



# Epidemiologisches Bulletin

16. November 2017 / Nr. 46

AKTUELLE DATEN UND INFORMATIONEN ZU INFEKTIONSKRANKHEITEN UND PUBLIC HEALTH

## Eigenschaften, Häufigkeit und Verbreitung von Vancomycin-resistenten Enterokokken (VRE) in Deutschland

Update 2015/2016

### Einleitung

Vancomycin-resistente-Enterokokken (VRE) gehören zu den in Deutschland gemäß § 23 Abs. 4 zu erfassenden Bakterien und werden in vielen Kliniken in Deutschland mittlerweile häufig beobachtet. Dies kann zunächst als Zeichen erhöhter Wachsamkeit (*awareness*) und eine Herausforderung für das Hygienemanagement gedeutet werden. Weniger klar ist Umfang und Art des klinischen Problems, das sich hinter dieser Beobachtung verbirgt. Der vermehrte Nachweis von VRE in den Einrichtungen ist auch am Nationalen Referenzzentrum (NRZ) für Staphylokokken und Enterokokken zu bemerken, wie z. B. an (i) beständig steigenden VRE-Einsendezahlen und (ii) einem hohen Bedarf an Typisierungen (ca. 60 % der Einsendungen an das NRZ); letzteres ist nahezu gleichbedeutend mit einem Verdacht auf Transmissionen/Cluster von Infektionen und Besiedlungen in betroffenen Einrichtungen (gehäuftes Auftreten/„Ausbrüche“). In den Einsendungen an das NRZ beobachten wir zudem einen Anstieg an Isolaten mit Resistenzen gegen Reserveantibiotika wie Linezolid, Tigecyclin und/oder Daptomycin, z. T. auch aus lokalen Häufungen.

### VRE-Resistenzraten

Für die Diagnostik von VRE stehen in Deutschland standardisierte Verfahren zur Verfügung. Die so gewonnenen Daten fließen zu einem relevanten Anteil in die **Antibiotika-Resistenz-Surveillance (ARS)** am Robert Koch-Institut (RKI) ein (<https://ars.rki.de>).

In einer Analyse dieser Daten für diesen Bericht, liegt der Anteil Vancomycin-resistenter *Enterococcus (E.)-faecium*-Isolate aus Krankenhäusern bei 12,9 % (95 % Konfidenzintervall [KI]: 11,6–14,4 %). Hierbei muss beachtet werden, dass *Enterococcus*-spp.-Isolate (spp.; Spezies) in diesem Erfassungssystem oft nur bei Vorliegen klinisch bedeutsamer Erkrankungen ausdifferenziert werden (z. B. bei Sepsisverdacht). Diese selektive Differenzierung könnte zu einer Überschätzung des Anteils der vorhandenen Resistenz vor allem gegen Vancomycin führen. Eine Beschränkung der Analyse auf Labore, die > 95 % aller *Enterococcus*-spp.-Isolate differenzieren, ergibt allerdings ebenfalls einen Vancomycin-Resistenzanteil von 12,5 % (95 % KI: 10,5–14,8 %). Eine Analyse aller Isolate aus Blutkulturen, die generell weiter differenziert werden, zeigt ein vergleichbares Ergebnis (11,9 %, 95 % KI: 9,7–14,6 %). Eine Aufschlüsselung der Blutkulturen nach regionaler Verteilung ergab keine gleichmäßige Verbreitung, sondern zeigte regionale Unterschiede mit höheren Resistenzanteilen im Süden von Deutschland sowie zeitliche und räumliche Häufungen von VRE-Blutstrominfektionen in einzelnen Kliniken.

Da sich die Zahl der in ARS erfassten Krankenhäuser von Jahr zu Jahr ändert, müssen longitudinale Untersuchungen auf Krankenhäuser beschränkt werden, für die innerhalb des Beobachtungszeitraums fortlaufend Daten vorhanden

Diese Woche 46/2017

Eigenschaften, Häufigkeit und Verbreitung von Vancomycin-resistenten Enterokokken (VRE) in Deutschland – Update 2015/2016

Aktuelle Statistik meldepflichtiger Infektionskrankheiten  
43. Woche 2017

Zur aktuellen Situation bei ARE/Influenza in der 45. KW 2017



sind. *Enterococcus-faecium*-Isolate aus 137 Krankenhäusern, für die von 2012–2016 kontinuierlich Daten vorhanden waren, zeigten bei 14,2% (95% KI: 11,9–16,9%) eine Vancomycin-Resistenz. Bei der Betrachtung aller Isolate lässt sich von 2014–2016 ein leicht ansteigender Trend des prozentualen Anteiles erkennen, der jedoch nicht in den beiden in Tabelle 1 dargestellten Subgruppen (Blutkulturen und ausgewählte Labore) auftritt. Dies muss in den nächsten Jahren weiter verfolgt werden. Insgesamt hat allerdings die Zahl der *E.-faecium*-Isolate von 2012–2016 um fast 50% zugenommen, so dass auch ohne Änderung der Resistenzrate für Vancomycin im klinischen Alltag häufiger mit dem Nachweis von VRE zu rechnen ist. Dies entspricht auch der landesweiten Wahrnehmung vieler Fachleute und Daten anderer Erhebungsinstrumente wie SARI (Surveillance der Antibiotikaaanwendung und Resistenzen auf Intensivstationen – SARI: <http://sari.eu-burden.info/rr.php>).

In SARI werden u. a. VRE-Raten auf deutschen Intensivstationen erfasst. Hier zeigt sich für VRE ein kontinuierlicher Anstieg seit einigen Jahren. Gerechnet auf eine andere Bezugsgröße – VRE/1.000 Patiententage – belegen die SARI-Daten für VRE in diesem Zeitraum eine steigende Häufigkeit mit einer signifikant erhöhten Prävalenz von VRE auf Intensivstationen von Kliniken aus der Mitte Deutschlands, insbesondere in den Bundesländern Nordrhein-Westfalen, Hessen, Thüringen und Sachsen.<sup>1</sup>

Die europäische EARS-Net Resistenzsurveillance (EARS-Net = *European Antimicrobial Resistance Surveillance Network*) erfasst u. a. die Vancomycin-Resistenz bei *E.-faecium*-Blutkulturisolaten. Für Deutschland zeigt sich in den zu EARS-Net übermittelten Daten für den Zeitraum 2012–2015 eine Abnahme der Resistenzrate; der Anteil lag zuletzt mit ca. 10% allerdings weiterhin über dem europäischen Durchschnitt (2012: 16,2%; 2013: 14,5%; 2014: 9,1%; 2015: 10,2%). Hierbei ist allerdings zu beachten, dass im Vergleich zu den oben dargestellten Auswertungen nur Daten bis 2015 einfließen und keine Beschränkung auf für den Beobachtungszeitraum kontinuierlich Daten liefernde Einrichtungen erfolgt. Resistenzserhebungen wie jene der Paul Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e. V., PEG ([www.p-e-g.de/econtext/resistenzdaten](http://www.p-e-g.de/econtext/resistenzdaten)) liefern ebenfalls VRE-

Raten, haben allerdings gemäß ihres Dreijahresrhythmus für die Zeit nach 2013 noch keine aktuellen Zahlen aus zurückliegenden Jahren. Im Jahr 2013 waren bei der Vancomycin-Resistenz von *E. faecium* ansteigende Raten (16,6%) verglichen mit den Zahlen aus 2010 (12,6%) zu beobachten.

### Resistenz gegen Reserveantibiotika

Weder Resistenzsurveillance-Systeme noch -Studien in Deutschland (ARS, PEG-Studien, Antibiotika-Resistenz-Monitoring [ARMIN] in Niedersachsen: [www.nlga.niedersachsen.de/infektionsschutz/armin\\_resistenzentwicklung/armin\\_interaktiv/](http://www.nlga.niedersachsen.de/infektionsschutz/armin_resistenzentwicklung/armin_interaktiv/)) nehmen derzeit einen Trend der Resistenzen bei wichtigen Reservesubstanzen wie Linezolid, Tigecyclin und/oder Daptomycin bei VRE oder *E. faecium* wahr. Zu bemerken ist hierbei, dass Daptomycin nicht in der Routine getestet wird, so dass die ARS-Daten hierzu keine Aussage zulassen. Auf diesen Punkt wird weiter unten eingegangen. 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>).

Im NRZ wurden in den Jahren 2015 und 2016 insgesamt 3.137 Enterokokken-Isolate bearbeitet (2015: 1.281; 2016: 1.856), die uns von 123 Einsendern aus Deutschland zur Bearbeitung zugesandt wurden (2016; plus 3 Einsendungen aus dem europäischen Ausland). Dies entspricht einer Verdoppelung der Einsendezahlen zwischen 2014 (n = 970) und 2016 (n = 1.856).

