

Aus der Kinderklinik und Kinderpoliklinik im
Dr. von Haunerschen Kinderspital der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. Dr. Christoph Klein

**Untersuchung der Phänomene des Vancomycin MIC Creeps
bei *Staphylococcus-aureus*-Stämmen und der heterogenen
intermediären Resistenz gegenüber Vancomycin im Kindesalter**

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Zahnmedizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Katharina Marie Haas

aus
Ellwangen/Jagst

2021

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. med. Johannes Hübner
Mitberichterstatter:	Priv. Doz. Dr. Dimitrios Frangoulidis Prof. Dr. Rainer Haas
Mitbetreut durch die promovierten Mitarbeiter:	Dr. med. Tilmann Schober Dr. rer. nat. Melanie Meyer-Bühn
Dekan:	Prof. Dr. med. dent. Reinhard HICKEL
Tag der mündlichen Prüfung:	21.06.2021

Eidesstattliche Versicherung

Haas, Katharina Marie

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,
dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel

Untersuchung der Phänomene des Vancomycin MIC Creeps bei
Staphylococcus-aureus-Stämmen und der heterogenen intermediären
Resistenz gegenüber Vancomycin im Kindesalter

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel
bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd
übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter
Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher
oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademi-
schen Grades eingereicht wurde.

München, 15.07.2021

Ort, Datum

Katharina Marie Haas

Unterschrift Doktorandin/Doktorand

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	1
1.2	MRSA.....	3
1.3	Vancomycin.....	6
1.3.1	VISA und VRSA.....	7
1.3.2	hVISA.....	8
1.3.3	hGISA und GISA.....	10
1.3.4	Vancomycin MIC Creep.....	10
2	Zielsetzung.....	12
3	Material und Methoden	13
3.1	Bakterienisolate.....	13
3.2	Probenentnahme.....	13
3.3	Kultivierung und Resistenzbestimmung.....	14
3.4	Interpretation der MHK-Werte	17
3.5	Anteil von MRSA und MSSA	17
3.6	Auswertung der Daten.....	18
4	Ergebnisse.....	19
4.1	Bakterienisolate und Entnahmestellen	19
4.2	Sensibilität der Isolate gegenüber Vancomycin.....	20
4.2.1	Zeitlicher Trend der Sensibilität	21
4.2.2	Sensibilität gegenüber Vancomycin im Vergleich zwischen MRSA- und MSSA-Isolaten.....	25
4.3	Auftreten von hGISA und GISA.....	28
4.3.1	Zeitlicher Trend des Auftretens von hGISA.....	28
4.3.2	Auftreten von hGISA im Vergleich zwischen MRSA- und MSSA-Isolaten	30
4.3.3	Mittelwert und Median der Vancomycin-MHK bei sensiblen Stämmen und hGISA.....	31
4.4	Sensibilität von <i>S. aureus</i> gegenüber Methicillin	33

5	Diskussion	36
5.1	Empfindlichkeit von <i>S. aureus</i> gegenüber Methicillin.....	36
5.2	Empfindlichkeit von <i>S. aureus</i> gegenüber Vancomycin.....	39
5.2.1	Vancomycin MIC Creep.....	39
5.2.2	Zeitlicher Trend der Sensibilität im Vergleich zwischen MRSA- und MSSA-Isolaten.....	42
5.3	Auftreten von hGISA und GISA.....	43
5.3.1	Häufigkeit und zeitliche Tendenzen.....	43
5.3.2	Auftreten von hGISA und GISA in MRSA- und MSSA-Isolaten.....	45
5.3.3	Merkmale von hGISA und GISA.....	46
5.4	Limitierungen.....	47
6	Zusammenfassung	48
7	Literaturverzeichnis	49
8	Danksagung	57

1 Einleitung

1.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylokokken wurden im Jahr 1880 erstmals von dem schottischen Chirurgen Alexander Ogston in einem Abszess im Kniegelenk beschrieben. Im Jahr 1884 fand eine weitere Klassifikation dieser Bakterienspezies durch den deutschen Chirurgen Friedrich Julius Rosenbach nach Einteilung der Bakterien in die Farben ihrer Kolonien statt: *Staphylococcus aureus* (im Folgenden mit *S. aureus* abgekürzt) aus dem Lateinischen aurum für Gold und *S. albus* aus dem Lateinischen albus für weiß. Aufgrund seines Vorkommens auf der Haut wurde *S. albus* später zu *S. epidermidis* umbenannt (Licitra, 2013).

S. aureus ist ein grampositives, fakultativ aerobes, nicht-sporenbildendes, unbewegliches Bakterium mit einem Durchmesser von 0,5-1,5µm (Ondusko und Nolt, 2018; Madigan et al., 2013, S. 1420). Es weist die für Staphylokokken charakteristische Anordnung von kugelförmigen Bakterienzellen in traubenförmigen Ansammlungen auf, die durch Zellteilung auf drei Ebenen zustande kommt (Tzagoloff und Novick, 1977). Ein weiteres Merkmal ist die Fähigkeit, bei großer Trockenheit zu überleben sowie hohe Salzkonzentrationen zu tolerieren. Dadurch ergibt sich eine hohe Umweltresistenz (Groß, 2013, S.44). Optimale Wachstumsbedingungen herrschen jedoch bei 30-37°C.

S. aureus besitzt die Fähigkeit, den Menschen als potentiell Pathogen zu befallen. Die Ausbreitung erfolgt über Staubpartikel auf Oberflächen und durch die Luft. Erster Ausgangspunkt ist häufig die Nase, wobei *S. aureus* im Bereich des oberen Atemtraktes und der Haut oftmals Bestandteil der normalen Mikroflora ist und bei ausreichender Immunabwehr als Krankheitserreger eine untergeordnete Rolle spielt (Madigan et al., 2013, S. 1420). Ist die Immunabwehr herabgesetzt, kann es jedoch zu einer Ausbreitung des Erregers innerhalb des Organismus kommen und zu einer symptomatischen Infektion führen (Kluytmans et al., 1997). Zudem sind asymptomatisch infizierte Individuen in der Lage als Überträger von *S. aureus* zu fungieren und empfängliche Individuen zu infizieren, welche in der Folge eine symptomatische Infektion entwickeln können. Eine solche herabgesetzte Wirtsresistenz entsteht beispielsweise durch Multimorbidität, Gabe von Kortikosteroiden oder anderen immunsuppressiven Medikamenten oder in offenen Wunden (Madigan et al., 2013, S. 1422).

Insgesamt besteht bei etwa 30% aller gesunden Menschen eine transiente Besiedelung der Nasenvorhöfe mit *S. aureus*. Diese entsteht in den meisten Fällen durch Mikrotraumata der Haut oder Schleimhaut (Groß, 2013, S. 44). Etwa weitere 20% der Bevölkerung sind sogar dauerhaft mit dem Erreger besiedelt. Obwohl eine Besiedelung mit *S. aureus* asymptomatisch verlaufen kann, ist das Bakterium auch einer der häufigsten Erreger von schweren Infektionen in allen Altersklassen (Yeh et al., 2012; Sutter et al., 2016). Diese werden in invasive und lokale Infektionen sowie toxische Reaktionen eingeteilt. Zu den invasiven Erkrankungen gehören Pneumonie, Bakteriämie, Haut- und Weichteilinfektionen, Endokarditis, Sepsis, Osteomyelitis und Wundinfektionen (Groß, 2013, S. 44; Kluytmans et al., 1997). Als typischen Eiter- und Abszesserreger findet man *S. aureus* in fast jedem Abszess. Zu den toxischen Reaktionen zählen das Staphylococcus Scalded Skin Syndrom, Lebensmittelvergiftungen und das toxische Schocksyndrom, das eine schwere Folge einer Staphylokokkeninfektion darstellt (Madigan et al., 2013, S. 1422).

Bei Kindern spielt das Bakterium insbesondere bei Haut- und Weichteilinfektionen eine große Rolle als Ursache von über 70% dieser Infektionen. Dazu zählen Erkrankungen wie Impetigo, Follikulitis, Furunkel, Karbunkel, Phlegmonen, chirurgische und traumatische Wundinfektionen sowie die neonatale Omphalitis (Ladhani und Garbush, 2005). Darüber hinaus gilt der Erreger als ursächlich für weitere Infektionen wie Osteomyelitis und septische Arthritis bei Kindern (Kaplan, 2016).

Die Virulenz von *S. aureus*-Stämmen kann sich innerhalb der Bakterienspezies stark unterscheiden. Dies hängt damit zusammen, dass etwa 75% der DNA zum Kerngenom gehören, wohingegen weitere 25% das akzessorische Genom bilden. Bei diesem akzessorischen Genom handelt es sich hauptsächlich um mobile genetische Elemente, die über horizontalen Gentransfer zwischen den Stämmen übertragen werden können und unter anderem Gene tragen, die für Resistenz- und Virulenzfaktoren verantwortlich sind (Lindsay und Holden, 2004).

Als Erkrankungsursache können verschiedene Virulenzfaktoren in Frage kommen. Sie können in der Zellwand lokalisiert sein oder vom Zellinneren aus in ihre Umgebung sezerniert werden. (Madigan et al., 2013, S. 317). Zu den zellwandgebundenen Virulenzfaktoren zählen das Protein A und der Clumpingfaktor. Das Protein A verhindert durch einen antiphagozytären Effekt die Phagozytose opsonierter Erreger. Der Clumpingfaktor wirkt als Fibrinogen-Rezeptor auf der Zelloberfläche durch Aktivierung von

Fibrinmolekülen im Blutplasma speziell bei verletztem Gewebe, aber auch an Katheter- oder Implantatoberflächen. Dadurch verklumpt das Blutplasma und es bildet sich ein Fibrinschutzwall, der einen Abszess umschließt (Groß, 2013, S. 44).

Als wichtiger sezernierter Virulenzfaktor ist zunächst die Plasmakoagulase zu nennen, die gemeinsam mit dem Clumpingfaktor die Bildung von Fibrin aus Fibrinogen ermöglicht und ebenfalls an der Bildung des Fibrinschutzwalls beteiligt ist (Madigan et al., 2013, S. 317). Dieser Fibrinschutzwall ist für die körpereigene Immunabwehr praktisch undurchdringlich und bietet somit optimale Bedingungen für eine ungestörte Erregervermehrung. Um jedoch eine weitere Erregerausbreitung im Wirtsorganismus zu ermöglichen, muss die Abszesswand passierbar gemacht werden. Dies geschieht durch die Staphylokinase, ein Enzym mit Fibrinlysin-Aktivität. Eine weitere Invasion wird durch eine Reihe von extrazellulären Proteinen wie Hyaluronidasen, Proteasen, DNAsen und Lipasen unterstützt. Einige Toxine fungieren als weitere sezernierte Pathogenitätsfaktoren. Hierzu zählen Hämolsine, die in der Lage sind, Erythrozyten und Phagozyten zu zerstören und darüber hinaus eine Dermonekrose auslösen können. Leukozidine sind hingegen für die Lyse von Leukozyten verantwortlich. Bei der Entstehung eines Staphylococcus Scalded Skin Syndroms sind Exfoliatintoxine beteiligt, die, als Protease wirkend, eine Epidermolyse zwischen Stratum granulosum und Stratum spinosum verursachen. Das Krankheitsbild zeigt eine blasenartige Abhebung großer Hautareale und ist eine lebensbedrohliche Folge einer Staphylokokkeninfektion. Ebenfalls lebensbedrohlich ist das toxische Schocksyndrom, das durch das Toxin-1 verursacht wird. Als Superantigen ist dieses Toxin in der Lage, T-Zellen ohne vorausgehende Antigenpräsentation über MHC-Moleküle zu aktivieren. Dies führt über Aktivierung von Makrophagen zu einer unkontrollierten Zytokinfreisetzung und löst letztendlich die Schocksymptomatik aus. Zu den Superantigenen zählt ebenfalls das hitzestabile Enterotoxin, das bei mangelnder Hygiene eine hochakute Gastroenteritis hervorrufen kann, die von einer Lebensmittelvergiftung ausgeht (Groß, 2013, S. 44).

1.2 MRSA

Resistente *S. aureus*-Stämme wurden erstmals in den 1940er Jahren kurz nach der Einführung des Penicillins beschrieben (Fuda et al., 2005). Verantwortlich dafür war die Expression der PC1 β -Laktamase, eines Enzyms, welches durch Hydrolyse des β -Laktam-Rings in der Lage ist, Penicillin zu inaktivieren. Penicillin-resistente Stämme breiteten

sich in der Bevölkerung schnell aus und führten im Jahr 1959 zur Entwicklung eines neuen β -Laktamase-stabilen, semi-synthetischen Penicillins, dem Methicillin (Lowy, 2003). Doch bereits zwei Jahre später wurden in Großbritannien erste Methicillin-resistente *S. aureus*-Isolate (im Folgenden mit MRSA abgekürzt) oder synonym Oxacillin-resistente *S. aureus* beschrieben, die sich ebenfalls rapide verbreiteten (Jevons, 1961). Mittlerweile gilt MRSA weltweit als einer der häufigsten und gefährlichsten Erreger für nosokomiale und ambulant erworbene Infektionen (Wisplinghoff et al., 2004; Styers et al., 2006).

MRSA entsteht durch den Erwerb des Staphylokokken-Kassettenchromosoms *mec* (im Folgenden mit *SCCmec* abgekürzt). Dabei handelt es sich um ein mobiles genetisches Element, das seinen Ursprung nicht von *S. aureus* hat, sondern über horizontalen Gentransfer von einer anderen Staphylokokken-Spezies übertragen wurde (Fishovitz et al., 2014; Tsubakishita et al., 2010). *SCCmec*-Elemente können sich stark unterscheiden. Mittlerweile sind elf verschiedene Typen bekannt, von denen die Typen I-V weltweit verbreitet sind, während die anderen vor allem an ihrem Ursprungsort existieren (Ghaznavi-Rad et al., 2010). Sie differieren in ihrer Größe und ihrem Erbgut, wodurch sich eine unterschiedliche Virulenz und Resistenz gegen verschiedene Antibiotika ergibt (Deurenberg und Stobberingh, 2008).

Ein wichtiges Merkmal haben sie gemeinsam: *SCCmec* trägt das *mecA*-Gen, welches das Penicillin-Bindungs-Protein PBP2A codiert (Peacock und Paterson, 2015). Dieses ist durch eine niedrige Affinität zu β -Laktamantibiotika gekennzeichnet und in Folge dessen für eine Resistenz gegen sämtliche Antibiotika, die zu dieser Gruppe gehören, verantwortlich (Pinho et al., 2001; Rodriguez-Noriega und Seas, 2010). *S. aureus* besitzt vier ursprüngliche Penicillin-Bindungs-Proteine (im Folgenden mit PBP abgekürzt), welche sich in der bakteriellen Zellwand befinden und im Zellstoffwechsel für die Vernetzung des essentiellen Peptidoglykans verantwortlich sind (Llarrull et al., 2009; Fishovitz et al., 2014). Alle PBP besitzen für ihre Funktionen Transpeptidase-Aktivität, die durch β -Laktamantibiotika irreversibel gehemmt wird. Dies führt zum Verlust der Kontrolle über den Zusammenhalt der Zellwand und hat einen bakteriziden Effekt zur Folge (Fuda et al., 2005). In Anwesenheit von β -Laktamantibiotika bleibt PBP2A jedoch aktiv und ist in der Lage, die Vernetzung des Peptidoglykans fortzuführen, während die ursprünglichen PBP inhibiert werden (de Jonge et al., 1992).

Laut European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) stieg der Anteil von resistenten Stämmen bei *S. aureus*-Infektionen in deutschen Krankenhäusern bis zum Jahr 2010 an und erreichte einen Wert von 20,9%. Seitdem zeigt sich eine rückläufige Tendenz und der Wert sank im Jahr 2017 auf 9,1%. Der europäische Durchschnitt zeigt einen ähnlichen Rückgang, wobei es auch durchaus Länder gibt, in denen die Tendenz zunimmt, wie beispielsweise Spanien und Kroatien. Der europäische Durchschnitt sank in den Jahren 2014 bis 2017 von 19,6% auf 16,9% (European Centre for Disease Prevention and Control, 2018). Bei ambulanten Patienten ist die Tendenz ebenfalls rückläufig (Walter et al., 2017).

Im Vergleich zu sensiblen *S. aureus*-Stämmen wird nach Besiedelung mit MRSA im Allgemeinen ein wesentlich schlechterer Krankheitsverlauf beobachtet. Es zeigt sich ein erhöhtes Risiko für invasive Infektionen, die Notwendigkeit einer längeren Antibiotikatherapie sowie eine erhöhte Morbidität und Mortalität (Yeh et al., 2012; Safdar und Bradley, 2008).

Seit Mitte der 1990er Jahre fand eine begriffliche Differenzierung der MRSA-Stämme statt. Nachdem auch außerhalb des typischen Patientengutes in Kliniken vermehrt bei gesunden, jungen Individuen MRSA gefunden wurde, unterscheidet man nun zwischen MRSA-Infektionen innerhalb von medizinischen und pflegerischen Einrichtungen, die als Healthcare-associated MRSA (im Folgenden mit HA-MRSA abgekürzt) bezeichnet werden und solchen, die in der Allgemeinbevölkerung als Community-associated MRSA (im Folgenden mit CA-MRSA abgekürzt) nachweisbar sind. Prädisponiert für eine HA-MRSA-Infektion sind ältere oder immungeschwächte Individuen sowie Frühgeborene. Risikofaktoren sind in den Körper eingebrachte Verweilelemente wie Katheter, aber auch lange Krankenhausaufenthalte, Dialysepflicht und eine andauernde Einnahme von Antibiotika. Die Infektion kann in den genannten Einrichtungen durch Personal oder Besucher übertragen werden oder durch medizinisches Equipment (Millar et al., 2007). Im Vergleich dazu kommt CA-MRSA oft bei jungen, gesunden Menschen vor, bei denen keiner der genannten Risikofaktoren für eine HA-MRSA-Infektion besteht (Sabouni et al., 2013). Eine hohe Virulenz erlangen CA-MRSA-Stämme durch das Panton-Valentine-Leukozidin. Es lysiert Granulozyten und Monozyten und löst dadurch Gewebnekrosen aus, die schwerwiegende Erkrankungen zur Folge haben können (Rodriguez-Noriega und Seas, 2010; Matouskova und Janout, 2008). Ein weiteres Merkmal von CA-MRSA ist, dass es in den meisten Fällen den SCCmec-Typ IV oder seltener Typ V trägt. Während

bei HA-MRSA häufig Multiresistenzen gegen eine Reihe von unterschiedlichen Antibiotikagruppen auftreten, ergibt sich im Vergleich dazu bei CA-MRSA-Stämmen eine Empfindlichkeit gegen die meisten Nicht- β -Laktamantibiotika. Dies ist ein Zeichen von Anpassung an das jeweilige Umfeld durch selektiven Wachstumsdruck. Die kleineren SCC-Typen IV und V zeichnen sich durch eine höhere Wachstumsrate und gesteigerte Fitness aus (Okuma et al., 2002).

Aufgrund mangelnder Stabilität und seinem Resistenzverhalten wird Methicillin heute weder in der praktizierenden Medizin noch im Labor verwendet. Für die Empfindlichkeitstestung und den Nachweis von MRSA-Isolaten wird heute in den meisten Laboren das ebenfalls β -Lactamase-feste, aber stabilere Oxacillin als Testsubstanz aufgeführt (Voss et al., 1992).

1.3 Vancomycin

Die Behandlung von *S. aureus*-Infektionen stellt eine weitreichende Problematik im heutigen Gesundheitssystem dar, da *S. aureus*-Stämme in der Lage sind, Resistenzen gegen nahezu alle verfügbaren Antibiotika zu akkumulieren und Multiresistenzen auszubilden. Die Zunahme an Infektionen, die durch grampositive Pathogene verursacht werden, und die steigende Antibiotikaresistenz erforderte die Entwicklung neuer Antibiotika mit neuen Wirkmechanismen (Steenbergen et al., 2005).

Vancomycin ist ein komplexes tricyclisches Glykopeptid, welches gegen die meisten klinisch relevanten grampositiven Pathogene wirksam ist (Levine, 2006). Seit dem Jahr 1958 wird es bei *S. aureus*-Infektionen eingesetzt, wobei sein Einsatz zunächst auf Penicillin-resistente *S. aureus*-Infektionen und Patienten mit schwerer β -Laktamallergie beschränkt war (Griffith, 1981). Durch die weltweite Verbreitung der MRSA-Infektionen wurde Vancomycin als Reserveantibiotikum in den letzten Jahrzehnten schließlich sehr breit eingesetzt (Jones, 2006).

Die Wirkung des Antibiotikums kommt durch Eingreifen in die Zellwandsynthese und Verhinderung der Peptidoglykansynthese zustande. Die Produktion des Peptidoglykans vollzieht sich in mehreren Schritten. Zunächst wird ein Vorläufersubstrat innerhalb der Zelle im Zytoplasma synthetisiert, welches anschließend mithilfe eines Lipidcarriers an die Außenseite der Plasmamembran transportiert wird. Daraufhin erfolgt der Einbau in die wachsende Peptidoglykankette und die Quervernetzung. Vancomycin bindet mit

hoher Affinität an den D-Ala-D-Ala Terminus des Substrats, sobald es das Zytoplasma verlassen hat und verhindert somit den Einbau in die Peptidoglykankette (Courvalin, 2006; Reynolds, 1989).

