



Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg
Hamburg University of Applied Sciences

Bachelor-Thesis

Beurteilung einer Screening-Methode auf multiresistente gramnegative Erreger

Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg
Fakultät Life Sciences
Studiengang Gesundheitswissenschaften

Vorgelegt von: Sandy-Grace Sobetzko
[REDACTED]

Abgabeort: Hamburg

Abgabedatum: am 30. Juni 2022

Gutachter: Prof. Dr. Ralf Reintjes (HAW Hamburg)

Gutachter: Dr. med. Tobias Kramer (LADR)

Die Abschlussarbeit wurde betreut und erstellt im Labor der Firma
LADR GmbH MVZ Dr. Kramer & Kollegen
Lauenburger Straße 67
21502 Geesthacht

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis.....	iv
Tabellenverzeichnis.....	v
Abkürzungsverzeichnis.....	vi
Zusammenfassung.....	1
1 Einleitung	2
2 Definitionen	3
2.1. EUCAST.....	3
2.2. NAK.....	5
2.3. ESBL – Erweitertes Spektrum an Beta-Laktamasen.....	6
2.5. AmpC	6
2.4. Carbapenemase	6
2.6. Multiresistente Erreger	7
2.7. Multiresistente gramnegative Erreger	8
3 Methodik und Materialien	10
3.1. Materialien.....	10
3.1.2. Entnahmeort der Proben	11
3.1.3. MALDI TOF und VITEK	12
3.2. Methodik.....	13
3.2.1. Studiendesign.....	13
3.2.2. Laboranalyse	13
4 Ergebnisse	17
4.1. 3MRGN und 4MRGN.....	17
4.2. Spezies	21
4.3. Sensitivität und Spezifität.....	22
4.4. Time to result.....	26
5 Diskussion.....	28
5.1. Methodendiskussion.....	28
5.2. Ergebnisdiskussion.....	29
6 Fazit und Ausblick	32

Eidesstattliche Erklärung	33
Literaturverzeichnis	34

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Screening-Verfahren (Thermo Fisher Scientific, Screening schnell und einfach in nur 24 Stunden, Brilliance ESBL – Detektion von Extended Spectrum β -Lactamase-bildenden Enterobacteriaceae, 2013)	10
Abbildung 2: Entnahmeorte der Proben, eigene Darstellung, 2022.....	11
Abbildung 3: MRGN-Screening inklusive Leitantibiotikaplättchen – Escherichia coli 3MRGN, LADR, 2021.....	15
Abbildung 4: MRGN-Screening inklusive Leitantibiotikaplättchen – Pseudomonas aeruginosa 4MRGN (Fotografie innerhalb der Diagnostik des Labors LADR, 2021)	16
Abbildung 5: MRGN-Screening inklusive Leitantibiotikaplättchen – Pseudomonas aeruginosa Wildtyp (Fotografie innerhalb der Diagnostik des Labors LADR, 2021)	16
Abbildung 6: Anzahl Proben (eigene Darstellung, 2022)	18
Abbildung 7: Wachstum, orientiert am Plättchentest (eigene Darstellung, 2022).....	18
Abbildung 8: Wachstum auf dem ESBL-Selektivboden (eigene Darstellung, 2022)	20
Abbildung 9: Spezies (eigene Darstellung, 2022)	21

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Breakpoints für Enterobacterales, eigene Darstellung in Anlehnung an EUCAST Clinical Breakpoint Tables v. 12.0, 01.01.2022. (EUCAST, 01.01.2022)	4,14
Tabelle 2: Neue Klassifizierung multiresistenter gramnegativer Stäbchen auf Basis ihrer phänotypischen Resistenzeigenschaften bei Anwendung des EUCAST-Systems, eigene Darstellung in Anlehnung an KRINKO (RKI, 2019).....	9
Tabelle 3: Vierfeldertafel (eigene Darstellung, 2022)	22
Tabelle 4: Vierfeldertafel Screening-Methode mit Antibiotikaplättchen (eigene Darstellung, 2022)	22
Tabelle 5: Zusammenfassung statistischer Berechnungen Screening-Methode inklusive Antibiotika (eigene Darstellung, 2022)	23
Tabelle 6: Vierfeldertafel Screening-Methode ohne Antibiotikaplättchen (eigene Darstellung, 2022)	24
Tabelle 7: Zusammenfassung statistischer Berechnungen Screening-Methode ohne Antibiotika (eigene Darstellung, 2022)	25
Tabelle 8: Mediane Zeit bis zum Ergebnis und bis zur Validation (eigene Darstellung, 2022).....	27

Abkürzungsverzeichnis

MRGN	multiresistenter gramnegativer Erreger
KRINKO	Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention und der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie
NAK	Nationale Antibiotika-Sensitivitätstest-Komitee
EUCAST Testing	The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
MHK	Minimale Hemmkonzentration eines Antibiotikums
HHD	Hemmhofdurchmesser
ESBL	Erweitertes Spektrum an Beta-Laktamasen
CAZ	Ceftazidim
CIP	Ciprofloxacin
CAT-ID	Faropenem
MEM	Meropenem

Zusammenfassung

Hintergrund: Die Zunahme von Multiresistenzen bei gramnegativen Erregern (MRGN) stellt ein enormes Problem für die Behandlung von bakteriellen Infektionen dar. Insbesondere die Resistenzen der Enterobacterales sind schwerwiegend für die Patientinnen und Patienten. Die KRINKO definiert die Einteilung der multiresistenten gramnegativen Keime in Deutschland in 3MRGN und 4MRGN. Ob ein Erreger Multiresistenzen gegenüber verschiedenen Antibiotika aufweist, wird anhand etablierter Screening-Methoden, welche sich an das einheitliche System der EUCAST orientieren, in Laboren getestet. Ziel dieser Arbeit ist es zu untersuchen, inwiefern das Screening auf multiresistente gramnegative Keime mit Hilfe von Leitantibiotikaplättchen, welche auf die beimpften Agarplatten hinzugegeben werden, ergänzt werden kann, um so beispielsweise auf einen 3MRGN oder 4MRGN zu schließen.

Methode: Im Rahmen einer prospektiven Studie mit einer Head-to-Head-Comparison wurde die Screening-Methode inklusive der Antibiotika getestet. Zum Vergleich dieser Methode wurde Probenmaterial ohne die Leitantibiotika auf den Agarplatten untersucht. Diese Daten wurden protokolliert und anschließend in statistischen Berechnungen verarbeitet. Unterstützend erfolgte eine Literaturrecherche.

Ergebnisse: Die Untersuchung der Screening-Methode mit den aufgelegten Antibiotikaplättchen auf den Agarplatten hat ergeben, dass diese Testung auf MRGN keine „underperformance“ hervorbringt. Dies bedeutet, dass diese Methodik vergleichbare Ergebnisse hervorruft, wie konventionelle Screening-Testungen. Zudem kann der Zeitfaktor der Diagnostik mittels dieser MRGN-Testung positiv beeinflusst werden.

Diskussion: Die Screening-Methode mit Hilfe der Leitantibiotikaplättchen orientiert sich an der EUCAST-Norm und bringt vergleichbare Ergebnisse, wie die Methodik zur Testung auf MRGN ohne die Antibiotika hervor. Zuvor wird dieses Verfahren nur zur Carbapenemasen-Testung empfohlen. Es sollten daher weitere in vivo Studien erfolgen, um die Ergebnisse zu bestätigen und die Screening-Methode zu etablieren.

1 Einleitung

Durch die Zunahme an Resistenzen bei Bakterien hat sich die Problematik der multiresistenten Keime in Krankenhäusern und anderen Gesundheitseinrichtungen im Laufe der letzten Jahre immer weiter zugespitzt. Eine Infektion mit einem multiresistenten Keim sorgt, insbesondere bei Patientinnen und Patienten, welche ohnehin gesundheitlich schwer vorbelastet sind, für Komplikationen während eines Klinikaufenthaltes, da dieser in den meisten Fällen verlängert wird und die Mortalität des Patienten/ der Patientin erhöht werden kann (Geffers/Gastmeier 2011, S. 87).

Zur Bestimmung einer Multiresistenz bei einem Erreger werden Proben der erkrankten Patientinnen und Patienten in ein Labor gesendet. Im Folgenden untersucht die vorliegende Arbeit eine Screening-Methode, zur Bestimmung von multiresistenten gramnegativen Keimen (MRGN).

Daher lautet die Fragestellung: *„Wie lässt sich das Screening auf multiresistente gramnegative Keime positiv beeinflussen, um zukünftig eine orientierende Resistenztestung zu haben?“*.

Zunächst wird in der Arbeit beschrieben, was unter multiresistente Erreger verstanden wird. Darüber hinaus wird erklärt, wie es zu einer Antibiotikaresistenz bei Bakterien kommen kann, welche Resistenzmechanismen sich entwickeln können und wann von einer Multiresistenz gesprochen wird. Anschließend werden die multiresistenten gramnegativen Erreger erläutert. Ergänzend wird die EUCAST und die NAK erklärt.

Im weiteren Verlauf der Arbeit wird auf die Methodik eingegangen. Hier wird der Studienzeitraum, Studienaufbau und die Beschreibung des Screeningverfahren aufgeführt. Anschließend erfolgen die Beschreibung und Darstellung der erhaltenen Ergebnisse, welche im Anschluss diskutiert werden. Abschließend werden dem/r Leser/in im Rahmen der Schlussfolgerung noch einmal die wichtigsten Erkenntnisse dargelegt.

2 Definitionen

Im folgenden Kapitel werden die multiresistenten Erreger erläutert und auf die Entstehung der Antibiotikaresistenzen eingegangen.

2.1. EUCAST

The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, kurz EUCAST, wurde im Jahre 1997 unter der Schirmherrschaft der Europäischen Gesellschaft für klinische Mikrobiologie und Infektionskrankheiten (ESCMID) und des Europäischen Zentrums für Prävention und Kontrolle von Krankheiten (ECDC) gegründet. Die EUCAST verfolgt in Europa unter anderem folgende Ziele:

- Die Festlegung, Überprüfung und Überarbeitung der klinischen Grenzwerte von Antibiotikaresistenzen und epidemiologischen Überwachungen dieser
- Die Förderung der Entwicklung und Standardisierung von in vitro Antibiotikaresistenz-Testungen
- Das Bestreben zur internationalen Abstimmung von klinischen Grenzwerten und Antibiotikaresistenz-Testungen

Somit gibt die EUCAST die quantitativen, qualitativen und methodischen Grundlagen zur Resistenztestung von Antibiotika in der klinischen Routine vor. Damit werden verschiedene Analysemethoden zur Bestimmung von Antibiotikaresistenzen standardisiert. Daher orientiert sich jegliche Weiter- und Neuentwicklung zur Testung von Antibiotika und Antibiotikaresistenzen an der EUCAST. Damit werden die Gütekriterien der Objektivität, Reliabilität und Validität erfüllt (EUCAST, 2016).

Die EUCAST hat ein Klassifikationssystem entwickelt und etabliert, wonach Bakterien nach klinischen Grenzwerten, den sogenannten „clinical breakpoints“, klassifiziert werden. Dieses Klassifikationssystem erlaubt es Bakterien, bezogen auf die entsprechenden Antibiotika, in sensitiv S, intermediär I und resistent R zu unterteilen. Die intermediäre Kategorie wird verstanden als sensibel bei erhöhter Exposition, sprich bei erhöhter Dosierung. Die klinischen Grenzwerte richten sich nach der MHK, sprich der minimalen Hemmkonzentration eines Antibiotikums, welche das Erregerwachstum in der Kultur noch verhindert (EUCAST, 2018).

Eine weitere standardisierte Methode zur Bestimmung von Antibiotikaresistenzen ist der Agardiffusionstest. Dieser richtet sich nicht nach der MHK Grenzwerte, sondern

nach dem Hemmhofdurchmesser (HHD). Die HHD wird in mm angegeben (EUCAST, 2022).