Die häufigsten diagnostischen Anfragen zu den an das NRZ eingesandten Isolaten waren: (i) eine Bestätigung der Glycopeptid-Resistenz bzw. des Glycopeptid-Resistenztyps (*vanA*, *vanB*; ggf. weitere Glycopeptid-Resistenzgene); (ii) eine Bestimmung und/oder Bestätigung von Resistenzen gegen Reserveantibiotika (Linezolid, Tigecyclin, z. T. auch Daptomycin) sowie (ii) eine Anfrage nach klonaler Verwandtschaft mehrerer Isolate. Genotypisierung wird hierbei aufgrund eines Verdachts eines möglichen gehäuferten Auftretens verwandter Isolate von zumeist *E.-faecium*-VRE-Isolaten („Ausbruch“) in einem steigenden Maße in

	gesamt (137 Krankenhäuser)		nur Blutkulturen (114 Krankenhäuser)		Ausgewählte Labore* (18 Krankenhäuser)	
	n (Isolate)	VAN-R (%)	n (Isolate)	VAN-R (%)	n (Isolate)	VAN-R (%)
2012	4.387	15,0% (11,7–19,1%)	401	15,2% (10,6–21,3%)	963	14,3% (7,9–24,5%)
2013	5.400	14,1% (11,1–17,7%)	494	14,4% (9,2–21,8%)	1.075	10,2% (7,2–14,3%)
2014	6.330	12,1% (10,1–14,3%)	500	12,2% (8,2–17,7%)	1.097	15,6% (10,8–22,0%)
2015	6.836	13,2% (10,0–17,3%)	539	14,5% (8,4–23,8%)	1.185	15,1% (7,4–28,4%)
2016	6.430	18,8% (15,3–23,0%)	506	13,4% (8,9–19,9%)	1.158	18,0% (8,6–34,1%)

Tab. 1: Vancomycin-Resistenz bei *E.-faecium*-Isolaten von stationär aufgenommenen Patienten in deutschen Krankenhäusern (Isolate von 2012–2016 durchgehend an ARS teilnehmenden Krankenhäusern)

\* nur Isolate aus Laboren, die > 95% der *Enterococcus*-spp.-Isolate ausdifferenzieren. VAN-R, Vancomycinresistenz

Enterokokken-Einsendungen und durchgeführte Untersuchungen	2015	2016
Anzahl aller bearbeiteten Isolate	1.281	1.856
Anzahl der durchgeführten Untersuchungen		
Phänotypische Identifizierung als Speziesbestätigung	1.280	1.856
Genotypische Identifizierung (PCR) zur Speziesbestätigung	162	1.856
Resistenzbestimmung mittels Mikrobouillon-verdünnungstest	1.281	1.856
Resistenzbestimmung mittels Etest® (Bestätigungstest)	308	173
Multiplex-PCR für <i>vanA</i> , <i>vanB</i> (und zusätzliche <i>van</i> -Gene)	1.305	1.938
PCR für <i>qfr</i>	134	119
Multiplex-PCR für <i>esp</i> , <i>hyl</i> (Virulenzmarker) und IS16	1.281	1.856
Genotypisierung mittels Makrorestriktionsanalyse (PFGE)	527	1.080
Multilocus-Sequenztypisierung	49	110

Tab. 2: Übersicht der Enterokokken-Einsendungen und der durchgeführten Untersuchungen (2015–2016)

Anspruch genommen. Bei wenigen Einsendungen stand die Klärung der genauen Enterokokken-spp. im Vordergrund, die gegebenenfalls bei unklarem, biochemischem Ergebnis mittels rDNS-Sequenzierung ermittelt wurde. Im NRZ werden routinemäßig alle Enterokokken-Isolate bis zur Speziesebene differenziert, bis Ende 2015 erfolgte dies biochemisch, ab 2016 mittels Spezies-spezifischer PCR (s. Tab. 2). Tabelle 2 stellt eine Übersicht zu den 2015 und

2016 im NRZ erhaltenen Enterokokken-Einsendungen und den damit durchgeführten phänotypischen und molekularen Untersuchungen vor.

Die überwiegende Zahl der Stämme sind *E. faecium* (93–95%) gefolgt von *E. faecalis* (4–7%) und je anteilig  $\leq 1\%$  von VanC-Typ-Enterokokken (*E. gallinarum*, *E. casseliflavus*) und Vertretern anderer Spezies (*E. avium/pseudoavium*, *E. hirae*, *E. durans*, *E. gilvus*, u. a.). **Die meisten Einsendungen waren VRE (87%; n = 2.735)**, die in erster Linie der Spezies *E. faecium* (n = 2.674; 98%) zuzuordnen waren.

#### Aufbau und Pflege eines Netzwerkes einsendender diagnostischer Einrichtungen

Das NRZ bekam 2015 und 2016 von 123 klinisch-mikrobiologischen Laboren aus allen Bundesländern Stämme eingesandt. Aus weiteren Laboren aus dem Ausland erhielten wir Referenzstämme bzw. einzelne Isolate zur Bestätigung.

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

In den Jahren 2015 und 2016 wurden 3.137 Enterokokken, darunter 2.735 Einsendungen als VRE eingesandt. Diese VRE-Isolate waren zumeist (> 95%) *E. faecium* und wurden bei Infektionen und Besiedlungen von Patienten vor allem aus den intensivmedizinischen Stationen (besonders der Chirurgie), aus der Inneren Medizin und aus der Hämatologie/Onkologie als den hauptsächlichen Risikobereichen für VRE isoliert (s. Tab. 3).

Klinische Disziplin	2015 (n/%)		2016 (n/%)	
Ambulanter Bereich	27	2,1	54	2,91
Anästhesie	28	2,2	18	0,97
Chirurgie	46	3,6	159	8,57
Dermatologie	1	0,1	1	0,05
Dialyse	3	0,2	2	0,11
Geriatric	39	3,0	47	2,53
Gynäkologie	3	0,2	7	0,38
Hämatologie/Onkologie	64	5,0	143	7,70
Herzchirurgie	30	2,3	15	0,81
HNO	1	0,1	3	0,16
Innere Medizin	163	12,7	219	11,80
ITS, interdisziplinäre	171	13,4	126	6,79
ITS, Chirurgie	191	14,9	232	12,50
ITS, Innere Medizin	112	8,7	224	12,07
ITS, Transplant.-Chirurgie	9	0,7	4	0,22
Neonatologie	32	2,5	7	0,38
Nephrologie/Urologie	39	3,1	63	3,39
Neurochirurgie/Neurologie	55	4,3	77	4,15
Orthopädie	13	1,0	37	1,99
Pädiatrie	5	0,4	8	0,43
Psychiatrie	2	0,2	1	0,05
Rehabilitation	91	7,1	58	3,13
Unfallchirurgie	17	1,3	6	0,32
Andere	139	10,9	345	18,59
<b>Summe</b>	<b>1.281</b>	<b>100,0</b>	<b>1.856</b>	<b>100,00</b>

Tab. 3: Auftreten von 3.137 Einsendungen von Enterokokken (zumeist *E. faecium*/VRE) aus Infektionen und Besiedlungen bei Patienten in Gesundheitseinrichtungen, aufgeschlüsselt alphabetisch nach klinischen Disziplinen

Materialart	2015 (n/%)		2016 (n/%)	
Abstrich (alle)	119	9,3	248	13,4
Biopsie	8	0,6	15	0,8
Blutkultur	86 <sup>a</sup>	6,7	95	5,1
Bronchiallavage (BAL)	9	0,7	9	0,5
Drainage	16	1,2	15	0,8
Hautabstrich	2	0,2	8	0,4
Katheter (Harnweg)	1	0,1	11	0,6
Katheterspitze (ZVK)	17	1,3	17	0,9
Punktat	27	2,1	31	1,7
Rektalabstrich/Stuhl	529	41,3	808	43,5
Sekret (alle)	4	0,3	11	0,6
Trachealsekret	12	0,9	15	0,8
Urin (Katheterurin)	56	4,4	78	4,2
Urin (MSU)	193	15,1	228	12,3
Wundabstrich	118	9,2	138	7,4
andere/unbekannt	84	6,6	129	7,0
<b>Summe</b>	<b>1.281</b>	<b>100,0</b>	<b>1.856</b>	<b>100,0</b>

**Tab. 4:** Klinische Materialien, aus denen Enterokokken (zumeist *E. faecium*/VRE) bei infizierten/besiedelten Krankenhaus-Patienten 2015 und 2016 isoliert wurden

<sup>a</sup> Zehn *E. faecium* aus Blutkulturen 2015 resultierten aus einer Kooperation mit dem St.-Vincent-Krankenhaus, Dublin, Irland.

Als Bestandteil der natürlichen Flora des Darmes stammen die Einsendungen von Enterokokken bzw. VRE vor allem aus Stuhlproben/Rektalabstrichen (42,6%), gefolgt von Isolaten aus Urin (Mittelstrahlurin [MSU], Katheter-Urin) und Abstrichen (ohne nähere Bezeichnung seitens der Einsender). Isolate aus Blutkulturen und Wundabstrichen machten (5,8%) bzw. (8,1%) aus (s. Tab. 4).

