

Auswirkungen von Metallo- $\beta$ -Laktamase-Produktion und  
Multiresistenz auf die Mortalität  
und die Länge des stationären Krankenhausaufenthaltes  
bei Patienten mit *Pseudomonas aeruginosa*-Bakteriämie:  
Eine retrospektive Kohortenstudie

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard Karls Universität  
zu Tübingen

vorgelegt von

Kuebart, Ines

2015

Dekan:

Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter:

Professor Dr. I. B. Autenrieth

2. Berichterstatter:

Professor Dr. L. Kanz

Ich widme diese Dissertation meiner Familie,  
die mir immerzu den Rücken stärkt.

# **INHALTSVERZEICHNIS**

<b>INHALTSVERZEICHNIS.....</b>	<b>I</b>
<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....</b>	<b>III</b>
<b>1 Einleitung.....</b>	<b>1</b>
1.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	1
1.2 Resistenzmechanismen – Metallo- $\beta$ -Laktamasen (MBLs) .....	2
1.3 Multiresistente Pseudomonaden und Mortalität.....	3
1.4 Zielsetzung dieser Arbeit.....	4
<b>2 Patienten und Methoden.....</b>	<b>6</b>
2.1 Studienaufbau und erhobene Daten.....	6
2.2 Studienrahmen .....	10
2.3 Mikrobiologische Diagnostik .....	11
2.3.1 Speziesidentifizierung und Resistenztestung.....	11
2.3.2 Polymerase-Kettenreaktion (PCR).....	13
2.3.3 Multilocus-Sequenz-Typisierung (MLST) .....	13
2.4 Statistische Datenanalyse .....	14
2.4.1 Analyse kontinuierlicher Variablen .....	14
2.4.2 Cox-Regression .....	15
<b>3 Ergebnisse.....</b>	<b>17</b>
3.1 Patienten .....	17
3.2 Nachweis von MBL-Genen und Resistenztestung .....	17
3.3 Charakteristika der Studienpopulation.....	18
3.4 Ergebnisse der univariaten und multivariaten Analysen.....	24
3.5 Ergebnisse der Multilocus-Sequenz-Typisierung .....	29

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>4 Diskussion</b> .....	<b>30</b>
4.1 Diskussion der Ergebnisse .....	30
4.1.1 Allgemeiner Teil .....	30
4.1.2 Multiresistente <i>Pseudomonas aeruginosa</i> und Mortalität.....	31
4.1.3 Multiresistente <i>Pseudomonas aeruginosa</i> und Länge des stationären Krankenhausaufenthaltes .....	34
4.1.4 Einflussgrößen der Mortalität .....	34
4.1.5 Infektionskontrolle .....	38
4.2 Diskussion des Studienaufbaus .....	40
4.3 Schlussfolgerung .....	41
<b>5 Zusammenfassung</b> .....	<b>42</b>
<b>6 Literaturverzeichnis</b> .....	<b>44</b>
<b>7 Veröffentlichungen</b> .....	<b>52</b>
<b>Erklärung zum Eigenanteil</b> .....	<b>53</b>
<b>Danksagung</b> .....	<b>54</b>

## **ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

3/4MRGN	Multiresistente gramnegative Stäbchenbakterien mit Resistenz gegen 3 beziehungsweise 4 definierte Antibiotikagruppen
95 % KI	95 %-Konfidenzintervall
°C	Grad Celsius
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
APACHE	Acute Physiology And Chronic Health Evaluation
BGU	Berufsgenossenschaftliche Unfallklinik
bzw.	beziehungsweise
CAZ	Ceftazidim
CIP	Ciprofloxacin
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
DNS	Desoxyribonukleinsäure
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control
EDTA	Ethylene Diamine Tetraacetic Acid
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FiO <sub>2</sub>	inspiratorischer Sauerstoffanteil
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HR	Hazardrate
IMP	Metallo-β-Laktamase vom Imipenemase-Typ
KRINKO	Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention
MALDI-TOF	Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight
MBL	Metallo-β-Laktamase
MBL-PA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> mit einem Metallo-β-Laktamase-Gen
mEq/l	Milliäquivalent pro Liter
MER	Meropenem

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

mg	Milligramm
mg/dl	Milligramm pro Deziliter
MLST	Multilocus-Sequenz-Typisierung
mm	Millimeter
mm <sup>3</sup>	Kubikmillimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mmol/l	Millimol pro Liter
NDM	Metallo- $\beta$ -Laktamase vom New Delhi-Typ
Non-MBL-PA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ohne ein Metallo- $\beta$ -Laktamase-Gen
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PaO <sub>2</sub>	arterieller Sauerstoffpartialdruck
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PTZ	Piperacillin-Tazobactam
SAPS	Simplified Acute Physiology Score
STROBE	Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology
TTSS	Typ III Sekretionssystem
UKT	Universitätsklinikum Tübingen
USA	United States of America
vgl.	vergleiche
VIM	Metallo- $\beta$ -Laktamase vom Verona Imipenemase-Typ

# **1 Einleitung**

## **1.1 *Pseudomonas aeruginosa***

*Pseudomonas aeruginosa* ist ein gramnegatives, primär aerob wachsendes Stäbchenbakterium der Familie Pseudomonadaceae. Unter Zugabe von Nitrat kann dieser Nonfermenter auch unter anaeroben Bedingungen wachsen. Der Keim ist Oxidase positiv und fällt beim Wachstum in Reinkultur durch seine Pigmentproduktion auf, wobei diese Pigmente bei verschiedenen Stämmen unterschiedlich anfärben. Typisch ist das blaue Pyocyanin. Bemerkenswert ist zudem der charakteristische Geruch vieler Stämme, der als „traubenartig“ beschrieben wird. (Pier und Ramphal 2009)

Das Bakterium kommt ubiquitär vor, was dadurch zu erklären ist, dass es sehr geringe Ansprüche an seine Umwelt stellt und sich somit auch beispielsweise in destilliertem Wasser vermehren kann (Pier und Ramphal 2009). In Krankenhäusern kann es zum Beispiel aus Desinfektionsmitteln, Flüssigseifen, Waschbecken, Blumenvasen oder Beatmungsgeräten isoliert werden (Gould und Wise 1985). Zudem kann das Bakterium auch über den direkten Kontakt mit kolonisierten Patienten oder indirekt über medizinisches Personal übertragen werden (Gould und Wise 1985).

Als Risikofaktoren für die Infektion mit *P. aeruginosa* konnten Immunsuppression, hohes Alter, vorangegangene Antibiotika-Therapie und lange Krankenhausaufenthalte nachgewiesen werden (Schechner et al. 2009; Gould und Wise 1985). Aufgrund seiner Fähigkeit zur Biofilmbildung kann man *P. aeruginosa* auch häufig von zentralvenösen oder transurethralen Kathetern isolieren (Schechner et al. 2009; Pier und Ramphal 2009).

Im klinischen Alltag spielt *P. aeruginosa* vor allem als Erreger nosokomialer Infektionen eine Rolle, wobei er bei 6,8 % bis 10 % dieser Erkrankungen diagnostiziert wird (ECDC 2013; Sievert et al. 2013; Ott et al. 2013). In Europa steht der Keim somit laut einer Punktprävalenzstudie des European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC 2013) an vierter Stelle der bei nosokomialen Infektionen isolierten Bakterien.

*P. aeruginosa* kann viele verschiedene nosokomiale Infektionen verursachen. So wurde er beispielsweise bei Pneumonien, Harnwegsinfekten, Bakteriämien und Wundinfektionen nach chirurgischen Eingriffen und Brandverletzungen als Erreger identifiziert (Gaynes und Edwards 2005; Gould und Wise 1985).

### **1.2 Resistenzmechanismen – Metallo- $\beta$ -Laktamasen (MBLs)**

*P. aeruginosa* weist bereits durch die geringe Permeabilität seiner äußeren Membran und verschiedene Efflux-Systeme eine breite intrinsische Resistenz gegenüber vielen Antibiotika auf (Hancock 1998; Livermore 2002; Castanheira et al. 2014).

Von besonderem Interesse im Rahmen dieser Studie sind die Metallo- $\beta$ -Laktamasen (MBLs): Diese Enzyme gehören zu der Gruppe der  $\beta$ -Laktamasen und zeichnen sich durch Resistenzbildung gegenüber allen  $\beta$ -Laktam-Antibiotika mit Ausnahme von Aztreonam aus (Cornaglia et al. 2011).

Gegenüber den Serin- $\beta$ -Laktamasen, einer weiteren in Bakterien nachgewiesenen  $\beta$ -Laktamase-Familie, unterscheiden sich die MBLs dadurch, dass sie durch Metall-Chelatoren wie EDTA inhibiert werden können. Neben dieser Eigenschaft verfügen Metallo- $\beta$ -Laktamasen noch über weitere Charakteristika: MBLs besitzen eine starke Carbapenemase-Aktivität, sind nicht hemmbar durch klinisch eingesetzte  $\beta$ -Laktamase-Inhibitoren wie beispielsweise Clavulansäure und Tazobactam und sind wirkungslos gegenüber Monobactamen. (Cornaglia et al. 2011; Bush 2001)

Strukturell eingeordnet werden die Metallo- $\beta$ -Laktamasen in die Ambler-Klasse B der  $\beta$ -Laktamasen (Ambler 1980) und funktionell in die Bush-Jacoby-Gruppe 3a (Bush und Jacoby 2010).

Zu den MBLs gehört eine breite Vielfalt an unterschiedlichen Enzymen, deren Gene sich sowohl auf bakteriellen Chromosomen als auch auf mobilen Genkassetten in Integrons befinden können (Walsh et al. 2005). Letztere ermöglichen dabei eine Verbreitung der Gene unter den Bakterien über Plasmide (Bennett 1999).

In *P. aeruginosa* wurden bisher in erster Linie durch horizontalen Gentransfer erworbene MBLs nachgewiesen. Beispielhaft zu erwähnen sind hier die Metallo- $\beta$ -Laktamasen vom IMP-, VIM- und NDM-Typ, die weiter in zahlreiche Subty-

## 1 Einleitung

pen unterteilt werden. Die verschiedenen Typen von MBLs unterscheiden sich unter anderem in ihrer Aktivität gegenüber den  $\beta$ -Laktamen, genauer in ihrer Fähigkeit, die Antibiotika zu binden und zu hydrolysieren. So weist beispielsweise der VIM-Typ ein im Vergleich zu den anderen MBLs sehr breites Aktivitätsspektrum auf, da er zum einen eine besonders hohe Affinität gegenüber Carbapenemen zeigt. Zum anderen ist er im Gegensatz zum IMP-Typ imstande, 6- $\alpha$ -Methoxyphenicilline zu hydrolysieren. (Cornaglia et al. 2011; Walsh et al. 2005)

Mehrfach bestätigt wurde die Beobachtung, dass MBL-codierende *P. aeruginosa* (MBL-PA) gleichzeitig weitere Resistenzmechanismen aufweisen können. Dies ist darauf zurückzuführen, dass Integrons mit MBL-Genkassetten für gewöhnlich auch andere Genkassetten tragen, die wiederum für zusätzliche Resistenzfaktoren gegenüber Antibiotika und Desinfektionsmitteln codieren (Riccio et al. 2001; Hirakata et al. 2003; Scoulica et al. 2004). So wurde bei MBL-PA-Stämmen eine höhere Rate an multiresistenten Phänotypen gefunden als bei *P. aeruginosa*-Stämmen, die kein Gen für eine MBL besaßen (Bij et al. 2011; Laupland et al. 2005; Hirakata et al. 2003). Dies wird vor dem Hintergrund der zunehmenden globalen Verbreitung und der steigenden Prävalenz der MBL-PA mit Sorge beobachtet (Cornaglia et al. 2011; Walsh et al. 2005; Castanheira et al. 2014), da bei solch multiresistenten Keimen oft nur noch wenige therapeutische Optionen bestehen wie beispielsweise die bisher wegen ihrer Nebenwirkungen seltener verordneten Polymyxine (Cornaglia et al. 2011; Livermore 2002).

### **1.3 Multiresistente Pseudomonaden und Mortalität**

Neben der weltweit steigenden Inzidenz multiresistenter *P. aeruginosa* wird auch ein Anstieg an Infektionen mit diesen Phänotypen berichtet (Cornaglia et al. 2011; Croughs et al. 2013; Goel et al. 2011). Im Folgenden soll ein kurzer Überblick über die mit *P. aeruginosa*-Infektionen assoziierte Mortalität gegeben werden:

Die Mortalität bei *Pseudomonas aeruginosa*-Bakteriämien ist mit 21 % bis 37 % als hoch einzustufen (Horino et al. 2012; Tumbarello et al. 2011; Osih et al. 2007). Verschiedene Studien haben untersucht, ob ein multiresistenter Phäno-

## 1 Einleitung

typ bei Infektionen mit *P. aeruginosa* einen Einfluss auf die Mortalität hat. Tumbarello et al. (2011) fanden eine signifikant höhere Mortalität bei Patienten mit multiresistentem *Pseudomonas aeruginosa* im Blut. Aloush et al. (2006) und Hirsch et al. (2012) identifizierten eine Infektion mit multiresistentem *P. aeruginosa* ebenfalls als unabhängigen Risikofaktor für eine erhöhte Mortalität. Demgegenüber stehen jedoch Studien, die eine solche Assoziation nicht nachweisen konnten (Morata et al. 2012; Lodise et al. 2007). Die Ursache für diesen Widerspruch ist unklar.

Nur wenige Arbeiten haben die Beziehung zwischen MBL-PA und klinischen Endpunkten untersucht. Hirakata et al. (2003) und Laupland et al. (2005) beschrieben eine höhere Rate an Infektionen und Todesfällen bei Patienten, die mit einem MBL-PA besiedelt waren. In beiden Studien wurden jedoch keine multivariate Analysen zur Kontrolle von potenziellen Störfaktoren durchgeführt, weshalb die beobachteten Zusammenhänge hinterfragt werden müssen.

Auch Zavascki et al. (2006) berichteten von einer höheren Mortalität bei Patienten mit MBL-PA-Infektionen. Jedoch wurden in dieser Studie die verspätete Verschreibung von geeigneten Antibiotika und die Schwere der Infektion als Ursachen der beobachteten Assoziation angenommen.

Diesen Studien steht die Arbeit von Lucena et al. (2014) gegenüber, die keine erhöhte Mortalitätsrate nachweisen konnte. Sie konnten lediglich einen schnelleren Beginn und einen beschleunigten Verlauf der Infektion bis zum Tod beobachten.

### **1.4 Zielsetzung dieser Arbeit**

Wie in 1.3 aufgeführt, gibt es bisher nur wenige Studien, die sich mit den klinischen Charakteristika und der Assoziation von MBL-PA-Infektionen mit klinischen Endpunkten auseinandersetzen. Vor diesem Hintergrund wurde die vorliegende Studie konzipiert. Es handelt sich um eine retrospektive Kohortenstudie, die sich mit der Auswirkung von MBL-Produktion und multiresistenten Phänotypen auf die Mortalität und die Länge des stationären Krankenhausaufenthaltes bei Patienten mit *Pseudomonas aeruginosa*-Bakteriämie befasst. Hierbei ist von besonderem Interesse, ob sich bei Patienten mit MBL-PA bzw. mit multi-

## 1 Einleitung

resistenten *P. aeruginosa* ein schlechterer klinischer Verlauf und somit eine höhere Mortalitätsrate bzw. ein längerer stationärer Krankenhausaufenthalt zeigt. Vor diesem Hintergrund sollen die Parameter der MBL-Produktion und der Multiresistenz in Bezug auf ihre Bedeutung als Prognosemarker und somit als unabhängige Einflussfaktoren evaluiert werden.

Zudem spielen die Ergebnisse der Arbeit bei der Bewertung von bestehenden Richtlinien zur Infektionskontrolle eine Rolle. Konkret betrachtet werden soll die aktuelle Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) des Robert-Koch-Instituts (KRINKO 2012). Diese diskutiert die Anwendung verschiedener „Hygienemaßnahmen bei Infektionen oder Besiedlung mit multiresistenten gramnegativen Stäbchen“, im Einzelnen auch mit *P. aeruginosa*. Die KRINKO fordert darin im Hinblick auf die momentan unzureichende Studienlage Arbeiten wie die vorliegende, um bessere Empfehlungen zu Hygienemaßnahmen wie beispielsweise Isolierungen geben zu können. Zur Abschätzung der Relevanz dieser Maßnahmen ist die Frage von Bedeutung, ob durch die strengeren Richtlinien speziell für multiresistente Erreger ein entscheidender Vorteil für die Patienten erreicht werden kann. Vor diesem Hintergrund soll in vorliegender Studie die klinische Relevanz von Infektionen mit multiresistenten und nicht-multiresistenten Erregern verglichen werden.

## **2 Patienten und Methoden**

### **2.1 Studienaufbau und erhobene Daten**

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine retrospektive Kohortenstudie. Als Zielvariablen und somit als klinische Endpunkte wurden die Krankenhaus-Mortalität und die Länge des stationären Krankenhausaufenthaltes von Patienten mit einer *P. aeruginosa*-Bakteriämie festgelegt. MBL-PA oder das Vorhandensein eines multiresistenten *P. aeruginosa* wurden als primäre Expositionsfaktoren definiert.