Zur Erläuterung dieses Systems folgt nun beispielsweise die EUCAST-Norm zur Antibiotikaresistenzbestimmung der Enterobacterales:

Antibiotika	MIC breakpoints (mg/L)			Disk content (µg)	Zone diameter breakpoints (mm)		
	S≤	R>	ATU		S≥	R<	ATU
Penicilline							
Ampicillin	8	8		10	14	14	
Ampicillin-sulbactam	8	8		10-10	14	14	
Piperacillin	8	8		30	20	20	
Piperacillin-tazobactam	8	8	16	30-6	20	20	19
Carbapeneme							
Imipenem (Enterobacterales außer Morganellaceae)	2	4		10	22	19	
Imipenem (Morganellaceae)	0,001	4		10	50	19	
Meropenem	2	8		10	22	16	
Meropenem (meningitis)	2	2		10	22	22	
Flurochinolone							
Ciprofloxacin	0,25	0,5	0,5	5	25	22	22-24
Cephalosporine							
Cefotaxim	1	2		5	20	17	
Cefotaxim (meningitis)	1	1		5	20	20	
Ceftazidim	1	4		10	22	19	
Ceftazidim-avibactam	8	8		10-4	13	13	

Tabelle 1: Breakpoints für Enterobacterales, eigene Darstellung in Anlehnung an EUCAST Clinical Breakpoint Tables v. 12.0, 01.01.2022.

2.2. NAK

Das Nationale Antibiotika-Sensitivitätstest-Komitee (NAK) in Deutschland wurde von der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM), der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie (PEG) und des Robert-Koch-Instituts (RKI) am 14. Juni 2012 in Bonn gegründet. Die NAK verfolgt das Interesse, dass die EUCAST-Norm zur Bestimmung von Antibiotikaresistenzen in Deutschland Anwendung findet. Daher besteht ein Ziel der NAK darin, die Verbreitung der aktuell festgelegten Grenzwerte (clinical breakpoints) der EUCAST zu fördern und Umstellungen oder Anpassungen der Grenzwerte zu etablieren. Des Weiteren verfolgt die NAK, neben der Etablierung der EUCAST-Norm in Deutschland, die Evaluierung von Grenzwerten, welche von der EUCAST nicht berücksichtigt werden. Zudem hat die NAK das Ziel, an der Entwicklung von Testmethoden mitzuwirken. Zu den Aufgaben der NAK zählen folgende:

- Ein Informationsaustausch mit der EUCAST und weiteren Interessensvertretern wie beispielsweise die Bundesärztekammer
- Die Überprüfung, Veröffentlichung und Ergänzung (sofern dies gegeben ist) des EUCAST-Systems
- Die jährliche Aktualisierung der EUCAST-Dokumente
- Die Ausarbeitung von Empfehlungen zur Umsetzung und Anpassung der veröffentlichten Grenzwerte zur Bestimmung von Antibiotikaresistenzen
- Die Kommunikation und Weitergabe aktualisierter oder neuer Grenzwerte, wie auch weitere Hinweise der EUCAST, an die Labore, Antibiotika- und Diagnostika-Hersteller, wissenschaftliche Fachgesellschaften, Kliniker, Ministerien und Behörden
- Ansprechpartner bei Fragen aus den diagnostischen Laboren und der Industrie
- Die Durchführung von Fortbildungen (in theoretischer wie auch praktischer Form)
- Die Bewertung und Unterstützung bei der Implementierung von Labormethoden

Außerdem kooperiert die NAK mit Antibiotika-Resistenz-Surveillance-Netzwerken und arbeitet zusammen mit der Kommission „Antiinfektiva, Resistenz und Therapie (ART)“ (Gatermann et al., 2022).

2.3. ESBL – Erweitertes Spektrum an Beta-Laktamasen

Der Begriff ESBL, der Erweitertes Spektrum an Beta-Laktamasen bedeutet, bezeichnet ein Resistenzphänomen, welches zum ersten Mal zu Beginn der 80iger in Deutschland entdeckt wurde und hauptsächlich bei den Enterobacterales auftritt. Diese Resistenz gramnegativer Keime, welche vorwiegend bei den Erregern Escherichia coli und Klebsiella pneumoniae auftritt, führt dazu, dass die Keime gegenüber vielen Antibiotika, die der Gruppe der Beta-Laktame angehören, unempfindlich sind. Dazu zählen insbesondere die Penicilline und Cephalosporine (Mast Group, o.J.). Obwohl die Bildung von ESBL zu Beginn nur bei Klebsiella pneumoniae sowie Escherichia coli beobachtet werden konnte, besteht die Möglichkeit einer ESBL-Bildung auch bei anderen Gattungen der Enterobacterales (Schrauder/Vonberg 2009, S. 158).

2.5. AmpC

Durch die Zunahme der Behandlung von gramnegativen bakteriellen Infektionen mit β -Lactam-Antibiotika ist zu beobachten, dass gramnegative Keime immer mehr Resistenzen gegenüber diesen Antibiotika aufweisen. Hierbei nimmt vor allem die Resistenz gegenüber der Cephalosporinen der 3. und 4. Generation bei den Enterobacterales zu. Enterobacterales sind in der Lage bakterielle Enzyme freizusetzen, welche hydrolysieren und durch diese Spaltung die β -Lactam-Antibiotika unwirksam machen (Pfeifer et al., 2012).

2.4. Carbapenemase

Die Zunahme verschiedener Multiresistenzen bei gramnegativen Erregern stellt ein weltweites Problem dar. Insbesondere die Ausbildung der gramnegativen Bakterien von Resistenzen gegenüber der Antibiotikagruppe der Carbapeneme stellt ein großes Risiko dar, denn diese Antibiotikagruppe konnte zuvor als Reserve dienen, um schwere bakterielle Infektionen zu behandeln (Kaase, 2012). Carbapenemasen sind bakterielle Enzyme. Diese Enzyme können neben den Carbapenem-Antibiotika weitere β -Lactam-Antibiotika zerstören und daher die Wirksamkeit dieser Medikamente auf das Wachstum und somit auf die Vermehrung des gramnegativen Bakteriums verhindern. Die Carbapenemasen tragen unterschiedliche Aminosäuresequenzen und können daher in unterschiedliche Gruppen eingeteilt werden. Die Synthese der Carbapenemasen liegt, nach der genetischen Information,

auf Plasmiden. Somit sind Carbapenemase und die damit einhergehende Resistenz von einem Bakterium zu einem weiteren Bakterium übertragbar (Kaase, 2012).

Die NAK hat eine Empfehlung zur Detektion von Carbapenemase bei Enterobacterales verfasst. In dieser Empfehlung wird auf eine Screening-Methode eingegangen, welche es ermöglicht auf Carbapenemase bei gramnegativen Erregern zu testen. Dieses sollte laut der NAK anhand der MHK oder die festgelegten Hemmhofdurchmesser der EUCAST erfolgen. Hierzu werden die Wirkungen der Antibiotika Ertapenem und Meropenem wie eventuell auch das Imipenem untersucht (Hamprecht et al., o.J.).

2.6. Multiresistente Erreger

Von einer Resistenz bei Bakterien wird gesprochen, wenn ein Erreger, bei Verabreichung einer therapeutischen Antibiotikagabe, dennoch im Stande ist sich zu vermehren. Eine unbedachte Einnahme von Antibiotika, welche mit den Jahren stetig zunimmt, trägt zur Ausbildung von Resistenzgenen und somit zur Entwicklung von Antibiotikaresistenzen bei, da der Selektionsdruck von Antibiotika auf Bakterien dazu führt, dass nur die widerstandsfähigsten Keime überleben (Klischies et al. 2008, S. 57, 230). Hierbei kann zwischen einer primären, sprich einer natürlichen, und einer sekundären, also einer erworbenen Resistenz unterschieden werden. Von einer primären beziehungsweise natürlichen Resistenz wird gesprochen, wenn die Unempfindlichkeit gegenüber Antibiotika genetisch bedingt und dauerhaft vorhanden ist. Im Gegensatz dazu setzt die sekundäre Resistenz eine Änderung des Erbgutes eines Bakteriums voraus. Diese kann beispielsweise durch eine Chromosomenmutation erfolgen. Somit wird bei der sekundären Resistenz von einer erworbenen Resistenz gesprochen. Bakterien machen Gebrauch von verschiedenen Resistenzmechanismen, um sich gegen die Antibiotika zu wehren. Diese Resistenzen lassen sich nachweisen. Zu den drei wichtigsten Resistenzmechanismen zählen die Permeabilitätsmechanismen, die enzymatische Inaktivierung und die Veränderung der Zielstruktur (Hahn et al. 2009, S. 709ff.; Kayser et al. 2010, S. 213).

Somit lässt es sich erklären, dass von einem multiresistenten Erreger gesprochen wird, wenn ein Keim Resistenzen gegenüber mehreren Antibiotikagruppen aufweist, welche wiederum bei Bakterien derselben Spezies Behandlungserfolge erzielen (Schwarzkopf 2005, S.25).

Die World Health Organization (WHO) und the European Centre for Disease Prevention and Control haben Daten zur Antibiotikaresistenz in Europa aus dem Jahr 2022 veröffentlicht. Aus dem Bericht geht heraus, dass jährlich 670.000 bakterielle Infektionen Resistenzen gegenüber Antibiotika innerhalb Europas aufweisen. Zudem sterben jährlich ca. 33.000 Menschen an der Folge einer solchen Infektion (WHO, 2022).

2.7. Multiresistente gramnegative Erreger

Die gramnegativen Erreger weisen zunehmend Resistenzen gegenüber Antibiotika auf. Hierzu zählen die Enterobacterales wie beispielsweise *Escherichia coli* oder *Klebsiella oxytoca*, wie auch die Nonfermenter zum Beispiel *Pseudomonas aeruginosa* oder *Acinetobacter baumannii*. Die multiresistenten gramnegative Stäbchen, werden durch die Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention und der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (KRINKO) klassifiziert in 3MRGN und 4MRGN (KRINKO, 2012). Diese Klassifizierung basiert auf der Bewertung der vier Hauptantibiotikagruppen: Penicilline, Cephalosporine, Carbapeneme und Fluorchinolone. Eine Multiresistenz bei gramnegativen Erregern liegt vor, wenn nur noch eine der genannten Hauptantibiotikagruppen sensibel ist (3MRGN) (KRINKO, 2012). Das Screening auf MRGN hat insbesondere für Krankenhäuser den Nutzen, die Versorgungsqualität zu sichern und eine Übertragung der multiresistenten Keime, in Ausbruch ähnliche Situationen, zu verhindern.

Antibiotikagruppe	Leitsubstanz	Enterobacterales		Pseudomonas aeruginosa		Acinetobacter baumannii	
		3MRGN	4MRGN	3MRGN	4MRGN	3MRGN	4MRGN
Acylureidopenicilline	Piperacillin	R	R	Nur eine der 4 Antibiotikagruppen wirksam (S oder I)	R	R	R
3./4. Generation-Cephalosporine	Cefotaxim und/oder Ceftazidim	R	R		R	R	R
Carbapeneme	Imipenem und/oder Meropenem	S oder I	R		R	S oder I	R
Flurochinolone	Cirpofloxacin	R	R		R	R	R
			Oder Nachweis einer Carbapenemase		Oder Nachweis einer Carbapenemase		Oder Nachweis einer Carbapenemase

(R = resistent, I = sensibel bei erhöhter Dosierung, S = sensibel bei normaler Dosierung)

Tabelle 2: Neue Klassifizierung multiresistenter gramnegativer Stäbchen auf Basis ihrer phänotypischen Resistenzeigenschaften bei Anwendung des EUCAST-Systems, eigene Darstellung in Anlehnung an KRINKO, RKI, 2019.

3 Methodik und Materialien

Zur Beantwortung der Fragestellung der vorliegenden Arbeit wurden zwei Screening-Methoden auf multiresistente gramnegative Erreger in einem Labor im Zeitraum vom 01.09.2021 bis 31.12.2021 untersucht.