1.3.1 VISA und VRSA

Der vermehrte Einsatz des Antibiotikums führte im Jahr 1996 in Japan dazu, dass erste MRSA-Stämme mit verminderter Empfindlichkeit gegen Vancomycin beschrieben wurden. Darunter war ein Vancomycin-resistenter Stamm, der aus der chirurgischen Wunde eines Säuglings isoliert wurde und eine minimale Hemmkonzentration (MHK) von $8\mu\text{g/mL}$ für Vancomycin aufwies (Hiramatsu et al., 1997b; Hiramatsu et al., 1997a). Laut Kriterien des European Committee on Microbial Susceptibility Testing (EUCAST) und des Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) sind *S. aureus*-Stämme mit einer MHK von $>2\mu\text{g/mL}$ als resistent gegenüber Vancomycin anzusehen. Bei einer MHK oberhalb dieses Grenzwertes ist die klinische Wirkung des Antibiotikums beeinträchtigt. Aufgrund unterschiedlicher Resistenzmechanismen werden diese nicht-sensiblen *S. aureus*-Stämme in intermediär resistente Stämme (Vancomycin intermediate *S. aureus*; im Folgenden mit VISA abgekürzt) und resistente Stämme (Vancomycin resistant *S. aureus*; im Folgenden mit VRSA abgekürzt) eingeteilt. Gemäß den Richtlinien der EUCAST wurden VISA-Stämme bei der Festlegung der Sensibilitätsgrenzen nicht berücksichtigt, da eine Infektion mit VISA nicht mit einer erhöhten Vancomycin-Dosis zu behandeln ist (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2019).

Nach den Kriterien des CLSI sind Stämme mit einer MHK von $4\text{--}8\mu\text{g/mL}$ als VISA anzusehen; bei Werten von $>16\mu\text{g/mL}$ ist von einem VRSA-Stamm auszugehen (Wilcox et al., 2019).

Des Weiteren existieren Vancomycin-sensible *S. aureus*-Stämme, die eine Subpopulation (eine von 10^6 Zellen) mit einer MHK von $>2\mu\text{g/mL}$ für Vancomycin besitzen. Diese werden als heterogene VISA (im Folgenden mit hVISA abgekürzt) bezeichnet (Walsh und Howe, 2002).

Die exakte Entstehung des VISA-Phänotyps ist nicht vollständig geklärt. Es ist jedoch bekannt, dass es sich um einen multifaktoriellen Resistenzmechanismus handelt, der auf Akkumulation einiger Mutationen in verschiedenen Genen beruht (Tenover, 2006). Die meisten VISA-Stämme sind charakterisiert durch eine erhöhte Biosynthese der Zellwand und eine Verringerung der Quervernetzung von Peptidseitenketten. Dadurch entstandene

freie D-Ala-D-Ala-Reste in der äußeren Schicht der verdickten Zellwand agieren als falsche Bindungsstellen für Vancomycin und verhindern die Penetration weiterer Vancomycin-Moleküle zu ihrer eigentlichen Zielstruktur an der Plasmamembran. Neben der Zellwandverdickung und der Veränderung in der Zusammensetzung von Peptidoglykan geht die Resistenz von VISA-Stämmen mit der Expression von Penicillin-Bindungs-Proteinen (PBP) einher (Cui et al., 2003; Reipert et al., 2003; Boyle-Vavra et al., 2003).

Es konnte nachgewiesen werden, dass eine Korrelation zwischen der Resistenz bei VISA-Stämmen und verminderter Empfindlichkeit gegen Daptomycin existiert. Die Ursache hierfür besteht darin, dass VISA-Stämme durch eine verdickte Zellwand charakterisiert sind, welche die Penetration der Vancomycin-Moleküle zu ihrer Zielstruktur, der Zellmembran, verhindert. Dieses Merkmal stellt auch für die Daptomycin-Moleküle eine Barriere dar, die ebenfalls an der Zellmembran wirken (Cui et al., 2006).

Abzugrenzen vom Entstehungsprozess von intermediärer Resistenz ist der Resistenzmechanismus, der den VRSA-Phänotyp mit einem sehr hohen Resistenzlevel hervorruft. Dieser entsteht durch Akquisition des Transposons Tn1546 aus Enterokokken, welches das vanA-Operon trägt. Dieses mobile genetische Element ist für eine Modifikation in der Zielstruktur von Vancomycin verantwortlich. Der D-Ala-D-Ala-Terminus des Substrats wird gegen D-Ala-D-Lac ausgetauscht, wodurch sich eine stark verringerte Affinität gegenüber Vancomycin ergibt (Périchon und Courvalin, 2009; Périchon und Courvalin, 2000). Der erste MRSA-Stamm mit einer vanA-vermittelten Resistenz gegen Vancomycin wurde im Jahr 2002 in Michigan beschrieben mit einer MHK von $>256\mu\text{g/mL}$ (Centers for Disease Control and Prevention, 2002). Bisher sind weltweit nur sehr wenige VRSA-Stämme isoliert worden.

1.3.2 hVISA

Wesentlich verbreiteter als VISA und VRSA ist das Auftreten von *S. aureus*-Stämmen, die eine Heteroresistenz gegenüber Vancomycin aufweisen (Dhand und Sakoulas, 2012). Sie stellen ein mögliches Vorläuferstadium dar, welches die Entwicklung eines intermediären Resistenzlevels bei *S. aureus* einleiten kann.

Hierbei existieren innerhalb eines sensiblen Stammes bereits Subpopulationen mit intermediär resistenten Tochterzellen, deren elterlichen Stämme noch innerhalb des sensiblen Bereichs liegen. Diese Subpopulationen machen einen Anteil von bis zu eins von einer Million Zellen aus. In Anwesenheit von Vancomycin wird ein Selektionsdruck

begünstigt, der die Vermehrung der intermediär resistenten Klone fördert. Folglich entsteht ein hVISA-Stamm und durch persistierende Vancomycin-Exposition wird die Weiterentwicklung zu einer einheitlichen VISA-Population forciert (Liu und Chambers, 2003). Der hVISA-Phänotyp wurde überwiegend in MRSA-Stämmen detektiert, vereinzelt aber auch bei Methicillin-sensiblen *S. aureus*-Stämmen (im Folgenden mit MSSA abgekürzt) (Bobin-Dubreux et al., 2001). Studien zufolge steigt die Häufigkeit an hVISA-Isolaten mit der Vancomycin-MHK innerhalb des sensiblen Bereichs, so dass die meisten hVISA-Stämme gemäß standardmäßigen Testverfahren eine MHK von 1-2µg/mL aufweisen (Sakoulas und Moellering, 2008).

Die seither fehlende Standardisierung und Validierung von in verschiedenen Untersuchungen angewandten Methoden zum Nachweis von hVISA lassen keine sichere Aussage über die Prävalenz zu. Zudem ist der Phänotyp instabil, sobald die Isolate zur Lagerung eingefroren sind (Howden et al., 2010). Möglichkeiten zum Nachweis im Routinelabor von hVISA- und VISA-Stämmen sind die vereinfachte Populationsanalyse und der E-Test in der Makroversion, wobei letzterer nach derzeitigem Kenntnisstand das am besten validierte Verfahren darstellt (Falagas et al., 2008). Zusätzlich zum E-Test in der Makroversion stellt der E-Test GRD eine neue Möglichkeit zur Detektion von hVISA dar (Rong und Leonard, 2010).

Für den Kliniker stellt die Behandlung von hVISA ein großes Problem dar, da einerseits der Nachweis dieses Erregers nach den standardmäßig durchgeführten Methoden nicht möglich ist und er daher sensibel zu sein scheint. Andererseits ist eine Infektion mit hVISA mit einem schlechten Behandlungsergebnis assoziiert (Soriano et al., 2008). Die Therapie einer solchen Infektion erfordert eine erhöhte Antibiotikadosis sowie eine verlängerte Therapie. Eine höhere Dosis an Vancomycin ist jedoch mit einer größeren Toxizität des Medikaments verbunden (Appelbaum, 2007).

Ein möglicher Prädiktor für die Entwicklung einer hVISA- oder VISA-Population ist eine Infektion mit MRSA innerhalb der vorangegangenen zwei bis drei Monate, verbunden mit einer persistierenden Therapie mit Vancomycin (Tenover und Moellering, 2007). Einen weiteren Risikofaktor stellt eine Infektion mit einer hohen Bakterien-Last dar, so wie beispielsweise bei einer Endokarditis, einer Lungenentzündung oder einem Abszess. Die Penetration von Antibiotika ist in solch infizierten Gebieten limitiert und fördert einen Selektionsdruck (Howden et al., 2010).

1.3.3 hGISA und GISA

In der Literatur werden die Begriffe VISA und Gykopeptid Intermediäre *S. aureus* (im Folgenden mit GISA abgekürzt) häufig synonym verwendet. GISA umfasst jedoch ein breiteres Resistenzprofil, da der Begriff eine zusätzliche verminderte Sensibilität gegenüber Teicoplanin miteinschließt. Eine reduzierte Empfindlichkeit von Teicoplanin kann in VSSA-Stämmen existieren, wohingegen eine verminderte Sensibilität bei Vancomycin immer mit einer verminderten Sensibilität bei Teicoplanin einher geht (Liu und Chambers, 2003).

Erste *S. aureus*-Populationen mit verminderter Empfindlichkeit gegenüber Teicoplanin wurden noch vor ersten VISA-Stämmen beschrieben. Studien zufolge entwickelt sich zudem schneller eine Resistenz gegen Teicoplanin als gegen Vancomycin (Svetitsky et al., 2009). Abgesehen davon zeigen sich in der Effizienz jedoch keine Unterschiede zwischen den beiden Medikamenten (McGuinness et al., 2017).

1.3.4 Vancomycin MIC Creep

In *S. aureus*-Stämmen, die gemäß den aktuellen Richtlinien für die Sensibilitätsgrenze von Vancomycin im empfindlichen Bereich liegen, wurde in einigen Kliniken eine progressiv steigende Tendenz der MHK beobachtet. Das betrifft sowohl Methicillin-sensible, als auch Methicillin-resistente Stämme (Dhand und Sakoulas, 2012). Dieses Phänomen wird als „Vancomycin Minimal Inhibitory Concentration Creep“ (im Folgenden mit Vancomycin MIC Creep abgekürzt) bezeichnet und ist klinisch von wesentlicher Bedeutung, denn erhöhte MHK-Werte auch innerhalb des empfindlichen Bereichs gehen mit einem gesteigerten Risiko für ein Therapieversagen und einer höheren Mortalitätsrate einher (Yeh et al., 2012; Sakoulas et al., 2004). Die Definition des Mechanismus, der den VISA-Phänotyp determiniert, sollte daher auf erste und bereits minimale Veränderungen in der Empfindlichkeit gegenüber Vancomycin ausgeweitet werden, noch bevor sich eine manifeste Resistenz entwickelt hat. Prognostische Informationen für das Behandlungsergebnis lassen sich durch die in vitro Testung des bakteriziden Effekts von Vancomycin bestimmen (Sakoulas et al., 2004; Steinkraus et al., 2007).

Nach einer vorangegangenen Therapie mit Vancomycin innerhalb der letzten 30 Tage kann mit einer erhöhten MHK und einer schlechteren therapeutischen Effizienz des Gykopeptids gerechnet werden (Sakoulas und Moellering, 2008; Moise et al., 2008).

Aktuellen Studien zufolge stellt der Vancomycin MIC Creep kein universelles Problem dar, sondern existiert nur in einigen Kliniken, wohingegen Studien anderer Kliniken von einer stagnierenden oder sogar rückläufigen Tendenz der MHK von Vancomycin bei *S. aureus* berichten (Joana et al., 2013). Diese divergenten Beobachtungen lassen sich durch epidemiologische und klinische Faktoren erklären. Dazu zählen in erster Linie die Entwicklung eines Selektionsdrucks durch Unterschiede in der Behandlung und der Dosierung von Vancomycin. Aber auch die Schwere der Krankheiten in den Patientengruppen der unterschiedlichen Kliniken, die verschiedene Komorbiditäten aufweisen, spielt eine Rolle sowie variierende Methoden der Sensibilitätstestung (van Hal et al., 2011). Auch ein Auftreten von CA-MRSA in Krankenhäusern kann die zeitliche Tendenz der MHK beeinflussen, da diese Stämme grundsätzlich über eine niedrigere MHK verfügen. Dies lässt sich vermutlich dadurch begründen, dass die Bakterien einer geringeren Vancomycinexposition ausgesetzt sind.

Insofern können Kliniker, Pharmazeuten und Mikrobiologen die Relevanz des Vancomycin MIC Creeps in ihrem Untersuchungsgut nur durch die Evaluation ihrer eigenen lokalen Empfindlichkeitsprofile beurteilen und nicht durch veröffentlichte Beobachtungen Anderer (Dhand und Sakoulas, 2012; Chang et al., 2017; Lo et al., 2010; Goldman et al., 2014).

2 Zielsetzung

Die Behandlung bakterieller Infektionen wird durch steigende Antibiotikaresistenzen deutlich beeinflusst und erschwert. Da diese antibiotische Resistenz keineswegs globalen Trends unterliegt, sondern je nach dem Ort ihres Auftretens gravierende Unterschiede in ihrer Ausprägung aufweisen kann, setzt ihre Kontrolle und Interpretation die genaue Kenntnis lokaler Gegebenheiten voraus. Durch eine unzureichende „empirische Therapie“ kommt es zu verzögerten und suboptimalen Behandlungsergebnissen. Eine systematische Datenerhebung ist insofern unerlässlich. Darüber hinaus sind diese im Labor standardisiert erworbenen Daten, im Gegensatz zu oft schwer vergleichbaren klinischen Befunden im komplexen Morbiditätskomplex, leichter interpretierbar.

Im Rahmen der vorliegenden Studie wurden MHK-Werte von Vancomycin bei *S. aureus*-Stämmen bestimmt, die über einen Zeitraum von 2002 bis 2017 in der Kinderklinik und Kinderpoliklinik im Dr. von Haunerschen Kinderspital isoliert wurden. Das Ziel war die Evaluation eines sich entwickelnden zeitlichen Trends mit der Frage nach dem Vorliegen eines Vancomycin MIC Creeps. Dieses Phänomen beschreibt eine sukzessiv steigende Tendenz der MHK innerhalb des nach aktuellen Richtlinien empfindlichen Bereichs und ist die Folge der zunehmenden Verwendung von Vancomycin zur Therapie von Infektionen mit grampositiven Bakterien seit Mitte der 1980er Jahre (Diaz et al., 2018).

Des Weiteren wurden die Stämme auf eine heterogene und intermediäre Resistenz gegenüber Glykopeptiden getestet. Auch eine zeitliche Tendenz wurde bewertet.

Das dritte Ziel war die Beurteilung der Methicillin-Sensitivität. Auch hier stand die Frage nach einer zeitlichen Entwicklung des Anteils an resistenten Stämmen im Vergleich zu sensiblen im Vordergrund.

3 Material und Methoden

3.1 Bakterienisolate

Die untersuchten Bakterienisolate der vorliegenden retrospektiven Studie stammten von Patienten der Kinderklinik und Kinderpoliklinik im Dr. von Haunerschen Kinderspital der Ludwig-Maximilians-Universität München. Analysiert wurden Proben, die nach Erstnachweis von MRSA oder schweren *S. aureus*-Infektionen unabhängig von der Methicillin-Sensitivität eingefroren worden waren. Das Altersspektrum der Patienten lag zwischen 0 und 52 Jahren. 81% der Proben stammten von Patienten unter 18 Jahren. Davon hatten 34% zum Zeitpunkt der Probenentnahme das erste Lebensjahr noch nicht vollendet. Das durchschnittliche Alter der pädiatrischen Patienten betrug 4,6 Jahre. 19% der Proben stammten von Patienten über 18 Jahren. Dabei handelte es sich um Isolate von Elternteilen bei denen ebenfalls ein *S. aureus* nachgewiesen wurde, nachdem eine *S. aureus*-Infektion bei ihrem Kind diagnostiziert worden war.

3.2 Probenentnahme

Die Probenentnahme erfolgte über den Zeitraum Mai 2002 bis Juli 2017 mit insgesamt 540 Proben. Entnahmestellen waren je nach Ort der bakteriellen Infektion vor allem Atemwege, Blutwege, Gastrointestinaltrakt, Haut oder Weichteile und Wunden; weniger häufige Entnahmestellen waren Augen, Knochen oder Gelenke, Urogenitaltrakt, Zentralnervensystem und zentraler Venenkatheter. Die Blutkulturen wurden entweder über einen zentralvenösen Katheter oder durch Punktion entnommen. Die restlichen Proben entstammten Abstrichen aus infizierten Körperregionen. Nach der Probenentnahme fand zunächst eine mikrobiologische Untersuchung zur Diagnosestellung und Behandlung der Patienten statt. Anschließend sollten die Isolate lebensfähig über einen längeren Zeitraum gelagert werden. Dazu wurde das Cyrobank System (MAST Diagnostica GmbH, Reinfeld) verwendet. Hierbei befinden sich Kügelchen mit einer porösen Oberfläche in speziellen Röhrchen, an die sich Mikroorganismen vollständig binden. In dieser Form können sie bei -20°C gelagert werden. Für die Reaktivierung wurden die Isolate schrittweise wenige Tage zuvor auf Raumtemperatur aufgetaut und auf Columbia-Agarplatten mit 5% Schafsblut (Becton Dickinson GmbH, Heidelberg) ausgestrichen.

3.3 Kultivierung und Resistenzbestimmung

Für die Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MHK) wurde der Epsilon-Test (E-Test) verwendet. Die MHK beschreibt die kleinste Wirkstoffkonzentration eines Antibiotikums, bei der eine Erregervermehrung der Kultur noch verhindert wird. Beim E-Test handelt es sich um ein quantitatives Testverfahren, das gut reproduzierbare MHK-Wertbestimmungen liefert (Hsu et al., 2008).

Für die Empfindlichkeitsbestimmung wurden die Bakterienisolate zunächst immer frisch auf Columbia-Agarplatten angezüchtet. Dies erfolgte mithilfe des Dreiösenausstrichs zur Vereinzelung der Kolonien in der Bakterienkultur. Dabei wurde zuerst jeweils eine Kolonie mit einer sterilen Öse aufgenommen und auf der Platte ausgestrichen. Anschließend wurde die Bakteriendichte reduziert, indem eine zweite Öse durch diesen Ausstrich geführt wurde. Derselbe Vorgang wurde mit einer dritten Öse im zweiten Ausstrich wiederholt. Die Platten wurden anschließend bei 37° C mit CO₂ über Nacht inkubiert.



Abb. 3.1: Columbia-Agarplatte mit Dreiösenausstrich nach Inkubation über Nacht.

Am folgenden Tag wurden Suspensionen der jeweiligen Kulturen hergestellt. Dazu wurde zunächst eine möglichst einzeln liegende Kolonie mit einem sterilen Wattestäbchen von der Agarplatte aufgenommen. Diese Kolonie wurde in 2 mL NaCl-Lösung eingegeben. Anschließend wurde die optische Dichte mithilfe eines Densitometers (Densimat, bioMérieux Deutschland GmbH, Nürtingen) überprüft. Die optische Dichte der Bakteriensuspension entsprach dem McFarland-Standard 0,5 bis 1.



Abb. 3.2: Messung der optischen Dichte der Bakteriensuspension mit dem Densitometer.

Die nun hergestellte Suspension wurde mit einem sterilen Wattestäbchen auf zwei Mueller-Hinton-Agarplatten übertragen und gleichmäßig dicht ausgestrichen. Nach einer Ruhezeit von 15 Minuten bei Raumtemperatur wurden Antibiotikastreifen der Firma Liofilchem (Roseto degli Abruzzi, Italien) aufgelegt. Eine Skalierung auf dem Streifen gibt die exponentiell ansteigenden Wirkstoffkonzentration an der jeweiligen Stelle an. Alle 540 Isolate wurden im E-Test auf Vancomycin und Oxacillin getestet. Zusätzlich wurde pro Stamm ein Glycopeptide Resistance Detection (GRD)-Streifen zur Detektion von GISA- und hGISA-Phänotypen eingesetzt. Dabei handelt es sich um einen

Antibiotikastreifen mit doppelseitig vordefinierten Gradienten mit Vancomycin auf der einen Seite und Teicoplanin auf der anderen Seite. Insgesamt wurden pro Platte zwei Antibiotikastreifen, die in entgegengesetzter Richtung orientiert waren, aufgebracht.

Die Platten wurden anschließend bei 37° C über Nacht inkubiert, so dass das Antibiotikum in das Nährmedium diffundieren konnte und sich ein ellipsoider Hemmhof am Streifen ausbildete. Je nach Empfindlichkeit des Erregers variierte die Größe des entstandenen Hemmhofes. Am folgenden Tag konnten die MHK-Werte an dem Punkt, an dem die symmetrische Inhibitionsellipse den Teststreifen schneidet, direkt von der aufgedruckten Skala abgelesen werden.