In die Arbeit eingeschlossen wurden ausschließlich erwachsene Patienten (ab dem 18. Lebensjahr), die in einer von drei Kliniken (vgl. 2.2) stationär aufgenommen und bei welchen eine *P. aeruginosa*-Bakteriämie diagnostiziert wurde. Die *P. aeruginosa*-Bakteriämie wurde angenommen, wenn eine oder mehrere Blutkulturen positiv auf *P. aeruginosa* getestet wurden. Bei mehreren positiven Blutkulturen wurden die entsprechenden Patienten nur einmal in die Studie aufgenommen und zwar zum Abnahmezeitpunkt der ersten positiven Blutkultur (Indexkultur). Eine Liste mit infrage kommenden Patienten wurde mithilfe der Hybase Software (Tieto GmbH, Eschborn, Deutschland) und anhand des Laborinformationssystems SWISLAB (Swisslab GmbH, Berlin, Deutschland) des Instituts für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene des Universitätsklinikums Tübingen (UKT) erstellt.

Die Patientendaten (vgl. Tabelle 1) wurden retrospektiv erhoben und anonymisiert, indem jeder Patient eine Identifikationsnummer erhielt. Die Datenerhebung erfolgte verblindet, das heißt dem Datenerheber war nicht bekannt, welche der untersuchten Patienten einem multiresistenten *Pseudomonas aeruginosa* oder einem MBL-PA ausgesetzt waren. Dadurch sollte der Einfluss eines Interviewer-Bias, also einer Verzerrung der Ergebnisse durch einen systematischen Erhebungsfehler, vermieden werden. Zur Erstellung einer Datenbank wurde die Software EpiData 3.1 (EpiData Association, Odense, Dänemark) verwendet. Eine Liste mit den erhobenen klinischen Daten und den dazu gehörigen Definitionen ist in Tabelle 1 aufgezeigt.

## 2 Patienten und Methoden

**Tabelle 1: Erhobene klinische Daten mit dazugehörigen Definitionen**

	<b>Klinische Daten</b>	<b>Definition</b>
1	Alter	in Jahren
2	Geschlecht	männlich, weiblich
3	Indextag	Abnahmezeitpunkt der ersten positiven <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -Blutkultur (Indexkultur)
4	Länge des stationären Krankenhausaufenthaltes	in Tagen; Endpunkt = Entlassung aus dem Krankenhaus, Verlegung in ein anderes Klinikum oder Tod des Patienten
5	Immunsuppression	zutreffend, wenn eines der Merkmale 6-10 zutreffend
6	Human Immunodeficiency Virus (HIV)	
7	Vorausgegangener chirurgischer Eingriff	während des betrachteten stationären Krankenhausaufenthaltes
8	Malignom mit immunsupprimierender Wirkung	maligne hämatologische Erkrankungen wie beispielsweise akute und chronische Leukämien
9	Verschreibung von Corticosteroiden	≥ 10 mg Prednisolon am Tag oder eine vergleichbare Dosis
10	Verschreibung von immunsupprimierender Medikation	Chemotherapie und anti-inflammatorische monoklonale Antikörper (Corticosteroide ausgenommen); Verschreibung innerhalb der vorangegangenen zwei Monate
11	Neutropenie	absolute Anzahl der neutrophilen Granulozyten < 1000/μl; betrachteter Zeitraum = Indextag bis Endpunkt des stationären Krankenhausaufenthaltes
12	Charlson Komorbiditäts-Index	bei stationärer Krankenhausaufnahme
13	Vorerkrankungen	Diabetes mellitus, kardiovaskuläre Erkrankungen, chronische Lungenerkrankungen, renale Erkrankungen (Serum-Kreatinin > 200 mg/dl oder Dialyse-Therapie), neurologische Erkrankungen, Malignome (innerhalb der letzten fünf Jahre)
14	Simplified Acute Physiology Score II (SAPS II)	Betrachtet wurden die schlechtesten Werte am Indextag. Bei fehlenden Daten vom Indextag wurden die Daten des nächstliegenden Zeitpunktes (± 48 Stunden) verwendet. Lagen keine Daten in diesem Zeitraum vor, wurde ein Normalwert angenommen. Siehe Tabelle 2
15	Tod des Patienten	unabhängig von der Ursache; im Rahmen des betrachteten stationären Krankenhausaufenthaltes
16	Ursprung der Bakteriämie	primär (unbekannt), sekundär, Katheter-assoziiert – Bei sekundären Infektionen wurde der Infektionsfokus recherchiert und wie folgt unterteilt: Infektion des Harntraktes, Infektion des respiratorischen Systems, intraabdominelle Infektion, Wundinfektion nach chirurgischem Eingriff, nicht-chirurgische Wundinfektion – Einteilung anhand der Definitionen des International Sep-

## 2 Patienten und Methoden

sis Forum (Calandra und Cohen 2005)

17	Nosokomiale Infektion	Infektion, die innerhalb von $\geq 48$ Stunden nach der stationären Krankenhausaufnahme aufgetreten ist
18	Begleitinfektionen	mit anderen pathogenen Keimen ( <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ausgenommen)
19	Wirksame antibiotische Therapie	Verschreibung von mindestens einem systemisch wirksamen Antibiotikum, auf das der jeweils isolierte <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -Phänotyp in vitro sensibel getestet wurde (ausgenommen: Monotherapie mit Aminoglykosiden)
20	Wirksame kalkulierte antibiotische Therapie	Verschreibung eines wirksamen Antibiotikums innerhalb von 24 Stunden nach Abnahme der Blutkulturen

---

## 2 Patienten und Methoden

Mithilfe des Charlson Komorbiditäts-Index nach Charlson et al. (1987) wurden prognostisch relevante Vorerkrankungen eines Patienten wie beispielsweise chronische Lungen- oder Tumorerkrankungen zum Zeitpunkt der stationären Aufnahme erfasst. Zudem wurden sie im Hinblick auf ihren Einfluss auf das Mortalitätsrisiko anhand eines Punktesystems bewertet. Dadurch konnte der Einfluss von Komorbiditäten auf die Mortalität berücksichtigt werden.

Tabelle 2 führt die für den Simplified Acute Physiology Score II (SAPS II) erhobenen klinischen Daten auf. Dieser wurde angewandt, um den Allgemeinzustand eines Patienten zum Zeitpunkt des Indextages besser einordnen zu können.

**Tabelle 2: Erhobene klinische Daten für den SAPS II (LeGall et al. 1993)**

**Klinische Daten**

Alter (in Jahren)

Herzfrequenz (pro Minute)

Blutdruck (systolisch, in mmHg)

Temperatur (in °C)

*Bei Beatmung oder Pulmonalis-Katheter: PaO<sub>2</sub> (in mmHg) / FiO<sub>2</sub>*

Urinausscheidung (in Liter/Tag)

*Blutwerte:*

Harnstoff (in mg/dl) oder Harnstoff-Stickstoff (in mg/dl)

Leukozyten (in 10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup>)

Kalium (in mmol/l)

Natrium (in mmol/l)

Serum Bikarbonat (in mEq/l)

Bilirubin (in mg/dl)

Glasgow Coma Scale (*vor Sedierung*)

Vorerkrankungen (metastasiertes Karzinom, maligne hämatologische Erkrankung, Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS))

Zuweisung auf Intensivstation (elektiv chirurgisch, medizinisch (ohne Operation), ungeplant chirurgisch)

Zur Erhebung der genannten Daten am UKT wurden folgende Computerprogramme verwendet: Mithilfe des Software-Systems SAP R/3 (SAP Deutschland

AG & Co. KG, Walldorf, Deutschland) konnten am UKT die elektronischen Patientenakten eingesehen werden. Im Order-Entry und Stationsinformationssystem LAURIS (Swisslab GmbH, Berlin, Deutschland) wurden relevante Labordaten abgerufen. Das Laborinformationssystem SWISSLAB (Swisslab GmbH, Berlin, Deutschland) des Instituts für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene des UKT diente der Erhebung aller mikrobiologischer Daten.

An der BGU Tübingen und den Zollernalb Kliniken wurde zur Erhebung aller Patientendaten auf Papierakten zugegriffen.

### **2.2 Studienrahmen**

Die vorliegende Arbeit wurde mit Daten aus dem Zeitraum vom 1. Januar 2006 bis zum 31. Januar 2012 durchgeführt. Die Daten wurden an dem Universitätsklinikum Tübingen (UKT), der Berufsgenossenschaftlichen Unfallklinik (BGU) Tübingen und den Zollernalb Kliniken Albstadt, Balingen und Hechingen erhoben.

Bei dem UKT handelt es sich um ein Haus der Maximalversorgung, das gleichzeitig die Funktion eines Kreiskrankenhauses für Stadt und Landkreis Tübingen innehat. Das Einzugsgebiet des UKT erstreckt sich „vom Ballungsraum Mittlerer Neckar bis an den Bodensee“. Das Klinikum verfügt über 1513 Betten und deckt in der Krankenversorgung ein breites Spektrum an Fachrichtungen ab (UKT 2014). Neben verschiedenen Fächern der Chirurgie und der Inneren Medizin sind hier beispielhaft die Pädiatrie, die Gynäkologie und Geburtshilfe und die Transplantationsmedizin zu nennen (UKT 2013).

Die BGU Tübingen ist eine traumatologische Schwerpunktlinik der Maximalversorgung mit Einzugsgebiet Württemberg und verfügt über 336 Planbetten (BGU Tübingen 2014).

Die Zollernalb Kliniken Albstadt und Balingen sind Häuser der Basisversorgung und verfügen über 510 Planbetten (Zollernalb Klinikum GmbH 2014). Ihr Einzugsgebiet umfasst den gesamten Zollernalbkreis. Das Zollernalb Klinikum in Hechingen wurde am 28.06.2012 geschlossen (Schwarzwälder Bote Mediengesellschaft mbH 2012).

Diese Arbeit wurde nach den von Vandembroucke et al. (2007) zusammengestellten Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE)-Richtlinien verfasst.

Die Studie wurde der Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät des UKT vorgelegt (Projekt-Nummer: 035/2012R, am 24.01.2012). Da für diese Untersuchung ausschließlich anonymisierte, retrospektiv erhobene Patientendaten verwendet wurden, wurde die ethische Unbedenklichkeit der Arbeit bestätigt.

### **2.3 Mikrobiologische Diagnostik**

Die Exposition des Patienten gegenüber *Pseudomonas aeruginosa*-Stämmen, die MBL-Enzyme produzieren oder einem multiresistenten Phänotypen entsprechen, wurde als Einflussgröße festgelegt (vgl. 2.1). Aus diesem Grund war es wichtig, die aus Blutkulturen isolierten Keime einer vollständigen mikrobiologischen Diagnostik zu unterziehen, um sie in diesem Rahmen einordnen zu können.

#### **2.3.1 Speziesidentifizierung und Resistenztestung**

Um herauszufinden, ob es sich bei dem Keim in der jeweils untersuchten Blutkultur um einen *P. aeruginosa* handelte, wurde eine Speziesidentifizierung mittels eines linearen MALDI-TOF Massenspektrometers (AXIMA Assurance, bioMérieux, Marcy l'Etoile, Frankreich, Saramis Database Version 4.09) durchgeführt. Ergänzt wurde dieses Verfahren durch die Vitek 2-Identifizierungstechnik (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Frankreich).

Die isolierten *Pseudomonas aeruginosa*-Stämme wurden *in vitro* auf ihre Empfindlichkeit gegenüber verschiedenen Antibiotika getestet. Diese Resistenztestungen wurden gemäß den Richtlinien des European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) mit einem Plattendiffusionstest durchgeführt (EUCAST 2012; Leclercq et al. 2013; EUCAST 2013). Colistin-Sensibilität wurde im Sinne der Grenzwerte des Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) angenommen (CLSI 2012).

## 2 Patienten und Methoden

Zur Definition von Multiresistenz wurde sich in dieser Arbeit nach der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention gerichtet (KRINKO 2011). Als multiresistent galten somit *P. aeruginosa*, die für mindestens drei der folgenden Antibiotika resistent getestet wurden: Piperacillin-Tazobactam, Ceftazidim, Meropenem und Ciprofloxacin (3/4MRGN-PA, vgl. Tabelle 3). Betrachtet wurden damit ausschließlich Antibiotika, die eine bakterizide Wirkung auf *P. aeruginosa* haben und in Monotherapie angewendet werden können. Aus diesem Grund wurden Aminoglykoside nicht zur Definition von Multiresistenz herangezogen. Intermediär sensibel getestete Stämme wurden als resistent eingeordnet.

**Tabelle 3: Klassifizierung multiresistenter *Pseudomonas aeruginosa* auf Basis ihrer phänotypischen Resistenzeigenschaften (modifiziert nach KRINKO 2011)**

Antibiotikagruppe	Leitsubstanz	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
		3MRGN <sup>1</sup>	4MRGN <sup>2</sup>
Acylureidopenicilline	Piperacillin-Tazobactam		R
Cephalosporine der 3./4. Generation	Ceftazidim	Nur eine der vier Antibiotikagruppen wirksam (sensibel)	R
Carbapeneme	Meropenem		R
Fluorchinolone	Ciprofloxacin		R

R = resistent oder intermediär sensibel

<sup>1</sup> 3MRGN = Multiresistente gramnegative Stäbchenbakterien mit Resistenz gegen 3 der 4 Antibiotikagruppen

<sup>2</sup> 4MRGN = Multiresistente gramnegative Stäbchenbakterien mit Resistenz gegen 4 der 4 Antibiotikagruppen

Als MBL-PA wurden alle MBL-produzierenden Stämme unabhängig von ihren Antibiogrammen angesehen. Zum Screening auf MBL-Produktion wurde mit allen *P. aeruginosa*-Isolaten ein geeigneter Test mit EDTA durchgeführt. Dabei wurde die Methodik nach Pitout et al. (2005) angewandt, die hier in Kürze erläutert wird. *P. aeruginosa*-Stämme wurden auf Müller-Hinton Agarplatten (hergestellt im Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene, UKT) angezüchtet. Diese enthielten ein Plättchen mit 10 µg Meropenem und ein weiteres Plättchen mit 10 µg Meropenem in Kombination mit 930 µg EDTA. Eine MBL-Produktion galt als wahrscheinlich, wenn der Hemmhof um das Plättchen mit Meropenem/EDTA einen  $\geq 7$  mm größeren Durchmesser aufwies als der Hemmhof um

das Meropenemplättchen. Das Testprinzip beruht auf der Tatsache, dass MBLs Zinkionen für eine vollständige Funktion benötigen. Der Entzug von Zink durch EDTA sorgt damit für eine Abschwächung der MBL-Wirkung und für eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber Meropenem.

### 2.3.2 Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Um die mit dem EDTA-Test identifizierten MBL-PAs zu bestätigen, wurden diese mithilfe einer Duplex-PCR auf das Vorhandensein von MBL-Genen getestet. Zusätzlich wurden alle Meropenem-resistenten *P. aeruginosa* (Hemmhof < 24 mm) einer molekularen Testung auf MBL-Genen zugeführt. Als Template wurde die genomische DNS einer Bakterienzelle verwendet. Gemäß der von Pitout et al. (2005) veröffentlichten Anleitung wurde eine parallele Testung auf die MBL-Genen *bla*<sub>IMP</sub> und *bla*<sub>VIM</sub> mithilfe einer Duplex-PCR durchgeführt. Dafür wurden die Primer-Paare IMP-A-IMP-B und VIM2004A-VIM2004B verwendet. Entstandene DNS-Banden wurden mithilfe der beiden oben genannten Primerpaare in Kombination mit den Klasse-1-Integron-Primer-Paaren 5CS und 3CS (Pitout et al. 2005) oder alternativ mit VIM-2SQR (Lee et al. 2008) sequenziert.

*P. aeruginosa*, die keine VIM- oder IMP-Genen aufwies, aber eine reduzierte Meropenem- (Hemmhof < 24 mm) und Ceftazidim-Empfindlichkeit (Hemmhof < 16 mm) zeigten, wurden weitergehend untersucht. Dazu wurde das Nationale Referenzzentrum für gramnegative Krankenhauserreger (Bochum, Deutschland) hinzugezogen, das diese Stämme mit phänotypischen und molekularbiologischen Methoden auf das Vorhandensein weiterer Carbapenemasen testete.

### 2.3.3 Multilocus-Sequenz-Typisierung (MLST)

Alle *Pseudomonas aeruginosa*, die durch die in 2.3.1 und 2.3.2 aufgeführte mikrobiologische Diagnostik als 3/4MRGN-PA und MBL-PA eingeordnet werden konnten, wurden mithilfe einer Multilocus-Sequenz-Typisierung (MLST) epidemiologisch eingeordnet.

Hierbei werden kurze DNS-Sequenzen in Housekeeping-Genen mithilfe eines PCR-Verfahrens amplifiziert und anschließend sequenziert. Diese Gene kommen in allen Bakterien der betrachteten Art vor und sind dafür bekannt, dass sie sich durch Punktmutationen zwischen verschiedenen Stämmen unterscheiden.