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

In den Jahren 2015 und 2016 haben sich innerhalb der Enterokokken-Einsendungen an das NRZ die prozentualen Anteile von *vanA*- bzw. *vanB*-positiven *E. faecium*-Isolaten umgekehrt; 2016 sind erstmals deutlich mehr **VanB-VRE (n = 836, 45%) als VanA-VRE (n = 682, 37%) eingesandt worden** (s. Tab. 5). Dies bedeutet, dass bei gleichzeitig stei-

genden VRE-Zahlen insgesamt in den letzten Jahren der allgemeine Anstieg größtenteils durch ein erhöhtes Auftreten von *vanB*-Typ-VRE begründet ist. **Die Ursache dieses vermehrten Auftretens *vanB*-positiver *E. faecium*-Stämme in deutschen (und anderen europäischen) Kliniken ist noch unklar, und wird am NRZ weiter untersucht. Unter anderen ist erkennbar, dass bestimmte Stammlinien von VanB-VRE hier überproportional erfolgreich verbreitet sind (s. MLST-Typisierung von Blutkulturisolaten).**

Einsendungen anderer VRE, die seltene Spezies oder die sehr seltene, andere *van*-Varianten betreffen, bleiben nach wie vor die Ausnahme. *E. gallinarum*- oder *E. casseliflavus*-Stämme werden uns meist nur eingesandt, wenn sie widersprüchliche diagnostische Resultate liefern, die häufig mit dem zusätzlichen Erwerb übertragbarer Resistenz-

Spezies (Glycopeptid-Resistenztyp)	2015 (n/%)	2016 (n/%)
<i>E. faecium</i> ( <i>vanA</i> )	594 (46,4)	682 (36,8)
<i>E. faecium</i> ( <i>vanB</i> )	511 (39,9)	836 (45,1)
<i>E. faecium</i> ( <i>vanA</i> + <i>vanB</i> )	15 (1,1)	36 (1,9)
<i>E. faecium</i> ( <i>van</i> -neg.)	96 (7,5)	170 (9,2)
<i>E. faecalis</i> ( <i>vanA</i> )	5 (0,4)	7 (0,4)
<i>E. faecalis</i> ( <i>vanB</i> )	20 (1,5)	10 (0,5)
<i>E. faecalis</i> ( <i>van</i> -neg.)	31 (2,4)	101 (5,4)
<i>E. gallinarum</i> ( <i>vanC1</i> )	2 (0,2)	7 (0,4)
<i>E. gallinarum</i> ( <i>vanC1</i> + <i>vanA/vanB</i> ) <sup>a</sup>	1 (0,1)	1 (0,1)
<i>E. casseliflavus</i> ( <i>vanC2</i> )	4 (0,3)	1 (0,1)
<i>E. casseliflavus</i> ( <i>vanC2</i> + <i>vanA/vanB</i> ) <sup>a</sup>	0 (0,0)	1 (0,1)
andere	2 (0,2)	4 (0,2)
<b>Summe</b>	<b>1.281 (100)</b>	<b>1.856 (100)</b>

**Tab. 5:** Spezies-Identifizierung und Glycopeptid-Resistenztypen der Enterokokken-Einsendungen (2015–2016)

<sup>a</sup> Seltene Isolate von *E. gallinarum/casseliflavus*, die neben ihrer natürlichen *vanC1*- bzw. *vanC2*-kodierten *low-level* Vancomycin-Resistenz zusätzlich ein *vanA*- bzw. ein *vanB*-Gencluster erworben haben und dadurch (hoch)resistent gegen Vancomycin und Teicoplanin (bei *vanA*-Erwerb) bzw. nur gegen Vancomycin (bei *vanB*-Erwerb) sind.

gene vom *vanA*- oder *vanB*-Typ assoziiert waren und dann hochresistent gegen Vancomycin (*vanA* und *vanB*) und Teicoplanin (*vanA*) erscheinen (s. Tab. 5, S. 522). Darüber hinaus erhielten wir 2015 ein Isolat mit dem Verdacht auf Linezolid-Resistenz aus einem deutschen Krankenhaus, welches sich im MALDI TOF MS und in der Sequenzierung über die 16S rDNA als *Enterococcus gilvus* erwies. Die Linezolid-Resistenz ließ sich nicht bestätigen. Im Jahr 2016 erhielten wir von zwei unterschiedlichen Einsendern je ein Vancomycin-resistentes Isolat mit nachweisbarer VanD-Resistenz, wobei es sich um je einen *E. faecalis* und einen *Enterococcus avium* handelte.

**Antibiotikaresistenzen *vanA*- bzw. *vanB*-positiver *E. faecium***  
Ko-Resistenzen bei *vanA*- bzw. *vanB*-positiven *E. faecium*-Isolaten aus den Einsendungen an das NRZ in den Jahren 2015 und 2016 gegen 17 verschiedene Antibiotika sind in Tabelle 6 dargestellt (Einschätzung nach EUCAST-Grenzwerten bzw. ECOFF-Werten; s. www.eucast.org/). Nahezu alle *E. faecium* VRE sind ebenso Ampicillin-/Penicillin-resistent und „hochresistent“ gegen Ciprofloxacin (minimale Hemmstoffkonzentration; MHK > 16 mg/l). Auffällig sind vor allem die in den letzten Jahren gestiegenen **Resistenzraten gegen die Reserveantibiotika Linezolid (4–7%) und Tigecyclin (ca. 1%)**. Mehr als die Hälfte der Einsendungen an Linezolid-resistenten *E. faecium*-Isolaten war

2016 erstmalig Vancomycin-resistent (s. ff.). Daptomycin-Nichtempfindlichkeit bleibt bei VRE-Einsendungen an das NRZ selten, obwohl bekannt ist, dass diese Stämme auch in Deutschland auftreten.<sup>2</sup> Seit 2016 testen wir nicht mehr Quinupristin/Dalfopristin (die Substanz ist seit längerem in Deutschland nicht mehr verfügbar).

#### **Antibiotikaempfindlichkeiten von *E. faecium* gegen Linezolid, Tigecyclin und Daptomycin**

Neben deutlich gestiegenen Einsendezahlen von Enterokokken (zumeist VRE) allgemein nimmt auch die Einsendung von Enterokokken-Isolaten mit Verdacht auf Resistenzen gegen Linezolid und Tigecyclin sowie Daptomycin-Unempfindlichkeit seit einigen Jahren zu. **MHK für Linezolid, Tigecyclin und Daptomycin werden jeweils in zwei unabhängigen Verfahren am NRZ untersucht (Mikrobouillonverdünnungstest/Mikrodilution und Etest®; wenn möglich auch genotypisch)**. Dabei bestätigt sich der **Anfangsverdacht nicht immer (oder nur in einem Verfahren) und speziell bei Verdacht auf Daptomycin-Unempfindlichkeit ist die Rate der Bestätigung relativ niedrig**. Dies kann sowohl mikrobiologische Ursachen haben (instabiler Resistenzphänotyp) oder an der Varianz der Messverfahren bei gemessenen Werten um den MHK-Grenzwert liegen. So sind bei Mikrobouillonverdünnungsverfahren natürliche Schwankungen um 1–2 MHK-Stufen methodisch be-

Antibiotikum	<i>E. faecium</i> (2015)		<i>E. faecium</i> (2016)	
	<i>vanA</i> (n = 594)	<i>vanB</i> (n = 511)	<i>vanA</i> (n = 682)	<i>vanB</i> (n = 836)
Penicillin	100,0	100,0	100,0	100,0
Ampicillin	100,0	100,0	100,0	100,0
Gentamicin <sup>a</sup>	30,3	35,8	34,6	15,4
Streptomycin <sup>a</sup>	55,9	64,8	83,7	32,4
Vancomycin	99,5 <sup>b</sup>	98,8 <sup>c</sup>	100,0	99,6 <sup>c</sup>
Teicoplanin	98,8 <sup>b</sup>	1,2 <sup>d</sup>	100,0	0,5 <sup>d</sup>
Daptomycin <sup>e</sup>	0,7	0,2	1,2	1,0
Quinupristin/Dalfopristin	1,3	2,5	n. d.	n. d.
Clindamycin	97,5	95,5	97,7	97,5
Erythromycin	99,2	97,7	97,5	97,6
Ciprofloxacin <sup>f</sup>	100,0	100,0	99,6	100,0
Moxifloxacin	100,0	100,0	99,7	100,0
Linezolid	7,9	7,2	4,4	4,5
Tetracyclin	62,1	20,9	55,6	13,8
Tigecyclin <sup>e</sup>	1,7	0,2	0,7	1,0
Rifampicin	90,1	91,8	88,9	91,4
Trimethoprim/Sulfamethoxazol	56,7	53,2	49,9	45,6

**Tab. 6:** Antibiotika-Resistenzraten (%) der an das NRZ eingesandten *vanA*- bzw. *vanB*-positiven *E. faecium*-Isolate aus 2015 und 2016. Die Einschätzung erfolgt anhand klinischer EUCAST-Grenzwerte bzw. den angegebenen EUCAST-ECOFF-Werten (Ausnahmen s. Legende).

<sup>a</sup> Angabe der prozentualen Häufigkeiten von *High-level*-Aminoglycosid-Resistenzen, die entsprechend der klinischen MHK-Grenzwerte von EUCAST ausgewertet wurden.

<sup>b</sup> Vereinzelt *E. faecium*-Stämme besaßen das *vanA*-Gencluster, zeigten aber weder im Mikrobouillonverdünnungstest, noch im Etest® Resistenz gegen Vancomycin und Teicoplanin (Ursache kann in der fehlenden Expression des *vanA*-Genclusters liegen).

<sup>c</sup> Bei *vanB*-Stämmen kann das *vanB*-Gencluster unterschiedlich stark exprimiert sein: in der Literatur sind MHK-Werte von 1–1000 mg/L angegeben, daher können seltene Isolate *in vitro* bei der MHK-Ermittlung „sensibel“ gegen Vancomycin erscheinen; sie sollten aber bei Nachweis des *vanB*-Gens als potentiell Vancomycin-resistent angegeben werden.

<sup>d</sup> Manche Stämme besitzen ein konstitutiv exprimiertes *vanB*-Gencluster; solche seltenen Stämme sind dann auch gegen Teicoplanin resistent.

<sup>e</sup> Dargestellt sind jeweils nur die Ergebnisse der Mikrodilutions-MHK. Für Daptomycin konnten im Etest® 2015 nur 3 *vanA*-VRE und ein *vanB*-VRE, 2016 kein VRE bestätigt werden.

