

Eigenschaften, Häufigkeit und Verbreitung von Vancomycin-resistenten Enterokokken in Deutschland – Update 2019/2020

Einleitung

Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE) gehören zu den in Deutschland gemäß § 23 Abs. 4 Infektionsschutzgesetz (IfSG) zu erfassenden Erregern und werden mittlerweile in vielen Kliniken häufig beobachtet. Der vermehrte Nachweis von VRE ist auch am Nationalen Referenzzentrum (NRZ) für Staphylokokken und Enterokokken bemerkbar. Dies ist z. B. an (i) steigenden VRE-Einsendezahlen ab 2015 und (ii) einem hohen Bedarf an Typisierungen (ca. 60 % der Einsendungen an das NRZ) ersichtlich; letzteres ist gleichbedeutend mit einem Verdacht auf Transmissionen/Clustern von Infektionen und Besiedlungen in betroffenen Einrichtungen („Ausbrüche“). Das NRZ war bestrebt, die steigenden Einsendungszahlen, auch mit hohem Typisierungswunsch, auf ein beherrschbares Maß zu reduzieren. So konnte die Anzahl an eingesandten Proben nahezu halbiert werden, ohne dass sich dies negativ auf die Qualität des Probenmaterials oder die Aussagefähigkeit der Stichprobe (vergleichbare geografische Abdeckung, stabile Anzahl an einsendenden Einrichtungen) ausgewirkt hat. Die Konsolidierung der Probenanzahl ermöglichte die zeitgleiche Umstellung von zeit- und personalintensiver Fragmentmusteranalyse (PFGE-Typisierung) auf Genom-basierte Typisierung mittels Ganzgenomdaten (*whole-genome sequencing*; WGS) und Analysen des Kerngenoms (cgMLST Analyse; s. ff.). Durch diese und weitere Maßnahmen konnten die Bearbeitungszeiten aller Proben im NRZ deutlich verkürzt werden.

VRE-Resistenzanteile

Für die Diagnostik von VRE stehen in Deutschland in den mikrobiologischen Laboren standardisierte Verfahren zur Verfügung. Die in der Routinediagnostik gewonnenen Resistenzdaten fließen zu ei-

nem relevanten Anteil in die **Antibiotika-Resistenz-Surveillance (ARS)** am Robert Koch-Institut (RKI) ein. Longitudinale Daten zu VRE aus ARS wurden 2019 für den Zeitraum 2012–2017 ausgewertet und veröffentlicht.¹ Die Daten zeigten, dass seit 2014 der Anteil von VREF (Vancomycin-resistenten *Enterococcus faecium*) von 11,2% (95% Konfidenzintervall (KI): 9,4–13,3%) auf 26,1% (95% KI 23,1–29,4%) im Jahr 2017 angestiegen war. Eine aktuelle Auswertung in ARS für den Zeitraum 2017–2019 basierend auf Blutkulturnachweisen aus kontinuierlich teilnehmenden Einrichtungen zeigt bis auf die Region Südwest, die 2017 die höchsten Resistenzanteile hatte, in den übrigen Regionen einen Anstieg. Im Jahr 2017 war der VRE-Anteil in Blutkulturen für kontinuierlich teilnehmende Krankenhäuser bei 17,4% (95% KI 16,0–18,8%) mit einem Anstieg auf 23,4% (95% KI 21,9–25,0%) im Jahr 2018 und 25,1% im Jahr 2019 (23,6–26,7%). Im Jahr 2019 lagen die Resistenzanteile in allen Regionen zum Teil deutlich über 20% (s. Abb. 1). Der Anteil der Teicoplaninresistenz bei *E. faecium*-Isolaten aus Blutkulturen betrug im Jahr 2018 8,6% (KI 7,6–9,8%) und 2019 10,5% (95% KI 9,4–11,8%) und deutet an, dass die Mehrzahl der VRE in Deutschland dem VanB-Typ zuzuordnen ist.

Das Projekt **SARI – Surveillance der Antibiotika-Anwendung und der bakteriellen Resistenzen auf Intensivstationen** beinhaltet u. a. die Erfassung von Antibiotikaresistenzhäufigkeiten klinisch wichtiger Erreger auf Intensivstationen deutscher Krankenhäuser. In SARI liegen u. a. Resistenzdaten von *E. faecalis*- und *E. faecium*-Isolaten der zurückliegenden 20 Jahre vor. Die Daten zeigen einen steten Anstieg der Vancomycinresistenzraten für *E. faecium*-Isolate mit nochmals deutlicher Steigerung ab 2015 (s. Abb. 2). Die Resistenzraten von *E. faecalis* gegen beide Glycopeptide (Vancomycin, Teicoplanin)

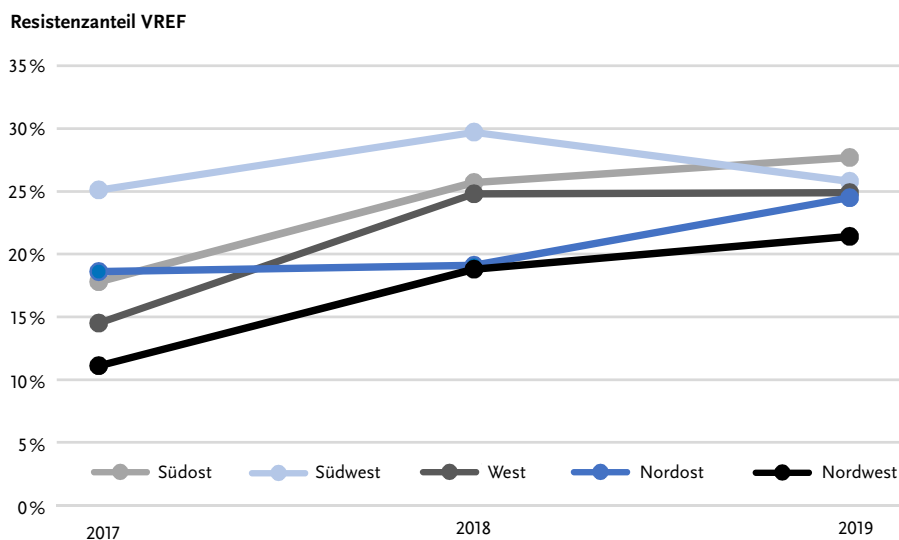


Abb. 1 | Anteile von Vancomycin-resistenten *E. faecium*-Isolaten (VREF) aus Blutkulturen nach Regionen in Deutschland, kontinuierlich teilnehmende Krankenhäuser 2017–2019 (Daten aus ARS: <https://ars.rki.de>).

lagen bei unter 1 % im gesamten Beobachtungszeitraum.