Dadurch können die untersuchten Keime epidemiologisch weiter charakterisiert und eine mögliche genetische Verwandtschaft nachgewiesen werden. Dies kann einen besseren Einblick in regionale und globale Verbreitungsmechanismen der Bakterien bringen. Bestätigt wurde der Nutzen dieser Methode vor diesem Hintergrund beispielsweise in der Arbeit von Giske et al. (2006).

In der vorliegenden Studie wurde die MLST angewandt, um zu kontrollieren, inwiefern eine genetische Verwandtschaft unter den untersuchten *P. aeruginosa*-Stämmen die Ergebnisse der Arbeit beeinflusst. Die MLST wurde hierbei gemäß der auf der *P. aeruginosa*-MLST-Webseite veröffentlichten Anweisungen durchgeführt (<http://pubmlst.org/paeruginosa/>; Jolley 2014). DNS-Fragmente aus sieben Housekeeping-Genen (*acsA*, *aroE*, *guaA*, *mutL*, *nuoD*, *ppsA* und *trpE*) wurden mithilfe der empfohlenen Primerpaare vervielfältigt und anschließend sequenziert, um den jeweiligen Sequenz-Typ zu bestimmen.

### **2.4 Statistische Datenanalyse**

Die statistische Datenanalyse wurde mithilfe der Software Stata Version 12.0 (Stat Corp., College Station, TX, USA) durchgeführt.

#### **2.4.1 Analyse kontinuierlicher Variablen**

Zur Analyse kontinuierlicher Variablen wurden verschiedene statistische Testverfahren angewandt, um die Nullhypothese zu überprüfen. Diese nahm an, dass die Exposition mit MBL-PA bzw. 3/4MRGN-PA die beobachteten Zielvariablen nicht beeinflusst. Als Alternativhypothese wurde festgelegt, dass die Exposition einen Effekt auf die Zielvariablen zeigt. Es wurde zweiseitig getestet. Das Signifikanzniveau wurde auf 5 % festgelegt ( $p < 0,05$ ). Bei P-Werten, die unter diesem Signifikanzniveau lagen, wurde die Nullhypothese abgelehnt.

Zur Prüfung auf das Vorhandensein einer Normalverteilung von kontinuierlichen Variablen wurde der D'Agostinos K-Quadrat Test verwendet (Kirkwood und Sterne 2003). Waren die Variablen normalverteilt, wurden Gruppendifferenzen mithilfe eines t-Tests für unverbundene Stichproben überprüft (Kirkwood und Sterne 2003). Waren die Merkmale nicht normalverteilt und ließen sich auch nicht durch Transformation anpassen, wurden sie mit dem Wilcoxon-Rangsummentest überprüft (Kirkwood und Sterne 2003). Bei diesem nicht-

parametrischen Test wird im Unterschied zum t-Test keine Normalverteilung der Daten vorausgesetzt. Ebenfalls ist eine relevante Abweichung der Varianz zwischen zwei Gruppen zulässig. Mithilfe des Chi<sup>2</sup>-Vierfeldertests wurden Häufigkeitsunterschiede von Variablen verglichen und somit untersucht, ob im Hinblick auf das jeweilige Merkmal ein signifikanter Unterschied oder Zusammenhang zwischen zwei unverbundenen Stichproben besteht (Bortz und Lienert 2003). Der Fisher-Exakt-Test wurde verwendet, wenn die Validität des Chi<sup>2</sup>-Testes nicht sicher gegeben war. Dies wurde angenommen, wenn die Gesamtzahl der Stichprobe einen Wert  $< 20$  für eine Analyse annahm (Kirkwood und Sterne 2003).

### **2.4.2 Cox-Regression**

Zur Mortalitätsanalyse wurde in dieser Arbeit das proportionale Hazard Modell (auch: Cox-Regression) verwendet. Dieses Modell dient der gleichzeitigen Untersuchung des Effekts mehrerer Einflussgrößen auf ein Austrittsereignis. Dabei ist die zeitliche Konstanz der Effekte verschiedener Einflussgrößen auf das Austrittsereignis eine wichtige Voraussetzung (Ziegler et al. 2007). Diese Annahme von proportionalen Hazards wurde hier mithilfe der Schoenfeld-Residuen geprüft. Bei den zwei primär untersuchten Austrittsereignissen in dieser Studie handelt es sich um den Tod oder die Entlassung eines Patienten.

Um den Effekt einer Einflussgröße auf den Eintritt des Ausfallereignisses zu untersuchen, wurden die Hazardrate für den Tod und die Hazardrate für die Entlassung (tot oder lebend) berechnet. Die Hazardrate vergleicht die Hazards zweier betrachteter Gruppen, wobei das Hazard das Risiko eines Individuums ist, das beobachtete Ereignis - hier den Tod oder die Entlassung - zu erfahren (Ziegler et al. 2007; Zwiener et al. 2011).

Das Ausfallereignis der Entlassung steht in Zusammenhang mit der Länge des Krankenhausaufenthaltes und wurde in dieser Studie als indirekte Reflexion der Patientenmorbidity betrachtet. Hierbei wurde das Hazard der Entlassung bei Vorliegen einer Exposition (z.B. MBL-PA-Bakteriämie) geteilt durch das Hazard der Entlassung bei Nicht-Vorliegen einer Exposition. Eine Hazardrate der Entlassung  $< 1$  zeigt somit an, dass die Hazard der Entlassung in der Patientenpopulation mit Exposition kleiner war als in jener ohne Exposition. Dies spiegelt

eine höhere Wahrscheinlichkeit für einen längeren Krankenhausaufenthalt in der Patientengruppe mit Exposition wider. Der Vorteil gegenüber eines einfachen Vergleichs der Krankenhausaufenthaltsdauer von zwei Gruppen ist die oben erwähnte Möglichkeit einer multivariaten Analyse. In der hier vorliegenden Studie wurde unterschieden zwischen einem zeitangepassten Modell, das für die Länge des Aufenthaltes vor Infektion korrigierte, und einem vollständigen Modell, das für weitere mögliche verzerrende Störfaktoren wie Alter und Geschlecht korrigierte (Lambert et al. 2011). Zur Hypothesentestung wurde der Likelihood-Ratio-Test angewandt.

Der Aufbau der multivariaten Modelle wurde nach den Beschreibungen von Abbo et al. (2007) durchgeführt. Hierbei wurden unterschiedliche Expositionen mit geeigneten Variablen ausgedrückt. Ein Beispiel ist das Vorhandensein einer Bakteriämie mit einem MBL-PA (MBL-PA = 1) oder mit einem *P. aeruginosa*, der keine MBL produziert (MBL-PA = 0). Variablen aus der univariaten Analyse, die einen P-Wert < 0,2 aufwiesen, wurden zusammen in ein multivariates Modell aufgenommen. In diesem vorläufigen Modell wurden nur Variablen behalten, die einen P-Wert < 0,1 aufwiesen. Die Variablen, die in diesem Zuge ausgeschlossen wurden, wurden weiterhin auf eine mögliche Störwirkung geprüft. Dies erfolgte, indem jede zuvor entfernte Variable einzeln zu dem vorläufigen Modell hinzugefügt und ihre Wirkung auf die Koeffizienten der festen Variablen untersucht wurde. Eine erhebliche Störwirkung (Confounding) wurde als eine Veränderung in Koeffizienten der festen Variablen um mehr als 10 % definiert. Variablen, die diese Definition erfüllten, wurden in das finale multivariate Modell eingeschlossen. Die in dieser Studie untersuchten Expositionen (MBL-PA- und MDR-PA-Bakteriämie) wurden unabhängig von ihrem P-Wert in dem finalen multivariaten Modell belassen.

Interaktionen zwischen verschiedenen Variablen wurden mithilfe des Likelihood-Ratio-Testes untersucht.

## **3 Ergebnisse**

### **3.1 Patienten**

Über den Zeitraum vom 1. Januar 2006 bis zum 31. Januar 2012 wurde am Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene des UKT bei insgesamt 6.064 Patienten eine Bakteriämie diagnostiziert. Bei 120 dieser Patienten (2%) wurde eine Bakteriämie mit *P. aeruginosa* nachgewiesen.

Insgesamt wurden sieben Patienten aus folgenden Gründen aus der Studie ausgeschlossen: Drei Patienten wurden nicht stationär in einem der drei Studienzentren aufgenommen und entsprachen somit nicht den Einschlusskriterien dieser Arbeit (vgl. 2.1). Bei weiteren vier Patienten fehlten wichtige klinische Daten, die retrospektiv nicht mehr erhoben werden konnten. Die restlichen 113 Patienten verblieben in der Studie und wurden näher untersucht.

Die hier dargestellten Ergebnisse sind vor Einreichung dieses Manuskriptes international publiziert worden (Willmann et al. 2013).

### **3.2 Nachweis von MBL-Genen und Resistenztestung**

Der kombinierte EDTA-Plattentest zeigte in 34 von 113 *P. aeruginosa*-Isolaten eine mögliche MBL-Produktion an. Diese Stämme wurden per PCR auf das Vorhandensein von MBL-Genen getestet (vgl. 2.3.2). Damit konnten 18 Stämme (15,9 %) der Kategorie MBL-PA zugeordnet werden. Vier Stämme (3,5 %) waren positiv für die Metallo- $\beta$ -Laktamase VIM-2. Die anderen 14 Stämme (12,4 %) besaßen das MBL-Gen IMP-8.

Die Ergebnisse der Resistenztestung aller 113 *P. aeruginosa*-Isolate sind in Tabelle 4 in Abhängigkeit von ihrem MBL-Status aufgeführt. Alle MBL-PA waren einzig gegenüber Colistin empfindlich und gemäß der KRINKO (vgl. 2.3.1) der Gruppe der 4MRGN zuzuordnen.

Stämme ohne MBL-Produktion (Non-MBL-PA) waren empfindlich gegenüber einer Reihe anderer Antibiotika. Eine Sensibilität gegenüber Ceftazidim wurde in 95 % der Non-MBL-PA-Fälle nachgewiesen, gegenüber Amikacin waren

### 3 Ergebnisse

96 % empfindlich. Die Meropenem-Sensibilität lag bei 85 %. Alle *P. aeruginosa*-Isolate waren sensibel gegenüber Colistin.

**Tabelle 4: Ergebnisse der Resistenztestungen der 113 aus Blutkulturen isolierten *Pseudomonas aeruginosa* (modifiziert nach Willmann et al. 2013)**

Antibiotikum	Non-MBL-PA (n = 95) Sensibel getestete Stämme (in %)	MBL-PA (n = 18) Sensibel getestete Stämme (in %)
Piperacillin-Tazobactam	83	0
Ceftazidim	95	0
Meropenem	85	0
Ciprofloxacin	78	0
Amikacin	96	0
Colistin	100	100

MBL-PA = *Pseudomonas aeruginosa* mit Metallo- $\beta$ -Laktamase-Gen

### **3.3 Charakteristika der Studienpopulation**

Die Charakteristika der Kohorte werden in Tabelle 5 gezeigt.

Es wurden Patienten im Alter von 18 bis 88 Jahren in die Studie eingeschlossen. Das Medianalter betrug 64 Jahre bei einem Interquartilsabstand von 53 bis 74 Jahren. 48 % der Patienten waren über 65 Jahre alt. Eine Mehrzahl von 63 % der Untersuchten war männlichen Geschlechts.

Häufig diagnostizierte Vorerkrankungen waren Erkrankungen des kardiovaskulären Systems bei 58 %, Diabetes mellitus bei 33 % und maligne hämatologische Erkrankungen bei 32 % der in die Studie eingeschlossenen Patienten.

Bei sekundären Bakteriämien wurden Infektionen des respiratorischen Systems (19 %) und des Harntraktes (16 %) am häufigsten als Infektfokus nachgewiesen. 44 % der untersuchten Bakteriämien wurden als primär eingestuft, hier wurde kein Infektfokus gefunden.

Die Dauer, bis die Patienten eine wirksame antibiotische Therapie erhielten, betrug im Mittel 1,05 Tage.

Die Mortalität während des untersuchten stationären Krankenhausaufenthaltes betrug in dieser Kohorte 38 %.

### 3 Ergebnisse

Betrachtet man die Resistenztypen, so wiesen 27 der 113 aus den Blutkulturen isolierten *Pseudomonas aeruginosa*-Stämme (24 %) eine Multiresistenz nach KRINKO-Definition (3/4MRGN) auf. Eine Resistenz gegenüber Piperacillin-Tazobactam zeigte sich bei 34 Stämmen (30 %). Gegenüber Ceftazidim lag bei 23 (20 %) eine fehlende Sensibilität vor. 32 der untersuchten Blutkulturisolate (28 %) waren gegenüber Meropenem resistent und 39 (35 %) gegenüber Ciprofloxacin.

**Tabelle 5: Charakteristika der 113 Patienten mit einer *Pseudomonas aeruginosa*-Bakteriämie (modifiziert nach Willmann et al. 2013)**

<b>Merkmale</b>	<b>Patienten n (%)</b>
<i>Patientenmerkmale</i>	
Alter > 65 Jahre	54 (48)
Männliches Geschlecht	71 (63)
Tod des Patienten	43 (38)
<i>Immunsuppression</i>	
HIV	1 (1)
Maligne hämatologische Erkrankung	36 (32)
Neutropenie	38 (34)
<i>Vorerkrankungen</i>	
Diabetes mellitus	37 (33)
Kardiovaskuläre Erkrankung	66 (58)
Chronische Lungenerkrankung	11 (10)
Renale Erkrankung	11 (10)
Neurologische Erkrankung	24 (21)
<i>Art der Infektion</i>	
Nosokomiale Infektion	66 (58)
<i>Ursprung der Bakteriämie</i>	
Primäre Bakteriämie	50 (44)
Sekundäre Bakteriämie	55 (49)
Infektion des Harntraktes	18 (16)
Infektion des respiratorischen Systems	21 (19)
Intraabdominelle Infektion	5 (4)
Wundinfektion nach chirurgischem Eingriff	1 (1)

### 3 Ergebnisse

Nicht-chirurgische Wundinfektion	10 (9)
Katheter-assoziierte Bakteriämie	8 (7)
<b>PA-Resistenztypen</b>	
3/4MRGN-PA	27 (24)
MBL-PA	18 (16)
PTZ resistente PA	34 (30)
CAZ resistente PA	23 (20)
MER resistente PA	32 (28)
CIP resistente PA	39 (35)

---

HIV = Human Immunodeficiency Virus, PA = *Pseudomonas aeruginosa*,  
 3/4MRGN-PA = Multiresistente gramnegative *Pseudomonas aeruginosa*  
 mit Resistenz gegen 3 beziehungsweise 4 definierte Antibiotikagruppen,  
 MBL-PA = *Pseudomonas aeruginosa* mit Metallo- $\beta$ -Laktamase-Gen, PTZ  
 = Piperacillin-Tazobactam, CAZ = Ceftazidim, MER = Meropenem, CIP =  
 Ciprofloxacin

In Tabelle 6 werden grundlegende Patientencharakteristika nach den Resistenzgruppen 3/4MRGN-PA und MBL-PA getrennt aufgeführt. Daraus geht hervor, dass Patienten, bei welchen eine Bakteriämie mit MBL-PA diagnostiziert wurde, eine höhere Mortalität hatten als Patienten mit Non-MBL-PA (61 % gegen 34 %,  $p = 0,03$ ). Dasselbe galt für die Gruppe der 3/4MRGN-PA-Patienten: 63 % der Patienten mit 3/4MRGN-PA-Bakteriämie verstarben während des betrachteten stationären Krankenhausaufenthaltes. Demgegenüber stand eine Mortalität von 30 % bei Patienten mit einer Bakteriämie, die nicht durch einen 3/4MRGN-PA-Stamm verursacht wurde ( $p = 0,002$ ).

Patienten mit einer MBL-PA-Bakteriämie hatten insgesamt einen höheren SAPS II im Vergleich zu den Non-MBL-PA-Patienten (39,5 gegen 32,  $p = 0,002$ ) und befanden sich somit zum Zeitpunkt des Indextages in einem schlechteren Allgemeinzustand. Auffallend war in diesem Zusammenhang, dass bei Betrachtung der Verschreibung einer wirksamen antibiotischen Therapie kein bedeutender Unterschied zwischen beiden Gruppen feststellbar war (72 % bei Patienten mit MBL-PA und 87 % bei Patienten mit Non-MBL-PA,  $p = 0,14$ ). Wurde derselbe Vergleich bei der Resistenzgruppe der 3/4MRGN-PA gezogen, war das Bild gegensätzlich: Bei Betrachtung der SAPS II-Daten fiel kein statistisch signifikanter Unterschied auf (37 bei 3/4MRGN-PA-Patienten und 32 bei Non-

### 3 Ergebnisse

3/4MRGN-PA-Patienten,  $p = 0,57$ ). Wurde hingegen die Verschreibung einer wirksamen Antibiotikatherapie verglichen, war die Zahl der Patienten mit einer 3/4MRGN-PA-Bakteriämie, die diese Therapie erhielten, signifikant geringer: Nur 70 % dieser Patienten bekamen wirksame Medikamente verschrieben, wogegen 90 % der Non-3/4MRGN-PA-Patienten eine wirksame antibiotische Therapie erhielten ( $p = 0,03$ ).

