

Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene  
Universitätsklinikum Ulm  
Direktor: Prof. Dr. Steffen Stenger

**Bedeutung von Bakterien mit erweitertem Spektrum an  
β-Laktamasen als Kontaminationsquelle  
für Personal und Umgebung**

Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät  
der Universität Ulm

Steffen Friedrich Jung  
aus Braunschweig  
2009

Amtierender Dekan:	Prof. Dr. Klaus-Michael Debatin
1. Berichterstatter:	Prof. Dr. Heike von Baum
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. Heidemarie Suger-Wiedeck
Tag der Promotion:	06.11.2009

## Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	V
<b>1. Einleitung</b> .....	1
1.1 Historie .....	1
1.2 Einteilung und Charakteristika der ESBL-positiven Erreger .....	2
1.3 Epidemiologische Aspekte und klinische Bedeutung.....	3
1.4 Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit.....	6
<b>2. Materialien und Methoden</b> .....	7
2.1 Materialien.....	7
2.1.1 Abklatschversuche.....	7
2.1.2 Resistenzbestimmungen .....	8
2.1.3 Pulsfeldgelelektrophorese .....	8
2.2 Methoden .....	10
2.2.1 Abklatschversuche.....	10
2.2.1.1 Zusammensetzung und Zubereitung verwendeter Agares .....	10
2.2.1.2 Patientenauswahl und Datenerfassung.....	11
2.2.1.3 Keimdifferenzierung und Speziesbestimmung .....	14
2.2.2 Resistenzbestimmungen mittels Mikrobouillondilution .....	16
2.2.2.1 Zusammensetzung verwendeter Medien.....	16
2.2.2.2 Procedere.....	16
2.2.3 Pulsfeldgelelektrophorese (PFGE) .....	17
2.2.3.1 Zusammensetzung verwendeter Pufferlösungen .....	18
2.2.3.2 Procedere.....	19
2.2.5 Statistik .....	22
<b>3. Ergebnisse</b> .....	23
3.1 Studienpopulation .....	23
3.2 Abklatschuntersuchungen der Umgebung.....	24
3.3 Abklatschuntersuchungen des Personals.....	28
3.4 Fazit der Abklatschuntersuchungen.....	34
3.5 Ergebnisse der molekulargenetischen Typisierungen .....	40

3.6 Fazit der molekulargenetischen Typisierungen .....	45
<b>4. Diskussion</b> .....	<b>46</b>
4.1 Nosokomiale Infektionen.....	46
4.2 Zunahme multiresistenter bakterieller Erreger.....	47
4.2.1 Diagnostik von ESBL positiven Enterobakterien .....	49
4.2.2 Therapie und Prävention.....	51
4.2.3 Prognose und Konsequenzen .....	53
4.3 Transmission .....	54
4.4 Interpretation der eigenen Ergebnisse.....	55
4.4.1 Abklatschuntersuchungen der Umgebung.....	55
4.4.2 Abklatschuntersuchungen des Personals .....	56
4.4.3 Interpretation der Typisierungsergebnisse .....	58
4.5 Ausblick.....	61
<b>5. Zusammenfassung</b> .....	<b>63</b>
<b>6. Literaturverzeichnis</b> .....	<b>65</b>
<b>Danksagungen</b> .....	<b>74</b>

## Abkürzungsverzeichnis

API	Analytical Profile Index
ATCC	American Type Culture Collection
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CSB	Cell Suspension Buffer
EARSS	European Antimicrobial Resistance Surveillance System
E. coli	Escherichia coli
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EG	Erdgeschoss
EKG	Elektrokardiogramm
ESBL	Extended spectrum beta – lactamases
FSJ	Freiwilliges soziales Jahr
GENARS	German Network for Microbial Resistance Surveillance
HFK	Hygienefachkraft
KBE	Kolonie bildende Einheit
KISS	Krankenhaus - Infektions - Surveillance - System
K. oxytoca	Klebsiella oxytoca
K. pneumoniae	Klebsiella pneumoniae
MDR	Multi Drug Resistance
MHK	Minimale Hemmkonzentration
MIO	Motilität, Indolbildung, Ornithindecaboxylase
MRSA	Methicillin resistenter Staphylococcus aureus
neg.	negativ
ODC	Ornithindecaboxylase
OE	Oberer Eselsberg
OP	operativ bzw. Operationssaal
P. aeruginosa	Pseudomonas aeruginosa
Pat.	Patient
PCR	Polymerase Kettenreaktion

PFGE	Pulsfeldgelelektrophorese
P. fluorescens	Pseudomonas fluorescens
pos.	positiv
Prot. mirabilis	Proteus mirabilis
RKI	Robert Koch Institut
Rö	Röntgen
SARI	Surveillance der Antibiotika-Anwendung und der bakteriellen Resistenzen auf Intensivstationen
Spec.	Species
Spp.	Species
St. maltophilia	Stenotrophomonas maltophilia
Sulf.	Sulfamethoxazol
TE	Tris - EDTA
TBE	Tris - Borat - EDTA
Trim.	Trimethoprim
Tris	Trishydroxymethyl-aminomethan
VRE	Vancomycin resistenter Enterococcus
vorauss.	voraussichtlich
vs.	versus
ZVK	Zentraler Venenkatheter

# 1. Einleitung

Antibiotikaresistenzen sind auf dem Vormarsch. Mit Methicillin resistenten Staphylokokki aurei, kurz MRSA, vor mehr als 40 Jahren in das Bewusstsein des Klinikalltags vorgedrungen, fällt das Augenmerk nun auf eine relativ neue Gruppe resistenter Erreger. So ist in den vergangenen Jahren ein rapider Anstieg von Resistenzen bei gramnegativen Bakterien, insbesondere bei *Escherichia coli* und *Klebsiella pneumoniae*, zu beobachten gewesen. Diese Bakterien mit einem erweiterten Substratspektrum von antibiotikainaktivierenden  $\beta$ -Laktamasen werden als ESBL bezeichnet. Mit einer annähernden Verzehnfachung der Fälle im Zeitraum 2003 bis 2007 (66) stellt diese Gruppe eine neue Herausforderung in der klinischen Behandlung dar.

Welchen Stellenwert hygienische Maßnahmen im Umgang mit ESBL positiven Erregern haben, blieb bisher weitgehend unbehandelt. Dabei stehen fundamentale Fragen offen. So interessiert zum Einen welche grundsätzliche Kontaminationsgefahr von ESBL besiedelten Patienten für Umgebung und behandelndes Personal ausgeht. Zum Anderen muss in der Konsequenz die Diskussion nach adäquatem Patientenmanagement geführt werden. Diesen Fragen soll die vorliegende Arbeit nachgehen.

## 1.1 Historie

Die Entstehung von Resistenzen gehört im Rahmen evolutionärer Anpassungsvorgänge zu grundlegenden Fähigkeiten von Bakterien und stellt somit eine natürlich vorkommende Eigenschaft von Prokaryonten dar. Diese Assimilationsfähigkeit sichert das Überleben der Spezies.

In diesem Sinn beginnt die neuere Geschichte der Antibiotikaresistenzen mit der Entdeckung des Penicillins im Jahre 1929 durch Alexander Flemming und befindet sich seitdem im Wettlauf mit der Entdeckung neuer Antibiotika. Grundsätzlich fußt die Antibiotikaresistenzentwicklung auf zwei Säulen: Zum einen der Existenz von

resistenten Erregern und der Weitergabe von Resistenzgenen. Zum anderen auf dem Selektionsdruck, der auf Bakterien durch Antibiotikagabe ausgeübt wird.

Im Rahmen dieser Mechanismen entstanden mit der Entwicklung neuer Antibiotika neue resistente Erreger. Im vordergründigen Interesse standen dabei lange Zeit Resistenzen im grampositiven Bereich wie Glykopeptid resistente Enterokokken (GRE) und Methicillin resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA).

In den letzten Jahren entwickelte sich jedoch auch im gramnegativen Bereich eine beträchtliche Vielzahl an Resistenzen. Insbesondere die Familie der Enterobacteriaceae rückte dadurch in den Fokus. Innerhalb dieser Familie besitzen häufig Bakterien der Spezies *Escherichia coli* und *Klebsiella pneumoniae* die Fähigkeit, Antibiotika unwirksam zu machen (34). Neben veränderten Penicillinbindeproteinen, einem Fehlen von Außenmembranproteinen (outer membrane proteins) und anderen spielt der Mechanismus der enzymatischen Hydrolyse der antimikrobiellen Grundstruktur des Antibiotikums, des  $\beta$ -Laktamrings, mittels so genannter  $\beta$ -Laktamasen eine führende Rolle (77).

Mit Einführung der 3. Generation von Cephalosporinen im Jahre 1978 zeigte sich neben den altbekannten  $\beta$ -Laktamasen ein neuer Resistenzmechanismus gegen diese neue Gruppe von  $\beta$ -Laktamantibiotika. Durch Punktmutationen, in deren Kontext einzelne Aminosäuren ausgetauscht wurden, erweiterte sich das Substratspektrum der  $\beta$ -Laktamasen. Diese Enzyme mit erweitertem Wirkspektrum wurden Ende der 1980er Jahre erstmals detektiert (57)(71) und werden als extended spectrum  $\beta$ -lactamases, kurz ESBL, bezeichnet.

## 1.2 Einteilung und Charakteristika der ESBL-positiven Erreger

Um die Einteilung der ESBL Gruppen besser verstehen zu können, bedarf es einer kurzen Übersicht über die Kategorisierung der  $\beta$ -Laktamasen per se.

Die Einteilung der  $\beta$ -Laktamasen nach Ambler berücksichtigt die Primärstruktur und teilt in Serin- und Metallo- $\beta$ -Laktamasen und weiter in vier Molekularklassen A, B, C und D ein (77). Bush gliedert die  $\beta$ -Laktamasen nach Funktionsgruppen, die das Substratspektrum und die Wirkung von Hemmstoffen berücksichtigen (41).

Beiden Einteilungen gemein ist die Zuordnung von ESBL zur Gruppe der Serin-  $\beta$ -Laktamasen. Die weitere Differenzierung ordnet ESBL den Ambler Klassen A und D zu (71). Im Speziellen handelt es sich innerhalb dieser Klassen um ESBL Gene, von denen jene der Familie TEM, SHV, CTX-M (Klasse A) sowie OXA (Klasse D) dominieren (33). Explizit handelt es sich bei CTX-M-15 um die momentan national wie auch international am weitesten verbreitete Variante (72).

Jedem dieser ESBL Gene bzw. deren Produkten lassen sich spezifische Substrate zuordnen. So vermitteln die Gruppen TEM, SHV und CTX-M eine Resistenz gegen Oxyimino-Cephalosporine (Cephalosporine der 3. Generation) wie Ceftazidim, Cefotaxim und Cefpodoxim. Die Gruppe OXA kann zu einer Resistenz gegenüber Isoxazolyl-Penicillinen wie Oxacillin beitragen (71).

Diese Gene liegen zum Teil auf dem Bakterienchromosom vor. Zum größeren Teil jedoch befinden sich diese Resistenzgene auf Plasmiden oder anderen mobilen DNA Elementen wie Transposons und Integrons und ermöglichen so die zügige Expansion der resistenten Keime via konjugativen Plasmiden und klonaler Verbreitung. Darüber hinaus stellen diese mobilen DNA Abschnitte sehr häufige Orte von Resistenzgenen dar. Dadurch erklärt sich, dass durch Vorhandensein mehrerer Resistenzgene eine Unwirksamkeit mehrerer Antibiotika im Sinn einer multi drug resistance (MDR) häufig vorkommt (33). So verbreitern z.B. zusätzliche  $\beta$ -Laktamasen vom AmpC Typ das Resistenzspektrum um die Gruppe der Cephamycine wie Cefoxitin und Metallo- $\beta$ -Laktamasen um die Gruppe der Carbapeneme (33)(77). Zusätzlich sind Parallelresistenzen von Fluorchinolonen häufig (41)(42).

### 1.3 Epidemiologische Aspekte und klinische Bedeutung

Das „European Antimicrobial Resistance Surveillance System“ (EARSS) weist für Europa im Jahr 2001 eine Resistenz von *E.coli* gegenüber 3. Generations Cephalosporinen von weniger als 2 % aus (54). Im Jahr 2006 kam es zu einem signifikanten Anstieg, der jedoch noch immer geringer als 5 % für die meisten Länder Europas ausfiel. In fünf Ländern Südosteuropas sind Anteile von über 10

(Rumänien 41 %) etabliert. Vor diesem Hintergrund spricht das EARSS von einer Zeitfrage bis zum Erreichen des Durchbruchs der 5 % Schwelle für den Rest Europas (22).

Obwohl sich Deutschland im europäischen Vergleich in der Spitzengruppe mit einem verhältnismäßig geringen Anteil resistenter *E.coli* wieder findet, ist laut EARSS von 2001 bis 2006 ein Anstieg von <1 % auf 4 % zu verzeichnen (22).

Das „German Network for Microbial Resistance Surveillance“ (GENARS) - an dem auch das Universitätsklinikum Ulm teilnimmt - bestätigt diesen Anstieg mit einer Resistenzentwicklung gegenüber Cefotaxim von 2002 bis 2006 von 1 % auf 5,5 % (70).

Laut „Surveillance der Antibiotika-Anwendung und der bakteriellen Resistenzen auf Intensivstationen“ (SARI) kam es im Zeitraum 2001 bis 2007 gar zu einer Verachtfachung des Vorkommens von *E.coli* mit Resistenz gegen Cephalosporine der 3. Generation (65).

Diese Daten spiegeln aufgrund der schwierigen Detektion dieser Keime eher Untergrenzen wider. Es kann daher von einer unterschätzten Prävalenz ausgegangen werden (33).

Der Anstieg von antibiotikaresistenten Keimen gewinnt vor dem Hintergrund zunehmender Krankenhausinfektionen an Brisanz. So sind in der europäischen Union jedes Jahr 3000000 Infektionen und 50000 Tote im zeitlichen Zusammenhang mit einem Krankenhausaufenthalt zu konstatieren (71). Zu den wichtigsten Erregern nosokomialer Infektionen, von der Infektionsart abhängig, gehören *E.coli* und *Klebsiella spp.* (65)(71).  $\beta$ -Laktamantibiotika und speziell Cephalosporine sind nach wie vor die wichtigsten Medikamente in der Behandlung dieser gramnegativen Bakterien (68). Durch das erweiterte Spektrum an operativen und medikamentösen Möglichkeiten sowie Fortschritt in allen Gebieten der Medizin sind lange Zeit mit großem Risiko verbundene Therapien alltagstauglich geworden und haben in den letzten Jahrzehnten zu einer ansteigenden Zahl geschwächter und immunkompromittierter Patienten geführt.

Letztlich führt die demografische Entwicklung in der entwickelten Welt zu einem ansteigenden Teil älterer, weniger widerstandsfähiger Patienten (71). Abgesehen von der Entwicklung in Krankenhäusern sind Fälle von außerhalb des

Krankenhauses erworbenen ESBL Infektionen bekannt (79)(70). Gerade im ambulanten Bereich kann durch unsachgemäße und unkontrollierte Anwendung von Antibiotika deren Selektion begünstigt werden. Die Gefahr besteht, dass solche vorselektionierten Keime in Hospitäler eingebracht werden. In Krankenhäusern wird die Situation durch das Risiko von Plasmid-Hospitalismus und Hospitalstämmen mit der Gefahr der Übertragung in andere enterobakterielle Spezies (71) potenziert. Verschiedene Transmissionwege von Erregern im Krankenhaus sind beschrieben. Darunter spielen sowohl die Hände des Personals (16 - 19), als auch die Umgebung als Reservoir von Bakterien eine Rolle in der Verbreitung (43).

Die Therapiemöglichkeiten insbesondere auch im Fall eines Ausbruchs (55) sind konsekutiv massiv eingeschränkt.

## 1.4 Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit

Ziel dieser Arbeit ist es, das Ausmaß der Umgebungskontamination sowie die Kontamination von behandschuhter Hand und Schutzkleidung von medizinischem Personal im direkten Kontakt mit ESBL positiven Patienten zu untersuchen. Damit einhergehend soll die Gefahr einer Kontamination des Personals bei Tätigkeiten mit solchen Patienten eingeschätzt werden. Vor dem Hintergrund nicht vorhandener, bindender Richtlinien im Umgang mit ESBL positiven Patienten soll diese Arbeit Aufschluss darüber geben, inwiefern die aktuell angewandten Hygienemaßnahmen bei ESBL positiven Patienten adäquat sind. Darüber hinaus soll sie helfen, Unsicherheiten im Umgang mit diesen Patienten zu nehmen.

Im Einzelnen sollen folgende Fragen geklärt werden:

1. Inwiefern kommt es durch ESBL positive Patienten zu einer Kontamination der Umgebung?
2. Welche Kontaminationsgefahr besteht für das Personal beim Umgang mit ESBL positiven Patienten?
3. Welche Konsequenzen müssen für das Patientenmanagement gezogen werden?

## 2. Materialien und Methoden

### 2.1 Materialien

#### 2.1.1 Abklatschversuche

Verwendete Materialien und Geräte:	Firmenname / Firmensitz:
MacConkey Agar-Base No.3	Oxoid Ltd, Basingstoke, Hampshire, England
Blutagarfertigplatten	heipha Dr. Müller GmbH, Heidelberg, D
Kontaktschalen, o. Nocken 65,0/15mm	Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, D
Kontaktschalen groß 155/25mm	Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, D
MIO-Röhrchen, Citrat-Röhrchen	Abt. Mikrobiologie, Universität Ulm
Kovacs Indolreagenz	Merck KGaA, Darmstadt, D
Api 20 E	bioMérieux SA, Lyon, Frankreich
Costar Stripette	Corning Inc., Corning NY, USA
Eppendorf Easypet 4420	Eppendorf AG, Hamburg, D
Magnetrührer IKAMAG RET basic	IKA Labortechnik, Staufen, D
Elektronische Präzisionswaage	Sartorius AG, Göttingen, D
Autoklav Typ GE 406	Getinge AB, Sweden
Hera safe (Laminar Air Flow)	Heraeus Instruments, Hanau, D
Mikroskop, Axiolab	Carl Zeiss Jena GmbH, Jena, D
Heraeus Brutschrank	Heraeus Instruments, Hanau, D
Microbank microbial storage	Pro-Lab Diagnostics, Richmond Hill ON, Canada

### 2.1.2 Resistenzbestimmungen

Verwendete Materialien und Geräte:	Firmenname / Firmensitz:
Mueller Hinton II Broth	Becton, Dickinson and Company, Sparks MD, USA
Sigma-Phytigel	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
Photometer 450 nm	Gene-Trak Systems, Hopkinton MA, USA
Merlin Mikronaut-S MHK	Merlin Diagnostika GmbH, Bornheim-Hersel, D
Multiscan Ascent	Labsystems, Helsinki, Finland
Auswertesoftware MCN-6	Merlin Diagnostika GmbH, Bornheim-Hersel, D
LaserJet Drucker	Hewlett Packard
PC Monitor	Belinea
Personal Computer	Hewlett Packard

### 2.1.3 Pulsfeldgelelektrophorese

Verwendete Materialien und Geräte	Firmenname / Firmensitz
CASO-Blutagar Tryptic Soy BAP	heipha Dr. Müller GmbH, Heidelberg, D
CASO-Agar acc. EP	heipha Dr. Müller GmbH, Heidelberg, D
1 M Tris pH 8,0	USB Corporation, Cleveland OH, USA
0,5 M EDTA pH 8,0	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
y-Tango-Puffer (10x)	Fermentas GmbH, St. Leon-Rot
Proteinase K	Carl Roth GmbH + Co, Karlsruhe, D
XbaI Restriktionsendonuklease	Fermentas GmbH, St. Leon-Rot
Borsäure	Mallinckrodt Baker B.V., Deventer, NL
Aqua bidest.	Klinikapotheke, Universität Ulm

Ethanol	Riedel-de-Haën, Seelze, D
Ethidiumbromid	Fluka, Buchs, CH
$\lambda$ -Ladder (Molekulargewichtsmarker)	Bio-Rad Laboratories, Hercules CA, USA
N-Lauroylsarcosin Natriumsalzlösung	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, D
SeaPlaque GTG Agarose (Blöckchen)	Cambrex Bio Science Rockland, Rockland ME, USA
Pulsed Field Certified Agarose (Gel)	Bio-Rad Laboratories, Hercules CA, USA
Einweg Impfschlingen	Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, D
Einweg Impfnadel	NUNC A/S, Roskilde, Denmark
10 Well Plug Mold (Blöckchengießform)	Bio-Rad Laboratories, Hercules CA, USA
Standard Gießstand (Gel)	Bio-Rad Laboratories, Hercules CA, USA
15 Well Kamm	Bio-Rad Laboratories, Hercules CA, USA
Eppendorf Reference variabel (10 $\mu$ l – 1000 $\mu$ l)	Eppendorf AG, Hamburg, D
Pipettenspitzen (div.)	Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, D
250 ml sterile Schraubflasche	
50 ml steriles Zentrifugierröhrchen	NUNC A/S, Roskilde, Denmark
Eppendorf safe lock Tubes 2,0 ml	Eppendorf AG, Hamburg, D
Eppendorf safe lock Tubes 1,5 ml	Eppendorf AG, Hamburg, D
Sterile PS Tube 4,5 ml	Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, D
VWR Spec Wipe (fusselreie Tücher)	VWR international, Spartanburg SC, USA
CHEF-DR III (PFGE)	Bio-Rad Laboratories, Hercules CA, USA
Power Supply (PFGE)	
Variable Speed Pump (PFGE)	
Cooling Module	
Autoklav Typ GE 406	Getinge AB, Sweden

Hera safe (Laminar Air Flow)	Heraeus Instruments, Hanau, D
Wasserbad	Grant Instruments Ltd, Canbridge, UK
Vortex Genie 2	Scientific Industries, Bohemia NY, USA
Elektronische Präzisionswaage	Sartorius AG, Göttingen, D
Magnetrührer IKAMAG RET basic	IKA Labortechnik, Staufen, D
Gel-Doc 2000	Bio-Rad Laboratories, Hercules CA, USA
Diversity Database	Bio-Rad Laboratories, Hercules CA, USA

## 2.2 Methoden

### 2.2.1 Abklatschversuche

#### 2.2.1.1 Zusammensetzung und Zubereitung verwendeter Agares

MacConkey Agar	Peptone 20,0 g/l
	Lactose 10,0 g/l
	Bile salts No. 3 1,5 g/l
	Sodium chloride 5,0 g/l
	Neutral red 0,03 g/l
	Crystal violet 0,001 g/l
	Agar 15,0 g/l

51,5 g MacConkey Agar Pulver ad 1000 ml aqua bidest. , mittels Magnetrührkern bis zur vollständigen Auflösung homogenisieren und 20 Minuten autoklavieren bei 121 °C. Der autoklavierte und noch flüssige MacConkey Agar wird mit Hilfe einer sterilen Pipette unter der Laminar Air Flow zu je 35 ml auf große Hand-abklatschkulturschalen verteilt. Die kleineren Umgebungsabklatschkulturschalen werden mit je 18 ml flüssigem MacConkey Agar konvex gefüllt. Anschließend werden alle Kulturschalen mit den dazugehörigen Deckeln versehen und für 15 Minuten unter der Laminar Air Flow aushärten gelassen. Die fertigen Abklatschplatten können nun im Kühlschrank zwischengelagert werden.

### 2.2.1.2 Patientenauswahl und Datenerfassung

Alle Patienten des Universitätsklinikums, bei denen in einem klinischen Material ESBL- positive Enterobakterien nachgewiesen wurden, sind in der Klinikhygiene dokumentiert. Die Erreger werden in der klinikhygienischen Stammsammlung asserviert. Über einen Zeitraum von 51 Wochen wurden 36 Patienten mit ESBL Besiedelung in die vorliegende Beobachtungsuntersuchung eingeschlossen.

Mittels eines standardisierten Erfassungsbogens wurde die Situation während einer Beobachtung dokumentiert. Dabei wurden neben den Patientendaten, Informationen zum behandelnden Personal, zu den getragenen Eigenschutzmitteln des Personals sowie zu den durchgeführten Tätigkeiten gesammelt.

#### Personaluntersuchung:

In Absprache mit dem Personal der jeweils zuständigen Station, sowie eigeninitiativ wurden die Patienten besucht. Nach Möglichkeit wurde den Tätigkeiten des Personals beigewohnt und gegebenenfalls geholfen. Im Anschluss an die ausgeführten Arbeiten am Patientenbett wurden drei Abklatsche der Schutzkleidung des Personals genommen. Durchwegs wurden hierbei die rechte und linke Hand sowie der Überkittel abgeklatscht. Beim Handabklatsch wurde besonderer Wert darauf gelegt, die Gesamtheit der Handfläche inklusive Daumen auf der Kulturabklatschfläche abzubilden. Der Abklatsch des Kittels erfolgte an der Kittel-Vorderseite in Höhe des Oberschenkels, dem Ort der wahrscheinlichsten Berührung mit dem Patientenbett.