3.1. Materialien

Zur Diagnostik auf multiresistente gramnegative Keime werden die Patientenproben, darunter befinden sich unter anderem Hautabstriche, Perianalabstriche, Analabstriche, auf jeweils zwei Agarplatten ausgestrichen. Zum einen wird eine ESBL-Agarplatte verwendet, welche das Wachstum von ESBL-bildenden Enterobacteriales und Nonfermenter wie beispielsweise *Pseudomonas aeruginosa* ermöglicht. Hierzu wurden die „Brilliance ESBL Agar“-Platten von dem Hersteller OXOID beimpft. Diese Agarplatten zeichnen sich durch die Selektion von Begleitflora und nicht-ESBL-bildende Enterobacteriales, darunter AmpC-Bildner, aus (Thermo Fisher Scientific, 2013). Sobald Wachstum auf dem ESBL-Agar zu sehen ist, nimmt der Keim, je nach Art, eine Farbe an.

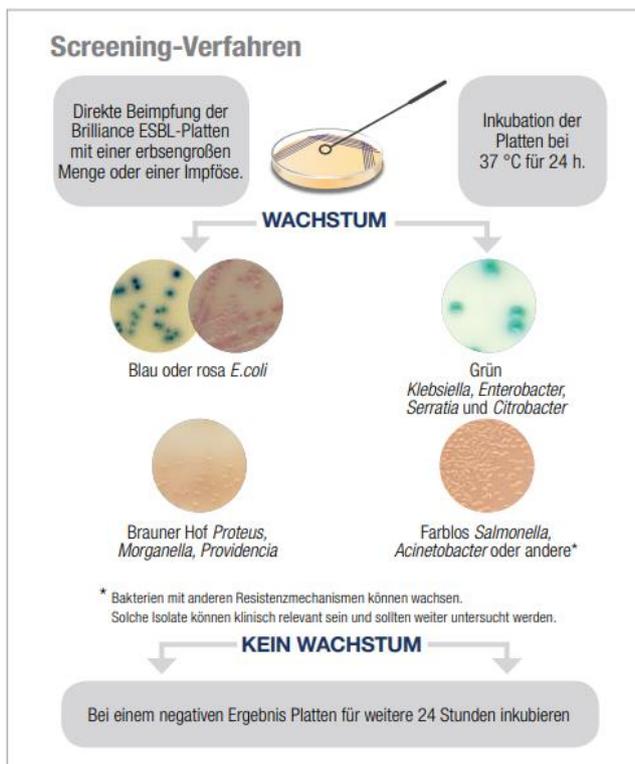


Abbildung 1: Screening-Verfahren, Thermo Fisher Scientific, 2013.

Dies erlaubt eine erste Einschätzung des vorliegenden Keimes. Des Weiteren wird das Material auf dem Mac-Conkey-Agar ausgestrichen. Diese Agarplatte ist ein Selektivnährboden, welcher das Wachstum von grampositiven Bakterien verhindert.

Zudem wurden unterstützend für die Erstbeurteilung des wachsenden Keims Antibiotikaplättchen der Mast Group auf den jeweiligen Agar platziert. Hierfür wurden auf die ESBL-Platte das Ceftazidim (CAZ) mit der Menge 10 µg und Ciprofloxacin (CIP) mit der Menge 5 µg und auf dem Mac-Conkey-Agar das Meropenem (MEM) mit der Menge 10 µg und CAT-ID, sprich Faropenem, gelegt. Die Mengenangaben der Antibiotikaplättchen sind in Anlehnung an die EUCAST-Norm und daher vom 22.12.2021 bis zum 22.12.2022 aktuell (NEXUS/ CURATOR, 2021). Des Weiteren wurde das EUCAST-System der sogenannten „clinical breakpoints“ zur Beurteilung der Hemmhöfe und damit der Antibiotikaresistenzen verwendet (siehe Tabelle 1).

3.1.2. Entnahmeort der Proben

Um auf einen multiresistenten gramnegativen Keim zu schließen, werden von den Patientinnen und Patienten, bei denen ein Verdacht besteht, eine Infektion mit einem MRGN zu haben, Proben entnommen. Dies erfolgt indem medizinisches Personal von verschiedenen Körperregionen Abstriche entnimmt. Je großflächiger ein Abstrich entnommen wird, desto höher ist die Sensitivität. Daher ist die Sensitivität des MRGN-Nachweises vom Umfang der Probenentnahme abhängig (Eckmann et al., 2018).

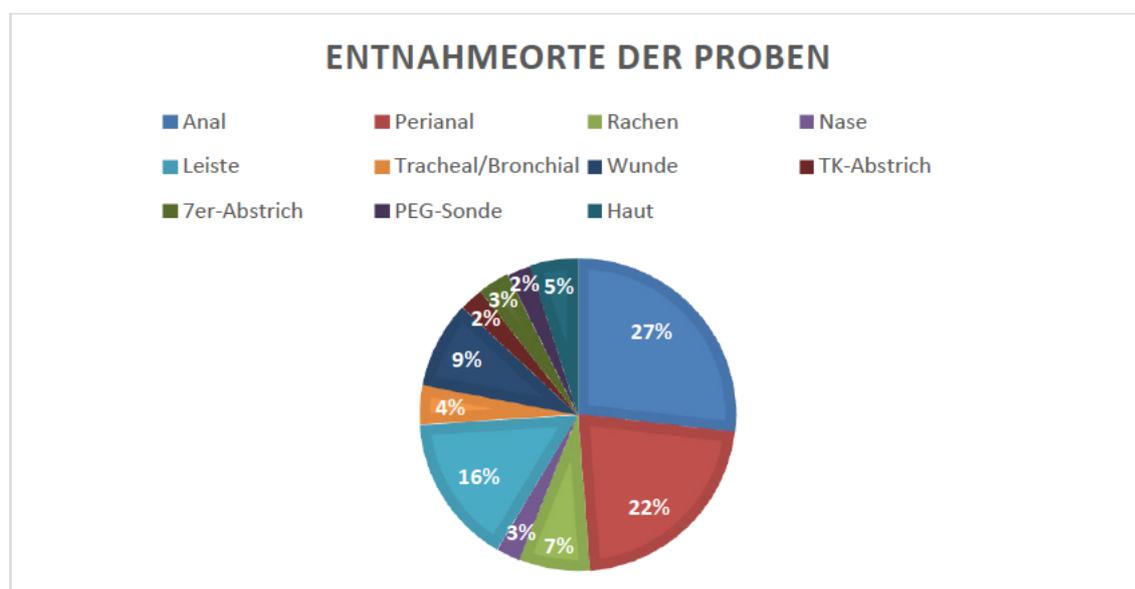


Abbildung 2: Entnahmeorte der Proben, eigene Darstellung, 2022

Die vorliegende Untersuchung beachtet diverse Abstriche (siehe Abbildung 2). Nahezu 49 Prozent sind Abstriche im Anal und Perianal-Bereich. Diese erweisen sich am geeignetsten, wie auch Abstriche von großen Hautregionen wie zum Beispiel die Leiste (16 Prozent), um multiresistente gramnegative Bakterien nachzuweisen (Eckmann et al., 2018). Die ins Labor eingesendeten Proben, für die Untersuchung auf multiresistente gramnegative Keime, enthalten des Weiteren Material aus beispielsweise Abstrichen der Tracheal- und Bronchialregion, aus der Rachen- und Nasenregion, verschiedene Wunden etc. Somit stammen die Probenmaterialien aus jeglichen Körperregionen der Patientinnen und Patienten.

3.1.3. MALDI TOF und VITEK

Zur Bestätigung eines geäußerten Verdachts auf einen Keim wird die Patientenprobe für die Keim- und Resistenzbestimmungsgeräte MALDI TOF und VITEK aufbereitet. Dabei kann das Keimbestimmungsgerät MALDI TOF vom Hersteller Bruker gramnegative und grampositive Bakterien, wie auch anaerobe Bakterien und Hefen identifizieren (Bruker Daltonics Inc., 2018). Das Gerät ist ein qualitatives in-vitro -Diagnosegerät, welches den Proteinfingerabdruck eines Bakteriums entschlüsselt. Die häufig vorkommenden charakteristischen Muster von Proteinen werden verwendet, um einen bestimmten Mikroorganismus präzise zu identifizieren (Bruker Daltonics Inc., 2018). Ergänzend zum MALDI TOF wird das Keim- und Resistenzbestimmungsgerät VITEK vom Hersteller bioMérieux eingesetzt. Das Gerät erstellt für jedes Bakterium, wie auch für jede Resistenzen, einen Phänotyp. Dadurch ist es möglich, Resistenzen nachzuweisen und die Antibiotikatherapie dementsprechend anzupassen (Hata et al., 2007).

3.2. Methodik

Im folgenden Abschnitt wird auf die Methodik dieser Arbeit eingegangen.

3.2.1. Studiendesign

Im Zeitraum vom 01.09.2021 bis zum 30.11.2021 wurden quantitativ Daten erhoben und eine prospektive Studie mit einer Head-to-Head-Comparison wurde durchgeführt. Dieses Studiendesign eignet sich besonders um die Vergleichbarkeit eines Testverfahrens gegenüber eines anderen Testverfahren, welches zur Kontrolle dient, aufzuzeigen. Es zeichnet sich durch den direkten Vergleich aus, weshalb dieses Studiendesign auch als Head-to-Head-Studie bezeichnet werden kann. Die Vergleichsstudie kann zum einen die Überlegenheit eines Testverfahrens, die Gleichwertigkeit oder die Nicht-Unterlegenheit nachweisen (Lehmacher & Wolff, 2011).

Die Daten für die vorliegende Arbeit wurden gesammelt, indem die insgesamt 521 Proben, zum Screening auf multiresistente gramnegative Keime (MRGN), anhand der Antibiotikaplättchentestung und der konformen ESBL-Resistenztestung untersucht wurden. Ziel der Studie war es zu beweisen, dass die Screening-Methode auf MRGN durch die Leitantibiotikaplättchen eine orientierte Resistenztestung bildet und vergleichbare Ergebnisse liefern kann, wie die Methode ohne die Antibiotika auf den Agarplatten.

3.2.2. Laboranalyse

Das zugeschickte Probenmaterial, welches auf multiresistente gramnegative Keime untersucht werden soll, wird zunächst für das Screening aufbereitet und die Agarplatten werden mit diesem beimpft. Nach einer Inkubationszeit von 24 Stunden (siehe Abbildung 1) ist es möglich Wachstum auf den Selektivböden zu sehen und erste Beurteilungen erfolgen.

Zunächst wurde die Methode mit den zusätzlichen Antibiotikaplättchen auf den ausgestrichenen Agarplatten untersucht, welches für die Studie die Interventionsgruppe bildet. Hierzu wurden die jeweiligen Durchmesser der Hemmhöfe, welche sich bilden, wenn Wachstum vorhanden ist, mit einem Lineal ausgemessen und in einem Protokoll festgehalten. Anhand dieser Hemmhöfe ließ sich schon ein Verdacht auf MRGN äußern, denn sobald die EUCAST-Norm, welche die

Durchmesser für die Antibiotika-Sensibilität bestimmt, nicht mehr eingehalten werden kann bei mindestens zwei der Leitantibiotika, so konnte auf einen 3MRGN geschlossen werden (EUCAST, 2022). Zur Erläuterung dieses Systems wird im Folgendem die Tabelle 1 nochmals aufgeführt. Die Tabelle zeigt beispielsweise die EUCAST-Norm zur Antibiotikaresistenzbestimmung der Enterobacterales:

Antibiotika	MIC breakpoints (mg/L)			Disk content (µg)	Zone diameter breakpoints (mm)		
	S≤	R>	ATU		S≥	R<	ATU
Penicilline							
Ampicillin	8	8		10	14	14	
Ampicillin-sulbactam	8	8		10-10	14	14	
Piperacillin	8	8		30	20	20	
Piperacillin-tazobactam	8	8	16	30-6	20	20	19
Carbapeneme							
Imipenem (Enterobacterales außer Morganellaceae)	2	4		10	22	19	
Imipenem (Morganellaceae)	0,001	4		10	50	19	
Meropenem	2	8		10	22	16	
Meropenem (meningitis)	2	2		10	22	22	
Flurochinolone							
Ciprofloxacin	0,25	0,5	0,5	5	25	22	22-24
Cephalosporine							
Cefotaxim	1	2		5	20	17	
Cefotaxim (meningitis)	1	1		5	20	20	
Ceftazidim	1	4		10	22	19	
Ceftazidim-avibactam	8	8		10-4	13	13	

Tabelle 1: Breakpoints für Enterobacterales, eigene Darstellung in Anlehnung an EUCAST Clinical Breakpoint Tables v. 12.0, 01.01.2022.