Nennenswert ist zudem, dass bei Patienten mit einem resistenten *P. aeruginosa* (MBL-PA und 3/4MRGN-PA) häufiger eine Neutropenie nachgewiesen wurde ( $p < 0,001$ ).

### 3 Ergebnisse

**Tabelle 6: Merkmale nach den Resistenzgruppen MBL-PA und 3/4MRGN-PA (modifiziert nach Willmann et al. 2013)**

<b>Merkmale</b>	<b>Non-3/4MRGN-PA (n = 86)</b>	<b>3/4MRGN-PA (n = 27)</b>	<b>P-Wert</b>	<b>Non-MBL-PA (n = 95)</b>	<b>MBL-PA (n = 18)</b>	<b>P-Wert</b>
<i>Patientenmerkmale</i>						
Alter (in Jahren)*	68,5 (54-75)	59 (48-64)	0,01	67 (52-74)	60 (53-64)	0,16
Männliches Geschlecht (in %)	54 (63)	17 (63)	0,99	60 (63)	11 (61)	0,87
Länge des stationären Krankenhausaufenthaltes (in Tagen)*	14,5 (7-41)	23 (13-45)	0,03	15 (8-41)	23 (20-45)	0,03
Tod des Patienten (in %)	26 (30)	17 (63)	0,002	32 (34)	11 (61)	0,03
<i>Immunsuppression</i>						
Immunsuppression (in %)	67 (78)	27 (100)	0,006	76 (80)	18 (100)	0,04
Maligne hämatologische Erkrankung (in %)	16 (19)	20 (74)	< 0,001	19 (20)	17 (94)	< 0,001
Neutropenie (in %)	21 (24)	17 (63)	< 0,001	23 (24)	15 (83)	< 0,001
<i>Vorerkrankungen</i>						
Charlson Komorbiditäts-Index*	3 (2-5)	2 (2-3)	0,27	3 (1-5)	2 (2-3)	0,86
Diabetes mellitus (in %)	30 (35)	7 (26)	0,39	32 (34)	5 (28)	0,62
Kardiovaskuläre Erkrankung (in %)	55 (64)	11 (41)	0,03	59 (62)	7 (39)	0,07
Chronische Lungenerkrankung (in %)	10 (12)	1 (4)	0,46	10 (11)	1 (6)	1
Renale Erkrankung (in %)	10 (12)	1 (4)	0,46	11 (12)	0 (0)	0,21
Neurologische Erkrankung (in %)	18 (21)	6 (22)	0,89	22 (23)	2 (11)	0,35
<i>Klinische Daten</i>						
SAPS II*	32 (24-41)	37 (28-43)	0,57	32 (23-41)	39,5 (36-44)	0,002

### 3 Ergebnisse

Wirksame kalkulierte antibiotische Therapie (in %)	63 (73)	11 (41)	0,002	66 (70)	8 (44)	0,04
Wirksame gezielte antibiotische Therapie (in %)	77 (90)	19 (70)	0,03	83 (87)	13 (72)	0,14

---

\* Median (in Klammern: Interquartilsabstand)

3/4MRGN-PA = Multiresistente gramnegative *Pseudomonas aeruginosa* mit Resistenz gegen 3 beziehungsweise 4 definierte Antibiotikagruppen, MBL-PA = *Pseudomonas aeruginosa* mit Metallo- $\beta$ -Laktamase-Gen, SAPS II = Simplified Acute Physiology Score II

### **3.4 Ergebnisse der univariaten und multivariaten Analysen**

In Tabelle 7 sind die Ergebnisse der univariaten Analyse aufgezeigt und somit der Effekt verschiedener Einflussgrößen auf die Austrittsereignisse (vgl. 2.4).

Nennenswert ist, dass Bakteriämien mit 3/4MRGN-PA bzw. mit *P. aeruginosa*-Stämmen, die gegenüber Meropenem resistent waren (MER resistente PA), eine signifikante Assoziation mit der Mortalität während des stationären Krankenhausaufenthaltes aufwiesen (HR 1,98;  $p = 0,03$  bzw. HR 1,98;  $p = 0,03$ ). MBL-PA- (HR 1,83;  $p = 0,1$ ) und Ceftazidim resistente *P. aeruginosa*- (CAZ resistente PA, HR 1,88;  $p = 0,06$ ) Bakteriämien waren hingegen nicht mit einer erhöhten Mortalität assoziiert. Des Weiteren wies auch die Beziehung zwischen Ciprofloxacin resistenten Stämmen (CIP resistente PA; HR 1,27;  $p = 0,43$ ) bzw. Piperacillin-Tazobactam resistenten *P. aeruginosa* (PTZ resistente PA; HR 1,41;  $p = 0,28$ ) und der Mortalität keine statistische Signifikanz auf.

Bemerkenswert ist außerdem, dass in der univariaten Analyse die wirksame kalkulierte Therapie keinen Effekt auf die Mortalität zeigte (HR 0,81;  $p = 0,52$ ).

Keine der betrachteten Resistenzgruppen (MBL-PA, 3/4MRGN-PA, PTZ/CAZ/MER/CIP resistente PA) hatte eine Auswirkung auf die Dauer des stationären Krankenhausaufenthaltes. Wurden jedoch die verstorbenen Patienten aus dieser Betrachtung ausgenommen ( $n = 70$ ), wurde eine schwach evidente Assoziation zwischen MBL-PA (HR 0,49;  $p = 0,08$ ) bzw. 3/4MRGN-PA (HR 0,55;  $p = 0,06$ ) und der Länge des stationären Krankenhausaufenthaltes sichtbar. Diese Assoziation weist darauf hin, dass Patienten mit multiresistenten Stämmen eine höhere Wahrscheinlichkeit für einen längeren stationären Krankenhausaufenthalt hatten (HR 0,49 bzw. 0,55).

### 3 Ergebnisse

**Tabelle 7: Univariate Analyse: Hazardrate für den Tod und die Entlassung (verstorben oder lebend) bei Patienten mit *Pseudomonas aeruginosa*-Bakteriämie (modifiziert nach Willmann et al. 2013)**

<b>Merkmale</b>	<b>HR für den Tod (95 % KI)</b>	<b>P-Wert</b>	<b>HR für die Entlassung – zeitangepasst (95 % KI)</b>	<b>P-Wert</b>	<b>HR für die Entlassung – zeitangepasst (95 % KI) – unter Ausschluss der verstorbenen Patienten (n = 70)</b>	<b>P-Wert</b>
<i>Patientenmerkmale</i>						
Alter (in Jahren)	1,0073 (0,9889-1,0261)*	0,43	1,0164 (1,0039-1,0291)*	0,007	1,0155 (0,9938-1,033)*	0,07
Männliches Geschlecht	1,02 (0,55-1,88)	0,95	1,14 (0,77-1,68)	0,5	1,28 (0,77-2,12)	0,32
<i>Immunsuppression</i>						
Immunsuppression	2,31 (0,71-7,55)	0,12	0,54 (0,31-0,94)	0,04	0,5 (0,26-0,96)	0,04
Vorausgegangener chirurgischer Eingriff	0,65 (0,34-1,22)	0,18	0,54 (0,35-0,81)	0,003	0,47 (0,27-0,82)	0,007
Maligne hämatologische Erkrankung	1,23 (0,67-2,28)	0,5	0,61 (0,39-0,93)	0,02	0,5 (0,27-0,91)	0,02
Verschreibung von Corticosteroiden	1,82 (0,86-3,84)	0,1	0,46 (0,3-0,7)	<0,001	0,3 (0,17-0,54)	<0,001
Verschreibung von immunsupprimierender Medikation	0,83 (0,45-1,56)	0,58	0,62 (0,41-0,94)	0,02	0,6 (0,35-1,03)	0,06
Neutropenie	1,41 (0,77-2,58)	0,27	0,62 (0,4-0,94) †	0,02	0,43 (0,23-0,79)	0,004
<i>Vorerkrankungen</i>						
Charlson Komorbiditäts-Index	0,96 (0,83-1,11)*	0,66	1 (0,92-1,1)*	0,83	1,01 (0,9-1,13)*	0,77
Diabetes mellitus	1,43 (0,77-2,65)	0,25	0,78 (0,51-1,19)	0,25	0,55 (0,31-0,99)	0,04
Kardiovaskuläre Erkrankung	0,65 (0,36-1,2)	0,18	0,77 (0,52-1,14)	0,2	0,83 (0,49-1,38)	0,48
<i>Klinische Daten</i>						
SAPS II	1,0375 (1,0184-1,057)*	<0,001	0,9961 (0,9828-1,0097)*	0,58	0,974 (0,9557-0,9926)*	0,005

### 3 Ergebnisse

Begleitinfektionen	1,22 (0,56-2,71)	0,59	0,27 (0,16-0,44)	<0,001	0,23 (0,11-0,46)	<0,001
Wirksame kalkulierte antibiotische Therapie	0,81 (0,44-1,5)	0,52	0,89 (0,59-1,34)	0,6	0,9 (0,53-1,51)	0,7
Wirksame gezielte antibiotische Therapie	0,33 (0,16-0,68)	0,007	0,44 (0,25-0,77)	0,008	0,4 (0,17-0,92)	0,052
<i>Art der Infektion</i>						
Nosokomiale Infektion	2,14 (1,05-4,27)	0,03	0,67 (0,42-1,07)	0,1	0,52 (0,28-0,97)	0,04
<i>Ursprung der Bakteriämie</i>						
Primäre Bakteriämie	1,07 (0,57-2)	0,83	1,85 (1,24-2,75)	0,003	2,22 (1,32-3,73)	0,003
Sekundäre Bakteriämie	1,25 (0,67-2,31)	0,47	0,79 (0,53-1,16)	0,24	0,76 (0,46-1,25)	0,29
Katheter-assoziierte Bakteriämie	0,22 (0,03-1,66)	0,06	0,39 (0,18-0,85)	0,008	0,37 (0,15-0,89)	0,01
<i>PA-Resistenztypen</i>						
3/4MRGN-PA	1,98 (1,07-3,67)	0,03	0,76 (0,49-1,19)	0,23	0,55 (0,25-1,07)	0,06
MBL-PA	1,83 (0,92-3,64)	0,1	0,75 (0,44-1,27)	0,27	0,49 (0,21-1,17)	0,08
PTZ resistente PA	1,41 (0,76-2,61)	0,28	0,78 (0,52-1,19)	0,26	0,68 (0,37-1,23)	0,2
CAZ resistente PA	1,88 (0,99-3,57)	0,06	0,72 (0,45-1,16)	0,17	0,53 (0,25-1,15)	0,09
MER resistente PA	1,98 (1,08-3,62)	0,03	0,85 (0,55-1,3)	0,45	0,64 (0,33-1,23)	0,17
CIP resistente PA	1,27 (0,69-2,34)	0,43	0,93 (0,62-1,39)	0,73	0,78 (0,45-1,34)	0,38

<sup>†</sup> Annahme der proportionalen Hazards für diese Merkmale nicht erfüllt.

\* Anstieg um eine Einheit

HR = Hazardrate, 95 % KI = 95 %-Konfidenzintervall, SAPS II = Simplified Acute Physiology Score II, PA = *Pseudomonas aeruginosa*, 3/4MRGN-PA = Multiresistente gramnegative *Pseudomonas aeruginosa* mit Resistenz gegen 3 beziehungsweise 4 definierte Antibiotikagruppen, MBL-PA = *Pseudomonas aeruginosa* mit Metallo- $\beta$ -Laktamase-Gen, PTZ = Piperacillin-Tazobactam, CAZ = Ceftazidim, MER = Meropenem, CIP = Ciprofloxacin

### 3 Ergebnisse

Die beiden finalen multivariaten Modelle (vgl. 2.4.2) zeigten eine signifikante Assoziation des SAPS II (HR 1,046), kardiovaskulärer Vorerkrankungen (HR-Spannbreite: 0,44-0,46) und der wirksamen gezielten antibiotischen Therapie (HR-Spannbreite: 0,25-0,26) mit der Mortalität. Nachdem diese Störfaktoren einkalkuliert wurden, war keine Beziehung zwischen MBL-PA bzw. 3/4MRGN-PA und der Mortalität mehr nachweisbar (vgl. Tabelle 8). Dies galt auch für die PTZ/CAZ/MER/CIP resistenten *P. aeruginosa* allein. Das vollständige Modell (vgl. 2.4.2) zeigte zudem keinen signifikanten Effekt von MBL-PA bzw. 3/4MRGN-PA auf die Dauer des Krankenhausaufenthaltes. Das Vorhandensein von Begleitinfektionen mit anderen pathogenen Keimen erwies sich jedoch in den multivariaten Modellen als signifikante Einflussgröße auf das Risiko einer stationären Entlassung, wodurch auch das Risiko für einen längeren stationären Aufenthalt erhöht war.

### 3 Ergebnisse

**Tabelle 8: Multivariate Modelle: Hazardrate für den Tod und die Entlassung (verstorben oder lebend) (modifiziert nach Willmann et al. 2013)**

Merkmale	HR für den Tod (95 % KI)	P-Wert	HR für die Entlassung – vollständig (95 % KI)	P-Wert	HR für die Entlassung – vollständig (95 % KI) unter Ausschluss der verstorbenen Patienten (n = 70)	P-Wert
3/4MRGN-PA	1,37 (0,69-2,73) <sup>a</sup>	0,37	1,24 (0,70-2,22) <sup>d</sup>	0,46	0,76 (0,31-1,84) <sup>g</sup>	0,53
MBL-PA	0,98 (0,46-2,11) <sup>b</sup>	0,97	1,28 (0,64-2,58) <sup>e</sup>	0,49	1,54 (0,53-4,46) <sup>h</sup>	0,44
PTZ resistente PA	0,78 (0,40-1,51) <sup>c</sup>	0,45	0,92 (0,59-1,43) <sup>f</sup>	0,7	0,82 (0,43-1,55) <sup>i</sup>	0,53
CAZ-resistente PA	1,34 (0,66-2,73) <sup>c</sup>	0,42	1,29 (0,72-2,29) <sup>f</sup>	0,39	0,93 (0,39-2,22) <sup>j</sup>	0,87
MER-resistente PA	1,33 (0,4-2,77) <sup>c</sup>	0,44	1,55 (0,89-2,70) <sup>f</sup>	0,13	1,22 (0,56-2,66) <sup>i</sup>	0,63
CIP-resistente PA	0,56 (0,26-1,18) <sup>c</sup>	0,12	1,10 (0,70-1,71) <sup>f</sup>	0,68	1,03 (0,58-1,81) <sup>k</sup>	0,92

<sup>a</sup> Im gleichen Modell signifikant: SAPS II (HR 1,046, p < 0,001), kardiovaskuläre Erkrankung (HR 0,46, p = 0,025) und geeignete gezielte Therapie (HR 0,25, p = 0,003)

<sup>b</sup> Im gleichen Modell signifikant: SAPS II (HR 1,046, p < 0,001), kardiovaskuläre Erkrankung (HR 0,44, p = 0,015) und geeignete gezielte Therapie (HR 0,25, p = 0,002)

<sup>c</sup> Im gleichen Modell signifikant: SAPS II (HR-Spannbreite 1.045 – 1.047), kardiovaskuläre Erkrankung (HR-Spannbreite 0.35 – 0.48) und geeignete gezielte Therapie (HR-Spannbreite 0.21 – 0.25)

<sup>d</sup> Im gleichen Modell signifikant: Begleitinfektionen (HR 0,27, p < 0,001), geeignete gezielte Therapie (HR 0,4, p = 0,007)

<sup>e</sup> Im gleichen Modell signifikant: Begleitinfektionen (HR 0,3, p < 0,001), geeignete gezielte Therapie (HR 0,39, p = 0,004)

<sup>f</sup> Im gleichen Modell signifikant: Begleitinfektionen (HR-Spannbreite 0.25 – 0.3), geeignete gezielte Therapie (HR-Spannbreite 0.34 – 0.42)

<sup>g</sup> Im gleichen Modell signifikant: Begleitinfektionen (HR 0,32, p = 0,002), Neutropenie (HR 0,39, p = 0,006), nosokomiale Infektion (HR 0,37, p = 0,004), geeignete gezielte Therapie (HR 0,25, p = 0,008)

<sup>h</sup> Im gleichen Modell signifikant: Begleitinfektionen (HR 0,32, p = 0,002), Katheter-assoziierte Bakteriämie (HR 0,41, p = 0,04), nosokomiale Infektion (HR 0,44, p = 0,04)

<sup>i</sup> Im gleichen Modell signifikant: Begleitinfektionen (HR-Spannbreite 0.21 – 0.27), geeignete gezielte Therapie (HR-Spannbreite 0.29 – 0.34), nosokomiale Infektion (HR-Spannbreite 0.36 – 0.52)

<sup>j</sup> Im gleichen Modell signifikant: Begleitinfektionen (HR-Spannbreite 0.35 – 0.36), SAPS II (HR 0.974), nosokomiale Infektion (HR-Spannbreite 0.42 – 0.44)

<sup>k</sup> Im gleichen Modell signifikant: Begleitinfektionen (HR-Spannbreite 0.26 – 0.32), Neutropenie (HR-Spannbreite 0.39 – 0.41), nosokomiale Infektion (HR-Spannbreite 0.37 – 0.39), geeignete gezielte Therapie (HR-Spannbreite 0.25 – 0.29)

HR = Hazardrate, 95 % KI = 95 %-Konfidenzintervall, 3/4MRGN-PA = Multiresistente gramnegative *Pseudomonas aeruginosa* mit Resistenz gegen 3 beziehungsweise 4 definierte Antibiotikagruppen, MBL-PA = *Pseudomonas aeruginosa* mit Metallo-β-Laktamase-Gen, PTZ = Piperacillin-Tazobactam, CAZ = Ceftazidim, MER = Meropenem, CIP = Ciprofloxacin, SAPS II = Simplified Acute Physiology Score II

### **3.5 Ergebnisse der Multilocus-Sequenz-Typisierung**

Wie in 2.3.3 erläutert, wurden alle 27 3/4MRGN-PA und somit auch alle MBL-PA mithilfe einer MLST auf genetische Verwandtschaft untersucht. Es wurden zehn verschiedene Sequenz-Typen nachgewiesen (vgl. Tabelle 9), von welchen folgende erwähnenswert sind: Die 14 in die IMP-8-Gruppe eingeordneten Stämme entsprachen dem Sequenztyp 308. Von den vier *P. aeruginosa*, die positiv auf VIM-2 getestet wurden, konnten drei dem Sequenztyp 233 und einer dem Sequenztyp 395 zugeordnet werden.