Die Fulkerson Skala ist ein Instrumentarium, um Aktivitäten von „sauber“ nach „schmutzig“ standardisiert einzuteilen und findet beispielsweise in der Händehygiene gern Anwendung (79)(77). Dabei wird folgendermaßen in fünfzehn Ränge gegliedert:

*Tabelle 1: Fulkerson Skala mit Einteilung der Kontakte von sauber zu kontaminiert.*

Rang nach Fulkerson	Kontakt mit
1.	Sterilen oder autoklavierten Objekten
2.	Gewissenhaft gereinigten oder gewaschenen Objekten
3.	Nicht zwangsläufig gereinigten Objekten, die keinen Patientenkontakt haben

4.	Objekten, die selten vom Patienten berührt werden oder bei denen keine Kontamination zu erwarten ist
5.	Objekten, die persönlichen Bezug zum Patienten haben, bei denen nicht bekannt ist, ob sie kontaminiert sind
6.	Minimaler und eingeschränkter Patientenkontakt
7.	Objekten mit Patientenkontakt
8.	Patientensekreten oder Mund, Nase, Anogenitalregion
9.	Mit Urin kontaminierten Objekten
10.	Patientenurin
11.	Mit Faeces kontaminierten Objekten
12.	Patientenfaeces
13.	Kontaminierten Objekten mit Sekreten oder Exkreten von Infektionsstellen
14.	Sekreten oder Exkreten von Infektionsstellen
15.	Infizierten Patientenstellen

In einer abgewandelten Form soll die Fulkerson Skala Anwendung in Bezug auf Kontamination mit ESBL in dieser Arbeit erlangen. Dabei werden einerseits die während der Abklatschuntersuchungen beobachteten Tätigkeiten nach Fulkerson-Rängen sortiert. Andererseits werden Orte der Umgebung den Rängen nach Fulkerson zugeteilt. Bei der Aufteilung der Tätigkeiten bzw. der Umgebungsorte wird im Sinne des schlechtesten Szenarios den potentiell höchsten Rängen nach Fulkerson zugeteilt.

Die Tätigkeiten wurden entsprechend des Kontaktes mit Objekten bis auf den Punkt „Sonstige“ den Rängen nach Fulkerson folgendermaßen zugeteilt: Essensausgabe = Rang 2, In Ruhe = Rang 4, Bettmachen = Rang 5, Vitalfunktionen und Besuch = Rang 6, Putzen = Rang 7, Bettpfanne und Physiotherapie = Rang 11, Waschen = Rang 12, Verbandswechsel und Visite = Rang 15.

Alle untersuchten Umgebungsorte wurden wie folgt den Sauberkeitsrängen nach Fulkerson zugeteilt: Lichtschalter, Türklinke, Telefon, Glocke, Nachttisch und Haltegriff werden unter Rang 4 subsumiert. Bettgestell, Kopfkissen und

Waschbecken finden sich unter Rang 5 wieder. Die Liegefläche wird Rang 8 zugeordnet und der Dauerkatheter Rang 9. Da sich unter dem Punkt „Sonstige“ zwei Kontaminationen an einem Toilettenstuhl nachweisen ließen, wird dieser unter Rang 13 zugeordnet.

#### Umgebungsuntersuchung:

Der Personaluntersuchung schloss sich die der Umgebung an. Beim Abklatsch der Umgebungsorte wurde darauf abgezielt, möglichst die gesamte Abklatschfläche mit dem zu untersuchenden Punkt in Kontakt zu bringen. Dabei wurden 12 im Voraus definierte Orte jedes Patientenzimmers abgeklatscht. Diese Orte waren: siehe Abbildung 1.

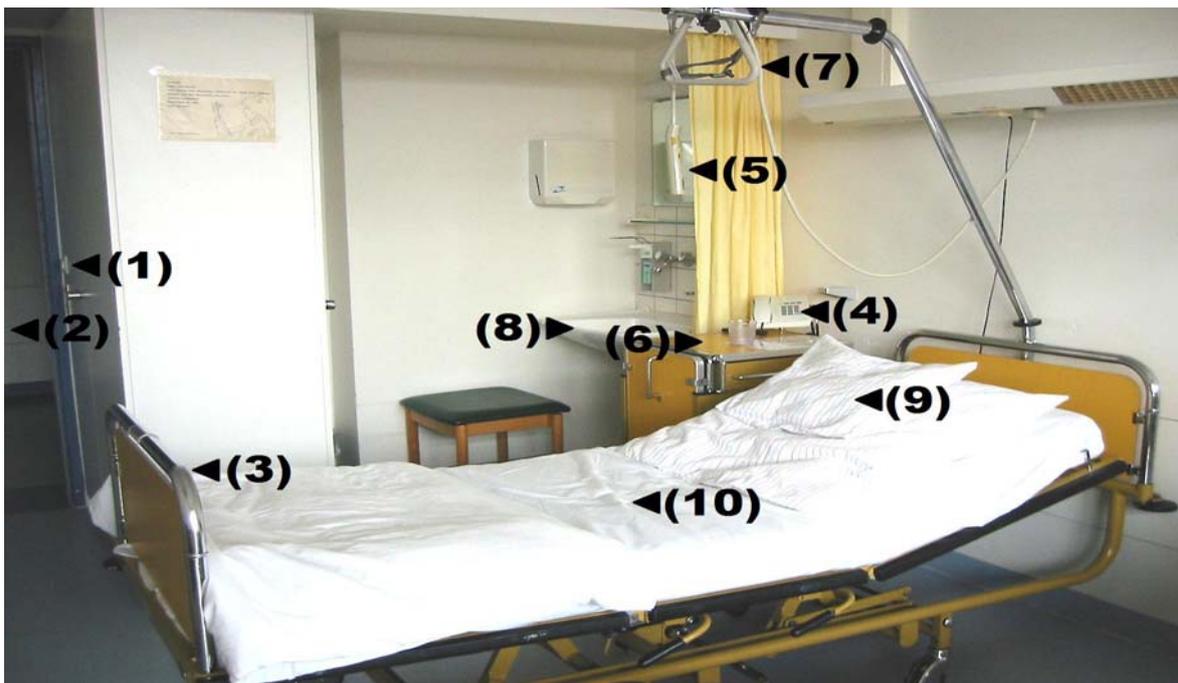


Abbildung 1: abgeklatschte Orte im Krankenzimmer: Lichtschalter (1), Türklinke (2), Bettgestell (3), Telefon (4), Glocke (5), Nachttisch (6), Haltegriff (7), Waschbecken (8), Kopfkissen (9), Liegefläche (10). Nicht abgebildet: Punkt (11) Dauerkatheter, Punkt (12) Sonstige.

Darüber hinaus wurden die ausgeführte Tätigkeit sowie die getragenen Eigenschutzmittel des Pflegepersonals notiert. Ein Patient bzw. dessen Umgebung wurde im Rahmen der Studie durchaus mehrfach – jedoch mit einem Abstand von mindestens 24 Stunden – untersucht.

#### Weiterverarbeitung der Abklatschplatten:

Die auf diese Weise gewonnenen Abklatschplatten wurden im Anschluss an die Untersuchung bei 37 °C inkubiert. Nach 24 Stunden und nach 48 Stunden wurden die Platten auf eine eventuelle Keimbesiedlung hin untersucht. Im Fall einer Koloniebildung wurden Subkulturen angelegt. Auch langsam wachsende Bakterienkolonien wurden nach spätestens 48 Stunden subkultiviert. Diese auf CASO-Blutagar übertragenen Subkulturen stellten die Grundlage für die sich anschließende Keimdifferenzierung dar.

#### 2.2.1.3 Keimdifferenzierung und Speziesbestimmung

Die Differenzierung der Keime erfolgte in einer gestaffelten, an Präzision zunehmenden Abfolge.

a) Primär wurden Bakterienkulturen mittels MIO-Röhrchen bzw. Citrat-Röhrchen biochemisch differenziert. Hierfür wurden zuerst sowohl ein MIO-Röhrchen als auch ein Citrat-Röhrchen mit der zu untersuchenden Bakterienkultur beimpft und bei 37 °C inkubiert. Nach 24 Stunden wurden beide Röhrchen getrennt voneinander ausgewertet.

##### Citrat-Röhrchen

Ein Farbumschlag im ursprünglich grünen Citrat-Röhrchen in Richtung blau weist auf eine Citratvermehrung hin.

##### MIO-Röhrchen

Das MIO-Röhrchen konnte nach drei Gesichtspunkten bewertet werden.

Hatte sich der initial klare Inhalt getrübt und war der Einstichkanal der Beimpfung nicht mehr darstellbar, so handelte es sich um ein bewegliches Bakterium. Verfärbte sich der ursprünglich lilafarbene Inhalt des Röhrchens in Richtung gelb, so geht man von einem Bakterium mit negativen Ornithinsäuredecarboxylase (ODC) Stoffwechsel aus.

Unter Zugabe von Kovacs Indolreagenz weist eine kirschrote Verfärbung auf die Verstoffwechslung von Tryptophan in Indol hin.

Diese speziesspezifischen biochemischen Eigenschaften lassen den genauen Schluss auf eine Bakterienspezies zu:

Im Fall von *Escherichia coli* trübte sich aufgrund der Motilität das MIO-Röhrchen ein. In 21 – 79 % der Fälle wechselte der Röhrcheninhalt nicht die Farbe, so dass von einer Aktivität der Ornithinsäuredecarboxylase (ODC) ausgegangen werden konnte. Als weiteres Charakteristikum wies der positive Indoltest mit einer kirschroten Verfärbung auf aktiven Tryptophan Stoffwechsel hin.

Das grüne Citrat-Röhrchen blieb im Fall von *E.coli* im Sinn eines nicht vorhandenen Citrat Stoffwechsels grün.

Im Fall von *K. pneumoniae* blieb das MIO-Röhrchen entsprechend nicht vorhandener Mobilität klar. Die ursprüngliche lila Färbung wurde beibehalten, so dass kein Ornithinsäuredecarboxylase (ODC) Stoffwechsel nachgewiesen werden konnte. Die Zugabe von Kovacs Indolreagenz hatte keine Auswirkungen im Sinn nicht vorhandenen Tryptophan Stoffwechsels.

Das grüne Citrat-Röhrchen wechselte die Farbe nach blau, so dass von aktiver Citrat Verwertung ausgegangen werden konnte.

Sofern die Differenzierung mittels oben genanntem Verfahren zu einem nicht eindeutigen Befund führte, wurde eine vertiefte biochemische Identifizierung durchgeführt:

b) Bei der biochemischen Identifizierung mittels API-System handelt es sich um eine standardisierte und miniaturisierte Version der Bunten Reihe. In diesem Sinn werden 20 verschiedene Stoffwechselleistungen der Bakterien plus eines Oxidasetests untersucht. Mit Hilfe eines Programms auf der Hersteller-Homepage können die resultierenden Einzelergebnisse zu einer eindeutigen Aussage über die Bakterienspezies integriert werden.

Die nun sicher identifizierten Keime wurden von der Subkultur in Microbank-Tiefkühlcontainer überführt und können auf diese Weise für längere Zeit konserviert werden.

## 2.2.2 Resistenzbestimmungen mittels Mikrobouillondilution

### 2.2.2.1 Zusammensetzung verwendeter Medien

#### Müller-Hinton-Phytigel-Bouillon

Hinton II Broth Pulver	Rindfleischextrakt 3,0 g/l
	Säurehydrolysat von Casein 17,5 g/l
	Stärke 1,5 g/l
Phytigel	Keine Einzelsubstanzen

22 g Mueller Hinton II Broth Pulver sowie 0,2 g Phytigel ad 1000 ml aqua. Anschließendes homogenisieren mittels Magnetührkern bis zur vollständigen Auflösung und erhitzen bis zum Kochen. Nun kann die vorbereitete Bouillon für 20 Minuten bei 121 °C autoklaviert werden.

### 2.2.2.2 Procedere

Die Resistenzbestimmung mittels Mikrobouillondilution mit dem Merlin-System dient der Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MHK) von Antibiotika gegenüber grampositiven und gramnegativen Bakterien. Die Bestimmung der MHK gilt als Gold-Standard der Resistenzprüfung von Bakterien. Bei dieser Methode der Resistenzbestimmung werden Mikrotiterplatten eingesetzt, die Antibiotika in unterschiedlichen Konzentrationen enthalten. Die zu untersuchenden Bakterien werden in einer Müller-Hinton-Phytigel-Bouillon suspendiert. Die Bakteriensuspension wird in die Vertiefungen der vorbereiteten Mikrotiterplatte pipettiert. Ist das Bakterium gegen das jeweilige Antibiotikum in der jeweiligen Konzentration sensibel, so wird es im Wachstum gehemmt, ist es resistent, so

kommt es zur Vermehrung der Bakterien und damit zu einer sichtbaren Trübung in der Vertiefung. Die Konzentration eines Antibiotikums, bei der gerade kein Wachstum mehr auftritt, wird als minimale Hemmkonzentration (MHK) bezeichnet. Die Suspension der Bakterien in die Bouillon erfolgt manuell, die Testplatten werden danach automatisch mit dem Sprint-Gerät pipettiert. Nach einer Bebrütungszeit von 18-24 Stunden, werden die Platten photometrisch in Bezug auf Trübung (= Bakterienwachstum) ausgewertet. Die Ergebnisse werden von einem Computer mit der Auswertesoftware MCN-6 (Fa. Merlin) ausgewertet.

*Tabelle 2: eingesetzte Antibiotika im Rahmen der Resistenzbestimmungen. (Sulf. = Sulfamethoxazol, Trim. = Trimethoprim)*

Antibiotika	eingesetzte Konzentrationen
Amoxicillin/Clavulansäure	1/2 / 2/2 / 4/2 / 8/2 / 16/2 / 32/2 / 64/2 / 128/2
Ampicillin	1 / 2 / 4 / 8 / 16 / 32 / 64 / 128
Cefotaxim	0,25 / 0,5 / 1 / 2 / 4 / 8 / 16 / 32
Cefpodoxim-Proxetil	0,25 / 0,5 / 1 / 2 / 4 / 8 / 16 / 32
Cefuroxim	0,5 / 1 / 2 / 4 / 8 / 16 / 32 / 64
Doxycyclin	0,5 / 1 / 2 / 4
Gentamicin	0,25 / 0,5 / 1 / 2 / 4 / 8 / 16 / 32
Levofloxacin	0,0625 / 0,125 / 0,25 / 0,5 / 1 / 2 / 4 / 8
Meropenem	0,125 / 0,25 / 0,5 / 1 / 2 / 4 / 8 / 16
Nalidixinsäure	1 / 2 / 4 / 8 / 16 / 32 / 64 / 128
Piperacillin/Tazobactam	1/4 / 2/4 / 4/4 / 8/4 / 16/4 / 32/4 / 64/4 / 128/4
Cotrimoxazol (Sulf. /Trim.)	1 / 2 / 4 / 8 / 16 / 32 / 64 / 128

### 2.2.3 Pulsfeldgelelektrophorese (PFGE)

Die Gelelektrophorese im gepulsten Feldstärkegradienten dient der Auftrennung von DNA Bruchstücken, insbesondere von sehr großen Fragmenten von 50-1000 Kilobasenpaaren. Im Gegensatz zur herkömmlichen Gelelektrophorese liegt bei der

PFGE kein zeitlich homogenes Feld an, sondern ein Feld mit gepulster, kurzzeitig umgepolter Spannung. Der Vorteil dieser Variante liegt in der höheren Auflösung und Differenzierbarkeit großer DNA Bruchstücke. Aus den unterschiedlichen Wanderungsgeschwindigkeiten der negativ geladenen DNA Bruchstücke im elektrischen Feld resultiert ein charakteristisches Bild, das die eindeutige (Geno-)Typisierung von Bakterien erlaubt. Darüber hinaus lässt sich mit Hilfe der PFGE im Sinn eines genetischen Fingerabdrucks eine Subtypisierung von Bakterien vornehmen.

Im Rahmen dieser Studie fand die Pulsfeldgelelektrophorese Einsatz, um nachzuweisen, dass es sich bei Bakterien, die an verschiedenen Orten im Krankenzimmer oder an unterschiedlichen Patienten gefunden wurden, gegebenenfalls um denselben Stamm handelt. Auf diese Weise konnte untersucht werden, ob ein und derselbe Erreger im Krankenzimmer oder gar auf der Station verteilt wurde.

Die Taschen jedes Gels wurden hierzu mit dem in der Klinikhygiene vorliegenden Erstisolat eines Patienten bestückt. In den benachbarten Taschen befanden sich die im Rahmen der Studie gefundenen Erreger der Umgebung und/oder des Personals, das Kontakt mit dem Patienten hatte. Alle angefertigten Gele wurden mit einem Molekulargewichtsmarker ( $\lambda$ ) und einem *E.coli* Referenzstamm aus der American Type Culture Collection (ATCC 25922) versehen.

#### 2.2.3.1 Zusammensetzung verwendeter Pufferlösungen

a) CSB-Puffer	10 ml 1 M Tris, pH 8,0
	20 ml 0,5 M EDTA, pH 8,0
	Ad 100 ml mit aqua bidest.
b) TE Puffer	10 ml 1 M Tris
	20 ml 0,5 M EDTA, pH 8,0
	Ad 1000 ml mit aqua bidest.

c) Lysepuffer	6,6 ml 30 %ige Sarcosyllösung
	25 ml 1 M Tris
	50 ml 0,5 M EDTA, pH 8,0
	Ad 200 ml mit aqua bidest.
d) TBE-Puffer (10x)	5,8 g EDTA (freie Säure)
	55 g 0,9 M Borsäure
	108 g 0,9 M Tris
	Ad 1000 ml mit aqua bidest.
e) Restriktionspuffer (pro Blöckchen 200 µl)	20 µl γ-Tango- Puffer (10x)
	180 µl aqua bidest.
f) Restriktionsgemisch (pro Blöckchen 100 µl)	3 µl Xbal
	Restriktionsendonuklease
	10 µl γ-Tango- Puffer (10x)
	87 µl aqua bidest.
g) Ethidiumbromid-Färbepad	32 µl Ethidiumbromid
	Ad 400 ml H <sub>2</sub> O

### 2.2.3.2 Procedere

#### 1.Tag

Animpfen der zu untersuchenden Keime auf CASO Blutagarplatten. Inkubation bei  $36 \pm 1$  °C für 14-18 h.

#### 2.Tag

Subkultur der bestehenden Blutagarplatten auf nun blutfreien CASO Agarplatten. Inkubation bei  $36 \pm 1$  °C für 14-18 h.

#### 3.Tag

Herstellung von 2 %iger Agarose durch Zugabe von 2 g SeaPlaque GTG Agarose in 100 ml 0,5x TBE-Puffer. Durch Erwärmung in der Mikrowelle wird die Agarose

zum Schmelzen gebracht und im anschließenden Wasserbad bei ca. 50 °C in flüssigem Zustand gehalten.

Zur Herstellung von Bakteriensuspensionen werden sterile PS Tubes entsprechend der Anzahl zu untersuchender Keime beschriftet und mit je 2 ml CSB-Puffer befüllt. Anschließend wird mittels eines Photometers bei 450 nm die optische Ausgangsdichte bestimmt. Mit einem sterilen Wattestäbchen werden im Anschluss Bakterienkolonien aufgenommen und im CSB-Puffer suspendiert. Um eine in allen Tubes gleich konzentrierte Suspension zu gewährleisten, wird mit Hilfe des Photometers bei 450 nm die optische Dichte des Ausgangswertes um jeweils 0,65 erhöht.

In Eppendorf Tubes werden 20 µl Proteinase K vorgelegt und mit 500 µl Bakteriensuspension vermischt. Dazu werden im Anschluss 500 µl der 2 %igen Agarose gegeben. Durch mehrmaliges Aufziehen der Pipette wird eine gute Durchmischung erreicht. Um einem vorzeitigen Aushärten der Agarose entgegenzuwirken, werden nun zügig die Blöckchengießformen unter Ausschluss von Blasenbildung konvex aufgefüllt. Anschließend 15 minütiges Abkühlen im Kühlschrank.

Entsprechend der Anzahl zu untersuchender Keime werden sterile NUNC-Zentrifugenröhrchen vorbereitet und mit 5 ml Lysepuffer befüllt. Überstehende Agarose-Gel Reste werden mit einem Skalpell von der Blöckchengießform entfernt und die ausgehärteten Agarose-Blöckchen mittels eines Spatels in die mit Lysepuffer gefüllten Zentrifugenröhrchen herausgelöst. Nach Hinzugabe von je 25 µl Proteinase K werden alle Zentrifugenröhrchen zum Proteinverdau für 20 h bei 50 °C im Wasserbad geschüttelt.

#### 4.Tag

Die Zentrifugenröhrchen werden mit einer sterilen Siebkappe versehen und der Lysepuffer wird abgegossen. Anschließend zweimal je 10 Minuten mit 15 ml 50 °C warmen aqua bidest. im Schüttelwasserbad waschen. Daran schließen sich zwei

Waschgänge à 10 Minuten mit 15 ml 50 °C warmem TE-Puffer an. Letztlich wird noch einmal für 10 Minuten mit 5 ml 8 °C kühlem TE-Puffer gewaschen, um die Blöckchen anschließend im Kühlschrank für ebenfalls 10 Minuten weiter aushärten zu lassen.

Neue Eppendorf Tubes werden beschriftet und jeweils 350 µl TE-Puffer vorgelegt. Die Agaroseblöckchen werden nun mittels einer sterilen Einweg-Impfschlinge aus den Zentrifugenröhrchen balanciert und mit einem Skalpell zugeschnitten. Dabei sollte das Blöckchen so breit wie der Zahn des verwendeten Kammes sein und die Höhe sollte die Hälfte der Breite betragen. Die zugeschnittenen Blöckchen werden sofort in das entsprechende Eppendorf Tube gleiten gelassen.

#### 5.Tag

Der TE-Puffer wird nun abpipettiert und in jedes Eppendorf Tube werden 150 µl Restriktionspuffer gegeben. Um eine homogene Verteilung des Restriktionspuffers im Sinne einer Äquilibration der Blöckchen zu erreichen, werden die Eppendorf Tubes für 15 Minuten bei 37 °C im Brutschrank inkubiert. Anschließend wird der Restriktionspuffer mit Hilfe der Pipette entfernt und es werden je Eppendorf Tube 100 µl Restriktionsgemisch (beinhaltet Restriktionsenzym) dazugegeben.

Der Restriktionsvorgang findet im Brutschrank bei 37 °C statt und wird nach 4 h durch abpipettieren des Restriktionsgemisches und durch Zugabe von je 200 µl TE-Puffer beendet. Im Anschluß werden die Eppendorf Tubes für circa 10 Minuten in den Kühlschrank gestellt, um die Stabilität der Blöckchen wieder zu erhöhen.

Nun wird der Standard Gießstand zusammengesteckt und mit Alkohol gereinigt. Zuerst wird der 15 Well Kamm mit den Gelblöckchen beladen. Dabei befinden sich auf der äußerst rechten sowie äußerst linken Bahn Molekulargewichtsmarker ( $\lambda$ -ladder) mit einem Referenzspektrum von 48,5 kbp - 970 kbp. Als Referenzbakterienstamm wird in jedem Gel ein ATCC 25922 - Stamm mitgeführt. Die Blöckchen werden mit flüssiger 1,2 %iger Agarose fixiert und der beladene Kamm wird senkrecht in den Standard Gießstand gestellt. Der Gießstand wird nun ebenfalls mit 1,2 %igem Agarosegel gefüllt, wobei das Gel die am Kamm befestigten Blöckchen vollständig umschließt. Das Gel wird in der Gießform für 30 Minuten erstarren gelassen. Der Kamm wird vorsichtig aus dem ausgehärteten

Gel gezogen. Die dadurch entstandenen Löcher werden mit flüssiger 1,2 %iger Agarose verschlossen. Das CHEF-DR III-Gerät wird mit 2,5 Litern 0,5x TBE-Puffer befüllt, der auf 14 °C gekühlt wird. Das Gel wird nun aus seiner Gießform befreit und in die Gelelektrophoresekammer des CHEF-DR III-Gerätes eingelegt. Nach einer einstündigen Äquilibration in der Gelelektrophoresekammer wird der eigentliche Prozess der Pulsfeldgelelektrophorese mit einer Pulsfrequenz von 5 - 40 Sekunden für 23 Stunden gestartet.