Die **europäische EARS-Net Resistenzsurveillance** (EARS-Net – *European Antimicrobial Resistance Surveillance Network*) erfasst u. a. die Vancomycinresistenz bei *E. faecium*-Blutkulturisolaten. Für Deutschland werden Daten aus ARS an EARS-Net übermittelt. Für den Zeitraum 2016–2019 zeigt sich ein signifikant ansteigender Trend der Vancomycinresistenz bei invasiven *E. faecium*-Isolaten (2016: 11,9%; 2017: 16,5%; 2018: 23,8%; 2019: 26,3%), der seit 2017 höher als der europäische Durchschnitt war (2019: 18,3%).² Hierbei ist allerdings zu beachten, dass im Vergleich zu den oben dargestellten Auswertungen aus ARS keine Beschränkung auf kontinuierlich über den gesamten Beobachtungszeitraum Daten liefernde Einrichtungen erfolgt (somit kann für EARS-Net Daten eine gewisse Einsender-/Teilnehmerverzerrung nicht ausgeschlossen werden).

Resistenzenerhebungen wie jene der **Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e. V.** (PEG) liefern ebenfalls VRE-Raten, haben allerdings gemäß ihres 3-Jahresrhythmus nur 3 Messzeiträume zwischen

2010 und 2019. Die Zahlen für 2019 liegen noch nicht abschließend vor (s. frühere Berichte).

Resistenzen gegen Reserveantibiotika

Die meisten Resistenz-Surveillance-Systeme und Resistenzstudien in Deutschland (ARS, ARMIN in Niedersachsen) nehmen derzeit keinen generellen Trend der Resistenzen bei wichtigen Reserve-substanzen wie Linezolid, Tigecyclin und/oder Daptomycin bei VRE oder *E. faecium* wahr. Die **Resistenzstudien der PEG** deuten bei der Linezolidresistenz von *E. faecium*-Isolaten zwischen 2013 (0,3 %) und 2016 (1,3 %) einen Anstieg an (Daten für 2019 liegen noch nicht vor). Daptomycin und Tigecyclin werden in der Routinediagnostik nur sequentiell getestet, was bei Auswertungen beispielsweise bei Daten aus ARS berücksichtigt werden muss. Bei Linezolid und Tigecyclin ist der Anteil an resistent getesteten *E. faecium*-Isolaten aus Blutkulturen im zeitlichen Verlauf weiterhin auf niedrigem Niveau (Linezolidresistenz $\leq 0,7\%$; Tigecyclinresistenz $\leq 0,4\%$). Linezolid-resistente Stämme waren im SARI-Projekt häufiger zu finden, als dies in den ARS-Daten abgebildet ist, wenn auch auf (noch) niedrigem Niveau.

Anteil VRE (%)

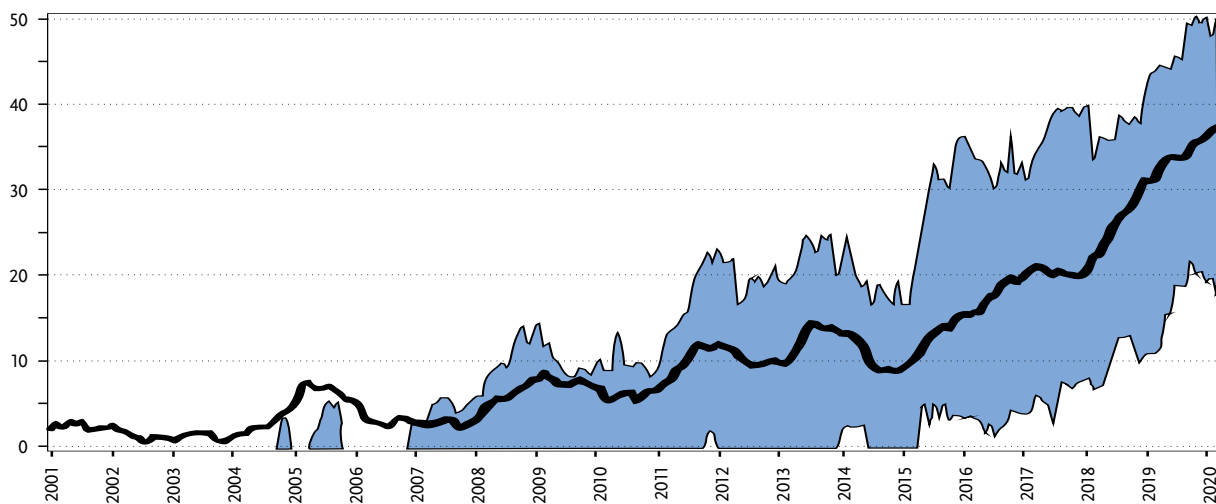


Abb. 2 | Vancomycin-Resistenzraten von *E. faecium* aus Intensivstationen deutscher Krankenhäuser im Rahmen des SARI-Projekts in den Jahren 2001–2020. Auf der X-Achse ist der Anteil von VRE pro 100 *E. faecium*-Isolaten in Prozent dargestellt. Die schwarze Linie stellt den Mittelwert dar. Die obere und untere Begrenzung des blauen Bereichs stellt die 75 % bzw. die 25 % Perzentile dar. Grafik modifiziert nach <https://eu-burden.info/sari/auswertung/pages/vre.php>.

Bei der European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) wird zudem für Enterokokken kein klinischer Grenzwert für Daptomycin angegeben, so dass man sich hier im Bedarfsfall nur am *Epidemiological Cut-off Value* (ECOFF) orientieren kann (<https://mic.eucast.org/Eucast2/SearchController/search.jsp?action=init>). Der ECOFF für Daptomycin wiederum wurde 2019 Spezies-spezifisch angepasst (*E. faecium*: 8 mg/L; *E. faecalis*: 4 mg/L), was Auswirkungen auf die „S“-Kategorisierung bzw. „Nicht-Empfindlichkeit“ hat. Eine Auswertung der EARS-Net Daten für Europa hat ergeben, dass zwischen 2014 und 2018 bei Daptomycin und Linezolid und VRE/*E. faecium* kein temporärer Trend erkennbar war.³

Mikrobiologische Analysen von Einsendungen an das NRZ für Enterokokken

Im NRZ wurden im Jahr 2019 insgesamt 1.057 und 2020 insgesamt 769 Enterokokken-Isolate bearbeitet. Diese wurden uns von 125 (2019) bzw. 116 Einsendern (2020) aus Deutschland zur Bearbeitung zugesandt. Dies entspricht einer Konsolidierung der Einsendezahlen auf ein Niveau des Zeitraums von 2014/2015 bei nahezu gleichbleibender Anzahl an einsendenden Laboren. Die geringeren Zahlen

im Jahr 2020 resultieren aus einem deutlichen Rückgang der Einsendezahlen während des COVID-19-pandemiebedingten Lockdowns im April und Mai.