Da die 86 Non-3/4MRGN-PA eine große Anzahl verschiedener Resistenzphänotypen aufwiesen, wurden sie nicht näher mit der MLST untersucht, da hier eine enge genetische Verwandtschaft unwahrscheinlich war.

**Tabelle 9: Ergebnisse der Multilocus-Sequenz-Typisierung**

Sequenztyp	3/4MRGN-PA (n = 27)
108	1
111	1
233	3
252	2
274	1
308	15
316	1
395	1
664	1
1028	1

3/4MRGN-PA = Multiresistente gramnegative *Pseudomonas aeruginosa* mit Resistenz gegen 3 beziehungsweise 4 definierte Antibiotikagruppen

## **4 Diskussion**

### **4.1 Diskussion der Ergebnisse**

#### **4.1.1 Allgemeiner Teil**

In den letzten Jahren wurde weltweit eine zunehmende Verbreitung der verschiedenen MBL-PA-Typen wahrgenommen (Cornaglia et al. 2011). Jedoch haben sich nur wenige Studien mit den Auswirkungen einer Infektion mit MBL-PA auf klinische Endpunkte auseinandergesetzt. In der vorliegenden retrospektiven Kohortenstudie wurden 18 Patienten mit einer MBL-PA-Bakteriämie mit 95 Patienten mit einer Non-MBL-PA-Bakteriämie in Hinblick auf verschiedene Einflussgrößen und Zielvariablen verglichen.

Bei der Gegenüberstellung dieser beiden Gruppen fiel zunächst bei den Resistenztestungen auf, dass alle MBL-PA einzig sensibel gegenüber Colistin waren und damit nach der Definition der KRINKO (vgl. 2.3.1) der Gruppe der 4MRGN zugehörig waren. Diese Ergebnisse können mit den Erkenntnissen anderer Studien erklärt werden. MBL-produzierende Keime weisen häufig auch andere Resistenzmechanismen auf, da die resistenzvermittelnden Gene häufig auf denselben Integronregionen lokalisiert sind (Riccio et al. 2001; Hirakata et al. 2003; Scoulica et al. 2004).

Auch die Tatsache, dass 100 % der MBL-PA (18/18) und nur 9,47 % der Non-MBL-PA (9/95) als multiresistent (3/4MRGN) eingeordnet werden konnten und somit MBL-produzierende Keime eine höhere Rate an Multiresistenz aufwiesen, ist mit den Ergebnissen anderer Studien in Einklang (Ranjan et al. 2014; Bij et al. 2011; Laupland et al. 2005).

Dass Defekte der neutrophilen Granulozyten Patienten anfälliger für Infektionen mit *P. aeruginosa* machen, ist seit langem bekannt (Gould und Wise 1985). In der vorliegenden Arbeit wurde eine Assoziation zwischen resistenten *P. aeruginosa* (3/4MRGN-PA und MBL-PA) und einer Neutropenie festgestellt. Bei Patienten mit einem 3/4MRGN-PA oder MBL-PA wurde häufiger eine absolute Anzahl der neutrophilen Granulozyten  $< 1000/\mu\text{l}$  nachgewiesen. Als Erklärung für

diese Verbindung kann vermutet werden, dass Patienten mit Neutropenie häufig bereits eine Prophylaxe oder Therapie mit Breitbandantibiotika erhalten haben. Dies gilt bei neutropenen Patienten als Risikofaktor für eine Infektion mit multiresistenten Keimen (Krcméry et al. 1998; Oliveira et al. 2007; Gudiol und Carratalà 2014), was wiederum auf die Selektion multiresistenter Bakterien durch die Antibiotikagabe zurückgeführt werden kann. Zudem weisen Patienten mit Neutropenie häufig viele weitere Risikofaktoren für eine Infektion mit multiresistenten Pseudomonaden auf, wodurch die Assoziation erklärt werden kann: Lange Krankenhausaufenthalte, Aufenthalte auf Intensivstationen, nosokomiale Infektion mit den Erregern, vorausgegangene invasive Eingriffe wie beispielsweise Transplantationen und das Vorhandensein von Harnwegskathetern (Gudiol und Carratalà 2014; Dantas et al. 2014; Kang et al. 2005).

### **4.1.2 Multiresistente *Pseudomonas aeruginosa* und Mortalität**

Als eine der Zielvariablen wurde die Mortalität während des stationären Krankenhausaufenthaltes der untersuchten Patienten festgelegt. Diese lag in der untersuchten Kohorte insgesamt bei 38 % und stand somit im Einklang zu beispielsweise der bei Osih et al. (2007) gefundenen Mortalität von Patienten mit *P. aeruginosa*-Bakteriämie.

Im Vergleich zeigte sich eine höhere Mortalität bei Patienten mit MBL-PA-Bakteriämie als bei mit Non-MBL-PA infizierten Patienten (61 % gegenüber 34 %,  $p = 0,03$ ). Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Hirakata et al. (2003), Laupland et al. (2005) und Zavascki et al. (2006), die ebenfalls eine höhere Anzahl an Todesfällen bei mit MBL-PA infizierten Patienten festgestellt haben.

Lucena et al. (2014) konnten hingegen keine erhöhte Mortalitätsrate nachweisen. In dieser Studie wurden lediglich ein schnellerer Beginn und ein beschleunigter Verlauf der Infektion bis zum Tod beobachtet.

In den finalen multivariaten Modellen der vorliegenden Studie konnte keine unabhängige Assoziation zwischen einer Bakteriämie mit MBL-PA und der Mortalität gefunden werden. Der beobachtete Unterschied in der Mortalität zwischen MBL-PA-Patienten und Non-MBL-PA-Patienten kann hingegen eher durch die Unterschiede im Allgemeinzustand erklärt werden. So hatten Patienten mit

## 4 Diskussion

MBL-PA-Infektionen insgesamt einen höheren SAPS II (39,5 gegenüber 32,0,  $p = 0,002$ ), was auf einen schlechteren Allgemeinzustand zum Zeitpunkt des Indextages schließen lässt. Zudem konnte der SAPS II in unserer Studie als ein unabhängiger Prädiktor für Mortalität identifiziert werden.

Die Ergebnisse von Zavascki et al. (2006) bei der Untersuchung von verschiedenen nosokomialen *P. aeruginosa*-Infektionen unterstützen diese These, da auch in dieser Studie unter anderem die Schwere der zugrundeliegenden Infektion bzw. ein schlechterer Allgemeinzustand als mögliche Gründe für die beobachtete erhöhte Mortalität bei MBL-PA-Patienten nachgewiesen wurden. Die MBL-PA-Infektion allein hatte hingegen keinen unabhängigen Einfluss auf die Mortalität.

Wurde die Mortalität bei den mit und ohne 3/4MRGN-PA infizierten Patienten verglichen, fiel auch hier eine höhere Mortalität bei den Patienten mit multiresistenten Keimen auf (63 % gegenüber 30 %,  $p = 0,002$ ). Dabei stellte sich in den multivariaten Modellen ebenso heraus, dass eine Infektion mit 3/4MRGN-PA nicht unabhängig mit der Mortalität assoziiert war. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass Patienten mit 3/4MRGN-PA-Stämmen mit einer geringeren Wahrscheinlichkeit eine wirksame antibiotische Therapie erhielten. Die Verabreichung einer wirksamen antibiotischen Therapie wurde mehrfach als unabhängige Einflussgröße der Mortalität nachgewiesen (Dantas et al. 2014; Morata et al. 2012; Micek et al. 2005). Dabei reduzierte eine wirksame antibiotische Therapie das Risiko an einer Infektion zu sterben. Diese Assoziation verdeutlicht, wie wichtig es ist, die Inzidenz von multiresistenten Keimen in verschiedenen Regionen und klinischen Bereichen mithilfe von Surveillance-Programmen zu untersuchen und an die gegenwärtige Epidemiologie angepasste kalkulierte Therapierichtlinien zu erstellen. Außerdem wird klar, wie bedeutend eine schnellere Resistenztestung und die - wenn nötig - darauf folgende korrekte Anpassung der Antibiotika-Therapie sind.

Auf die Frage, ob Infektionen mit multiresistenten Keimen einen unabhängigen Effekt auf die Mortalität haben, kann mit der vorliegenden Studie keine abschließende Antwort gegeben werden. Wie bereits erläutert, sahen auch Morata

et al. (2012) keine unabhängige Assoziation zwischen Multiresistenz und Mortalität. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Lodise et al. (2007). Demgegenüber stehen jedoch Studien von Tam et al. (2010), Tumbarello et al. (2011) und Hirsch et al. (2012), die eine unabhängige Assoziation nachweisen konnten. Die Gründe für diese nicht eindeutigen Befunde sind unbekannt. Jedoch kann allein die Tatsache, dass in diesen Arbeiten keine einheitliche Definition für Multiresistenz angewandt wurde, zu unterschiedlichen Ergebnissen geführt haben. So wurden beispielsweise verschiedene Antibiotika als Leitsubstanzen für die einzelnen Antibiotikagruppen verwendet. Zudem wurde nicht in all diesen Studien eine molekulare Genotypisierung durchgeführt. Ihre Ergebnisse können somit durch das Vorhandensein von wenigen dominanten Stämmen beeinflusst worden sein, die möglicherweise Virulenzfaktoren wie die Typ III Sekretionssystem (TTSS)-Toxine exprimierten, die zu schlechteren klinischen Verläufen beigetragen haben könnten.

TTSS ist ein Sekretionssystem, das kontaktabhängig Proteine in das Zytoplasma der Wirtszellen transportiert (Stover et al. 2000). El-Solh et al. (2012) haben heraus gefunden, dass die Prävalenz von TTSS-Toxin-exprimierenden Keimen bei *P. aeruginosa*-Bakteriämien relativ hoch war (44 %) und dass es eine starke Assoziation zwischen Antibiotika-Resistenzen und TTSS-Toxin-exprimierenden Phänotypen gab. Außerdem haben sie nachgewiesen, dass das Vorhandensein von TTSS-Toxinen mit einer erhöhten Mortalität bei *P. aeruginosa*-Bakteriämien einherging.

Der durch die MLST erbrachte Nachweis von zehn verschiedenen Sequenztypen unter den multiresistenten *P. aeruginosa* (3/4MRGN-PA)-Stämmen in vorliegender Studie macht diese Form von Confounding unwahrscheinlich, wenn diese Untersuchung auch nicht für alle isolierten Keime durchgeführt wurde. Eine Ausnahme stellen hierbei die 18 MBL-PA dar, da diese nur drei verschiedenen Sequenztypen angehörten. Diese drei Sequenztypen wurden nur auf wenigen Stationen des UKT gefunden, was nahe legt, dass eine lokal begrenzte Ausbreitung der Stämme innerhalb eines Krankenhauses weiterhin ein Hauptfaktor für die Verbreitung von MBL-PA ist.

Ein weiterer möglicher Grund dafür, dass in dieser Arbeit keine unabhängige Assoziation von multiresistentem *P. aeruginosa* mit der Mortalität gefunden wurde, kann die geringe Studienpower sein (vgl. 4.2). Diese kann dazu geführt haben, dass ein kleiner Effekt der 3/4MRGN-PA-Stämme auf die Mortalität übersehen wurde. Dass dieser Effekt jedoch klinisch relevant ist, ist unwahrscheinlich (vgl. 4.2).

Zusammenfassend kann man schlussfolgern, dass größere überregionale Studien notwendig sind, um diese Fragestellung abschließend zu untersuchen und allgemeingültige Erkenntnisse zu erhalten.

### **4.1.3 Multiresistente *Pseudomonas aeruginosa* und Länge des stationären Krankenhausaufenthaltes**

Die zweite Zielvariable dieser Studie war die Länge des stationären Krankenhausaufenthaltes der untersuchten Patienten. Wie auch bei der Mortalität ließ sich hier keine unabhängige Assoziation von mit MBL-PA bzw. 3/4MRGN-PA infizierten Patienten und der Länge des stationären Krankenhausaufenthaltes nachweisen. Sowohl in der univariaten Analyse als auch in multivariaten Modellen fiel jedoch auf, dass Begleitinfektionen die Wahrscheinlichkeit eines längeren Krankenhausaufenthaltes erhöhten (HR < 1). In vollständigen Modellen, in welchen verstorbene Patienten aus der Betrachtung ausgenommen wurden, wurde zudem eine signifikante Assoziation zwischen nosokomialen Infektionen und einem verlängerten Krankenhausaufenthalt sichtbar.

Diese Ergebnisse führen zu dem Schluss, dass Begleitinfektionen jedweder Art vermieden werden sollten, um eine zusätzliche Morbidität zu verhindern. Außerdem könnten dadurch weitere Kosten, die durch den verlängerten Krankenhausaufenthalt entstehen, reduziert werden.

### **4.1.4 Einflussgrößen der Mortalität**

In den multivariaten Modellen zeigten drei Variablen einen unabhängigen Effekt auf die Mortalität: Der SAPS II, kardiovaskuläre Erkrankungen und eine wirksame antibiotische Therapie. Diese sollen im Folgenden weiter diskutiert werden.

## 4 Diskussion

Der SAPS II gibt, wie bereits in 4.1.2 ausgeführt, Aufschluss über die Schwere der Erkrankung und den Allgemeinzustand des Patienten. Aus der signifikanten Assoziation zwischen SAPS II und der Mortalität in den multivariaten Modellen ( $HR > 1$ ) lässt sich somit folgern, dass ein schlechter Allgemeinzustand mit einer höheren Mortalität assoziiert ist.

In anderen Studien wurde zumeist die dem SAPS II ähnliche APACHE II (Acute Physiology And Chronic Health Evaluation) erhoben. Da diese im Gegensatz zum SAPS II jedoch in erster Linie auf Patienten auf Intensivstationen ausgelegt ist und in dieser Arbeit auch Patienten von Normalstationen eingeschlossen wurden, wurde hier der SAPS II bestimmt, der in diesem Rahmen besser anwendbar ist. Die Verwendung unterschiedlicher Bewertungsmethoden erschwert einen direkten Vergleich der Studien. Erwähnenswert ist aber die Tatsache, dass in diesen Studien erhöhte APACHE II-Werte mit dem höheren Risiko von Mortalität einhergingen (Kang et al. 2003; Hirsch et al. 2012; Jeong et al. 2014). Zavascki et al. (2006) führten zudem an, dass eine schwere Sepsis bzw. ein septischer Schock eine signifikante Assoziation mit der Mortalität zeigten. Diese können wiederum auch zur Einschätzung der Infektionsschwere dienen, weshalb dieser Befund die Annahme stützt, dass die Schwere der Erkrankung mit der Mortalität assoziiert ist.

Dass kardiovaskuläre Erkrankungen einen protektiven Effekt in Bezug auf die Mortalität zeigten ( $HR < 1$ ), lässt sich möglicherweise mit den von Morelli et al. (2013) gefundenen Erkenntnissen erklären. In der genannten Studie wurde der Effekt einer Herzfrequenzkontrolle mit dem  $\beta$ -Blocker Esmolol auf die hämodynamischen und klinischen Outcomes bei Patienten im septischen Schock untersucht. Auffallend war in diesem Zusammenhang, dass die mit Esmolol behandelten Patienten eine signifikant geringere Mortalitätsrate zeigten als die Kontrollgruppe (49,4 % gegenüber 80,5 %,  $p < 0,001$ ). Vor diesem Hintergrund kann darüber diskutiert werden, ob der in vorliegender Arbeit gefundene protektive Effekt der kardiovaskulären Erkrankungen auf die gleichzeitige Einnahme von  $\beta$ -Blockern zurück zu führen ist. Ein solcher Wirkmechanismus kann hier jedoch nicht eindeutig nachgewiesen werden, da die benötigten Daten nicht er-

## 4 Diskussion

hoben wurden. Dafür bedarf es weiterer, möglichst prospektiver Studien, die diese Assoziation genauer untersuchen.