#### 6.Tag

Nach 23 Stunden Laufzeit wird das Gel aus der Gelelektrophoresekammer genommen und für 45 Minuten zur Färbung im Ethidiumbromidbad getaumelt. Im Anschluß werden Ethidiumbromidreste durch ein zehnminütiges Aqua bidest-Bad im Taumler entfernt. Das in die DNA interkalierte Ethidiumbromid wird mittels UV-Licht im Geldokumentationssystem Gel Doc in Form von Banden sichtbar gemacht und digital gespeichert.

Anschließend wird die genetische Diversität der Bakterien durch Bandenvergleich mittels Diversity Database-Software ermittelt.

### 2.2.5 Statistik

In der vorliegenden Dissertation wurden aufgrund der geringen Fallzahlen Mittelwerte berechnet. Statistische Testverfahren gelangten nicht zur Anwendung. In diesem Kontext sind die Ergebnisse als Tendenzen zu verstehen.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Studienpopulation

In der vorliegenden Studie wurden 101 Beobachtungen an ESBL-besiedelten Patienten des Universitätsklinikums Ulm durchgeführt. Durch mehrmaliges Beobachten ein und derselben Patientenumgebung - mit einem Abstand von mindestens 24 Stunden - lassen sich diese Beobachtungen auf 36 Individuen zurückführen. Darunter 16 Frauen und 20 Männer im Alter von 19 bis 92 Jahren mit einem Altersdurchschnitt von 65,34 Jahren. Im Schnitt wurde jedes Individuum 2,8-mal beobachtet.

Die Aufteilung der gesamten Studienpopulation nach Stationen ergab folgendes Bild:

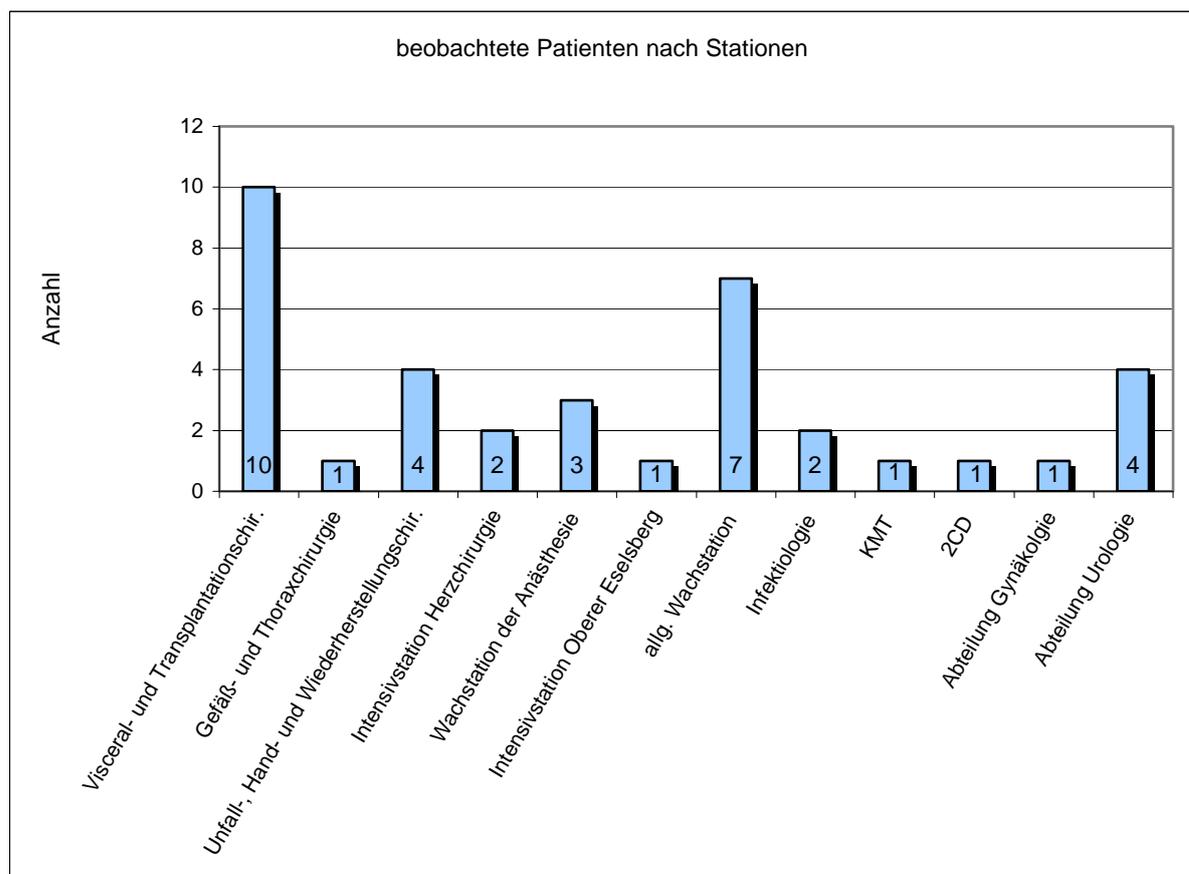


Abbildung 2: Studienpopulation aufgeteilt nach Stationen auf denen die Beobachtung und Umgebungsuntersuchung durchgeführt wurde. Abweichung von 36 beruht auf Verlegung eines Patienten und damit Doppelt-Nennung. (KMT = Station für Knochenmarktransplantation, 2CD = internistische Allgemeinstation, -chir. = Chirurgie, allg. = allgemeine).

Die nachweisbare Keimbeseidlung der Studienpatienten mit ESBL – positiven Enterobakterien, als Zeitspanne zwischen Erst- und Letznachweis, lag in einem Fenster von  $\leq 2$  Tage bis zu 347 Tagen mit einem Schnitt bei 57,7 Tagen. Dabei ergab die Aufschlüsselung der Orte des erstmaligen Nachweises folgende Verteilung:

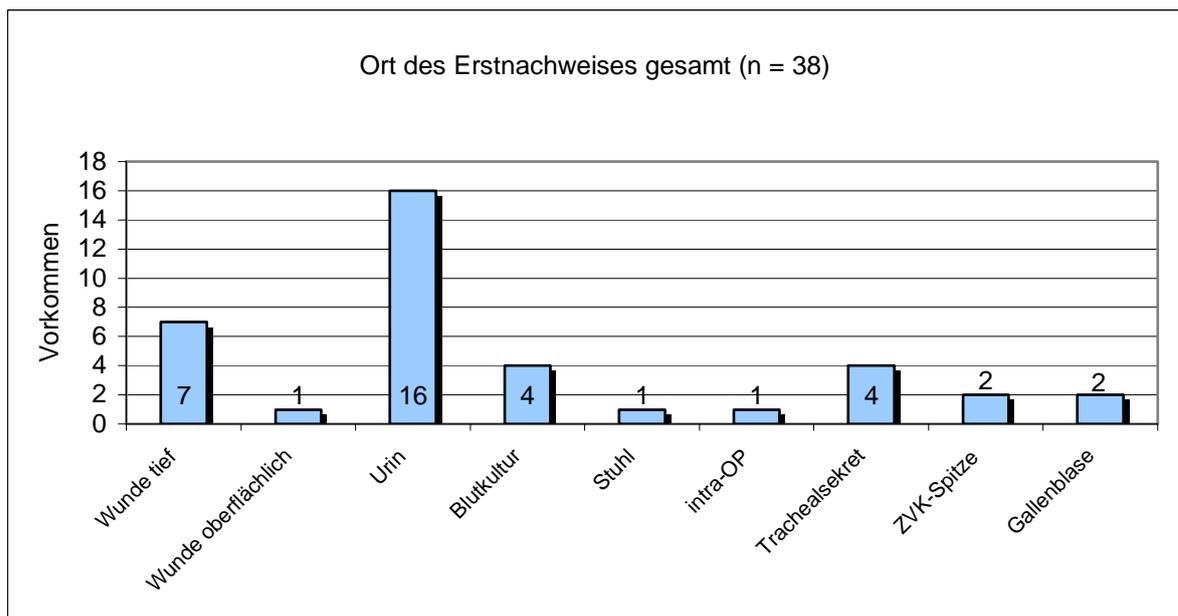


Abbildung 3: Verteilung der Erstrnachweisorte von ESBL (Extended spectrum  $\beta$ -Lactamase) positiven Enterobakterien in der Studienpopulation. In zwei Fällen wurde der Erstrnachweis an zwei verschiedenen Orten erbracht, so dass die Gesamtzahl an Erstrnachweisen ( $n = 38$ ) von der Gesamtzahl untersuchter Patienten ( $n = 36$ ) abweicht. (ZVK = zentraler Venenkatheter, intra-OP = intraoperativ).

### 3.2 Abklatschuntersuchungen der Umgebung

In der Umgebung 36 ESBL-besiedelter Patienten wurden im Rahmen von 101 Beobachtungen 1049 Entnahmepunkte mithilfe von Abklatschplatten untersucht. Im Schnitt wurden bei jeder Beobachtung 10,4 Entnahmeorte in der Umgebung des Patienten berücksichtigt.

Um möglichst viele vergleichbare Beobachtungen zu erzielen, erfolgten die Abklatschuntersuchungen in der Umgebung an zwölf standardisierten Entnahmeorten jedes Patientenzimmers – sofern vorhanden, die in Abbildung 4 aufgeschlüsselt sind.

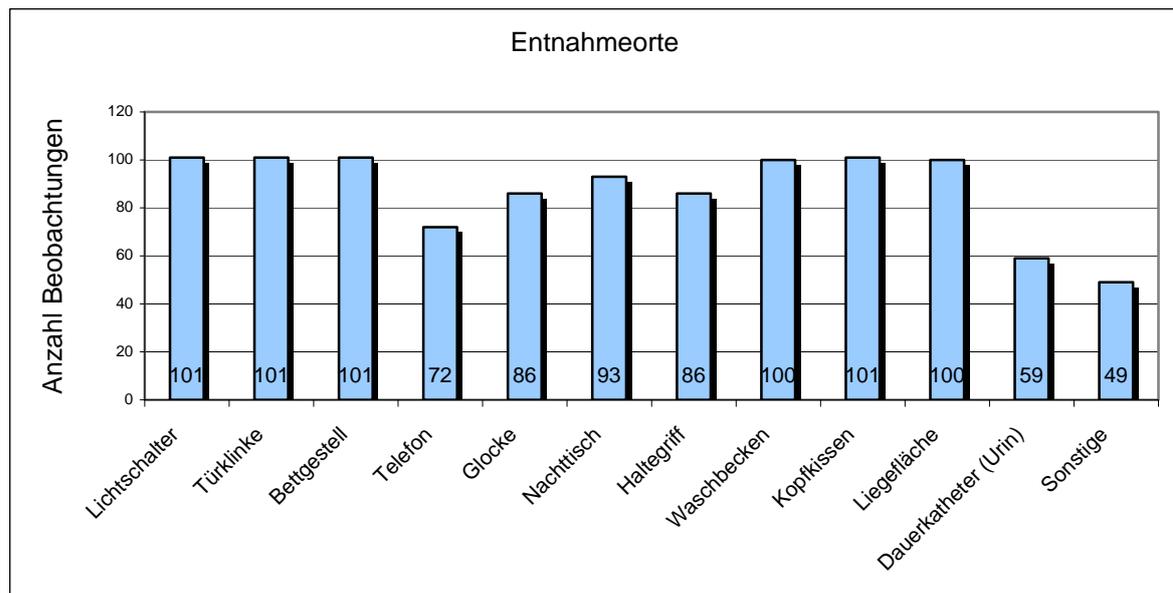


Abbildung 4: Verteilung der Entnahmeorte im Umfeld ESBL – besiedelter Patienten nach Anzahl von Beobachtungen je untersuchtem Ort. Der Punkt „Sonstige“ subsumiert: Perfusoren (9x), Toilettenstühle (9x), EKG-Geräte (8x), Urinflaschen (6x), Zimmertische (6x), Bettpfannen (5x), Beatmungsgeräte (3x), Wunddrainagen (2x) und Dialysegeräte (1x).

Unter diesen 1049 Entnahmeorten in der Umgebung ließ sich in nur 39 Fällen (3,71 %) eine Kontamination durch gramnegative Bakterien nachweisen. Darunter fielen 8 Fälle einer Kontamination mit ESBL bildenden Bakterien (0,76 %).

Kontaminationen mit gramnegativen Erregern fanden sich in:

11 von 101 Liegeflächen, 6 von 86 Haltegriffen, 5 von 100 Waschbecken, 4 von 93 Nachttischen, 3 von 86 Glocken, 3 von 101 Kopfkissen, 2 von 101 Bettgestellen, 2 von 59 Dauerkathetern, 1 von 72 Telefonen und 2 Toilettenstühlen von 49 Sonstigen. An den übrigen Untersuchungsorten konnte keine Kontamination nachgewiesen werden



Abbildung 5: Umgebungskontamination. Rote Zahlen beschreiben Kontaminationen mit gramnegativen Bakterien, schwarze Zahlen beschreiben die Gesamtzahl an durchgeführten Untersuchungen.

Die Differenzierung der Kontaminationen mit gramnegativen Erregern nach Keimspezies ergab folgendes Bild:

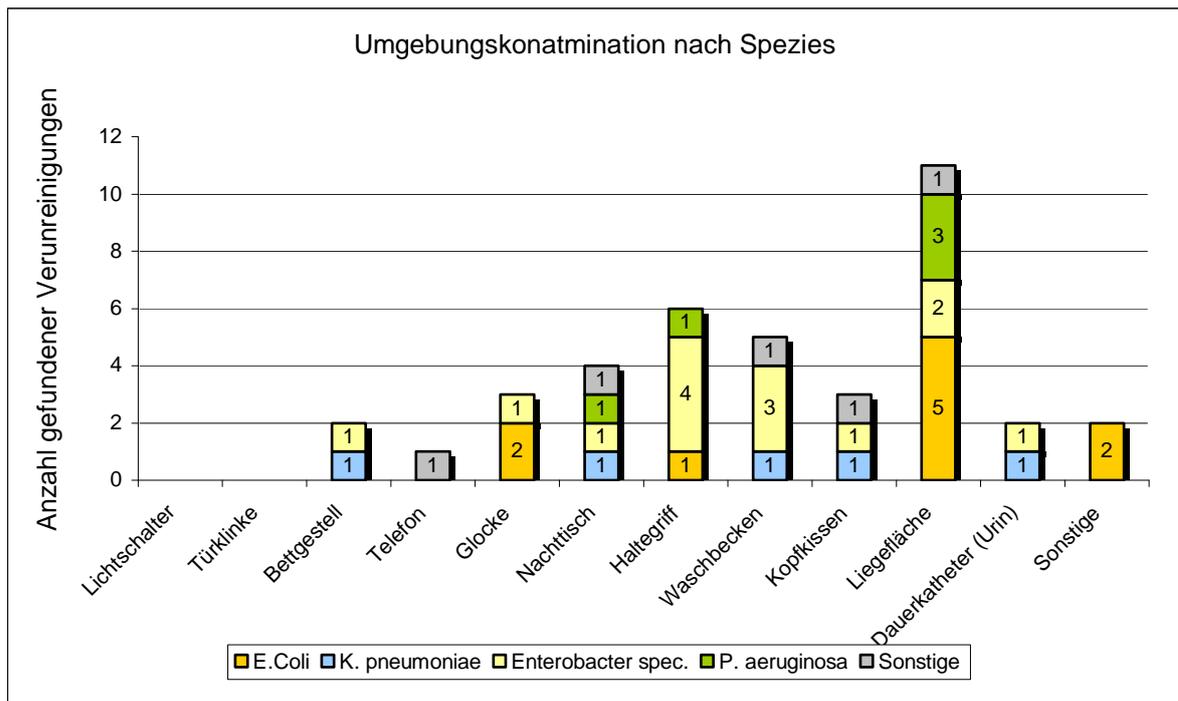


Abbildung 6: Umgebungskontamination. Differenzierung nach Spezies.

Durch die Resistenzbestimmung mittels Mikrobouillondilutions - Methode konnten die gefundenen Keime spezies-intern in ESBL produzierende und nicht produzierende unterteilt werden:

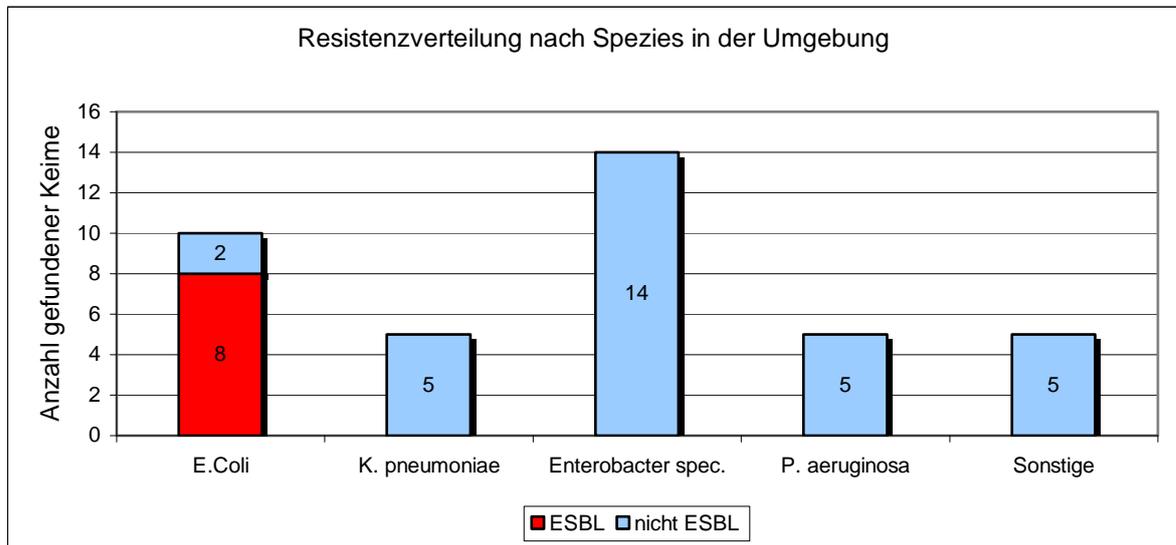


Abbildung 7: Resistenzverteilung nach Spezies in der Umgebung. Unter dem Punkt „Sonstige“ werden vereinzelt gefundene Keime zusammengefasst wie *Stenotrophomonas maltophilia*, *Citrobacter*, *Pseudomonas fluorescens*. (ESBL = Extended spectrum  $\beta$ -Lactamase, E. = *Escherichia*, K. = *Klebsiella*, P. = *Pseudomonas*, spec. = *species*).

Unter Einbeziehung der Resistenzsituation ergibt sich folgende abschließende Verteilung:

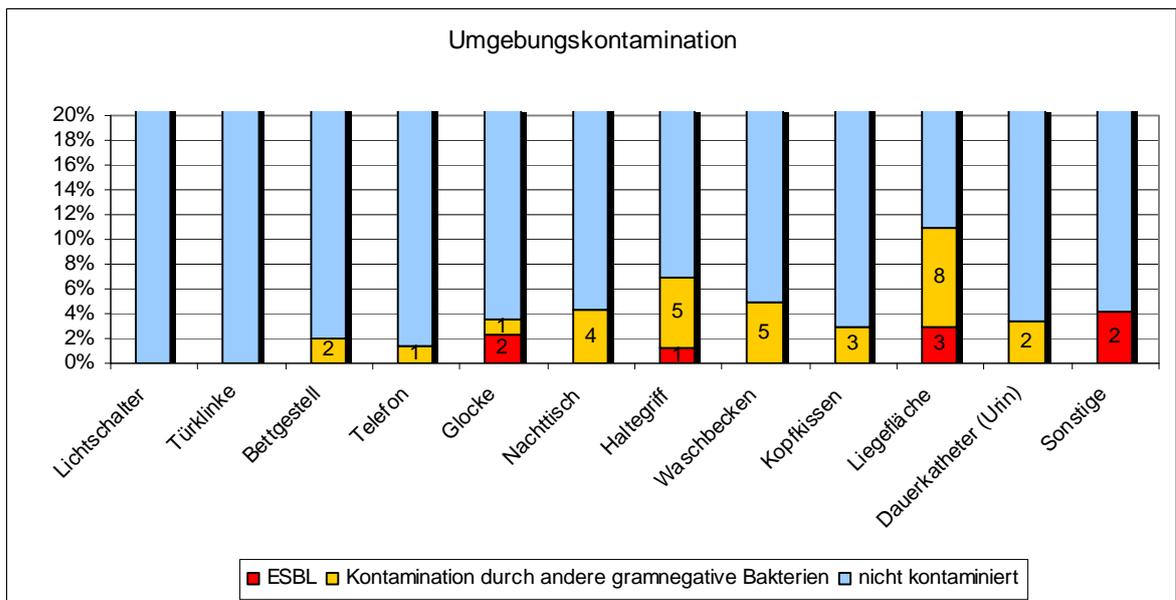


Abbildung 8: Umgebungskontamination. Verteilungssituation von gramnegativen Erregern im

Allgemeinen und ESBL im Speziellen. Beide Funde unter dem Punkt „Sonstige“ wurden auf einem Toilettenstuhl gefunden. (ESBL = Extended spectrum  $\beta$ -Lactamase).

Unter Berücksichtigung der Fulkerson Skala verteilt sich die Kontamination der Umgebung folgendermaßen:

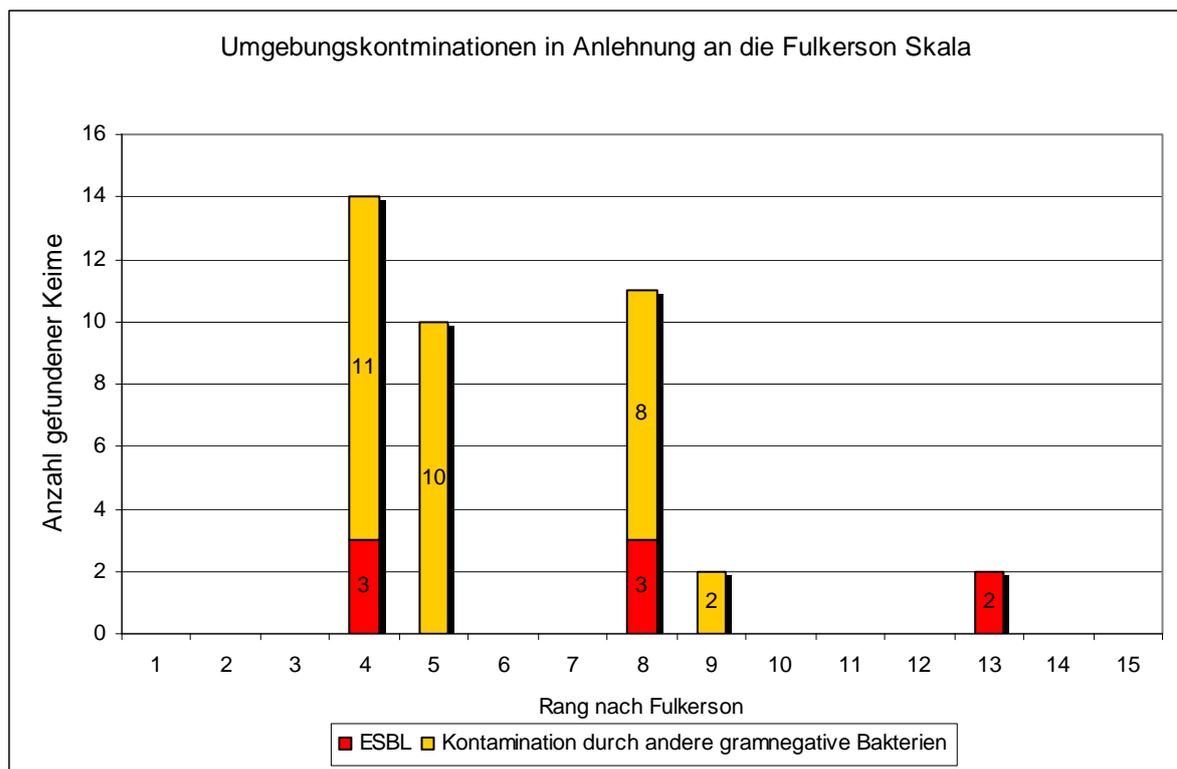


Abbildung 9: Umgebungskontamination in Anlehnung an die Fulkerson Skala. Niedrige Ränge beschreiben tendenziell saubere Objekte. hohe Ränge beschreiben tendenziell kontaminierte Objekte. Die untersuchten Umgebungsorte wurden wie folgt verteilt: Rang 4 umfasst: Lichtschalter, Türklinke, Telefon, Glocke, Nachttisch und Haltegriff. Rang 5 umfasst: Bettgestell, Kopfkissen und Waschbecken. Rang 8 umfasst die Liegefläche, Rang 9 umfasst den Dauerkatheter. Rang 13 beschreibt einen Toilettenstuhl. (ESBL = Extended spectrum  $\beta$ -Lactamase).

