

Begründungspapier zur Einstufung von *Enterococcus faecium* in Risikogruppe 2 mit der Kennzeichnung „TA“ nach Biostoffverordnung

Allgemeine Angaben

Name (Synonym)

Erstbeschreibung 1919 als *Streptococcus faecium* (im Gegensatz zum damals schon etablierten *S. faecalis* abweichendes Fermentationsprofil) (Orla-Jensen, 1919).

Enterokokken wurden bis 1984 auch als Gruppe D Streptokokken bezeichnet (Lancefield Klassifizierung).

Erst 1984 erfolgte eine Re-Klassifizierung von *Streptococcus faecalis* in *Enterococcus faecalis* (LeBrenton et al., 2014). *Enterococcus* hat als Genus 54 Spezies (Parte, 2014) und findet sich in der Familie *Enterococcaceae* zusammen mit den Genera *Bavariicoccus*, *Catelliococcus*, *Melissococcus*, *Pilibacter*, *Tetragenococcus* und *Vagococcus* (Ludwig et al., 2009). Alle Typspezies der Familie stammen aus humanen oder tierischen Gastrointestinal(GI)-Trakten, fermentierten Lebensmitteln und Milchprodukten, Pflanzen-, Wasser- und Bodenproben. Hohe pH-Resistenz, breites Temperaturspektrum sowie Osmoresistenz sind weitere Merkmale (LeBreton et al., 2014).

Pathovarietäten

Von *E. faecium* wurden zahlreiche Stämme mit unterschiedlicher Virulenz beschrieben. Dies ist z.B. darauf zurückzuführen, dass das Genom von *E. faecium* definierte Abschnitte mit Virulenzgenen (sog. mobile genetische Elemente bzw. eine Pathogenitätsinsel, PAI) in unterschiedlicher Anzahl und Zusammensetzung tragen kann. Ein Kerngenom bzgl. der Virulenzgene, die für eine obligate Pathogenität eines Isolates gegenüber einer Tierspezies hinreichen, wurde bisher noch nicht definiert. Gemeinhin gilt *E. faecium* als vergleichsweise weniger pathogen als *E. faecalis*, wobei je nach Stamm der zwei Spezies aufgrund der o.g. Variabilität sich die Relation auch umgekehrt darstellen kann.

Typstamm

ATCC 19434 = CCUG 542 = CIP 103014 = CFBP 4248 = DSM 20477 = HAMBI 1710 = JCM 5804 = JCM 8727 = LMG 11423 = NBRC 100486 = NBRC 100485 = NCIMB 11508 (formerly NCDO 942) = NCTC 7171.

Risikogruppe

Risikogruppe 2 mit der Kennzeichnung „TA“. Für gesunde Immunkompetente Menschen auf der Haut- bzw. Schleimhautoberfläche apathogen, daher zumindest für wissenschaftliche und industrielle Zwecke durchaus Einstufung in 1 denkbar. Gefährdet sind nicht gesunde Arbeitnehmer, sondern ausschließlich chronisch Kranke, stark Immunsupprimierte Patienten, intensivmedizinisch behandelte Patienten, Menschen in Alten- und Pflegeeinrichtungen, Knochenmark- und Lebertransplantierte, sowie Menschen, denen durch kontaminierte Medizinprodukte (Katheter, chirurgische Instrumente) die Keime systemisch in typischerweise sterile anatomische Kompartimente beigebracht werden. Nicht belegt ist die Spekulation, dass auch immunkompetente Menschen durch nicht-invasive Kontakte infiziert werden können, sofern sie eine Antibiotikatherapie erhalten, die Enterokokken explizit nicht mit erfasst. Für die Pathogenese soll hier dann der Verlust der „Kolonisationsresistenz“ verantwortlich sein.

Referenzzentrum/Konsiliarlabor

Nationales Referenzzentrum für Staphylokokken und Enterokokken

Erreger: Staphylokokken und Enterokokken

Institution: Robert Koch-Institut (Bereich Wernigerode)

FG 13 - Nosokomiale Infektionserreger und Antibiotikaresistenzen

Burgstraße 37 38855 Wernigerode

Homepage: www.rki.de/nrz-staph

Ansprechpartner: Prof. Dr. Guido Werner (Leitung)

Telefon: 030 18754 - 4210 (Dr. Werner)

030 18754 - 4247 (Dr. Klare für Enterokokken)

Molekularbiologie, Morphologie und Physiologie**Genom** (aus Palmer et al., 2014)

Generell besitzen Enterokokken eine hohe Genomplastizität, die Basis des hohen und schnellen Adaptationspotenzials sind (Prieto et al., 2016). Der G+C Gehalt liegt bei 37-45 mol%. Sie gehören damit zu den „low G+C“ (≤ 50 mol%) Gram-positiven Mikroorganismen des Phylums *Firmicutes*. Die bisher vollständig sequenzierten Genome haben eine variable Größe von ca. 2,7 bis 3,6 Mb (LeBreton et al., 2014). Enterokokken tragen zahlreiche extrachromosomale Virulenzplasmide. Zu nennen ist hier z.B. pIP501 (Grohmann et al., 2016), welches multiple Antibiotikaresistenzen kodiert und sich häufig bei *E. faecium* findet (Grohmann et al., 2016).

Die erste vollständige und geschlossene Genomsequenz für *E. faecium* stammt aus dem Jahr 2012. Das Core-Genom dieser Spezies umfasst 1597 offene Leseraster bei insgesamt 2272 bis 3318 Genen. Die Genomgröße liegt zwischen 2,7 und 3 Mb. Daraus lässt sich schließen, dass 29% bis 52% keine Core Gene sind und somit den variablen Genanteil dieser Spezies repräsentieren.

CRISPR-cas Systeme sind bei *E. faecium* eher selten. Die Assoziation zwischen Präsenz der CRISPR-cas Systeme und der Präsenz mobiler genetischer Elemente bestätigt sich also zumindest für *E. faecium* nicht, d.h. auch Isolate mit nur wenigen Antibiotikaresistenzen haben kein CRISPR-cas.

Auch bei *E. faecium* kommen zahlreiche Plasmide im Genom vor, die Gene für Antibiotikaresistenzen, Kolonisationsfaktoren und den Kohlenhydratmetabolismus tragen. Bakteriophagen sind maßgebliche Treiber der Diversität im *E. faecium* Genom (2,3% bis 5,1% des Gesamtgenoms). Im Genom von *E. faecium* finden sich zwei prototypische Genominseln. Die Esp-Insel (Größe 64 – 125 kbp) hat 1,1% bis 2,3% niedrigeren G+C Gehalt verglichen zum umgebenden Genom, sowie 54 bp direkte Repeatstrukturen an den Flanken. Integrationsstelle ist die Sequenz für ein ribosomales Protein (RpsL).

Durch Genomanalysen erarbeitete Unterschiede zwischen *E. faecalis* und *E. faecium*:

COG (clusters of orthologous genes) Analyse der metabolischen Stoffwechselwege erbrachte 70 COGs mit Spezifität für *E. faecium* und 140 COGs für *E. faecalis*. Gene kodierend für den Arabinose-Katabolismus, sowie die Gene kodierend für Enzyme zum Abbau von Pektin und Lignozellulose sind ausschließlich in *E. faecium* zu finden. Die Gene kodierend für Enzyme zur Biosynthese von Häm-abhängigen Cytochromen sowie dem Ethanolamin-Stoffwechsel sind hingegen *E. faecalis* spezifisch. Hieraus kann abgeleitet werden, dass der Katabolismus komplexer Pflanzenpolysaccharide spezifisch für *E. faecium*, hingegen der Abbau der Phospholipid-Kopfgruppe Ethanolamin spezifisch für *E. faecalis* ist. Beide Spezies okkupieren daher unterschiedliche Bereiche des humanen Darmlumens.

