

**Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene
der Universität Tübingen**

Ärztlicher Direktor: Professor Dr. I. B. Autenrieth

**Mikrobiologische Schnelldiagnostik gramnegativer
Erreger aus Flüssigkulturen an den Beispielen
Sepsis und Harnwegsinfektion und deren
Bedeutung für die antibiotische Therapie**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Dominik Loos

**aus
Aalen**

2009

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. I. B. Autenrieth

2. Berichterstatter: Frau Privatdozentin Dr. A. Heining

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	6
1.1	Bakteriämie und Sepsis	6
1.1.1	Definition und Pathogenese der gramnegativen Sepsis.....	6
1.1.2	Epidemiologie der Sepsis und Erregerspektrum	9
1.1.3	Diagnostik.....	10
1.1.4	Behandlungskonzepte und Aspekte der Antibiotikatherapie.....	12
1.2	Bakteriurie und Harnwegsinfektion.....	15
1.2.1	Definitionen und Pathogenese	15
1.2.2	Epidemiologie.....	16
1.2.3	Diagnostik.....	16
1.2.4	Therapie	17
1.3	Zielsetzung der vorliegenden Arbeit	18
2	Material und Methoden	20
2.1	Material.....	20
2.1.1	Geräte und Geräteartikel.....	20
2.1.2	Andere Verbrauchsartikel.....	21
2.2	Methoden	21
2.2.1	Mikrobiologische Diagnostik	21
2.2.1.1	Blutkulturdiagnostik	21
2.2.1.1.1	Routineverfahren	21
2.2.1.1.2	Studienverfahren.....	24
2.2.1.2	Urinproben-Diagnostik.....	25
2.2.1.2.1	Routineverfahren	25
2.2.1.2.2	Studienverfahren zur Genauigkeit des Uro-Quick - Systems.....	27
2.2.1.2.3	Studienverfahren zur Antibiogrammerstellung aus Urinproben ..	27
2.2.2	Studienaufbau	28
2.2.2.1	Blutkulturen und Sepsis.....	28
2.2.2.1.1	Mikrobiologisch-diagnostischer Teil.....	28
2.2.2.1.2	Klinisch-therapeutischer Teil	32
2.2.2.2	Urinproben und Harnwegsinfektion	33
2.2.2.2.1	Überprüfung der Genauigkeit des Uro-Quick 60 - Systems.....	33
2.2.2.2.2	Schnellverfahren zur Antibiogrammerstellung aus Urinproben...	34
2.2.2.2.2.1	Mikrobiologisch-diagnostischer Teil.....	34
2.2.2.2.2.2	Klinisch-therapeutischer Teil	37
2.2.3	Statistische Analyse	37
3	Ergebnisse.....	40
3.1	Blutkulturen und Sepsis.....	40
3.1.1	Mikrobiologisch-diagnostischer Teil.....	40
3.1.1.1	Erregerspektrum	40
3.1.1.2	Identifizierungen.....	40
3.1.1.3	Resistenzen gegen Antibiotika	42
3.1.1.4	Zeitbedarf.....	46
3.1.2	Klinisch-therapeutischer Teil	47
3.1.2.1	Patienten	47
3.1.2.2	Antibiotische Therapien	48

3.1.2.3	Berechnung des klinischen Effekts der VMF und MF	51
3.2	Urinproben und Harnwegsinfektion	53
3.2.1	Genauigkeit des Uro-Quick – Systems.....	53
3.2.1.1	Erregerspektrum	53
3.2.1.2	Genauigkeit des Uro-Quick 60	54
3.2.2	Schnellverfahren zur Antibiogrammerstellung aus Urinproben.....	57
3.2.2.1	Mikrobiologisch-diagnostischer Teil.....	57
3.2.2.1.1	Erregerspektrum und Probenübersicht	57
3.2.2.1.2	Resistenzen gegen Antibiotika	58
3.2.2.1.3	Zeitbedarf.....	58
3.2.2.2	Klinisch-therapeutischer Teil	60
3.2.2.2.1	Patienten	60
3.2.2.2.2	Antibiotische Therapien	61
4	Diskussion	63
4.1	Blutkulturen und Sepsis.....	63
4.1.1	Mikrobiologisch-diagnostischer Teil.....	63
4.1.1.1	Identifizierungen.....	64
4.1.1.2	Resistenzen gegen Antibiotika	66
4.1.1.3	Penizilline mit BLI und Probleme der „in vitro“ - Testung	69
4.1.1.4	Zeitbedarf und Kosten	70
4.1.1.5	Grenzen.....	71
4.1.2	Klinisch-therapeutischer Teil	72
4.1.2.1	Einfluss mikrobiologischer Diagnostik auf die antibiotische	72
4.1.2.2	Klinischer Substanzgebrauch und spezielle Beurteilung der	74
mikrobiologisch-diagnostischen Ergebnisse im klinischen Kontext		74
4.1.2.3	Leitlinien und „die optimale antibiotische Therapie“	78
4.1.2.4	Grenzen.....	81
4.2	Urinproben und Harnwegsinfektion	82
4.2.1	Genauigkeit des Uro-Quick – Systems.....	82
4.2.1.1	Urinprobenscreening	82
4.2.1.2	Grenzen.....	86
4.2.2	Schnellverfahren zur Antibiogrammerstellung aus Urinproben.....	86
4.2.2.1	Mikrobiologisch-diagnostischer Teil.....	86
4.2.2.1.1	Resistenzen gegen Antibiotika	86
4.2.2.1.2	Grenzen.....	88
4.2.2.2	Klinisch-therapeutischer Teil	88
4.2.2.2.1	Einfluss mikrobiologischer Diagnostik auf die Therapie	88
4.2.2.2.2	Wirkstoffgebrauch und Leitlinien	90
4.2.2.2.3	Grenzen.....	91
4.3	Schlussfolgerung und Ausblick.....	92
4.3.1	Blutkulturen und Sepsis.....	92
4.3.2	Urinproben und Harnwegsinfektion	93
4.3.2.1	Uro - Quick.....	93
4.3.2.2	Schnellverfahren zur Antibiogrammerstellung aus Urinproben.....	94
4.3.3	Ausblick.....	95
5	Zusammenfassung	97
5.1	Blutkulturen und Sepsis.....	97

5.2	Urinproben und Harnwegsinfektion	98
5.3	Bewertung der Studienergebnisse	99
6	Abkürzungen	100
7	Anhang	103
8	Literatur	108
9	Danksagung	128
10	Lebenslauf	129

1 Einleitung

Die Identifizierung von Mikroorganismen aus klinischen Proben sowie deren Testung auf das Vorliegen von Resistenzen gegen Antibiotika (Resistenztestung), besitzt einen zentralen Stellenwert bei der medizinischen Versorgung von Patienten mit Infektionen. Für die klinisch wichtigen Krankheitsbilder Sepsis und Harnwegsinfektion hat die Erregerdiagnostik, die z.B. mit Hilfe von Fest- oder Flüssignährmedien erfolgen kann, eine besondere Bedeutung. Gramnegative Stäbchenbakterien sind häufig Verursacher solcher Infektionen. Die Diagnostik dieser Keime mittels Flüssigkulturen aus Blut und Urin und deren klinische Bedeutung für die antiinfektiöse Therapie waren Gegenstand dieser Arbeit.

1.1 Bakteriämie und Sepsis

1.1.1 Definition und Pathogenese der gramnegativen Sepsis

Als Bakteriämie bezeichnet man das Auftreten von Bakterien im Blut (187). Eintrittspforten für Mikroorganismen stellen häufig kleinste Gewebeschäden dar, wie sie z.B. beim Zähneputzen entstehen können. Die meisten Bakteriämien verlaufen ohne eine klinische Symptomatik, da Fremdorganismen durch ein gesundes Immunsystem schnell aus dem Blutstrom entfernt werden (202).

Kann die Quelle der eindringenden Keime durch das körpereigene Immunsystem jedoch nicht oder nur unzureichend beseitigt werden, so dass ständig Mikroorganismen im Blut zirkulieren, kann sich aus einer symptomfreien Bakteriämie eine Sepsis entwickeln. Aufgrund von Instabilitäten eines nicht mehr bzw. noch nicht voll funktionsfähigen Immunsystems sind besonders ältere Patienten und Neugeborene gefährdet (66,187). In Abhängigkeit charakteristischer Befunde und klinischer Symptome werden laut der „International Sepsis Definitions Conference“ verschiedene Stadien der Sepsis unterschieden (136):

<i>Stadium</i>	<i>Diagnosekriterien</i>
<i>SIRS (systemic inflammatory response syndrome)</i>	<p>Mindestens 2 von 4 Kriterien:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Hyper- oder Hypothermie (>38°C oder <36°C) - Tachypnoe (> 20 Atemzüge/min. oder pCO₂ <32 mmHg) - Tachykardie (> 90 Schläge/min.) - Leukozytenzahlveränderung (> 12.000 /µl oder < 4000 /µl oder >10% Stabkernige)
<i>Sepsis</i>	<i>SIRS + Nachweis einer Infektion</i>
<i>Schwere Sepsis</i>	<i>Sepsis + Zeichen einer Organdysfunktion oder Hypoperfusion (Hypotonie, Oligurie, Bewusstseinsstörungen u.a.)</i>
<i>Septischer Schock</i>	<i>Sepsis + Hypotonie für mindestens 2 Stunden (systolischer Blutdruck ≤ 90 mmHg oder Mitteldruck ≤ 70 mmHg trotz adäquater Volumenzufuhr oder Notwendigkeit eines Vasopressoreinsatzes zur Aufrechterhaltung des Blutdrucks über diesen Werten)</i>

Diese Stadien spiegeln verschiedene Stufen der Immunantwort eines Patienten wider. Abbildung 1 zeigt verschiedene Pathomechanismen bei der Entstehung der Sepsis auf. Eine wichtige Rolle im Falle der gramnegativen Sepsis spielen die für diese Bakteriengruppe spezifischen Zellwandkomponenten, die als Lipopolysaccharide (LPS) oder Endotoxine bezeichnet werden (191,217). Werden bei einer Sepsis Endotoxinfragmente freigesetzt, bilden verschiedene LPS-Bindungsproteine (LBP, gelöstes CD14) mit diesen Komplexe aus (200). Über spezielle Rezeptorsysteme (Toll-like receptors/TLRs, MD-2) binden derartige Komplexe an Immun- und Endothelzellen, welche dadurch zur Ausschüttung einer Vielzahl an pro- und antiinflammatorischen Zytokinen (Interleukine, Tumor-Nekrose-Faktor/TNF u.a.) und Mediatoren angeregt werden (16,152,188). Marshall beschrieb diesen Wirkmechanismus des LPS

auf Zellen als hormonähnlich (148). Bei lokalen Infektionen dient die initiierte Entzündungsreaktion protektiv einer möglichst schnellen Eliminierung pathogener Organismen aus dem Körper (104). Persistieren Keime jedoch im Blut, wird der Grad einer lokalen Inflammation schnell überschritten.

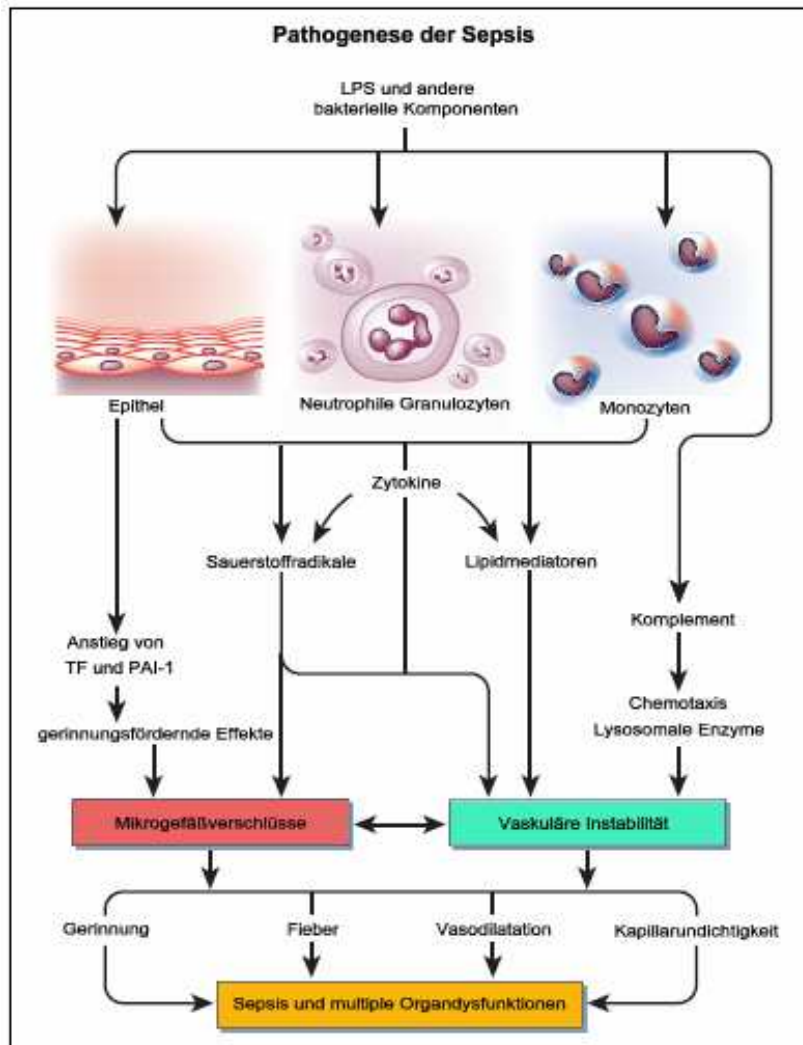


Abbildung 1: Das nach Cohen (39) modifizierte Schema gibt Zusammenhänge verschiedener Pathomechanismen der Entstehung einer Sepsis wider. (Anmerkungen: TF: tissue factor / Gewebefaktor ; PAI-1: Plasminogen Aktivator Inhibitor Typ 1)

Die Pathogenese der Sepsis ist durch Dysregulation des beschriebenen Systems gekennzeichnet (39,98): Es kommt zur übermäßigen Bildung von Entzündungsmediatoren. Allgemeinsymptome wie Fieber, Tachypnoe, Tachykardie und eine veränderte Leukozytenanzahl (zunächst Anstieg) können klinisch in

Erscheinung treten. Im weiteren Verlauf der Sepsis spielen systemische Effekte auf das Gefäß- und Gerinnungssystem eine entscheidende Rolle (5,83,130,213). Verschiedene Entzündungsmediatoren erhöhen die Durchlässigkeit von Gefäßen und schädigen das Endothel, wodurch das intravasale Volumen abnimmt. Der Blutdruck fällt ab. Dies kann wiederum zur Minderdurchblutung von Organen führen. Zunehmende Hypotonie sowie sekundäre Dysfunktionen des endokrinen Systems (gestörte Ausschüttung von Hormonen wie Kortisol, Insulin) führen schließlich zu Multiorganversagen, Schock und Kreislaufversagen (205). Durch Aktivierung der Gerinnungskaskade bilden sich Gerinnsel aus. Dabei werden Gerinnungsfaktoren verbraucht (Verbrauchskoagulopathie) und es kommt in der Folge vermehrt zu Hämorrhagien (Blutungen).

1.1.2 Epidemiologie der Sepsis und Erregerspektrum

In den meisten Industriestaaten weist die schwere Sepsis mit 50 - 100 Fällen pro 100.000 Personen eine hohe und ständig zunehmende Inzidenz auf (149, 150,160). Trotz Intensivtherapie wird die Sepsis auch heute noch zu den zehn häufigsten Todesursachen für Erwachsene in den USA und für Kinder weltweit gezählt (3,30). Studien ermittelten für verschiedene Stadien und Patientenkollektive Letalitätsraten zwischen 20% und über 50% (2,4,56,64,116). Die Behandlungskosten sind enorm hoch (4,18). Das Kompetenznetzwerk Sepsis ermittelte für die schwere Sepsis auf deutschen Intensivstationen eine 90-Tage-Sterblichkeit von 54% und assoziierte Kosten von 1,77 Mrd. € (29). Gramnegative Keime (v.a. resistente Stämme) weisen verhältnismäßig hohe Sterblichkeitsraten auf (2,116). Bone hat die gramnegative Sepsis schon 1993 als „Dilemma of modern medicine“ bezeichnet (23). Seitdem konnte die Letalität nicht wesentlich gesenkt werden.

Gramnegative Stäbchen treten häufig als Erreger nosokomialer Infektionen in Erscheinung. In Tabelle 1 sind die laut KISS (Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System) zwischen 1997 und 2002 häufigsten Erreger noso-

komialer Infektionen auf deutschen Intensivstationen dargestellt (81). Erregerspektren variieren sowohl international als auch regional und verändern sich im Laufe der Zeit. In einer im Jahr 2005 veröffentlichten Publikation von NNIS (National Nosocomial Infections Surveillance System) wurden 23,8% der nosokomialen Sepsis durch gramnegative Keime verursacht (80). Unter gramnegativen Stäbchen dominieren Enterobacteriaceae, die als Bestandteil der humanen Darmflora (<1%) häufig als Erreger endogener Infektionen auftreten (63). Daneben sind Non-Fermenter aufgrund ihrer Umweltstabilität und natürlicher Antibiotikaresistenzen als fakultativ pathogene exogene Keime gefürchtet (165).

Die häufigsten Erreger device-assoziiertes* nosokomialer Infektionen auf deutschen Intensivstationen nach KISS (1997-2002)

Keim	Gesamtanteil an allen NI (in%)	Anteil der fünf jeweils häufigsten Erreger (in%)		
		Sepsis	Pneumonie	HWI
<i>Staphylococcus aureus</i>	16,5	14,9	21,5	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14,2		18,0	14,0
<i>Escherichia coli</i>	13,9		9,4	25,4
Enterokokken	13,4	11,1		23,8
<i>Candida albicans</i>	11,2			11,3
<i>Klebsiella ssp.</i>	9,1	4,9	11,8	6,2
KNS (Koag-neg. Staph.)	9,1	31,0		
<i>Enterobacter ssp.</i>	7,4	4,8	9,6	

Tabelle 1: Ergebnisse der 2004 veröffentlichten Studie des Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System (KISS) (81). Gramnegative Keime sind fett hervorgehoben. (Anmerkungen: device*=Gefäßkatheter, Beatmung, Harnwegkatheter; NI = nosokomiale Infektion; KNS = Koagulase-negative Staphylokokken).

1.1.3 Diagnostik

Beim Vorliegen der entsprechenden Klinik erfolgt die Diagnosesicherung einer Sepsis durch den mikrobiologischen Nachweis pathogener Keime im Blut. Durch Beimpfung von Blutkulturflaschen, die flüssige Nährmedien zur Bakterienanzucht enthalten, mit einer venösen Blutprobe und anschließender Bebrütung erfolgt der Nachweis einer Bakteriämie. Bei bis zu 79% aller Sepsispatienten kann jedoch keine Bakteriämie nachgewiesen werden (101,203). Ursache hierfür ist häufig der Beginn einer antibiotischen Therapie vor der Abnahme von Blutkulturen. Dadurch vorgeschädigte Keime können oft

nicht mehr angezüchtet werden. Mikroorganismen sind darüber hinaus nur zyklisch, am häufigsten im Fieberanstieg, nachweisbar (38). Fallen beim Vorliegen typischer Symptome Blutkulturergebnisse negativ aus, spricht man auch von einer klinischen Sepsis (101).

Die Blutkulturdiagnostik umfasst folgende Vorgehensschritte: Im Bereich der Präanalytik ist eine korrekte aseptische Blutkulturabnahme durch den Klinikarzt zur Reduktion schwer interpretierbarer Ergebnisse von entscheidender Bedeutung (38,203). In diesem Zusammenhang ist v.a. der Nachweis von Organismen der physiologischen Hautflora im Blut problematisch, da diese iatrogen (bei der venösen Punktion durch den Arzt) verschleppt sein können (156,230). Die Transportzeit einer Probe zum mikrobiologischen Labor sollte möglichst kurz sein, da Keime im Blutkulturmedium schnell wachsen. Hierbei reichern sie CO₂ (Stoffwechselprodukt) an. Da ein Keimnachweis auf einem Anstieg der CO₂-Konzentration basiert, können in bereits CO₂-gesättigten Proben Organismen im Labor nicht mehr optimal detektiert werden. Als Standard der Blutkulturdiagnostik haben sich in der modernen Mikrobiologie automatisierte Systeme wie das mehrfach evaluierte Bactec 9240[®] (Becton Dickinson) und andere Geräte (z.B. BacT/ALERT[®], bioMérieux) durchgesetzt (67,157,171). Vorteil von Automaten gegenüber manuellen Verfahren ist eine schnellere Keimdetektion. Können Mikroorganismen angezüchtet werden, schließt sich deren Identifizierung und Testung auf Resistenzen gegen Antibiotika an. Aus klinischer und ökonomischer Sicht ist zur Anpassung einer antimikrobiellen Therapie eine schnelle Diagnostik stets erforderlich. Im Falle der Sepsis hat diese sogar einen entscheidenden Einfluss auf die Prognose des Patienten: Doern et. al konnten eine signifikante Letalitätssenkung durch Anwendung zeitsparender mikrobiologischer Schnellverfahren nachweisen (59). Weitere Vorteile gerätegestützter Schnell diagnostik sind Kostensenkung und eine Verminderung der Liegedauer von Patienten (9,13). Trenholme et al. konnten bereits 1989 zeitliche und ökonomische Vorteile einer raschen Blutkulturdiagnostik nachweisen (215). Eine schnelle Identifizierung und Testung von Sepsiserregern auf Antibiotikaresistenzen wurde von mehreren

Autoren als wichtigste Aufgabe der Mikrobiologie überhaupt bezeichnet (45,46,88,161). Aus zeitlichen Gründen wird im Labor deshalb zunächst mittels Agardiffusionstest direkt aus der positiv-gemeldeten Blutkultur ein vorläufiges Antibiotogramm erstellt. Mit Hilfe zeitintensiverer, standardisierter Tests wird schließlich ein Endbefund erhoben. Zur schnellen Identifizierung und Resistenztestung haben sich im Labor automatisierte Systeme wie das Vitek 2[®] - Gerät (BioMérieux) durchgesetzt. Für eine standardisierte Inokulation empfiehlt der Hersteller die Testung einer Reinkultur, die zunächst aus einer positiv-gemeldeten Blutkulturflasche subkultiviert werden muss.