Die häufigsten diagnostischen Anfragen zu den an das NRZ eingesandten Isolaten waren: (i) eine Bestätigung der Glykopeptidresistenz bzw. des Glykopeptid-Resistenztyps (*vanA*, *vanB*; ggf. weitere Glykopeptid-Resistenzgene); (ii) eine Bestimmung und/oder Bestätigung von Resistenzen gegen Reserveantibiotika (Linezolid, Tigecyclin, z. T. auch Daptomycin) sowie (iii) eine Anfrage nach klonaler Verwandtschaft mehrerer Isolate. Stammtypisierung wird aufgrund des Verdachts eines gehäuften Auftretens verwandter Isolate („Ausbruch“) von zumeist VREF-Isolaten, z. T. aber auch Linezolid-resistenten Enterokokken (LRE) oder VRE (LVRE), in etwas weniger als der Hälfte der Einsendungen angefragt. Seit Oktober 2019 erfolgt die Stammtypisierung am NRZ nur noch auf der Basis eines Vergleichs von Ganzgenomdaten bzw. einer Bestimmung eines Kerngenom MLST (cgMLST; s. ff.). Bei einigen wenigen Einsendungen stand die Klärung der genauen Enterokokken-Spezies im Vordergrund.

Im NRZ werden routinemäßig alle Enterokokken-Isolate bis zur Speziesebene differenziert. Seit einigen Jahren erfolgt dies mittels Spezies-spezifischer PCR bzw. durch eine Sequenzermittlung des *sodA* Gens (s. Tab. 1). Tabelle 1 stellt eine Übersicht zu den 2019 und 2020 im NRZ erhaltenen Enterokokken-Einsendungen und den damit durchgeführten phänotypischen und molekularen Untersuchungen vor. Die überwiegende Zahl der eingesandten Isolate sind *E. faecium* (94–95%) gefolgt von *E. faecalis* (4–5%) und je anteilig $\leq 1\%$ von VanC-Typ-Enterokokken (*E. gallinarum*, *E. casseliflavus*) und Vertretern anderer Spezies (*E. avium*, *E. silesiacus* u. a.).

Klinische Disziplinen und Materialien, in bzw. aus denen Enterokokken-Stämme isoliert wurden

Die in den Jahren 2019 und 2020 eingesandten *E. faecium*- und *E. faecalis*-Isolate wurden vor allem aus Infektionen und Besiedlungen von Patientinnen und Patienten aus der **Inneren Medizin** sowie den **intensivmedizinischen Stationen** (besonders

Enterokokken-Einsendungen und durchgeführte Untersuchungen	2019	2020
Anzahl aller bearbeiteten Isolate	1.057	769
Anzahl der durchgeführten Untersuchungen		
Genotypische Identifizierung (PCR) zur Speziesbestätigung	1.057	769
Speziesbestimmung mittels <i>sodA</i> -Sequenzierung	2	6
Resistenzbestimmung mittels Mikrobouillonverdünnung	1.052	763
Resistenzbestimmung mittels Etest® (Bestätigungstest) ^{a)}	214	204
Multiplex-PCR für <i>vanA</i> , <i>vanB</i> (und zusätzliche <i>van</i> -Gene)	1.075	775
PCR für <i>cftr(B)/optrA/poxA</i>	248	225 ^{d)}
Genotypisierung mittels NGS-Sequenzierung zwecks Ausbruchverdachts oder i. R. d. Blutkultursurveillance ^{b)}	573	367

Tab. 1 | Übersicht der Enterokokken-Einsendungen und der durchgeführten Untersuchungen

^{a)} Bei Enterokokken-Isolaten mit Verdacht auf Resistenzen gegen Tigecyclin bzw. Daptomycin erfolgte immer eine zusätzliche MHK-Ermittlung mittels Etest®; ^{b)} Es wurden u. a. alle *E. faecium*-Isolate aus invasiven Infektionen mittels NGS sequenziert und u. a. der MLST-Typ abgeleitet (s. auch ff.); ^{c)} Multiplex-PCR für mobile Gene für Linezolidresistenz.⁴ (NGS: next generation sequencing, MHK: minimale Hemmkonzentration, MLST: Multi-Locus-Sequenztypisierung)

Klinische Disziplin	2019		2020	
	n	%	n	%
Allgemeine Chirurgie (ITS)	218	20,62	122	15,86
Internistische ITS	144	13,62	115	14,95
Innere Medizin	133	12,58	114	14,82
Intensivtherapie	92	8,70	39	5,07
Hämatologie/Onkologie	53	5,01	46	5,98
Urologie	45	4,26	31	4,03
Neonatologie	26	2,45	29	3,77
Neurochirurgie/Neurologie	37	3,50	20	2,60
Chirurgie	34	3,22	23	2,99
unbekannt	80	7,57	87	11,31
andere	195	18,44	143	18,60
Summe	1.057	100	769	100

Tab. 2 | Herkunft der Enterokokken-Isolate (zumeist VRE) aus Infektionen und Besiedlungen bei Patientinnen und Patienten aus Einsendungen an das NRZ, aufgeschlüsselt nach klinischen Disziplinen

ITS = Intensivstation; Einsendungen mit Häufigkeiten <1% sind unter „andere“ enthalten.

der Inneren Medizin und der Chirurgie) als den hauptsächlichen Risikobereichen für VRE isoliert (s. Tab. 2). Daneben stammten die vorwiegend aus VRE bestehenden Einsendungen auch von Patientinnen und Patienten der **Chirurgie, Hämatologie/Onkologie, Nephrologie/Urologie, Neurochirurgie/Neurologie, Neonatologie/Pädiatrie**, jedoch weniger aus Bereichen wie Reha-Kliniken, Geriatrie oder Ambulanz.

Die 2019/2020 erhaltenen Enterokokken/VRE stammten vor allem aus **Rektalabstrichen und Stuhlproben**, gefolgt von Isolaten aus **Blutkulturen** und aus **Urin** (s. Tab. 3). Die Konsolidierung des Probenmaterials führte zu einer prozentualen Anreicherung von VRE aus klinisch-relevanten Materialien und einer Reduktion des Anteils von Abstrichen bzw. Rektalabstrichen, obwohl die beiden letzteren nach wie vor die häufigsten Einsendungen darstellen.