Im weiteren Verlauf lässt es sich aus der Abbildung 3 entnehmen, wie die beimpften Agarplatten inklusive der Leitantibiotikaplättchen aussehen und funktionieren. Die gebildeten Hemmhöfe um die Antibiotikaplättchen sind präzise zu erkennen. Demnach ist es dadurch gegeben eine erste Einschätzung des Keimes zu tätigen. Denn nun kann eine Aussage über das Resistenzverhalten des dort wachsenden Erregers getroffen werden. Anhand des Beispiels aus Abbildung 3 lässt sich darauf schließen, dass es sich hierbei um einen multiresistenten gramnegativen Keim handelt, da das Ceftazidim (CAZ) und das Ciprofloxacin (CIP) resistent sind das Faropenem und Meropenem allerdings sensibel [nach der aktuellen EUCAST-Norm] und somit wirksam gegen den Keim sind.

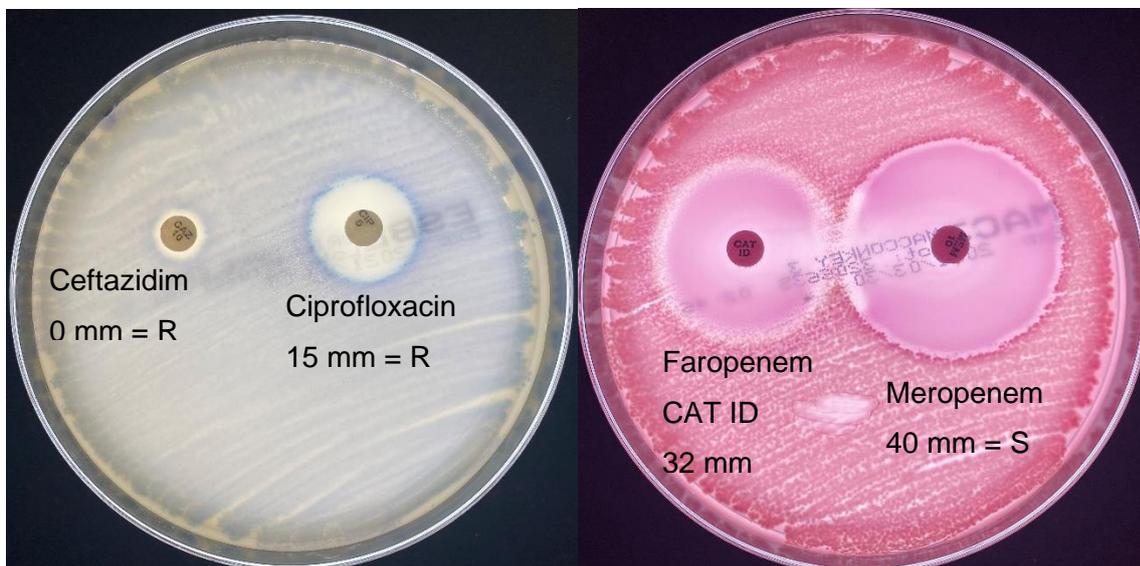


Abbildung 3: MRGN-Screening inklusive Leitantibiotikaplättchen – *Escherichia coli* 3MRGN, LADR, 2021

Ein weiteres Beispiel des Screenings auf multiresistente gramnegative Keime mit Hilfe der Leitantibiotikaplättchen ist der Abbildung 4 zu entnehmen. Hierbei erkennt man zwar Wachstum auf den ausgestrichenen Agarplatten, allerdings sind keine Hemmhöfe um die Antibiotika herum zu erkennen. Demnach kann der Verdacht auf einen 4MRGN geäußert werden, weil keines der Leitsubstanzen wirksam gegen das Wachstum des vorliegenden Keims ist.

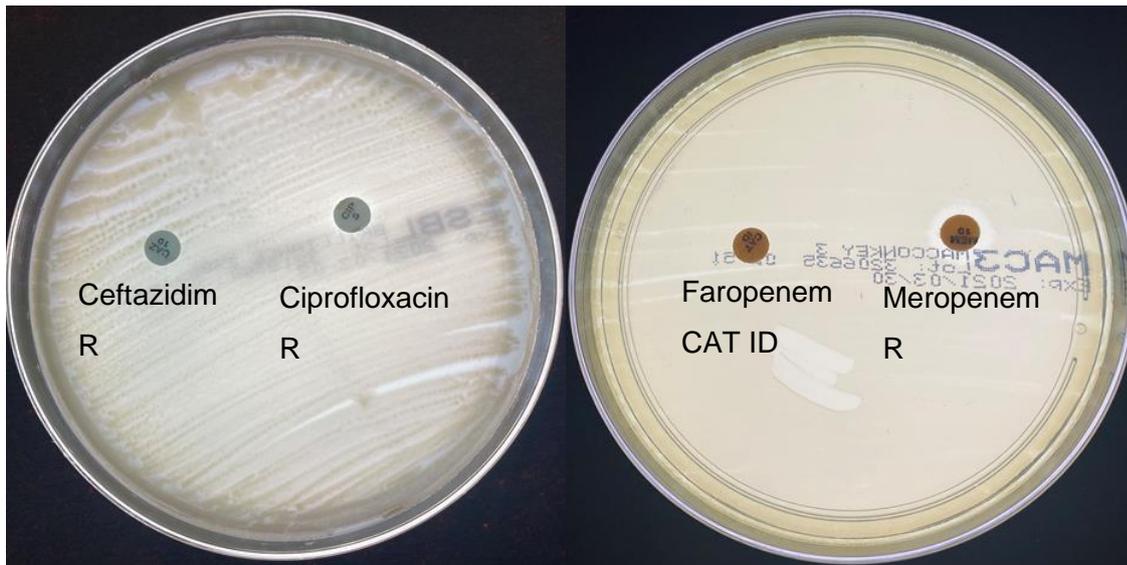


Abbildung 4: MRGN-Screening inklusive Leitantibiotikplättchen – *Pseudomonas aeruginosa* 4MRGN, LADR, 2021

Des Weiteren besteht die Möglichkeit, dass auf den beimpften Selektivböden ein gramnegativer Keim wächst, jedoch nicht multiresistent ist. Dieses wurde deutlich, sobald die Hemmhöfe um die Antibiotika groß und gut erkennbar sind wie beispielsweise in Abbildung 5 zu sehen.

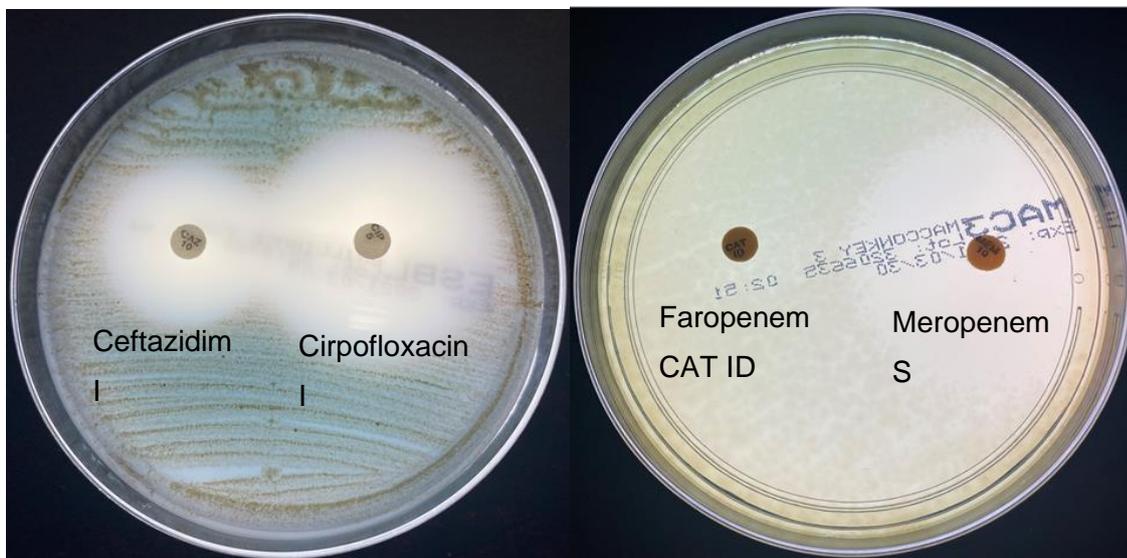


Abbildung 5: MRGN-Screening inklusive Leitantibiotikplättchen – *Pseudomonas aeruginosa* Wildtyp, LADR, 2021

Zu sehen ist ein *Pseudomonas aeruginosa* Wildtyp, welcher keine Multiresistenz aufweist. Anhand der Leitantibiotika wurde dies deutlich sichtbar.

Im späteren Verlauf wurde zum Vergleich das Screening anhand des ESBL-Selektivboden durchgeführt, hier wurde ein Verdacht auf einen multiresistenten gramnegativen Keim geäußert, sobald Wachstum auf den ausgestrichenen Platten

zu sehen war. Dennoch wurden die Hemmhöfe, so fern wie möglich, ausgemessen und protokolliert, damit der direkte Vergleich sichtbar gemacht wird.

Die Proben, welche zum Screening eingeschickt wurden, aber die Platten steril blieben, wurden ebenso für die Forschung beachtet.

Anschließend wurden die gemessenen Ergebnisse von den Keim- und Resistenzbestimmungsgeräten MALDI TOF und VITEK untersucht und bestätigt.

In der Studie wurde nicht das Geschlecht der Patienten beachtet, noch das Alter, denn dieses ist für die Beantwortung der Forschungsfrage zunächst nicht relevant. Ausschließlich das Material der Probe und der Erreger wurden aufgeführt.

4 Ergebnisse

Im folgenden Kapitel werden die erzielten Ergebnisse aufgeführt. Hier wird detailliert auf die Proben eingegangen. Zum einen wird das Verhältnis von 3MRGN und 4MRGN verdeutlicht, wie auch die verschiedenen diagnostizierten Erregerarten. Des Weiteren erfolgen statistische Berechnungen der Screening-Methode mit den Leitantibiotikaplättchen wie auch der Screening-Methode ohne dieser. Zudem wird auf den Zeitfaktor bis zum Befund eingegangen.

4.1. 3MRGN und 4MRGN

Anhand der Klassifizierung der KRINKO (siehe 2.7.) werden die multiresistenten gramnegativen Erreger in 3MRGN und 4MRGN bezeichnet und unterschieden (KRINKO, 2012). Die vorliegende Untersuchung berücksichtigt insgesamt 521 Proben. Sobald Wachstum auf den Selektivböden der ESBL-Platten zu sehen ist, besteht ein Verdacht auf MRGN. Bei insgesamt 407 Proben, ist kein Wachstum vorhanden oder sie sind sensibel gegenüber den aufgelegten Antibiotika auf den Agarplatten. Somit ist das Screening auf MRGN negativ. Ein Verdacht auf MRGN liegt hingegen bei den

restlichen 114 Proben vor, da hier die Selektivböden Wachstum aufweisen und/ oder die Sensibilität gegenüber den Antibiotika unklar ist.