1.1.4 Behandlungskonzepte und Aspekte der Antibiotikatherapie

Die Therapie der Sepsis, insbesondere der gramnegativen Sepsis, stellt nach wie vor eine große Herausforderungen für die moderne Medizin dar (189): Bei der Behandlung müssen einerseits Maßnahmen zur Beseitigung der zugrunde liegenden Infektion getroffen werden, andererseits muss der Sepsisverlauf unterbrochen und der Patient hämodynamisch stabilisiert werden. Von der „Surviving Sepsis Campaign“, einer internationalen Expertenkommission, wurden umfassende Leitlinien zur Sepsistherapie entwickelt (52). Abbildung 2 gibt eine Auswahl verschiedener etablierter Therapiemaßnahmen und klinisch-experimenteller Behandlungsansätze auf unterschiedlichen Ebenen wider.

Ein Großteil der Maßnahmen soll Folgen der entgleisten systemischen Entzündungsreaktion wie Blutdruckabfall und Organdysfunktionen verhindern bzw. einschränken. Medikamente, die Entzündungsmediatoren oder LPS neutralisieren oder durch Blockade von Immunzellrezeptoren den Entzündungsmechanismus zu unterbrechen versuchen, könnten eine zukünftige Therapiealternative darstellen (20,190). Trotz intensiver Studien gelang der klinische Durchbruch bislang jedoch nicht (176,183). Letztendlich müssen entscheidende Interventionen auf Beseitigung der Sepsisursache abzielen: Bei bekannter Infektionsquelle ist die chirurgische Herdsanierung eine äußerst effektive Maßnahme (147). Zentrales Element zur Bekämpfung der zugrunde liegenden

Infektion stellt stets die antimikrobielle Therapie dar (22,52). Mehrere Studien belegen eine deutliche Prognoseverbesserung durch Anwendung wirksamer Antibiotika (102,125,132,144,218,237). Für gramnegative Stäbchen wurde darüber hinaus gezeigt, dass eine frühzeitig effektive Therapie eine geringere Sepsisletalität aufweist als eine verzögert wirksame (116,125,155). Wird die klinische Verdachtsdiagnose einer Sepsis gestellt, sollte vor einer antimikrobiellen Therapie die Abnahme von Blutkulturen erfolgen. Eine initiale antiinfektiöse Behandlung sollte unter Berücksichtigung einer möglichen primären Infektionsquelle breit begonnen und nach Bekanntwerden der mikrobiologischen Ergebnisse möglichst eng fortgeführt werden (52).

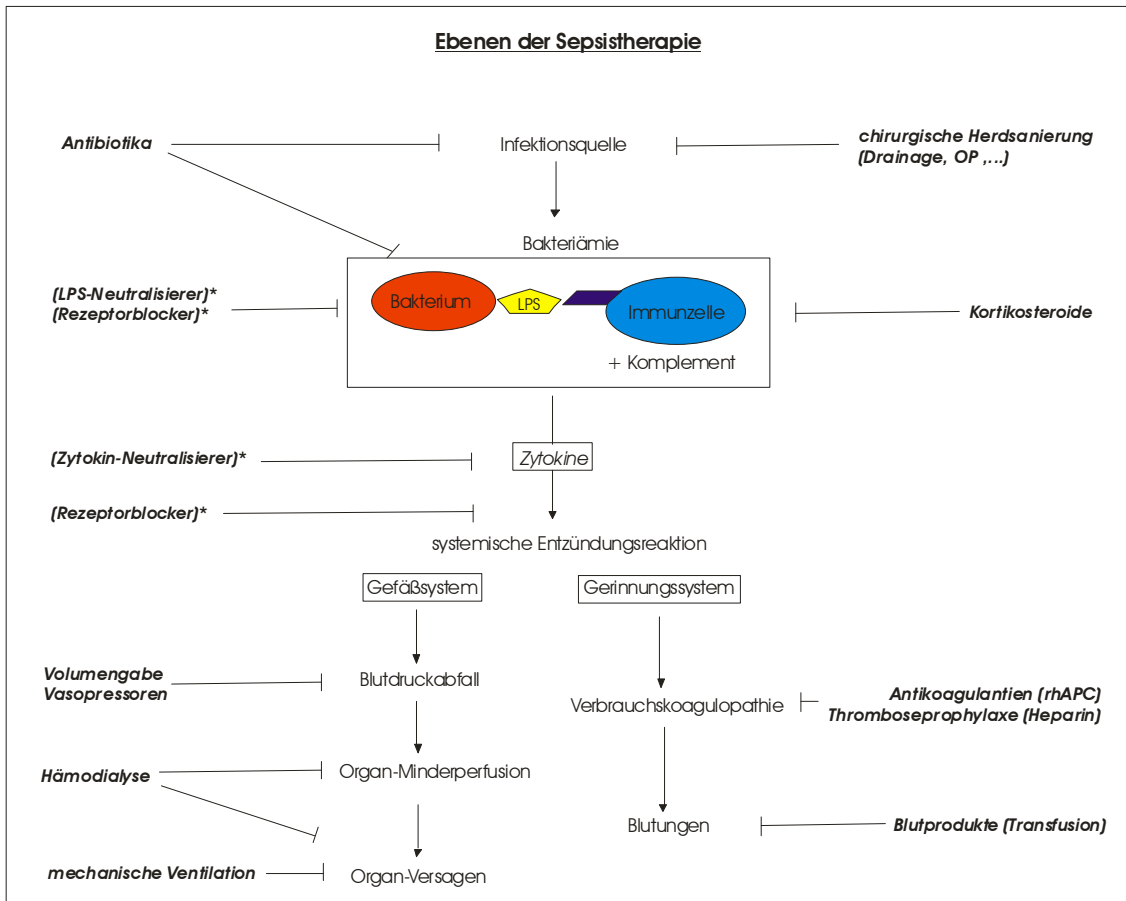


Abbildung 2: Etablierte Maßnahmen und klinisch-experimentelle Ansätze der Sepsistherapie. Ein Großteil der Optionen ist nicht für jeden Patienten sinnvoll und bedarf einer klinischen Indikation (52). Kortikosteroide sind z.B. nur im septischen Schock indiziert. (Anmerkungen: (*)=diese Maßnahmen wurden und werden noch klinisch erprobt und sind nicht allgemein anerkannt und zugelassen; OP=Operation; rhAPC=Recombinant Human Activated Protein C).

Vorraussetzung einer adäquaten antibiotischen Therapie ist das Wissen über intrinsische und erworbene Resistenzmechanismen. Einen besonderen klinischen Stellenwert für gramnegative Stäbchen besitzen die so genannten extended spectrum beta lactamases (ESBL). Spezielle auf Plasmiden lokalisierte Gene vermitteln Resistenzen gegen sämtliche Betalaktam-Antibiotika (115,178). Entsprechend reduzieren sich Therapieoptionen auf wenige, breit wirksame Antibiotika wie Carbapeneme (216). Da Plasmide auf andere Bakterien übertragen werden können, könnten infizierte Patienten multiresistente Erreger auf andere Patienten übertragen. Die Isolierung von Patienten mit ESBL-Stämmen wird nicht allgemein, allerdings von einzelnen Autoren empfohlen (93,133). Abhängig von Erreger und Region liegen ESBL-Raten weltweit zwischen 3,9% und 58,7% (216). In Südamerika und Osteuropa, die die höchsten ESBL-Prävalenzen aufweisen, stellen solche Stämme bereits ein großes Therapieproblem dar.

Global kann eine Zunahme resistenter Keime beobachtet werden (35,40,137,220). Resistenzraten sind in Ländern mit hohem Antibiotikaverbrauch erhöht (84). Deutschland liegt im europäischen Vergleich beim Antibiotikaverbrauch im unteren Drittel (55). Gegen sämtliche Wirkstoffklassen existieren verschiedene molekulare Mechanismen, die auf zum Teil noch unbekannt Weise Keime unempfindlich machen können (50,227). Besorgniserregend ist die Tatsache, dass gleichzeitig die Erforschung und Zulassung neuer Antibiotika abnimmt (1,172,193,231). Zudem konzentriert sich die Entwicklung neuer Substanzen aufgrund einer prozentual größeren Zunahme v.a. auf den grampositiven Bereich (MRSA, VRE). Da neue Antibiotika mit Wirksamkeit im gramnegativen Spektrum in naher Zukunft weniger zu erwarten sind, stellen Resistenzzunahmen dieser „vergessenen Keime“ eine besondere Bedrohung dar (85,228). Zur Erhaltung der Wirksamkeit ist ein vernünftiger Gebrauch der verfügbaren Therapeutika deshalb besonders wichtig (40,123). Der praktischen Umsetzung sollen Leitlinien zum Antibiotikagebrauch, Kontrollprogramme und Hygienemaßnahmen dienen (145,166,207).

1.2 Bakteriurie und Harnwegsinfektion

Mit rund 25% gehört der Harntrakt zu den häufigsten Infektionsquellen bei der Entwicklung einer Sepsis (28). Man spricht in solchen Fällen auch von einer Urosepsis (24). Diese entwickelt sich häufig aus nosokomialen (im Krankenhaus erworbenen) Harnwegsinfektionen (HWI) im Zusammenhang mit Blasenkathetern (129, 168). Seltener kann sich auch aus einem ambulanten HWI eine systemische Infektion entwickeln. Die Diagnose einer Sepsis ist in solchen Fällen aufgrund unspezifischer Symptome oft schwierig zu stellen (185). Neben einer systemischen Infektion kann ein ascendierender HWI bei nicht adäquater Therapie als Komplikation auch Gewebeschäden nach sich ziehen, die zur Niereninsuffizienz führen können (76). Ambulant erworbene Harnwegsinfektionen zeigen in den meisten Fällen einen unkomplizierten Verlauf. Eine schnelle mikrobiologische Diagnostik ist besonders bei rezidivierenden und komplizierten HWIs wichtig (233). Neben Immunsupprimierten und älteren Patienten sind aufgrund kurzer Harnwege auch Säuglinge und Kleinkinder besonders gefährdet, Komplikationen zu entwickeln (62,76).

1.2.1 Definitionen und Pathogenese

Unter dem Begriff Bakteriurie versteht man das Vorhandensein von Bakterien im Urin. Ursache hierfür muss jedoch nicht zwingend eine Infektion sein: Abzugrenzen sind Kontaminationen des Urins mit Mikroorganismen der natürlichen Flora und asymptomatische Bakteriurien wie sie bei Schwangeren, Kindern und älteren Patienten auftreten können. In diesen Fällen ist eine antimikrobielle Therapie nicht sinnvoll (167). Nach ihrer Lokalisation lassen sich Harnwegsinfektionen einteilen in Urethritis (Harnröhrenentzündung), Zystitis (Blasenentzündung) und Pyelonephritis (Nierenbeckenentzündung). Die HWIs werden in unkomplizierte und komplizierte Formen eingeteilt. Komplizierte Formen sind häufig mit Risikofaktoren (z.B. Harnabflussstörungen, Immunsuppression, spezielle Vorerkrankungen) und therapieresistenten Keimen assoziiert (11).

Eine umstrittene These zur Pathogenese der Harnwegsinfektion besagt, dass sich ein HWI in den meisten Fällen als endogene Schmierinfektion mit Organismen der physiologischen Darmflora entwickelt (108,235). Eine derartige Keimverschleppung würde vor allem bei sexuell aktiven Frauen auftreten (11,96). Bei der Entstehung eines HWI wirken bestimmte Konstellationen zwischen dem Wirt auf der einen und dem Erreger auf der anderen Seite zusammen (97): Uropathogene Erreger weisen zur Überwindung natürlicher Schutzbarrieren (z.B. Spülwirkung des Urins) entsprechende Virulenzfaktoren (Fimbrien, Adhäsine u.a.) auf (107,126). Wirtsfaktoren die eine Infektion begünstigen sind Harnabflussstörungen (z.B. durch anatomische Anomalien, Harnsteine, Katheter) oder eine Schwächung des Immunsystems. Genetische Veranlagungen prädisponieren zu rezidivierenden HWIs. Spezielle Antigene (HLA), Rezeptorvarianten und Proteinstrukturen erleichtern bei entsprechenden Patienten die Anheftung von Keimen an das Urothel (70).

1.2.2 Epidemiologie

Die Inzidenz von Harnwegsinfektionen ist sowohl im ambulanten als auch im stationären Bereich sehr hoch. Es wird geschätzt, dass ambulant erworbene HWIs alleine in den USA jährlich zu 7 Millionen Arztbesuchen und 100.000 Krankenhausaufenthalten führen (197). Dadurch würden Behandlungskosten von etwa \$ 1,6 Milliarden pro Jahr entstehen (72). HWIs gehören mit einem Anteil von bis zu 35% zu den häufigsten nosokomialen Infektionen (8,131,206). Platt et al. stellten eine Assoziation zwischen nosokomialen HWIs bei Harnwegskathetern und erhöhter Mortalität fest (182). Gramnegative Keime (v.a. *Escherichia coli*) sind häufigste Erreger von Harnwegsinfektionen (vgl. Tabelle 1, Seite 10).

1.2.3 Diagnostik

Die Diagnose eines HWI kann anhand von Symptomen wie Dysurie, Polakisurie und Algurie zumeist klinisch gestellt werden. Durch die Mikrobiologie kann in

klinisch nicht eindeutigen Fällen durch den Nachweis einer Bakteriurie und zusätzlicher Bewertungskriterien (Keimzahlen, typische Erreger u.a.) eine Bestätigung erfolgen. Eine Urinprobendiagnostik ist primär jedoch zur Identifizierung und Resistenztestung therapieresistenter HWI-Keime indiziert (233).

Zur Diagnostik finden im Wesentlichen drei Arten von Urinproben Verwendung: Mittelstrahlurin, Blasenpunktionsurin und mittels Blasenkatheterisierung gewonnener Urin. Um eine Probe im Labor richtig beurteilen zu können, muss vom Kliniker die Art der Uringewinnung angegeben werden. Aus einer Probe werden zur Identifizierung und Testung auf das Vorliegen von Antibiotikaresistenzen Reinkulturen angelegt. Zusätzliche mikrobiologische Parameter wie Keimzahlen, pH-Wert, Leukozyten- und Nitritnachweis werden zur Diagnosestellung eines Harnwegsinfektes ebenfalls ermittelt und beurteilt (79).

1.2.4 Therapie

Der wichtigste Bestandteil der Therapie zur Keimreduktion bzw. -eradikation ist eine geeignete antibiotische Behandlung. Eine reichliche Flüssigkeitszufuhr verbessert als supportive Maßnahme die Spülwirkung des Urins. Zur längerfristig erfolgreichen Behandlung komplizierter und rezidivierender HWIs sind darüber hinaus Maßnahmen zur Beseitigung zugrunde liegender anatomischer oder funktioneller Ursachen wie Harnabfluss- oder Blasenentleerungsstörungen unverzichtbar (163).

Wagenlehner et al. konnten in den Jahren 1994-2001 für stationäre, urologische Patienten keinen generellen Trend einer Resistenzzunahme feststellen, außer bei *E. coli* gegenüber Cotrimoxazol (25,1% in 2000) und Ciprofloxacin (10,4% in 2000) (224). Gegenüber Cotrimoxazol wurde auch bei unkomplizierten HWIs eine Resistenzzunahme festgestellt (90). Grundsätzlich ist daher auch für die antibiotische Therapie der Harnwegsinfektion ein rationaler Wirkstoffgebrauch zu befürworten.

1.3 Zielsetzung der vorliegenden Arbeit

Aerobe gramnegative Stäbchen sind häufige Erreger der klinisch bedeutsamen Krankheitsbilder Sepsis und Harnwegsinfektion. Eine adäquate antimikrobielle Behandlung zählt für beide Infektionsarten zu den wichtigsten Therapiebausteinen. Eine schnelle und effektive mikrobiologische Diagnostik kann deshalb die Letalität bei septischen Patienten senken und Komplikationen bei Harnwegsinfektionen vorbeugen. Ziel dieser Studie war die Verbesserung der Diagnostik für aerobe gramnegative Stäbchen aus Blutkulturen und Urinproben durch Evaluierung zeitlich verkürzter mikrobiologischer Verfahren. Um die klinische Bedeutung und mögliche Auswirkung dieser Schnellverfahren abschätzen zu können, wurde anhand der antibiotischen Behandlung von Studienpatienten der Einfluss mikrobiologischer Diagnostik auf die Therapie der Sepsis und Harnwegsinfektion ermittelt.

Von Klinikpatienten eingelieferte Blutkulturflaschen, die eine Monokultur eines gramnegativen Stäbchens enthielten, wurden im Studienteil „Blukulturen und Sepsis“ parallel zur Routinediagnostik in einem zeitlich verkürzten Zweitverfahren (Studienverfahren) getestet. In beiden Verfahren wurde die Kombination aus dem Blutkultur-Screeningsystem Bactec[®] 9240 (Becton Dickinson) und Vitek[®] 2 (BioMérieux), einem Automaten zur Identifizierung und Testung von Keimen auf das Vorliegen von Resistenzen gegen Antibiotika, verwendet. Ein Zeitgewinn wurde im Studienverfahren folgendermaßen erreicht: Eine Reinkultur zur Inokulation im Vitek 2 wurde statt aus einer über Nacht bebrüteten Subkultur (=Routinediagnostik) mittels Zentrifugierung in speziellen Röhrchen mit Trenngel (BD-Vacutainer) direkt aus einer positiv-gemeldeten Blutkulturflasche gewonnen. Mit Hilfe des Trenngels konnten Keime gegenüber anderen Blutbestandteilen abgetrennt werden. Da positive Blutkulturen in der Regel Monokulturen liefern, kann davon ausgegangen werden, dass zur Weiterdiagnostik im Studienverfahren eine „Quasi-Reinkultur“ vorlag. Anschließend folgten Identifizierung und Testung auf das Vorliegen von Resistenzen gegen Antibiotika. Ergebnisse der Schnelldiagnostik (Identifizie-

rungen und Antibiogramme) wurden mit Hilfe der Routinediagnostik auf Fehler überprüft. Mit unterschiedlichen Ergebnissen wurde ein derartiges Schnellverfahren zur Blutkulturdiagnostik in dieser und anderen Gerätekombinationen bereits evaluiert (27,51,92,120,184). Diese Studien beschränkten sich bei der Auswertung jedoch auf mikrobiologische Ergebnisse. Die vorliegende Arbeit berücksichtigte nicht nur die Fehlerrate des Schnellverfahrens, sondern auch klinisch-therapeutische Aspekte. Für Studienpatienten wurden neben mikrobiologischen Befunden auch antibiotische Behandlungen in der Klinik erfasst. Dokumentiert und ausgewertet wurde der Wirkstoffgebrauch vor und nach dem Vorliegen mikrobiologischer Befunde und in diesem Zusammenhang der Einfluss mikrobiologischer Diagnostik auf die antibiotische Behandlung.

Ähnliche gerätegestützte Schnellverfahren zur Urinprobendiagnostik existieren bisher nicht. Ein weiterer Bestandteil dieser Studie war deshalb auch die Entwicklung und Fehlerüberprüfung eines raschen Diagnoseverfahrens für Urinproben. Als Screeninginstrument fand das Uro-Quick™ 60 - Gerät (ALIFAX S.p.A.) Verwendung. Da für dieses System bislang wenig internationale Literatur existiert (58,194,221), wurde neben der Einbindung des Gerätes in das Schnellverfahren zunächst die Genauigkeit (d.h. die Fehlerrate) desselben ermittelt. Diese wurde anhand von Patientenproben durch Vergleich mit Ergebnissen des Routineverfahrens ermittelt. Im zweiten Teil der Studie („Erstellung von Schnellantibiogrammen aus Urinproben“) wurden zunächst Urinproben von Klinikpatienten im Uro-Quick inkubiert. Aus positiv-gemeldeten Proben, die gramnegative Stäbchen enthielten, wurde anschließend mittels Agardiffusionstest ein Antibiogramm erstellt und mit Hilfe der Routinediagnostik auf Fehler überprüft. Antibiotische Behandlungen der Studienpatienten wurden wie im Studienteil „Blutkulturen und Sepsis“ erfasst und ausgewertet (s.o.).

2 Material und Methoden

2.1 Material

Aufgeführt sind alle Geräte und Artikel, die in Referenz- und/ oder Studienverfahren zur Diagnostik aerober gramnegativer Stäbchen verwendet wurden.

2.1.1 Geräte und Geräteartikel

<i>Gerät / Artikel</i>	<i>Hersteller</i>
<p><i>Studienteil Blutkulturen</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - BACTEC[®] 9240 - Gerät - BACTEC[®] plus+, Aerobic/ F (Blutkulturflaschen) 	<p><i>Studienteil Blutkulturen</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Becton Dickinson - Becton Dickinson
<p><i>Studienteil Urinproben</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Mditron R[®] - Gerät - Combur-Stix[®] - Streifen - URO-QUICK[™] 60 - Gerät - URO-QUICK - Röhrchen - PAR60RT (Software) 	<p><i>Studienteil Urinproben</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Roche - Roche - ALIFAX S.p.A. - ALIFAX S.p.A. - ALIFAX S.p.A.
<p><i>beide Studienteile</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Varifuge 3.0 - BD-Vacutainer (SST[™] II Advance) - VITEK[®] Densicheck - VITEK[®] 2 - Gerät - VITEK[®] 2-ID-GNB-Karten - VITEK[®] 2-AST-N021-Karten 	<p><i>beide Studienteile</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Heraeus Sepatech - Becton Dickinson - BioMérieux - BioMérieux - BioMérieux - BioMérieux

2.1.2 Andere Verbrauchsartikel

<i>Artikel</i>	<i>Hersteller</i>
- Hochsupplementierter Kochblutagar (BHI-Agar)	- Eigene Herstellung
- Blutagar (Columbia-Agar)	- Eigene Herstellung
- CLED - Agar	- Eigene Herstellung
- Sporenlplatte (pH 7,2)	- Eigene Herstellung
- Müller Hinton Agar (Diffusionsagar)	- Eigene Herstellung
- Diffusionsplättchen für CAZ, SAM	- OXOID
- Sensi – Disc Diffusionsplättchen (alle anderen getesteten Antibiotika)	- Becton Dickinson
- ApiNE [®]	- BioMérieux
- ApiE [®]	- BioMérieux
- Oxidase-Teststreifen	- Merck

2.2 Methoden

2.2.1 Mikrobiologische Diagnostik

2.2.1.1 Blutkulturdiagnostik

2.2.1.1.1 Routineverfahren

Am Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene der Universitätsklinik Tübingen etablierte Algorithmen zur Blutkulturdiagnostik wurden in Anlehnung an CLSI- (früher NCCLS) und MiQ-Richtlinien (164,202) entwickelt und sind im Folgenden beschrieben. Ein Überblick über das Routineverfahren zeigt Abbildung 3 auf Seite 30.