Einen starken protektiven Effekt auf die Mortalität wies zudem die Verschreibung einer wirksamen antibiotischen Therapie auf (HR-Spannbreite: 0,25-0,26). Es zeigte sich hingegen nur eine schwache Tendenz dazu, dass Patienten mit einer MBL-PA-Bakteriämie seltener eine wirksame Antibiotikatherapie erhielten als Patienten mit Non-MBL-PA-Bakteriämie. Dies kann auf eine Anpassung der empirischen Therapierichtlinien nach den ersten Nachweisen von MBL-PA in den beteiligten Krankenhäusern zurückgeführt werden. So wurde das Polymyxin Colistin (Colistimethat Natrium, auch: Polymyxin E) zusätzlich bei Patienten verschrieben, bei welchen der Verdacht auf eine Bakteriämie mit MBL-PA bestand. Wie in 3.2 und 4.1.1 bereits ausgeführt, waren alle MBL-PA einzig gegenüber Colistin sensibel. Tatsächlich wurde dieses Medikament bei 13 der 18 mit MBL-PA infizierten Patienten (72 %) intravenös verschrieben.

Von der intravenösen Nutzung des Polymyxins wurde Anfang der 1980er Jahre wegen seiner starken Nephro- und Neurotoxizität und der Entwicklung von 2. und 3. Generations-Cephalosporinen, Abstand genommen (Wolinsky und Hines 1962; Falagas und Kasiakou 2006; Durakovic et al. 2011). Heute wird Colistin jedoch wieder zunehmend intravenös genutzt, da es bei verschiedenen multiresistenten Keimen, wie auch in vorliegender Studie, als einzig wirksames Antibiotikum verbleibt und momentan auch keine weiteren Therapeutika für diese Infektionen in Entwicklung sind (Cornaglia et al. 2011; Goel et al. 2011; Livermore 2002). Unter diesen Gesichtspunkten ist es von großer Bedeutung, die Wirksamkeit und die Sicherheit von Colistin erneut zu evaluieren. Zwar gibt es zu dieser Frage bereits mehrere Studien mit erwachsenen Patienten, die mit multiresistenten *P. aeruginosa* infiziert waren, jedoch wurde auch in diesen Arbeiten die Notwendigkeit weiterer prospektiver und randomisierter Untersuchungen angeführt (Durakovic et al. 2011; Montero et al. 2009; Hachem et al. 2007). So bescheinigten die Autoren dieser Studien dem Colistin zwar eine Wirksamkeit bei den untersuchten Patienten und eine geringere Toxizität als früher angenommen, jedoch sollte das Medikament weiterhin mit Vorsicht angewandt wer-

den, vor allem auch um einer Selektion von resistenten Keimen vorzubeugen (Durakovic et al. 2011; Montero et al. 2009; Hachem et al. 2007). Zu ähnlichen Schlüssen kamen Martis et al. (2014) in einer Übersichtsarbeit zu diesem Thema: Auch sie führten an, dass die Toxizität des Medikaments in älteren Studien überschätzt wurde und dass inzwischen klarere Dosierungsangaben gemacht werden können, die eine an die Nierenfunktion angepasste Therapie ermöglichen. Außerdem entwarfen sie eine Therapierichtlinie, beschränkten darin jedoch die Nutzung von Colistin weiterhin auf den starken Verdacht auf bzw. die gesicherte Infektion mit multiresistenten *P. aeruginosa*. Die Effektivität einer Kombinationstherapie des Medikaments mit anderen Antibiotika muss laut Martis et al. (2014) in weiteren Studien evaluiert werden.

Es kann diskutiert werden, ob Colistin in der vorliegenden Studie den klinischen Verlauf der Patienten, die das Medikament verschrieben bekommen haben, günstig beeinflusst hat. Diese Hypothese wird von der Tatsache untermauert, dass sich die Verschreibung einer wirksamen antibiotischen Therapie als protektiver Faktor erwiesen hat und Colistin die einzig verbliebene wirksame Therapieoption bei Patienten mit MBL-PA-Sepsis war. Diese Arbeit kann diese Fragestellung dennoch nicht abschließend klären. Dazu müssen, wie bereits erwähnt, prospektive und randomisierte Untersuchungen durchgeführt werden, um die Wirksamkeit und Sicherheit des Antibiotikums im klinischen Alltag zu überprüfen.

Ein weiteres interessantes Ergebnis der vorliegenden Studie war die fehlende unabhängige Assoziation der Gabe einer wirksamen kalkulierten Therapie (innerhalb von 24 Stunden nach Abnahme der Blutkulturen) mit der Mortalität. Diese Erkenntnis steht im Einklang mit den Schlüssen, die in anderen Studien gezogen wurden (Lodise et al. 2007; Zavascki et al. 2006; Kang et al. 2003). So stellten Lodise et al. (2007) erst einen Anstieg der Mortalität bei Patienten mit *P. aeruginosa*-Bakteriämie fest, wenn diese nach mehr als 52 Stunden eine wirksame Therapie erhalten hatten. Diese Ergebnisse werden durch die vorliegende Arbeit bestätigt, da eine geringere Verzögerung der antibiotischen Therapie (innerhalb von 24 Stunden) keine Auswirkungen auf die Mortalität zeigte.

Im Unterschied zu vorliegender Arbeit wurden die Patienten in der Studie von Lodise et al. (2007) jedoch nicht auf den Ursprung der Bakteriämie hin untersucht. Dies kann insofern von Bedeutung sein, da beispielsweise für Katheter-assoziierte Bakteriämien das Entfernen des Katheters den wichtigsten therapeutischen Schritt darstellt. Dasselbe gilt für die interventionelle Therapie von Obstruktionen im Harntrakt und einem damit verbundenen Infektionsfokus. In solchen Fällen ist die zügige Gabe von geeigneten Antibiotika eher von sekundärer Bedeutung. Diese Gruppen der in vorliegender Arbeit untersuchten Patienten (Ursprung der Infektion: 16 % Infektion des Harntraktes, 7 % Katheter-assoziierte Bakteriämie; vgl. Tabelle 5) könnten die Ergebnisse somit in die beobachtete Richtung beeinflusst haben. In unserer Studie stellte der Infektionsfokus aber keinen unabhängigen Prädiktor für Mortalität dar.

### **4.1.5 Infektionskontrolle**

Vor dem Hintergrund der zunehmenden Verbreitung der Metallo- $\beta$ -Laktamasenproduzierenden *P. aeruginosa*, die oft nur noch wenige therapeutische Optionen offen lassen, spielen Maßnahmen der Infektionskontrolle eine große Rolle (Cornaglia et al. 2011; Kerr und Snelling 2009). Dies wird zudem von der Tatsache untermauert, dass sich die MBL-codierenden Gene häufig auf mobilen Genkassetten befinden, was einen vereinfachten Austausch zwischen den Bakterien bedingt (vgl. 1.2) und die Bedeutung einer Einschränkung der Ausbreitung der Keime unterstreicht. Die Maßnahmen der Infektionskontrolle gewinnen des Weiteren in Hinblick auf die durch Begleitinfektionen entstehende Morbidität und zusätzliche Kosten an Bedeutung (vgl. 4.1.3).

Es wurden beispielsweise verstärkte Hygienemaßnahmen wie eine verbesserte Händehygiene und die Betrachtung infizierter Patienten als Hochrisikopatienten mit daraus resultierenden angepassten Isolierungsmaßnahmen vorgeschlagen, um die Verbreitung der Keime einzudämmen (Goel et al. 2011; Walsh et al. 2005). Auch die KRINKO empfiehlt zur Vorbeugung einer Übertragung die Isolierung von Patienten mit nachgewiesener 3MRGN-PA-Besiedelung oder -Infektion in Risikobereichen und von Patienten mit 4MRGN-PA in allen Krankenhausabteilungen (KRINKO 2012). Diese Richtlinie wurde im Hinblick auf die unklare Datenlage bei *P. aeruginosa* in Anlehnung an die Empfehlung

für Infektionen oder Besiedelungen mit Enterobakterien mit erhöhter Mortalität wie *Escherichia coli* ausgesprochen. Letztlich werden somit weitere Studien benötigt, die die Effektivität von Isolierungsmaßnahmen evaluieren, um konkrete Empfehlungen aussprechen zu können. Vor dem Hintergrund der Ergebnisse der vorliegenden Studie muss aber die Relevanz von speziell für multiresistente *P. aeruginosa* geltende Hygienemaßnahmen generell kritisch hinterfragt werden, da hier die erhöhte Mortalität in erster Linie auf die fehlende Verabreichung einer wirksamen Therapie zurück zu führen war. Natürlich kann durch die Prävention der weiteren Ausbreitung der multiresistenten Pseudomonaden auch vermieden werden, dass es zu einem Therapieversagen kommt, wenn die Infektion mit diesen Keimen vollständig vermieden wird. Jedoch ist dabei zu diskutieren, ob den aufwändigen Isolierungsmaßnahmen ein verstärkter Fokus auf den Nachweis lokaler Resistenzmuster und den daraufhin angepassten kalkulierten Therapierichtlinien vorzuziehen ist. Zum Nachweis dieser Veränderungen empfiehlt sich ein Surveillance-Programm, durch das die Epidemiologie von multiresistenten Erregern kontinuierlich überprüft und bewertet wird (KRINKO 2012).

Jedoch ist wiederum zu berücksichtigen, dass durch die Aufnahme von Reserveantibiotika wie Colistin in Therapierichtlinien das Risiko besteht, dass Keime selektiert werden können, die letztlich auch Resistenzen gegen diese Medikamente aufweisen können. Deshalb raten viele Autoren eine restriktive Nutzung dieser Therapeutika an (Goel et al. 2011; Bush 2001). Demgegenüber stehen aber Patienten mit schweren Infektionen, für die eine frühzeitige Anwendung der Reserveantibiotika überlebenswichtig sein kann. Zudem gibt es Hinweise in der Literatur, dass Pseudomonaden mit zunehmender Resistenzprägung an Virulenz verlieren (Fuse et al. 2013; Deptuła und Gospodarek 2010; Kugelberg et al. 2005), weshalb man fragen muss, wie bedeutend die Pathogenität dieser selektierten Erreger noch ist. Diesen Studien stehen jedoch auch Arbeiten mit gegenteiligen Ergebnissen gegenüber (Hocquet et al. 2007; Peña et al. 2012), weshalb diese Thematik weiterhin kontrovers bleibt.

Abschließend kann man somit zu dem Schluss kommen, dass an lokale Resistenzen angepasste kalkulierten Therapierichtlinien, in die Reserveantibiotika

aufgenommen werden, mit Bedacht und in erster Linie bei Risikopatienten mit schweren Infektionen und schlechtem Allgemeinzustand angewandt werden sollen. Zudem kann eine Isolierung zur Vermeidung einer weiteren Ausbreitung dieser multiresistenten Erreger speziell in Bereichen mit Risikopatienten wie Intensivstationen durchaus sinnvoll sein, um durch die Verringerung der Infektionsrate die Anwendung dieser Antibiotika wiederum reduzieren zu können. Ergänzt werden sollten diese Maßnahmen durch die generell notwendigen Maßnahmen der Basishygiene wie beispielsweise Händehygiene und Desinfektions- und Reinigungsmaßnahmen und die Suche nach möglichen Umgebungsquellen der multiresistenten Erreger wie beispielsweise kontaminiertes Leitungswasser mit anschließender Beseitigung dieser Infektionsursache (KRINKO 2012).

### **4.2 Diskussion des Studienaufbaus**

Eine der größten Einschränkungen dieser Arbeit liegt in der retrospektiven Datenerhebung und der moderaten Studienpower: So konnten verschiedene Daten nicht erhoben werden, da sie entweder nicht dokumentiert worden sind oder verloren gegangen waren. Aus diesem Grund wurden vier der ursprünglich 117 Patienten aus der Studie ausgeschlossen (vgl. 3.1). Dies schränkte die Studienpower weiter ein, stellte aber sicher, dass die Daten die wirkliche Situation zu einem möglichst hohen Grad widerspiegeln.

Die moderate Studienpower ist weiterhin auf die geringe Inzidenz von *P. aeruginosa*-Bakteriämien in den beteiligten Krankenhäusern zurückzuführen. So wurden pro Variable weniger als zehn Endpunkt-Ereignisse in den multivariaten Modellen eingesetzt. Dies bedingt, dass möglicherweise Assoziationen mit geringerer Hazardrate übersehen wurden. Größere Studien könnten vor diesem Hintergrund eventuell mehr Evidenz zu der kontroversen Studienlage schaffen, ob und in welchem Umfang multiresistente Keime einen unabhängigen Effekt auf die Mortalität haben. Dadurch könnten wiederum klarere Aussagen zu der Frage der Maßnahmen der Infektionskontrolle, speziell der Isolierung, getroffen werden.

Einem Interviewer-Bias wurde durch die Verblindung der Erhebung der Patientendaten vorgebeugt (vgl. 2.1).

Mögliche Confounder konnten durch die multivariate Analysen identifiziert und ihr Einfluss berücksichtigt werden (vgl. 2.4.2 und 3.4). Jedoch schließt dies nicht aus, dass unbekannte, nicht untersuchte Confounder die Ergebnisse der Studie verzerrt haben.

### **4.3 Schlussfolgerung**

Die Ergebnisse dieser Arbeit heben in erster Linie die Bedeutung einer wirksamen antibiotischen Therapie bei Patienten mit *P. aeruginosa*-Bakteriämie hervor. Diese stellte eine der wichtigsten Einflussgrößen der Mortalität bei dieser Patientengruppe dar, auch wenn sie erst verspätet gegeben wurde (vgl. 4.1.4). Dabei spielt die frühzeitige Anpassung kalkulierter Therapierichtlinien an Veränderungen in den lokalen Resistenzmustern eine große Rolle (vgl. 4.1.2). Die genannten Maßnahmen sollten durch Hygienepläne ergänzt werden. Diese sollten Maßnahmen der Infektionskontrolle wie die Basishygiene und nach Abwägung in Bereichen mit Risikopatienten auch Isolierungen beinhalten (vgl. 4.1.5).

Zu der Frage, ob MBL-PA bzw. 3/4MRGN-PA einen unabhängigen Effekt auf die Mortalität haben und somit als Prognosemarker dienen können, sind vor dem Hintergrund der unklaren Studienlage weiterhin größere überregionale, prospektive Studien notwendig, um diese Fragestellung abschließend beantworten zu können (vgl. 4.1.2).

## **5 Zusammenfassung**

Bei Bakteriämien des gramnegativen Keims *Pseudomonas aeruginosa* wurde eine Mortalität von 21 % bis 37 % nachgewiesen (Horino et al. 2012; Tumbarello et al. 2011; Osih et al. 2007). Vor dem Hintergrund dieser hohen Mortalität und einer zunehmenden globalen Verbreitung von Metallo- $\beta$ -Laktamase produzierenden *P. aeruginosa* (MBL-PA) (Cornaglia et al. 2011) wurde vorliegende retrospektive Kohortenstudie umgesetzt. Im Hinblick auf die zwei Zielvariablen Mortalität und Länge des stationären Krankenhausaufenthaltes wurden Patienten mit einer MBL-PA-Bakteriämie mit Patienten mit einer Non-MBL-PA-Bakteriämie verglichen. Ebenso wurden in dieser Kohorte multiresistente *P. aeruginosa* auf ihren Effekt auf diese Zielvariablen hin untersucht.

Die Daten der in die Studie eingeschlossenen 113 erwachsenen Patienten mit *P. aeruginosa*-Bakteriämie stammen aus dem Zeitraum von 2006 bis 2012 und wurden an folgenden Kliniken erhoben: dem Universitätsklinikum Tübingen, der Berufsgenossenschaftlichen Unfallklinik Tübingen und den Zollernalb Kliniken Albstadt, Balingen und Hechingen.

Alle isolierten *P. aeruginosa*-Stämme wurden mithilfe eines Plattendiffusionstests auf Antibiotikaresistenzen hin untersucht und bei Multiresistenz gemäß der Definitionen der KRINKO (2011) in verschiedene Resistenzgruppen eingeordnet.

Die Testung auf MBL-PA erfolgte mit kombinierten EDTA-Plattendiffusionstests. Die dabei identifizierten Keime wurden per PCR auf die MBL-Gene *bla<sub>VIM</sub>* und *bla<sub>IMP</sub>* geprüft.

Die Untersuchung der als multiresistent und MBL-PA eingeordneten Pseudomonaden auf ihre genetische Verwandtschaft wurde mit einer Multilocus-Sequenz-Typisierung durchgeführt (MLST).

Der Effekt der MBL-Produktion bzw. der Multiresistenz auf die betrachteten Zielvariablen wurde mit multivariaten Cox-Regressionsmodellen überprüft.

Bei 18 (15,9 %) der in die Studie eingeschlossenen Patienten wurden MBL-PA identifiziert, die sich zudem in der Resistenztestung alle als multiresistent er-

## 5 Zusammenfassung

wiesen. Insgesamt hatten 27 (24 %) der Patienten eine Bakteriämie mit einem multiresistenten *P. aeruginosa*.