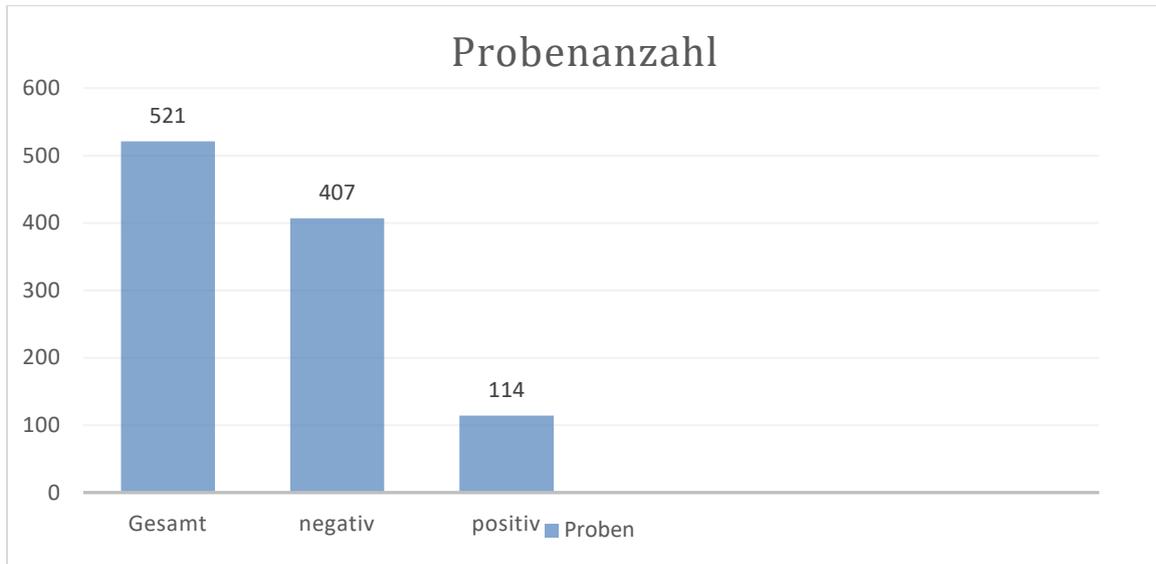


Abbildung 6: Anzahl Proben, eigene Darstellung, 2022

Die Screening-Methode, welche die multiresistenten gramnegativen Erreger anhand des ESBL-Agars, inklusive der Leitantibiotika Ceftazedim und Ciprofloxacin, und dem Mac-Conkey-Agar, mit den Antibiotika Meropenem und CAT-ID, sprich Faropenem, detektiert, ergab folgendes Ergebnis:

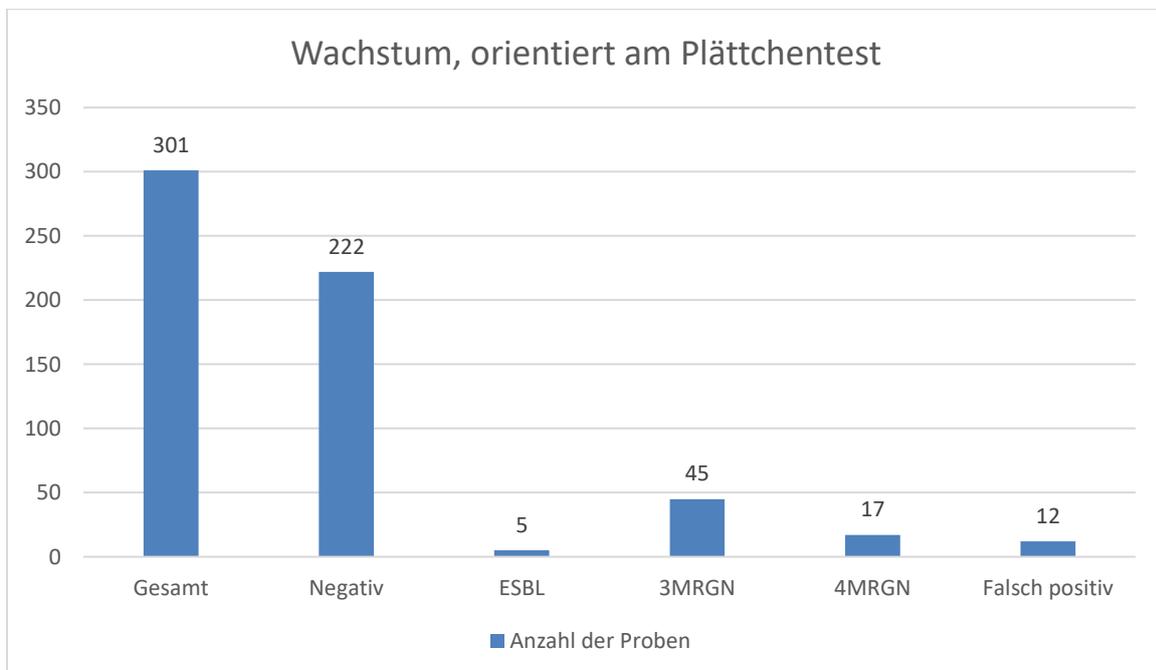


Abbildung 7: Wachstum, orientiert am Plättchentest, eigene Darstellung, 2022

Von den insgesamt 301 Proben, welche zur MRGN-Diagnostik ins Labor eingeschickt wurden und anhand des orientierenden Plättchentests untersucht wurden, weisen 222 Proben kein Wachstum auf oder das Wachstum der Bakterien reagiert sensibel auf die aufgelegten Antibiotika. Somit kann das Ablesen der Agarplatten als negativ [auf multiresistente gramnegative Erreger] gewertet werden. Ist Wachstum auf den Selektivböden zu sehen, welcher auch an die Leitantibiotika heranwächst, besteht ein Verdacht auf einen MRGN. Wächst der Erreger an die Antibiotika Ceftazidim und Ciprofloxacin heran und nur noch das Antibiotikum Meropenem weist eine Wirkung auf den Erreger nach und hemmt somit das Wachstum, besteht der Verdacht auf ein 3MRGN. Sobald keine der vier Leitantibiotikagruppen mehr eine Sensibilität auf den vorliegenden Keim nachweisen kann, besteht der Verdacht eines 4MRGN. Somit ergab das Screening mit der folgenden Methode, dass 62 Proben positiv auf einen multiresistenten gramnegativen Erreger getestet wurden (3MRGN und 4MRGN). Fünf weitere Proben wurden positiv auf den Resistenzmechanismus erweitertes Spektrum an Beta-Laktamasen, kurz ESBL, getestet. Aus der Abbildung 7 zu entnehmen ist, dass die Testung 12 Proben falsch positiv diagnostiziert hat. Hierbei war das Wachstum des Erregers auf den Agarplatten unklar, weshalb diese Proben doch keinen MRGN nachweisen.

Um die Effektivität der oben genannten Screening-Methode auf MRGN zu vergleichen, wurden einige Proben ohne die Leitantibiotikaplättchen auf den Selektivböden untersucht. Dieses ergab folgende Ergebnisse:

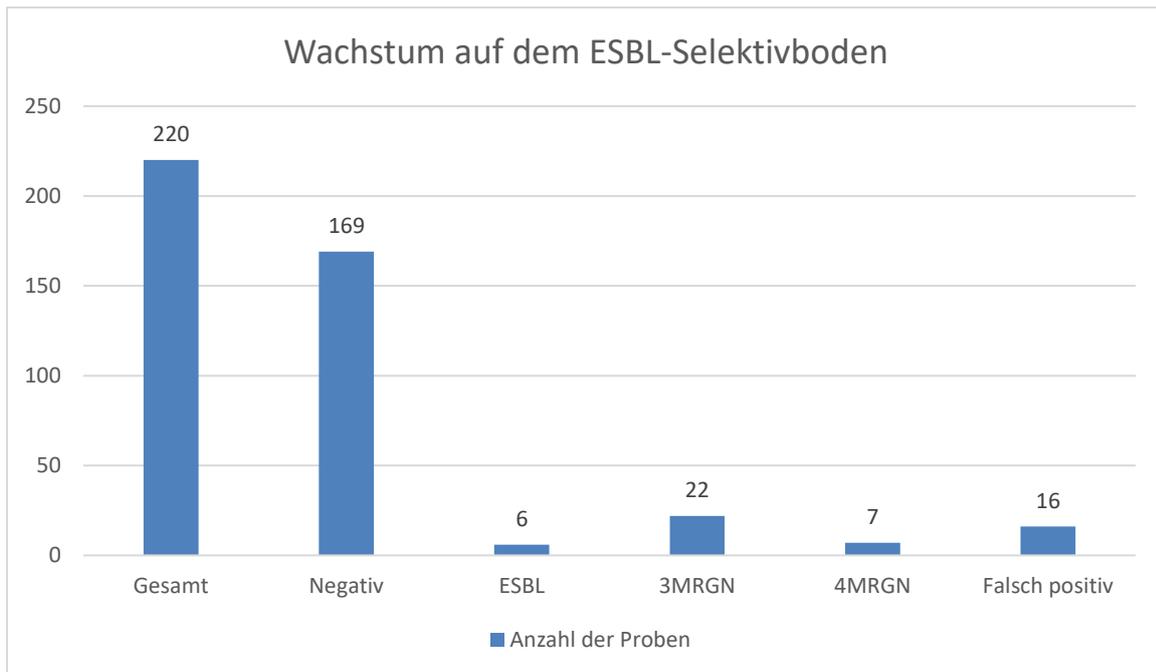


Abbildung 8: Wachstum auf dem ESBL-Selektivboden, eigene Darstellung, 2022

Nach dieser Methodik, ohne die Leitantibiotika, nur mit dem ESBL-Selektivboden, wurden 220 Proben untersucht. Hierbei wurden 169 Proben als negativ diagnostiziert, da kein Wachstum vorhanden war. Sobald etwas Wachstum eines Bakteriums auf dem ESBL-Selektivboden zu erkennen ist, besteht ein Verdacht auf einen multiresistenten gramnegativen Erreger. Anhand dieser Screening-Methode wurden insgesamt 6 Erreger entdeckt, welche das Resistenzmechanismus ESBL (erweitertes Spektrum an Beta-Laktamasen) aufweisen. Zudem ergab die Diagnostik bei 22 weiteren Proben, dass ein 3MRGN vorliegt. Ebenso wurden bei 7 Proben jeweils ein 4MRGN diagnostiziert. Bei 16 Proben bestand zwar der Verdacht auf einen MRGN, da hier Wachstum auf den Platten zusehen war, jedoch sind diese falsch positiv, da diese von den Keim- und Resistenzbestimmungsgeräten MALDI TOF und VITEK negativ diagnostiziert wurden.

4.2. Spezies

Anhand der Screening-Methoden mit und ohne die Antibiotika konnten die Proben auf verschiedene multiresistente gramnegative Erreger diagnostiziert werden. Insgesamt waren 130 Proben, aus beiden Screening-Methoden, positiv. Mit Hilfe der Selektivböden ist es möglich, sobald Wachstum auf den Agarplatten besteht, anhand der Färbung des Keimes vorzeitig zu bestimmen, um welche Erregerart es sich handelt. So kann beispielsweise ein Verdacht auf einen *Escherichia coli* geäußert werden, sofern auf dem ESBL-Selektivboden eine blaue oder rosa Färbung des Keims zu erkennen ist (Thermo Fisher Scientific, 2013).

In der Abbildung 9 werden die diagnostizierten Erreger dargestellt. Am häufigsten wurde der Erreger *Escherichia coli* detektiert. Insgesamt war in 57 Probenmaterialien der Keim zu finden. Neben dem Bakterium *Escherichia coli* wurden zahlreiche Keime der Gattung *Pseudomonas aeruginosa* diagnostiziert. Außerdem wurden auch weitere Enterobacterales auf den Agarplatten sichtbar, darunter beispielsweise der Erreger *Klebsiella pneumoniae*.