Zelluläre und kulturelle Morphologie

Gram-positive Ovokokken (spheroid bis ovoid), paarweise oder in Ketten mit variabler Länge angeordnet. Nicht zur Sporenbildung befähigt, unbeweglich. Glattrandige, deutlich konvexe Kolonien ohne Pigmentierung (LeBreton et al., 2014).

Physiologie

Katalase-negativ. Kolonien auf Blut-Agar 1-2mm Durchmesser. Obligat fermentativer chemoorganotropher Stoffwechsel (fakultativ-anaerob). Optimale Wachstumstemperatur: 35°C, d.h. mesophile Klassifizierung, Temperaturspektrum: 10 bis 45°C. Wachstum in Medium bis zu 6,5% NaCl. Hydrolysiert Esculin in Anwesenheit von 40% Gallensalzen. Hydrolysiert L-Pyrrolidonyl-β-Naphthylamide (PYR). Besitzt keinen kompletten Cytochromsatz, da die Biosynthesewege für Porphyrin fehlen. Meistens homofermentativer Stoffwechsel (Laktat aus Glukose). Keine Gasproduktion. Ausgeprägte Auxotrophien: Val, Leu, Ile, Ser, Met, Glu, Arg, His, Trp, Vitamine (Biotin, Nikotinsäure, Panthothen, Pyridoxin, Riboflavin, Folsäure) (LeBreton et al., 2014).

Kohlenhydrat-Metabolismus: mindestens 13 Kohlenstoffquellen werden von allen Enterokokken-Spezies als Energiequelle genutzt, dazu besitzen sie den Embden-Meyerhof-Parnas (Glykolyse) Stoffwechselweg, den Entner-Doudoroff Stoffwechselweg, und den Pentose-Phosphatweg (Phosphoglykonat-Weg). Die Zuckeraufnahme erfolgt über zahlreiche Phosphotransferase-Systeme (PTS), die auch auf mobilen genetischen Elementen kodiert sind. Glycerol, ein Precursor für Lipide und Lipoteichonsäuren, kann sowohl als Kohlenstoffquelle als auch als Energiequelle genutzt werden. Der Citratmetabolismus der Enterokokken ist wichtig für die Geschmackstoffproduktion. Transport über die Membran mit spezifischen Transporter (CitH). Enterokokken haben keinen Tricarbonsäure-Zyklus. Mucin kann ebenfalls als C- und Energiequelle genutzt werden. Enterokokken nutzen weiterhin pflanzliche Kohlenstoffquellen: Cellulose, Raffinose (Enzyme bei *E. faecium* auf Megaplasmid) Pektin, Maltose, Trehalose (Insekten, Pflanzen), Chitin. Anders als *E. faecalis* nutzt *E. faecium* kein Ethanolamin, Pyruvat, Arginin und Agmatine, sowie Laktat.

Enterokokken besitzen eine funktionale Elektronentransportkette, die Respiration ermöglicht (am besten bei *E. faecalis* charakterisiert). Respiration hängt von der externen Häm-Versorgung ab (Ko-Faktoren der Cytochrome). Für die Respiration fungieren Fumarat und O₂ als terminale e⁻Akzeptoren. Resistenzen/Toleranzen gegenüber vielen Umgebungsbedingungen (pH-Wert, Salzhomöostase) erklären sich durch Expression von 14 Metallionen P-Typ ATPasen. Salz- und Alkalitoleranz erklärt sich durch eine Natriumpumpe/Natriumantiporter (ATPase, die Na²⁺ nach außen pumpt). Enterokokken kodieren für 3 Kalium-Transportsysteme, da Kalium essentiell für alle Stoffwechselprozesse ist. Kupfer als essentieller Ko-Faktor für viele Enzyme aus der Respiration, dem normalen Metabolismus sowie der Stressantwort wird über spezifische Chaperone und ATPasen transportiert. Zur Akquisition von Eisen sekretieren Enterokokken Siderophore (Trihydroxamat, Citrat-Hydroxamat, 2-Oxo-Säuren wenn diese mit Eisen komplexiert sind). Mangan als Spurenelement ist als Ko-Faktor wichtig für Enzyme, Stoffwechselweg-Regulation und Signaltransduktion. Mangan in *E. faecium*: sehr hohe intrazelluläre Konzentration, daher eine hohe Mg-Fe Ratio, was eine extreme Strahlungsresistenz vermitteln kann (vergleichbar mit *Deinococcus radiodurans*). Enterokokken haben einen hohen Vitaminbedarf (Biotin, Nikotinat, Pantothenat, Riboflavin, Pyridoxine). Im Gegensatz zu *E. faecalis* ist *E. faecium* auxotroph für Folate.

Enterokokken können in den VBNC (viable but non-culturable) Status eintreten. Dies ist ein Zustand mit geringem Metabolismus, intakter Zellmembran, hohem intrazellulärem ATP-Gehalt, aktiver Genexpression und mRNA Persistenz für bis zu 50 Tagen (trägt maßgeblich zur Antibiotika-Resistenz bei!). Enterokokken produzieren zahlreiche reaktive Sauerstoff-Spezies, haben aber auch eigene Detoxifizierungssysteme (Peroxidasen, Oxidasen, Peroxiredoxine, Alkyl-Hydroperoxidasen, Glutathion) (Ramsey et al., 2014).

Charakteristische Merkmale

Es gibt keine eindeutigen phänotypischen Merkmale, die eine exklusive Zuordnung von Isolaten zum Genus *Enterococcus* erlauben und somit eine einfache Identifikation bzw. eine sichere Differenzierung von anderen Genera ermöglichen. Basierend auf der Säurebildung aus Mannitol und Sorbose, sowie der Arginin-Hydrolyse werden Enterokokken aktuell in fünf Gruppen eingeteilt (Facklam et al., 2002). *E. faecium* gehört zur Gruppe II und ist meist Mannitol positiv, Sorbose negativ und Arginin-Hydrolyse positiv. Einige metabolische Fähigkeiten sind auf Megaplasmiden kodiert und unterliegen somit einer hohen Variabilität.

Mikroskopischer und kultureller Nachweis sowie Speziesdifferenzierung

Mikroskopischer Nachweis nach Gram-Färbung ist nur sinnvoll bei Probenmaterialien aus sonst sterilen Körperkompartimenten-/Flüssigkeiten, allerdings ist maximal eine Aussage „Präsenz Gram-positiver Kokken“ möglich.

Es gibt zahlreiche PCR-basierte Tests zum direkten Nachweis von Enterokokken aus z.B. Blut.

Generell bestimmt die Quelle der Probenahme die Medienwahl für die primäre Isolation. Nur bei Proben aus primär sterilen anatomischen Kompartimenten kann eine direkte Plattierung auf nicht-selektiven Medien erfolgen. Proben aus physiologisch besiedelten anatomischen Kompartimenten bzw. aus Materialien der menschlichen Umgebung, aus Tieren oder Lebensmitteln benötigen durch den hohen Anteil an zu erwartender Hintergrundflora typischerweise Selektionsmedien zur primären Isolation. Dabei existiert allerdings kein ausschließlich Enterokokken-spezifisches Kulturmedium. Selektionsmedien enthalten z.B. Gallensalze und Äsculin sowie gegen Gram-negative Bakterien wirksame Antibiotika als Zusatzstoffe. Sofern auf Vancomycin-resistente Isolate untersucht werden soll, kann ein Glykopeptid dem Medium zugesetzt werden (Teixeira et al., 2011).

Die Differenzierung angezüchteter Enterokokken kann orientierend mittels Nachweis der Pyraser erfolgen. Die definitive Speziesdifferenzierung wird aktuell mit kommerziellen Bündeln biochemischer Tests in Form von Karten- oder Streifensystemen und automatischer Auslesung der Testreaktionen durchgeführt. Noch häufiger wird inzwischen die massenspektrometrische Differenzierung mit Vergleich zu kommerziellen Spektroskopie-Datenbanken angewendet.

Natürlicher Standort

Pflanzen, Boden, Kommensale des Gastro-Intestinaltraktes von Menschen und aller freilebenden sowie kommerziell genutzten Säugetiere, gesichert auch aller Reptilien, Insekten, wahrscheinlich aller Phylae im Tierreich (Prieto et al., 2016).