Bei einer Gesamtmortalität von 38 % zeigte sich eine signifikant höhere Mortalität bei Patienten mit MBL-PA bzw. multiresistenten *P. aeruginosa* (61 % gegenüber 34 %,  $p = 0,03$  bzw. 63 % gegenüber 30 %,  $p = 0,002$ ). Eine unabhängige Assoziation zwischen Bakteriämien mit MBL-PA oder multiresistenten *P. aeruginosa*-Phänotypen und den Zielvariablen Mortalität und Länge des stationären Krankenhausaufenthaltes konnte jedoch nicht nachgewiesen werden.

In den multivariaten Modellen wurde bei den folgenden drei Variablen ein unabhängiger Effekt auf die Mortalität festgestellt: SAPS II (HR 1,046), kardiovaskuläre Erkrankungen (HR-Spannbreite: 0,44-0,46) und eine geeignete gezielte Therapie (HR-Spannbreite: 0,25-0,26). Zudem zeigte sich, dass Begleitinfektionen die Wahrscheinlichkeit für einen längeren Krankenhausaufenthalt erhöhten (HR < 1).

Durch die Ergebnisse dieser Arbeit wird die Bedeutung der Gabe einer wirksamen Antibiotika-Therapie bei Patienten mit *P. aeruginosa*-Bakteriämie zur Verringerung der infektionsassoziierten Mortalität hervorgehoben. Diese besteht auch bei verspätetem Ansetzen der Medikation. Dabei muss ein Fokus auf die regelmäßige Kontrolle lokaler Resistenzmuster beispielsweise durch Surveillance-Programme gesetzt werden, mit deren Hilfe angepasste kalkulierte Therapierichtlinien erstellt werden sollten. So kann die Wahrscheinlichkeit erhöht werden, dass bereits frühzeitig eine wirksame Therapie angesetzt wird.

Diese Antibiotika-Therapie sollte zudem mit Maßnahmen der Infektionskontrolle kombiniert werden, um die weitere Verbreitung der Metallo- $\beta$ -Laktamasen-produzierenden *P. aeruginosa* einzudämmen und die durch Begleitinfektionen entstehende Morbidität und zusätzliche Kosten zu vermeiden. Dabei spielt vor allem die Basishygiene wie die Händedesinfektion eine große Rolle. Isolierungsmaßnahmen können nach Abwägung in Bereichen mit Risikopatienten mit schweren Grunderkrankungen wie Intensivstationen in Hygienepläne aufgenommen werden.

## **6 Literaturverzeichnis**

- Abbo, A.; Carmeli, Y.; Navon-Venezia, S.; Siegman-Igra, Y.; Schwaber, M. J. (2007): Impact of multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* on clinical outcomes. In: *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 26 (11), S. 793–800. DOI: 10.1007/s10096-007-0371-8.
- Aloush, V.; Navon-Venezia, S.; Seigman-Igra, Y.; Cabili, S.; Carmeli, Y. (2006): Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors and clinical impact. In: *Antimicrob Agents Chemother.* 50 (1), S. 43–48. DOI: 10.1128/AAC.50.1.43-48.2006.
- Ambler, R. P. (1980): The structure of beta-lactamases. In: *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 289 (1036), S. 321–331.
- Bennett, P. M. (1999): Integrons and gene cassettes: a genetic construction kit for bacteria. In: *J Antimicrob Chemother.* 43 (1), S. 1–4.
- BGU Tübingen (2014): Unsere Klinik: BGU Tübingen. Hg. v. Berufsgenossenschaftliche Unfallklinik Tübingen. Online verfügbar unter <http://www.bgu-tuebingen.de/unsere-klinik.html>, zuletzt geprüft am 19.03.2014.
- Bij, A. K.; van Mansfeld, R.; Peirano, G.; Goessens, W.H.F.; Severin, J. A.; Pitout, J.D.D. et al. (2011): First outbreak of VIM-2 metallo- $\beta$ -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in The Netherlands: microbiology, epidemiology and clinical outcomes. In: *Int J Antimicrob Agents.* 37 (6), S. 513–518. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2011.02.010.
- Bortz, J.; Lienert, G. (2003): Kurzgefasste Statistik für die klinische Forschung. Leitfaden für die verteilungsfreie Analyse kleiner Stichproben. 2. Aufl. Berlin, Heidelberg: Springer Medizin Verlag Heidelberg (Springer-Lehrbuch).
- Bush, K. (2001): New Beta-Lactamases in Gram-Negative Bacteria: Diversity and Impact on the Selection of Antimicrobial Therapy. In: *Clin Infect Dis.* 32 (7), S. 1085–1089. DOI: 10.1086/319610.
- Bush, K.; Jacoby, G. A. (2010): Updated Functional Classification of Beta-Lactamases. In: *Antimicrob Agents Chemother.* 54 (3), S. 969–976. DOI: 10.1128/AAC.01009-09.
- Calandra, T.; Cohen, J. (2005): The international sepsis forum consensus conference on definitions of infection in the intensive care unit. In: *Crit Care Med.* 33 (7), S. 1538–1548.
- Castanheira, M.; Deshpande, L. M.; Costello, A.; Davies, T. A.; Jones, R. N. (2014): Epidemiology and carbapenem resistance mechanisms of carbapenem-non-susceptible *Pseudomonas aeruginosa* collected during 2009–11 in 14 European and Mediterranean countries. In: *J Antimicrob Chemother.* DOI: 10.1093/jac/dku048.
- Charlson, M. E.; Pompei, P.; Ales, K. L.; MacKenzie, C. R. (1987): A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. In: *J Chronic Dis.* 40 (5), S. 373–383.

- CLSI (2012): Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Hg. v. Wayne, P.A.: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Cornaglia, G.; Giamarellou, H.; Rossolini, G. M. (2011): Metallo-beta-lactamases: a last frontier for beta-lactams? In: *Lancet Infect Dis.* 11 (5), S. 381–393. DOI: 10.1016/S1473-3099(11)70056-1.
- Croughs, P. D.; Li, B.; Hoogkamp-Korstanje, J. A. A.; Stobberingh, E. (2013): Thirteen years of antibiotic susceptibility surveillance of *Pseudomonas aeruginosa* from intensive care units and urology services in the Netherlands. In: *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 32 (2), S. 283–288. DOI: 10.1007/s10096-012-1741-4.
- Dantas, R. C.; Ferreira, M. L.; Gontijo-Filho, P. P.; Ribas., R. M. (2014): *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: independent risk factors for mortality and impact of resistance on outcome. In: *J Med Microbiol.* DOI: 10.1099/jmm.0.073262-0.
- Deptuła, A.; Gospodarek, E. (2010): Reduced expression of virulence factors in multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains. In: *Arch Microbiol.* 192 (1), S. 79–84. DOI: 10.1007/s00203-009-0528-1.
- Durakovic, N.; Radojicic, V.; Boban, A.; Mrsic, M.; Sertic, D.; Serventi-Seiwerth, R. et al. (2011): Efficacy and safety of colistin in the treatment of infections caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in patients with hematologic malignancy: a matched pair analysis. In: *Intern Med.* 50 (9), S. 1009–1013.
- ECDC (2013): Point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use in European long-term care facilities. European Centre for Disease Prevention and Control. Stockholm. Online verfügbar unter <http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/healthcare-associated-infections-point-prevalence-survey-long-term-care-facilities-2013.pdf>, zuletzt geprüft am 10.11.2014.
- El-Solh, A. A.; Hattemer, A.; Hauser, A. R.; Alhajhusain, A.; Vora, H. (2012): Clinical outcomes of type III *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia. In: *Crit Care Med.* 40 (4), S. 1157–1163. DOI: 10.1097/CCM.0b013e3182377906.
- EUCAST (2012): Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Hg. v. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Online verfügbar unter [http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Breakpoint\\_tables/Breakpoint\\_table\\_v\\_2.0\\_120221.pdf](http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/Breakpoint_table_v_2.0_120221.pdf), zuletzt geprüft am 19.03.2014.
- EUCAST (2013): Disk diffusion methodology. Hg. v. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Online verfügbar unter [http://www.eucast.org/antimicrobial\\_susceptibility\\_testing/disk\\_diffusion\\_methodology/](http://www.eucast.org/antimicrobial_susceptibility_testing/disk_diffusion_methodology/), zuletzt geprüft am 19.03.2014.
- Falagas, M. E.; Kasiakou, S. K. (2006): Toxicity of polymyxins: a systematic review of the evidence from old and recent studies. In: *Crit Care.* 10 (1), S. R27. DOI: 10.1186/cc3995.

- Fuse, K.; Fujimura, S.; Kikuchi, T.; Gomi, K.; Iida, Y.; Nukiwa, T.; Watanabe, A. (2013): Reduction of virulence factor pyocyanin production in multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. In: *J Infect Chemother*. 19 (1), S. 82–88. DOI: 10.1007/s10156-012-0457-9.
- Gaynes, R.; Edwards, J. R. (2005): Overview of Nosocomial Infections Caused by Gram-Negative Bacilli. In: *Clin Infect Dis*. 41 (6), S. 848–854. DOI: 10.1086/432803.
- Giske, C. G.; Libisch, B.; Colimon, C.; Scoulica, E.; Pagani, L.; Fuzi, M. et al. (2006): Establishing Clonal Relationships between VIM-1-Like Metallo-Beta-Lactamase-Producing *Pseudomonas aeruginosa* Strains from Four European Countries by Multilocus Sequence Typing. In: *J Clin Microbiol*. 44 (12), S. 4309–4315. DOI: 10.1128/JCM.00817-06.
- Goel, N.; Wattal, C.; Oberoi, J. K.; Raveendran, R.; Datta, S.; Prasad, K. J. (2011): Trend analysis of antimicrobial consumption and development of resistance in non-fermenters in a tertiary care hospital in Delhi, India. In: *J Antimicrob Chemother*. 66 (7), S. 1625–1630. DOI: 10.1093/jac/dkr167.
- Gould, I. M.; Wise, R. (1985): *Pseudomonas aeruginosa*: clinical manifestations and management. In: *Lancet*. 2 (8466), S. 1224–1227.
- Gudiol, C.; Carratalà, J. (2014): Antibiotic resistance in cancer patients. In: *Expert Rev Anti Infect Ther*. 12 (8), S. 1003–1016. DOI: 10.1586/14787210.2014.920253.
- Hachem, R. Y.; Chemaly, R. F.; Ahmar, C. A.; Jiang, Y.; Boktour, M. R.; Rjaili, G. A. et al. (2007): Colistin Is Effective in Treatment of Infections Caused by Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Cancer Patients. In: *Antimicrob Agents Chemother*. 51 (6), S. 1905–1911. DOI: 10.1128/AAC.01015-06.
- Hancock, R. E. (1998): Resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and other nonfermentative gram-negative bacteria. In: *Clin Infect Dis*. 27 Suppl 1, S. S93-9.
- Hirakata, Y.; Yamaguchi, T.; Nakano, M.; Izumikawa, K.; Mine, M.; Aoki, S. et al. (2003): Clinical and Bacteriological Characteristics of IMP-Type Metallo- $\beta$ -Lactamase-Producing *Pseudomonas aeruginosa*. In: *Clin Infect Dis*. 37 (1), S. 26–32. DOI: 10.1086/375594.
- Hirsch, E. B.; Cottreau, J. M.; Chang, K.-T.; Caeiro, J.-P.; Johnson, M. L.; Tam, V. H. (2012): A model to predict mortality following *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia. In: *Diagn Microbiol Infect Dis*. 72 (1), S. 97–102. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2011.09.018.
- Hocquet, D.; Berthelot, P.; Roussel-Delvallez, M.; Favre, R.; Jeannot, K.; Bajelet, O. et al. (2007): *Pseudomonas aeruginosa* may accumulate drug resistance mechanisms without losing its ability to cause bloodstream infections. In: *Antimicrob Agents Chemother*. 51 (10), S. 3531–3536. DOI: 10.1128/AAC.00503-07.

- Horino, T.; Chiba, A.; Kawano, S.; Kato, T.; Sato, F.; Maruyama, Y. et al. (2012): Clinical characteristics and risk factors for mortality in patients with bacteremia caused by *Pseudomonas aeruginosa*. In: *Intern Med.* 51 (1), S. 59–64.
- Jeong, S. J.; Yoon, S. S.; Bae, I. K.; Jeong, S. H.; Kim, J. M.; Lee, K. (2014): Risk factors for mortality in patients with bloodstream infections caused by carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact of bacterial virulence and strains on outcome. In: *Diagn Microbiol Infect Dis.* 80 (2), S. 130–135. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2014.07.003.
- Jolley, K. (2014): *Pseudomonas aeruginosa* MLST Database. Online verfügbar unter <http://pubmlst.org/paeruginosa/>, zuletzt geprüft am 19.03.2014.
- Kang, C.-I.; Kim, S.-H.; Park, W. B.; Lee, K.-D.; Kim, H.-B.; Kim, E.-C. et al. (2005): Risk factors for antimicrobial resistance and influence of resistance on mortality in patients with bloodstream infection caused by *Pseudomonas aeruginosa*. In: *Microb Drug Resist.* 11 (1), S. 68–74. DOI: 10.1089/mdr.2005.11.68.
- Kang, C.-I.; Kim, S.-H.; Kim, H.-B.; Park, S.-W.; Choe, Y.-J.; Oh, M. et al. (2003): *Pseudomonas aeruginosa* Bacteremia: Risk Factors for Mortality and Influence of Delayed Receipt of Effective Antimicrobial Therapy on Clinical Outcome. In: *Clin Infect Dis.* 37 (6), S. 745–751. DOI: 10.1086/377200.
- Kerr, K. G.; Snelling, A. M. (2009): *Pseudomonas aeruginosa*: a formidable and ever-present adversary. In: *J Hosp Infect.* 73 (4), S. 338–344. DOI: 10.1016/j.jhin.2009.04.020.
- Kim, J. M.; Park, E. S.; Jeong, J. S.; Kim, K. M.; Oh, H. S.; Yoon, S. W. et al. (2000): Multicenter surveillance study for nosocomial infections in major hospitals in Korea. Nosocomial Infection Surveillance Committee of the Korean Society for Nosocomial Infection Control. In: *Am J Infect Control.* 28 (6), S. 454–458.
- Kirkwood, B. R.; Sterne, J. A.C. (2003): *Essential Medical Statistics*. 2. Aufl. Malden, Massachusetts: Blackwell Science Ltd.
- Krcméry, V.; Spanik, S.; Krupova, I.; Trupl, J.; Kunova, A.; Smid, M.; Pichnova, E. (1998): Bacteremia due to multiresistant gram-negative bacilli in neutropenic cancer patients: a case controlled study. In: *J Chemother.* 10 (4), S. 320–325. DOI: 10.1179/joc.1998.10.4.320.
- KRINKO (2011): Definition der Multiresistenz gegenüber Antibiotika bei gram-negativen Stäbchen im Hinblick auf Maßnahmen zur Vermeidung der Weiterverbreitung - Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention. In: *Epidemiologisches Bulletin des Robert Koch-Instituts* 36, S. 337–339. Online verfügbar unter [http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2011/Ausgaben/36\\_11.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2011/Ausgaben/36_11.pdf?__blob=publicationFile), zuletzt geprüft am 05.03.2014.
- KRINKO (2012): Hygienemaßnahmen bei Infektionen oder Besiedlung mit multiresistenten gramnegativen Stäbchen. Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-

- Institut (RKI). In: *Bundesgesundheitsbl.* 55 (10), S. 1311–1354. DOI: 10.1007/s00103-012-1549-5.
- Kugelberg, E.; Löfmark, S.; Wretling, B.; Andersson, D. I. (2005): Reduction of the fitness burden of quinolone resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. In: *J Antimicrob Chemother.* 55 (1), S. 22–30. DOI: 10.1093/jac/dkh505.
- Lambert, M.-L.; Suetens, C.; Savey, A.; Palomar, M.; Hiesmayr, M.; Morales, I. et al. (2011): Clinical outcomes of health-care-associated infections and antimicrobial resistance in patients admitted to European intensive-care units: a cohort study. In: *Lancet Infect Dis.* 11 (1), S. 30–38. DOI: 10.1016/S1473-3099(10)70258-9.
- Laupland, K. B.; Parkins, M. D.; Church, D. L.; Gregson, D. B.; Louie, T. J.; Conly, J. M. et al. (2005): Population-Based Epidemiological Study of Infections Caused by Carbapenem-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* in the Calgary Health Region: Importance of Metallo- $\beta$ -Lactamase (MBL)-Producing Strains. In: *J Infect Dis.* 192 (9), S. 1606–1612. DOI: 10.1086/444469.
- Lautenbach, E.; Synnestvedt, M.; Weiner, M. G.; Bilker, W. B.; Vo, L.; Schein, J.; Kim, M. (2010): Imipenem Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Emergence, Epidemiology, and Impact on Clinical and Economic Outcomes. In: *Infect Control Hosp Epidemiol.* 31 (1), S. 47–53. DOI: 10.1086/649021.
- Leclercq, R.; Cantón, R.; Brown, D. F. J.; Giske, C. G.; Heisig, P.; MacGowan, A. P. et al. (2013): EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. In: *Clin Microbiol Infect.* 19 (2), S. 141–160. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2011.03703.x.
- Lee, M.-F.; Peng, C.-F.; Hsu, H.-J.; Chen, Y.-H. (2008): Molecular characterisation of the metallo- $\beta$ -lactamase genes in imipenem-resistant Gram-negative bacteria from a university hospital in southern Taiwan. In: *Int J Antimicrob Agents.* 32 (6), S. 475–480. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2008.07.009.
- LeGall, J. R.; Lemeshow, S.; Saulnier, F. (1993): A new Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) based on a European/North American multicenter study. In: *JAMA.* 270 (24), S. 2957–2963.
- Livermore, D. M. (2002): Multiple Mechanisms of Antimicrobial Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Our Worst Nightmare? In: *Clin Infect Dis.* 34 (5), S. 634–640. DOI: 10.1086/338782.
- Lodise, T. P.; Patel, N.; Kwa, A.; Graves, J.; Furuno, J. P.; Graffunder, E. et al. (2007): Predictors of 30-Day Mortality among Patients with *Pseudomonas aeruginosa* Bloodstream Infections: Impact of Delayed Appropriate Antibiotic Selection. In: *Antimicrob Agents Chemother.* 51 (10), S. 3510–3515. DOI: 10.1128/AAC.00338-07.
- Lucena, A.; Dalla Costa, L. M.; Nogueira, K. S.; Matos, A. P.; Gales, A. C.; Paganini, M. C. et al. (2014): Nosocomial infections with metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*: molecular epidemiology, risk factors, clinical features and outcomes. In: *Journal of Hospital Infection* 87 (4), S. 234–240. DOI: 10.1016/j.jhin.2014.05.007.

