 99,4% ($\pm 0,6\%$) je Messpunkt keine Verschlechterung festgestellt werden.

Der Vergleich mit den anderen Typisierungsverfahren ergab, dass die Ergebnisse des Biotypers nicht mit denen der anderen Verfahren vollständig in Einklang gebracht werden konnten. Die Daten der Studie wiesen aber auch darauf hin, dass es dem Biotyper möglich war, eine Subdifferenzierung der MLST-Typen zu treffen. In einem Vergleich mit WGS-Daten zeigte sich ebenfalls eine gewisse Abhängigkeit, vor allem bei Isolaten, deren Core-Genom nur wenige SNP auseinander lag. Die PFGE dagegen konnte nicht als Vergleich herangezogen werden, da die Abnahmezeitpunkte der VRE-Stämme zum Teil mehrere Jahre auseinanderlagen.

Für die statistische Auswertung wurden insgesamt 276 Patientendaten erfasst, von denen 250 Isolate durch den Biotyper typisiert wurden. Die übrigen 22 Proben führten entweder zu keinem verwertbaren PCR Ergebnis oder enthielten keinen *Enterococcus faecium*. Die statistische Analyse ergab für das Universitätsklinikum Regensburg eine mittlere tägliche VRE-Last von 3,75% (SD 4,9), wobei die Intensivstation der Gastroenterologie mit 18,98% einen deutlich höheren Wert aufwies. Eine starke Erhöhung konnte auch bei den anderen Stationen der Gastroenterologie [Station 14 (8,31%) und 15 (10,32%)] und Onkologie [Station 20 (12,88%) und 21 (9,34%)] nachgewiesen werden. Bei den möglichen Übertragungen zeichnete sich allerdings ein anderes Bild. Innerhalb des Untersuchungszeitraumes konnten nach den Studienkriterien 63 potenzielle Übertragungen detektiert werden. Verantwortlich waren hierfür ausschließlich Enterokokken aus sieben der insgesamt 39 Cluster, wobei die Bakterien der beiden Cluster 540 mit 23,4% und 948 mit 64,1% für fast alle möglichen Übertragungen verantwortlich waren. Bei der Betrachtung der verschiedenen Stationen führte die Nephrologie mit 13 potenziellen Ereignissen noch vor der gastroenterologischen Intensivstation, die trotz der viel höheren VRE-Last nur zehn Übertragungen zu verzeichnen hatte. Die Normalstationen der Onkologie (Station 20 und 21) und Gastroenterologie (Station 14 und 15) hatten im Vergleich dazu nur relativ wenige Ereignisse zu verzeichnen, lagen aber trotzdem noch über dem Klinikdurchschnitt von 1,7 potenziellen Übertragungen je Station (SD 3,21). Der Unterschied bei der Anzahl möglicher Ansteckungen wurde auf den Umstand zurückgeführt, dass *E. faecium* aufgrund seiner niedrigen Virulenz vor allem immunsupprimierte oder schwer kranke und somit gefährdete Patienten infizierte, was zu den stark erhöhten VRE- und Übertragungszahlen in den Gebieten der Onkologie und Nephrologie führte. Die Gastroenterologie war dagegen aufgrund der Ausrichtung des Faches traditionell besonders von VRE-Fällen betroffen, auch hier hatte die Intensivstation (Station 92) durch ihr gefährdetes Patientengut die Hauptlast der potenziellen Übertragungen zu stemmen. Darüber hinaus konnte beobachtet werden, dass Stationen wie die der Onkologie trotz einer hohen VRE-Last ihre Übertragungen durch ein Eingangsscreening niedrig halten konnten. Auch die Station 92 führte ein solches Screening durch, aufgrund dessen eine starke Ausbreitung von Enterokokken eines einzelnen Clusters verhindert werden konnte. So wurden deren mögliche Übertragungen von Keimen aus sechs verschiedenen Clustern ausgelöst.

Ein völlig anderes Bild ergab sich dagegen bei der Betrachtung der Nephrologie, die ohne ein solches Verfahren trotz deutlich geringerer VRE-Last die höchste Zahl an vermuteten Übertragungen zu verzeichnen hatte. Diese wurden außerdem fast ausschließlich von Enterokokken eines Clusters (948) verursacht. Bei der Betrachtung des gesamten Krankenhauses stellte sich zudem heraus, dass vor allem Enterokokken aus zwei der 39 Cluster für 87,5% aller möglichen Übertragungen verantwortlich waren. Vor allem das größte Cluster 948 dürfte mit einem Ansteigen der VRE-Fallzahlen zum Ende des Untersuchungszeitraumes (Frühjahr 2018) auch in naher Zukunft ein Problem darstellen.

Im Vergleich mit den anderen Typisierungsverfahren zeigte der Biotyper, dass er dank der hohen Messgenauigkeit eine zuverlässige Methode zur Typisierung von Enterokokken darstellt. Der Unterschied bei der Clustereinteilung wurde darauf zurückgeführt, dass die anderen Typisierungsverfahren DNA-Fragmentgrößen, Housekeeping-Gene oder Core-Genome der Bakterien maßen und nicht wie der Biotyper das gesamte Proteinspektrum der Enterokokken. Weitere Vorteile waren, neben der Betrachtung aller Zellbestandteile der Bakterien, der relativ geringe Zeitaufwand und die niedrigen Kosten, die mit weniger als einem Euro pro typisiertem Isolat zu Buche schlugen.

Die Daten dieser Studie legen somit den Schluss nahe, dass der IR-Biotyper für eine zuverlässige und kostengünstige Schnelltypisierung von Vancomycin-resistenten Enterokokken geeignet ist. Vor allem die Möglichkeit durch dieses Verfahren eine schnelle Vorauswahl treffen zu können für die weitere Typisierung von an Ausbrüchen beteiligten Enterokokken-Stämmen dürfte im klinischen Alltag neben einer Verbesserung der Patientenversorgung auch zu einer nicht zu verachtenden Kostenersparnis führen. Die Detektion der beiden großen Problem-Cluster, die für fast alle der möglichen Übertragungen verantwortlich waren, löste allerdings neue Fragen aus. Beispielsweise wäre es interessant zu klären, ob eine Isolation ausschließlich der Patienten ausreichend wäre, deren Enterokokken aus diesen Problem-Clustern stammten, um Übertragungen zu verhindern. Zur abschließenden Klärung dieser Fragen sind jedoch weitere Studien, auch aus anderen Krankenhäusern, unabdingbar.

6 Anhang

6.1 Abkürzungsverzeichnis

±	Standardfehler
Abb.	Abbildung
Agg.	<i>aggregation protein</i>
D-Ala	D-Alanin
D-Lac	D-Lactat
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphate
D-Ser	D-Serin
E.	<i>Enterococcus</i>
ECDC	Europäische Zentrum für Krankheitskontrolle und Prävention
Esp.	<i>enterococcal surface protein</i>
IR	Infrarot
MALDI TOF	Matrix-assistierter-Laser-Desorptions/Ionisations-Flugzeit-Massenspektrometer
MLST	Multilocus-Sequence-Typing
MRE	multiresistente Erreger
MRSA	Methicillin-resistenter <i>Staphylokokkus aureus</i>
MTA	Medizinisch-technischer Assistent
MÜ	mögliche Übertragungen
NK	nosokomial / im Krankenhaus nachgewiesen
NN	nicht nachweisbar
P	Irrtumswahrscheinlichkeit
PCR	Polymerase-chain-reaction
PFGE	Pulsfeldgelelektrophorese
pH-Wert	<i>potentia hydrogenii</i>

RDD	Recommended Daily Dose
RKI	Robert Koch-Institut
SD	Standard Abweichung
SNP	Single nucleotide polymorphism
ST	Sequenz Typ
St.	Station
UKR	Universitätsklinikum Regensburg
VRE	Vancomycin-resistente Enterokokken
VRSA	Vancomycin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>
WHO	World-health-organization
WGS	Whole-Genome-Sequencing

6.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Inkubationsprotokolle und optimale Cut-Off-Werte für den IR-Biotyper. ..	38
Tabelle 2: Anzahl an VRE-positiven Proben und Patienten abhängig von den einSENDenden Kliniken.	45
Tabelle 3: Qualität der durch das UKR eingesendeten Proben.	46
Tabelle 4: Anzahl der Erstisolate je Monat.	49
Tabelle 5: Abnahmeort der ersten positiven Probe.....	50
Tabelle 6: Anzahl an Proben je Cluster.	53
Tabelle 7: Zuordnung der Stationen zu den einzelnen Kliniken und Darstellung der jeweils zum Fachgebiet zugeordnete Intensivstation (ITS).....	62
Tabelle 8: Verwendete Isolate für den Vergleich der Nährmedien.....	67
Tabelle 9: Anzahl der Messpunkte pro Agar.....	67
Tabelle 10: Fehler bei Messung und Auswertung der Columbia-Blut-Agar Proben mit dem IR-Biotyper.	69
Tabelle 11: Fehler bei Messung und Auswertung der mit Müller-Hinton-II-Agar angezüchteten Proben mit dem IR-Biotyper.....	71
Tabelle 12: Fehler bei Messung und Auswertung der mit Herz-Hirn-Agar angezüchteten Proben mit dem IR-Biotyper.....	73
Tabelle 13: Ausbeute der Messungen und Fehler bei der Clustereinordnung in allen Validierungsmessungen.	74
Tabelle 14: Ausbeute der Messungen und Fehler bei der Clustereinordnung in den Validierungsmessungen 6-10.	77
Tabelle 15: Vergleich der ersten und zweiten Validierungswoche.....	78
Tabelle 16: Probennummern der WGS-Stichprobe.	81
Tabelle 17: MLST-Typisierung der Stichprobe.	82
Tabelle 18: Mess- und Auswertungsfehler des Kostenreduktionsversuchs.....	91

Tabelle 19: Vergleich der Ergebnisse des Kostenreduktionsversuchs mit denen der Validierung.	92
Tabelle 20: Ausbeute der Messungen und Fehler bei der Clustereinordnung in den Validierungsmessungen inklusive des Kostenreduktionsversuchs.	92
Tabelle 21: Vergleich der Ergebnisse der Validierung inklusive und exklusive des kostensparenden Versuchs.	94
Tabelle 22: Statistische Daten aller untersuchten Stationen.....	96
Tabelle 23: Cluster aller Stationen.....	102
Tabelle 24: Statistische Daten der Gastroenterologie und Onkologie, sowie der Intensivstation 93. NN = nicht nachweisbar MÜ = Mögliche Übertragungen Pat Tage = Patienten Tage St. = Stationen.	127
Tabelle 25: Verschiedene Agar im Vergleich.....	143
Tabelle 26: Daten der Gastroenterologie, Onkologie und der Station 17.	159
Tabelle 27: Daten der Intensivstationen des Universitätsklinikums Regensburg....	161
Tabelle 28: Verbrauch von Desinfektionsmittel und Händehygiene 2017. Die Stationen 92 und 93 teilten sich ein Lager für Desinfektionsmittel und können somit nicht einzeln bewertet werden.	163