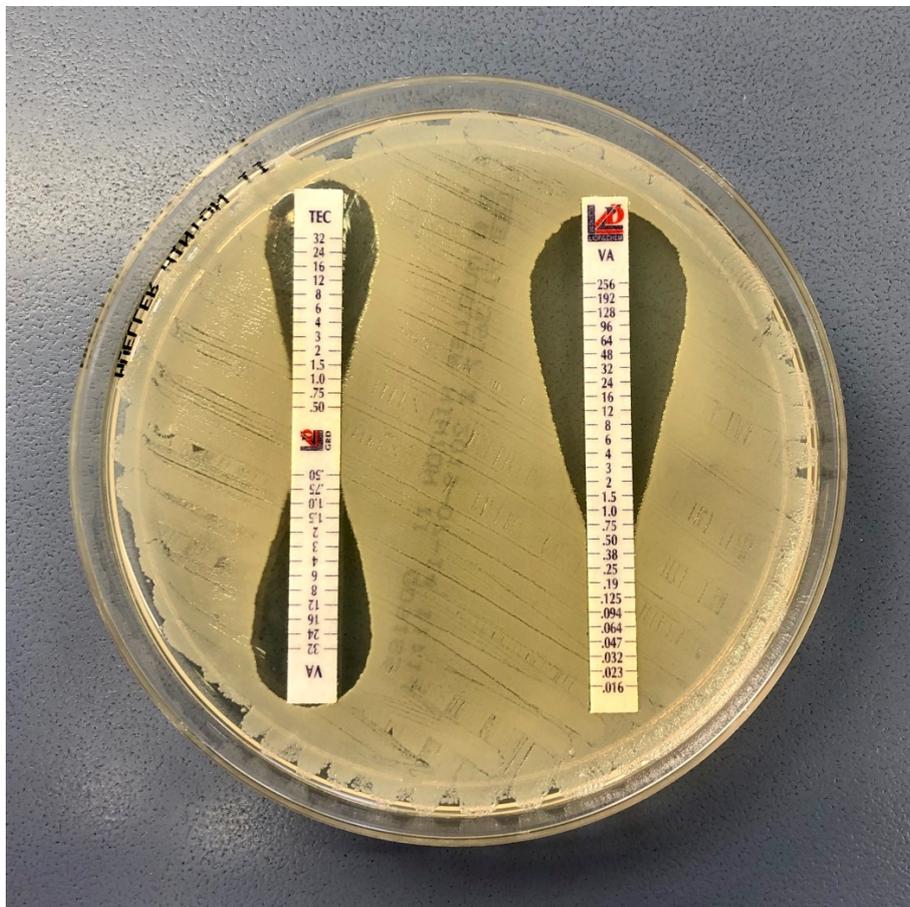


Abb. 3.3: Mueller-Hinton-Agarplatte mit ellipsoidem Hemmhof nach Ausstreichung der Bakteriensuspension und Inkubation über Nacht. Die Werte für den GRD-Teststreifen (links) sind für Teicoplanin (TEC) bei 1,0 μ g/mL und für Vancomycin (VA) bei 0,75 μ g/mL abzulesen. Der Wert des Vancomycin-Teststreifens wird auf 0,75 μ g/mL bestimmt.

3.4 Interpretation der MHK-Werte

Anhand von Grenzwerten konnten die gemessenen quantitativen MHK-Werte von Vancomycin und Oxacillin in eine qualitative Einteilung nach sensibel und resistent überführt werden. Dieser Klassifizierung lagen die Kriterien des European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) zugrunde. Bei Vancomycin gelten hierbei alle *S. aureus*-Stämme mit einer MHK von $\leq 2\mu\text{g/mL}$ als sensibel, jeder Wert darüber kennzeichnet einen resistenten Stamm. Bei Oxacillin liegt der Grenzwert ebenfalls bei $2\mu\text{g/mL}$. Eine MHK kleiner oder gleich diesem Wert charakterisiert einen sensiblen Stamm, Werte darüber einen resistenten.

Die Interpretation des GRD-Teststreifens dient dem Nachweis von hGISA- und GISA-Phänotypen. Dabei wird zunächst beurteilt, ob der abgelesene Wert für Vancomycin oder Teicoplanin $\geq 8\mu\text{g/mL}$ ist. In diesem Fall ist der Erreger GRD-positiv. Eine weitere Differenzierung dieser Isolate in hGISA und GISA ermöglicht der abgelesene Wert des Vancomycin-Standard-Streifens. Ein Wert von $< 4\mu\text{g/mL}$ gibt einen hGISA-Stamm an; ein Wert von $\geq 4\mu\text{g/mL}$ einen GISA-Stamm. Alle Isolate, bei denen sowohl der Wert für Vancomycin als auch der für Teicoplanin auf dem GRD-Teststreifen unter $8\mu\text{g/mL}$ liegt, gelten als GRD-negativ und sind definitionsgemäß sensibel gegenüber Glykopeptiden.

In Bezug auf Vancomycin wurden die erhobenen Daten im zeitlichen Verlauf hinsichtlich eines sich entwickelnden Trends beurteilt. Eine Bewertung erfolgte sowohl durch Betrachtung aller Einzelwerte im Verlauf der Zeit als auch mithilfe einer Einteilung der Proben nach Entnahmedatum in zeitliche Intervalle. Auch das Auftreten von Stämmen mit intermediärer Resistenz gegenüber Glykopeptiden wurde im zeitlichen Verlauf evaluiert.

3.5 Anteil von MRSA und MSSA

Die Beurteilung eines zeitlichen Trends der Methicillin-Resistenz konnte mit den durch den E-Test erlangten Daten nicht vorgenommen werden, da die Isolate nicht über den gesamten Zeitraum nach demselben Schema eingefroren wurden. Um eine Aussage über das Resistenzverhalten von *S. aureus*-Stämmen gegenüber Methicillin zu treffen, wurden Antibiogramme von 15852 Patienten aus einem Zeitraum von 2002 bis 2017 ausgewertet und über den zeitlichen Verlauf evaluiert.

Die Identifikation der Mikroorganismen erfolgte bis zum Jahr 2011 mit API ID-Teststreifen (bioMérieux Deutschland GmbH, Nürtingen), Oxacillin-Platten und dem Mec-A-Test. Seit 2011 wird die Resistenz mit dem Vitek (bioMérieux Deutschland GmbH, Nürtingen), Oxacillin-Platten und dem Mec-A-Test bestimmt.

3.6 Auswertung der Daten

Um eine mögliche Verfälschung des Ergebnisses zu vermeiden, wurde pro Patient ein Isolat innerhalb von sechs Monaten zur Auswertung herangezogen.

Die erhobenen Daten der mikrobiologischen Auswertung wurden mit dem Programm Excel 16.0 (Microsoft, Redmond, USA) erfasst und analysiert. Die deskriptive Statistik umfasste die Berechnung von prozentualen Häufigkeiten, Mittelwerten und Medianen. Die graphische Darstellung der Daten erfolgte ebenfalls mit dem Programm Excel 16.0.

Eine Beurteilung der statistischen Signifikanz zwischen zwei Untersuchungsgruppen als nicht annähernd normalverteilte Variablen wurde mithilfe des Mann-Whitney-U-Tests (Mann, Whitney 1947) getroffen. Ein Vergleich von Häufigkeiten bei nominalskalierten Variablen konnte mit dem Chi-Quadrat-Test (χ^2 -Test; Pearson 1900) bewertet werden. Mithilfe dieses Tests konnte eine Aussage darüber gemacht werden, ob sich beobachtete Häufigkeiten signifikant von erwarteten Werten unterscheiden.

Beide statistischen Tests wurden mit dem Programm Excel 16.0 berechnet. Die Signifikanzniveaus wurden auf $p \leq 0,05$ = signifikant (*), $p \leq 0,01$ = sehr signifikant (**) und $p \leq 0,001$ = hoch signifikant (***) festgelegt.

4 Ergebnisse

4.1 Bakterienisolate und Entnahmestellen

Insgesamt wurden 540 Proben auf ihre Empfindlichkeit gegenüber Vancomycin und Oxacillin untersucht. Zusätzlich fand eine Detektion von intermediärer Resistenz gegenüber Glykopeptiden und eine Differenzierung der Stämme in sensibel, hGISA und GISA statt. Je nach Zeitpunkt der Probenentnahme konnten 200 Isolate einem frühen zeitlichen Intervall von 2002 bis 2009 zugeordnet werden und 340 Isolate einem späten zeitlichen Intervall von 2010 bis 2017.

Ort der Probenentnahme waren mit dem weitaus höchsten Anteil von 62% die Atemwege. Den größten Beitrag hiervon lieferten Nasen- und Rachenabstriche mit jeweils 40%. Der Anteil der Entnahmen aus Wunden, Blutgefäßen, Gastrointestinaltrakt, Haut oder Weichteilen lag zwischen 7% bis 10%. Einen geringen Anteil von jeweils 1% machten die Entnahmestellen Augen, Knochen oder Gelenke, Urogenitaltrakt, Zentralnervensystem und zentraler Venenkatheter aus (Abb. 4.1).

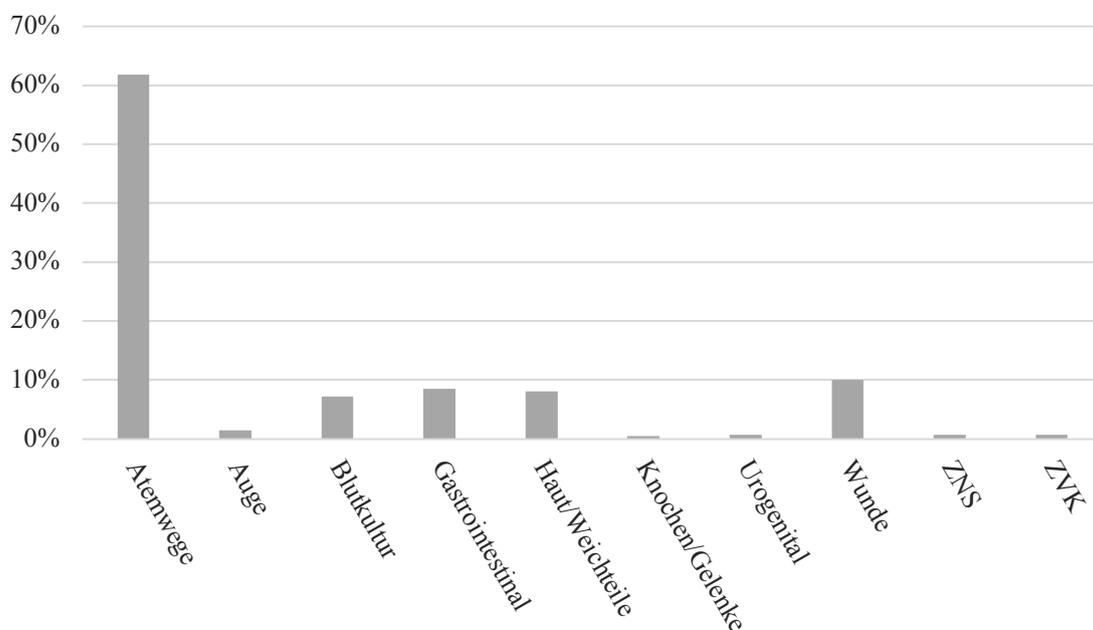


Abb. 4.1: Prozentuale Häufigkeit der Entnahmestellen.

Bei den meisten Proben handelte es sich um neu identifizierte MRSA- und MSSA-Isolate (90%). 10% der Proben entstammten invasiven *S. aureus*-Infektionen. Dabei erfolgte der Erregernachweis in 74% der Fälle über eine Blutkultur. Im Liquor sowie über einen zentralen Venenkatheter konnten jeweils 8% der invasiven *S. aureus*-Infektionen diagnostiziert werden. Weitere 6% der schwerwiegenden Infektionen wurden in Knochen oder Gelenken nachgewiesen. Ein kleiner Anteil von jeweils 1% wurde in den Atemwegen, dem Gastrointestinaltrakt und dem Urogenitaltrakt entnommen.

4.2 Sensibilität der Isolate gegenüber Vancomycin

Die MHK-Wertbestimmung von Vancomycin lieferte über den gesamten Zeitraum betrachtet folgende Resultate: Der niedrigste gemessene MHK-Wert betrug $0,38\mu\text{g/mL}$ und kam insgesamt dreimal vor (1%). Eine MHK von $0,5\mu\text{g/mL}$ wurde in 6% der Isolate detektiert. Weitere 27% wiesen eine MHK von $0,75\mu\text{g/mL}$ auf. Der weitaus größte Anteil mit 42% der Proben hatte eine MHK von $1\mu\text{g/mL}$. Bei 21% der Proben wurde eine MHK von $1,5\mu\text{g/mL}$ gemessen und 4% aller Isolate hatten eine MHK von $2\mu\text{g/mL}$. Höhere Werte wurden nicht bestimmt (Abb. 4.2). Nach den Kriterien des European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) waren demnach alle MHK-Werte für Vancomycin im sensiblen Bereich.

Die Bestimmung der MHK_{50} ergab einen Wert von $1\mu\text{g/mL}$. Dieser Wert beschreibt die Konzentration, bei der 50% der getesteten Bakterien *in vitro* in ihrem Wachstum gehemmt werden. Gleiches gilt für 90% der Bakterien bei der MHK_{90} . Der Wert hierfür betrug $1,5\mu\text{g/mL}$.

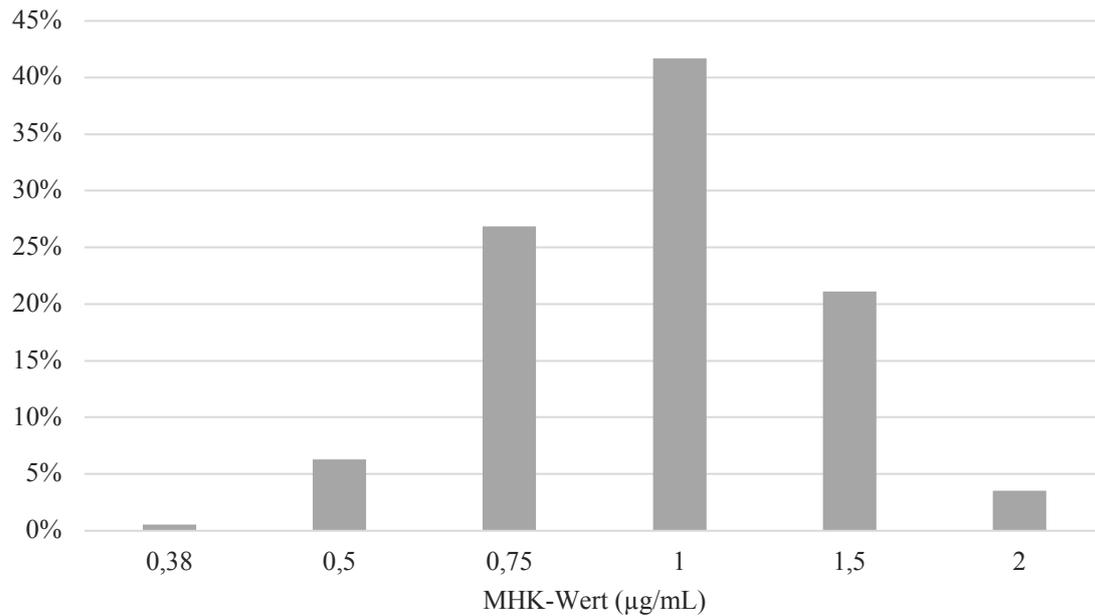


Abb. 4.2: Relative Häufigkeit der gemessenen Vancomycin-MHK-Werte.

4.2.1 Zeitlicher Trend der Sensibilität

Im zeitlichen Verlauf konnte ein Abfall der MHK-Werte nachgewiesen werden. Abb. 4.3 zeigt die Verteilung aller ermittelten MHK-Werte dargestellt gegen die Zeit. Mit einem Gefälle von $0,0004\mu\text{g/mL}$ pro Isolat gibt die Trendlinie die Senkung der MHK-Werte an.

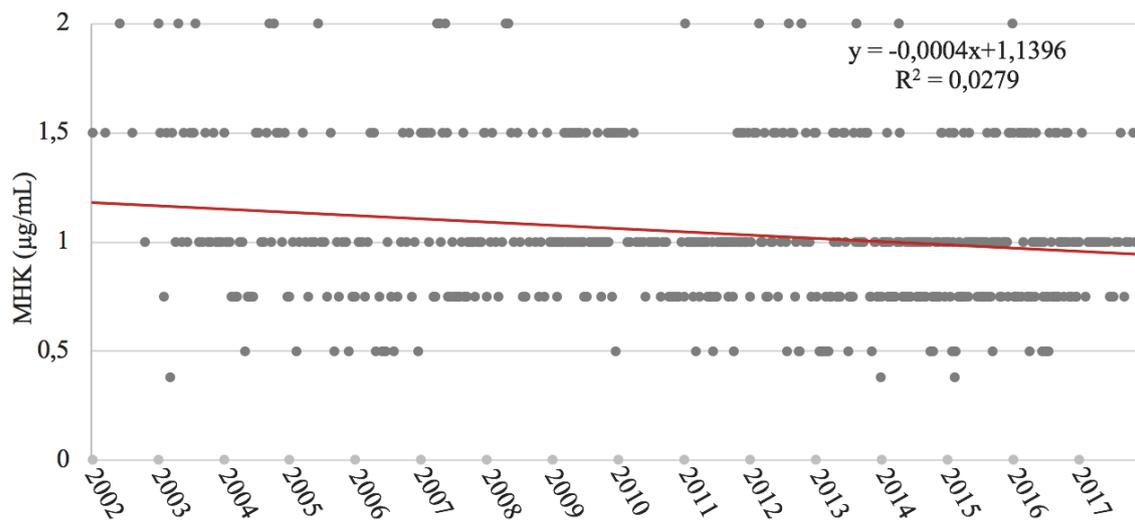


Abb. 4.3: Verteilung aller Vancomycin-MHK-Werte im zeitlichen Verlauf mit Trendlinie.

Abb. 4.4 stellt einen zunehmenden Prozentsatz an Isolaten im niedrigen MHK-Bereich dar, auch wenn die einzelnen Werte einer hohen Schwankungsbreite unterlagen. Der Trend kleiner MHK-Werte mit $0,38\mu\text{g/mL}$, $0,5\mu\text{g/mL}$, $0,75\mu\text{g/mL}$ und $1\mu\text{g/mL}$ ist, über den gesamten Untersuchungszeitraum betrachtet, steigend. Die größte Zunahme findet sich hierbei bei einer MHK von $0,75\mu\text{g/mL}$ mit einer Steigung von $1,3\%$ pro Jahr. Die Häufigkeit an *S. aureus*-Isolaten mit einer MHK von $1,5\mu\text{g/mL}$ und $2\mu\text{g/mL}$ ist hingegen abnehmend. Diese Senkung ist bei einer MHK von $1,5\mu\text{g/mL}$ besonders hoch mit einem Gefälle $1,5\%$ pro Jahr und prozentualen Anteilen zwischen 7 und 60% pro Jahr. Für eine MHK von $2\mu\text{g/mL}$ lag der prozentuale Anteil pro Jahr zwischen 0 und 20% . Sowohl für eine MHK von $1,5\mu\text{g/mL}$, als auch von $2\mu\text{g/mL}$ konnte eine rückläufige Tendenz insbesondere bei den Proben zu Beginn des Untersuchungszeitraums aus den Jahren 2002 bis 2006 beobachtet werden.

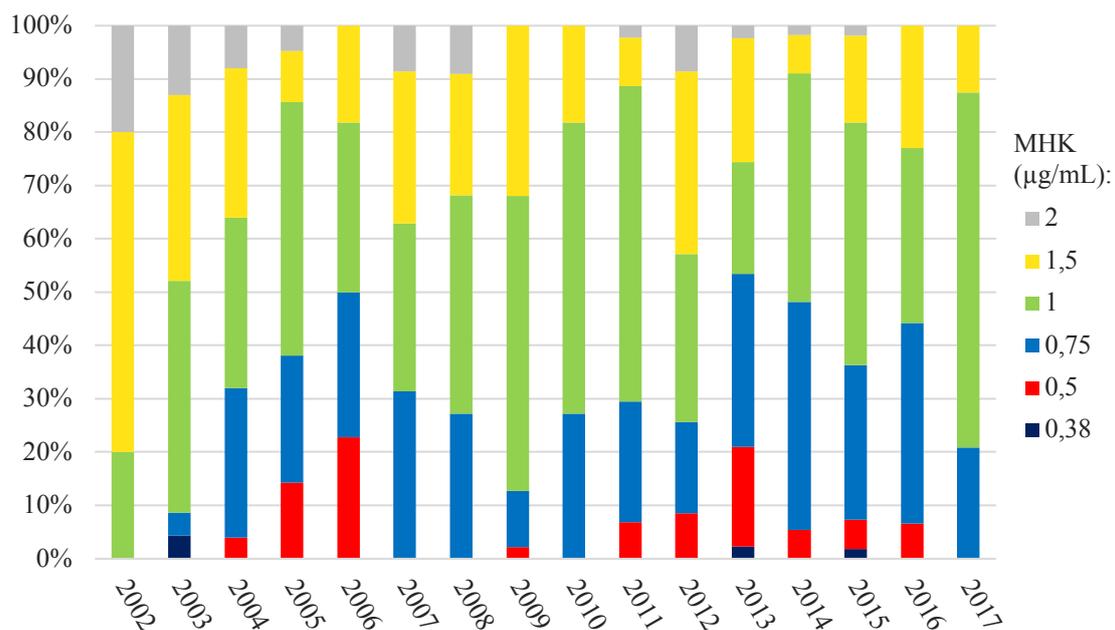


Abb. 4.4: Prozentualer Anteil der MHK-Werte von Vancomycin pro Jahr.

Die Analyse der Mittelwerte pro Jahr ergab trotz starker Schwankungen über den gesamten Zeitraum betrachtet eine deutliche Senkung der MHK-Werte im Mittel. Ein minimaler Wert von $0,91\mu\text{g/mL}$ wurde im Jahr 2006 bestimmt und ein maximaler Wert von $1,5\mu\text{g/mL}$ zu Beginn des Untersuchungszeitraums im Jahr 2002 (Abb. 4.5).

Ein ähnliches Ergebnis zeigte sich bei der Betrachtung der Medianwerte. Der Median aller MHK-Werte betrug $1\mu\text{g/mL}$. Ein Maximum wurde im Jahr 2002 erreicht, minimale Werte in den Jahren 2006 und 2013. In Abb. 4.6 gibt die Trendlinie die abnehmende Tendenz über die Zeit an.