<sup>f</sup> Wir bestimmen eine Hochresistenz gegen Ciprofloxacin (MHK > 16 mg/L) als Merkmal von Hospital-assoziierten Stämmen.



dingt (und akzeptiert) und die meisten Einsendungen mit Verdacht auf Daptomycin-Unempfindlichkeit wiesen einen MHK von 8 mg/L bei einem CLSI (*Clinical & Laboratory Standards Institute*)-MHK-Grenzwert ( $S \leq 4$  mg/L) und einem EUCAST-ECOFF im direkt angrenzenden MHK-Bereich auf (4 mg/L; s. ff.).

Die Resistenzrate (gesamt) gegen **Linezolid** lag bei allen an das NRZ eingesandten *E. faecium*-Isolaten (VRE und VSE [Vancomycin-sensible-Enterokokken]) 2015 bei 11,2 % und 2016 bei 6,9 %, wobei die Anzahl der Einsendungen vergleichsweise stabil blieb (2015: 136; 2016: 116; s. Tab. 7).<sup>3</sup> Im Gegensatz zu den Vorjahren waren 2016 die Mehrheit der Linezolid-resistenten *E. faecium*-Isolate auch VRE: Von den aus deutschen Krankenhäusern an uns gesandten insgesamt 116 Linezolid-resistenten *E. faecium*-Isolaten waren 41 Glycopeptid-sensibel (35 %), 31 *vanA*-positiv (27 %), 41 *vanB*-positiv (35 %) und 3 *vanA+vanB*-resistent (3 %). Die parallele Testung von allen Linezolid-resistenten Enterokokken ( $n > 600$ ) im NRZ mittels Mikrobouillonverdünnungstest (MBVT) und Etest® für Linezolid hat in zurückliegenden Jahren kongruente Resultate ergeben. Daher wurde der Etest® für Linezolid ab Mitte 2016 nur noch dann durchgeführt, wenn im Labor des Einsenders und im NRZ-Labor widersprüchliche Ergebnisse entstanden sind. Wir führen keine unabhängige Messung mittels Etest® mehr durch, wenn anhand zweier unabhängiger Verfahren im Labor des Einsenders und im NRZ-Labor (MBVT) ein identisches Ergebnis ermittelt wurde.

**Tigecyclin-Resistenz** kam bei 1,7 % (2015) bzw. 0,7 % (2016) der *vanA*-positiven *E. faecium* und 0,2 % (2015) und 1,0 % (2016) bei *vanB*-positiven *E. faecium* vor (Ergebnis des MBVT). Im Gegensatz zu den Vorjahren waren auch Tigecyclin-resistente *E. faecium* 2016 häufiger Vancomycin-resistent als Vancomycin-sensibel.

**Daptomycin-Unempfindlichkeit** war auch 2015 und 2016 in den *E. faecium*-Einsendungen eher selten: Mit beiden, unabhängigen MHK-Verfahren (MBVT und Etest®) wurden 2015 für 5 Isolate und 2016 bei nur einem Isolat die Daptomycin-Unempfindlichkeit bestätigt (MBVT und Etest® = 8–32 mg/L). Alle mehrfach-bestätigten Daptomycin-unempfindlichen Isolate waren VRE (5-mal *vanA*; 1-mal *vanB*; s. Tab. 6). Im MBVT allein zeigten mehr Isolate eine Daptomycin-MHK von  $> 4$  mg/L (s. Tab. 6), die sich aber z. T. nicht mittels Etest® bestätigen ließen. Im Jahr 2015

erhielten wir eine Einsendung eines Linezolid- und Daptomycin-resistenten VRE (*vanA*), der neben Ampicillin auch hoch-resistent gegen Streptomycin und Gentamicin und lediglich noch gegenüber Tigecyclin sensibel war.

Für *E. faecalis* leiten wir auch für 2015/2016 keine Resistenzhäufigkeiten und/oder Trends bei „Reserveantibiotika“ ab, da die Einsendezahlen insgesamt zu niedrig sind. Innerhalb der insgesamt 101 eingesandten, Glycopeptid-sensiblen *E. faecalis*-Isolate im Jahr 2016 waren 11 Isolate Linezolid-resistent, 10 Isolate Tigecyclin-resistent und ein Stamm Daptomycin-unempfindlich.

Das rechtzeitige Erkennen von Resistenz-Trends gegen Reserveantibiotika ist eine wichtige Aufgabe eines NRZ (Frühwarnfunktion); die Daten des Resistenz-Surveillance-Systems ARS am Robert Koch-Institut (RKI), der PEG-Resistenzstudien sowie regionaler Systeme wie ARMIN zeigen für Linezolid und die anderen Reserveantibiotika bei Enterokokken keinen Trend ( $< 1$  % bei allen klinischen *E. faecium*- bzw. *E. faecalis*-Isolaten; <https://ars.rki.de/>).

Das verstärkte Auftreten von Einsendungen mit Linezolid-resistenten Enterokokken seit 2010 veranlasste uns, auch retrospektiv auf übertragbare Gene für Linezolid-Resistenz zu prüfen.

Linezolid-Resistenz wird in Enterokokken üblicherweise durch eine Punktmutation G2576T in der 23S rDNA vermittelt (in *E. faecium* in 6 Kopien). Es können aber auch Mutationen in ribosomalen Proteinen (*rplC*, *rplD*) und/oder die Aufnahme von **Resistenzgenen wie *cfi* und *optrA*** auftreten.<sup>4,5</sup> Linezolid-resistente Isolate zeigten üblicherweise eine Mischung aus Wildtyp- und Mutanten-Allelvarianten der 23S rDNA, wofür wir ein Testsystem unter Verwendung eines Gelchip-Arrays nutzen.<sup>6</sup> In der überwiegenden Mehrzahl (90 %) der untersuchten *E. faecium*-Isolate konnten wir die bekannten 23S-Punktmutationen nachweisen; die anderen *E. faecium*-Isolate besaßen z. T. Mutationen in *rplC* und/oder *rplD* oder bisher unbekannte Mechanismen. Alle Linezolid-resistenten Isolate werden auf transferable Linezolid-Resistenzgene *cfi* und *optrA* mittels PCR geprüft. Das ***cfi*-Gen wurde in insgesamt 10 Linezolid-resistenten Enterokokken** aus den zurückliegenden Jahren mittels PCR nachgewiesen. Molekulare Analysen an 5 dieser Isolate zeigten, dass dieses *cfi*-Allel (i) 100 % Übereinstimmung mit dem *cfi* aus

	Resistent	%	Empfindlich	%	Gesamt
2016	116	6,9	1564	93,1	1.688
2015	136	11,2	1080	88,8	1.216
2014	74	9,4	714	90,6	788
2013	78	8,7	823	91,3	901
2012	39	4,0	933	96,0	972
2011	45	5,7	740	94,3	785
2010	10	3,0	327	97,0	337

Tab. 7: Resistenz von *E. faecium* gegen Linezolid bei NRZ-Einsendungen aus Deutschland, 2010–2016

*Clostridium* spp. aufweist (und weniger als 80% mit dem *cfr* aus *Staphylococcus*); (ii) in Clostridien Linezolid-Resistenz vermittelt; (iii) in den vorliegenden *E. faecium*-Isolaten in einer den Clostridien ähnlichen Transposonstruktur vorliegt, aber (iv) in Enterokokken keine Linezolid-Resistenz vermittelt.<sup>7</sup>

In den Jahren 2015 und 2016 konnten insgesamt **14 *optrA*-positive Enterokokken** detektiert werden. Hiervon trugen 12 *E. faecalis* und 2 *E. faecium* das Resistenzgen, was auf eine Spezies-spezifische Ausbildung des Linezolid-Resistenzmechanismus schließen lässt (im Vergleich: 23S rDNA Mutation vor allem bei *E. faecium*, s. o.). Ganzgenomanalysen aller *optrA*-tragender Enterokokken zeigten in den meisten Fällen keine nähere Verwandtschaft und somit keine klonale Verbreitung der Isolate. Jedoch konnten identische und/oder ähnliche *optrA*-tragende Plasmide und mobile genetische Elemente in nicht-verwandten Stämmen nachgewiesen werden. Dementsprechend muss hier vor allem von einer **Verbreitung der Resistenz durch horizontalen Gentransfer** ausgegangen werden (Bender et al., Manuskript eingereicht). Die festgestellten 9 Nukleotidvarianten von *optrA* und deren vielfältige genetische Hintergründe könnten auf ein enormes Verbreitungspotenzial der Resistenzdeterminante hinweisen. Aufgrund dessen wird eine Testung auf das Vorhandensein von *optrA* mittels PCR in Linezolid-resistenten Isolaten in unserem NRZ routinemäßig durchgeführt.

Das RKI hat im Rahmen eines Dissertationsprojekts Untersuchungen der **molekularen Mechanismen der Tigecyclin-Resistenz in Enterokokken** am Beispiel von *E. faecium* gefördert. Im Rahmen dieses Projekts konnten wir folgende Erkenntnisse gewinnen: Bestimmte Effluxpumpenhemmer senken die MHK für Tigecyclin, woraus wir eine Beteiligung von Effluxpumpen bestätigen konnten. Durch gezielte Langzeitexperimente ließen sich zum einen die MHK für Tigecyclin in resistenten Isolaten noch steigern und zum anderen in weiteren Versuchsreihen ein Verlust der Tigecyclin-Resistenz herbeiführen. Eine erhöhte MHK von Tigecyclin korreliert mit einer gesteigerten Expression von Tetracyclin-Resistenzgenen wie *tet(M)* und *tet(L)* (Effluxpumpe). Isolate mit einem Spontanverlust der Tigecyclin-Resistenz zeigten den Verlust eines Plasmidfragmentes, welches *tet(M)* und *tet(L)* trug.<sup>8</sup> Mutationsbedingter Resistenzerwerb durch Veränderung der Gene *tet(M)* oder *rpsJ* konnte ebenfalls nachgewiesen werden (Fiedler et al., unpubl. Daten).