Wirtsbereich

Enterokokken sind nicht auf bestimmte Wirte festgelegt und können ihren Standort offenbar problemlos zwischen verschiedenen tierischen Wirten und der unbelebten Umgebung wechseln.

Pathogenität (aus Garsin et al., 2014)

Generell sind Isolate der Spezies *E. faecium* als apathogen einzustufen. Diese Aussage bezieht sich zunächst nur auf vollständig immunkompetente Menschen und Tiere ohne chronische Grunderkrankungen und ohne vorgeschädigte Gewebe bzw. passagere oder dauerhaft angelegte Implantate. Risikopatienten in denen die geringe Pathogenität der Enterokokken zum Tragen kommen kann sind z.B. alle Menschen/Tiere mit chronischen Grunderkrankungen die sich auf die Immunkompetenz dieser Individuen auswirkt, durch medizinische Handlungen Immunsupprimierte Patienten in medizinischen Einrichtungen und Pflegeeinrichtungen, insbesondere Patienten mit Implantaten, Chemotherapien sowie Leber- und Knochenmarktransplantierte. Durch die gestörte physiologische Standortflora weisen möglicherweise auch Patienten mit vorangegangener bzw. laufender Therapie mit nicht-Enterokokken-wirksamen Antibiotika ein nicht näher beziffertes gesteigertes Infektionsrisiko auf.

Ein Erklärungsansatz für Enterokokkeninfektionen beruht auf dem Verlust der Kolonisationsresistenz: durch AB-Therapien und / oder Abnahme der Produktion / Speicherung / Freisetzung von Defensinen, Cryptidinen und Lektinen aus Paneth Zellen kommt es zum Verlust der anaeroben Darmmikrobiota. Ferner verliert das Darmepithel seine Barrierefunktionen durch Breitband-AB-Behandlungen. Dies betrifft die Produktion von Säuren, Schleim und sekretorischem IgA sowie die Darm-Peristaltik.

Pathogenitätsfaktoren/Pathogenese

Die meisten „Virulenzfaktoren“ der Enterokokken wurden im Rahmen von Infektionsmodellen für *E. faecalis* identifiziert und charakterisiert. Unter natürlichen Umständen unterliegt die Expression der für die Virulenzfaktoren kodierenden Gene einer strengen und Umgebungsparameter-gesteuerten transkriptionellen Regulation. Im Vergleich zu *E. faecalis* sind für *E. faecium* weniger Virulenzfaktoren bekannt und/oder überprüft. Dies liegt an der schwerer nachzuweisenden Virulenz dieser Spezies und auch an einer geringeren genetischen Manipulierbarkeit als bei *E. faecalis*.

Generell ist bei Enterokokken die Virulenz von Stamm-spezifischen Virulenzfaktor-Kombinationen abhängig, die entweder zum Pan- oder zum Kern-Genom gehören können.

Adhäsine

Lipoprotein eines ABC-Transportsystems (EfaA aus *E. faecalis* und *E. faecium*): Oberflächenprotein, das an der Bindung an Wirts-Matrixproteinen sowie der Wirtszell-Adhärenz beteiligt ist und somit im Tierversuch der Klasse der Virulenzfaktoren zugeordnet werden kann.

Polysaccharid-Kapsel: Vermittelt Protektion gegen Komplementanlagerung, Komplementaktivierung und somit Opsonophagozytose.

Lipoteichonsäuren (LTA): Basierend auf divergenten Genloci und deren Zusammensetzung waren LTA die nunmehr obsolete Basis eines Enterokokken-Klassifizierungssystems. LTA ist wichtig für die Erkennung von *E. faecalis* und *E. faecium* durch das Immunsystem. Anti-LTA Antikörper vermitteln Protektion in Maus-Infektionsmodellen.

Zellwandpolysaccharid (Epa): Die Synthesenzyme sind kodiert durch die Gene *epaA-R* und bilden ein Rhamnoseenthaltendes Polysaccharid. Auch bei *E. faecalis* zu finden. Epa ist ein Virulenzfaktor und Mutanten sind attenuiert. Epa spielt eine Rolle bei der Kolonisierung, Gewebeinvasion (Mutanten sind Biofilm-negativ) und Epithelzellbarriere-Translokation.

Metabolische Eigenschaften

E. faecium kann ein extrazelluläres Superoxid produzieren. Dieses Superoxid induziert Ausstoß von DNA schädigenden Substanzen aus Makrophagen, die wiederum zu Chromosom-Instabilität und Zellzyklus-Arrest in benachbarten Epithel- und Endothelzellschichten führen kann.

Bisher sind in Tiermodellen nur 3 Virulenzfaktoren charakterisiert worden: Acm, Esp und die Ebp Pilus Proteine. Wegen der zunehmenden klinischen bzw. epidemiologischen Bedeutung steht die Erforschung von *E. faecium* Virulenzfaktoren aktuell im Fokus.

Ausprägung der Pathogenität

Kann nur in Infektionsmodellen wirklich studiert bzw. bestimmt werden. Klassische Experimente mit intra-peritonealer oder auch intra-venöser Applikation in Mäusen und Kaninchen haben zur Identifikation der Enterokokken geführt (McCullum und Hastings, 1899). Generell haben verschiedene *E. faecium*-Stämme eine unterschiedliche Infektiosität, die aber auch stark von der ebenfalls variablen Empfindlichkeit der Wirte abhängig ist.

Pathogenitätsmodelle/Infektionsmodelle

Invertebraten

Caenorhabditis elegans: Ingestion von *E. faecium* nach aerober Bebrütung der Bakterien führt nicht zu Kolonisation, Bakterienwachstum, Persistenz und Sterben der Wirts-Invertebraten. Anaerob bebrütete *E. faecium*-Bakterien haben eine LT_{50} von 4 bis 6 Stunden, was an der Produktion von Hydrogenperoxid liegt. Das *C. elegans*-Modell eignet sich als Antiinfektiva Screeningmodell (low molecular weight compounds), da die Minimalen Hemmkonzentrationen (MICs) solcher Substanzen *in vivo* 10- bis 100fach niedriger sind als *in vitro*.

Insekten

Galleria mellonella: Infektionsdosis von $\geq 10^8$ cfu/Larve ist letal, 10^6 cfu reichen für ein Kolonisierungsmodell. Generell ist *E. faecium* verglichen mit *E. faecalis* in diesem Modell weniger infektiös und pathogen.

Vertebraten

Besser geeignete Modelle, da angeborene und adaptive Immunantworten vorhanden sind und auch Organspezifische Infektionen nachgestellt werden können. Trotzdem sind für Enterokokken hier hohe Infektionsdosen notwendig, da diese Bakterien in Vertebraten natürlicherweise als Kommensalen agieren. Es gibt einige Modelle mit neutropenischen Tieren. Ferner werden Infektionen in Körperkompartimenten mit eingeschränkter Immunabwehr erzeugt (z.B. Endophthalmitis).

Endokarditismodelle: Für Enterokokken sehr gut untersucht. Wie im Menschen bilden sowohl *E. faecalis* als auch *E. faecium* massive Biofilme (Vegetationen) auf den Herzklappen. Tiere: Sprague Dawley Ratten und Kaninchen: Katheter-induzierte Klappenschädigung wird gesetzt, entweder mit verbleibendem oder entferntem Katheter. Infektionsdosis bei Ratten: 10^7 bis 10^8 cfu, Applikation in den Katheter oder die Schwanzvene. Im Kaninchen 10^7 cfu wenn der Katheter verbleibt, 10^9 cfu wenn der Katheter entfernt wird.

