

**Etablierung und Evaluation der Diagnostik für  
Carbapenemase-bildende Erreger**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Hohen Medizinischen Fakultät  
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität  
Bonn

**Eva Hoffmans**  
aus Bad Honnef  
2017

Angefertigt mit der Genehmigung  
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Priv.-Doz. Dr. med. Isabelle Bekeredjian-Ding
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Walther Kuhn

Tag der Mündlichen Prüfung: 25.01.2017

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Parasitologie  
Direktor: Prof. Dr. med. Achim Hörauf

## Inhaltsverzeichnis

	<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>5</b>
<b>1.</b>	<b>Einleitung .....</b>	<b>10</b>
1.1	Vorkommen und Klassifizierung multiresistenter Bakterien.....	10
1.1.1	Physiologische Bakterienflora .....	10
1.1.2	Antibiotika und Auswirkungen auf die Normalflora .....	11
1.1.3	Klinisch relevante resistente Bakterien.....	12
1.1.4	Antibiotikaverbrauch und der Einfluss auf das Resistenzverhalten .....	15
1.1.5	Carbapeneme und Carbapenemasen: Wirkprinzip und Epidemiologie .....	17
1.2	Krankenhaushygiene bei Besiedelung oder Infektion mit multiresistenten Erregern (MRE).....	22
1.2.1	Definition von multiresistenten gramnegativen Bakterien .....	23
1.2.2	Hygienemaßnahmen und Prävention .....	24
1.3	Mikrobiologisches Screening und Surveillance .....	26
1.3.1	Empfehlungen und Organisationen .....	26
1.3.2	Screening und Surveillance am Universitätsklinikum Bonn (UKB) .....	26
1.4	Ziel der Arbeit .....	28
<b>2.</b>	<b>Materialien und Methoden .....</b>	<b>29</b>
2.1	Bakterienstämme .....	31
2.2	Herstellung der <i>Tris-buffered Saline</i> (TBS).....	34
2.3	Herstellung des Agarosegels.....	34
2.4	Methoden zur phänotypischen Testung.....	34
2.4.1	Epsilon-Meter-Test (E-Test) .....	34
2.4.2	Kombinierter Plättchendiffusionstest (KPD).....	36
2.5	Methode zur biochemisch-physikalischen Testung: Matrix-unterstützte Laser Desorption/Ionisation-Time of Flight (MALDI-TOF) .....	37
2.6	Methoden zur molekularbiologischen Untersuchung und Typisierung .....	39
2.6.1	Molekularbiologische Versuchsdurchführung .....	39
2.6.2	PCR (Polymerase-Kettenreaktion) und Gelelektrophorese .....	40
2.6.3	Carbapenemase-Nachweis durch Schmelzkurven-basierte <i>real-time</i> PCR.....	41
2.6.4	Stammtypisierung mittels <i>rep</i> PCR.....	44

2.7	Auswertung, graphische Darstellung, Statistik .....	45
<b>3.</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>46</b>
3.1	Bakterienstämme .....	46
3.2	Phänotypische Testungen .....	47
3.2.1	Epsilometer-Test (E-Test) .....	47
3.2.2	Kombinierter Plättchendiffusionstest (KPD).....	48
3.3	Biochemisch-physikalische Testung.....	51
3.4	Molekularbiologische Untersuchungen.....	53
3.4.1	Etablierung der <i>real-time</i> PCR mit Schmelzkurvenanalyse .....	53
3.4.2	Lokale Epidemiologie Carbapenem-resistenter Stämme.....	55
3.4.3	Statistischer Zusammenhang von MHK-Interpretation und Carbapenemase-tra- genden Stämmen .....	58
3.4.4	Analyse der Herkunft des Probenmaterials .....	59
3.4.5	Beschreibung des Patientenkollektivs mit Verdacht auf oder Nachweis von Carbapenemase-produzierenden Erregern (CPE) .....	61
3.4.6	Molekulare Typisierung Carbapenemase-positiver <i>K. pneumoniae</i> .....	65
3.4.7	Molekulare Typisierung OXA-48-positiver <i>E. coli</i> .....	66
<b>4.</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>68</b>
<b>5.</b>	<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>81</b>
<b>6.</b>	<b>Anhang</b> .....	<b>83</b>
<b>7.</b>	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	<b>110</b>
<b>8.</b>	<b>Danksagung</b> .....	<b>120</b>

## Abkürzungsverzeichnis

<b>A</b>	Adenin
ADR	<i>Accord européen relatif au transport international des marchandises Dangereuses par Route</i> (europäisches Übereinkommen über die internationale Beförderung gefährlicher Güter auf der Straße)
AmpC	AmpC $\beta$ -Laktamase
APBA	<i>Aminophenylboronic acid</i> (Aminophenylboronsäure)
AST	<i>Antimicrobial susceptibility testing</i> (antimikrobielle Empfindlichkeitstestung)
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i> (biotechnologische Organisation für Referenzstämme und Zelllinien)
$\alpha$	Alpha
<b>Bla</b> bzw. <i>bla</i>	$\beta$ -Laktamasen (Genname des Enzyms)
$\beta$	Beta
<b>C</b>	Cytosin
$C_{korr}$	korrigierter Kontingenzkoeffizient
CD	<i>Cluster of Differentiation</i> (Unterscheidungsgruppen immunphänotypischer Oberflächenmerkmale)
Col-S	<i>Columbia-sheep-blood-Agar</i> (Columbia Schafsblutagar)
CPE	Carbapenemase-produzierender Erreger
CTX-M	Cefotaximase
Cys	Cystein
<b>D</b>	Deutschland
DIN	Deutsches Institut für Normung
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DPA	<i>Pyridinecarboxylic acid</i> (Pyridincarbonsäure)
$\Delta$	Delta
<b>EDTA</b>	Ethylendiamintetraacetat
EEA	<i>European Economic Area</i> (europäischer Wirtschaftsraum)
EN	Europäische Norm

ESBL	Extended-spectrum- $\beta$ -Laktamase ( $\beta$ -Laktamase mit erweitertem Spektrum)
et al.	<i>Et alii</i> (und andere)
EU	Europäische Union
EUCAST	<i>European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing</i> (europäischer Ausschuss zur antimikrobiellen Empfindlichkeitstestung)
<b>F</b> bzw. f	Freiheitsgrad
FI	Finnland
<b>G</b>	Guanin
GES	<i>Guiana extended spectrum</i> (Carbapenemase)
GIM	<i>German imipenemase</i> (Carbapenemase)
HCCA	<i><math>\alpha</math>-Cyano-4-Hydroxy-cinnamic acid</i> ( $\alpha$ -Cyano-4-Hydroxycimtsäure)
HRM	<i>High resolution melt</i> (Schmelze mit hoher Auflösung)
<b>I</b>	Italien
i.d.R.	In der Regel
IMI	Imipenem-hydrolyzing $\beta$ -Laktamase (Carbapenemase)
IMMIP	Institut für medizinische Mikrobiologie, Infektiologie und Parasitologie
IMP	<i>Active on Imipenem</i> (Carbapenemase)
Inc	Inkompatibilitätsgruppe (Klassifizierungsschema für Plasmide)
IfSG	Infektionsschutzgesetz
IP	Imipenem
IPI	Imipenem-Inhibitor
ISO	Internationale Organisation für Normung
IUBMB	<i>International Union of Biochemistry and Molecular Biology</i> (Internationale Vereinigung für Biochemie und Molekularbiologie)
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i> (Internationale Vereinigung für reine und angewandte Chemie)
<b>K</b> <sub>cat</sub> bzw. <i>k</i> <sub>cat</sub>	<i>Konstant of katalysation</i> (Katalysationsrate)
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae carbapenemase</i> (Carbapenemase)
KPD	Kombinierter Plättchendiffusionstest
KRINKO	Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention

<b>MALDI-TOF</b>	Matrix-unterstützte Laser Desorption/Ionisation-Time of Flight
Max.	Maximal
MBL	Metallo- $\beta$ -Laktamase
<i>mecA</i>	Resistenzgen in MRSA
<i>mecC</i>	Resistenzgen in MRSA
Met	Methionin
MgCl <sub>2</sub>	Magnesiumchlorid
MHK	Minimale Hemmkonzentration
Min.	Minimal
MLST	<i>Multilocus sequence typing</i> (Multilocus Sequenztypisierung)
MRE	Multiresistente Erreger
MRGN	Multiresistente gramnegative Stäbchen
MR-GNE	Multiresistente gramnegative Erreger
MRSA	Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>N</b> bzw. n	Anzahl der Merkmalsausprägungen
NaCl	Natriumchlorid (Kochsalz)
NDM	New-Delhi Metallo- $\beta$ -Laktamase (Carbapenemase)
NI	Nosokomiale Infektionen
NMC	<i>Not metalloenzyme carbapenemase</i> (Carbapenemase)
NPW	Negativer prädiktiver Wert (negativer Vorhersagewert)
NRZ	Nationales Referenzzentrum
NTC	<i>No template control</i> (Negativkontrolle ohne DNA-Template)
<b>OXA</b>	<i>Oxacillin-hydrolyzing</i> (Carbapenemase)
<b>PBP</b>	Penicillin-bindendes Protein
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PFGE	Pulsed-Field-Gelelektrophorese
pH	<i>Potentia Hydrogenii</i> (Maßzahl der Wasserstoffionenkonzentration)
PPW	Positiver prädiktiver Wert (positiver Vorhersagewert)
<b>Rep.</b>	<i>Repetition</i> (Wiederholung)
<i>rep</i> PCR	Repetitive-element-PCR
RKI	Robert Koch-Institut

<b>SBL</b>	Serin- $\beta$ -Laktamase
<b>SDS</b>	<i>Sodium dodecyl sulfate</i> (Natriumlaurylsulfat)
<b>SEN</b>	Sensitivität
<b>SGB</b>	Sozialgesetzbuch
<b>SHV</b>	„Sulphydryl“-Variable ( $\beta$ -Laktamase)
<b>SIM</b>	<i>Seoul imipenemase</i> (Carbapenemase)
<b>SME</b>	<i>Serratia marcescens</i> (Carbapenemase)
<b>S/N</b>	<i>Signal-to-noise-ratio</i> (Signal-Rausch-Verhältnis)
<b>SPE</b>	Spezifität
<b>spp.</b>	<i>Species pluralis</i> (mehrere, nicht im Einzelnen zu nennende Arten)
<b>T</b>	Thymin
<b>Tab.</b>	Tabelle
<b>TBS</b>	<i>Tris-buffered saline</i> (Tris-gepufferte Salzlösung)
<b>TEM</b>	Temoneira ( $\beta$ -Laktamase)
<b>Tris-HCl</b>	Tris(hydroxymethyl)aminomethan-Hydrochlorid
<b>Tyr</b>	Tyrosin
<b>UKB</b>	Universitätsklinikum Bonn
<b>UN-Nummer</b>	Kennnummer für Gefahrgut
<b>USA</b>	<i>United States of America</i> (Vereinigte Staaten von Amerika)
<b>UV</b>	Ultraviolett
<b>VIM</b>	Verona integron-encoded Metallo- $\beta$ -Laktamase (Carbapenemase)
<b>VRE</b>	Vancomycin-resistente Enterokokken
<b>X bzw. X</b>	Chi
<b>Zn</b>	Zink

Chemische Formeln, Aminosäuren und Nukleotide wurden nach den IUPAC- und IUBMB-Regeln abgekürzt.



## Verwendete Einheiten:

bp	Basenpaare
Da	Dalton
dF/dT	Fluoreszenzanstieg pro Zeit
g	Gramm
g/L	Gramm pro Liter
h	<i>Hour</i> (Stunde)
KBE	Kolonie-bildende Einheit
KBE/mL	Koloniebildende Einheiten pro Milliliter
mg	Milligramm
mg/L	Milligramm pro Liter
min	Minute
Mio	Million
mL	Milliliter
mm	Millimeter
mV	Millivolt
m/z	Masse pro Zeit
ng/ $\mu$ L	Nanogramm pro Mikroliter
nM	Nanomolar
OTU	<i>Operational taxonomic unit</i> (mikrobielle Einheit)
s	Sekunde
V	Volt
$\mu$ L	Mikroliter
$\mu$ M	Mikromolar

## 1. Einleitung

In Deutschland sterben jährlich bis zu 15.000 Menschen an behandlungsassoziierten Infektionen (Bundesministerium für Gesundheit, 2015). Laut einer Stellungnahme der Deutschen Gesellschaft für Krankenhaushygiene (DGKH) betrüge die Gesamtzahl nosokomialer Infektionen (NI) nach realistischen Berechnungen sogar ca. 1 Mio/Jahr, woraus sich bei gleicher Letalitätssrate 20.000 bis 70.000 Todesfälle durch NI/Jahr ergäben (Walger et al., 2013). In der deutschen Presse wurde zuletzt über den Ausbruch eines multiresistenten *A. baumannii*-Stammes in Kiel (12/2014-01/2015) berichtet (Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, 2015). Die wachsende Bedrohung durch Krankenhauserreger wird zudem in den jährlich erscheinenden *Global Risks Reports* des World Economic Forums deutlich. Zwischen 2006 und 2014 stieg die Bedeutung von Antibiotika-resistenten Bakterien in sowohl geschätzter Wahrscheinlichkeit als auch als Relevanz als globales Risiko an. Dabei wurden die Bakterien zunächst als „Umweltrisiko“, nach 2013 als „Gefahr der Gesellschaft“ betitelt. Für 2015 ist die schnelle und massive Verbreitung von Infektionskrankheiten, zu welchen auch solche mit Antibiotika-resistenten Bakterien zählen, vor Massenvernichtungswaffen und zwischenstaatlichen Konflikten auf Rang zwei der zehn einflussreichsten globalen Risiken eingestuft worden (The World Economic Forum, 2015).

### 1.1 Vorkommen und Klassifizierung multiresistenter Bakterien

#### 1.1.1 Physiologische Bakterienflora

Haut und Schleimhäute des Menschen sind mit einer physiologischen Flora besiedelt, die aus apathogenen und fakultativ pathogenen Erregern, sog. Kommensalen, besteht (Hof und Dörries, 2009). Insgesamt beträgt die Zellzahl der Mikroorganismen auf und in unserem Körper bis zu 100 Billionen ( $10^{14}$ ), welches der zehnfachen Menge der körpereigenen Zellen entspricht (Qin et al., 2010). Die größte phylogenetische Vielfalt weisen Haut, Darm und Mundhöhle auf (Costello et al., 2009), wohingegen Blut, Liquor, Urin und Gewebeflüssigkeit bei gesunden Individuen steril sind (Groß, 2006). Wichtige Selektionsfaktoren für bakterielles Wachstum sind die im Körper vorherrschenden Bedingungen, wie Temperatur, Feuchtigkeit und Sauerstoffpartialdruck, sowie die ver-

fügbaren Nährstoffe und das Säure-Basen-Verhältnis. Daneben beeinflussen bakterielle Synergismen und Wechselwirkungen die Zusammensetzung der Normalflora. Darunter fallen die Konkurrenz um Substrate und die Produktion toxischer Substanzen, einerseits als Abfallprodukte des bakteriellen Stoffwechsels (sog. Metabolithemmung), andererseits über die aktive Bildung von antibiotisch wirksamen Substanzen (Bakteriozine) (Suerbaum et al., 2012). Die dichte Besiedelung der Haut und Schleimhäute mit der Standortflora schränkt die Ansiedelung von Infektionserregern deutlich ein, was als Kolonisationsresistenz bezeichnet wird (Jassey und Schwarzkopf, 2013).

Die individuelle Zusammensetzung der Darmflora ist u. a. abhängig von Geburtsmodus und Ernährung/Stillen in den ersten drei Lebensjahren. Fortan verbleibt die Zusammensetzung der Flora mit fast 2.000 OTU bis ins Erwachsenenalter weitestgehend stabil (Arrieta et al., 2014). Im Gegensatz zu großer interindividueller Variabilität bei geringer bakterieller Diversität in Kindern, findet sich unter Erwachsenen eine nahezu gleichartige Flora mit größerer bakterieller Vielfalt (Yatsunencko et al., 2012). Den überwiegenden Anteil der adulten Darmflora bildet die Gattung *Bacteroides*, gefolgt von Firmicutes, v. a. *Eubacterium*, *Ruminococcus* und *Clostridium*, sowie der Gattung *Bifidobacterium* (Kurokawa et al., 2007). Neben weiteren Anaerobiern, die 99 % der residenten Flora ausmachen, und Laktobazillen, wird die luminale Mikroflora zu einem Prozent von fakultativen Anaerobiern, besonders Enterobakterien und Enterokokken, besiedelt. *Pseudomonas* spp., Hefen, *Bacillus* spp. und Protozoen zählen zu den nur transient nachweisbaren Erregern im Dickdarm. Wandständig befinden sich aufgrund der besseren Sauerstoffversorgung ein größerer Anteil fakultativer Anaerobier und Bakterien mit adhäsiven Eigenschaften (z. B. *E. coli*) (Suerbaum et al., 2012). Im Jahr 2011 charakterisierten Arumugam et al. das Vorkommen drei verschiedener Enterotypen mit den Leitgattungen 1. *Bacteroides*, 2. *Prevotella* oder 3. *Ruminococcus*. Metagenomische Studien zeigten später Korrelationen zu Geschlecht, Alter oder *body mass index* (BMI), woraus auf ein mögliches diagnostisches Potenzial mikrobieller Marker geschlossen wurde (Arumugam et al., 2011).

### 1.1.2 Antibiotika und Auswirkungen auf die Normalflora

Die Behandlung mit Antibiotika hat weitreichende Effekte auf das intestinale Ökosystem. Änderungen der mikrobiellen Zusammensetzung auf taxonomischer, genomischer und

funktioneller Ebene beeinflussen die Verfügbarkeit von Ressourcen und bakterielle Interaktionen (Modi et al., 2014). Der mit Antibiotikagabe assoziierte Verlust der Kolonisationsresistenz stellt neue Nischen für potenziell pathogene Erreger bereit. Gleichzeitig findet eine Selektion resistenter Bakterien statt (Jernberg et al., 2007), einhergehend mit der Anreicherung von Resistenzgenen im Mikrobiom und vermehrtem horizontalen Gentransfer (Beaber et al., 2004). Neben diesen *collateral effects* existieren zusätzlich zum therapeutischen Ziel auch sog. *bystander effects*. Darunter versteht man, dass die antibiotische Therapie auch die Zusammensetzung von Standortflora außerhalb derer des zu behandelnden Pathogens verändert. Demnach sind Kommensalen der Darmflora beispielsweise bei oraler Behandlung eines respiratorischen Infektes mit Fluorchinolonen ebenfalls von der antibiotischen Wirkung betroffen (Hoban, 2003). Neben den akuten Auswirkungen (von selbstlimitierender Diarrhö bis hin zu lebensbedrohlicher pseudomembranösen Colitis), wurden persistierende Veränderungen der Komposition der Darmflora bis zu vier Jahre nach kurzer antibiotischer Therapie beschrieben (Jakobsson et al., 2010; Jernberg et al., 2007). Die Verabreichung einer Breitspektrum-Antibiose im Kindesalter korreliert zudem in einer Studie mit dem Auftreten von Asthma und anderen allergischen Erkrankungen (Hoskin-Parr et al., 2013) und wurde als Risikofaktor für die Entwicklung chronisch entzündlicher Darmerkrankungen beschrieben (Kronman et al., 2012). Spezielle Auswirkungen auf das Immunsystem, wie etwa die Abnahme der Produktion von Interferon- $\gamma$  und Interleukin-17A in CD4-positiven T-Lymphozyten, gelten als Hinweis auf verminderte immunologische Aktivität nach Antibiotikagabe (Hill et al., 2010), wurden aber bisher lediglich in Mausmodellen beschrieben.

### 1.1.3 Klinisch relevante resistente Bakterien

#### Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE):

Klinisch betrachtet ist vor allem die Besiedelung mit resistenten Bakterien eine große therapeutische Herausforderung. Die Anwendung einer Antibiose bedingt beispielsweise ein 1,25 bis 31,9-fach vermehrtes Auftreten von Vancomycin-resistenten Enterokokken und stellt damit den größten Risikofaktor für die Kolonisation mit diesen grampositiven Erregern dar (Mutters et al., 2013). Insgesamt ist die Inzidenz resistenter Enterokokken in Europa steigend. Dies zeigt z. B. eine Studie aus Schweden, welche einen vierfachen Anstieg von VRE-Infektionen zwischen 2000 bis 2006 und 2007 bis 2009 verzeichnet

(Arias und Murray, 2012). Die Mortalität einer VRE-positiven Bakteriämie ist laut DiazGranados et al. (2005) im Vergleich zu solchen mit Nachweis Vancomycin-sensibler Stämme signifikant erhöht. Enterokokken führen bei Patienten ohne Immunsuppression aufgrund des Fehlens von Pathogenitätsfaktoren selten zu klinisch manifesten oder systemisch relevanten Infektionen. Auch die Verfügbarkeit neuer wirksamer Antibiotika trägt dazu bei, dass ihnen häufig eine geringere Bedeutung als anderen Antibiotika-resistenten Erregern beigemessen wird (Mutters et al., 2013).

Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* (MRSA):

MRSA-Stämme sind, in den letzten Jahren unverändert, die häufigsten multiresistenten Erreger (MRE), die bei Intensivpatienten nachgewiesen werden. Nach dem Infektionsschutzgesetz (IfSG § 7 Abs 1 Satz 1) besteht seit 2009 Meldepflicht für MRSA bei Nachweis in Blutkultur oder Liquor (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, 2014). Dabei gelten die grampositiven Kokken nicht ausschließlich als Verursacher nosokomialer Infektionen, sondern sind auch im ambulanten Bereich und außerhalb der Patientenversorgung (sog. „Community-acquired“-MRSA) klonal verbreitet. MRSA-Stämme sind gegen alle  $\beta$ -Laktam-Antibiotika und Carbapeneme resistent, teilweise wirken auch Reserveantibiotika, wie Vancomycin, Linezolid, Dapto- oder Fosfomycin, nicht mehr (Jassoy und Schwarzkopf, 2013). Im Rahmen einer Studie des MRE-Netzwerkes Nordwest ([www.mre-net.org](http://www.mre-net.org)) stellte sich heraus, dass 4,6 % der MRSA-positiven Patienten unter 12 dokumentierten MRSA-Risikofaktoren einzig und allein dem der antibiotischen Therapie ausgesetzt waren (Robert Koch-Institut, 2013). Die Resistenz gegen  $\beta$ -Laktame liegt auf den Genen *mecA* oder *mecC*, deren Expression zu einem veränderten Penicillin-Bindungsprotein führt. Außerdem wurde in den letzten Jahren die Übertragung einer Linezolid-Resistenz von Koagulase-negativen Staphylokokken auf MRSA-Stämme beobachtet (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, 2014). Insgesamt sank der Anteil von MRSA an sensiblen *S. aureus* aber von 2007-2010 von 20,3 % auf 16,7 % (Kresken et al., 2013) und betrug im Jahr 2013 nur noch 13,5 % (Kresken und Körper-Irrgang, 2015).

### Multiresistente gramnegative Stäbchen (MRGN):

Während die Inzidenz von Infektionen durch MRSA rückläufig ist, betiteln Schröppel und Riessen (2013) die steigende Anzahl multiresistenter gramnegativer Stäbchen als „wichtigstes infektionsmedizinisches Problem weltweit“. Auf amerikanischen Intensivstationen sind ca. 70 % der beatmungsassoziierten Pneumonien und Harnwegsinfektionen durch gramnegative Bakterien verursacht. In anderen Teilen der Welt wurden ähnliche Daten erhoben (Peleg und Hooper, 2010). Antibiotische Resistenz in gramnegativen Stäbchenbakterien umfasst ein weites Spektrum an Mechanismen. Beispiele sind Porinverluste, die die Membranpermeabilität senken, Effluxpumpen, die zur aktiven Ausschleusung von Antibiotika beitragen, Mutationen, die die Bindung des Antibiotikums verhindern, oder Enzyme, die zur Inaktivierung des Antibiotikums führen (Ho et al., 2010). Gramnegative Bakterien nutzen häufig mehrere dieser Mechanismen, um der Wirkung eines oder mehrerer Antibiotika zu entgehen (Peleg und Hooper, 2010). Insbesondere die aktuelle schnelle weltweite Ausbreitung von Carbapenemasen und des ESBL-Enzyms CTX-M (Cefotaximase) in Enterobakterien sowie die zunehmende Verbreitung von panresistenten *Pseudomonas* spp. und *Acinetobacter* spp. heben das epidemische Gefährdungspotenzial dieser Bakterien hervor (Ho et al., 2010). Die therapeutischen Optionen zur Behandlung von MRGN sind limitiert, da sie sich durch multiple Resistenzmechanismen auch gegenüber Reserveantibiotika mit breit wirksamen Erregerspektren als unempfindlich erweisen. Der alternative Einsatz älterer Wirkstoffe, die häufig noch wirksam sein können, ist allerdings mit einem größeren Risiko relevanter Nebenwirkungen und Organtoxizität behaftet (Schröppel und Riessen, 2013).

### Resistente Anaerobier:

Eine potenziell zukünftige medizinische Herausforderung bieten darüber hinaus obligate Anaerobier, deren Empfindlichkeit gegenüber Antibiotika ebenfalls im letzten Jahrzehnt abgenommen hat. Nahezu alle der zu Infektionen führenden anaeroben Bakterien stammen aus der körpereigenen Flora. Die am häufigsten isolierten Pathogene mit gleichzeitig größtem Resistenzvermögen sind Bakterien der Gattung *Bacteroides* (Jenkins, 2001). Boyanova et al. (2014) kamen durch die Untersuchung von Resistenzberichten aus den Jahren 2000 bis 2013 zu der Erkenntnis, dass in allen beteiligten Studien eine erhöhte Resistenz gegenüber Moxifloxacin in *Bacteroides/Parabacteroides* spp. in Europa beo-

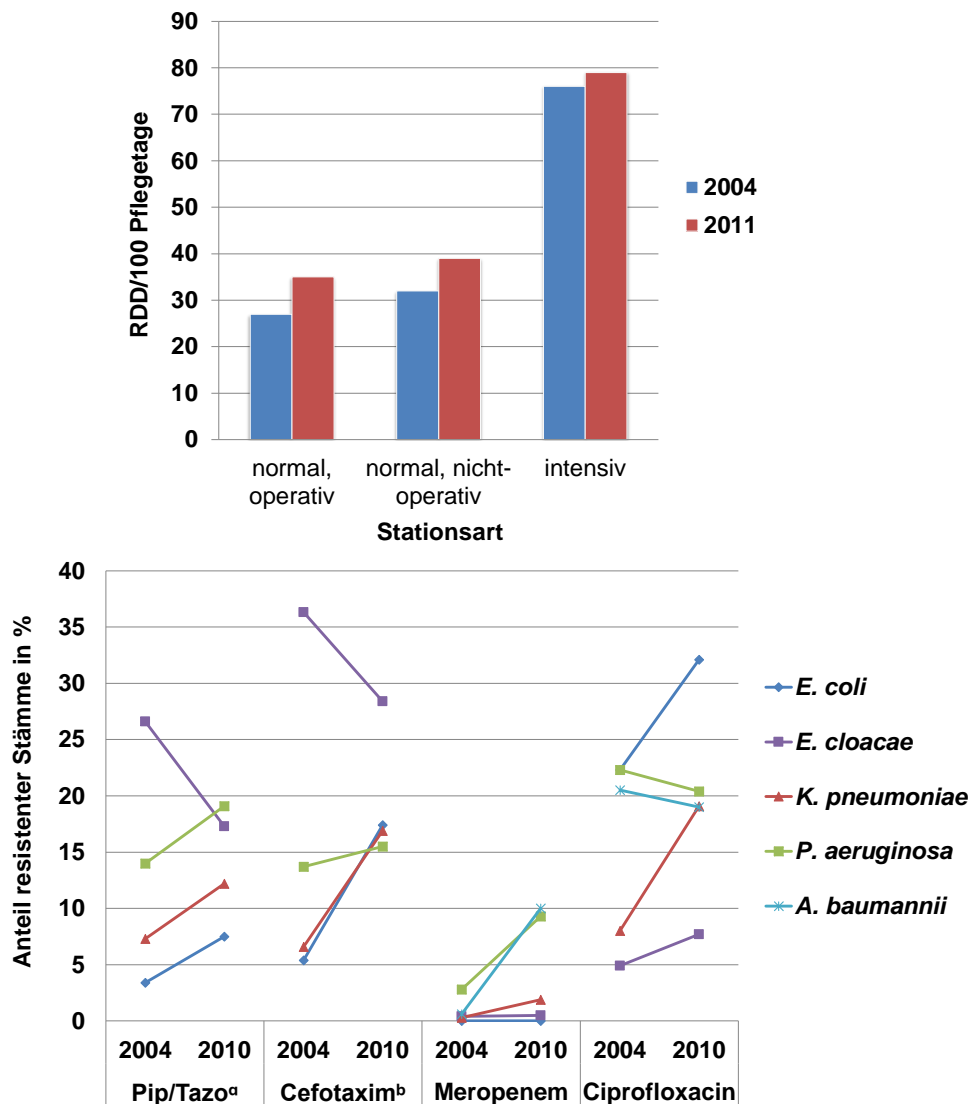
bachtet wurde. In der Hälfte der Studien wurden zudem erhöhte Resistenzraten gegen Amoxicillin/Clavulansäure oder Ampicillin/Sulbactam und Clindamycin festgestellt. In den vergangenen fünf Jahren wurde außerdem eine Ausbreitung multiresistenter Anaerobier (Resistenz gegen  $\geq 3$  Antibiotikaklassen), ausgehend von Afghanistan über Europa nach Skandinavien, beschrieben (Boyanova et al., 2014).

#### 1.1.4 Antibiotikaverbrauch und der Einfluss auf das Resistenzverhalten

Die Antibiotikaverbrauchsdichte in Deutschland ist in den letzten Jahren kontinuierlich angestiegen (s. Abb. 1). In Universitätskliniken werden durchschnittlich über 60 *defined daily doses*/100 Pflage tage verabreicht, wobei am häufigsten  $\beta$ -Laktame und Fluorchinolone verordnet werden. Damit liegt Deutschland mit seinem Spitzenreiter Nordrhein-Westfalen im Mittelfeld der europäischen Antibiotikaverbrauchsdichte. Auch im ambulanten Bereich, welchem 85 % des gesamten Antibiotikaverbrauchs zugeschrieben wird, stieg der Anteil verschriebener Reserveantibiotika (v. a. Oralcephalosporine und Fluorchinolone) in den letzten Jahren deutlich an. Während 2004 das Verhältnis von Breitspektrum- zu Schmalspektrumantibiose bei 1,96 lag, betrug es 2009 bereits 3,98 (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, 2014). Der Verbrauch von Carbapenemen nahm von 2007 bis 2009 in Krankenhäusern und ambulant in 15 von 19 EU/EEA-Ländern signifikant zu (European Center for Disease Prevention and Control, 2012).

Analog zum steigenden Antibiotikaverbrauch lassen sich Veränderungen des Resistenzspektrums in Deutschland feststellen (s. Abb. 1). Das Auftreten ESBL-bildender *E. coli*, die nicht mehr mit Cephalosporinen oder Fluorchinolonen behandelt werden können, nimmt zu (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, 2014). Obwohl Carbapeneme als Reserveantibiotika in solchen Fällen mit einer Resistenzrate von  $< 1$  % eine wirksame Alternative darstellen, ist in den nächsten Jahren mit einer Zunahme von Carbapenem-resistenten Stämmen zu rechnen. Ein Hinweis dafür ist die Zunahme des Verbrauchs von Carbapenemen auf Intensivstationen von 2001 bis 2014 um mehr als das Doppelte (NRZ für Nosokomiale Infektionen, 2013). Auch die Einsendung Carbapenem-resistenter Stämme an das NRZ für gramnegative Krankenhauserreger (Bochum, D) ist im Vergleich zu den Vorjahren deutlich angestiegen (NRZ für gramnegative Krankenhauserreger, 2013). Faktisch wuchs zwischen 2007 und

2010 der Anteil Meropenem-resistenter *P. aeruginosa* von 11,8 % auf 20 % (Kresken et al., 2013). Die Resistenzhäufigkeit von *A. baumannii*-Stämmen gegen Carbapeneme auf Normalstationen nahm von 2008 bis 2012 von 3 % auf ca. 9-10 % zu (Robert Koch-Institut, 2014).



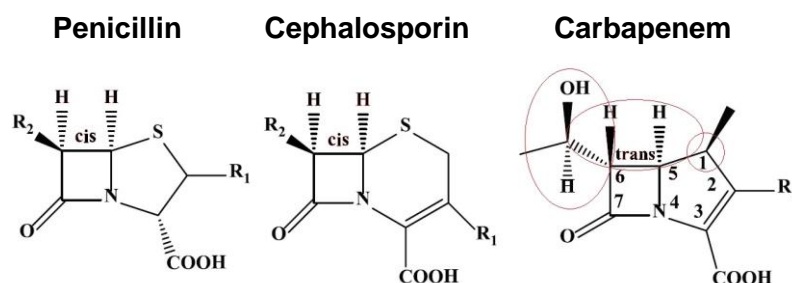
**Abb. 1:** Antibiotikaverbrauchsdichte und resistente Stämme 2004 und 2010/11.

Oben: Antibiotikaverbrauchsdichte nach Stationsart. Angegeben ist der Median in *recommended daily doses* (RDD)/100 Pflegetage für die Jahre 2004 und 2011. Unten: Anteil resistenter Stämme aus dem Hospitalbereich nach Antibiotikum. Angegeben ist der Anteil in Prozent für die Jahre 2004 und 2010 (adaptiert nach Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, 2014). <sup>a</sup>Piperacillin/Tazobactam. <sup>b</sup>für *P. aeruginosa* Ceftazidim.



### 1.1.5 Carbapeneme und Carbapenemasen: Wirkprinzip und Epidemiologie

Carbapeneme sind  $\beta$ -Laktame, welche aufgrund erschwerter Hydrolyse durch  $\beta$ -Laktamasen als Reserveantibiotikum u. a. bei schweren nosokomialen Infektionen eingesetzt werden. Verglichen mit Penicillinen und Cephalosporinen besitzen Carbapeneme in ihrer chemischen Grundstruktur kein Schwefelatom, eine Hydroxyethylgruppe an C6 und eine C5-C6-Bindung in trans-Konfiguration, wodurch ihre Wirksamkeit gesteigert ist (s. Abb. 2). Die Deacylierung durch  $\beta$ -Laktamasen wird in Carbapenemen durch Tautomerisierung der Pyrrol-Doppelbindung in die  $\Delta^1$ -Isoform verlangsamt und durch die Hydroxyethyl-Seitenkette sterisch gehindert (Papp-Wallace et al., 2011).

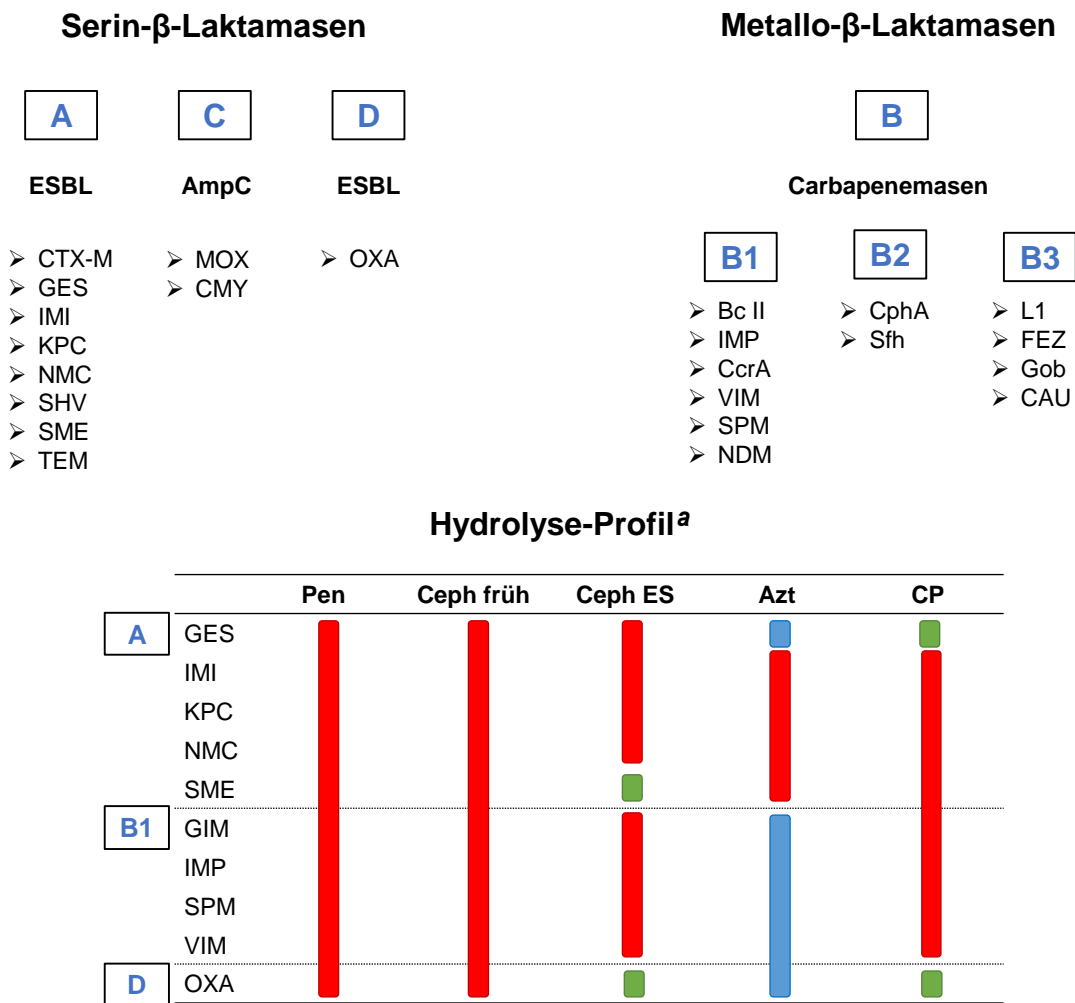


**Abb. 2:** Penicillin-, Cephalosporin- und Carbapenem-Grundgerüst.

Abgebildet sind die Strukturformeln in Keilstrichform. Markierungen am Carbapenem: Fünfgliedrige Ringstruktur wie Penicillin, aber mit Kohlenstoffatom an C1 statt eines Schwefelatoms; Hydroxyethyl-Seitenkette an C6 in R-Konfiguration erhöht die  $\beta$ -Laktam-Potenz; trans-Konfiguration an C5-C6-Bindung erhöht die Potenz des Carbapenems im Vergleich zu Penicillinen und Cephalosporinen (adaptiert nach Papp-Wallace et al., 2011).

Die Unempfindlichkeit von grampositiven Erregern gegen Carbapeneme ist hauptsächlich auf die Struktur des Penicillin-bindenden Proteins (PBP), dem Angriffspunkt der  $\beta$ -Laktam-Antibiotika, zurückzuführen. In gramnegativen Bakterien führen hingegen  $\beta$ -Laktamasen, Effluxpumpen und Porinverluste zu einer verminderten Carbapenem-Empfindlichkeit. Der am weitesten verbreitete spezifische Resistenzmechanismus gegen Carbapeneme ist die Expression von Carbapenemasen, spezifischer  $\beta$ -Laktamasen (Papp-Wallace et al., 2011).  $\beta$ -Laktamasen werden nach der Ambler-Klassifikation, basierend auf homologen Aminosäuresequenzen und der Konfiguration ihres aktiven Zentrums, in vier Klassen (A-D) eingeteilt (s. Abb. 3). Während  $\beta$ -Laktamasen der Klasse B Zinkionen

zur Inaktivierung der  $\beta$ -Laktame benötigen, bedienen sich Zugehörige der Klassen A und D der Aminosäure Serin zur Hydrolyse der  $\beta$ -Laktam-Bindungsstelle. Das aktive Zentrum der Klasse C- $\beta$ -Laktamasen beinhaltet ebenfalls Serin, zeigt aber keinerlei Carbapenemase-Aktivität (Queenan und Bush, 2007).



**Abb. 3:** Einteilung der  $\beta$ -Laktamasen nach Ambler und Hydrolyse-Profil einiger Carbapenemasen.

Oben: Einteilung der  $\beta$ -Laktamasen in Gruppen A-D nach Resistenzklasse und aktivem Zentrum (Fachgebiet Nosokomiale Infektionen des RKI, 2007). Unten: Hydrolyse-Profil ausgewählter Carbapenemasen gegenüber Penicillinen (Pen), Cephalosporinen der frühen/1. Generation (Ceph früh), *extended-spectrum* Cephalosporinen (Ceph ES), Aztreonam (Azt) und Carbapenemen (CP). <sup>a</sup>Rot= starke Hydrolyse ( $k_{cat} > 2 \text{ s}^{-1}$ ), blau= schwache Hydrolyse ( $k_{cat} 0,5-2 \text{ s}^{-1}$ ), grün= keine messbare Hydrolyse bekannt ( $k_{cat} < 0,5 \text{ s}^{-1}$ ) (adaptiert nach Queenan und Bush, 2007; Tzouvelekis et al., 2012).

#### Carbapenemasen der Amblerklasse A:

Carbapenemasen der  $\beta$ -Laktamaseklasse A verfügen über zwei strukturelle Veränderungen gegenüber anderen  $\beta$ -Laktamasen ihrer Klasse. Zum einen bewirkt die Ausbildung einer Disulfidbrücke zwischen Cys<sup>69</sup> und Cys<sup>238</sup> eine Distanzänderung zwischen den Resten des aktiven Zentrums. Diese Reste weisen außerdem, verglichen mit den Nicht-Carbapenemasen SHV-1 und TEM-1, eine alterierte Aminosäuresequenz auf. Die genannten Modifikationen führen zur sterischen Hinderung der C6-Hydroxyethyl-Seitenkette von Carbapenemen, wodurch ihre Hydrolyse begünstigt wird (Papp-Wallace et al., 2011). Klasse A-Carbapenemasen sind chromosomal (z. B. SME, NMC, IMI) und/oder auf Plasmiden (z. B. KPC, GES) kodiert. In GES-positiven Isolaten kann die genetische Information außerdem auf Integrons lokalisiert sein (Queenan und Bush, 2007). Die KPC-Familie gehört zu den klinisch wichtigsten Carbapenemasen in Enterobakterien (Tzouveleki et al., 2012), da sie alle Klassen von  $\beta$ -Laktamen hydrolysieren. Die Lokalisation von *bla*<sub>KPC</sub> auf Plasmiden und die Neigung von *K. pneumoniae* zu Akkumulation und Transfer von Resistenzen bergen ein großes Verbreitungspotenzial. Im Jahr 2007 wurde folglich vom ersten KPC-positiven Isolat außerhalb der Familie der Enterobakterien berichtet (Villegas et al., 2007).

#### Carbapenemasen der Amblerklasse B:

Die große Variabilität an Primärsequenzen und weitere strukturelle Unterschiede der Metallo- $\beta$ -Laktamasen (MBL) führte zur Unterteilung der Klasse B-Carbapenemasen in die Subgruppen B1-B3. Allen gemein ist die Hydrolyse von Carbapenemen und die Resistenz gegenüber handelsüblichen  $\beta$ -Laktamase-Inhibitoren bei Hemmung durch Metallionen-Chelatoren, wie EDTA (Tzouveleki et al., 2012). Carbapenemasen der Subgruppen B1 und B3 verfügen über zwei zweiwertige Zinkionen im aktiven Zentrum. Eines ist für die Generierung eines vulnerablen Nukleophils beim Angriff des  $\beta$ -Laktam-Rings, das andere zur Stabilisierung eines vierbündigen Zwischenprodukts in der Hydrolyse-Reaktion zuständig. In Mono-Zn<sup>2+</sup>-Enzymen der Subgruppe B2 wird das als Nukleophil dienende Wassermolekül durch Koordination der Aminosäure Histidin entsprechend dirigiert, während das Zinkion lediglich Stabilisierungszwecken dient (Papp-Wallace et al., 2011). Die häufigsten MBL (VIM, IMP, GIM, SIM) sind als Genkassetten in Integrons organisiert. Bei umstrukturierter oder en-bloc-Integration dieser in Transposons

und Plasmide findet ein Gentransfer statt (Tzouvelekis et al., 2012). VIM-Carbapenemasen, ursprünglich beschränkt auf *P. aeruginosa*, wurden beispielsweise zunehmend in Enterobakterien nachgewiesen (Walsh et al., 2005).

Carbapenemasen der Amblerklasse D:

In Carbapenemasen der Klasse D, den Oxacillinasen, scheint die  $\beta_5\beta_6$ -Schleife eine wichtige Rolle im Umsatz des Antibiotikums einzunehmen. Im Apoenzym des OXA-24 führt außerdem die Ausbildung einer hydrophoben Brücke zwischen Tyr<sup>112</sup> und Met<sup>223</sup> zu einer Verkleinerung des aktiven Zentrums. Diese Modifikation führt zu einer erhöhten Affinität der im Vergleich zu Oxacillin kleineren Carbapeneme (Papp-Wallace et al., 2011). Die Mehrheit der OXA-Carbapenemasen wurde in *A. baumannii* entdeckt. OXA-51-like Enzyme sind in einigen *A. baumannii*-Subpopulationen ein natürlicher Anteil des Wildtyp-Chromosoms (Walsh et al., 2005). Von besonderer klinischer Bedeutung ist in diesem Zusammenhang die Plasmid-kodierte OXA-48, welche bevorzugt in *K. pneumoniae* vorkommt. Dieses Enzym verfügt über eine zehnfach höhere Aktivität als die typischen OXA-Subgruppen aus *A. baumannii* (Tzouvelekis et al., 2012). Die signifikant höhere Hydrolyse von Imipenem ist hypothetisch auf die Assoziation des Genes *bla*<sub>OXA-like</sub> mit der Insertionssequenz IS1999 als Verstärkereffekt für die Expression und einen Porinverlust der beherbergenden Spezies zurückzuführen (Walther-Rasmussen und Høiby, 2006). Während *bla*<sub>OXA-like</sub>-Gene alle in Assoziation mit Insertionssequenzen identifiziert wurden, sind die meisten der Klasse D- $\beta$ -Laktamase-kodierenden Gene als Genkassetten in Klasse 1 Integron-Strukturen lokalisiert (Poirel et al., 2012).