#### Genotypisierung von Enterokokken-Isolaten mittels PFGE

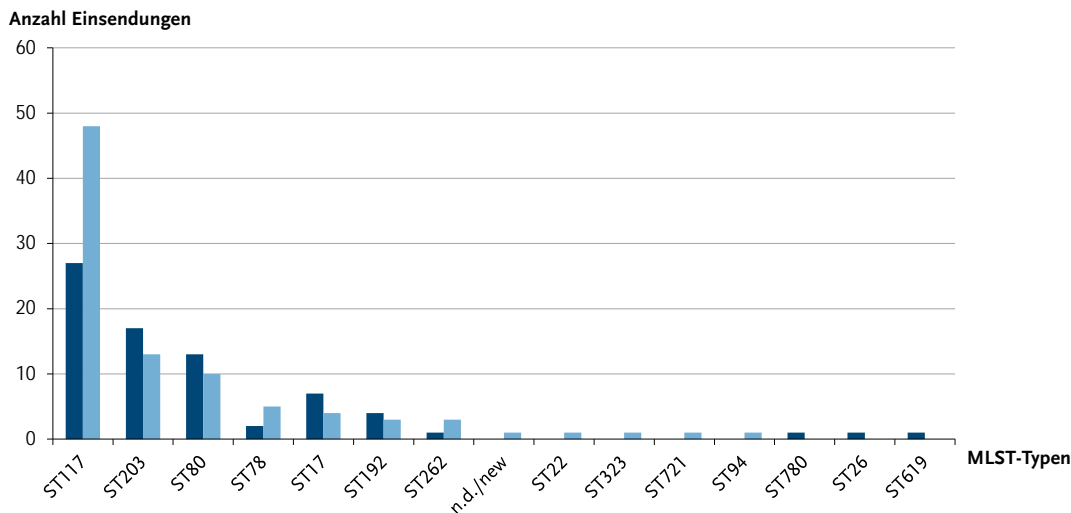
Im Jahr 2015 wurden 527 Enterokokken-Isolate (zumeist VRE der Spezies *E. faecium*), die von 39 Einsendern stammten, mittels *SmaI*-Makrorestriktionsanalyse (PFGE) genotypisiert. Diese VRE-Isolate stammten von Patienten aus bis zu 54 Krankenhäusern/Kliniken. Dabei wurden bei 19 Einsendern (klinisch-mikrobiologische Labore von Krankenhäusern/Kliniken bzw. Privatlaboren) mit  $\geq 10$  Enterokokken-Isolaten je Einsender entsprechend ein gehäuftes Auftreten verwandter oder identischer Isolate innerhalb des jeweiligen Krankenhauses nachgewiesen. Im

Jahr 2016 wurden 1.080 Enterokokken-Isolate (zumeist VRE der Spezies *E. faecium*) mittels *SmaI*-Makrorestriktionsanalyse (PFGE) genotypisiert, die von Patienten aus 91 Krankenhäusern/Kliniken stammten. Der steigende Bedarf an Genotypisierung im Zusammenhang mit ansteigendem Auftreten von VRE führt zu einer erheblichen Mehrbeanspruchung der NRZ-Ressourcen. Dieser könnte durch moderne Typisierverfahren (NGS) bedient werden; eine Finanzierung aus dem NRZ-Budget ist aber nur sehr begrenzt möglich.

Trotz der nachweisbaren Limitationen hinsichtlich Diskriminierungsfähigkeit und Reproduzierbarkeit sind Stammvergleiche anhand von PFGE-Mustern von einer großen Anzahl von VRE-Isolaten bzw. aus mehreren PFGE-Gelen bei gut standardisierter Methodik und harmonisierten Auswertekriterien durchaus möglich. Wir haben einen Vergleich aller Fragmentmuster der VRE-Einsendungen durchgeführt, welche in den Jahren 2015 und 2016 zur PFGE-Typisierung an das NRZ geschickt wurden. Dabei hatten wir auch ähnliche, reproduzierbare Makrorestriktionsmuster bei Einsendungen verschiedener Kliniken, Regionen und Jahre gefunden. Als Grenzwert wird ein Verwandtschaftsgrad von  $\geq 82\%$  angesetzt, welches einem harmonisierten Richtwert entspricht.<sup>9</sup> Daraus resultieren Verwandtschaftscluster von Isolaten aus verschiedenen Kliniken und Bundesländern, was für eine überregionale Verbreitung bestimmter Stammvarianten spricht. Die **überregionale Verbreitung von VRE-Epidemieklonen** ließ sich auch mit stärker diskriminierenden Methoden wie NGS an ausgewählten Beispielen bestätigen.<sup>10</sup> So zeigten z. B. *vanB*-VRE Isolate aus Hessen, Baden-Württemberg, Brandenburg und Thüringen neben verwandten PFGE-Mustern, einen identischen MLST-Typ (ST117) und auch einen hohen Verwandtschaftsgrad ihrer Genome (gleicher Kerngenom-MLST-Typ CT71 innerhalb von ST117; s. nächstes Kapitel).

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

Seit 2016 werden von allen eingesandten *E. faecium*-Isolaten aus invasiven Infektionen (Sepsis, Kathetersepsis) Ganzgenomdaten generiert (mittels NGS; *Next Generation Sequencing*). Es wurden 91 *E. faecium*-Isolate mittels illumina Miseq sequenziert. Insgesamt 27 Isolate (30%) waren *vanA*-positiv und 56 (61%) waren *vanB*-positiv; ein Isolat war *vanA*- und *vanB*-positiv sowie 7 Isolate Vancomycin-sensibel. Aus den NGS-Daten wurde u. a. der MLST-Typ abgeleitet, um eine Vergleichbarkeit mit Daten aus den Vorjahren zu ermöglichen. Hierbei zeigte sich, dass der Trend der letzten Jahre anhält (s. Abb. 1): ST117 ist der häufigste Typ und stellte 2016 mehr als die Hälfte aller Einsendungen (53%;  $n = 48$ ), gefolgt von ST203 (14%;  $n = 13$ ). ST80 stellt wie auch im Vorjahr den dritthäufigsten Typ (11%,  $n = 10$ ). Somit ist das erstmalige, verstärkte Auftreten dieses MLST-Typs im Jahr 2015 nicht zufällig. Während ST80-Blutkulturisolate 2015 meist Vancomycin-sensibel waren, sind 2016 insgesamt 4 *vanA*-positiv (40%), 3 *vanB*-positiv (30%) und 3 Vancomycin-sensibel (30%). Bestimm-



**Abb. 1:** MLST-Typen (im Jahr 2016 abgeleitet aus NGS-Daten) von *E. faecium*-Einsendungen aus Blutkulturen mit klinischer Diagnose Bakteriämie/Sepsis aus 2015 (dunkelblau; n = 71) und 2016 (hellblau; n = 91).

te MLST-Stammtypen, die in zurückliegenden Jahren in Deutschland verbreitet waren und/oder derzeit in anderen europäischen Ländern präsent sind, werden in unserer Sammlung für 2015 und 2016 nicht (mehr) nachgewiesen, z. B. Isolate des ST18 bzw. ST202.

NGS-Daten erlauben die Ableitung von Kerngenom-MLST-Typen (cgMLST-Typ = CT; Ridom SeqSphere+, Ridom GmbH), wobei die höhere Auflösung im Vergleich zum klassischen MLST durch einen Vergleich von 1.423 Genen des Kerngenoms (anstelle von 7 MLST-Genen) erreicht wird. cgMLST ermöglichte innerhalb der häufigsten ST (z. B. ST117, ST203) eine Sub-Differenzierung; 12 MLST-Typen (s. Abb. 1) stehen hier 46 cgMLST(CT)-Typen gegenüber (nicht gezeigt). Nur 4 CT treten häufiger als dreimal auf. Die häufigsten Clustertypen traten alle innerhalb von ST117 auf und waren CT36 (n = 14; 15%), CT71 (n = 12; 13%) und CT469 (n = 8; 9%). Die Verbreitung der häufigeren CT erstreckt sich über ganz Deutschland, so dass keine geografisch begrenzte Zuordnung möglich war. Die bessere Diskriminierungsfähigkeit der Blutkultureinsendungen mittels NGS verdeutlicht, dass eine Interpretation nur anhand von MLST-Daten zu falschen Rückschlüssen führen kann; ein gleicher ST simuliert eine vermeintliche Verwandtschaft, welche anhand von Ganzgenomvergleichen ausgeschlossen werden kann (ein gleicher MLST-Typ wie ST117 muss also nicht zwangsläufig auf eng verwandte Stämme und somit auf einen epidemiologischen Zusammenhang hinweisen). Diese mangelnde Auflösungsschärfe ist für MLST bekannt, kommt bei diesem Vergleich aber noch einmal sehr deutlich zum Ausdruck. Aus diesen Gründen setzen wir für solche und ähnliche phylogenetische Vergleiche in Zukunft verstärkt auf Analysen mit NGS-Daten. Referenzinstitutionen in Nachbarländern setzen auch seit Kurzem auf diese Technologien, wodurch Länder-übergreifende Analysen möglich werden und eine vermeintliche, überregionale Verbreitung von Epidemiestämmen, ähnlich wie bei MRSA, angezeigt werden kann (z. B. ist ST117/CT71 in den Niederlanden auch der häufigste VRE-MLST/cgMLST-Typ).