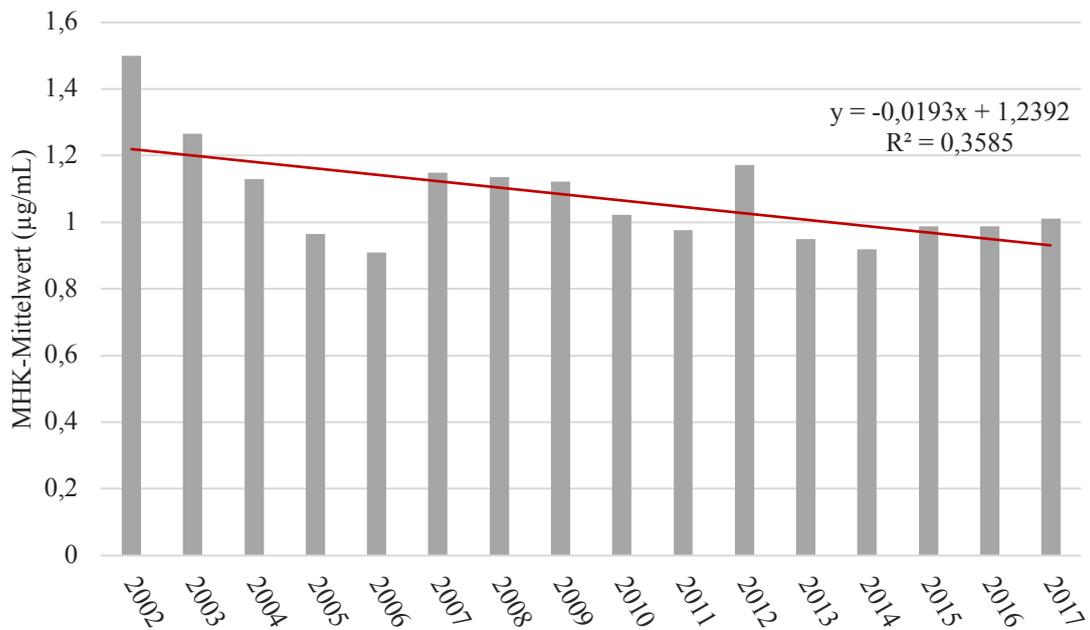


Abb. 4.5: Mittelwerte der Vancomycin-MHK-Werte pro Jahr mit Trendlinie.

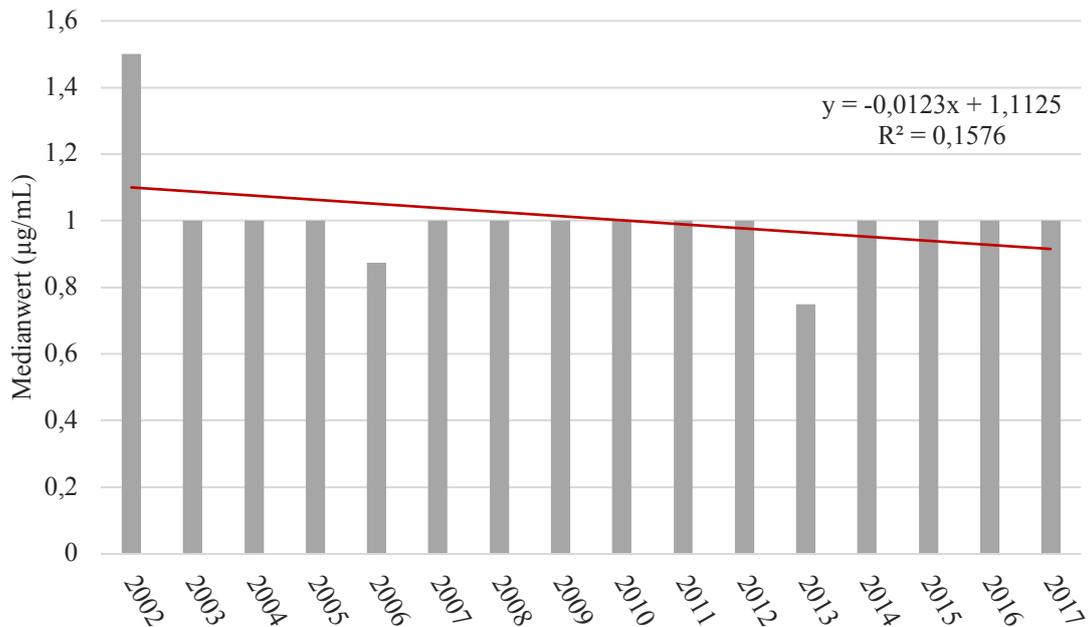


Abb. 4.6: Medianwerte der Vancomycin-MHK-Werte mit Trendlinie.

Auch im Vergleich zwischen frühem und spätem Zeitintervall wird die Abnahme hoher MHK-Werte zugunsten kleiner deutlich. Die Tendenz der MHK-Werte von $0,38\mu\text{g/mL}$ bis $1\mu\text{g/mL}$ ist zunehmend, die Tendenz höherer Werte ist hingegen abnehmend. Während in den Jahren 2010 bis 2017 bei 80% der Proben eine MHK von $\leq 1\mu\text{g/mL}$ gemessen wurde, waren es in den Jahren 2002-2009 nur 67% (Abb. 4.7). Der Mittelwert der MHK-Werte betrug $1,1\mu\text{g/mL}$ im frühen und $0,99\mu\text{g/mL}$ im späten Zeitintervall ($p < 0,001$; U-Test).

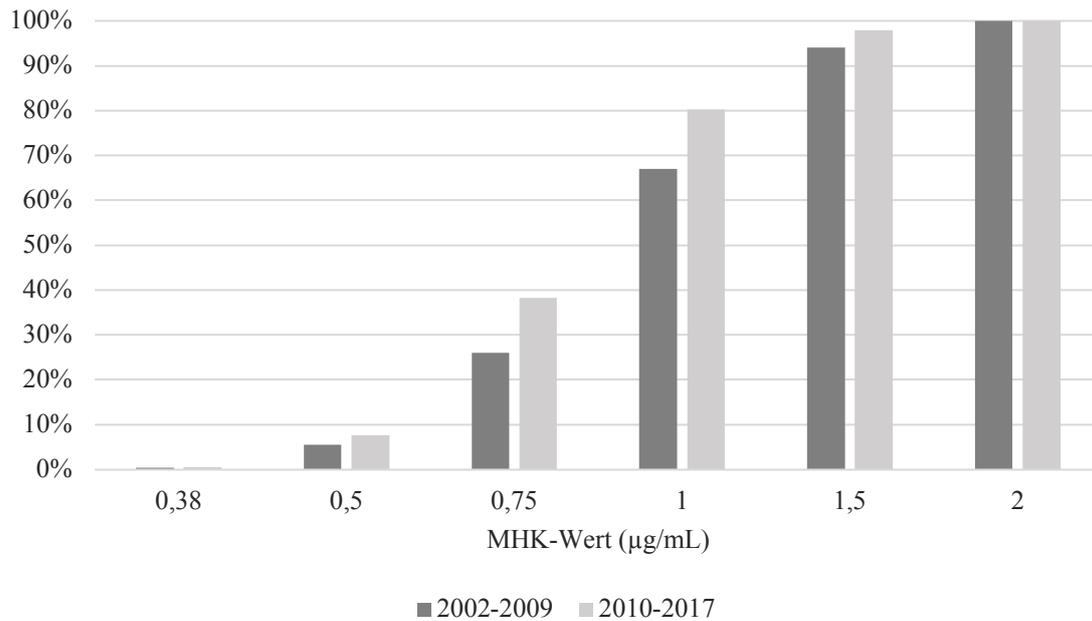


Abb. 4.7: Kumulierter prozentualer Anteil der Vancomycin-MHK-Werte pro Zeitintervall.

4.2.2 Sensibilität gegenüber Vancomycin im Vergleich zwischen MRSA- und MSSA-Isolaten

Mit einem Anteil von 83% war eine deutliche Mehrheit der Stämme resistent gegenüber Methicillin; nur 17% der Bakterien waren MSSA-Isolate.

Für die Gesamtheit der Proben ergab sich kein signifikanter Unterschied bei der Häufigkeit der gemessenen MHK-Werte von Vancomycin im Vergleich zwischen MRSA- und MSSA-Isolaten ($p=0,79$; U-Test; Abb. 4.8). Der Mittelwert aller MHK-Werte betrug $1\mu\text{g/mL}$; der Medianwert wurde ebenfalls auf $1\mu\text{g/mL}$ ermittelt. Beide Werte unterschieden sich nicht zwischen MRSA- und MSSA-Proben und lagen jeweils auch bei $1\mu\text{g/mL}$.

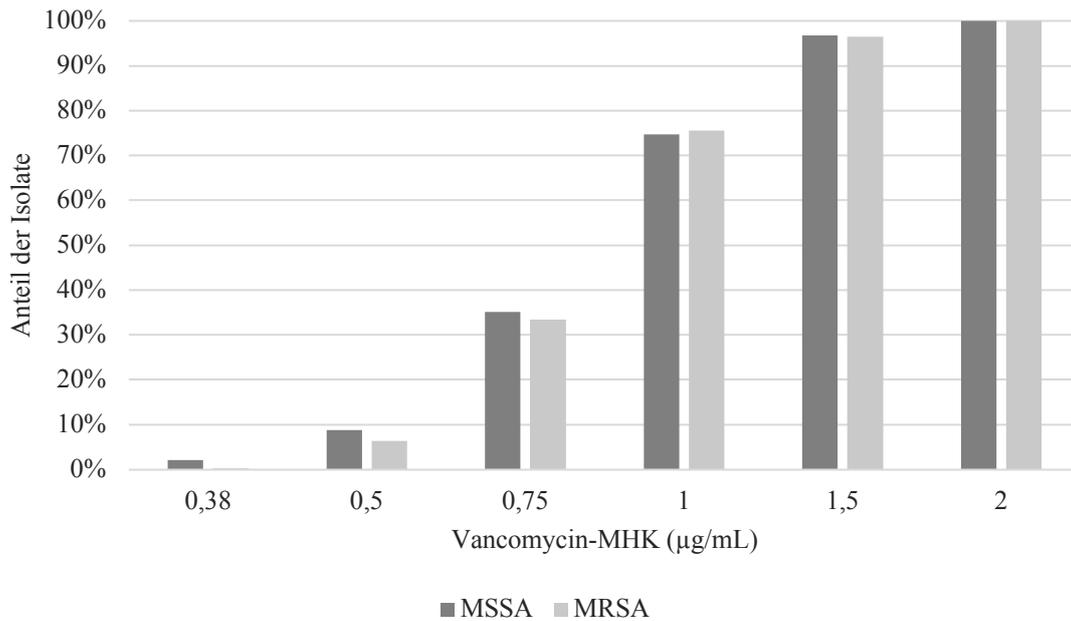


Abb. 4.8: Kumulierter prozentualer Anteil der Vancomycin-MHK-Werte im Vergleich zwischen MRSA- und MSSA-Isolaten.

Im Vergleich der Zeitintervalle wurden ebenfalls nur geringfügige Unterschiede bezüglich der Häufigkeit der ermittelten Vancomycin-MHK-Werte zwischen MRSA- und MSSA-Isolaten festgestellt. Kleine MHK-Werte von $\leq 1 \mu\text{g/mL}$ zeigten bei MRSA-Stämmen eine Zunahme von 67% auf 81%. Bei MSSA-Stämmen war ein im Vergleich geringerer Anstieg von 68% auf 76% zu verzeichnen. Bei MHK-Werten von $1,5 \mu\text{g/mL}$ wurde bei MRSA ein Rückgang von 28% auf 16% ermittelt, wohingegen bei MSSA ein leichter Anstieg von 21% auf 22% festgestellt wurde. Der Rückgang hoher gemessener MHK-Werte von $2 \mu\text{g/mL}$ war bei MRSA-Isolaten von 6% auf 2% weniger prägnant als bei MSSA-Isolaten von 11% auf 1% (MRSA: $p=0,0017$; χ^2 ; Abb. 4.9; MSSA: $p=0,14$; χ^2 ; Abb. 4.10).

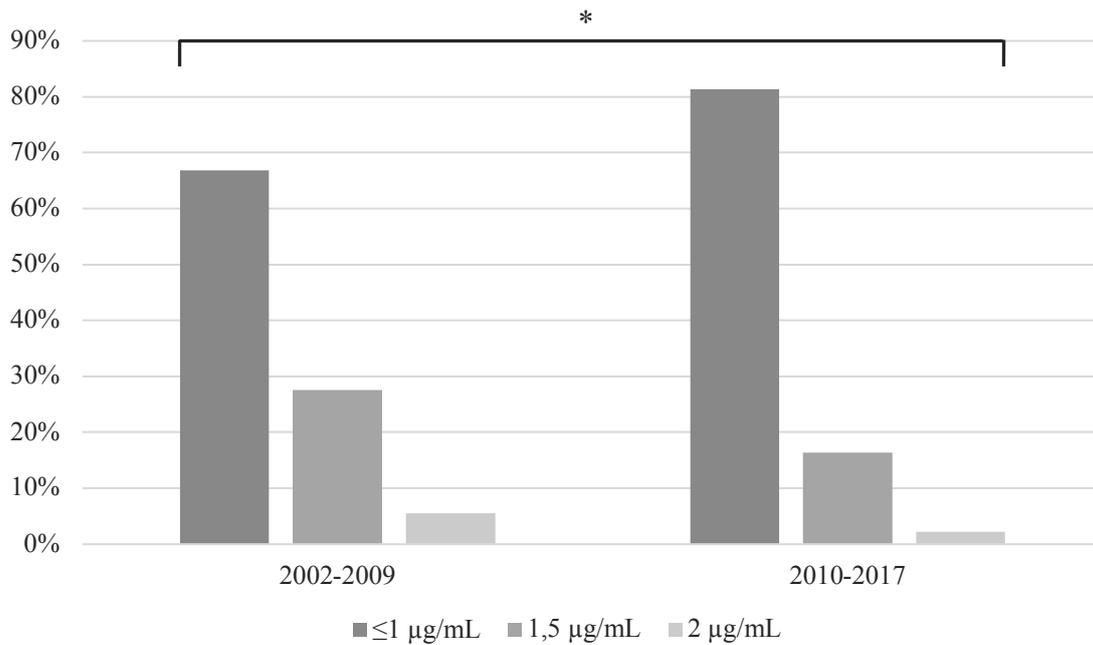


Abb. 4.9: Zeitlicher Trend der Vancomycin-Werte bei MRSA-Stämmen sowie die Signifikanz, die sich aus dem Chi-Quadrat-Test ergibt ($p \leq 0,05$ = signifikant (*)).

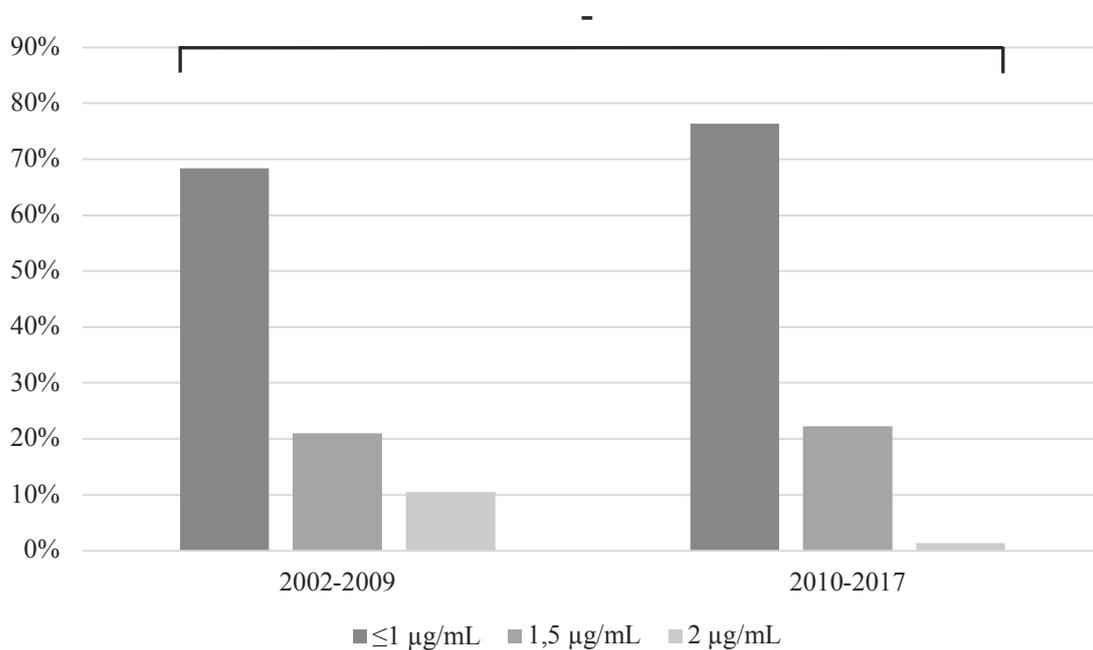


Abb. 4.10: Zeitlicher Trend der Vancomycin-Werte bei MSSA-Stämmen. Mit einem p-Wert von 0,14 (χ^2) ergab der Vergleich der Jahresintervalle keine statistische Signifikanz.

4.3 Auftreten von hGISA und GISA

Eine Differenzierung der Stämme in sensibel, hGISA und GISA konnte mithilfe des GRD-Teststreifens vorgenommen werden. Insgesamt zeigten 14% aller Proben eine heterogene Resistenz gegenüber Glykopeptiden. Proben mit einer intermediären Resistenz konnten nicht nachgewiesen werden (Abb. 4.11).

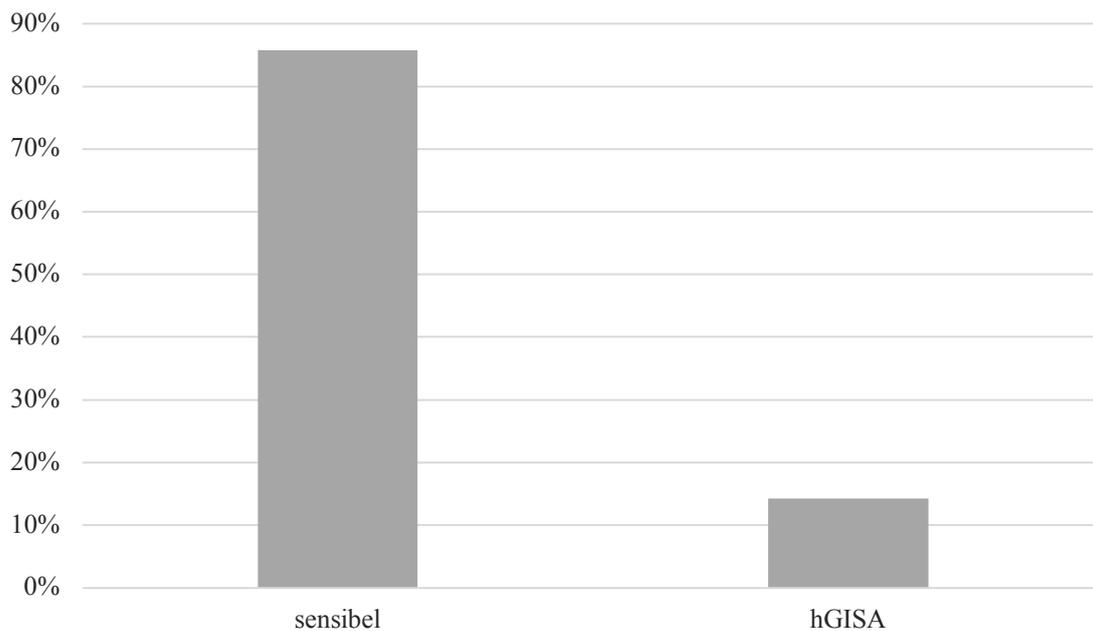


Abb. 4.11: Prozentualer Anteil von sensibel und hGISA.

4.3.1 Zeitlicher Trend des Auftretens von hGISA

Im Hinblick auf das Vorkommen von hGISA-Stämmen zeigte sich eine rückläufige Tendenz innerhalb der zur Auswertung herangezogenen Zeitperiode. In Abb. 4.12 ist die prozentuale Häufigkeit des sensiblen und hGISA Phänotypen pro Jahr dargestellt. Obwohl die einzelnen Werte einer gewissen Schwankungsbreite unterlagen, wird eine Abnahme von hGISA zugunsten sensibler Stämme deutlich. Der Anteil von hGISA betrug zwischen 0% und 40% pro Jahr. Die Trendlinie in Abb. 4.13 zeigt einen beträchtlichen Rückgang trotz starker Fluktuation. In den Jahren 2011 und 2013 wurden keine Isolate als hGISA identifiziert.

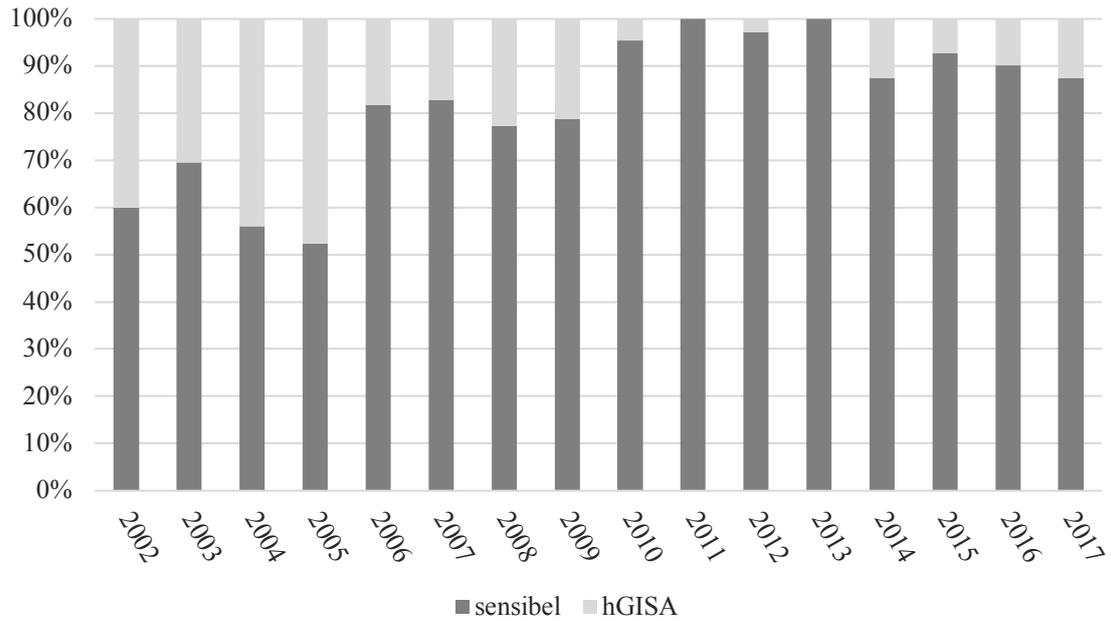


Abb. 4.12: Prozentualer Anteil von sensiblen Stämmen und hGISA pro Jahr.