6.3 Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 1: ADKA-If UKR Antiinfektiva-Report 2014-2018.</i>	21
<i>Abbildung 2: Light Cycler Ergebnis eines vanA-positiven Enterokokken.</i>	25
<i>Abbildung 3: Light Cycler Ergebnis von vanB-positiven Enterokokken.</i>	26
<i>Abbildung 4: Bild des IR-Biotypers (Bruker, Broschüre des IR-Biotypers 2018, Verfügbar unter: https://www.bruker.com/fileadmin/user_upload/8-PDF-Docs/Separations_MassSpectrometry/Literature/Brochures/1852688_IR_Biotyoeer_05-2017_ebook.pdf Stand 17.06.2018 11:20 Uhr).</i>	29
<i>Abbildung 5: Darstellung eines Infrarot Fingerabdrucks einer Probe des IR-Biotypers (Bruker, Broschüre des IR-Biotypers 2018, Verfügbar unter: https://www.bruker.com/fileadmin/user_upload/8-PDF-Docs/Separations_MassSpectrometry/Literature/Brochures/1852688_IR_Biotyoeer_05-2017_ebook.pdf Stand 17.06.2018 11:20 Uhr).</i> ...	29
<i>Abbildung 6: Arbeitsschritte einer Messung mit dem IR-Biotyper. (Bruker, Broschüre des IR-Biotypers 2018, Verfügbar unter: https://www.bruker.com/fileadmin/user_upload/8-PDF-Docs/Separations_MassSpectrometry/Literature/Brochures/1852688_IR_Biotyoeer_05-2017_ebook.pdf Stand 17.06.2018 11:20 Uhr).</i>	31
<i>Abbildung 7: IR-Biotyper-Kit.</i>	32
<i>Abbildung 8: OVP-Test Platte für den IR-Biotyper.</i>	32
<i>Abbildung 9: Darstellung der gemessenen Proben (Aus dem IR-Biotyper Programm von Bruker).</i>	35
<i>Abbildung 10: Entfernungsmatrix (Aus dem IR-Biotyper Auswertungsprogramm).</i> ...	36
<i>Abbildung 11: Dendrogramm (Aus dem IR Biotyper Auswertungsprogramm).</i>	37
<i>Abbildung 12: Darstellung der Altersverteilung.</i>	47
<i>Abbildung 13: Geschlechterverteilung in Prozent des Patientenkollektivs. M steht für männlich, W für weiblich.</i>	47
<i>Abbildung 14: Häufigkeit der Patienten abhängig von der VRE-positiven Probenanzahl.</i>	48
<i>Abbildung 15: Anzahl erstmals positiv auf VRE getestete Patienten.</i>	49

<i>Abbildung 16: Abnahmeorte der Erstisolate.</i>	<i>50</i>
<i>Abbildung 17: Ergebnisse des MALDI-TOF.....</i>	<i>51</i>
<i>Abbildung 18: Van-Typisierung im Vergleich.....</i>	<i>52</i>
<i>Abbildung 19: Zusammensetzung der Cluster aus vanA- oder vanB-positiven Isolaten.....</i>	<i>54</i>
<i>Abbildung 20: Zusammensetzung der Cluster aus vanA und vanB.....</i>	<i>54</i>
<i>Abbildung 21: Clusterzusammensetzung abhängig von den Abnahmeorten der Proben.....</i>	<i>55</i>
<i>Abbildung 22: Clusterverteilung der Abnahmematerialien.....</i>	<i>56</i>
<i>Abbildung 23: Durchschnittliche Krankenhaustage und stationäre Aufenthalte vor positivem VRE-Befund.....</i>	<i>58</i>
<i>Abbildung 24: Erstmals positiv auf VRE getestete Patienten nach Fachgebieten. ...</i>	<i>60</i>
<i>Abbildung 25: Summe von als nosokomial (NK), mitgebracht (MW) und durch Screening (Screen) eingruppierte Patientenisolate.....</i>	<i>61</i>
<i>Abbildung 26: Neu aufgetretene VRE-Fälle nach Stationen.....</i>	<i>63</i>
<i>Abbildung 27: Summe der nosokomialen (NK), mitgebrachten (MW), oder durch Eingangsscreening (Screen) klassifizierten neuen VRE-Fälle.....</i>	<i>64</i>
<i>Abbildung 28: Neu detektierte VRE-Fälle auf den Intensivstationen des Universitätsklinikums Regensburg.....</i>	<i>66</i>
<i>Abbildung 29: Auswertung aller mittels Blut-Agar angezüchteten Proben.....</i>	<i>68</i>
<i>Abbildung 30: Auswertung der mit Müller-Hinton-II-Agar angezüchteten Proben.....</i>	<i>70</i>
<i>Abbildung 31: Analyse aller mit Herz-Hirn-Agar angezüchteten Proben.....</i>	<i>72</i>
<i>Abbildung 32: Anzahl der nicht möglichen Messungen und Auswertungsfehler.....</i>	<i>75</i>
<i>Abbildung 33: Auswertbare Messpunkte je Messung im zeitlichen Verlauf.....</i>	<i>76</i>
<i>Abbildung 34: Anzahl der nicht möglichen Messungen und Auswertungsfehler der Validierungsmessungen 6 - 10.....</i>	<i>78</i>

<i>Abbildung 35: Vergleich aller Cluster der Station 54.</i>	<i>79</i>
<i>Abbildung 36: Station 97 mit 108 verschiedenen Patienten.</i>	<i>80</i>
<i>Abbildung 37: Vergleich des IR-Biotypers mit den MLST-Daten.</i>	<i>83</i>
<i>Abbildung 38: MLST-Daten der Station 20 im Vergleich zu der Clustereinteilung durch den IR-Biotyper.</i>	<i>84</i>
<i>Abbildung 39: MLST-Daten der Station 21 im Vergleich zu der Clustereinteilung durch den IR-Biotyper.</i>	<i>85</i>
<i>Abbildung 40: Einteilung der 30 mittels PFGE eingeteilten Proben in Cluster.</i>	<i>87</i>
<i>Abbildung 41: Vergleich des Biotypers mit der Pulsfeldgelelektrophorese.</i>	<i>88</i>
<i>Abbildung 42: 3D-Stammbaum der WGS Daten.</i>	<i>89</i>
<i>Abbildung 43: Analyse der Core-Genome.</i>	<i>89</i>
<i>Abbildung 44: Whole-Genom-Daten der Stichprobe.</i>	<i>90</i>
<i>Abbildung 45: Nicht verwendbare Messpunkte des Validierungs- (Val) und Kostenreduktionsversuchs (KrV).</i>	<i>93</i>
<i>Abbildung 46: Patienten- und VRE-Tage abhängig von den Stationen.</i>	<i>97</i>
<i>Abbildung 47: Mittlere tägliche VRE-Last der einzelnen Stationen in Prozent.</i>	<i>98</i>
<i>Abbildung 48: VRE-positive Patienten und Fälle.</i>	<i>99</i>
<i>Abbildung 49: Mittlere VRE-Tage pro Fall.</i>	<i>100</i>
<i>Abbildung 50: Anzahl VRE-Fälle pro 1000 Patiententage.</i>	<i>101</i>
<i>Abbildung 51: VRE-Tage je Cluster.</i>	<i>103</i>
<i>Abbildung 52: VRE-Patient und -Fälle der verschiedenen Cluster.</i>	<i>104</i>
<i>Abbildung 53: Mögliche nosokomiale Übertragungen je Cluster.</i>	<i>104</i>
<i>Abbildung 54: Mögliche VRE-Übertragungen der Cluster pro Fall.</i>	<i>105</i>
<i>Abbildung 55: Mögliche VRE-Übertragungen nach Clustern pro Station.</i>	<i>106</i>
<i>Abbildung 56: Exemplarische Darstellung der weiter unten folgenden taggenauen Darstellungen anhand Station 91.</i>	<i>108</i>

<i>Abbildung 57: Statistische Daten der Station 14 im Vergleich zur Gesamtheit.....</i>	<i>109</i>
<i>Abbildung 58: Taggenaue Abbildung der beiden Hauptcluster der Station 14 im zeitlichen Verlauf.</i>	<i>109</i>
<i>Abbildung 59: Statistische Daten der Station 15 im Vergleich zur Gesamtheit.....</i>	<i>110</i>
<i>Abbildung 60: Taggenaue Abbildung der Cluster 540 und 948 der Station 15 im zeitlichen Verlauf.</i>	<i>111</i>
<i>Abbildung 61: Statistische Daten der Station 17 im Vergleich zur Gesamtheit.....</i>	<i>112</i>
<i>Abbildung 62: Taggenaue Belegungsabbildung des Clusters 948 der Station 17 im zeitlichen Verlauf.</i>	<i>112</i>
<i>Abbildung 63: Taggenaue Abbildung der Belegung der Cluster 540 und 1059 auf der Station 17 im zeitlichen Verlauf.</i>	<i>113</i>
<i>Abbildung 64: Statistische Daten der Station 18 im Vergleich zur Gesamtheit.....</i>	<i>114</i>
<i>Abbildung 65: Taggenaue Abbildung der Belegung des Clusters 948 der Station 18 im zeitlichen Verlauf.</i>	<i>114</i>
<i>Abbildung 66: Statistische Daten der Station 20 im Vergleich zur Gesamtheit.....</i>	<i>115</i>
<i>Abbildung 67: Taggenaue Abbildung der Belegung der Cluster der Station 20 im zeitlichen Verlauf.</i>	<i>115</i>
<i>Abbildung 68: MLST-Daten der Station 20 im zeitlichen Verlauf.</i>	<i>116</i>
<i>Abbildung 69: Statistische Daten der Station 21 im Vergleich zur Gesamtheit.....</i>	<i>117</i>
<i>Abbildung 70: Taggenaue Abbildung der Belegung des Clusters 948 der Station 21 im zeitlichen Verlauf.</i>	<i>117</i>
<i>Abbildung 71: MLST-Daten der Station 21 im zeitlichen Verlauf.</i>	<i>118</i>
<i>Abbildung 72: Statistische Daten der Station 56 im Vergleich zur Gesamtheit.....</i>	<i>119</i>
<i>Abbildung 73: Taggenaue Abbildung der Belegung des Clusters 948 der Station 56 im zeitlichen Verlauf.</i>	<i>119</i>
<i>Abbildung 74: Statistische Daten der Station 57 im Vergleich zur Gesamtheit.....</i>	<i>120</i>

<i>Abbildung 75: Taggenaue Abbildung der Belegung der Cluster 948 und 540 der Station 56 im zeitlichen Verlauf.</i>	<i>120</i>
<i>Abbildung 76: Statistische Daten der Station 90 im Vergleich zur Gesamtheit.....</i>	<i>121</i>
<i>Abbildung 77: Taggenaue Abbildung der Belegung der Cluster 540 und 948 der Station 90 im zeitlichen Verlauf.</i>	<i>121</i>
<i>Abbildung 78: Statistische Daten der Station 91 im Vergleich zur Gesamtheit.....</i>	<i>122</i>
<i>Abbildung 79: Taggenaue Abbildung der Belegung des Clusters 540 der Station 91 im zeitlichen Verlauf.</i>	<i>122</i>
<i>Abbildung 80: Statistische Daten der Station 92 im Vergleich zur Gesamtheit.....</i>	<i>123</i>
<i>Abbildung 81: Taggenaue Abbildung der Belegung der Cluster 540 und 948 der Station 91 im zeitlichen Verlauf.</i>	<i>123</i>
<i>Abbildung 82: Taggenaue Abbildung der Belegung der Cluster 534, 549, 711 und 1059 der Station 92 im zeitlichen Verlauf.</i>	<i>124</i>
<i>Abbildung 83: Statistische Daten der Station 93 im Vergleich zur Gesamtheit.....</i>	<i>125</i>
<i>Abbildung 84: Taggenaue Abbildung der Belegung der Cluster 540 und 948 der Station 93 im zeitlichen Verlauf. Die beiden senkrechten Linien bilden einen Zeitsprung von 8 Wochen ab.....</i>	<i>125</i>
<i>Abbildung 85: Statistische Daten der Station 97 im Vergleich zur Gesamtheit.....</i>	<i>126</i>
<i>Abbildung 86: Taggenaue Abbildung der Belegung des Clusters 948 der Station 97 im zeitlichen Verlauf.</i>	<i>126</i>
<i>Abbildung 87: Statistik der Stationen 14, 15, 20, 21 92 und 93.</i>	<i>127</i>
<i>Abbildung 88: Statistische Daten der Gastroenterologie verglichen mit drei durchschnittlichen Stationen.....</i>	<i>128</i>
<i>Abbildung 89: Cluster 540 der Gastroenterologie im zeitlichen Verlauf.....</i>	<i>129</i>
<i>Abbildung 90: Cluster 948 der Gastroenterologie im zeitlichen Verlauf.....</i>	<i>129</i>
<i>Abbildung 91: Kleinere Cluster der Gastroenterologie im zeitlichen Verlauf.....</i>	<i>130</i>