Spezies und Glycopeptid-Resistenztypen der im NRZ bearbeiteten Enterokokken-Einsendungen

In den Jahren 2019 und 2020 wurden trotz Konsolidierung der Probenanzahl eine ähnliche Verteilung von mehr *vanB*-positiven *E. faecium* (57%) als

Materialart	2019		2020	
	n	%	n	%
Rektalabstrich/Stuhlprobe	338	31,98	223	29,00
Blutkultur	174	16,46	150	19,51
Abstrich (ohne nähere Bezeichnung)	135	12,77	73	9,49
Urin (Mittelstrahlurin)	118	11,16	125	16,25
Wundabstrich	106	10,03	70	9,10
Urin (Katheterurin)	59	5,58	25	3,25
Punktat	34	3,22	73	9,49
unbekannt	16	1,51	31	4,03
andere	77	7,28	46	5,98
Summe	1.057	100	769	100

Tab. 3 | Klinische Materialien, aus denen Enterokokken (meist VRE) bei Krankenhaus-Patientinnen und -Patienten isoliert wurden

Einsendungen mit Häufigkeiten <1% sind unter „andere“ enthalten.

vanA-positiven *E. faecium* (30%) an das NRZ ermittelt; 2018 war dieser Unterschied in den Häufigkeiten *vanB*- (68%) versus *vanA*-positiver (19%) *E. faecium* noch deutlicher (s. Tab. 4). Die Ursachen eines seit einigen Jahren zu beobachtenden, vor allem deutschlandweiten Anstiegs von nosokomialen *vanB*-VRE sind unklar, wurden und werden jedoch am NRZ untersucht (NRZ, unpubl. Daten). 2019 enthielten wir 4 *E. faecium*-Isolate (<1%), die *vanA*- UND *vanB*-positiv waren; 2020 waren es 3 *E. faecium*-Isolate (<1%), die beide *van*-Gencluster besaßen. *E. faecalis*-Isolate mit *vanA* oder *vanB* werden nach wie vor selten eingesandt (s. Tab. 4).

Spezies (Glycopeptid-Resistenztyp)	2019	2020
	n (%)	n (%)
<i>E. faecium</i> (<i>vanA</i>)	164 (15,52)	145 (18,86)
<i>E. faecium</i> (<i>vanB</i>)	632 (59,79)	423 (55,01)
<i>E. faecium</i> (<i>vanA</i> + <i>vanB</i>)	4 (0,38)	3 (0,39)
<i>E. faecium</i> (Glycopeptid-sensibel)	135 (12,77)	126 (16,38)
<i>E. faecalis</i> (<i>vanA</i>)	1 (0,09)	0 (0,00)
<i>E. faecalis</i> (<i>vanB</i>)	8 (0,76)	5 (0,65)
<i>E. faecalis</i> (Glycopeptid-sensibel)	101 (9,56)	62 (8,06)
andere	12 (1,14)	5 (0,65)
Summe	1.057 (100)	769 (100)

Tab. 4 | Spezies-Identifizierung und Glycopeptid-Resistenztypen der Enterokokken-Einsendungen

Antibiotikaresistenzen *vanA*- bzw. *vanB*-positiver *E. faecium*

Antibiotikaresistenzen bei VRE: Innerhalb der VREF waren in den Jahren 2019/2020 164/802 (20,5%) bzw. 145/571 *vanA*-positiv (25,4%) und 632/802 (78,8%) bzw. 423/571 *vanB*-positiv (74,1%). Isolate mit beiden Determinanten blieben die Ausnahme (2019; n=4, 0,5%; 2020; n=3, 0,5%). 2019 waren 2 Isolate *vanD*-positiv (0,2%). Das Verhältnis *vanA* zu *vanB* hat sich auf dem Niveau der Vorjahre stabilisiert. Ob die Daten 2020 eine Trendumkehr hin zu mehr *vanA*-VRE bedeuten, muss in den Folgejahren beobachtet werden (ggf. Verzerrung durch Lockdown?). Resistenzen gegen verschiedene Antibiotika bei *vanB*-positiven *E. faecium*-Isolaten von 2016–2020 sind exemplarisch in Tabelle 5 dargestellt. Die Resistenzhäufigkeiten sind eher rückläufig, z. B. für Aminoglykoside (Hochresistenz). Im Gegensatz dazu sind die Einsendungen an **Linezolid-resistenten *E. faecium*** in den zurückliegenden Jahren weiter gestiegen (s. Tab. 6; s. nächster Abschnitt), wodurch ihr Anteil bei den *vanB*-Isolaten auch prozentual anstieg (Einsende-Verzerrung). Tigecyclin- bzw. Daptomycin-resistente Enterokokken (*E. faecalis*/*E. faecium*) wurden 2019 und 2020 nach wie vor sehr selten an das NRZ eingesandt. Vancomycinresistenz ist nach wie vor selten in *E. faecalis* und stets bei Einzeleinsendungen nachweisbar. Wir erhielten 2020 keine Kenntnis von Häufungen mit Vancomycin-resistenten *E. faecalis*.

Antibiotikaempfindlichkeiten gegen Linezolid, Tigecyclin und Daptomycin

Linezolid. Die Resistenzraten gegen Linezolid bei *E. faecium*-Einsendungen im Zeitraum 2016–2020 sind in Tabelle 6 dargestellt. Die Daten zeigen einen weiterhin ansteigenden Trend der Anzahl an Einsendungen von Linezolid-resistenten Enterokokken (LRE) bzw. VRE (LVRE) in den Jahren 2019 und 2020. Der Anstieg ist in reinen Einsendezahlen erkennbar, macht sich aber vor allem in der prozentualen Darstellung bemerkbar, welche u. a. aus der Konsolidierung des Probenmaterials resultiert. Die Mehrzahl der LRE sind auch Vancomycin-resistent (= LVRE). Aufgrund der Empfehlungen der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) zu LRE⁵ bearbeiten wir Einzeleinsendungen und Häufungen mit LRE oder

Antibiotikum ^{b)}	2016	2017	2018	2019	2020
	(n=871)	(n=1091)	(n=1210)	(n=632)	(n=423)
Ampicillin	100,0	100,0	99,8	99,4	99,3
Gentamicin	15,3	6,9	6,8	6,5	4,7
Streptomycin	33,9	26,4	13,4	4,0	7,8
Vancomycin ^{c)}	99,4	98,6	99,5	98,6	96,4
Teicoplanin ^{c)}	4,7	3,8	2,6	0,5	0,7
Daptomycin	0,9	1,2	0,6	0,3	0,2
Erythromycin	97,1	97,7	97,5	94,0	96,0
Ciprofloxacin ^{d)}	100,0	100,0	99,8	99,5	99,8
Linezolid	5,1	5,2	6,9	18,2	25,1
Tetracyclin	14,0	14,0	5,3	3,5	5,7
Tigecyclin	0,9	2,7	0,3	0,8	1,4
Rifampicin	91,5	86,8	91,7	47,6	62,2

Tab. 5 | Resistenzen (%) der 2016–2020 an das NRZ eingesandten *vanB*-positiven *E. faecium*-Isolate^{a)}

^{a)} Es sind alle *vanB*-positiven *E. faecium*-Isolate aufgeführt, unabhängig von ihrem VRE-Phänotyp; ^{b)} Alle Angaben entsprechend klinischer Grenzwerte bzw. ECOFF nach EUCAST v6.0 bis v10.; bei STR und GEN sind *high-level* Resistenzen angegeben; ^{c)} Einzelne Isolate besitzen *vanB* und *vanA* (2020: n=3; hier nicht eingeschlossen); sehr selten sind VanB-Isolate TEI-r (2019: n=3; 2020: n=6) bzw. VAN-s (2019: n=8; 2020: n=14); ^{d)} CIP Hochresistenz MHK >16 mg/L.