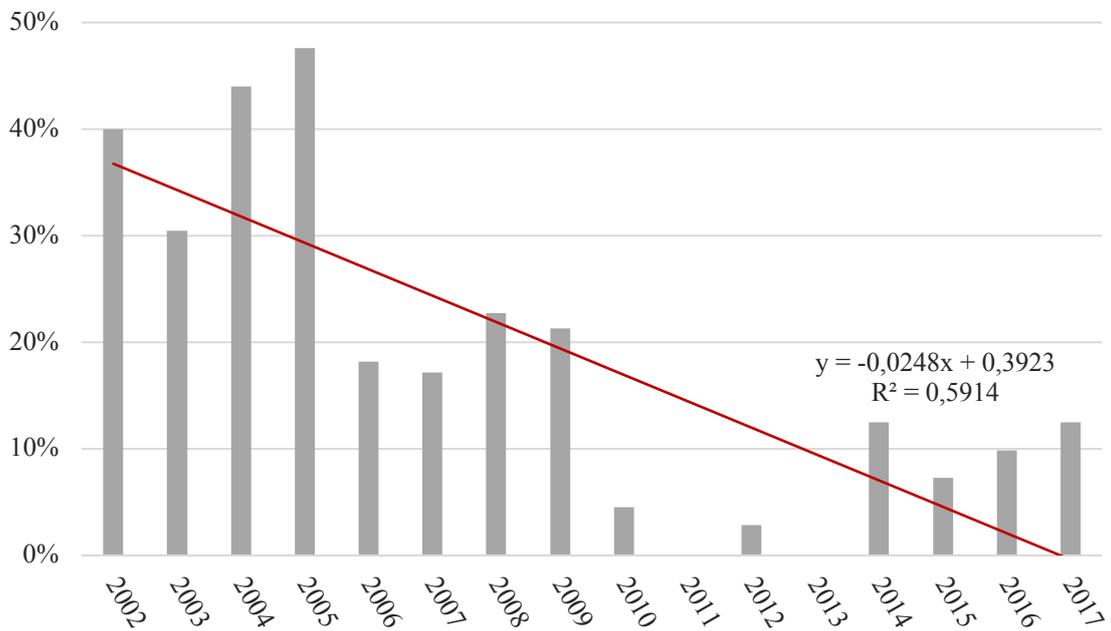


Abb. 4.13: Prozentualer Häufigkeit der hGISA-Stämme pro Jahr mit Trendlinie.

Im Vergleich zwischen frühem und spätem Zeitintervall wird ebenfalls der abnehmende Trend von hGISA-Stämmen deutlich. Während im frühen Zeitintervall 28% aller Isolate diesem Phänotyp zuzuordnen waren, war es im späten Zeitintervall nur noch 6%. ($p < 0,001$; χ^2 ; Abb. 4.14).

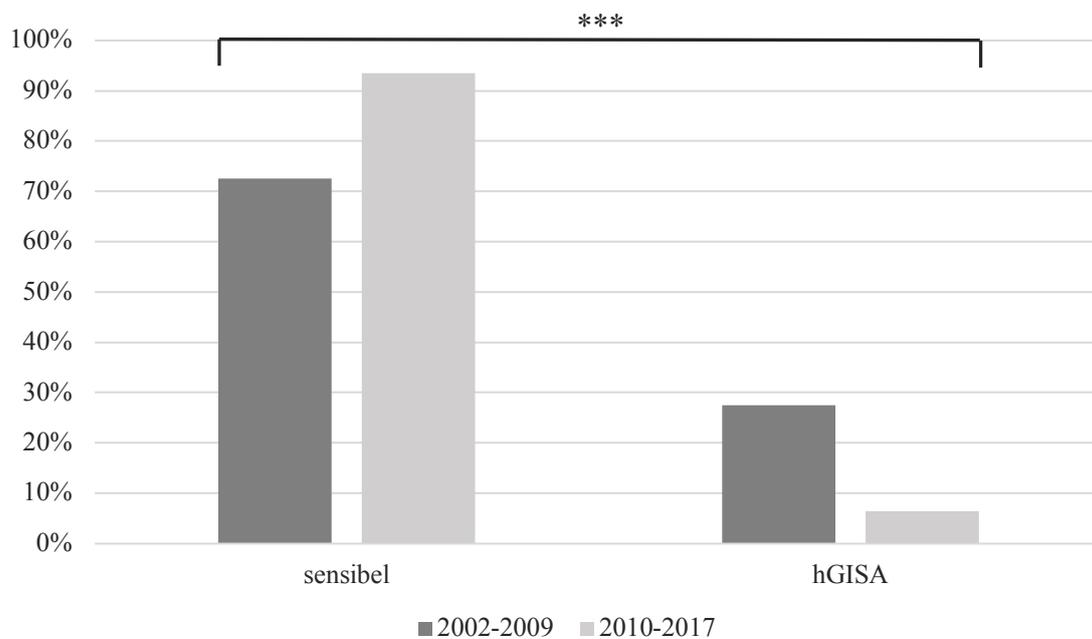


Abb. 4.14: Prozentualer Anteil von sensiblen und hGISA-Stämmen pro Zeitintervall ($p < 0,001$; χ^2).

4.3.2 Auftreten von hGISA im Vergleich zwischen MRSA- und MSSA-Isolaten

Hinsichtlich des Auftretens von Stämmen mit intermediärer Resistenz im Vergleich zwischen MRSA- und MSSA-Isolaten ergaben sich nur geringfügige Unterschiede. Der Anteil an sensiblen Stämmen war mit 85% bei MRSA-Isolaten geringer als bei MSSA-Isolaten mit 89%. Der Anteil an hGISA machte 15% bei MRSA-Isolaten aus und 11% bei MSSA-Isolaten. Insgesamt waren die Differenzen ohne statistische Signifikanz ($p = 0,33$; χ^2 ; Abb. 4.15).

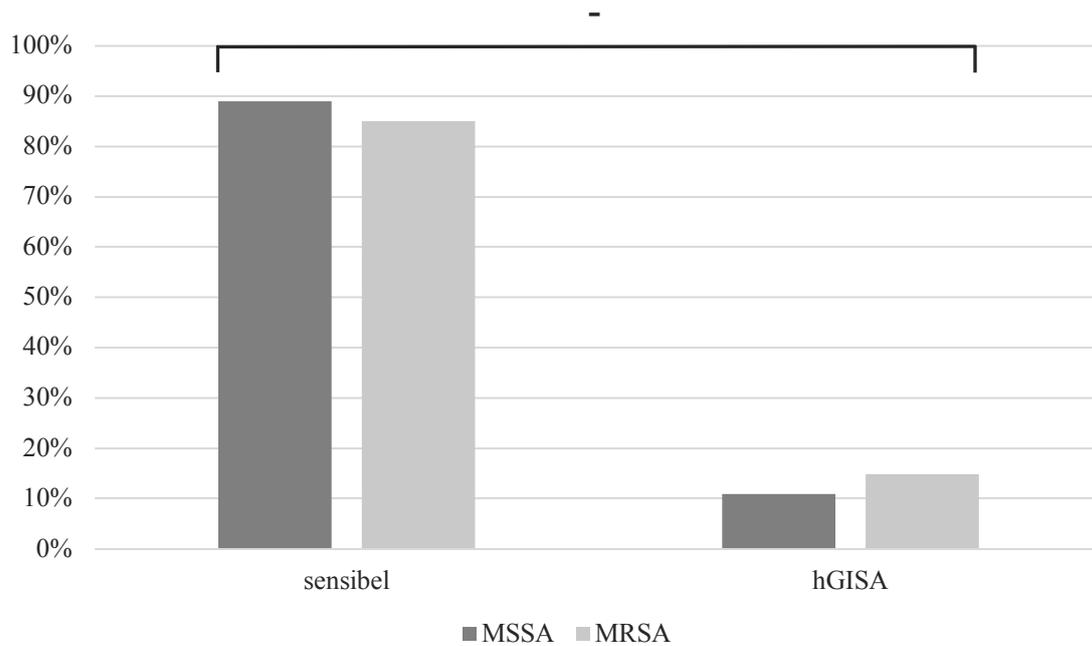


Abb. 4.15: Prozentualer Anteil von sensiblen Stämmen und hGISA von MRSA- und MSSA-Stämmen im Vergleich ($p=0,33$; χ^2).

4.3.3 Mittelwert und Median der Vancomycin-MHK bei sensiblen Stämmen und hGISA

Bei der Analyse des MHK-Mittelwertes von Vancomycin bei sensiblen Stämmen im Vergleich zum hGISA-Phänotypen zeigte sich eine Korrelation niedriger Vancomycin-MHK-Werte mit sensiblen Stämmen und hoher Vancomycin-MHK-Werte mit einer heterogenen Resistenz gegenüber Glykopeptiden. Während die MHK von sensiblen Stämmen im Mittel bei $1\mu\text{g/mL}$ lag, betrug der Mittelwert bei hGISA $1,2\mu\text{g/mL}$ ($p<0,001$; U-Test; Abb. 4.16).

In Abb. 4.17 ist der Anteil von sensiblen Stämmen und hGISA in Abhängigkeit von der Vancomycin-MHK dargestellt. Die Unterschiede sind statistisch hoch signifikant ($p<0,001$; U-Test).

Bei Betrachtung der Medianwerte zeigt sich kein Unterschied. Der Median betrug sowohl für sensible Stämme, als auch für hGISA $1\mu\text{g/mL}$.

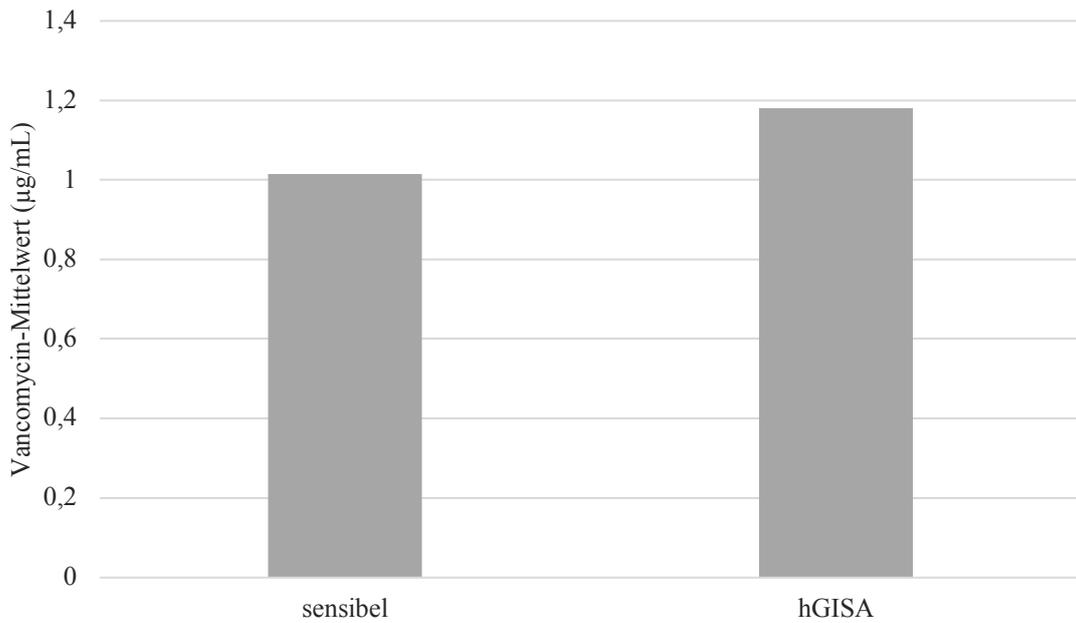


Abb. 4.16: Mittelwert der Vancomycin-MHK bei sensiblen Stämmen, hGISA und GISA.

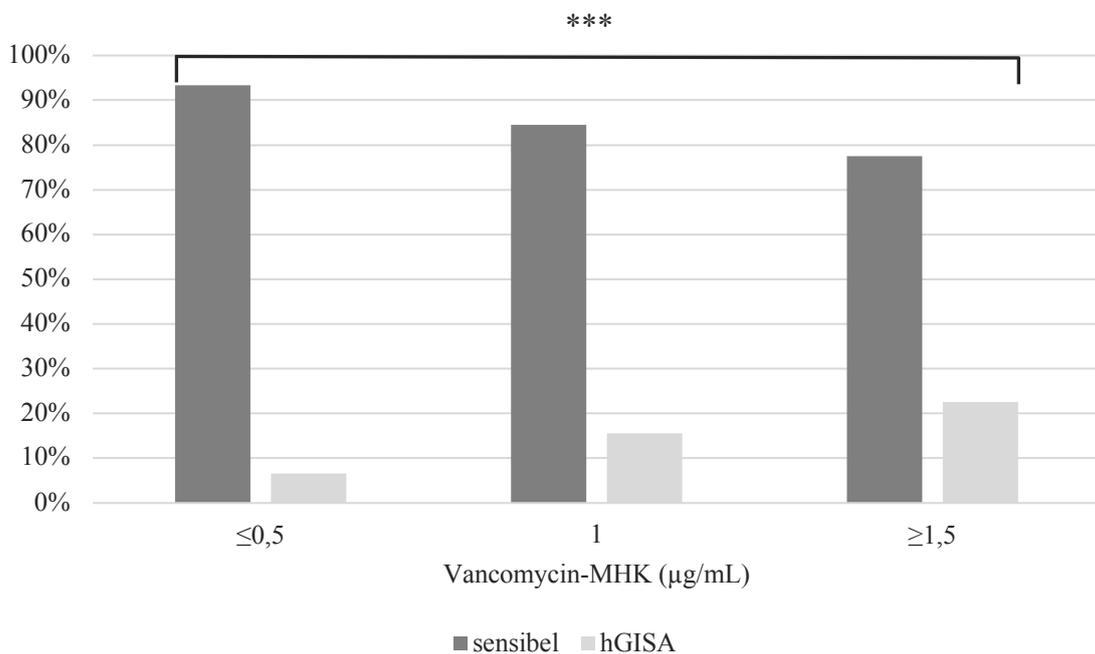


Abb. 4.17: Prozentuale Häufigkeit von sensiblen Stämmen und hGISA in Abhängigkeit von der Vancomycin-MHK ($p < 0,001$; U-Test).

4.4 Sensibilität von *S. aureus* gegenüber Methicillin

Zur Beurteilung der Methicillin-Sensitivität wurden, unabhängig von den durch den E-Test erlangten Daten, Antibiogramme von 15852 Patienten ausgewertet.

Im Mittel lag die Resistenz der *S. aureus*-Stämme gegenüber Methicillin über den gesamten Zeitraum betrachtet bei 14%. Die Bewertung des prozentualen Anteils an resistenten Stämmen pro Jahr zeigte über den gesamten Untersuchungszeitraum betrachtet eine zunehmende Tendenz. In den letzten Jahren des Beobachtungszeitraums von 2012 bis 2017 war der Trend an MRSA-Isolaten jedoch leicht abnehmend. Die jährliche Resistenzrate schwankte zwischen 2% und 25%, wobei der minimale Wert im Jahr 2002 erreicht wurde und der maximale im Jahr 2009 (Abb. 4.18).

Die Trendlinie in Abb. 4.19 zeigt die zeitliche Zunahme von resistenten Stämmen mit einer Steigung von 0,32% pro Jahr.

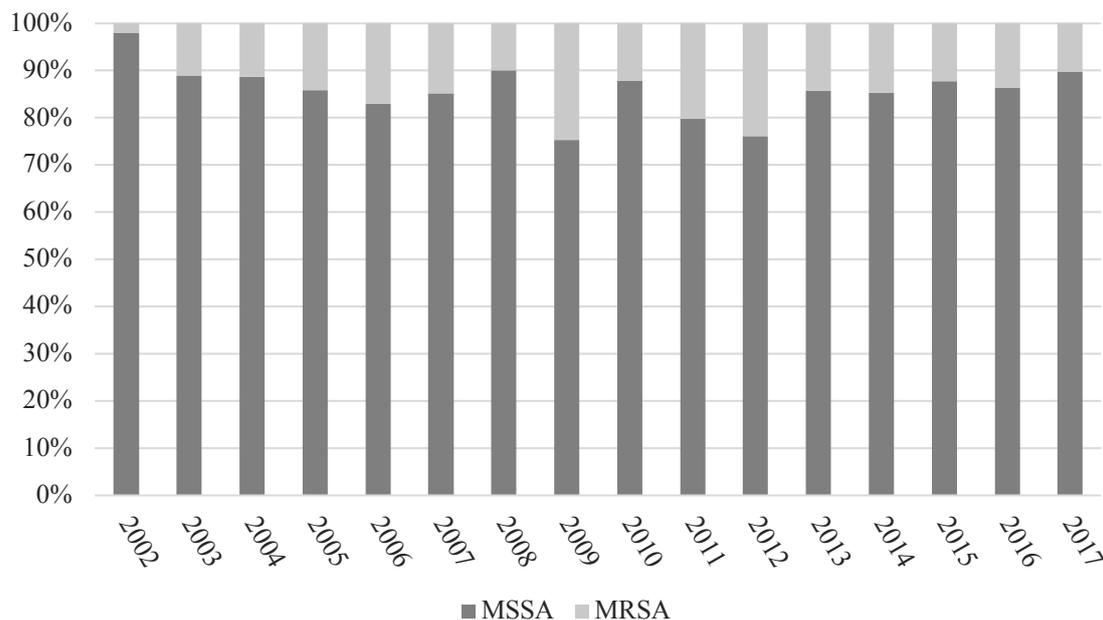


Abb. 4.18: Prozentualer Anteil von MRSA und MSSA pro Jahr.

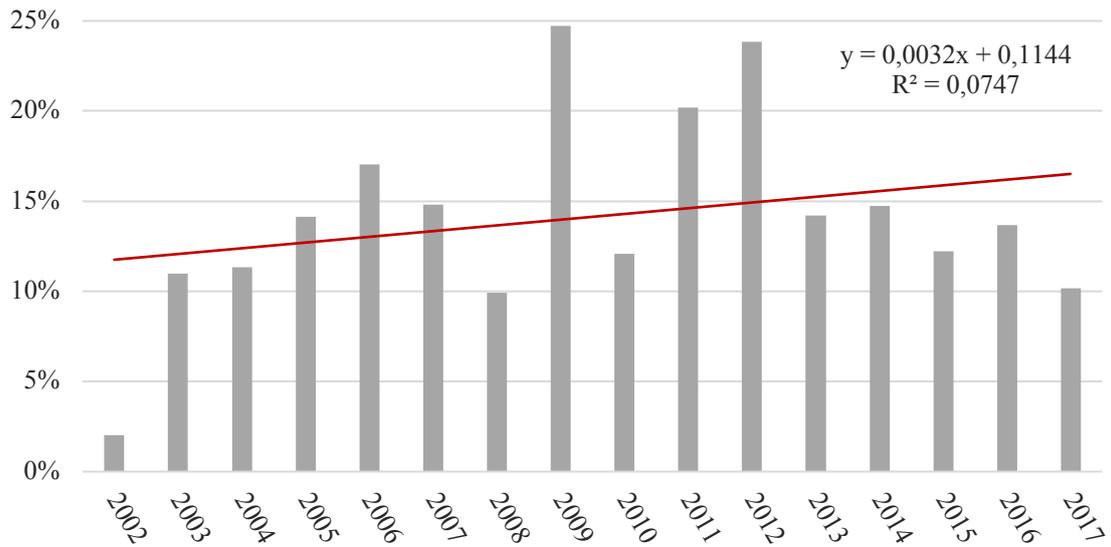


Abb. 4.19: Prozentualer Anteil von MRSA pro Jahr und Trendlinie.

Bei Betrachtung des MRSA-Anteils in zeitlichen Intervallen, die jeweils die gleiche Zeitspanne umfassen, zeigte sich, dass der Anteil an MRSA zunächst angestiegen ist. Im letzten Zeitintervall ist der Anteil jedoch auf einen Wert von 13% abgefallen im Vergleich zu 18% im Intervall zuvor. Unterschiede in den Anteilen von MRSA und MSSA waren statistisch hoch signifikant ($p < 0,001$; χ^2 ; Abb. 4.20).

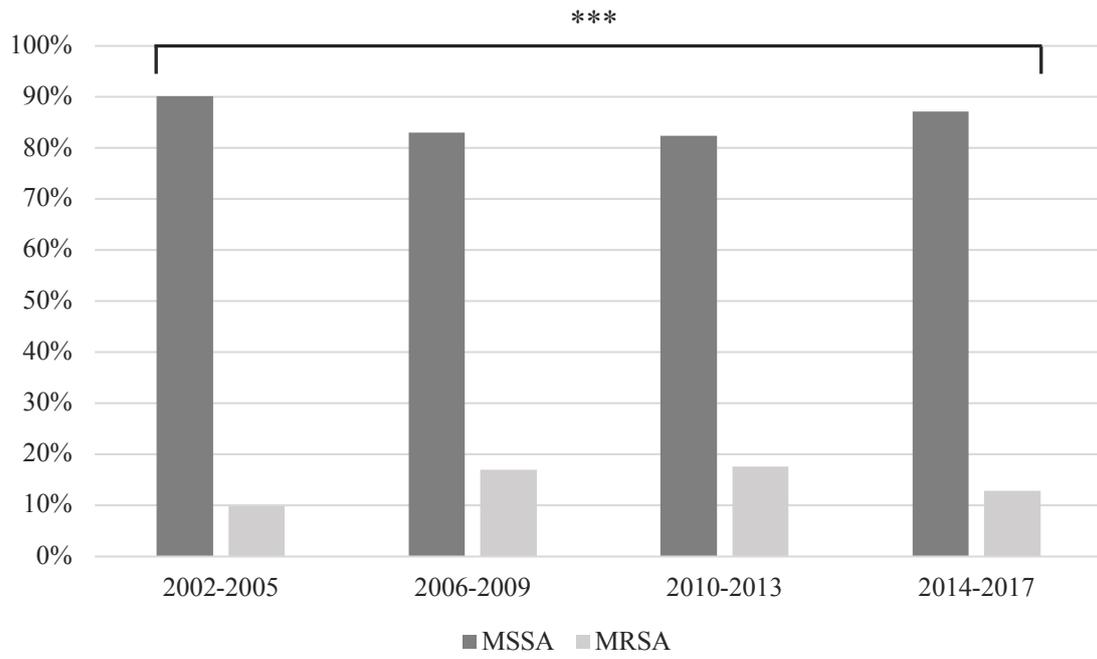


Abb. 4.20: Anteil von MRSA und MSSA pro Zeitintervall ($p < 0,001$; χ^2).