Niedrige und damit sauberere Ränge nach Fulkerson weisen eine verhältnismäßig hohe Verunreinigungsrate auf.

### 3.3 Abklatschuntersuchungen des Personals

Bei den Mitarbeiterbeobachtungen des medizinischen Personals waren im Rahmen von 101 Beobachtungen 181 Mitarbeiter des Universitätsklinikums Ulm beteiligt, bei denen die Schutzkleidung (Kittel und Handschuhe) untersucht wurde.

Die 181 untersuchten Personen lassen sich aufschlüsseln in 76 Studenten, 65 Personen des Pflegepersonals, 17 Physiotherapeuten/-innen und 8 Angestellte des ärztlichen Personals. 15 weitere Beobachtungen entfielen auf Besucher, Schüler, Reinigungskräfte, Patienten, Praktikanten im Freiwilligen sozialen, Hygienefachkräfte (HFK), und Röntgenassistenten.

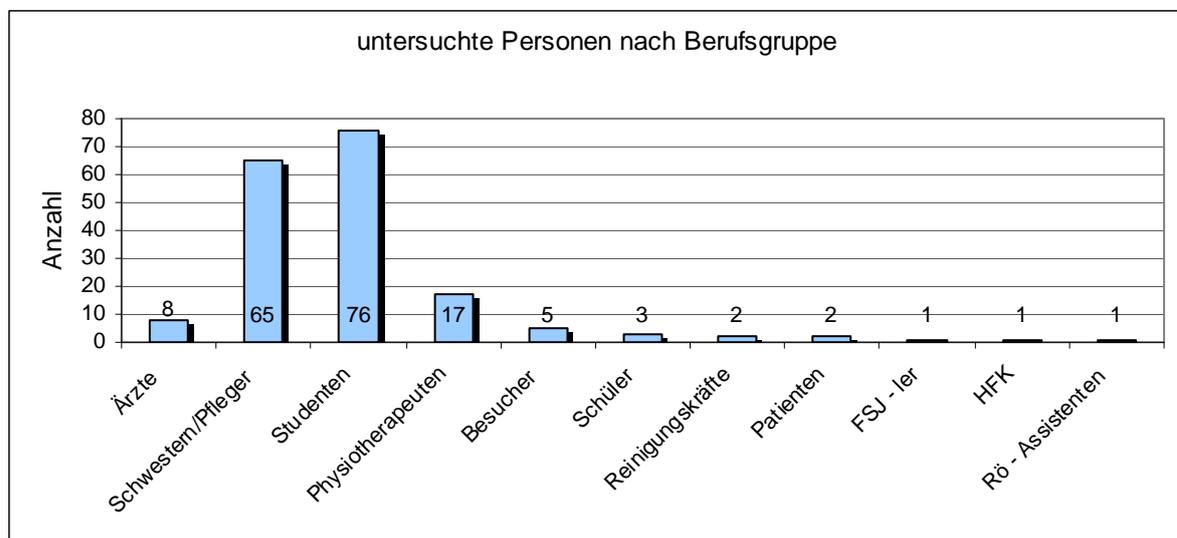


Abbildung 10: Verteilung der untersuchten Personen nach Anzahl von Beobachtungen je Berufsgruppe. (FSJ = Praktikanten im Freiwilligen sozialen Jahr, HFK = Hygiene Fachkraft, Rö-Assistenten = Röntgenassistenten).

Die Tätigkeiten des Personals während der Abklatschuntersuchung wurden notiert und führten zu folgender Verteilung. Insgesamt konnten 182 Tätigkeiten beobachtet werden. Da das Personal während der Zeit im Patientenzimmer durchaus mehrere Tätigkeiten ausführen konnte, sind Mehrfachnennungen möglich. Haben mehrere Personen die gleiche Tätigkeit ausgeübt, wurde der beobachtete Vorgang einfach gezählt.

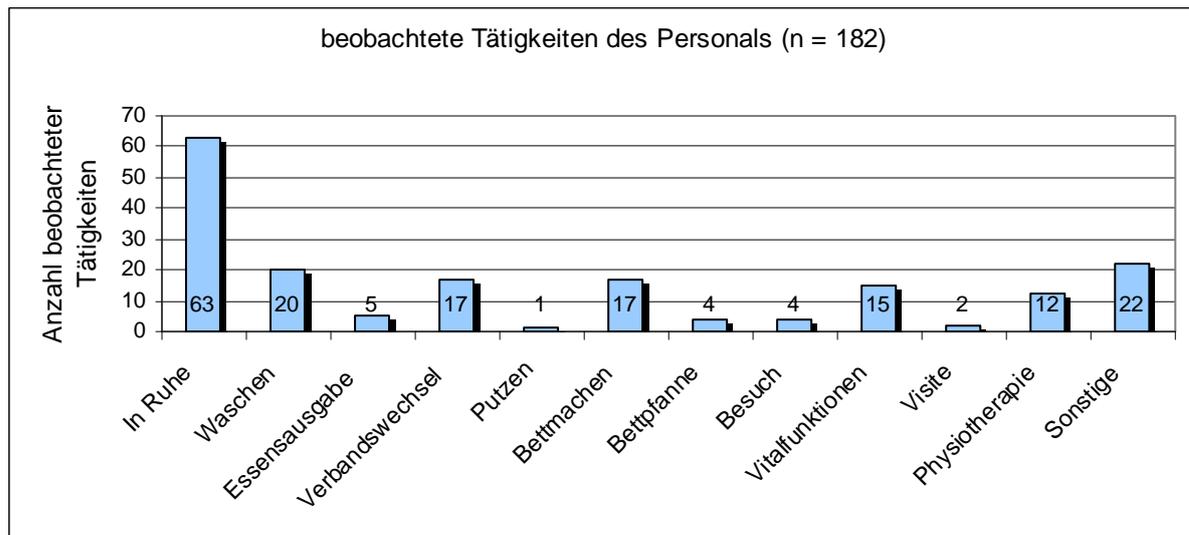


Abbildung 11: beobachtete Tätigkeiten des Personals; der Punkt „in Ruhe“ beinhaltet die Abklatschtätigkeit im Patientenzimmer per se ohne weitere zielgerichtete Tätigkeit. Abweichungen von 181 beobachteten Personen beruhen auf Mehrfachaktivitäten. Der Punkt „Sonstige“ umfasst weitere im Folgenden aufgeschlüsselte Tätigkeiten.

Tabelle 3: Aufschlüsselung sonstiger beobachteter Tätigkeiten. (HFK = Hygiene Fachkraft, EKG = Elektrokardiogramm).

Sonstige Tätigkeit	Anzahl der Beobachtungen
Medikamentengabe	4
Zugänge überprüfen	2
Infusionen anhängen	2
Nahrung reichen	1
Röntgen	1
Anus praeter leeren	1
Müll abholen	1
Lagern des Patienten	1
Miktionsprotokoll führen	1
Anamnesegespräch	1
Urinflasche abholen	1
HFK Belehrung	1
EKG-Elektroden überprüfen	1
Nicht bekannte sonstige Tätigkeiten	9

Bei der Untersuchung dieser 181 Personen des Klinikpersonals ließ sich in 25 Fällen (13,8 %) eine bakterielle Kontamination durch gramnegative Bakterien

belegen. In 8 Fällen konnten ESBL produzierende Bakterien nachgewiesen werden (4,41 %).

Dabei ließen sich in 24 Fällen Keime an den Händen und/oder in 3 Fällen Keime am Kittel nachweisen. Aufgeschlüsselt nach Berufsgruppen waren 2 von 8 Ärzten, 13 von 65 Schwestern/Pflegern, 5 von 76 Studenten, 3 von 17 Physiotherapeuten, 1 von 3 Schülern und 1 von 2 Patienten betroffen.

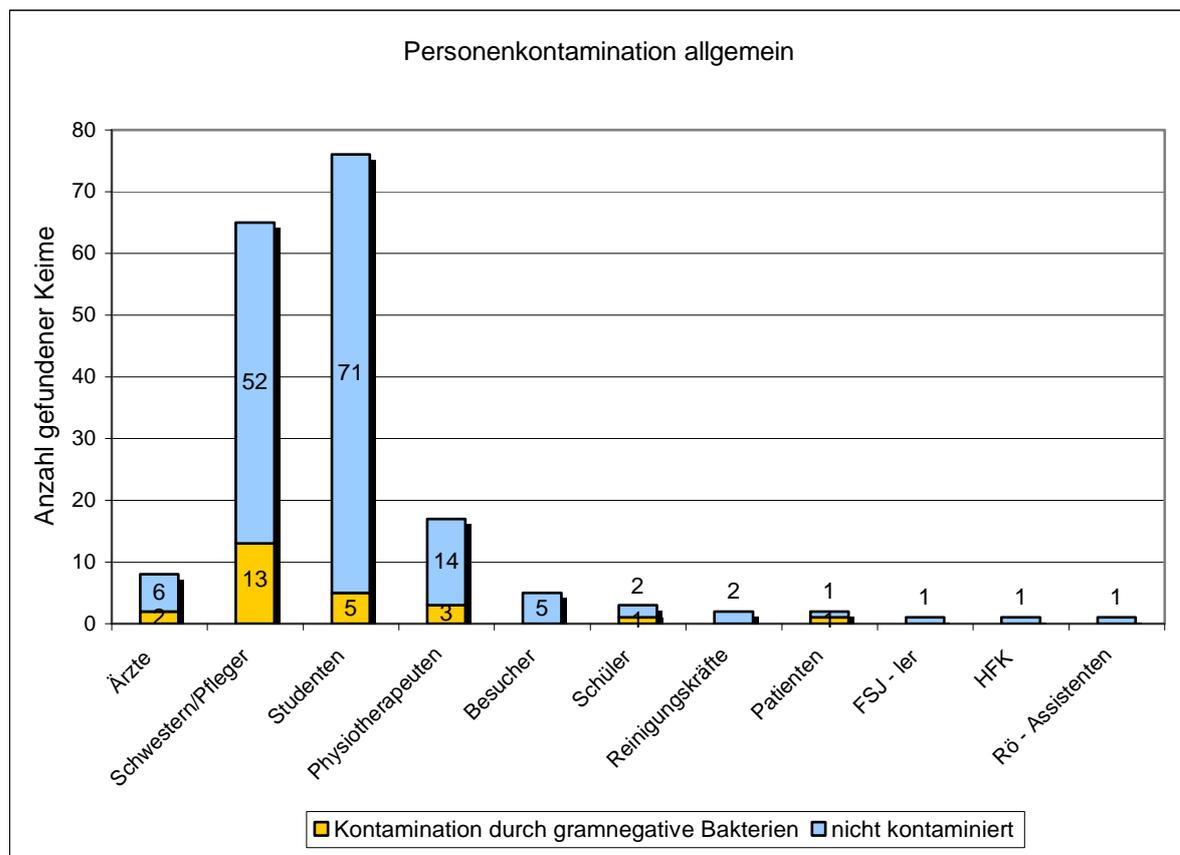


Abbildung 12: Personenkontamination. Verteilung der Verunreinigungen durch gramnegative Erreger. (FSJ = Praktikanten im Freiwilligen sozialen Jahr, HFK = Hygiene Fachkraft, Röntgenassistenten = Röntgenassistenten).

Die Differenzierung der Kontamination durch gramnegative Erreger nach Keimspezies ergab folgendes Bild:

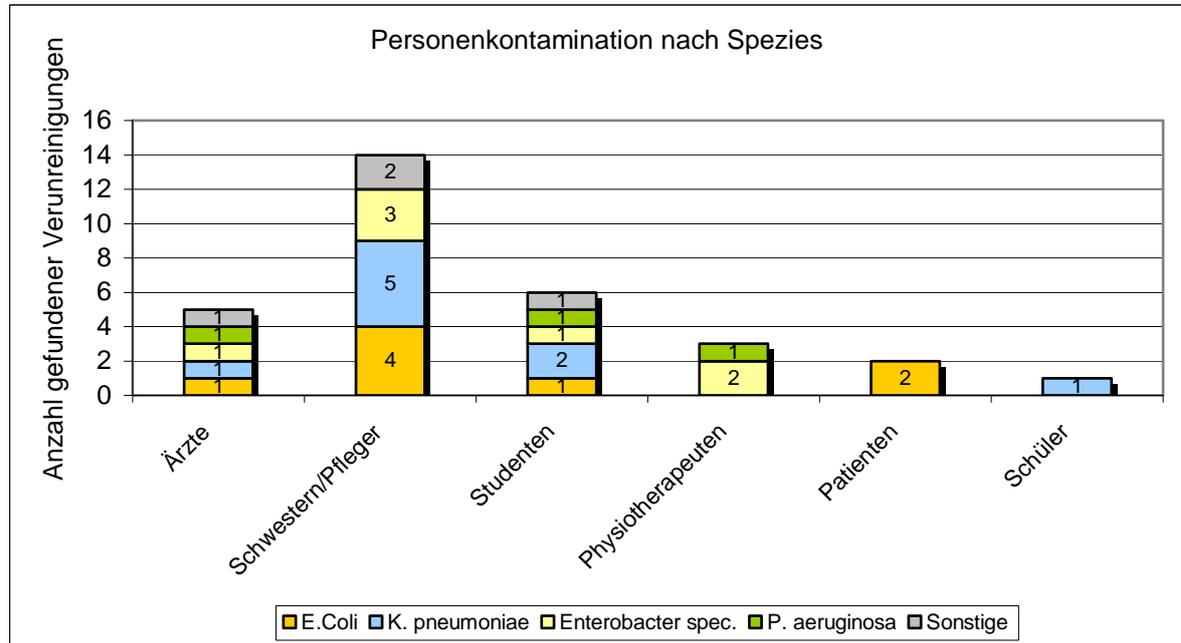


Abbildung 13: Personenkontamination nach Spezies. Im Rahmen einer Personenkontamination konnte in einigen Fällen der Nachweis mehrerer Keime erbracht werden. Vor diesem Hintergrund weicht die Anzahl gefundener Keime von der Anzahl Kontaminierter ab. Personengruppen ohne Kontamination sind nicht dargestellt. (E. = Escherichia, K. = Klebsiella, P. = Pseudomonas, spec. = species).

Durch die Resistenzbestimmung mittels Mikrobouillondilutions - Methode konnten die gefundenen Keime spezies-intern in ESBL produzierende und nicht produzierende unterteilt werden:

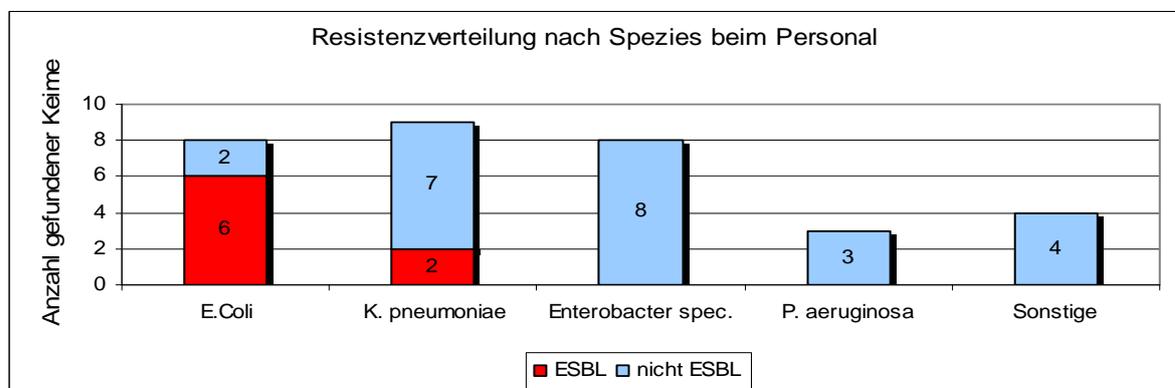


Abbildung 14: Resistenzverteilung nach Spezies beim Personal. Unter dem Punkt „Sonstige“ werden vereinzelt gefundene Keime zusammengefasst wie *Stenotrophomonas maltophilia*, *Citrobacter*, *Pseudomonas fluorescens*. (ESBL = Extended spectrum  $\beta$ -Lactamase, E. = Escherichia, K. = Klebsiella, P. = Pseudomonas, spec. = species).

Unter Einbeziehung der Resistenzsituation ergibt sich folgende abschließende Verteilung:

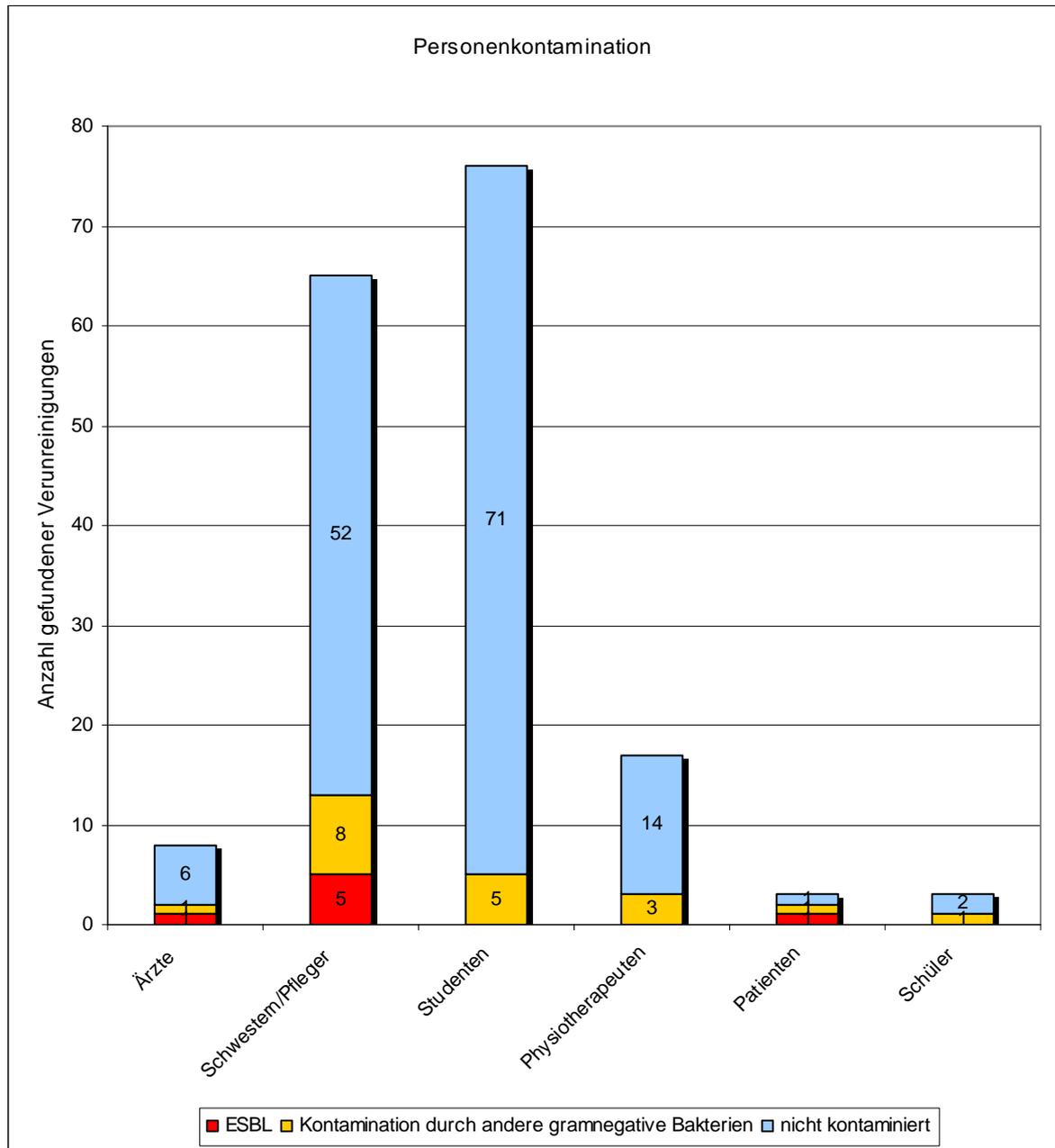


Abbildung 15: Personenkontamination nach Berufsgruppe. Ein Arzt war mit zwei ESBL produzierenden Bakterien kontaminiert. Aus diesem Grund weicht die Anzahl ESBL kontaminierter Personen von der Gesamtzahl gefundener ESBL Keime um eins ab. (ESBL = Extended spectrum  $\beta$ -Lactamase).

### 3.4 Fazit der Abklatschuntersuchungen

Insgesamt ließ sich im Rahmen der Studie in 39 von 1049 Fällen (3,7 %) eine Kontamination der Umgebung mit gramnegativen Bakterien belegen. Darunter waren 8 Fälle einer Kontamination mit ESBL produzierenden Bakterien (0,76 %). Unter 181 Personen fand sich in 25 Fällen (13,8 %) eine Kontamination der Schutzkleidung des Personals mit gramnegativen Bakterien darunter 8 Fälle von ESBL produzierenden Bakterien (4,41 %).

Insgesamt wurden 71 gramnegative Mikroorganismen gefunden. Die Verteilung nach Spezies und ESBL Produktion ergab folgendes Muster:

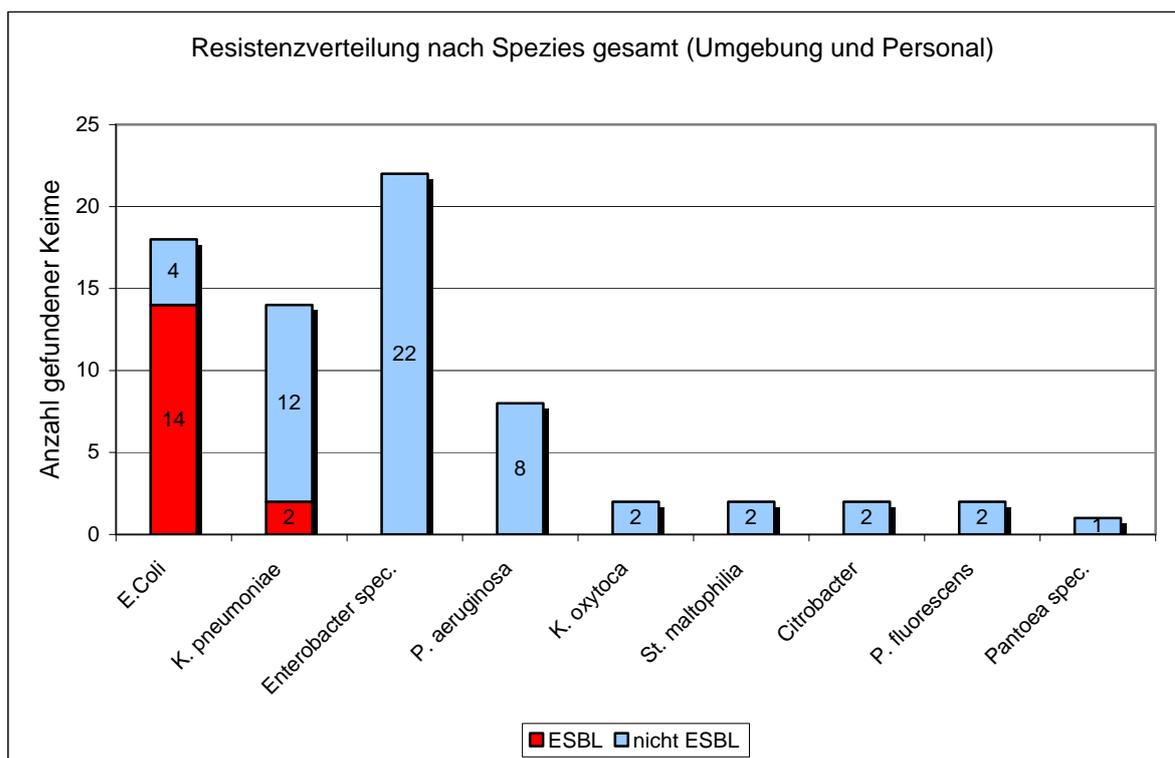


Abbildung 16: Resistenzverteilung nach Spezies gesamt (Umgebung und Personal). (ESBL = Extended spectrum  $\beta$ -Lactamase, E. = Escherichia, K. = Klebsiella, P. = Pseudomonas, St. = Stenotrophomonas, spec. = species).

Alle 16 Fälle von Kontamination mit ESBL produzierenden Bakterien – sowohl der Umgebung, als auch des Personals – lassen sich auf 9 von 36 (25 %) teilnehmenden Patienten zurückführen. Diese Gruppe von neun Patienten scheint

eine besondere Gefahr der Kontamination für Personal und Umgebung darzustellen.