Harnwegsinfektionsmodelle: Enterokokken verursachen auch im Menschen Harnwegskatheter-assoziierte Infektionen. Im Mausmodell wird eine Infektionsdosis von 10^6 bis 10^8 cfu/Katheter/Maus eingesetzt. Monitoring der Tiere erfolgt über 1 bis 14 Tage. Zu

verschiedenen Zeitpunkten erfolgen Organentnahmen und Bestimmung der cfu aus Urin, Blase und Nieren (Bakterienkultur und Histologie). *E. faecium* Virulenzfaktoren in diesem Modell: Pili.

Endophthalmitis: Meist an Kaninchen durchgeführt. Infektionsmonitoring erfolgt über Elektretinographie oder mittels chirurgischer Mikroskope unter Quantifizierung des Einstroms von Neutrophilen.

Peritonitis/Letalitätsexperimente: Meist erfolgt eine intraperitoneale Injektion der Keime in Mäuse oder auch Ratten mit einem anschließenden Monitoring der Morbiditätsparameter. Die LD₅₀ (ohne Zugabe von Immun-stimulatorischen Adjuvantien) liegt bei 10⁷ bis 10¹¹ cfu/ml. Für *E. faecium* werden solche Modelle maßgeblich zum Studium der Immunaktivierung eingesetzt, d.h. bis zu 10⁸cfu werden gesunden Mäusen i. p. appliziert und im Anschluss erfolgt ein graduelles Clearing der Bakterien innerhalb von 48 Stunden (mit Aktivierung von Neutrophilen nach 6 Stunden und Aktivierung von Makrophagen nach 24 bis 48 Stunden). TLR2 und auch MyD88 defiziente Mausstämmen erlauben eine weitere Charakterisierung der Immunstimulationswege.

Infektionsdosis

Ist für Infektionen im Menschen nicht bekannt. Enterokokken sind kommensale Keime und stellen einen Anteil von bis zu 10⁷ cfu/g Stuhl. Für den gesunden Menschen mit intakter Haut und Schleimhaut liegt die Infektionsdosis offenkundig über diesem Wert.

Allergenität

Keine wissenschaftlichen Daten vorhanden. Aufgrund der ubiquitären Präsenz der Bakterien ist ein generelles allergenes Potenzial sehr unwahrscheinlich.

Toxigenität

Keine für den Menschen relevanten Toxine bekannt. Da inzwischen zahlreiche Enterokokkengenome komplett sequenziert wurden und zudem sowohl Virulenzfaktoren charakterisiert als auch Wirkungen der Bakterien in zahlreichen Tierversuchen getestet wurden, ist die Existenz eines bisher unbekanntes Toxins sehr unwahrscheinlich.

Krankheiten (Agudelo Higuera & Huycke, 2014; Mutters et al., 2013)

Enterokokken werden mit einer Reihe von Krankheiten assoziiert, Dabei wird der Spezies *E. faecium* eine geringere Pathogenität als *E. faecalis* und damit eine geringere Prävalenz bei den entsprechenden Erkrankungen zugeschrieben. Diese Bedeutung und damit die Prävalenz scheint sich für *E. faecium* in Deutschland derzeit zu Ungunsten von *E. faecalis* zu wandeln. Für die meisten der Infektionen gilt, dass die betroffenen Patienten meist mehrere Wirtsabwehr-beeinträchtigende Risikofaktoren (Chemotherapien, chirurgische Eingriffe, Diabetes mellitus, Herzerkrankungen, hämatologische und onkologische Erkrankungen, Transplantationen) aufweisen. Des Weiteren werden die Enterokokken aus den erkrankten anatomischen Kompartimenten in aller Regel nur zusammen mit weiteren Bakterienarten isoliert. Zudem sind für die meisten der Erkrankungen trotz der extrem einfachen Kultivierbarkeit der Enterokokken die Koch-Henle'schen Postulate für pathogene Bakterien nicht erfüllt. Weiterhin heilen Mischinfektionen unter Einschluss von Enterokokken i.d.R. auch ab, wenn Enterokokken-unwirksame Antibiotika verabreicht werden. Daher ist die alleinige kausale Bedeutung von Enterokokken für die meisten mit diesen Keimen assoziierten Erkrankungen fraglich.

Als unzweifelhaft gilt, dass Enterokokken als alleinige Erreger Harnwegsinfektionen und Endokarditiden bewirken können. Allerdings gilt für erstere, dass diese Katheter-assoziiert sind, sprich ein Fremdkörper wichtige Teile der natürlichen, unspezifischen Wirtsabwehr lahm legen muss. Für letztere gilt, dass eine Vorschädigung der Herzklappen z.B. durch eine

vorangegangene Entzündung vorliegen muss. Ungefähr 10-15% aller nosokomialen Harnwegsinfektionen und 5% aller Endokarditiden sind Enterokokken-bedingt.

Bei den folgenden Infektionen werden Enterokokken i.d.R. mit anderen Bakterien isoliert: Prostatitis, Epididymitis als Harnwegsinfektionen im direkten oder indirekten Zusammenhang zur Katherisierung, infizierte Ulzera und andere Weichgewebeeinfektionen, intra-abdominelle Infektionen im Zusammenhang mit einer Divertikulitis und anderen zu Darmleckagen führenden Erkrankungen sowie bauchchirurgischen Eingriffen, Osteomyelitis/Arthritis im Zusammenhang mit Endoprothesen sowie Meningitis nach Verletzungen bzw. in Assoziation mit Drainagen. Die Antibiotikaresistenz des ggf. ätiologisch relevanten Isolates hat auf die Stärke der Infektion keinen Einfluss, wohl aber auf den Verlauf, sofern zunächst mit wegen der Resistenz des Isolats unwirksamen Antibiotika therapiert wird.

Auch wenn immer wieder behauptet wird, sind Enterokokken bisher niemals wissenschaftlich stichhaltig als Erreger einer tiefen Atemwegsinfektion identifiziert worden. Der Enterokokkennachweis aus entsprechenden klinischen Materialien ist daher immer als Nachweis einer Standortflora oder als Kontamination anzusehen.

Inkubationszeit

Variiert stark, maßgeblich beeinflusst durch die Schwächung der Wirtsabwehr.

Symptome

Ergeben sich aus der jeweiligen Erkrankung.

Schwere, Verlauf, Prognose

Auch die Schwere der Infektionen wird maßgeblich durch die Schwäche der Wirtsabwehr bestimmt. Typischerweise ist der Beginn der Erkrankung weniger akut als bei entsprechenden Infektionen durch „obligat pathogene“ Bakterienarten, der Verlauf entsprechend häufig subakut bis chronisch. Aufgrund der Biofilmbildung gerade im Zusammenhang mit Fremdkörpern tritt eine Heilung erst ein, wenn der Fremdkörper und der Biofilm entfernt wurden.

Komplikationen/Folgeerkrankungen

Ergeben sich aus der jeweiligen Erkrankung.

Pathologie

Maßgeblich bestimmt durch die Wirtsabwehr. Histologisch eine typische eitrige Infektion mit Einwanderung von neutrophilen Granulozyten und Monozyten in das betroffene Gewebe.

Diagnose

Orientierendes mikroskopisches Präparat von Materialien aus typischerweise sterilen anatomischen Kompartimenten. Kultur auf Columbia-Blutagar mit anschließender biochemischer oder massenspektrometrischer Speziesdifferenzierung. Sofern die Indikation für eine Speziesdifferenzierung besteht, wird auch eine Antibiotikaresistenztestung vorgenommen. Das Panel zu testender Antibiotika ist i.d.R. durch den Hersteller entsprechender kommerzieller Tests vorgegeben. Die Möglichkeit zu einem gezielten molekularbiologischen Nachweis besteht, wird aber in der Routinediagnostik nicht angewandt.

Therapie

Unkomplizierte Infektionen mit *E. faecium*-Stämmen: *E. faecium* ist in aller Regel resistent gegen alle β -Laktame inklusive der Carbapeneme, alle Chinolone, alle Aminoglykoside sowie gegen Cotrimoxazol. Als Alternativen bieten sich Fosfomycin und Nitrofurantoin für Harnwegstherapien an. Weitere klassische Antibiotika wie z.B. Tetracycline kommen nur nach einer Resistenztestung in Frage.