**Zur Verbesserung der Aussagefähigkeit der Stichprobe von Isolaten aus Blutstrominfektionen bitten wir alle interessierten Labore und Kooperationspartner, uns insbesondere VRE aus invasiven Infektionen (Blutkulturen) zur weiteren Analyse zuzuschicken.**

#### Akkreditierung des NRZ-Teil Enterokokken und QM/EQA

Im Jahr 2014 wurde mit der Erstellung einer normenkonformen Dokumentation der Untersuchungsmethoden sowie erweiterten Validierungs- und Verifizierungsexperimenten für den NRZ-Teil Enterokokken – die Akkreditierung dieses Bereiches im Mai 2015 erfolgreich durchgeführt. Somit ist das gesamte NRZ für Staphylokokken und Enterokokken im Robert Koch-Institut Wernigerode als Prüflabor nach DIN EN ISO/IEC 17025 sowie als medizinisches Laboratorium nach DIN EN ISO 15189 zugelassen.

#### Fazit und Ausblick

Das NRZ – Teil Enterokokken – ist mit einer zunehmenden Anzahl an Einsendungen, bei gleichzeitig erhöhtem Bedarf an analytischer Tiefe (Typisierung: PFGE, MLST) und angeforderten Spezialuntersuchungen (Bestätigung von Resistenzen gegen Reserveantibiotika) konfrontiert. Das Stammmaterial des NRZ ist aufgrund der Vielzahl der einsendenden Labore, z. B. sind alle Bundesländer repräsentiert, und der Diversität der Fragestellungen sehr gut geeignet, allgemeine Trends abzubilden. Darüber hinaus nimmt das NRZ eine wichtige Funktion in der frühzeitigen Erkennung von neuen Trends, wie z. B. die Verbreitung neuer Stammvarianten und/oder Resistenz-Entwicklungen gegen Reserveantibiotika wahr, die in Surveillance-Daten aus Routinelaboren oder in Studien nicht bzw. erst deutlich verspätet auffällig werden. Die Stammtypisierung bei VRE bleibt mit der *SmaI*-Makrorestriktion und Auflösung im PFGE vergleichsweise aufwendig; Ganzgenomvergleiche anhand von NGS-Daten könnten hier bei steigendem Automatisierungsgrad Entlastung ermöglichen; zu klären gilt es, wie die nach wie vor erheblichen Kosten für die Sequenzierung aufzufangen sind.



Aufgrund des hohen Bedarfs an Entscheidungshilfen zum Umgang mit Patienten, die mit VRE besiedelt oder infiziert sind, erarbeitet die Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) aktuell eine Empfehlung zu Hygienemaßnahmen bei Infektionen oder Besiedlungen mit VRE. Behandlungsoptionen bei VRE gehen z. B. aus aktuellen Übersichtsartikeln hervor.<sup>11,12</sup>

#### Literatur

- Gastmeier P, Schröder C, Behnke M, Meyer E, Geffers C: Dramatic increase in vancomycin-resistant enterococci in Germany. *J Antimicrob Chemother* 2014;69(6):1660–4
- Lellek H, Franke GC, Ruckert C, Wolters M, Wolschke C, Christner M, Büttner H, Alawi M, Kröger N, Rohde H: Emergence of daptomycin non-susceptibility in colonizing vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolates during daptomycin therapy. *Int J Med Microbiol* 2015;305(8):902–909
- Klare I, Fleige C, Geringer U, Thuermer A, Bender J, Mutters NT, Mischnick A, Werner G: Increased frequency of linezolid resistance among clinical *Enterococcus faecium* isolates from German hospital patients. *J Global Antimicrob Res* 2015;3(2):128–131 [doi: 10.1016/j.jgar.2015.02.007]
- Liu Y, Wang Y, Schwarz S, Li Y, Shen Z, Zhang Q, Wu C, Shen J: Transferable multiresistance plasmids carrying *cfr* in *Enterococcus* spp. from swine and farm environment. *Antimicrob Agents Chemother* 2013;57(1):42–48
- Wang Y, Lv Y, Cai J, Schwarz S, Cui L, Hu Z, Zhang R, Li J, Zhao Q, He T, Wang D, Wang Z, Shen Y, Li Y, Feßler AT, Wu C, Yu H, Deng X, Xia X, Shen J: A novel gene, *optrA*, that confers transferable resistance to oxazolidinones and phenicols and its presence in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* of human and animal origin. *J Antimicrob Chemother* 2015;70(8):2182–90
- Werner G, Strommenger B, Klare I, Witte W: Molecular detection of linezolid resistance in *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* by use of 5' nuclease real-time PCR compared to a modified classical approach. *J Clin Microbiol* 2004;42(11):5327–31
- Bender JK, Fleige C, Klare I, Fiedler S, Mischnick 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;28:11(11):e0167042
- Fiedler S, Bender JK, Klare I, Halbedel S, Grohmann E, Szewczyk U, Werner G: Tigecycline resistance in clinical isolates of *Enterococcus faecium* is mediated by an upregulation of plasmid-encoded tetracycline determinants *tet*(L) and *tet*(M). *J Antimicrob Chemother* 2016;71(4):871–81
- Morrison D, Woodford N, Barrett SP, Sisson P, Cookson BD: DNA banding pattern polymorphism in vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and criteria for defining strains. *J Clin Microbiol* 1999;37(4):1084–91
- Bender JK, Kalmbach A, Fleige C, Klare I, Fuchs S, Werner G: Population structure and acquisition of the *vanB* resistance determinant in German clinical isolates of *Enterococcus faecium* ST192. *Sci Rep* 2016;23(6):21847
- Mutters NT, Werner G, Tacconelli E, Mischnick A: Vancomycin-resistente Enterokokken: Welche Therapieoptionen gibt es? *Dtsch Med Wochenschr* 2015;140:42–45
- Barber KE, King ST, Stover KR, Pogue JM: Therapeutic options for vancomycin-resistant enterococcal bacteremia. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2015;13(3):363–377

■ \*Dr. Ingo Klare | \*Dr. Jennifer K. Bender | \*Prof. Guido Werner | \*\*Dr. Uwe Koppe | \*\*Dr. Muna Abu Sin | \*\*Dr. Tim Eckmanns

Robert Koch-Institut | \*Abteilung für Infektionskrankheiten | FG 13 Nosokomiale Infektionserreger und Antibiotikaresistenzen | \*\*Abteilung für Infektionsepidemiologie | FG 37 Nosokomiale Infektionen, Surveillance v. Antibiotikaresistenz u. -verbrauch

Korrespondenz: WernerG@rki.de

■ Vorgeschlagene Zitierweise:  
Klare I, Bender JK, Koppe U, Abu Sin M, Eckmanns T, Werner G: Eigenschaften, Häufigkeit und Verbreitung von Vancomycin-resistenten Enterokokken (VRE) in Deutschland – Update 2015/2016.  
*Epid Bull* 2017;46:519–527 | DOI 10.17886/EpiBull-2017-064

### Nationales Referenzzentrum für 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](http://www.rki.de/nrz-staph)

Ansprechpartner: Prof. Dr. Guido Werner (Leitung)

Telefon: +49 (0)30 18754–4210 (Dr. Werner);  
–4249 (Frau Dr. Layer für Staphylokokken)  
+49 (0)30 18754–4247 (Dr. Klare für Enterokokken)

Telefax: +49 (0)30 18754–4317

E-Mail: [WernerG@rki.de](mailto:WernerG@rki.de)

#### Leistungsangebot

- ▶ Beratung zu Fragen der Diagnostik, der epidemiologischen Analyse, der pathogenetischen Relevanz eingesandter Isolate sowie zur Interpretation der Ergebnisse der Resistenzbestimmung;
- ▶ Typisierung eingesandter *S.-aureus*-Isolate mittels *spa*-Sequenztypisierung, der die Bestimmung von Fragmentmustern der genomischen DNS (Pulsfeld-Gel-Elektrophorese) bzw. Multi-Locus-Sequenz-Typisierung (MLST) für ausgewählte Stämme folgen;
- ▶ Typisierung eingesandter *Enterococcus*(*E.*)*faecium*- und *E. faecalis*-Isolate mittels *Sma*I-Makrorestriktionsanalyse (*Sma*I-Fragmentmusteranalyse der genomischen DNS mittels Pulsfeld-Gel-Elektrophorese) bei begründetem Verdacht einer nosokomialen Verbreitung. MLST für ausgewählte Stämme;
- ▶ Aufklärung von Infektketten (insbesondere bei nosokomialen Infektionen sowie Verbreitung von MRSA außerhalb der Krankenhäuser), Zuordnung klinisch-epidemiologisch wichtiger Stämme zu bekannten Epidemiestämmen und zu klonalen Gruppen von *S. aureus* mit besonderer ätiologischer Bedeutung (z. B. im Zusammenhang mit dem Toxic-Shock-Syndrom, mit tiefgehenden Haut-Weichgewebeeinfektionen bzw. Dermatitis exfoliativa);

- ▶ Typisierung von koagulasen negativen Staphylokokken bei begründetem Verdacht auf Ausbrüche nosokomialer Infektionen sowie im Zusammenhang mit wichtigen infektiologischen Fragestellungen (mittels biochemischer Merkmalsprofile und Fragmentmuster der genomischen DNS);
- ▶ Resistenztestung mittels Mikrobouillon-MHK für ein breites Spektrum relevanter Antibiotika;
- ▶ Führen einer Stammsammlung von Staphylokokken- und Enterokokken-Stämmen mit wichtigen Resistenz- und Virulenzeigenschaften. Abgabe von Referenzstämmen auf Anfrage.