Hinsichtlich der Struktureigenschaften weist die gesamte neun Personen starke Gruppe einen Altersdurchschnitt von 62,8 Jahren (Altersdurchschnitt der gesamten Studienpopulation: 65,34 Jahre), ein Geschlechterverhältnis von vier Frauen zu fünf Männern und eine durchschnittliche Keimnachweisdauer von 71,1 Tagen auf. Damit liegt die durchschnittliche Keimnachweisdauer dieser Gruppe 13,4 Tage über dem Schnitt der gesamten Studienpopulation.

Innerhalb dieser Gruppe sticht ein einziger Patient in Zusammenhang mit allein fünf ESBL positiven Funden an Personal und Umgebung ins Auge. Es handelt sich dabei um einen 67 Jahre alten Patienten, bei dem ein tiefer Wundabstrich erstmalig positiv ausfiel. Bei diesem Patienten konnten ESBL produzierende *E.coli* über einem Zeitraum von 347 Tagen nachgewiesen werden.

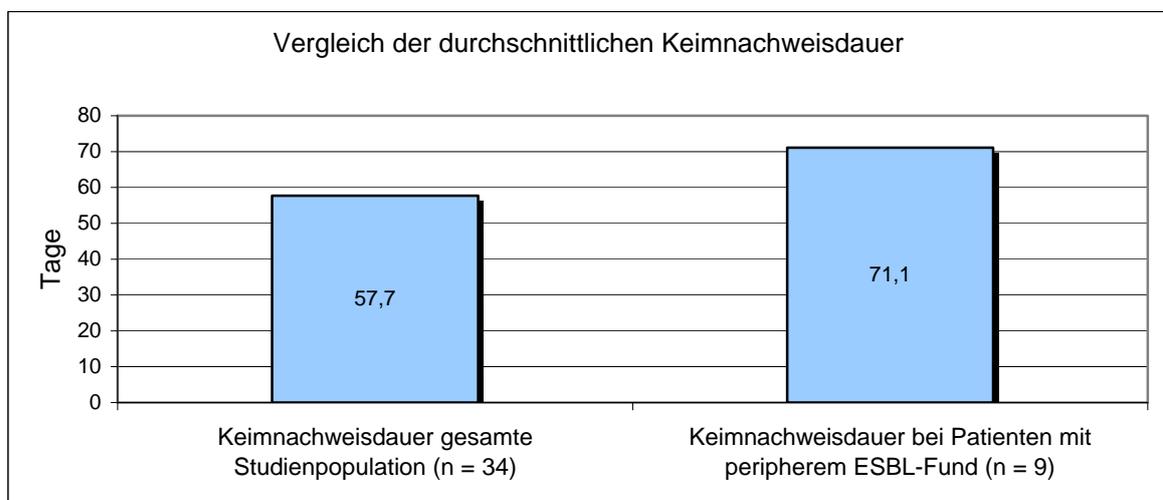


Abbildung 17: Vergleich der durchschnittlichen Keimnachweisdauer bei Patienten mit peripherem ESBL-Fund zur durchschnittlichen Keimnachweisdauer der gesamten Studienpopulation. Bei zwei Patienten konnte keine durchschnittliche Keimnachweisdauer berechnet werden, da der Letznachweis nicht erbracht werden konnte. Daraus resultiert die Differenz von zwei zur Gesamtpopulation von insgesamt 36 Patienten. (ESBL = Extended spectrum  $\beta$ -Lactamase).

Hinsichtlich des Ortes des erstmaligen Nachweises einer ESBL Besiedlung ergab sich folgende Verteilung:

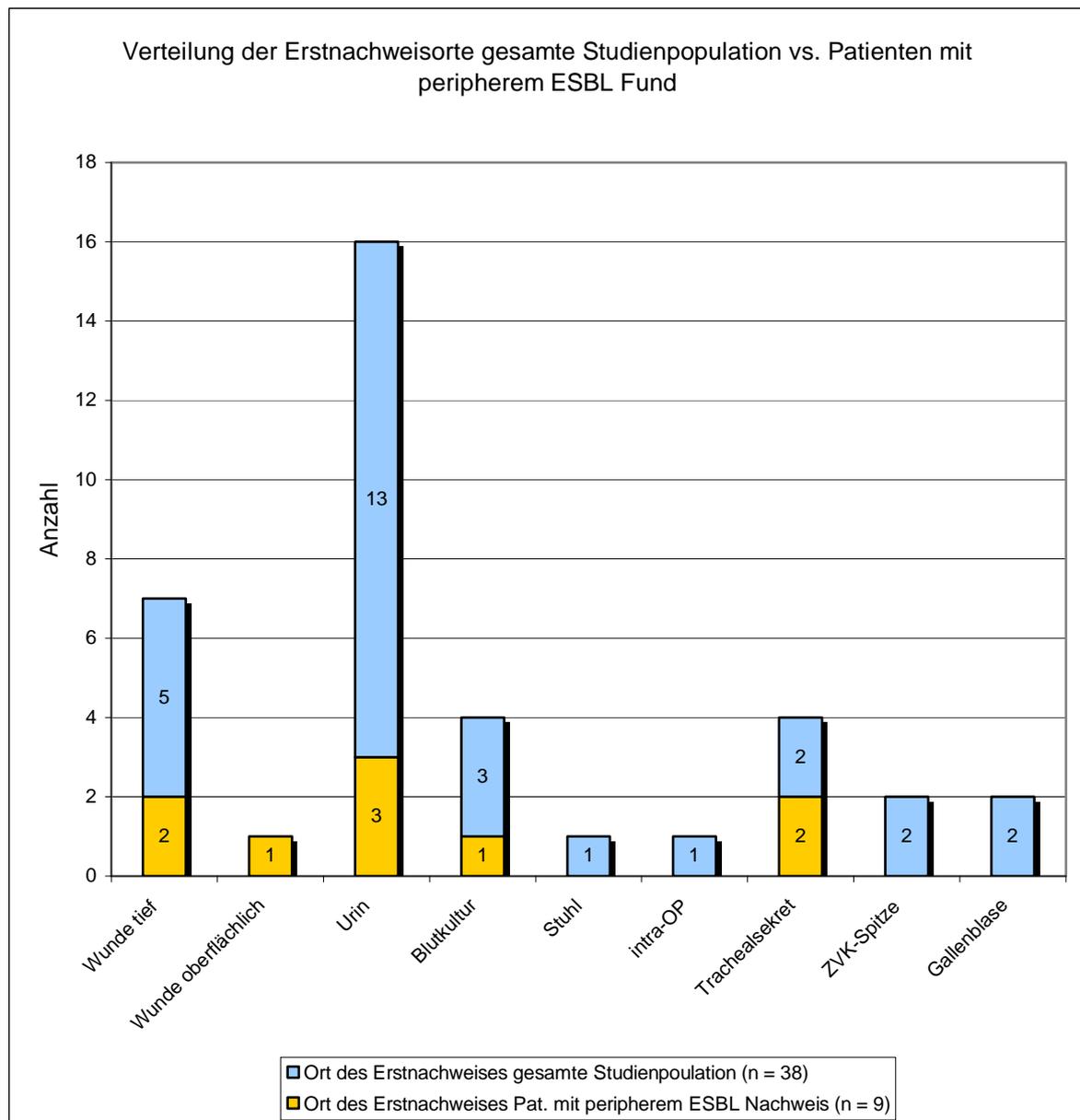


Abbildung 18: Vergleich des Erstnachweisortes bei Patienten mit vs. ohne peripheren Keimnachweis. Als Doppelerstnachweis wird der gleichzeitige Erstnachweis an zwei Orten verstanden. Diesem Sachverhalt ist die Abweichung von der Gesamtpopulation (n = 36) geschuldet. (ZVK = zentraler Venenkatheter, Pat. = Patient, vs. = versus, intra-OP = intraoperativ).

Periphere ESBL-Funde fanden sich vor allem bei Patienten mit initialem Nachweis von ESBL in Wunden, Urin, Blutkulturen und Trachealsekret.

Alle Kontaminationen - sowohl der Umgebung, als auch der Schutzkleidung des Personals - ließen sich den während der Beobachtung ausgeführten Tätigkeiten zuordnen:

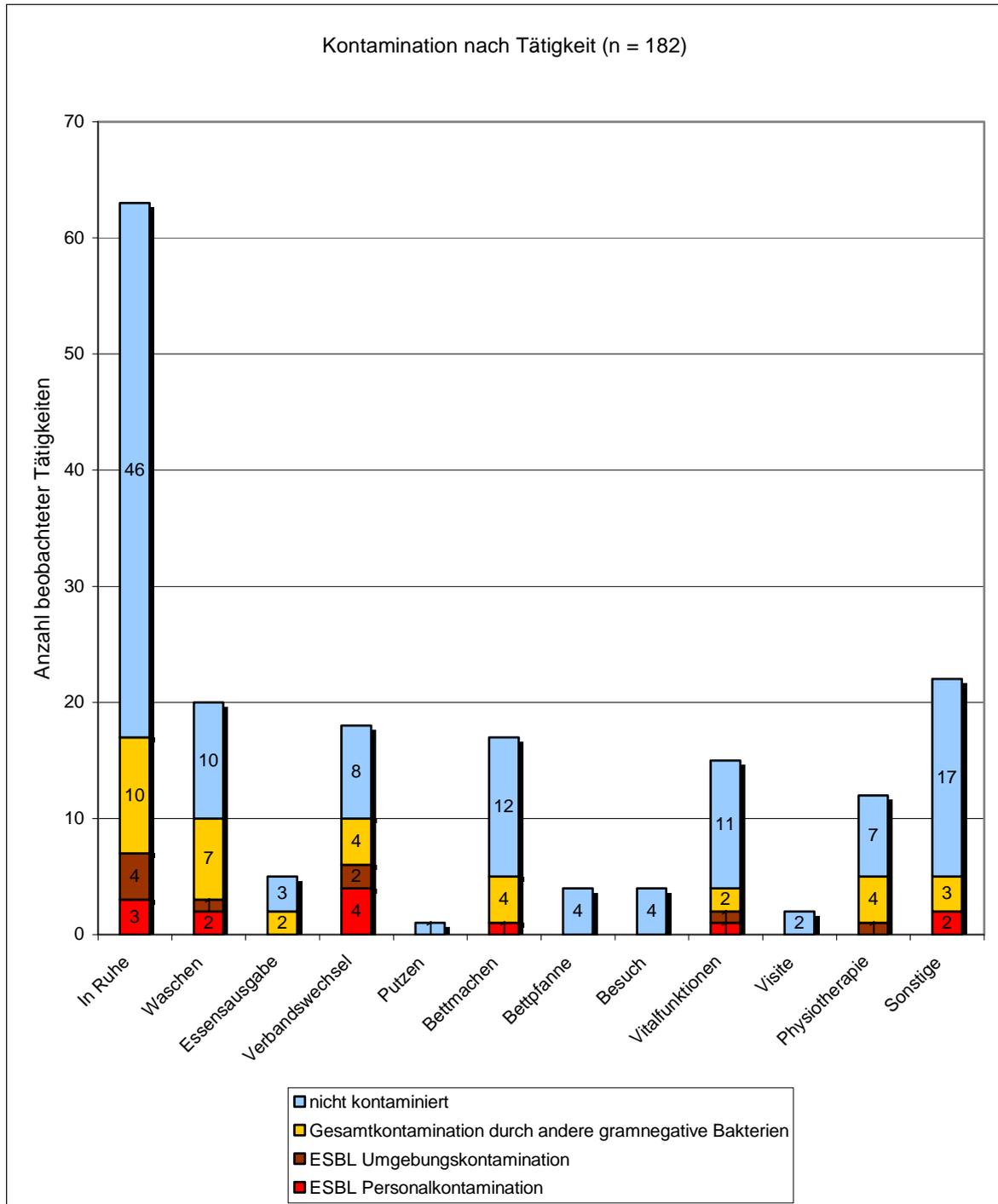


Abbildung 19: Kontaminationen nach Tätigkeit. Dabei werden die Kontaminationen in ESBL Umgebungskontaminationen und ESBL Personalkontaminationen unterteilt. Der Punkt „in Ruhe“ beinhaltet die Abklatschtätigkeit im Patientenzimmer per se ohne weitere zielgerichtete Tätigkeit. Mehrfachnennung möglich. (ESBL = Extended spectrum  $\beta$ -Lactamase).

Abbildung 19 macht deutlich, dass vor allem beim Waschen, beim Verbandswechsel, Bettmachen, Messen der Vitalfunktionen und bei der Physiotherapie vermehrt Kontaminationen auftraten. Die Verteilung von ESBL-Funden ist hierzu konkordant. Der Punkt „in Ruhe“ der die Abklatschtätigkeit per se, also Personal- und Umgebungsabklatsch ohne weitere zielgerichtete Aktivität beschreibt, fällt ebenso durch eine zunächst hohe, jedoch relativierbare allgemeine Kontaminationsrate auf.

Vor dem Hintergrund der Fulkerson Skala verteilen sich die beobachteten Tätigkeiten wie folgt:

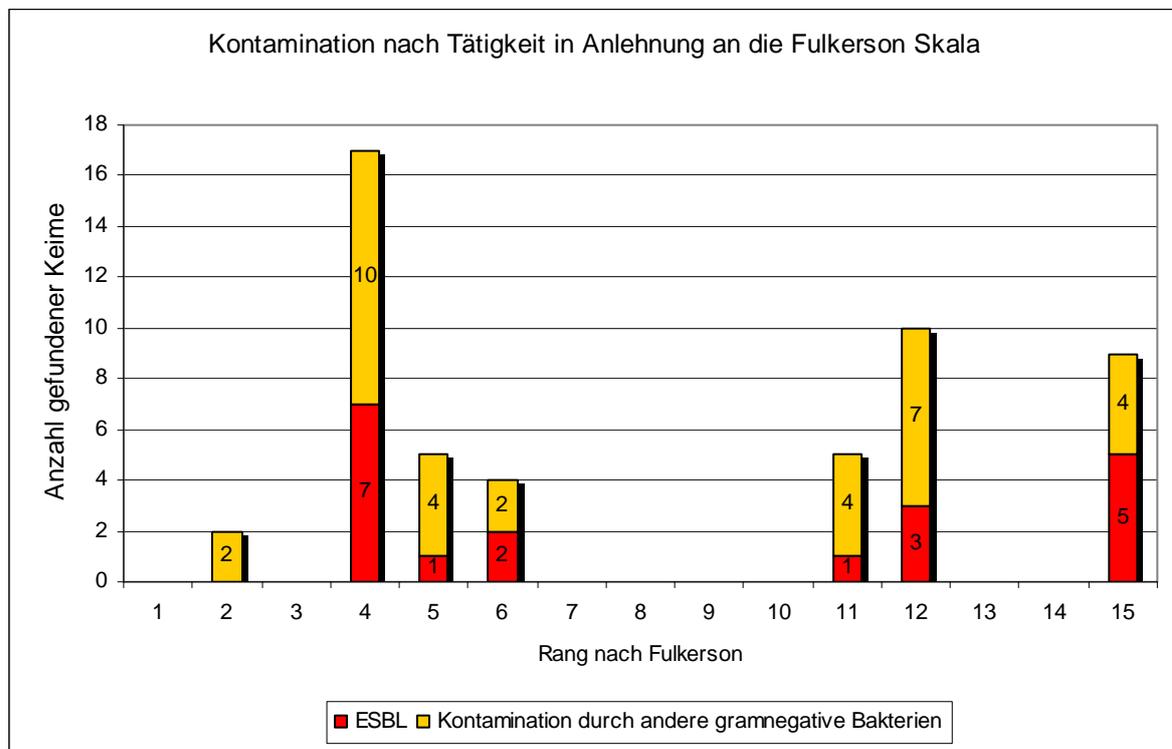


Abbildung 20: Kontamination nach Tätigkeiten in Anlehnung an die Fulkerson Skala. Niedrige Ränge beschreiben den Kontakt mit saubereren Objekten. Hohe Ränge den Kontakt mit kontaminierten Objekten. Die untersuchten Umgebungsorte wurden wie folgt verteilt: Rang 2 = Essensausgabe, Rang 4 = In Ruhe, Rang 5 = Bettmachen, Rang 6 = Vitalfunktionen und Besuch, Rang 7 = Putzen, Rang 11 = Bettpfanne und Physiotherapie, Rang 12 = Waschen, Rang 15 = Verbandswechsel und Visite. (ESBL = Extended spectrum  $\beta$ -Lactamase).

Es lässt sich keine einheitliche Tendenz in der Verteilung von Kontaminationen nach Tätigkeiten in Anlehnung an Fulkerson Ränge erkennen.

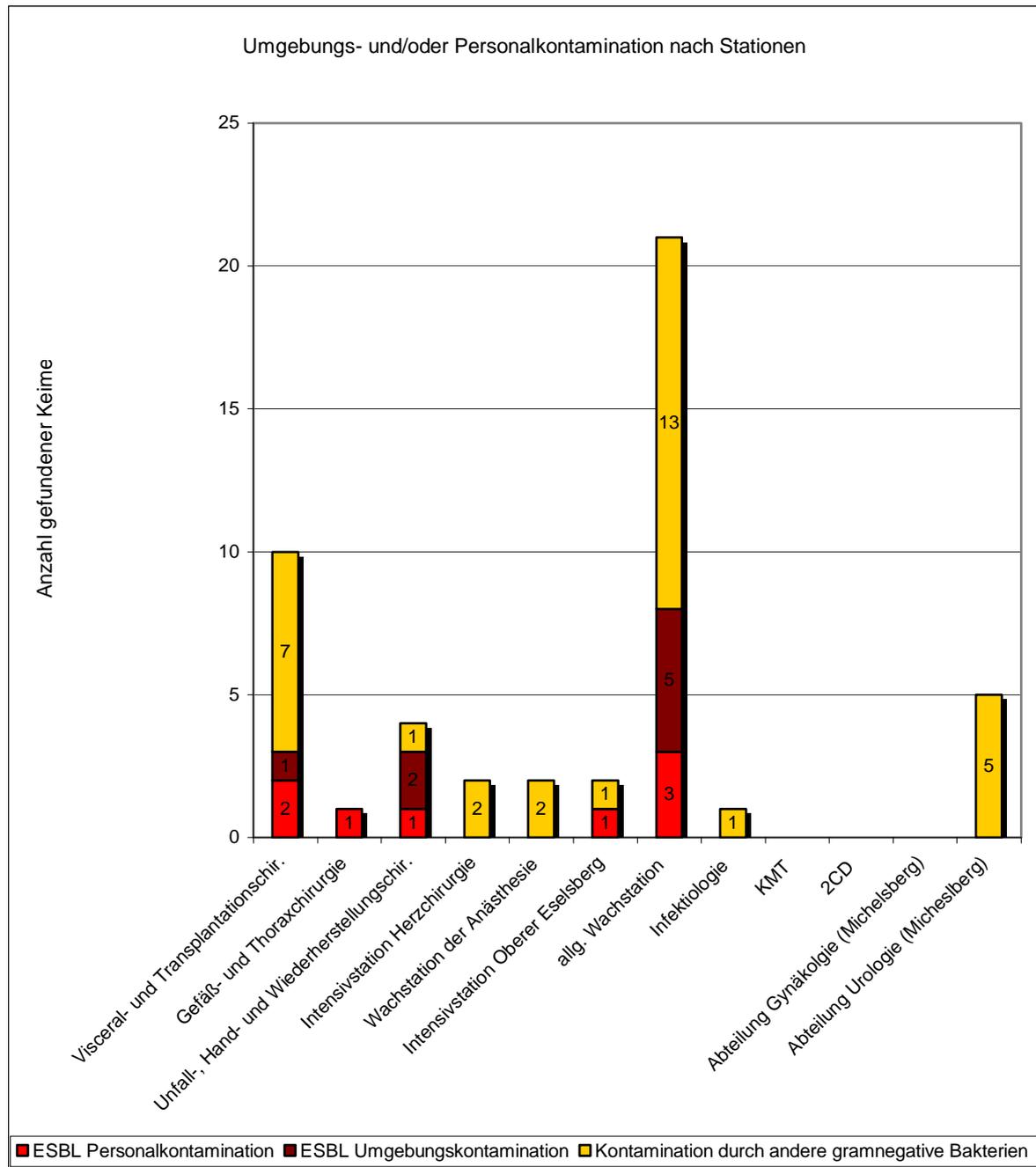


Abbildung 21: Fälle von Umgebungs- und/oder Personalkontamination nach Stationen. (ESBL = Extended spectrum  $\beta$ -Lactamase, KMT = Station für Knochenmarktransplantation, 2CD = internistische Allgemeinstation, -chir. = Chirurgie, allg. = allgemeine).

Abbildung 21 verdeutlicht die Kontaminationsproblematik auf bestimmten Stationen. Im Hinblick auf eine Kontamination durch ESBL produzierende Erreger fallen die Abteilung für Visceral- und Transplantationschirurgie, die Station für Unfall-, Hand- und Wiederherstellungschirurgie und die chirurgische Wachstation durch häufigen ESBL Nachweis auf.

### 3.5 Ergebnisse der molekulargenetischen Typisierungen

Mit Hilfe der Pulsfeldgelelektrophorese kann der eindeutige Nachweis erbracht werden, dass es sich bei zwei an verschiedenen Orten oder Patienten gefundenen Erregern um ein und denselben handelt. Dadurch wird unterstrichen, dass eine Verteilung des Erregers im Raum oder gar auf Station stattgefunden haben muss.

Alle 18 im Rahmen dieser Studie gefundenen *E.coli* Bakterien fanden Eingang in die Untersuchung mittels Pulsfeldgelelektrophorese und wurden hinsichtlich ihres Genotyps verglichen. Sie stammen von insgesamt 10 Patienten.

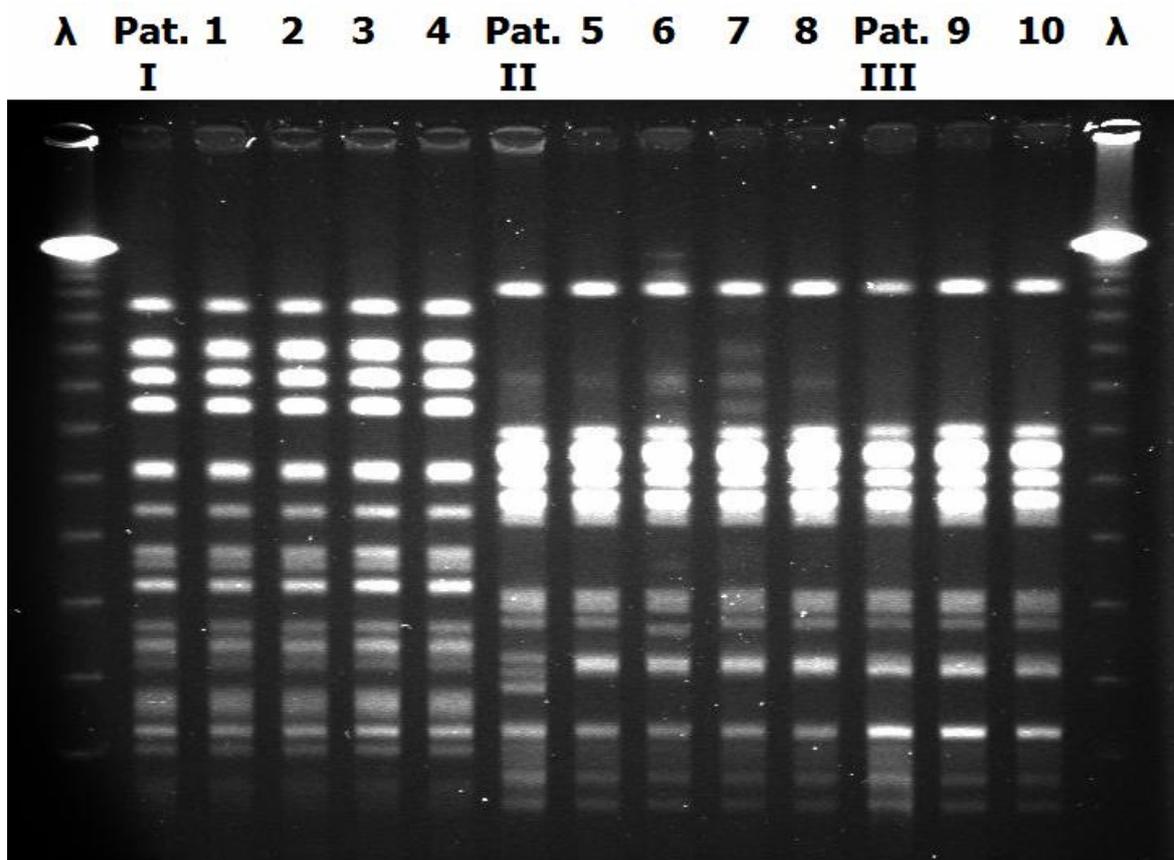


Abbildung 22: Gel 1; Pulsfeldgelelektrophorese der Isolate der Patienten I, II und III. Auf den rechts davon arabisch benannten Spuren laufen den Patienten zugehörige Nachweise von *E.coli* gewonnen aus der Umgebung bzw. dem Kittel und/oder der behandschuhten Hand des behandelnden Personals.  $\lambda$  = Molekulargewichtsmarker.