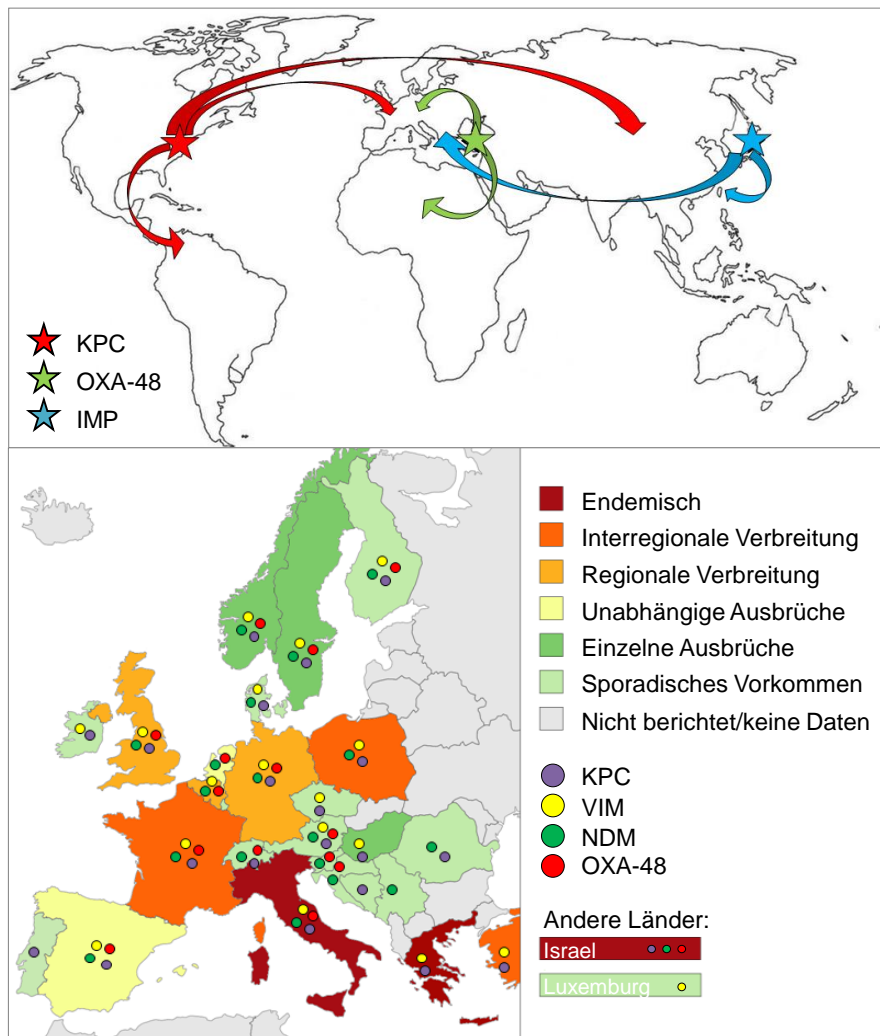
Zunehmende Berichte über Carbapenemase-produzierende Stämme führten zur Detektion globaler Verbreitungswege der Resistenzgene (s. Abb. 4):

- Nachdem 1996 der erste **KPC-2**-positive Stamm in North Carolina (USA) entdeckt wurde, verbreitete sich die Resistenz innerhalb weniger Jahre in angrenzende US-Staaten, Südamerika, Europa und China (Navon-Venezia et al., 2009). Maßgeblich an der Übertragung beteiligt war der *K. pneumoniae*-Klon ST-258 (Chen et al., 2014). KPC als klinisch meist verbreitete Klasse A-Carbapenemase tritt vor allem in nosokomialen *K. pneumoniae*-Isolaten auf.

- **MBL** wurden erstmals 1991 in Japan detektiert (IMP-tragende *Serratia marcescens*) und kommen heute endemisch in Griechenland und Taiwan vor (Nordmann et al., 2011). Eine besonders schnelle Verbreitung zeigt die New-Dehli-MBL (NDM). Nach der Erstisolation aus einem zuvor in New-Dehli behandelten Patienten 2008 in Schweden sind seit 2010 NDM-positive Isolate auf allen Kontinenten außer Zentral- und Südamerika nachgewiesen worden. Dabei kommt die Carbapenemase sowohl im Krankenhaus, v. a. in *K. pneumoniae*, als auch ambulant, v. a. in *E. coli*, vor. In New-Dehli wurden des Weiteren NDM-Nachweise in Wasserhähnen und natürlichen Wasserquellen erbracht (Nordmann et al., 2011).
- Von der Klasse D-Carbapenemase **OXA-48** wurde erstmals 2003 berichtet. Ausgehend von der Türkei ist nun eine steigende Prävalenz von OXA-48 in Europa und Afrika erkenntlich (Carrër et al., 2010).

Aktuell werden Carbapenemasen in Enterobakterien vorrangig in Südeuropa und Asien und primär in *K. pneumoniae* gefunden. In Europa weisen Griechenland, Italien, die Türkei und Israel im Vergleich zu den nordischen Ländern, Deutschland, der Schweiz und der Tschechischen Republik eine höhere Prävalenz auf (s. Abb. 4) (Cantón et al., 2012). Der Typ der vorkommenden Carbapenemasen ist aufgrund historischer und kultureller Beziehungen und grenzüberschreitenden Aktivitäten (Patiententransport, Reisen, Medizintourismus, Flüchtlingslage) länderspezifisch (European Centre for Disease Prevention and Control, 2011).

In Deutschland findet sich im Vergleich zu anderen europäischen Ländern eine größere Diversität von Carbapenemasen. Aus einem Bericht des nationalen Referenzzentrums (NRZ) für gramnegative Krankenhauserreger (Bochum, D) von 2012 geht hervor, dass in Erregern aus 14 der 16 Bundesländer OXA-48 nachgewiesen wurde und die Klasse D-Carbapenemase die häufigste in Enterobakterien ist. Korrelierend mit Daten anderer Länder wird VIM-2 zumeist von *P. aeruginosa* getragen. Entsprechend der beschriebenen raschen globalen Ausbreitung von NDM (s. o.) hat sich die Anzahl nachgewiesener NDM in *K. pneumoniae* von 2011 bis 2012 verdoppelt. Die KPC ist mit vermehrtem Auftreten von KPC-3 in Berlin und endemischem Vorkommen von KPC-2 in Sachsen geographisch ungleich verteilt (NRZ für gramnegative Krankenhauserreger, 2013).



**Abb. 4:** Globale und europäische Verbreitung von Carbapenemasen. Oben: Beginn globaler Ausbreitungswege der Carbapenemasen KPC, OXA-48, IMP (s. Text). Unten: Europäische Epidemiologie der Carbapenemasen KPC, VIM, NDM, OXA-48 (Cantón et al., 2012).

## 1.2 Krankenhaushygiene bei Besiedelung oder Infektion mit multiresistenten Erregern (MRE)

Die Besiedelung oder Infektion mit MRE während eines Krankenhausaufenthaltes ist von individuellen Faktoren, wie der Schwere der Erkrankung und Komorbiditäten, dem Antibiotikakonsum, Alter und Immunität, abhängig. Ebenso beeinflussen hygienische Standards der Einrichtungen und deren Umsetzung das Risiko eine nosokomiale Infektion zu erlangen. Johnson et al. (2009) zeigten in einer fünfjährigen Studie, dass über ein Drittel der Infektionen durch Imipenem-resistente *P. aeruginosa*-Isolate auf Intensivstationen auf

eine Übertragung der Bakterien von Patient zu Patient zurückzuführen war. Ein Patientenzimmer, in welchem zuvor ein Patient mit Nachweis von multiresistenten Bakterien untergebracht war, ist nach Nseir et al. (2011) ein unabhängiger Risikofaktor für die Besiedelung mit multiresistenten *A. baumannii* und *P. aeruginosa* des nachfolgenden Patienten. Die Effektivität von Hygienemaßnahmen besiedelter oder infizierter Patienten beschäftigt bei wachsender Bedrohung durch multiresistente Bakterien nationale und internationale Institutionen (Siegel et al., 2007).

### 1.2.1 Definition von multiresistenten gramnegativen Bakterien

Die Termini 3MRGN und 4MRGN beziehen sich auf das Resistenzprofil multiresistenter gramnegativer Stäbchen in Bezug auf vier Leitantibiotika (s. Tab. 1). Darüber hinaus gelten folgende Besonderheiten: *A. baumannii* oder Enterobakterien, die Ciprofloxacinempfindlich sind, aber eine Carbapenem-Resistenz aufweisen sowie Enterobakterien mit Empfindlichkeit gegenüber Imipenem und Meropenem, aber molekularbiologischem Nachweis einer Carbapenemase, gelten als 4MRGN. Bei *P. aeruginosa* findet die Bewertung der Cephalosporin-Resistenz lediglich anhand Ceftazidim statt, da Cefotaxim keine Pseudomonaden-Wirksamkeit aufweist (Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention am RKI, 2012).

**Tab. 1:** Klassifizierung multiresistenter gramnegativer Stäbchen (MRGN).

Klassifizierung auf Basis der phänotypischen Resistenzeigenschaften gramnegativer Erreger (R= resistent oder intermediär empfindlich, S= sensibel) (adaptiert nach Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention am RKI, 2012).

Antibiotika- gruppe	Leitsubstanz	Enterobakterien		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Acinetobacter baumannii</i>	
		3MRGN <sup>a</sup>	4MRGN <sup>b</sup>	3MRGN <sup>a</sup>	4MRGN <sup>b</sup>	3MRGN <sup>a</sup>	4MRGN <sup>b</sup>
Acylureido- penicilline	Piperacillin	R	R	Nur eine der vier Anti- biotika- gruppen wirksam (sensibel)	R	R	R
3./4. Generations- Cephalosporine	Cefotaxim/ Ceftazidim	R	R		R	R	R
Carbapeneme	Imipenem/Me- roopenem	S	R		R	S	R
Fluorchinolone	Ciprofloxacin	R	R		R	R	R

<sup>a</sup> 3MRGN (Multiresistente gramnegative Stäbchen mit Resistenz gegen 3 der vier Antibiotikagruppen)

<sup>b</sup> 4MRGN (Multiresistente gramnegative Stäbchen mit Resistenz gegen 4 der vier Antibiotikagruppen)

### 1.2.2 Hygienemaßnahmen und Prävention

Die Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) des Robert Koch-Instituts (RKI) erachtet aufgrund von Studien und theoretischen Ableitungen (Evidenzkategorie II, 2010) die Durchführung erweiterter Hygienemaßnahmen in folgenden Fällen für sinnvoll:

- Bei der Besiedelung von 3MRGN *E. coli* oder *K. pneumoniae* sind in Risikobereichen mit Patienten erhöhter Infektionsgefahr Maßnahmen zum Schutz nicht infizierter Personen festzulegen und durchzuführen.
- In Nicht-Risikobereichen sowie bei Auftreten von 3MRGN *Enterobacter* spp., *P. aeruginosa* oder *A. baumannii* sind lediglich Basishygienemaßnahmen zu beachten.
- 4MRGN aller genannten Spezies geben Anlass zu erweiterten Hygienemaßnahmen in allen Krankenhausbereichen. Diese beinhalten die sog. Kontakt-Isolierung, welche nach drei aufeinanderfolgenden negativen Kontrollen der Besiedelung aufgehoben werden kann (Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention am RKI, 2012).

Experten der deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM) führten diese Empfehlung mit einer Kategorisierung dreier Hygienestufen weiter aus, welche abhängig von nachgewiesenem Erreger und Krankenhausbereich beachtet werden sollten (s. Tab. 2): Zu Stufe I zählen allgemeine Hygienemaßnahmen, Stufe II beinhaltet die zusätzliche Barriere-Isolierung (bei Patientenkontakt Handschuhe, patientenbezogene Kittel und Pflegeutensilien, eigene Toilette). Bei Hygienestufe III sollten Patienten in Einzelzimmern untergebracht werden oder eine speziesidentische Kohorten-Isolierung stattfinden (Mattner et al., 2012).

Im Gegensatz zu den Isolierungsmaßnahmen gibt es laut KRINKO bei der Durchführung von Sanierungsmaßnahmen keinen Hinweis auf Effektivität. Solche sollten nur beim Nachweis multiresistenter *P. aeruginosa* in Mukoviszidose-Patienten zur Vermeidung weiterer Resistenzentwicklung durchgeführt werden. Aufgrund der Persistenz von Nonfermentern in der unbelebten Umwelt der Patienten, wird bei Nachweis multiresistenter *A. baumannii* die tägliche Desinfektion von Fußböden und Flächen mit häufigem Haut- und Händekontakt empfohlen. Umgebungsquellen als mögliches Reser-



voir von *P. aeruginosa* sollten untersucht und beseitigt werden (Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention am RKI, 2012).

Weitere Empfehlungen zur Prävention der Verbreitung von MRGN beinhalten leitliniengerechtes Antibiotikamanagement zur Reduktion des Selektionsdruckes (Dellit et al., 2007) und strukturelle Maßnahmen in Krankenhäusern. Dazu zählt die Risikoanalyse mit Erstellung eines Hygieneplans, in welchem Einzelmaßnahmen festgelegt und bei Änderung der Resistenzprofile angepasst werden. Von besonderer Wichtigkeit sind die sukzessive Informationsweitergabe sowie die Verbesserung der *Compliance* des medizinischen Personals in Form von Schulungen, Flyern oder Computer-Alarmen mit Beobachtung der Mitarbeiter und Rückmeldung an diese (Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention am RKI, 2012).

**Tab. 2:** Hygienemaßnahmen bei multiresistenten gramnegativen Erregern (MR-GNE). Zuordnung MR-GNE zu Hygienestufen I-III (s. Text) nach Krankenhausbereich (Mattner et al., 2012).

Erreger	Hygienemaßnahmen			Besonderheiten
	Stufe I	Stufe II	Stufe III	
<b>ESBL-bildende <i>E. coli</i> und <i>Klebsiella</i> spp., die noch sensibel auf Fluorchinolone und Carbapeneme sind</b>	Auf Normalstationen und in Risikobereichen <sup>c</sup>	Nicht notwendig	Nicht notwendig	Es handelt sich hier um eine Mindestempfehlung; aufgrund vielfach beschriebener Ausbrüche mit nicht-MR-GNE sowie der unterschiedlichen Übertragbarkeit können auch strengere Vorgaben sinnvoll sein, z. B. bei nicht multiresistenten ESBL-bildenden <i>K. pneumoniae</i> .
<b>MR-GNE<sup>a</sup></b>	N.a.*	Auf Normalstation, wenn Einzelzimmer nicht möglich	Immer in Risikobereichen <sup>c</sup>	
<b>MR-GNE mit Carbapenem-Resistenz bei Enterobakterien und <i>A. baumannii</i><sup>b</sup></b>	N.a.*	N.a.*	Immer	Kann zu schwer kontrollierbaren Ausbrüchen führen Isolierungsmaßnahmen sind effektiv, um auch die Prävalenz zu reduzieren.
<b>MR-GNE mit Resistenz gegen alle vier Antibiotikagruppen<sup>b</sup></b>	N.a.*	N.a.*	Immer	

<sup>a</sup> entspricht KRINKO-Definition von 3MRGN (s. Tab. 1)

<sup>b</sup> entspricht KRINKO-Definition von 4MRGN (s. Tab. 1)

<sup>c</sup> Z. B. Intensivstationen, Intermediate Care Stationen, Bereiche mit stark immunsupprimierten Patienten, etwa Hämatologie/Onkologie und Neonatologie. Im Ausbruchfall sind immer die Hygienemaßnahmen der Stufe III notwendig, unabhängig vom Resistenzprofil.

\* Nicht ausreichend

### 1.3 Mikrobiologisches Screening und Surveillance

#### 1.3.1 Empfehlungen und Organisationen

Die KRINKO empfiehlt ein Screening (ggf. Wiederaufnahme-, Folgescreenings) aller Patienten, welche ein Risiko der Besiedelung mit 4MRGN durch Aufenthalt in Ländern mit endemischer Situation bzw. Kontakt mit besiedelten Personen bergen oder eine Infektion mit 4MRGN aufweisen. Bis zum Erhalt des Screening-Ergebnisses sollten Isolationsmaßnahmen vorgenommen werden (s. 1.2.2). Je nach Erreger werden Mund-/Rachenraum-, Haut- und Rektalabstriche als Materialproben vorgeschlagen (Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention am RKI, 2012). Das Infektionsschutzgesetz verpflichtet nach § 23 medizinische Einrichtungen zur Surveillance und Erfassung von Erregern mit besonderen Resistenzen und Multiresistenzen. Dabei sind die zu erfassenden Infektionen und Erreger sowie die Erstellung entsprechender Listen genau geregelt (Robert Koch-Institut, 2000). Das NRZ für Surveillance von nosokomialen Infektionen (Berlin, D) beschreibt Surveillance als interne Qualitätssicherung, durch welche die Häufigkeit nosokomialer Infektionen aufgrund „fortlaufender, systematischer Erfassung, Analyse und Interpretation relevanter Daten sowie deren Feedback an das ärztliche und pflegerische Personal“ reduziert werden soll (NRZ für Surveillance von nosokomialen Infektionen, 2013). Die Surveillance in Deutschland umfasst seit 1997 das Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System (KISS), die Surveillance der Antibiotikaaanwendung und der bakteriellen Resistenzen auf Intensivstationen (SARI) und die Antibiotikaresistenz-Surveillance (ARS)-Datenbank des RKI. Auf europäischer Ebene ist die Surveillance im *European Antimicrobial Resistance Surveillance System* (EARS) und den *European Centres for Preventional Disease Control* (ECDC) organisiert. Die erhobenen Daten zum Auftreten nosokomialer Infektionen dienen der Analyse und Einleitung von hygienischen Handlungen und Interventionsmaßnahmen zur Prävention einer steigenden Infektionsrate. Zudem ist die Surveillance Teil des Qualitätsmanagements im Sinne des § 137 SGB V (Robert Koch-Institut, 2000).

#### 1.3.2 Screening und Surveillance am Universitätsklinikum Bonn (UKB)

Im Universitätsklinikum Bonn besteht die Diagnostik von MRGN aus Proben und Abstrichen von rektal/Stuhl, Rachen, ggf. Wunde und Leiste (bei Risiko eines 4MRGN *A. bau-*

*mannii*). Bei Koloniebildung auf einem Selektivnährboden für ESBL-bildende Bakterien folgt die Identifizierung, Resistenztestung und Validierung über das MALDI/VITEK-System (Biomérieux, Nürtingen, D). Handelt es sich bei dem Endbefund eines 3 oder 4MRGN um ein Erstisolat, wird dies in der Datenbank des Instituts für medizinische Mikrobiologie, Infektiologie und Parasitologie (IMMIP) dokumentiert und die Krankenhaushygiene informiert. Zusätzlich wird vorab des schriftlichen Befundes der erstmalige Nachweis eines 4MRGN der Station zur umgehenden Einleitung hygienischer Maßnahmen telefonisch mitgeteilt. Bei Verdacht auf das Vorliegen einer Carbapenemase wird das Isolat zur Abklärung an das NRZ für gramnegative Krankenhauserreger nach Bochum gesendet. Bei gehäuften Auftreten von nosokomialen Infektionen mit epidemiologischem Zusammenhang besteht nach § 7 Abs 2 IfSG Meldepflicht durch das Labor. Das nachfolgende mikrobiologische Monitoring wird vom jeweiligen Fachgebiet festgelegt. Das Screening inklusive präemptiver Isolierung wird bei Patienten durchgeführt, die innerhalb des vergangenen Jahres in Hochrisikoländern hospitalisiert waren oder aus Einrichtungen ohne aktuelles MRGN-Screening verlegt wurden. Ferner werden Patienten, welche mit 4MRGN-Patienten in einem Zimmer untergebracht waren, auf MRE untersucht. Bei bekannten MRGN-Patienten und Hochrisiko-Patienten für MRGN finden Wiederaufnahme-Screenings statt. Das Institut für Hygiene ist für die Erfassung, Beobachtung und Bewertung multiresistenter Stämme zuständig. Stationär werden die räumliche Unterbringung von Kontaktpatienten und eine Plausibilitätsprüfung vorliegender Daten durch den ärztlichen Klinik-Direktor koordiniert. Im Krankenhaus-Informationssystem werden betroffene Patienten unter Angabe des Datums fallübergreifend als MRE-positiv gekennzeichnet.

## 1.4 Ziel der Arbeit

Ziel dieser Arbeit war die Etablierung einer Multiplex PCR (Polymerase-Kettenreaktion) zur Detektion von Carbapenemase-tragenden Bakterienstämmen im IMMIP des Universitätsklinikums Bonn. Dazu sollten Auswahlkriterien der zu untersuchenden Stämme, wie z. B. minimale Hemmkonzentrationen (MHKs), definiert werden, die in Bezug auf Carbapenemase-Aktivität eine hohe Vorhersagekraft aufweisen. Des Weiteren galt es die Verlässlichkeit etablierter und nicht-etablierter phänotypischer und biochemisch-physikalischer Methoden zum Nachweis von Carbapenemasen zu untersuchen und ihre Anwendbarkeit im diagnostischen Alltag zu prüfen.

Die mit den etablierten Methoden erzielten Ergebnisse sollten der Erfassung der Epidemiologie Carbapenemase-tragender Stämme in Bonn dienen, um das lokale Resistenzspektrum in jenes von Deutschland, Europa und der Welt einordnen zu können.

Die Kenntnisse der Klinik-internen Epidemiologie inklusive des Resistenzprofils sind darüber hinaus Grundlage der Erstellung Klinik-eigener Antibiotikarichtlinien. Die vorliegende Arbeit sollte im Sinne des rationalen Einsatzes von Antiinfektiva (sog. *Antibiotic Stewardship*) zur Qualitätssteigerung bei der Behandlung von Patienten am UKB beitragen.

## 2. Materialien und Methoden

**Tab. 3:** Laborgeräte.

Verwendete Laborgeräte nach Modell und Hersteller (Standort).

Gerät	Modell/Software	Hersteller (Standort)
<i>Bioanalyzer/DiversiLab</i>	Agilent 2100 <i>Bioanalyzer/Microbial Genotyping System diversilab</i> 2100 expert VB.02.05.SI360; <a href="https://unibonn.diversilab.com/">https://unibonn.diversilab.com/</a> „diversilab strain typing“	Agilent Technologies (Waldbronn, D)/Biomérieux (Nürtingen, D)
CO <sub>2</sub> -Inkubator	<i>New Brunswick Galaxy</i> 170 S	Eppendorf AG (Hamburg, D)
Elektrophorese-Apparat	Consort EV243	SIGMA-Aldrich (Seelze, D)
Heizblock	Thermostat TH21	HLC BioTech (Bovenden, D)
MALDI-TOF-Identifizierung	VITEK MS/VITEK MS <i>Aquisition Station Software V1</i> ; Shimadzu Biotech <i>MALDI Solutions Microbial Identification Software V1</i>	Biomérieux (Nürtingen, D)
Myla Middleware-Anwendung	MYLA SERVER HP MPL 350/V3.0	Biomérieux (Nürtingen, D)
Photometer	DensiCHECK plus	Biomérieux (Nürtingen, D)
Plattenrotator	<i>Inoculator retro</i> C80	Biotoools Biomérieux (Nürtingen, D)
<i>Rotor-Gene</i>	<i>Rotor-Gene Q 5-Plex/Rotor-Gene Q–Pure Detection Software V 2.0.2.4 (Sample &amp; Assay Technologies)</i>	QIAGEN (Hilden, D)
Sicherheitswerkbank	<i>Biowizard Axosave-120</i> <i>Biowizard KR-100 BW</i>	Kojair Tech Oy (Vilppula, FI)
Spektrometer	NanoDrop ND-1.000/ND-1.000 V3.1.2	PeQlab Biotechnology (Erlangen, D)
<i>Thermocycler</i>	<i>Labcycler Gradient</i>	SensoQuest (Göttingen, D)
Video-Dokumentation des Elektrophorese-Gels	<i>ImageMaster VDS/LISCAP Capture Application V1.0</i>	Hoefler Pharmacia Biotech (Holliston, USA)
VITEK-AST	VITEK 2 XL/VITEK 2 <i>Systems (VITEK 2 Technology)</i>	Biomérieux (Nürtingen, D)
Vortexmischer	IKA MS 3 Vortexer VORTEX 4, basic	IKA (Staufen, D)
	NeoVortex D-6012	NeoLab (Heidelberg, D)
	VORTEX-Genie 2 G560E mit Adapter 800-606-6246	Scientific Industries, Inc. (Bohemia, USA)
Waage	SBA 53	Scaltec Instruments (Heiligenstadt, D)

**Tab. 4:** Labormaterialien.

Verwendete Labormaterialien nach Bezeichnung/Modell und Hersteller (Standort).

Material	Bezeichnung/Modell	Hersteller (Standort)
Agarplatten	CHROMAgar ESBL Columbia Agar <i>with 5 % Sheep Blood</i> (Col-S) Mueller Hinton II Agar MacConkey Agar	MAST Diagnostika GmbH (Reinfeld, D)
Antibiotikaplättchen-Dispenser	Mark II	Oxoid GmbH (Wesel, D)
AST-Karten für gram-negative Keime	VITEK 2 AST-N248	Biomérieux (Nürtingen, D)
DNA-Chip	<i>LabChip</i>	Biomérieux (Nürtingen, D)
Einmaltupfer	Cultiplast steril	LP ITALIANA SPA (Mailand, I)
	<i>Transystem Culture Swab Transport System</i>	COPAN DIAGNOSTICS INC. (Murrieta, USA)
Epsilon-Test	Etest MBL IP/IPI	Biomérieux (Nürtingen, D)
Impfschlinge	1 µL, weiß 10 µL, blau	SARSTEDT AG & Co (Nümbrecht, D)
Manuelle Pipetten	<i>Eppendorf research plus</i> 0,1-2,5 µL; 0,5-10 µL; 2-20 µL; 10-100 µL; 20-200 µL; 100-1.000 µL	Eppendorf AG (Hamburg, D)
Pipettenspitzen	ep Dualfilter T.I.P.S. 0,1-10 µL; 2-20 µL	Eppendorf AG (Hamburg, D)
	<i>TipOne</i> 100 µL; 200 µL	STARLAB (Hamburg, D)
	Filterspitze PP natur 100-1.000 µL	Nerbe plus (Winsen/Luhe, D)
Pipettierhilfe	<i>Pipetboy acu 2</i>	IBS Integra Biosciences (Fernwald, D)
Kombinierter Plättchendiffusionstest	MASTDISCS ID Carbapenemase ( <i>Enterobacteriaceae</i> ) <i>Detection disc set D70C</i>	MAST Diagnostika GmbH (Reinfeld, D)
Reaktionsgefäße	Röhre 5 mL, 75x12 mm, PS	SARSTEDT AG & Co (Nümbrecht, D)
	<i>Safe-Lock-Tubes</i> 1,5 mL; 2,0 mL	Eppendorf AG (Hamburg, D)
	<i>PCR-Tubes</i> 02-A 0,2 mL	Axygen Corning Life Sciences (Amsterdam, NL)
	<i>PCR-Tubes</i> und <i>Caps</i> für <i>Rotor-Gene</i> 0,1 mL	KISKER Biotech (Steinfurt, D)
Spritzenvorrichtung	<i>LabChip Caliper</i>	Biomérieux (Nürtingen, D)
Target VITEK/MS	VITEK MS-DS <i>target slides</i>	Biomérieux (Nürtingen, D)

**Tab. 5:** Reagenzien.

Verwendete Reagenzien nach Bezeichnung und Hersteller (Standort).

Reagenzien	Bezeichnung	Hersteller (Standort)
Agarose	Agarose A9539 Sigma	SIGMA-Aldrich (Hamburg, D)
DBPS	<i>Dubecco's Phosphate Buffered Saline</i> , Gibco	Life Technologies GmbH (Darmstadt, D)
DNA-Isolationskit	<i>UltraClean Microbial DNA Isolation Kit</i>	MO BIO Laboratories Inc. (Carlsbad, USA)
DNA-Marker	<i>FastRuler DNA Ladder Middle Range</i> , Fermentas	Fisher Scientific (Schwerte, D)
<i>DNA-Loading-Dye</i>	<i>6X DNA-Loading-Dye</i>	Fisher Scientific (Schwerte, D)
DNA-Polymerase	<i>DreamTaq DNA Polymerase</i>	Fisher Scientific (Schwerte, D)
DNA-Polymerase-Puffer	<i>10X DreamTaq Buffer</i>	Fisher Scientific (Schwerte, D)
Elutionspuffer	<i>Buffer AE</i>	QIAGEN (Hilden, D)
Ertapenem	INVANZ 1g	MSD Sharp & Dohme GmbH (Haar, D)
Ethidiumbromid	<i>Ethidium bromide solution</i> (10 mg/mL in H <sub>2</sub> O)	SIGMA-Aldrich (Hamburg, D)
2X HRM-Mastermix	<i>Type-it HRM PCR Kit</i> (400)	QIAGEN (Hilden, D)
Kochsalz-Lösung	NaCl 0,9 %	IMMIP UKB (Bonn, D)
Oligonukleotide	s. Tab. 9	Eurofins Genomics (Ebersberg, D)
Reagenzien DiversiLab System	<i>DNA Reagents &amp; Supplies for DiversiLab System 25-Chips Kit</i> : DNA Gel Matrix, DNA Marker, <i>DNA Dye Concentrate</i>	Biomérieux (Nürtingen, D)
	DiversiLab <i>Escherichia Kit</i> : rep-PCRMM1, Primer Mix J	Biomérieux (Nürtingen, D)
	DiversiLab <i>Klebsiella Kit</i> : rep-PCRMM1, Primer Mix J	Biomérieux (Nürtingen, D)
Reinstwasser	via Milli-Q Integral System	Merck Chemicals GmbH (Schwalbach, D)
Destilliertes Wasser	<i>Aqua ad injectabilia</i> 10 mL Mini-Plasco connect	B. Braun (Melsungen, D)
Tris-HCl	<i>Trizma hydrochloride</i>	SIGMA-Aldrich (Hamburg, D)
VITEK-MS Matrix	VITEK MS-CHCA	Biomérieux (Nürtingen, D)

## 2.1 Bakterienstämme

Die verwendeten Bakterienstämme wurden im Zeitraum vom 24.07.2012 bis zum 23.07.2014 am Institut für Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Parasitologie hauptsächlich aus Blutkulturen, Stuhl, Trachealsekret, Urin und sonstigen Abstrichen im

Rahmen des Aufnahmescreenings auf multiresistente Erreger und der nachfolgenden Surveillance-Untersuchungen isoliert (s. Tab. 6). Die Identifikation von auf ESBL-Agar gewachsenen Stämmen erfolgte durch das VITEK MS-System (Biomérieux, Nürtingen, D) nach Angaben des Herstellers. Nachfolgend wurde eine automatisierte Resistenzbestimmung durch das VITEK 2-System (Biomérieux, Nürtingen, D) mithilfe der Karte AST-N248 nach Vorgaben des Herstellers durchgeführt. Die Interpretation erfolgte anhand der aktuellen *Clinical Breakpoints* des *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2014). Resistente Isolate, die bei der Validierung der Antibiogramme suspekt erschienen, wurden in die Untersuchungsgruppe aufgenommen. Auswahlkriterium als Hinweis auf das Vorliegen von Carbapenemasen war hierbei die Einstufung in 3 oder 4MRGN nach Empfehlung der KRINKO (s. Tab. 1). Enterobakterien, die diese Parameter nicht aufwiesen, aber eine intermediäre oder volle Resistenz gegen die Carbapeneme Imipenem, Meropenem oder Ertapenem zeigten (z. B. *Klebsiella* spp. oder *E. coli*), wurden ebenfalls ausgewählt. Für *Enterobacter* spp. wurde in diesem Fall die erhöhte MHK von Ertapenem, für *Citrobacter* spp., *Proteus* spp. und *Morganella* spp. von Imipenem als auffälliger Parameter herangezogen. Bei Nonfermentern wurde die Carbapenemase-Produktion getestet, wenn sich die verbleibenden therapeutischen Optionen auf Colistin und/oder Fosfomycin beschränkten, z. B. Isolate, die Chinolon- und volle  $\beta$ -Laktam-Resistenz zeigten.

Bakterien der Biobank des IMMIP (Isolation vor dem 13.07.2013), welche den o. g. Kriterien entsprachen, wurden für die weitere Verwendung im Rahmen dieser Arbeit auf Columbia-Blutagar ausgestrichen und 24 h bei 37 °C bebrütet. Nach Bestätigung ihrer Reinheit sowie der erneuten Identifikation über das VITEK MS-System (Biomérieux, Nürtingen, D), wurden sie zusammen mit den kontinuierlich gesammelten Bakterienstämmen (Isolation ab dem 13.07.2013) in angelegten Boxen bei -4 °C in *Skim Milk* gelagert. Für nachfolgende Testungen wurden die benötigten Bakterienstämme mit einer 2  $\mu$ L-Impfschlinge in einem Drei-Ösen-Ausstrich auf entsprechenden Nährmedien ausgestrichen und 16-24 h im CO<sub>2</sub>-Inkubator (Eppendorf AG, Hamburg, D) bei 37 °C bebrütet.



**Tab. 6:** Probenmaterialien und Stämme.

Probenmaterial nach Anzahl der isolierten Stämme. \*Abstriche von Abdomen, Decubitus, Haut, Gewebe, Mundschleimhaut; Galle; Sheldonkatheter.

Probenmaterial (Anzahl isolierter Stämme)	Stamm	Anzahl	Probenmaterial (Anzahl isolierter Stämme)	Stamm	Anzahl
<b>Abstriche (152)</b> -Anal (45)	<i>A. baumannii</i>	3	<b>Bronchiallavage/Trachealsekret/Trachealkanüle (84)</b>	<i>A. baumannii</i>	16
	<i>E. coli</i>	11		<i>Enterobacter</i> spp.	2
	<i>Enterobacter</i> spp.	7		<i>Klebsiella</i> spp.	18
	<i>Klebsiella</i> spp.	17		<i>Pseudomonas</i> spp.	44
	<i>Pseudomonas</i> spp.	7		<i>Serratia</i> spp.	4
-Leiste (54)	<i>A. baumannii</i>	6	<b>Blutkulturen (10)</b>	<i>E. coli</i>	1
	<i>Citrobacter</i> spp.	1		<i>Klebsiella</i> spp.	2
	<i>E. coli</i>	5		<i>Pseudomonas</i> spp.	6
	<i>Enterobacter</i> spp.	5	<b>Stuhl (37)</b>	<i>A. baumannii</i>	2
	<i>Klebsiella</i> spp.	26		<i>E. coli</i>	6
-Rachen (25)	<i>Pseudomonas</i> spp.	11	<i>Enterobacter</i> spp.	4	
	<i>A. baumannii</i>	3	<i>Klebsiella</i> spp.	9	
	<i>Achromobacter</i> spp.	1	<i>Pseudomonas</i> spp.	16	
	<i>Enterobacter</i> spp.	3	<b>Urin (89)</b>	<i>A. baumannii</i>	4
	<i>Klebsiella</i> spp.	8		<i>E. coli</i>	6
<i>Pseudomonas</i> spp.	9	<i>Enterobacter</i> spp.		4	
<i>Serratia</i> spp.	1	<i>Klebsiella</i> spp.		44	
<i>A. baumannii</i>	9	<i>Pseudomonas</i> spp.		28	
-Wunde (28)	<i>Achromobacter</i> spp.	1	<i>Proteus</i> spp.	2	
	<i>E. coli</i>	1	<i>Serratia</i> spp.	1	
	<i>Klebsiella</i> spp.	5	<b>Sonstige* (26)</b>	<i>A. baumannii</i>	2
	<i>Pseudomonas</i> spp.	10		<i>E. coli</i>	3
	<i>Serratia</i> spp.	2		<i>Enterobacter</i> spp.	6
		<i>Klebsiella</i> spp.		5	
		<i>M. organii</i>		1	
			<i>Pseudomonas</i> spp.	9	

Als Kontrollstamm wurde der *E. coli*-Stamm ATCC 8739 nach Vorgaben der American Type Culture Collection (ATCC), zertifiziert nach ISO Guide 34:2009 (American Type Culture Collection und LGC Standards, 2014), verwendet.

Carbapenemase-verdächtige Stämme wurden zu diagnostischen Zwecken im NRZ für gramnegative Krankenhauserreger (Bochum, D; Leitung: Prof. Dr. Gattermann; Ansprechpartner: Dr. Martin Kaase) molekularbiologisch untersucht. Hierzu wurde eine frische Kolonie des Bakteriums über ein *Culture Swab Transport System* nach Vorgaben des ADR (Bundesminister für Verkehr, Bau und Stadtentwicklung, 2013) als UN 3373 Biologischer Stoff, Kategorie B ordnungsgemäß klassifiziert und verpackt (P 650) versendet. Das Testergebnis wurde als Kontrolle und zur Validierung für die beschriebenen Methoden herangezogen.

## **2.2 Herstellung der *Tris-buffered Saline* (TBS)**

Zur Herstellung einer 10x TBS-Lösung wurden 24,2 g Tris-HCl und 80 g NaCl mit destilliertem Wasser auf ein Volumen von 1.000 mL aufgefüllt und mit einem pH-Meter auf einen pH von 7,6 eingestellt. Die 1:10-Verdünnung dieser Ausgangslösung entspricht dem nachfolgend verwendeten 1x TBS.

## **2.3 Herstellung des Agarosegels**

Zur Herstellung eines Agarosegels 2 %-iger Dichte wurde 1 g Agarose mit 50 mL 1x TBS aufgegossen und unter Anwendung eines Rührmagneten auf einer Heizplatte so lange erhitzt, bis die Lösung kochte und keine Schlieren mehr sichtbar waren. Das Gel wurde nach ausreichender Abkühlung in eine Kammer mit eingestellten Kämmen gegossen, sodass diese vollständig umschlossen waren und der Bildung von Aussparungen dienten. Dabei entstandene Luftblasen wurden mit einer sterilen Pipettenspitze entfernt. Nach einer Erhärtungszeit von 20 bis 30 min wurden die Kämmen entnommen und das fertige Agarosegel bis zur Verwendung in einer mit 1x TBS gefüllten Schale gelagert.

## **2.4 Methoden zur phänotypischen Testung**

### **2.4.1 Epsilometer-Test (E-Test)**

E-Tests sind doppelseitige Papierstreifen, die mit aufsteigenden Konzentrationen eines Antibiotikums mit und ohne den Zusatz von EDTA als  $\beta$ -Laktamase-Inhibitor versehen sind. Nach einer Bebrütungszeit der inokulierten Platten von 16 bis 18 h und der Diffusion des Antibiotikums in den Agar, lassen sich auf dem Teststreifen die jeweiligen MHKs (mg/L) durch Bildung einer wachstumsgehemmten Ellipse ablesen und ins Verhältnis setzen.

Für diese Arbeit wurden E-Tests mit Imipenem und Imipenem plus EDTA der Firma Biomérieux (Nürtingen, Deutschland) verwendet, um die mögliche Anwesenheit von MBL in multiresistenten Bakterien zu detektieren.

Zur Durchführung eines E-Testes wurde eine Müller-Hinton-Agarplatte mit einer Bakterien suspension (McFarland 0,5, entspricht ca.  $150 \times 10^6$  KBE/mL) beimpft und mit einem Teststreifen bestückt. Im Einzelnen wurden folgende Arbeitsschritte getätigt:

Am Vortag wurden Blutplatten mit sterilen 2  $\mu$ L-Ösen aus den in *Skim Milk* eingefrorenen Stämmen durch einen Drei-Ösen-Ausstrich beimpft und über Nacht bei 37 °C bebrütet. Nachdem die bewachsenen Agarplatten auf Reinheit überprüft worden waren, wurde mit einem sterilen Einmaltupfer eine Kolonie des zu testenden Bakterienstammes aufgenommen und in einer 5 mL-Röhre mit 2 mL NaCl 0,9 % suspendiert. Sobald eine soeben für das Auge erkennbare Trübung sichtbar war, wurde die Suspension für eine gleichmäßige Verteilung der Bakterien mit einem Handvortexmischer (IKA, Staufen, D) durchmischt. Die photometrische Bestätigung eines McFarland-Wertes von 0,5 ( $\pm 0,03$ ) erfolgte durch das Gerät DensiCHECK plus (Biomérieux, Nürtingen, D). Dies entspricht einer definierten Konzentration von  $1-2 \times 10^8$  KBE/mL. Eine gleichmäßige Beimpfung der Müller-Hinton-Agarplatte erfolgte mit einem sterilen, in der hergestellten Suspension getränkten Wattetupfer unter Gebrauch eines Plattenrotators (Biotools Biomérieux, Nürtingen, D). Der E-Test wurde nach Antrocknung der Suspension am Nährboden mit einer abgeflamten Pinzette aus der Verpackung entnommen und mittig auf die inokulierte Agarplatte blasenfrei appliziert. Ein dreimaliges Antippen mit der Pinzette sicherte das dichte Aufliegen des Streifens. Das Ergebnis wurde nach 20-stündiger Bebrütung bei 37 °C abgelesen und ausgewertet.

Anhand der E-Tests wurde zunächst die alleinige Imipenem-Empfindlichkeit (Seite „IP“ des Teststreifens) erfasst und mit den Ergebnissen des VITEK 2-Systems (Biomérieux, Nürtingen, D) verglichen. Für den E-Test und das VITEK2-System (Biomérieux, Nürtingen, D) wurde der EUCAST-Breakpoint für vollständige Resistenz gegenüber Imipenem (MHK  $>8$  mg/L) herangezogen (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2014). Nachfolgend wurde die phänotypisch ausgeprägte MBL-Aktivität der Bakterien anhand eines MBL-Indexes nach Vorgaben des Herstellers (IP/IPI  $\geq 8$ ) ausgewertet und unter Kontrolle des bekannten molekularbiologischen Hintergrundes (NRZ für gramnegative Krankenhauserreger, Bochum, D) betrachtet.

Sensitivität (SEN), Spezifität (SPE), positiver (PPW) und negativer Vorhersagewert (NPW) wurden nach folgenden Gleichungen berechnet:

$$\text{SEN (\%)} = \frac{\text{Anzahl richtig Positiver} \times 100}{\text{Anzahl richtig Positiver} + \text{Anzahl falsch Negativer}}$$

$$\text{SPE (\%)} = \frac{\text{Anzahl richtig Negativer} \times 100}{\text{Anzahl richtig Negativer} + \text{Anzahl falsch Positiver}}$$

$$\text{PPW} = \frac{\text{Anzahl richtig Positiver}}{\text{Anzahl richtig Positiver} + \text{Anzahl falsch Positiver}}$$

$$\text{NPW} = \frac{\text{Anzahl richtig Negativer}}{\text{Anzahl richtig Negativer} + \text{Anzahl falsch Negativer}}$$

#### 2.4.2 Kombiniertes Plättchendiffusionstest (KPD)

Beim Agardiffusionstest diffundiert eine bestimmte Menge Antibiotikum zirkulär um das applizierte Plättchen und führt bei Bebrütung der Agarplatte mit sensiblen Bakterien zu einem messbaren Hemmhof.

Für diese Arbeit wurde das Set MASTDISCS ID Carbapenemase (MAST Diagnostika GmbH, Reinfeld, D) verwendet. Der kombinierte Einsatz von reinen Carbapenem-Plättchen als Referenz und solchen mit entsprechenden Inhibitoren dient laut Hersteller der Detektion dreier Resistenzursachen: MBL, KPC, AmpC mit Porinverlust.

Die Arbeitsschritte zur Durchführung des Testes entsprachen in der Vorbereitung nach den EUCAST-Richtlinien (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2009) im Wesentlichen denen des E-Testes (s. 2.4.1). Die Plättchen wurden mit einem Antibiotikaplättchen-Dispenser (Oxoid GmbH, Wesel, D), der die vier Kartuschen des MASTDISCS ID A bis D (s. Tab. 7) enthielt, in gleichen und ausreichenden Abständen auf den inokulierten Müller-Hinton-Agar gegeben und mit einer abgeflamten Pinzette leicht angedrückt. Nach 20-stündiger Inkubation wurde zunächst die alleinige Meropenem-Empfindlichkeit anhand des reinen Carbapenem-Plättchens erfasst und mit den Ergebnissen des VITEK 2-Systems (Biomérieux, Nürtingen, D) verglichen. Entsprechend der Auswahlkriterien für diese Arbeit (s. 2.1) wurden zur Auswertung die EUCAST-Breakpoints für intermediäre oder vollständige Resistenz gegenüber Meropenem herangezogen.

gen (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2014). Demnach galten Stämme mit einem Hemmhof  $<22/<16$  mm oder einer MHK von  $>2/>8$  mg/L als intermediär/vollständig resistent versus sensibel ( $\geq 22$  mm;  $\leq 2$  mg/L).

Nachfolgend wurde der phänotypisch ausgeprägte Resistenzmechanismus der Stämme nach Vorgaben des Herstellers ausgewertet und in Bezug auf den molekularbiologischen Hintergrund (NRZ für gramnegative Krankenhauserreger, Bochum, D) betrachtet. Ein Stamm galt dann als MBL- oder KPC-positiv, wenn die Differenz der Hemmhöfe des jeweiligen Inhibitor-Plättchens und dem reinen Carbapenem-Plättchen  $\geq 4$  bzw. 5 mm betrug (s. Tab. 7). Bei Hemmhofunterschieden entsprechenden Ausmaßes zwischen Testblättchen C und D zu A war der Stamm als AmpC mit einhergehendem Porinverlust als Grund der verminderten Carbapenem-Empfindlichkeit zu deuten.

Sensitivität, Spezifität, positiver und negativer Vorhersagewert wurden wie oben angegeben berechnet (s. 2.4.1).

**Tab. 7:** Testblättchen des Plättchendiffusionstestes MASTDISCS ID Carbapenemase. Testblättchen A-D mit antimikrobiellen Substanzen und Kriterien der Auswertung.

Testblättchen A	Meropenem 10 $\mu$ g	Sensibel: $\geq 22$ mm, resistent: $< 16$ mm
Testblättchen B	Meropenem 10 $\mu$ g + MBL-Inhibitor	MBL-positiv bei einer Differenz zu A von $\geq 5$ mm
Testblättchen C	Meropenem 10 $\mu$ g + KPC-Inhibitor	KPC-positiv bei einer Differenz zu A von $\geq 4$ mm
Testblättchen D	Meropenem 10 $\mu$ g + AmpC-Inhibitor	AmpC-positiv/Porinverlust bei Differenz zu A $\geq 5$ mm UND positivem Testplättchen C

## 2.5 Methode zur biochemisch-physikalischen Testung: Matrix-unterstützte Laser Desorption/Ionisation-Time of Flight (MALDI-TOF)

Ein anderer Ansatz das Vorhandensein von Carbapenemasen zu detektieren ist - im Gegensatz zur Beobachtung des Bakterienwachstums (s. 2.4) - die direkte Messung des zersetzten des Antibiotikums. Dafür wurde die Methode der MALDI-TOF genutzt, bei

welcher die Probe mithilfe der Matrix als Protonendonator durch Laserimpulse bestimmter Stärke verdampft und ionisiert wird. Die resultierenden Fragmente der Ursprungsmoleküle werden anhand von Masse pro Ladung und Flugzeit im Vakuum als Massenspektren aufgezeichnet (VITEK MS Benutzerhandbuch 2011). Im Rahmen dieser Arbeit sollten die unterschiedlichen Messprofile von intaktem und zersetztem Antibiotikum nach Zugabe von resistenten Bakterien unterschieden werden und als Rückschluss zum Nachweis vorliegender Carbapenemasen dienen.