Nach Abnahme einer Blutkultur wurden diese möglichst schnell von der Klinik zum Mikrobiologischen Institut transportiert. Nach Erfassung im Laborinformationssystem (LIS) erfolgte dort umgehend die Weiterverarbeitung. Dazu wurde die Probe den Herstellerangaben entsprechend in das in Tübingen verwendete Bactec 9240 – Gerät eingelesen und eingebracht. Das System verwendet eine Fluoreszenztesttechnologie. Jede Blutkulturflasche enthält neben speziellen Anzuchtmedien einen Sensor, dessen Farbstoff mit CO₂, einem bakteriellen Stoffwechselprodukt, reagiert. Das entstandene Produkt fluoresziert bei Anregung durch eine LED. Mit Hilfe eines Fotodetektors wird die der CO₂-Menge entsprechende abgegebene Fluoreszenzkonzentration (Intensität) registriert. Ein Computer erstellt aus den ermittelten Messwerten eine Wachstumskurve (siehe Anhang 3). Detektiert das System Keimwachstum meldet es die Flasche als positiv. Aus einer positiv-gemeldeten Probe wurde im weiteren Verlauf ein Gram-Präparat erstellt und unter dem Mikroskop beurteilt. Anschließend erfolgte die Aussaat von jeweils ca. 0,5 ml aseptisch entnommenen Kulturmaterials (Subkultur) auf hochsupplementierten Kochblutagar. Parallel wurde ein Agardiffusionstest direkt aus einer Blutkulturflasche auf Müller Hinton Agar durchgeführt. Die Agarplatten wurden anschließend im Brutschrank inkubiert. Weiterhin wurde (soweit zeitlich verfügbar) eine FISH-Identifizierung nach Kempf et al. durchgeführt (117). Welche Sonden dabei verwendet wurden und auf welche Antibiotika im vorläufigen Antibiogramm getestet wurde, richtete sich nach dem mikroskopischen Befund.

Am nächsten Tag wurden die Agarplatten auf Wachstum überprüft. Langsam wachsende Keime wurden weiter kultiviert, schnell wachsende direkt beurteilt. Für die verwendeten Antibiotika wurden die Hemmhöfe im Agardiffusionstest ausgemessen und entsprechend den CLSI-Richtwerten Empfindlichkeitsbeurteilungen (sensibel, intermediär, resistent) zugeordnet (164). Ergebnisse des vorläufigen Antibiogramms und einer durchgeführten FISH-Identifizierung wurden schnellstmöglich an die Klinik weitergeleitet. Keime der Subkultur wurden den entsprechenden standardisierten Verfahren zur Identifizierung und Testung auf Antibiotikaresistenzen zugeführt.

Die Standarddiagnostik gramnegativer Stäbchen verlief in folgender Weise: Anhand der Kulturmorphologie des bewachsenen hochsupplementierten Kochblutagars und bei schwer beurteilbaren Subkulturen zusätzlich mit Hilfe eines Oxidase-Tests, erfolgte zunächst durch erfahrene Mikrobiologen eine Zuordnung des Keimes zur Gruppe der Enterobacteriaceae bzw. Non-Fermenter.

Für Enterobacteriaceae und charakteristisch wachsende *Pseudomonas aeruginosa* - Stämme wurde zur Identifizierung und endgültigen Resistenzbeurteilung eine den Hersteller-Angaben entsprechende Inokulation im Vitek 2 - System (Standard-Vitek) durchgeführt. Spezielle Gerätekarten (ID-GNB für gramnegative Bakterien) enthalten Kammern mit verschiedenen biochemischen Reagenzien. Eine positive Reaktion des Keimes mit diesen wird mit Hilfe eines Fluoreszenzindikators detektiert. Grundlage der Identifizierung bilden spezifische Reaktionsmuster verschiedener Keime. Das aus einer Probe erhaltene biochemische Muster wird vom System mit einer Datenbank verglichen. Ein so genannter T-Index – Koeffizient gibt die Übereinstimmung und damit die Genauigkeit der Identifizierung wider. Parallel wurden Keime mit Hilfe von AST-N021-Karten im Gerät auf das Vorliegen von Resistenzen gegen Antibiotika getestet. Das Prinzip der Resistenzbestimmung beruht auf einer automatisierten Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration (MHK). Mit Hilfe einer geometrischen Verdünnungsreihe wird ermittelt, bei welcher Konzentration eines Antibiotikums kein Keimwachstum mehr auftritt. Die MHK-Bestimmung erfolgt im Vitek-Gerät in einer AST-Karte mit 64 Kammern über eine Mikrodilutionsmethode. Verkürzte Inkubationszeiten des automatisierten Verfahrens gewährleisten schnellere Ergebnisse als herkömmliche Endpunktbestimmungen. Den MHK-Werten werden vom System Empfindlichkeitsbeurteilungen (sensibel, intermediär, resistent) zugeordnet. Identifizierung und Antibiogramm werden darüber hinaus durch ein so genanntes „Advanced Expert System“ (AES) mit gespeicherten, häufig auftretenden Resistenzmustern verglichen und bei Abweichungen Korrekturen vorgeschlagen. Die Effektivität dieses Systems wurde mehrfach nachgewiesen (17,141). Ergebnisse des Vitek

2 – Gerätes können speziellen Ausdrucken im Überblick entnommen werden (siehe Anhang 5 und 6). Traten bei der Diagnostik Fehlermeldungen auf oder konnte der Keim durch das Vitek - System nicht identifiziert werden, wurde eine Identifizierung routinemäßig mit Hilfe eines standardisierten Agardiffusionstests und eines ApiE- (für Enterobacteriaceae) / ApiNE- (für Non-Fermenter) Testes durchgeführt.

Für Non-Fermenter (außer *Pseudomonas aeruginosa*) erstellte man das Antibiogramm direkt per Agardiffusionstest, die Identifizierung per ApiNE. Versehentlich im Vitek-Gerät inokulierte und nicht identifizierbare Non-Fermenter wurden anhand der als negativ bewerteten dGlu-Kammer (d.h. keine fermentative Glukose-Verwertung) im Vitek-Ausdruck erkannt und dem entsprechenden Verfahren zugeführt.

2.2.1.1.2 Studienverfahren

Das Studienverfahren wurde parallel zum Routineverfahren durchgeführt, wenn Gram-Präparate aus positiv-gemeldeten aeroben Blutkulturflaschen Monokulturen gramnegativer Stäbchen zeigten.

Mit Hilfe einer Einwegspritze wurden ca. 8,5 ml Blutkultur-Material aseptisch aus der entsprechenden Blutkulturflasche entnommen und in spezielle Zentrifugationsröhrchen mit Trenngel (BD-Vacutainer) übertragen. Diese wurden anschließend für 10 Minuten bei 2000 rpm zentrifugiert. Ein im Vacutainer enthaltenes Gel trennt Bakterien von anderen Blutbestandteilen der Probe ab. Nach dem Zentrifugieren konnte der Überstand abgekippt und das sich auf dem Gel befindliche Keim-Pellet mit ca. 0,5 ml Vitek-Lösung resuspendiert werden. Durch Einstellen einer Trübung von 0,6 nach McFarland (0,55-0,65) wurden für eine anschließende Inokulation im Vitek-Gerät „Quasi-Standardbedingungen“ geschaffen.

2.2.1.2 Urinproben-Diagnostik

2.2.1.2.1 Routineverfahren

Das im Folgenden beschriebene Routineverfahren des Instituts für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene der Universitätsklinik Tübingen wurde in Anlehnung an MiQ- und CLSI-Richtlinien (79,164) entwickelt. Einen Überblick über das Verfahren zeigt Abbildung 4 auf Seite 36.

Im mikrobiologischen Institut eintreffende Urinproben wurden umgehend weiterverarbeitet. Mit Hilfe des Mditron R - Gerätes erfolgte zunächst die automatisierte Auswertung eines in die Probe getauchten Combur-Stix - Streifens. Ein Ausdruck des Analyse-Ergebnisses gibt entsprechende Hinweise auf pH-Wert und den Nachweis von Leukozyten und/ oder Nitrit. Aus der Probe wurden zwei Kulturen (Blut- und CLED-Agar) angelegt. Eine Sporenpalte (pH 7,2) diente dem Nachweis von Hemmstoffen. Dadurch konnte eine eventuelle Vorbehandlung des Patienten mit Antibiotika erkannt und bei der Endbeurteilung berücksichtigt werden. Kulturen auf Blut- und CLED-Agar wurden unter aeroben Bedingungen bei 37°C im Brutschrank inkubiert. In besonderen Fällen (z.B. Blasenpunktions- oder Katheterurin) wurden zusätzlich Bouillons und/ oder spezielle Agarkulturen angesetzt.

Konnten Keime angezüchtet werden, erfolgte anhand der Kulturmorphologie und der Art der Agarbewachung eine einschätzende Identifizierung durch einen erfahrenen Mikrobiologen. Bei Unsicherheiten wurde zusätzlich ein Gram-Präparat angefertigt oder ein einfacher biochemischer Test (z.B. Oxidasetest) durchgeführt. Die Kultur wurde des Weiteren auf das Vorliegen einer Monokultur oder relevanter Kontaminationen beurteilt. Keimzahlen für angezüchtete Organismen wurden durch Vergleich mit standardisierten Abbildungen ermittelt.

Zur weiteren Diagnostik kultivierter Mikroorganismen kamen standardisierte Verfahren zur Anwendung. Im Falle gramnegativer Stäbchen erfolgte die Identifizierung und Testung auf das Vorliegen von Resistenzen gegen Antibiotika mit Hilfe einer standardisierten Vitek-Inokulation bzw. ApiNE / ApiE und Agardiffusionstest (siehe Blutkulturdiagnostik).

Zur Abgrenzung eines Harnwegsinfektes von einer bedeutungslosen Kontamination einer Urinprobe mit Bakterien der physiologischen Flora wurden neben dem Nachweis einer Bakteriurie weitere mikrobiologische Parameter beurteilt. Dazu zählten:

- Keimzahl (Einteilung in drei Kategorien: $>10^5$ Keime/ml [„signifikante Bakteriurie“], $10^4 - 10^5$ Keime/ml, $<10^4$ Keime/ml)
- Anzahl und Pathogenität verschiedenartiger Keime
- Nachweis zusätzlicher Infektionszeichen (Leukozytentest)

Da sich Keime bei hohen Temperaturen relativ schnell vermehren, war eine kühle Lagerung und ein möglichst schneller Transport einer Probe ins Mikrobiologische Institut Voraussetzung für eine adäquate Beurteilung. Für das Vorliegen einer Harnwegsinfektion sprechen hohe Keimzahlen ($>10^5$ Keime/ml), das Vorliegen einer Monoinfektion durch einen typischen HWI-Erreger und ein positiver Leukozytennachweis. Bei der Beurteilung der Urinproben wurden darüber hinaus folgende Punkte berücksichtigt:

- Da die Blase beim Gesunden steril ist, gelten bei einer Probengewinnung aus Katheter- oder Blasenpunktionsurin bereits niedrigere Keimzahlen als HWI-verdächtig. Für Patienten mit Antibiotika-Vorbehandlung (Labor-Nachweis erfolgt mit Hilfe von Sporenplatten) und Kinder muss ähnliches berücksichtigt werden.
- Teststreifen zum Nachweis von Leukozyten oder Nitrit zeigten sich in diversen Studien mit Sensitivitäten von 45% - 86% und Spezifitäten von 17 - 98% als nur bedingt zuverlässige HWI-Marker (53).

Zur Interpretation der verschiedenen Parameter wurden Tabellen der MiQ-Richtlinien herangezogen (79).

2.2.1.2.2 Studienverfahren zur Genauigkeit des Uro-Quick - Systems

Screening – Geräte existieren nicht nur für Blutkulturen (Bactec 9240), sondern auch für Urinproben. Eines davon ist das halbautomatisierte Uro-Quick – System. Das Prinzip der Keimdetektion basiert auf einer so genannten „Light Scattering“ (Streulicht) – Technik. Urinproben werden in spezielle Röhrchen injiziert. Diese enthalten ein Reagenz, das mit Stoffwechselprodukten von Mikroorganismen reagiert. Das Produkt streut einen auf das Röhrchen fokussierten Laserstrahl. Sensoren des Gerätes detektieren die der Keimkonzentration entsprechende Menge an Streulicht. Ein Computersystem erstellt aus den Messwerten eine Wachstumskurve (siehe Anhang 4). Ab einer bestimmten Keimzahl erfolgt eine Positivmeldung durch das Gerät. Kann nach einer bestimmten Zeit (z.B. drei Stunden) kein ausreichendes Wachstum ermittelt werden, wird die Probe im entsprechenden Modus als negativ (also frei von vermehrungsfähigen Keimen) bewertet.

Urinproben der Universitätsklinik wurden im Studienverfahren nach dem Eintreffen entsprechend den Hersteller-Angaben direkt in Uro-Quick-Röhrchen injiziert und im Gerät inkubiert.

2.2.1.2.3 Studienverfahren zur Antibiogrammerstellung aus Urinproben

Zu testende Urinproben wurden zunächst standardisiert im Uro-Quick – Gerät inkubiert. Eine Weiterverarbeitung positiv-gemeldeter Proben erfolgte nur, wenn ein Gram-Präparat gramnegative Stäbchen zeigte. Aseptisch entnommenes Urinproben-Material wurde in spezielle Zentrifugationsröhrchen mit Trenngel (BD-Vacutainer) übertragen und bei 2000 rpm für 10 Minuten zentrifugiert. Nach dem Wegkippen des Überstands folgte eine Resuspension des Keim-Pellet mit ca. 0,5 ml Vitek-Lösung. Durch Einstellen einer Trübung von 0,6 nach

McFarland (0,55-0,65) wurde für einen anschließend durchgeführten Agardiffusionstest auf Müller Hinton Agar entsprechend den CLSI-Richtlinien „Quasi-Standardbedingungen“ erreicht. Es folgte eine aerobe Inkubation im Brutschrank. Für die verwendeten Antibiotika wurden am darauf folgenden Tag die Hemmhöfe im Agardiffusionstest ausgemessen und entsprechend den CLSI-Richtwerten Empfindlichkeitsbeurteilungen (sensibel, intermediär, resistent) zugeordnet.

2.2.2 Studienaufbau

Die vorliegende Arbeit lässt sich grundsätzlich in zwei große Teile gliedern: Blukulturen und Sepsis auf der einen, Urinproben und Harnwegsinfektion auf der anderen Seite. Diese umfassen jeweils sowohl mikrobiologisch-diagnostische als auch klinisch-therapeutische Anteile.

2.2.2.1 Blutkulturen und Sepsis

2.2.2.1.1 *Mikrobiologisch-diagnostischer Teil*

In die Studie aufgenommen wurden sämtliche aerobe Blutkulturen, die vom 10.10.2003 – 15.07.2004 und 20.07.2005 – 22.08.2005 (nur werktags) im Mikrobiologischen Institut in Tübingen eingegangen sind. Die Proben entstammten den verschiedenen Fachabteilungen der Universitätsklinik Tübingen und der Berufsgenossenschaftlichen Unfallklinik (BGU).

Es wurden nur diejenigen positiv-gemeldeten Blutkulturen verwendet, die eine Monokultur eines aeroben gramnegativen Stäbchens beinhalteten. Pro Patient wurde nur eine der eingelieferten Blutkulturen aufgenommen. Jede Probe durchlief parallel sowohl Routine-, als auch Studienverfahren (Abbildung 3, Seite 30). Methoden des Direktverfahrens sind in 2.2.1.1.2 beschrieben. Als Goldstandard galten die unter Routinebedingungen ermittelten Ergebnisse.

Um für die Studie einheitliche Bedingungen zu schaffen erfolgte (entgegen der üblichen Routinediagnostik) für alle Keime die Empfindlichkeitsbeurteilung durch eine standardisierte Inokulation im Vitek 2 - Gerät. War keine Identifizierung durch das Gerät möglich, wurde das gramnegative Stäbchen mittels ApiE / ApiNE identifiziert.

Die Ergebnisse des Studienverfahrens wurden mit denen der Routinediagnostik verglichen. Fehlinterpretationen im Bezug auf Identifizierung und Vorliegen von Resistenzen gegen Antibiotika wurden ausfindig gemacht und ihrer Schwere nach kategorisiert (s.u.). Daraus ließen sich spezielle Sensitivitäten für das Direktverfahren ermitteln. Ergebnisse des vorläufigen Routine-Antibiogramms (Agardiffusionstest) wurden ebenso auf Fehler überprüft. Abweichungen in Antibiogrammen der Schnellverfahren (Studienverfahren, Agardiffusionstest) gegenüber Referenz-Antibiogrammen wurden in folgende in der Mikrobiologie übliche Kategorien eingeteilt: Als „very major“-Fehler (VMF) wurde 1980 durch Thornsberry et al. erstmals eine für das entsprechende Antibiotikum falsch-sensible Bewertung für einen laut Referenz resistenten Keim bezeichnet. Ein „major“-Fehler (MF) liegt bei umgekehrtem Fall vor (resistent statt sensibel). Als „minor“-Fehler (mF) werden einstufige Abweichungen (sensibel statt intermediär, resistent statt intermediär oder jeweils die entgegengesetzte Richtung) definiert (214).

Ein Vergleich beider Schnellverfahren (Studienverfahren, vorläufiges Antibiogramm) sollte abschätzen, welche Methode bessere Ergebnisse liefert und darüber hinaus eine mögliche Eignung des Studien- als Routineverfahren beurteilen.

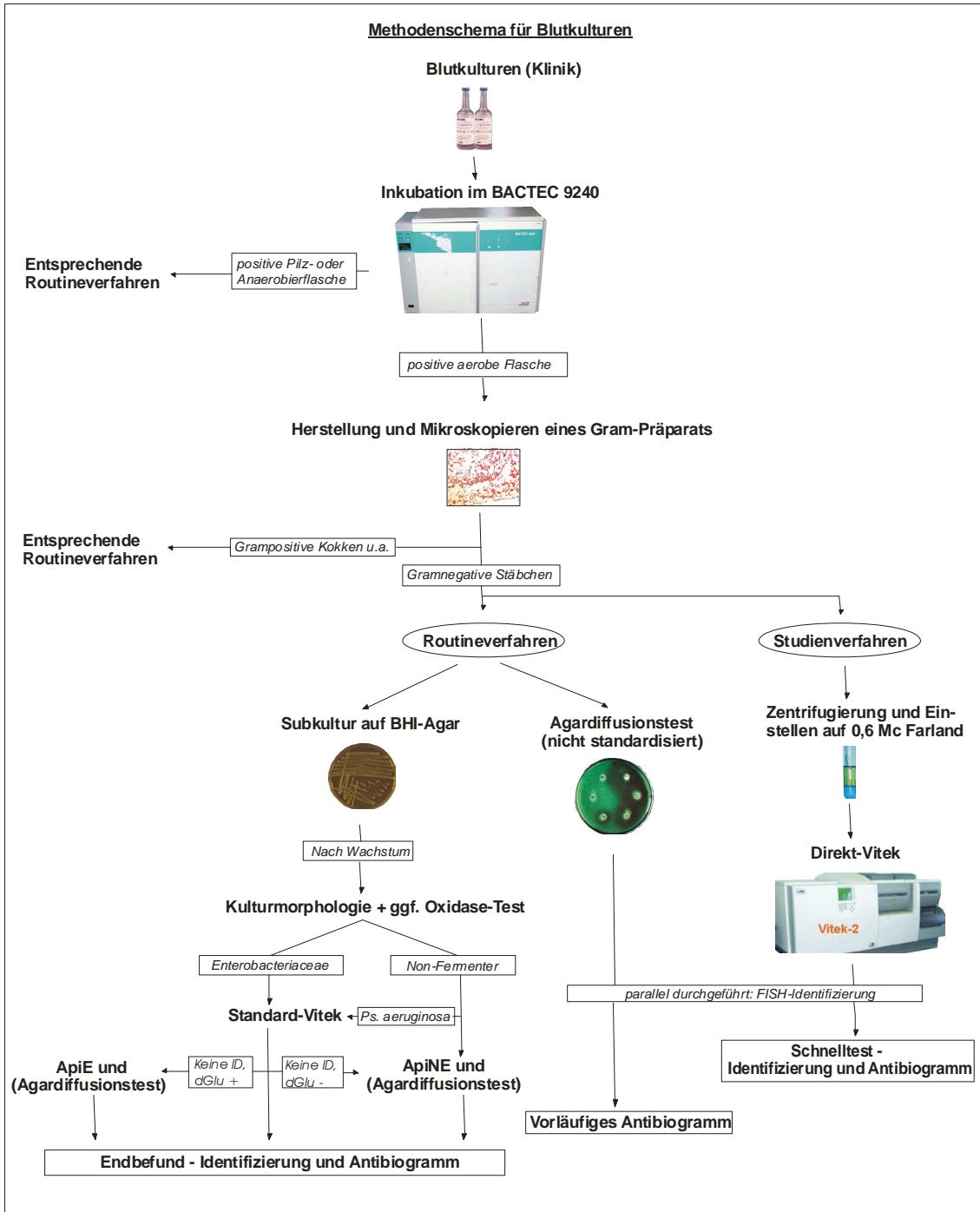


Abbildung 3: Grundsätzlicher Aufbau der Studie für Blutkulturen. (Anmerkungen: ID = Identifizierung; dGlu+/- = fermentative Glukoseverwertung in der Vitek-Identifizierungskarte; (Agardiffusionstest) = um einheitliche Bedingungen zu schaffen, wurden alle Keime im Vitek- Gerät auf das Vorliegen von Resistenzen gegen Antibiotika getestet).

In Form von Evaluationsbögen (siehe Anhang 2) wurden am Ende der Verfahren folgende Parameter dokumentiert:

- Labornummer der entsprechenden Probe
- Zeitdauer bis zur Positivmeldung der Blutkultur-Flasche
- Zeitgewinn durch den Direkttest (Studienverfahren) gegenüber dem Routine-Endbefund
- Zeitdauer bis zur Erstellung des Antibiogramms durch das Studienverfahren
- Keimidentifizierung durch Studien- (Direkt-Identifizierung) und Referenzverfahren und ggf. eine zusätzlich durchgeführte „Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung“ (FISH) - Identifizierung
- Empfindlichkeitsbeurteilungen (sensibel, intermediär, resistent) des Keims für einzelne Antibiotika (Gentamicin [GM], Tobramycin [TM], Ampicillin [AM], Ampicillin/Sulbactam [SAM], Piperacillin [PIP], Piperacilin/Tazobactam [TZP], Cefuroxim [CXM], Cefotaxim [CTX], Cotrimoxazol [SXT], Levofloxacin [LVX], Ciprofloxacin [CIP], Meropenem [MEM], Ceftazidim [CAZ], Cefepim [FEP]) durch Studienverfahren, Agardiffusionstest und Referenzverfahren
- Abweichungen der Empfindlichkeitsbeurteilungen durch Studienverfahren bzw. Agardiffusionstest von Referenzbeurteilungen

Identifizierungen im AES des Vitek 2, die eine Anwender-Bestätigung erforderten oder nur einen geringen Diskriminierungswert aufwiesen, wurden bei Übereinstimmung mit Referenzbefunden des Routineverfahrens als korrekt gewertet (z.B. erfordert eine „Salmonella“-Identifizierung immer eine manuelle Bestätigung).