<i>Abbildung 92: Taggenaue Abbildung der Belegung des Clusters 540 der Gastroenterologie im zeitlichen Verlauf.</i>	<i>131</i>
<i>Abbildung 93: Taggenaue Abbildung der Belegung des Clusters 948 der Gastroenterologie im zeitlichen Verlauf.</i>	<i>131</i>
<i>Abbildung 94: Statistische Daten der Stationen 20, 21 und 93 verglichen mit der Klinikgesamtheit.</i>	<i>132</i>
<i>Abbildung 95: Taggenaue Abbildung der Belegung der Cluster 540 und 518M der Stationen 20, 21 und 93 im zeitlichen Verlauf.....</i>	<i>132</i>
<i>Abbildung 96: Taggenaue Abbildung der Belegung des Clusters 948 der Stationen 20, 21 und 93 im zeitlichen Verlauf.....</i>	<i>133</i>
<i>Abbildung 97: Taggenaue Abbildung der Belegung der Cluster der Stationen 20, 21 und 93 im zeitlichen Verlauf.....</i>	<i>134</i>
<i>Abbildung 98: Mögliche Übertragungen der Stationen 14, 15 und 92 im Vergleich zu den Stationen 20, 21 und 93.....</i>	<i>135</i>
<i>Abbildung 99: vanA- und vanB-Aufteilung der Isolate des UKR im Zeitraum von 2004 bis 2010.....</i>	<i>138</i>
<i>Abbildung 100: Ausschnitt aus dem Biotyper Programm, Auswertung Müller-Hinton-Agar Versuch.....</i>	<i>141</i>
<i>Abbildung 101: Mess- und Auswertungsfehler der verschiedenen untersuchten Agar.</i>	<i>145</i>
<i>Abbildung 102: Auswertungsfehler der verschiedenen Agar mit Standardfehler. ...</i>	<i>145</i>
<i>Abbildung 103: Auswertbare Messpunkte abhängig von den Messungen.</i>	<i>147</i>
<i>Abbildung 104: Anzahl der sieben für mögliche Übertragungen verantwortlichen Cluster auf den Stationen.</i>	<i>155</i>

6.4 Literaturverzeichnis

1. Spelsberg A. Folgen des massenhaften Einsatzes von Antibiotika in Human- und Veterinärmedizin: Gutachten im Auftrag der Bundestagsfraktion Bündnis 90/Die Grünen [cited 2018 Oct 1]. Available from: URL: https://www.gruene-bundestag.de/fileadmin/media/gruenebundestag_de/themen_az/gesundheit/Gutachten_Antibiotika_resistenz.pdf.
2. EMEA. The_Bacterial_Challenge_Time_to_React: A call to narrow the gap between multidrug-resistant bacteria in the EU and the development of new antibacterial agents. Stockholm: EMEA doc. ref.; 2009 [cited 2018 Oct 11]. Available from: URL: https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/0909_TER_The_Bacterial_Challenge_Time_to_React.pdf.
3. CDC Office of Infectious Diseases. ANTIBIOTIC RESISTANCE THREATS in the United States, 2013: VANCOMYCIN-RESISTANT ENTEROCOCCUS (VRE): Centers of Disease Control and Prevention; 2013 [cited 01.10.18 00:35]. Available from: URL: <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/ar-threats-2013-508.pdf>.
4. Meyer E. Antibiotikaeinsatz und Resistenzentwicklung in Deutschland: Studie im Auftrag der Bundestagsfraktion Bündnis 90/Die Grünen [cited 01.10.18 00:28]. Available from: URL: https://www.gruene-bundestag.de/fileadmin/media/gruenebundestag_de/themen_az/agrar/Studie-Antibiotika-und-Resistenzen.pdf.
5. Siegmund-Schulze N. Antibiotikaresistenzen in Deutschland: Spektrum an Problemkeimen wächst. Deutsches Ärzteblatt Online 2016 [cited 2018 Aug 15]; 112(14):655–6. Available from: URL: <https://www.aerzteblatt.de/archiv/175664/Antibiotikaresistenzen-in-Deutschland-Spektrum-an-Problemkeimen-waechst>.
6. ECDC. SURVEILLANCE REPORT. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2016: Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC; 2017. (vol 2017).
7. Meyer E, Schröder C, Gastmeier P, Geffers C. The reduction of nosocomial MRSA infection in Germany: an analysis of data from the Hospital Infection Surveillance System (KISS) between 2007 and 2012. Dtsch Arztebl Int 2014; 111(19):331–6.

8. Gastmeier P, Schröder C, Behnke M, Meyer E, Geffers C. Dramatic increase in vancomycin-resistant enterococci in Germany. *J Antimicrob Chemother* 2014; 69(6):1660–4.
9. Murray BE. The life and times of the Enterococcus. *Clin Microbiol Rev* 1990 [cited 2018 Oct 11]; 3(1):46–65. Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC358140/>.
10. Fisher K, Phillips C. The ecology, epidemiology and virulence of Enterococcus. *Microbiology (Reading, Engl)* 2009; 155(Pt 6):1749–57.
11. Klein G. Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract. *Int J Food Microbiol* 2003; 88(2-3):123–31.
12. Kayser FH. Safety aspects of enterococci from the medical point of view. *Int J Food Microbiol* 2003; 88(2-3):255–62.
13. Robert Koch-Institut. Eigenschaften, Häufigkeit und Verbreitung von Vancomycinresistenten Enterokokken (VRE) in Deutschland: Update 2015/2016. *Epidemiologisches Bulletin* 2017; (46):520–30.
14. RKI - Übersichtsbeiträge - Enterococcus faecalis und Enterococcus faecium [cited 2018 Aug 15]. Available from: URL: https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Antibiotikaresistenz/Übersichtsbeitraege/nosokomiale_Erreger/Enterococcus.html.
15. Kearns AM, Freeman R, Lightfoot NF. Nosocomial enterococci: resistance to heat and sodium hypochlorite. *J Hosp Infect* 1995; 30(3):193–9.
16. Rasa T, Rahmat S, Saadia Andleeb U. Vancomycin resistant Enterococci: A brief review. *Journal Of Pakistan Medical Association* 2018 [cited 2018 Aug 15]; 2018(68). Available from: URL: http://jpma.org.pk/full_article_text.php?article_id=8691.
17. Wendt C, Wiesenthal B, Dietz E, Rüden H. Survival of vancomycin-resistant and vancomycin-susceptible enterococci on dry surfaces. *J Clin Microbiol* 1998; 36(12):3734–6.
18. Kramer A, Schwebke I, Kampf G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. *BMC Infect Dis* 2006; 6:130.
19. Sava IG, Heikens E, Huebner J. Pathogenesis and immunity in enterococcal infections. *Clinical Microbiology and Infection* 2010; 16(6):533–40.

20. Werner Gea. Vancomycin-resistente Enterokokken. Krankenhaus-Hygiene + Infektionsverhütung 2008; 30(6):220.
21. Arias CA, Murray BE. The rise of the Enterococcus: beyond vancomycin resistance. Nat Rev Micro 2012; 10(4):266–78.
22. Klare I, Witte W, Wendt C, Werner G. Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE). Aktuelle Daten und Trends zur Resistenzentwicklung. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz 2012; 55(11-12):1387–400.
23. Chang Q, Wang W, Regev-Yochay G, Lipsitch M, Hanage WP. Antibiotics in agriculture and the risk to human health: how worried should we be? Evol Appl 2015; 8(3):240–7.
24. Bundesinstitut für Risikobewertung. Fragen und Antworten zu den Auswirkungen des Antibiotika-Einsatzes in der Nutztierhaltung - Aktualisierte FAQ des BfR vom 03. August 2016; 2016 [cited 2018 Oct 7]. Available from: URL: https://www.bfr.bund.de/de/fragen_und_antworten_zu_den_auswirkungen_des_antibiotika_einsatzes_in_der_nutztierhaltung-128153.html.
25. Werner, Guido: Klare, Ingo, Hübner J, Kern W, Witte W. Vancomycin-resistente Enterokokken. Krankenhaus-Hygiene + Infektionsverhütung 2008; 30(6):220.
26. Levitus M, Perera TB. StatPearls: Vancomycin-Resistant Enterococci (VRE). Treasure Island (FL); 2018 [cited 2018 Oct 11]. Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513233/><https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513233/>.
27. Ranotkar S, Kumar P, Zutshi S, Prashanth KS, Bezbaruah B, Anand J et al. Vancomycin-resistant enterococci: Troublemaker of the 21st century. J Glob Antimicrob Resist 2014; 2(4):205–12.
28. A. Simon, N. Gröger, S. Engelhart, veröff.in Hyg.+Medizin 2(2, S:259-275. Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE) - Übersicht zur Bedeutung, Prävention und Management in der Pädiatrie: Vancomycin resistant Enterococci (VRE) – Importance, Prevention and Management in Pediatrics – A Review. Hyg Med 2004 [cited 2018 Aug 13]; 29(7/8):259–75.

29. Robert Koch-Institut. Regionale Verteilung des Anteils von MRSA und VRE bei nosokomialen Infektionen mit *S. aureus* und Enterokokken Untersuchung auf Intensivstationen sowie bei postoperativen Wundinfektionen. *Epidemiologisches Bulletin* 2016; (6):191–6.
30. Remschmidt C, Schröder C, Behnke M, Gastmeier P, Geffers C, Kramer TS. Continuous increase of vancomycin resistance in enterococci causing nosocomial infections in Germany - 10 years of surveillance. *Antimicrob Resist Infect Control* 2018 [cited 2018 Oct 8]; 7(54). Available from: URL: <https://doi.org/10.1186/s13756-018-0353-x>.
31. Guzman Prieto AM, van Schaik W, Rogers MRC, Coque TM, Baquero F, Corander J et al. Global Emergence and Dissemination of Enterococci as Nosocomial Pathogens: Attack of the Clones? *Front Microbiol* 2016; 7(788):1–15.
32. Klare I, Konstabel C, Badstübner D, Werner G, Witte W. Occurrence and spread of antibiotic resistances in *Enterococcus faecium*. *Int J Food Microbiol* 2003; 88(2-3):269–90.
33. Cattoir V, Leclercq R. Twenty-five years of shared life with vancomycin-resistant enterococci: is it time to divorce? *J Antimicrob Chemother* 2013; 68(4):731–42.
34. Arias CA, Murray BE. The rise of the *Enterococcus*: beyond vancomycin resistance. *Nat Rev Microbiol* 2012; 10(4):266–78.
35. Walters MS, Eggers P, Albrecht V, Travis T, Lonsway D, Hovan G et al. Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* - Delaware, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2015; 64(37):1056.
36. McGuinness W, Malachowa N, DeLeo F. Vancomycin Resistance in *Staphylococcus aureus*: Laboratory of Bacteriology, Rocky Mountain Laboratories, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health, Hamilton, MT. *YALE JOURNAL OF BIOLOGY AND MEDICINE* 2017; 90:269–81.
37. Niederhäusern S de, Sabia C, Messi P, Guerrieri E, Manicardi G, Bondi M. Glycopeptide-resistance transferability from vancomycin-resistant enterococci of human and animal source to *Listeria* spp. *Lett Appl Microbiol* 2004; 39(6):483–9.