5 Diskussion

5.1 Empfindlichkeit von *S. aureus* gegenüber Methicillin

S. aureus ist normalerweise ein Bakterium mit hoher Empfindlichkeit gegenüber vielen Antibiotikaklassen. Es besitzt jedoch die Fähigkeit, multiple Resistenzen zu erwerben (French, 2005). Dieses Verhalten lässt sich durch standardisierte Tests (E-Test, Agardilutionsmethode, Bouillon-Dilutionsverfahren, Populationsuntersuchungen) im Labor verifizieren. Über die MHK als entscheidendes Kriterium kann eine fundierte Aussage über die Wirksamkeit eines Antibiotikums gegenüber einem Bakterium getroffen werden.

Bereits zwei Jahre nach der Einführung des Methicillins im Jahr 1959 wurden erste *S. aureus*-Stämme mit einer Resistenz gegen dieses Antibiotikum beschrieben (Jevons, 1961). Dieses, als MRSA bezeichnete Bakterium, verbreitete sich rapide und gilt mittlerweile als einer der gefürchtetsten Erreger von Infektionen in der Bevölkerung (CA-MRSA) und in Krankenhäusern (HA-MRSA) (Köck et al., 2010).

S. aureus verursacht eine Reihe von Infektionen, die Haut, Weichgewebe, Knochen und Gelenke betreffen können. Auch kann sich eine Infektion durch den Einsatz von Dauerkathetern oder auf Oberflächen von Endoprothesen ausbreiten. In Industrieländern ist der Erreger als führende Ursache einer Bakteriämie von großer Relevanz.

Vergleicht man Bakteriämien, die durch MRSA verursacht wurden, mit durch MSSA ausgelösten, zeigt sich bei einer MRSA-assoziierten Bakteriämie ein deutlich schlechterer Krankheitsverlauf und eine erhöhte Mortalitätsrate. Für eine nachgewiesene MRSA-Infektion ist Vancomycin das Mittel der Wahl. Bei einer MSSA-Infektion sind β -Laktame nach wie vor der Goldstandard (Hassoun et al., 2017). Demzufolge ist, bedingt durch unterschiedliche Krankheitsverläufe, hinsichtlich der therapeutischen Maßnahmen eine genaue Überwachung der Resistenzprävalenzen Voraussetzung.

Die Daten der vorliegenden Studie zeigen einen mittleren MRSA-Anteil von 14%. Über den gesamten Untersuchungszeitraum betrachtet, ist der Anteil zunehmend. Die Werte unterliegen jedoch einer großen Schwankungsbreite und die Tendenz seit dem Jahr 2012 ist leicht abfallend. Im Jahr 2017 betrug der MRSA-Anteil noch 10%. Eine maximale Resistenzrate von 25% wurde im Jahr 2009 erreicht.

Die Daten des European Antimicrobial Resistance Surveillance Networks (EARS-Net) zeigen für Werte aus Deutschland bei *S. aureus*-Isolaten aus Blutkulturen, über den gleichen Zeitraum von 2002 bis 2017 betrachtet, eine mittlere Methicillin-Resistenz-Rate von 16,2%. In den Jahren 2002 bis 2005 war ein kontinuierlicher Anstieg von 17,9% auf 21,4% zu verzeichnen. In den darauffolgenden Jahren schwankten die Werte zwischen 16,5% und 20,0%. Seit 2010 ist die Tendenz ebenfalls rückläufig und erreichte im Jahr 2017 einen minimalen Wert von 9,1% (Abb. 5.1). Auch der europäische Durchschnitt zeigt seit 2009 einen kontinuierlich abnehmenden Trend von 23,2% auf 16,9% im Jahr 2017 (GERMAP, 2016; European Centre for Disease Prevention and Control, 2018; European Centre for Disease Prevention and Control, 2011). Die Studienlage bezüglich der MRSA-Prävalenz in pädiatrischen Populationen in Deutschland ist aktuell wenig aussagekräftig, da zu wenige Daten erhoben wurden.

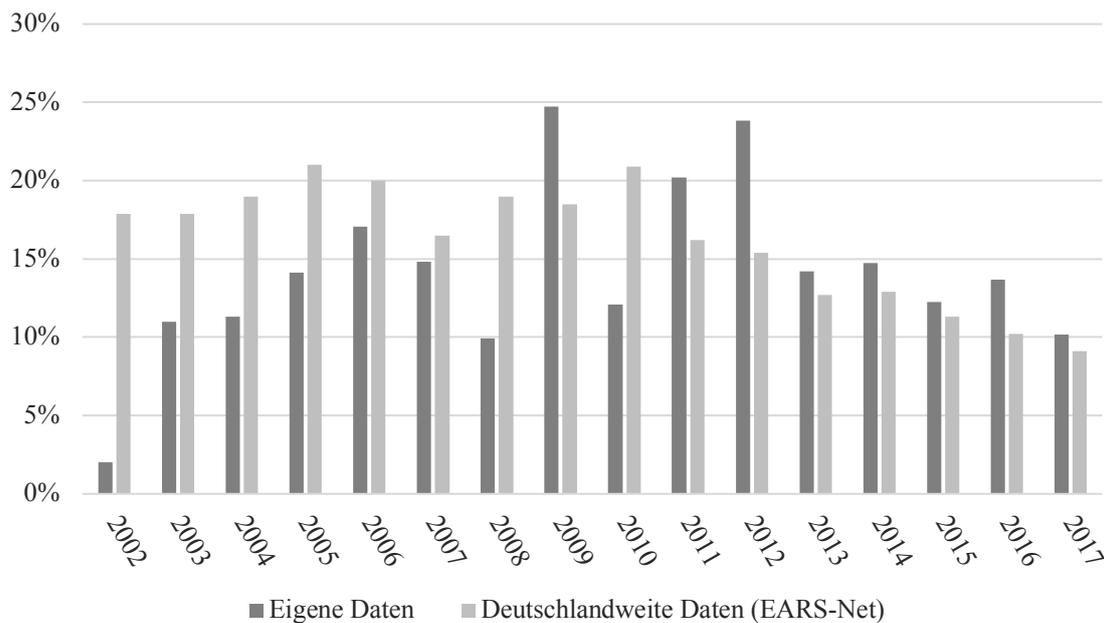


Abb. 5.1: Anteil der Methicillin-resistenten Stämme der vorliegenden Studie im Vergleich zu Daten aus dem EARS-Net (nur Deutschland).

Obwohl in Europa die Methicillin-Resistenz-Rate tendenziell sinkt, gibt es auch Länder, in denen sie steigt. Dazu gehören beispielsweise Spanien und Kroatien. Im Jahr 2017 schwankten die Werte zwischen 1,0% in Norwegen und 44,4% in Rumänien.

Grundsätzlich sind die MRSA-Raten in nordeuropäischen Ländern geringer als in Südeuropa (GERMAP, 2016).

Insgesamt aber scheint sich der Anteil an MRSA deutschlandweit und im europäischen Mittel zu stabilisieren. Dazu beigetragen haben neue Hygienerichtlinien und Kontrollmaßnahmen. In Deutschland wurde die Antibiotika-Resistenzstrategie (DART 2020) entwickelt, die 2015 vom Bundeskabinett verabschiedet wurde. Zudem gibt es seit 2004 regionale Netzwerke zur Bekämpfung multiresistenter Bakterien, die vom Robert-Koch-Institut unterstützt werden (Mielke, 2012).

Zu weiteren Maßnahmen, die eine Verminderung der Methicillin-Resistenz-Rate in den letzten Jahren begründen, zählen außerdem die Entwicklung neuer Nachweisverfahren, die eine schnellere Erregerbestimmung und damit eine gezieltere Therapie ermöglichen, Empfehlungen des Robert-Koch-Instituts zur Verbesserung der Hygiene in Krankenhäusern und die Einführung verschiedener Kontrollkonzepte, wie beispielsweise die Meldepflicht von invasiven MRSA-Infektionen im Jahr 2009 (Walter et al., 2015; GERMAP, 2016). Eine detaillierte Bewertung dieser Maßnahmen ist jedoch schwierig, da es nicht möglich ist, diese in einen kausalen Zusammenhang mit den erhobenen Daten zu bringen. Daher werden auch andere Ursachen, unter anderem eine natürlich vorkommende Veränderung von MRSA-Stämmen, diskutiert (Walter et al., 2017).

Aktuelle Studien aus den USA konnten nachweisen, dass sich die Herkunft der Isolate innerhalb des abnehmenden MRSA-Anteils in den letzten Jahren verändert hat. So hat der Anteil an CA-MRSA deutlich zugenommen, wohingegen der HA-MRSA-Anteil abgenommen hat (Hassoun et al., 2017). Diese Tendenz konnte in Deutschland nicht nachgewiesen werden. Die Krankheitslast durch CA-MRSA ist hierzulande nach wie vor gering. Während in den USA insbesondere Kinder zu den Hauptrisikogruppen zählen, konnte in Deutschland in pädiatrischen Populationen keine Zunahme des CA-MRSA-Anteils verzeichnet werden (Köck et al., 2011). In Deutschland besteht ein erhöhtes Risiko für den Erwerb von CA-MRSA durch den Kontakt zu bereits infizierten Personen sowie Reisen in Hochprävalenzgebiete. Dazu zählen Mittelmeerländer, wie beispielsweise Griechenland und Italien. Obwohl es aktuell keine Hinweise auf die Verbreitung von CA-MRSA in Deutschland gibt, besteht durch die erhöhte CA-MRSA-Prävalenz in einzelnen europäischen Ländern das Risiko für ein zunehmendes Auftreten auch bei uns (Fluegge et al., 2006). Eine ständige Kontrolle ist daher unerlässlich.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigten, ebenso wie der deutschlandweite und europäische Durchschnitt, hinsichtlich der MRSA-Prävalenz in den letzten Jahren eine positive Entwicklung. Dennoch bleibt der Erreger einer der häufigsten Pathogene schwerer Infektionen mit einem hohen Morbiditäts- und Mortalitätsrisiko. Um die Verbreitung weiterhin zu reduzieren, sind die konsequente Umsetzung und die Erweiterung der bisher vorhandenen Maßnahmen nötig (European Centre for Disease Prevention and Control, 2018).

5.2 Empfindlichkeit von *S. aureus* gegenüber Vancomycin

5.2.1 Vancomycin MIC Creep

Es gibt aktuelle Studien, die von steigenden MHK-Werten bei Vancomycin innerhalb des nach EUCAST-Kriterien sensiblen Bereichs berichten (Chang et al., 2017; Chang et al., 2015). Dieses Phänomen, das als Vancomycin MIC Creep bezeichnet wird, wirft die Frage auf, ob Vancomycin, welches oftmals als empirisches Therapeutikum bei vermuteten invasiven *S. aureus*-Infektionen eingesetzt wird, auch in Zukunft das Mittel der Wahl bleiben kann (Mason et al., 2009).

Dies ist insofern von besonderer Relevanz, da erhöhte MHK-Werte mit einem schlechteren klinischen Behandlungsergebnis und einer höheren Sterblichkeitsrate einher gehen (Dhand und Sakoulas, 2012; Moise-Broder et al., 2004). Bereits bei einer MHK von $\geq 1\mu\text{g/ml}$ ist die Effizienz von Vancomycin stark herabgesetzt. Steigt die MHK auf $\geq 2\mu\text{g/ml}$, nimmt die Anzahl von Behandlungsmisserfolgen weiter zu (Sakoulas et al., 2004). Aus diesem Grund fordern auch einige Autoren eine Senkung der Grenzwerte, die durch die CLSI- und EUCAST-Kriterien definiert sind, um die Anzahl ungünstiger Therapieverläufe und das Mortalitätsrisiko zu minimieren (Edwards et al., 2012).

Eine adäquate Behandlung von Patienten mit invasiver *S. aureus*-Infektion ist aufgrund der geringen therapeutischen Breite von Vancomycin in vielen Fällen problematisch. Insbesondere bei pädiatrischen Patienten ist die Serumkonzentration schwer steuerbar und führt bei zu hohen Konzentrationen zu Nierenschädigungen. Das Ziel, Behandlungsergebnisse einfach durch eine Erhöhung der Vancomycindosis zu verbessern, greift nicht, da es immer vor dem Hintergrund dieser Problematik gesehen werden muss (McNeil et al., 2016; Edwards et al., 2012).

Weiterhin konnte nachgewiesen werden, dass der Vancomycin MIC Creep auch deshalb von großer Bedeutung ist, da erhöhte MHK-Werte mit einer Resistenz gegenüber anderen

Antibiotikaklassen assoziiert sein können (Wang et al., 2006). Eine Kreuzresistenz besteht mit Daptomycin, einem Antibiotikum aus der Klasse der zyklischen Lipopeptide (Patel et al., 2006). Seine Entwicklung wurde mit dem Auftreten erster *S. aureus*-Stämme mit verminderter Empfindlichkeit gegenüber Vancomycin als Ausweichantibiotikum forciert (Chang et al., 2003). Auch ohne vorherige Daptomycinexposition zeigen Isolate mit erhöhten Vancomycin-MHK-Werten gleichzeitig höhere MHK-Werte für Daptomycin, die aber normalerweise im empfindlichen Bereich liegen. Insgesamt sind Daptomycin-Resistenzen bei *S. aureus* jedoch weiterhin extrem selten. In Deutschland lag die Daptomycin-Resistenz bei HA-MRSA-Stämmen im Jahr 2012 bei 1,0% mit einer leicht steigenden Tendenz auf 2,7% im Jahr 2013 und 2,9% im Jahr 2014 (GERMAP, 2016).

Der ursächliche Mechanismus dieses Phänomens konnte auf molekularer Ebene noch nicht vollständig geklärt werden. Eine Resistenz entwickelt sich sowohl bei Vancomycin als auch bei Daptomycin in einem komplexen, multifaktoriellen Prozess, der zudem abhängig von der Behandlung ist (Dhand und Sakoulas, 2012). Es handelt sich dabei um das Zusammenspiel von veränderten Genexpressionen und Mutationen, die insbesondere in der Zellwand stattfinden. Darüber hinaus konnte nachgewiesen werden, dass eine Daptomycinresistenz, die durch Exposition eines anderen Antibiotikums induziert wurde, sich in ihren dominierenden Mutationen von derjenigen unterscheidet, die sich durch die Monotherapie von Daptomycin aus einer Daptomycin-sensiblen Population entwickelt hat (Lasek-Nesselquist et al., 2019).

Kreuzresistenzen beschränken sich jedoch lediglich auf intermediär resistente Erreger. Der Erwerb eines hohen Resistenzlevels durch Akquisition des vanA-Elements ist einzigartig für Vancomycin und zeigt bisher keinerlei Korrelation zu anderen Antibiotikaklassen (Cui et al., 2006; Dhand und Sakoulas, 2012).

Mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie konnte dokumentiert werden, dass an der Kinderklinik und Kinderpoliklinik im Dr. von Haunerschen Kinderspital kein Vancomycin Creep existiert. Es wurden 540 Isolate aus einem Zeitraum von 2002 bis 2017 ausgewertet. Im zeitlichen Verlauf zeigte sich dabei ein abnehmender Trend der MHK-Werte. Studien anderer pädiatrischer Kliniken aus den USA ergaben ähnliche Resultate (Goldman et al., 2014; Zheng et al., 2010).

Manche Autoren beschreiben ein unterschiedliches Resistenzverhalten zwischen adulten und pädiatrischen Vergleichsgruppen. Eine eindeutige Erklärung hierfür konnte bisher

nicht gefunden werden. Zudem ist ein direkter Vergleich von Studien aufgrund der Heterogenität des Studienaufbaus oft wenig aussagekräftig. Die Studien unterscheiden sich in ihrer Dauer, der Anzahl der Isolate, den Methoden der MHK-Wert-Bestimmung und dem Ursprung der Isolate (Yeh et al., 2012; Kehrmann et al., 2011). Unterschiede im Einsatz von Vancomycin sehen Goldman et al. als mögliche Gründe, wobei sowohl die Häufigkeit der Benutzung als auch die Dosierungsmethoden eine Rolle spielen (Goldman et al., 2014).

Von Interesse ist auch der Befund, dass der Vancomycin MIC Creep regional sehr unterschiedlich ist. In einigen Kliniken existieren zunehmende Trends der MHK-Werte, wohingegen andere Kliniken abnehmende zeitliche Tendenzen verzeichnen können. In diesem Zusammenhang werden verschiedene Ursachen diskutiert.

Epidemiologische und klinische Faktoren wirken unterschiedlich auf die Resistenzentwicklung. Dazu zählen einerseits die Häufigkeit und die Methode des Einsatzes von Vancomycin, die zu einem unterschiedlich starken Selektionsdruck führen. Andererseits spielen die Schwere der Krankheiten und Komorbiditäten sowie Unterschiede in der chirurgischen Therapie eine entscheidende Rolle. Auch die Prävalenz von CA-MRSA in Kliniken ist von Relevanz. Mitte der 1990er Jahre führte die Differenzierung von CA-MRSA zu einer zunehmenden Verwendung von Vancomycin. Bei einer CA-MRSA-Infektion werden im Allgemeinen niedrigere MHK-Werte für Vancomycin beobachtet. Als Ursache hierfür wird eine geringe vorherige Exposition des Antibiotikums vermutet (Dhand und Sakoulas, 2012; Diaz et al., 2017).

Eine Studie von Kehrmann et al. bestätigt sehr eindrücklich die regionalen Tendenzen der Existenz des Vancomycin MIC Creeps. Vancomycin-MHK-Werte wurden von Krankenhäusern aus zwei verschiedenen deutschen Städten ausgewertet und verglichen. 133 Isolate wurden in einem Tertiärkrankenhaus in Essen entnommen und 154 Isolate in insgesamt vier Sekundärkrankenhäusern in Bochum. Alle stammten aus Blutkulturen und die Entnahme fand in einem Zeitraum von 2004 bis 2009 statt. In einer Stadt konnte ein Vancomycin MIC Creep nachgewiesen werden, in der anderen jedoch nicht. Untersuchungen ergaben weiterhin, dass überwiegend ein einziger Klon für Isolate mit einer MHK von $\geq 1 \mu\text{g/mL}$ verantwortlich war und in 55% dieser Isolate nachgewiesen werden konnte (Kehrmann et al., 2011).

Ob sich ein zunehmender Trend aus einem neuen veränderten Klon entwickelt oder ob eine allmähliche Reduktion der Vancomycin-Sensibilität innerhalb einer klonalen Population stattfindet, kann durch molekulare Typisierung der Isolate bestimmt werden (Yeh et al., 2012; Kehrmann et al., 2011; Howden et al., 2010).

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie decken sich mit den Ergebnissen einer Metaanalyse des SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. Über einen Zeitraum von 1997 bis 2016 wurden 191 460 *S. aureus*-Isolate aus 45 Ländern auf ihre Vancomycin-Empfindlichkeit überprüft. Die Existenz eines Vancomycin MIC Creeps konnte nicht nachgewiesen werden (Diekema et al., 2019). In einer weiteren Metaanalyse wurden Ergebnisse von 55 Studien aus der PubMed-Datenbank zusammengefasst. Auch hier konnte kein Vancomycin MIC Creep festgestellt werden. Mittlere Vancomycin-MHK-Werte unterschieden sich jedoch regional (Diaz et al., 2018). Diese Ergebnisse erlauben die Schlussfolgerung, dass Vancomycin nach wie vor als Mittel der Wahl für eine vermutete schwere Infektion mit grampositiven Kokken und bei nachgewiesenen MRSA-Infektionen geeignet ist. Dennoch sind ständige Analysen von regionalen Gegebenheiten unabdingbar, da sich diese von globalen Trends unterscheiden können.

5.2.2 Zeitlicher Trend der Sensibilität im Vergleich zwischen MRSA- und MSSA-Isolaten

Die Ergebnisse unserer Studie zeigen, dass sich für die Gesamtheit der Proben kein signifikanter Unterschied der gemessenen MHK-Werte von Vancomycin im Vergleich zwischen MRSA- und MSSA-Isolaten ergab. Diese Befunde decken sich auch mit anderen Arbeiten (Alos et al., 2008; Mason et al., 2009; Goldman et al., 2014).