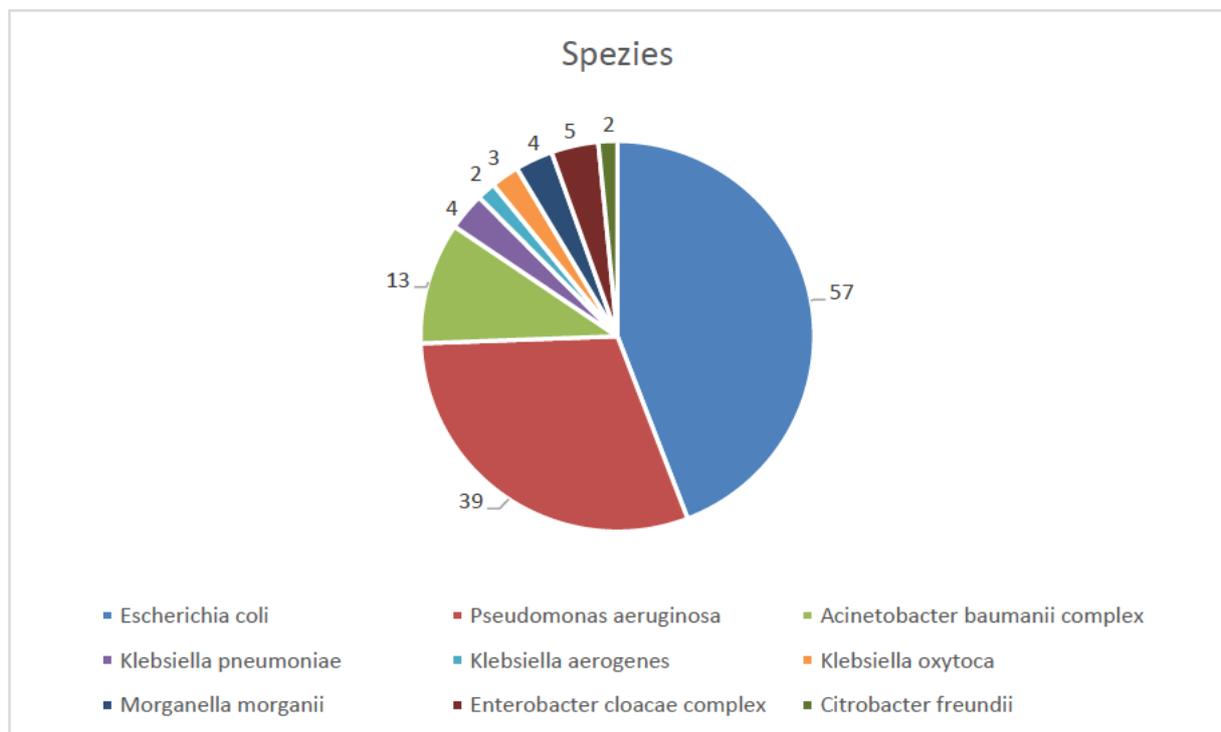


Abbildung 9: Spezies, eigene Darstellung, 2022

4.3. Sensitivität und Spezifität

Um die erhaltenen Ergebnisse nochmals zu bestätigen und gleichzeitig die Validität zu prüfen, werden im nächsten Schritt die Sensitivität und Spezifität der Methode berechnet. Die Sensitivität ist ein Maß, um die Funktionalität eines diagnostischen Tests aufzuzeigen. Sie gibt an, zu wie viel Prozent der Test bei den tatsächlich kranken Personen die Krankheit auch erkennt. Im Gegenzug gibt die Spezifität an, zu wie viel Prozent ein Test die tatsächlich gesunden Personen auch als gesund erkennt (Bundesministerium für Soziales, Gesundheit, Pflege und Konsumentenschutz, 2022).

Testergebnis	krank	nicht krank
positives Ergebnis	richtig positiv (A)	falsch positiv (B)
negatives Ergebnis	falsch negativ (C)	richtig negativ (D)

Tabelle 3: Vierfeldertafel, eigene Darstellung, 2022

Zunächst erfolgt die Erstellung einer Vierfeldertafel wie aus Tabelle 2 zu entnehmen ist. So ergibt sich für die Screening-Methode mit den Antibiotikaplättchen folgende Tabelle:

Testergebnis	krank	nicht krank
positives Ergebnis	67	12
negatives Ergebnis	0	222

Tabelle 4: Vierfeldertafel Screening-Methode mit Antibiotikaplättchen, eigene Darstellung, 2022

67 Proben wurden als richtig positiv diagnostiziert. Allerdings waren 12 weitere Proben falsch positiv. Die weiteren 222 von den insgesamt 301 Proben, welche anhand der Methodik inklusive der Antibiotika auf den Selektivböden untersucht wurden, wurden richtig negativ diagnostiziert. Zudem gibt es keine falsch negativen Ergebnisse.

Zur Berechnung der Sensitivität wird die Formel „Sensitivität = $A / (A+C)$ “ verwendet. Sprich Sensitivität = $67 / (67+0) = 1 = 100$ Prozent. Um nun die Spezifität zu berechnen, wird die Formel „Spezifität = $D / (B+D)$ “ verwendet. Dies ergibt folgendes Ergebnis: Spezifität = $222 / (12+222) = 0,949 = 0,95 = 95$ Prozent.

Mit Hilfe der Vierfeldertafel aus Tabelle 3 lassen sich nun der positive prädiktive Wert ($PPV = A / (A+B)$) und der negative prädiktive Wert ($NPV = D / (C+D)$) berechnen. Diese Werte geben den Anteil der Personen an, welche ein positives Testergebnis haben und die Krankheit auch tatsächlich vorliegt (positiver prädiktiver Wert) und den Anteil der Personen, welche ein negatives Testergebnis haben und auch tatsächlich gesund sind (negativer prädiktiver Wert) (Köbberling, S.591-595, 1982). Somit lautet die Formel zur Berechnung des positiven prädiktiven Wert $PPV = 67 / (67+12) = 0,848 = 0,85 = 85$ Prozent und für den negativen prädiktiven Wert $NPV = 222 / (0+222) = 1 = 100$ Prozent.

Des Weiteren lässt sich das Maß Likelihood-Ratio, sowohl positiv als auch negativ, berechnen. Die Likelihood-Ratio gibt an, um welchen Faktor das Ergebnis unter den Kranken häufiger vorkommt als unter den nicht kranken Personen (Schwarzer et al., o.J.). Um das Ergebnis für die positive Likelihood-Ratio zu erhalten, wird nach der Formel $LR+ (\text{positive Likelihood-Ratio}) = \text{Sensitivität} / (1 - \text{Spezifität})$ gerechnet. Daher lautet die Berechnung wie folgt: $LR+ = 1 / (1 - 0,95) = 20,0$. Anschließend wird die negative Likelihood-Ratio anhand der Formel $LR- (\text{negative Likelihood-Ratio}) = (1 - \text{Sensitivität}) / \text{Spezifität}$ berechnet. Unter Anwendung dieser Formel wird folgendes Ergebnis ersichtlich: $LR- = (1-1) / 0,95 = 0,0$.

	Wert	95% CI
Sensitivität	100%	39,86% bis 100,0%
Spezifität	95%	95% bis 100%
Positiv prädiktiver Wert	85%	
Negativ prädiktiver Wert	100%	
Positiv Likelihood-Ratio	20,0	
Negativ Likelihood-Ratio	0,0	

Tabelle 5: Zusammenfassung statistischer Berechnungen Screening-Methode inklusive Antibiotika, eigene Darstellung, 2022

Die Methodik mit den Leitantibiotikaplättchen hat zu 100 Prozent die tatsächlich positiven Proben erkannt. Des Weiteren lässt es sich erkennen, dass das Screening zu 95 Prozent die tatsächlich negativen Proben auch als solche erkennt.

Der positiv prädiktive Wert mit 85 Prozent beschreibt, dass die Screening-Methode das positive Ergebnis erkannt hat und die Krankheit auch tatsächlich bei den Personen vorliegt. Die folgenden Ergebnisse zeigen, anhand des negativ prädiktiven Wertes, dass zu 100 Prozent der Anteil der Personen, welche ein negatives Ergebnis haben, auch wirklich gesund sind. Somit wurden alle negativen Proben richtig erkannt und keine falsch negativen Ergebnisse diagnostiziert.

Die positive Likelihood-Ratio beschreibt das Verhältnis der Wahrscheinlichkeit für ein positives Testergebnis unter den kranken Personen zur Wahrscheinlichkeit für ein positives Testergebnis unter den nicht kranken Personen. Da der Test insgesamt 12 Proben falsch positiv diagnostiziert hat, beträgt die positive Likelihood-Ratio 20,0. Im Gegenzug beschreibt die negative Likelihood-Ratio das Verhältnis der Wahrscheinlichkeit für einen negativen Test unter den gesunden Personen zur Wahrscheinlichkeit für einen negativen Test unter den kranken Personen. Somit beträgt die negative Likelihood-Ratio 0, da alle negativen Proben als solche erkannt wurden und keine falsch negativen Proben vorhanden sind.

Zum Vergleich der vorliegenden Daten wird die Screening-Methode ohne die Antibiotika auf den Agarplatten denselben statistischen Tests unterzogen. Somit ergeben sich die folgenden Ergebnisse:

Testergebnis	krank	nicht krank
positives Ergebnis	35	16
negatives Ergebnis	0	169

Tabelle 6: Vierfeldertafel Screening-Methode ohne Antibiotikaplättchen, eigene Darstellung, 2022

35 Proben wurden nach der Methode ohne der aufgelegten Antibiotikaplättchen auf den Selektivböden positiv erkannt. Jedoch wurden 16 Proben falsch positiv diagnostiziert. Allerdings gab es auch bei dieser Screening-Methode keine falsch negativen Proben, dafür 169 Proben, welche richtig negativ erkannt wurden.

Die Sensitivität wurde hier wie folgt berechnet: $\text{Sensitivität} = 35 / (35+0) = 1 = 100$ Prozent. Anschließend wurde auch hier die Spezifität berechnet: $\text{Spezifität} = 169 / (16+169) = 0,914 = 91,4$ Prozent.

Auch bei der vorliegenden Screening-Methode lässt es sich mit Hilfe der Vierfeldertafel aus Tabelle 5 der positive prädiktive Wert (PPV) und der negative prädiktive Wert (NPV) berechnen. Diese Werte wurden folgend berechnet: $PPV = 35 / (35+16) = 0,686 = 68,6$ Prozent. Der negative prädiktive Wert beträgt nach der Rechnung $NPV = 169 / (0+169) = 1 = 100$ Prozent.

Folgend werden auch hier die positive (LR+) wie auch negative Likelihood-Ratio (LR-) berechnet. So lautet die Formel für die positive Likelihood-Ratio $LR+ = 1 / (1 - 0,914) = 16,7$. Folglich wird die negative Likelihood-Ratio unter folgender Formel berechnet $LR- = (1-1) / 0,914 = 0$.

	Wert	95% CI
Sensitivität	100%	54,44% bis 100,0%
Spezifität	91,4%	81,6% bis 98,9%
Positiv prädiktiver Wert	68,6%	
Negativ prädiktiver Wert	100%	
Positiv Likelihood-Ratio	16,7	
Negativ Likelihood-Ratio	0,0	

Tabelle 7: Zusammenfassung statistischer Berechnungen Screening-Methode ohne Antibiotika, eigene Darstellung, 2022

Zusammengefasst lässt sich erkennen, dass auch die Screening-Methodik ohne die Antibiotikaplättchen auf den Agarböden die tatsächlich positiven Proben zu 100 Prozent erkannt hat. Zudem weist dieses Screening eine Spezifität von 91,4 Prozent auf. Somit wurden die tatsächlich negativen Proben auch als solche erkannt.

Der positiv prädiktive Wert mit 68,6 Prozent beschreibt, dass die Screening-Methode das positive Ergebnis erkannt hat und die Krankheit auch tatsächlich bei den Personen vorliegt. Ebenso lässt es sich, anhand des vorliegenden Ergebnis des negativ prädiktiven Wertes erkennen, dass zu 100 Prozent der Anteil der Personen, welche ein negatives Ergebnis haben, auch wirklich nicht erkrankt sind. Somit wurden auch bei der Screening-Methode ohne den Leitantibiotikaplättchen alle negativen Proben richtig erkannt und keine falsch negativen Ergebnisse diagnostiziert.

Wie zuvor erwähnt, beschreibt die positive Likelihood-Ratio das Verhältnis der Wahrscheinlichkeit für ein positives Testergebnis unter den kranken Personen zur Wahrscheinlichkeit für ein positives Testergebnis unter den nicht kranken Personen. Das vorliegende Screening hat 16 Proben falsch positiv diagnostiziert. Daher beträgt der Wert des positiven Likelihood-Ratio 16,7. Dahingegen beschreibt die negative Likelihood-Ratio das Verhältnis der Wahrscheinlichkeit für einen negativen Test unter den gesunden Personen zur Wahrscheinlichkeit für einen negativen Test unter den kranken Personen. Daher beträgt der Wert der negativen Likelihood-Ratio auch bei dieser Screening-Methodik 0, da keine falsch negativen Ergebnisse vorliegen.