38. DM Sievert et al. Staphylococcus aureus Resistant to Vancomycin --- United States, 2002: CDC Office of Infectious Diseases; 2002 [cited 2019 Mar 7]. Available from: URL: <https://www.cdc.gov/Mmwr/preview/mmwrhtml/mm5126a1.htm>.
39. Salgado CD. The risk of developing a vancomycin-resistant Enterococcus bloodstream infection for colonized patients. *Am J Infect Control* 2008; 36(10):S175.e5-8.
40. Mutters N, Werner G, Tacconelli E, Mischik A. Vancomycin-resistente Enterokokken: Welche Therapieoptionen gibt es? *Dtsch med Wochenschr* 2015; 140:42–5.
41. Remschmidt C, Behnke M, Kola A, Peña Diaz LA, Rohde AM, Gastmeier P et al. The effect of antibiotic use on prevalence of nosocomial vancomycin-resistant enterococci- an ecologic study. *Antimicrob Resist Infect Control* 2017 [cited 2018 Oct 8]; 6(95):1–8. Available from: URL: <https://doi.org/10.1186/S13756-017-0253-5>.
42. PD Baum H, PD Dettenkofer M, Fahr A-M, Heeg P, PD Wendt C. Umgang mit Patienten mit Glykopeptid-resistenten Enterokokken (GRE)/Vancomycin-resistenten Enterokokken (VRE). *Hyg Med* 2006; 31(1).
43. Mutters NT, Mersch-Sundermann V, Mutters R, Brandt C, Schneider-Brachert W, Frank U: C. Control of the Spread of Vancomycin-Resistant Enterococci in Hospitals: epidemiology and clinical relevance. *Deutsches Arzteblatt international* 2013 2013; 110(43):725–31.
44. Mellmann H. Molekulare Diagnostik: Typisierung von Mikroorganismen. In: Neumeister B, Burkhardt F, Dahouk Sa, editors. *Mikrobiologische Diagnostik: Bakteriologie - Mykologie - Virologie - Parasitologie* ; 288 Tabellen. 2., vollst. überarb. Aufl. Stuttgart [u.a.]: Thieme; 2009. p. 247–58.
45. Meinel DM, Seth-Smith HMB, Egli A. «Whole genome sequencing». *Swiss Med Forum* 2017; 17(1516).
46. Rossen JWA, Friedrich AW, Moran-Gilad J. Practical issues in implementing whole-genome-sequencing in routine diagnostic microbiology. *Clin Microbiol Infect* 2018; 24(4):355–60.
47. Bruker Introduces New Solutions for Microbial Strain Typing, Hospital Hygiene and Infection Control at the ASM Microbe 2017 Meeting; 2018 [cited 2018 Aug 17].

Available from: URL: <https://www.prnewswire.com/news-releases/bruker-introduces-new-solutions-for-microbial-strain-typing-hospital-hygiene-and-infection-control-at-the-asm-microbe-2017-meeting-300466780.html>.

48. Germap 2015: Antibiotika-Resistenz und -Verbrauch; Bericht über den Antibiotikaverbrauch und die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen in der Human- und Veterinärmedizin in Deutschland. Rheinbach: Antiinfectives Intelligence; 2016.
49. Bonten MJM, Willems R, Weinstein RA. Vancomycin-resistant enterococci: why are they here, and where do they come from? *The Lancet Infectious Diseases* 2001; 1(5):314–25.
50. Küster A, Lehmann S, Hein A, Schönfeld J. Antibiotika in der Umwelt – Wirkung mit Nebenwirkung 2013 [cited 2018 Oct 8]; (1):18–28. Available from: URL: https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/419/publikationen/antibiotika_in_der_umwelt.pdf.
51. Schalasta G. Molekulare Diagnostik: Identifizierung von Mikroorganismen. In: Neumeister B, Burkhardt F, Dahouk Sa, editors. *Mikrobiologische Diagnostik: Bakteriologie - Mykologie - Virologie - Parasitologie* ; 288 Tabellen. 2., vollst. überarb. Aufl. Stuttgart [u.a.]: Thieme; 2009. p. 224–46.
52. Ririe KM, Rasmussen RP, Wittwer CT. Product differentiation by analysis of DNA melting curves during the polymerase chain reaction. *Anal Biochem* 1997; 245(2):154–60.
53. Hernández HG, Tse MY, Pang SC, Arboleda H, Forero DA. Optimizing methodologies for PCR-based DNA methylation analysis. *BioTechniques* 2018 [cited 2018 Aug 7]; 55(4). Available from: URL: <https://www.future-science.com/doi/full/10.2144/000114087>.
54. Liu Y-P, Wu H-Y, Yang X, Xu H-Q, Chen D, Huang Q et al. Diagnostic accuracy of high resolution melting analysis for detection of KRAS mutations: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep* 2014; 4:7521.
55. Schubert S, Weig M. MALDI-TOF-MS-basierte Verfahren zur Differenzierung von Bakterien und Pilzen. In: Neumeister B, Burkhardt F, Dahouk Sa, editors. *Mikrobiologische Diagnostik: Bakteriologie - Mykologie - Virologie - Parasitologie* ; 288 Tabellen. 2., vollst. überarb. Aufl. Stuttgart [u.a.]: Thieme; 2009. p. 166–70.

-
56. Kähler K, Kunert U. Automatisierung in der Mikrobiologie (Identifizierung und antimikrobielle Empfindlichkeitsprüfung). In: Neumeister B, Burkhardt F, Dahouk Sa, editors. Mikrobiologische Diagnostik: Bakteriologie - Mykologie - Virologie - Parasitologie ; 288 Tabellen. 2., vollst. überarb. Aufl. Stuttgart [u.a.]: Thieme; 2009. p. 13–20.
57. Bruker Daltonik GmbH. Bruker ASM Press release 2018 [cited 2018 Jun 17]. Available from: URL: <https://www.bruker.com/news/asm/bruker-asm-press-release-2018.html>.
58. Bruker Daltonik GmbH. 1852688_IR_Biotyper_05-2017_ebook [cited 2018 Oct 8]. Available from: URL: www.bruker.com.
59. Bruker. IR Biotyper User Manual - Revision A. Bruker Daltonik GmbH; 2017.
60. Bruker. IR Biotyper Software User Manual - Revision A. Bruker Daltonik GmbH; 2017.
61. MLST - Home: Welcome to the Multi Locus Sequence Typing home page [cited 2018 Jul 27]. Available from: URL: <http://www.mlst.net/>.
62. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol* 1995; 33(9):2233–9.
63. CM0331, Columbia Blood Agar Base | Oxoid - Product Detail [cited 2018 Jun 18]. Available from: URL: http://www.oxid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM0331&c=UK&lang=EN.
64. Brar Piening, Sonja Hansen, Michael Behnke, Rasmus Leistner. Europäische Prävalenzerhebung zum Vorkommen von nosokomialen Infektionen und zur Anwendung von Antibiotika - Protokoll für teilnehmende Krankenhäuser; 2016 [cited 2018 Oct 8]. Available from: URL: https://www.nrz-hygiene.de/fileadmin/nrz/download/pps2016/EUPPS2016DE_Protokoll_Version_4.6.pdf.
65. Microsoft-Konto. KISS-Newsletter_Dezember_2017; 2017 [cited 2018 Oct 8]. Available from: URL: https://www.nrz-hygiene.de/fileadmin/nrz/download/KISS-Newsletter_Dezember_2017.pdf.

66. Wieler LH, Broich K. Erratum zu: Antibiotikaresistenzen: Große Herausforderungen erfordern komplexe Lösungen. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz 2018; 61(6):767.
67. Geffers C, Gastmeier P. Nosocomial infections and multidrug-resistant organisms in Germany: epidemiological data from KISS (the Hospital Infection Surveillance System). Dtsch Arztebl Int 2011; 108(6):87–93.
68. Wendt C. VRE – das Problem beginnt im Darm; 2017 [cited 08.10.18]. Available from: URL: http://www.labor-cottbus.de/fileadmin/user_upload/Dokumente/pdf/Hygiene-Forum_2017/VRE_-_das_Problem_beginnt_im_Darm__Dr._Wendt.pdf.
69. Goll C, Balmer P, Schwab F, Rüden H, Eckmanns T. Different trends of MRSA and VRE in a German hospital, 1999-2005. Infection 2007; 35(4):245–9.
70. Bodden G. Retrospektive Analyse des Einflusses einer Kolonisation mit Vancomycin-resistenten Enterokokken auf Patienten mit hämatologisch-onkologischen Neoplasien. Düsseldorf: Heinrich-Heine-Universität; 2018.
71. Mutters NT, Frank U. Sources of systematic errors in the epidemiology of vancomycin-resistant enterococci. Infection 2013; 41(2):305–10.
72. Robert Koch-Institut. Eigenschaften, Häufigkeit und Verbreitung von Vancomycin-resistenten Enterokokken (VRE) in Deutschland – Update 2013/2014. Epidemiologisches Bulletin 2015; (40):429–38.
73. Robert Koch-Institut. Vancomycin-resistente Enterokokken in deutschen Krankenhäusern 2006/2007: Situationsbericht zur Verbreitung und Resistenzentwicklung. Epidemiologisches Bulletin 2008; (23):179–92.
74. Abraha I, Montedori A, Serraino D, Orso M, Giovannini G, Scotti V et al. Accuracy of administrative databases in detecting primary breast cancer diagnoses: a systematic review. BMJ Open 2018; 8(7).
75. Gore CJ, Hopkins WG, Burge CM. Errors of measurement for blood volume parameters: a meta-analysis. J Appl Physiol 2005; 99(5):1745–58.
76. Regnath T. Manuelle und automatisierte Verfahren: Bakteriologie: Verfahren zum direkten Erregernachweis. In: Neumeister B, Burkhardt F, Dahouk Sa, editors. Mikrobiologische Diagnostik: Bakteriologie - Mykologie - Virologie - Parasitologie ; 288 Tabellen. 2., vollst. überarb. Aufl. Stuttgart [u.a.]: Thieme; 2009. p. 143–76.

77. Morrison D., Jones B., Egleton C., Cookson B.D. PCR Typing of *Enterococcus faecium*. In: Horaud T, editor. *Streptococci and the host*. New York: Springer Science+Business Media, LLC; 1997. p. 387–91 (The language of science; volume 418).
78. Zou W, Chen H-C, Hise KB, Tang H, Foley SL, Meehan J et al. Meta-analysis of pulsed-field gel electrophoresis fingerprints based on a constructed *Salmonella* database. *PLoS ONE* 2013; 8(3).
79. Wichelhaus T. Typisierungsverfahren in der Infektionsepidemiologie. *Chemotherapie Journal* 2000 [cited 2018 Aug 23]; 9(2):93–8. Available from: URL: <https://www.uni-bielefeld.de/gesundhw/ag2/infepi/typisierungsverfahren.pdf>.
80. Foxman B, Zhang L, Koopman JS, Manning SD, Marrs CF. Choosing an appropriate bacterial typing technique for epidemiologic studies. *Epidemiol Perspect Innov* 2005; 2:10.
81. Urwin R, Maiden MCJ. Multi-locus sequence typing: a tool for global epidemiology. *Trends Microbiol* 2003; 11(10):479–87.
82. Ibarz Pavón AB, Maiden MCJ. Multilocus sequence typing. *Methods Mol Biol* 2009; 551:129–40.
83. Lemee L, Dhalluin A, Pestel-Caron M, Lemeland J-F, Pons J-L. Multilocus sequence typing analysis of human and animal *Clostridium difficile* isolates of various toxigenic types. *J Clin Microbiol* 2004; 42(6):2609–17.
84. Lytsy B, Engstrand L, Gustafsson Å, Kaden R. Time to review the gold standard for genotyping vancomycin-resistant enterococci in epidemiology: Comparing whole-genome sequencing with PFGE and MLST in three suspected outbreaks in Sweden during 2013-2015. *Infect Genet Evol* 2017; 54:74–80.
85. Feliciano CS, Namburete EI, Rodrigues Praça J, Peronni K, Dippenaar A, Warren RM et al. Accuracy of whole genome sequencing versus phenotypic (MGIT) and commercial molecular tests for detection of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolated from patients in Brazil and Mozambique. *Tuberculosis (Edinb)* 2018; 110:59–67.
86. Köser CU, Ellington MJ, Peacock SJ. Whole-genome sequencing to control antimicrobial resistance. *Trends Genet* 2014 [cited 2018 Sep 28]; 30(9):401–7.