Endokarditis und andere komplizierte Infektionen: typischerweise gegen die meisten *E. faecium* Stämme wirksam sind die Glykopeptide Vancomycin und Teicoplanin, Daptomycin, Linezolid, Tigecyclin und die Kombination aus Quinupristin und Dalfopristin. Nicht alle dieser

Substanzen sind für die Therapie aller komplizierten *E. faecium*-Infektionen zugelassen bzw. es bestehen bzgl. des Nebenwirkungsspektrums und/oder der Pharmakodynamik besondere Limitationen. In allen Fällen gilt, dass zwingend ein Resistogramm erstellt werden muss und die Therapie nach diesem erfolgt. Die Therapie dieser Infektionen ist eine Angelegenheit von infektiologischen Spezialisten.

Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE) Infektionen: VRE-Stämme sind mit großer Mehrheit *E. faecium*-Stämme. Die Optionen für die Therapie sind durch den Wegfall der Glykopeptide noch stärker limitiert als für die Therapie komplizierter Infektionen mit Vancomycin-empfindlichen Stämmen. Ansonsten gilt das oben Gesagte.

Prophylaxe (Prävention)

Eine Dispositionsprophylaxe im Sinne einer Impfung ist nicht verfügbar. Angesichts der Funktion von *E. faecium* als Teil der physiologischen Flora des Menschen ist es mehr fraglich, ob ein Vakzin entwickelt werden könnte und dies erstrebenswert wäre.

Deswegen ist die Expositionsprophylaxe die aktuell einzige Möglichkeit zur Prävention. Wichtigste Bestandteil sind die etablierten und bestens bekannten Standardhygienemaßnahmen, allen voran die Händehygiene unter den „5 moments“ Kautelen der WHO. Alle Desinfektionsmittel mit dem Wirkungsbereich A sind hinreichend gut wirksam. Die jeweilige Einwirkzeit ist den Angaben des Herstellers zu entnehmen. Typisch für die Händedesinfektion sind 30 Sekunden und für die Flächendesinfektion je nach Konzentration des Desinfektionsmittels (15 Minuten bis -) 1 Stunde (bis 4 Stunden).

Flankiert werden diese Maßnahmen durch Tragen der persönlichen Schutzausrüstung in Momenten eines möglichen bzw. wahrscheinlichen Kontaktes. Da Enterokokken nach bisherigem Kenntnisstand nicht aerogen übertragen werden, reicht das Tragen von Handschuhen und eines Kittels bzw. einer Schürze, sofern die Händehygiene auch auf die Unterarme ausgedehnt wird.

Sofern Patienten VRE-Träger sind, kann je nach Umfeld deren Isolierung indiziert sein. Die Isolierung inkludiert eine konsequente Flächenhygiene während und zum Ende des Aufenthalts der Patienten.

Ein VRE-Screening, sprich die gezielte Suche nach potenziellen asymptomatischen VRE-Trägern, typischerweise aus Analabstrichmaterial, kann derzeit nur auf einer experimentellen Basis durchgeführt werden, da dafür weder die Methoden der Präanalytik noch der Analytik hinreichend validiert wurden. Um die Zahl an VRE-Trägern und -Patienten möglichst gering zu halten, werden Methoden der kontinuierlichen hygienisch-infektiologischen Überwachung (Surveillance) und der Kontrolle von Antibiotikatherapien (antibiotic stewardship) angewandt.

Epidemiologie

Molekulare Epidemiologie und Populationsstruktur (Prieto et al., 2016)

VREF (Vancomycin-resistente *E. faecium*) zeigen eindeutig eine klonale Verbreitung mit drei Hauptgruppen, die mit Krankenhäusern, Nutztieren bzw. gesunden Menschen assoziiert sind. Zu deren Differenzierung wird die PFGE (Pulse-Field-Gelelektrophorese) nicht mehr eingesetzt, da diese Methode nicht hinreichend diskriminatorische Empfindlichkeit besitzt und zudem für *E. faecium* Probleme mit der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zeigt. AFLP (Amplified Fragment-Length Polymorphism) ist eine vergleichsweise bessere Methode, die in epidemiologischen Studien eine eindeutige Clusterbildung (Krankenhaus, Gesunde, Farmtiere) erlaubt. Die Methode hat aber Schwächen/Limitationen bei globalen Vergleichen (Willems et al., 2000). MLST (Multi-Locus-Sequence-Typing) basiert bei *E. faecium* auf der Sequenzanalyse von 7 Housekeeping Genen und zeigte eindeutig, dass Krankenhausisolate

in eine distinkte Gruppe einzuordnen sind. Sie bilden den CC17 (clonal complex17), der eine weltweite Verbreitung aufweist (Prieto et al., 2016). Der Nachteil von MLST speziell bei *E. faecium*: Varianten in der VREF Population entstehen eher durch Rekombination und weniger durch (Punkt-) Mutationen (SNPs), was die Zuweisung der Sequenztypen zu den CC problematisch macht. Weitere Evidenz für die dreigeteilte Populationsstruktur bei *E. faecium* lieferte die Anwendung von BAPS (Bayesian analysis of population structure) auf die bestehenden MLST Datensätze: Eine Zuordnung von 519 STs in nur 13 nicht-überlappende Gruppen war möglich (Willems et al., 2012). Weiterhin zeigte sich: Nosokomiale *E. faecium*-Isolate stammen nicht von einem einzigen Vorfahrklon ab, sondern entstanden durch kumulative Aufnahme adaptiver genetischer Elemente aus verschiedensten genetischen Hintergründen. Ebenfalls konnte durch BAPS belegt werden, dass die Variabilität bei den Krankenhausisolaten deutlich abnimmt, d.h. nach der Adaptation an die Krankenhausumgebung sind die Keime ökologisch isoliert und rekombinieren nicht mehr mit Isolaten anderer ökologischer Nischen (Willems et al., 2012). Der zeitgemäße Stand der Technik für die molekulare Epidemiologie ist das WGS (whole genome sequencing). Es zeichnet sich durch eine sehr hohe diskriminatorische Kraft aus (Pinholt et al., 2015). Weiterhin zeigte sich bei einer Ausbruchssituation in Australien dass ein Großteil der Isolate die *vanB* Resistenz innerhalb der Ausbruchsperiode akquirierte (horizontaler Gentransfer) und somit eine klonale Verbreitung eine untergeordnete Rolle spielt (Howden et al., 2013). Speziell die Tn1549-*vanB* Resistenz verbreitet sich durch Austausch großer chromosomaler Fragmente und nicht durch individuelle Transposition. Weitere WGS Studien erlaubten die Definition von zwei Spezies-spezifischen Subgruppen: Clade A-Stämme sind Krankenhaus-assoziiert, Clade B-Stämme sind von gesunden, nicht hospitalisierten Menschen. Zwischen diesen Gruppen herrscht hoher Grad an Diversität, daher erfolgte die Aufspaltung wahrscheinlich schon in der Prä-Antibiotikaära. Die Clade A hat zwei Aufspaltungen, die vor 70-100 Jahren erfolgten. Der Subtyp Clade A1 umfasst klinische Isolate, die eine absolute Nischen-Spezialisierung haben und die mit dem Verlust der Fitness in anderen ökologischen Umgebungen einhergeht (LeClerq et al., 2013). Der Subtyp Clade A2 enthält maßgeblich Tier-assoziierte Isolate (Le Breton et al., 2013). Ganz neu ist die cgMLST (core genome MLST), die auf dem Vergleich von 1423 Genen beruht (de Been et al., 2015).

Durch paarweise Genomvergleiche der Isolate aus den Claden A und B zeigten sich ANI (Average nucleotide identity) Werte von 93,9 bis 95,6%. Solche ANI Werte korrelieren mit etwa 70% DNA-DNA-Hybridisierungswerten, was per Definition Spezies voneinander separiert. Nach diesem Kriterium wären also Clade A und B Isolate eigenen Spezies zuzuordnen (Palmer et al., 2014).