	Resistent	%	Empfindlich	%	Gesamt
2020	196	28,12	499	71,59	697
2019	207	22,09	729	77,80	937
2018	172	10,4	1477	89,6	1649
2017	143	8,1	1628	91,9	1771
2016	116	6,9	1564	93,1	1680

Tab. 6 | Resistenz von *E. faecium* gegen Linezolid bei NRZ-Einsendungen aus Deutschland, 2016–2020

LVRE, auch wenn es sich um reine Besiedlungen handelt. In zurückliegenden Jahren sind Häufungen mit LRE oder LVRE in deutschen Kliniken keine Seltenheit mehr (s. ff.).

Für *E. faecalis* leiten wir auch für 2019 und 2020 keine Resistenzhäufigkeiten und Trends bei „Reserveantibiotika“ ab, da die Einsendezahlen insgesamt sehr niedrig sind. Ungefähr ein Drittel der *E. faecalis*-Isolate im Jahr 2019 resultierte aus Einsendungen von Linezolid-resistenten Isolat, 2020 waren dies etwas weniger als die Hälfte (n=29; 43%; s. auch ff.).

Genotypisierung von Enterokokken-Isolaten mittels PFGE und WGS

Das NRZ unterstützt neben den einsendenden Laboren der Krankenhäuser und ambulanten Praxen

auch direkt die Institutionen des Öffentlichen Gesundheitsdienstes (ÖGD) auf Landes- und Landkreisebene bei der Aufklärung von (nosokomialen) Ausbruchsgeschehen und Infektionsketten. Im Jahr 2019 wurden 244 Enterokokken-Isolate (zumeist VREF), die von Patientinnen und Patienten aus 43 Krankenhäusern/Kliniken stammten, mittels *SmaI*-Makrorestriktionsanalyse (PFGE) genotypisiert. Routineeinsendungen ab Oktober 2019 (n=207) oder welche, die im Zusammenhang mit speziellen Settings bearbeitet wurden, sind mittels WGS analysiert worden. Im Jahr 2020 wurden 367 Enterokokken-Isolate (zumeist VREF), die von Patientinnen und Patienten aus 78 Krankenhäusern/Kliniken stammten, mittels WGS und cgMLST genotypisiert. Im Folgenden sind ausgewählte Beispiele aufgeführt, die die für viele VRE-Häufungen typischen, heterogenen Situationen darstellen (gleichzeitiges Auftreten mehrerer VRE-Stämme), welche eine Interpretation ausschließlich anhand der Typisier- bzw. Genomdaten häufig schwierig machen (s. auch Neumann et al.⁶⁾:

Häufung von VRE in der Neonatologie eines Universitätskrankenhauses. Im Januar 2020 erhielt das NRZ insgesamt 15 *E. faecium*-Isolate aus einem Krankenhaus der Maximalversorgung. Die Isolate stammten aus einer neonatologischen Intensiv-

station. Es wurde eine Ausbruchsuntersuchung mittels Ganzgenomsequenzierung initiiert. Zusätzlich bestand ein Verdacht des epidemiologischen Zusammenhangs mit sechs weiteren *E. faecium*-Isolaten aus dem Jahr 2019. Die durchgeführten NGS-Analysen verdeutlichten, dass trotz eines sehr heterogenen Gesamtbildes, die Ausbildung von vier distinkten Clustern beobachtet werden konnte (Cluster 1: CT2903/ST80 (n=4) und CT1798/ST80 (n=2); Cluster 2: CT1473/ST117 (n=2); Cluster 3: CT2904/ST721 (n=1) und unbekannter CT (n=2), Cluster 4: CT1065/ST80 (n=6)) (s. Abb. 3). Die Isolate innerhalb der Cluster sind nach Interpretation der durchgeführten Analysen als nahe verwandt zu betrachten; sie zeigen in der cgMLST nur wenige Allelunterschiede (<16) und besitzen einen identi-

schon *van*-Genotyp (s. Abb. 3). Obwohl eine Interpretation der Situation nur auf Grundlage von zusätzlich erhobenen epidemiologischen Daten erfolgen sollte, war eine Übertragung in diesen Fällen als wahrscheinlich einzustufen. Vier Isolate (UW20652, UW20676, UW20354 und UW20388) zeigten keine nähere Verwandtschaft in der Ganzgenomanalyse.

Gehäuftes Auftreten von Linezolid-resistenten VRE an einem Klinikum in Süddeutschland. Im Juli 2019 erhielt das NRZ insgesamt acht *vanB*-positive und VREF-Isolate, die mit dem Verdacht auf Linezolid-resistenz eingesandt wurden. Für fünf dieser Isolate wurde mittels Mikrobouillonverdünnung eine Resistenz gegenüber Linezolid bestätigt. Anschließen-