Im Versuchsansatz wurden Bakterienstämme, die 16-20 h auf ESBL-Agar gewachsen waren, in 0,45 %-iger Kochsalzlösung (1:1 Verdünnung des 0,9 %-igen NaCl) in einer Konzentration von  $12 \times 10^8$  KBE/mL (entspricht 4,0 McFarland) suspendiert. Nach der Zugabe von Ertapenem (0,125 g/L) folgte eine Inkubationszeit von 180 min bei 37 °C. Auf das zu messende Target wurde je 1 µL des Inokulums und der Matrix aufgetragen. Mithilfe der Software „Shimadzu Biotech“ (Biomérieux, Nürtingen, D) wurden in individualisierten Einstellungen (s. Tab. 8) die Antibiotikaprofile zum Zeitpunkt 0 min und 180 min mit dem VITEK MS der Firma Biomérieux (Nürtingen, Deutschland) im Modus „*Research-Only*“ gemessen. Zeigte ein Stamm die gewünschten Veränderungen im Spektrum, wurden die Massen zusätzlich nach 30, 60 und 120 min gemessen.

**Tab. 8:** Einstellungen MALDI-TOF „*Research-Only*“.

Verwendete Einstellungen der Rubriken *Firing* (Schussabgabe), *Experimental Technique* (Versuchstechnik) und *Auto quality-Criteria* (Kriterien der automatischen Qualität) zum biochemisch-physikalischen Nachweis von Carbapenemasen.

<i>Firing</i>		<i>Experimental Technique</i>		<i>Auto quality-Criteria</i>			
<i>Auto quality:</i>	ON	<i>Tuning Mode:</i>	Linear_SARAMIS	<i>Min. Intensity (mV):</i>	10	<i>Min S/N:</i>	5
<i>Power:</i>	48	<i>Mode:</i>	Operate	<i>Max. rejects:</i>	2	<i>Min S/N %:</i>	50
<i>Profiles:</i>	100	<i>Mass Range:</i>	350-550	<i>Min. Resolution:</i>	35	<i>Max. Intensity:</i>	800
<i>Shots:</i>	5	<i>Max. Laser</i>					
<i>Ion Gate (Da):</i>	ON	<i>Rep. Rate:</i>	50.0				
<i>Blank:</i>	1500,0						
<i>Pulsed Extraction optimized at (Da):</i>	450						

Die Kalibrierung des Gerätes erfolgte nach Vorgaben des Herstellers vor jeder neuen Messreihe mit dem E. coli-Stamm ATCC 8739. Als negative Kontrollen dienten ein MRSA-Stamm aus der klinischen Diagnostik und der E. coli-Stamm ATCC 8739 sowie die alleinige Messung von Ertapenem und NaCl 0,45 %.

Ein Stamm galt dann als Carbapenemase-positiv, wenn die Ertapenem-Peaks während der Inkubationszeit verschwanden und nur noch Teilchen von 449,5 Da Masse (hydroxyliertes und decarboxyliertes Ertapenem ohne Na<sup>+</sup> (Burckhardt und Zimmermann, 2011)) messbar waren.

## 2.6 Methoden zur molekularbiologischen Untersuchung und Typisierung

### 2.6.1 Molekularbiologische Versuchsdurchführung

#### Tab. 9: Oligonukleotide.

Oligonukleotide nach Sequenz in 5'-3'-Richtung, Zielgen und Fragmentgröße in Basenpaaren (bp).

Name	Sequenz (5'-3')	Zielgen	Größe des Amplifikats (bp)	Referenz
GES-F GES-R	CTATTACTGGCAGGGATCG CCTCTCAATGGTGTGGGT	<i>bla<sub>GES</sub> type</i>	594	Monteiro et al. (2012)
IMP-F IMP-R	GAGTGGCTTAATTCTCRATC AACTAYCCAATAYRTAAC	<i>bla<sub>IMP</sub> type</i>	120	Monteiro et al. (2012)
KPC-F KPC-R	TCGCTAAACTCGAACAGG TACTGCCCGTTGACGCCCAATCC	<i>bla<sub>KPC</sub> type</i>	785	Monteiro et al. (2012)
NDM-F NDM-R	TTGGCCTTGCTGTCTTGG ACACCAGTGACAATATCACCG	<i>bla<sub>NDM</sub></i>	82	Monteiro et al. (2012)
OXA-23 F OXA-23 R	GATCGGATTGGAGAACCAGA ATTTCTGACCGCATTCCAT	<i>bla<sub>OXA-23-like</sub></i>	501	Queenan & Bush (2007)
OXA-24 F OXA-24 R	GGTTAGTTGGCCCCCTTAAA AGTTGAGCGAAAAGGGGATT	<i>bla<sub>OXA-24-like</sub></i>	246	Queenan & Bush (2007)
OXA-48-F OXA-48-R	TGTTTTTGGTGGCATCGAT GTAAMRATGCTTGGTTCGC	<i>bla<sub>OXA-48</sub></i>	177	Monteiro et al. (2012)
OXA-58 F OXA-58 R	AAGTATTGGGGCTTGTGCTG CCCCTCTGCGCTCTACATAC	<i>bla<sub>OXA-58-like</sub></i>	599	Queenan & Bush (2007)
VIM-F VIM-R	GTTTGGTCGCATATCGCAAC AATGCGCAGCACCAGGATAG	<i>bla<sub>VIM</sub> type</i>	382	Monteiro et al. (2012)
IMI-F IMI-R	ATAGCCATCCTTGTGCTC TCTGCGATTACTTTATCCTC	<i>bla<sub>IMI</sub> type</i>	818	Queenan & Bush (2007)
5' CS 3' CS	GGCATCCAAGCAGCAAG AAGCAGACTTGACCTGA	Integron	variabel	Queenan & Bush (2007)

Die Vorbereitung der Stämme für molekularbiologische Testungen wurde unter mikrobiologischen Sicherheitswerkbänken (Kojair Tech Oy, Vilppula, FI) für den Personen- und Produktschutz nach DIN EN 12469 durchgeführt. Es wurden stets manuelle Pipetten der Serie Eppendorf Research Plus und sterile DNA-, DNase (Desoxyribonuklease)- und RNase (Ribonuklease)-freie Pipettenspitzen verwendet.

Die für die PCR benötigten, lyophilisiert gelieferten Oligonukleotide (s. Tab. 9) wurden mit der vom Hersteller angegebenen Menge destillierten Wassers zu einer Konzentration von 100  $\mu\text{M}$  unter zehnmütigem Rütteln (Vortex Genie 2 mit Adapter; Scientific Industries Inc., Bohemia, USA) aufgelöst und in separaten Boxen bei  $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$  gelagert. Für die Durchführung der einzelnen Ansätze wurden durch 1:10-Verdünnung Aliquots zu 10  $\mu\text{M}$  dieser Stocklösungen angelegt.

### 2.6.2 PCR (Polymerase-Kettenreaktion) und Gelelektrophorese

Unter einer PCR versteht man die in-vitro-Vervielfältigung eines bestimmten DNA-Abschnittes eines Genoms. Analog zu den intrazellulären Mechanismen der DNA-Replikation werden eine DNA-Matrize (Template), eine DNA-Polymerase, Oligonukleotidpaare und Desoxyribonukleosidtriphosphate (dNTPs) sowie Pufferlösungen und  $\text{MgCl}_2$  zur Stabilisierung der Reagenzien benötigt. In einem *Thermocycler* werden 20 bis 40 Zyklen bestimmter Temperatur und Dauer durchlaufen. Ein Zyklus beinhaltet die drei Komponenten Denaturierung des Doppelstranges (ca.  $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), Hybridisierung/Annealing der Oligonukleotide (ca.  $40\text{-}70\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) und Synthese des komplementären Stranges (ca.  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), wodurch sich die vorliegende DNA-Sequenz jeweils verdoppelt. Aufgrund der hohen Temperaturen wird die hitzebeständige, aus *Thermus aquaticus* stammende Taq-Polymerase verwendet. Das PCR-Produkt (bei 30 Zyklen  $2^{30}$  DNA-Stränge) lässt sich durch eine Gel-Elektrophorese sichtbar nachweisen (Gressner und Arndt, 2006).

In der Molekularbiologie werden verschiedene Modifikationen der klassischen PCR angewendet. Die im Folgenden erläuterten Methoden sind für diese Arbeit von Relevanz.

Als *real-time* PCR wird die kontinuierliche Messung eines Fluoreszenz-Signals während bestimmter Zyklen einer PCR bezeichnet. Die Übersetzung dieses, zum Anstieg des PCR-Produktes direkt proportionalen, Signals in einen Zahlenwert wird zur Quantifizierung des Amplifikats genutzt (*quantitative real-time* PCR). Mechanismus und Zeitpunkt der emittierten Fluoreszenz innerhalb eines Zyklus unterscheiden sich je nach verwendeten Farbstoffen oder Sonden (Dorak, 2006).

Bei der *repetitive-element* PCR (*rep* PCR) werden Oligonukleotidpaare gewählt, die an nicht-kodierende, repetitive Sequenzen des Genoms binden. Abhängig von der Häufigkeit dieser Abschnitte und der von ihnen eingeschlossenen Länge des Amplifikats befinden



sich im PCR-Produkt Vervielfältigungen, die sich je nach Genom spezifisch in Menge und Größe (gemessen in Basenpaaren) unterscheiden (Sabat et al., 2013).

Die Gelelektrophorese nutzt die Eigenschaft der DNA, aufgrund ihrer Phosphatreste negativ geladen zu sein. Durch Befüllen von Agarosegel-Taschen mit dem PCR-Produkt an der Kathode eines Elektrophorese-Gerätes, wandert dieses unter fließendem Strom in Richtung Anode. Abhängig von der Dichte des verwendeten Gels laufen die DNA-Fragmente unterschiedlich weit. Dabei ist die zurückgelegte Strecke umgekehrt proportional zum Logarithmus der DNA-Fragment-Länge. Das entstehende Muster aus etwa gleich langen DNA-Fragmenten in einer Bande wird durch Färbung mit dem interkalierenden Farbstoff Ethidiumbromid unter UV-Licht sichtbar (Hof und Dörries, 2009).

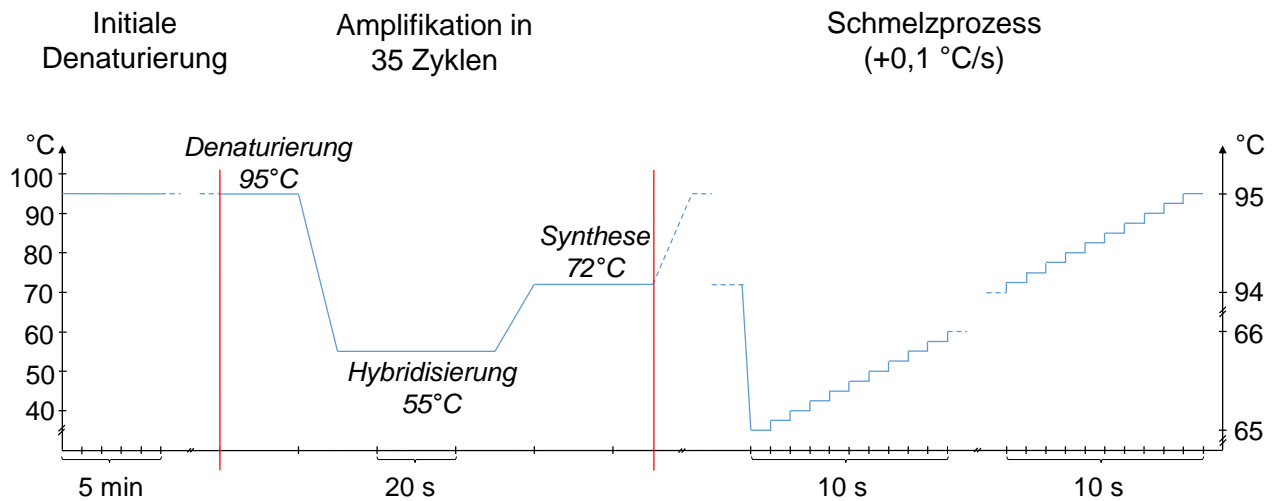
In dieser Arbeit wurden 5 µL des PCR-Produktes am Folgetag des jeweiligen PCR-Laufs mit 1 µL 6X *DNA-Loading-Dye* gefärbt und luftblasenfrei in die Tasche eines 2 %-igen Agarosegels (s. 2.3) pipettiert. Als Referenz wurden zur späteren Auswertung des Bandenmusters 3 µL DNA-Marker in eine Geltasche gegeben. Nach 45-minütiger Laufzeit bei einer Spannung von 120 V wurde das Gel für 20 min in ein Ethidiumbromid-Bad gelegt und nachfolgend mit dem ImageMaster VDS der Firma Hoefer Pharmacia Biotech (Holliston, USA) und der Software „LISCAP Capture Application 1.0“ (Hoefer Pharmacia Biotech, Holliston, USA) abgebildet.

### 2.6.3 Carbapenemase-Nachweis durch Schmelzkurven-basierte *real-time* PCR

Der molekularbiologische Nachweis Carbapenemase-positiver Stämme wurde mittels *real-time* PCR mit anschließender Schmelzkurvenanalyse durchgeführt. Dabei wird nach erfolgter PCR die Temperatur im Gerät schrittweise erhöht, sodass sich die DNA-Doppelstränge in Einzelstränge trennen und eine Abnahme der gemessenen Fluoreszenz bewirken. Die Temperatur, bei der 50 % des PCR-Produktes einzelsträngig vorliegt, wird als spezifische Schmelztemperatur bezeichnet. Diese ist abhängig von Länge, GC-Anteil und Komplementarität des in der PCR gebildeten Doppelstranges.

Alle für diese Arbeit relevanten Isolate wurden in einem Multiplex-Ansatz mit mehreren Oligonukleotidpaaren auf das Vorliegen der Resistenzgene *bla*<sub>GES</sub>, *bla*<sub>IMP</sub>, *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>OXA-23</sub>, *bla*<sub>OXA-48</sub> und *bla*<sub>VIM</sub> geprüft. Stämme der Art *A. baumannii*, die keine Amplifikation zeigten, wurden in einem zweiten Ansatz mit den Oligonukleotiden OXA-24/-72, OXA-58, IMI und Integron auf die Anwesenheit dieser Gene getestet.

Von den zu testenden Stämmen wurde eine Kolonie zu 0,5 bis 0,8 McFarland Trübung in NaCl 0,9 % suspendiert, 10 min bei 95 °C im Heizblock (HLC Bio Tech, Bovenden, D) lysiert und als Template verwendet (im Folgenden „Crude-prep-DNA“). Dem 2X HRM Mastermix mit dem Fluoreszenz-Farbstoff EvaGreen wurden die benötigten Oligonukleotide (s. Tab. 9) in einer Konzentration von 0,2 µM beigefügt. Der Reaktionsansatz pro Probe beinhaltete 12,5 µL Mastermix, 0,5 µL Oligonukleotide aus einem 10 µM-Stock und 1 µL des Bakterienlysats. Lediglich die Oligonukleotide für IMP lagen in einer Konzentration von 1,2 µM vor (pro Ansatz 3,0 µL). Die verbleibende Differenz zum benötigten Gesamtvolumen von 25 µL wurde mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Als Kontrollen dienten das verwendete NaCl 0,9 % sowie vom NRZ für gramnegative Krankenhauserreger (Bochum, D) positiv getestete Isolate aus dem beschriebenen Stammkollektiv (s. 2.1). Die Ergebnisse der *real-time* PCR und Schmelzanalyse wurden mithilfe der *Rotor-Gene Q-Pure Detection Software* „V 2.0.2.4“ (QIAGEN, Hilden, D) dargestellt. Zu den einzelnen Schmelztemperaturen gehörende Peaks galten ab einem Schwellenwert von 0,25 bis 0,5 dF/dT und einer Temperatur von 75 °C als positiv. Alle Stämme, die nach diesen Vorgaben und unter Berücksichtigung der in der PCR enthaltenen Oligonukleotide (s. Tab. 9) als nicht positiv bewertet wurden, werden im Folgenden als „negativ“ bezeichnet. Die Einstellungen der Multiplex *real-time* PCR mit Schmelzkurvenanalyse im verwendeten Gerät *Rotor-Gene Q* (QIAGEN, Hilden, D) sowie die Sequenzen/Konzentrationen der Oligonukleotide wurden aus den Veröffentlichungen „*Rapid Detection of Carbapenemase Genes by Multiplex real-time PCR*“ (Monteiro et al., 2012) und der Übersichtsarbeit „*Carbapenemases: The Versatile  $\beta$ -Lactamases*“ (Queenan und Bush, 2007) übernommen (s. Tab. 9, Abb. 5).



**Abb. 5:** Einstellungen der Multiplex *real-time* PCR mit Schmelzkurvenanalyse.

Blau: Temperaturverlauf der Multiplex *real-time* PCR mit Schmelzkurvenanalyse in Temperatur (°C) gegen die Zeit (min, s), gestrichelt: Zeitliche Sprünge. Rot: Trennung der Schritte initiale Denaturierung, Amplifikation und Schmelzprozess. Verlauf: Initiale Denaturierung bei 95 °C, 5 min; Amplifikationszyklus (kursiv) 20 s bei 95 °C, 45 s bei 55 °C, 30 s bei 72 °C; für Schmelzprozess stufenweise Erhöhung von 65-95 °C in Schritten von 0,1 °C, Halten der Temperatur für je eine Sekunde.

Die Etablierung der Methode beinhaltete zunächst einen Testlauf mit einem Template aus extrahierter DNA einiger Stämme, deren Berichte bezüglich einer PCR-Untersuchung zu Carbapenemasen aus dem NRZ für gramnegative Krankenhauserreger (Bochum, D) vorlagen. Diese wurde unter Verwendung des *UltraClean Microbial DNA Isolation Kits* isoliert und nach spektrometrischer Messung mit dem NanoDrop ND-1.000 (peQlab Biotechnology, Erlangen, D) mit destilliertem Wasser auf eine Konzentration von 50 ng/μL verdünnt. Die Darstellung des PCR-Produktes durch die *real-time* PCR und Schmelzanalyse mithilfe der *Rotor-Gene-Software* (QIAGEN, Hilden, D) wurde durch eine Elektrophorese in einem 2 %-igen Agarosegel der entsprechenden Proben und des Markers ergänzt. Die Ergebnisse wurden für die Bewertung der Crude-prep-DNA als Template unter sonst identischen Versuchsbedingungen vergleichend herangezogen (s. 3.4.1). Des Weiteren wurde die Konzentration der verwendeten Oligonukleotide durch Verdünnung der Stocklösung variiert (200, 50, 2 und 0,2 nM), um eventuelle Ko-Amplifikation dieser zu minimieren. Im Verlauf wurden Kolonien, die auf verschiedenen Agarplatten/Selektionsnährmedien (Col-S, ESBL, MacConkey-Platten) gewachsen waren, verwendet.

#### 2.6.4 Stammtypisierung mittels *rep* PCR

Das DiversiLab System (Biomérieux, Nürtingen, D) ist eine halbautomatisierte Methode, um Verwandtschaftsbeziehungen auf bakterieller Stammebene durch übereinstimmende repetitive Sequenzen der untersuchten Genome zu erkennen. Grundlage des Typisierungsverfahrens ist eine *rep* PCR (s. 2.6.2) mit nachfolgender Auftrennung der amplifizierten DNA-Regionen über eine mikrofluidisch-kapilläre Elektrophorese in einem Chip. Innerhalb dieses sogenannten LabChips binden die DNA-Fragmente einen interkalierenden Farbstoff, welcher während der elektrophoretischen Trennung von einem Laser erfasst wird. Durch Auftragung der Intensität der Fluoreszenz über die Zeit entsteht ein Graph, über welchen der genetische Fingerabdruck des jeweiligen Stammes ermittelt wird. Die Daten werden automatisch gesammelt, standardisiert und analysiert ([www.biomerieux.de](http://www.biomerieux.de)).

Die DNA der für diese Arbeit typisierten Stämme wurde mithilfe des *UltraClean Microbial DNA Isolation Kits* isoliert und spektrometrisch mit dem NanoDrop ND-1.000 (peQlab Biotechnology, Erlangen, D) gemessen. Nach Verdünnung der gewonnenen DNA auf eine Konzentration von 35 ng/μL, wurden die für die *rep* PCR erforderlichen Reagenzien zu einem Reaktionsvolumen von 12,5 μL in *PCR-Tubes* pipettiert. Sowohl Mastermix, als auch die erforderlichen Oligonukleotide stammten aus den jeweiligen *DiversiLab-Kits* für *Klebsiella* spp. und *Escherichia* spp.. Als DNA-Polymerase und zugehöriger Puffer wurden die DreamTaq-Produkte der Firma Thermo Scientific (s. Tab. 5) verwendet. Folgende Zyklen wurden im *Thermocycler* (SensoQuest, Göttingen, D) bei einer Laufzeit von 1 h 54 min 23 s durchlaufen: 94 °C für 5 min; 35 Zyklen à 94 °C für 30 s, 50 °C für 30 s, 70 °C für 1,5 min; dann 70 °C für 3 min. Bis zur Entnahme der *PCR-Tubes* wurden diese bei 4 °C im Gerät gelagert. Die Beladung des Chips mit DNA-Marker, *Gel-Dye* und dem Reaktionsprodukt erfolgte nach Vorgaben des Herstellers. Das Gerät 2100 Bioanalyser der Firma Agilent Technologies (Waldbronn, D) und die Software „2100 expert“ (Biomérieux, Nürtingen, D) analysierten die Stämme. Dabei wurde der Pearson Korrelationskoeffizient für ein Konfidenzintervall von 95 % als Definition von Stämmen desselben Typs gewählt. Dies entspricht einem *Cut-off* Bandenunterschied von  $\leq 2$  der generierten Muster (Deplano et al., 2011). Mithilfe der *DiversiLab Strain Typing Platform* ([www.diversilab.com](http://www.diversilab.com)) konnten Stammbäume zur Darstellung der Verwandtschaftsbeziehungen zwischen Bakterienstämmen erstellt werden.

## 2.7 Auswertung, graphische Darstellung, Statistik

Die Auswertung, Darstellung und Statistik der Ergebnisse erfolgte, falls nicht anders erklärt, durch die Programme der Software „Microsoft Office 2007“ und „Microsoft Office 2013“.

Als nicht-parametrische Hypothesentests dienten der Chi-Quadrat ( $\chi^2$ )-Test nach Pearson und der exakte Test nach Fisher, erweitert nach Freeman-Halton. Mit diesen Tests kann überprüft werden, ob sich zwei verschiedene Häufigkeiten signifikant voneinander unterscheiden. Die Nullhypothese ( $H_0$ ) sagt dabei aus, dass kein statistischer Zusammenhang zwischen den untersuchten Variablen besteht. Wird diese verworfen, gilt die gegenteilige Alternativhypothese ( $H_1$ : Die Variablen sind voneinander abhängig). Die Irrtumswahrscheinlichkeit wurde bei einem Signifikanzniveau von 95 % als  $\alpha = 0,05$  festgelegt.

Für die Ermittlung eines Zusammenhangs zweier statistischer Variablen mit nominalskalierten Merkmalsausprägungen (s. 3.4.3 und 3.4.5) wurde der korrigierte Kontingenzkoeffizient ( $C_{kor}$ ) herangezogen. Der Koeffizient ist zwischen 0 (unabhängige Merkmale) und 1 (hohes Maß an Abhängigkeit) definiert. Er ist unabhängig vom Stichprobenumfang und der betrachteten Dimensionen und gewährleistet auf diesem Wege eine gute Vergleichbarkeit von Ergebnissen.

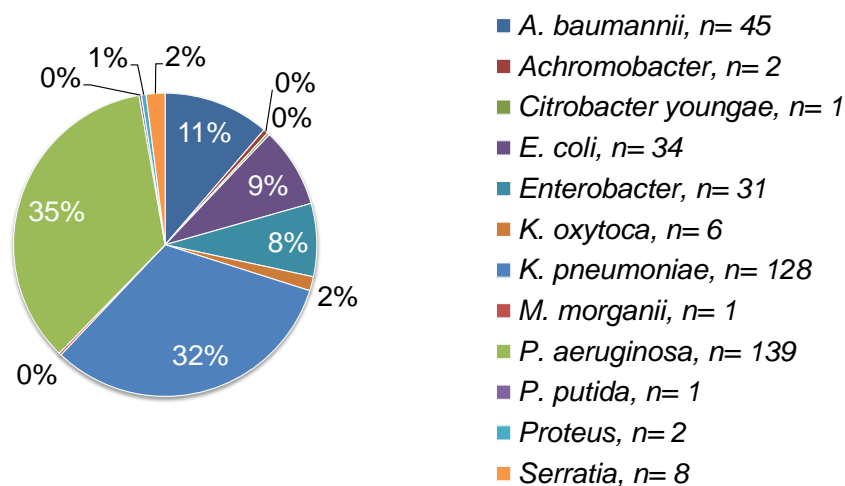
Für eine detailliertere Ausführung zu den verwendeten statistischen Methoden und insbesondere die Darstellung der entsprechenden mathematischen Formeln und Funktionen, sei auf Fachliteratur der medizinischen Statistik verwiesen.

Die Unterteilung der Patienten, von welchen das untersuchte Material stammte, in männlich oder weiblich und nach nationaler Herkunft in deutsche oder ausländische Patienten unterlag aufgrund keines vorliegenden Berichtes des *International Healthcare Services* der Zuordnung des Patientennamens in die o. g. Gruppen. Informationen zum stationären Aufenthalt wurden dem Labordatenverarbeitungssystem des IMMIP entnommen.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Bakterienstämme

Im Zeitraum dieser Arbeit (24.07.2012-23.07.2014) erfüllten 398 Bakterienstämme aus diagnostischer Anforderung und MRE-Screening im IMMIP die Kriterien zur weiteren Untersuchung auf das Vorliegen von Carbapenemasen (s. 2.1). Dies waren im Einzelnen 139 *P. aeruginosa*, 128 *K. pneumoniae*, 45 *A. baumannii*, 34 *E. coli*, 31 *Enterobacter* spp. sowie acht *Serratia* spp., sechs *K. oxytoca*, je zwei Isolate der Gattungen *Achromobacter* und *Proteus* und je ein Stamm von *Citrobacter youngae*, *M. morgani* und *P. putida* (s. Abb. 6). Dabei fielen mehr als zwei Drittel (283 Isolate, davon 165 negativ, 118 positiv getestet) allein durch das am UKB vorgegebene Screening/Surveillance-System als suspekt auf. Die restlichen Stämme (115, davon 51 negativ, 64 positiv getestet) entstammten separaten Anforderungen, welche aufgrund klinischer Symptomatik der Patienten an das IMMIP gestellt wurden (s. auch Abb. 12).



**Abb. 6:** Spektrum der untersuchten Bakterienstämme (n= 298). Darstellung Carbapenemase-verdächtiger Stämme aus Material, stammend von Patienten der dem IMMIP zugewiesenen Kliniken (07/2012-07/2014) in Prozent (%).

## 3.2 Phänotypische Testungen

### 3.2.1 Epsilometer-Test (E-Test)

Zunächst wurde das zu diesem Zeitpunkt vorhandene, kleine Kontingent von Isolaten (explorative Phase dieser Arbeit), bestehend aus 15 *K. pneumoniae*, 12 *P. aeruginosa*, acht *A. baumannii* und jeweils einem *Achromobacter*, *Citrobacter* und *E. coli*, mithilfe des E-Testes untersucht. Dieser wird häufig als Referenzmethode verwendet, da er u. a. aufgrund von geringen Schwankungen der eingesetzten Bakterienmengen als robust gilt und sowohl Plasmid- vermittelte als auch chromosomale  $\beta$ -Laktamasen detektieren kann (Walsh et al., 2002). Molekularbiologisch ergaben sich aus Berichten des NRZ für gramnegative Krankenhauserreger (Bochum, D) für die Untersuchungsgruppe 13 MBL/Klasse B- (NDM, VIM), 12 SBL/Klasse D- (OXA), sechs SBL/Klasse A- (KPC) positive Isolate sowie ein doppelt-positives (OXA und NDM) Isolat und sechs Carbapenemase-negative Stämme.

In der vergleichenden Imipenem-Resistenzbestimmung durch E-Test und VITEK 2-System wiesen sechs der 38 untersuchten Bakterienisolate Unterschiede auf. Der Fall, dass Isolate im E-Test eine MHK von  $\leq 8$  mg/L (nach EUCAST nicht resistent) zeigten, im VITEK 2-System aber als vollständig Imipenem-resistent getestet wurden, kam am häufigsten (5/6) vor. Im Gegensatz dazu wurde nur ein Isolat (*K. pneumoniae*, KPC-2) im E-Test Imipenem-resistent (MHK  $> 8$  mg/L) und im VITEK 2-System -sensibel gewertet. Drei Stämme waren aufgrund nicht verfügbarer MHK-Messung des VITEK 2-Systems in dieser Fragestellung nicht auswertbar. Die Ergebnisse der beiden Methoden zur Prüfung der Imipenem-Resistenz aller übrigen Isolate stimmten in der Interpretation trotz z. T. großer MHK-Unterschiede überein (s. Tab. 10).

Darüber hinaus war die Detektion von Metallo- $\beta$ -Laktamasen anhand des Verhältnisses der MHKs von Imipenem und Imipenem mit EDTA als MBL-Inhibitor durch Berechnung eines MBL-Indexes (IP/IPi) lediglich bei 22 der 38 Isolaten möglich (sechs KPC-2, zwei negativ, je einmal OXA-23, OXA-24, OXA-48+NDM, OXA-181, zehn VIM-2). Hier stimmte in 18 Fällen das phänotypische mit dem molekularbiologischen Ergebnis überein. Alle 11 genetisch MBL-Tragenden (zehn VIM-2-positive *P. aeruginosa*, eine OXA-48+NDM-positive *K. pneumoniae*) wurden phänotypisch als solche erkannt. Es wurde kein falsch-negatives Isolat verzeichnet. Jeweils ein KPC-2-, OXA-23-, OXA-24-positives und ein

molekularbiologisch negatives Isolat wurden im E-Test als MBL-positiv gewertet (vier falsch-Positive, s. Abb. 7 und Tab. 10). Aus den Daten lassen sich eine Sensitivität des MBL-Testes von 100 % ( $SEN = 11/11 \times 100$ ) und eine Spezifität von 63,64 % ( $SPE = 7/11 \times 100$ ) errechnen (s. Abb. 7). Der positiv prädiktive Wert beträgt 0,73 ( $PPW = 11/15$ ), der negative Vorhersagewert 1 ( $NPW = 7/7$ ).

Die restlichen 16 Isolate konnten mathematisch nicht ausgewertet werden (z. B. IP: <4, IPI: <1 mg/L oder IP: >256, IPI: >64 mg/L) (s. Tab. 10).

		Referenz		
		Positiv	Negativ	
E-Test	Positiv	11	4	$\Sigma = 15$
	Negativ	0	7	$\Sigma = 7$
		$\Sigma = 11$	$\Sigma = 11$	$\Sigma = 22$

1/1 OXA+NDM  
10/11 VIM (grün markiert)  
 1/6 KPC  
2/3 OXA  
1/11 VIM (gelb markiert)

→ Sensitivität: 100,00 %  
 → Spezifität: 63,64 %

5/6 KPC  
1/3 OXA  
1/1 negativ (grün markiert)

**Abb. 7:** Vierfeldertafel des E-Testes (MBL).

Ergebnisse des E-Testes mit Auswertung der richtig-/falsch-positiven und -negativen Isolate bezüglich MBL anhand der Referenzwerte des NRZ für gramnegative Krankenhausreger (Bochum, D). Grün markiert: Mit berichteten Resistenzen übereinstimmende Daten; Gelb markiert: Falsch-positive Ergebnisse laut berichteter Resistenzen.

### 3.2.2 Kombiniertes Plättchendiffusionstest (KPD)

Die Untersuchungsgruppe des Plättchendiffusionstestes entsprach der des E-Testes (s. 3.2.1.). In ihrer Einstufung als Meropenem-resistent oder -sensibel durch Plättchendiffusionstest und VITEK 2-System wiesen fünf der 38 Stämme Unterschiede auf. In vier Fällen wurde im Plättchendiffusionstest eine intermediäre (<22 mm) oder vollständige Resistenz (<16 mm) gemessen, während die Stämme im VITEK 2-System als sensibel ( $\leq 2$  mg/L) galten. Bei einem Isolat bestand eine deutliche Sensibilität (Hemmhof 30 mm) im Plättchendiffusionstest, das Ergebnis des VITEK 2-Systems fiel gegensätzlich aus ( $MHK \geq 16$  mg/L). Ein Stamm war aufgrund nicht verfügbarer MHK-Messung des VITEK 2-



Systems in dieser Fragestellung nicht auswertbar. Die restlichen Ergebnisse der beiden Methoden stimmten überein (32 Isolate) (s. Tab.10).

Der verwendete Plättchendiffusionstest ist laut Hersteller nur für die 17 Enterobakterien der Stichprobe geeignet (fünf KPC-, drei MBL- [inkl. eines OXA-48+NDM-positiven Stammes], vier OXA-positive und fünf Carbapenemase-negative Isolate). Ein molekularbiologisch KPC-positiver Stamm und zwei MBL sowie neun Stämme, die keine der gesuchten Resistenzmuster trugen, wurden richtig erkannt (drei richtig-Positive, acht richtig-Negative). Bei zwei Isolaten (KPC, OXA-48+NDM) lag laut KPD weder eine MBL- noch eine KPC- oder AmpC-Resistenz mit Porinverlust vor (falsch-negativ). Den restlichen KPC-positiven Stämmen wurde fälschlicherweise eine Resistenz vom AmpC-Typ mit Porinverlust zugeordnet (vier falsch-Positive, s. Tab. 10 und Abb. 17 im Anhang). Aus den Daten lassen sich eine Sensitivität des Testes von 60 % ( $SEN = 3/5 \times 100$ ) und eine Spezifität von 66,67 % ( $SPE = 8/12 \times 100$ ) errechnen, PPW und NPW betragen 0,43 bzw. 0,8.

Unter den 21 getesteten „Nicht-Enterobakterien“ (Nonfermenter) befanden sich zehn VIM-positive *P. aeruginosa* und acht OXA-positive *A. baumannii* sowie drei Isolate ohne molekularbiologischen Nachweis einer Carbapenemase. Hier lag kein falsch-positives Ergebnis vor und elf Stämme wurden stimmig zum PCR-Ergebnis als negativ gewertet (richtig-negativ). Von den zehn vorliegenden MBL-positiven Isolaten wurde nur die Hälfte als solche detektiert (fünf richtig-Positive, fünf falsch-Negative, s. Tab.10 und Abb. 17 im Anhang). Diese Werte führen zu einer Sensitivität von 50 % ( $SEN = 5/10 \times 100$ ) und einer Spezifität von 100 % ( $SPE = 11/11 \times 100$ ) bei einem PPW von 1 und einem NPW von 0,8. Im KPD wurden unter Berücksichtigung aller 38 Stämme eine Sensitivität von 53,33 % ( $SEN = 8/15 \times 100$ ) und eine Spezifität von 82,61 % ( $SPE = 19/23 \times 100$ ) erreicht. Der positiv prädiktive Wert beträgt 0,67 (PPW= 8/12), der negative Vorhersagewert 0,73 (NPW= 19/26).

**Tab. 10:** Ergebnisse phänotypischer Testungen.

Daten für E-Test und MASTDISCS ID nebst Kontrolldaten (VITEK 2-MHKs, PCR-Resistenzen). / = nicht auswertbar; k.A.= keine Angabe (VITEK-Ergebnis nicht verfügbar). Aci= *A. baumannii*, Ach= *Achromobacter* spp., Cit= *Citrobacter* spp., Eco= *E. coli*, Kle= *K. pneumoniae*, Pse= *P. aeruginosa*. ● = richtig positiv, ● = richtig negativ, ● = falsch positiv, ● = falsch negativ.

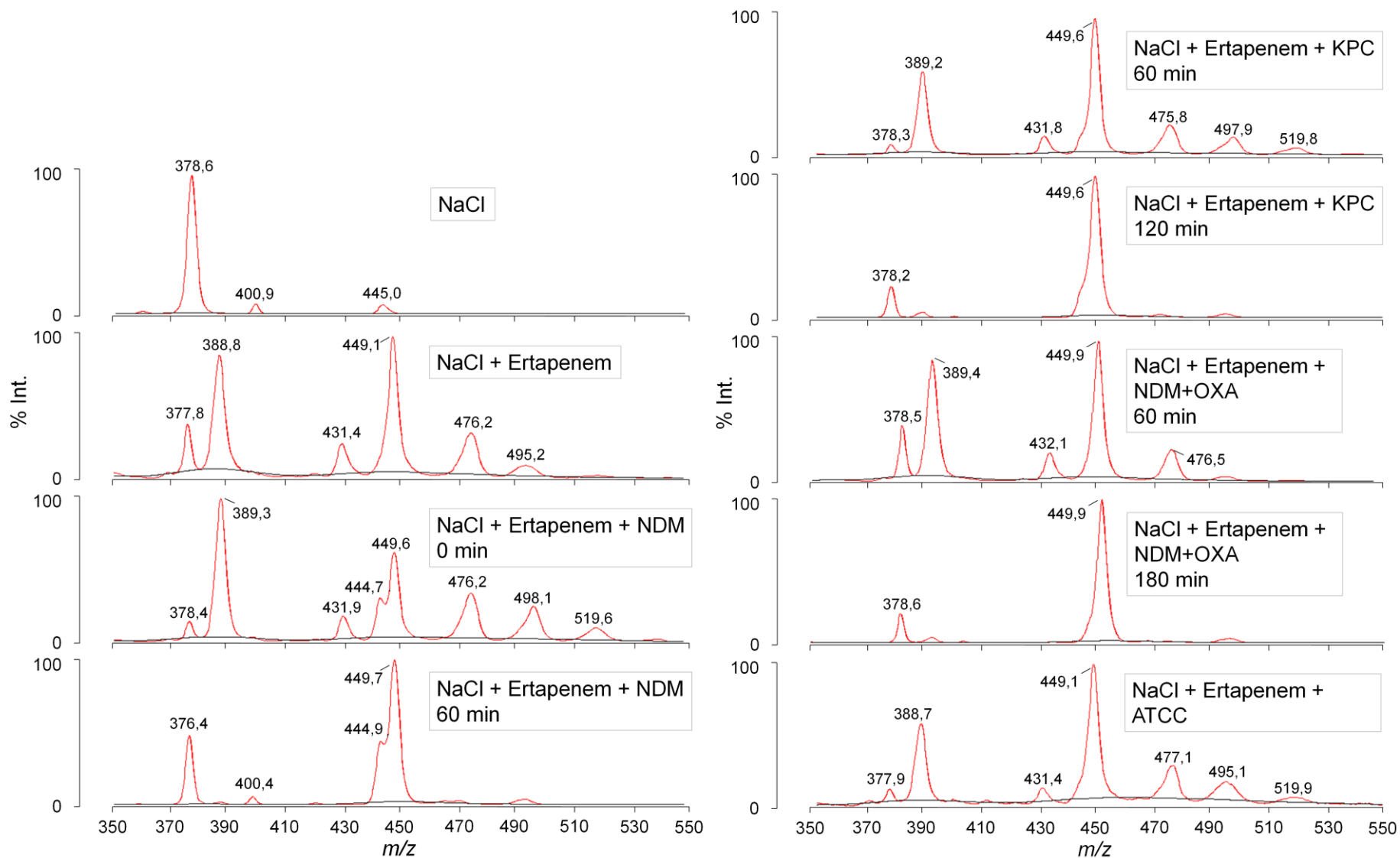
Stamm	VITEK2		E-Test			MASTDISCS ID				Indices	PCR (Resistenz)
	Imipenem (mg/L)	Meropenem (mg/L)	IP (mg/L)	IPI (mg/L)	MBL-Index +/- (IP/IPI)	MP (mm)	MP+MBL-Inhibitor (mm)	MP+KPC-Inhibitor (mm)	MP+AmpC-Inhibitor (mm)		
Aci 1	≥16	4	>256	>64	/	6	6	6	6	-	- (OXA-23)
Aci 2	≥16	≥16	>256	>64	/	6	6	6	6	-	- (OXA-23)
Aci 3	≥16	≥16	>256	>64	/	6	6	6	6	-	- (OXA-23)
Aci 4	≥16	≥16	>256	>64	/	6	6	6	6	-	- (OXA-23)
Aci 5	≥16	≥16	>256	>64	/	6	6	6	6	-	- (OXA-23)
Aci 6	≥16	≥16	>256	>64	/	6	6	6	6	-	- (OXA-23)
Aci 7	≥16	≥16	>256	12	+ (>21,3)	6	6	6	6	-	- (OXA-23)
Aci 8	≥16	≥16	>256	1,5	+ (>170,67)	6	6	6	6	-	- (OXA-24)
Ach 1	≥16	≥16	>256	>64	/	6	6	6	6	-	- (negativ)
Cit 1	≥16	8	<4	<1	/	19	28	18	20	MBL	+ (VIM-1)
Eco 1	≥16	≥16	<4	<1	/	10	24	7	17	MBL	+ (NDM)
Kle 1	≥16	≥16	96	>64	- (<1,5)	6	6	6	6	-	+ (KPC-2)
Kle 2	≥16	≥16	64	4	+ (16)	13	6	18	18	AmpC	+ (KPC-2)
Kle 3	≥16	≥16	8	12	- (0,67)	10	6	17	17	AmpC	+ (KPC-2)
Kle 4	k.A.	1,5	24	8	- (3)	7	6	18	6	KPC	+ (KPC-2)
Kle 5	2	1	<4	<1	/	35	35	35	36	-	- (negativ)
Kle 6	≥16	≥16	<4	<1	/	20	19	20	20	-	- (negativ)
Kle 7	≥16	≥16	<4	<1	/	30	27	30	31	-	- (negativ)
Kle 8	1	2	8	4	- (2)	10	6	17	15	AmpC	+ (KPC-2)
Kle 9	1	8	8	4	- (2)	6	6	6	6	-	- (OXA-181)
Kle 10	4	4	<4	<1	/	6	6	6	6	-	- (OXA-48)
Kle 11	k.A.	≤1	<4	<1	/	22	16	20	18	-	- (OXA-48)
Kle 12	8	1,5	<4	<1	/	20	12	16	20	-	- (OXA-48)
Kle 13	≥16	≥16	>256	2	+ (>128)	6	6	6	6	-	+ (OXA-48+NDM)
Kle 14	0,5	2	<4	<1	/	27	23	25	28	-	- (negativ)
Kle 15	8	≥16	6	4	- (1,5)	6	6	11	12	AmpC	+ (KPC-2)
Pse 1	≥16	≥16	24	12	- (2)	6	6	6	6	-	- (negativ)
Pse 2	k.A.	k.A.	>256	2	+ (>128)	6	13	6	6	MBL	+ (VIM-2)
Pse 3	≥16	≥16	128	1,5	+ (>85,3)	6	6	6	6	-	+ (VIM-2)
Pse 4	≥16	≥16	96	1	+ (96)	6	11	6	6	MBL	+ (VIM-2)
Pse 5	≥16	4	>256	<1	+ (>256)	6	6	6	6	-	- (negativ)
Pse 6	≥16	≥16	>256	1,5	+ (>170,67)	6	17	6	6	MBL	+ (VIM-2)
Pse 7	≥16	≥16	>256	2	+ (>128)	6	10	6	6	-	+ (VIM-2)
Pse 8	1	0,5	>256	1,5	+ (>170,67)	6	15	6	6	MBL	+ (VIM-2)
Pse 9	≥16	≥16	>256	3	+ (>85,3)	6	6	6	6	-	+ (VIM-2)
Pse 10	≥16	≥16	64	3	+ (21,3)	6	6	6	6	-	+ (VIM-2)
Pse 11	≥16	≥16	28	2	+ (>85,3)	6	6	6	6	-	+ (VIM-2)
Pse 12	≥16	≥16	>256	1,5	+ (>170,67)	6	12	6	6	MBL	+ (VIM-2)

### 3.3 Biochemisch-physikalische Testung

Mithilfe der biochemisch-physikalischen Nachweismethode der Massenspektroskopie (MALDI-TOF) wurden 35 molekularbiologisch positive Bakterienstämme untersucht. Dies waren im Einzelnen 17 OXA (-23, -24, -48, -181)-, zehn VIM (-1, -2)-, sechs KPC-2- und zwei NDM-positive Isolate. Es wurde sichergestellt, dass der Messbereich von 350 bis 550 Da (m/z) außerhalb des für die Erregeridentifizierung genutzten Spektrums lag, also keine Erreger-spezifischen (ribosomale) Protein-Peaks beinhaltete. Die Messung der reinen Kochsalzlösung ergab im Mittel Massen von 378 Da, 400 Da und 445 Da. Das Spektrum Ertapenems enthielt sechs Peaks bei durchschnittlich 389 Da, 432 Da, 450 Da, 477 Da, 495 Da und 520 Da (s. Abb. 8).

Es zeigten zwei NDM- und fünf KPC-positive Isolate nach 180 min Inkubation die gewünschte Veränderung des Carbapenem-Spektrums. Durch weitere Messungen konnte gezeigt werden, dass das NDM-positive Isolat zur Hydrolyse von Ertapenem 60 min benötigte, die KPC-positiven Stämme 120 min. Das doppelt-positive NDM-Isolat (NDM+OXA) wurde nach 180 min Inkubationszeit als Carbapenem-resistent detektiert (s. Abb. 8). Die negativen Kontrollen (Ertapenem ohne Bakteriensuspension, E. coli-Stamm ATCC 8739, MRSA-Stamm) wiesen zu keiner Zeit Veränderungen in ihrem Massenspektrum auf. Weder einfach OXA-, noch VIM-positive Isolate konnten mithilfe dieser Methode nachgewiesen werden.

Die Profildarstellungen erwiesen sich in den meisten Fällen als inkonsistent und konnten nur mit Einstellungen zulasten der erreichten Qualität gemessen werden (s. Tab. 8).