2.2.2.1.2 *Klinisch-therapeutischer Teil*

Nachdem der mikrobiologisch-diagnostische Teil abgeschlossen war, wurden sämtliche Patienten, deren Blutkulturen im Studienverfahren getestet wurden, ermittelt und deren Akten nach folgenden Kriterien ausgewertet:

- antibiotische Therapie vor mikrobiologischer Diagnostik: Dokumentiert wurde die direkt vor Positivmeldung der entsprechenden Blutkultur bestehende antibiotische Therapie
- antibiotische Therapie nach mikrobiologischer Diagnostik: Dokumentiert wurde die einen Tag nach Vorliegen des Endbefundes bestehende antibiotische Therapie
- Art / Grund einer antibiotischen Therapieumstellung: Eine Umstellung der antibiotische Therapie wurde dokumentiert, wenn diese im Zeitraum der mikrobiologischen Diagnostik (antibiotische Therapie vor bis nach mikrobiologischer Diagnostik, siehe oben) erfolgte. Es wurde erfasst, ob eine Umstellung mit der Übermittlung mikrobiologischer Befunde (Identifizierungen, Antibiogramme) zeitlich korrelierte. Anhand der Befunde wurde ein (mikrobiologisch sinnvoller) Grund oder Zweck einer solchen Therapieumstellung ermittelt. Aufgrund folgender Kriterien konnte eine Umstellung erfolgen: Resistenzen im Antibiogramm, Spektrumverminderung oder –erweiterung.

Befunde der mikrobiologischen Blutkulturdiagnostik werden in der Regel dreistufig an die Klinik übermittelt: zunächst die Keimidentifizierung im Gram-Präparat einer positiv-gemeldeten Blutkultur, anschließend das vorläufige Antibiogramm und der Endbefund. Entsprechend waren im untersuchten Zeitraum mehrfache Umstellungen pro Patient möglich. Zusammenhänge zwischen mikrobiologischer Diagnostik und Umstellung der antibiotischen Therapie wurden wie oben beschrieben erfasst. Es wurden alle verwendeten Substanzen dokumentiert. Da im Vitek – Gerät nicht sämtliche Antibiotika getestet werden bzw. nicht getestet werden können, wurden die im

Studienverfahren getesteten Wirkstoffe oder gleichwertige Substanzen (Äquivalente) berücksichtigt:

<i>Im Studienverfahren getestete Wirkstoffe</i>	<i>Als gleichwertig eingestufte Wirkstoffe</i>
<i>Ampicillin / Sulbactam</i>	<i>Amoxicillin / Clavulansäure</i>
<i>Piperacillin / Tazobactam</i>	<i>Piperacillin / Combactam</i>
<i>Cefuroxim</i>	<i>Cefotiam</i>
<i>Cefotaxim</i>	<i>Ceftriaxon</i>

2.2.2.2 Urinproben und Harnwegsinfektion

2.2.2.2.1 Überprüfung der Genauigkeit des Uro-Quick 60 - Systems

In die Studie aufgenommen wurden sämtliche Urinproben (Mittelstrahl-, Katheter-, Blasenpunktionsurin), die im Zeitraum zwischen dem 22.04.2005 und dem 15.06.2005 (nur werktags) im Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene in Tübingen eingegangen sind. Die Proben entstammten den verschiedenen Fachabteilungen der Universitätsklinik Tübingen und der Berufsgenossenschaftlichen Unfallklinik (BGU).

Urinproben wurden parallel zu den laboretablierten Diagnoseverfahren (Routineverfahren, s.o.) entsprechend den Hersteller-Angaben im Uro-Quick inkubiert. Die Genauigkeit des halbautomatisierten Systems Keime im Urin zu detektieren, wurde nach Vergleich mit den Routineergebnissen in einer Vierfeldertafel festgehalten. Entscheidend waren Positiv- oder Negativmeldungen. Daraus ließen sich Sensitivität, Spezifität und prädiktive Werte für das Gerät ermitteln. In einem zweiten Schritt wurden diese Parameter unter Einbezug des Leukozytentests als Screening abermals berechnet.

Die Ergebnisse der parallel zur Routinediagnostik im Uro-Quick-Gerät inkubierten Proben wurden in folgenden Kategorien dokumentiert:

- Anzahl korrekter Positivmeldungen (korrekt = in vom Gerät positiv-gemeldeten Proben waren auch im Routineverfahren HWI-Erreger nachweisbar)
- Anzahl falscher Positivmeldungen (falsch = in vom Gerät positiv-gemeldeten Proben waren im Routineverfahren keine Keime nachweisbar)
- Anzahl kontaminierter Positivmeldungen (kontaminiert = in vom Gerät positiv-gemeldeten Proben waren den MiQ-Verfahrensrichtlinien (79) entsprechende Kontaminaten [z.B. koryneforme Bakterien, Laktobazillen, vergrünende Streptokokken, Mischkulturen] nachweisbar)
- Anzahl korrekter Negativmeldungen (korrekt = in vom Gerät negativ-gemeldeten Proben waren auch im Routineverfahren keine HWI-Erreger nachweisbar)
- Anzahl falscher Negativmeldungen (falsch = in vom Gerät negativ-gemeldeten Proben waren im Routineverfahren HWI-Erreger nachweisbar)
- Anzahl kontaminierter Negativmeldungen (kontaminiert = in vom Gerät negativ-gemeldeten Proben waren den MiQ-Verfahrensrichtlinien (79) entsprechende Kontaminaten [z.B. koryneforme Bakterien, Laktobazillen, vergrünende Streptokokken, Mischkulturen] nachweisbar)

2.2.2.2.2 *Schnellverfahren zur Antibiogrammerstellung aus Urinproben*

2.2.2.2.2.1 *Mikrobiologisch-diagnostischer Teil*

In die Studie aufgenommen wurden im Zeitraum vom 20.07.05 – 25.07.05 im Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene in Tübingen eingegangene und im Uro-Quick positiv-gemeldete Urinproben (Mittelstrahl-, Katheter-,

Blasenpunktionsurin) mit mikroskopisch nachgewiesenen gramnegativen Stäbchen.

Abbildung 4 gibt einen Überblick über parallel durchgeführte Referenz- (Routinediagnostik) und Studienverfahren. Ergebnisse des Studienverfahrens wurden mit denen der laboretablierten Methoden verglichen. Da Urinproben in den meisten Fällen geringe Verunreinigungen aufweisen, wurden beim Ablesen der Hemmhöfe im Agardiffusionstest geringe Kontaminationen ignoriert, wenn auch im Referenzverfahren ein dominierender Keim identifiziert wurde. Fehler bei der Resistenzbeurteilung durch das Studienverfahren wurden analog den Blutkulturverfahren kategorisiert. Daraus ermittelte spezielle Sensitivitäten sollten eine Abschätzung der Genauigkeit des Schnellverfahrens liefern.

Eine Dokumentation folgender Kriterien erfolgte anhand leicht abgeänderter Blutkultur-Evaluationsbögen:

- Labornummer der entsprechenden Probe
- Art der Uringewinnung (Mittelstrahl-, Katheter-, Blasenpunktionsurin)
- Zeitdauer bis zur Positivmeldung durch das Uro-Quick – Gerät
- Empfindlichkeitsbeurteilungen (sensibel, intermediär, resistent) des Keims für einzelne Antibiotika (Gentamicin [GM], Tobramycin [TM], Ampicillin [AM], Ampicillin/Sulbactam [SAM], Piperacillin [PIP], Piperacillin/Tazobactam [TZP], Cefuroxim [CXM], Cefotaxim [CTX], Cotrimoxazol [SXT], Levofloxacin [LVX], Ciprofloxacin [CIP], Meropenem [MEM]) durch Agardiffusionstest (standardisiert) und Referenzverfahren
- Abweichungen der Empfindlichkeitsbeurteilungen des Studienverfahrens von Referenzbeurteilungen
- zusätzliche Bakteriurie-Parameter (über Referenzmethode): Keimzahl der Probe, positiver Leukozytentest

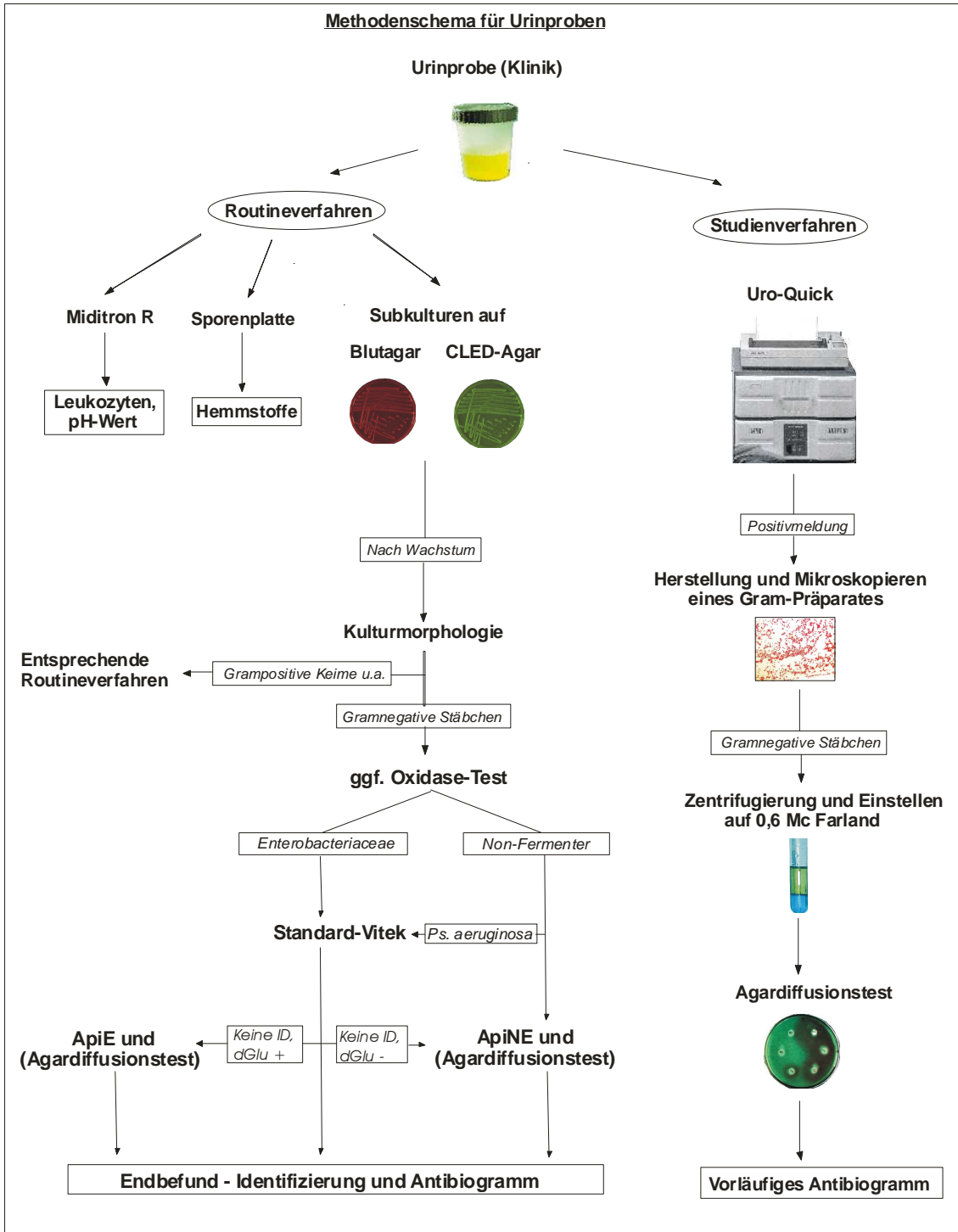


Abbildung 4: Grundsätzlicher Aufbau der Studie für Urinproben. (Anmerkungen: ID = Identifizierung; dGlu+/- = fermentative Glukoseverwertung in der Vitek-Identifizierungskarte; (Agardiffusionstest) = um einheitliche Bedingungen zu schaffen, wurden alle Keime im Vitek- Gerät auf das Vorliegen von Resistenzen gegen Antibiotika getestet).

2.2.2.2.2 Klinisch-therapeutischer Teil

Für Urinproben wurden analog den Blutkulturen Patienten ermittelt und deren Akten ausgewertet (siehe 2.2.2.1.2).

2.2.3 Statistische Analyse

Arithmetische Mittelwerte und Mediane wurden mit Hilfe von Excel® (Microsoft) errechnet. Ergebnisse zur Erfassung der Genauigkeit von Schnellantibiogrammen für Blutkulturen und Urinproben wurden in Vierfeldertafeln festgehalten. Daraus ließen sich für die verwendeten Einzelantibiotika in folgender Weise spezielle Sensitivitäten berechnen:

$$\text{Sensitivität}_S = \frac{\text{Anzahl korrekt-sensibler Beurteilungen} \times 100\%}{\text{Anzahl korrekt-sensibler Beurteilungen} + \text{MF}}$$

$$\text{Sensitivität}_R = \frac{\text{Anzahl korrekt-resistenter Beurteilungen} \times 100\%}{\text{Anzahl korrekt-resistenter Beurteilungen} + \text{VMF}}$$

Eine korrekte Beurteilung durch das entsprechende Schnellverfahren lag bei Übereinstimmung mit dem Referenzverfahren (Endbefund des Routineverfahrens) vor. Die Kategorisierung in Fehlerklassen wurde im Abschnitt 2.2.2.1.1 beschrieben. Die speziellen Sensitivitäten beschreiben die Genauigkeit des Studienverfahrens sensible (Sensitivität_S) und resistente Keime (Sensitivität_R) im Bereich von VMF und MF korrekt zu detektieren. Deshalb wurden intermediäre Übereinstimmungen und mF nicht in der Vierfeldertafel berücksichtigt. Zu den berechneten Sensitivitäten für Fallzahlen unter 100 wurden zusätzlich exakte Vertrauensgrenzen (95%; 100(1-2α)-Grenzen) angegeben. Diese wurden der Literatur entnommen (82). Für

Fallzahlen über 100 wurden 95% - Konfidenzintervalle mit Hilfe folgender Formel näherungsweise berechnet:

$$P_{L,R} = \frac{X \pm 0,5 + \frac{c^2}{2} \pm |c| \cdot \sqrt{(X \pm 0,5) \cdot \left(1 - \frac{X \pm 0,5}{N}\right) + \frac{c^2}{4}}}{N + c^2}$$

Durch Addition bzw. Subtraktion wurden linke (P_L) und rechte (P_R) Grenzen des Konfidenzintervalls berechnet (Abkürzungen: c = 1,96 für 95%-Konfidenzintervalle, N = Gesamtfallzahl, X = beobachtete positive Treffer).

Zur Beurteilung der Genauigkeit des Uro-Quick 60 – Systems wurden darüber hinaus aus Vierfeldertafeln folgende Parameter berechnet:

$$\text{Sensitivität}_{UQ} = \frac{\text{Anzahl korrekt – positiv-gemeldeter Kulturen} \times 100\%}{\text{Anzahl aller Referenz-positiver Kulturen}}$$

$$\text{Spezifität}_{UQ} = \frac{\text{Anzahl korrekt – negativ-gemeldeter Kulturen} \times 100\%}{\text{Anzahl aller Referenz-negativer Kulturen}}$$

$$\text{PPW}_{UQ} = \frac{\text{Anzahl korrekt – positiv-gemeldeter Kulturen} \times 100\%}{\text{Anzahl aller positiv-gemeldeter Kulturen}}$$

$$\text{NPW}_{UQ} = \frac{\text{Anzahl korrekt – negativ-gemeldeter Kulturen} \times 100\%}{\text{Anzahl aller negativ-gemeldeter Kulturen}}$$

Eine korrekte Positivmeldung lag vor, wenn im Referenzverfahren in der entsprechenden Probe HWI-Erreger nachweisbar waren. Bei korrekten Negativmeldungen waren auch im Referenzverfahren keine Keime nachweisbar. PPW und NPW wurden als Abkürzungen für positive bzw. negative prädiktive Werte verwendet.

Unter Einbezug des Leukozytennachweises als Screening erfolgte eine erneute Berechnung der genannten Parameter. Als durch das Studienverfahren positiv-gemeldet galten dann alle Kulturen, bei denen entweder der Leukozytentest oder eine Uro-Quick – Inkubation positive Ergebnisse lieferte. Als durch das Schnellverfahren negativ-gemeldet wurden Kulturen bewertet, bei denen der Leukozytentest und eine Uro-Quick – Inkubation negativ ausfielen.

3 Ergebnisse

3.1 Blutkulturen und Sepsis

3.1.1 Mikrobiologisch-diagnostischer Teil

Die Datenerhebung erfolgt in verschiedenen Zeitintervallen: 65 Blutkulturen wurden vom 25.8.03 bis zum 15.7.04, weitere 16 im Zeitraum vom 20.7.05 bis zum 22.8.05 getestet. Aufgrund von Dokumentationslücken konnten von den insgesamt 81 den Kriterien entsprechenden positiv-gemeldeten Blutkultur - Flaschen nur 75 Proben des Studienverfahrens zur Auswertung verwendet werden. Die Ergebnisse von 43 Antibiogrammen des Agardiffusionstests (vorläufiges Antibiogramm) wurden erfasst.

3.1.1.1 Erregerspektrum

Das Erregerspektrum der 75 aufgenommenen Blutkulturen zeigt Abbildung 5. Insgesamt wurden neun verschiedenartige gramnegative Organismen identifiziert. 88% der Keime konnten der Gruppe der Enterobacteriaceae zugeordnet werden, 12% der Gruppe der Non - Fermenter. *Escherichia coli* war mit 59% häufigster Keim, gefolgt von *Pseudomonas aeruginosa* mit 11%.

3.1.1.2 Identifizierungen

Tabelle 2 gibt einen Überblick über aufgetretene Fehler bei der Identifizierung (ID) und Resistenztestung der Keime durch das Studienverfahren. 62 (83%) gramnegative Stäbchen wurden vom Gerät korrekt identifiziert, 12 (16%) konnten nicht identifiziert werden. Es trat eine Fehlidentifizierung auf: Eine *Klebsiella oxytoca* wurde im Studienverfahren als *Enterobacter aerogenes* erkannt. Enterobacteriaceae konnten in 86% der Fälle korrekt identifiziert werden, während die Quote für Non – Fermenter bei nur 56% lag. Die geringsten Identifizierungsraten konnten für *Pseudomonas aeruginosa* und *Serratia marcescens* festgestellt werden (jeweils 50%).

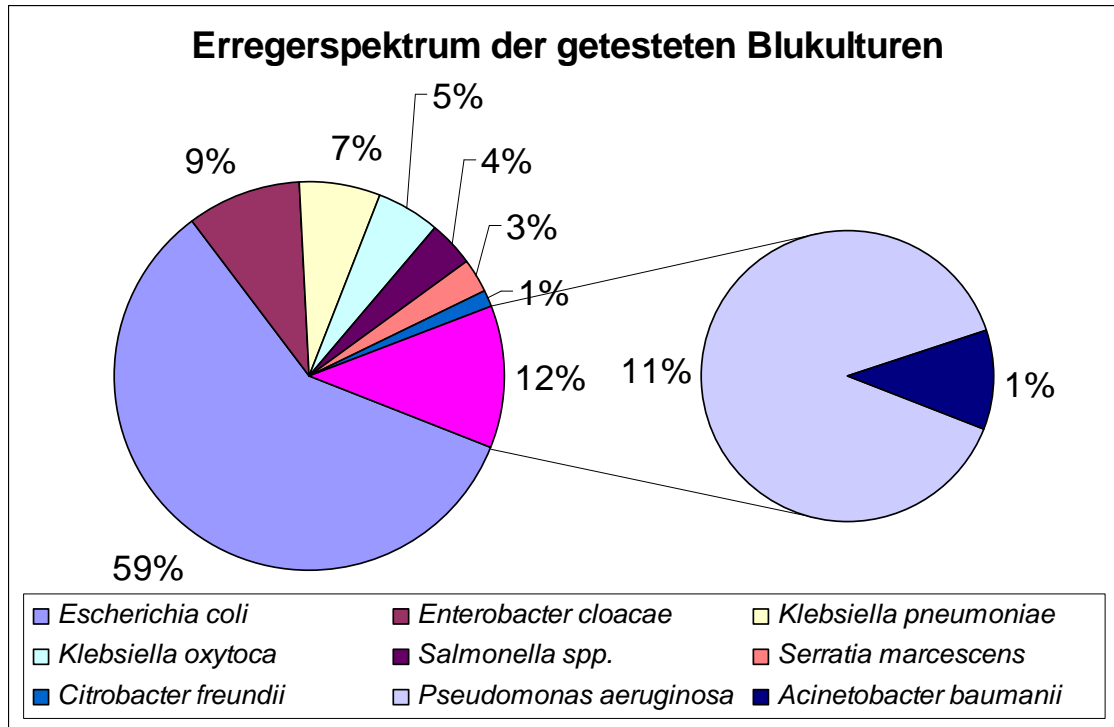


Abbildung 5: Erregerspektrum der 75 getesteten Blukulturen. Der kleine Kreis stellt den Anteil der Non-Fermenter dar.

Ergebnisse des Studienverfahrens für Blukulturen im Überblick

Keim	Anzahl	korrekte ID	falsche ID	keine ID	VMF	MF	mF
Enterobacteriaceae	66	57	1	8	1	2	15
<i>Escherichia coli</i>	44	39	0	5	0	1	12
<i>Enterobacter cloacae</i>	7	7	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5	3	1	1	0	0	1
<i>Klebsiella oxytoca</i>	4	3	0	1	1	0	0
<i>Salmonella spp.</i>	3	3	0	0	0	0	0
<i>Serratia marcescens</i>	2	1	0	1	0	1	2
<i>Citrobacter freundii</i>	1	1	0	0	0	0	0
Non-Fermenter	9	5	0	4	0	0	5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8	4	0	4	0	0	4
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1	1	0	0	0	0	1

Tabelle 2: Den detektierten Keimen wurden Fehler bei der Identifizierung und Resistenztestung im Studienverfahren zugeordnet. (Anmerkungen: ID = Identifizierung durch das Studienverfahren; VMF = „very major“ Fehler; MF = „major Fehler“; mF = „minor“ Fehler).