- Available from: URL: https://ac.els-cdn.com/S0168952514001140/1-s2.0-S0168952514001140-main.pdf?_tid=d4c37e5e-e92c-4941-a879-cdf16773f5ed&acdnat=1538121449_aa442a55a72283e0ecedec644bd05ef7.
87. McGann P, Bunin JL, Snesrud E, Singh S, Maybank R, Ong AC et al. Real time application of whole genome sequencing for outbreak investigation - What is an achievable turnaround time? *Diagn Microbiol Infect Dis* 2016; 85(3):277–82.
88. Tagini F, Greub G. Bacterial genome sequencing in clinical microbiology: a pathogen-oriented review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2017; 36(11):2007–20.
89. Schwarze K, Buchanan J, Taylor JC, Wordsworth S. Are whole-exome and whole-genome sequencing approaches cost-effective? A systematic review of the literature. *Genetics in medicine* 2018 [cited 2018 Aug 24]; 2(15). Available from: URL: <https://www.nature.com/articles/gim2017247.pdf>.
90. Mellmann A, Bletz S, Böking T, Kipp F, Becker K, Schultes A et al. Real-Time Genome Sequencing of Resistant Bacteria Provides Precision Infection Control in an Institutional Setting. *J Clin Microbiol* 2016; 54(12):2874–81.
91. Buchanan-Hughes AM, Griffiths A, Evans J, Slater D, Eddowes LA. Investigating The Cost-Effectiveness Of Bacterial Whole-Genome Sequencing For Enabling Targeted Antibiotic Selection In Urinary Tract Infections. *Value Health* 2015; 18(7):A510.
92. Raven KE, Reuter S, Gouliouris T, Reynolds R, Russell JE, Brown NM et al. Genome-based characterization of hospital-adapted *Enterococcus faecalis* lineages. *Nat Microbiol* 2016; 1(3).
93. Troillet B. Vancomycin-resistente Enterokokken. *Caduceus express* 2011 [cited 2018 Oct 8]; (13). Available from: URL: https://web2.hospitalvs.ch/fr/ichv/DocumentationDoc/C2011-02_Logo_Enter_D.pdf.
94. Angelis G de, Cataldo MA, Waure C de, Venturiello S, La Torre G, Cauda R et al. Infection control and prevention measures to reduce the spread of vancomycin-resistant enterococci in hospitalized patients: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother* 2014 [cited 2018 Aug 21]; 69(5):1185–92.
95. Ulrich N, Vonberg R-P, Gastmeier P. Outbreaks caused by vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in hematology and oncology departments: A systematic

review. *Heliyon* 2017 [cited 2018 Oct 8]; 3(12). Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5753762/>.

96. Top J, Willems R, Bonten M. Emergence of CC17 *Enterococcus faecium* : from commensal to hospital-adapted pathogen. *FEMS Immunology & Medical Microbiology* 2008; 52(3):297–308.
97. Ho C, Lau A, Cimon K, Farrah K, Gardam M. Screening, Isolation, and Decolonization Strategies for Vancomycin-Resistant Enterococci or Extended Spectrum Beta-Lactamase Producing Organisms: A Systematic Review of the Clinical Evidence and Health Services Impact: Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health; 2012 [cited 2018 Oct 8]. Available from: URL: http://www.cadth.ca/media/pdf/htis/sept-2012/RE0028_VREReport_e.pdf.
98. Derde LPG, Cooper BS, Goossens H, Malhotra-Kumar S, Willems RJL, Gniadkowski M et al. Interventions to reduce colonisation and transmission of antimicrobial-resistant bacteria in intensive care units: an interrupted time series study and cluster randomised trial. *The Lancet Infectious Diseases* 2014; 14(1):31–9.
99. Montecalvo MA, Jarvis WR, Uman J, Shay DK, Petrullo C, Rodney K et al. Infection-control measures reduce transmission of vancomycin-resistant enterococci in an endemic setting. *Ann Intern Med* 1999; 131(4):269–72.
100. Ostrowsky BE, Trick WE, Sohn AH, Quirk SB, Holt S, Carson LA et al. Control of vancomycin-resistant enterococcus in health care facilities in a region. *N Engl J Med* 2001; 344(19):1427–33.
101. Popiel KY, Miller MA. Evaluation of vancomycin-resistant enterococci (VRE)-associated morbidity following relaxation of VRE screening and isolation precautions in a tertiary care hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2014; 35(7):818–25.
102. Kampmeier S, Knaack D, Kossow A, Willems S, Schliemann C, Berdel WE et al. Weekly screening supports terminating nosocomial transmissions of vancomycin-resistant enterococci on an oncologic ward - a retrospective analysis. *Antimicrob Resist Infect Control* 2017; 6(48).
103. Vogt S, Löffler K, Dinkelacker AG, Bader B, Autenrieth IB, Peter S et al. Fourier-Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy for Typing of Clinical *Enterobacter cloacae* Complex Isolates. *Front Microbiol* 2019; 10:2582.

6.5 Anlage (A)

Nummer	Probenzahl	PCR Diagnostik	PCR Hygiene	MALDI TOF	Cluster	Klinik	Station	Abnahmezeitpunkt	Abnahme Ort	Krankenhaustage vor pos Probe	Stat. Aufenthalte Vor pos Probe	NK	MW	Screen
65	5	vanA	A	E. faecium	711	Innere 3	21	01.05.2016	Perianal-/Rektalabstrich	80	1		1	
99	2	vanA	A	E. faecium	L99	Innere 2	93	30.05.2017	Perianal-/Rektalabstrich	90	5		1	
117	1	vanA	A	E. faecium	487M	Chirurgie	57	09.06.2016	Perianal-/Rektalabstrich	71	4		1	
167	3	vanA + B	A	E. faecium	948	Innere 3	20	28.07.2016	Perianal-/Rektalabstrich	132	7		1	
205	3	/	A	E. faecium	534	Chirurgie	90a	19.08.2016	Drainagesekret	59	1		1	
246	1	vanA	A	E. faecium	534	Kinder	84	12.09.2016	Perianal-/Rektalabstrich	77	2		1	
258	1	vanB	B	E. faecium	549	Innere 1	14	30.09.2016	Gallenpunktat	47	2		1	
277	1	vanA + B	A	E. faecium	788	HTG-Chirurgie	97	14.10.2016	Perianal-/Rektalabstrich	88	4		1	
328	4	vanA	A	E. faecium	L328	Innere 1	92	27.11.2016	Perianal-/Rektalabstrich	47	1		1	
351	2	vanB	B	E. faecium	948	Innere 2	19	21.12.2016	Perianal-/Rektalabstrich	40	1		1	
355	3	vanB	B	E. faecium	1111	Innere 3	20	21.12.2016	Perianal-/Rektalabstrich	6	1		1	
356	4	vanA	A	E. faecium	518M	Nephrologie	17	22.12.2016	Perianal-/Rektalabstrich	93	3		1	
384	3	vanA	A	E. faecium	534	Innere 1	92	12.01.2017	Mittelstrahlurin	82	7		1	
390	2	vanA	A	E. faecium	788	Chirurgie	57	10.02.2017	Drainagesekret	37	1		1	
402	1	vanA	A	E. faecium	L328	Innere 1	92	21.01.2017	Perianal-/Rektalabstrich	34	2		1	
415	3	vanA	A	E. faecium	518M	Innere 3	20	02.02.2017	Perianal-/Rektalabstrich	3	1		1	
443	6	/	B	E. faecium	518M	Chirurgie	90c	08.03.2017	Gallenflüssigkeit	22	1		1	
457	1	vanB	B	E. faecium	1111	Innere 3	20	10.03.2017	Mittelstrahlurin	29	1		1	
459	2	vanA	A	E. faecium	X	Nephrologie	17	14.03.2017	Mittelstrahlurin	9	2		1	
471	3	vanA	A	E. faecium	1059	Chirurgie	56	13.03.2017	Wundabstrich	57	2		1	
482	2	vanA	A	E. faecium	L482	Chirurgie	90b	27.03.2017	Aszites	53	5		1	
487	1	/	A	E. faecium	487M	Sammel	46	03.04.2017	Wundabstrich/pleurahöhle	147	2		1	
489	2	vanA	A	E. faecium	489M	Innere 3	Onko TK	06.04.2017	Mittelstrahlurin	10	6		1	
491	5	vanB	B	E. faecium	491M	Innere 1	14	03.04.2017	Perianal-/Rektalabstrich	88	7		1	
499	3	vanA	A	E. faecium	534	Chirurgie	90b	07.04.2017	Drainagesekret	60	3		1	
500	1	vanB	B	Mix	X	Innere 2	18	09.04.2017	Mittelstrahlurin	33	3		1	
506	1	vanB	B	E. faecium	948	Innere 1	14	04.04.2017	Perianal-/Rektalabstrich	6	1		1	
507	3	vanB	B	E. faecium	1111	Innere 1	92	04.04.2017	Perianal-/Rektalabstrich	39	1		1	
509	2	vanB	B	E. faecium	948	Innere 1	92	10.04.2017	Perianal-/Rektalabstrich	1	1		1	
510	2	vanA	A	E. faecium	627	Innere 2	19	10.04.2017	Perianal-/Rektalabstrich	1	1		1	
512	1	vanB	B	E. faecium	948	HTG-Chirurgie	97	19.04.2017	Perianal-/Rektalabstrich	11	1		1	
518	1	vanB	B	E. faecium	518M	Sammel	60	19.04.2017	Perianal-/Rektalabstrich	163	5		1	
522	4	vanB	B	E. faecium	948	Neurochirurgie	91	14.04.2017	Perianal-/Rektalabstrich	27	2		1	
528	3	vanB	B	E. faecium	549	Innere 1	92	25.04.2017	Perianal-/Rektalabstrich	10	1		1	
534	1	vanA	A	E. faecium	534	Innere 1	15	21.04.2017	Drainagesekret	54	6		1	
535	1	vanA	A	E. faecium	948	Innere 1	14	25.04.2017	Drainagesekret	3	1		1	
536	1	vanB	B	E. faecium	948	HTG-Chirurgie	97	26.04.2017	Gefäßkatheterspitze	47	2		1	
540	1	vanA	A	E. faecium	540	Innere 1	92	04.05.2017	Perianal-/Rektalabstrich	2	2		1	
541	2	vanA	A	E. faecium	540	Innere 3	21	04.05.2017	Perianal-/Rektalabstrich	32	3		1	
543	1	vanB	B	E. faecium	891	Dermatologie	Ambulanz	03.05.2017	Pustelabstrich	12	1		1	
545	4	vanB	B	E. faecium	948	HTG-Chirurgie	97	03.05.2017	Dauerkatheterurin	22	1		1	
549	1	vanB	B	E. faecium	549	Innere 1	92	14.05.2017	Perianal-/Rektalabstrich	51	5		1	
551	3	vanB	B	E. faecium	948	Sammel	60	10.05.2017	Perianal-/Rektalabstrich	33	1		1	
555	1	vanA	A	E. faecium	948	Chirurgie	90c	15.05.2017	Drainagesekret	104	4		1	