Es gibt jedoch auch Studien, die insbesondere bei MSSA-Isolaten von stark zunehmenden MHK-Werten im zeitlichen Verlauf berichten (Wang et al., 2006; McNeil et al., 2016). Der Studienaufbau von McNeil et al. ähnelt dem der vorliegenden Studie. In einem Zeitraum von 2003 bis 2013 wurden 341 Isolate mithilfe des E-Tests auf ihre Sensibilität gegenüber Vancomycin getestet. Die Isolate stammten aus einem pädiatrischen Patientengut. Dabei handelte es sich um neu identifizierte *S. aureus*-Infektionen sowie zum Teil um invasive Infektionen. Bei den MRSA-Isolaten war eine sinkende Tendenz der MHK-Werte zu verzeichnen, wohingegen bei MSSA-Isolaten eine steigende Tendenz beobachtet wurde. Die Diskrepanz könnte mit der Verbreitung eines bestimmten MSSA-Stammes zusammenzuhängen. Dieser MSSA-Stamm verfügt über eine spezielle genetische

Ausstattung wie beispielsweise bestimmte Virulenz- und Resistenzgene, die eine erhöhte MHK, auch ohne vorherige Vancomycinexposition, begründen (Viedma et al., 2014; Holmes et al., 2014). Der klonale Ursprung von *S. aureus*-Stämmen ist demzufolge insofern relevant, da dieser divergierende MHK-Werte verursachen kann und in der Folge auch klinische Behandlungsergebnisse beeinflusst.

5.3 Auftreten von hGISA und GISA

5.3.1 Häufigkeit und zeitliche Tendenzen

In der Literatur werden die Begriffe GISA und VISA häufig synonym verwendet. GISA umfasst ein breiteres Resistenzprofil, da der Begriff eine zusätzliche verminderte Sensibilität gegenüber Teicoplanin miteinschließt. In der vorliegenden Studie erfolgte eine Testung der Isolate auf hGISA und GISA. Im Folgenden werden in Bezug auf die eigene Studie daher die Begriffe hGISA und GISA verwendet, bei Informationen aus der Literatur die Begriffe hVISA und VISA, da diese in der Literatur gebräuchlicher sind.

Intermediär resistente *S. aureus*-Stämme (VISA) sind durch eine beeinträchtigte Wirkung von Vancomycin gekennzeichnet. Sie werden daher nach EUCAST-Kriterien durch ihre MHK nicht weiter differenziert, sondern als resistent gewertet. Abzugrenzen sind VRSA-Stämme, die eine vanA-vermittelte Resistenz durch Enterokokken aufweisen. VISA-Stämme wurden erstmals in den 1990er Jahren nachgewiesen (McGuinness et al., 2017).

Als mögliche Vorläufer intermediär resistenter Erreger gelten heteroresistente VISA-Stämme. Dabei handelt es sich um sensible Stämme, welche jedoch bereits Subpopulationen mit intermediär resistenten Tochterzellen besitzen (Zhang et al., 2015). Von großem klinischem Interesse sind hVISA- und VISA-Stämme insbesondere deshalb, da ihr Vorhandensein mit anhaltenden Behandlungsmisserfolgen verbunden sein kann.

Der exakte genetische Entstehungsprozess von hVISA und VISA konnte bisher nicht vollständig geklärt werden (Howden et al., 2010). Jedoch zeigen aktuelle Studien Fortschritte in dieser Hinsicht. So konnte nachgewiesen werden, dass der hVISA-Phänotyp auch ohne vorherige Vancomycinexposition entstehen kann. Dafür kann der Einsatz von anderen Antibiotikaklassen, wie β -Laktamen, verantwortlich sein, da diese ebenfalls in der Lage sind, hVISA-Stämme zu selektionieren (Roch et al., 2014). Als Wirkungsweise werden hier verschiedene genetische Faktoren, die die Zellwandbiosynthese betreffen, diskutiert.

Aufgrund bislang fehlender Standardisierung von Testmethoden zum Nachweis von hVISA und VISA sind Aussagen über die Prävalenz oftmals problematisch. Zu den möglichen Methoden zur Detektion dieser beiden Phänotypen zählen die vereinfachte Populationsanalyse, der E-Test in der Makroversion sowie der E-Test GRD. Die Durchführung dieser Tests ist jedoch mit einem relativ hohen Zeitaufwand verbunden und zudem sind diese im Routinelabor oftmals nicht verfügbar. In der vorliegenden Studie erfolgte der Nachweis von heterogener und intermediärer Resistenz über den E-Test GRD, der als gut validiertes Verfahren anerkannt ist. Diese Methode zeigt im Vergleich mit der vereinfachten Populationsanalyse eine hohe Spezifität und Sensitivität (Goldman et al., 2014).

Obwohl genaue Angaben über die Prävalenz nicht bekannt sind, gibt es Schätzungen, die für hVISA Werte von 1,3% bis 27% angeben (Satola et al., 2011). Eine weltweite Metaanalyse, in der Studien aus der PubMed-Datenbank über einen Zeitraum von 2006 bis 2014 evaluiert wurden, ergab für hVISA einen mittleren Wert von 6,05% und für VISA einen Wert von 3,01% bei MRSA-Isolaten (Zhang et al., 2015).

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen einen hGISA-Anteil von 14%. GISA-Stämme wurden nicht nachgewiesen. Die Tendenz des hGISA-Anteils ist über den Untersuchungszeitraum betrachtet rückläufig. Einen ähnlichen Trend zeigen aktuelle Studien (Musta et al., 2009; Khatib et al., 2015).

Ständige Bemühungen zur Optimierung der Hygienestandards sowie die Identifikation und Isolation von infizierten Patienten und zudem der zurückhaltende Einsatz von Glykopeptiden könnten eine Korrelation zu den mikrobiologischen Ergebnissen bewirkt haben.

Der sorgfältige Umgang von Glykopeptiden, eine adäquate Überprüfung der Infektionsquelle und die Vorbeugung einer nosokomialen Übertragung sind wirkungsvolle Maßnahmen gegen eine zunehmende Inzidenz von hVISA- und VISA-Erregern. Eine ständige Überwachung der MHK-Werte im zeitlichen Verlauf und der Nachweis von hVISA und VISA sowie der klinische Bezug sind auch in der Zukunft von großer Relevanz (Huang et al., 2016).

Es gibt auch zunehmende Trends von hVISA und VISA, wie aktuelle Daten aus Taiwan und dem Iran zeigen (Huang et al., 2016; Baseri et al., 2018). Besonders hohe Prävalenzwerte wurden in einer pädiatrischen Klinik in der Türkei nachgewiesen. In einem

Zeitraum von 2001 bis 2011 wurden 92 *S. aureus*-Stämme isoliert. Mithilfe des E-Tests in der Makroversion konnten 21,3% der Isolate als hVISA identifiziert werden (Mirza et al., 2015).

Zu ganz anderen Befunden kommt eine Studie aus den USA, die 208 Isolate aus einer pädiatrischen Klinik mithilfe der Populationsanalyse aus dem Zeitraum 2006 bis 2009 untersuchte. Hierbei konnten keine hVISA- und VISA-Stämme detektiert werden (Goldman et al., 2014).

Zu den möglichen Ursachen verschiedener Prävalenzen von hVISA und VISA zählen unterschiedliche Detektionsmethoden und Herkunft der Isolate sowie vorherige Vancomycinexposition. Auch konnte nachgewiesen werden, dass für eine hohe Prävalenz innerhalb einer Patientenpopulation die Ausbreitung eines bestimmten Klons verantwortlich sein kann (Garnier et al., 2006).

Regionale Unterschiede für das Vorkommen von hVISA und VISA konnten auch in einer Studie im Vergleich von Asien mit Europa und Nordamerika nachgewiesen werden. Dabei war die Inzidenz im asiatischen Raum für intermediäre Resistenz wesentlich höher. Als Gründe für diesen Zustand werden höhere Hygienestandards und der sorgfältigere Umgang mit Antibiotika in den meisten Ländern Europas und Nordamerikas genannt. Auch werden in diesen Ländern nosokomiale Infektion effektiver isoliert und behandelt. Asien ist hingegen durch eine wesentlich höhere Bevölkerungsdichte anfälliger für die Ausbreitung mikrobieller Infektionen (Othman et al., 2018).

5.3.2 Auftreten von hGISA und GISA in MRSA- und MSSA-Isolaten

Studien zufolge lassen sich hVISA- und VISA-Stämme insbesondere bei HA-MRSA nachweisen. Wesentlich geringere Anteile werden hingegen bei CA-MRSA- und MSSA-Stämmen detektiert. Die Ursache liegt vermutlich in der verstärkten Vancomycinexposition in Krankenhäusern, die den Selektionsdruck erhöht (Howden et al., 2014). Dieser Selektionsdruck wird vor allem bei MRSA-Infektionen gefördert, da diese im Vergleich zu MSSA-Infektionen wesentlich häufiger mit Vancomycin behandelt werden.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen im Vergleich zwischen MRSA- und MSSA-Isolaten jedoch keine signifikanten Unterschiede in der Häufigkeit von hGISA. In einer Metaanalyse, in der die Prävalenz von VISA im Zeitraum von 2010 bis 2017 im Iran evaluiert wurde, konnte paradoxerweise sogar eine höhere Prävalenz für VISA-

Stämme in MSSA-Isolaten nachgewiesen werden (Baseri et al., 2018). Dies lässt die Schlussfolgerung zu, dass nicht nur der Selektionsdruck durch Vancomycin für die Entstehung der hVISA- und VISA-Phänotypen verantwortlich ist. Die Ursache dieser differierenden Beobachtungen ist nicht geklärt. Möglicherweise ist die tatsächliche Prävalenz von hVISA und VISA in MSSA-Isolaten sogar noch höher als oftmals vermutet wird, da sich einige Studien auf die Untersuchung in MRSA-Isolaten beschränken (Pillai et al., 2009).

5.3.3 Merkmale von hGISA und GISA

Die Daten der vorliegenden Studie zeigen, dass das Auftreten von hGISA abhängig von der gemessenen Vancomycin-MHK ist. Bei erhöhten MHK-Werten war auch der Anteil an hGISA größer. Dieser Zusammenhang könnte eine Ursache von schlechteren Behandlungsergebnissen bei hohen Vancomycin-MHK-Werten im empfindlichen Bereich sein (Sakoulas und Moellering, 2008).

Bei Lagerung sowie bei Wegfall eines Selektionsdrucks können hVISA- und VISA-Stämme auf ein niedrigeres Resistenzlevel zurückfallen. Die beiden Phänotypen scheinen demzufolge instabil zu sein. Insbesondere bei VISA-Stämmen konnte die Umwandlung zurück zu einer heterogenen Resistenz bis hin zu vollständiger Empfindlichkeit beobachtet werden (Howden et al., 2014). Ursächlich dafür scheint ein beeinträchtigt Wachstum und erhebliche „fitness costs“ zu sein. Damit ist eine geringere Vermehrungsfähigkeit von resistenten Formen eines Bakterienstamms bei Wegfall des Selektionsdrucks gemeint. Die transiente Natur von hVISA und VISA limitiert möglicherweise die Ausbreitung dieses Erregers in der Bevölkerung und beschränkt sich hauptsächlich auf die Verbreitung in Krankenhäusern (McGuinness et al., 2017).

Es ist beunruhigend, dass ein intermediäres Resistenzlevel auftritt und man weder seinen Entstehungsprozess, noch den Resistenzmechanismus und seine Prävalenz versteht. Verglichen dazu ist die Entstehung von Vancomycin-resistenten Stämmen (VRSA) gut erforscht und das Auftreten dieser Erreger auf wenige Fälle beschränkt. Die Gründe dafür liegen darin, dass ein horizontaler Gentransfer von Enterokokken nur selten stattfindet und die Aufnahme fremder DNA bei *S. aureus* durch bestimmte Abwehrsysteme erschwert ist (McGuinness et al., 2017).

5.4 Limitierungen

Die vorliegende Studie hat einige Limitierungen. Es handelt sich um eine retrospektive Studie, die sich auf die Daten einer einzigen Klinik stützt. Daher sind die Ergebnisse geografisch beschränkt. Des Weiteren ist eine Aussage über den ambulanten Bereich nicht möglich, da die Datenerhebung in einem Tertiärkrankenhaus erfolgte.

Auch fand keine Prüfung einer Korrelation der klinischen Behandlungsergebnisse mit den Daten, die im mikrobiologischen Labor erfasst wurden, statt.

Hinzu kommt, dass nicht ausschließlich Isolate aus pädiatrischem Patientengut untersucht wurden, sondern auch *S. aureus*-Stämme, die von den Eltern infizierter Kinder isoliert wurden. Diese machten einen Anteil von 19% aus.

Die hVISA- und VISA-Phänotypen sind instabil und durch Wegfall des Selektionsdrucks in der Lage, auf ein niedrigeres Resistenzlevel abzufallen. Insofern wird angenommen, dass sich auch die Lagerung der Isolate auf die Empfindlichkeit der Isolate auswirken kann und die Ergebnisse entsprechend verändert (Goldman et al., 2014; Howden et al., 2010; McGuinness et al., 2017).

Die Messung der MHK-Werte erfolgte nur durch eine Methode, den E-Test. Diese Methode zeigt subjektive Messungenauigkeiten, die jedoch dadurch ausgeglichen wurden, dass die Messung immer durch dieselbe Person erfolgte.

Genetische Hintergründe der untersuchten Stämme wurden nicht erfasst, so dass die Beurteilung klonaler Prävalenzen über den Untersuchungszeitraum nicht möglich ist.

In Bezug auf die Methicillin-Resistenz-Rate ist die Studie insofern limitiert, da der Ursprung der Isolate nicht bekannt ist. Die Anteile von CA-MRSA und HA-MRSA konnten daher nicht bestimmt werden.

6 Zusammenfassung

Mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie konnte nachgewiesen werden, dass in der Kinderklinik und Kinderpoliklinik im Dr. von Haunerschen Kinderspital die Resistenz von *S. aureus* gegenüber Vancomycin, einschließlich dem Vancomycin MIC Creep und dem Auftreten von hGISA, kein akutes Problem darstellt.

Untersucht wurden 540 *S. aureus*-Isolate aus einem vorwiegend pädiatrischen Patientengut, die über einen Zeitraum von 2002 bis 2017 entnommen wurden. Mithilfe des E-Tests wurde die Sensibilität über die MHK gegenüber Vancomycin und Oxacillin bestimmt. Eine zusätzliche Detektion von hGISA-Stämmen erfolgte über den E-Test GRD. Die Daten wurden über Excel verarbeitet und statistisch ausgewertet. Es fand eine Evaluation hinsichtlich eines sich entwickelnden zeitlichen Trends der gemessenen Vancomycin-MHK-Werte und des Auftretens von heterogener intermediärer Resistenz von *S. aureus* gegenüber Glykopeptiden statt.

Im zeitlichen Verlauf war ein abnehmender Trend der Vancomycin-MHK-Werte zu verzeichnen. Damit einhergehend zeigte auch das Auftreten von hGISA-Stämmen eine rückläufige Tendenz. Die Resultate wurden mit globalen Studien verglichen. Demzufolge stellen die Phänomene des Vancomycin MIC Creeps und der hGISA kein universelles Problem dar.

Der zweite Teil der Arbeit befasste sich mit dem Resistenzverhalten von *S. aureus*-Stämmen gegenüber Methicillin. Bereits vorhandene Antibiogramme von insgesamt 15852 Patienten wurden ausgewertet und ein zeitlicher Trend evaluiert. Die Antibiogramme wurden von *S. aureus*-Proben erstellt, die über denselben Zeitraum von 2002 bis 2017 isoliert wurden.

Zu Beginn des Untersuchungszeitraumes zeigte der Anteil von MRSA eine zunehmende Tendenz. Seit dem Jahr 2012 nimmt der Anteil jedoch ab und erreichte im Jahr 2017 einen Wert von 10%. Diese Tendenzen decken sich weitgehend mit dem europäischen Durchschnitt.

7 Literaturverzeichnis

- ALOS, J. I., GARCIA-CANAS, A., GARCIA-HIERRO, P. & RODRIGUEZ-SALVANES, F. 2008. Vancomycin MICs did not creep in *Staphylococcus aureus* isolates from 2002 to 2006 in a setting with low vancomycin usage. *J Antimicrob Chemother*, 62, 773-5.
- APPELBAUM, P. C. 2007. Reduced glycopeptide susceptibility in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Int J Antimicrob Agents*, 30, 398-408.
- BASERI, N., NAJAR-PEERAYEH, S. & BAGHERI AMIRI, F. 2018. Prevalence of vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* among clinical isolates in Iran: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 15, 178-187.
- BOBIN-DUBREUX, S., REVERDY, M. E., NERVI, C., ROUGIER, M., BOLMSTROM, A., VANDENESCH, F. & ETIENNE, J. 2001. Clinical isolate of vancomycin-heterointermediate *Staphylococcus aureus* susceptible to methicillin and in vitro selection of a vancomycin-resistant derivative. *Antimicrob Agents Chemother*, 45, 349-52.
- BOYLE-VAVRA, S., CHALLAPALLI, M. & DAUM, R. S. 2003. Resistance to autolysis in vancomycin-selected *Staphylococcus aureus* isolates precedes vancomycin-intermediate resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 47, 2036-2039.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION 2002. *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin--United States, 2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 51, 565-7.
- CHANG, C. N., LO, W. T., CHAN, M. C., YU, C. M. & WANG, C. C. 2017. An investigation of vancomycin minimum inhibitory concentration creep among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from pediatric patients and healthy children in Northern Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect*, 50, 362-369.
- CHANG, F.-Y., PEACOCK, J. E., MUSER, D. M., TRIPLETT, P., MACDONALD, B. B., MYLOTTE, J. M., O'DONNELL, A., WAGENER, M. M. & YU, V. L. 2003. *Staphylococcus aureus* Bacteremia: Recurrence and the Impact of Antibiotic Treatment in a Prospective Multicenter Study. 82, 333-339.
- CHANG, W., MA, X., GAO, P., LV, X., LU, H. & CHEN, F. 2015. Vancomycin MIC creep in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates from 2006 to 2010 in a hospital in China. *Indian J Med Microbiol*, 33, 262-6.
- COURVALIN, P. 2006. Vancomycin Resistance in Gram-Positive Cocci. *Clinical Infectious Diseases*, 42, S25-S34.
- CUI, L., MA, X., SATO, K., OKUMA, K., TENOVER, F. C., MAMIZUKA, E. M., GEMMELL, C. G., KIM, M. N., PLOY, M. C., EL-SOLH, N., FERRAZ, V. & HIRAMATSU, K. 2003. Cell wall thickening is a common feature of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*, 41, 5-14.
- CUI, L., TOMINAGA, E., NEOH, H. M. & HIRAMATSU, K. 2006. Correlation between Reduced Daptomycin Susceptibility and Vancomycin Resistance in Vancomycin-Intermediate *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*, 50, 1079-82.
- DE JONGE, B. L., CHANG, Y. S., GAGE, D. & TOMASZ, A. 1992. Peptidoglycan composition of a highly methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain. The role of penicillin binding protein 2A. *J Biol Chem*, 267, 11248-54.

- DEURENBERG, R. H. & STOBBERINGH, E. E. 2008. The evolution of *Staphylococcus aureus*. *Infect Genet Evol*, 8, 747-63.
- DHAND, A. & SAKOULAS, G. 2012. Reduced vancomycin susceptibility among clinical *Staphylococcus aureus* isolates ('the MIC Creep'): implications for therapy. *F1000 medicine reports*, 4, 4-4.
- DIAZ, R., AFREIXO, V., RAMALHEIRA, E., RODRIGUES, C. & GAGO, B. 2018. Evaluation of vancomycin MIC creep in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections—a systematic review and meta-analysis. *Clinical Microbiology and Infection*, 24, 97-104.
- DIAZ, R., RAMALHEIRA, E., AFREIXO, V. & GAGO, B. 2017. Evaluation of vancomycin MIC creep in *Staphylococcus aureus*. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 10, 281-284.
- DIEKEMA, D. J., PFALLER, M. A., SHORTRIDGE, D., ZERVOS, M. & JONES, R. N. 2019. Twenty-Year Trends in Antimicrobial Susceptibilities Among *Staphylococcus aureus* From the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Open Forum Infectious Diseases*, 6, S47-S53.
- EDWARDS, B., MILNE, K., LAWES, T., COOK, I., ROBB, A. & GOULD, I. M. 2012. Is vancomycin MIC "creep" method dependent? Analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* susceptibility trends in blood isolates from North East Scotland from 2006 to 2010. *J Clin Microbiol*, 50, 318-25.
- EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL 2011. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe—Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) 2010. Stockholm.
- EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL 2018. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe – Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) 2017. Stockholm.
- FALAGAS, M. E., MAKRIS, G. C., DIMOPOULOS, G. & MATTHAIIOU, D. K. 2008. Heteroresistance: a concern of increasing clinical significance? *Clin Microbiol Infect*, 14, 101-4.
- FISHOVITZ, J., HERMOSO, J. A., CHANG, M. & MOBASHERY, S. 2014. Penicillin-binding protein 2a of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *IUBMB life*, 66, 572-577.
- FLUEGGE, K., ADAMS, B., LUETKE VOLKSBECK, U., SERR, A., HENNEKE, P. & BERNER, R. 2006. Low prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in a southwestern region of Germany. *Eur J Pediatr*, 165, 688-90.
- FRENCH, G. L. 2005. Clinical impact and relevance of antibiotic resistance. *Adv Drug Deliv Rev*, 57, 1514-27.
- FUDA, C. C., FISHER, J. F. & MOBASHERY, S. 2005. Beta-lactam resistance in *Staphylococcus aureus*: the adaptive resistance of a plastic genome. *Cell Mol Life Sci*, 62, 2617-33.
- GARNIER, F., CHAINIER, D., WALSH, T., KARLSSON, A., BOLMSTROM, A., GRELAUD, C., MOUNIER, M., DENIS, F. & PLOY, M. C. 2006. A 1 year surveillance study of glycopeptide-intermediate *Staphylococcus aureus* strains in a French hospital. *J Antimicrob Chemother*, 57, 146-9.
- GERMAP 2016. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, Paul Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e. V. GERMAP 2015-Bericht über den Antibiotikaverbrauch und die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen in der Human- und Veterinärmedizin in Deutschland. Rheinbach.