4.4. Time to result

Eine weitere Erkenntnis der Forschung ist, dass die „Time to result“ sprich die Zeit, welche vergeht, bis ein Ergebnis zur Probe vorliegt, positiv beeinflusst werden kann. Dies liegt daran, dass auf den beimpften Agarplatten inklusive der aufgelegten Antibiotika der Erreger schneller und einfacher beurteilt werden kann. Mit Hilfe der Antibiotika werden Sensitivitäten oder Resistenzen sichtbar, da sich um die Antibiotikaplättchen Hemmhöfe bilden. Die Hemmhöfe lassen sich in Anlehnung zur aktuellen EUCAST-Norm ausmessen und bestimmen in sensibel, resistent oder intermediär, welches so viel bedeutet wie sensibel bei erhöhter Dosierung [der Antibiotikagabe] (EUCAST, 2022). Sofern keine Hemmhöfe um die Antibiotika zu sehen sind, aber dennoch Wachstum da ist, ist der Keim resistent gegenüber dem Ceftazidim und Ciprofloxacin.

Sofern die Messungen der Hemmhöfe ergeben, dass das Ceftazidim und Ciprofloxacin keine Wirkung auf den gramnegativen Erreger haben, aber das Meropenem eine sensible Wirkung aufweist, liegt ein 3MRGN vor. Dies kann aus der Abbildung 3 entnommen werden.

Somit kann die Erstbeurteilung des Keims schneller erfolgen, da er sich durch die Leitantibiotikaplättchen einfacher einordnen lässt. Insbesondere kann die Zeit zum Befund bei den negativen Proben verbessert werden. Denn sofern kein Wachstum nach der Inkubationszeit von 24h vorhanden ist, ist das Screening auf multiresistente gramnegative Erreger negativ. Zudem ist das Screening negativ, wenn die Antibiotika eine sensible Wirkung auf das Bakterium haben. Somit wird die Diagnostik beschleunigt.

Zuvor war dies nur dann möglich, wenn nach der Inkubationszeit der beimpften Agarplatten diese weiterhin ohne Wachstum blieben. Sobald Wachstum auf den Selektivböden vorhanden war, wurde ein Verdacht auf MRGN geäußert und weitere Untersuchungen wurden veranlasst. Dies hat zur Folge, dass vor allem auch die negativen Proben, trotz Wachstum, und somit ein negativer Befund zu einem späteren Zeitpunkt mitgeteilt wird. Die folgende Tabelle stellt die mediane Zeit bis zum Ergebnis der Probe und die mediane Zeit bis zur Validation dar.

Monat (Jahr 2021)	Mittelwert vom Eingang der Probe bis zum Ergebnis	Mittelwert von Eingang der Probe bis zur Validation
Januar	01 Tag 20:58	02 Tag 01:57
Februar	01 Tag 02:26	01 Tag 06:51
März	01 Tag 16:50	01 Tag 13:07
April/ Mai/ Juni	01 Tag 10:08	01 Tag 21:04
Juli	01 Tag 13:04	01 Tag 17:55
August	01 Tag 09:20	01 Tag 14:03
September	01 Tag 10:30	01 Tag 12:32
Oktober	01 Tag 07:40	01 Tag 22:45
November	01 Tag 05:22	01 Tag 06:57
Dezember	01 Tag 08:27	01 Tag 10:49
Monat (Jahr 2022)		
Januar	01 Tag 08:37	01 Tag 11:52
Gesamt	01 Tag 09:42	01 Tag 16:13

Tabelle 8: Mediane Zeit bis zum Ergebnis und bis zur Validation, eigene Darstellung, 2022

Zu erwähnen ist, dass die vorliegenden Ergebnisse weiterhin verifiziert werden und dies zum aktuellen Zeitpunkt noch nicht abgeschlossen ist.

5 Diskussion

Die erhaltenen Ergebnisse der vorliegenden Forschung zum Vergleich einer Screening-Methode auf multiresistente gramnegative Erreger anhand der Antibiotika Ceftazidim, Ciprofloxacin und Meropenem, wie auch des CAT-IDs, auf den Agarplatten und der Vergleich der Screening-Methode, ohne der Antibiotika haben bedeutungsvolle Erkenntnisse für die Beantwortung der Fragestellung dieser Arbeit liefern können.

5.1. Methodendiskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde eine prospektive Studie mit einer Head-to-Head-Comparison durchgeführt, um das Screening auf MRGN zu evaluieren. Dazu wurden zwei Screening-Methoden miteinander verglichen. Zuvor wurde das Screening anhand des beimpften ESBL-Agars ohne Antibiotikaplättchen durchgeführt. In Anlehnung an die Norm der EUCAST, welche die Leitlinie zur Bestimmung der Sensibilität oder Resistenz gegenüber Antibiotika von verschiedenen Keimen bildet (EUCAST, 2022), wurde eine Screening-Methode getestet, welche die Leitantibiotika auf den Agarplatten aufgelegt hatte.

Die vorliegende Untersuchung erfolgte stets unter medizinischer Indikationsstellung und unterliegt somit der Beurteilung von Ärztinnen und Ärzte des Labors. Zunächst wurde das Screening mit den Leitantibiotika geprüft. Hierzu wurden die Hemmhöfe um die Antibiotikaplättchen während der Diagnostik per Hand ausgemessen. Dies hat die Schwierigkeit, dass die Hemmhöfe nicht immer einen gleichmäßigen Kreis gebildet haben und somit das Ausmessen erschwert haben. Dennoch erlaubten die Antibiotika in den meisten Fällen eine präzise Erstbeurteilung des Keims. Eine solche Schwierigkeit liegt nicht bei der Methode ohne die Antibiotika vor, da hier die Beurteilung sich nur auf das vorhandene oder fehlende Wachstum beschränkt.

Die Screening-Methodik inklusive der Leitantibiotikaplättchen erlaubt es, auf Grund der sichtbaren Sensibilität oder Resistenz, gewisse Resistenzmechanismen wie beispielsweise OXA-Carbapenemasen zu detektieren. Jedoch ist dies nicht üblich, so die Resistenzmechanismen zu diagnostizieren. Hierfür werden andere Methoden verwendet wie zum Beispiel OXA-48-Platten, welche spezielle Selektivböden zur Diagnostik von OXA-Carbapenemasen sind oder anderen Falles die Empfehlung der

NAK zur Testung auf Carbapenemasen bei Enterobacterales mit Hilfe von Ertapenem und Meropenem. Des Weiteren ist zu erwähnen, dass die Resistenzmechanismen ebenso einer Einschränkung unterliegen. Zudem sind Carbapenemasenresistenzen selten in den Kliniken, welche ihre Proben an das Labor zukommen lassen, vorgekommen, daher konnte die Screening-Methode mit den Antibiotika nicht weiter auf diesen Resistenzmechanismus geprüft werden.

Zum jetzigen Zeitpunkt unterliegen die Anwendbarkeit und Interpretation der Resultate einer Einschränkung, da derzeit keine vergleichbaren Daten zu dieser Screening-Methode auf MRGN vorliegen.

5.2. Ergebnisdiskussion

Das Screening auf multiresistente gramnegative Keime mit Hilfe der Antibiotika auf den Agarplatten erbringt keine „underperformance“, sprich dieser Test ist nicht schlechter als die ursprüngliche Variante, um auf MRGN zu detektieren.

Die Sensitivität beträgt bei beiden untersuchten Screening-Methoden 100 Prozent. Sowohl die Methode mit den Antibiotikaplättchen als auch die Methode ohne die Antibiotika konnten zu dieser Rate alle positiven Proben erkennen. Dies bedeutet, dass das Platzieren der Antibiotikaplättchen auf den Selektivböden das Wachstum des Bakteriums nicht gänzlich hemmt. Zu 95 Prozent konnte das Screening mit den Antibiotika die tatsächlich negativen Proben erkennen. Dahingegen lag die Spezifität bei der Screening-Methode ohne die aufgelegten Antibiotika bei 91,4 Prozent.

Beide Screening-Methoden haben zwar keine falsch negativen Ergebnisse aufgewiesen, dafür jedoch falsch positive Ergebnisse. Vergleicht man nun die falsch positiven Ergebnisse dieser Screening-Methode mit der Methode der Leitantibiotika, lässt sich erkennen, dass die Fehlerquote sich kaum unterscheidet. Das Screening mit den Antibiotika hat insgesamt 12 falsch positive Ergebnisse erbracht. Im Gegenzug hat die Screening-Methode ohne die Antibiotika insgesamt 16 falsch positive Ergebnisse aufgezeigt. Insgesamt lässt sich erkennen, dass die Screening-Methode auf multiresistente gramnegative Keime mit den Leitantibiotikaplättchen vergleichbare Ergebnisse liefert. Die Methodik ermöglicht sogar präzisere Ergebnisse und Beurteilungen der Proben. Zudem konnte somit geprüft werden, dass der Test eine ähnliche Zuverlässigkeit wie die zuvor angewendete Methode erbringt.

Das Screening auf multiresistente gramnegative Keime mit Hilfe der Leitantibiotikaplättchen auf den Agarplatten ermöglicht auch eine zeitliche Verbesserung, bis das Ergebnis beziehungsweise der Befund vorliegt. Eine erste Beurteilung kann anhand der Färbung des Keims und der Sichtbarkeit der Reaktion des Keims auf die Antibiotika erfolgen. So können insbesondere die negativen Proben schneller mitgeteilt werden. Sind nach der aktuellen EUCAST-Norm die Hemmhöfe um die Antibiotikaplättchen groß genug, dass sie nach der Norm entweder als intermediär oder als sensibel gelten, ist das Screening auf MRGN folglich negativ, da keine Multiresistenz vorliegt und die Diagnostik ist demnach abgeschlossen. Auch kann das Screening beendet werden, wenn weiterhin kein Wachstum auf den Agarplatten vorhanden ist, dies ist allerdings auch bei der Screening-Methode ohne die dazugegebenen Antibiotika möglich. Durch die Erstbeurteilung des wachsenden Keims mit Hilfe der Leitantibiotika Ceftazidim, Ciprofloxacin, Meropenem und des Faropenems CAT-ID ist es möglich einen präzisen Verdacht auf einen multiresistenten gramnegativen Erreger zu äußern. Dies kann zeitlich schneller an die Klinik mitgeteilt werden, welche vorzeitig Präventionsmaßnahmen anwenden kann, bis eine feste Diagnose steht. Einen vorzeitigen präzisen Verdacht auf einen MRGN zu äußern, ist bei der Screening-Methode ohne die Antibiotika nicht möglich, da unklar ist, ob ein 3MRGN oder 4MRGN oder eine andere Resistenz vorliegt.

Für die Deutung der vorliegenden Ergebnisse ist zu beachten, dass die Proben aus klinischen Settings stammen. Dabei ist das stationäre Setting in den Kliniken unklar. Somit können keine Tendenzen nach klinischen Stationen ausgesprochen werden, da eventuell nicht alle erfasst sind.

Außerdem ist unklar, was präanalytisch am Patienten vorgenommen wurde. So können vorangegangene antibiotische Therapien, welche beispielsweise prophylaktisch vor Operationen verabreicht werden, die Daten dieser Arbeit beeinflussen. Auf Grund dessen ist es möglich, dass nicht genug Bakterien im Probenmaterial vorhanden ist und die Diagnostik so beeinflusst wird. Somit können negative Ergebnisse vorliegen, obwohl es möglich ist, dass diese doch eigentlich positiv sind. Dieses ist allerdings auch bei konventionellen Methoden zum Screening auf multiresistente Keime eine Einschränkung.