Nummer	Proben- zahl	PCR Diagnostik	PCR Hygiene	MALDI TOF	Cluster	Klinik	Station	Abnahme- zeitpunkt	Abnahme Ort	Krankenhaustage vor pos Probe	Stat. Aufenthalt Vor pos Probe	NK	MW	Screen
557	2	vanB	B	E. faecium	557	Innere 1	92	17.05.2017	Perianal-/Rektalabstrich	32	2	1		
563	1	vanB	B	E. faecium	948	Innere 3	20	09.05.2017	Perianal-/Rektalabstrich	15	1			1
570	1	vanB	B	E. faecium	948	HTG-Chirurgie	61	22.05.2017	Wundabstrich	19	2	1		
571	1	vanB	B	E. faecium	948	Innere 1	15	17.05.2017	Urin	9	1	1		
572	2	/	B	E. faecium	948	HTG-Chirurgie	97	07.06.2017	Drainagesekret	28	1	1		
574	3	vanB	NN	E. faecium	X	Innere 3	20	07.06.2017	Urin	39	2	1		
580	1	vanB	B	E. faecium	549	Innere 1	92	22.05.2017	Perianal-/Rektalabstrich	6	1	1		
584	3	vanA + B	NN	E. gallinarium	X	Innere 1	92	19.05.2017	Perianal-/Rektalabstrich	22	3	1		
585	4	vanA	A	E. faecium	788	Innere 3	21	18.05.2017	Perianal-/Rektalabstrich	0	0	1		
587	2	vanB	B	E. faecium	1111	Innere 1	92	07.06.2017	Perianal-/Rektalabstrich	0	0	1		
589	8	vanB	B	E. faecium	948	Innere 1	92	08.06.2017	Perianal-/Rektalabstrich	10	1	1		
592	3	vanB	B	E. faecium	948	Innere 2	93	17.06.2017	Blutkultur	15	1	1		
593	4	/	B	E. faecium	540	Kinder	84	22.06.2017	Gallenflüssigkeit	109	7	1		
596	2	vanB	B	E. faecium	948	Innere 1	92	15.06.2017	Perianal-/Rektalabstrich	0	0			1
599	1	/	B	E. faecium	518M	Innere 3	20	08.06.2017	Perianal-/Rektalabstrich	0	0			1
604	2	vanA	A	E. faecium	518M	Innere 3	20	16.06.2017	Perianal-/Rektalabstrich	45	3	1		
606	1	vanB	B	E. faecium	518M	Innere 3	21	12.06.2017	Perianal-/Rektalabstrich	199	6	1		
609	1	vanB	B	E. faecium	1111	Innere 1	92	14.06.2017	Perianal-/Rektalabstrich	1	1			1
615	1	vanA + B	A	E. faecium	540	Innere 1	92	20.06.2017	Perianal-/Rektalabstrich	38	1	1		
618	1	vanB	B	E. faecium	518M	Innere 3	20	20.06.2017	Perianal-/Rektalabstrich	119	8			1
619	1	vanB	B	E. faecium	948	Innere 2	93	20.06.2017	Perianal-/Rektalabstrich	19	1	1		
622	1	vanA	NN	E. faecium	X	Innere 1	14	23.06.2017	Gallenpunktat	1	1			1
627	1	vanA	A	E. faecium	627	Innere 1	14	11.07.2017	Perianal-/Rektalabstrich	40	1	1		
632	4	vanB	B	E. faecium	518M	Innere 3	20	11.07.2017	Perianal-/Rektalabstrich	27	6			1
634	1	vanB	NN	Kein Faecium	X	Innere 3	20	19.07.2017	Perianal-/Rektalabstrich	15	2			1
645	2	vanB	B	E. faecium	948	Innere 1	14	26.07.2017	Perianal-/Rektalabstrich	0	0			1
650	3	vanB	B	E. faecium	948	Innere 2	93	08.08.2017	Perianal-/Rektalabstrich	131	7	1		
651	1	vanB	B	E. faecium	518M	Innere 3	20	12.08.2017	Perianal-/Rektalabstrich	34	6			1
653	1	vanB	NN	E. faecium	948	Innere 2	93	14.08.2017	Perianal-/Rektalabstrich	2	1			1
654	3	vanB	B	E. faecium	948	Innere 2	18	12.08.2017	Perianal-/Rektalabstrich	9	1	1		
656	6	vanA	A	E. faecium	540	Chirurgie	57	31.07.2017	Gallenflüssigkeit	40	5			1
657	7	vanA	A	E. faecium	540	Innere 1	92	14.08.2017	Dauerkatheterurin	16	1	1		
659	4	vanA	A	E. faecium	540	Augen/Chir	48	11.08.2017	IntraOP Abstr Gallengang	18	1	1		
661	1	vanB	B	E. faecium	948	HTG-Chirurgie	61	14.08.2017	Wundabstrich	27	1	1		
668	3	vanA	A	E. faecium	540	Innere 1	92	05.08.2017	Perianal-/Rektalabstrich	24	1	1		
674	11	/	A	E. faecium	540	Chirurgie	90a	25.07.2017	Gewebebiopsie	44	1	1		
676	4	vanB	NN	Kein Faecium	X	Innere 3	20	21.08.2017	Perianal-/Rektalabstrich	55	1			1
684	1	vanB	B	E. faecium	549	HTG-Chirurgie	61	30.08.2017	Mittelstrahlurin	30	1	1		
685	1	vanB	B	E. faecium	549	HTG-Chirurgie	61	31.08.2017	Mittelstrahlurin	1	1			1
691	2	vanB	A	E. faecium	L328	Chirurgie	56	08.09.2017	Dauerkatheterurin	126	6	1		
692	2	vanA	A	E. faecium	540	Chirurgie	57	04.09.2017	Mittelstrahlurin	48	2	1		
693	3	vanA	A	E. faecium	693	Innere 1	92	31.08.2017	Aszites	26	3	1		
705	1	vanA	A	E. faecium	540	Innere 1	92	08.09.2017	Perianal-/Rektalabstrich	68	3	1		
706	1	vanB	NN	E. faecium	X	Innere 1	92	07.09.2017	Perianal-/Rektalabstrich	1	1			1

Nummer	Probenzahl	PCR Diagnostik	PCR Hygiene	MALDI TOF	Cluster	Klinik	Station	Abnahmezeitpunkt	Abnahme Ort	Krankenhaustage vor pos Probe	Stat. Aufenthaltstage Vor pos Probe	NK	MW	Screen
707	1	vanB	B	E. faecium	707	Sammel	60	03.09.2017	Perianal-/Rektalabstrich	182	3		1	
708	1	vanB	B	E. faecium	549	Unfallchirurgie	55	06.09.2017	Perianal-/Rektalabstrich	16	1			
711	1	vanA	A	E. faecium	711	Innere 1	92	13.09.2017	Perianal-/Rektalabstrich	6	1			
714	1	vanB	B	E. faecium	948	Nephrologie	17	14.09.2017	Perianal-/Rektalabstrich	58	2			
715	1	vanA	A	E. faecium	715	Innere 1	92	14.09.2017	Perianal-/Rektalabstrich	0	0			1
717	1	vanA	A	E. faecium	534	Innere 1	92	14.09.2017	Perianal-/Rektalabstrich	64	3			
725	1	vanB	B	E. faecium	948	Dermatologie	52	12.09.2017	Mittelstrahlurin	18	1			
726	2	vanB	B	E. faecium	948	Innere 3	Onko TK	13.09.2017	Urin	29	2		1	
727	2	vanA	A	E. faecium	711	Innere 1	92	10.09.2017	Dauerkatheterurin	25	2		1	
740	2	vanA + B	B	E. faecium	740	Innere 1	92	18.09.2017	Perianal-/Rektalabstrich	52	5			
741	1	vanA	A	E. faecium	948	Augen/Chir	48	28.09.2017	Perianal-/Rektalabstrich	52	2			
742	2	vanB	B	E. faecium	742	Augen/Chir	48	30.09.2017	Punktat-Bauchj	4	15			1
743	3	vanA + B	A	E. faecium	540	Chirurgie	57	29.09.2017	Nekroseabstrich	34	2			
744	2	/	B	E. faecium	948	HTG-Chirurgie	97	02.10.2017	Drainagesekret	10	1			
745	1	vanA	A	E. faecium	540	Augen/Chir	48	26.09.2017	Gallenflüssigkeit	12	2			
747	5	vanA	A	E. faecium	540	Innere 1	14	22.09.2017	Blutkultur	46	2			
753	3	vanA	A	E. faecium	753	Chirurgie	57	09.10.2017	Gallenflüssigkeit	149	12			
755	1	vanB	B	E. faecium	755	HTG-Chirurgie	97	07.10.2017	Bronchialsekret	8	1			
760	9	vanA	A	E. faecium	540	Innere 1	92	27.09.2017	Perianal-/Rektalabstrich	8	1			
761	1	vanA	A	E. faecium	534	Innere 1	92	21.09.2017	Perianal-/Rektalabstrich	13	1			
766	2	vanA	A	E. faecium	540	Innere 1	14	11.10.2017	Perianal-/Rektalabstrich	0	0			1
767	2	vanA	A	E. faecium	540	Innere 2	93	16.10.2017	Perianal-/Rektalabstrich	4	1			
768	1	vanB	B	E. faecium	948	Chirurgie	11	13.10.2017	Perianal-/Rektalabstrich	3	1			
769	2	vanA + B	B	E. faecium	793	Innere 1	Ambulanz	12.10.2017	Perianal-/Rektalabstrich	67	8		1	
771	1	vanB	B	E. faecium	948	Innere 1	14	16.10.2017	Perianal-/Rektalabstrich	1	1			
772	1	vanA	A	E. faecium	540	Innere 3	20	12.10.2017	Mittelstrahlurin	49	1			
773	3	vanB	B	E. faecium	518M	HTG-Chirurgie	97	15.10.2017	Dauerkatheterurin	73	1			
774	4	vanB	B	E. faecium	948	Nephrologie	Ambulanz	16.10.2017	Mittelstrahlurin	17	1		1	
775	1	vanB	NN	E. faecium	X	Chirurgie	11	11.10.2017	Gefäßkatheterspitze	56	2			1
778	1	vanB	B	E. faecium	549	HTG-Chirurgie	97	19.10.2017	Perianal-/Rektalabstrich	38	3			
780	3	vanB	NN	E. faecium	X	Innere 1	14	17.10.2017	Punktat in BK	10	4			1
781	1	vanB	B	E. faecium	540	Innere 1	15	19.10.2017	Urin	15	1			
786	6	vanB	B	E. faecium	540	Innere 1	15	23.10.2017	Perianal-/Rektalabstrich	18	1			
787	1	vanA	A	E. faecium	540	Innere 3	Onko TK	23.10.2017	Perianal-/Rektalabstrich	39	1		1	
788	1	vanA	A	E. faecium	788	Neurochirurgie	59	20.10.2017	Perianal-/Rektalabstrich	45	2			1
789	2	vanB	B	E. faecium	948	Innere 3	21	21.10.2017	Perianal-/Rektalabstrich	75	2			1
791	1	vanA	A	E. faecium	791	Innere 3	20	24.10.2017	Perianal-/Rektalabstrich	61	5			1
792	5	vanB	NN	E. faecium	X	Innere 3	20	24.10.2017	Perianal-/Rektalabstrich	13	2			1
793	1	vanB	B	E. faecium	793	Unfallchirurgie	55	26.10.2017	Gewebebiopsie	79	1			
795	1	vanA	A	E. faecium	540	Innere 1	92	25.10.2017	Perianal-/Rektalabstrich	26	1			
800	1	vanA	A	E. faecium	803	Innere 1	92	03.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	16	1			1
801	1	vanA	A	E. faecium	948	Nephrologie	17	03.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	9	1			1
802	1	vanA + B	A	E. faecium	948	Nephrologie	17	03.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	41	4			1
803	3	vanA	A	E. faecium	803	Innere 1	92	28.10.2017	Perianal-/Rektalabstrich	57	4			1