- GHAZNAVI-RAD, E., NOR SHAMSUDIN, M., SEKAWI, Z., VAN BELKUM, A. & NEELA, V. 2010. A simplified multiplex PCR assay for fast and easy discrimination of globally distributed staphylococcal cassette chromosome mec types in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Med Microbiol*, 59, 1135-9.
- GOLDMAN, J. L., HARRISON, C. J., MYERS, A. L., JACKSON, M. A. & SELVARANGAN, R. 2014. No evidence of vancomycin minimal inhibitory concentration creep or heteroresistance identified in pediatric *Staphylococcus aureus* blood isolates. *Pediatr Infect Dis J*, 33, 216-8.
- GRIFFITH, R. S. 1981. Introduction to vancomycin. *Rev Infect Dis*, 3 suppl, S200-4.
- GROS, U. 2013. *Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*, Stuttgart, Georg Thieme Verlag.
- HASSOUN, A., LINDEN, P. K. & FRIEDMAN, B. 2017. Incidence, prevalence, and management of MRSA bacteremia across patient populations—a review of recent developments in MRSA management and treatment. *Critical Care*, 21, 211.
- HIRAMATSU, K., ARITAKA, N., HANAKI, H., KAWASAKI, S., HOSODA, Y., HORI, S., FUKUCHI, Y. & KOBAYASHI, I. 1997a. Dissemination in Japanese hospitals of strains of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin. *Lancet*, 350, 1670-3.
- HIRAMATSU, K., HANAKI, H., INO, T., YABUTA, K., OGURI, T. & TENOVER, F. C. 1997b. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *J Antimicrob Chemother*, 40, 135-6.
- HOLMES, N. E., TURNIDGE, J. D., MUNCKHOF, W. J., ROBINSON, J. O., KORMAN, T. M., O'SULLIVAN, M. V. N., ANDERSON, T. L., ROBERTS, S. A., WARREN, S. J. C., COOMBS, G. W., TAN, H.-L., GAO, W., JOHNSON, P. D. R. & HOWDEN, B. P. 2014. Genetic and molecular predictors of high vancomycin MIC in *Staphylococcus aureus* bacteremia isolates. *Journal of clinical microbiology*, 52, 3384-3393.
- HOWDEN, B. P., DAVIES, J. K., JOHNSON, P. D. R., STINEAR, T. P. & GRAYSON, M. L. 2010. Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications. *Clinical microbiology reviews*, 23, 99-139.
- HOWDEN, B. P., PELEG, A. Y. & STINEAR, T. P. 2014. The evolution of vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA) and heterogeneous-VISA. *Infection, Genetics and Evolution*, 21, 575-582.
- HSU, D. I., HIDAYAT, L. K., QUIST, R., HINDLER, J., KARLSSON, A., YUSOF, A. & WONG-BERINGER, A. 2008. Comparison of method-specific vancomycin minimum inhibitory concentration values and their predictability for treatment outcome of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 32, 378-385.
- HUANG, S.-H., CHEN, Y.-C., CHUANG, Y.-C., CHIU, S.-K., FUNG, C.-P., LU, P.-L., WANG, L.-S., WU, T.-L. & WANG, J.-T. 2016. Prevalence of vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA) and heterogeneous VISA among methicillin-resistant *S. aureus* with high vancomycin minimal inhibitory concentrations in Taiwan: A multicenter surveillance study, 2012–2013. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 49, 701-707.
- JEVONS, M. P. 1961. "Celbenin" - resistant *Staphylococci*. *British Medical Journal*, 1, 124-125.

- JOANA, S., PEDRO, P., ELSA, G. & FILOMENA, M. 2013. Is vancomycin MIC creep a worldwide phenomenon? Assessment of *S. aureus* vancomycin MIC in a tertiary university hospital. *BMC research notes*, 6, 65-65.
- JONES, R. N. 2006. Microbiological features of vancomycin in the 21st century: minimum inhibitory concentration creep, bactericidal/static activity, and applied breakpoints to predict clinical outcomes or detect resistant strains. *Clin Infect Dis*, 42 Suppl 1, S13-24.
- KAPLAN, S. L. 2016. Staphylococcus aureus Infections in Children: The Implications of Changing Trends. *Pediatrics*, 137.
- KEHRMANN, J., KAASE, M., SZABADOS, F., GATERMANN, S. G., BUER, J., RATH, P. M. & STEINMANN, J. 2011. Vancomycin MIC creep in MRSA blood culture isolates from Germany: a regional problem? *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 30, 677-83.
- KHATIB, R., SHARMA, M., JOHNSON, L. B., RIEDERER, K., SHEMES, S. & SZPUNAR, S. 2015. Decreasing prevalence of isolates with vancomycin heteroresistance and vancomycin minimum inhibitory concentrations ≥ 2 mg/L in methicillin-resistant Staphylococcus aureus over 11 years: potential impact of vancomycin treatment guidelines. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 82, 245-248.
- KLUYTMANS, J., VAN BELKUM, A. & VERBRUGH, H. 1997. Nasal carriage of Staphylococcus aureus: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clin Microbiol Rev*, 10, 505-20.
- KÖCK, R., BECKER, K., COOKSON, B., VAN GEMERT-PIJNEN, J. E., HARBARTH, S., KLUYTMANS, J., MIELKE, M., PETERS, G., SKOV, R. L., STRUELENS, M. J., TACCONELLI, E., NAVARRO TORNE, A., WITTE, W. & FRIEDRICH, A. W. 2010. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA): burden of disease and control challenges in Europe. *Euro Surveill*, 15, 19688.
- KÖCK, R., MELLMANN, A., SCHAUMBURG, F., FRIEDRICH, A. W., KIPP, F. & BECKER, K. 2011. Methicillin-resistenter Staphylococcus aureus in Deutschland. *Dtsch Arztebl International*, 108, 761-767.
- LADHANI, S. & GARBASH, M. 2005. Staphylococcal skin infections in children: rational drug therapy recommendations. *Paediatr Drugs*, 7, 77-102.
- LASEK-NESSELQUIST, E., LU, J., SCHNEIDER, R., MA, Z., RUSSO, V., MISHRA, S., PAI, M. P., PATA, J. D., MCDONOUGH, K. A. & MALIK, M. 2019. Insights Into the Evolution of Staphylococcus aureus Daptomycin Resistance From an in vitro Bioreactor Model. *Frontiers in Microbiology*, 10.
- LEVINE, D. P. 2006. Vancomycin: a history. *Clin Infect Dis*, 42 Suppl 1, S5-12.
- LICITRA, G. 2013. Etymologia: Staphylococcus. *Emerging Infectious Diseases*, 19, 1553-1553.
- LINDSAY, J. A. & HOLDEN, M. T. 2004. Staphylococcus aureus: superbug, super genome? *Trends Microbiol*, 12, 378-85.
- LIU, C. & CHAMBERS, H. F. 2003. Staphylococcus aureus with heterogeneous resistance to vancomycin: epidemiology, clinical significance, and critical assessment of diagnostic methods. *Antimicrob Agents Chemother*, 47, 3040-5.
- LLARRULL, L. I., FISHER, J. F. & MOBASHERY, S. 2009. Molecular basis and phenotype of methicillin resistance in Staphylococcus aureus and insights into new beta-lactams that meet the challenge. *Antimicrob Agents Chemother*, 53, 4051-63.

- LO, W. T., WANG, C. C., LIN, W. J., WANG, S. R., TENG, C. S., HUANG, C. F. & CHEN, S. J. 2010. Changes in the nasal colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in children: 2004-2009. *PLoS One*, 5, e15791.
- LOWY, F. D. 2003. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *The Journal of clinical investigation*, 111, 1265-1273.
- MADIGAN, M. T., BROCK, T. D., MARTINKO, J. M., STAHL, D. A. & CLARK, D. P. 2013. Brock Mikrobiologie. 13. Aufl. ed. München: Pearson Higher Education.
- MASON, E. O., LAMBERTH, L. B., HAMMERMAN, W. A., HULTEN, K. G., VERSALOVIC, J. & KAPLAN, S. L. 2009. Vancomycin MICs for *Staphylococcus aureus* vary by detection method and have subtly increased in a pediatric population since 2005. *Journal of clinical microbiology*, 47, 1628-1630.
- MATOUSKOVA, I. & JANOUT, V. 2008. Current knowledge of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 152, 191-202.
- MCGUINNESS, W. A., MALACHOWA, N. & DELEO, F. R. 2017. Vancomycin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *The Yale journal of biology and medicine*, 90, 269-281.
- MCNEIL, J. C., KOK, E. Y., FORBES, A. R., LAMBERTH, L., HULTEN, K. G., VALLEJO, J. G., MASON, E. O. & KAPLAN, S. L. 2016. Healthcare-associated *Staphylococcus aureus* Bacteremia in Children: Evidence for Reverse Vancomycin Creep and Impact of Vancomycin Trough Values on Outcome. *Pediatr Infect Dis J*, 35, 263-8.
- MIELKE, M. 2012. Bericht über das 3. Treffen der Moderatoren der Regionalen MRE-Netzwerke am 15. und 16. Dezember 2011 am Robert Koch-Institut. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz. Berlin.
- MILLAR, B. C., LOUGHREY, A., ELBORN, J. S. & MOORE, J. E. 2007. Proposed definitions of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA). *Journal of Hospital Infection*, 67, 109-113.
- MIRZA, H. C., SANCAK, B. & GÜR, D. 2015. The Prevalence of Vancomycin-Intermediate *Staphylococcus aureus* and Heterogeneous VISA Among Methicillin-Resistant Strains Isolated from Pediatric Population in a Turkish University Hospital. *Microbial Drug Resistance*, 21, 537-544.
- MOISE, P. A., SMYTH, D. S., EL-FAWAL, N., ROBINSON, D. A., HOLDEN, P. N., FORREST, A. & SAKOULAS, G. 2008. Microbiological effects of prior vancomycin use in patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *J Antimicrob Chemother*, 61, 85-90.
- MOISE-BRODER, P. A., SAKOULAS, G., ELIOPOULOS, G. M., SCHENTAG, J. J., FORREST, A. & MOELLERLING, R. C., JR. 2004. Accessory gene regulator group II polymorphism in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* is predictive of failure of vancomycin therapy. *Clin Infect Dis*, 38, 1700-5.
- MUSTA, A. C., RIEDERER, K., SHEMES, S., CHASE, P., JOSE, J., JOHNSON, L. B. & KHATIB, R. 2009. Vancomycin MIC plus heteroresistance and outcome of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia: trends over 11 years. *J Clin Microbiol*, 47, 1640-4.
- OKUMA, K., IWAKAWA, K., TURNIDGE, J. D., GRUBB, W. B., BELL, J. M., O'BRIEN, F. G., COOMBS, G. W., PEARMAN, J. W., TENOVER, F. C., KAPI, M., TIENSASITORN, C., ITO, T. & HIRAMATSU, K. 2002. Dissemination of new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in the community. *Journal of clinical microbiology*, 40, 4289-4294.

- ONDUSKO, D. S. & NOLT, D. 2018. Staphylococcus aureus. *Pediatr Rev*, 39, 287-298.
- OTHMAN, H. B., HALIM, R. M. A., GOMAA, F. A. M. & AMER, M. Z. 2018. Vancomycin MIC Distribution among Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus. Is Reduced Vancomycin Susceptibility Related To MIC Creep? *Open access Macedonian journal of medical sciences*, 7, 12-18.
- PATEL, J. B., JEVITT, L. A., HAGEMAN, J., MCDONALD, L. C. & TENOVER, F. C. 2006. An Association between Reduced Susceptibility to Daptomycin and Reduced Susceptibility to Vancomycin in Staphylococcus aureus. *Clinical Infectious Diseases*, 42, 1652-1653.
- PEACOCK, S. J. & PATERSON, G. K. 2015. Mechanisms of Methicillin Resistance in Staphylococcus aureus. *Annu Rev Biochem*, 84, 577-601.
- PÉRICHON, B. & COURVALIN, P. 2000. Update on vancomycin resistance. *Int J Clin Pract*, 54, 250-4.
- PÉRICHON, B. & COURVALIN, P. 2009. VanA-type vancomycin-resistant Staphylococcus aureus. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 53, 4580-4587.
- PILLAI, S. K., WENNERSTEN, C., VENKATARAMAN, L., ELIOPOULOS, G. M., MOELLERING, R. C., JR. & KARCHMER, A. W. 2009. Development of Reduced Vancomycin Susceptibility in Methicillin-Susceptible Staphylococcus aureus. *Clinical Infectious Diseases*, 49, 1169-1174.
- PINHO, M. G., DE LENCASTRE, H. & TOMASZ, A. 2001. An acquired and a native penicillin-binding protein cooperate in building the cell wall of drug-resistant staphylococci. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98, 10886-10891.
- REIPERT, A., EHLERT, K., KAST, T. & BIERBAUM, G. 2003. Morphological and genetic differences in two isogenic Staphylococcus aureus strains with decreased susceptibilities to vancomycin. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 47, 568-576.
- REYNOLDS, P. E. 1989. Structure, biochemistry and mechanism of action of glycopeptide antibiotics. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 8, 943-50.
- ROCH, M., CLAIR, P., RENZONI, A., REVERDY, M.-E., DAUWALDER, O., BES, M., MARTRA, A., FREYDIÈRE, A.-M., LAURENT, F., REIX, P., DUMITRESCU, O. & VANDENESCH, F. 2014. Exposure of Staphylococcus aureus to subinhibitory concentrations of β -lactam antibiotics induces heterogeneous vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 58, 5306-5314.
- RODRIGUEZ-NORIEGA, E. & SEAS, C. 2010. The changing pattern of methicillin-resistant staphylococcus aureus clones in Latin America: implications for clinical practice in the region. *Braz J Infect Dis*, 14 Suppl 2, S87-96.
- RONG, S. L. & LEONARD, S. N. 2010. Heterogeneous vancomycin resistance in Staphylococcus aureus: a review of epidemiology, diagnosis, and clinical significance. *Ann Pharmacother*, 44, 844-50.
- SABOUNI, F., RANJBARI, R., POURAKBARI, B., MAHMOUDI, S., TEYMURI, M., ASHTIANI, M. T. H., MOVAHEDI, Z. & MAMISHI, S. 2013. Staphylococcus aureus infections in children in an Iranian referral pediatric hospital. *Journal of preventive medicine and hygiene*, 54, 205-207.
- SAFDAR, N. & BRADLEY, E. A. 2008. The risk of infection after nasal colonization with Staphylococcus aureus. *Am J Med*, 121, 310-5.
- SAKOULAS, G. & MOELLERING, R. C., JR. 2008. Increasing antibiotic resistance among methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains. *Clin Infect Dis*, 46 Suppl 5, S360-7.

- SAKOULAS, G., MOISE-BRODER, P. A., SCHENTAG, J., FORREST, A., MOELLERING, R. C., JR. & ELIOPOULOS, G. M. 2004. Relationship of MIC and bactericidal activity to efficacy of vancomycin for treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Journal of clinical microbiology*, 42, 2398-2402.
- SATOLA, S. W., FARLEY, M. M., ANDERSON, K. F. & PATEL, J. B. 2011. Comparison of detection methods for heteroresistant vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*, with the population analysis profile method as the reference method. *Journal of clinical microbiology*, 49, 177-183.
- SORIANO, A., MARCO, F., MARTINEZ, J. A., PISOS, E., ALMELA, M., DIMOVA, V. P., ALAMO, D., ORTEGA, M., LOPEZ, J. & MENSA, J. 2008. Influence of vancomycin minimum inhibitory concentration on the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin Infect Dis*, 46, 193-200.
- STEENBERGEN, J. N., ALDER, J., THORNE, G. M. & TALLY, F. P. 2005. Daptomycin: a lipopeptide antibiotic for the treatment of serious Gram-positive infections. *J Antimicrob Chemother*, 55, 283-8.
- STEINKRAUS, G., WHITE, R. & FRIEDRICH, L. 2007. Vancomycin MIC creep in non-vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA), vancomycin-susceptible clinical methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) blood isolates from 2001–05. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 60, 788-794.
- STYERS, D., SHEEHAN, D. J., HOGAN, P. & SAHM, D. F. 2006. Laboratory-based surveillance of current antimicrobial resistance patterns and trends among *Staphylococcus aureus*: 2005 status in the United States. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 5, 2.
- SUTTER, D. E., MILBURN, E., CHUKWUMA, U., DZIALOWY, N., MARANICH, A. M. & HOSPENTHAL, D. R. 2016. Changing Susceptibility of *Staphylococcus aureus* in a US Pediatric Population. *Pediatrics*, 137.
- SVETITSKY, S., LEIBOVICI, L. & PAUL, M. 2009. Comparative Efficacy and Safety of Vancomycin versus Teicoplanin: Systematic Review and Meta-Analysis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53, 4069.
- TENOVER, F. C. 2006. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *Am J Infect Control*, 34, S3-10; discussion S64-73.
- TENOVER, F. C. & MOELLERING, R. C., JR. 2007. The rationale for revising the Clinical and Laboratory Standards Institute vancomycin minimal inhibitory concentration interpretive criteria for *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis*, 44, 1208-15.
- THE EUROPEAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING. 2019. *Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters, version 9.0* [Online]. Available: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/ [Accessed 20.3.2019].
- TSUBAKISHITA, S., KUWAHARA-ARAI, K., SASAKI, T. & HIRAMATSU, K. 2010. Origin and molecular evolution of the determinant of methicillin resistance in staphylococci. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54, 4352-4359.
- TZAGOLOFF, H. & NOVICK, R. 1977. Geometry of cell division in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol*, 129, 343-50.
- VAN HAL, S. J., WEHRHAHN, M. C., BARBAGIANNAKOS, T., MERCER, J., CHEN, D., PATERSON, D. L. & GOSBELL, I. B. 2011. Performance of various testing methodologies for detection of heteroresistant vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in bloodstream isolates. *J Clin Microbiol*, 49, 1489-94.

- VIEDMA, E., SANZ, F., ORELLANA, M. A., SAN JUAN, R., AGUADO, J. M., OTERO, J. R. & CHAVES, F. 2014. Relationship between agr dysfunction and reduced vancomycin susceptibility in methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* causing bacteraemia. *J Antimicrob Chemother*, 69, 51-8.
- VOSS, A., MACHKA, K., LENZ, W. & MILATOVIĆ, D. 1992. [Incidence, frequency and resistance characteristics of methicillin-oxacillin resistant *Staphylococcus aureus* strains in Germany]. *Dtsch Med Wochenschr*, 117, 1907-12.
- WALSH, T. R. & HOWE, R. A. 2002. The prevalence and mechanisms of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Annu Rev Microbiol*, 56, 657-75.
- WALTER, J., HALLER, S., BLANK, H. P., ECKMANNS, T., ABU SIN, M. & HERMES, J. 2015. Incidence of invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in Germany, 2010 to 2014. *Euro Surveill*, 20.
- WALTER, J., NOLL, I., FEIG, M., WEISS, B., CLAUS, H., WERNER, G., ECKMANNS, T., HERMES, J. & SIN, M. A. 2017. Decline in the proportion of methicillin resistance among *Staphylococcus aureus* isolates from non-invasive samples and in outpatient settings, and changes in the co-resistance profiles: an analysis of data collected within the Antimicrobial Resistance Surveillance Network, Germany 2010 to 2015. Robert Koch-Institut, Infektionskrankheiten / Erreger; Robert Koch-Institut, Infektionsepidemiologie.
- WANG, G., HINDLER, J. F., WARD, K. W. & BRUCKNER, D. A. 2006. Increased vancomycin MICs for *Staphylococcus aureus* clinical isolates from a university hospital during a 5-year period. *Journal of clinical microbiology*, 44, 3883-3886.
- WILCOX, M., AL-OBEID, S., GALES, A., KOZLOV, R., MARTÍNEZ-OROZCO, J. A., ROSSI, F., SIDORENKO, S. & BLONDEAU, J. 2019. Reporting elevated vancomycin minimum inhibitory concentration in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: consensus by an International Working Group. *Future Microbiology*, 14, 345-352.
- WISPLINGHOFF, H., BISCHOFF, T., TALLENT, S. M., SEIFERT, H., WENZEL, R. P. & EDMOND, M. B. 2004. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis*, 39, 309-17.
- YEH, Y. C., YEH, K. M., LIN, T. Y., CHIU, S. K., YANG, Y. S., WANG, Y. C. & LIN, J. C. 2012. Impact of vancomycin MIC creep on patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *J Microbiol Immunol Infect*, 45, 214-20.
- ZHANG, S., SUN, X., CHANG, W., DAI, Y. & MA, X. 2015. Systematic Review and Meta-Analysis of the Epidemiology of Vancomycin-Intermediate and Heterogeneous Vancomycin-Intermediate *Staphylococcus aureus* Isolates. *PLOS ONE*, 10, e0136082.
- ZHENG, X., QI, C., ARRIETA, M., O'LEARY, A., WANG, D. & SHULMAN, S. T. 2010. Lack of increase in vancomycin resistance of pediatric methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Isolates from 2000 to 2007. *Pediatr Infect Dis J*, 29, 882-4.

8 Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. Johannes Hübner für die freundliche Überlassung des Themas und die Möglichkeit, in der Abteilung für pädiatrische Infektiologie am Dr. von Haunerschen Kinderspital der Ludwig-Maximilians-Universität München zu promovieren.

Ich bedanke mich besonders bei Herrn Dr. Tilmann Schober, der mich zu jedem Zeitpunkt meiner Arbeit tatkräftig unterstützte und mir zu allen Fragestellungen meiner Promotionsarbeit, die über das reine Fachwissen der pädiatrischen Infektiologie hinausgehen, zur Seite stand.

Ein weiterer Dank gilt Frau Dr. Melanie Meyer-Bühn für ihr Engagement und die tatkräftige Unterstützung bei der Arbeit im mikrobiologischen Labor sowie die freundliche Überlassung eines Arbeitsplatzes.

Ein großes Dankeschön geht auch an die Mitarbeiterinnen im mikrobiologischen Labor, ohne deren Hilfe diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Nicht zuletzt bedanke ich mich bei meiner Familie für Unterstützung, Motivation und Geduld.