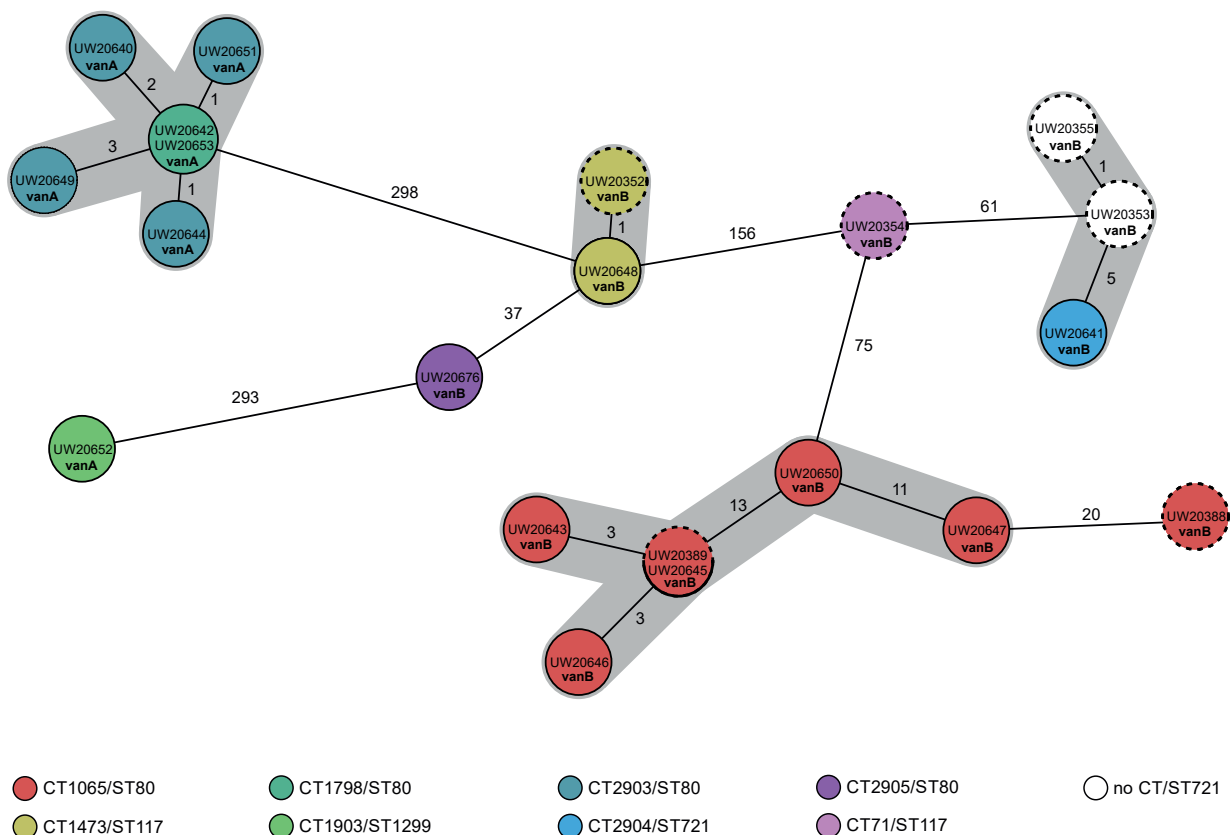


Abb. 3 | Minimum Spanning Tree (MST) basierend auf cgMLST von 21 *E. faecium*-Isolaten. Die Anzahl der variierenden Allele ist neben den schwarzen Linien gezeigt. Die Kolorierung erfolgte anhand der cgMLST Typisierung (Analyse von 1.367 Genen). ST = *sequence type* (MLST), CT = *complex type* (cgMLST). Grau schattierte Bereiche verbinden Isolate, die anhand der Definitionen von SeqSphere+ zu einem Cluster gehören (Grenzwert der maximalen Allelunterschiede in einem Cluster: 15). Isolate, die mit unterbrochenen Linien gekennzeichnet sind, stammen aus dem Jahr 2019.

de NGS-Analysen zeigten, dass alle eingesandten Isolate dem Genotyp ST117/CT71 und einem gemeinsamen Cluster zugeordnet werden konnten; in der cgMLST-Analyse unterschieden sich die Isolate im paarweisen Vergleich in maximal acht Allelen voneinander. Die Analyse des putativ zugrundeliegenden Resistenzmechanismus mit Hilfe der Online-Software „LRE-Finder 1.0“ (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/LRE-finder/>) ergab das Vorhandensein von Mutationen in der 23S rDNA. Übertragbare Gene, welche eine Linezolidresistenz vermitteln können (*cftr*, *poxtA* und *optrA*) oder Mutationen in ribosomalen Strukturgenen (*rplC* und *rplD*) konnten nicht nachgewiesen werden. Die drei Linezolid-sensiblen Isolate wiesen keinerlei Mutationen oder übertragbare Gene auf. Zusätzliche Verwandtschaftsanalysen zeigten, dass Isolate des ST117/CT71 einen deutschland- und europaweit verbreiteten Stammtyp repräsentieren, bei welchem sich auch völlig unabhängige Isolate durch nur wenige Allele voneinander unterscheiden können (NRZ, unpubl. Daten). Eine Interpretation von Häufungsgeschehen, die mit dem ST117/CT71 assoziiert sind, sollte folglich nur auf Grundlage von zusätzlich und sorgfältig erhobenen epidemiologischen Daten erfolgen (s. auch folgender Abschnitt).

Typisierung von VRE-/*E. faecium*-Einsendungen aus Blutkulturen

Aus den Jahren 2019 und 2020 wurden insgesamt 169 bzw. 141 *E. faecium*-Isolate aus invasiven Infektionen (Sepsis, Katheter-Sepsis) mittels WGS analysiert. Fünfundfünfzig der insgesamt 310 Isolate waren *vanA*-positiv (17,7 %), während 208 Isolate dem *vanB*-Typ zugeordnet werden konnten (67 %).

Im Jahr 2019 waren 14 verschiedene MLST-Typen bei Blutkulturisolaten nachweisbar. ST117 blieb wie in den Vorjahren mit 66 % der häufigste Sequenztyp. Der ab 2015 erstmals aufgetretene ST80 ist seit 2017 der zweithäufigste Typ. 2019 ist er mit einer Häufigkeit von 18 % vertreten, gefolgt von ST78 (5,3 %), ST262 (2,9 %) und ST1352 (2,4 %). 2020 ergab die Typisierung mittels MLST 10 ST. Obwohl ST117 wie in den Vorjahren zum häufigsten MLST-Typ zählte (53 %), zeigten Isolate des ST80 einen deutlichen prozentualen Anstieg im Vergleich zum Vorjahr (2020: 30 %) (s. Abb.4). Die beiden domi-

nanten ST wurden gefolgt von ST78 (5 %), ST1299 (4 %) und ST203 (3 %). Vormals und in anderen europäischen Ländern prominente MLST-Typen wie ST18 oder ST192 traten 2020 mit einer nur sehr geringen Frequenz auf (0–2 %).

Aufgrund des geringen Auflösungsvermögens von klassischen MLST-Analysen (Analyse von 7 Haushaltsgenen) werden seit einigen Jahren sogenannte Complexotypen (CT) auf Grundlage einer Kerngenom-MLST abgeleitet. Diese Methodik erreicht eine deutlich höhere Auflösung durch den Vergleich von insgesamt 1.423 Genen des Kerngenoms. Im Jahr 2019 waren 55 verschiedene CT nachweisbar. Überproportional häufig ($n > 5$) erschienen hier nur Isolate des CT71 (ST117, *vanB*) mit 44 % und CT1065 (ST80, *vanB*) mit 7,6 %. Alle anderen CT waren seltener als 3 %. 2020 waren 41 verschiedene CT in 141 Blutkulturisolaten nachweisbar. Überproportional häufig ($n > 5$) erschienen hier die Isolate mit dem CT71 (37 %, ST117), CT2406 (6 %, ST80), CT1470 (4 %, ST80), CT2858 (4 %, ST80) und CT929 (4 %, ST117). In diesem Zusammenhang ist auffällig, dass der Anstieg von ST80-Isolaten insgesamt auf eine diverse Bandbreite von CT zurückgeht (18 CT). Gleichsam ist der Trend bei dominanten CT wie des CT1065 innerhalb des ST80 bereits wieder rückläufig (2019: 8 %, 2020: 3,5 %).