Nummer	Probenzahl	PCR Diagnostik	PCR Hygiene	MALDI TOF	Cluster	Klinik	Station	Abnahmezeitpunkt	Abnahme Ort	Krankenhaustage vor pos Probe	Stat. Aufenthaltstage Vor pos Probe	NK	MW	Screen
804	2	/	A	E. faecium	948	Chirurgie	56	10.11.2017	Wundabstrich	59	1	1		
805	1	vanA	A	E. faecium	805	Innere 3	20	09.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	0	0			1
807	1	vanB	B	E. faecium	1059	Nephrologie	17	09.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	126	3	1		
808	3	vanA	A	E. faecium	912	Innere 3	20	09.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	71	5			1
809	1	vanA	A	E. faecium	809	Innere 1	92	09.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	32	2	1		
811	1	vanA + B	B	E. faecium	948	Nephrologie	17	09.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	68	3		1	
812	1	vanA	A	E. faecium	948	Nephrologie	17	31.10.2017	Punktat in BK	40	2	1		
815	1	vanB	B	E. faecium	948	Nephrologie	17	06.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	11	2	1		
818	1	vanA	A	E. faecium	948	Nephrologie	17	09.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	12	1	1		
819	1	vanA	A	E. faecium	948	Nephrologie	17	09.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	75	3	1		
820	1	vanB	B	E. faecium	948	Nephrologie	17	09.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	10	1	1		
821	1	vanA	A	E. faecium	1059	Nephrologie	17	13.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	9	1	1		
822	1	vanB	B	E. faecium	540	Innere 2	93	14.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	39	1	1		
823	4	vanA	A	E. faecium	948	Sammel	46	12.11.2017	Blutkultur	19	1	1		
824	1	vanB	B	E. faecium	948	Sammel	46	13.11.2017	Harnröhrenabstrich	48	1	1		
826	2	vanA	A	E. faecium	803	Innere 1	92	14.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	57	1			1
827	2	vanB	B	E. faecium	948	Innere 3	21	13.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	31	4	1		
828	2	vanA + B	A	E. faecium	948	Sammel	60	10.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	1	1	1		1
830	9	/	A	E. faecium	948	Innere 1	15	21.11.2017	Gallenpunktat	79	3	1		1
831	1	vanA	A	E. faecium	711	Innere 1	92	16.11.2017	Mittelstrahlurin	20	2	1		1
848	1	vanB	A	E. faecium	540	Innere 1	14	23.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	49	1	1		1
850	6	vanA	A	E. faecium	1482	Innere 3	21	27.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	47	1	1		1
853	4	vanB	B	E. faecium	755	Innere 3	20	20.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	13	1	1		1
854	2	vanB	B	E. faecium	854	Nephrologie	17	19.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	5	1	1		1
855	1	vanA	A	E. faecium	540	Innere 1	92	21.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	18	1	1		1
856	1	vanA	A	E. faecium	707	Innere 1	92	18.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	20	1	1		1
857	3	vanB	B	E. faecium	948	Innere 3	21	20.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	49	5	1		1
858	3	vanB	B	E. faecium	948	Innere 1	92	20.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	78	1	1		1
860	2	/	A	E. faecium	540	Innere 3	20	07.12.2017	Blutkultur	18	1	1		1
865	1	vanA	A	E. faecium	540	Chirurgie	57	28.11.2017	Drainagesekret	112	6	1		1
866	2	vanB	B	E. faecium	948	HTG-Chirurgie	97	01.12.2017	Blutkultur	104	6	1		1
873	2	vanA	A	E. faecium	540	Chirurgie	57	01.12.2017	Perianal-/Rektalabstrich	16	4	1		1
877	1	vanB	B	E. faecium	948	Chirurgie	56	28.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	9	1	1		1
879	1	vanB	B	E. faecium	1111	Innere 3	20	28.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	126	3	1		1
880	1	vanB	B	E. faecium	549	Nephrologie	17	27.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	35	4	1		1
882	1	vanA	A	E. faecium	540	Innere 1	15	30.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	11	1	1		1
883	1	vanA	A	E. faecium	948	Nephrologie	17	01.12.2017	Perianal-/Rektalabstrich	12	1	1		1
884	2	vanB	NN	E. faecium	X	Nephrologie	17	17.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	17	4	1		1
885	1	vanB	B	E. faecium	948	Innere 1	92	18.11.2017	Perianal-/Rektalabstrich	42	1	1		1
886	2	vanB	/	E. faecium	886	Chirurgie	57	30.11.2017	intraop Abstrich	80	1	1		1
891	5	vanA	A	E. faecium	891	Innere 3	20	04.12.2017	Perianal-/Rektalabstrich	45	2	1		1
901	2	vanA	B	E. faecium	948	Chirurgie	57	11.12.2017	Wundabstrich	8	1	1		1
902	2	vanB	B	E. faecium	948	Chirurgie	57	15.02.2017	Drainagesekret	1	1	1		1
905	1	vanB	B	E. faecium	948	Innere 3	20	19.12.2017	Perianal-/Rektalabstrich	1	1	1		1

Nummer	Probenzahl	PCR Diagnostik	PCR Hygiene	MALDI TOF	Cluster	Klinik	Station	Abnahmezeitpunkt	Abnahmeort	Krankenhaustage vor pos Probe	Stat. Aufenthalt Vor pos Probe	NK	MW	Screen
906	2	vanA	A	E. faecium	540	Innere 1	92	13.12.2017	Perianal-/Rektalabstrich	238	6	1		
910	1	vanB	B	E. faecium	948	Innere 2	93	13.12.2017	Perianal-/Rektalabstrich	40	1	1		
911	1	vanA	A	E. faecium	540	Innere 3	20	14.12.2017	Perianal-/Rektalabstrich	35	9			1
912	1	vanA + B	A	E. faecium	912	Innere 1	15	12.12.2017	Perianal-/Rektalabstrich	17	2	1		
913	1	vanA	A	E. faecium	540	Innere 1	92	12.12.2017	Perianal-/Rektalabstrich	34	2	1		
916	1	vanB	B	E. faecium	948	Innere 1	92	06.12.2017	Perianal-/Rektalabstrich	11	1	1		
922	1	vanB	B	E. faecium	948	Nephrologie	17	07.12.2017	Perianal-/Rektalabstrich	97	7			1
923	1	vanB	B	E. faecium	518M	Innere 2	93	07.12.2017	Perianal-/Rektalabstrich	21	1	1		
925	1	vanB	B	E. faecium	948	Innere 2	93	07.12.2017	Perianal-/Rektalabstrich	31	1	1		
926	1	vanB	B	E. faecium	926	Kinder	84	09.12.2017	Perianal-/Rektalabstrich	1	1	1		1
928	1	vanA	A	E. faecium	948	Innere 1	92	10.12.2017	Perianal-/Rektalabstrich	11	2			1
929	1	vanA	A	E. faecium	948	Innere 3	Onko TK	13.12.2017	Urin	53	1		1	
933	1	vanA	A	E. faecium	540	Innere 1	15	11.12.2017	Urin	3	1	1		
934	2	vanB	B	E. faecium	948	Kinder	83	13.12.2017	Klebebeute/Urin	115	10		1	
935	1	vanB	B	E. faecium	948	Chirurgie	57	13.12.2017	Mittelstrahlurin	31	1	1		
939	1	vanA	A	E. faecium	939	Innere 1	92	22.12.2017	Perianal-/Rektalabstrich	0	0			1
946	1	vanA	A	E. faecium	540	Augen/Chir	48	22.12.2017	Gallenflüssigkeit	45	3			1
948	3	vanA	A	E. faecium	948	Innere 1	15	18.12.2017	Gallenpunktat	118	8			1
949	1	vanB	B	E. faecium	948	Innere 2	93	19.12.2017	Perianal-/Rektalabstrich	39	1	1		
960	2	vanB	B	E. faecium	793	Nephrologie	17	27.12.2017	Perianal-/Rektalabstrich	0	0		1	
963	3	vanA + B	A	E. faecium	540	Neurochirurgie	91	27.12.2017	Perianal-/Rektalabstrich	27	1	1		
965	2	vanA	A	E. faecium	540	Innere 3	20	30.12.2017	Perianal-/Rektalabstrich	25	3		1	
966	1	vanA	A	E. faecium	540	Innere 3	20	27.12.2017	Perianal-/Rektalabstrich	115	16			1
967	1	vanA	A	E. faecium	540	Innere 3	20	28.12.2017	Perianal-/Rektalabstrich	36	1			1
972	6	vanB	B	E. faecium	549	Innere 3	20	26.12.2017	Perianal-/Rektalabstrich	1	1		1	
975	2	vanB	B	E. faecium	948	Innere 1	14	02.01.2018	Gallenpunktat	40	4		1	
978	1	vanA	A	E. faecium	978	Innere 3	20	05.01.2018	Mittelstrahlurin	18	1	1		
979	3	vanB	B	E. faecium	948	Chirurgie	57	05.01.2018	Gallenflüssigkeit	30	1	1		
980	1	vanB	B	E. faecium	948	Chirurgie	11	04.01.2018	Wundabstrich	96	9	1		
981	2	vanB	B	E. faecium	948	Chirurgie	90c	03.01.2018	Abszesspunktat	23	1	1		
989	1	vanA + B	A	E. faecium	540	Nephrologie	17	08.01.2018	Perianal-/Rektalabstrich	120	6	1		
996	1	vanB	B	E. faecium	NM	Sammel	60	16.01.2017	Perianal-/Rektalabstrich	44	1	1		
998	1	vanA + B	B	E. faecium	793	Innere 1	92	10.01.2018	Perianal-/Rektalabstrich	79	2	1		
999	1	vanB	NN	E. faecium	X	Innere 3	20	16.01.2018	Perianal-/Rektalabstrich	0	0		1	
1001	1	vanB	B	E. faecium	948	Innere 2	93	10.01.2018	Perianal-/Rektalabstrich	21	1	1		
1006	1	vanA	NN	E. faecium	X	Innere 1	15	19.01.2018	Gallenpunktat	16	1	1		
1007	1	vanB	NN	E. faecium	X	Innere 3	21	22.01.2018	Perianal-/Rektalabstrich	14	1	1		
1013	2	vanA + B	A	E. faecium	540	Nephrologie	17	10.01.2018	Perianal-/Rektalabstrich	4	1	1		
1023	1	vanB	B	E. faecium	948	Innere 2	93	18.01.2018	Perianal-/Rektalabstrich	0	0		1	
1027	2	vanB	B	E. faecium	1027	Innere 3	20	24.01.2018	Perianal-/Rektalabstrich	67	4	1		
1035	9	vanA	A	E. faecium	1059	Chirurgie	56	28.01.2018	Mittelstrahlurin	4	1	1		
1036	1	vanA	A	E. faecium	1036	Augen/Chir	48	31.01.2018	Abszessabstrich	34	1	1		
1037	2	vanA	A	E. faecium	1059	Innere 1	92	02.02.2018	Blutkultur	19	1	1		
1045	1	vanB	B	E. faecium	1111	Innere 1	92	02.02.2018	Perianal-/Rektalabstrich	13	2	1		