**Abb. 8:** Ertapenem-Degradierung durch NDM- und KPC-positive Stämme. Spektrum der Kontrollen NaCl, Ertapenem und ATCC-Stamm 8739 nach jeder beliebigen Inkubationszeit. Positive Stämme (NDM, KPC, NDM+OXA) zeitlich vor und nach Degradierung Ertapenems in Masse pro Ladung ( $m/z$ , Da) gegen Intensität (% Int.).

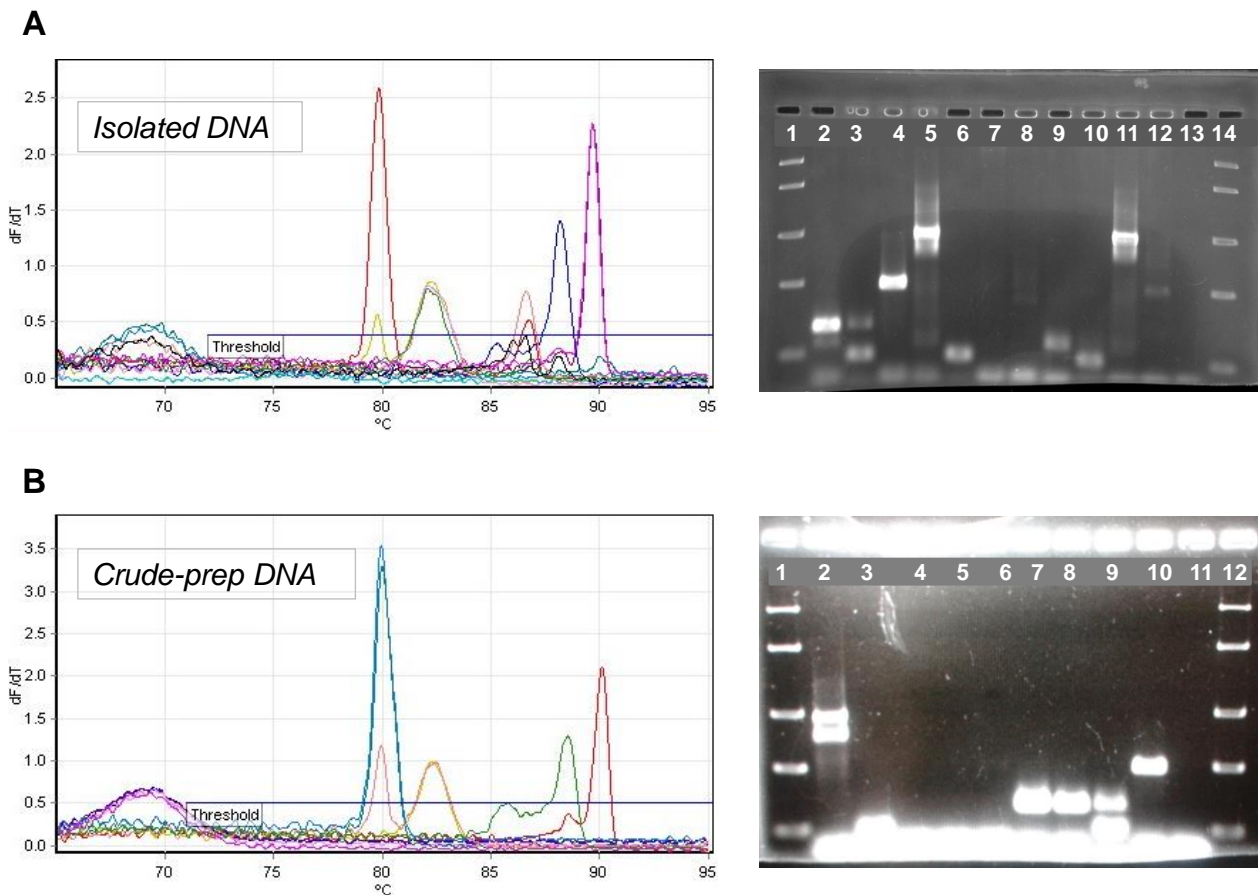
### 3.4 Molekularbiologische Untersuchungen

#### 3.4.1 Etablierung der *real-time* PCR mit Schmelzkurvenanalyse

Der Vergleich von isolierter DNA (im Folgenden „Extraktions-DNA“) mit Crude-prep-DNA als Template der PCR wurde in zwei Testläufen durchgeführt. Beide Läufe (A und B) beinhalteten sieben Isolate dreier Spezies (*Achromobacter* spp., *Citrobacter* spp., *K. pneumoniae*) mit den Resistenzen KPC, NDM, OXA-48 und VIM sowie negative Isolate und eine NTC (*no template control*). Zusätzlich wurden in Lauf A zwei *K. pneumoniae* (KPC; negativ), ein *P. aeruginosa* (negativ) und ein *E. coli*-Stamm ATCC 8739, in Lauf B ein *E. coli* (NDM), und eine *K. pneumoniae* (OXA-48) getestet. Die Ansätze wurden vor dem Hintergrund vorliegender Berichte des NRZ für gramnegative Krankenhauserreger (Bochum, D) analysiert.

Für die Resistenzen ergaben sich, wie erwartet (Monteiro et al., 2012), spezifische Schmelztemperaturen von durchschnittlich 79,9 °C (OXA-48), 82,3 °C (NDM), 88,4 °C (VIM) und 89,8 °C (KPC). Anhand des DNA-Markers (fünf Fragmente: 100, 400, 850, 2.000, 5.000 bp) wurde die Größe der Resistenzgene in Basenpaaren ermittelt und bestätigt (s. Tab. 9). Stämme, welche mithilfe von Crude-prep-DNA untersucht wurden, wiesen z. T. stärkere Fluoreszenzsignale auf. Die Gelelektrophorese der PCR-Produkte fiel zudem im Gegensatz zu der des Laufes A deutlicher und ohne Zwischenprodukte aus (s. Abb. 9). Die Schmelzkurvenanalyse zeigte für vier der sieben Stämme, welche in beiden Template-Ansätzen untersucht wurden, jeweils konforme Ergebnisse untereinander und mit dem Bericht des NRZ. Im Crude-prep-DNA-Ansatz stimmten hier alle Ergebnisse mit den bekannten Resistenzen überein. Der Ansatz mit extrahierter DNA als Template wies in drei Fällen Unterschiede zum berichteten Vorliegen von Carbapenemasen auf: Zwei negative Stämme wurden NDM-positiv getestet, ein OXA-positives Isolat war im durchgeführten Testlauf zusätzlich GES-positiv (86,7 °C). Die Isolate, die nur an einem der beiden Läufe teilnahmen, zeigten im Crude-prep-DNA-Ansatz erneut volle Übereinstimmung mit der berichteten Resistenz. Im Ansatz der isolierten DNA wurde neben zwei richtig-Negativen und einem richtig-Positiven ein negatives Isolat als GES-positiv identifiziert. Das doppelt-positive Isolat (OXA-48+NDM) wurde in Lauf A und B sowohl in der Schmelzkurvenanalyse (zwei Fluoreszenzspitzen) als auch der Gel-Elektrophorese (zwei Banden) sichtbar. Zusammenfassend entsprachen alle Ergebnisse des

Laufes B (Crude-prep-DNA) bzgl. vorhandener Carbapenemasen den Resistenzberichten des NRZ. Die PCR, in welcher isolierte DNA als Template diente, führte zu vier falsch-positiven Ergebnissen (je zweimal NDM und GES).



**Abb. 9:** Schmelzkurvenanalyse und Gel-Elektrophorese von *Isolated DNA* (Extraktions-DNA) (A) und *Crude-prep DNA* (Crude-prep-DNA) (B).

Dargestellt sind Schmelzkurvenanalyse (links) in Temperatur ( $^{\circ}C$ ) gegen Rate des Fluoreszenzanstiegs pro Zeit ( $dF/dT$ ) und Gel-Elektrophorese (rechts) der Läufe A (oben) und B (unten) (s. Text). Berichtete Resistenzen Lauf A: 1/14= Marker, 2= OXA-48, 3= OXA-48+NDM, 4= VIM-1, 5= KPC-2, 6-10= negativ, 11= KPC-2, 12= negativ, 13= leer; Berichtete Resistenzen Lauf B: 1/12= Marker, 2= KPC-2, 3= NDM, 4-6= negativ, 7-8= OXA-48, 9= OXA-48+NDM, 10= VIM-1, 11= NTC.

Die Testung von unterschiedlichen Oligonukleotid-Konzentrationen zur Vermeidung möglicher Ko-Amplifikation (s. Peak bei 78  $^{\circ}C$  in Schmelzkurvenanalyse, Abb. 9) wurde mit der Crude-prep-DNA je eines bekannten KPC-, NDM-, OXA-48-, VIM- und OXA-48+NDM-positiven Stammes als Template angesetzt. Die PCR-Analyse zeigte, dass lediglich eine

Oligonukleotid-Konzentration von 200 nM pro Ansatz zur Entstehung eines auswertbaren Produktes führte. Für 2 und 0,2 nM-konzentrierte Oligonukleotide wurde keine Amplifikation verzeichnet, im 50 nM-Ansatz konnte ausschließlich OXA-48 sowohl im einfach- als auch im doppelt-positivem Isolat detektiert werden.

Die Verarbeitung von Kolonien verschiedener Agarplatten/Selektionsnährmedien (Col-S, ESBL, KPC-, MacConkey-Platten) hatte keinen Einfluss auf die Erfolgsrate der PCR mit HRM-Kurvenanalyse.

Die beschriebenen Ergebnisse führten im Folgenden zur Verwendung von Crude-prep-DNA, Oligonukleotiden in einer Konzentration von 200 nM sowie Kolonien von durch Bakterienidentifizierung bereits vorhandener Nährmedien.

In einem retrospektiven Zeitraum wurden zunächst auf Grundlage der Ergebnisse des NRZ für gramnegative Krankenhauserreger in Bochum 47 Stämme auf das Vorliegen von Carbapenemasen im IMMIP getestet (s. 2.1). In zwei Fällen wurde auf diese Weise ein falsch-negatives, einmal ein falsch-positives Ergebnis erfasst. Im Anschluss wurden prospektiv 95 Isolate nach der Testung im IMMIP im NRZ für gramnegative Krankenhauserreger in Bochum beurteilt. Hierbei stellte sich in zwei Fällen ein falsch-negatives Ergebnis seitens des NRZ heraus (s. Tab. 14 im Anhang). Alle Differenzen wurden durch erneute Testung beglichen. Nachfolgend wurde diese Methode in den diagnostischen Algorithmus des IMMIP integriert.

#### 3.4.2 Lokale Epidemiologie Carbapenem-resistenter Stämme

Insgesamt zeigte die PCR-Analyse der 398 Carbapenemase-verdächtigen Erreger unter Verwendung der Oligonukleotide für die Resistenzgene *bla*<sub>OXA-23, -24, -48</sub>, *bla*<sub>VIM type</sub>, *bla*<sub>KPC type</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>GES type</sub> für den Zeitraum vom 24.07.2012 bis zum 23.07.2014 die im Folgenden beschriebene Datenlage (s. Tab. 14 im Anhang).

Beinahe die Hälfte der Isolate (n= 182, 46 %) wurde positiv getestet. Mit einem Anteil von 36 % wurde OXA-48 detektiert (n= 65), gefolgt von 25 % VIM (n= 46), 15 % OXA-23 (n= 28), 8 % NDM (n= 14), 7 % OXA-24 (n= 12), 6 % KPC (n= 11) und 2 % GES (n= 3). 1 % der Isolate (n= 2) wurde als doppeltpositiv mit den Resistenzgenen *bla*<sub>OXA-48</sub> und *bla*<sub>NDM</sub> erkannt. Ein Isolat wurde im NRZ für gramnegative Krankenhauserreger (Bochum, D) als *bla*<sub>OXA-48</sub>-Variante OXA-181-positiv identifiziert, welches in der *in-house* PCR des IMMIP OXA-48-positiv ausfiel.

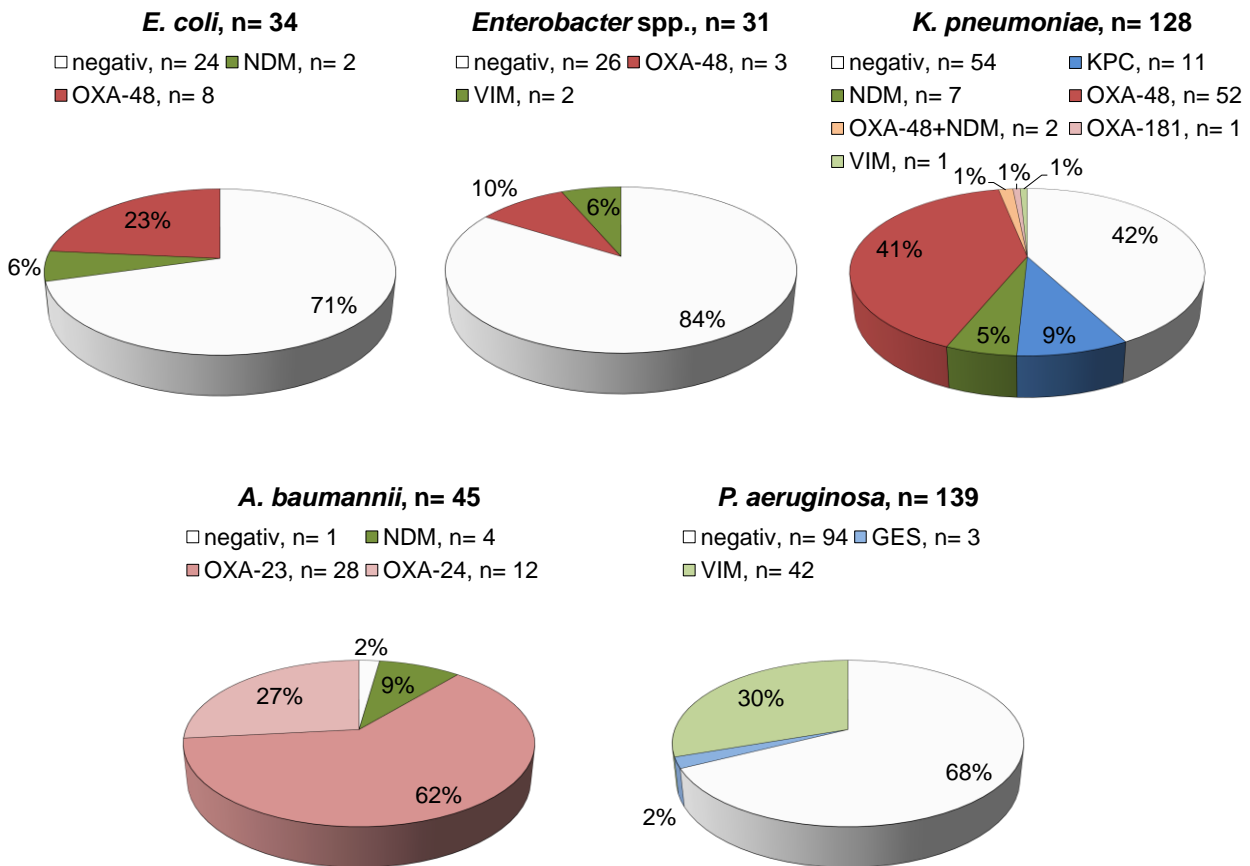
Unter den Enterobakterien, in dieser Arbeit hauptsächlich vertreten durch *Enterobacter* spp. (n= 31), *E. coli* (n= 34) und *K. pneumoniae* (n= 128), trat am häufigsten die Resistenz OXA-48 auf. Des Weiteren fanden sich zwei VIM-positive *Enterobacter* und zwei NDM-positive *E. coli*. Die restlichen Isolate dieser beiden Spezies, 26 *Enterobacter* und 24 *E. coli*, wurden in Anbetracht der durch die PCR erfassten Resistenzen negativ getestet. Die Gruppe der 128 untersuchten *K. pneumoniae* zeigte die größte Varietät an Resistenzen. Im Einzelnen wurden hier 52 OXA-48- (41 %), 11 KPC-2- (9 %), sieben NDM- (5 %) sowie zwei OXA-48+NDM- (1 %) positive Stämme isoliert. Außerdem fanden sich neben je einer VIM-1- (1 %) und OXA-181- (1 %) positiven *K. pneumoniae* (nach Berichten des NRZ für gramnegative Krankenhauserreger, Bochum, D) 54 negative Isolate (42 %, s. Abb. 10).

Einen weiteren großen Anteil der Untersuchungsgruppe bildeten die Nonfermenter *P. aeruginosa* (n= 139) und *A. baumannii* (n= 45). Molekularbiologisch nachweisbare Carbapenemasen traten in *P. aeruginosa* nur in 32 % der Fälle auf. 42 Isolate wurden VIM- (30 %), drei Stämme GES-positiv (2 %) getestet. Bakterien der Art *A. baumannii* wiesen die geringste Anzahl negativer Isolate (n= 1, 2 %) auf. Hier wurden vor allem die Gene *bla*<sub>OXA-23</sub> (n= 28, 62 %) und *bla*<sub>OXA-24</sub> (n= 12, 27 %) nachgewiesen. Des Weiteren wurden vier NDM-positive Stämme (9 %) erfasst (s. Abb. 10).

Unter den in der Zahl mindervertretenen Bakterien dieser Arbeit (zwei Stämme der Gattung *Achromobacter*, fünf *K. oxytoca*, ein *Citrobacter youngae*, eine *M. morgani*, ein *P. putida*, zwei *Proteus* spp. und acht *Serratia* spp.) fielen lediglich eine bla<sub>NDM</sub>-tragende *K. oxytoca*, zwei bla<sub>OXA-48</sub>-tragende *Serratia marcescens* und ein bla<sub>VIM</sub>-tragender *Citrobacter youngae* in der PCR positiv aus.

Durch den Carbapenemase-Nachweis wurden etwa 23 % (n= 24) der zuvor als 3MRGN eingestuftten Bakterien (n= 104) formal als 4MRGN reklassifiziert.





**Abb. 10:** Lokales Resistenzspektrum (Carbapenemasen).

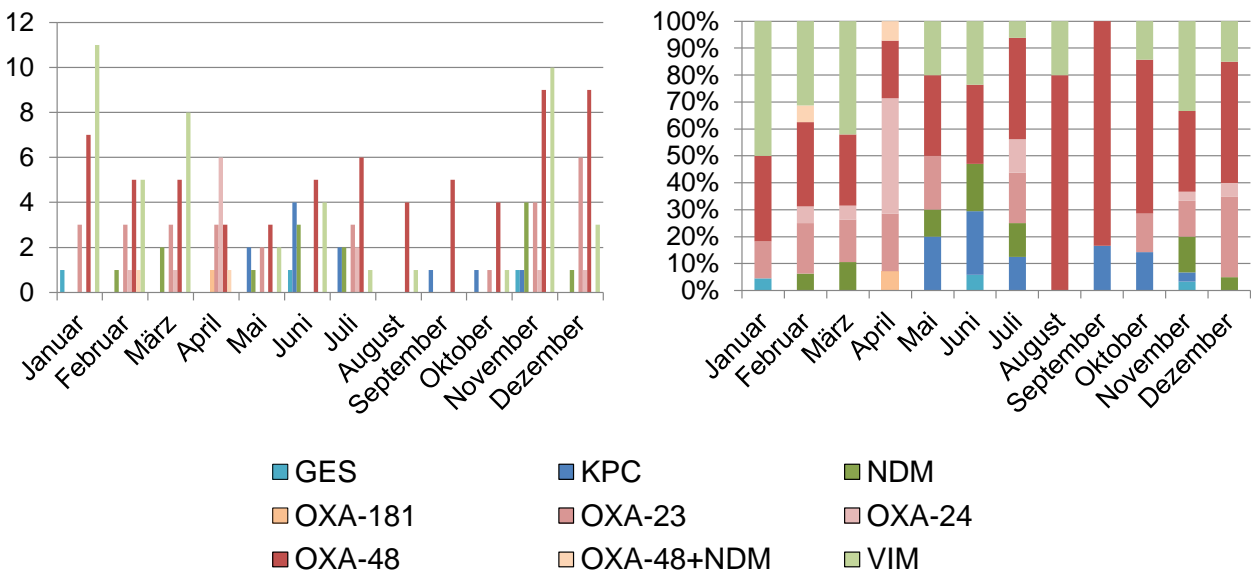
Resistenzen nach Bakterienart unter Angabe der Anzahl und des prozentualen Anteils an der Gesamtzahl der Art. Isolation am IMMIP zwischen dem 24.07.2012 und dem 23.07.2014. Oben: Enterobakterien; Unten: Nonfermenter.

Für die Resistenzgene ergaben sich im Mittel folgende spezifische Schmelztemperaturen mit einer Abweichung von maximal  $\pm 0,69$  °C: *bla<sub>GES</sub>* type 86,05/86,98 °C (Doppelpeak), *bla<sub>KPC</sub>* type 90,24 °C, *bla<sub>NDM</sub>* type 82,54 °C, *bla<sub>OXA-23</sub>* 81,43 °C, *bla<sub>OXA-24</sub>* 78,25/79,31 °C (Doppelpeak), *bla<sub>OXA-48</sub>* 80,08 °C, *bla<sub>VIM</sub>* type 85,72/88,5 °C (Doppelpeak) (s. Tab. 12 im Anhang). Aufgrund keines IMI-, IMP-, Integron- oder OXA-58-positiven Isolats, konnten für diese Resistenzen keine Ergebnisse bzgl. der spezifischen Schmelztemperaturen verzeichnet werden.

Die Anzahl getesteter Stämme aufgrund des Verdachts auf vorliegende Carbapenemasen nahm von Juli 2012 mit unter fünf bis Juli 2014 mit 25 auffälligen Stämmen pro Monat tendenziell zu. In den Monaten November bis März des Winters 2013/2014 wurden durchschnittlich 39 Stämme pro Monat untersucht. Die meisten Bakterien mit auffälligem

Antibiogramm wurden im November 2013 isoliert ( $n=52$ ), die geringste Anzahl im August 2013 ( $n=2$ ).

Der Nachweis von *bla*<sub>OXA-48</sub>, *bla*<sub>VIM</sub> type und *bla*<sub>OXA-23</sub> war in absteigender Folge am regelmäßigsten über den Zeitraum dieser Arbeit verteilt. Die Resistenz KPC wurde lediglich zweimal im Sommer 2012, die restlichen KPC-positiven Stämme ( $n=9$ ) innerhalb von sechs Monaten des Jahres 2013 in Patientenmaterial nachgewiesen. Der Monat November zeigte die stärkste Heterogenität an Carbapenemasen (s. Abb. 11 und Tab. 14 im Anhang).



**Abb. 11:** Jahresverteilung der Carbapenemasen.

Carbapenemase-positive Stämme nach Monat im Zeitraum 07/2012-07/2014. Links: Absolute Werte; Rechts: Angaben prozentual (%).

### 3.4.3 Statistischer Zusammenhang von MHK-Interpretation und Carbapenemase-tragenden Stämmen

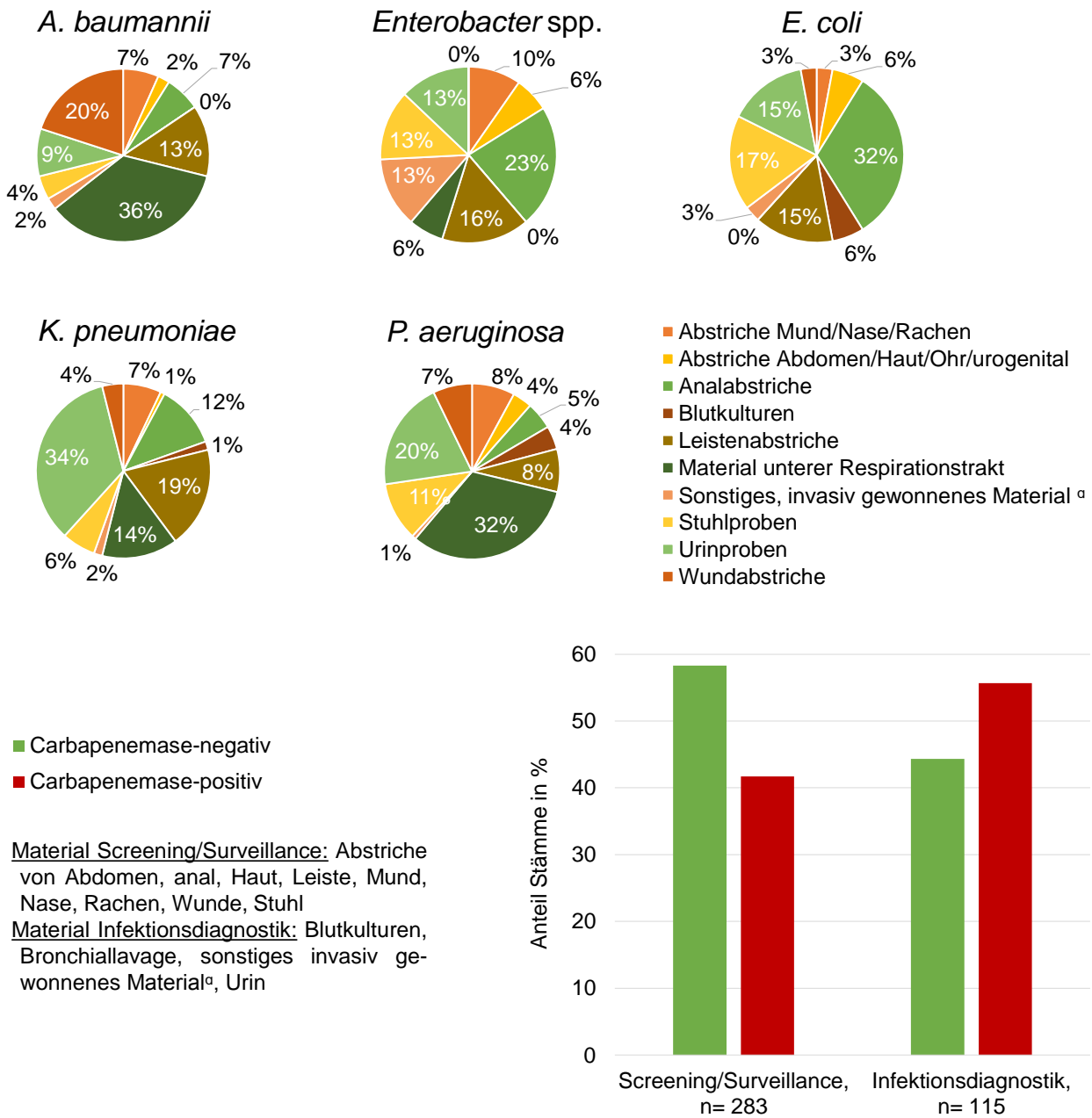
Die Prüfgröße  $X^2$  war für alle untersuchten Antibiotika (Ertapenem, Imipenem und Meropenem mit den Merkmalsausprägungen sensibiles, intermediär und vollständig resistentes Antibiogramm) größer als der kritische Bereich ( $X^2(f; 1-\alpha) = 5,99$ ). Dementsprechend lag der Stichprobenbefund jeweils rechts vom Rückweisungspunkt, weshalb die Nullhypothese aufgrund der signifikanten Unterschiede verworfen werden musste. Für Ertapenem betrug ein Datenpunkt 0, das Ergebnis des  $X^2$ -Testes konnte aber mittels exaktem Test nach

Fisher/Freeman-Halton bestätigt werden (Ablehnung der  $H_0$  bei einem Signifikanzniveau von über 95 %). Die Merkmale MHK-Interpretation und CPE-Besiedelung waren also für alle untersuchten Antibiotika voneinander abhängig (Alternativhypothese  $H_1$ ).

Die Berechnung des korrigierten Kontingenzkoeffizienten ( $C_{korr}$ ) ergab für Imipenem mit  $C_{korr}= 0,243$ , für Ertapenem mit  $C_{korr}= 0,274$  und für Meropenem mit  $C_{korr}= 0,385$  ein geringes Maß an Abhängigkeit zum CPE-Nachweis. In 77 % der Carbapenemase-positiven *K. pneumoniae* wurde bei Imi- und/oder Meropenem-Sensibilität eine Ertapenem-Resistenz erfasst. Knapp drei Viertel der Stämme ohne Carbapenemase waren ebenfalls Ertapenem-resistent. Die Graduierung kein, 3 oder 4MRGN stand mit der Anzahl von genomischen Carbapenemasen in statistischem Zusammenhang und zeigte den größten Kontingenzkoeffizienten unter den betrachteten Variablen ( $C_{korr}= 0,452$ ) (Datentabellen aller durchgeführten statistischen Tests im Anhang).

#### 3.4.4 Analyse der Herkunft des Probenmaterials

Die statistische Auswertung der Herkunft des Probenmaterials (s. auch Tab. 14 im Anhang) ergab, dass *A. baumannii*-Stämme am häufigsten in unterem Respirationstrakt (36 %), Wunden (20 %) und Leistenabstrichen (13 %) zu finden waren (s. Abb. 12). 32 % der *E. coli* wurden aus Analabstrichen isoliert. Die Häufigkeit von auffälligen *Enterobacter* spp. war am gleichmäßigsten über die Probenmaterialien verteilt, lediglich aus Wunden und Blutkulturen wurde kein Bakterium dieser Spezies gewonnen. *K. pneumoniae* wurden zumeist aus Urin (34 %), gefolgt von Leistenabstrichen (19 %), unterem Respirationstrakt (14 %) und Analregion (12 %) isoliert. Bakterien der Spezies *P. aeruginosa* wurden hauptsächlich aus Material des unteren Respirationstraktes, aber auch aus Urin kultiviert. Die Betrachtung der einzelnen Materialien ergab, dass Wunden zu mehr als zwei Dritteln *P. aeruginosa* (36 %) und *A. baumannii* (32 %) als Reservoir dienen. In Analabstrichen fanden sich am häufigsten *K. pneumoniae* (38 %), gefolgt von *E. coli* (24 %) und *Enterobacter* spp. (15 %). Aus Rachenabstrichen, dem unteren Respirationstrakt und Blutkulturen wurde überwiegend *P. aeruginosa* (36 %, 52 %, 67 %) isoliert. Die Analyse von Stuhlproben ergab das Vorkommen von *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *Enterobacter* spp. und *A. baumannii* in absteigender Häufigkeit.



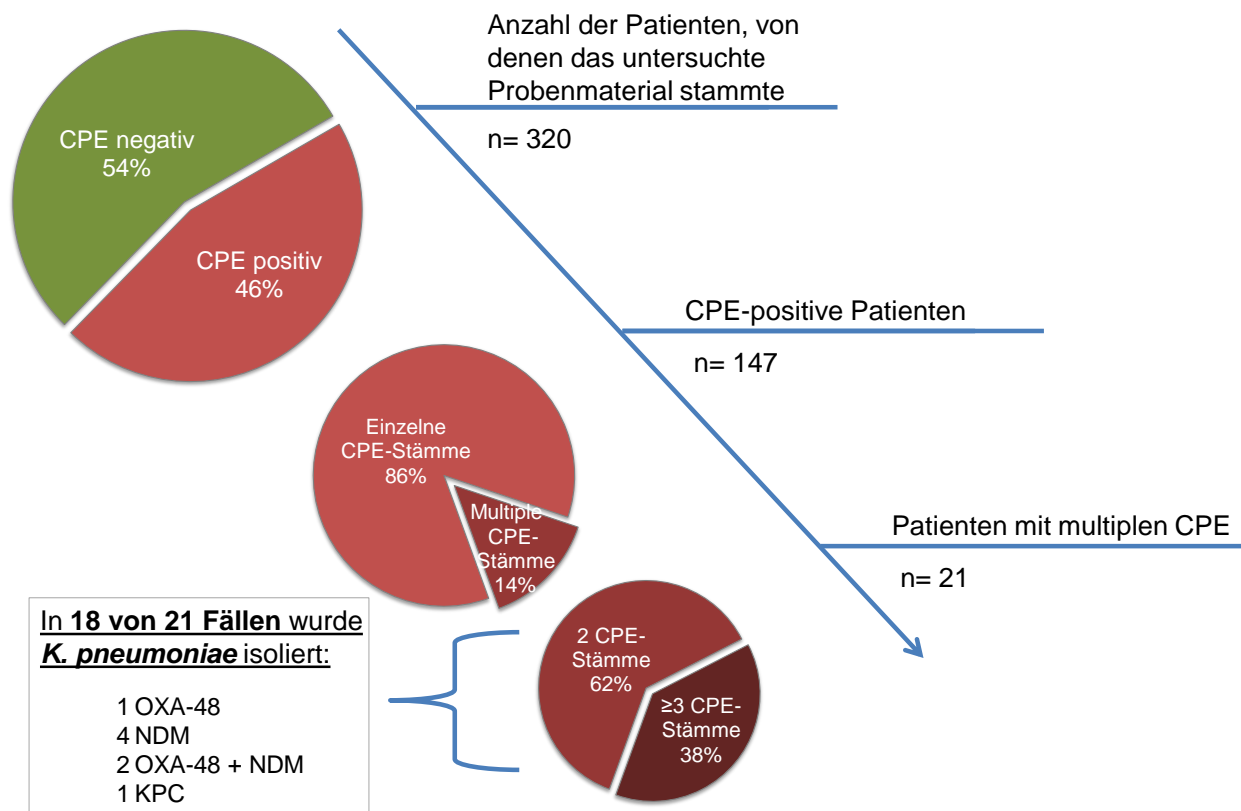
**Abb. 12:** Übersicht des gewonnenen Probenmaterials pro Stamm und Vergleich CPE-positiver und -negativer Proben nach Material. Oben: Kreisdiagramme der fünf meist isolierten Bakterien *A. baumannii*, *E. coli*, *Enterobacter* spp., *K. pneumoniae* und *P. aeruginosa* mit Angabe des gewonnenen Probenmaterials in %. Unten: Gruppierte Säulen der Anteile an CPE-positiven und -negativen Proben in Screening/Surveillance und Infektionsdiagnostik in Prozent. <sup>a</sup>= Abstrich Bruchsack/Netz/Harnröhre, Galle, Gewebe Hüftpfanne, Sheldonkatheter.

Der Vergleich von Material für Screening/Surveillance mit Proben, welche aufgrund einer klinisch relevanten Indikation entnommen wurden, zeigte, dass prozentual mehr CPE bei

letzteren auftraten (55,65 % CPE-positive Proben, n= 64). Anzumerken ist, dass die Anzahl der invasiv gewonnenen Materialien deutlich kleiner war, als durch Screening und Surveillance gewonnene Proben. Hier unterschied sich der Anteil von CPE und Nicht-CPE um 16,6 % (s. Abb. 12). Bezogen auf einzelne Patienten (teilweise mehrfacher Nachweis von CPE, s. dazu auch 3.4.5) zeigte sich, dass knapp 40 % der CPE-Positiven (n= 57 von insgesamt 147 Patienten mit positivem Probenmaterial) erst durch Infektionsdiagnostik primär steriler Medien (Urin, Blut, etc.) auffielen. Das Material von über 60 % der CPE-positiven Patienten (n= 90) stammte hingegen von Abstrichen zwecks Screening/Surveillance.

#### 3.4.5 Beschreibung des Patientenkollektivs mit Verdacht auf oder Nachweis von Carbapenemase-produzierenden Erregern (CPE)

Die für diese Arbeit isolierten Bakterien stammten von Proben 320 verschiedener Patienten des UKB (n= 187) und des Neurologischen Rehabilitätszentrums Godeshöhe (n= 137) (s. Tab. 15 im Anhang). Material von knapp 46 % (n= 147) der Patienten wurde CPE-positiv getestet, 16,9 % (n= 54) waren von mehr als einem Stamm besiedelt, der die Auswahlkriterien dieser Arbeit (s. 2.1) erfüllte. In etwa 40,4 % (n= 21) dieser Fälle wurde tatsächlich mehr als ein Carbapenemase-tragender Stamm nachgewiesen. Diese machten einen Anteil von 14 % der gesamten Patienten mit CPE-positiven Proben aus (s. Abb. 13). Meist betrug hier die Anzahl verschiedener positiv getesteter Bakterien zwei (n= 13). In acht Fällen wurden aber auch drei bis fünf verschiedene Carbapenemase-positive Stämme aus Material einer einzelnen Person isoliert. Im Patientenkollektiv (n= 21) konnten die Isolate pro Patient maximal drei verschiedenen Spezies zugeordnet werden, dies traf bei vier Patienten zu. Bei mehr als einem Drittel (38,1 %, n= 8) der 21 mit multiplen CPE-besiedelten Patienten wiesen unterschiedliche Spezies die gleiche Resistenz auf. In sieben von acht Fällen war dies OXA-48, in einem Fall NDM. Unter den verschiedenen Spezies, die aus Proben eines einzelnen Patienten stammten, war hier stets *K. pneumoniae* vertreten. Aus Material von vier Patienten wurde zusätzlich *E. coli*, von je einem Patienten *Enterobacter* spp. oder *Serratia* spp. und von zwei Patienten sowohl *Enterobacter* spp., als auch *E. coli* isoliert. In über 70 % der Fälle (15/21) lagen in Proben von Patienten mit Nachweis von multiplen CPE OXA-48-positive *K. pneumoniae* vor (s. Abb. 13).



**Abb. 13:** CPE-Nachweis in von einzelnen Patienten stammenden Proben.

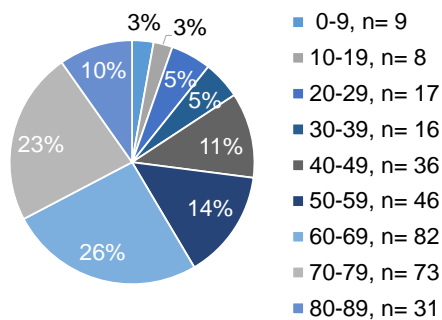
Darstellung der Anteile CPE-positiver Patienten und von Patienten mit multipltem CPE-Nachweis am gesamten Patientenkollektiv in Prozent (%). CPE= Carbapenemase-produzierende/r Erreger.

In dieser Arbeit wurde Material, das von 94 Patienten ausländischer (70 Männer, 24 Frauen) und 228 deutscher Herkunft (156 Männer, 72 Frauen) stammte, untersucht. Prozentual wurden CPE insgesamt am häufigsten bei ausländischen (58,6 %), gefolgt von deutschen Männern (44,2 %) nachgewiesen. Ausländische Patientinnen waren in 33,3 %, deutsche in 40,3 % der Fälle mit CPE besiedelt. Ein nachgewiesener CPE (n= 130) kam zumeist bei deutschen Männern (n= 64, 49,23 %) vor, zwei und drei CPE (n= 10; n= 3) am häufigsten bei ausländischen männlichen Patienten (n= 6; n= 2). Ausländische und deutsche Patienten zeigten jeweils in einem Fall vier Stämme mit genomischer Carbapenemase. Das einmalig fünffache Auftreten von CPE im gemessenen Zeitraum wurde aus Material einer deutschen Patientin nachgewiesen. In den Gruppen männlich/ausländisch, männlich/deutsch, weiblich/ausländisch, weiblich/deutsch war in drei Kategorien die prozentuale Häufigkeit für keinen einzigen CPE-Nachweis im Vergleich zu einem bis fünf

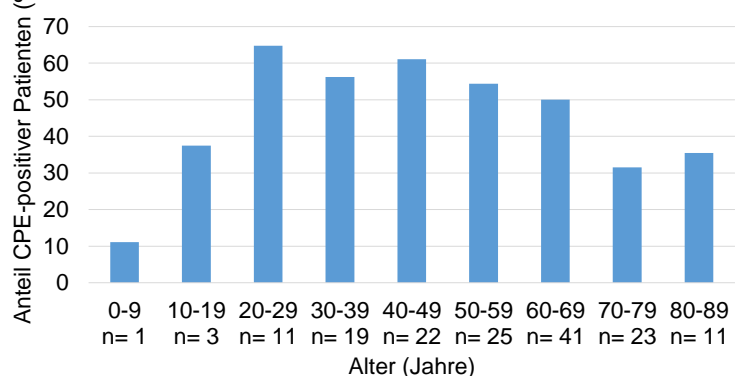
vorliegenden CPE am größten. Lediglich in Proben ausländischer Männer war in 31 von 70 Fällen der Anteil mit Nachweis eines einzelnen CPE am höchsten (s. Tab.15 im Anhang).

Mit einem Anteil von knapp 60 % (n= 186) waren die meisten Patienten, deren Probenmaterialien getestet wurde, bei Bakteriennachweis älter als 60 Jahre. Die größte Rate an Patienten mit mindestens einem positiven Isolat fand sich in den Altersklassen zwischen 20 und 70 Jahren, am häufigsten bei Patienten im dritten Lebensjahrzehnt, gefolgt von 40- bis 49-Jährigen. Dabei wurde das erste Material (bei [positiv-getesteten] Patienten mit mehreren Stämmen der erste [positive] Stamm) in einem Verhältnis Klinische Indikation zu Screening von 70:30 entnommen. Bei unter 40-Jährigen wurden Carbapenemase-positive Isolate häufiger in Screening-Material entdeckt, bei Patienten ab dem 40. Lebensjahr war die Ausbeute an CPE bei Probenentnahme aufgrund klinischen Verdachts größer (s. Abb. 14 und Tab. 15 im Anhang). Die beschriebenen Daten beziehen sich auf 318 der 320 Patienten, da bei zwei Patienten kein realistisches Geburtsdatum vorlag (01.01.1900).

Patienten nach Altersklasse (Jahre)\*



Anteil CPE-positiver Patienten nach Altersklasse (Jahre)\*



**Abb. 14:** Demographie des Patientenkollektivs nach Alter und CPE-Nachweis.

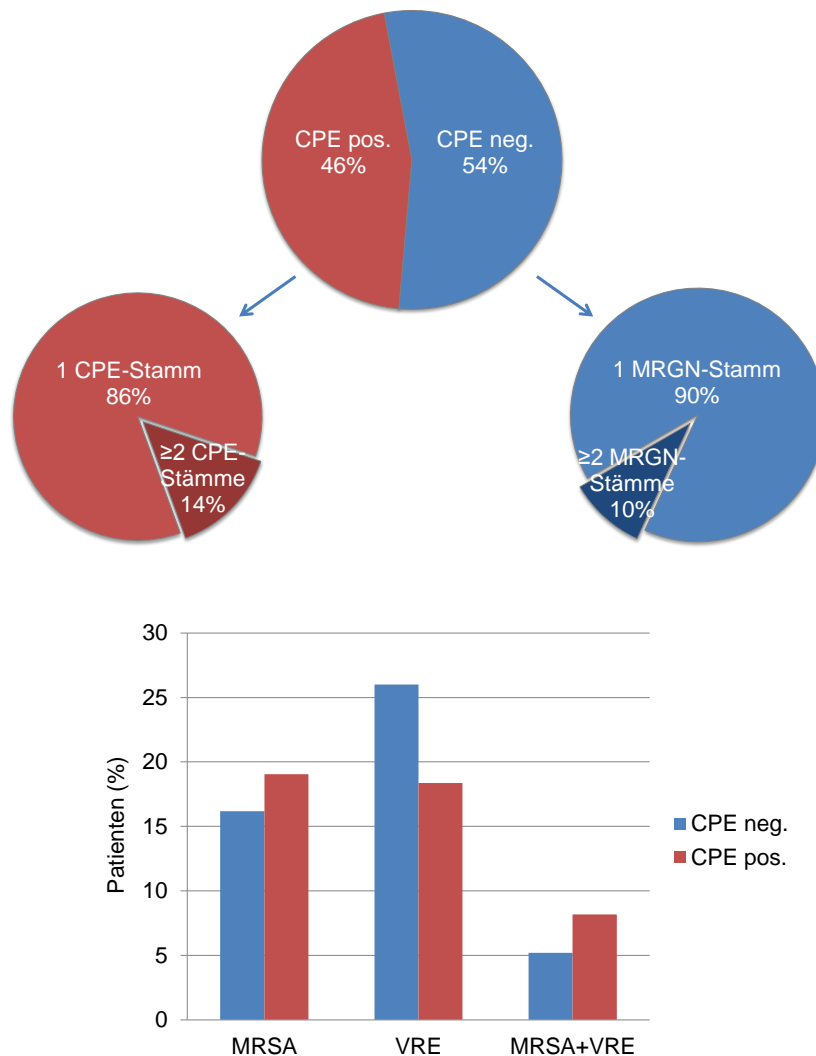
Links: Patienten, von denen untersuchtes Probenmaterial stammte, nach Altersklasse in Jahren und Prozent. Rechts: Anteil CPE-positiver Patienten nach Altersklasse in Jahren und Prozent. \*Daten beziehen sich auf 318 der 320 Patienten (s. Text).

Für die zeitlich unabhängige Besiedelung mit einem MRSA und einem Carbapenemase-tragendem Stamm eines Patienten konnte mithilfe des  $\chi^2$ -Testes keine Abhängigkeit gezeigt werden. Der Kontingenzkoeffizient betrug  $C_{korr} = 0,086$ . Die Wahrscheinlichkeit der

Besiedelung mit einem CPE war ebenfalls nicht signifikant von der Besiedelung mit einem VRE abhängig ( $C_{\text{kor}} = 0,014$ ). Auch die Auftretenswahrscheinlichkeit von CPE bei bestehender MRSA- plus VRE-Besiedelung war nicht erhöht ( $C_{\text{kor}} = 0,084$ ). In diesen drei Fällen wurde die Nullhypothese angenommen. Mithilfe des exakten Testes nach Fisher/Freeman-Halton konnte ferner keine Abhängigkeit zwischen steigender Anzahl von CPE pro Patient und Nachweis eines anderen resistenten Stammes (MRSA und/oder VRE) ermittelt werden. Die Abhängigkeit wäre lediglich bei einem Niveau von 34,36 % signifikant gewesen. Das festgelegte Signifikanzniveau für die statistische Auswertung lag in diesem, wie in allen durchgeführten Tests, aber bei 95 %. Die Nullhypothese wurde demnach angenommen (Datentabellen aller durchgeführten statistischen Tests s. Anhang). Ein Überblick der tatsächlich beobachteten Mehrfachbesiedelung eines Patienten mit CPE oder MRGN zusammen mit MRSA und/oder VRE ist der Abbildung auf der Folgeseite zu entnehmen (s. Abb. 15).