#### Zusätzliches Angebot

- ▶ Bestätigung der Speziesdiagnostik für Staphylokokken und Enterokokken in Fällen widersprüchlicher oder unklarer Ergebnisse im Laboratorium des Einsenders;
- ▶ Genotypische Nachweise bei begründeter klinischer Fragestellung für wichtige Pathogenitätsdeterminanten bei *S. aureus* mittels PCR, z. B. für exfoliative Toxine (*eta* und *etb*), Staphylokokken-Enterotoxine (*sea*, *seg*, *ser*), Toxisch-Schock-Syndrom-Toxin (*tst*), luk-PV und andere Merkmale von CA-MRSA; Markergene von LA-MRSA;
- ▶ Genotypische Nachweise wichtiger Markergene von *E. faecium* (*Enterococcal surface protein*, *Hyaluronidase*);
- ▶ Nachweis von Resistenzphänotypen sowie -genen bei Staphylokokken und Enterokokken mittels PCR bei begründeter klinischer Fragestellung;
- ▶ Analysen zur Überprüfung des Verdachts auf Resistenzen gegen Reserveantibiotika (Linezolid, Daptomycin, Tigecyclin, Cefarolin) mittels phänotypischer und genotypischer Verfahren bei Staphylokokken und/oder Enterokokken;
- ▶ Phänotypische Nachweise aus dem Kulturüberstand mittels Latex-Agglutinationstests für die Staphylokokken-Enterotoxine A–D und das Toxisch-Schock-Syndrom-Toxin, als Verursacher von
- ▶ *S.-aureus*-bedingten Lebensmittelintoxikationen bzw. dem Toxisch-Schock-Syndrom.

## Aktuelle Statistik meldepflichtiger Infektionskrankheiten, Deutschland 43. Woche 2017 (Datenstand: 15. November 2017)

Land	Darmkrankheiten											
	Campylobacter-Enteritis			EHEC-Erkrankung (außer HUS)			Salmonellose			Shigellose		
	2017		2016	2017		2016	2017		2016	2017		2016
	43.	1.–43.	1.–43.	43.	1.–43.	1.–43.	43.	1.–43.	1.–43.	43.	1.–43.	1.–43.
Baden-Württemberg	123	5.472	6.081	1	165	136	32	1.107	1.180	1	28	21
Bayern	184	7.231	7.530	3	256	250	39	2.021	1.584	2	66	69
Berlin	31	1.995	2.584	5	107	88	10	391	444	2	48	48
Brandenburg	31	1.442	1.885	0	35	49	5	282	370	0	8	5
Bremen	11	423	373	0	7	2	0	56	48	0	2	5
Hamburg	24	1.424	1.603	0	41	49	6	267	275	1	40	40
Hessen	115	3.700	4.180	1	48	39	18	675	738	2	25	41
Mecklenburg-Vorpommern	44	1.686	1.637	0	48	47	5	324	268	0	3	4
Niedersachsen	114	4.772	5.014	4	212	192	63	1.240	881	0	5	18
Nordrhein-Westfalen	332	16.525	18.587	2	280	298	39	2.305	2.294	0	38	47
Rheinland-Pfalz	90	3.234	3.444	3	104	108	16	569	633	1	19	26
Saarland	29	991	1.123	0	6	7	8	99	94	0	4	4
Sachsen	130	4.135	4.771	2	132	86	34	1.030	913	1	22	16
Sachsen-Anhalt	40	1.439	1.538	4	110	70	17	456	498	1	10	8
Schleswig-Holstein	58	1.987	1.967	1	70	65	6	363	246	0	8	4
Thüringen	50	1.735	1.867	0	47	28	35	637	564	1	9	11
<b>Deutschland</b>	<b>1.406</b>	<b>58.201</b>	<b>64.198</b>	<b>26</b>	<b>1.668</b>	<b>1.514</b>	<b>333</b>	<b>11.822</b>	<b>11.032</b>	<b>12</b>	<b>335</b>	<b>367</b>

Land	Darmkrankheiten														
	Yersiniose			Norovirus-Gastroenteritis <sup>+</sup>			Rotavirus-Gastroenteritis			Giardiasis			Kryptosporidiose		
	2017		2016	2017		2016	2017		2016	2017		2016	2017		2016
	43.	1.–43.	1.–43.	43.	1.–43.	1.–43.	43.	1.–43.	1.–43.	43.	1.–43.	1.–43.	43.	1.–43.	1.–43.
Baden-Württemberg	0	77	95	33	4.741	3.123	2	2.224	854	1	309	385	1	71	66
Bayern	5	268	273	70	6.222	5.219	13	4.256	2.112	13	487	460	3	142	122
Berlin	3	57	71	63	2.473	2.324	10	1.712	1.296	6	330	333	2	119	110
Brandenburg	0	68	103	40	1.875	2.748	13	2.115	1.614	2	77	93	2	69	60
Bremen	1	16	5	5	173	285	0	217	137	0	18	20	0	6	3
Hamburg	2	48	42	32	1.144	1.390	2	1.261	756	3	99	112	3	63	90
Hessen	3	127	153	42	2.611	2.132	13	1.905	1.199	5	183	208	5	93	105
Mecklenburg-Vorpommern	3	49	67	42	2.029	2.241	3	2.093	1.629	1	81	71	6	118	117
Niedersachsen	6	168	192	58	3.342	3.756	18	2.651	1.298	0	148	126	1	89	104
Nordrhein-Westfalen	11	368	478	107	12.306	9.392	21	5.271	2.864	14	478	548	19	290	329
Rheinland-Pfalz	4	90	139	34	3.863	2.343	5	1.161	647	2	98	109	1	30	36
Saarland	1	15	11	10	1.117	654	2	400	189	0	14	32	0	4	9
Sachsen	10	309	319	128	4.972	5.867	27	4.340	2.860	7	221	225	4	120	172
Sachsen-Anhalt	7	152	126	49	3.164	3.262	23	1.967	1.125	1	79	76	3	179	75
Schleswig-Holstein	1	52	41	13	1.187	1.185	3	1.027	642	0	58	54	2	22	67
Thüringen	8	198	209	78	2.800	2.929	32	2.686	1.423	0	40	63	1	27	25
<b>Deutschland</b>	<b>65</b>	<b>2.062</b>	<b>2.326</b>	<b>805</b>	<b>54.026</b>	<b>48.859</b>	<b>187</b>	<b>35.296</b>	<b>20.646</b>	<b>55</b>	<b>2.720</b>	<b>2.915</b>	<b>53</b>	<b>1.444</b>	<b>1.490</b>

In der wöchentlich veröffentlichten **aktuellen Statistik** wird auf der Basis des Infektionsschutzgesetzes (IfSG) aus dem RKI zeitnah zum Auftreten meldepflichtiger Infektionskrankheiten berichtet. Drei Spalten enthalten jeweils **1. Meldungen**, die die Referenzdefinition erfüllen, in der ausgewiesenen Meldewoche im Gesundheitsamt eingegangen und dem RKI bis zum angegebenen Datenstand übermittelt wurden (s. <http://www.rki.de> > Infektionsschutz > Infektionsschutzgesetz > Falldefinitionen sowie im *Epidemiologischen Bulletin* 6/2015), **2. Kumulativwerte im laufenden Jahr**, **3. Kumulativwerte des entsprechenden Vorjahreszeitraumes**. Die Kumulativwerte ergeben sich aus der Summe übermittelter Fälle aus den ausgewiesenen Meldewochen, jedoch ergänzt um nachträglich erfolgte Übermittlungen, Korrekturen und Löschungen.

**Aktuelle Statistik meldepflichtiger Infektionskrankheiten, Deutschland** 43. Woche 2017 (Datenstand: 15. November 2017)

Land	Virushepatitis und weitere Krankheiten														
	Hepatitis A			Hepatitis B			Hepatitis C			Meningokokken, invasive Infektion			Tuberkulose		
	2017		2016	2017		2016	2017		2016	2017		2016	2017		2016
	43.	1.–43.	1.–43.	43.	1.–43.	1.–43.	43.	1.–43.	1.–43.	43.	1.–43.	1.–43.	43.	1.–43.	1.–43.
Baden-Württemberg	2	58	69	11	371	294	15	583	435	1	28	42	9	576	644
Bayern	4	119	102	25	763	789	10	759	770	0	42	34	11	656	854
Berlin	4	146	43	3	137	58	6	220	322	1	15	34	0	0	326
Brandenburg	0	27	15	0	59	50	1	45	48	2	8	6	0	108	152
Bremen	0	6	2	0	8	8	1	8	4	0	2	4	1	39	58
Hamburg	0	34	25	1	53	113	2	120	89	0	2	5	8	171	171
Hessen	1	96	41	7	296	279	10	329	310	0	15	19	9	442	497
Mecklenburg-Vorpommern	0	18	11	2	30	40	0	39	33	0	4	6	1	68	65
Niedersachsen	1	52	55	1	92	110	8	247	236	0	22	24	5	286	326
Nordrhein-Westfalen	10	296	139	24	370	295	15	772	690	2	39	56	17	1.000	1.112
Rheinland-Pfalz	0	38	28	18	200	47	5	154	211	1	17	21	8	216	266
Saarland	0	22	7	0	20	19	2	24	22	0	2	4	0	39	39
Sachsen	1	27	12	4	229	285	3	157	207	0	8	8	4	175	186
Sachsen-Anhalt	1	18	17	4	66	60	4	68	80	0	6	6	2	114	125
Schleswig-Holstein	1	18	21	0	93	60	5	195	181	0	8	7	6	112	114
Thüringen	0	12	17	0	15	10	1	57	44	1	5	8	3	96	93
<b>Deutschland</b>	<b>25</b>	<b>987</b>	<b>604</b>	<b>100</b>	<b>2.803</b>	<b>2.519</b>	<b>88</b>	<b>3.778</b>	<b>3.683</b>	<b>8</b>	<b>223</b>	<b>284</b>	<b>84</b>	<b>4.098</b>	<b>5.030</b>