Nummer	Probenzahl	PCR Diagnostik	PCR Hygiene	MALDI TOF	Cluster	Klinik	Station	Abnahmezeitpunkt	Abnahme Ort	Krankenhaustage vor pos Probe	Stat. Aufenthaltstage Vor pos Probe	NK	MW	Screen
1046	1	vanA	NN	E. gallinarium	X	Nephrologie	17	05.02.2018	Perianal-/Rektalabstrich	24	2		1	
1051	1	vanB	B	E. faecium	793	Unfallchirurgie	55	27.01.2018	Perianal-/Rektalabstrich	22	2			
1052	2	vanA + B	A	E. faecium	788	Innere 3	21	29.01.2018	Perianal-/Rektalabstrich	0	0			1
1054	1	vanA	A	E. faecium	1059	Augen/Chir	48	03.02.2018	Perianal-/Rektalabstrich	10	1			
1059	1	vanA	A	E. faecium	1059	Innere 1	14	09.02.2018	Gallenpunktat	38	5			
1060	1	vanB	B	E. faecium	948	Chirurgie	54	05.02.2017	Wundabstrich	7	1			
1062	1	vanA	NN	E. faecium	X	Innere 1	15	07.02.2018	Urin	88	6			
1063	2	vanB	B	E. faecium	948	Innere 1	92	08.02.2018	Dauerkatheterurin	19	2		1	
1067	1	vanB	B	E. faecium	948	Nephrologie	16	09.02.2018	Perianal-/Rektalabstrich	48	2		1	
1069	1	vanB	B	E. faecium	948	Neurochirurgie	91	06.02.2018	Perianal-/Rektalabstrich	51	2		1	
1071	1	vanB	B	E. faecium	948	Chirurgie	56	06.02.2018	Perianal-/Rektalabstrich	15	1		1	
1073	1	vanA	A	E. faecium	1059	Innere 1	92	06.02.2018	Perianal-/Rektalabstrich	11	1		1	
1077	1	vanA + B	B	E. faecium	948	Innere 2	19	20.02.2018	Perianal-/Rektalabstrich	18	1		1	
1079	3	vanB	B	E. faecium	948	Chirurgie	90b	20.02.2018	Perianal-/Rektalabstrich	1	1		1	
1080	1	vanA	NN	E. faecium	X	Innere 1	15	13.02.2018	Perianal-/Rektalabstrich	11	1		1	
1081	1	vanB	NN	E. faecium	X	Neurochirurgie	59	22.02.2018	Perianal-/Rektalabstrich	26	1		1	
1082	1	vanB	B	E. faecium	948	Chirurgie	56	12.02.2018	Perianal-/Rektalabstrich	76	5		1	
1084	1	vanA	A	E. faecium	540	Innere 3	21	26.02.2018	Perianal-/Rektalabstrich	11	2		1	
1093	1	vanB	B	E. faecium	948	Nephrologie	17	14.02.2018	Hämatopunktat	24	3		1	
1098	1	vanB	B	E. faecium	948	Innere 1	92	01.03.2018	Punktat	2	1			1
1103	6	/	B	E. faecium	755	Innere 1	92	20.02.2018	Bronchiaisekret	29	1		1	
1104	1	vanB	B	E. faecium	948	HTG-Chirurgie	61	14.02.2018	Dauerkatheterurin	19	1		1	
1108	3	vanB	B	E. faecium	518M	Nephrologie	17	17.02.2018	Wundabstrich	28	2		1	
1111	1	vanB	B	E. faecium	1111	Chirurgie	57	02.03.2018	Gallenflüssigkeit	45	1		1	
1113	1	vanA	A	E. faecium	948	Innere 2	93	04.03.2018	Wundabstrich	44	1		1	
1124	1	vanB	NN	E. faecium	X	Innere 1	92	10.03.2018	Perianal-/Rektalabstrich	5	2			1
1125	1	vanA + B	B	E. faecium	948	Nephrologie	17	06.03.2018	Perianal-/Rektalabstrich	17	1		1	
1126	1	vanB	B	E. faecium	948	Innere 1	92	03.03.2018	Perianal-/Rektalabstrich	8	1		1	
1131	2	vanA + B	A	E. faecium	948	Innere 2	93	08.03.2018	Perianal-/Rektalabstrich	38	1		1	
1145	1	vanB	B	E. faecium	948	Dermatologie	53	09.03.2018	Mittelstrahlurin	31	1		1	
1146	3	vanA	A	E. faecium	948	Innere 3	20	12.03.2018	Perianal-/Rektalabstrich	50	3			1
1147	1	vanA	A	E. faecium	948	Innere 3	21	12.03.2018	Perianal-/Rektalabstrich	179	5		1	
1148	1	vanB	NN	E. faecium	X	Innere 3	20	11.03.2018	Perianal-/Rektalabstrich	28	1		1	
1149	1	vanB	B	E. faecium	549	HTG-Chirurgie	97	12.03.2018	Perianal-/Rektalabstrich	1	1		1	
1151	1	vanA	A	E. faecium	948	Innere 3	21	12.03.2018	Perianal-/Rektalabstrich	20	1		1	
1152	1	vanA	A	E. faecium	540	Innere 1	15	14.03.2018	Perianal-/Rektalabstrich	32	2		1	
1156	1	vanB	NN	E. gallinarium	X	Innere 1	14	20.03.2018	Perianal-/Rektalabstrich	38	2		1	
1157	2	vanB	B	E. faecium	948	Innere 1	14	27.03.2018	Gallenflüssigkeit	14	1		1	
1159	2	7	B	E. faecium	948	Innere 1	92	25.03.2018	Dauerkatheterurin	1	1		1	
1162	1	vanB	B	E. faecium	948	Innere 1	15	22.03.2018	Mittelstrahlurin	76	2		1	
1163	1	vanB	B	E. faecium	948	Nephrologie	17	14.03.2018	Mittelstrahlurin	15	3		1	
1166	1	vanB	B	E. faecium	948	Nephrologie	Ambulanz	20.03.2018	Mittelstrahlurin	1	1		1	
1170	1	vanA	A	E. faecium	788	Innere 1	14	19.03.2018	Perianal-/Rektalabstrich	0	0		1	
1183	1	vanB	B	E. faecium	948	Innere 2	93	28.03.2018	Dauerkatheterurin	3	1		1	

Nummer	Proben- zahl	PCR Diagnostik	PCR Hygiene	MALDI TOF	Cluster	Klinik	Station	Abnahme- zeitpunkt	Abnahme Ort	Krankenhaustage vor pos Probe	Stat. Aufenthalt Vor pos Probe	NK	MW	Screen
1184	1	vanB	B	E. faecium	948	Innere 1	14	27.03.2018	Mittelstrahlurin	13	1	1		
1185	2	vanB	B	E. faecium	948	Innere 1	92	23.03.2018	Perianal-/Rektalabstrich	41	1	1		
1186	1	vanA	A	E. faecium	1186	Innere 1	15	16.03.2018	Perianal-/Rektalabstrich	95	5		1	
1191	1	vanA	A	E. faecium	1059	Innere 1	92	21.03.2018	Perianal-/Rektalabstrich	28	1	1		
1197	1	vanB	B	E. faecium	948	Innere 3	20	31.03.2018	Perianal-/Rektalabstrich	31	2	1		
1208	1	vanA	A	E. faecium	948	Innere 3	21	26.03.2018	Perianal-/Rektalabstrich	28	1			1
1211	1	vanB	B	E. faecium	948	Innere 3	20	28.03.2018	Perianal-/Rektalabstrich	32	2	1		
1212	1	vanA + B	B	E. faecium	948	Innere 2	93	29.03.2018	Perianal-/Rektalabstrich	46	4	1		

6.6 Anlage (B)

Isolate	atpA	ddl	gdh	purK	gyd	pstS	adk	ST
469	1	1	1	1	1	1	1	17
510	9	1	1	1	12	1	1	80
541	9	1	1	1	1	X	1	117
563	9	1	1	1	1	1	1	117
585	9	1	1	1	12	1	1	80
599	9	1	1	1	12	1	1	80
604	9	1	1	1	1	1	1	117
606	9	1	1	1	1	1	1	117
618	9	1	1	1	12	1	1	80
627	9	1	1	1	12	1	1	80
632	9	1	1	1	12	1	1	80
651	9	1	1	1	12	1	1	80
691	9	1	1	1	1	1	1	117
693	15	1	1	1	1	7	1	192
707	9	1	1	1	12	1	1	80
725	9	1	1	1	12	1	1	80
726	9	1	1	1	12	1	1	80
772	15	1	1	1	1	1	1	78
787	15	1	1	1	1	1	1	78
789	9	1	1	1	12	1	1	80
791	2	7	5	7	1	1	1	27
805	9	1	1	1	12	1	1	80
827	9	1	1	1	12	1	1	80
850	9	1	1	1	12	1	1	80
853	9	1	1	1	12	1	1	80
857	9	1	1	1	12	1	1	80
860	9	1	1	1	1	X	1	117
879	1	1	1	1	1	1	1	17
882	15	1	1	1	1	1	1	78

Isolate	atpA	ddl	gdh	purK	gyd	pstS	adk	ST
891	9	1	1	1	1	X	1	117
905	9	1	1	1	12	1	1	80
911	9	1	5	1	1	X	1	117
929	9	1	1	1	1	1	1	117
965	9	1	1	1	1	X	1	117
966	9	1	1	1	1	X	1	117
967	9	1	1	1	1	X	1	117
972	5	1	1	1	2	1	1	117
978	9	1	1	1	1	1	1	117
1027	9	1	1	1	12	1	1	80
1052	9	1	1	1	12	1	1	80
1084	9	1	1	1	1	X	1	117
1103	9	1	1	1	12	1	1	80
1146	9	1	1	1	1	1	1	117
1147	9	1	1	1	1	1	1	117
1151	9	1	1	1	1	1	1	117
1197	9	1	1	1	12	1	1	80
1208	9	1	1	1	1	1	1	117
1211	9	1	1	1	12	1	1	80

7 Danksagung

Großer Dank gebührt meinem Doktorvater, Herrn Professor Dr. Wulf Schneider, für die Überlassung eines hochinteressanten Themas und für die Bereitschaft zur Betreuung meiner Arbeit. Außerdem möchte ich mich für die ausgezeichnete fachliche und stets optimistische und motivierende Betreuung bedanken.

Herrn Professor Dr. Bernd Salzberger, möchte ich mich für die vielen guten Ratschläge zum Thema Datenbanken und Statistik danken.

Frau Alexandra Simbeck möchte ich für die hervorragende Einarbeitung in den IR-Biotyper und die vielen Male danken, in denen sie mir hilfreich zur Seite stand.

Herrn Lucas Ruffer danke ich für die gute Zusammenarbeit im Rahmen dieser Dissertation.

Bedanken möchte ich mich auch bei Frau Maria Kurz, für die stets angenehme Laboratmosphäre und die Hilfe bei der Lösung vieler praktischer Probleme. Besonderer Dank gebührt Frau Doreen Möbius sowie den Herren Tomasz Kocyba, Jiri Hartl, Dennis Klar, Josef Hartenberger und Dr. Thomas Holzmann für die Mitbetreuung meiner Promotion. Sie haben mich geduldig in die Welt des wissenschaftlichen Arbeitens eingeführt und hatten als verlässliche Ansprechpartner für Probleme nicht nur stets ein offenes Ohr, sondern meistens auch gleich einen Lösungsvorschlag parat. Vor allem die beiden Herren Kocyba und Hartl hatten großen Anteil am erfolgreichen Gelingen dieser Arbeit.

Herrn Mauder und der Firma Bruker Daltronic möchte ich für die Zurverfügungstellung zahlreicher Grafiken und die gute Beratung bei Problemen mit dem IR-Biotyper danken.

Bedanken möchte ich mich zudem herzlich bei meinen Eltern, die mir den Weg bereiteten und mich immer in allem unterstützt haben.

Mein besonderer Dank geht an meine Freundin, die mich durch die letzten Höhen und Tiefen meiner Arbeit begleitete und mir immer Rückhalt und Stütze war.

