

6 Zusammenfassung

Hintergrund

Unter den Enterokokken weist der *Enterococcus (E.) faecium* am häufigsten eine erworbene Vancomycinresistenz auf. Vancomycin resistente Enterokokken (VRE) werden zunehmend als Erreger nosokomialer Infektionen nachgewiesen.

Fragestellung

Wie häufig tritt der genotypische Nachweis von Vancomycin-resistenten *E. faecium* bei Gesunden auf, insbesondere wie häufig findet man die genetische Resistenz bei phänotypisch sensiblen Isolaten?

Wie lange persistieren *E. faecium*-Stämme bei gesunden Probanden?

Material und Methoden

Die Proben wurden einer Stammsammlung entnommen, die zur Untersuchung der Inzidenz von VRE bei Gesunden angelegt worden war ¹¹⁴. Dafür wurden zwischen August 1996 und Februar 1997 monatliche Rektalabstriche von gesunden Erwachsenen gesammelt. Die Differenzierung erfolgte auf Enterococcosel-Agar ohne und mit Zusatz von je 4 bzw. 16 µg/ml Vancomycin. Als Enterokokken wurden Isolate gewertet, die auf Enterococcosel und in 6,5 % NaCl gewachsen waren. Eine Speziesdifferenzierung mit kurzer biochemischer Reihe und eine phänotypische Resistenzbestimmung wurden vorgenommen. Pro Proband und Monat wurden 3-5 Enterokokken-Isolate in die Stammsammlung aufgenommen.

Einschlusskriterien für diese Arbeit waren: 1.) Proben von Probanden, bei denen in jedem der 6 Monate mindestens ein Enterokokken-Isolat nachgewiesen wurde. 2.) Alle Isolate dieser Probanden, die in der kurzen biochemischen Reihe als *E. faecium* oder andere Enterokokken (nicht klassifiziert) identifiziert worden waren. Für die Prävalenz der Resistenzgene wurde die Spezies- und Resistenzgen-Bestimmung mit der Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) eingeführt. Dazu wurden die Protokolle von Dutka-Malen et al. ^{122,123} und Patel et al. ¹²⁴ verwandt. Die Ergebnisse wurden mit den phänotypischen Ergebnissen verglichen.

Für die Untersuchung der Persistenz von *E. faecium* wurden die genotypisch identifizierten *E. faecium* Isolate mit Hilfe der Zufalls-PCR (M13 und Eric1/AP4) typisiert und verglichen. Die Auswertung der Stämme erfolgte durch computerunterstützte Analyse mit Hilfe des Clusteranalyse-Programms GelCompare©.

Ergebnisse

794 Isolate von 69 Probanden erfüllten die Einschlusskriterien und wurden untersucht.

Die genotypische Spezies- und Resistenzgen-Bestimmung identifizierte unter diesen 379 *E. faecium* (bei 59 Probanden), davon 109 (bei 23 Probanden) mit vanA-Resistenzgen. Unter den übrigen Isolaten wurden neben *E. faecalis* und anderen nicht klassifizierten Enterokokken 38 *E. gallinarum* (bei 22 Probanden), 119 *E. casseliflavus/E. flavescens* (bei 65 Probanden) identifiziert.

Alle genotypisch resistenten (vanA-Gen tragende) *E. faecium* waren auch phänotypisch resistent. Allerdings wurde bei fünf vanA-Gen tragenden Isolaten die Resistenz erst in der Wiederholungsuntersuchung bestätigt.

Für die Persistenzuntersuchung wurden nur die 379 genotypischen *E. faecium* (von 59 Probanden) untersucht. Unter diesen wurden 207 sich genetisch unterscheidende Stämme identifiziert. 49 dieser Stämme trugen ein vanA-Gen (109 Isolate, 23 Probanden). Bei acht dieser Stämme war das vanA-Gen nicht immer vorhanden.

Bei 42 Probanden wurde *E. faecium* in mehr als einem Monat nachgewiesen. Bei neun dieser Probanden wurden genetisch identische Stämme in verschiedenen Monaten gefunden (zehn Stämme). Die Persistenz dieser Stämme betrug zwischen zwei und sechs Monaten. Vier dieser Stämme waren vanA-Gen tragend. Ein Stamm war zunächst vanA-Gen negativ, drei Monate später wurde dieser Stamm jedoch mit einem vanA-Gen isoliert.

Diskussion

Wir konnten keinen phänotypisch Vancomycin sensiblen *E. faecium* nachweisen, der gleichzeitig ein Resistenzgen trug. Unter den Probanden war die Besiedlung mit vanA-Gen tragenden *E. faecium* über den Untersuchungszeitraum mit 33% hoch. Zusätzlich konnten wir häufig eine Besiedlung der Probanden mit niedrig Vancomycin resistenten *E. casseliflavus/E. flavescens* und

E. gallinarum nachweisen. Für den Nachweis von VRE war die eingesetzte PCR sensitiver als die phänotypische Untersuchung.

Wir konnten sensible und resistente Stämme in verschiedenen Monaten isolieren. Wir haben einige Stämme identifiziert, die sowohl mit als auch ohne vanA-Gen nachgewiesen wurden. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass bei Gesunden eine Akquirierung bzw. der Verlust von Resistenzgenen möglich ist.

Durch die Typisierung konnten auch verschiedene VRE-Stämme bei einzelnen Probanden nachgewiesen werden. Dies wirft die Frage auf, wie viele Isolate zu untersuchen sind, wenn der Verdacht eines Ausbruches besteht und evaluiert werden soll, ob die Person mit einem Ausbruchstamm besiedelt ist.