Tabelle 4: Auswertung PFGE-Gel 1. Grau unterlegte Zeilen entsprechen den Erstisolaten. (ESBL = Extended spectrum  $\beta$ -Lactamase, Pat. = Patient, pos. = positiv, neg. = negativ, E. = Escherichia).

Spur	Nachweisort (Tätigkeit)	Datum	Station	Keimbefund
Pat. I	Intraoperativ Abdomen	17.11.2006	Haus 4.1	E.coli (ESBL pos.)
1	Hand, Schwester (Verbandswechsel)	29.11.2006	1. Ost	identisch
2	Hand, Arzt (Verbandswechsel)	01.12.2006	1. Ost	identisch
3	Glocke	06.12.2006	1. Ost	Identisch
4	Haltegriff	06.12.2006	1. Ost	Identisch
Pat. II	Drainagesekret	06.03.2007	4. Ost	E.coli (ESBL pos.)
5	Liegefläche	14.03.2007	4. Ost	eng verwandt
6	Kittel, Schwester (Verbandswechsel)	14.03.2007	4. Ost	eng verwandt
7	Kittel, Schwester (Verbandswechsel)	14.03.2007	4. Ost	eng verwandt
8	Glocke	14.03.2007	4. Ost	eng verwandt
Pat. III	Urin	25.08.2007	1. Ost	E.coli (ESBL pos.)
9	WC Stuhl	28.08.2007	1. Ost	identisch
10	WC Stuhl	29.08.2007	1. Ost	identisch

Im Fall von Patient I wurde das intraoperativ gewonnene ESBL Erstisolat im Rahmen eines Verbandswechsels sowohl an der Hand einer Schwester als auch an der Hand eines Arztes nachgewiesen. Der Nachweis desselben Keimes an Glocke und Haltegriff gelang nach dem Waschen des Patienten fünf Tage später.

Die Beobachtung von Patient II ergibt, dass im Rahmen eines Verbandswechsels vier Transmissionen des gleichen ESBL positiven *E.colis* aufgetreten sind. So wurden Liegefläche, Glocke und Kittel verunreinigt.

Dem peripheren Nachweis des identischen Erregers bei Patient III ging ebenfalls ein Verbandswechsel voraus. Hier wird die Transmission des Keimes jedoch eher losgelöst von der ausgeübten Tätigkeit zu suchen sein. Vor dem Hintergrund des erstmaligen Nachweises des Keimes im Urin scheint der Nachweis am WC Stuhl trivial.

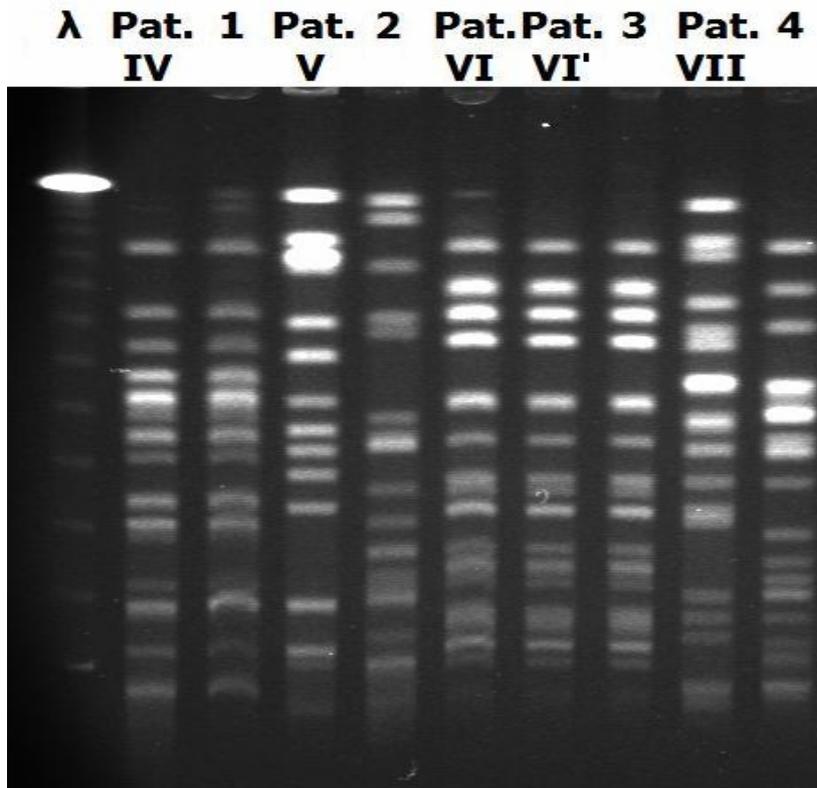


Abbildung 23: Gel 2; Pulsfeldgelelektrophorese der Isolate der Patienten IV, V, VI, VI' und VII. Auf den rechts davon arabisch benannten Spuren laufen den Patienten zugehörige Nachweise von *E.coli* gewonnen aus der Umgebung bzw. dem Kittel und/oder der behandschuhten Hand des behandelnden Personals.  $\lambda$  = Molekulargewichtsmarker.

Tabelle 5: Auswertung PFGE-Gel 2. Grau unterlegte Zeilen entsprechen den Erstisolaten. (ESBL = Extended spectrum  $\beta$ -Lactamase, Pat. = Patient, pos. = positiv, neg. = negativ, E. = Escherichia, OE = Oberer Eselsberg).

Spur	Nachweisort (Tätigkeit)	Datum	Station	Keimbefund
Pat. IV	Wunde	27.05.2007	3. West	<i>E.coli</i> (ESBL pos.)
1	Liegefläche	01.06.2007	3. West	Identisch
Pat. V	Urin	09.10.2007	4 B	<i>E.coli</i> (ESBL pos.)
2	Liegefläche	17.10.2007	1 C OE	<i>E.coli</i> II (ESBL neg.)
Pat. VI	Trachealsekret	23.04.2007	3. West	<i>E.coli</i> (ESBL pos.)
Pat. VI'	Drainagesekret	27.04.2007	1. Ost	<i>E.coli</i> (ESBL pos.)
3	Liegefläche	27.04.2007	1. Ost	identisch
Pat. VII	Urin	13.11.2007	Haus 3 EG	<i>E.coli</i> (ESBL pos.)
4	Hand, Schwester (Vitakfunktionen)	16.11.2007	Haus 3 EG	<i>E.coli</i> II (ESBL pos.)

Das in Ruhe gewonnene Keimisolat von Patient IV weist nach Bandenvergleich eine enge Verwandtschaft mit dem initial in einer Wunde nachgewiesenen Keim nach. Entsprechend handelt es sich hier um einen ESBL positiven *E.coli*.

Der auf der Liegefläche von Patient V gefundene *E.coli* wurde im Anschluss an das Messen der Vitalfunktionen nachgewiesen. Augenscheinlich weist dieser wenige gemeinsame Bandenmuster mit dem Erstisolat auf. Entsprechend handelt es sich um einen zweiten Stamm. Die Resistenzbestimmung mittels Mikrobouillondilution weist in Analogie einen ESBL negativen *E.coli* nach.

Beide Erstisolate von unterschiedlichen Orten des Patienten VI zeigen ein identisches Bandenmuster. Demzufolge war der Patient in höherem Ausmaß mit ESBL positiven *E.colis* besiedelt. Der auf der Liegefläche nachgewiesene *E.coli* war erwartungsgemäß identisch ESBL positiv.

Beim Messen der Vitalfunktionen von Patient VII wurde die Hand einer Schwester mit einem *E.coli* kontaminiert. Obwohl der Bandenvergleich einen unterschiedlichen *E.coli* Stamm ausweist, handelt es sich bei jenem Keim um einen ESBL positiven Keim.

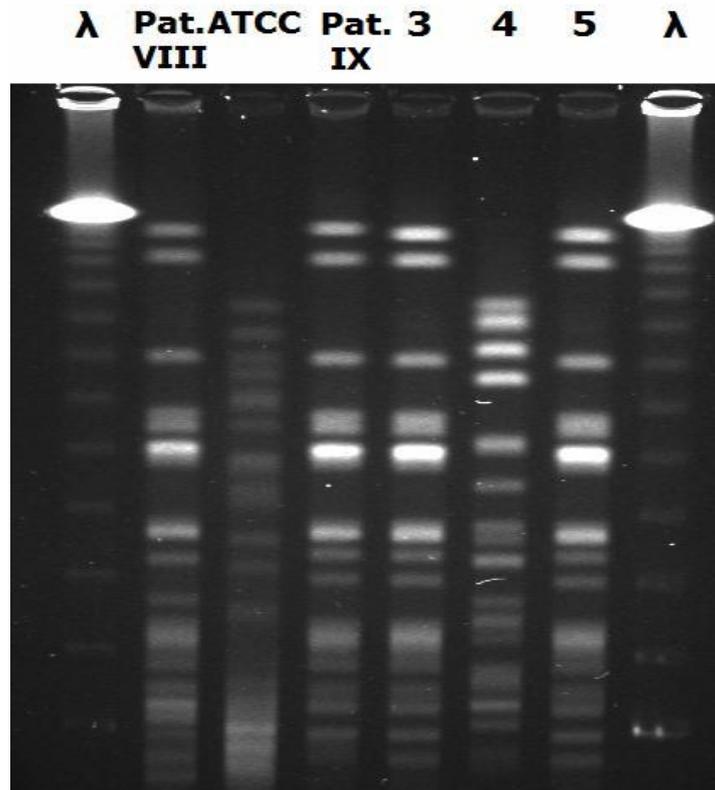


Abbildung 24: Gel 3; Pulsfeldgelelektrophorese der Isolate der Patienten VIII und IX. Die Spur des Patienten VIII beinhaltet einen peripheren *E.coli* Fund. Das Erstisolat dieses Patienten war frei von *E.coli* und wird darum nicht zum Vergleich herangezogen. Auf den arabisch benannten Spuren laufen Nachweise von *E.coli* gewonnen aus der Umgebung bzw. dem Kittel und/oder der behandschuhten Hand des behandelnden Personals des Patienten IX.  $\lambda$  = Molekulargewichtsmarker.

Tabelle 6: Auswertung PFGE-Gel 3. Grau unterlegte Zeilen entsprechen den Erstisolaten. (ESBL = Extended spectrum  $\beta$ -Lactamase, Pat. = Patient, pos. = positiv, neg. = negativ, E. = Escherichia, OE = Oberer Eselsberg, ATCC = American Type Culture Collection).

Spur	Nachweisort	Datum	Station	Keimbefund
Pat. VIII	Liegefläche	26.03.2007	Haus 4.1	<i>E.coli</i> (ESBL pos.)
ATCC				
Pat. IX	Bronchialsekret	07.05.2007	3 G OE	<i>E.coli</i> (ESBL pos.)
3	Hand, Patient (in Ruhe)	11.05.2007	3 G OE	<i>E.coli</i> III (ESBL neg.)
4	Patient Hemd (in Ruhe)	11.05.2007	3 G OE	<i>E.coli</i> II (ESBL pos.)
5	Hand, Student (in Ruhe)	11.05.2007	3 G OE	<i>E.coli</i> III (ESBL neg.)

Im Fall des Patienten VIII konnte peripher der Nachweis von ESBL positiven *E.coli* erbracht werden. Da das Erstisolat jenes Patienten kein *E.coli* war, ist es hier nicht mit in den Vergleich aufgenommen.

Die Beobachtung im Fall von Patient IX erfolgte in Ruhe. Dabei fand sich an der Hand des Studenten sowie der Hand der Patientin selbst ein ähnlicher, letztlich jedoch unterschiedlicher *E.coli*. Konsequenterhandelt es sich bei beiden Erregern um ESBL negative. Der auf dem Hemd der Patientin nachgewiesene *E.coli* scheint aufgrund seines Bandenmusters ebenfalls unterschiedlich, weist jedoch wie das Erstisolat ein erweitertes Spektrum an  $\beta$ -Laktamasen auf.

### 3.6 Fazit der molekulargenetischen Typisierungen

In fünf Fällen (Pat. I, II, III, IV und VI) konnte der Nachweis erbracht werden, dass Keime in der Peripherie – Umgebung und/oder am Personal – mit denen des Patientenisolats identisch waren. Dabei fanden sich zwölf identische Keime entsprechend zwölf Fällen einer bakteriellen Transmission. Damit wird unterstrichen, dass die Patienten Ursprung der Umgebungs- und Personalkontamination waren. Die Tätigkeiten, die im Rahmen jener Transmissionen beobachtet wurden, (Verbandswechsel, Waschen, Messen der Vitalfunktionen und Beobachtung in Ruhe) entsprechen dabei den in Abbildung 19 am häufigsten mit einer Kontamination einhergehenden Tätigkeiten.

In drei Fällen finden sich an unterschiedlichen Patienten identische Keime. So zeigt Patient II ein eng verwandtes Bandenmuster mit Patient III. Gleicher Sachverhalt liegt im Fall von Patient I und VI zugrunde. Darüber hinaus finden sich identische *E.colis* bei Patient VIII und Patient IX. Dieser Sachverhalt findet sich in der Diskussion wieder.

In drei Fällen (Pat. V, VII und IX) konnte neben dem Keim des Patientenisolats eine Kontamination mit weiteren *E.coli* Stämmen nachgewiesen werden. Je zweimal wurden im Rahmen dieser Fälle Vitalfunktionen gemessen, einmal erfolgte die Beobachtung in Ruhe. Auch hier wird auf die Diskussion verwiesen.

## 4. Diskussion

### 4.1 Nosokomiale Infektionen

Unter nosokomialen Infektionen werden gemäß § 2 Infektionsschutzgesetz „Infektionen mit lokalen oder systemischen Infektionszeichen als Reaktion auf das Vorhandensein von Erregern oder ihrer Toxine, die im zeitlichen Zusammenhang mit einer stationären oder einer ambulanten medizinischen Maßnahme steht, soweit die Infektion nicht bereits vorher bestand“, verstanden.

Nosokomiale Infektionen sind ein alltägliches Problem und zählen zu den häufigsten kontraproduktiven Ereignissen in Krankenhäusern (54). In der europäischen Union werden pro Jahr 3000000 Infektionen und 50000 Tote einem zeitlichen Zusammenhang mit einem Krankenhausaufenthalt zugeschrieben (71). In Deutschland wird von 500000 – 800000 Infektionen dieser Art ausgegangen (65). Die NIDEP - 1 Studie aus dem Jahr 1994 berichtet von einer Prävalenz nosokomialer Infektionen für Deutschland von 1,5 % bis 3,5 % auf normalen Stationen. Auf Intensivstationen hingegen lag die Prävalenz bei 15,3 %. Dies ist der Tribut an Patienten mit höherer Morbidität, invasivere Eingriffe und häufigeren Einsatz von Fremdkörpern und -materialien im Patienten.

Die häufigsten Krankenhausinfektionen und damit Indikatorinfektionen sind absteigend nach Häufigkeit: der Harnwegsinfekt, eine Infektion der unteren Atemwege, postoperative Wundinfektionen und die primäre Sepsis. Die Ursachen einer nosokomialen Infektion sind vielschichtig und werden begünstigt durch:

Ad 1: Den krankheitsbedingt vorgeschädigten Patienten mit zunehmend höherem Alter, eingeschränkten Schutzmechanismen und geschwächter Immunabwehr.

Ad 2: Die Umweltfaktoren im Krankenhaus, wie Nähe zu anderen Patienten und kontaminierten Gegenständen sowie durch bauliche Mängel der Institution an sich.

Ad 3: Den technischen Fortschritt in der Medizin mit erweiterten Möglichkeiten der Behandlung einhergehend mit neuen Eintrittspforten für Infektionserreger.

Ad 4: Den zunehmenden (Zeit-)Druck auf das Personal durch den einfache Hygienemaßnahmen leicht in den Hintergrund treten.

Grundsätzlich werden endogene von exogenen nosokomialen Infektionen unterschieden.

Einerseits kann die endogene, physiologische - an sich harmlose - Flora des Menschen im Fall einer Schwächung des menschlichen Immunsystems ihre pathologische Wirksamkeit entfalten. Im Gegensatz dazu resultieren exogene Keime aus der Aufnahme aus der Umgebung durch Personal, Gegenstände, Luft oder Wasser. Die große Mehrzahl der Fälle dieser Infektionen wird durch Bakterien hervorgerufen (65).

## 4.2 Zunahme multiresistenter bakterieller Erreger

In engem Zusammenhang mit nosokomialen Infektionen ist die zunehmende Anzahl multiresistenter Erreger zu sehen, da diese oft Verursacher jener Infektionen sind.

Im grampositiven Bereich sind vor allem resistente *Staphylococcus aureus* zu nennen. Methicillin resistente Keime dieser Art (MRSA) haben von 1999 bis 2006 in Deutschland von 8 % auf 20 % zugenommen (22)(70).

Glykopeptid resistente Enterococccen wie *Enterococcus faecium* haben im gleichen Zeitraum von 1 % auf 8 % an Anteil gewonnen (22)(70).

Im gramnegativen Bereich wird der Trend einer grundlegenden Zunahme Antibiotika-resistenter Erreger bestätigt. In den aktuellen Zahlen des KISS (Krankenhaus - Infektions - Surveillance - System) werden für das Gesamtjahr 2004 insgesamt 120 Fälle von ESBL gemeldet. Im ersten Halbjahr 2006 hingegen werden allein 129 Fälle von ESBL notiert. Die nosokomiale Bedeutung wird durch den Anteil auf Station erworbener ESBL deutlich. Er liegt bei 64,1 % (2004) und 51,1 % (1.Hj 2006). Der Anteil an Patienten, die eine Infektion entwickeln, liegt mit 65,8 % für das Jahr 2004 sowie das 1.Halbjahr 2006 hoch. Betrachtet man die Infektionsarten genauer, so spiegeln sich klar die Indikatorinfektionen nosokomialer Infektionen wider.

Seit 2006 werden im KISS *E.coli* und *K. pneumoniae* zusätzlich getrennt bewertet. Dabei führt *E.coli* mit 59,7 % aller ESBL Fälle des 1. Halbjahr 2006 nicht nur

hinsichtlich der Quantität, sondern mit einem Anteil daraus entstandener Infektionen von 70,1 % auch in Bezug auf die pathogene Qualität. *K. pneumoniae* hingegen landen mit einem Infektionsanteil von 59,6 % auf Platz zwei.

Um die klinische Bedeutung von ESBL zu unterstreichen, können die Zahlen der MRSA Infektionen für das 1. Halbjahr 2006 gut als Vergleich dienen. Der Anteil auf Station erworbener MRSA liegt bei nur 26,4 % und der Infektionsanteil liegt bei nur 30,7 %.

Auch wenn ESBL mit 129 Fällen im 1. Halbjahr 2006 absolut nahezu 10mal seltener als MRSA mit 1166 Fällen gemeldet wurde, wird vor dem Hintergrund der höheren pathogenen Aggressivität in Form des Infektionsanteils und einer steigenden Inzidenz von ESBL ein düsteres Szenario offensichtlich.

Dass es Risikofaktoren für den Erwerb einer Kolonisation mit ESBL produzierenden Bakterien gibt, wurde in etlichen Studien, viele davon bei Kindern und Neugeborenen, belegt. Safdar et al. zeigten dabei, dass die Risikofaktoren für eine Infektion mit resistenten Erregern denen anderer nosokomialer Infektionen sehr ähnlich sind (57). Je nach Szenario kann in Ausbruch-Situation, endemische Situation (Nicht-Ausbruch) und ambulante Situation unterteilt werden.

Risikofaktoren in einer Ausbruchssituation wurden von A. Asensio et al. beschrieben. Sie fanden ein Alter unter 12 Wochen sowie die vorherige Behandlung mit Cephalosporinen der 3. Generation und Aminoglykosiden als unabhängige Faktoren für die Kolonisation und/oder Infektion mit ESBL produzierenden Bakterien (72). Reish O et al. ergänzten in ihrer Arbeit die Risikofaktoren um Frühgeburtlichkeit, Vorhandensein eines zentralen Venenkatheters und parenterale Ernährung (67). Lucet et al. machten den Verdauungstrakt als Ort der ersten Infektion aus (46).

In der endemischen Situation wurden die Risikofaktoren unter anderem von C. Wendt et al. genauer beleuchtet. Die Autoren identifizierten ein Alter unter 2,5 Jahren, das Liegen eines zentralen Venenkatheters für mehr als drei Tage, die Behandlung mit 2. oder 3. Generation Cephalosporinen für mehr als drei Tage und jede andere Antibiotikatherapie vor Aufnahme als unabhängige Risikofaktoren

(76). C. Peña et al. bestätigen diese Aspekte und identifizieren einen weiteren Device, die Nasensonde, als Ausgangspunkt einer Besiedelung mit ESBL – positiven Enterobakterien (54). G. Bisson et al. sehen die Hospitalisationsdauer als weiteren unabhängigen Risikofaktor (68).

Eine Untersuchung im ambulanten Szenario von R. Colodner et al. beschreibt einen Krankenhausaufenthalt in den letzten drei Monaten, antibiotische Behandlung in den letzten drei Monaten, Alter über 60 Jahre, Diabetes, männliches Geschlecht, *K. pneumoniae* Infektion, vorherige Behandlung mit Cephalosporinen der 2. oder 3. Generation, mit Quinolonen und mit Penicillin als weitere Risikofaktoren (78). Im Einklang mit dem häufigen Vorkommen ESBL produzierender Keime auf Intensiv- und Neonatalstationen sind die gefährdetsten Patienten solche in sehr jungen Jahren und höheren Lebensalters.

Dass die Suche nach unabhängigen Risikofaktoren jedoch auch Schwierigkeiten unterliegt, beschreiben R.J. Cordery et al., die keinen statistisch unabhängig begünstigenden Gesichtspunkt für eine ESBL Akquisition festmachen konnten (17).

#### 4.2.1 Diagnostik von ESBL positiven Enterobakterien

Die möglichst schnelle Diagnostik mit hoher Sensitivität und Spezifität ist von hoher Bedeutung für die Senkung der Mortalität schwerer bakterieller Krankenhausinfektionen mit multiresistenten Erregern.

Der Nachweis von ESBL produzierenden Bakterien wird durch für jedes  $\beta$  – Laktamantibiotikum typische Resistenzphänotypen erbracht. Dabei erfolgt der Beleg von ESBL produzierenden Bakterien nach den Richtlinien des RKI und CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) auf zwei Säulen. Zum einen auf der a) routinemäßigen phänotypischen Identifikation mittels Hemmbarkeit durch  $\beta$  – Laktamaseinhibitoren wie Clavulansäure. Zum anderen ermöglichen erst b) molekulare Analysen die genaue Differenzierung verschiedener ESBL.

- a) Ein Merkmal der ESBL ist die Hemmbarkeit durch  $\beta$  – Laktamaseinhibitoren wie Clavulansäure und Sulbactam. Die phänotypische Resistenzbestimmung

für die drei 3. Generations Cephalosporine Cefotaxim, Ceftazidim und Cefpodoxim wird im Mikrobouillonverdünnungstest oder mittels Agardiffusionstests jeweils mit und ohne  $\beta$  - Laktamaseinhibitor durchgeführt. Ein Isolat gilt phänotypisch als ESBL - Bildner, wenn es resistent gegenüber Cefpodoxim sowie Cefotaxim und/oder Ceftazidim ist und eine Hemmung durch Clavulansäure oder Sulbactam nachgewiesen werden kann. Dabei erhärtet sich der Verdacht auf eine ESBL bereits bei einer minimalen Hemmkonzentration  $\geq 2\text{mg/l}$  für Cefotaxim und Ceftazidim. Für Cefpodoxim gilt ein MHK-Wert von  $8\text{mg/l}$ . Bestätigt wird die Diagnose durch das Abfallen der MHK-Werte um 3 Stufen durch Clavulansäure. Bei Anwendung des Agardiffusionstests für die genannten Cephalosporine gilt eine Hemmhofreduktion um 5mm (71)(55)(33).

Der Nachweis kann allerdings durch die Heterogenität des Vorkommens der Enzyme und das gleichzeitige Vorliegen mehrerer  $\beta$  - Laktamasetypen erschwert werden. Des Weiteren kann erschwerend eine unterschiedliche Aktivität gegenüber potentiellen Substraten hinzukommen (33). Trotz dieser Einschränkungen stellt die phänotypische Resistenzbestimmung die routinemäßige Screeningmethode mit befriedigenden Ergebnissen dar.