Eine Stammzuordnung von Enterokokken basierend auf den 16S rRNA Sequenzdaten ist unmöglich, da Isolate zu 99,9% identisch sind. Es werden folgende Methoden zur Klassifizierung von Stämmen herangezogen:

- RAPD (randomly amplified polymorphic DNA) (Descheemaeker et al., 1997),
- Sequenzierung der Domäne V der 23SrRNA (Poyart et al., 2000),
- Amplifikation der rRNA oder tRNA intergenischen Spacer (Naimi et al., 1999),
- Sequenzierung der D-Ala:D-Ala Ligase (*ddl*) (Ozawa et al., 2000),
- Sequenzierung der Superoxid-Dismutase (*sodA*) (Poyart et al., 2000),
- Sequenzierung und Hybridisierung des Chaperonin 60 (*cpn60*) (Goh et al., 2000),
- Sequenzierung der Gene kodierend für die RNA-Polymerase α Untereinheit (*rpoA*), die Phenylalanyl-tRNA Synthase (*pheS*) und den Elongationsfaktor Tu (*tufA*) (Lebreton et al., 2014).

In Deutschland sind über 99% der Vancomycin-resistenten Enterokokken *E. faecium* (Mutters et al., 2013). Dabei beinhaltet der Begriff VRE (Vancomycin-resistente Enterokokken) gleichermaßen *E. faecium*- und *E. faecalis*-Stämme. Es gibt große regionale Unterschiede in der VRE-Prävalenz in Deutschland. Die Inzidenzdichte (Anzahl Fälle/1000 Patiententage) lag 2009/2010 bei 0,15-0,19. Zu den Risikopatienten einer VRE-Infektion zählen unter anderem neutropene (Odds Ratio [OR]: 12,46; 95%-Konfidenzintervall [95%-KI]: 1,53–101,21; $p = 0,018$) und darunter besonders hämato-onkologische Patienten (OR:7,96; 95%-KI: 1,61–39,37; $p = 0,011$) (Mutters et al., 2013). Daten aus den beiden Modulen ITS-KISS und OP-KISS des Krankenhaus-Infektions-Surveillance-Systems (KISS) belegen für den Anteil VRE/Enterokokken im Zeitraum 2013/2014 keine Zunahme zum bereits hohen Niveau im Vergleichszeitraum 2011/2012. Nur in den norddeutschen Bundesländern gab es einen Anstieg. Es besteht ein VRE-Gürtel der quer durch Deutschland geht (Nordrhein-Westfalen bis Sachsen (RKI, Epidemiologisches Bulletin, 6. Juni 2016/Nr. 22).

Übertragungswege/Eintrittspforte

Für Krankenhaus-assoziierte Infektionen: Unbelebte Zwischenablagen sind sämtliche Oberflächen. Die Übertragung geschieht direkt über Handkontakte von Person zu Person (Patient oder Personal) oder indirekt über Handkontakte zu Zwischenablagen bzw. mittels kontaminierter Medizinprodukte. Auch Übertragungsketten sind dokumentiert. In der Regel werden Keime zunächst ins (Darm-)Mikrobiom des Empfängers integriert. Von dort aus erzeugen sie ggf. endogene Infektionen. Primär exogene Infektionen sind vergleichsweise sehr selten.

Erregerreservoir

Siehe hierzu auch „Natürliche Standorte“. Enterokokken kommen ubiquitär in der belebten und unbelebten Umgebung des Menschen vor. Dabei ist es im Einzelfall häufig nicht möglich, zwischen einer echten Besiedlung oder dem Keimeintrag durch Kontamination zu unterscheiden. Enterokokken gehören zur Normalflora des Dün- und Dickdarmes sowie des Genitaltraktes von Menschen und allen daraufhin untersuchten Wirbeltieren, sowie von wirbellosen Tieren (Würmer) bis hin zu den Insekten (Fliegen, Käfer, Termiten). Sie werden daher natürlicherweise mit dem Stuhl ausgeschieden. Dabei liegt *E. faecalis* in einer höheren Dichte als *E. faecium* vor. Die Dichte der Enterokokken im Stuhl erreicht bis zu 10^7 cfu/g Stuhl (LeBreton et al., 2014). Enterokokken finden sich auch auf wild lebenden und kommerziell genutzten terrestrischen und aquatischen Pflanzen sowie im Süß- und Salzwasser. Enterokokken werden zur Verarbeitung/Veredlung von Milch- und Fleischprodukten (proteolytische und esterolytische Kapazitäten der Bakterien bewirken eine Freisetzung von VOCs (volatilen organischen Komponenten, z.B. Diacetyl)) und damit eine Lebensmittelreifung/ Aromaverstärkung.

Zooanthropose

Für *E. faecium* als ein mögliches Zoonosepathogen liegen keine fundierten wissenschaftlichen Daten vor.

Inzidenz/Prävalenz

Bei entsprechender Disposition besteht ein erhöhtes Infektionsrisiko, wie zum Beispiel bei Patienten mit vorgeschädigten Herzklappen (OR: 1,3; 95%-KI: 0,8–20; $p = 0,02$) sowie bei lebertransplantierten (OR: 7,2; 95%-KI: 1,5–33,3; $p = 0,01$) oder hämodialysepflichtigen Patienten (OR: 11,7; 95%-KI: 1,1–122; $p = 0,02$) (Mutters et al., 2013).

Mortalität/Letalität

Bakteriämie: Mortalitätsrate von 26% bis 46%. *E. faecium* Bakteriämie hat ein höheres Mortalitätsrisiko als *E. faecalis*-Bakteriämie. Das Risiko infolge einer VRE-Bakteriämie zu

sterben ist signifikant höher als bei einer Bakteriämie durch Vancomycin-sensible Enterokokken (VSE) (summary OR:2,52; 95%-KI: 1,9–3,4) (Mutters et al., 2013). Diese Unterschiede zwischen Spezies und empfindlicheren und resistenteren Isolaten erklärt sich primär dadurch, dass Patienten ohne mikrobiologischen Befund zunächst kalkuliert mit Antibiotika therapiert werden und solche Therapien bei resistenteren Spezies/Isolaten nicht greifen.

Endokarditis: Mortalitätsrate zwischen 9% und 15%. Im Vergleich zu anderen ursächlichen Keimen aber geringere Mortalität.

Lebertransplantierte Patienten: Bei den lebertransplantierten Patienten bedeutet eine VRE-Kolonisation ein erhöhtes Risiko für eine Infektion (adjustiertes OR: 3,61; 95%-KI:2,01–6,47) und ein erhöhtes Risiko zu sterben (adjustiertes OR: 2,12; 95%-KI: 1,27–3,54) (Mutters et al., 2013).

Infektiosität/Kontagionsindex

Von zahlreichen Bakterien- und Wirtsassozierten Faktoren abhängig, im Detail nicht bekannt.

Widerstandsfähigkeit – Tenazität

Endosporenbildung

Enterokokken sind nicht zur Sporenbildung befähigt, können aber VBNC (viable but non-culturable) Stadien ausbilden. Diese weisen eine Tenazität auf, die der von Sporen nahe kommen kann.

Resistenzen (Trocknungs-, Chemo-, Thermo-, Strahlungsresistenz)

Enterokokken weisen auch im vegetativen Zustand eine hohe Tenazität auf, die sich durch ihre hohe Toleranz gegen Austrocknung, Osmolaritäts- sowie Temperaturschwankungen und gegen UV-Strahlung ausdrückt. Dies bedingt, dass Enterokokken auf unbelebten Zwischenablagen insbesondere im trockenen Zustand bzw. eingebettet in Schleim- oder Blutreste für Monate überlebens- und vermehrungsfähig bleiben (Kramer et al., 2006).