Etablierung eines Kerngenom MLST Schemas für *E. faecalis*

Gemeinsam mit Kooperationspartnern haben wir im Rahmen eines Forschungsprojekts ein Kerngenom MLST Schema für *E. faecalis* entwickelt, um ein Typisierschema auch für die klinisch bedeutsame Spezies bzw. entsprechende Vancomycin-resistente Varianten anbieten zu können. Das Schema wurde unter Berücksichtigung mehrerer Stammsätze entwickelt und validiert und steht seit 2019 als Teil der Ridom SeqSphere+ Software als cgMLST Paket für *E. faecalis* zur Verfügung.⁷

Mikrobiologische Charakterisierung von Linezolid-resistenten *E. faecium*- und *E. faecalis*-Isolaten

Linezolidresistenz wird in Enterokokken durch Punktmutationen in der 23S rDNA vermittelt (in

Anteil Stammtyp (%)

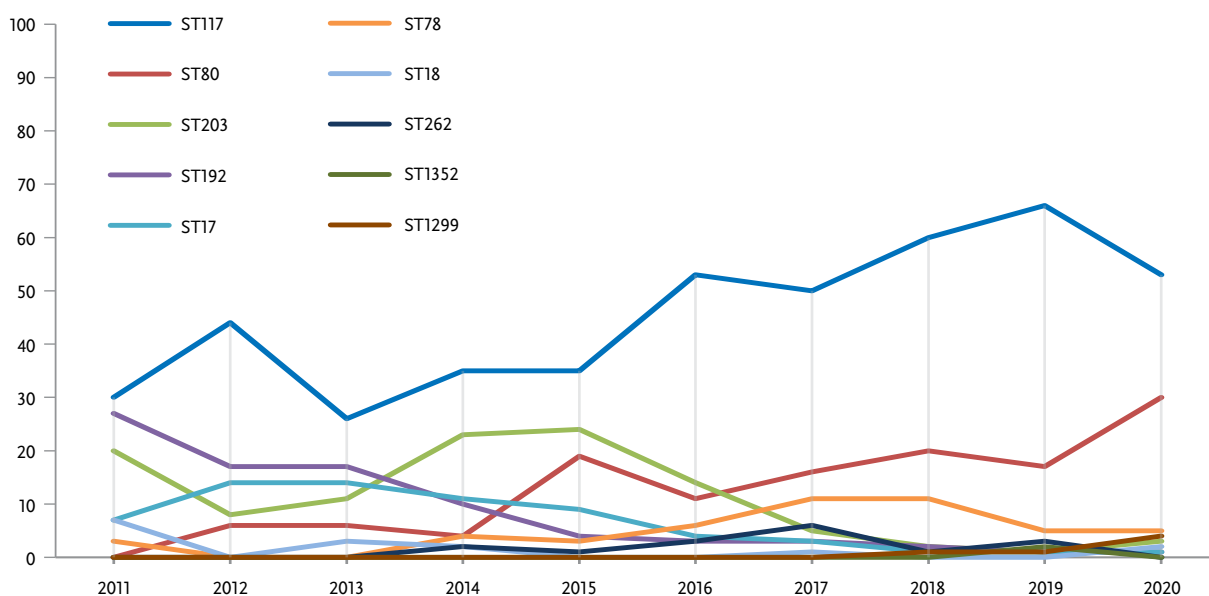


Abb. 4 | Prozentualer Anteil der häufigsten Stammtypen nach MLST bei invasiven *E. faecium*-Isolaten von 2011–2020 (Daten des NRZ). Farblich markierte Linien beschreiben die Verteilung der entsprechenden Sequenztypen (ST) über die Zeit.

E. faecium in 6 Kopien, u. a. meist durch G2576T Mutationen) sowie durch Mutationen in ribosomalen Proteinen (*rplC*, *rplD*) und/oder durch die transferablen Resistenzgene *cfr*, *optrA* und/oder *poxA*. Alle Linezolid-resistenten Isolate werden mittels einer am NRZ entwickelten und validierten Multiplex-PCR auf transferable Linezolid-Resistenzgene untersucht.⁴

2019 wurde in nur einem Linezolid-resistenten *E. faecium*-Isolat das *cfr*-Gen nachgewiesen (2020; n = 0), dessen Bedeutung in *E. faecium* grundsätzlich fraglich ist.⁸ Jeweils sechs *E. faecium*-Isolate besaßen 2019 und 2020 *poxA* (z. T. VRE). Jeweils sieben *E. faecium*-Isolate in beiden Jahren besaßen *optrA*. Im Jahr 2020 besaßen zwei *E. faecium*-Isolate *optrA* UND *poxA*. Im Gegensatz zu den Vorjahren haben wir nicht mehr die Anzahl der mutierten 23S rDNA Allele in LRE erfasst, da die meisten LRE verschiedene Anteile an G2576T Mutationen ausweisen und die Aussagekraft der Erkenntnisse aus Public Health-Sicht begrenzt ist.

Insgesamt 44 von 62 (71%) Linezolid-resistenten *E. faecalis*-Isolaten besaßen *optrA* und bestätigten so-

mit die vergleichsweise weite Verbreitung dieses Linezolid-Resistenzgens in dieser Spezies.⁹

Analyse einer Häufung von Tigecyclin-resistenten *E. faecium* an einem Universitätskrankenhaus

In einer Studie zusammen mit dem Frankfurter Universitätsklinikum wurden 76 Tigecyclin-resistente VRE- bzw. *E. faecium*-Isolate mit einer Kontrollgruppe aus VRE verglichen.¹⁰ Der Einfluss des Einsatzes von Tigecyclin auf die Resistenzentstehung und -verbreitung wurde untersucht. Am NRZ wurden die Resistenzphänotypen der TVRE-Isolate bestätigt und eine Auswahl an TVRE mittels WGS und cgMLST hinsichtlich Klonalität, d. h. vermuteter Transmissionen, analysiert. Es konnten kleine Transmissionscluster als auch *de novo* generierte TVRE nachgewiesen werden. Zudem war ein Zusammenhang eines gehäuft Auftretens von TRE/TVRE mit einem gesteigerten Einsatz von Tigecyclin nachweisbar.¹⁰

Fazit und Ausblick

Die Maßnahmen zur Konsolidierung der Menge an eingesandtem Probenmaterial zeigten ab 2019 erste Auswirkungen. Im Jahr 2020 schreibt das NRZ die rückläufigen Einsendezahlen, vor allem ab dem 2. Quartal, dem COVID-19-pandemiebedingten Lockdown zu. Die nahezu Halbierung der am NRZ zu analysierenden Proben an Enterokokken hatte verschiedene positive Auswirkungen und führte u. a. zu einer prozentualen Anreicherung von Isolatens aus klinisch-relevantem Material bei gleichzeitiger und gleichwertiger geografischer Abdeckung. Die Typisierung wurde mit einer Übergangsphase Ende 2019 komplett auf WGS-basierte Auswertungsverfahren umgestellt. Beim Einsatz von WGS-basierten Typisierverfahren werden die Anforderungen der Hygieneempfehlungen zugrunde gelegt, d. h. es können aus Kapazitätsgründen keine reinen Besiedlungsausbrüche analysiert werden. Durch diese und weitere Maßnahmen konnten die Bearbeitungszeiten aller Proben am NRZ, auch die für Typisierung, deutlich reduziert werden. Das Stammmaterial des NRZ ist somit aufgrund der Vielzahl der einsendenden Labore, der Repräsentation aller Bundesländer und der Diversität der Fragestellungen sehr gut geeignet, allgemeine Trends frühzeitig abzubilden und zu erkennen. Darüber hinaus nimmt das NRZ eine wichtige