Auch die Probenentnahme, welche zuvor am Patienten durchgeführt wird, kann Einfluss auf den Befund haben. Hier stellt sich die Frage, wie präzise genug die Probe

entnommen wurde. Es ist äußerst möglich, dass das entnommene Material der Probe durch Begleitflora verunreinigt wurde und dementsprechend auch ein eventuelles negatives Ergebnis erbringt, obwohl die Patientin / der Patient an einem multiresistenten gramnegativen Keim erkrankt ist. Zudem kann es sein, dass bei der Probenentnahme nicht genug Material abgenommen wurde, weshalb ein spärliches oder gar kein Wachstum des Keims vorhanden sein kann. Somit besteht auch hierbei die Schwierigkeit, ein falsch negatives Ergebnis zu erhalten.

Eine weitere Schwierigkeit während des Screenings auf multiresistente Keime liegt vor, da keine klinischen Daten zu den Proben beziehungsweise zum Krankheitsverlauf der Patientinnen und Patienten vorliegen. Demnach ist es wichtig, die Lokalisation des entnommenen Probenmaterial zu haben, damit Flora, welche typisch für das untersuchte Areal ist, erkannt und vom krankmachenden Keim unterschieden werden kann.

Die Lesenden dieser Arbeit sollten beachten, dass die Verfasserin kein Medizin- oder Biologie Studium absolviert hat. Die Erfassung der Ergebnisse können eingeschränkt sein und mögliche Fehlerquellen beinhalten. Dennoch wurden die Resultate genaustens erfasst und nachvollziehbar aufgeführt.

Zusammenfassend zeigen die vorliegenden Ergebnisse, dass die Screening-Methode mit den Leitantibiotikaplättchen ähnliche Resultate erbringt, wie die konventionelle Screening-Methode ohne der Leitantibiotika auf den Agarplatten. Sie ermöglicht, dass vor allem die negativen Ergebnisse genauer erfasst und somit zeitlich schneller an die Kliniken mitgeteilt werden können.

Inwieweit die Ergebnisse dieser Arbeit auf die Bevölkerung übertragbar sind und das Screening auf multiresistente gramnegative Erreger mit Hilfe der antibiotischen Leitsubstanzen auf den Agarplatten eine Alternative zur Screening-Methodik ohne die Zugabe der Antibiotika darstellt, unterliegt der Aufgabe weiterer in vivo Studien dieses zu erforschen.

6 Fazit und Ausblick

Anhand der Durchführung einer prospektiven Studie zur Evaluation einer Screening-Methode auf multiresistente gramnegative Erreger mit Hilfe von Leitantibiotika setzt sich diese Bachelorthesis mit der Untersuchung dieser auseinander. Es sollte herausgefunden werden, ob das MRGN-Screening inklusive der Antibiotika vergleichbare Ergebnisse erbringen kann, wie die konventionelle Screening-Methode ohne der Antibiotikaplättchen auf den Agarplatten.

Die Ergebnisse der Forschung zeigen, dass die Screening-Methode auf multiresistente gramnegative Erreger mit den Leitantibiotika auf den Agarplatten vergleichbar mit der Screening-Methode ohne die Antibiotika ist. Es zeigte sich, dass Sensitivität und Spezifität ähnliche Werte aufbringen. Auch weiteren statistischen Berechnungen zu Folge, unterscheidet sich diese Screening-Methode von der erbrachten Leistung kaum vom konventionellen Screening. Anhand dieser Methodik ist es möglich, die Diagnostik beziehungsweise das Screening auf multiresistente gramnegative Keime schneller zu beenden, insbesondere bei Proben, welche einen negativen Befund hervorbringen. Denn mit Hilfe der Screening-Methode mit den Antibiotika ist es gegeben, anhand der sichtbaren Sensibilität auf die Leitantibiotika, trotz Wachstum auf den Agarplatten negative Proben schneller zu identifizieren.

Inwieweit das Screening auf multiresistente gramnegative Erreger anhand der Leitsubstanzen der Antibiotika ergänzt werden kann, sollte in weiteren in vivo Studien erforscht werden. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass die Relevanz der MRGN bedeutungsvoll ist, weshalb das Thema weiterhin näher betrachtet werden sollte und Forschungspotenzial zu weiteren Screening-Methoden, um multiresistente gramnegative Keime zu identifizieren, besteht. Die Thematik der Multiresistenzen ist bedeutend für den Bereich Public Health, um präventiv gegen die Zunahme der Verbreitung von MRGN vorzubeugen. Hierzu kann das Screening der erste Schritt sein.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Bachelorthesis selbstständig erfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe, alle Ausführungen, die anderen Schriften wörtlich oder sinngemäß entnommen wurden, kenntlich gemacht sind und die Arbeit in gleicher oder ähnlicher Fassung noch nicht Bestandteil einer Studien- oder Prüfungsleistung war.

Ort, Datum

Unterschrift

Literaturverzeichnis

Bruker Daltonics Inc. (2018): MALDI Biotyper CA System. Clinical Application for Identification of Microorganisms. In: <https://pdf.directindustry.de/pdf-en/bruker-daltonics/maldi-biotyper-ca-system/30029-747235.html#open1572777> [01.04.2022].

Bundesministerium für Soziales, Gesundheit, Pflege und Konsumentenschutz (2022): Spezifität (von Tests). Österreich. In: <https://www.gesundheit.gv.at/lexikon/s/lexikon-spezifitaet> [01.04.2022].

Eckmann, Christian / Kaffarnik, Magnus / Schappacher, Markus / Otchwemah, Robin / Grabein Béatrice (2018): Multiresistente gramnegative Bakterien. Klinischer Managementpfad für Patienten mit elektiven Eingriffen in der Viszeralchirurgie. Wien: Springer-Verlag GmbH Austria. In: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s00740-018-0231-4.pdf> [25.03.2022].

The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (2022): Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 12.0. In: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_12.0_Breakpoint_Tables.pdf [13.02.2022].

The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (2016): EUCAST Statutes. In: https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/EUCAST_Statutes_20160411_approved_by_General_Committee.pdf [01.04.2022].

The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (2018): Susceptibility testing categories S, I and R have been redefined by EUCAST and are now related to

exposure of the infecting organism at the site of infection. In: [https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Consultation/2018/Information for NACs -
_Redefining antimicrobial susceptibility testing categories.pdf](https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Consultation/2018/Information_for_NACs_-_Redefining_antimicrobial_susceptibility_testing_categories.pdf) [01.04.2022].

Gatermann, Sören, Kresken, Micheal, (2022): Nationales Antibiotika-Sensitivitätstest-Komitee (NAK). NAK-Poster. In: https://www.nak-deutschland.org/tl_files/nak-deutschland/NAK-Poster.pdf [01.04.2022].

Geffers, Christine / Gastmeier, Petra (2011): Nosokomiale Infektionen und multiresistente Erreger in Deutschland – Epidemiologische Daten aus dem Krankenhaus-InfektionsSurveillance-System. In: http://www.koch-metschnikow-forum.de/newsletter/20110330DE/KMF_Noso-Infektionen.pdf [13.02.2022].

Hahn, Helmut / Kaufmann, Stefan H.E. / Schulz, Thomas F. / Suerbaum, Sebastian (2009): Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie. 6. Auflage, Heidelberg: Springer Medizin Verlag.

Hamprecht, A., Kresken, M., Mack, D., Molitor, E., Gatermann, S. (o.J.): Empfehlung zur Detektion von Carbapenemasen bei Enterobakterien (Enterobacterales). Nationales Antibiotika-Sensitivitätstest-Komitee. In: [https://www.nak-deutschland.org/tl_files/nak-deutschland/NAK%202021/Vorgehen Carbapenemase NAK 20210930.pdf](https://www.nak-deutschland.org/tl_files/nak-deutschland/NAK%202021/Vorgehen_Carbapenemase_NAK_20210930.pdf) [01.04.2022].

Hata, D. J., Hall, L., Fothergill, A. W., Larone, D. H., Wengenack, N. L. (2007): Multicenter Evaluation of the New VITEK 2 Advanced Colorimetric Yeast Identification Card. Journal of Clinical Microbiology. DOI: 10.1128/JCM.01754-06. In: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/JCM.01754-06> [18.06.2022].

Kaase, M. (2012): Carbapenemasen bei gramnegativen Erregern in Deutschland. Daten des Nationalen Referenzzentrums für gramnegative Krankenhauserreger. Bundesgesundheitsblatt, 2012. Bochum: Springer-Verlag. DOI 10.1007/s00103-012-1552-x. In: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s00103-012-1552-x.pdf> [01.04.2022].

Kayser, Fritz H. / Böttger, Eric C. / Zinkernagel, Rolf M. / Haller, Otto / Eckert, Johannes / Deplazes, Peter (2010): Medizinische Mikrobiologie. 12. Auflage, Stuttgart: Georg Thieme Verlag.

Klischies, Rainer / Panther, Ursula / Singbeil-Grischkat, Vera (2008): Hygiene und Medizinische Mikrobiologie – Lehrbuch für Pflegeberufe. 5. Auflage, Stuttgart: Schattauer Verlag.

Köbberling, J. (1982): Der prädiktive Wert diagnostischer Maßnahmen. Deutsches Medizinisches Wochenschriften. S. 591- 595. Stuttgart: Thieme Verlag. In: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/pdf/10.1055/s-2008-1069984.pdf> [01.04.2022].

KRINKO: Ergänzung zur Empfehlung der KRINKO „Hygienemaßnahmen bei Infektionen oder Besiedlung mit multiresistenten gramnegativen Stäbchen“ (2012) im Zusammenhang mit der von EUCAST neu definierten Kategorie „I“ bei der Antibiotika-Resistenzbestimmung: Konsequenzen für die Definition von MRGN. Epid Bull 2019;9:82 – 83 | DOI 10.25646/5916. In: https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2019/Ausgaben/09_19.pdf?__blob=publicationFile [13.02.2022].

Lehmacher, W., Wolff, S. (2011): Die Bedeutung von Head-to-Head-Studien für die versorgungsnahe klinische Forschung. Zeitschrift für Evidenz, Fortbildung, Qualität im Gesundheitswesen (ZEFQ). Ausgabe 105. S. 639-645. DOI: 10.1016/j.zefq.2011.10.028. In:

<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1865921711003205?token=BEAD5D2E95A904F43A99DA7B10211DE0706F90E0F5E823A5C3A306CBF9C7A58644860DEC FB47F5FEF5A0B5C9D505861A&originRegion=eu-west-1&originCreation=20220627112640> [14.06.2022]

Mast Group (o.J.): Mastdiscs Combi. ESBL & AmpC Detection Disc Sets – D68C.

NEXUS/ CURATOR (2021): Lenkungsinformation unter Dok.-Nr. 132006.

Pfeifer, Y., Eller, C. (2012): Aktuelle Daten und Trends zur β -Lactam-Resistenz bei gramnegativen Infektionserregern. Bundesgesundheitsblatt 2012. 55:1405-1409: Springer-Verlag. In: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s00103-012-1558-4.pdf> [14.06.2022].

Schrauder, Annette, Vonberg, Ralf-Peter (2009): ESBL-Bildner: Hintergrund, Epidemiologie und Konsequenzen. In: <https://www.thieme-connect.de/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0029-1214886> [13.02.2022].

Schwarzer, Guido, Türp, Jens C., Antes, Gerd (o.J.): Wahrscheinlichkeitsverhältnis (Likelihood Ratio) – Alternative zu Sensitivität und Spezifität. In: https://www.online-dzz.de/fileadmin/ebm_vor_2008/ebm-2002-12.pdf [01.04.2022].

Schwarzkopf, Andreas (2005): MRSA+Co. Multiresistente Bakterien auf dem Vormarsch. In: http://www.freiheitistselfbestimmtesleben.de/pdf/Multiresistente_Keime_Aerztezeitung.pdf [13.02.2022].

Thermo Fisher Scientific (2013): Screening schnell und einfach in nur 24 Stunden, Brilliance ESBL – Detektion von Extended Spectrum β -Lactamase-bildenden Enterobacteriaceae. In: <http://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/Thermo-Scientific-Brilliance-ESBL-Sell%20Sheet-PO5302A-EU-DE.pdf> [01.04.2022].

World Health Organization and the European Centre for Disease Prevention and Control (2022): Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2022. In: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2022-2020-data> [18.04.2022].