Die Analyse der Krankenhausbereiche Ambulanz (inkl. Tagesklinik und Notfallzentrum), Normalstation und Intensivstation ergab, dass allein Patienten auf Normalstationen mit einem geringfügig größeren Prozentsatz von CPE besiedelt waren ( $n = 105$ , 51,98 % CPE-positiv;  $n = 97$ , 48,02 % CPE-negativ). Auf Intensivstationen verteilten sich die Ergebnisse mit etwa einem zu zwei Dritteln ( $n = 39$ , 36,11 %;  $n = 69$ , 63,89 %) zugunsten CPE-negativem Probenmaterial. Bei Besuchern der Ambulanz und Patienten aus Tagesklinik und Notfallzentrum ( $n = 22$ ) fand zu ähnlich gleichen Teilen der Nachweis CPE-positiver ( $n = 9$ , 40,91 %) und -negativer ( $n = 13$ , 59,09 %) Stämme statt. UKB-intern wurde das Material von 44,92 % der 187 zugehörigen Patienten CPE-positiv getestet. Der Anteil von CPE bei Patienten, die außerhalb behandelt wurden (Neurologisches Rehabilitationszentrum Godeshöhe,  $n = 137$ ), betrug 47,45 % (s. Tab. 15 im Anhang). Anzumerken ist, dass 12 Patienten während ihres stationären Aufenthaltes innerhalb der Bereiche Normal- und Intensivstation verlegt sowie vier Patienten UKB in- und extern behandelt wurden. Diese Patienten wurden als verschiedene Personen gewertet.





**Abb. 15:** Mehrfachbesiedelung von Patienten mit resistenten Stämmen.

Oben: Trennung der Patienten nach CPE-positivem und -negativem Probenmaterial (CPE pos./neg.) unter Darstellung des Anteils der Anzahl von CPE-/MRGN-Stämmen in Prozent (%). Unten: Darstellung der MRSA-, VRE-, MRSA+VRE-Besiedelung CPE-positiver (CPE pos.) und -negativer (CPE neg.) Patienten in Prozent (%).

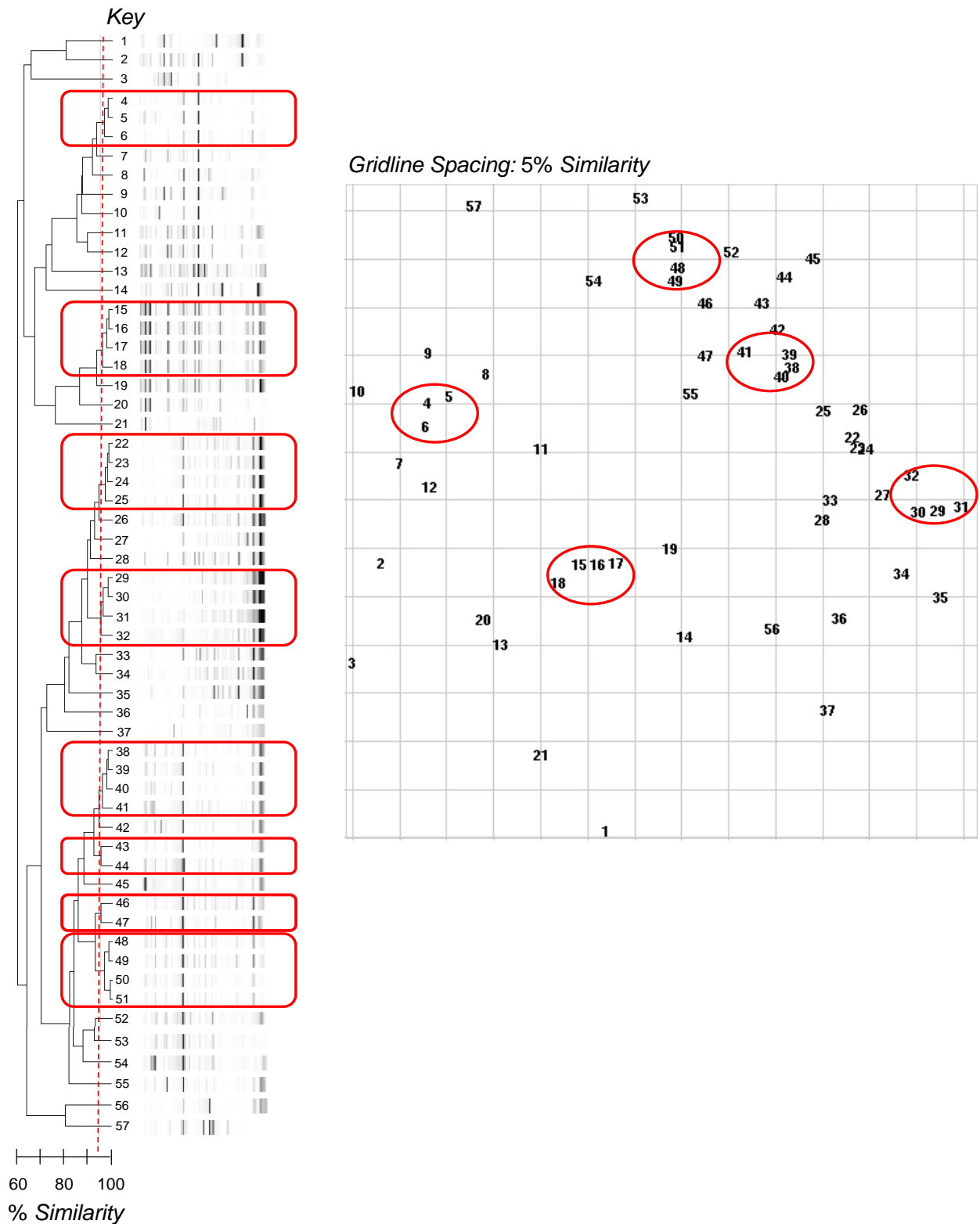
### 3.4.6 Molekulare Typisierung Carbapenemase-positiver *K. pneumoniae*

Das Typisierungsverfahren DiversiLab wurde aufgrund des beobachteten, breiten Resistenzspektrums dieser Art (s. 3.4.2) mit 58 der in dieser Arbeit untersuchten *K. pneumoniae* durchgeführt. Die Stichprobe bestand aus 37 OXA-48-, neun KPC-2-, zwei NDM-, einem OXA-181- und einem doppelpositiven Isolat (OXA-48+NDM) sowie sieben Carbapenemase-negativen Stämmen. Die aufgeführten *K. pneumoniae* wurden im Zeitraum zwischen Juli 2012 und Februar 2014 von Probenmaterial aus den dem IMMIP zugewiesenen Kliniken isoliert. Einige Stämme mussten aufgrund von nicht-detektierten

Signalen wiederholt gemessen werden. Das resultierende Dendrogramm (s. Abb. 16) zeigte für alle verwendeten Stämme eine genomische Ähnlichkeit von mindestens 60 %. Bei einer Grenzeinstellung  $\geq 95$  %-iger Gleichartigkeit (Bakterien gelten als verwandt, nah verwandt oder nicht unterscheidbar (Fluit et al., 2010)) bildeten sich fünf Cluster mit je vier Isolaten, ein Cluster mit drei und zwei Cluster mit je zwei Isolaten. Die Hälfte der genannten Cluster (n= 4) bestand vollends aus OXA-48-positiven *K. pneumoniae*. In zwei der Gruppen waren *K. pneumoniae* mit unterschiedlicher Resistenz (KPC und NDM; KPC und OXA-48), in zweien Carbapenemase-positive Stämme neben Carbapenemase-negativen Kontrollen vertreten. Einige der untersuchten Bakterien stammten von Patienten, von deren Material zwei bis vier Stämme in diese Untersuchung einfließen. Trotz z. T. gleicher Resistenz der *K. pneumoniae* eines Patienten, befanden sich nur zwei der 14 besagten Isolate in demselben Cluster. Dies waren Carbapenemase-negative *K. pneumoniae*, die der Kontrolle dienten. Insgesamt befanden sich drei negative Stämme in Clustern mit positiven Isolaten, vier Kontrollen zeigten keine nähere Verwandtschaftsbeziehung zu den Carbapenemase-tragenden Stämmen. Lediglich ein Cluster bestand vollständig aus Bakterienstämmen, die in etwa zur gleichen Zeit isoliert wurden. Die Stammsolation der Patienten fand in zwei Clustern von zwei, in einem Cluster von drei Carbapenemase-positiven *K. pneumoniae* in örtlichem und zeitlichem Zusammenhang statt.

#### 3.4.7 Molekulare Typisierung OXA-48-positiver *E. coli*

Es wurden fünf der acht OXA-48-positiven *E. coli* mittels *rep* PCR-Typisierung auf ihre Verwandtschaftsbeziehung getestet. Zwei der untersuchten Isolate zeigten eine Ähnlichkeit von 98 %. Die Isolation der Stämme der Patienten „1“ und „2“ fand mit etwa einem Monat Abstand voneinander und in unterschiedlichen Krankenhausbereichen statt. Zum Zeitpunkt der Isolation des Stammes von Patient „2“ lagen aber beide Patienten auf der gleichen Intensivstation. Die restlichen *E. coli* zeigten eine genomische Ähnlichkeit von unter 95 %.



## 4. Diskussion

Hinsichtlich der weltweit wachsenden Bedrohung durch Carbapenemase-produzierende Erreger ist ein verlässlicher Algorithmus zu deren Detektion in mikrobiologischen Labors unabdingbar. Die Kenntnis des Resistenzmechanismus ist für eine effektive Therapie betroffener Patienten und im Sinne lokaler und nationaler Überwachung von großer Bedeutung. In dieser Arbeit wurden gängige phänotypische Tests, neu publizierte biochemische Ansätze sowie ein Nachweis von Carbapenemasen auf molekularbiologischer Ebene methodisch erfasst und verglichen.

Die EUCAST-Empfehlungen zur Detektion von Resistenzmechanismen raten nach Feststellung einer verminderten antimikrobiellen Empfindlichkeit gegenüber Carbapenemen zur Anwendung phänotypischer Methoden (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2013). Der Modifizierte Hodge Test hat sich v. a. aufgrund komplizierter Auswertung und geringer Spezifität sowie durch die beschleunigte Verbreitung von MBL und OXA-like-Enzymen kombiniert mit Klasse A-Carbapenemasen nicht bewährt (Bartolini et al., 2014). Unter den hier durchgeführten phänotypischen Assays wurden ebenfalls nennenswerte Unterschiede im Hinblick auf Sensitivität und Spezifität beobachtet (s. Abb. 7, s. Tab. 10).

Im E-Test stimmten im Nachweis von MBL 18 der 22 auswertbaren Testergebnisse mit den vorher molekularbiologisch erhobenen Daten überein, alle abweichenden Stämme waren falsch-positiv. Die Differenzen sind durch mit PCR nicht erfassbaren, aber klinisch bedeutsamen Membranpermeabilitätsveränderungen oder schwächeren, selteneren und unbekanntem  $\beta$ -Laktamasen vereinbar. In dieser Hinsicht erfassen E-Tests sowie andere phänotypische Methoden Resistenzen im Vergleich zur Molekularbiologie häufiger. Bei einer sehr guten Sensitivität von 100 % stellte sich der E-Test allerdings als wenig spezifisch dar (SPE= 63,64 %). Diese Ergebnisse entsprechen vorhandenen Daten in der Literatur (Khosravi et al., 2012; Segal und Elisha, 2005). Khosravi et al. (2012) konnten die Spezifität im Verlauf durch eingegrenzte Bakterienauswahl (alleinige Berücksichtigung von Isolaten mit einer MHK  $>16 \mu\text{g/mL}$ ) auf 100 % verbessern. Falsch-positive Ergebnisse könnten einer EDTA-Empfindlichkeit zugrunde liegen, da EDTA in manchen Bakterien die Membranpermeabilität steigert (Benedić et al., 2014). In diesem Fall wäre das erhöhte IP/IPI-Verhältnis nicht durch die Eigenschaft des EDTA als Metall-Chelator, der MBL in

ihrer Wirkung inaktiviert, begründet. Vielmehr würde eine vermehrte Einschleusung des Antibiotikums in das Bakterium dessen Wachstum behindern.

Nicht zu vernachlässigen ist weiterhin, dass in 42,11 % der Fälle dieser Arbeit der erforderliche MBL-Index nicht berechnet werden konnte. Somit gestaltete sich eine Auswertung nach Vorgaben des Herstellers in diesen Fällen als unmöglich. Vorwiegend waren hiervon Carbapenemase-positive und -negative Enterobakterien betroffen, welche im E-Test Werte von  $<4$  (IP) und  $<1$  (IPI) mg/L aufwiesen (s. Tab. 10). Dies bestätigt die Beobachtung, dass v. a. bei Enterobakterien und *A. baumannii* die MHKs von Carbapenemen unabhängig vom Vorliegen von Carbapenemasen variieren (hohe, intermediäre oder sogar niedrige MHKs) (Bedenić et al., 2014). Generell kann im E-Test aus Werten von  $<4/<1$  mg/L für IP/IPI geschlossen werden, dass keine Resistenz, weder eine MBL noch ein anderer Resistenzmechanismus, von phänotypischer Bedeutung vorliegt. Bei der MHK-Kombination von  $>256$  (IP) und  $>64$  (IPI) mg/L lässt sich hingegen annehmen, dass eine Resistenz besteht, diese aber nicht durch eine MBL verursacht ist. Insgesamt ist bei der mangelhaften Rate an erfolgreicher Durchführbarkeit und dem geringen positiven prädiktivem Wert von 0,73 die routinemäßige Durchführung des E-Testes als alleinige Methode, auch aufgrund des Zeitverlustes von einem Tag durch Bebrütung der Agarplatten über Nacht, nicht anzuraten.

Der durchgeführte kombinierte Plättchendiffusionstest erzielte durch Auswertung nach Angaben des Herstellers insgesamt prädiktive Werte von 0,67 (PPW) und 0,73 (NPW). Demnach wären zwei Drittel der als positiv deklarierten Stämme tatsächlich Carbapenemase-Produzenten und ca. ein Viertel der negativ getesteten Isolate in Wahrheit Carbapenemase-positiv. Die Wertung eines Stammes mit AmpC plus Porinverlust als Resistenzursache ergab sich aus der Kombination von positivem Testblättchen C (KPC-Inhibitor) und D (AmpC-Inhibitor). Alle betroffenen Isolate waren molekularbiologisch KPC-positiv, sodass sie nach Reevaluation entgegen der dem Produkt beiliegenden Legende als richtig-positiv gewertet werden könnten (Testblättchen C positiv, s. Abb. 17 im Anhang). Diese Modifikation bewirkte eine Steigerung der Sensitivität des Tests für Enterobakterien um 17,78 Prozentpunkte auf 77,78 %, die Spezifität würde 100 % (zuvor 66,67%) betragen. Daraus resultierte ein deutlich besserer positiver Vorhersagewert von 1 (ohne Modifikation PPW= 0,42) bei einem unveränderten NPW von 0,8. Die Empfehlung des KPD-Herstellers bezieht sich lediglich auf die bereits beschriebenen Enterobakterien.

Die Daten zu den getesteten Nonfermentern waren bei gleicher Spezifität (100 %) bezüglich der Sensitivität deutlich ungenauer (50 %), sodass eine entsprechende Erweiterung des testbaren Bakterienspektrums nicht vertretbar wäre.

Insgesamt war keines der ausgewählten Verfahren durch zuverlässige Ergebnisse als alleinige Methode zur Detektion bzw. Ausschluss von Carbapenemasen geeignet. Werte von 100 % erreichte der E-Test in Sensitivität, der KPD bei modifizierter Auswertung in Spezifität. Eine wichtige Limitation des durchgeführten Vergleichs von phänotypischer und molekularbiologischer Testung ist die Unklarheit darüber, ob eine Carbapenemase, falls genetisch vorhanden, überhaupt exprimiert wird. Außerdem sind bei negativer Carbapenemase-PCR andere Mechanismen, die zu einer klinisch relevanten Resistenz führen könnten, nicht ausgeschlossen. Die Erkenntnis aus E-Test und KPD ist an die im Test prüfbareren Resistenzursachen durch erhältliche Inhibitoren gebunden. Für Klasse D-Carbapenemasen (z. B. OXA-48) ist bis heute kein Inhibitor verfügbar. Es ist lediglich eine erhöhte Resistenz gegenüber Temocillin bekannt, welche in Testverfahren genutzt wird (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2013). Somit sind die am häufigsten am IMMIP vorkommenden Carbapenemasen phänotypisch allein nicht mit ausreichend guter Sensitivität nachweisbar. Für eine verlässliche Überwachung des Resistenzspektrums für die Erhebung der lokalen Epidemiologie, Surveillance und Qualitätskontrolle ist die genaue Kenntnis von vorliegenden Resistenzgenen erforderlich. Dies ist durch klassenspezifische Tests, wie dem MBL-Nachweis, nicht möglich. Weiterhin zeigten Bartolini et al. (2014), dass in keinem phänotypischen Assay bei epidemiologisch zunehmender Bedeutung von Mehrfach-Resistenz, wie auch am IMMIP gesehen (s. Abb. 10 und Tab. 14 im Anhang), zwei oder mehr Resistenzmechanismen von nur einem Isolat zu unterscheiden waren.

Der Nachweis von  $\beta$ -Laktamasen mittels Massenspektrometrie ist eine neue, noch nicht etablierte Methode, welche bereits zur Bewertung der Hydrolyse von Ampicillin, Imi-, Ertam und Meropenem bei verschiedenen Bakterienstämmen angewendet wurde (Sparbier et al., 2012). Aufgrund der zuverlässigen und schnellen Identifikation von Bakterien und Hefen verfügen viele Labors bereits über ein MALDI-TOF-Gerät. Dieses könnte ebenfalls für andere biochemische Analysen, z. B. Lipopolysaccharidanalyse von Colistin-resistenten Isolaten, und Forschung auf molekularer Ebene verwendet werden (Hrabák et al., 2011). Aktuell scheint laut Sparbier et al. (2012) der biochemisch-physikalische Ansatz

via MALDI-TOF die schnellste Methode in der Verifikation von Carbapenemasen zu sein, da die zugrunde liegende enzymatische Reaktion der  $\beta$ -Laktamase direkt analysiert wird. Die große, zur Hydrolyse korrespondierende Massenänderung von etwa +18 Da könne eindeutig detektiert werden. Vorbereitung, Inkubation und Analyse der Proben ist laut Literatur i.d.R. innerhalb von 45-240 min durchführbar, in bestimmten Fällen wird bis zu 24 h Inkubationszeit benötigt. Die starken zeitlichen Unterschiede stehen nicht mit der Carbapenem-MHK, sondern dem vorliegenden Enzym in Korrelation und sind neben dem Einsatz von Inhibitoren (z. B. APBA und DPA) hochspezifisch zur Differenzierung von Carbapenemasen (Johansson et al., 2014). In der hier durchgeführten Versuchsreihe konnte lediglich bei sieben der 35 untersuchten Stämme eine Veränderung des Carbapenem-Spektrums nachgewiesen werden. Die Degradationszeiten für NDM (60 min) und KPC (120 min) (s. Abb. 8) entsprachen in etwa den von Burckhardt und Zimmermann (2011) publizierten Angaben. Die dreifache Dauer des doppelt-positiven Isolats (NDM+OXA-48) bis zur Degradation ließe sich nach Hrabák et al. (2011) durch eine geringe Expression der Carbapenemase oder eine verdickte Zellwand mit entsprechender Aktivitätsminderung erklären. Andere Autoren sehen gerade aufgrund der scheinbar hohen Sensitivität und Spezifität des MALDI-TOF einen Vorzug dieser Methode gegenüber phänotypischen Assays, die häufig den Nachteil bergen, geringfügige Carbapenemase-Aktivität nicht zu erfassen (Kempf et al., 2012). Der erschwerte Nachweis von VIM-positiven Isolat, hier in zehn von zehn Fällen falsch-negativ, könnte mit einem zusätzlichen Porinverlust der *P. aeruginosa* zusammenhängen. Hierdurch würde ein nur sehr geringer Anteil des zugeführten Ertapenems die periplasmatische Bindungsstelle des VIM-Enzyms erreichen (Doumith et al., 2009). Falsch-negative Ergebnisse wurden außerdem bei der Verwendung von Kulturen, die älter als 48 h sind, durch die Produktion von Carbapenemase-einschränkenden proteolytischen Enzymen beobachtet (Hrabák et al., 2011). Auch die Ertapenem-Hydrolyse durch Bakterien mit verschiedenen OXA-Varianten, welche bei 17 der 17 Isolate dieser Arbeit ausblieb, wurde von weiteren Autoren als kompliziert beschrieben. Zum einen wird in der Literatur die allgemein inhibierende Eigenschaft des Kochsalzes auf Oxacillinasen genannt (Álvarez-Buylla et al., 2013), außerdem bestünde bei *A. baumannii*-Stämmen eine schwächere Carbapenemase-Affinität zum verwendeten Carbapenem und ein langsames Wachstum gegenüber Enterobakterien (Kempf et al., 2012). Für *A. baumannii* scheint Imipenem, für Enterobak-

terien Meropenem das am besten validierte Antibiotikum zum Carbapenemase-Nachweis zu sein. In dieser Arbeit wurde dennoch Ertapenem verwendet, da die Hydrolyse zu bekannten und spezifischen Degradations-Peaks führt (Williams et al., 2005). Im Gegensatz zu Meropenem, bei dem der Zusatz von SDS zur besseren Visualisierung und Reduktion der Inkubationszeit nötig ist, kann das Ertapenem-Spektrum über die kommerziell erhältliche HCCA-Matrix, welche auch zur Speziesidentifikation über MALDI-TOF in Gebrauch ist, dargestellt werden (Johansson et al., 2014; Hrabák et al., 2012). Das komplette Verschwinden von Ertapenem-Peaks, wie es bei den richtig-positiv erfassten Isolaten beobachtet wurde, ist bei sehr labilen Reaktionsprodukten möglich. Eine weitere Ursache könnte eine erschwerte Ionisierung der Teilchen sein, wodurch die Detektion behindert würde. Insgesamt ist die Idee des biochemisch-physikalischen  $\beta$ -Laktamase-Nachweises durch den geringen zeitlichen und finanziellen Aufwand als sehr effizient zu bewerten. Ebenso sind Vorteile gegenüber molekularen und phänotypischen Methoden zu nennen, nämlich auch nicht bekannte Resistenzen ermitteln zu können sowie nicht für jedes Enzym spezifische Inhibitoren zu benötigen. Andere Resistenzmechanismen, wie Porinalterationen und die Hochregulation von Effluxpumpen bei *K. pneumoniae* und *P. aeruginosa* und zusätzlich PBP-Mutationen bei *A. baumannii*, werden via MALDI-TOF allerdings nicht erfasst (Burckhardt und Zimmermann, 2011). Viele Studien, die die MALDI-TOF als eine ergiebige Nachweismethode betitelten, umfassten zudem, ähnlich wie in dieser Arbeit, nur sehr kleine Stichproben einiger Spezies und Carbapenemasen (Johansson et al., 2014) (s. Tab. 11) und in den meisten Fällen wurde die Evidenz der Methode nicht außerhalb des publizierenden Zentrums belegt (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2013). In der hier durchgeführten Testreihe mussten außerdem Qualitätseinbußen zur Profildarstellung hingenommen werden (s. Tab. 8). Kempf et al. (2012) beschrieben ebenfalls die Notwendigkeit eines Massenspektrometers, der die für die Bakterienidentifizierung ausreichende Auflösung und Sensitivität überschreite. Somit würde die vorhandene Ausstattung eines mikrobiologischen Labors den Anforderungen nicht genügen, weshalb die Methode für die Routinediagnostik nicht geeignet scheint. In zukünftigen Studien müsste dazu das Assay, vor allem für den VIM- und OXA-Nachweis in seinen Ausgangsbedingungen modifiziert, Daten eines größeren Umfangs erhoben und an der Reproduzierbarkeit gearbeitet werden. In Erwägung könnten dabei die Verwendung eines neuen Substrates sowie eine



bessere Präanalytik gezogen werden, sodass ein Anstieg der Carbapenemase-Aktivität mit intensivierter Carbapenem-Degradation eine bessere Darstellung mittels MALDI-TOF zuließe. Dann könnten vereinzelt berichtete Vorzüge, wie die direkte Testung von resistenten Zellen aus frischen Blutkulturen sowie der Gebrauch des Carbapenemase-Nachweises zur Entwicklung neuer  $\beta$ -Laktam-Antibiotika (Sparbier et al., 2012), tatsächlich von großem Nutzen sein.

**Tab. 11:** Übersicht einiger Studien zum CPE-Nachweis mittels Massenspektroskopie. Studien Burckhardt und Zimmermann (2011), Hrabák et al. (2011, 2012) und Kempf et al. (2012) nach zur Hydrolyse verwendetem Carbapenem und Stammzahlen CPE-positiver und -negativer Isolate.

	Burckhardt und Zimmer- mann (2011)	Hrabák et al. (2011)	Hrabák et al. (2012)	Kempf et al. (2012)
<b>Hydrolysiertes Carbapenem</b>	Ertapenem	Meropenem	Meropenem	Imipenem
<b>CPE-positive Stämme, davon</b>	47	30	110	70
IMP	7	6	-	2
KPC	25	5	10	1
NDM	5	1	67	2
OXA	-	-	10	63
VIM	10	18	23	2
<b>CPE-negative Stämme</b>	30	94	35	79

Molekulare Methoden bleiben der Goldstandard für die präzise Identifikation von Carbapenemasegenen (Nordmann und Poirel, 2013). Sie bestehen am häufigsten aus einem konventionellen PCR-Assay mit nachfolgender Sequenzierung der Reaktionsprodukte (Hofko et al., 2014). Durch eine *real-time* PCR sind Sensitivität und Spezifität erhöht, die ausbleibende postamplifikations-Analyse birgt eine große Zeitersparnis und gleichzeitig ist das Risiko einer post-PCR-Kontamination eliminiert (Chen et al., 2011; Hindiyeh et al., 2008). Die hier durchgeführte PCR mit Schmelzkurvenanalyse konnte in Echtzeit verfolgt werden, sodass bereits nach etwa einer Stunde Carbapenemase-positive Erreger zu erkennen waren. Die Zeit bis zum Endergebnis betrug aufgrund des großen Intervalls (65 bis 95 °C) und der kleinschrittigen Temperaturerhöhung (0,1 °C/s) der Schmelzanalyse deutlich länger, sodass ein Lauf nach 142 min abgeschlossen war. Verglichen mit der Bebrütung bei phänotypischen Methoden und der nötigen Inkubationszeit bei der Resistenzbestimmung im MALDI-TOF konnte der Carbapenemase-Nachweis

inklusive Vorbereitung und Interpretation der Ergebnisse in wesentlich kürzerer Zeit durchgeführt werden. Dies war v. a. durch die Nutzung von abgekochtem Bakterienlysat bedingt. Die modifizierte DNA-Extraktion (Crude-prep-DNA) bei für diesen Zweck gleicher Template-Qualität reduzierte zudem die Anzahl limitierender Schritte. Dies belegen die drei falsch-positiv getesteten Isolate, bei welchen im ersten Lauf der Etablierungsphase extrahierte DNA verwendet wurde (s. 3.4.1). Die Bestätigung des korrigierten Ergebnisses erfolgte via Crude-prep-DNA, welche weniger anfällig für Kontamination zu sein scheint. Vorhandener Zellschrott durch die Lyse führte zu keiner Beeinträchtigung des Ergebnisses (Bakteriensuspension wurde nach dem Aufkochen nicht zentrifugiert). Durch die PCR mit Schmelzkurvenanalyse konnten die am häufigsten in Enterobakterien vorkommenden Serin- und Metallo- $\beta$ -Laktamasen KPC, NDM, OXA-48 und VIM sowie VIM und GES in *P. aeruginosa* und OXA-23, -24 und NDM in *A. baumannii* identifiziert werden. Dabei wurden auch doppelt-positive Stämme erfasst (z. B. OXA-48+NDM). Die Gene *bla<sub>IMI</sub> type*, *bla<sub>IMP</sub> type*, *bla<sub>OXA-58-like</sub>* und Integron lagen in keinem Stamm der Stichprobe vor (s. Abb. 10 und Tab. 14 im Anhang). Unter konsistenter Beobachtung der epidemiologischen Situation sind die zugehörigen Oligonukleotide in folgenden Assays zur Resistenzbestimmung nicht mehr zu verwenden. OXA-48 konnte als einzige Resistenz mit sehr geringer Oligonukleotidmenge, die nur einem Viertel der sonst benötigten Konzentration entsprach, nachgewiesen werden. Dies könnte auf die Länge des Amplikons zurückzuführen sein (177 bp, s. Tab. 9), da kurze Fragmente die Effizienz der Amplifikation und die Sensitivität der Detektion bei geringem Reaktionsvolumen steigern (Chen et al., 2009). Das deutlich kürzere Reaktionsprodukt NDM-positiver Stämme (82 bp) fiel hingegen erst ab einer Oligonukleotid-Konzentration von 200 nM an. Durch die Verwendung von Oligonukleotiden für den *bla<sub>VIM</sub> type* konnten sowohl VIM-1-, als auch VIM-2-positiv Stämme detektiert werden. Die Allelvarianten zeigten in der Schmelzanalyse keinerlei Temperaturdifferenz. Dies wäre bei einem größeren Unterschied im GC-Gehalt der Amplifikate zu erwarten gewesen (Monteiro et al., 2012). Die präzise Interpretation der Schmelzkurven mit einer maximalen Abweichung von unter 1 °C war ohne Schwierigkeiten möglich und in Übereinstimmung mit den publizierten Daten von Monteiro et al. (2012). Der zusätzliche Nachweis von *bla<sub>OXA-23-like</sub>* in der gleichen Reaktion erschwerte die Auswertung leicht, da die spezifische Schmelztemperatur in nur geringem Abstand zu denen von *bla<sub>OXA-48</sub>* und *bla<sub>NDM</sub>* lag. Positive Kontrollstämme und der Verlauf der Schmelz-

kurven, wie ein kleiner NDM-Peak oder ein Doppelpeak bei GES, OXA-24 und VIM (s. Abb. 9), ließen jedoch eine eindeutige Interpretation zu. Das in der Etablierungsphase auftretende falsch-positive Ergebnis könnte aufgrund des geringen Abstandes der *PCR-Tubes* voneinander durch Flugkontamination benachbarter Proben zustande gekommen sein. Mit falsch-negativ-getesteten Stämmen ist neben den Pipettierfehlern bei zu kurzer Erhitzung der Bakteriensuspension zu rechnen, wodurch bei Bakterien mit sehr stabiler Zellwand eine ausreichende DNA-Freisetzung nicht gewährleistet wäre. Eine PCR-Inhibition könnte außerdem einer zu großen Menge an DNA zugrunde liegen. Die beschriebene Methode ist ein sicheres diagnostisches Tool im Nachweis von Carbapenemasen, besonders wenn betroffene Isolate mit niedrigen Carbapenem-MHKs die phänotypische Detektion unmöglich machen. Grenzen anderer Nachweismethoden können auf molekularem Level umgangen werden. Da beispielsweise für OXA-like-Enzyme kein spezifischer Inhibitor zur phänotypischen Testung vorliegt, muss der Verdacht genotypisch bestätigt werden (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2013). Im Vergleich zur elektrophoretischen Analyse gestaltet sich die Datenanalyse auch bei Vorliegen von Mehrfachresistenzen als sehr zeitsparend. Die hohen Materialkosten (v. a. Mastermix mit Sonden) werden nach Chen et al. (2011) durch Einsparung im Bereich Probenverarbeitung und Arbeitszeit relativiert. Limitation der molekularen Methode ist die fehlende Garantie der Universalität jedes möglichen Zielgenes. Heterogenität und nicht-synonyme Mutationen könnten von funktioneller Signifikanz sein ohne in der Analyse mit spezifischen Oligonukleotiden erfasst zu werden. Der Nachteil neue Gene nicht identifizieren zu können und die hohen Kosten für nötige Geräte und geschultes Personal lassen Nordmann und Poirel (2013) die Anwendung molekularer Methoden weiterhin ausschließlich für Referenzlabors empfehlen. Außerdem seien die Behandlung des Patienten und das durchgeführte Ausbruchsmanagement vom präzisen Carbapenemase-Typ unabhängig. Dem ist entgegenzusetzen, dass die Behandlung vieler OXA-48-Infektionen mit Carbapenemen trotz phänotypischer Sensibilität fehlschlugen (Carrër et al., 2008; Cuzon et al., 2011). Unerkannte Carbapenemase-Träger können also durch nur einen Tag Rückstand in der Diagnostik immense Folgen, auch in Form von Ausbrüchen, bewirken (Schechner et al., 2009). Hinsichtlich der geringen Verlässlichkeit der bisher beschriebenen Nachweismethoden sowie der steigenden Verfügbarkeit von *real-time* PCR-Geräten ist deren Gebrauch zur Diagnostik und Kontrolle der Verbreitung

ratsam. Ein in-house-Nachweis trägt, konträr zu einer Einsendung von Isolaten in ein Referenzlabor, zu einer enormen Zeiteinsparung bei. Aufgrund des großen Potenzials von schneller horizontaler und vertikaler Transmission der Carbapenemasen ist die zeitnahe Identifikation dieser Resistenzgene ein wichtiger Teil der Infektionskontrolle und der Einleitung einer angemessenen antimikrobiellen Therapie (Monteiro et al., 2012). Dies zeigte die Analyse der einzelnen Patienten, von denen das in dieser Arbeit untersuchte Probenmaterial stammte. Bei mehr als einem Drittel von mit multiplen CPE besiedelten Patienten wiesen unterschiedliche Spezies die gleiche Resistenz auf. Zu knapp 90 % (7/8) wurde dabei OXA-48 in *K. pneumoniae* nachgewiesen (s. 3.4.5). Es ist wahrscheinlich, dass in diesen Fällen ein Gentransfer zwischen verschiedenen enterobakteriellen Spezies erfolgte, da Enzyme der KPC-, NDM- und OXA-Typen auf Plasmiden lokalisiert sind (Pfeifer et al., 2012). OXA-48 wurde beispielsweise auf der Grundstruktur von IncL/M-Typ Plasmiden, welche als Ursprung der Aquisition vieler Antibiotikaresistenzgene gelten und eine hohe Konjugationsrate unter Enterobakterien aufweisen, identifiziert (Poirel et al., 2012). Die Ermittlung der Häufigkeiten verschiedener multiresistenter Erreger als Grundlage für einen einseitigen Chi-Quadrat-Test oder einen exakten Test nach Fisher/Freeman-Halton ergab, dass die Kombination von MRE nicht überzufällig häufig auftritt. Dies ist insofern verwunderlich, da die Variablen durch Krankenhausaufenthalt und Antibiotikagabe im Kontext nicht als unabhängig voneinander zu betrachten sind.

Neben polyklonalen CPE mit Dissemination der Resistenz über konjugativen Plasmidtransfer (s. o.) wurden in Europa weitverbreitete Klone detektiert, z. B. ST258 (KPC-2-produzierende *K. pneumoniae*) oder ST395 (OXA-48-produzierende *K. pneumoniae*) (Cantón et al., 2012). Zur Identifizierung eines etwaigen klonalen Geschehens in Bonn und Erweiterung der epidemiologischen Analyse wurde zunächst die Klassifikation einiger *K. pneumoniae* durchgeführt. Diese Spezies wies genetisch die größte Vielfalt an Carbapenemasen auf. Zusätzlich wurden OXA-48-positive *E. coli* auf Gleichartigkeit untersucht. Das Typisierungsverfahren DiversiLab wurde in mehreren Studien in seiner Diskriminierungsfähigkeit und Übereinstimmung mit anderen Methoden (PFGE, MLST) für eine große Anzahl von bakteriellen Pathogenen bewertet (Deplano et al., 2011). Dabei wurden für *K. pneumoniae* exzellente, für *E. coli* akzeptable Ergebnisse durch die Errechnung von justiertem Wallace-, Rand- und Simpson-Koeffizient erzielt (Fluit et al., 2010). Das auf *rep* PCR-basierende Verfahren mindert allgemeine Probleme der Reproduzierbarkeit durch

ein hohes Maß an Automatisierung, v. a. aufgrund der Durchführung einer mikrofluidisch-kapillären Elektrophorese anstelle von Gel-Elektrophorese (Sabat et al., 2013). Das Ergebnis variiert jedoch je nach Erfahrung der ausführenden Kraft, Qualität der Amplifikation und Menge der DNA sowie des verwendeten *Thermocyclers*. Einige der untersuchten Stämme konnten aufgrund von zu geringen oder fehlenden Signalen nicht typisiert werden. Grund dafür könnte eine unzureichende DNA-Amplifikation gewesen sein. Diese ist am ehesten nicht durch die verwendeten Reagenzien verursacht, da stets qualitätskontrollierte *PCR-Kits* verwendet wurden. Ein wichtiger Parameter ist hier die Menge zugeführter DNA. Trotz der festgelegten Konzentration von 35 ng/ $\mu$ L sind geringe Variationen durch Verdünnungsschritte und das kleine Reaktionsvolumen möglich. Zudem werden Produkte verschiedener Länge durch das gleiche Amplifikationsprotokoll generiert und im *Thermocycler* können leichte Differenzen in der Interaktion zwischen Oligonukleotiden und Zielgen mit großem Einfluss auf das Ergebnis auftreten. Die beschriebenen Limitationen könnten unter Anwendung einer automatisierten DNA-Extraktion zur besseren Kontrolle der Menge und Qualität der DNA behoben werden. In einer internationalen, mehrere Zentren umfassenden Evaluation der DiversiLab-Typisierung wurden unzureichende oder Warnsignale meist bei Fehlern in der Ausführung des Protokolls beobachtet. Jedes Zentrum musste, wie in Bonn gesehen, mindestens eine kleine Anzahl von Stämmen erneut testen, wobei nicht nachweisbar war, dass manche Isolate anfälliger waren als andere (Voets et al., 2013). Dies zeigt die Notwendigkeit eines adäquat trainierten Personals und den Gebrauch von Referenzisolaten, um die Qualität jeder Amplifikation zu bestätigen. Insgesamt spricht die Verteilung der Resistenzen in die Cluster dieser Arbeit (s. Abb. 16) für die Hypothese eines klonalen Geschehens, da in der Hälfte der Fälle von OXA-48-positiven Stämmen solche gruppiert vorlagen. Zur näheren Identifikation und dem Vergleich mit deutschland- und europaweiten Daten wäre eine MLST zur Zuweisung eines expliziten *Strain Types* zielführend. Die unterschiedliche Klassifikation von Stämmen aus einem Patienten trotz gleicher Resistenz ist durch die auf engem Raum (ein Wirt) bereits diskutierte Weitergabe von Resistenzen über Plasmide zu erklären. In Bonn kam es bisher nicht zu einem Ausbruch von Carbapenem-resistenten Stämmen. Daher ist es nicht überraschend, dass die Bakterien eines Clusters keinen örtlichen und/oder zeitlichen Zusammenhang aufwiesen. Eine Übertragung von Patient zu Patient kann lediglich bei zweien der getesteten *E. coli* nicht ausgeschlossen werden

(s. 3.4.7). Eine Bestätigung sollte jedoch aufgrund der eingeschränkten Verlässlichkeit der Methode bei *E. coli* mit zusätzlichen Testmarkern stattfinden (Sabat et al., 2013; Deplano et al., 2011). Die beobachtete speziesabhängige variable Verlässlichkeit verlangt vor routinierter Nutzung in klinischen Labors Validationsschritte. Die Ergebniskontrolle in *real-time* mit einem Zeitaufwand von insgesamt ein bis zwei Tagen sowie der standardisierte Vergleich und die Generierung anwenderfreundlicher Reports über die verfügbare Software rechtfertigen auch aus Sicht der präsentierten Daten den Gebrauch von DiversiLab als *first-line* Methode, um Ausbrüche und Healthcare-assoziierte Infektionen zu untersuchen (Lau et al., 2010).

Die epidemiologische Analyse ergab analog zu den deutschlandweit erhobenen Daten des NRZ für gramnegative Krankenhauserreger (Bochum, D) das Vorkommen von Carbapenemasen nicht nur in *A. baumannii* oder *P. aeruginosa*, sondern auch in Enterobakterien. Hier konnte eine größere Diversität von Resistenzgenen als in anderen Teilen der Welt beobachtet werden (Nationales Referenzzentrum für gramnegative Krankenhauserreger, 2013). In Bonn wurden, wie in Benelux (Cantón al., 2012) (s. Abb. 4), am häufigsten OXA-48-positive Stämme detektiert, in vielen anderen Teilen der Welt dominiert KPC (Munoz-Price et al., 2013). Die zügige Verbreitung der bla<sub>OXA-like</sub>-Gene unterliegt u .a. der schlechten Detektionsmöglichkeit der Oxacillinasen mit konventionellen Methoden (Mathers et al., 2013). *K. pneumoniae* zeigten die größte Varietät an Resistenzen und *A. baumannii* wiesen die geringste Anzahl negativer Isolate auf (s. Abb.10). Zu vier außergewöhnlichen Carbapenemase-tragenden Stämmen zählten eine NDM-positive *K. oxytoca* sowie zwei bla<sub>OXA-48</sub>-tragende *Serratia marcescens* und ein VIM-positiver *Citrobacter youngae*. Durch den Carbapenemase-Nachweis wurden knapp ein Viertel der zuvor als 3MRGN eingestuft Bakterien als 4MRGN reklassifiziert, wodurch die wichtige Umsetzung erweiterter hygienischer Maßnahmen möglich war. Den zuverlässigsten Vorhersagewert in Bezug auf Sensitivität und Spezifität bietet laut EUCAST Meropenem. Der Zusammenhang von Carbapenem-MHK und vorliegender Carbapenemase war auch im Rahmen dieser Arbeit für Meropenem am größten. Der niedrige korrigierte Kontingenzkoeffizient ( $C_{kor} = 0,385$ ) und die Ergebnisse zur Bedeutung von Ertapenem bei sonst sensiblen Stämmen (s. 3.4.3) bestätigen aber die geringe Vorhersagekraft der MHKs auf vorliegende Resistenzen (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2013). Das gehäufte Vorkommen von *P. aeruginosa* und *A. baumannii* in Wunden

(s. Abb. 12) entspricht den Beobachtungen von Hospenthal et al. (2011) und Koole et al. (2013), die infizierte Wunden von US-Soldaten in Libyen, Afghanistan und dem Irak untersuchten. Das verlässlichste Screening für resistente Enterobakterien beinhaltet perianale und rektale Kulturen (Gupta et al., 2011). So wurden auch in den hier vorliegenden Analabstrichen am häufigsten *K. pneumoniae*, gefolgt von *E. coli* und *Enterobacter* spp. nachgewiesen. Ebenso wenig verwunderlich ist aufgrund des obligat aeroben Stoffwechsels und des vermehrten Vorkommens in feuchtem Milieu die größte Anzahl von *P. aeruginosa* an isolierten Stämmen in Rachenabstrichen, Material des unteren Respirationstraktes und Blutkulturen (s. 3.4.4). Neben post-Operations-Infektionen haben Patienten, die mit Beatmungsmaschinen oder Kathetern behandelt werden müssen, ein großes Risiko lebensbedrohliche Infektionen durch *P. aeruginosa* zu erlangen (CDC-Centers for Disease Control and Prevention, 2013).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der sicherste und schnellste Carbapenemase-Nachweis im IMMIP derzeit durch die etablierte *real-time* PCR mit Schmelzkurvenanalyse zu gewährleisten ist. Unter Beobachtung der Epidemiologie von Carbapenemasen in Deutschland und daran angepasste Zielgen- und Oligonukleotidwahl ist die zuverlässige Detektion der häufigen Carbapenemasen möglich. Ein kleiner Fehler resultiert, weil nur das erfasst werden kann, was auch getestet wird. Die phänotypischen Tests bewährten sich nicht hinsichtlich des anfallenden Zeitaufwandes, des abgedeckten Resistenzspektrums und des ermittelten Vorhersagewertes. Für die Methode mittels Massenspektroskopie sind aufgrund der diskutierten zeitlichen und finanziellen Vorteile weitere Studien und Modifikationen des Assays erstrebenswert, da konträr zur PCR alles erfasst wird, was das Substrat attackiert. Limitation der beschriebenen Methoden ist der fehlende Nachweis von anderen Resistenzmechanismen. Ein Assay, das ein Bakterium in lysierter und intakter Form untersucht, um zwischen intrinsischer Carbapenemase-Aktivität im periplasmatischen Raum und gesteigerten Permeabilitätsmechanismen zu differenzieren, könnte bei diesem Problem hilfreich sein. Bei in beiden Fällen positivem Ergebnis würde es sich um eine Carbapenemase handeln, negative Ergebnisse sprächen gegen eine vorliegende Resistenz. Würde nur das intakte Bakterium positiv ausfallen, handelte es sich um einen Porinverlust, da im periplasmatischen Raum keine Carbapenemase zur Zersetzung des Antibiotikums läge (negatives Bakterienlysat). Ebenso könnten andere biochemisch-physikalische Nachweismethoden, wie der CarbaNP Test, welcher über den

Farbumschlag eines Indikators bei Säureproduktion intrinsische Carbapenemase-Aktivität differenziert, an Bedeutung für sensitives und spezifisches Screening zunehmen (Nordmann und Poirel, 2013). Aus klinischer Sicht ist zur Einordnung der Relevanz vorliegender Resistenzmechanismen eine Quantifizierung, z. B. wie bei der MHK-Bestimmung, von großer Bedeutung. Eine antimikrobielle Therapie mit Reserveantibiotika ist bei Vorliegen eines positiven PCR-Ergebnisses oder Porinverlustes (qualitativ) gerechtfertigt. Unklar ist jedoch die Bedeutsamkeit einer nachgewiesenen Carbapenemase *in-vivo* bei gleichzeitiger MHK-Sensibilität. An einer Verknüpfung der beiden Determinanten sollte deshalb in Zukunft gearbeitet werden. In Anbetracht der Tatsache, dass sich allein mehr als 40 % der durch das Screening im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Bakterien als Carbapenemase-positiv erwiesen (s. Abb.12), ist effiziente Diagnostik und Surveillance sowie die Entwicklung neuer Behandlungsansätze für betroffene Patienten geboten. Dem ist das Universitätsklinikum Bonn durch die Integration der etablierten PCR in den diagnostischen Algorithmus zur Detektion von Carbapenemasen einen Schritt näher gekommen.