Antibiotikaresistenz (aus Prieto et al., 2014)

E. faecium ist intrinsisch hochgradig Antibiotikaresistent. Seit den 1970/1980er Jahren prominente Resistenz gegen Ampicillin. Seit den 1980igern dazugekommen sind Resistenzen gegen Aminoglykoside, Fluorchinolone, Glykopeptide (speziell Vancomycin). Resistenzen gegen Antibiotika, die bei VRE (Vancomycin-resistenten Enterokokken) bisher zum Einsatz kamen, sind ebenfalls hinzugekommen: Linezolid, Tigecyclin, Daptomycin.

β-Laktam Resistenz: *E. faecium* zeigt hier intrinsisch hohe Level. Die Resistenz basiert auf Mutation im Penicillin-Bindeprotein 5, welches chromosomal kodiert ist und sich über horizontalen Gentransfer ausbreitet. Deutlich seltener ist die Produktion von β-Laktamasen.

Die Resistenz gegen **Aminoglykoside** kann ebenfalls intrinsisch sein oder durch Gentransfer vermittelt (high level acquired) werden. *E. faecium* kodiert intrinsisch zwei chromosomale Gene (6′N-Aminoglycosid-Acetyltransferase (aac) und rRNA-Methyltransferase (efmM)), die Resistenz gegen Tobramycin und Kanamycin vermitteln. Aminoglykosid-modifizierende Enzyme (Phosphotransferase, Acetyltransferase, Nukleotidyltransferasen) zählen zu den „high level acquired“ Resistenzprinzipien.

Vancomycin-Resistenz vermitteln 9 unterschiedliche Gencluster, wobei allen gemeinsam ist, dass die terminalen Aminosäuren der Peptidoglykan-Precursor von D-Ala-D-Ala in D-Ala-D-Laktat umgewandelt werden. Die Gene *vanA* und *vanB* sind die klinisch relevantesten die auf Transposons lokalisiert sind und somit für die schnelle Verbreitung sorgen. Gleiche Umwandlungen werden von den Produkten der Gene *vanD* und *vanM* vermittelt. Die Gene

vanC, *vanE*, *vanG*, *vanL* und *vanN* sorgen für die Umwandlung in D-Ala-D-Ser. Der Ursprung der VanA Resistenz liegt in Bodenorganismen, während die Resistenzen VanB, G und D aus kommensalen Organismen der Darm-Mikrobiota entstammen.

Linezolid (Oxazolidin)-Resistenz ist bei *E. faecium* eher selten (1,1 bis 1,8% aller Isolate) und entsteht durch Mutation einer universell konservierten Stelle der 23S rRNA der 50S ribosomalen Untereinheit. Es kommt zu einer Peptidelongationshemmung durch Hemmung des Peptidyltransferasezentrums (am häufigsten: G2576T Mutation). Weitere Mechanismen sind die Mutation der ribosomalen Proteine L3 und L4 sowie die Methylierung des Adenin an Position 2503. Letztere wird durch die Methyltransferase Cfr vermittelt. Das Gen kodierend für Cfr findet sich auf verschiedene konjugativen und nicht-konjugativen Plasmiden. Ein neuer Oxazolidin Resistenzmechanismus ist die Expression eines ATP-Bindeprotein-Kassettentransporters der die Sensitivität der Isolate gegenüber Oxazolidonen (Linezolid und Tedizolid) sowie Phenicolen (Chloramphenicol, Florfenicol) herabsetzt.

Lipopeptide (z.B. Daptomycin) interagieren mit den Phospholipiden der bakteriellen Zellmembran. An der Resistenz gegen diese Antibiotika Klasse ist das 3-Komponenten-Regulationssystem LiaFSR beteiligt. Mutationen in der Untereinheit LiaF sorgen für die Umverteilung von Cardiolipin-reichen Mikrodomänen mit der Konsequenz der Daptomycin Sensitivitätsherabsetzung. Mutationen der Cardiolipin-Synthetase haben genau die gleichen Effekte. Weltweit sind diese Arten der Resistenz noch selten und liegen für *E. faecium* bei 0,18% aller Isolate. Gleiche Resistenzquoten wurden auch aus deutschen Krankenhäusern berichtet (Lübbert et al., 2015).

Tigecycline (semisynthetische Derivate von Minocyclin) inhibieren natürlicherweise am Ribosom die Assoziation der Aminoacyl-tRNAs. Resistenzen sind noch jung und werden durch Hochregulation der Tetracyclin-Resistenzdeterminanten TetM und TetL, sowie durch Mutationen des ribosomalen Proteins RpsJ vermittelt. Resistenzen sind noch selten (0,3% aller Isolate sowohl bei *E. faecium* als auch *E. faecalis*).

Antibiotika-resistente Enterokokken werden ebenfalls aus nicht humanen Reservoiren isoliert. Aus Tieren überall dort, wo Antibiotika (Avoparcin, Makrolide, Oligosaccharide) als Wachstumsunterstützung zum Einsatz kommen (Geflügelmast, Schweinemast). Speziell VRE werden regelmäßig aus Katzen, Hunden, Pferden, Vögeln, Fröschen, Schweinen, Geflügel und auch Umgebungsproben isoliert (LeBreton et al., 2014). Hochgradig Gentamycin-resistente Isolate (sowohl *E. faecalis* als auch *E. faecium*) fanden sich in Fällen boviner Mastitis und in Schweinen. 30% aller Isolate (sowohl *E. faecalis* als auch *E. faecium*) aus boviner Mastitis sind Kanamycin-resistent. Kanamycin-resistent sind ebenfalls 62% aller Isolate (sowohl *E. faecalis* als auch *E. faecium*) aus Hühnern und 36% aller Isolate (sowohl *E. faecalis* als auch *E. faecium*) aus Schweinen (LeBreton et al., 2014). Die Chloramphenicol-Resistenz ist mittlerweile seltener, da diese Substanz nicht mehr in der Tierhaltung eingesetzt wird.

Aus Lebensmitteln: Antibiotika-resistente Enterokokken finden sich in vielen Fleisch- und Milchprodukten. Einige als Probiotikum genutzte Enterokokken tragen Resistenzgene. Hochgradig Aminoglykosid- und Glycopeptid-resistente Enterokokken finden sich ebenfalls in ungekochten Lebensmitteln (z.B. Salate): 32,6% aller Isolate sind *E. faecium* Stämme (LeBreton et al., 2014).

Umgebungsproben: Abwasser ist ein wichtiges Reservoir für resistente Enterokokken, speziell auch Kläranlagen. Allerdings finden sich auch resistente Enterokokken in Kläranlagen aus Städten ohne Krankenhäuser (LeBreton et al., 2014).

Arbeits- und Gesundheitsschutz für Arbeitsplätze im Gesundheitswesen:

Schutzstufe/Sicherheitsstufe: **Schutzstufe 2** nach BioStoffV.

Spezielle tätigkeitsbezogene Sicherheitsmaßnahmen: Haut- und Schleimhautkontakt sowie Aerosolbildung vermeiden; Verschleppung vermehrungsfähiger Bakterien an medizinisches Instrumentarium oder in Infusionslösungen, Blutkonserven, Atemluftbefeuchter, Spülflüssigkeiten oder Desinfektionsmittellösungen verhindern.

Persönliche Schutzausrüstung (PSA): bei möglicher Aerosolbildung oder Spritzgefahr Atemschutz, Schutzbrille und Schutzhandschuhe.

Berufsbedingte Erkrankungen/gefährdete Personen und Berufsgruppen: bisher nicht bekannt.

Sofortmaßnahmen bei Unfällen/Erste Hilfe: desinfizierende Reinigung kontaminierter Bereiche, Händedesinfektion und Desinfektion kontaminierter anderer Hautoberflächen. Der Wirkungsbereich A für die Desinfektionsmittel reicht aus. Die notwendigen Einwirkzeiten ergeben sich aus den Herstellerangaben, bei Flächendesinfektionsmitteln zudem aus der gewählten Konzentration. Typischerweise sind für die Hautdesinfektion 30 Sekunden, für die Flächendesinfektion 1 Stunde anzusetzen.