3.1.1.3 Resistenzen gegen Antibiotika

In Antibiogrammen des Studienverfahrens traten insgesamt an Fehlern auf: 1 VMF (0,1%), 2 MF (0,2%), 20 mF (1,9%). Eine Zuordnung dieser Fehler zu den getesteten Antibiotika und die daraus berechneten speziellen Sensitivitäten sind in Tabelle 3 zusammengestellt. Mit einer Gesamtsensitivität_S von 99,7% konnte das Verfahren sensible Keime, mit einer Gesamtsensitivität_R von 99,5% resistente Keime im Bereich von VMF bzw. MF detektieren. Für Cotrimoxazol, Levofloxacin, Ciprofloxacin und Meropenem traten keine falschen Empfindlichkeitsbeurteilungen im Studienverfahren auf. Gentamicin, Tobramycin, Cefuroxim, Cefotaxim, Ceftazidim und Cefepim wiesen jeweils einen mF auf. Sensitivitäten unter 100% konnten für Ampicillin/Sulbactam (Sensitivität_S= 97,3%, Sensitivität_R = 96,6%) und Piperacillin/Tazobactam (Sensitivität_S = 98,5%) festgestellt werden. Ampicillin und Piperacillin wiesen mit jeweils 6,7% die höchste Rate an mF auf. Insgesamt traten 100% aller VMF und MF und 65% aller mF des Studienverfahrens für Penizilline ohne oder mit Betalaktamase-Inhibitoren (BLI) auf.

Für die 43 erfassten vorläufigen Antibiogramme (Agardiffusionstest) des Routineverfahrens traten insgesamt an Fehlern auf: 0 VMF, 7 MF (1,2%), 43 mF (7,7%). Eine Zuordnung dieser Fehler zu den getesteten Antibiotika und die daraus berechneten speziellen Sensitivitäten sind in Tabelle 4 zusammengestellt. Tabelle 5 zeigt das Erreger- und Fehlerspektrum. Die Gesamtsensitivität_S des Agardiffusionstests lag bei 98,3%, die Gesamtsensitivität_R bei 100%. Für Gentamicin, Levofloxacin, Ciprofloxacin, Meropenem und Cefepim traten keine falschen Empfindlichkeitsbeurteilungen in vorläufigen Antibiogrammen auf. Sensitivitäten unter 100% konnten für Ampicillin/Sulbactam (Sensitivität_S= 88,9%), Piperacillin (Sensitivität_S = 88%), Piperacillin/Tazobactam (Sensitivität_S = 97,3%) und Cotrimoxazol (Sensitivität_S = 95,5%) festgestellt werden. Cefuroxim wies mit 22,5% die höchste Rate an mF auf. 86% aller MF und 58% aller mF des Agardiffusionstests traten für Penizilline ohne oder mit BLI auf.

3 Ergebnisse

Ergebnisse und Fehler des Studienverfahrens für einzelne Antibiotika														
Antibiotikum	Anzahl	Vierfeldertafel	Sensitivitäten (%)	KI (95%)	mF									
Gentamicin GM	75	<table border="1" style="border-collapse: collapse; width: 100%;"> <tr><td style="width: 20px;"></td><td style="text-align: center;">S_{SV}</td><td style="text-align: center;">R_{SV}</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">S_{RV}</td><td style="text-align: center;">64</td><td style="text-align: center;">0</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">R_{RV}</td><td style="text-align: center;">0</td><td style="text-align: center;">8</td></tr> </table>		S _{SV}	R _{SV}	S _{RV}	64	0	R _{RV}	0	8	Sensitivitäts: 100 Sensitivitätsr: 100	94,40-100 63,06-100	2 (2,7%)
	S _{SV}	R _{SV}												
S _{RV}	64	0												
R _{RV}	0	8												
Tobramycin TM	75	<table border="1" style="border-collapse: collapse; width: 100%;"> <tr><td style="width: 20px;"></td><td style="text-align: center;">S_{SV}</td><td style="text-align: center;">R_{SV}</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">S_{RV}</td><td style="text-align: center;">63</td><td style="text-align: center;">0</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">R_{RV}</td><td style="text-align: center;">0</td><td style="text-align: center;">6</td></tr> </table>		S _{SV}	R _{SV}	S _{RV}	63	0	R _{RV}	0	6	Sensitivitäts: 100 Sensitivitätsr: 100	94,31-100 54,07-100	1 (1,3%)
	S _{SV}	R _{SV}												
S _{RV}	63	0												
R _{RV}	0	6												
Ampicillin AM	75	<table border="1" style="border-collapse: collapse; width: 100%;"> <tr><td style="width: 20px;"></td><td style="text-align: center;">S_{SV}</td><td style="text-align: center;">R_{SV}</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">S_{RV}</td><td style="text-align: center;">19</td><td style="text-align: center;">0</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">R_{RV}</td><td style="text-align: center;">0</td><td style="text-align: center;">46</td></tr> </table>		S _{SV}	R _{SV}	S _{RV}	19	0	R _{RV}	0	46	Sensitivitäts: 100 Sensitivitätsr: 100	82,35-100 92,29-100	5 (6,7%)
	S _{SV}	R _{SV}												
S _{RV}	19	0												
R _{RV}	0	46												
Amp/Sulb SAM	75	<table border="1" style="border-collapse: collapse; width: 100%;"> <tr><td style="width: 20px;"></td><td style="text-align: center;">S_{SV}</td><td style="text-align: center;">R_{SV}</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">S_{RV}</td><td style="text-align: center;">36</td><td style="text-align: center;">1</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">R_{RV}</td><td style="text-align: center;">1</td><td style="text-align: center;">28</td></tr> </table>		S _{SV}	R _{SV}	S _{RV}	36	1	R _{RV}	1	28	Sensitivitäts: 97,3 Sensitivitätsr: 96,6	85,84-99,93 82,24-99,91	3 (4,0%)
	S _{SV}	R _{SV}												
S _{RV}	36	1												
R _{RV}	1	28												
Piperacillin PIP	75	<table border="1" style="border-collapse: collapse; width: 100%;"> <tr><td style="width: 20px;"></td><td style="text-align: center;">S_{SV}</td><td style="text-align: center;">R_{SV}</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">S_{RV}</td><td style="text-align: center;">49</td><td style="text-align: center;">0</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">R_{RV}</td><td style="text-align: center;">0</td><td style="text-align: center;">14</td></tr> </table>		S _{SV}	R _{SV}	S _{RV}	49	0	R _{RV}	0	14	Sensitivitäts: 100 Sensitivitätsr: 100	92,75-100 76,84-100	5 (6,7%)
	S _{SV}	R _{SV}												
S _{RV}	49	0												
R _{RV}	0	14												
Pip/Tazo TZP	75	<table border="1" style="border-collapse: collapse; width: 100%;"> <tr><td style="width: 20px;"></td><td style="text-align: center;">S_{SV}</td><td style="text-align: center;">R_{SV}</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">S_{RV}</td><td style="text-align: center;">67</td><td style="text-align: center;">1</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">R_{RV}</td><td style="text-align: center;">0</td><td style="text-align: center;">1</td></tr> </table>		S _{SV}	R _{SV}	S _{RV}	67	1	R _{RV}	0	1	Sensitivitäts: 98,5 Sensitivitätsr: 100	94,08-99,96 -	0
	S _{SV}	R _{SV}												
S _{RV}	67	1												
R _{RV}	0	1												
Cefuroxim CXM	75	<table border="1" style="border-collapse: collapse; width: 100%;"> <tr><td style="width: 20px;"></td><td style="text-align: center;">S_{SV}</td><td style="text-align: center;">R_{SV}</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">S_{RV}</td><td style="text-align: center;">48</td><td style="text-align: center;">0</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">R_{RV}</td><td style="text-align: center;">0</td><td style="text-align: center;">18</td></tr> </table>		S _{SV}	R _{SV}	S _{RV}	48	0	R _{RV}	0	18	Sensitivitäts: 100 Sensitivitätsr: 100	92,60-100 81,47-100	1 (1,3%)
	S _{SV}	R _{SV}												
S _{RV}	48	0												
R _{RV}	0	18												
Cefotaxim CTX	75	<table border="1" style="border-collapse: collapse; width: 100%;"> <tr><td style="width: 20px;"></td><td style="text-align: center;">S_{SV}</td><td style="text-align: center;">R_{SV}</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">S_{RV}</td><td style="text-align: center;">65</td><td style="text-align: center;">0</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">R_{RV}</td><td style="text-align: center;">0</td><td style="text-align: center;">4</td></tr> </table>		S _{SV}	R _{SV}	S _{RV}	65	0	R _{RV}	0	4	Sensitivitäts: 100 Sensitivitätsr: 100	94,48-100 39,76-100	1 (1,3%)
	S _{SV}	R _{SV}												
S _{RV}	65	0												
R _{RV}	0	4												
Cotrimoxazol SXT	75	<table border="1" style="border-collapse: collapse; width: 100%;"> <tr><td style="width: 20px;"></td><td style="text-align: center;">S_{SV}</td><td style="text-align: center;">R_{SV}</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">S_{RV}</td><td style="text-align: center;">43</td><td style="text-align: center;">0</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">R_{RV}</td><td style="text-align: center;">0</td><td style="text-align: center;">31</td></tr> </table>		S _{SV}	R _{SV}	S _{RV}	43	0	R _{RV}	0	31	Sensitivitäts: 100 Sensitivitätsr: 100	91,78-100 88,78-100	0
	S _{SV}	R _{SV}												
S _{RV}	43	0												
R _{RV}	0	31												
Levofloxacin LVX	75	<table border="1" style="border-collapse: collapse; width: 100%;"> <tr><td style="width: 20px;"></td><td style="text-align: center;">S_{SV}</td><td style="text-align: center;">R_{SV}</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">S_{RV}</td><td style="text-align: center;">60</td><td style="text-align: center;">0</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">R_{RV}</td><td style="text-align: center;">0</td><td style="text-align: center;">14</td></tr> </table>		S _{SV}	R _{SV}	S _{RV}	60	0	R _{RV}	0	14	Sensitivitäts: 100 Sensitivitätsr: 100	94,04-100 76,84-100	0
	S _{SV}	R _{SV}												
S _{RV}	60	0												
R _{RV}	0	14												
Ciprofloxacin CIP	75	<table border="1" style="border-collapse: collapse; width: 100%;"> <tr><td style="width: 20px;"></td><td style="text-align: center;">S_{SV}</td><td style="text-align: center;">R_{SV}</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">S_{RV}</td><td style="text-align: center;">60</td><td style="text-align: center;">0</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">R_{RV}</td><td style="text-align: center;">0</td><td style="text-align: center;">15</td></tr> </table>		S _{SV}	R _{SV}	S _{RV}	60	0	R _{RV}	0	15	Sensitivitäts: 100 Sensitivitätsr: 100	94,04-100 78,20-100	0
	S _{SV}	R _{SV}												
S _{RV}	60	0												
R _{RV}	0	15												
Meropenem MEM	75	<table border="1" style="border-collapse: collapse; width: 100%;"> <tr><td style="width: 20px;"></td><td style="text-align: center;">S_{SV}</td><td style="text-align: center;">R_{SV}</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">S_{RV}</td><td style="text-align: center;">75</td><td style="text-align: center;">0</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">R_{RV}</td><td style="text-align: center;">0</td><td style="text-align: center;">0</td></tr> </table>		S _{SV}	R _{SV}	S _{RV}	75	0	R _{RV}	0	0	Sensitivitäts: 100 Sensitivitätsr: -	95,20-100 -	0
	S _{SV}	R _{SV}												
S _{RV}	75	0												
R _{RV}	0	0												
Ceftazidim CAZ	71	<table border="1" style="border-collapse: collapse; width: 100%;"> <tr><td style="width: 20px;"></td><td style="text-align: center;">S_{SV}</td><td style="text-align: center;">R_{SV}</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">S_{RV}</td><td style="text-align: center;">68</td><td style="text-align: center;">0</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">R_{RV}</td><td style="text-align: center;">0</td><td style="text-align: center;">2</td></tr> </table>		S _{SV}	R _{SV}	S _{RV}	68	0	R _{RV}	0	2	Sensitivitäts: 100 Sensitivitätsr: 100	94,72-100 15,81-100	1 (1,4%)
	S _{SV}	R _{SV}												
S _{RV}	68	0												
R _{RV}	0	2												
Cefepim FEP	71	<table border="1" style="border-collapse: collapse; width: 100%;"> <tr><td style="width: 20px;"></td><td style="text-align: center;">S_{SV}</td><td style="text-align: center;">R_{SV}</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">S_{RV}</td><td style="text-align: center;">70</td><td style="text-align: center;">0</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">R_{RV}</td><td style="text-align: center;">0</td><td style="text-align: center;">0</td></tr> </table>		S _{SV}	R _{SV}	S _{RV}	70	0	R _{RV}	0	0	Sensitivitäts: 100 Sensitivitätsr: -	94,87-100 -	1 (1,4%)
	S _{SV}	R _{SV}												
S _{RV}	70	0												
R _{RV}	0	0												
GESAMT	1042	<table border="1" style="border-collapse: collapse; width: 100%;"> <tr><td style="width: 20px;"></td><td style="text-align: center;">S_{SV}</td><td style="text-align: center;">R_{SV}</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">S_{RV}</td><td style="text-align: center;">787</td><td style="text-align: center;">2</td></tr> <tr><td style="text-align: center;">R_{RV}</td><td style="text-align: center;">1</td><td style="text-align: center;">187</td></tr> </table>		S _{SV}	R _{SV}	S _{RV}	787	2	R _{RV}	1	187	Sensitivitäts: 99,7 Sensitivitätsr: 99,5	98,98-99,96 96,62-99,97	20 (1,9%)
	S _{SV}	R _{SV}												
S _{RV}	787	2												
R _{RV}	1	187												

Tabelle 3: Ergebnisse des Studienverfahrens für einzelne Antibiotika. (Anmerkungen: KI (95%) = 95% - Konfidenzintervalle; Vierfeldertafeln : Dargestellt ist die Häufigkeit sensibler [S] und resistenter [R] Keime im Studien- [SV] und Referenzverfahren [RV], hellgraue Felder entsprechen MF, dunkelgraue Felder entsprechen VMF; prozentuale Angaben beziehen sich auf die einzelnen Antibiotika).

3 Ergebnisse

Ergebnisse und Fehler des Agardiffusionstests für einzelne Antibiotika							
Antibiotikum	Anzahl	Vierfeldertafel			Sensitivitäten (%)	KI (95%)	mF
Gentamicin GM	43	S _{AD}	R _{AD}		Sensitivitäts: 100 Sensitivitäts _r : 100	90,75-100 47,82-100	0
		S _{RV}	38	0			
		R _{RV}	0	5			
Tobramycin TM	43	S _{AD}	R _{AD}		Sensitivitäts: 100 Sensitivitäts _r : 100	90,26-100 29,24-100	4 (9,3%)
		S _{RV}	36	0			
		R _{RV}	0	3			
Ampicillin AM	40	S _{AD}	R _{AD}		Sensitivitäts: 100 Sensitivitäts _r : 100	71,51-100 85,75-100	5 (12,5%)
		S _{RV}	11	0			
		R _{RV}	0	24			
Amp/Sulb SAM	40	S _{AD}	R _{AD}		Sensitivitäts: 88,9 Sensitivitäts _r : 100	65,29-98,62 75,29-100	8 (20%)
		S _{RV}	16	2			
		R _{RV}	0	13			
Piperacillin PIP	43	S _{AD}	R _{AD}		Sensitivitäts: 88 Sensitivitäts _r : 100	68,78-97,45 66,37-100	9 (20,9%)
		S _{RV}	22	3			
		R _{RV}	0	9			
Pip/Tazo TZP	43	S _{AD}	R _{AD}		Sensitivitäts: 97,3 Sensitivitäts _r : 100	85,84-99,93 -	3 (7,0%)
		S _{RV}	36	1			
		R _{RV}	0	1			
Cefuroxim CXM	40	S _{AD}	R _{AD}		Sensitivitäts: 100 Sensitivitäts _r : 100	86,28-100 54,07-100	9 (22,5%)
		S _{RV}	25	0			
		R _{RV}	0	6			
Cefotaxim CTX	41	S _{AD}	R _{AD}		Sensitivitäts: 100 Sensitivitäts _r : 100	90,26-100 29,24-100	2 (4,9%)
		S _{RV}	36	0			
		R _{RV}	0	3			
Cotrimoxazol SXT	40	S _{AD}	R _{AD}		Sensitivitäts: 95,5 Sensitivitäts _r : 100	77,16-99,88 80,49-100	2 (5,0%)
		S _{RV}	21	1			
		R _{RV}	0	17			
Levofloxacin LVX	43	S _{AD}	R _{AD}		Sensitivitäts: 100 Sensitivitäts _r : 100	90-100 63,06-100	0
		S _{RV}	35	0			
		R _{RV}	0	8			
Ciprofloxacin CIP	43	S _{AD}	R _{AD}		Sensitivitäts: 100 Sensitivitäts _r : 100	90-100 63,06-100	0
		S _{RV}	35	0			
		R _{RV}	0	8			
Meropenem MEM	43	S _{AD}	R _{AD}		Sensitivitäts: 100 Sensitivitäts _r : 100	91,78-100 -	0
		S _{RV}	43	0			
		R _{RV}	0	0			
Ceftazidim CAZ	32	S _{AD}	R _{AD}		Sensitivitäts: 100 Sensitivitäts _r : 100	88,43-100 -	1 (3,1%)
		S _{RV}	30	0			
		R _{RV}	0	1			
Cefepim FEP	28	S _{AD}	R _{AD}		Sensitivitäts: 100 Sensitivitäts _r : -	87,66-100 -	0
		S _{RV}	28	0			
		R _{RV}	0	0			
GESAMT	562	S _{AD}	R _{AD}		Sensitivitäts: 98,3 Sensitivitäts _r : 100,0	96,43-99,27 96,31-100	43 (7,7%)
		S _{RV}	412	7			
		R _{RV}	0	98			

Tabelle 4: Ergebnisse des Agardiffusionstests (vorläufige Antibiogramme). (Anmerkungen: KI (95%) = 95% - Konfidenzintervalle; Vierfeldertafeln: Dargestellt ist die Häufigkeit sensibler [S] und resistenter [R] Keime im Agardiffusionstest [AD] und Referenzverfahren [RV], hellgraue Felder entsprechen MF, dunkelgraue Felder entsprechen VMF; prozentuale Angaben beziehen sich auf die einzelnen Antibiotika).

Keim	Anzahl	VMF	MF	mF
Enterobacteriaceae	38	0	7	38
<i>Escherichia coli</i>	27	0	6	28
<i>Klebsiella oxytoca</i>	4	0	0	2
<i>Enterobacter cloacae</i>	3	0	1	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	0	0	3
<i>Salmonella spp.</i>	1	0	0	0
<i>Serratia marcescens</i>	1	0	0	3
<i>Citrobacter freundii</i>	0	-	-	-
Non-Fermenter	5	0	0	5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	0	0	5
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0	-	-	-

Tabelle 5: Fehler bei der Testung von Keimen auf das Vorliegen von Resistenzen gegen Antibiotika im Agardiffusionstest (vorläufiges Antibiogramm).

Für alle Keime, die VMF, MF oder insgesamt (Studienverfahren + Agardiffusionstest) mindestens 3 mF aufwiesen, zeigt Tabelle 6 Übereinstimmungen von Fehlern auf. Fehlerhafte Empfindlichkeitbeurteilungen durch das Studienverfahren und den Agardiffusionstest für einzelne Antibiotika überschneiden sich für 1 MF und 7 mF. Nicht in der Tabelle erfasste Keime wiesen darüber hinaus keine weiteren Übereinstimmungen auf.

Keim	VMF / MF			mF			Besonderheiten
	SV	AD	ÜE	SV	AD	ÜE	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	SAM (VMF)	0	-	0	PIP	-	ApiE*
<i>Escherichia coli</i>	TZP	TZP	1	PIP	PIP	1	ApiE*
<i>Serratia marcescens</i>	SAM	0	-	TM,AM	TM, AM, SAM	2	keine Direkt-ID
<i>Escherichia coli</i>	0	SAM, PIP	-	0	TM	-	keine Direkt-ID
<i>Escherichia coli</i>	0	SAM, PIP	-	0	0	-	
<i>Escherichia coli</i>	0	PIP	-	0	SAM	-	
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	SXT	-	0	TZP	-	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	-	CAZ, FEP	PIP, SXT, CAZ	1	
<i>Escherichia coli</i>	0	0	-	PIP	TM, SAM, CXM	-	
<i>Escherichia coli</i>	0	0	-	SAM	SAM, PIP	1	
<i>Escherichia coli</i>	0	0	-	SAM	SAM, PIP	1	
<i>Escherichia coli</i>	0	0	-	AM	AM, CXM	1	

Tabelle 6: Übereinstimmungen von Fehlern bei der Testung von Keimen auf Antibiotika-Resistenzen durch das Studienverfahren und das vorläufige Antibiogramm. (Anmerkungen: *= Keim wurde im Routineverfahren durch ApiE identifiziert; SV = Studienverfahren; AD = Agardiffusionstest; ÜE = Fehlerübereinstimmungen für einzelne Antibiotika; Direkt-ID = Identifizierung im Studienverfahren).

3.1.1.4 Zeitbedarf

Der mittlere Zeitbedarf (arithmetischer Mittelwert) bis zu einer Positivmeldung im Blutkultur-System betrug 12,3 h, der Median lag bei 10,1 h (Streuung: 0,8 - 56,7 h). Zur Erstellung eines Antibiogramms benötigte das Vitek 2 Gerät im Studienverfahren im Mittel 7,3 h (Median: 6,8 h; Streuung 5,3 - 14,3 h). Aufgrund der großen Streuung wurde auf die Ermittlung von Modalwerten verzichtet.

Abbildung 6 gibt einen Überblick über den Zeitbedarf der Einzelverfahren. Ergebnisse des Studienverfahrens waren 6-18 h vor vorläufigen Antibiogrammen und 16-72 h (arithmetischer Mittelwert: 24,6 h; Median: 23,5 h) vor Referenz-Endbefunden verfügbar (Zu beachten ist, dass diese Studie im normalen Laboralltag eingebettet war und entsprechend den Arbeitszeiten Agardiffusionstests und Subkulturen nur zwischen 8.00 und 16.00 Uhr erstellt und routinemäßig am nächsten Tag abgelesen oder weiterverarbeitet wurden!).