Land	Impfpräventable Krankheiten														
	Masern			Mumps			Röteln			Keuchhusten			Windpocken		
	2017		2016	2017		2016	2017		2016	2017		2016	2017		2016
	43.	1.–43.	1.–43.	43.	1.–43.	1.–43.	43.	1.–43.	1.–43.	43.	1.–43.	1.–43.	43.	1.–43.	1.–43.
Baden-Württemberg	1	45	21	2	42	68	0	0	2	14	1.233	1.287	42	2.461	3.004
Bayern	2	47	29	3	100	109	0	0	1	52	2.851	2.334	90	4.356	4.422
Berlin	1	66	75	0	28	44	0	0	3	7	537	874	12	1.102	1.833
Brandenburg	0	7	33	1	12	5	0	0	1	15	621	507	5	470	672
Bremen	0	3	1	0	3	6	0	0	0	1	84	49	4	331	234
Hamburg	0	8	9	0	13	13	0	1	6	9	505	339	8	339	442
Hessen	0	76	9	0	67	55	0	0	1	12	776	743	18	906	1.175
Mecklenburg-Vorpommern	0	1	1	0	7	7	0	0	0	5	516	152	1	137	154
Niedersachsen	0	14	16	0	46	36	0	1	1	17	710	635	16	1.124	1.095
Nordrhein-Westfalen	0	519	27	2	137	159	0	5	7	41	2.904	2.108	80	3.585	4.157
Rheinland-Pfalz	0	21	11	0	33	27	0	5	2	13	675	437	13	557	672
Saarland	0	2	0	0	4	6	0	0	0	1	157	42	2	88	105
Sachsen	0	69	32	0	12	17	0	1	1	19	698	433	14	1.241	1.627
Sachsen-Anhalt	0	9	4	0	14	16	0	0	0	20	483	206	4	321	315
Schleswig-Holstein	0	9	4	0	19	26	0	0	1	5	350	258	15	656	498
Thüringen	0	6	7	0	5	9	0	5	0	12	638	577	10	353	226
<b>Deutschland</b>	<b>4</b>	<b>902</b>	<b>279</b>	<b>8</b>	<b>542</b>	<b>603</b>	<b>0</b>	<b>18</b>	<b>26</b>	<b>244</b>	<b>13.743</b>	<b>10.981</b>	<b>334</b>	<b>18.030</b>	<b>20.635</b>

\* Es werden ausschließlich laborbestätigte Fälle von Norovirus-Gastroenteritis in der Statistik ausgewiesen.

**Allgemeiner Hinweis:** Wegen Verwendung veralteter Softwareversionen werden die übermittelten Fälle aus folgenden Landkreisen (LK) seit der 1. Meldewoche 2017 nicht ausgewiesen: LK Prignitz und LK Teltow-Fläming sowie übermittelte Fälle aus dem Berliner Bezirk Treptow-Köpenick und dem Zentrum für tuberkulosekranke und -gefährdete Menschen in Berlin.

**Aktuelle Statistik meldepflichtiger Infektionskrankheiten, Deutschland**

43. Woche 2017 (Datenstand: 15. November 2017)

Krankheit	2017	2017	2016	2016
	43. Woche	1.–43. Woche	1.–43. Woche	1.–52. Woche
Adenovirus-Konjunktivitis	9	549	535	727
Brucellose	1	34	32	36
Chikungunyavirus-Erkrankung	1	27	55	74
<i>Clostridium-difficile</i> -Erkrankung, schwere Verlaufsform	53	2.307	1.902	2.334
Creutzfeldt-Jakob-Krankheit *	0	53	82	98
Denguefieber	5	430	862	955
FSME	15	422	327	347
Hämolytisch-urämisches Syndrom (HUS)	0	90	59	69
<i>Haemophilus influenzae</i> , invasive Infektion	11	644	485	626
Hantavirus-Erkrankung	6	1.609	220	282
Hepatitis D	0	16	28	34
Hepatitis E	70	2.373	1.640	1.993
Influenza	34	91.669	61.693	65.671
Legionellose	25	1.060	849	993
Leptospirose	5	103	81	93
Listeriose	19	649	591	704
Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA), invasive Infektion	32	2.209	2.685	3.160
Ornithose	0	9	9	9
Paratyphus	1	36	28	36
Q-Fieber	0	93	259	274
Trichinellose	0	1	4	4
Tularämie	1	42	25	41
Typhus abdominalis	0	70	53	60

\* Übermittelte Fälle insgesamt, bisher kein Fall einer vCJK

**Zur aktuellen Situation bei ARE/Influenza in der 45. Kalenderwoche (KW) 2017**

Die Aktivität der akuten Atemwegserkrankungen (ARE) ist in der 45. (KW) 2017 im Vergleich zur Vorwoche bundesweit leicht gestiegen, die Werte des Praxisindex lagen insgesamt im Bereich der ARE-Hintergrund-Aktivität und damit auf einem für die Jahreszeit üblichen Niveau.

**Internationale Situation****Ergebnisse der europäischen Influenzasurveillance**

Alle 42 Länder (darunter Deutschland), die für die 44. KW 2017 Daten an TESSy (*The European Surveillance System*) sandten, berichteten über eine geringe Influenza-Aktivität. Weitere Informationen und Karten zur Influenza-Intensität und -ausbreitung, zum Trend und zum dominierenden Influenzatyphus bzw. -subtyp sind abrufbar unter: [www.flunewseurope.org/](http://www.flunewseurope.org/).

**Ergebnisse der globalen Influenzasurveillance (WHO-Update Nr. 302 vom 13.11.2017)**

Die Ergebnisse im Update der Weltgesundheitsorganisation (WHO) beruhen auf Daten bis zum 29.10.2017. In den Ländern der gemäßigten Zone der nördlichen Hemisphäre wurde über eine weiterhin niedrige Influenza-Aktivität berichtet. Ausführliche Informationen sind abrufbar unter: [www.who.int/influenza/surveillance\\_monitoring/updates/en/](http://www.who.int/influenza/surveillance_monitoring/updates/en/).

Quelle; Wochenbericht der Arbeitsgemeinschaft Influenza des RKI für die 45. KW 2017  
<https://influenza.rki.de>

**Impressum****Herausgeber**

Robert Koch-Institut  
Nordufer 20, 13353 Berlin  
Tel.: 030.18754-0  
E-Mail: [EpiBull@rki.de](mailto:EpiBull@rki.de)

Das Robert Koch-Institut ist ein Bundesinstitut im Geschäftsbereich des Bundesministeriums für Gesundheit.

**Redaktion**

► Dr. med. Jamela Seedat (v. i. S. d. P.)  
Tel.: 030.18754-2324

E-Mail: [Seedatj@rki.de](mailto:Seedatj@rki.de)

Dr. rer. nat. Astrid Milde-Busch (Vertretung)

► Redaktionsassistentin: Francesca Smolinski

Tel.: 030.18754-2455

E-Mail: [SmolinskiF@rki.de](mailto:SmolinskiF@rki.de)

Claudia Paape, Judith Petschelt (Vertretung)

**Das Epidemiologische Bulletin**

gewährleistet im Rahmen des infektionsepidemiologischen Netzwerks einen raschen Informationsaustausch zwischen den verschiedenen Akteuren – den Ärzten in Praxen, Kliniken, Laboratorien, Beratungsstellen und Einrichtungen des öffentlichen Gesundheitsdienstes sowie den medizinischen Fachgesellschaften, Nationalen Referenzzentren und den Stätten der Forschung und Lehre – und dient damit der Optimierung der Prävention. Herausgeber und Redaktion erbitten eine aktive Unterstützung durch die Übermittlung allgemein interessierender Mitteilungen, Analysen und Fallberichte. Das Einverständnis mit einer redaktionellen Überarbeitung wird vorausgesetzt.

Das *Epidemiologische Bulletin* erscheint in der Regel wöchentlich (50 Ausgaben pro Jahr). Die Printversion wurde zum Jahresende 2016 eingestellt. Wir bieten einen E-Mail-Verteiler an, der wöchentlich auf unsere neuen Ausgaben hinweist. Gerne können Sie diesen kostenlosen Verteiler in Anspruch nehmen. Die Anmeldung findet über unsere Internetseite (s. u.) statt.

Die Ausgaben ab 1996 stehen im **Internet** zur Verfügung: [www.rki.de/epidbull](http://www.rki.de/epidbull)

**Hinweis:** Inhalte externer Beiträge spiegeln nicht notwendigerweise die Meinung des Robert Koch-Instituts wider.

**Nachdruck**

mit Quellenangabe gestattet, jedoch nicht zu werblichen Zwecken. Belegexemplar erbeten. Die Weitergabe in elektronischer Form bedarf der Zustimmung der Redaktion.

ISSN 1430-0265 (Druck)

PVKZ A-14273