Bei Kontaminationen des Auges reichliche, d.h. minutenlange Spülung mit Wasser bzw. mit der Augendusche mit Speziallösung, bei Kontaminationen der Mundschleimhaut ebenfalls ausgiebige Spülung mit Wasser bzw. mit einem Schleimhautdesinfektionsmittel (Chlorhexidin, Octenidin oder Polihexanid)

Arbeitsmedizinische Vorsorge: § 5 und Anhang Teil 2 Abs.2 Nr. 1b ArbMedVV.

Detailliertere Informationen zu Arbeitsbereichen außerhalb des Gesundheitswesens stehen aus.

Literatur

Agudelo Higuera N.I., Huycke, M.M. Enterococcal disease, epidemiology and implications for treatment. In Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, et al., editors. Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection [Internet]. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary; 2014

de Been, M., Pinholt, M., Top, J., Bletz, S., Mellmann, A., van Schaik, W., et al. (2015). A core genome MLST scheme for high-resolution typing of *Enterococcus faecium*. J. Clin. Microbiol. 53, 3788–3797. doi: 10.1128/JCM.01946-15

Descheemaeker P., Lammens C., Pot B., Vandamme P., Goossens H. Evaluation of arbitrarily primed PCR analysis and pulsed-field gel electrophoresis of large genomic DNA fragments for identification of enterococci important in human medicine. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 1997;47(2):555–561. PubMed PMID: 9103648.

Facklam R. R., Carvalho M. G., Teixeira L. M. Enterococcus. In M. S. Gilmore, D. B. Clewell, P. Courvalin, G. M. Dunny, B. E. Murray, & L. B. Rice, (2002). The Enterococci: Pathogenesis, Molecular Biology, and Antibiotic Resistance (pp. 1-54). Washington, DC: ASM Press.

Garsin D. A., Frank K. L., Silanpää J., Ausubel F. M., Hartke A., Shankar N., Murray B. E.. Pathogenesis and models of enterococcal infection. In Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, et al., editors. *Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection* [Internet]. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary; 2014

Goh S. H., Facklam R. R., Chang M., Hill J. E., Tyrrell G. J., Burns E. C., et al. Identification of *Enterococcus* species and phenotypically similar *Lactococcus* and *Vagococcus* species by reverse checkerboard hybridization to chaperonin 60 gene sequences. *Journal of Clinical Microbiology*. 2000;38(11):3953–3959. PubMed PMID: 11060051.

Grohmann E., Goessweiner-Mohr N., Brantl S. DNA-binding proteins regulating pIP501 transfer and replication. (2016) *Front Mol Biosci*. 11 (3): 42. doi: 10.3389/fmolb.2016.00042

Howden, B.P., Holt,K.E., Lam,M.M.C., Seemann,T., Ballard,S., Coombs, G. W.,et al.(2013).Genomic insights to control the emergence of vancomycin- resistant enterococci. *mBio* 4, e412–e413.doi:10.1128/mBio.00412-13

Kramer A, Schwebke I, Kampf G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. *BMC Infect Dis*. 2006 Aug 16;6:130

LeBreton F., Willems J.L., Gilmore M.S. (2014) *Enterococcus* Diversity, Origins in Nature, and Gut Colonization. In Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, et al., editors. *Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection* [Internet]. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary; 2014

Leclercq,R.,Oberlé,K.,Galopin,S.,Cattoir,V.,Budzinski,H.,andPetit,F. (2013). Changes in enterococcal populations and related antibiotic resistance along a medical center-waste water treatment plant-river continuum. *Appl. Environ. Microbiol*. 79, 2428–2434.doi:10.1128/AEM. 03586-12

Ludwig, W., Schleifer, K., & Whitman, W. B. (2009). Family IV. Enterococcaceae fam. nov. In P. Vos, G. Garrity, D. Jones, N. R. Krieg, W. Ludwig, F. A. Rainey, et al., *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd edn, vol. 3 (The Firmicutes) (p. 594). New York: Springer.

Lübbert, C.,Rodloff,A.C.,Hamed,K. Real-world treatment of Enterococcal infections with daptomycin:insights from a large european registry(EU-CORE). (2015). *Infect.Dis.Ther*. 4, 259–271.doi:10.1007/s40121-015- 0072-z

Naimi A., Beck G., Monique M., Lefèbvre G., Branlanti C. Determination of the nucleotide sequence of the 23S ribosomal RNA and flanking spacers of an *Enterococcus faecium* strain, reveals insertion- deletion events in the ribosomal spacer 1 of enterococci. *Systematic and Applied Microbiology*. 1999;22(1):9–21. PubMed PMID: 10188274.

Mutters N.T., Mersch-Sundermann V., Mutters R., Brandt C., Schneider-Brachert W., Frank U. Control of the spread of vancomycin-resistant enterococci in hospitals. *Deutsches Ärzteblatt International*. 2013 110 (43): 725-731

Orla-Jensen S. The lactic acid bacteria. *Memoirs of the Academy of the Royal Society of Denmark. Section of Sciences Series*. 1919;85:81–197.

Ozawa Y., Courvalin P., Gaiimand M. Identification of enterococci at the species level by sequencing of the genes for D-alanine:D-alanine ligases. *Systematic and Applied Microbiology*. 2000;23(2):230–237. PubMed PMID: 10930075.

Palmer K.L., van Schaik W., Willems R.J.L., Gilmore M.S. (2014) *Enterococcal Genomics*. In Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, et al., editors. *Enterococci: From Commensals to Leading*

Causes of Drug Resistant Infection [Internet]. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary; 2014

Parte A.C. (2014) LPSN--list of prokaryotic names with standing in nomenclature. *Nucleic Acid Res.* 42, D613-D616. DOI:10.1093/nar/gkt1111, PMID:24243842

Paulsen I.T., Banerjee L., Myers G.S., Nelson K.E., Seshadri R. Read T.D. et al. Role of mobile DNA in the evolution of vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis*. *Science* 2003 299(5615): 2071-2074.

Pinholt M., Lerner-Svensson H, Littauer P, Moser C.E., Pedersen M., Lemming L.E., Ejlersen T., Søndergaard T.S., Holzkecht B.J., Justesen U.S., Dzajic E., Olsen S.S., Nielsen J.B., Worning P., Hammerum A.M., Westh H., Jakobsen L. Multiple hospital outbreaks of vanA *Enterococcus faecium* in Denmark, 2012-13, investigated by WGS, MLST and PFGE. *J Antimicrob Chemother.* 2015 Sep;70(9):2474-82. PMID:26031466 DOI:10.1093/jac/dkv142

Poyart C., Quesnes G., Trieu-Cuot P. Sequencing the gene encoding manganese-dependent superoxide dismutase for rapid species identification of enterococci. *Journal of Clinical Microbiology.* 2000;38(1):415–418. PubMed PMID: 10618129.

Prieto A.M.G., van Schaik W., Rogers M.R.C., Coque T.M., Baquero F. Corander J., Willems R.J.L. Global emergence and dissemination of enterococci as nosocomial pathogens: Attack of the clones. *Frontiers in Microbiology.* 2016; 7:article 788. PMID:27303380

Ramsey M., Hartke A., Huycke M. (2014) The physiology and metabolism of enterococci. In Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y, et al., editors. *Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection* [Internet]. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary; 2014

Teixeira L.M., da Gloria Siqueira Carvalho M., Shewmaker P.L., Facklam R.R. (2011) *Enterococcus*. In Versalovic et al., editors. 10th Edition of *Manual of Clinical Microbiology*. ASM Press Washington, DC, USA

Willems R. J., Top J., van den Braak N., van Belkum A., Endtz H., Mevius D., et al. Host specificity of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *The Journal of Infectious Diseases.* 2000;182:816–823. PubMed PMID: 10950776.

Willems, R.J.L., Top, J., van Schaik, W., Leavis, H., Bonten, M., Sirén, J., et al. (2012). Restricted gene flow among hospital subpopulations of *Enterococcus faecium*. *mBio* 3:e151. doi:10.1128/mBio.00151-12