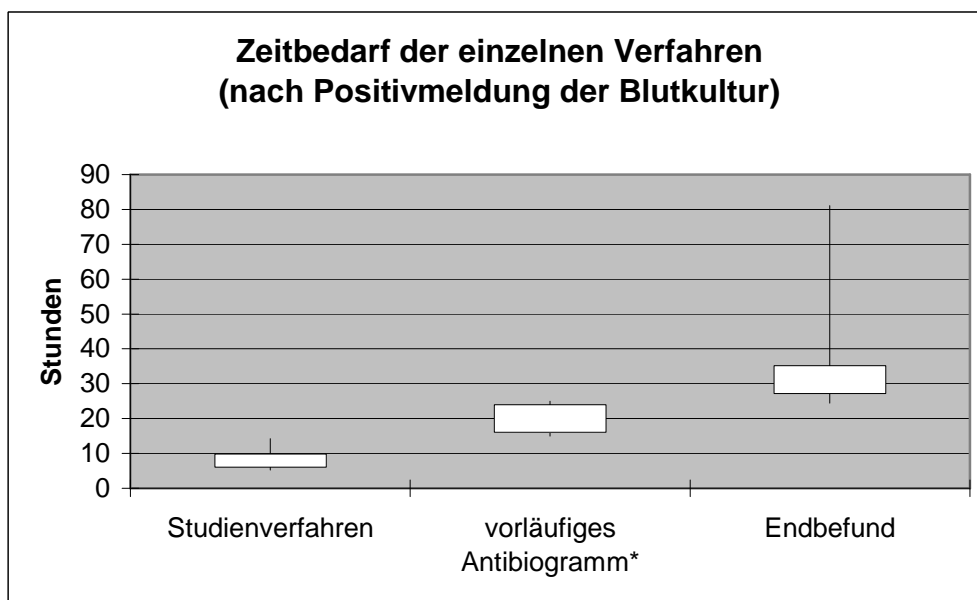


Abbildung 6: Spanne des minimalen und maximalen Zeitbedarfs ab dem Zeitpunkt der Weiterverarbeitung einer im Bactec 9240 positiv-gemeldeten Blutkulturflasche bis zur Beendigung des jeweiligen Verfahrens. Die Box des Boxplot umfasst jeweils die 10. bis 90. Perzentile. (Anmerkung: * = Die Zeitspanne bis zum Vorliegen des vorläufigen Antibiogramms wurde nicht im Einzelnen dokumentiert. Der Zeitbedarf wurde im Routinelabor abgeschätzt!).

3.1.2 Klinisch-therapeutischer Teil

3.1.2.1 Patienten

Die 75 im Studienverfahren getesteten Blutkulturen entstammten elf verschiedenen Fachkliniken (siehe Tabelle 7). Mit 38 Proben bildete die Innere Medizin (Medizinische Klinik und Poliklinik) den größten Anteil. Das Durchschnittsalter der Patienten lag bei 57 bzw. 60 (ohne Kinderklinik und Neonatologie) Lebensjahren. Abbildung 7 zeigt die Altersverteilung infizierter Patienten für die verschiedenen Keime. Acht Patienten mit positiver Blutkultur waren unter 30 Jahre alt. Non-Fermenter traten ausschließlich bei Patienten über 40 Lebensjahren auf.

Fachklinik	Anzahl	Durchschnittsalter
Medizinische Klinik und Poliklinik	38	59
Klinik für Urologie	7	64
Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin	7	65
Psychosomatische Klinik (Rottenburg)	5	74
Klinik für Allgemeine, Viszeral- und Transplantationschirurgie	5	43
Klinik für Kinder- und Jugendmedizin inkl. Neonatologie	4	1
Berufsgenossenschaftliche Unfallklinik (BGU)	3	64
Klinik für Thorax-, Herz- und Gefäß-Chirurgie	2	35
Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde	2	63
Klinik für Neurologie	1	78
Klinik für Radioonkologie	1	62
<i>Zusammenfassung</i>	75	57

Tabelle 7: Anzahl an Blutkulturen aus verschiedenen Fachkliniken der Universitätsklinik Tübingen und Durchschnittsalter der Patienten.

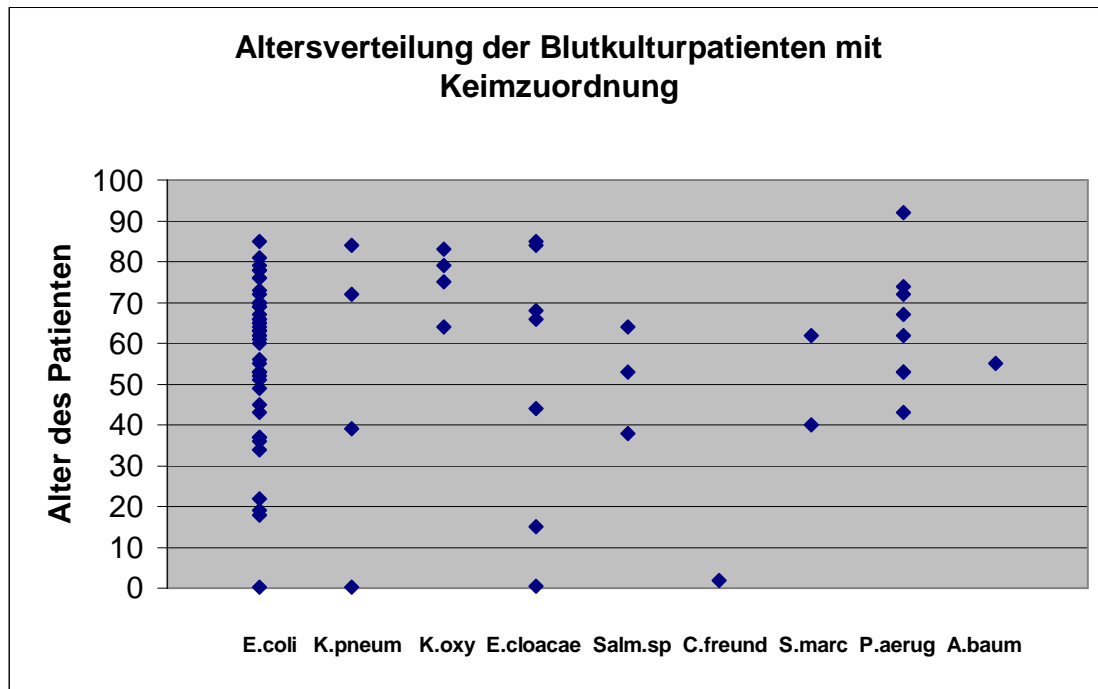


Abbildung 7: Lebensalter der Patienten für identifizierte Keime. (Anmerkungen: E.coli = Escherichia coli; K.pneum = Klebsiella pneumoniae; K.oxy = Klebsiella oxytoca; E.cloacae = Enterobacter cloacae; Sal. spp = Salmonella spp; C.freund = Citrobacter freundii; S.marc = Serratia marcescens; P.aerug = Pseudomonas aeruginosa; A.baum = Acinetobacter baumannii).

3.1.2.2 Antibiotische Therapien

Für 61 der 75 in die Studie aufgenommenen Patienten waren Akten zur Auswertung verfügbar. Abbildung 8 und Tabelle 8 geben einen Überblick über die Verwendung entsprechender Wirkstoffe. Die antibiotische Therapie vor mikrobiologischer Diagnostik blieb bei einem Patienten unbekannt. 13 Patienten erhielten zu diesem Zeitpunkt keine Antibiotika bzw. Substanzen ohne Wirkung im gramnegativen Spektrum. Nach Vorliegen des Endbefundes wurde ein Patient nicht antimikrobiell behandelt. Zwei Patienten verstarben im Zeitraum der mikrobiologischen Diagnostik. Überwiegend eingesetzte Substanzklassen waren in absteigender Häufigkeit Chinolone, Penizilline mit Betalaktamase-Inhibitor (BLI) und Peneme (Meropenem). Nach mikrobiologischer Diagnostik kam es zu einer Zunahme an Chinolonen und Meropenem. Die Verwendung von Penizilinen mit BLI blieb hingegen relativ konstant.

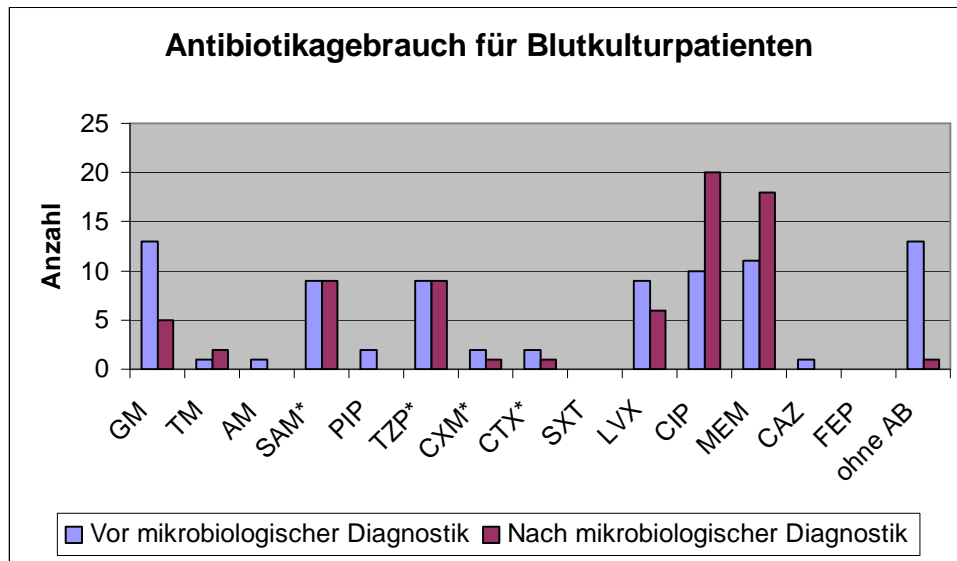


Abbildung 8: Verwendung von Einzelwirkstoffen bei der klinischen Therapie von Blutkulturpatienten. (Anmerkungen: * = Für diese Substanzen wurden entsprechende Wirkstoffäquivalente [siehe Material und Methoden] mitgezählt; AB = antibiotische Therapie mit Wirkung im gramnegativen Spektrum).

Antibiotika	vor mikrobiologischer Diagnostik	nach mikrobiologischer Diagnostik
Penizilline	3	0
<i>Monotherapie</i>	2	0
<i>mit Aminoglykosid</i>	1	0
Penizilline+BLI	18	18
<i>Monotherapie</i>	6	10
<i>mit Aminoglykosid</i>	7	4
Cephalosporine	5	2
<i>Monotherapie</i>	2	1
<i>mit Aminoglykosid</i>	2	1
Chinolone	19	26
<i>Monotherapie</i>	10	20
<i>mit Aminoglykosid</i>	0	0
Meropeneme	11	18
<i>Monotherapie</i>	6	14
<i>mit Aminoglykosid</i>	2	2
sonstige Kombinationen	9	6

Tabelle 8: Häufigkeiten verwendeter Wirkstoffklassen und Therapieformen (Mono-, Kombinationstherapie). (Anmerkung: BLI=Betalaktamase- Inhibitor).

Die am häufigsten verwendeten Einzelwirkstoffe waren Ciprofloxacin und Meropenem. Anstatt der getesteten Wirkstoffkombination Ampicillin/ Sulbactam wurde in allen Fällen mit dem Äquivalenz Amoxicilin/ Clavulansäure therapiert. Keine Patienten wurden mit Cotrimoxazol oder Cefepim behandelt. Aminoglykoside wurden ausschließlich in Kombination mit anderen Antibiotika eingesetzt. Im Einzelfall wurde für keinen Patienten ein Antibiotikum verwendet, das VMF, MF oder mF im Studienverfahren aufwies.

auf Grundlage von	Grund	Umstellung	ohne Umstellung
Identifizierung (im Gram-Präparat)	Spektrumerweiterung*	11	17
	Spektrumverminderung	7	
Antibiogramm	Resistenz	8	
	Spektrumverminderung	9	
unbekannt	unklar	9	

Tabelle 9: Einfluss mikrobiologischer Diagnostik auf Umstellungen der antibiotischen Therapie. (Anmerkung: * = Als Spektrumerweiterung nach Identifizierung wurde auch der Beginn einer antibiotische Therapie mit gramnegativ-wirksamen Substanzen gezählt).

Tabelle 9 gibt die Anzahl verschiedener Formen der antibiotischen Therapie-Umstellung wider. Im untersuchten Zeitraum kam es in 40 Fällen (69% aller vollständig auswertbaren Patienten) zur Umstellungen der antibiotischen Therapie. In 17 Fällen blieb eine bestehende antimikrobielle Therapie unbeeinflusst von mikrobiologischer Diagnostik. Ein Zusammenhang zwischen Änderung der antibiotischen Therapie und mikrobiologischer Diagnostik konnte für 31 Patienten (53%) festgestellt werden. Nach Erhalt des Gram-Befundes positiver Blutkulturen wurde in 18 Fällen die antibiotische Behandlung verändert (11x wurde eine antibiotische Therapie mit Wirkung im gramnegativen Spektrum begonnen, 7x Substanzen abgesetzt). Abgesetzte Wirkstoffe waren Metronidazol (4x), Ciprofloxacin (2x) und Cephazolin (1x). Antibiogramme führten in 17 Fällen zur Umstellung der antibiotischen Therapie (8x waren

Resistenzen, 9x eine Spektrumverminderung Grund einer Umstellung). Das Spektrum wurde in sieben Fällen durch Wechsel einer Kombinations- auf eine Monotherapie, in zwei Fällen durch Umstellung der Therapie von Meropenem auf Ciprofloxacin bzw. Piperacillin/ Tazobactam vermindert. Im Zeitraum der mikrobiologischen Diagnostik wurde in weiteren neun Fällen die antibiotische Therapie umgesetzt, deren kategorische Zuordnung nicht möglich war. Die Gründe der Umstellung blieben unbekannt.

Besonderheiten:

- Ein Patient erhielt trotz positiver Blutkultur nach Vorliegen des Endbefundes keine antibiotische Therapie.
- Zwei Patienten verstarben innerhalb des Zeitraums mikrobiologischer Diagnostik. Ein Patient erhielt zu diesem Zeitpunkt keine antibiotische Therapie, der andere wurde mit TZP (intermediär im Antibiogramm) behandelt.
- Nach Vorliegen des mikrobiologischen Endbefundes erhielten insgesamt acht Patienten nicht-sensibel getestete Substanzen: Verwendete Antibiotika waren TM, TZP, SAM (jeweils intermediäre Empfindlichkeit im Antibiogramm) und GM, 2x CIP, 2x SAM (jeweils resistent im Antibiogramm). Diese Wirkstoffe wurden in drei Fällen in Kombination, in vier Fällen als einzige Substanz mit Wirkung im gramnegativen Bereich weiter verabreicht.

3.1.2.3 Berechnung des klinischen Effekts der VMF und MF

Anhand einer speziellen Vierfeldertafel, die im klinisch-therapeutischen Teil der Studie ermittelt wurde, wurde die Wahrscheinlichkeit des klinischen Wirksamwerdens des im mikrobiologisch-diagnostischen Teil auftretenden VMF für SAM errechnet (Abbildung 9). Gegenüber der Routinediagnostik hätte das Studienverfahren aufgrund des VMF statistisch ein 0,11% höheres Risiko einer Behandlung eines SAM-resistenten Keims mit SAM.

Wahrscheinlichkeit des klinischen Wirksamwerdens eines VMF

Vierfeldertafel für SAM (aus dem klinisch-therapeutischen Studienteil)

	Therapie mit SAM*	Therapie mit anderem/n Wirkstoff(en)*
SAM-resistenter Keim	2	19
nicht SAM-resistenter Keim	7	31

*Therapie nach Vorliegen des Antibiogramms

Berechnungsprinzip

1. Patienten, deren SAM-resistente Keime vom Studienverfahren richtig erkannt, aber dennoch inadäquat (d.h. mit SAM) behandelt werden

(B1: Prävalenz Patienten mit SAM-resistentem Keim x Sensitivität_R x prozentuell SAM-Therapie bei R_{SAM})

2. Patienten, deren SAM-resistente Keime vom Studienverfahren nicht erkannt werden und entsprechend inadäquat (wie sensible Keime) behandelt werden

(B2: Prävalenz Patienten mit SAM-resistentem Keim x (1-Sensitivität_R) x prozentuell SAM-Therapie bei I/S_{SAM})

3. Patienten, die beim Routineverfahren eine inadäquate Therapie (Therapie eines SAM-resistenten Keims mit SAM) erhalten

(B3: Prävalenz Patienten mit SAM-resistentem Keim x prozentuell SAM-Therapie bei R_{SAM})

Berechnung

B1 + B2 = Patienten, die eine inadäquate Therapie (SAM-Therapie trotz Resistenz) im Studienverfahren erhalten

B3 = Patienten, die im Routineverfahren eine inadäquate Therapie erhalten

Anzahl Patienten, die aufgrund eines VMF eine inadäquate Therapie erhalten:

$$\begin{aligned}
 P &= B1 + B2 - B3 = (21 \times 0,966 \times 0,095) + (21 \times [1 - 0,966] \times 0,184) - (21 \times 0,095) \\
 &= 1,927 + 0,131 - 1,995 = 0,063
 \end{aligned}$$

Durch das Studienverfahren erhalten von 59 Patienten 0,063 (0,11%) mehr eine inadäquate SAM-Therapie gegenüber der Routinediagnostik.

Abbildung 9: Herleitung und Berechnung der Wahrscheinlichkeit einer inadäquaten Therapie aufgrund des ermittelten VMF für SAM. (Anmerkungen: R_{SAM} = SAM-resistenter Keim, I/S_{SAM} = Keim ist gegenüber SAM sensibel [S] oder intermediär resistent [I])

Zur Berechnung des klinischen Effektes der ermittelten MF für SAM und TZP wurde eine vereinfachte Berechnung durchgeführt. Aus der prozentualen Häufigkeit H des Wirkstoffgebrauchs im klinisch-therapeutischen Studienteil, der Rate sensibler Keime S und der unvollständigen Detektionsgenauigkeit D (1-Sensitivität_s : 100%) des Studienverfahrens für diese Substanzen wurde die Wahrscheinlichkeit abgeschätzt, mit der die MF dieser Studie für SAM und TZP klinisch wirksam wären:

$$MF_{SAM} = H_{SAM} \times S_{SAM} \times D_{SAM} = 0,197 \times 0,493 \times 0,027 = 0,0026 \text{ (0,26\%)}$$

$$MF_{TZP} = H_{TZP} \times S_{TZP} \times D_{TZP} = 0,2 \times 0,907 \times 0,015 = 0,0027 \text{ (0,27\%)}$$

Die Wahrscheinlichkeit, dass SAM- bzw. TZP-sensible Keime nicht mit dem entsprechenden Wirkstoff behandelt werden, da sie aufgrund von MF als falsch-resistent im Antibiogramm erscheinen, liegt zusammengenommen bei 0,53%.

3.2 Urinproben und Harnwegsinfektion

3.2.1 Genauigkeit des Uro-Quick – Systems

Die Auswertung erfolgte anhand von 871 Urinproben, die während des entsprechenden Zeitraumes im mikrobiologischen Institut eingegangen sind.

3.2.1.1 Erregerspektrum

Das Erregerspektrum der 871 aufgenommenen Urinproben zeigt Abbildung 10. Aus 500 Proben konnten Keime diagnostiziert werden, von denen 280 (56%) als typische HWI-Erreger und 220 als Kontaminanten (Kriterien siehe 2.2.2.2) identifiziert werden konnten. Die Gruppe der gramnegativen Stäbchen bildete mit 60,4% den größten Anteil der typischen HWI-Erreger, gefolgt von grampositiven Kokken (28,9%) und Pilzen (10,7%).

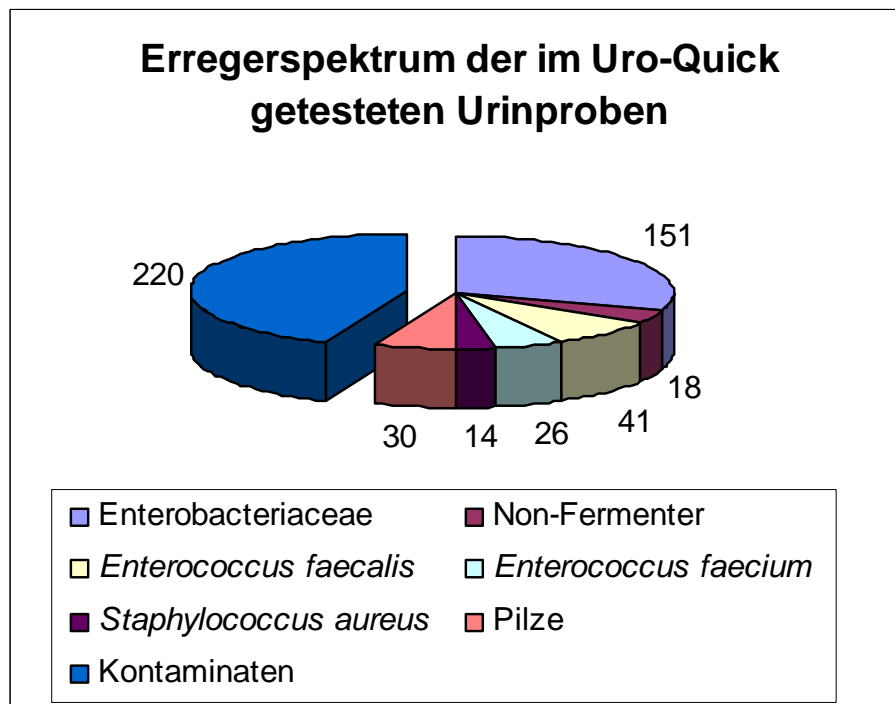


Abbildung 10: Anteil an typischen HWI-Erregern und Kontaminanten (abgetrennter Abschnitt) der getesteten Urinproben.