- Martis, N.; Leroy, S.; Blanc, V. (2014): Colistin in multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* blood-stream infections. In: *J Infect*. DOI: 10.1016/j.jinf.2014.03.001.
- Micek, S. T.; Lloyd, A. E.; Ritchie, D. J.; Reichley, R. M.; Fraser, V. J.; Kollef, M. H. (2005): *Pseudomonas aeruginosa* Bloodstream Infection: Importance of Appropriate Initial Antimicrobial Treatment. In: *Antimicrob Agents Chemother*. 49 (4), S. 1306–1311. DOI: 10.1128/AAC.49.4.1306-1311.2005.
- Montero, M.; Horcajada, J. P.; Sorlí, L.; Alvarez-Lerma, F.; Grau, S.; Riu, M. et al. (2009): Effectiveness and safety of colistin for the treatment of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections. In: *Infection*. 37 (5), S. 461–465. DOI: 10.1007/s15010-009-8342-x.
- Morata, L.; Cobos-Trigueros, N.; Martinez, J. A.; Soriano, A.; Almela, M.; Marco, F. et al. (2012): Influence of Multidrug Resistance and Appropriate Empirical Therapy on the 30-Day Mortality Rate of *Pseudomonas aeruginosa* Bacteremia. In: *Antimicrob Agents Chemother*. 56 (9), S. 4833–4837. DOI: 10.1128/AAC.00750-12.
- Morelli, A.; Ertmer, C.; Westphal, M.; Rehberg, S.; Kampmeier, T.; Ligges, S. et al. (2013): Effect of Heart Rate Control With Esmolol on Hemodynamic and Clinical Outcomes in Patients With Septic Shock. In: *JAMA*. 310 (16), S. 1683. DOI: 10.1001/jama.2013.278477.
- Oliveira, A. L.; Souza, M. de; Carvalho-Dias, V. M. H.; Ruiz, M. A.; Silla, L.; Tanaka, P. Yurie et al. (2007): Epidemiology of bacteremia and factors associated with multi-drug-resistant gram-negative bacteremia in hematopoietic stem cell transplant recipients. In: *Bone Marrow Transplant*. 39 (12), S. 775–781. DOI: 10.1038/sj.bmt.1705677.
- Osih, R. B.; McGregor, J. C.; Rich, S. E.; Moore, A. C.; Furuno, J. P.; Perencevich, E. N.; Harris, A. D. (2007): Impact of Empiric Antibiotic Therapy on Outcomes in Patients with *Pseudomonas aeruginosa* Bacteremia. In: *Antimicrob Agents Chemother*. 51 (3), S. 839–844. DOI: 10.1128/AAC.00901-06.
- Ott, E.; Saathoff, S.; Graf, K.; Schwab, F.; Chaberny, I. F. (2013): The prevalence of nosocomial and community acquired infections in a university hospital: an observational study. In: *Deutsches Ärzteblatt international* 110 (31-32), S. 533–540. DOI: 10.3238/arztebl.2013.0533.
- Peña, C.; Gómez-Zorrilla, S.; Suarez, C.; Dominguez, M. A.; Tubau, F.; Arch, O. et al. (2012): Extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk of bloodstream infection in hospitalized patients. In: *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 31 (10), S. 2791–2797. DOI: 10.1007/s10096-012-1629-3.
- Pier, G. B.; Ramphal, R. (2009): *Pseudomonas aeruginosa*. In: G. L. Mandell, J. E. Bennett und R. Dolin (Hg.): *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 7. Aufl. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier, S. 2835–2859.
- Pitout, J. D.; Gregson, D. B.; Poirel, L.; McClure, J.-A.; Le, P.; Church, D. L. (2005): Detection of *Pseudomonas aeruginosa* Producing Metallo-Beta-

## 6 Literaturverzeichnis

- Lactamases in a Large Centralized Laboratory. In: *J Clin Microbiol.* 43 (7), S. 3129–3135.
- Ranjan, S.; Banashankari, G.; Babu, P. S. (2014): Comparison of epidemiological and antibiotic susceptibility pattern of metallo-Beta-lactamase-positive and metallo-Beta-lactamase-negative strains of *Pseudomonas aeruginosa*. In: *J Lab Physicians.* 6 (2), S. 109–113. DOI: 10.4103/0974-2727.141509.
- Riccio, M. L.; Pallecchi, L.; Fontana, R.; Rossolini, G. M. (2001): In70 of Plasmid pAX22, a blaVIM-1-Containing Integron Carrying a New Aminoglycoside Phosphotransferase Gene Cassette. In: *Antimicrob Agents Chemother.* 45 (4), S. 1249–1253. DOI: 10.1128/AAC.45.4.1249-1253.2001.
- Schechner, V.; Nobre, V.; Kaye, K. S.; Leshno, M.; Giladi, M.; Rohner, P. et al. (2009): Gram-Negative Bacteremia upon Hospital Admission: When Should *Pseudomonas aeruginosa* Be Suspected? In: *Clin Infect Dis.* 48 (5), S. 580–586. DOI: 10.1086/596709.
- Schwarzwälder Bote Mediengesellschaft mbH (2012): Hechingen: Klinik schließt am Donnerstag - Schwarzwälder Bote. Online verfügbar unter <http://www.schwarzwaelder-bote.de/inhalt.hechingen-klinik-schliesst-am-donnerstag.6084c24a-ac30-4b6a-82a5-1080339a3795.html>, zuletzt aktualisiert am 22.06.2012, zuletzt geprüft am 19.03.2014.
- Scoulica, E. V.; Neonakis, I. K.; Gikas, A. I.; Tselentis, Y. J. (2004): Spread of blaVIM-1-producing *E. coli* in a university hospital in Greece. Genetic analysis of the integron carrying the blaVIM-1 metallo- $\beta$ -lactamase gene. In: *Diagn Microbiol Infect Dis.* 48 (3), S. 167–172. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2003.09.012.
- Sievert, D. M.; Ricks, P.; Edwards, J. R.; Schneider, A.; Patel, J.; Srinivasan, A. et al. (2013): Antimicrobial-Resistant Pathogens Associated with Healthcare-Associated Infections: Summary of Data Reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009–2010. In: *Infect Control Hosp Epidemiol.* 34 (1), S. 1–14. DOI: 10.1086/668770.
- Simonetti, A.; Ottaiano, E.; Diana, M. V.; Onza, C.; Triassi, M. (2013): Epidemiology of hospital-acquired infections in an adult intensive care unit: results of a prospective cohort study. In: *Ann Ig.* 25 (4), S. 281–289.
- Stover, C. K.; Pham, X. Q.; Erwin, A. L.; Mizoguchi, S. D.; Warren, P.; Hickey, M. J. et al. (2000): Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen. In: *Nature.* 406 (6799), S. 959–964. DOI: 10.1038/35023079.
- Tam, V. H.; Rogers, C. A.; Chang, K.-T.; Weston, J. S.; Caeiro, J.-P.; Garey, K. W. (2010): Impact of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia on patient outcomes. In: *Antimicrob Agents Chemother.* 54 (9), S. 3717–3722. DOI: 10.1128/AAC.00207-10.
- Tumbarello, M.; Repetto, E.; Treccarichi, M. E.; Bernardini, C.; Pascale de, G.; Parisini, A. et al. (2011): Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*

## 6 Literaturverzeichnis

- bloodstream infections: risk factors and mortality. In: *Epidemiol. Infect.* 139 (11), S. 1740–1749.
- UKT (2013): Kliniken. Hg. v. Universitätsklinikum Tübingen. Online verfügbar unter <http://www.medizin.uni-tuebingen.de/Zuweiser/Kliniken.html>, zuletzt aktualisiert am 05.09.2013, zuletzt geprüft am 19.03.2014.
- UKT (2014): Klinikum und Fakultät: Zahlen, Daten, Fakten. Hg. v. Universitätsklinikum Tübingen. Online verfügbar unter [http://www.medizin.uni-tuebingen.de/Presse\\_Aktuell-p-126/Unternehmensdaten/Daten+und+Fakten.html](http://www.medizin.uni-tuebingen.de/Presse_Aktuell-p-126/Unternehmensdaten/Daten+und+Fakten.html), zuletzt aktualisiert am 30.01.2014, zuletzt geprüft am 19.03.2014.
- Vandenbroucke, J. P.; Elm, E.; Altman, D. G.; Gøtzsche, P. C.; Mulrow, C. D.; Pocock, S. J. et al. (2007): Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE): Explanation and Elaboration. In: *Plos Med.* 4 (10), S. e297. DOI: 10.1371/journal.pmed.0040297.
- Walsh, T. R.; Toleman, M. A.; Poirel, L.; Nordmann, P. (2005): Metallo-Beta-Lactamases: the Quiet before the Storm? In: *Clin Microbiol Rev.* 18 (2), S. 306–325. DOI: 10.1128/CMR.18.2.306-325.2005.
- Willmann, M.; Kuebart, I.; Marschal, M.; Schröppel, K.; Vogel, W.; Flesch, I. et al. (2013): Effect of metallo- $\beta$ -lactamase production and multidrug resistance on clinical outcomes in patients with *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infection: a retrospective cohort study. In: *BMC Infect Dis.* 13 (1), S. 515. DOI: 10.1186/1471-2334-13-515.
- Wolinsky, E.; Hines, J. D. (1962): Neurotoxic and Nephrotoxic Effects of Colistin in Patients with Renal Disease. In: *N Engl J Med.* 266 (15), S. 759–762. DOI: 10.1056/NEJM196204122661505.
- Zavascki, A. P.; Barth, A. L.; Gonçalves, A. L.; Moro, A. L.; Fernandes, J. F.; Martins, A. F. et al. (2006): The influence of metallo-beta-lactamase production on mortality in nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* infections. In: *J Antimicrob Chemother.* 58 (2), S. 387–392. DOI: 10.1093/jac/dkl239.
- Ziegler, A.; Lange, S.; Bender, R. (2007): Überlebenszeitanalyse: Die Cox-Regression. In: *Dtsch Med Wochenschr.* 132, S. e42-e44.
- Zollernalb Klinikum GmbH (2014): Zollernalb Klinikum: Geschäftsführung. Online verfügbar unter <http://www.zollernalb-klinikum.de/wir-ueberuns/geschaeftsfuehrung/>, zuletzt geprüft am 19.03.2014.
- Zwiener, I.; Blettner, M.; Hommel, G. (2011): Überlebenszeitanalyse. In: *Dtsch Ärztebl.* 108 (10), S. 163–169.

## **7 Veröffentlichungen**

Inhalte der vorliegenden Dissertationsschrift wurden bereits teilweise in den folgenden Publikationen veröffentlicht:

Willmann, M.; Kuebart, I.; Marschal, M.; Schröppel, K.; Vogel, W.; Flesch, I.; Markert, U.; Autenrieth, I. B.; Hölzl, F.; Peter, S. (2013): Effect of metallo- $\beta$ -lactamase production and multidrug resistance on clinical outcomes in patients with *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infection: a retrospective cohort study. In: BMC Infect. Dis. 13, S. 515. DOI: 10.1186/1471-2334-13-515

Willmann, M.; Kuebart, I.; Vogel, W.; Flesch, I.; Markert, U.; Marschal, M.; Schröppel, K.; Autenrieth, I. B.; Hölzl, F.; Peter, S. (2013): Time to positivity as prognostic tool in patients with *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infection. In: J Infect. 67(5), S. 416-423. DOI: 10.1016/j.jinf.2013.06.012

## **Erklärung zum Eigenanteil**

Ich, Ines Kuebart, geboren am 14.12.1988 in Heilbronn, habe die Dissertationsschrift „Auswirkungen von Metallo- $\beta$ -Laktamase-Produktion und Multiresistenz auf die Mortalität und die Länge des stationären Krankenhausaufenthaltes bei Patienten mit *Pseudomonas aeruginosa*-Bakteriämie: Eine retrospektive Kohortenstudie“ selbst verfasst.

Ich habe keine anderen als die ausdrücklich bezeichneten Quellen und Hilfsmittel verwendet und wörtlich oder inhaltlich übernommene Stellen als solche gekennzeichnet.

Bei der Umsetzung der Arbeit bestand mein Hauptanteil in der verblindeten Erhebung aller klinischer Daten der in der Studie untersuchten Patienten an dem Universitätsklinikum Tübingen, der Berufsgenossenschaftlichen Unfallklinik Tübingen und den Zollernalb Kliniken Albstadt, Balingen und Hechingen. Zudem übernahm ich Teile der statistischen Auswertung und der Zusammenstellung der Ergebnisse unter Anleitung von Dr. Matthias Willmann.

Der Studienaufbau wurde von meinem Betreuer Dr. Matthias Willmann konzipiert, der die Untersuchung auch geleitet hat. Die mikrobiologische Diagnostik wurde von Dr. Matthias Willmann, Dr. Silke Peter, Dr. med. Matthias Marschal, Kerstin Fischer, Nenad Katava und Nadine Hoffmann durchgeführt. Die statistische Datenanalyse der Ergebnisse und die Verfassung der Veröffentlichungen erfolgten durch Dr. Matthias Willmann.

Dr. med. Ingo Flesch ermöglichte den Zugang zu den klinischen Daten an der Berufsgenossenschaftlichen Unfallklinik Tübingen und half bei der Auswertung dieser.

## **Danksagung**

Hiermit möchte ich mich bei allen bedanken, die mich in meiner Zeit als Doktorandin unterstützt und gestärkt haben.

Dabei gilt mein größter Dank meinem Doktorvater Professor Dr. med. Ingo B. Autenrieth für die Annahme als Doktorandin und meinem Betreuer Dr. Matthias Willmann. Durch die gute persönliche Betreuung, die Leitung der Untersuchung einschließlich der Erstellung des Studienaufbaus und die statistische Analyse der Daten wurde mir der Einstieg in das wissenschaftliche Arbeiten und die Umsetzung der vorliegenden Dissertation ermöglicht.

Zudem danke ich meinem Zweitgutachter Professor Dr. med. Lothar Kanz.

Weiterhin möchte ich mich bei allen anderen an der Umsetzung der Studie Beteiligten bedanken: Ein großes Dankeschön an Dr. Matthias Willmann, Dr. Silke Peter, Dr. med. Matthias Marschal und die medizinisch-technischen Assistentinnen Kerstin Fischer, Nenad Katava und Nadine Hoffmann für die Durchführung der mikrobiologischen Diagnostik.

Vielen Dank an Dr. med. Ingo Flesch, Mareike Tippmann und das Team des Archivs der Berufsgenossenschaftlichen Unfallklinik Tübingen und Ferdinand Faigle von den Zollernalb Kliniken für die Unterstützung bei der Suche nach Patientendaten.

Zudem bedanke ich mich bei Peter Kühnel, der mir bei EDV-Fragen tatkräftige Hilfe geleistet hat, und bei Prof. Dr. med. Wichard Vogel, Michael Binder und Gabriele Engelman für die gute Zusammenarbeit bei der Suche nach Patientendaten am Universitätsklinikum Tübingen.

Zu guter Letzt ein herzliches Dankeschön an meine Kommilitonin und Freundin Anja Schork und meinen Vater Jörg Kuebart für das Korrekturlesen meiner Arbeit und die wertvolle Kritik und an meine Mutter Brigitte Kuebart, Kurt Wenninger und Dr. Gunda Rosenauer für die Unterstützung und Motivation.