- b) Der definitive Nachweis kann erst durch molekulare Verfahren erbracht werden. Dabei werden die verschiedenen ESBL Resistenzgene mittels Multiplex – PCR amplifiziert und sequenziert und relevante Punktmutationen können festgestellt werden. Um das langwierige Procedere zu verkürzen, wurden für die drei größten Gruppen der konjugativ übertragbaren CTX-M-Familie mehrere Multiplex-PCR-Primer entwickelt. Nichtsdestotrotz ist dieses Verfahren für die tägliche Routine zu aufwändig. Durch die Einführung der Chip-Technologie (Mikroarrays) mit capture-Messköpfen für die einzelnen Allele der  $\beta$  - Laktamase-Gene wird zukünftig aber eine schnelle Detektion bestimmter ESBL Typen möglich sein (71)(77).

Epidemiologische Bedeutung hat zudem die Pulsfeld Gelelektrophorese (PFGE) mit deren Hilfe Isolate auf molekularer Ebene hinsichtlich Ähnlichkeit des

Bandenmusters verglichen werden können. Auf diesem Weg gibt die Makrorestriktionsanalyse Aufschluss über eventuelle klonale Verbreitung auf Stationen.

#### 4.2.2 Therapie und Prävention

Die Behandlung ernsthafter Infektionen mit ESBL produzierenden Erregern ist schwierig, da häufig eine Resistenz gegenüber mehreren Antibiotika vorliegt. Die initiale Fehlbehandlung kann jedoch unabsehbare Konsequenzen bis hin zu einer erhöhten Mortalität haben (59).

Wong-Beringer et al. unterstrichen, dass Breitspektrum Cephalosporine in der Behandlung ESBL-produzierender Bakterien ihr antimikrobielles Potenzial verlieren (78).

Das CDC (Centers for Disease Control and Prevention) gibt vor, dass im Fall eines ESBL Fundes alle Penicilline, Cephalosporine und Aztreonam trotz einer möglichen in-vitro Empfindlichkeit als resistent angesehen werden sollten (55). Der zugrunde liegende Inokulum Effekt führt zu einer erhöhten Resistenz mit zunehmender Keimzahl (33). Diese abnehmende Wirksamkeit wurde für Cefepim und Piperacillin-Tazobactam nachgewiesen (41)(34)(44).

Die Angst vor nosokomialen Infektionen führt oft früh zur empirischen Anwendung von Breitspektrum Antibiotika. Diese Strategie begünstigt jedoch die Selektion resistenter Erreger (66) und ruft in Erinnerung, dass die Verwendung bestimmter Antibiotika selbst als Risikofaktor für die Kolonisation respektive Infektion gilt. Einige Autoren fordern daher die Verwendung von Schmalspektrum Antibiotika (66). Die restriktive Nutzung von Cephalosporinen der 3. Generation in einer Umgebung mit hoher ESBL-Prävalenz wird unter anderem von Chow et al. (14) gefordert und geht mit einer sinkenden Inzidenz resistenter Keime einher (72)(68).

In Übereinstimmung mehrerer Autoren führen Carbapeneme, insbesondere Imipenem, zu den besten Ergebnissen im Sinn einer sinkenden Mortalität (59) und/oder Heilung (34). Die Meinungen über einen Behandlungsansatz mit

Chinolonen gehen auseinander. Cheol-In Kang sehen Ciprofloxacin 2004 neben Carbapenemen als effektivstes Antibiotikum an (65). Tumbarello et al. hingegen sehen in Chinolonen 2006 die häufigste inadäquate Therapie (66). Die Zunahme von Chinolonresistenzen im Zeitraum zwischen beiden Publikationen kann einen Erklärungsansatz für diese Diskrepanz liefern.

Endimiani et al. verglichen unter diesem Gesichtspunkt Ciprofloxacin und Imipenem in Bezug auf das Outcome der Patienten und schlussfolgerten, dass Imipenem das Antibiotikum der Wahl sei (43).

Ahmad et al. berichten jedoch von konsekutiver Imipenemresistenz nach Behandlung mit diesem Chemotherapeutikum (33). Daraus lässt sich ableiten, dass die Anwendung eines einzigen Antibiotikums stets mit der Gefahr einer Selektion resistenter Erreger einhergehen kann.

Das Robert Koch-Institut verweist für den Fall zunehmender Carbapenemresistenz auf die „letzten Reserven“ in Form von Amikacin, Tigecyclin und Colisitin (72), wobei nicht unerhebliche Nebenwirkungen zu berücksichtigen sind.

Aus diesem Grund zählt die Infectious Diseases Society of America ESBL-produzierende *Klebsiella spp.* und *E.coli* zu den Antibiotika resistenten Mikroben, für die dringend neue Therapien nötig sind (62).

Vor diesem Hintergrund kommt nicht-antibiotischen Maßnahmen zur Minimierung einer Ausbreitung besondere Bedeutung zu.

Darunter werden Basismaßnahmen der Infektionskontrolle verstanden, wie angemessene Handhygiene, Kittelpflege und Kontrolle von Umgebungsgegenständen. Im Fall von Aerosolentstehung wird das Tragen eines Mund-Nasen-Schutzes empfohlen. Die Frage nach der Isolierung eines positiven Einzelfalls ist nicht ausreichend diskutiert. Nach den Ergebnissen dieser Arbeit wird die Isolierung als wünschenswerte jedoch sekundäre Maßnahme angeführt.

In jedem Fall sollte bei einem positiven Nachweis ein entsprechender Hinweis in der Krankenakte und in Verlegungsberichten notiert werden. Des Weiteren sollte

eine gezielte Surveillance die epidemiologische Situation bewerten. Selbstverständlich müssen Antibiotikaregimes überprüft und ggf. modifiziert werden (77).

Unter der Voraussetzung ausreichenden Hygienepersonals und laufender Fortbildungen können durch diese einfachen Maßnahmen ein Drittel bis ein Viertel aller Krankenhausinfektionen vermieden werden (65).

#### 4.2.3 Prognose und Konsequenzen

Die Auswirkungen der Produktion von  $\beta$  - Laktamasen mit erweitertem Spektrum sind medizinischer und ökonomischer Natur. Dabei resultieren alle aus den erschwerten Therapiemöglichkeiten.

In einer Metaanalyse von Schwaber et al., bestehend aus zehn Studien, dauert das Einleiten einer wirksamen Therapie bei ESBL positiven Patienten 5,56-mal so lang wie bei Patienten ohne ESBL (59).

Konsekutiv stellt die gleiche Gruppe eine um das 1,85-fache erhöhte Mortalität für Patienten mit einer ESBL Besiedlung fest. Andere Arbeiten unterstreichen den Fakt einer erhöhten Mortalität mit signifikanten Odds Ratios von 3,6 bis 3,9. (58)(17)(49). Peña et al. ergänzen, dass der Ort der Infektion bedeutsam für die Mortalität ist. So beschreiben sie den Urogenitaltrakt als einzigen unabhängigen Risikofaktor mit Einfluss auf die Mortalität (54).

Des Weiteren führt eine ESBL Besiedlung zu einem verlängerten Krankenhausaufenthalt und erheblichen Mehrkosten (58)(29). Schwaber et al. beziffern diese durch ESBL entstandenen Mehrkosten mit durchschnittlich 9620US\$ pro Patient (58). Eine kanadische Studie führt Mehrkosten für Patientenisolierung und Kontaktvorsichtsmaßnahmen im Rahmen von 3172 US\$ (\$-Kurs 06/2008) pro Fall an (70). Dass auch enorme Kosten für die Gesellschaft aufkommen, machen Howard et al. deutlich (76). Nach wie vor sind Studien über Kosten jedoch schwierig zu vergleichen (32).

## 4.3 Transmission

Im Gegensatz zur antibiotischen Herangehensweise zur Eindämmung von Fällen ESBL positiver Patienten ist die Studienlage über die Bedeutung der Transmission ESBL produzierender Erreger spärlich.

Einige Studien beschreiben den Nachweis identischer Erreger an unterschiedlichen Patienten im Sinn von Patient-zu-Patient Übertragungen in der Ausbruchssituation (56)(65). Andere schätzen dieses Risiko als untergeordnet ein (67).

Unbestritten ist, dass Hände einen wichtigen Transmissionsweg und horizontalen Vektor für die Verbreitung von Keimen darstellen (16 - 19)(46). Dabei wurden Überlebenszeiten von Enterobacteriaceae auf Fingern von Minuten (29) bis Stunden (48) beobachtet. Fryklund et al. zeigten dabei, dass es keinen Unterschied im Überleben zwischen epidemischen und nicht-epidemischen Stämmen gibt (59). Panhotra et al. bestätigten, dass antibiotikaresistente Keime keinen Überlebensvorteil haben (58). Dass es zudem erhebliche Unterschiede in der adäquaten Anwendung der Händehygiene gibt, machten Wendt et al. deutlich. Dabei kam es zu deutlichen Unterschieden in der Anwendung je nach Berufsgruppe, Art der Tätigkeit und Station im Krankenhaus (75). Belegt ist auch, dass es Individuen gibt, die Keime besser zurückhalten und damit überdurchschnittliches Überleben von Bakterien ermöglichen. Solche Personen dienten als hervorragende Vektoren (29). Studien zu MRSA sehen medizinisches Personal jedoch sehr selten als persistierende Reservoirs, vielmehr jedoch als Vektoren (41).

Vor diesem Hintergrund scheint es notwendig, der Hygiene der Hände weitere Aufmerksamkeit in Schulungen und Fortbildungen zukommen zu lassen. Auf diese Weise könnte das Potenzial dieser Hygienemaßnahme zur Vermeidung von Transmissionen ausgebaut werden.

Die Arbeitsbedingungen auf den Stationen spielen für die Transmission von Bakterien ebenfalls eine Rolle. Dabei zeigten Fryklund et al. in einer weiteren Arbeit, dass schwierig modifizierbare Variablen wie Überfüllung und die Intensität

der Tätigkeiten des Personals als nachrangig für die Transmission anzusehen sind (23).

Dass auch Gegenstände aus der Umgebung als Reservoir für die Verbreitung von ESBL dienen können, wurde in einigen Studien belegt (73)(65). Dabei liegen Überlebenszeiten von Enterobacteriaceae in der unbelebten Umgebung zwischen Stunden (48) und bis zu zehn Tagen (59). Kramer et al. beschreiben sogar ein Überleben von *E.coli* von bis zu sechzehn Monaten. Die gleiche Gruppe sieht begünstigende Umgebungsfaktoren für langzeitiges Überleben auf unbelebten Oberflächen in geringen Temperaturen, hoher Luftfeuchtigkeit und einer hohen Inokulummenge (38). Scott et al. unterstreichen, dass es durch Kontakt mit kontaminierten Flächen zur Weiterübertragung von *E.coli* und anderen Krankheitserregern kommen kann (73). Dass diese Umstände den initialen Funken für einen Ausbruch darstellen können, bedarf keiner weiteren Erläuterung. Die Schlussfolgerungen aus diesen Fakten sind in suffizienten Reinigungs- und Flächendesinfektionsmaßnahmen zu suchen (69). Wobei anzuführen ist, dass Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen als Einzelmaßnahme nicht ausreichend sind. Erst im Zusammenspiel mit einer verbesserten Händehygiene und Isolierung bzw. Kohortierung können sie synergetisch der Eindämmung eines ESBL Ausbruchs dienen können (59)(70).

## 4.4 Interpretation der eigenen Ergebnisse

### 4.4.1 Abklatschuntersuchungen der Umgebung

Die Abklatschuntersuchungen der Umgebung zeigten, dass – im Gegensatz zu Studien mit grampositiven Erregern, insbesondere MRSA, bei denen oft das gesamte Zimmer kontaminiert ist - primär Orte der näheren Umgebung des Patienten eine Verunreinigung aufweisen. Alle acht ESBL positiven Isolate finden sich gar nur in unmittelbarer Nähe zum Patienten (Glocke, Liegefläche, Haltegriff). Die Untersuchungsorte am Ausgang des Zimmers, wie Lichtschalter und Türklinke weisen hingegen keine Kontamination auf. Vor dem Hintergrund des in 4.3

ausgeführten Sachverhaltes der Transmission unterstreicht die Arbeit damit die Notwendigkeit einer professionellen Hygiene im Umgang mit ESBL kontaminierten Patienten und den hohen Stellenwert der korrekten Händedesinfektion insbesondere bei sehr engem Kontakt mit dem Patienten oder dessen unmittelbarer Umgebung.

Die Bewertung der Kontamination der Patientenumgebung durch die Fulkerson Skala ist neu. Tendenziell weisen niedrigere und damit sauberere Ränge nach Fulkerson in dieser Arbeit eine verhältnismäßig hohe Verunreinigungsrate auf. Dass Handhygiene bei niedrigeren Rängen unterschätzt und weniger konsequent zur Anwendung kommt, haben Wendt et al. belegt (79). Diese Diskrepanz weist auf ein wahrscheinliches Risikopotenzial hin.

#### 4.4.2 Abklatschuntersuchungen des Personals

Die Abklatschuntersuchungen des Personals ergaben eine Verteilung der Kontamination mit gramnegativen Erregern innerhalb der Berufsgruppen wie folgt: 25 % der Ärzte, 20 % der Schwestern, 17,6 % der Physiotherapeuten, 6,5 % der Studenten und 13,3 % der Sonstigen. Diese Staffelung kann die Intensität der ausgeführten Tätigkeiten bzw. die Körpernähe während der Tätigkeiten widerspiegeln. Unterstützung findet diese These in der spezifischen Kontamination mit ESBL produzierenden Erregern. Insgesamt fanden sich 8 ESBL positive Keime. Darunter ein Arzt mit zwei ESBL erworben beim Verbandswechsel, entsprechend einer ESBL-Belastung des ärztlichen Personals von 12,5 %. Das pflegende Personal war in fünf Fällen beim Verbandswechsel, Waschen, Bettmachen und Messen von Vitalfunktionen mit ESBL produzierenden Keimen verunreinigt worden, entsprechend 7,7 % der Berufsgruppe. Ein ESBL - Nachweis fand sich am Nachthemd einer Patientin.

In allen Fällen, in denen in der Peripherie ESBL positive Keime nachgewiesen werden konnten, erfolgte die Erstisolation eines ESBL positiven Keimes in Wunden, Urin, Blutkulturen und Trachealsekret. Spuren dieser Sekrete finden sich, in

Analogie zu den Ergebnissen der Umgebungsuntersuchungen, in einem begrenzten Radius um den Patienten wieder. Dass der Kontakt mit diesen Sekreten oder die Arbeit in mit diesen Sekreten verunreinigten Bereichen die Wahrscheinlichkeit einer Kontamination erhöht, spiegelt die Zuteilung der Kontamination nach Tätigkeiten wider. So waren körpernahe Arbeiten wie das Waschen der Patienten, der Verbandswechsel, das Bettmachen, Messen von Vitalfunktionen und die Physiotherapie besonders häufig von Kontamination betroffen. In der Konsequenz sind die Berufsgruppen verstärkt gefährdet, deren Arbeit eine große Nähe zum ESBL besiedelten Patienten erfordert.

Die Anwendung der Fulkerson Skala in Bezug auf Kontamination durch Tätigkeiten ist in dieser Weise neuartig. Leider lässt sich keine einheitliche Tendenz in der Verteilung von Kontamination durch bestimmte Tätigkeiten in Form von Fulkerson Rängen erkennen.

Alle sechzehn Fälle einer Kontamination mit ESBL positiven Erregern verteilten sich folgendermaßen auf die Stationen: allgemeine Wachstation (8 Fälle), Abteilung für Visceral- und Transplantationschirurgie (3 Fälle), Abteilung für Unfall-, Hand- und Wiederherstellungschirurgie (3 Fälle), Abteilung für Gefäß- und Thoraxchirurgie (1 Fall) und Intensivstation Oberer Eselsberg (1 Fall).

Diese Häufung ist plausibel mit der frequenteren Anwendung invasiver Methoden beziehungsweise der operativen Eröffnung des Gastrointestinaltraktes, der physiologisch mit gramnegativen Bakterien kolonisiert ist, erklärbar.

Diese Arbeit hat vorwiegend chirurgische Stationen in die Beobachtungen einbezogen, so dass ein Vergleich zu weniger invasiv arbeitenden Stationen schwierig ist. Dass chirurgische und intensivmedizinische Abteilungen aufgrund invasiverer Arbeitstechniken jedoch ein erhöhtes Kontaminationsrisiko mit sich bringen, ist denkbar.

#### 4.4.3 Interpretation der Typisierungsergebnisse

Für die Bestimmung des Verwandtschaftsgrades zwischen zwei bakteriellen Isolaten ist die Pulsfeldgelelektrophorese ein anerkanntes Verfahren. In dieser Arbeit folgte der Anfärbung der Banden ein standardisierter Bandenvergleich mittels Diversity Database-Software. Die daraus gewonnenen Informationen über Anzahl und Stärke der Banden waren Grundlage für die Bestimmung der Beziehung der gefundenen Bakterien untereinander. Dabei gaben Tenover et al. entscheidende Kriterien für den Vergleich der Bandenmuster vor (75). Die Anzahl gefundener genetischer Unterschiede entscheidet dabei über den Verwandtschaftsgrad zwischen beiden Bakterien. Als „identische Isolate“ werden solche angesehen, die keinen genetischen Unterschied im Bandenverteilungsmuster aufweisen. „Eng verwandte Isolate“ unterscheiden sich in 1 genetischen Aspekt entsprechend 2 - 3 Bandenunterschieden. Dieser Unterschied kann schon auf das mehrmalige Subkultivieren zurückgeführt werden. „Möglich verwandte Isolate“ definieren sich durch 2 genetische Differenzen im Sinn von 4 - 6 Unterschieden in den Banden. Solche Variationen können bei längerem Beobachten eines Isolats im Laufe der Zeit nachgewiesen werden. Als „unterschiedliche Isolate“ werden letztlich solche angesehen, die sich in  $\geq 3$  genetischen Aspekten, entsprechend  $\geq 7$  Banden unterscheiden.

Bei Betrachtung dieser Genese wird in dieser Arbeit davon ausgegangen, dass Bakterien bis zum Grad „Möglich verwandter Isolate“ nach Tenover als von einer Quelle ausgehend bezeichnet werden können.

In diesem Sinn konnte im Rahmen von fünf Beobachtungen (Pat. I, II, III, IV und VI) mittels zwölf identischer Keime nachgewiesen werden, dass Keime in der Peripherie und/oder am Personal ihren Ursprung vom Patienten nehmen. Damit steht außer Frage, dass Transmissionen als Ursache dieser Kontaminationen angesehen werden können.

Alle Fälle von bakterieller Transmission stehen mit folgenden Tätigkeiten, die während der Beobachtung ausgeführt wurden in Bezug: Verbandswechsel, in

Ruhe, Waschen und Messen der Vitalfunktionen. Hier finden sich die in Abbildung 19 am häufigsten mit einer Kontamination einhergehenden Tätigkeiten wieder.

Drei Fälle imponieren durch eng verwandte Keime an unterschiedlichen Patienten. Fall 1 beschreibt identische Keime an Patient II und III. Dabei gleichen sich nicht nur die Erstisolate, sondern auch die an Personal und Umgebung gefundenen Keime. Zwischen den Nachweisen der Isolate beider Patienten liegt ein Zeitraum von ca. 4 Monaten. Beide Patienten lagen auf unterschiedlichen Stationen.

Fall 2 zeigt identische Keime an Patient I und VI auf. Hier gleichen sich ebenfalls Erstisolate und periphere Funde. Beide Patienten lagen mit einer Zeitdifferenz von ca. 5 Monaten auf der gleichen Station.

Fall 3 zwischen Patient VIII und Patient IX ist ähnlich gelagert. Hier lag ein Zeitraum von ca. 1½ Monaten zwischen den Nachweisen. Beide Patienten lagen nicht nur auf unterschiedlichen Stationen, sondern zudem in unterschiedlichen Häusern (Stadtteil Safranberg und Stadtteil Eselsberg).

Die langen Zeitspannen von 1½ bis 5 Monaten zwischen den Nachweisen lassen vor dem Hintergrund der Überlebenszeiten von Enterobacteriaceae den Verdacht derselben Keime an den Patienten unwahrscheinlich erscheinen, wenn auch nicht gänzlich unmöglich. So kann die Möglichkeit der Verbreitung eines Hospitalstammes oder die Verbreitung ein und desselben Keimes aus einem sonstigen Reservoir nicht mit absoluter Gewissheit ausgeschlossen werden.

In drei Fällen konnte an Patienten der Nachweis weiterer *E.coli* Stämme erbracht werden.

Bei Patient V konnte ein Zweitstamm auf der Liegefläche des Bettes isoliert werden. Zu jenem Zeitpunkt wurden Vitalfunktionen geprüft.

Bei Patient VII ließ sich an der Hand einer Schwester der Nachweis eines Zweitstammes erbringen. Die Schwester war in jenem Fall ebenfalls mit der Erhebung der Vitalfunktionen beschäftigt.

Im Fall von Patient IX wurden ein Zweitstamm vom Hemd des Patienten und ein Drittstamm von der Hand des Patienten sowie eines Studenten gewonnen. Zu

jenem Zeitpunkt wurden keine Tätigkeiten vorgenommen, die Abklatschuntersuchung erfolgte in Ruhe.

Der Nachweis weiterer *E.coli* Stämme an einem Patienten ist nicht ungewöhnlich, kann aber ursächlich nicht abschließend geklärt werden. Dass Patienten mehrere Stämme einer Bakterienspezies tragen können, ist bekannt. Verunreinigungen aus der physiologischen Darmflora sind möglich und wahrscheinlich. Ob dabei durch den Patienten selbst oder mit Hilfe des Personals eine Verbreitung begünstigt wird, bleibt unklar. Somit ist die Tatsache einer Besiedlung mit zwei *E.coli* Stämmen unterschiedlicher Sensibilität (Pat. V) sowie die Besiedlung mit zwei ESBL positiven Stämmen (Pat. VII und IX) nicht verwunderlich, vielmehr eindrucklich.

Jedoch wirft sich vor diesem Hintergrund die Frage nach der Dynamik des Austausches von Plasmiden auf. Der Fall von Patient IX bei dem ähnliche Erreger unterschiedliche Sensibilitäten aufweisen, steht hierfür exemplarisch.

Dass keine der in dieser Studie detektierten *E.coli* Bakterien eine enge Verwandtschaft zu diesen Keimen zeigt, schließt die Möglichkeit der Verbreitung über das Personal nicht aus, da sicher nicht sämtliche *E.coli* Bakterien detektiert wurden.

Als unwahrscheinlich ist anzusehen, dass das Personal selbst ein Reservoir dargestellt hat (41).

Die unbestrittene Tatsache, dass das Personal einen wichtigen Transmissionsweg und horizontalen Vektor für die Verbreitung von Keimen darstellt (16 - 19)(46) (41), konnte damit nicht explizit erbracht werden.

Die Ergebnisse dieser Arbeit finden ihre Grenzen in der Anzahl der zu Grunde liegenden Abklatschuntersuchungen und der daraus resultierenden Schärfe. Aus diesem Grund kann diese Arbeit nur eine Tendenz wiedergeben, die als Grundlage für zukünftige Beobachtungen mit höheren Fallzahlen notwendig wäre.

## 4.5 Ausblick

Die epidemiologische Entwicklung von ESBL produzierenden Erregern findet Parallelen in der Ausbreitung anderer multiresistenter Erreger wie MRSA (42). Das Bild von auf medizinische Einrichtungen konzentriertem Vorkommen resistenter Keime ist Makulatur. MRSA haben sich mit community-acquired Stämmen bereits massiv ausgebreitet und außerhalb der medizinischen Einrichtungen etabliert. In dieser Entwicklungsstufe sind ESBL produzierende Erreger gerade zu sehen. Die Prävalenz resistenter Keime hat in den vergangenen Jahren stark zugenommen. Mit einer weiteren Zunahme ist zu rechnen. In gewissem Maß kann der Blick in die Vergangenheit die zukünftige Entwicklung andeuten.

Im Fall von ESBL produzierenden Erregern sind die Zahlen beeindruckend und der Blick in die Zukunft herausfordernd:

Eine eindeutigere und schnellere Diagnostik ist wegweisend in der Eindämmung der Ausbreitung. Eine aktive Surveillance ist notwendig und in Ulm bereits umgesetzt. So werden in Ulm alle Fälle ESBL positiver Patienten in ein Verwaltungssystem (SAP) eingespeist und sind so jederzeit einsehbar. Darüber hinaus erhalten alle Neudiagnostizierten eine von Hygienefachkräften durchgeführte Belehrung zum Hygieneverhalten.