3.2.1.2 Genauigkeit des Uro-Quick 60

Die Erfassung der Genauigkeit des Uro-Quick – Systems erfolgte zunächst ohne, anschließend mit Einbeziehung des Leukozytennachweises als Screening. Tabelle 10 zeigt die Ergebnisse beider Verfahren im Vergleich. Ohne Screening erreichte das Uro-Quick – System eine Gesamtsensitivität von 87,1%, eine Gesamtspezifität von 94,9%. Positiver und negativer prädiktiver Wert lagen bei 92,8% und 90,7%. Unter Einbeziehung des Leukozytennachweises erhöhten sich Sensitivität und negativer prädiktiver Wert auf 91,8% bzw. 93,4%. Gleichzeitig fielen Spezifität und positiver prädiktiver Wert auf 88,1% bzw. 85,4%. Diese Berechnungen erfolgten unter Ausklammerung von Urinproben, die Kontaminanten enthielten. Werden Kulturen der Routinediagnostik mit Kontaminaten, die vom Uro-Quick nicht positiv-gemeldet wurden, als falsch-negatives Screening bewertet, berechneten sich Genauigkeitsparameter folgendermaßen: Sensitivität = 75,6%, Spezifität = 94,9%, PPW = 95,2%, NPW = 74,3% (unter Einbezug des Leukozytentests:

Sensitivität = 81,8%, Spezifität = 88,1%, PPW = 90,3%, NPW = 78,2%). Werden vom System positiv-gemeldete Urinproben, die nur Kontaminanten enthielten, als falsch-positiv bewertet, veränderten sich die Genauigkeitsparameter in folgender Weise: Sensitivität = 87,1%, Spezifität = 74,1%, PPW = 61,4%, NPW = 92,4% (unter Einbezug des Leukozytentests: Sensitivität = 91,8%, Spezifität = 66,8%, PPW = 56,7%, NPW = 94,5%).

Genauigkeit des Uro-Quick - Systems					
Vierfeldertafel	Uro-Quick ohne Screening		Uro-Quick mit Screening		
		UQ pos	UQ neg	UQ/Leukos pos	UQ+Leukos neg
	Kultur pos	244	36	257	23
	Kultur neg	19	352	44	327
Kontaminaten		UQ pos	UQ neg	UQ/Leukos pos	UQ+Leukos neg
	Kultur pos mit Kont.	134	86	152	68
Sensitivität		87,1%		91,8%	
KI (95%)		(82,5-90,7)		(87,8-94,6)	
Spezifität		94,9%		88,1%	
KI (95%)		(92,0-96,8)		(84,3-91,2)	
Prädiktive Werte		PPW: 92,8%	NPW: 90,7%	PPW: 85,4%	NPW: 93,4%
KI (95%)		(88,8-95,5)	(87,3-93,3)	(80,8-89,1)	(90,2-95,7)

Tabelle 10: Überblick über die Genauigkeit des Uro-Quick – Systems mit und ohne Screening (Leukozytennachweis). (Anmerkungen: PPW = positiver prädiktiver Wert; NPW = negativer prädiktiver Wert; KI (95%) = 95%-Konfidenzintervalle; UQ = Uro-Quick; Vierfeldertafel: Kulturen des Routineverfahrens galten als Referenz. Im Verfahren mit Screening wurde eine Probe als positiv bewertet, wenn entweder die Meldung im Uro-Quick [UQ] oder der Leukozytentest [Leukos] positiv ausfielen. Eine Probe wurde als negativ bewertet, wenn sowohl UQ als auch Leukos negativ ausfielen. Graue Felder heben Fehler hervor).

Die Tabellen 11 und 12 zeigen Sensitivitäten für unterschiedliche Keime und Keimzahlen auf: Für Keimzahlen > 100.000/ml wurden mit Ausnahme der Enterobacteriaceae (ohne Screening) für alle wichtigen HWI-Erreger Sensitivitäten von 100% erreicht. Für geringere Keimzahlen fielen die Detektionsgenauigkeit auf 0,0% - 66,7% ohne und 0,0% - 76,9% mit Screening ab. Mit 53,8% trat für *Enterococcus faecium* die geringste Gesamtsensitivität im Test auf. Auch unter Einbezug des Screenings (Leukozytennachweis) verbesserte sich das Ergebnis für diese Spezies nicht. Für gramnegative

Stäbchen (Enterobacteriaceae, Non-Fermenter) wurden die höchsten Gesamtsensitivitäten erreicht. Unter Einbezug des Screenings konnten diese für Enterobacteriaceae von 92,1% auf 98,0%, für Non-Fermenter von 94,4% auf 100,0% erhöht werden. Während die Gesamtsensitivitäten nach Einbezug des Leukozytennachweises für *Enterococcus faecium* und *Staphylococcus aureus* unverändert bei 53,8% bzw. 85,8% blieben, erhöhten sie sich für Pilze und *Enterococcus faecalis* auf 90,0% bzw. 92,7%.

Sensitivitäten für einzelne Erreger (ohne Screening)									
Keim	Gesamt			KZ <10.000/ml		intermediäre KZ*		KZ >100.000/ml	
	Sensitivität	KI (95%)	Anzahl	Sensitivität	Anzahl	Sensitivität	Anzahl	Sensitivität	Anzahl
Enterobacteriaceae	92,1%	86,2-95,6	151	53,8%	13	83,3%	24	98,2%	114
Non-Fermenter	94,4%	72,7-99,9	18	-	0	80,0%	5	100,0%	13
<i>Enterococcus faecalis</i>	87,8%	73,8-95,9	41	28,8%	7	100,0%	11	100,0%	23
<i>Enterococcus faecium</i>	53,8%	33,4-73,4	26	10,0%	10	57,1%	7	100,0%	9
<i>Staphylococcus aureus</i>	85,7%	57,2-98,2	14	0,0%	1	66,7%	3	100,0%	10
Pilze	86,7%	69,3-96,2	30	66,7%	12	100,0%	4	100,0%	14

Tabelle 11: Sensitivitäten des Uro-Quick – Systems für einzelne HWI-Erreger und Keimzahlen. (Anmerkungen: KI (95%) = 95%-Konfidenzintervall; KZ = Keimzahl; intermediäre KZ* = Keimzahlen zwischen 10.000/ml und 100.000/ml).

Sensitivitäten für einzelne Erreger (mit Leukozytennachweis als Screening)									
Keim	Gesamt			KZ <10.000/ml		intermediäre KZ*		KZ >100.000/ml	
	Sensitivität	KI (95%)	Anzahl	Sensitivität	Anzahl	Sensitivität	Anzahl	Sensitivität	Anzahl
Enterobacteriaceae	98,0%	93,9-99,5	151	76,9%	13	100,0%	24	100,0%	114
Non-Fermenter	100,0%	81,5-100	18	-	0	100,0%	5	100,0%	13
<i>Enterococcus faecalis</i>	92,7%	80,1-98,5	41	57,1%	7	100,0%	11	100,0%	23
<i>Enterococcus faecium</i>	53,8%	33,4-73,4	26	10,0%	10	57,1%	7	100,0%	9
<i>Staphylococcus aureus</i>	85,7%	57,2-98,2	14	0,0%	1	66,7%	3	100,0%	10
Pilze	90,0%	73,5-97,8	30	75,0%	12	100,0%	4	100,0%	14

Tabelle 12: Sensitivitäten des Uro-Quick – Systems unter Einbezug des Leukozytennachweises als Screening für einzelne HWI-Erreger und Keimzahlen. (Anmerkungen: KI (95%) = 95%-Konfidenzintervall; KZ = Keimzahl; intermediäre KZ* = Keimzahlen zwischen 10.000/ml und 100.000/ml).

3.2.2 Schnellverfahren zur Antibiotogrammstellung aus Urinproben

3.2.2.1 Mikrobiologisch-diagnostischer Teil

Im Studienverfahren wurden 22 den Kriterien entsprechende Urinproben getestet. In zwei Fällen war ein zuverlässiges Ablesen des Agardiffusionstests nicht möglich. Diese Proben wurden nicht in die Studie aufgenommen. Die Auswertung erfolgte auf der Grundlage von 20 Antibiotogrammen.

3.2.2.1.1 Erregerspektrum und Probenübersicht

Das Erregerspektrum der 20 aufgenommenen Urinproben zeigt Abbildung 11. Es wurden ausschließlich Enterobacteriaceae identifiziert. *Escherichia coli* war mit 70% häufigster Keim.

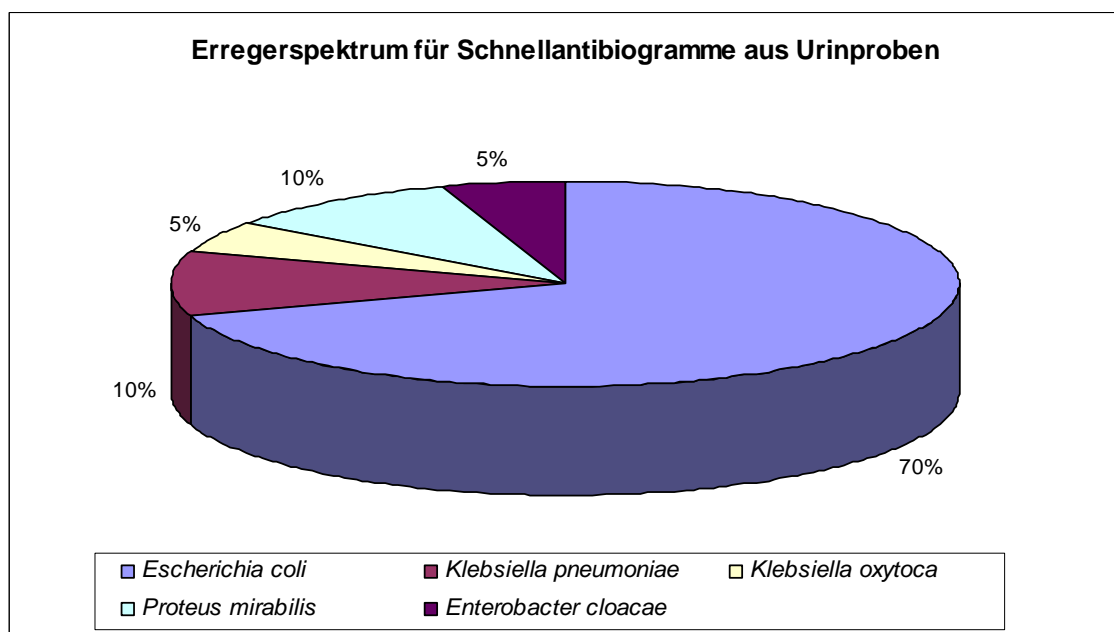


Abbildung 11: Anteil identifizierter Keime aus Urinproben des Studienverfahrens.

Einen Überblick über die Parameter der verwendeten Proben zeigt Tabelle 13. Es wurden ausschließlich Mittelstrahl- oder Katheterurinproben verwendet. In zwei Fällen wurde die Art der Uringewinnung durch die Klinik nicht angegeben. Leukozyten konnten in 13 Proben nachgewiesen werden. Eine Keimzahl

< 10.000/ml konnte für eine Probe, eine Keimzahl von 10.000 – 100.000/ml für zwei Proben festgestellt werden. In allen anderen Fällen war die Keimzahl > 100.000/ml.

Keim	Anzahl	Fehler			Keimzahlen			Urinart		positiver Leukozytentest
		VMF	MF	mF	>10 ⁵	10 ⁴ -10 ⁵	<10 ⁴	Mittelstrahl	Katheter	
<i>Escherichia coli</i>	14	0	0	7	12	1	1	9*	4*	9
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	0	0	2	2	0	0	1	1	2
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	0	1	0	1	0	0	1	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	2	1	0	2	1	1	0	1	1	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	0	0	3	1	0	0	n.bek.*	n.bek.*	1

Tabelle 13: Überblick über verschiedene Parameter und Ergebnisse des Studienverfahrens. (Anmerkungen: n.bek.= nicht bekannt; * = Für einige Proben wurde von der Klinik die Art der Urinprobengewinnung nicht angegeben).

3.2.2.1.2 Resistenzen gegen Antibiotika

Die Ergebnisse für das Schnellverfahren sind im Überblick der Tabelle 13 zu entnehmen. Insgesamt traten an Fehlern auf: 1 VMF (0,4%), 1 MF (0,4%) und 14 mF (5,9%). Daraus errechnete sich für das Verfahren eine Gesamtsensitivität_S von 99,5%, eine Gesamtsensitivität_R von 97,1%. Für Cefuroxim lag die Sensitivität_S bei 90,9%, für Ampicillin/ Sulbactam die Sensitivität_R bei 80%. Alle anderen getesteten Antibiotika wiesen spezielle Sensitivitäten von 100% auf (Tabelle 14). Mit insgesamt 5 (25%) mF traten für Cefuroxim die meisten mF auf.

3.2.2.1.3 Zeitbedarf

Eine Positivmeldung durch das Uro-Quick – Gerät erfolgte im Mittel nach 63 Minuten (Median: 45 Minuten, Streuung: 30 – 210 Minuten). Aus labortechnischen Gründen wurden in fünf Fällen Proben, die bereits hohe Keimzahlen (>1 Million/ml) anzeigten, vor einer Positivmeldung manuell aus dem Gerät genommen (Bei der Berechnung der mittleren Detektionsdauer wurden diese Proben nicht berücksichtigt!).

Ergebnisse und Fehler des Schnelltests für Urinproben für einzelne Antibiotika														
Antibiotikum	Anzahl	Vierfeldertafel	Sensitivitäten (%)	KI (95%)	mF									
Gentamicin <i>GM</i>	20	<table border="1"> <tr> <td></td> <td>S_{SV}</td> <td>R_{SV}</td> </tr> <tr> <td>S_{RV}</td> <td>19</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>R_{RV}</td> <td>0</td> <td>1</td> </tr> </table>		S _{SV}	R _{SV}	S _{RV}	19	0	R _{RV}	0	1	Sensitivitäts: 100 Sensitivitäts _R : 100	82,35-100 -	0
			S _{SV}	R _{SV}										
S _{RV}	19	0												
R _{RV}	0	1												
Tobramycin <i>TM</i>	20	<table border="1"> <tr> <td></td> <td>S_{SV}</td> <td>R_{SV}</td> </tr> <tr> <td>S_{RV}</td> <td>19</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>R_{RV}</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> </table>		S _{SV}	R _{SV}	S _{RV}	19	0	R _{RV}	0	0	Sensitivitäts: 100 Sensitivitäts _R : -	82,35-100 -	1 (5%)
			S _{SV}	R _{SV}										
S _{RV}	19	0												
R _{RV}	0	0												
Ampicillin <i>AM</i>	20	<table border="1"> <tr> <td></td> <td>S_{SV}</td> <td>R_{SV}</td> </tr> <tr> <td>S_{RV}</td> <td>10</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>R_{RV}</td> <td>0</td> <td>9</td> </tr> </table>		S _{SV}	R _{SV}	S _{RV}	10	0	R _{RV}	0	9	Sensitivitäts: 100 Sensitivitäts _R : 100	69,15-100 66,37-100	1 (5%)
			S _{SV}	R _{SV}										
S _{RV}	10	0												
R _{RV}	0	9												
Amp/Sulb <i>SAM</i>	20	<table border="1"> <tr> <td></td> <td>S_{SV}</td> <td>R_{SV}</td> </tr> <tr> <td>S_{RV}</td> <td>11</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>R_{RV}</td> <td>1</td> <td>4</td> </tr> </table>		S _{SV}	R _{SV}	S _{RV}	11	0	R _{RV}	1	4	Sensitivitäts: 100 Sensitivitäts _R : 80	71,51-100 28,36-99,49	3 (15%)
			S _{SV}	R _{SV}										
S _{RV}	11	0												
R _{RV}	1	4												
Piperacillin <i>PIP</i>	20	<table border="1"> <tr> <td></td> <td>S_{SV}</td> <td>R_{SV}</td> </tr> <tr> <td>S_{RV}</td> <td>13</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>R_{RV}</td> <td>0</td> <td>3</td> </tr> </table>		S _{SV}	R _{SV}	S _{RV}	13	0	R _{RV}	0	3	Sensitivitäts: 100 Sensitivitäts _R : 100	75,29-100 29,24-100	2 (10%)
			S _{SV}	R _{SV}										
S _{RV}	13	0												
R _{RV}	0	3												
Pip/Tazo <i>TZP</i>	20	<table border="1"> <tr> <td></td> <td>S_{SV}</td> <td>R_{SV}</td> </tr> <tr> <td>S_{RV}</td> <td>18</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>R_{RV}</td> <td>0</td> <td>1</td> </tr> </table>		S _{SV}	R _{SV}	S _{RV}	18	0	R _{RV}	0	1	Sensitivitäts: 100 Sensitivitäts _R : 100	81,47-100 -	0
			S _{SV}	R _{SV}										
S _{RV}	18	0												
R _{RV}	0	1												
Cefuroxim <i>CXM</i>	20	<table border="1"> <tr> <td></td> <td>S_{SV}</td> <td>R_{SV}</td> </tr> <tr> <td>S_{RV}</td> <td>10</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>R_{RV}</td> <td>0</td> <td>3</td> </tr> </table>		S _{SV}	R _{SV}	S _{RV}	10	1	R _{RV}	0	3	Sensitivitäts: 90,9 Sensitivitäts _R : 100	58,72-99,77 29,24-100	5 (25%)
			S _{SV}	R _{SV}										
S _{RV}	10	1												
R _{RV}	0	3												
Cefotaxim <i>CTX</i>	19	<table border="1"> <tr> <td></td> <td>S_{SV}</td> <td>R_{SV}</td> </tr> <tr> <td>S_{RV}</td> <td>18</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>R_{RV}</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> </table>		S _{SV}	R _{SV}	S _{RV}	18	0	R _{RV}	0	0	Sensitivitäts: 100 Sensitivitäts _R : -	81,47-100 -	1 (5,3%)
			S _{SV}	R _{SV}										
S _{RV}	18	0												
R _{RV}	0	0												
Cotrimoxazol <i>SXT</i>	20	<table border="1"> <tr> <td></td> <td>S_{SV}</td> <td>R_{SV}</td> </tr> <tr> <td>S_{RV}</td> <td>16</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>R_{RV}</td> <td>0</td> <td>4</td> </tr> </table>		S _{SV}	R _{SV}	S _{RV}	16	0	R _{RV}	0	4	Sensitivitäts: 100 Sensitivitäts _R : 100	79,41-100 39,76-100	0
			S _{SV}	R _{SV}										
S _{RV}	16	0												
R _{RV}	0	4												
Levofloxacin <i>LVX</i>	20	<table border="1"> <tr> <td></td> <td>S_{SV}</td> <td>R_{SV}</td> </tr> <tr> <td>S_{RV}</td> <td>16</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>R_{RV}</td> <td>0</td> <td>4</td> </tr> </table>		S _{SV}	R _{SV}	S _{RV}	16	0	R _{RV}	0	4	Sensitivitäts: 100 Sensitivitäts _R : 100	79,41-100 39,76-100	0
			S _{SV}	R _{SV}										
S _{RV}	16	0												
R _{RV}	0	4												
Ciprofloxacin <i>CIP</i>	20	<table border="1"> <tr> <td></td> <td>S_{SV}</td> <td>R_{SV}</td> </tr> <tr> <td>S_{RV}</td> <td>16</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>R_{RV}</td> <td>0</td> <td>4</td> </tr> </table>		S _{SV}	R _{SV}	S _{RV}	16	0	R _{RV}	0	4	Sensitivitäts: 100 Sensitivitäts _R : 100	79,41-100 39,76-100	1 (4,5%)
			S _{SV}	R _{SV}										
S _{RV}	16	0												
R _{RV}	0	4												
Meropenem <i>MEM</i>	20	<table border="1"> <tr> <td></td> <td>S_{SV}</td> <td>R_{SV}</td> </tr> <tr> <td>S_{RV}</td> <td>20</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>R_{RV}</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> </table>		S _{SV}	R _{SV}	S _{RV}	20	0	R _{RV}	0	0	Sensitivitäts: 100 Sensitivitäts _R : -	83,16-100 -	0
			S _{SV}	R _{SV}										
S _{RV}	20	0												
R _{RV}	0	0												
GESAMT	239	<table border="1"> <tr> <td></td> <td>S_{SV}</td> <td>R_{SV}</td> </tr> <tr> <td>S_{RV}</td> <td>186</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>R_{RV}</td> <td>1</td> <td>33</td> </tr> </table>		S _{SV}	R _{SV}	S _{RV}	186	1	R _{RV}	1	33	Sensitivitäts: 99,5 Sensitivitäts _R : 97,1	96,60-99,97 84,67-99,93	14 (5,9%)
	S _{SV}	R _{SV}												
S _{RV}	186	1												
R _{RV}	1	33												

Tabelle 14: Ergebnisse des Studienverfahrens für einzelne Antibiotika. (Anmerkungen: KI (95%) = 95% - Konfidenzintervalle; Vierfeldertafeln: Dargestellt ist die Häufigkeit sensibler [S] und resistenter [R] Keime im Studien- [SV] und Referenzverfahren [RV], hellgraue Felder entsprechen MF, dunkelgraue Felder entsprechen VMF; prozentuale Angaben beziehen sich auf die einzelnen Antibiotika).

Der Zeitgewinn gegenüber dem Routineverfahren wurde nicht dokumentiert. Er ließ sich in folgender Weise abschätzen: Im Labor wurden Agardiffusionstest des Studienverfahrens und Kulturen des Routineverfahrens gleichzeitig angesetzt. Während das Antibigramm des Schnellverfahrens am nächsten Morgen direkt abgelesen werden konnte, musste im Routineverfahren die Kultur erst weiterverarbeitet werden. Es folgte die standardisierte Inkubation im Vitek 2. Entsprechend würde der Zeitgewinn ca. 5-15 Stunden (Zeitdauer der Antibigrammerstellung im Vitek 2) betragen.

3.2.2.2 Klinisch-therapeutischer Teil

3.2.2.2.1 *Patienten*

Die 20 im Studienverfahren getesteten Urinproben wurden von neun verschiedenen Fachkliniken eingeliefert (siehe Tabelle 15). Elf Proben stammten aus stationären, neun aus ambulanten Bereichen. Mit jeweils vier Proben bildete die Innere Medizin (Medizinische Klinik und Poliklinik) und die Klinik für Allgemeine, Viszeral- und Transplantationschirurgie den größten Anteil. Das Durchschnittsalter der 20 Patienten lag bei 52 Jahren. Abbildung 11 gibt eine Zuordnung von Keimen und Patientenalter wider.

Fachklinik	Anzahl		Durchschnittsalter
	ambulant	stationär	
Medizinische Klinik und Poliklinik	1	3	77
Klinik für Allgemeine, Viszeral- und Transplantationschirurgie	3	1	45
Klinik für Kinder- und Jugendmedizin inkl. Neonatologie	3	0	16
Klinik für Urologie	1	1	51
Klinik für Neurochirurgie	0	2	63
Frauenklinik	1	1	34
Berufsgenossenschaftliche Unfallklinik (BGU)	0	1	84
Psychosomatische Klinik (Rottenburg)	0	1	80
Klinik für Thorax-, Herz- und Gefäß-Chirurgie	0	1	78
<i>Zusammenfassung</i>	9	11	52

Tabelle 15: Anzahl an Urinproben aus verschiedenen Fachkliniken der Universitätsklinik Tübingen und Durchschnittsalter der Patienten.