## 5. Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war die Erfassung der lokalen Epidemiologie und die Charakterisierung von Carbapenemase-produzierenden Erregern. Dazu wurde die Vorhersagekraft einzelner minimaler Hemmkonzentrationen und die Verlässlichkeit vorhandener phänotypischer Nachweismethoden überprüft. Es stellte sich heraus, dass, wie in der Literatur beschrieben, die minimale Hemmkonzentration von Meropenem am stärksten mit dem Vorliegen einer Carbapenemase zusammenhängt. Keines der ausgewählten phänotypischen Verfahren war als alleinige Methode zur Detektion von Carbapenemasen geeignet. Grund dafür waren geringe Werte für positiven (E-Test: 0,73) und negativen Vorhersagewert (kombinierter Plättchendiffusionstest: 0,67 bei Auswertung nach Angaben des Herstellers) sowie die eingeschränkte Aussagekraft durch lediglich klassenspezifischen Carbapenemase-Nachweis (z. B. nur MBL und/oder KPC). Die Funktion des MALDI-TOF (Biomérieux, Nürtingen, D) zum Carbapenemase-Nachweis war auf die Detektion von Resistenz bei Isolaten mit KPC- und NDM-Enzymen begrenzt. Mangelnde technische Erfordernisse und nicht ausgereifte Präanalytik sowie eine kleine Versuchsstichprobe ließen keine verlässliche Reproduzierbarkeit zu. Die Etablierung einer *real-time* PCR mit Schmelzkurvenanalyse erwies sich hingegen als effiziente Methode zur Erfassung von Carbapenemasen. Ein Multiplex-Ansatz mit Crude-prep-DNA als Template führte in Kombination mit dem Typisierungsverfahren DiversiLab (Biomérieux, Nürtingen, D) zu den im Folgenden aufgeführten Ergebnissen.

Im Zeitraum der Arbeit wurden 398 Carbapenemase-verdächtige Stämme untersucht, von denen 46 % (n= 182) positiv getestet wurden. Die häufigste Resistenz war OXA-48 (n= 66, 36 %), gefolgt von VIM (n= 46, 25 %) und OXA-23 (n= 28, 15 %). Es lagen zwei doppelt-positive Isolate mit den Resistenzgenen *bla*<sub>OXA-48</sub> und *bla*<sub>NDM</sub> vor.

Die Gruppe der 128 untersuchten *K. pneumoniae* zeigte die größte Varietät an Resistenzen, Bakterien der Art *A. baumannii* wiesen die geringste Anzahl negativer Isolate (n= 1, 2 %) auf. Die Gene *bla*<sub>IMI type</sub>, *bla*<sub>IMP type</sub>, *bla*<sub>OXA-58-like</sub> und Integron lagen in keinem Stamm der Stichprobe vor. Unter konsistenter Beobachtung der epidemiologischen Situation sind die diesen zugehörigen Oligonukleotide in folgenden Assays zur Resistenzbestimmung nicht mehr zu verwenden. Durch den Carbapenemase-Nachweis wurden etwa 23 % (n= 24) der zuvor als 3MRGN eingestufteten Bakterien (n= 104) formal als

4MRGN reklassifiziert, worauf erweiterte Hygienemaßnahmen in der Patientenversorgung folgten. Eine Rate von mehr als 40 % Carbapenemase-produzierenden Erregern in Screeningmaterial betont die Notwendigkeit effizienter Diagnostik und Surveillance. Wunden dienten zu mehr als zwei Dritteln *P. aeruginosa* (36 %) und *A. baumannii* (32 %) als Reservoir. In Analabstrichen fanden sich am häufigsten *K. pneumoniae* (38 %), gefolgt von *E. coli* (24 %) und *Enterobacter* spp. (15 %). Aus Rachenabstrichen, dem unteren Respirationstrakt und Blutkulturen wurde überwiegend *P. aeruginosa* (36 %, 52 %, 67 %) isoliert. Diese Ergebnisse entsprechen dem gewöhnlichen Habitat der Bakterienspezies. Es wurden Proben, die von 320 Patienten und Patientinnen stammten, eingeschlossen. Prozentual wurden Carbapenemase-produzierende Erreger insgesamt am häufigsten aus Material von ausländischen (58,6 %), gefolgt von deutschen Männern (44,2 %) nachgewiesen. Es ist wahrscheinlich, dass bei mehr als einem Drittel der mit multiplen Carbapenemase-bildenden Erregern besiedelten Patienten ein Gentransfer zwischen verschiedenen enterobakteriellen Spezies erfolgte. Die meisten Proben stammten von Patienten, die bei Bakteriennachweis älter als 60 Jahre waren (n= 186, 60 %). Carbapenemase-positive Bakterien in Screening-Material stammten v. a. von unter 40-Jährigen, Carbapenemase-produzierende Erreger isoliert aus Probenentnahmen aufgrund klinischen Verdachts vorwiegend von Patienten ab dem 40. Lebensjahr. Die Typisierung von 58 *K. pneumoniae*-Stämmen zeigte bei einer Grenzeinstellung  $\geq 95$  %-iger Gleichartigkeit drei Cluster, in denen die Stammsolation eines Teils der Carbapenemase-positiven *K. pneumoniae* in örtlichem und zeitlichem Zusammenhang standen. Bei zweien der fünf getesteten OXA-48-positiven *E. coli* konnte eine Übertragung von Patient zu Patient nicht ausgeschlossen werden.

In Zukunft wird die Diagnostik und Erfassung der Epidemiologie von Carbapenemasen am Institut für Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Parasitologie mittels automatisierter MHK-Testung und der etablierten *real-time* PCR mit Schmelzkurvenanalyse erfolgen. Weiterhin könnten biochemisch-physikalische Nachweismethoden, wie der CarbaNP Test, an Bedeutung für sensitives und spezifisches Screening zunehmen. Zusätzlich sollte an einer Verknüpfung der beiden Determinanten des quantitativen und qualitativen Carbapenemase-Nachweises im Sinne der klinischen Relevanz gearbeitet werden.

## 6. Anhang

Enterobakterien	Positiv (NRZ)	Negativ (NRZ)	Summe
Positiv (KPD)	3	4	7
Negativ (KPD)	2	8	10
Summe	5	12	17

Nonfermenter	Positiv (NRZ)	Negativ (NRZ)	Summe
Positiv (KPD)	5	0	5
Negativ (KPD)	5	11	16
Summe	10	11	21

Enterobakterien modifiziert	Positiv (NRZ)	Negativ (NRZ)	Summe
Positiv (KPD)	5	0	5
Negativ (KPD)	5	11	16
Summe	10	11	21

**Abb. 17:** Kreuztabellen Plättchendiffusionstest.

Ergebnisse des Plättchendiffusionstestes (KPD) bezogen auf die durch das NRZ für gramnegative Krankenhauserreger (Bochum, D) molekularbiologisch nachgewiesene Resistenz als Referenz. Oben: Enterobakterien; Mitte: Nonfermenter; Unten: Enterobakterien nach modifizierter Auswertung (s. Diskussion).

**Tab. 12:** Schmelztemperaturen der Resistenzen.

Peaks der Schmelzkurven-basierten *real-time* PCR der untersuchten Stämme unter Angabe der Labornummer und der Resistenzen. Schmelztemperatur in °C. k. A.= keine Angabe (Ergebnis nicht verfügbar). Fortführung der Tabelle bis einschließlich Seite 88.

Nr.	Labornummer	Resistenz	Peak 1 (°C)	Peak 2 (°C)	Nr.	Labornummer	Resistenz	Peak 1 (°C)	Peak 2 (°C)
1	13-S10284-1	KPC-2	90,25	-	12	13-U5499-1	OXA-181	79,85	-
2	13-U8714-1	KPC-2	90,38	-	13	12-i16902-2	OXA-23	81,48	-
3	13-U8681-1	KPC-2	90,30	-	14	12-019603-1	OXA-23	81,43	-
4	12-p3822-1	KPC-2	90,25	-	15	13-i3158-1	OXA-23	81,48	-
5	12-017452-1	NDM	82,82	-	16	13-03810-1	OXA-23	81,50	-
6	13-08962-1	negativ	-	-	17	13-l6258-1	OXA-23	81,52	-
7	13-04763-1	negativ	-	-	18	13-l7041-1	OXA-23	81,53	-
8	13-04869-1	negativ	-	-	19	13-U4525-1	OXA-23	81,47	-
9	13-S7053-2	negativ	-	-	20	12-017955-1	OXA-23	81,52	-
10	13-S8146-1	negativ	-	-	21	13-l8807-1	OXA-48	80,15	-
11	13-U8889-2	KPC-2	90,25	-	22	12-u10228-1	OXA-48	80,00	-

Nr.	Labornummer	Resistenz	Peak 1 (°C)	Peak 2 (°C)	Nr.	Labornummer	Resistenz	Peak 1 (°C)	Peak 2 (°C)
23	12-i12880-1	OXA-48	80,15	-	68	13-I14061-1	negativ	-	-
24	13-U5125-2	OXA-48, NDM	79,65	82,15	69	13-I14437-1	OXA-48	79,7	-
25	13-05470-1	OXA-24	78,33	79,42	70	13-I14513-1	VIM	-	88,52
26	13-S111103-1	VIM	-	88,10	71	13-U18926-1	OXA-48	80,05	-
27	12-U18024-1	VIM	-	88,28	72	13-S29355-1	OXA-23	81,47	-
28	13-A650-1	VIM	-	88,42	73	13-S29355-2	KPC-2	90,05	-
29	13-A830-1	VIM	-	88,33	74	13-I14559-3	OXA-48	80	-
30	13-U18837-1	negativ	-	-	75	13-I14504-1	negativ	-	-
31	13-U4531-1	VIM	-	88,35	76	13-I14504-2	OXA-48	80,03	-
32	13-04747-1	VIM	-	88,33	77	13-S29282-1	VIM	85,25	88,08
33	13-04791-1	VIM	-	88,30	78	13-S29665-1	negativ	-	-
34	13-U3323-1	VIM	-	88,15	79	13-S29668-1	negativ	-	-
35	13-01568-1	VIM	-	88,40	80	13-U17524-1	negativ	-	-
36	13-A483-1	VIM	-	88,33	81	13-I14559-2	OXA-48	80,10	-
37	13-0883-1	VIM	-	88,40	82	13-I14708-2	negativ	-	-
38	13-018018-2	negativ	-	-	83	13-017057-1	OXA-48	80	-
39	13-S12635-1	negativ	-	-	84	13-U17333-2	negativ	-	-
40	13-I8894-1	KPC-2	90,17	-	85	13-U17616-1	OXA-48	80,32	-
41	13-S15337-1	KPC-2	90,20	-	86	13-018453-1	negativ	-	-
42	13-A3439-1	OXA-48	80,08	-	87	13-S30134-2	OXA-48	80,20	-
43	13-B11271-1	OXA-48	79,75	-	88	13-018411-1	negativ	-	-
44	13-S18722-1	OXA-48	79,78	-	89	13-A5779-1	VIM	-	88,62
45	13-S19710-1	OXA-48	79,82	-	90	13-A5884-1	negativ	-	-
46	13-U13613-1	OXA-48	79,82	-	91	13-A5829-1	VIM	-	88,60
47	13-U14660-2	OXA-48	79,68	-	92	13-018409-1	negativ	-	-
48	13-B15111-1	OXA-48	80,18	-	93	13-U19013-1	negativ	-	-
49	13-s23410-1	negativ	-	-	94	13-U18930-1	negativ	-	-
50	13-s23417-2	negativ	-	-	95	13-U18951-2	negativ	-	-
51	13-U15156-1	negativ	-	-	96	13-U18888-1	VIM	-	88,35
52	13-I12829-2	negativ	-	-	97	13-S31211-1	negativ	-	-
53	13-014921-1	negativ	-	-	98	13-S31211-2	GES	86,13	87,02
54	13-015109-2	OXA-48	80,23	-	99	13-S31212-1	OXA-48	80,28	-
55	13-S25539-1	negativ	-	-	100	13-B18734-1	VIM	-	88,3
56	13-U15430-1	negativ	-	-	101	13-017254-1	negativ	-	-
57	13-S24983-1	negativ	-	-	102	13-S33183-1	negativ	-	-
58	13-S24264-2	negativ	-	-	103	13-B18454-1	negativ	-	-
59	13-A4955-1	OXA-48	80,07	-	104	13-017441-1	negativ	-	-
60	13-u15587-1	negativ	-	-	105	13-I15195-1	negativ	-	-
61	13-S25584-1	OXA-23	k. A.	k. A.	106	13-U19149-1	negativ	-	-
62	13-S26582-2	OXA-48	80,35	-	107	13-U17857-1	VIM	-	88,3
63	13-U15928-1	KPC-2	90,3	-	108	13-A5877-1	negativ	-	-
64	13-S26978-1	negativ	-	-	109	13-U17841-1	VIM	-	88,25
65	13-016035-1	VIM	-	88,4	110	13-I15262-1	negativ	-	-
66	13-S28100-1	negativ	-	-	111	13-S31161-1	negativ	-	-
67	13-018140-1	negativ	-	-	112	13-S33107-1	negativ	-	-

Nr.	Labornummer	Resistenz	Peak 1 (°C)	Peak 2 (°C)	Nr.	Labornummer	Resistenz	Peak 1 (°C)	Peak 2 (°C)
113	13-018316-1	OXA-23	81,45	-	158	13-019048-2	negativ	-	-
114	13-017519-1	negativ	-	-	159	13-018950-1	OXA-48	k. A.	k. A.
115	13-017461-1	negativ	-	-	160	13-019612-1	negativ	-	-
116	13-S31657-2	OXA-48	80,05	-	161	13-S35940-2	OXA-23	81,42	-
117	13-S31657-1	OXA-48	80,15	-	162	13-S35740-1	OXA-23	81,5	-
118	13-S31534-1	negativ	-	-	163	13-S35835-2	negativ	-	-
119	13-S31338-2	negativ	-	-	164	13-U20375-1	negativ	-	-
120	13-S32088-1	negativ	-	-	165	13-U20403-1	negativ	-	-
121	13-017791-1	VIM	-	88,3	166	13-I17078-1	negativ	-	-
122	13-017790-1	OXA-24	78,27	79,40	167	14-A46-1	negativ	-	-
123	13-S33077-1	negativ	-	-	168	14-U112-1	negativ	-	-
124	14-014-1	negativ	-	-	169	14-U235-1	VIM	85,32	88,10
125	13-018238-1	negativ	-	-	170	13-I17064-1	negativ	-	-
126	13-U17884-1	NDM	82,65	-	171	13-S14003-1	OXA-48	80,2	-
127	13-U18124-2	NDM	82,55	-	172	12-U16699-3	OXA-48	80,18	-
128	13-S31130-1	OXA-23	81,55	-	173	14-U261-1	OXA-48	80,2	-
129	13-I15897-2	negativ	-	-	174	14-S358-1	negativ	-	-
130	13-U18580-1	negativ	-	-	175	14-S489-1	negativ	-	-
131	13-018079-1	OXA-48	80,25	-	176	14-0250-2	OXA-23	81,65	-
132	13-I15719-1	negativ	-	-	177	14-U422-1	negativ	-	-
133	13-I16059-2	negativ	-	-	178	14-0566-1	VIM	86,03	88,07
134	13-B19448-4	VIM	85,38	88,15	179	14-U738-2	negativ	-	-
135	13-U18843-1	NDM	82,63	-	180	14-S1342-1	negativ	-	-
136	13-018588-1	VIM	-	88,32	181	14-S1962-1	negativ	-	-
137	13-018499-1	negativ	-	-	182	14-B789-3	GES	85,70	86,77
138	13-S33988-1	negativ	-	-	183	14-0986-1	negativ	-	-
139	13-S33827-1	negativ	-	-	184	14-S2279-1	negativ	-	-
140	13-018454-1	OXA-24	78,30	79,30	185	14-U976-1	OXA-48	80,02	-
141	13-U19690-1	OXA-48	80,68	-	186	14-S2362-1	negativ	-	-
142	13-U20113-3	OXA-48	k. A.	k. A.	187	14-01172-1	negativ	-	-
143	13-U20113-1	OXA-48	k. A.	k. A.	188	14-S2592-1	OXA-23	81,40	-
144	13-S35228-1	negativ	-	-	189	14-S2592-2	OXA-48	80,22	-
145	13-U19842-1	OXA-48	k. A.	k. A.	190	14-S2596-1	OXA-48	80,05	-
146	13-S35028-2	OXA-23	81,38	-	191	14-S2743-1	OXA-48	80,00	-
147	13-S35023-3	OXA-48	k. A.	k. A.	192	14-S2475-2	negativ	-	-
148	13-U20543-1	negativ	-	-	193	14-U662-1	VIM	85,80	88,10
149	13-S36468-3	OXA-48	80,35	-	194	14-S4391-1	VIM	85,95	88,18
150	13-019450-1	VIM	k. A.	k. A.	195	14-U1758-1	VIM	86,12	87,90
151	13-019430-2	OXA-23	81,45	-	196	14-U1830-1	negativ	-	-
152	13-019350-1	negativ	-	-	197	14-S3600-1	OXA-23	81,15	-
153	13-S36468-4	OXA-48	80,35	-	198	14-S3773-1	OXA-48	80,00	-
154	13-019432-2	negativ	-	-	199	14-S3773-2	OXA-48	80,00	-
155	13-S35753-1	NDM	k. A.	k. A.	200	14-S4096-1	negativ	-	-
156	13-S35408-1	negativ	-	-	201	14-S4656-1	negativ	-	-
157	13-019291-2	negativ	-	-	202	14-A648-2	negativ	-	-

Nr.	Labornummer	Resistenz	Peak 1 (°C)	Peak 2 (°C)	Nr.	Labornummer	Resistenz	Peak 1 (°C)	Peak 2 (°C)
203	14-S5666-1	negativ	-	-	248	14-04299-2	negativ	-	-
204	14-S6004-1	negativ	-	-	249	14-04293-2	negativ	-	-
205	14-A656-2	negativ	-	-	250	14-S11415-1	negativ	-	-
206	14-A746-1	negativ	-	-	251	14-04293-1	negativ	-	-
207	14-A592-1	VIM	85,97	88,6	252	14-A1334-1	NDM	82,45	-
208	14-S5728-2	negativ	-	-	253	14-04650-2	OXA-24	78,17	79,2
209	14-S6256-1	negativ	-	-	254	14-04654-2	negativ	-	-
210	14-U2460-2	negativ	-	-	255	14-04655-1	negativ	-	-
211	14-02056-1	negativ	-	-	256	14-04881-1	negativ	-	-
212	14-U1948-1	negativ	-	-	257	14-04772-1	negativ	-	-
213	14-I1630-2	VIM	86,27	88,2	258	14-U5059-1	negativ	-	-
214	14-S5841-1	negativ	-	-	259	14-05150-1	negativ	-	-
215	14-S5943-1	negativ	-	-	260	14-S13114-1	negativ	-	-
216	14-KS227-1	OXA-48	80,02	-	261	14-05111-1	negativ	-	-
217	14-S6553-1	OXA-23	81,32	-	262	14-05152-1	negativ	-	-
218	14-KS230-2	OXA-48	80,02	-	263	14-S13143-1	VIM	86,02	88,2
219	14-A905-2	negativ	-	-	264	14-S13413-1	negativ	-	-
220	14-B3303-1	negativ	-	-	265	14-U5543-1	OXA-24	78,15	79,2
221	14-02828-1	OXA-48	80,03	-	266	14-A1574-1	VIM	86	88,18
222	14-A633-1	OXA-48	80,02	-	267	14-S12901-2	OXA-48	80,15	-
223	13-A721-1	VIM	85,3	88,2	268	14-S12873-1	negativ	-	-
224	13-015757-1	negativ	-	-	269	14-U5326-2	OXA-48	80,25	-
225	14-S7810-1	OXA-23	81,13	-	270	12-p3819-2	negativ	-	-
226	14-02996-2	OXA-24	78,25	79,25	271	12-I11278-1	negativ	-	-
227	14-U3214-1	negativ	-	-	272	12-I12134-1	negativ	-	-
228	14-U3219-1	OXA-48	79,82	-	273	12-u11574-2	OXA-48	k. A.	k. A.
229	14-A1014-1	negativ	-	-	274	12-u11815-1	VIM-1	k. A.	k. A.
230	14-S8504-1	negativ	-	-	275	12-013149-1	negativ	-	-
231	14-S8912-1	negativ	-	-	276	12-i13244-1	negativ	-	-
232	14-S9282-1	negativ	-	-	277	12-u12578-2	KPC-2	k. A.	k. A.
233	14-S8870-1	negativ	-	-	278	12-i13375-1	negativ	-	-
234	14-03433-1	negativ	-	-	279	12-i13426-1	negativ	-	-
235	14-03328-1	negativ	-	-	280	12-s4703-1	negativ	-	-
236	14-I2608-1	negativ	-	-	281	12-u14834-1	negativ	-	-
237	14-S9437-1	VIM	85,03	87,95	282	12-B16175-1	negativ	-	-
238	14-S10086-1	negativ	-	-	283	12-I16420-1	negativ	-	-
239	14-S9439-1	OXA-23	81,1	-	284	12-017910-1	negativ	-	-
240	14-U4113-1	VIM	-	87,95	285	12-U18201-1	negativ	-	-
241	14-I3235-2	negativ	-	-	286	13-A181-1	VIM-2	k. A.	k. A.
242	14-U4418-2	OXA-48	79,88	-	287	13-A235-1	VIM-2	k. A.	k. A.
243	14-04164-1	negativ	-	-	288	13-A317-1	VIM-2	k. A.	k. A.
244	14-I3566-1	negativ	-	-	289	13-02454-1	negativ	-	-
245	14-A1313-1	NDM	82,5	-	290	13-i3158-2	OXA-48, NDM	k. A.	k. A.
246	14-S10953-2	OXA-48	80,38	-	291	13-U3003-1	NDM	k. A.	k. A.
247	14-S11125-2	negativ	-	-	292	13-04767-2	negativ	-	-

Nr.	Labornummer	Resistenz	Peak 1 (°C)	Peak 2 (°C)	Nr.	Labornummer	Resistenz	Peak 1 (°C)	Peak 2 (°C)
293	13-04739-1	OXA-48	k. A.	k. A.	338	14-U8097-1	negativ	-	-
294	13-04811-1	negativ	-	-	339	14-S19441-1	OXA-48	79,97	-
295	13-U4980-1	negativ	-	-	340	14-U8155-1	negativ	-	-
296	13-05184-1	negativ	-	-	341	14-U8124-1	negativ	-	-
297	13-S7053-3	OXA-23	k. A.	k. A.	342	14-S19811-1	negativ	-	-
298	13-I6063-1	OXA-23	k. A.	k. A.	343	14-07927-1	negativ	-	-
299	13-U6349-1	OXA-48	k. A.	k. A.	344	14-S20571-1	negativ	-	-
300	13-I6129-1	OXA-23	k. A.	k. A.	345	14-S20778-1	negativ	-	-
301	13-U6782-3	KPC-2	k. A.	k. A.	346	14-08419-1	OXA-48	80	-
302	13-A2502	OXA-48	k. A.	k. A.	347	14-S20670-1	negativ	-	-
303	13-A2682-1	negativ	-	-	348	14-S21067-1	negativ	-	-
304	13-S13843-1	negativ	-	-	349	14-A2780-1	VIM	85,93	88,62
305	13-I9109-1	negativ	-	-	350	14-U9123-1	negativ	-	-
306	13-S14742-2	negativ	-	-	351	14-U9050-2	OXA-48	80,3	-
307	13-A3703-2	negativ	-	-	352	14-S22241-1	VIM	k. A.	k. A.
308	13-A3775-1	negativ	-	-	353	14-U9198-2	negativ	-	-
309	13-S24166-1	negativ	-	-	354	14-S22432-2	OXA-48	80,3	-
310	13-I12726-2	negativ	-	-	355	14-S22499-1	negativ	-	-
311	13-S25584-2	negativ	-	-	356	14-08923-2	negativ	-	-
312	13-U19352-1	negativ	-	-	357	14-U9367-1	OXA-48	80,35	-
313	14-I4305-1	negativ	-	-	358	14-A3013-1	negativ	-	-
314	14-05606-1	OXA-24	k. A.	k. A.	359	14-S23025-1	negativ	-	-
315	14-I4591-1	OXA-48	80,18	-	360	14-S23494-1	NDM	82,58	-
316	14-U6165-2	negativ	-	-	361	14-I7512-2	negativ	-	-
317	14-S15305-1	negativ	-	-	362	14-S23859-2	negativ	-	-
318	14-U6414-1	negativ	-	-	363	14-S24720-1	NDM	82,68	-
319	14-U6309-1	negativ	-	-	364	14-A2904-2	NDM	82,67	-
320	14-06150-1	negativ	-	-	365	14-S24812-1	negativ	-	-
321	14-S15911-1	OXA-48	79,87	-	366	14-S24985-1	negativ	-	-
322	14-06301-1	negativ	-	-	367	14-A2947-1	VIM	85,67	88,3
323	14-06301-2	OXA-24	k. A.	k. A.	368	14-I7795-1	VIM	85,67	88,45
324	14-I5366-1	negativ	-	-	369	14-A2996-1	OXA-48	80,15	-
325	14-06581-2	OXA-24	k. A.	k. A.	370	14-U10440-1	GES	86,33	87,15
326	14-A2028-1	negativ	-	-	371	14-I8022-1	negativ	-	-
327	14-S17282-1	OXA-24	k. A.	k. A.	372	14-09729-1	negativ	-	-
328	14-06862-1	negativ	-	-	373	14-I8236-1	negativ	-	-
329	14-A2118-1	negativ	-	-	374	14-U11013-1	NDM	82,55	-
330	14-S17664-1	negativ	-	-	375	14-010143-1	OXA-23	81,5	-
331	14-S17852-1	NDM	82,37	-	376	14-S27424-3	OXA-23	81,43	-
332	14-U7367-1	negativ	-	-	377	14-S27424-2	NDM	82,45	-
333	14-07025-3	negativ	-	-	378	14-U11075-3	negativ	-	-
334	14-A2170-1	negativ	-	-	379	14-U11200-1	negativ	-	-
335	14-07384-1	negativ	-	-	380	14-S27782-1	negativ	-	-
336	14-U7812-2	negativ	-	-	381	14-S28452-1	negativ	-	-
337	14-B8723-1	VIM	85,98	88,17	382	14-U11501-3	negativ	-	-

Nr.	Labornummer	Resistenz	Peak 1 (°C)	Peak 2 (°C)	Nr.	Labornummer	Resistenz	Peak 1 (°C)	Peak 2 (°C)
383	14-U11553-3	VIM	85,3	88,3	391	14-I8962-1	negativ	-	-
384	14-010481-2	OXA-24	78,2	79,35	392	14-010810-1	negativ	-	-
385	14-I8795-2	negativ	-	-	393	14-U11867-1	negativ	-	-
386	14-I8795-3	negativ	-	-	394	14-I9033-1	OXA-24	78,33	79,35
387	14-U11668-1	OXA-48	80,05	-	395	14-S30096-1	negativ	-	-
388	14-S29355-1	OXA-23	81,45	-	396	14-B12988-1	OXA-48	80,2	-
389	14-S29340-1	negativ	-	-	397	14-S30445-1	negativ	-	-
390	14-U11817-1	negativ	-	-	398	14-S30768-1	negativ	-	-

**Tab. 13:** Kontingenztabelle Chi-Quadrat-Test zu MRGN-abhängigem CPE-Nachweis. Kontingenztabelle des Chi-Quadrat-Testes zur Ermittlung einer Abhängigkeit zwischen MRGN-Klassifizierung und CPE-Nachweis. Zusätzliche Angabe des kritischen Wertes, der Prüfgröße Chi-Quadrat ( $X^2$ ) und dem Kontingenzkoeffizienten ( $C_{korr}$ ).

MRGN	Empirische Werte			Erwartete Werte		Prüfgrößen	
	CPE-positiv	CPE-negativ	Summe	CPE-positiv	CPE-negativ	CPE-positiv	CPE-negativ
Kein MRGN	14	36	50	22,8643216	27,1356784	3,4366293	2,89567839
3MRGN	24	80	104	47,5577889	56,4422111	11,6693697	9,83252445
4MRGN	144	100	244	111,577889	132,422111	9,42116093	7,93820041
Summe	182	216	398	182	216	24,5271599	20,6664033

→ Kritischer Wert  $X^2(0,95; 2) = 5,99$ ;  $X^2 = 45,19$ ;  $C_{korr} = 0,452$



Imipenem	Empirische Werte			Erwartete Werte		Prüfgrößen	
	CPE-positiv	CPE-negativ	Summe	CPE-positiv	CPE-negativ	CPE-positiv	CPE-negativ
MHK							
Sensibel	45	89	134	61,0025575	72,9974425	4,19788708	3,50809343
Intermediär	20	21	41	18,6649616	22,3350384	0,09549055	0,07979961
Resistent	113	103	216	98,3324808	117,667519	2,18784391	1,82833904
Summe	178	213	391	178	213	6,48122153	5,41623208

→ Kritischer Wert  $X^2(0,95; 2) = 5,99$ ;  $X^2 = 11,9$ ;  $C_{kor} = 0,243$

Meropenem	Empirische Werte			Erwartete Werte		Prüfgrößen	
	CPE-positiv	CPE-negativ	Summe	CPE-positiv	CPE-negativ	CPE-positiv	CPE-negativ
MHK							
Sensibel	49	86	135	61,7336683	73,2663317	2,62654583	2,21310806
Intermediär	13	45	58	26,5226131	31,4773869	6,89453425	5,80928349
Resistent	120	85	205	93,7437186	111,256281	7,35401074	6,19643498
Summe	182	216	398	182	216	16,8750908	14,2188265

→ Kritischer Wert  $X^2(0,95; 2) = 5,99$ ;  $X^2 = 31,09$ ;  $C_{kor} = 0,385$

Ertapenem	Empirische Werte			Erwartete Werte		Prüfgrößen	
	CPE-positiv	CPE-negativ	Summe	CPE-positiv	CPE-negativ	CPE-positiv	CPE-negativ
MHK							
Sensibel	23	37	60	28,32	31,68	0,999378531	0,89338384
Intermediär	0	7	7	3,304	3,696	3,304	2,95357576
Resistent	95	88	183	86,376	96,624	0,861042141	0,76971949
Summe	118	132	250	118	132	5,164420672	4,61667909

→ Kritischer Wert  $X^2(0,95; 2) = 5,99$ ;  $X^2 = 9,78$ ;  $C_{kor} = 0,274$

**Abb. 18:** Kontingenztabelle Chi-Quadrat-Test zu MHK-abhängigem CPE-Nachweis. Kontingenztabelle des Chi-Quadrat-Testes zur Ermittlung einer Abhängigkeit zwischen der Carbapenem-MHK eines Stammes und dem Vorliegen einer Carbapenemase. Zusätzliche Angabe des kritischen Wertes, der Prüfgröße Chi-Quadrat ( $X^2$ ) und dem Kontingenzkoeffizienten ( $C_{kor}$ ). Oben: Imipenem; Mitte: Meropenem; Unten: Ertapenem.

MRSA	Empirische Werte			Erwartete Werte		Prüfgrößen	
	CPE-positiv	CPE-negativ	Summe	CPE-positiv	CPE-negativ	CPE-positiv	CPE-negativ
MRSA-positiv	40	38	78	35,83125	42,16875	0,48500894	0,41211742
MRSA-negativ	107	135	242	111,16875	130,83125	0,1563252	0,13283124
Summe	147	173	320	147	173	0,64133413	0,54494866

→ Kritischer Wert  $X^2(0,95; 1) = 3,84$ ;  $X^2 = 1,19$ ;  $C_{kor} = 0,086$

VRE	Empirische Werte			Erwartete Werte		Prüfgrößen	
	CPE-positiv	CPE-negativ	Summe	CPE-positiv	CPE-negativ	CPE-positiv	CPE-negativ
VRE-positiv	44	49	93	44,75625	48,24375	0,01277842	0,01185468
VRE-negativ	110	117	227	109,24375	117,75625	0,00523521	0,00485676
Summe	154	166	320	154	166	0,01801363	0,01671144

→ Kritischer Wert  $X^2(0,95; 1) = 3,84$ ;  $X^2 = 0,03$ ;  $C_{kor} = 0,014$

MRSA+VRE	Empirische Werte			Erwartete Werte		Prüfgrößen	
	CPE-positiv	CPE-negativ	Summe	CPE-positiv	CPE-negativ	CPE-positiv	CPE-negativ
MRSA+VRE-positiv	12	9	21	9,646875	11,353125	0,5739887	0,4877245
MRSA+VRE-negativ	135	164	299	137,353125	161,646875	0,04031359	0,0342549
Summe	147	173	320	147	173	0,61430229	0,5219794

→ Kritischer Wert  $X^2(0,95; 1) = 3,84$ ;  $X^2 = 1,14$ ;  $C_{kor} = 0,084$

**Abb. 19:** Kontingenztabellen Chi-Quadrat-Test zu MRE-abhängigem CPE-Nachweis. Kontingenztabellen des Chi-Quadrat-Testes zur Ermittlung einer Abhängigkeit zwischen der Besiedelung mit einem multiresistenten Erreger und dem Vorliegen eines Carbapenemase-produzierenden Erregers. Zusätzliche Angabe des kritischen Wertes, der Prüfgröße Chi-Quadrat ( $X^2$ ) und dem Kontingenzkoeffizienten ( $C_{kor}$ ). Oben: MRSA; Mitte: VRE; Unten: MRSA plus VRE.

Ertapenem	Empirische Werte			Erwartete Werte	
	CPE-positiv	CPE-negativ	Summe	CPE-positiv	CPE-negativ
MHK					
Sensibel	23	37	60	28,3	31,7
Intermediär	0	7	7	3,3	3,7
Resistent	95	88	183	86,4	96,6
Summe	118	132	250	118	132

- Wahrscheinlichkeit der empirischen Tabelle:  $2,4 \times 10^{-4}$
- Summenwahrscheinlichkeit seltenerer Konstellationen: 0,005
- Signifikanzniveau von 99,476 %

Anzahl CPE	Empirische Werte			Erwartete Werte	
	MRE-positiv	MRE-negativ	Summe	MRE-positiv	MRE-negativ
0	82	91	173	80,6	92,4
1	58	68	126	58,7	67,3
2	4	9	13	6,05	6,95
3	2	2	4	1,86	2,14
4	1	1	2	0,931	1,07
5	2	0	2	0,931	1,07
Summe	149	171	320	149	171

- Wahrscheinlichkeit der empirischen Tabelle:  $4,5 \times 10^{-4}$
- Summenwahrscheinlichkeit seltenerer Konstellationen: 0,656
- Signifikanzniveau von 34,355 %

**Abb. 20:** Datentabellen zur Bestimmung einer signifikanten Abhängigkeit nach Fisher/Freeman-Halton.

Datentabellen zur Bestimmung einer signifikanten Abhängigkeit zwischen der Ertapenem-MHK und dem CPE-Nachweis eines Stammes (oben) und zwischen der Anzahl nachgewiesener CPE pro Patient und einem anderen MRE (MRSA oder VRE oder beide) (unten). Zusätzliche Angabe von Summenwahrscheinlichkeiten und dem erreichten Signifikanzniveau (%).

**Tab. 14:** Untersuchte Bakterien im Zeitraum dieser Arbeit.

Untersuchte Bakterien nach Labornummer, Resistenz, Probenmaterial und -entnahmedatum sowie Auzügen des Antibiogrammes. Pip= Piperacillin, Taz= Tazobactam, Cefo= Cefotaxim, Cefta= Ceftazidim, Imi= Imipenem, Mero= Meropenem, Erta= Ertapenem, Cipro= Ciprofloxacin. Fortführung der Tabelle bis einschließlich Seite 102.

Nr.	Labornummer	Erreger	Resistenz	Material	Entnahmedatum	Pip (mg/L)	Pip/Tazo (mg/L)	Cefo (mg/L)	Cefta (mg/L)	Imi (mg/L)	Mero (mg/L)	Erta (mg/L)	Cipro (mg/L)
1	13-S10284-1	<i>K. pneumoniae</i>	KPC-2	Abstrich Rachen	26.05.2013	>=128	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	>=8	>=4
2	13-U8714-1	<i>K. pneumoniae</i>	KPC-2	Urin	09.06.2013	-	>=128	>=64	16	>=16	>=16	>=8	2
3	13-U8681-1	<i>K. pneumoniae</i>	KPC-2	Urin	09.06.2013	>=128	>=128	8	16	>=16	>=16	>=8	>=4
4	12-p3822-1	<i>K. pneumoniae</i>	KPC-2	Wundabstrich	25.07.2012	-	-	-	-	-	1,5	6	-
5	12-017452-1	<i>E. coli</i>	NDM	Wundabstrich	14.11.2012	>=128	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	>=8	>=4
6	13-08962-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Leistenabstrich	16.06.2013	>=128	>=128	>=64	>=64	2	1	0,012	>=4
7	13-04763-1	<i>Achromobacter</i> spp.	negativ	Wundabstrich	28.03.2013	>=128	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	-	>=4
8	13-04869-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Abstrich Abdomen	31.03.2013	>=128	>=128	>=64	16	>=16	>=16	<=0,5	>=4
9	13-S7053-2	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Leistenabstrich	15.04.2013	>=128	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	>=8	>=4
10	13-S8146-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Leistenabstrich	29.04.2013	-	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	>=8	>=4
11	13-U8889-2	<i>K. pneumoniae</i>	KPC-2 (NRZ: negativ)	Urin	11.06.2013	<=4	>=128	>=64	>=64	1	2	>=8	>=4
12	13-U5499-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-181	Urin	12.04.2013	-	>=128	>=64	>=64	1	8	>=8	>=4
13	12-i16902-2	<i>A. baumannii</i>	OXA-23	Wundabstrich	29.11.2012	8	32	-	4	>=16	4	-	<=0,25
14	12-019603-1	<i>A. baumannii</i>	OXA-23	Wundabstrich	28.12.2012	>=128	-	-	-	>=16	>=16	-	>=4
15	13-i3158-1	<i>A. baumannii</i>	OXA-23	Trachealsekret	26.02.2013	>=128	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	>=8	>=4
16	13-03810-1	<i>A. baumannii</i>	OXA-23	Wundabstrich	08.03.2013	>=128	-	-	-	>=16	>=16	-	>=4
17	13-i6258-1	<i>A. baumannii</i>	OXA-23	Abstrich Rachen	03.05.2013	>=128	-	-	-	>=16	>=16	-	>=4
18	13-i7041-1	<i>A. baumannii</i>	OXA-23	Trachealsekret	20.05.2013	>=128	-	-	-	>=16	>=16	-	>=4
19	13-U4525-1	<i>A. baumannii</i>	OXA-23	Urin	24.03.2013	-	-	-	-	>=16	>=16	-	>=4
20	12-017955-1	<i>A. baumannii</i>	OXA-23	Abstrich Rachen	26.11.2012	>=128	-	-	-	>=16	>=16	-	>=4
21	13-i8807-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Bronchiallavage	26.06.2013	-	>=128	>=64	>=64	4	4	>=8	>=4
22	12-u10228-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Urin	24.07.2012	-	-	-	-	-	-	4	-
23	12-i12880-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Trachealsekret	28.08.2012	-	-	-	-	8	1,5	6	-
24	13-U5125-2	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48, NDM	Urin	07.04.2013	>=128	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	>=8	>=4
25	13-05470-1	<i>A. baumannii</i>	OXA-24	Wundabstrich	10.04.2013	>=128	>=128	-	>=64	>=16	>=16	-	>=4
26	13-S11103-1	<i>Citrobacter youngae</i>	VIM	Leistenabstrich	04.06.2013	-	>=128	>=64	>=64	>=16	8	8	1
27	12-U18024-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Urin	24.12.2012	-	-	-	-	-	-	-	-
28	13-A650-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Stuhl	03.02.2013	>=128	>=128	-	16	>=16	>=16	-	>=4
29	13-A830-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Stuhl	12.02.2013	8	>=128	-	4	>=16	>=16	-	>=4
30	13-U18837-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Urin	28.11.2013	-	<=4	-	2	>=16	4	-	<=0,25
31	13-U4531-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Urin	25.03.2013	8	32	-	4	>=16	>=16	-	>=4
32	13-04747-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Stuhl	27.03.2013	>=128	>=128	-	>=64	>=16	>=16	-	>=4
33	13-04791-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Abstrich Nase	28.03.2013	64	>=128	>=64	>=64	1	0,5	2	1

Nr.	Labor-nummer	Erreger	Resistenz	Material	Entnahmedatum	Pip (mg/L)	Pip/Tazo (mg/L)	Cefo (mg/L)	Cefta (mg/L)	Imi (mg/L)	Mero (mg/L)	Erta (mg/L)	Cipro (mg/L)
34	13-U3323-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Urin	03.03.2013	>=128	>=128	-	16	>=16	>=16	-	>=4
35	13-01568-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Sputum	25.01.2013	>=128	>=128	-	16	>=16	>=16	-	>=4
36	13-A483-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Stuhl	25.01.2013	>=128	>=128	-	16	>=16	>=16	-	>=4
37	13-0883-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Abstrich Haut	15.01.2013	32	>=128	-	16	>=16	>=16	-	>=4
38	13-018018-2	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	27.11.2013	>=128	>=128	<=1	<=1	<=0,25	<=0,25	<=0,5	>=4
39	13-S12635-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Abstrich Rachen	17.06.2013	>=128	>=128	>=64	>=64	0,5	2	-	>=4
40	13-I8894-1	<i>K. pneumoniae</i>	KPC-2	Trachealsekret	28.06.2013	>=128	>=128	8	32	8	>=16	>=8	>=4
41	13-S15337-1	<i>K. pneumoniae</i>	KPC-2	Leistenabstrich	10.07.2013	-	>=128	8	>=64	>=16	>=16	>=8	>=4
42	13-A3439-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Stuhl	03.07.2013	>=128	>=128	4	<=1	>=16	>=16	>=8	>=4
43	13-B11271-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Blutkultur	08.07.2013	16	16	4	<=1	<=0,25	<=0,25	>=8	>=4
44	13-S18722-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Leistenabstrich	04.08.2013	-	>=128	>=64	>=64	-	-	>=8	>=4
45	13-S19710-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Trachealsekret	12.08.2013	>=128	>=128	>=64	>=64	2	2	4	>=4
46	13-U13613-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Urin	02.09.2013	-	<=4	<=1	<=1	<=0,25	<=0,25	<=0,5	<=0,25
47	13-U14660-2	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Urin	18.09.2013	-	<=4	16	<=1	4	<=0,25	<=0,5	>=4
48	13-B15111-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Blutkultur	13.09.2013	>=128	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	>=8	>=4
49	13-s23410-1	<i>E. coli</i>	negativ	Leistenabstrich	15.09.2013	>=128	64	>=64	>=64	<=0,25	<=0,25	-	>=4
50	13-s23417-2	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Analabstrich	14.09.2013	-	>=128	>=64	>=64	2	>=16	>=8	>=4
51	13-U15156-1	<i>E. coli</i>	negativ	Urin	26.09.2013	-	>=128	>=64	16	0,5	4	<=0,5	>=4
52	13-I12829-2	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Trachealsekret	26.09.2013	-	8	16	16	<=0,25	0,5	4	<=0,25
53	13-014921-1	<i>Serratia</i> spp.	negativ	Trachealsekret	25.09.2013	-	<=4	32	4	0,5	<=0,25	>=8	1
54	13-015109-2	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Wundabstrich	30.09.2013	-	>=128	2	<=1	2	1	>=8	<=0,25
55	13-S25539-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Leistenabstrich	01.10.2013	-	16	<=1	<=1	<=0,25	<=0,25	4	<=0,25
56	13-U15430-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Urin	02.10.2013	-	8	>=64	4	<=0,25	1	4	>=4
57	13-S24983-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Leistenabstrich	23.09.2013	-	16	2	<=1	<=0,25	0,5	4	>=4
58	13-S24264-2	<i>E. cloacae</i>	negativ	Analabstrich	23.09.2013	-	>=128	>=64	>=64	2	>=16	>=8	>=4
59	13-A4955-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Stuhl	18.09.2013	-	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	>=8	>=4
60	13-u15587-1	<i>Proteus</i> spp.	negativ	Urin	06.10.2013	-	<=4	32	<=1	>=16	0,5	1	<=0,25
61	13-S25584-1	<i>A. baumannii</i>	OXA-23	Analabstrich	02.10.2013	>=128	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	>=8	>=4
62	13-S26582-2	<i>E. coli</i>	OXA-48	Analabstrich	09.10.2013	-	>=128	4	16	2	<=0,25	4	>=4
63	13-U15928-1	<i>K. pneumoniae</i>	KPC-2	Urin	11.10.2013	>=128	>=128	>=64	16	8	>=16	>=8	>=4
64	13-S26978-1	<i>E. cloacae</i>	negativ	Analabstrich	14.10.2013	-	>=128	>=64	>=64	4	8	>=8	>=4
65	13-016035-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Trachealsekret	21.10.2013	>=128	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	<=0,5	>=4
66	13-S28100-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Leistenabstrich	21.10.2013	>=128	32	2	4	2	4	4	0,5
67	13-018140-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	28.11.2013	16	64	-	4	1	1	-	<=0,25
68	13-I14061-1	<i>E. coli</i>	negativ	Analabstrich	25.10.2013	-	>=128	<=1	16	>=16	2	4	<=0,25
69	13-I14437-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48 (NRZ: negativ)	Trachealsekret	31.10.2013	>=128	>=128	>=64	>=64	<=0,25	<=0,25	4	>=4
70	13-I14513-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Bronchiallavage	03.11.2013	>=128	>=128	-	>=64	>=16	>=16	-	>=4
71	13-U18926-1	<i>Serratia</i> spp.	OXA-48	Urin	01.12.2013	-	>=128	8	<=1	>=16	>=16	>=8	1
72	13-S29355-1	<i>A. baumannii</i>	OXA-23	Leistenabstrich	04.11.2013	>=128	>=128	32	16	8	>=16	>=8	>=4