Phänotypische Screeninguntersuchungen aller Patienten mit Risikofaktoren sind postulierend zu diskutieren. In der Praxis wird das Screening bisher durch nur sehr wenige handelsübliche Kombinationsagares erschwert. Ob neu entwickelte Chromagares das Screening nachhaltig vereinfachen, bleibt abzuwarten (57). Auf der genotypischen Verfahrensseite wird mit der Einführung der Chip-Technologie (Mikroarrays) mit capture-probes ein Zeitgewinn möglich. Zunehmend gewinnt auch die Verwendung von Real-time-PCR Verfahren, als schnellste Methode, Anwendung in der Erfassung der Resistenzgene.

Die momentane Therapie der Wahl mit Carbapenemen zeigt erste Resistenzen. Mit einer Zunahme der Unempfindlichkeit ist zu rechnen. Die Therapie mit

Aminoglykosiden, Tigecyclin und Colisitin erscheint aufgrund des Nebenwirkungsprofils teilweise problematisch.

Unter dem Druck zunehmend eingeschränkter Therapiemöglichkeiten werden und müssen Hygienemaßnahmen an Bedeutung gewinnen. Vor dem Hintergrund ansteigender Zahlen resistenter Keime müssen umfassende Hygienemaßnahmen in medizinischen Einrichtungen fundamentalen Stellenwert erlangen. Das Personal muss mit Schulungen und Fortbildungen die Brisanz der Situation nachvollziehen können. Eine Absicherung des sog. hygienisch beherrschbaren Bereichs mit Rechtsmitteln zeichnet sich ab (66). Eine Verschärfung der aktuellen Maßnahmen scheint in diesem Sinn mittelfristig unausweichlich.

Durch das Zusammenspiel aller drei Faktoren, nämlich sinnvollem Antibiotika Management, konsequenten Hygienemaßnahmen und Personalschulungen werden Synergien geschaffen, die das exponentielle Ausbreiten antibiotikaresistenter Erreger zumindest verlangsamen. So sind bei nosokomialen Infektionen durch einfache Maßnahmen ein Drittel bis ein Viertel aller Krankenhausinfektionen vermeidbar.

## 5. Zusammenfassung

Das vermehrte Auftreten antimikrobieller Resistenzen insbesondere bei Bakterien im gramnegativen Bereich mit erweitertem Substratspektrum der  $\beta$ -Laktamasen, kurz ESBL stellt heutzutage eine zunehmende Herausforderung im klinischen Alltag dar. Die antibiotischen Therapiemöglichkeiten bei ESBL positiven Patienten sind sehr eingeschränkt. Konsekutiv verzögert sich die Einleitung einer suffizienten Therapie und führt auf diese Weise zu einer bis zu 3,9fach erhöhten Mortalität. Bedingt durch verlängerte Liegezeiten und aufwändigeren Umgang mit dieser Patientengruppe entstehen darüber hinaus erhebliche Mehrkosten für Krankenträger und die Gesellschaft.

Vor diesem Hintergrund richtet sich der Blick auf präventive, insbesondere hygienische Maßnahmen zur Eindämmung der Ausbreitung dieser Erreger.

Die vorliegende Arbeit untersuchte mit Hilfe von 101 Umgebungsuntersuchungen an 36 ESBL (Extended spectrum beta – lactamase) besiedelten Patienten des Universitätsklinikums Ulm, inwiefern die Umgebung dieser Patienten mit gramnegativen Erregern kontaminiert wird. Hier konnte mittels Abklatschuntersuchungen an 1049 Entnahmeorten der Patientenumgebung gezeigt werden, dass – im Gegensatz zu MRSA (Methicillin resistenten Staphylococci aurei), bei denen oft das gesamte Zimmer kontaminiert ist – in Fällen von ESBL primär und ausschließlich Orte der unmittelbaren Umgebung des Patienten kontaminiert waren.

Die Frage nach der Kontaminationsgefahr für das Personal wurde mittels Abklatschuntersuchungen an 181 Personen des klinischen Personals näher beleuchtet. Hier fand sich, dass Tätigkeiten, die einen engen Patientenkontakt respektive Kontakt mit Körpersekreten erfordern, so das Waschen der Patienten, der Verbandwechsel, das Messen der Vitalfunktionen, das Bettmachen und die Physiotherapie am ehesten für eine Kontamination prädisponieren. In der Konsequenz sind die Berufsgruppen verstärkt gefährdet, deren Arbeit eine große Nähe zum ESBL besiedelten Patienten erforderlich macht. Ärzte und Schwestern

zeigten in dieser Arbeit die häufigsten Kontaminationen mit ESBL positiven Erregern.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden alle achtzehn in der Umgebung und am Personal gefundenen Enterobakterien mit identischer Spezies zum Erstisolat molekulargenetisch typisiert. In zwölf Fällen konnte der Nachweis identischer Erreger zum Erstisolat und damit der Beleg für zwölf bakterielle Transmissionen erbracht werden. Alle Fälle von bakterieller Transmission wurden während des Verbandswechsels, beim Waschen, Messen der Vitalfunktionen und in Ruhe beobachtet.

Die vorliegende Arbeit hebt damit die Bedeutung des Personalschutzes bei direktem Patientenkontakt hervor. So muss dem behandelnden Personal empfohlen werden, insbesondere bei direktem Patientenkontakt, aber auch bei der Arbeit in der unmittelbaren Umgebung des Patienten Handschuhe und Kittel zu tragen. Das Benutzen eines Mundschutzes kann bei der Gefahr der Aerosolbildung schützend sein.

## 6. Literaturverzeichnis

- (1) Ahmad M, Urban C, Mariano N, Bradford PA, Calcagni E, Projan SJ, Bush K, Rahal JJ. Clinical characteristics and molecular epidemiology associated with imipenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Clin Infect Dis* 29, 352 – 355, 1999.
- (2) Akyol AD. Hand hygiene among nurses in Turkey: opinions and practices. *J Clin Nurs* 16, 431 - 437, 2007.
- (3) Albrich WC, Harbarth S. Health-care workers: source, vector, or victim of MRSA? *Lancet Infect Dis* 8, 289 - 301, 2008.
- (4) Amato-Gauci A, Ammon A. The First European Communicable Disease Epidemiological Report 2007. European Centre for Disease Prevention and Control, [http://ecdc.europa.eu/pdf/Epi\\_report\\_2007.pdf](http://ecdc.europa.eu/pdf/Epi_report_2007.pdf), Downloaddatum 11.06.2008.
- (5) Ambler RP. The structure of beta-Lactamases. *Philos Trans R Soc. London Series B Biol Sci* 289, 321 - 331, 1980.
- (6) Asensio A, Oliver A, Gonzalez-Diego P, Baquero F, Claudio J, Perez-Diaz S, Purificacion Ros, Javier Cobo, Margarita Palacios, Dolores Lasheras, Rafael Canton. Outbreak of a Multiresistant *Klebsiella pneumoniae* Strain in an Intensive Care Unit: Antibiotic Use as Risk Factor for Colonization and Infection. *Clin Infect Dis* 30, 55 - 60, 2000.
- (7) Bisson G, Fishman N, Patel JB, Edelstein PH, Lautenbach E. Extended - Spectrum beta - Lactamase – Producing *Escherichia Coli* and *Klebsiella* Species: Risk Factors for Colonization and Impact of Antimicrobial Formulary Interventions on Colonization Prevalence. *Infect Control Hosp Epidemiol* 23, 254 - 260, 2002.
- (8) Burgess DS, Hall RG, Lewis JS, Jorgensen JH, Patterson JE. Clinical and microbiologic analysis of a hospital's extended-spectrum beta-lactamase-producing isolates over a 2-year period. *Pharmacotherapy* 23, 1232 - 1237, 2003.

- (9) Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for  $\beta$ -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 39, 1211 – 1233, 1995.
- (10) Casewell M, Phillips I. Hands as route of transmission for *Klebsiella* species. *Br Med J* 2, 1315 - 1317, 1977.
- (11) Centers for Disease Control and Prevention (CDC). [http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/ar\\_lab\\_esbl.html](http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/ar_lab_esbl.html), Ansichtsdatum 29.05.2008.
- (12) Chambers HF. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*? *Emerg Infect Dis* 7, 178 - 182, 2001.
- (13) Cheol-In K, Sung-Han K, Wan BP, Lee K, Hong BK, Kim EC, Oh MD, Choe KW. Bloodstream Infections Due to Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: Risk Factors for Mortality and Treatment Outcome, with Special Emphasis on Antimicrobial Therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 48, 4574 - 4581, 2004
- (14) Chow JW, Fine MJ, Shlaes DM, Quinn JP, Hooper DC, Johnson MP, Ramphal R, Wagener MM, Miyashiro DK, Yu VL. *Enterobacter* bacteremia: clinical features and emergence of antibiotic resistance during therapy. *Ann Intern Med* 115, 585 - 590, 1991.
- (15) Colodner R, Rock W, Chazan B, Keller N, Guy N, Sakran W, Raz R. Risk factors for the development of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in nonhospitalized patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 23, 163 - 167, 2004.
- (16) Conterno LO, Shymanski J, Ramotar K, Tuye B, Zvonar R, Roth V. Impact and cost of infection control measures to reduce nosocomial transmission of extended spectrum beta-lactamase-producing organisms in a non-outbreak setting. *J Hosp Infect* 65, 354 - 360, 2007.
- (17) Cordery RJ, Roberts CH, Cooper SJ, Bellinghan G, Shetty N. Evaluation of risk factors for the acquisition of bloodstream infections with extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species in

- the intensive care unit; antibiotic management and clinical outcome. *J Hosp Infect* 68, 108 - 115, 2008.
- (18) Cosgrove SE, Kaye KS, Eliopoulous GM, Carmeli Y. Health and economic outcomes of the emergence of third-generation cephalosporin resistance in *Enterobacter* species. *Arch Intern Med* 162, 185 - 190, 2002.
- (19) Decré D, Gachot B, Lucet JC, Arlet G, Bergogne-Bérézin E, Rénier B. Clinical and bacteriologic epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing strains of *Klebsiella pneumoniae* in a medical intensive care unit. *Clin Infect Dis* 27, 834 - 844, 1998.
- (20) Endimiani A, Luzzaro F, Perilli M, Lombardi G, Coli A, Tamborini A, Amicosante G, Toniolo A. Bacteremia Due to *Klebsiella pneumoniae* Isolates Producing the TEM-52 Extended-Spectrum beta-Lactamase: Treatment Outcome of Patients Receiving Imipenem or Ciprofloxacin. *Clin Infect Dis* 38, 243 - 251, 2004.
- (21) European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS). Annual Report 2001, [http://www.rivm.nl/earss/result/Monitoring\\_reports](http://www.rivm.nl/earss/result/Monitoring_reports), Downloaddatum 30.05.2008.
- (22) European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS). Annual Report 2006, [http://www.rivm.nl/earss/result/Monitoring\\_reports](http://www.rivm.nl/earss/result/Monitoring_reports), Downloaddatum 30.05.2008.
- (23) Fryklund B, Tullus K, Burman LG. Relation between nursing procedures, other local characteristics and transmission of enteric bacteria in neonatal wards. *J Hosp Infect* 23, 199 - 210, 1993.
- (24) Fryklund B, Tullus K, Burman LG. Survival on skin and surfaces of epidemic and nonepidemic strains of enterobacteria from neonatal special care units. *J Hosp Infect* 29, 201 - 208, 1995.
- (25) Geffers C, Gastmeier P, Rüden H. Nosokomiale Infektionen. RKI Gesundheitsberichterstattung des Bundes 8, 2002.
- (26) German Network for Antimicrobial Resistance Surveillance (GENARS). <http://www.genars.de/data.htm>, Ansichtsdatum 01.06.2008.

- (27) GIT VERLAG GmbH & Co KG, Management & Krankenhaus 8, Seite 15, 2007.
- (28) Glupczynski Y, Berhin C, Bauraing C, Bogaerts P. Evaluation of a new selective chromogenic agar medium for detection of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol* 45, 501 - 505, 2006.
- (29) Gunale A, von Baum H, Wendt C. Survival of cephalosporin-resistant enterobacteriaceae on fingers. *Infect Control Hosp Epidemiol* 27, 974 - 977, 2006.
- (30) Harris AD, Kotetishvili M, Shurland S, Johnson JA, Morris JG, Nemoy LL, Johnson JK. How important is patient-to-patient transmission in extended-spectrum-beta-lactamase *Escherichia coli* acquisition. *Am J Infect Control* 35, 97 - 101, 2007.
- (31) Howard DH, Scott RD, Packard R, Jones D. The global impact of drug resistance. *Clin Infect Dis* 36, 4 - 10, 2003.
- (32) Howard DH, Scott RD. The economic burden of drug resistance. *Clin Infect Dis* 41, 283 - 286, 2005.
- (33) Jacoby GA, Munoz-Price LS. The new  $\beta$ -Lactamases. *N Engl J Med* 352, 380 - 391, 2005.
- (34) Kenneth TS, Moland ES. Gram-negative bacteria at the dawn of the new millennium. *Microbes Infect* 2, 1225 - 1235, 2000.
- (35) Klevens RM, Edwards JR, Richards CL, Horan TC, Gaynes RP, Pollock DA, Cardo DM. Estimating Health Care-Associated Infections and Deaths in U.S. Hospitals 2002. *Public Health Reports* 122, 160 - 166, 2007.
- (36) Knittle MA, Eitzman DV, Baer H. Role of hand contamination of personnel in the epidemiology of gram-negative nosocomial infections. *J Pediatr* 86, 433 - 437, 1975.
- (37) Knothe H, Shah P, Kremery V. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection* 11, 315 - 317, 1983.

- (38) Kramer A, Schwebke I, Kampf G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. *BMC Infect Dis* 6, 130, 2006.
- (39) Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System (KISS). <http://www.nrz-hygiene.de/surveillance/mreits.htm>, Ansichtsdatum 29.05.2008.
- (40) Laurent C, Rodriguez-Villalobos H, Rost F, Strale H, Vincent JL, Deplano A, Struelens MJ, Byl B. Intensive Care Unit Outbreak of Extended-Spectrum beta-Lactamase-Producing *Klebsiella Pneumoniae* Controlled by Cohorting Patients and Reinforcing Infection Control Measures. *Infect Control Hosp Epidemiol* 29, 517 - 524, 2008.
- (41) Lautenbach E, Strom BL, Bilker WB, Patel JB, Edelstein PH, Fishman NO. Epidemiological Investigation of Fluoroquinolone Resistance in Infections Due to Extended-Spectrum b-Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *K. pneumoniae*. *Clin Infect Dis* 33, 1288 - 94, 2001.
- (42) Lautenbach E, Fishman NO, Metlay JP, Mao X, Bilker WB, Tolomeo P, Nachamkin I. Phenotypic and Genotypic Characterization of Fecal *Escherichia coli* Isolates with Decreased Susceptibility to Fluoroquinolones: Results from a Large Hospital-Based Surveillance Initiative. *J Infect Dis* 194, 79 - 85, 2006.
- (43) Layton MC, Perez M, Heald P, Patterson JE. An outbreak of mupirocin-resistant *Staphylococcus aureus* on a dermatology ward associated with an environmental reservoir. *Infect Control Hosp Epidemiol* 14, 369 - 75. 1993.
- (44) Lee J, Pai H, Kim YK, Kim NH, Eun BW, Kang HJ, Park KH, Choi EH, Shin HY, Kim EC, Lee HJ, Ahn HS. Control of extended-spectrum b-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in a children's hospital by changing antimicrobial agent usage policy. *J Antimicrob Chemother* 60, 629 - 637, 2007.
- (45) Lietzau S, Rauma E, von Baum H, Marre R, Brennera H. Household contacts were key factor for children's colonization with resistant *Escherichia coli* in community setting. *J Clin Epidemiol* 60, 1149 - 1155, 2007.
- (46) Lucet JC, Chevret S, Decré D, Vanjak D, Macrez A, Bédos JP, Wolff M, Regnier B. Outbreak of multiply resistant enterobacteriaceae in an intensive

- care unit: epidemiology and risk factors for acquisition. *Clin Infect Dis* 22, 430 - 436, 1996.
- (47) Man P, Verhoeven BA, Verbrugh HA, Vos MC, van den Anker JN. An antibiotic policy to prevent emergence of resistant bacilli. *Lancet* 355, 973 - 978, 2000.
- (48) McBride ME, Duncan WC, Knox JM. Physiological and environmental control of Gram negative bacteria on skin. *Br J Dermatol* 93, 191 - 199, 1975.
- (49) Melzer M, Petersen I. Mortality following bacteraemic infection caused by extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *E. coli* compared to non-ESBL producing *E. coli*. *J Infect* 55, 254 - 259, 2007.
- (50) Panhotra BR, Bhardwaj G, Naqash HU, Desai B. Isolation and survival of gentamicin resistant *Enterobacter aerogenes* on finger tips of hospital personnel. *Zentralbl Hyg Umweltmed* 188, 331 - 315, 1989.
- (51) Paterson DL, Ko WC, von Gottberg A, Mohapatra S, Casellas JM, Goossens H, Mulazimoglu L, Trenholme G, Klugman KP, Bonomo RA, Rice LB, Wagener MM, McCormack JG, Yu VL. Antibiotic Therapy for *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia: Implications of Production of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases. *Clin Infect Dis* 39, 31- 37, 2003.
- (52) Peña C, Pujol M, Ardanuy C, Ricart A, Pallares R, Linares J, Ariza J, Gudiol F. Epidemiology and Successful Control of a Large Outbreak Due to *Klebsiella pneumoniae* Producing Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1, 53 - 58, 1998.
- (53) Peña C, Gudiol C, Tubau F, Saballs M, Pujol M, Dominguez MA, Calatayud L, Ariza J, Gudiol F. Risk-factors for acquisition of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* among hospitalised patients. *Clin Microbiol Infect* 12, 279 - 284, 2006.
- (54) Peña C, Gudiol C, Calatayud L, Tubau F, Dominguez MA, Pujol M, Ariza J, Gudiol F. Infections due to *Escherichia coli* producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamase among hospitalised patients: factors influencing mortality. *J Hosp Infect* 68, 116 - 122, 2008.

- (55) Peters SM, Bryan J, Cole MF. Enterobacterial repetitive intergenic consensus polymerase chain reaction typing of isolates of *Enterobacter cloacae* from an outbreak of infection in a neonatal intensive care unit. *Am J Infect Control* 28, 123 - 129, 2000.
- (56) Pittet D, Dharan S, Touveneau S, Sauvan V, Perneger TV. Bacterial Contamination of the Hands of Hospital Staff During Routine Patient Care. *Arch Intern Med* 159, 821 - 826, 1999.
- (57) Safdar N, Maki DG. The commonality of risk factors for nosocomial colonization and infection with antimicrobial-resistant *Staphylococcus aureus*, enterococcus, gram-negative bacilli, *Clostridium difficile*, and *Candida*. *Ann Intern Med* 136, 834 - 844, 2002.
- (58) Schwaber MJ, Navon-Venezia S, Kaye KS, Ben-Ami R, Schwartz D, Carmeli Y. Clinical and Economic Impact of Bacteremia with Extended – Spectrum – beta – Lactamase - Producing Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother* 50, 1257 - 1262, 2006.
- (59) Schwaber MJ, Carmeli Y. Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother* 60, 913 - 920, 2007.
- (60) Scott E, Bloomfield SF. The survival and transfer of microbial contamination via cloths, hands and utensils. *J Appl Bacteriol* 68, 271 - 27, 1990.
- (61) Surveillance der Antibiotika-Anwendung und der bakteriellen Resistenzen auf Intensivstationen (SARI). <http://sari.ipse-freiburg.de>, Ansichtsdatum 05.06.2008.
- (62) Talbot GH, Bradley J, Edwards JE. Bad bugs need drugs: an update on the development pipeline from the Antimicrobial Availability Task Force of the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 42, 657 - 768, 2006.
- (63) Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, Swaminathan B. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol* 33, 2233 - 2239, 1995.

- (64) Thomson KS, Smith Moland E. Cefepime, Piperacillin-Tazobactam, and the Inoculum Effect in Tests with Extended-Spectrum-beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother* 45, 3548 - 3554, 2001.
- (65) Tresoldi AT, Padoveze MC, Trabasso P, Veiga JF, Marba ST, von Nowakowski A, Branchini ML. Enterobacter cloacae sepsis outbreak in a newborn unit caused by contaminated total parenteral nutrition solution. *Am Infect Control* 28, 258 - 261, 2000.
- (66) Tumbarello M, Sanguinetti M, Montuori E, Treccarichi EM, Posteraro B, Fiori B, Citton R, D'Inzeo T, Fadda G, Cauda R, Spanu T. Predictors of Mortality in Patients with Bloodstream Infections Caused by Extended-Spectrum-beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae: Importance of Inadequate Initial Antimicrobial Treatment. *Antimicrob Agents Chemother* 51, 1987 - 1994, 2007.
- (67) Reish O, Ashkenazi S, Naor N, Samra Z, Merlob P. An outbreak of multiresistant Klebsiella in a neonatal intensive care unit. *J Hosp Infect* 25, 287 - 91, 1993.
- (68) RKI, *Epidemiologisches Bulletin* 8, 63 - 64, 2002.
- (69) RKI, Anforderungen an die Hygiene bei der Reinigung und Desinfektion von Flächen. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz* 47, 51 - 61, 2004.
- (70) RKI, *Epidemiologisches Bulletin* 44, 405 - 409, 2007.
- (71) RKI, *Epidemiologisches Bulletin* 28, 248 - 249, 2007.
- (72) RKI, *Epidemiologisches Bulletin* 14, 110 - 113, 2008.
- (73) van den Berg RW, Claahsen HL, Niessen M, Muytjens HL, Liem K, Voss A. Enterobacter cloacae outbreak in the NICU related to disinfected thermometers. *J Hosp Infect* 45, 29 - 34, 2000.
- (74) Wang J, Soisson SM, Young K, Shoop W, Kodali S, Galgoci A, Painter R, Parthasarathy G, Tang YS, Cummings R, Ha S, Dorso K, Motyl M, Jayasuriya H, Ondeyka J, Herath K, Zhang C, Hernandez L, Allocco J, Basilio A, Tormo JR, Genilloud O, Vicente F, Pelaez F, Colwell L, Lee SH, Michael B, Felcetto T, Gill C, Silver LL, Hermes JD, Bartizal K, Barrett J, Schmatz D, Becker JW, Cully D,

- Singh SB. Platensimycin is a selective FabF inhibitor with potent antibiotic properties. *Nature* 18, 358 - 361, 2006.
- (75) Wendt C, Knautz D, von Baum H. Differences in hand hygiene behavior related to the contamination risk of healthcare activities in different groups of healthcare workers. *Infect Control Hosp Epidemiol* 25, 203 - 206, 2004.
- (76) Wendt C, Lin D, von Baum H. Risk Factors for Colonization with Third-Generation Cephalosporin-Resistant Enterobacteriaceae. *Infection* 33, 327 - 332, 2005.
- (77) Witte W, Mielke M.  $\beta$ -Laktamasen mit breitem Wirkungsspektrum, *Bundesgesundheitsblatt – Gesundheitsforschung – Gesundheitsschutz* 10, 881 - 890, 2003.
- (78) Wong-Beringer A, Hindler J, Loeloff M, Queenan AM, Lee N, Pegues DA, Quinn JP, Bush K. Molecular Correlation for the Treatment Outcomes in Bloodstream Infections Caused by *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* with Reduced Susceptibility to Ceftazidime. *Clin Infect Dis* 34, 135 - 146, 2002.
- (79) Yumuk Z, Afacan G, Sotto A, Lavigne JP. Turkey: a further country concerned by community-acquired *Escherichia coli* clone O25-ST131 producing CTX-M-15. *J Antimicrob Chemother* 62, 284 - 288, 2008.

## Danksagungen

Frau Prof. Dr. Heike von Baum möchte ich an dieser Stelle nicht nur für die Idee zu dieser Arbeit, sondern ganz besonders für die kontinuierliche und professionelle Betreuung herzlich danken.

Frau Angelika Möricke danke ich für ihre Hilfe in allen labortechnischen Angelegenheiten. Durch ihre hohe Kompetenz hat sie Anteil am Gelingen dieser Arbeit.

Zusammenfassend möchte ich mich bei der gesamten Abteilung Mikrobiologie und Hygiene am Standort Safranberg für die angenehme und motivierende Atmosphäre während der vergangenen zwei Jahre bedanken.

Ein besonderer Dank gebührt meiner Familie. Insbesondere meinen Eltern und Brüdern danke ich für die großzügige finanzielle und immer währende moralische Unterstützung meines Werdegangs. Ihnen soll diese Arbeit in größter Dankbarkeit gewidmet sein.