Funktion in der frühzeitigen Erkennung von neuen Trends, wie z. B. die Verbreitung neuer Stammvarianten (ST80) und/oder Resistenzentwicklungen gegenüber Reserveantibiotika wahr, die in Surveillance-daten aus Routinelaboren oder in Studien nicht bzw. erst deutlich verspätet auffällig werden. Behandlungsoptionen bei VRE wurden u. a. in einem Übersichtsartikel diskutiert.¹¹ Das erste Auftreten von VRE in Deutschland im Jahr 1990 veranlasste uns dazu, 2020 einen Übersichtsartikel zur Situation von „30 Jahren VRE in Deutschland“ zu verfassen.¹²

Literatur

- 1 Markwart R, Willrich N, Haller S, Noll I, Koppe U, Werner G, Eckmanns T, Reuss A. The rise in vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in Germany: data from the German Antimicrobial Resistance Surveillance (ARS). *Antimicrob Resist Infect Control*. 2019 Aug 28;8:147. DOI: 10.1186/s13756-019-0594-3. eCollection 2019.
- 2 Noll I, Eckmanns T, Abu Sin M. Antibiotika-resistenz: Jeder 4. invasive *Enterococcus faecium* resistent gegen Vancomycin. *Dt. Ärzteblatt* 2021; (10.2.2021)<https://www.aerzteblatt.de/treffer?mode=s&wo=1041&typ=1&nid=121043&s=Noll>
- 3 Markwart R, Willrich N, Eckmanns T, Werner G, Ayobami O. Low proportion of linezolid and daptomycin resistance among bloodborne vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in Europe. 2021. *Frontiers Microbiology* [31.5.2021, online access; <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2021.664199/full>
- 4 Bender JK, Fleige C, Klare I, Werner G. Development of a multiplex-PCR to simultaneously detect acquired linezolid resistance genes *cfr*, *optrA* and *poxA* in enterococci of clinical origin. *J Microbiol*

- Methods. 2019 May;160:101-103. DOI: 10.1016/j.mimet.2019.03.025. Epub 2019 Mar 30.
- 5 Empfehlung der Kommission für Krankenhaus-hygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut. Hygienemaßnahmen zur Prävention der Infektion durch Enterokokken mit speziellen Antibiotikaresistenzen. Bundesgesundheitsblatt (2018) 61:1310-1361.
- 6 Neumann B, Bender JK, Maier BF, Wittig A, Fuchs S, Brockmann D, Semmler T, Einsele H, Kraus S, Wieler LH, Vogel U, Werner G. Comprehensive integrated NGS-based surveillance and contact-network modeling unravels transmission dynamics of vancomycin-resistant enterococci in a high-risk population within a tertiary care hospital. PLoS One. 2020 Jun 24;15(6):e0235160. DOI: 10.1371/journal.pone.0235160. eCollection 2020.
- 7 Neumann B, Prior K, Bender JK, Harmsen D, Klare I, Fuchs S, Bethe A, Zühlke D, Göhler A, Schwarz S, Schaffer K, Riedel K, Wieler LH, Werner G. A core genome Multilocus Sequence Typing Scheme for *Enterococcus faecalis*. J Clin Microbiol. 2019 Feb 27;57(3):e01686-18. DOI: 10.1128/JCM.01686-18. Print 2019 Mar.
- 8 Bender JK, Fleige C, Klare I, Fiedler S, Mischnik A, Mutters NT, Dingle KE, Werner G. Detection of a cfr(B) variant in German *Enterococcus faecium* clinical isolates and the impact on linezolid resistance in *Enterococcus* spp. PLoS One. 2016 Nov 28;11(11):e0167042. DOI: 10.1371/journal.pone.0167042. eCollection 2016.
- 9 Bender JK, Fleige C, Lange D, Klare I, Werner G. Rapid emergence of highly variable and transferable oxazolidinone and phenicol transporter OptrA in German clinical *Enterococcus* spp. Isolates. Int J Antimicrob Agents. 2018 Sep 17. pii: S0924-8579(18)30268-1. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2018.09.009.
- 10 Kessel J, Bender J, Werner G, Griskaitis M, Herrmann E, Lehn A, Serve H, Zacharowski K, Zeuzem S, Vehreschild MJGT, Wichelhaus TA, Kempf VAJ, Hogardt M. Risk factors and outcomes associated with the carriage of tigecycline- and vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. J Infect. 2021 Feb;82(2):227-234. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.12.003. Epub 2020 Dec 4.
- 11 Mischnik A, Werner G, Bender J, Mutters NT. Enterokokken mit speziellen Resistenzen – Epidemiologie, Hygiene und Therapie. Dtsch med Wochenschr 2019; 144(08): 553-560; DOI: 10.1055/a-0655-6454

- 12 Werner G, Neumann B, Weber RE, Kresken M, Wendt C, Bender JK; VRE study group. Thirty years of VRE in Germany – „expect the unexpected“: The view from the National Reference Centre for Staphylococci and Enterococci. Drug Resist Updat. 2020 Dec;53:100732. DOI: 10.1016/j.drup.2020.100732. Epub 2020 Oct 27.

Autorinnen und Autoren

^{a,c}Dr. Robert E. Weber | ^{a,c}Dr. Jennifer K. Bender |
^{a,c}Prof. Dr. Guido Werner | ^bInes Noll |
^bDr. Muna Abu Sin | ^bDr. Tim Eckmanns

^aRobert Koch-Institut, Abteilung für Infektionskrankheiten – FG 13 Nosokomiale Infektionserreger und Antibiotikaresistenzen

^bRobert Koch-Institut, Abteilung für Infektionsepidemiologie – FG 37 Nosokomiale Infektionen, Surveillance von Antibiotikaresistenz und -verbrauch

^cNationales Referenzzentrum für Staphylokokken und Enterokokken

Korrespondenz: WernerG@rki.de

Vorgeschlagene Zitierweise

Weber RE, Bender JK, Noll I, Abu Sin M, Eckmanns T, Werner G: Eigenschaften, Häufigkeit und Verbreitung von Vancomycin-resistenten Enterokokken in Deutschland – Update 2019/2020

Epid Bull 2021;27:32-42 | DOI 10.25646/8710

Interessenkonflikt

Alle Autorinnen und Autoren geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Danksagung

Wir danken allen kooperierenden Laboren für die zumeist jahrelange und konstruktive Zusammenarbeit und die Übersendung des interessanten Stamm-materials. Dank gilt auch allen an ARS teilnehmenden Laboren.