Nr.	Labor-nummer	Erreger	Resistenz	Material	Entnahmedatum	Pip (mg/L)	Pip/Tazo (mg/L)	Cefo (mg/L)	Cefta (mg/L)	Imi (mg/L)	Mero (mg/L)	Erta (mg/L)	Cipro (mg/L)
73	13-S29355-2	<i>K. pneumoniae</i>	KPC-2	Leistenabstrich	04.11.2013	>=128	>=128	32	16	8	>=16	>=8	>=4
74	13-I14559-3	<i>E. cloacae</i>	OXA-48	Abstrich Brucksack	31.10.2013	-	>=128	>=64	>=64	>=16	1	4	>=4
75	13-I14504-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Trachealsekret	03.11.2013	>=128	>=128	>=64	>=64	<=0,25	<=0,25	<=0,5	>=4
76	13-I14504-2	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Trachealsekret	03.11.2013	>=128	>=128	>=64	>=64	<=0,25	<=0,25	<=0,5	>=4
77	13-S29282-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM (IMMIP: negativ)	Leistenabstrich	04.11.2013	32	>=128	-	16	>=16	>=16	-	>=4
78	13-S29665-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	04.11.2013	>=128	>=128	-	>=64	>=16	>=16	-	<=0,25
79	13-S29668-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Analabstrich	04.11.2013	16	8	-	4	>=16	>=16	-	<=0,25
80	13-U17524-1	<i>E. aerogenes</i>	negativ	Urin	06.11.2013	-	>=128	>=64	>=64	8	4	>=8	<=0,25
81	13-I14559-2	<i>E. coli</i>	OXA-48	Abstrich Brucksack	31.10.2013	-	>=128	>=64	>=64	>=16	1	4	>=4
82	13-I14708-2	<i>K. oxytoca</i>	negativ	Abstrich Netz	07.11.2013	-	>=128	<=1	<=1	>=16	1	3	<=0,25
83	13-017057-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Analabstrich	08.11.2013	-	>=128	>=64	>=64	8	>=16	>=8	>=4
84	13-U17333-2	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Urin	05.11.2013	>=128	<=4	16	<=1	<=0,25	<=0,25	<=0,5	1
85	13-U17616-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Urin	10.11.2013	-	>=128	>=64	16	0,5	0,25	2	>=4
86	13-018453-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	04.12.2013	32	32	-	4	8	>=16	-	0,5
87	13-S30134-2	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Abstrich Rachen	08.11.2013	>=128	>=128	>=64	>=64	2	1	3	>=4
88	13-018411-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	04.12.2013	8	8	-	2	>=16	4	-	<=0,25
89	13-A5779-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Stuhl	06.11.2013	32	>=128	-	16	>=16	>=16	-	>=4
90	13-A5884-1	<i>E. cloacae</i>	negativ	Stuhl	12.11.2013	>=128	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	-	>=4
91	13-A5829-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Stuhl	08.11.2013	64	>=128	-	16	>=16	>32	-	>=4
92	13-018409-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Abstrich Trachealkanüle	04.12.2013	<=4	<=4	-	2	>=16	4	-	>=4
93	13-U19013-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Urin	01.12.2013	-	>=128	>=64	>=64	<=0,25	<=0,25	1	>=4
94	13-U18930-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Urin	01.12.2013	16	>=128	-	4	>=16	8	-	>=4
95	13-U18951-2	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Urin	01.12.2013	-	8	>=64	4	>=16	8	<=0,5	0,5
96	13-U18888-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Urin	29.11.2013	32	>=128	-	16	>=16	>=16	-	>=4
97	13-S31211-1	<i>Achromobacter</i> spp.	negativ	Abstrich Rachen	18.11.2013	64	>=128	>=64	16	8	>=16	-	>=4
98	13-S31211-2	<i>P. aeruginosa</i>	GES	Abstrich Rachen	18.11.2013	64	>=128	>=64	16	8	>=16	-	>=4
99	13-S31212-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Abstrich Nase	18.11.2013	-	>=128	>=64	>=64	4	1	4	>=4
100	13-B18734-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Blutkultur	16.11.2013	32	>=128	-	16	>=16	>=16	-	>=4
101	13-017254-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	13.11.2013	>=128	>=128	-	>=64	>=32	>=32	-	2
102	13-S33183-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Abstrich Rachen	01.12.2013	32	32	-	16	>=16	>=16	-	0,5
103	13-B18454-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Blutkultur	13.11.2013	>=128	>=128	-	16	>=16	>=16	-	<=0,25
104	13-017441-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	15.11.2013	>=128	>=128	-	>=64	>=16	>=16	-	0,5
105	13-I15195-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Analabstrich	18.11.2013	>=128	32	-	16	>=16	>=16	-	2
106	13-U19149-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Urin	27.11.2013	-	>=128	>=64	>=64	<=0,25	1	>=8	>=4
107	13-U17857-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Urin	13.11.2013	-	-	-	-	-	-	-	-
108	13-A5877-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Stuhl	11.11.2013	32	32	>=64	4	>=16	>=16	-	>=4
109	13-U17841-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Urin	13.11.2013	>=128	>=128	-	>=64	>=16	>=16	-	>=4
110	13-I15262-1	<i>Serratia</i> spp.	negativ	Wundabstrich	18.11.2013	-	<=4	<=1	<=1	4	1	4	<=0,25
111	13-S31161-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Leistenabstrich	18.11.2013	>=128	>=128	-	>=64	>=16	>=16	-	1

Nr.	Labor-nummer	Erreger	Resistenz	Material	Entnahmedatum	Pip (mg/L)	Pip/Tazo (mg/L)	Cefo (mg/L)	Cefta (mg/L)	Imi (mg/L)	Mero (mg/L)	Erta (mg/L)	Cipro (mg/L)
112	13-S33107-1	<i>E. coli</i>	negativ	Analabstrich	01.12.2013	-	>=128	>=64	>=64	<=0,25	0,5	4	>=4
113	13-018316-1	<i>A. baumannii</i>	OXA-23	Trachealsekret	03.12.2013	-	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	>=8	>=4
114	13-017519-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Wundabstrich	18.11.2013	64	32	-	16	>=16	8	-	>=4
115	13-017461-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Trachealsekret	18.11.2013	-	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	>=8	>=4
116	13-S31657-2	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Analabstrich	19.11.2013	-	>=128	8	<=1	>=16	>=16	>=8	>=4
117	13-S31657-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Analabstrich	19.11.2013	-	>=128	8	<=1	>=16	>=16	>=8	>=4
118	13-S31534-1	<i>E. cloacae</i>	negativ	Leistenabstrich	19.11.2013	>=128	8	>=64	4	4	4	>=8	>=4
119	13-S31338-2	<i>E. cloacae</i>	negativ	Leistenabstrich	17.11.2013	-	16	2	<=1	4	1	4	>=4
120	13-S32088-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	22.11.2013	>=128	64	-	16	>=16	>=16	-	>=4
121	13-017791-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Wundabstrich	22.11.2013	>=128	>=128	-	>=64	>=16	>=16	-	>=4
122	13-017790-1	<i>A. baumannii</i>	OXA-24	Trachealsekret	22.11.2013	>=128	64	-	32	>=16	>=16	-	>=4
123	13-S33077-1	<i>E. cloacae</i>	negativ	Leistenabstrich	02.12.2013	-	>=128	>=64	>=64	2	1	>=8	2
124	14-014-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	31.12.2013	>=128	>=128	-	>=64	>=16	>=16	-	<=0,25
125	13-018238-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	01.12.2013	16	32	-	4	>=16	>=16	-	<=0,25
126	13-U17884-1	<i>A. baumannii</i>	NDM (IMMIP: negativ)	Urin	13.11.2013	16	-	-	-	>=16	4	-	<=0,25
127	13-U18124-2	<i>A. baumannii</i>	NDM	Urin	16.11.2013	8	<=4	<=1	<=1	>32	>32	<=0,5	0,5
128	13-S31130-1	<i>A. baumannii</i>	OXA-23	Wundabstrich	18.11.2013	>=128	-	-	-	>=16	>=16	-	>=4
129	13-115897-2	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Abstrich Trachealkanüle	02.12.2013	-	<=4	<=1	<=1	1	<=0,25	<=0,5	<=0,25
130	13-U18580-1	<i>E. cloacae</i>	negativ	Urin	25.11.2013	-	>=128	>=64	>=64	2	0,5	4	<=0,25
131	13-018079-1	<i>E. coli</i>	OXA-48	Analabstrich	28.11.2013	-	<=4	<=1	4	<=0,25	<=0,25	<=0,5	<=0,25
132	13-115719-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Bronchialsekret	29.11.2013	>=128	>=128	-	>=64	>=16	>=16	-	0,5
133	13-116059-2	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Bronchiallavage	05.12.2013	-	>=128	>=64	>=64	0,5	4	>=8	>=4
134	13-B19448-4	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Blutkultur	28.11.2013	-	<=4	<=1	<=1	<=1	<=0,25	<=0,5	<=0,25
135	13-U18843-1	<i>K. pneumoniae</i>	NDM	Urin	28.11.2013	-	<=4	<=1	<=1	8	0,5	<=0,5	>=4
136	13-018588-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Trachealsekret	06.12.2013	>=128	<=4	-	<1	1	<=0,25	-	<=0,25
137	13-018499-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	04.12.2013	>=128	32	-	16	>=16	>=16	-	>=4
138	13-S33988-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Analabstrich	06.12.2013	>=128	>=128	-	>=64	2	8	-	<=0,25
139	13-S33827-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Abstrich Rachen	05.12.2013	-	16	>64	16	<0,25	<0,25	<0,5	>4
140	13-018454-1	<i>A. baumannii</i>	OXA-24	Abstrich Haut	04.12.2013	>=128	-	-	-	>=16	>=16	-	>=4
141	13-U19690-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Urin	14.12.2013	-	>=128	>=64	>=64	2	1	>=8	>=4
142	13-U20113-3	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Urin	20.12.2013	>=128	>=128	>=64	>=64	2	>=16	>=8	>=4
143	13-U20113-1	<i>E. coli</i>	OXA-48	Urin	20.12.2013	>=128	>=128	>=64	>=64	2	>=16	>=8	>=4
144	13-S35228-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Wundabstrich	15.12.2013	32	16	-	8	>=16	>=16	-	0,5
145	13-U19842-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Urin	15.12.2013	>=128	>=128	>=64	>=64	2	1	>=8	>=4
146	13-S35028-2	<i>A. baumannii</i>	OXA-23	Wundabstrich	13.12.2013	>=128	>=128	>=64	16	1	1	4	>=4
147	13-S35023-3	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Abstrich Rachen	13.12.2013	64	8	>=64	16	2	<=0,25	<=0,5	<=0,25
148	13-U20543-1	<i>E. coli</i>	negativ	Urin	30.12.2013	<=4	<=4	<=1	<=1	<=0,25	<=0,25	>=8	<=0,25
149	13-S36468-3	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Leistenabstrich	29.12.2013	-	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	>=8	>=4
150	13-019450-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Abstrich Rachen	21.12.2013	64	>=128	-	16	>=16	>=16	-	>=4

Nr.	Labor-nummer	Erreger	Resistenz	Material	Entnahmedatum	Pip (mg/L)	Pip/Tazo (mg/L)	Cefo (mg/L)	Cefta (mg/L)	Imi (mg/L)	Mero (mg/L)	Erta (mg/L)	Cipro (mg/L)
151	13-019430-2	<i>A. baumannii</i>	OXA-23	Trachealsekret	20.12.2013	>=128	>=128	>=64	>=64	8	>=16	>=8	>=4
152	13-019350-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Abstrich Ohr	18.12.2013	>=128	>=128	-	4	1	4	-	>=4
153	13-S36468-4	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Leistenabstrich	29.12.2013	-	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	>=8	>=4
154	13-019432-2	<i>M. morgani</i>	negativ	Vaginalabstrich	20.12.2013	>=128	<=4	8	16	1	<=0,25	>=8	<=0,25
155	13-S35753-1	<i>K. pneumoniae</i>	NDM	Abstrich Rachen	20.12.2013	>=128	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	>=8	>=4
156	13-S35408-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ (IMMIP: NDM)	Analabstrich	16.12.2013	-	16	2	<=1	<=0,25	<=0,25	1	<=0,25
157	13-019291-2	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Abstrich Rachen	17.12.2013	-	8	-	4	>=16	4	-	2
158	13-019048-2	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	13.12.2013	16	<=4	<=1	<=1	<=0,25	<=0,25	<=0,5	>=4
159	13-018950-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Leistenabstrich	12.12.2013	>=128	>=128	>=64	>=64	>=16	2	4	>=4
160	13-019612-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	27.12.2013	>=128	32	-	16	>=16	>=16	-	2
161	13-S35940-2	<i>A. baumannii</i>	OXA-23	Leistenabstrich	22.12.2013	>=128	16	>=64	16	>=16	>=16	<=0,5	>=4
162	13-S35740-1	<i>A. baumannii</i>	OXA-23	Analabstrich	20.12.2013	>=128	-	-	-	>=16	>=16	-	>=4
163	13-S35835-2	<i>E. cloacae</i>	negativ	Analabstrich	21.12.2013	>=128	>=128	>=64	>=64	>=16	1	4	>=4
164	13-U20375-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Urin	25.12.2013	-	>=128	>=64	>=64	<=0,25	<=0,25	1	>=4
165	13-U20403-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Urin	28.12.2013	>=128	>=128	-	4	>=16	>=16	-	>=4
166	13-I17078-1	<i>E. cloacae</i>	negativ	Analabstrich	28.12.2013	-	32	>=64	4	2	2	>=8	<=0,25
167	14-A46-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Stuhl	03.01.2014	-	>=128	-	>=64	>=16	8	-	<=0,25
168	14-U112-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Urin	02.01.2014	-	>=128	>=64	>=64	<=0,25	1	-	>=4
169	14-U235-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Urin	06.01.2014	>=128	>=128	-	>=64	>=16	>=16	-	>=4
170	13-I17064-1	<i>Serratia</i> spp.	negativ	Abstrich Rachen	28.12.2013	-	64	>=64	4	>=16	8	>=8	<=0,25
171	13-S14003-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Leistenabstrich	01.07.2013	-	>=128	>=64	16	2	1	>=8	>=4
172	12-U16699-3	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Urin	26.11.2012	>=128	>=128	>=64	>=64	>=16	4	>=8	2
173	14-U261-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Urin	06.01.2014	-	>=128	<=1	<=1	>=16	1	4	2
174	14-S358-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Leistenabstrich	06.01.2014	-	64	>=64	16	<=0,25	1	>=8	>=4
175	14-S489-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Abstrich Rachen	06.01.2014	>=128	>=128	-	>=64	>=16	>=16	-	1
176	14-0250-2	<i>A. baumannii</i>	OXA-23	Abstrich Trachealkanüle	06.01.2014	<=4	<=4	-	2	8	0,5	-	1
177	14-U422-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Urin	07.01.2014	>=128	>=128	>=64	>=64	1	4	>=8	>=4
178	14-0566-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Trachealsekret	11.01.2014	>=128	>=128	-	>=64	>=16	>=16	-	>=4
179	14-U738-2	<i>E. coli</i>	negativ	Urin	13.01.2014	>=128	>=128	>=64	>=64	<=1	<=0,25	4	>=4
180	14-S1342-1	<i>K. oxytoca</i>	negativ	Analabstrich	12.01.2014	>=128	>=128	16	4	2	4	>=8	<=0,25
181	14-S1962-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Analabstrich	13.01.2014	>=128	>=128	>=64	>=64	<=0,25	<=0,25	<=0,5	>=4
182	14-B789-3	<i>P. aeruginosa</i>	GES	Blutkultur	15.01.2014	>=128	>=128	-	16	>=16	>=16	-	>=4
183	14-0986-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Wundabstrich	17.01.2014	>=128	>=128	-	16	>=16	>=16	-	1
184	14-S2279-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Analabstrich	17.01.2014	>=128	>=128	-	16	>=16	>=16	-	<=0,25
185	14-U976-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Urin	16.01.2014	-	>=128	>=64	16	>=16	1	4	>=4
186	14-S2362-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Abstrich Rachen	18.01.2014	>=128	>=128	-	16	>=16	>=16	-	0,004
187	14-01172-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	20.01.2014	>=128	>=128	-	>=64	>=16	>=16	-	2
188	14-S2592-1	<i>A. baumannii</i>	OXA-23	Wundabstrich	19.01.2014	>=128	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	>=8	>=4
189	14-S2592-2	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Wundabstrich	19.01.2014	>=128	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	>=8	>=4



Nr.	Labor-nummer	Erreger	Resistenz	Material	Entnahmedatum	Pip (mg/L)	Pip/Tazo (mg/L)	Cefo (mg/L)	Cefta (mg/L)	Imi (mg/L)	Mero (mg/L)	Erta (mg/L)	Cipro (mg/L)
190	14-S2596-1	<i>E. coli</i>	OXA-48	Analabstrich	19.01.2014	-	>=128	>=64	16	0,5	<=0,25	2	>=4
191	14-S2743-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Trachealsekret	19.01.2014	-	>=128	2	<=1	8	>=16	>=8	>=4
192	14-S2475-2	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Abstrich Rachen	19.01.2014	>=128	<=4	>=64	4	<=0,25	<=0,25	<=0,5	<=0,25
193	14-U662-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Urin	11.01.2014	64	>=128	-	16	>=16	>=16	-	>=4
194	14-S4391-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Analabstrich	30.01.2014	64	>=128	-	16	>=16	>=16	-	>=4
195	14-U1758-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Urin	27.01.2014	>=128	>=128	-	16	>=16	>=16	-	>=4
196	14-U1830-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Urin	30.01.2014	-	>=128	>=64	>=64	<=0,25	1	4	>=4
197	14-S3600-1	<i>A. baumannii</i>	OXA-23	Trachealsekret	06.01.2014	>=128	-	-	-	>=16	>=16	-	>=4
198	14-S3773-1	<i>E. coli</i>	OXA-48	Analabstrich	27.01.2014	>=128	>=128	>=64	>=64	2	>=16	>=8	>=4
199	14-S3773-2	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Analabstrich	27.01.2014	>=128	>=128	>=64	>=64	2	>=16	>=8	>=4
200	14-S4096-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Wundabstrich	28.01.2014	64	64	-	4	>=16	>=16	-	0,5
201	14-S4656-1	<i>E. coli</i>	negativ	Leistenabstrich	03.02.2014	-	>=128	>=64	16	1	2	>=8	>=4
202	14-A648-2	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Stuhl	04.02.2014	-	>=128	4	16	<=0,25	<=0,25	4	>=4
203	14-S5666-1	<i>E. coli</i>	negativ	Leistenabstrich	09.02.2014	-	>=128	>=64	>=64	0,5	2	>=8	>=4
204	14-S6004-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	10.02.2014	>=128	>=128	-	>=64	>=16	>=16	-	>=4
205	14-A656-2	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Stuhl	05.02.2014	<=4	32	8	16	2	4	<=0,5	0,5
206	14-A746-1	<i>E. coli</i>	negativ	Stuhl	11.02.2014	>=128	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	>=8	>=4
207	14-A592-1	<i>E. aerogenes</i>	VIM	Stuhl	02.02.2014	-	>=128	16	>=64	>=16	>=16	<=0,5	1
208	14-S5728-2	<i>E. aerogenes</i>	negativ	Analabstrich	10.02.2014	-	64	>=64	>=64	>=16	<=0,25	2	<=0,25
209	14-S6256-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Leistenabstrich	11.02.2014	-	>=128	>=64	>=64	<=0,25	1	>=8	>=4
210	14-U2460-2	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Urin	09.02.2014	>=128	8	-	16	>=16	8	-	>=4
211	14-02056-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	05.02.2014	>=128	>=128	-	>=64	>=16	>=16	-	<=0,25
212	14-U1948-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Urin	02.02.2014	>=128	>=128	-	>=64	>=16	>=16	-	>=4
213	14-I1630-2	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Abstrich Hamröhre	07.02.2014	32	<=4	<=1	<=1	<=0,25	<=0,25	<=0,5	1
214	14-S5841-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Leistenabstrich	10.02.2014	-	64	2	16	<=0,25	<=0,25	1	>=4
215	14-S5943-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Leistenabstrich	09.02.2014	32	32	-	16	>=16	>=16	-	1
216	14-KS227-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Sheldonkatheter	16.02.2014	-	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	>=8	>=4
217	14-S6553-1	<i>A. baumannii</i>	OXA-23	Wundabstrich	14.02.2014	-	-	-	-	>=16	>=16	-	>=4
218	14-KS230-2	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Sheldonkatheter	14.02.2014	-	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	>=8	>=4
219	14-A905-2	<i>E. aerogenes</i>	negativ	Stuhl	18.02.2014	-	<=4	<=1	<=1	<=0,25	<=0,25	<=0,5	<=0,25
220	14-B3303-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Blutkultur	21.02.2014	-	-	-	-	-	-	-	-
221	14-02828-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Abstrich Rachen	20.02.2014	-	>=128	>=64	>=64	1	1	4	>=4
222	14-A633-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Stuhl	03.02.2014	-	>=128	>=64	>=64	2	1	4	>=4
223	13-A721-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Stuhl	07.02.2013	8	32	-	2	>=16	>=16	-	>=4
224	13-015757-1	<i>E. aerogenes</i>	negativ	Trachealsekret	14.10.2013	-	>=128	>=64	>=64	1	>=16	-	<=0,25
225	14-S7810-1	<i>A. baumannii</i>	OXA-23	Analabstrich	24.02.2014	>=128	-	-	-	>=16	>=16	-	>=4
226	14-02996-2	<i>A. baumannii</i>	OXA-24	Wundabstrich	25.02.2014	-	<=4	<=1	<=1	<=0,25	<=0,25	<=0,5	<=0,25
227	14-U3214-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Urin	23.02.2014	-	>=128	>=64	>=64	<=0,25	0,5	4	>=4
228	14-U3219-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Urin	23.02.2014	32	>=128	>=64	>=64	2	1	4	>=4
229	14-A1014-1	<i>K. oxytoca</i>	negativ	Stuhl	25.02.2014	-	>=128	8	4	<=0,25	<=0,25	1	<=0,25

Nr.	Labor-nummer	Erreger	Resistenz	Material	Entnahmedatum	Pip (mg/L)	Pip/Tazo (mg/L)	Cefo (mg/L)	Cefta (mg/L)	Imi (mg/L)	Mero (mg/L)	Erta (mg/L)	Cipro (mg/L)
230	14-S8504-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Leistenabstrich	24.02.2014	-	>=128	>=64	>=64	0,5	1	>=8	>=4
231	14-S8912-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Leistenabstrich	03.03.2014	>=128	64	-	16	>=16	>=16	-	2
232	14-S9282-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Analabstrich	04.03.2014	-	>=128	>=64	>=64	2	>=16	>=8	>=4
233	14-S8870-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Leistenabstrich	03.03.2014	-	16	<=1	<=1	<=0,25	0,5	4	<=0,25
234	14-03433-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	05.03.2014	>=128	64	-	16	>=16	>=16	-	1
235	14-03328-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Wundabstrich	03.03.2014	>=128	>=128	-	>=64	>=16	>=16	-	<=0,25
236	14-I2608-1	<i>Serratia</i> spp.	negativ	Trachealsekret	27.02.2014	-	64	8	4	4	<=0,25	<=0,25	<=0,25
237	14-S9437-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Abstrich Rachen	06.03.2014	>=128	>=128	-	16	>=16	>=16	-	0,5
238	14-S10086-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Leistenabstrich	10.03.2014	32	32	>=64	4	2	4	<=0,5	2
239	14-S9439-1	<i>A. baumannii</i>	OXA-23	Leistenabstrich	06.03.2014	>=128	>=128	-	8	>=16	>=16	-	>=4
240	14-U4113-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Urin	10.03.2014	64	<=4	<=1	<=1	<=0,25	<=0,25	<=0,5	<=0,25
241	14-I3235-2	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Analabstrich	13.03.2014	>=128	>=128	>=64	>=64	>=16	8	>=8	>=4
242	14-U4418-2	<i>E. aerogenes</i>	OXA-48	Urin	14.03.2014	-	>=128	>=64	16	2	1	4	>=4
243	14-04164-1	<i>E. coli</i>	negativ	Abstrich Haut	17.03.2014	-	>=128	>=64	>=64	>=16	4	>=8	>=4
244	14-I3566-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	20.03.2014	>=128	>=128	-	16	>=16	8	-	>=4
245	14-A1313-1	<i>A. baumannii</i>	NDM	Stuhl	12.03.2014	64	-	-	-	>=16	>=16	-	>=4
246	14-S10953-2	<i>E. coli</i>	OXA-48	Leistenabstrich	16.03.2014	-	>=128	4	16	1	1	4	<=0,25
247	14-S11125-2	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Leistenabstrich	18.03.2014	16	16	4	32	>=16	8	<=0,5	1
248	14-04299-2	<i>E. aerogenes</i>	negativ	Abstrich Trachealkanüle	19.03.2014	-	>=128	>=64	>=64	>=16	4	>=8	<=0,25
249	14-04293-2	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	18.03.2014	>=128	>=128	<=1	>=64	>=16	>=16	<=0,5	<=0,25
250	14-S11415-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Leistenabstrich	18.03.2014	16	8	-	4	8	4	-	2
251	14-04293-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	18.03.2014	>=128	>=128	<=1	>=64	>=16	>=16	<=0,5	<=0,25
252	14-A1334-1	<i>A. baumannii</i>	NDM	Stuhl	14.03.2014	64	16	<=1	<=1	8	>=16	<=0,5	>=4
253	14-04650-2	<i>A. baumannii</i>	OXA-24	Trachealsekret	26.03.2014	8	8	-	4	1	<=0,25	-	>=4
254	14-04654-2	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	26.03.2014	64	32	<=1	<=1	4	<=0,25	<=0,5	<=0,25
255	14-04655-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	26.03.2014	>=128	<=4	<=1	<=1	0,5	<=0,25	<=0,5	<=0,25
256	14-04881-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Wundabstrich	28.03.2014	>=128	>=128	-	>=64	>=16	>=16	-	2
257	14-04772-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Abstrich Mundschleimhaut	27.03.2014	64	64	-	16	>=16	>=16	-	>=4
258	14-U5059-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Urin	25.03.2014	8	8	-	4	>=16	4	-	>=4
259	14-05150-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	02.04.2014	>=128	>=128	-	>=64	>=16	>=16	-	>=4
260	14-S13114-1	<i>E. coli</i>	negativ	Analabstrich	31.03.2014	-	>=128	>=64	>=64	<=0,25	<=0,25	4	>=4
261	14-05111-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	01.04.2014	32	-	-	4	>=16	8	-	<=0,25
262	14-05152-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	02.04.2014	32	>=128	-	8	>=16	>=16	-	<=0,25
263	14-S13143-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Leistenabstrich	31.03.2014	32	>=128	-	16	>=16	>=16	-	>=4
264	14-S13413-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Analabstrich	02.04.2014	>=128	>=128	>=64	>=64	>=16	<=0,25	<=0,5	>=4
265	14-U5543-1	<i>A. baumannii</i>	OXA-24	Urin	02.04.2014	>=128	-	-	-	>=16	>=16	-	>=4
266	14-A1574-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Stuhl	30.03.2014	64	>=128	-	16	>=16	>=16	-	>=4
267	14-S12901-2	<i>E. cloacae</i>	OXA-48	Analabstrich	30.03.2014	-	>=128	8	16	>=16	2	4	<=0,25
268	14-S12873-1	<i>E. coli</i>	negativ	Analabstrich	30.03.2014	-	>=128	>=64	>=64	<=0,25	1	>=8	>=4
269	14-U5326-2	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Urin	30.03.2014	-	<=4	<=1	<=1	0,5	<=0,25	<=0,5	<=0,25

Nr.	Labor-nummer	Erreger	Resistenz	Material	Entnahmedatum	Pip (mg/L)	Pip/Tazo (mg/L)	Cefo (mg/L)	Cefta (mg/L)	Imi (mg/L)	Mero (mg/L)	Erta (mg/L)	Cipro (mg/L)
270	12-p3819-2	<i>A. baumannii</i>	negativ	Abstrich Rachen	28.07.2012	-	>16/4	-	>8	-	>8	-	>1
271	12-111278-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Analabstrich	29.07.2012	-	>16/4	>4	>8	-	4	>1	<=0,125
272	12-112134-1	<i>E. cloacae</i>	negativ	Abstrich Netz	14.08.2012	-	>16/4	>4	>8	-	>8	>1	>1
273	12-u11574-2	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Urin	20.08.2012	-	>16/4	>4	>8	-	<=1	>1	>1
274	12-u11815-1	<i>K. pneumoniae</i>	VIM-1	Urin	24.08.2012	-	>16/4	>4	>8	-	4	>1	<=0,125
275	12-013149-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Wundabstrich	27.08.2012	-	>16/4	>4	>8	-	4	>1	>1
276	12-i13244-1	<i>E. cloacae</i>	negativ	Abstrich Haut	06.09.2012	-	>=128	>=64	>=64	1	<=0,25	0,75	2
277	12-u12578-2	<i>K. pneumoniae</i>	KPC-2	Urin	07.09.2012	-	>16/4	>4	>8	4	>8	>1	>1
278	12-i13375-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Analabstrich	10.09.2012	-	>=128	>=64	>=64	4	6	>32	>=4
279	12-i13426-1	<i>E. coli</i>	negativ	Analabstrich	10.09.2012	-	>16/4	>4	>8	>32	>32	>32	>1
280	12-s4703-1	<i>E. coli</i>	negativ	Leistenabstrich	22.10.2012	16	8	>=64	4	>=16	8	>32	<=0,25
281	12-u14834-1	<i>E. coli</i>	negativ	Urin	22.10.2012	-	<=4	<=1	<=1	<=0,25	<=0,25	<=0,5	2
282	12-B16175-1	<i>E. coli</i>	negativ	Blutkultur	31.10.2012	-	>=128	>=64	4	<=1	>32	>32	>=4
283	12-116420-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Wundabstrich	19.11.2012	-	>=128	>=64	>=64	1	4	>=8	>=4
284	12-017910-1	<i>E. coli</i>	negativ	Vaginalabstrich	25.11.2012	-	<=4	<=1	<=1	<=0,25	<=0,25	<=0,5	<=0,25
285	12-U18201-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Urin	28.12.2012	>=128	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	>=8	>=4
286	13-A181-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM-2	Stuhl	07.01.2013	64	>=128	-	16	>=16	>=16	-	>=4
287	13-A235-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM-2	Stuhl	10.01.2013	64	>=128	-	16	>=16	>=16	-	>=4
288	13-A317-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM-2	Stuhl	17.01.2013	>=128	>=128	-	16	>=16	>=16	-	>=4
289	13-02454-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Trachealsekret	13.02.2013	-	>=128	>=64	>=64	<=0,25	2	>=8	>=4
290	13-i3158-2	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48, NDM	Trachealsekret	26.02.2013	>=128	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	>=8	>=4
291	13-U3003-1	<i>K. pneumoniae</i>	NDM	Urin	26.02.2013	-	>=128	>=64	>=64	>=32	32	>=32	>=4
292	13-04767-2	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Wundabstrich	28.03.2013	>=128	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	-	>=4
293	13-04739-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Leistenabstrich	28.03.2013	>=128	>=128	>=64	16	>=32	>=32	>=32	>=4
294	13-04811-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Abstrich Haut	28.03.2013	>=128	>=128	-	16	>=16	8	-	>=4
295	13-U4980-1	<i>Proteus spp.</i>	negativ	Urin	03.04.2013	-	>=128	16	>=64	8	0,5	<=0,5	>=4
296	13-05184-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Abstrich Haut	06.04.2013	-	>=128	>=64	>=64	<=0,25	<=0,25	1	>=4
297	13-S7053-3	<i>A. baumannii</i>	OXA-23	Leistenabstrich	15.04.2013	>=128	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	>=8	>=4
298	13-16063-1	<i>A. baumannii</i>	OXA-23	Trachealsekret	28.04.2013	>=128	-	-	-	>=16	>=16	-	>=4
299	13-U6349-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Urin	28.04.2013	-	>=128	<=1	<=1	>=16	1	>=8	>=4
300	13-16129-1	<i>A. baumannii</i>	OXA-23	Gewebe Hüftpfanne	30.04.2013	>=128	-	-	-	>=16	>=16	-	>=4
301	13-U6782-3	<i>K. pneumoniae</i>	KPC-2	Urin	05.05.2013	-	<=4	<=1	<=1	<=1	<=0,25	<=0,5	>=4
302	13-A2502	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Stuhl	08.05.2013	-	>=128	>=64	16	2	1	4	1
303	13-A2682-1	<i>E. coli</i>	negativ	Stuhl	23.05.2013	-	64	>=64	>=64	<=0,25	<=0,25	>32	>=4
304	13-S13843-1	<i>K. oxytoca</i>	negativ	Leistenabstrich	01.07.2013	-	>=128	8	<=1	<=0,25	0,5	2	2
305	13-19109-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Trachealsekret	03.07.2013	>=128	>=128	<=1	<=1	1	32	>32	>=4
306	13-S14742-2	<i>K. oxytoca</i>	negativ	Leistenabstrich	07.07.2013	-	>=128	>=64	4	0,5	4	4	<=0,25
307	13-A3703-2	<i>E. coli</i>	negativ	Stuhl	14.07.2013	-	>=128	>=64	>=64	2	8	>=8	>=4
308	13-A3775-1	<i>E. coli</i>	negativ	Stuhl	19.07.2013	-	>=128	>=64	>=64	<=0,25	1	4	>=4
309	13-S24166-1	<i>E. cloacae</i>	negativ	Abstrich Rachen	21.09.2013	-	>=128	>=64	>=64	2	1	4	<=0,25

Nr.	Labor-nummer	Erreger	Resistenz	Material	Entnahmedatum	Pip (mg/L)	Pip/Tazo (mg/L)	Cefo (mg/L)	Cefta (mg/L)	Imi (mg/L)	Mero (mg/L)	Erta (mg/L)	Cipro (mg/L)
310	13-112726-2	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Analabstrich	24.09.2013	-	8	>=64	4	<=0,25	<=0,25	>=8	<=0,25
311	13-S25584-2	<i>E. coli</i>	negativ	Analabstrich	02.10.2013	>=128	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	>=8	>=4
312	13-U19352-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Urin	08.12.2013	<=4	<=4	-	<=1	<=1	1	-	<=0,25
313	14-14305-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Analabstrich	05.04.2014	>=128	>=128	<=1	32	>=16	8	<=0,5	0,5
314	14-05606-1	<i>A. baumannii</i>	OXA-24	Trachealsekret	09.04.2014	>=128	<=4	<=1	<=1	>=16	>=16	<=0,5	>=4
315	14-14591-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Trachealsekret	10.04.2014	-	>=128	>=64	>=64	2	1	4	>=4
316	14-U6165-2	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Urin	12.04.2014	>=128	>=128	<=1	16	>=16	>=16	<=0,5	0,5
317	14-S15305-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Leistenabstrich	15.04.2014	>=128	>=128	-	>=64	>=16	>=16	-	<=0,25
318	14-U6414-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Urin	15.04.2014	>=128	>=128	>=64	8	>=16	>=16	<=0,5	>=4
319	14-U6309-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Urin	15.04.2014	>=128	>=128	-	>=64	>=16	>=16	-	>=4
320	14-06150-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	17.04.2014	>=128	>=128	-	16	>=16	>=16	-	>=4
321	14-S15911-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Abstrich Rachen	22.04.2014	-	>=128	>=64	>=64	2	2	4	>=4
322	14-06301-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	23.04.2014	>=128	>=128	-	>=64	>=16	>=16	-	>=4
323	14-06301-2	<i>A. baumannii</i>	OXA-24	Trachealsekret	23.04.2014	>=128	>=128	-	>=64	>=16	>=16	-	>=4
324	14-I5366-1	<i>E. cloacae</i>	negativ	Leistenabstrich	28.04.2014	>=128	<=4	<=1	<=1	>=16	>=16	<=0,5	>=4
325	14-06581-2	<i>A. baumannii</i>	OXA-24	Abstrich Trachealkanüle	28.04.2014	-	>=128	>=64	>=64	1	4	>=8	<=0,25
326	14-A2028-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Stuhl	29.04.2014	64	>=128	-	16	>=16	4	-	>=4
327	14-S17282-1	<i>A. baumannii</i>	OXA-24	Trachealsekret	30.04.2014	>=128	-	-	-	>=16	>=16	-	>=4
328	14-06862-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Galle	02.05.2014	>=128	>=128	-	>=64	>=16	>=16	-	>=4
329	14-A2118-1	<i>P. putida</i>	negativ	Stuhl	02.05.2014	>=128	>=128	<=1	<=1	<=0,25	<=0,25	<=0,5	>=4
330	14-S17664-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Trachealsekret	04.05.2014	-	>=128	>=64	>=64	2	8	>=8	>=4
331	14-S17852-1	<i>K. pneumoniae</i>	NDM	Analabstrich	05.05.2014	>=128	>=128	<=1	>=64	>=16	>=16	<=0,5	>=4
332	14-U7367-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Urin	05.05.2014	64	>=128	-	16	>=16	>=16	-	>=4
333	14-07025-3	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Wundabstrich	05.05.2014	>=128	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	>=8	1
334	14-A2170-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Stuhl	08.05.2014	>=128	>=128	>=64	16	<=0,25	<=0,25	2	2
335	14-07384-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	09.05.2014	64	>=128	-	16	>=16	>=16	-	>=4
336	14-U7812-2	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Urin	12.05.2014	8	8	<=1	2	1	0,5	<=0,5	<=0,25
337	14-B8723-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Blutkultur	16.05.2014	>=128	>=128	-	>=64	>=16	>=16	-	>=4
338	14-U8097-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Urin	16.05.2014	>=128	>=128	-	>=64	>=16	>=16	-	>=4
339	14-S19441-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Leistenabstrich	18.05.2014	-	>=128	>=64	>=64	<=0,25	1	>=8	>=4
340	14-U8155-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Urin	18.05.2014	>=128	64	>=64	>=64	1	<=0,25	-	2
341	14-U8124-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Urin	18.05.2014	-	>=128	>=64	>=64	2	1	4	>=4
342	14-S19811-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	19.05.2014	64	>=128	-	16	>=16	>=16	-	<=0,25
343	14-07927-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	19.05.2014	64	32	-	>=64	>=16	>=16	-	1
344	14-S20571-1	<i>E. cloacae</i>	negativ	Abstrich Rachen	25.05.2014	-	>=128	>=64	>=64	1	0,5	4	<=0,25
345	14-S20778-1	<i>Serratia</i> spp.	negativ	Trachealsekret	25.05.2014	-	>=128	>=64	16	2	1	4	<=0,25
346	14-08419-1	<i>Serratia</i> spp.	OXA-48	Wundabstrich	25.05.2014	-	<=4	2	<=1	8	<=0,25	<=0,5	<=0,25
347	14-S20670-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Leistenabstrich	26.05.2014	-	>=128	>=64	>=64	<=0,25	2	>=8	>=4
348	14-S21067-1	<i>E. aerogenes</i>	negativ	Abstrich Rachen	26.05.2014	-	>=128	32	>=64	1	<=0,25	2	<=0,25
349	14-A2780-1	<i>E. cloacae</i>	VIM	Stuhl	28.05.2014	>=128	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	4	>=4

Nr.	Labor-nummer	Erreger	Resistenz	Material	Entnahmedatum	Pip (mg/L)	Pip/Tazo (mg/L)	Cefo (mg/L)	Cefta (mg/L)	Imi (mg/L)	Mero (mg/L)	Erta (mg/L)	Cipro (mg/L)
350	14-U9123-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Urin	01.06.2014	-	>=128	>=64	>=64	<=0,25	1	>=8	>=4
351	14-U9050-2	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Urin	01.06.2014	-	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	>=8	>=4
352	14-S22241-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Analabstrich	02.06.2014	16	<=4	<=1	<=1	8	<=0,25	<=0,5	<=0,25
353	14-U9198-2	<i>E. cloacae</i>	negativ	Urin	03.06.2014	-	64	>=64	>=64	<=0,25	<=0,25	0,25	>=4
354	14-S22432-2	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Leistenabstrich	04.06.2014	>=128	>=128	>=64	>=64	8	>=16	>=8	>=4
355	14-S22499-1	<i>E. cloacae</i>	negativ	Leistenabstrich	04.06.2014	-	>=128	>=64	>=64	<=0,25	<=0,25	4	>=4
356	14-08923-2	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Wundabstrich	05.06.2014	16	<=4	<=1	<=1	1	<=0,25	<=0,5	<=0,25
357	14-U9367-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Urin	06.06.2014	-	>=128	<=1	<=1	2	1	4	<=0,25
358	14-A3013-1	<i>E. coli</i>	negativ	Stuhl	08.06.2014	-	64	16	4	4	<=0,25	1	<=0,25
359	14-S23025-1	<i>Serratia</i> spp.	negativ	Trachealsekret	08.06.2014	-	>=128	>=64	>=64	1	2	>=8	>=4
360	14-S23494-1	<i>K. oxytoca</i>	NDM	Analabstrich	09.06.2014	-	>=128	>=64	4	>=16	8	>=8	0,5
361	14-I7512-2	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	12.06.2014	>=128	>=128	<=1	>=64	>=16	>=16	<=0,5	<=0,25
362	14-S23859-2	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Trachealsekret	12.06.2014	>=128	>=128	>=64	>=64	<=0,25	1	4	>=4
363	14-S24720-1	<i>K. pneumoniae</i>	NDM	Analabstrich	17.06.2014	-	>=128	>=64	>=64	2	>=16	>=8	1
364	14-A2904-2	<i>E. coli</i>	NDM	Stuhl	17.06.2014	>=128	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	>=8	>=4
365	14-S24812-1	<i>K. pneumoniae</i>	negativ	Leistenabstrich	18.06.2014	-	16	>=64	16	<=0,25	<=0,25	<=0,5	>=4
366	14-S24985-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Abstrich Rachen	20.06.2014	64	>=128	-	16	>=16	>=16	-	>=4
367	14-A2947-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Stuhl	20.06.2014	>=128	>=128	-	>=64	>=16	4	-	<=0,25
368	14-I7795-1	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Trachealsekret	21.06.2014	>=128	>=128	-	>=64	>=16	>=16	-	>=4
369	14-A2996-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Stuhl	22.06.2014	>=128	>=128	>=64	>=64	8	>=16	>=8	>=4
370	14-U10440-1	<i>P. aeruginosa</i>	GES	Urin	23.06.2014	>=128	64	-	>=64	>=16	>=16	-	>=4
371	14-I8022-1	<i>E. aerogenes</i>	negativ	Abstrich Abdomen	24.06.2014	64	>=128	-	16	>=16	>=16	-	0,5
372	14-09729-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Abstrich Trachealkanüle	24.06.2014	-	-	-	-	-	-	-	-
373	14-I8236-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	30.06.2014	>=128	>=128	-	32	>=16	>=16	-	>=4
374	14-U11013-1	<i>K. pneumoniae</i>	NDM	Urin	02.07.2014	>=128	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	>=8	>=4
375	14-010143-1	<i>A. baumannii</i>	OXA-23	Abstrich Trachealkanüle	02.07.2014	>=128	64	>=64	16	<=0,25	<=0,25	<=0,5	<=0,25
376	14-S27424-3	<i>A. baumannii</i>	OXA-23	Leistenabstrich	04.07.2014	>=128	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	>=8	>=4
377	14-S27424-2	<i>K. pneumoniae</i>	NDM	Leistenabstrich	04.07.2014	>=128	>=128	>=64	>=64	>=16	>=16	>=8	>=4
378	14-U11075-3	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Urin	04.07.2014	64	>=128	>=64	>=64	8	>=16	>=8	>=4
379	14-U11200-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Urin	05.07.2014	>=128	>=128	-	32	>=16	4	-	2
380	14-S27782-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	07.07.2014	>=128	>=128	-	32	>=16	>=16	-	<=0,25
381	14-S28452-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Leistenabstrich	08.07.2014	>=128	>=128	-	32	2	6	-	>=4
382	14-U11501-3	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Urin	09.07.2014	>=128	>=128	<=1	32	>=16	>=16	-	>=4
383	14-U11553-3	<i>P. aeruginosa</i>	VIM	Urin	09.07.2014	-	8	<=1	<=1	<=0,25	<=0,25	<=0,5	1
384	14-010481-2	<i>A. baumannii</i>	OXA-24	Trachealsekret	10.07.2014	>=128	>=128	>=64	32	1	<=0,25	<=0,5	<=0,25
385	14-I8795-2	<i>E. cloacae</i>	negativ	Galle	12.07.2014	-	>=128	>=64	>=64	4	1	2	>=4
386	14-I8795-3	<i>E. cloacae</i>	negativ	Galle	12.07.2014	-	>=128	>=64	>=64	4	1	2	>=4
387	14-U11668-1	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	Urin	13.07.2014	-	>=128	>=64	>=64	<=1	1	>=8	>=4
388	14-S29355-1	<i>A. baumannii</i>	OXA-23	Leistenabstrich	14.07.2014	>=128	-	-	-	>=16	>=16	-	>=4
389	14-S29340-1	<i>E. coli</i>	negativ	Analabstrich	15.07.2014	-	>=128	>=64	2	2	4	>=8	2

Nr.	Labor-nummer	Erreger	Resistenz	Material	Entnahmedatum	Pip (mg/L)	Pip/Tazo (mg/L)	Cefo (mg/L)	Cefta (mg/L)	Imi (mg/L)	Mero (mg/L)	Erta (mg/L)	Cipro (mg/L)
390	14-U11817-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Urin	15.07.2014	>=128	32	-	>=64	>=16	>=16	-	>=4
391	14-l8962-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Bronchiallavage	16.07.2014	-	>=128	8	>=64	>=16	>=16	>=8	>=4
392	14-010810-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	16.07.2014	>=128	>=128	-	>=64	>=16	>=16	-	>=4
393	14-U11867-1	<i>E. coli</i>	negativ	Urin	16.07.2014	64	32	-	16	2	4	-	1
394	14-l9033-1	<i>A. baumannii</i>	OXA-24	Bronchiallavage	18.07.2014	>=128	-	-	-	>=16	>=16	-	>=4
395	14-S30096-1	<i>E. aerogenes</i>	negativ	Analabstrich	20.07.2014	-	>=128	32	>=64	2	2	>=8	<=0,25
396	14-B12988-1	<i>E. coli</i>	OXA-48	Blutkultur	22.07.2014	-	>=128	>=64	16	2	8	>=8	1
397	14-S30445-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Leistenabstrich	22.07.2014	>=128	>=128	-	>=64	>=16	>=16	-	>=4
398	14-S30768-1	<i>P. aeruginosa</i>	negativ	Trachealsekret	23.07.2014	32	32	-	8	>=16	>=16	-	2

**Tab. 15:** Patienten, von denen das untersuchte Material dieser Arbeit stammte. Patienten nach CPE-Nachweis und Alter bei Probenentnahme, MRSA-/VRE-Status, Behandlungsort (UKB in-/extern), Stationsart, Geschlecht und Herkunft. M= männlich, w= weiblich, a= ausländisch, d= deutsch. Fortführung der Tabelle bis einschließlich Seite 109.

Nr.	CPE	Alter bei Erstdnachweis	MRSA	VRE	UKB in-/extern	Stationsart	Geschlecht	Herkunft
1	positiv	27	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	a
2	positiv	31	positiv	negativ	extern	Normalstation	m	d
3	positiv	46	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	d
4	positiv	27	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	a
5	positiv	62	negativ	negativ	intern	Normalstation	m	d
6	negativ	68	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	a
7	negativ	49	negativ	negativ	intern	Ambulanz	w	a
8	negativ	51	positiv	negativ	intern	Normalstation	m	d
9	positiv	85	positiv	negativ	extern	Normalstation	m	d
10	positiv	48	positiv	negativ	extern	Normalstation	m	d
11	positiv	70	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	d
12	positiv	52	positiv	negativ	intern	Normalstation	m	d
13	positiv	46	positiv	negativ	intern	Normalstation	w	a
14	positiv	49	negativ	positiv	intern	Normalstation	w	d
15	positiv	21	positiv	negativ	extern	Normalstation	m	d
16	positiv	56	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	d
17	positiv	64	negativ	negativ	intern	Normalstation	w	a
18	positiv	53	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	a
19	positiv	83	negativ	negativ	extern	Normalstation	w	d
20	positiv	113	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	a
21	positiv	68	positiv	positiv	extern	Normalstation	m	d
22	positiv	63	negativ	positiv	intern	Intensivstation	w	d
23	positiv	65	positiv	negativ	extern	Normalstation	w	d
24	positiv	44	negativ	positiv	intern	Normalstation	m	d
25	positiv	61	negativ	negativ	intern	Normalstation	m	d
26	negativ	74	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	d
27	positiv	48	negativ	positiv	intern	Normalstation	w	d
28	positiv	25	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	a
29	positiv	44	negativ	negativ	intern	Normalstation	m	d
30	positiv	63	negativ	negativ	intern	Normalstation	m	d
31	positiv	59	negativ	negativ	intern	Normalstation	m	a
32	positiv	79	negativ	negativ	intern	Normalstation	w	d
33	positiv	72	negativ	negativ	intern	Normalstation	m	d
34	negativ	62	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	a
35	positiv	83	negativ	negativ	extern	Intensivstation	m	d
36	positiv	48	positiv	negativ	extern	Intensivstation	m	d
37	positiv	43	negativ	negativ	intern	Normalstation	m	a
38	positiv	61	positiv	positiv	intern	Normalstation, Intensivstation	m	d
39	positiv	66	negativ	positiv	intern	Intensivstation	w	d
40	positiv	73	negativ	negativ	intern	Normalstation	m	a
41	positiv	53	positiv	negativ	extern	Normalstation	m	a
42	positiv	46	negativ	negativ	intern	Intensivstation	w	d
43	negativ	77	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	a
44	negativ	20	positiv	negativ	extern	Normalstation	w	d
45	positiv	26	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	a
46	negativ	69	negativ	positiv	intern	Intensivstation	m	d

Nr.	CPE	Alter bei Erstnachweis	MRSA	VRE	UKB in-/extern	Stationsart	Geschlecht	Herkunft
47	negativ	72	negativ	negativ	intern	Ambulanz	m	d
48	negativ	79	positiv	negativ	intern	Normalstation	m	d
49	negativ	76	negativ	positiv	intern	Notfallzentrum	m	d
50	positiv	75	positiv	negativ	extern	Normalstation	m	d
51	negativ	81	negativ	positiv	intern	Intensivstation	m	d
52	positiv	71	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	d
53	negativ	62	negativ	positiv	intern	Intensivstation	m	d
54	negativ	30	positiv	negativ	extern	Normalstation	m	a
55	negativ	0	negativ	negativ	intern	Intensivstation	w	d
56	positiv	60	negativ	positiv	intern	Intensivstation	m	d
57	positiv	35	negativ	positiv	intern	Normalstation	m	a
58	positiv	61	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	d
59	positiv	66	negativ	negativ	intern	Intensivstation	w	d
60	negativ	47	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	a
61	negativ	20	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	d
62	positiv	69	negativ	positiv	intern	Normalstation, Intensivstation	w	d
63	negativ	56	negativ	positiv	intern	Ambulanz	w	a
64	positiv	51	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	d
65	negativ	83	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	d
66	negativ	75	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	d
67	positiv	52	negativ	positiv	intern	Normalstation	m	a
68	positiv	47	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	d
69	negativ	37	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	a
70	negativ	55	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	d
71	negativ	18	positiv	negativ	extern	Normalstation	w	d
72	positiv	67	negativ	negativ	intern	Normalstation	w	d
73	positiv	83	negativ	positiv	intern	Normalstation	w	d
74	negativ	62	negativ	positiv	extern	Normalstation	w	d
75	negativ	75	positiv	positiv	extern	Normalstation	m	d
76	negativ	78	negativ	negativ	extern	Normalstation	w	d
77	negativ	16	negativ	negativ	intern	Intensivstation	w	d
78	negativ	80	positiv	negativ	extern	Normalstation	m	d
79	positiv	42	negativ	negativ	intern	Normalstation	m	d
80	negativ	69	negativ	positiv	intern	Normalstation	m	d
81	positiv	63	positiv	negativ	extern	Normalstation	m	a
82	negativ	76	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	a
83	negativ	56	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	d
84	positiv	61	positiv	positiv	extern	Normalstation	m	d
85	negativ	39	positiv	negativ	extern	Normalstation	m	a
86	negativ	113	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	a
87	negativ	75	negativ	positiv	intern	Intensivstation	m	d
88	negativ	32	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	a
89	negativ	81	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	a
90	positiv	26	positiv	negativ	extern	Normalstation	w	a
91	negativ	26	negativ	positiv	intern	Intensivstation	w	d
92	negativ	65	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	d
93	negativ	48	negativ	positiv	extern	Normalstation	m	d
94	positiv	87	negativ	positiv	extern	Normalstation	m	d
95	positiv	64	positiv	negativ	extern	Normalstation	w	d
96	positiv	54	negativ	positiv	intern	Intensivstation	w	d
97	negativ	3	positiv	negativ	intern	Intensivstation	m	a
98	negativ	75	negativ	negativ	extern	Intensivstation	w	a
99	positiv	6	negativ	negativ	intern	Ambulanz	m	a
100	negativ	59	negativ	negativ	intern	Intensivstation	w	a



Nr.	CPE	Alter bei Erstdnachweis	MRSA	VRE	UKB in-/extern	Stationsart	Geschlecht	Herkunft
101	negativ	60	positiv	positiv	extern	Intensivstation	m	d
102	positiv	88	negativ	negativ	intern	Normalstation	w	d
103	positiv	38	negativ	negativ	intern	Notfallzentrum	m	a
104	positiv	60	positiv	negativ	extern	Normalstation	m	d
105	negativ	76	negativ	negativ	extern	Normalstation	w	d
106	negativ	78	negativ	positiv	intern	Normalstation	m	a
107	negativ	81	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	a
108	positiv	82	negativ	positiv	extern	Normalstation	m	d
109	positiv	75	negativ	negativ	intern	Normalstation	m	d
110	negativ	68	negativ	positiv	extern	Intensivstation	m	d
111	positiv	77	negativ	negativ	intern	Normalstation	m	a
112	negativ	82	positiv	negativ	extern	Normalstation	m	d
113	positiv	68	positiv	negativ	extern	Intensivstation	m	a
114	positiv	52	positiv	positiv	intern, extern	Normalstation, Intensivstation	m	d
115	positiv	65	positiv	negativ	extern	Normalstation, Intensivstation	m	a
116	negativ	73	negativ	negativ	intern	Ambulanz	m	d
117	negativ	41	positiv	negativ	extern	Normalstation	w	d
118	positiv	63	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	d
119	negativ	69	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	d
120	negativ	46	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	d
121	negativ	61	positiv	negativ	extern	Normalstation	m	a
122	positiv	24	positiv	negativ	intern, extern	Normalstation	m	a
123	negativ	60	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	a
124	positiv	14	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	a
125	negativ	63	negativ	positiv	intern	Intensivstation	m	d
126	negativ	80	negativ	negativ	extern	Normalstation	w	d
127	negativ	0	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	a
128	negativ	76	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	d
129	negativ	64	negativ	negativ	extern	Normalstation	w	d
130	positiv	81	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	a
131	negativ	0	negativ	negativ	intern	Intensivstation	w	d
132	positiv	18	negativ	positiv	intern	Normalstation	m	a
133	positiv	21	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	a
134	positiv	39	negativ	negativ	intern, extern	Normalstation, Intensivstation	m	a
135	negativ	80	positiv	negativ	intern	Intensivstation	m	d
136	negativ	64	negativ	positiv	intern	Intensivstation	w	d
137	positiv	22	positiv	negativ	extern	Normalstation	m	a
138	negativ	69	positiv	negativ	extern	Normalstation	m	d
139	positiv	72	positiv	negativ	intern	Notfallzentrum	m	d
140	negativ	71	positiv	positiv	intern	Normalstation	w	d
141	negativ	56	negativ	positiv	intern	Intensivstation	m	a
142	negativ	63	negativ	positiv	intern	Intensivstation	m	d
143	positiv	47	negativ	negativ	intern	Normalstation	w	a
144	negativ	52	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	d
145	negativ	64	negativ	positiv	intern	Normalstation	m	d
146	positiv	39	negativ	negativ	intern	Normalstation	w	a
147	negativ	76	positiv	negativ	intern	Intensivstation	m	d
148	negativ	77	negativ	positiv	extern	Normalstation	m	a
149	positiv	50	negativ	negativ	extern	Intensivstation	m	d
150	negativ	57	negativ	positiv	intern	Intensivstation	m	d
151	positiv	60	negativ	negativ	intern	Normalstation	w	d
152	positiv	73	negativ	negativ	intern	Intensivstation	w	d

Nr.	CPE	Alter bei Erstnachweis	MRSA	VRE	UKB in-/extern	Stationsart	Geschlecht	Herkunft
153	positiv	66	negativ	positiv	intern	Ambulanz	m	d
154	negativ	61	negativ	negativ	intern	Ambulanz	w	a
155	positiv	47	negativ	positiv	intern, extern	Normalstation, Intensivstation	m	a
156	positiv	77	negativ	positiv	extern	Intensivstation	w	a
157	negativ	42	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	d
158	negativ	60	negativ	negativ	intern	Normalstation	m	d
159	negativ	68	negativ	negativ	intern	Normalstation	w	a
160	negativ	80	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	d
161	negativ	72	negativ	positiv	intern	Intensivstation	w	d
162	negativ	48	negativ	positiv	extern	Intensivstation	w	d
163	negativ	47	positiv	positiv	intern	Normalstation	w	a
164	negativ	59	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	d
165	negativ	65	positiv	negativ	extern	Normalstation, Intensivstation	m	d
166	negativ	79	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	a
167	positiv	71	negativ	negativ	intern	Normalstation, Intensivstation	m	d
168	negativ	54	positiv	positiv	extern	Intensivstation	m	d
169	positiv	64	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	d
170	positiv	59	negativ	negativ	intern	Intensivstation	w	d
171	positiv	67	negativ	positiv	intern	Normalstation	m	d
172	negativ	73	negativ	positiv	intern	Normalstation	w	d
173	negativ	76	negativ	positiv	intern	Normalstation, Tagesklinik	m	d
174	positiv	76	positiv	positiv	extern	Normalstation, Intensivstation	m	d
175	positiv	59	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	d
176	positiv	64	negativ	negativ	intern	Normalstation	w	d
177	negativ	56	positiv	negativ	extern	Normalstation	m	d
178	positiv	49	negativ	positiv	intern	Intensivstation	w	d
179	positiv	70	positiv	negativ	intern	Normalstation	m	d
180	positiv	70	positiv	negativ	extern	Normalstation	m	d
181	negativ	79	negativ	positiv	intern	Normalstation	m	d
182	negativ	58	negativ	positiv	intern	Intensivstation	w	d
183	negativ	73	positiv	positiv	intern	Intensivstation	m	d
184	negativ	59	negativ	negativ	intern	Normalstation	m	d
185	negativ	74	positiv	negativ	intern	Intensivstation	m	d
186	negativ	84	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	d
187	negativ	65	negativ	negativ	intern	Normalstation	w	d
188	negativ	62	negativ	positiv	intern	Intensivstation	m	d
189	positiv	21	negativ	negativ	intern	Normalstation	m	d
190	positiv	55	negativ	negativ	intern	Ambulanz	m	d
191	negativ	63	negativ	positiv	intern	Intensivstation	m	d
192	negativ	58	negativ	negativ	extern	Normalstation	w	d
193	negativ	61	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	d
194	positiv	51	negativ	negativ	intern	Normalstation	m	a
195	negativ	77	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	d
196	negativ	81	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	d
197	negativ	66	negativ	negativ	intern	Intensivstation	w	d
198	positiv	61	negativ	negativ	intern	Normalstation	m	d
199	positiv	59	negativ	positiv	extern	Normalstation	m	d
200	negativ	54	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	d
201	negativ	65	negativ	negativ	extern	Normalstation	w	d
202	negativ	62	negativ	positiv	intern	Normalstation	m	d

Nr.	CPE	Alter bei Erstnachweis	MRSA	VRE	UKB in-/extern	Stationsart	Geschlecht	Herkunft
203	negativ	48	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	d
204	negativ	81	negativ	positiv	intern	Intensivstation	m	a
205	negativ	72	positiv	negativ	extern	Normalstation	w	d
206	negativ	79	negativ	negativ	extern	Normalstation	w	d
207	positiv	75	negativ	positiv	intern	Normalstation, Intensivstation	m	d
208	positiv	68	positiv	negativ	extern	Normalstation	m	d
209	positiv	58	negativ	positiv	intern	Normalstation	w	d
210	positiv	35	positiv	positiv	extern	Normalstation	m	a
211	negativ	52	positiv	negativ	extern	Normalstation	m	d
212	negativ	64	negativ	negativ	intern	Intensivstation	w	d
213	positiv	68	negativ	negativ	extern	Normalstation, Intensivstation	m	a
214	positiv	69	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	a
215	negativ	23	positiv	negativ	extern	Normalstation	m	a
216	positiv	30	negativ	negativ	extern	Normalstation	w	a
217	negativ	46	positiv	positiv	extern	Normalstation	w	a
218	negativ	2	negativ	negativ	intern	Ambulanz	w	a
219	negativ	45	negativ	positiv	intern	Normalstation	w	d
220	negativ	15	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	a
221	positiv	58	negativ	negativ	intern	Tagesklinik	m	a
222	negativ	50	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	d
223	positiv	51	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	a
224	negativ	83	negativ	negativ	intern	Normalstation	m	d
225	positiv	77	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	d
226	negativ	70	negativ	negativ	intern	Normalstation	w	d
227	positiv	50	negativ	negativ	intern	Ambulanz	w	a
228	negativ	76	negativ	negativ	extern	Intensivstation	m	d
229	negativ	76	negativ	positiv	extern	Normalstation	m	d
230	negativ	75	positiv	negativ	intern	Intensivstation	w	a
231	negativ	71	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	d
232	negativ	75	negativ	negativ	intern	Normalstation	w	d
233	positiv	25	positiv	negativ	extern	Normalstation	m	a
234	negativ	60	positiv	positiv	intern	Normalstation	m	a
235	positiv	80	negativ	positiv	intern	Normalstation	m	d
236	negativ	79	negativ	positiv	extern	Normalstation	m	d
237	negativ	64	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	d
238	positiv	50	positiv	positiv	intern	Normalstation	m	d
239	negativ	74	positiv	negativ	intern	Normalstation	w	a
240	negativ	81	negativ	positiv	intern	Intensivstation	w	d
241	negativ	65	positiv	negativ	intern	Normalstation	m	d
242	positiv	49	positiv	negativ	extern	Normalstation	m	d
243	negativ	45	negativ	positiv	intern	Intensivstation	m	d
244	negativ	64	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	d
245	negativ	1	negativ	negativ	intern	Intensivstation	w	d
246	positiv	48	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	d
247	negativ	2	negativ	negativ	intern	Intensivstation	w	a
248	negativ	68	negativ	negativ	intern	Ambulanz	m	d
249	positiv	13	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	a
250	negativ	85	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	d
251	negativ	32	negativ	negativ	intern	Normalstation	w	a
252	positiv	44	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	a
253	positiv	31	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	a
254	negativ	80	negativ	negativ	extern	Normalstation	w	a
255	negativ	74	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	a

Nr.	CPE	Alter bei Erstnachweis	MRSA	VRE	UKB in-/extern	Stationsart	Geschlecht	Herkunft
256	positiv	81	positiv	positiv	extern	Intensivstation	m	d
257	positiv	66	negativ	negativ	intern	Normalstation	m	d
258	negativ	61	positiv	positiv	intern	Normalstation	w	d
259	positiv	66	positiv	positiv	extern	Normalstation	m	a
260	negativ	31	negativ	negativ	intern	Ambulanz	w	d
261	negativ	84	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	d
262	negativ	18	positiv	negativ	extern	Normalstation	m	d
263	negativ	52	positiv	negativ	extern	Normalstation	m	d
264	positiv	77	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	d
265	negativ	72	negativ	positiv	intern	Intensivstation	w	d
266	negativ	70	negativ	positiv	intern	Intensivstation	m	a
267	positiv	53	positiv	positiv	intern	Normalstation	m	a
268	negativ	21	positiv	negativ	intern	Notfallzentrum	w	a
269	negativ	64	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	d
270	positiv	61	positiv	negativ	extern	Normalstation	w	d
271	positiv	79	negativ	negativ	intern	Intensivstation	w	d
272	positiv	30	positiv	negativ	extern	Normalstation	m	a
273	negativ	85	negativ	positiv	intern	Intensivstation	w	d
274	positiv	83	negativ	negativ	extern	Normalstation	w	d
275	negativ	71	negativ	positiv	intern	Normalstation	m	d
276	positiv	67	positiv	negativ	extern	Normalstation	m	d
277	negativ	75	negativ	negativ	intern	Normalstation	m	d
278	negativ	66	positiv	negativ	extern	Normalstation	m	d
279	negativ	76	negativ	negativ	extern	Normalstation	w	d
280	negativ	21	negativ	negativ	extern	Normalstation	w	d
281	negativ	71	negativ	negativ	intern	Normalstation	m	d
282	negativ	60	negativ	positiv	intern	Intensivstation	w	d
283	negativ	10	negativ	positiv	intern	Intensivstation	m	a
284	negativ	30	negativ	negativ	intern	Normalstation	m	a
285	negativ	41	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	d
286	positiv	67	positiv	positiv	extern	Normalstation	m	d
287	negativ	70	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	d
288	negativ	70	negativ	negativ	extern	Normalstation	w	d
289	positiv	70	negativ	positiv	extern	Normalstation	m	d
290	positiv	66	negativ	negativ	extern	Normalstation	w	d
291	negativ	66	negativ	negativ	intern	Notfallzentrum	m	d
292	negativ	79	negativ	positiv	intern	Normalstation	m	d
293	negativ	75	negativ	negativ	intern	Ambulanz	m	d
294	positiv	53	negativ	negativ	extern	Normalstation	w	d
295	negativ	49	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	d
296	negativ	78	negativ	negativ	extern	Intensivstation	w	d
297	positiv	62	negativ	negativ	intern	Normalstation	w	d
298	positiv	77	positiv	positiv	extern	Normalstation	m	d
299	positiv	42	positiv	negativ	extern	Normalstation	m	d
300	positiv	55	negativ	positiv	intern	Intensivstation	m	d
301	positiv	51	negativ	positiv	intern	Normalstation	m	d
302	negativ	73	negativ	positiv	extern	Intensivstation	m	d
303	positiv	79	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	d
304	positiv	62	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	d
305	negativ	2	positiv	negativ	intern	Intensivstation	w	d
306	negativ	59	negativ	negativ	extern	Normalstation	w	d
307	positiv	43	negativ	positiv	intern	Ambulanz	m	d
308	negativ	69	negativ	positiv	intern	Normalstation	w	d
309	negativ	81	negativ	negativ	intern	Normalstation	m	d
310	positiv	69	negativ	negativ	intern	Intensivstation	m	d

<b>Nr.</b>	<b>CPE</b>	<b>Alter bei Erstnachweis</b>	<b>MRSA</b>	<b>VRE</b>	<b>UKB in-/extern</b>	<b>Stationsart</b>	<b>Geschlecht</b>	<b>Herkunft</b>
311	positiv	55	negativ	negativ	extern	Normalstation	w	a
312	positiv	47	negativ	negativ	intern	Ambulanz	w	d
313	negativ	54	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	a
314	negativ	50	negativ	positiv	intern	Normalstation	w	a
315	positiv	76	negativ	negativ	intern	Normalstation	w	d
316	negativ	67	negativ	positiv	intern	Normalstation	m	d
317	positiv	62	negativ	negativ	intern	Normalstation	m	a
318	negativ	85	negativ	negativ	extern	Normalstation	m	d
319	negativ	70	negativ	negativ	intern	Intensivstation	w	d
320	positiv	41	negativ	negativ	intern	Normalstation	m	d

## 7. Literaturverzeichnis

Álvarez-Buylla A, Picazo JJ, Culebras E. Optimized Method for *Acinetobacter* Species Carbapenemase Detection and Identification by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. *J Clin Microbiol* 2013; 51: 1589-1592

American Type Culture Collection, LGC Standards, 2014: Quality Accreditations. [http://www.lgcstandards-atcc.org/~link.aspx?\\_id=BAF688A22B9A4F238B3B87C8E8110816&\\_z=z&geo\\_country=de](http://www.lgcstandards-atcc.org/~link.aspx?_id=BAF688A22B9A4F238B3B87C8E8110816&_z=z&geo_country=de) (Zugriffsdatum: 15.12.2014)

Arias CA, Murray BE. The rise of the *Enterococcus*: beyond vancomycin resistance. *Nature Rev Microbiol* 2012; 10: 266-278

Arrieta MC, Stiemsma LT, Amenyogbe N, Brown EM, Finlay B. The intestinal microbiome in early life: health and disease. *Front Immunol* 2014; 5: 427-445

Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, Fernandes GR, Tap J, Bruls T, Batto JM, Bertalan M, Borruel N, Casellas F, Fernandez L, Gautier L, Hansen T, Hattori M, Hayashi T, Kleerebezem M, Kurokawa K, Leclerc M, Levenez F, Manichanh C, Nielsen HB, Nielsen T, Pons N, Poulain J, Qin J, Sicheritz-Ponten T, Tims S, Torrents D, Ugarte E, Zoetendal EG, Wang J, Guarner F, Pedersen O, de Vos WM, Brunak S, Doré J, Weissenbach J, Ehrlich SD, Bork P. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 2011; 473: 174-180

Bartolini A, Frasson I, Cavallaro A, Richter SN, Palù G. Comparison of phenotypic methods for the detection of carbapenem non-susceptible *Enterobacteriaceae*. *Gut pathogens* 2014; 6: 13-19

Beaber JW, Hochhut B, Waldor MK. SOS response promotes horizontal dissemination of antibiotic resistance genes. *Nature* 2004; 427: 72-74

Bedenić B, Plečko V, Sardelić S, Uzunović S, Godič Torkar K. Carbapenemases in Gram-Negative Bacteria: Laboratory Detection and Clinical Significance. *BioMed Research International* 2014; 2014 (e841951): 1-3

Boyanova L, Kolarov R, Mitov I. Recent evolution of antibiotic resistance in the anaerobes as compared to previous decades. *Anaerobe* 2014; 31: 1-7

Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V., Infektiologie Freiburg. GERMAP 2012 - Bericht über den Antibiotikaverbrauch und die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen in der Human- und Veterinärmedizin in Deutschland. *Antiinfectives Intelligence Rheinbach*, 2014

Bundesminister für Verkehr, Bau und Stadtentwicklung, 2013. Anlage zur Bekanntmachung der Neufassung der Anlagen A und B des Europäischen Übereinkommens vom 30. September 1957 über die internationale Beförderung gefährlicher Güter auf der Straße (ADR). Bundesgesetzbl II 2013; 15: 648-1802

Bundesministerium für Gesundheit, 2015: Bekämpfung resistenter Erreger: 10-Punkte-Plan zur Vermeidung behandlungsassoziierter Infektionen und Antibiotika-Resistenzen. <http://www.bmg.bund.de/ministerium/meldungen/2015/10-punkte-plan-zu-antibiotika-resistenzen.html> (Zugriffsdatum: 01.04.2015)

Burckhardt I, Zimmermann S. Using Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry to Detect Carbapenem Resistance within 1 to 2.5 Hours. J Clin Microbiol 2011; 49: 3321-3324

Cantón R, Akóva M, Carmeli Y, Giske CG, Glupczynski Y, Gniadkowski M, Livermore DM, Miriagou V, Naas T, Rossolini GM, Samuelsen O, Seifert H, Wooford N, Nordmann P. Rapid evolution and spread of carbapenemases among *Enterobacteriaceae* in Europe. Clin Microbiol Infect 2012; 18: 413-431

Carrër A, Poirel L, Eraksoy H, Cagatay AA, Badur S, Nordmann P. Spread of OXA-48-Positive Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Isolates in Istanbul, Turkey. Antimicrob Agents Chemother 2008; 52: 2950-2954

Carrër A, Poirel L, Yilmaz M, Akan ÖA, Feriha C, Cuzon G, Matar G, Honderlick P, Nordmann P. Spread of OXA-48-Encoding Plasmid in Turkey and Beyond. Antimicrob Agents Chemother 2010; 54: 1369-1373

CDC-Centers for Disease Control and Prevention, 2013: *Pseudomonas aeruginosa* in Healthcare Settings. <http://www.cdc.gov/hai/organisms/pseudomonas.html> (Zugriffsdatum: 26.03.2015)

Chen L, Mathema B, Pitout JDD, DeLeo FR, Kreiswirth BN. Epidemic *Klebsiella pneumoniae* ST258 Is a Hybrid Strain. mBio 2014; 5 (e01355-14): 1-8

Chen L, Mediavilla JR, Endimiani A, Rosenthal ME, Zhao Y, Bonomo RA, Kreiswirth BN. Multiplex real-time PCR assay for detection and classification of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase gene (*bla<sub>KPC</sub>*) variants. J Clin Microbiol 2011; 49: 579-585

Chen L, Mediavilla JR, Oliveira DC, Willey BM, de Lencastre H, Kreiswirth BN. Multiplex Real-Time PCR for Rapid Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* Typing. J Clin Microbiol 2009; 47: 3692-3706

Costello EK, Lauber CL, Hamady M, Fierer N, Gordon JI, Knight R. Bacterial Community Variation in Human Body Habitats Across Space and Time. Science 2009; 326: 1694-1697

Cuzon G, Ouanich J, Gondret R, Naas T, Nordmann P. Outbreak of OXA-48-Positive Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Isolates in France. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 55: 2420-2423

Dellit TH, Owens RC, McGowan JE, Gerding DN, Weinstein RA, Burke JP, Huskins WC, Paterson DL, Fishman NO, Carpenter CF, Brennan PJ, Billeter M, Hooton TM. Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America Guidelines for Developing an Institutional Program to Enhance Antimicrobial Stewardship. *Clin Infect Dis* 2007; 44: 159-177

Deplano A, Denis O, Rodriguez-Villalobos H, de Ryck R, Struelens MJ, Hallin M. Controlled Performance Evaluation of the DiversiLab Repetitive-Sequence-Based Genotyping System for Typing Multidrug-Resistant Health Care-Associated Bacterial Pathogens. *J Clin Microbiol* 2011; 49: 3616-3620

DiazGranados CA, Zimmer SM, Klein M, Jernigan JA. Comparison of Mortality Associated with Vancomycin-Resistant and Vancomycin-Susceptible Enterococcal Bloodstream Infections: A Meta-Analysis. *Clin Infect Dis* 2005; 41: 327-333

Dorak MT. Real-Time PCR. 1. Auflage. Abingdon: Taylor & Francis Group, 2006

Doumith M, Ellington MJ, Livermore DM, Woodford N. Molecular mechanisms disrupting porin expression in ertapenem-resistant *Klebsiella* and *Enterobacter* spp. clinical isolates from the UK. *J Antimicrob Chemother* 2009; 63: 659-667

European Center for Disease Prevention and Control, 2012: Summary of the latest data on antibiotic consumption in the European Union. <http://ecdc.europa.eu/en/eaad/Documents/ESAC-Net-summary-antibiotic-consumption.pdf> (Zugriffsdatum: 27.10.2014)

European Centre for Disease Prevention and Control, 2011: Risk assessment on the spread of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (CPE) through patient transfer between healthcare facilities, with special emphasis on cross-border transfer. [http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/110913\\_Risk\\_assessment\\_resistant\\_CPE.pdf](http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/110913_Risk_assessment_resistant_CPE.pdf) (Zugriffsdatum: 01.11.2014)

Fachgebiet Nosokomiale Infektionen des RKI. ESBL und AmpC:  $\beta$ -Laktamasen als eine Hauptursache der Cephalosporin-Resistenz bei Enterobakterien. *Epid Bull* 2007; 28: 247-250

Fluit AC, Terlingen AM, Andriessen L, Ikawaty R, van Mansfeld R, Top J, Stuart JWC, Leverstein-van Hall MA, Boel CHE. Evaluation of the DiversiLab system for Detection of Hospital Outbreaks of Infections by Different Bacterial Species. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 3979-3989

Gressner AM, Arndt T. Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik Bd. 1: Klinische Chemie. 1. Auflage. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2006



Groß U. Kurzlehrbuch Med. Mikrobiologie und Infektiologie. 1. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG, 2006

Gupta N, Limbago BM, Patel JB, Kallen AJ. Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: Epidemiology and Prevention. Clin Infect Dis 2011; 53: 60-67

Hill DA, Hoffmann C, Abt MC, Du Y, Kobuley D, Kirn TJ, Bushman FD, Artis D. Metagenomic analyses reveal antibiotic-induced temporal and spatial changes in intestinal microbiota with associated alterations in immune cell homeostasis. Mucosal Immunol 2010; 3: 148-158

Hindiyeh M, Smollen G, Grossman Z, Ram D, Davidson Y, Mileguir F, Vax M, David DB, Tal I, Rahav G, Shamiss A, Mendelson E, Keller N. Rapid Detection of *bla<sub>KPC</sub>* Carbapenemase Genes by Real-Time PCR. J Clin Microbiol 2008; 46: 2879-2883

Ho J, Tambyah PA, Paterson DL. Multiresistant Gram-negative infections: a global perspective. Curr Opin Infect Dis 2010; 23: 546-553

Hoban DJ. Antibiotics and collateral damage. Clin Cornerstone 2003; Suppl 3: S12-20

Hof H, Dörries R. Duale Reihe Medizinische Mikrobiologie. 4. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG, 2009

Hofko M, Mischnik A, Kaase M, Zimmermann S, Dalpke AH. Detection of Carbapenemases by real-time PCR and Melt Curve Analysis on the BD Max System. J Clin Microbiol 2014; 52: 1701-1704

Hoskin-Parr L, Teyhan A, Blocker A, Henderson AJW. Antibiotic exposure in the first two years of life and development of asthma and other allergic diseases by 7.5 yr: a dose-dependent relationship. Pediatr. Allergy and immunology: official publication of the European Society of Pediatric Allergy Immunol 2013; 24: 762-771

Hospenthal DR, Crouch HK, English JF, Leach F, Pool J, Conger NG, Whitman TJ, Wortmann GW, Robertson JL, Murray CK. Multidrug-resistant bacterial colonization of combat-injured personnel at admission to medical centers after evacuation from Afghanistan and Iraq. J Trauma 2011; 71: 52-57

Hrabák J, Študentová V, Walková R, Žemličková H, Jakubů V, Chudáčková E, Gniadkowski M, Pfeifer Y, Perry JD, Wilkinson K, Bergerová T. Detection of NDM-1, VIM-1, KPC, OXA-48, and OXA-162 Carbapenemases by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. J Clin Microbiol 2012; 50: 2441-2443

Hrabák J, Walková R, Studentová V, Chudáčková E, Bergerová T. Carbapenemase Activity Detection by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. J Clin Microbiol 2011; 49: 3222-3227

Jakobsson HE, Jernberg C, Andersson AF, Sjölund-Karlsson M, Jansson JK, Engstrand L. Short-Term Antibiotic Treatment Has Differing Long-Term Impacts on the Human Throat and Gut Microbiome. *PloS One* 2010; 5 (e9836): 1-12

Jasoy C, Schwarzkopf A. Hygiene, Infektiologie, Mikrobiologie. 2. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG, 2013

Jenkins SG. Infections due to anaerobic bacteria and the role of antimicrobial susceptibility testing of anaerobes. *Reviews in Medical Microbiology* 2001; 12: 1-12

Jernberg C, Löfmark S, Edlund C, Jansson JK. Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota. *ISME J* 2007; 1: 56-66

Johansson A, Ekelöf J, Giske CG, Sundqvist M. The detection and verification of carbapenemases using ertapenem and Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight. *BMC Microbiol* 2014; 14: 89-97

Johnson JK, Smith G, Lee MS, Venezia RA, Stine OC, Nataro JP, Hsiao W, Harris AD. The Role of Patient-to-Patient Transmission in the Acquisition of Imipenem-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Colonization in the Intensive Care Unit. *J Infect Dis* 2009; 200: 900-905

Kempf M, Bakour S, Flaudrops C, Berrazeg M, Brunel JM, Drissi M, Mesli E, Touati A, Rolain JM. Rapid Detection of Carbapenem Resistance in *Acinetobacter baumannii* Using Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. *PLoS One* 2012; 7 (e31676): 1-7

Khosravi Y, Loke MF, Chua EG, Tay ST, Vadivelu J. Phenotypic Detection of Metallo- $\beta$ -Lactamase in Imipenem-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *ScientificWorldJournal* 2012; 2012 (e654939): 1-7

Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention am RKI. Hygienemaßnahmen bei Infektionen oder Besiedlung mit multiresistenten gramnegativen Stäbchen. *Bundesgesundheitsbl* 2012; 55: 1311-1354

Koole K, Ellerbroek PM, Lagendijk R, Leenen LPH, Ekkelenkamp MB. Colonization of Libyan civil war casualties with multidrug-resistant bacteria. *Clin Microbiol Infect* 2013; 19: e285-287

Kresken M, Hafner D, Körber-Irrgang B für die Studiengruppe. Epidemiologie und Resistenzsituation bei klinisch wichtigen Infektionserregern aus dem Hospitalbereich gegenüber Antibiotika. Bericht über die Ergebnisse einer multizentrischen Studie der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V. aus dem Jahre 2010. *Antiinfectives Intelligence Rheinbach*, 2013

Kresken M, Körber-Irrgang B. Ergebnisse der PEG Resistenzstudie 2013-Resistenzsituation im stationären Versorgungsbereich. Bad Honnef-Symposium 2015. Königswinter, 30.-31.03.2015. Frei verfügbar unter: <http://www.egms.de/static/en/meetings/bhs2015/15bhs02.shtml>. German Medical Science GMS Publishing House, 2015

Kronman MP, Zaoutis TE, Haynes K, Feng R, Coffin SE. Antibiotic exposure and IBD development among children: a population-based cohort study. *Pediatrics* 2012; 130: e794-803

Kurokawa K, Itoh T, Kuwahara T, Oshima K, Toh H, Toyoda A, Takami H, Morita H, Sharma VK, Srivastava TP, Taylor TD, Noguchi H, Mori H, Oguara Y, Ehrlich DS, Ithos K, Takagi T, Sakaki Y, Hayashi T, Hattori M. Comparative Metagenomics Revealed Commonly Enriched Gene Sets in Human Gut Microbiomes. *DNA Res* 2007; 14: 169-181

Lau SH, Cheesborough J, Kaufmann ME, Woodford N, Dodgson AR, Dodgson KJ, Bolton EJ, Fox AJ, Upton M. Rapid identification of uropathogenic *Escherichia coli* of the O25:H4-ST131 clonal lineage using the DiversiLab repetitive sequence-based PCR system. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16: 232-237

Mathers AJ, Hazen KC, Carroll J, Yeh AJ, Cox HL, Bonomo RA, Sifri CD. First Clinical Cases of OXA-48-Producing Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* in the United States: The ‚Menace‘ Arrives in the New World. *J Clin Microbiol* 2013; 51: 680-683

Mattner F, Bange FC, Meyer E, Seifert H, Wichelhaus TA, Chaberny IF. Preventing the Spread of Multidrug-Resistant Gram-Negative Pathogens: Recommendations of an Expert Panel of the German Society for Hygiene and Microbiology. *Deutsch Arztebl Int* 2012; 109: 39-45

Modi SR, Collins JJ, Relman DA. Antibiotics and the Gut Microbiota. *J Clin Invest* 2014; 124: 4212-4218

Monteiro J, Widen RH, Pignatari ACC, Kubasek C, Silbert S. Rapid detection of carbapenemase genes by multiplex real-time PCR. *J Antimicrob Chemother* 2012; 67: 906-909

Munoz-Price LS, Poirel L, Bonomo RA, Schwaber MJ, Daikos GL, Cormican M, Cornaglia G, Garau J, Gniadkowski M, Hayden MK, Kumarasamy K, Livermore DM, Maya JJ, Nordmann P, Patel JB, Paterson DL, Pitout J, Villegas MV, Wang H, Woodford N, Quinn JP. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *Lancet Infect Dis* 2013; 13: 785-796

Mutters NT, Mersch-Sundermann V, Mutters R, Brandt C, Schneider-Brachert W, Frank U. Control of the Spread of Vancomycin-Resistant *Enterococci* in Hospitals: Epidemiology and Clinical Relevance. *Deutsch Arztebl Int* 2013; 110: 725-731

Nationales Referenzzentrum für gramnegative Krankenhauserreger. Zur aktuellen Situation bei Carbapenemase-bildenden gramnegativen Bakterien. *Epid Bull* 2013; 19: 167-176

Nationales Referenzzentrum für Nosokomiale Infektionen, 2013: SARI - Verlauf der Anwendungsdichte von Carbapenemen. <http://sari.eu-burden.info/auswertung/pages/carba.php> (Zugriffsdatum: 28.10.2014)

Nationales Referenzzentrum für Surveillance von nosokomialen Infektionen, 2013: KISS (Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System) Projektbeschreibung. [www.nrz-hygiene.de/surveillance/kiss/](http://www.nrz-hygiene.de/surveillance/kiss/) (Zugriffsdatum: 10.11.2014)

Navon-Venezia S, Leavitt A, Schwaber MJ, Rasheed JK, Srinivasan A, Patel JB, Carmeli Y. First Report on a Hyperepidemic Clone of KPC-3-Producing *Klebsiella pneumoniae* in Israel Genetically Related to a Strain Causing Outbreaks in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53: 818-820

Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global Spread of Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Emerg Infect Dis* 2011; 17: 1791-1798

Nordmann P, Poirel L. Strategies for identification of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *J Antimicrob Chemother* 2013; 68: 487-489

Nseir S, Blazejewski C, Lubret R, Wallet F, Courcol R, Durocher A. Risk of acquiring multidrug-resistant Gram-negative bacilli from prior room occupants in the intensive care unit. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17: 1201-1208

Papp-Wallace KM, Endimiani A, Taracila M, Bonomo R. Carbapenems: Past, Present, and Future. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55: 4943-4960

Peleg AY, Hooper DC. Hospital-Acquired Infections Due to Gram-Negative Bacteria. *N Engl J Med* 2010; 362: 1804-1813

Pfeifer Y, Schlatterer S, Engelmann E, Schiller RA, Frangenberg HR, Stiewe D, Holfelder M, Witte W, Nordmann P, Poirel L. Emergence of OXA-48-type carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in German hospitals. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56: 2125-2128

Poirel L, Potron A, Nordmann P. OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. *J Antimicrob Chemother* 2012; 67: 1597-1606

Qin J, Ruiqiang L, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, Nielsen T, Pons N, Levenez F, Yamada T, Mende DR, Li J, Xu J, Li S, Li D, Cao J, Wang B, Liang H, Zheng H, Xie Y, Tap J, Lepage P, Bertalan M, Batto JM, Hansen T, Paslier DL, Linneberg A, Nielsen HB, Pelletier E, Renault P, Sicheritz-Ponten T, Turner K, Zhu H, Yu C, Li S, Jian M, Zhou Y, Li Y, Zhang X, Li S, Qin N, Yang H, Wang J, Brunak S, Doré J, Guarner F, Kristiansen K, Pedersen O, Parkhill J, Weissenbach J, Bork P, Erlich SD, Wang, J. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 2010; 464: 59-65

Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the Versatile  $\beta$ -lactamases. *Clin Microbiol Rev* 2007; 20: 440-458

Robert Koch-Institut, 2014: ARS - Resistenzentwicklung Imi- und Meropenem auf Normalstationen. <https://ars.rki.de/CommonReports/Resistenzentwicklung.aspx> (Zugriffdatum: 28.10.2014)

Robert Koch-Institut. Surveillance nosokomialer Infektionen sowie die Erfassung von Erregern mit speziellen Resistenzen und Multiresistenzen. *Bundesgesundheitsbl* 2000; 43: 887-890

Robert Koch-Institut. Zum Aufwand von MRSA-Screening-Untersuchungen in deutschen Krankenhäusern. *Epid Bull* 2013; 5: 41-44

Sabat AJ, Budimir A, Nashev D, Sá-Leão R, van Dijl JM, Laurent F, Grundmann H, Friedrich AW, on behalf of the ESCMID Study Group of Epidemiological Markers (ESGEM). Overview of molecular typing methods for outbreak detection and epidemiological surveillance. *Euro Surveill* 2013; 18 (e20380): 1-15

Schechner V, Straus-Robinson K, Schwartz D, Pfeffer I, Tarabeia J, Moskovich R, Chmelnitsky I, Schwaber MJ, Carmeli Y, Navon-Venezia S. Evaluation of PCR-Based Testing for Surveillance of KPC-Producing Carbapenem-Resistant Members of the *Enterobacteriaceae* Family. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 3261-3265

Schröppel K, Riessen R. Multiresistant gram-negative bacteria. A bacterial challenge of the twenty-first century. *Med. Klin Intensivmed Notfallmed* 2013; 108: 107-112

Segal H, Elisha BG. Use of Etest MBL strips for the detection of carbapenemases in *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56: 598

Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L. Management of multidrug-resistant organisms in health care settings, 2006. *Am J Infect Control* 2007; 35: S165-193

Sparbier K, Schubert S, Weller U, Boogen C, Kostrzewa M. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry-Based Functional Assay for Rapid Detection of Resistance against  $\beta$ -Lactam Antibiotics. *J Clin Microbiol* 2012; 50: 927-937

Suerbaum S, Hahn H, Burchard GD, Kaufmann SHE, Schulz TF. Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie. 7. Auflage. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2012

The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2009: EUCAST Disk Diffusion Method for Antimicrobial Susceptibility Testing. Version 1.0. <http://www.eucast.org> (Zugriffsdatum: 19.08.2014)

The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2013: EUCAST Guidelines for Detection of Resistance Mechanisms and Specific Resistances of Clinical and/or Epidemiological Importance. Version 1.0. <http://www.eucast.org> (Zugriffsdatum: 05.03.2015)

The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2014: Breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters. Version 4.0. <http://www.eucast.org> (Zugriffsdatum: 03.12.2014)

The World Economic Forum, 2015: Global Risks Reports 2006, 2012-2015. <http://www.weforum.org/> (Zugriffsdatum: 01.04.2015)

Tzouvelekis LS, Markogiannakis A, Psychogiou M, Tassios PT, Daikos GL. Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and Other *Enterobacteriaceae*: an Evolving Crisis of Global Dimensions. Clin Microbiol Rev 2012; 25: 682-707

Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, 2015: Infektion von zwölf Patienten mit MRGN-Keim am Campus Kiel. [http://www.uksh.de/Presse/Pressemitteilungen/2015/Infektion+von+zwB6lf+Patienten+mit+MRGN\\_Keim+am+Campus+Kiel-p-60511.html](http://www.uksh.de/Presse/Pressemitteilungen/2015/Infektion+von+zwB6lf+Patienten+mit+MRGN_Keim+am+Campus+Kiel-p-60511.html) (Zugriffsdatum: 01.04.2015)

Villegas MV, Lolans K, Correa A, Kattan JN, Lopez JA, Quinn JP. First Identification of *Pseudomonas aeruginosa* Isolates Producing a KPC-Type Carbapenem-Hydrolyzing  $\beta$ -Lactamase. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51: 1553-1555

Voets GM, Leverstein-van Hall M, Kolbe-Busch S, van der Zanden A, Church D, Kaase M, Grisold A, Upton M, Cloutman-Green E, Cantón R, Friedrich AW, Fluit AC. International Multicenter Evaluation of the DiversiLab Bacterial Typing System for *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. J Clin Microbiol 2013; 51: 3944-3449

Walger P, Popp W, Exner M. Stellungnahme der DGKH zu Prävalenz, Letalität und Präventionspotenzial nosokomialer Infektionen in Deutschland 2013. Hygiene & Medizin, 2013; 38: 329-338

Walsh TR, Bolmström A, Qwörnström A, Gales A. Evaluation of a New Etest for Detecting Metallo- $\beta$ -Lactamases in Routine Clinical Testing. J Clin Microbiol 2002; 40: 2755-2759

Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo- $\beta$ -lactamases: The Quiet before the Storm? Clin Microbiol Rev 2005; 18: 306-325

Walther-Rasmussen J, Høiby N. OXA-type carbapenemases. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57: 373-383

Williams JM, Brands KMJ, Skerlj RT, Jobson RB, Marchesini G, Conrad KM, Pipik B, Savary KA, Tsay FR, Houghton PG, Sidler DR, Dolling UH, DiMichele LM, Novak TJ. Practical synthesis of the new carbapenem antibiotic ertapenem sodium. *J Org Chem* 2005; 70: 7479-7487

Yatsunenko T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Baldassano RN, Anokhin AP, Heath AC, Warner B, Reeder J, Kuczynski J, Caporaso JG, Lozupone CA, Lauber C, Clemente JC, Knights D, Knight R, Gordon JI. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature* 2012; 486: 222-227

## 8. Danksagung

Allen, die mich bei der Erstellung dieser Arbeit unterstützt haben, möchte ich auf diesem Wege danken.

Mein besonderer Dank gilt meiner Doktormutter Frau PD Dr. med. Isabelle Bekeredjian-Ding. Sie hat mir durch die Vergabe dieses Themas meine Promotionsarbeit erst ermöglicht, hatte immer ein offenes Ohr und gab mir in anregenden Dialogen Inspiration und genügend Freiräume meine wissenschaftlichen Gedanken zu verfolgen.

Ich danke meinem persönlichen Betreuer Herrn Dr. med. Marijo Parcina. Er hat mich auch in schwierigen Zeiten unermüdlich motiviert und in unzähligen Diskussionen seine Begeisterung für meine Arbeit gezeigt.

Bei Herrn Dr. med. Ernst Molitor bedanke ich mich für die Integration der Carbapenemase-PCR in das Labordatenverarbeitungssystem und die Bereitstellung spezieller Informationen aus der Datenbank des IMMIP.

Für die freundliche Hilfsbereitschaft bei der Arbeit im Labor bedanke ich mich herzlich bei Frau Dr. rer. nat. Julia Uebele und Frau Alina Meiländer (medizinisch-technische Assistentin).

Weiterhin spreche ich meinen Dank für tatkräftige Unterstützung der gesamten Arbeitsgruppe und dem Team der mikrobiologischen Diagnostik des IMMIP aus.