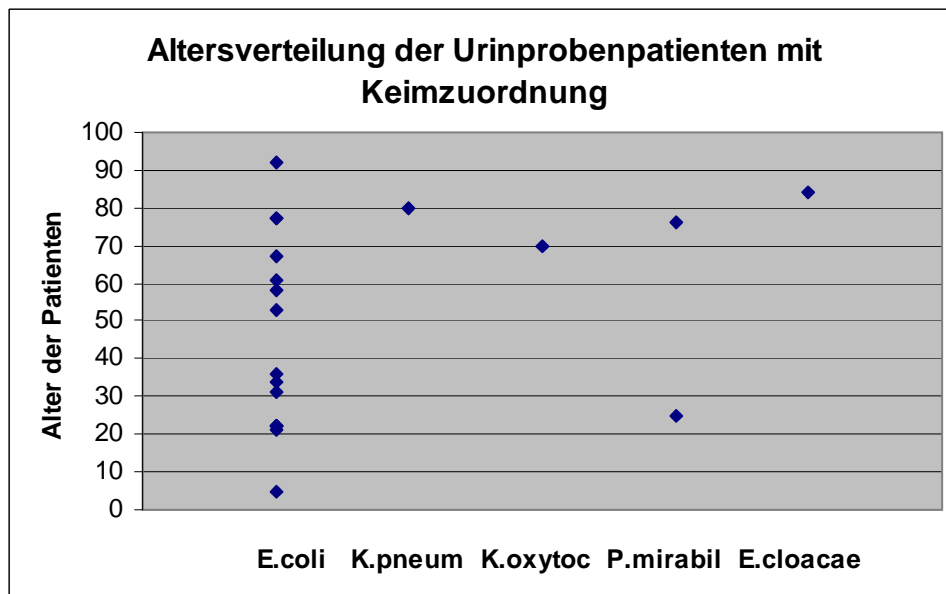


Abbildung 12: Lebensalter der Patienten für die identifizierten Keime. (Anmerkungen: E.coli = Escherichia coli; K.pneum = Klebsiella pneumoniae; K.oxytoc = Klebsiella oxytoca; P.mirabil = Proteus mirabilis; E.cloacae = Enterobacter cloacae).

3.2.2.2 Antibiotische Therapien

Für 13 der 20 in die Studie aufgenommen Patienten waren Akten zur Auswertung verfügbar. Abbildung 13 gibt einen Überblick über die Verwendung entsprechender Wirkstoffe. Für jeweils einen Patienten konnte den Akten keine Einträge über antibiotische Therapie vor bzw. nach mikrobiologischer Diagnostik entnommen werden. Therapeutische Verwendung fanden hauptsächlich Chinolone. In einem Fall wurde mit einem Cephalosporin (Cefaclor) behandelt.

Ein Patient wurde vor mikrobiologischer Diagnostik mit Ciprofloxacin therapiert. Elf Patienten erhielten zu diesem Zeitpunkt keine antibiotische Behandlung. Ein Patient wurde mit Ciprofloxacin behandelt, das mit einem mF im Studienverfahren behaftet war. Eine antibiotische Therapie wurde für zehn Patienten durch mikrobiologische Vorbefunde (Grobklassifizierung eines Erregers nach Gramverhalten und Morphologie) initiiert. Das Antibiogramm wurde nur in einem Fall zur Umstellung einer Therapie genutzt.

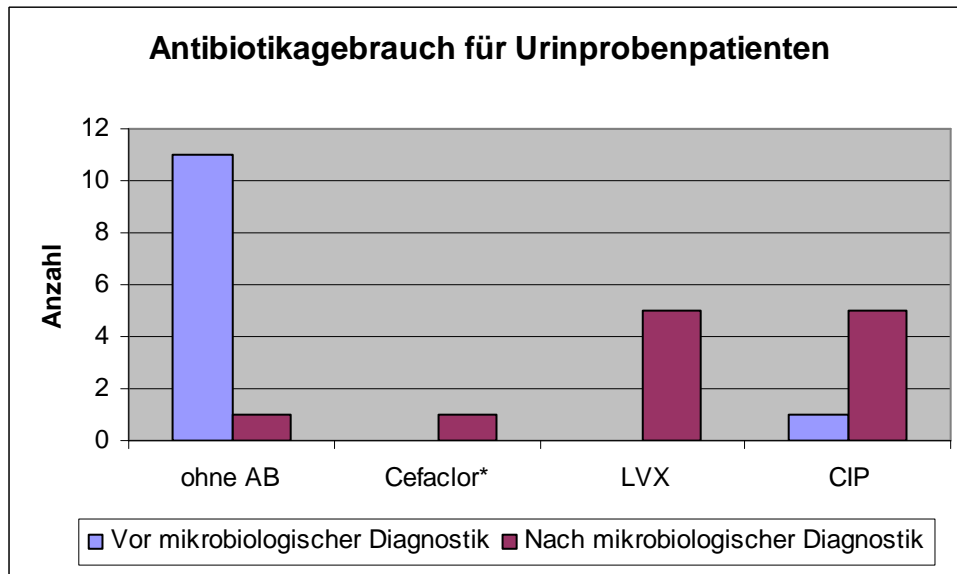


Abbildung 13: Verwendung von Einzelwirkstoffen bei der klinischen Therapie von Urinprobenpatienten. (Anmerkung: Cefaclor* = dieses Cephalosporin kann nicht im Vitek 2 getestet werden und erscheint nicht in Antibiotogrammen; AB = antibiotische Therapie mit Wirkung im gramnegativen Spektrum).

Besonderheiten:

- In einem Fall wurde eine antibiotische Therapie von Ciprofloxacin auf Levofloxacin umgestellt (gegen beide Substanzen waren Keime im Antibiotogramm resistent).
- Ein Patient erhielt nach mikrobiologischer Diagnostik eine Monotherapie mit Clarithromycin (eingeschränkte Wirkung im gramnegativen Spektrum).

4 Diskussion

Ziel der vorliegenden Studie war die Evaluation einer automatisierten Schnelldiagnostik gramnegativer Stäbchen aus Flüssignährmedien an den Beispielen Blutkultur- und Urinprobendiagnostik. Ein zeitsparendes Verfahren wurde mit den konventionellen Methoden verglichen. Darüber hinaus wurden klinische Daten der Therapie gramnegativer Stäbchen für die Patienten, deren Proben im diagnostischen Teil getestet wurden, ermittelt. Dadurch sollte der Einfluss der Diagnostik auf die Behandlung überprüft und gegebenenfalls Möglichkeiten einer besseren Nutzung von Befunden aufgezeigt werden. Zur Beurteilung der Studienergebnisse gilt es folgende Aspekte in der Diskussion zu berücksichtigen: Welchen Anforderungen muss ein adäquates diagnostisches Schnellverfahren entsprechen? Welche Effekte haben mikrobiologische Befunde auf die klinische Therapie und wie wirken sich Laborfehler aus? Da eine optimale antibiotische Therapie nur in interdisziplinärer Zusammenarbeit erreicht werden kann, wurde auf Einordnung der Ergebnisse in einen diagnostisch-therapeutischen Kontext besonderen Wert gelegt.

4.1 Blutkulturen und Sepsis

4.1.1 Mikrobiologisch-diagnostischer Teil

Eine optimale mikrobiologische Diagnostik beschränkt sich nicht nur auf die Lieferung korrekter und schneller Befunde an die Klinik. Aus aktuellen Problemen heraus ergeben sich weitere Herausforderungen, deren Bedeutungen in Zukunft noch steigen werden (143,181,186,219): Durch Entwicklung kostengünstiger Diagnostik gilt es das Gesundheitssystem zu entlasten. Eine verantwortungsvolle Aufgabe der Mikrobiologie besteht bei der Eindämmung der globalen Zunahme an Antibiotikaresistenzen. Welche Verbesserungsmöglichkeiten sich aus Ergebnissen dieser Studie für die Diagnostik ergeben, soll in den folgenden Abschnitten diskutiert werden.

4.1.1.1 Identifizierungen

Bevor die Identifizierungsergebnisse der vorgelegten Arbeit diskutiert werden, soll die Bedeutung dieser Art der Diagnostik dargestellt werden. Wichtige Funktionen einer Keimidentifizierung sind:

- Hinweis auf eine geeignete antibiotische Therapie
- Nachweis einer Infektion (Abgrenzung zur Kontamination)
- Erkennung isolierpflichtiger Keime

Es gilt zwei Arten der Identifizierung gegeneinander abzugrenzen: Wird mit Hilfe eines Blutkultursystems (wie z.B. dem Bactec 9240) eine Bakteriämie nachgewiesen, erfolgt unmittelbar eine Grobidentifizierung der Keime im mikroskopischen Präparat (Gram-Färbung). Entsprechende Befunde werden schnellstmöglich an die Klinik gemeldet. Da eine solche Identifizierung vor dem Antibioogramm vorliegt, kann sie hilfreich sein, eine Therapie zu beginnen oder ein unwirksames Medikament einer breiten Initialtherapie abzusetzen (z.B. Vancomycin für gramnegative Bakterien). Davon abzugrenzen ist die endgültige biochemische Identifizierung eines Keimes. Deren klinischer Wert liegt in erster Linie darin, Kontaminaten oder isolierpflichtige Erreger zu erkennen. Während bei Identifizierung typischer Bakterien der Hautflora (Koagulase-negative Staphylokokken u.a.) eine Kontamination der entsprechenden Probe nicht ausgeschlossen werden kann, kann im Falle gramnegativen Stäbchen mit fast 100%iger Sicherheit eine echte Bakteriämie angenommen werden (229). Die Notwendigkeit der Isolierung von Patienten, die mit ESBL-Stämmen infiziert sind, ist bislang noch umstritten (93). Im Gegensatz zu anderen multiresistenten Keimen (z.B. MRSA) existieren bisher keine offiziell verbindlichen Richtlinien zu Isoliermaßnahmen. Der Nachweis von ESBLs hat durch spezielle Techniken zu erfolgen und sollte möglichst schnell an die Klinik gemeldet werden (208).

Zur Identifizierung von Keimen aus Blutkulturen und deren Testung auf das Vorliegen von Resistenzen gegen Antibiotika, wurde in dieser Studie parallel zur Routinediagnostik ein Schnellverfahren evaluiert. Ergebnisse der Routine-

verfahren galten als „Goldstandard“, mit denen Ergebnisse der Studienmethode verglichen wurden. Eine korrekte Identifizierung durch das Studienverfahren lag bei Übereinstimmung mit dem Goldstandard vor, eine Fehlidentifizierung bei Nichtübereinstimmung. In einigen Fällen konnte das Schnellverfahren Keime nicht identifizieren. Das in der vorliegenden Arbeit (durch den Goldstandard) ermittelte Erregerspektrum zeigte *Escherichia coli* (59%) als dominierenden Keim. Da die Epidemiologie von einer Vielzahl an Faktoren (z.B. biologische und thermische Gegebenheiten, hygienische Verhältnisse...) beeinflusst wird, unterscheiden sich die ermittelten prozentuellen Anteile einzelner Erreger im Rahmen einer regionalen und nationalen Abweichungen auch von anderen Publikationen (80,81). Im Studienverfahren wurden 62 (83%) gramnegative Stäbchen korrekt identifiziert, 12 (16%) konnten nicht identifiziert werden. Eine *Klebsiella oxytoca* wurde als *Enterobacter aerogenes* fehlidentifiziert. Diese beiden Keime sind taxonomisch eng verwandt und weisen sehr ähnliche biochemische Muster auf (26). Fehlidentifizierungen zwischen *Enterobacter aerogenes* und Klebsiellen sind in der Literatur bereits beschrieben (37,65). Die biochemische Keimidentifizierung erfolgte insgesamt v.a. für Non-Fermenter mit nicht ausreichend befriedigender Genauigkeit (56% korrekt identifiziert). Anhand ähnlicher Ergebnisse belegen diverse Studien, dass die verwendeten VITEK® 2-ID-GNB-Karten zur Identifizierung von Non - Fermentern sowohl durch standardisierte als auch durch zeitlich verkürzte Verfahren nur bedingt geeignet sind (77,113,174). Mittlerweile existiert jedoch eine neue Generation an Karten, die in bisherigen Studien deutlich bessere Identifizierungsraten für derartige Keime erzielte (78,228). In dieser Studie traten keine ESBL-Stämme auf. Publikationen zeigen jedoch, dass das Vitek 2 – System durchaus in der Lage ist entsprechende Keime zu identifizieren (34,135,209).

In der Kombination BACTEC® 9240 und VITEK® 2 wurden ähnliche Schnellverfahren zur Blutkulturanalyse von gramnegativen Stäbchen bereits in anderen Studien getestet (27,120,139). Identifizierungsraten dieser Studien lagen zwischen 80% und 95%, Fehlidentifizierungsraten zwischen 0% und 2%. Eine Publikation von de Cueto et al weicht mit einer Fehlidentifizierungsrate von

10% deutlich von diesen ab (51). „Problemkeime“ der Identifizierung durch das Schnellverfahren waren in der vorgelegten Arbeit v.a. Non-Fermenter und Klebsiellen. Anhand der unterschiedlichen getesteten Erregerspektren lässt sich die Streuung der Identifizierungsraten der vergleichbaren Studien erklären: Ein Großteil der nicht identifizierbaren und fehlidentifizierten Keime waren Non-Fermenter, Klebsiellen oder seltene andere gramnegative Erreger. Ein weiterer möglicher Grund für die Streuung könnte auch durch methodische Unterschiede begründet sein: Unterschiedliche Zentrifugationsdauern und –stärken in den Studien könnten für verschiedene Ausgangsbedingungen verantwortlich sein. Eine zu starke Zentrifugation könnte die Vitalität der zu identifizierenden Keime vermindert haben, während zu schwaches Zentrifugieren eventuell Verunreinigungen im Keimpellet hinterlassen haben könnte.

4.1.1.2 Resistenzen gegen Antibiotika

Auch wenn eine Identifizierung erste Hinweise auf eine geeignete antibiotische Therapie liefert, ist zur gezielten Behandlung resistenter Keime ein Antibiogramm unverzichtbar. Besonders im Falle gramnegativer Stäbchen können Resistenzen, auch innerhalb einer Spezies, stark variieren. Eine weitere wichtige Bedeutung von Antibiogrammen besteht darin dem Kliniker Möglichkeiten einer Spektrumverminderung aufzuzeigen (siehe auch 4.1.2.3). Zur besseren Beurteilung der Studienergebnisse soll im Folgenden zunächst die klinische Auswirkung fehlerhafter Antibiogramme diskutiert werden.

Um die Qualität der Antibiogramme des Studienverfahrens adäquat beurteilen zu können, muss ein Goldstandard definiert werden, dessen Ergebnisse als verbindlich gelten. In dieser Studie wurde die etablierte Routinediagnostik als ein solcher festgelegt. Antibiogramme des Studienverfahrens wurden mit Hilfe des Goldstandards auf Fehler überprüft. Bei der Testung auf das Vorliegen von Resistenzen gegen Antibiotika (Resistenztestung) unterscheidet man in der Mikrobiologie üblicherweise zwischen „very major“ Fehlern (VMF), „major“ Fehlern (MF) und „minor“ Fehlern (mF). Ein VMF bedeutet, dass ein

Antibiotikum, gegen das der getestete Keim laut Goldstandard resistent ist, im Antibiogramm des Schnellverfahrens (Studienverfahren) als sensibel erscheint. Verwendet der Kliniker den entsprechenden Wirkstoff zur Therapie, könnte dies in einer unwirksamen antibiotischen Therapie mit eventuell fatalen Folgen für den Patienten resultieren. Wird ein Antibiotikum im Studienverfahren mit einem MF fehlgetestet, erscheint trotz vorhandener Wirksamkeit (sensibel im Goldstandard) eine Resistenz im Schnellantibiogramm. Für die Klinik bedeutet dies: Es muss eventuell auf teurere Medikamente mit schlechterer Wirksamkeit oder stärkeren Nebenwirkungen zurückgegriffen werden. Bei hochresistenten Keimen kann durch einen MF eine wichtige Therapieoption entfallen. Als mF gelten einstufige Abweichungen (sensibel statt intermediär, resistent statt intermediär oder jeweils die entgegengesetzte Richtung). Die klinische Bedeutung eines solchen mF erscheint weniger eindeutig: Grundsätzlich ist davon auszugehen, dass ein intermediär-getestetes Antibiotikum gegen den entsprechenden Keim eine „suboptimale“ Wirkung zeigt. Entsprechend wird der Kliniker eher auf alternative, sensibel-getestete Substanzen zurückgreifen. Die Tatsache, dass im klinischen Teil dieser Studie in nur drei Fällen nach Vorliegen des Antibiogramms mit intermediär-getesteten Wirkstoffen (1x SAM, 1x TZP, 1x TM) weitertherapiert wurde, stützt diese Aussage. Die Bedeutung eines mF entspricht in Abhängigkeit der Fehlerrichtung einem abgeschwächten VMF (sensibel statt intermediär, intermediär statt resistent) oder MF (intermediär statt sensibel, resistent statt intermediär). Berücksichtigt man, dass derartige Abweichungen bereits bei Mehrfachmessungen unter Standardbedingungen vorkommen, gelten mF als klinisch weniger gravierend.

In Antibiogrammen des Studienverfahrens traten insgesamt an Fehlern auf: 1 VMF (0,1%), 2 MF (0,2%), 20 mF (1,9%). In dieser Studie wurden zusätzlich spezielle Sensitivitäten berechnet. Diese verdeutlichen die Genauigkeit mit der das Studienverfahren resistente ($Sensitivität_R$) bzw. sensible ($Sensitivität_S$) Keime im Bereich von VMF bzw. MF erkennen kann. VMF und MF konnten ausschließlich für Penizilline mit Betalaktamase-Inhibitor (BLI) registriert werden. Prinzipiell wäre es auch denkbar, dass verschiedene Keime anfälliger

für Fehltestungen im Schnellverfahren sind als andere. Während die Resistenztestung von *Enterobacter*, *Salmonella* und *Citrobacter* spp. in allen Fällen fehlerfrei blieb, wiesen andere Spezies unterschiedliche Fehlerhäufigkeiten auf. Aufgrund geringer Fallzahlen lässt sich jedoch keine eindeutige Aussage über einen Zusammenhang zwischen Keim und Fehler im Antibiogramm machen. Zur besseren Einordnung der Studienergebnisse wurden routinemäßig angefertigte vorläufige Antibiogramme (Agardiffusionstests) als zweites Schnellverfahren überprüft. Diese wiesen mit 0 VMF, 7 MF (1,2%), 43 mF (7,7%) insgesamt eine höhere Fehlerquote auf als das Studienverfahren, waren allerdings frei von VMF.

In der Kombination BACTEC[®] 9240 und VITEK[®] 2 wurden ähnliche Schnellverfahren zur Blutkulturanalyse von gramnegativen Stäbchen bereits in anderen Studien getestet (27,51,120,139). Ergebnisse dieser Studien wiesen Streuungen auf: Antibiogramme waren mit 0,1-0,2% VMF und 0,02-0,4% MF behaftet. Ergebnisse der Studie von de Cueto et al weichen mit 2,4% VMF und 0,6% MF deutlich von diesen ab (51). Insgesamt lässt sich die Literatur für Schnellantibiogramme aus Blutkulturen in folgender Weise zusammenfassen: VMF und MF traten v.a. für Penizilline (mit und ohne BLI) und Cephalosporine auf. Mit Ausnahme eines einzigen MF für Ciprofloxacin wiesen sämtliche Chinolone, Aminoglykoside und Peneme keine VMF oder MF auf. Gründe der Streuungen an VMF und MF verschiedener Studien können zum Teil anhand der getesteten Substanzen erklärt werden. So machen bei Cueto et al. Penizilline (mit und ohne BLI) und Cephalosporine mit 60% im Vergleich zu ähnlichen Arbeiten den höchsten Prozentsatz der getesteten Substanzen aus. Weitere Ursachen der Fehlerstreuungen könnten Unterschiede in der Methodik oder im Erregerspektrum sein (siehe 4.1.1.1).

Direkt aus Blutkulturen erstellte Agardiffusionstests (vorläufige Antibiogramme) wiesen in der Literatur Fehlerquoten von insgesamt unter 10% auf (43,68). Da diese Studien aus den 80er Jahren stammen und eine Vielzahl anderer

Antibiotika getestet wurde, sind deren Ergebnisse im Einzelnen mit denen der vorgelegten Studie nicht mehr vergleichbar.

4.1.1.3 Penizilline mit BLI und Probleme der „in vitro“ - Testung

Zur Beurteilung der Empfindlichkeit eines Keimes gegenüber Antibiotika existieren verschiedene Tests. Unter Berücksichtigung der therapeutischen Breite eines Antibiotikums muss ein Resistenztest grundsätzlich zwei Kriterien erfüllen: Getestete Substanzkonzentrationen müssen in einem vernünftigen, patientenverträglichen Bereich liegen. Des Weiteren muss definiert sein, wie hoch das Ausmaß der Keimtötung sein muss um einen Keim als sensibel für diesen Wirkstoff bezeichnen zu können (112). Zur Standardisierung verschiedener Resistenztests werden von Experten Richtlinien ausgearbeitet (z.B. CLSI). Die Tatsache, dass regelmäßig angepasste Richtwerte veröffentlicht werden, zeigt die grundsätzliche Schwierigkeit einer korrekten Labortestung. Darüber hinaus beeinflussen komplexe pharmakokinetische und -dynamische Vorgänge die Wirkung eines Medikaments im menschlichen Körper (220). Anhand von Messung der Blutserumkonzentration im zeitlichen Verlauf nach einer Applikation und der entsprechenden Klinik wird die Übertragbarkeit von „in vitro“ Tests am Lebenden untersucht und die Diagnostik angepasst (105). Welche Konzentration eine Substanz an speziellen Infektionsorten (außerhalb des Blutes) tatsächlich haben wird, ist nicht mit absoluter Sicherheit vorhersehbar oder testbar (140). Ein Resistenztest kann die Wirksamkeit eines Antibiotikums deshalb nicht garantieren.

Da Penizilline mit BLI aus zwei antimikrobiell wirksamen Einzelsubstanzen bestehen, verstärken sich Probleme entsprechend. Zunächst stellt sich die Frage, welches Konzentrationsverhältnis zwischen Penizillin und Betalaktamase-Inhibitor (BLI) bei der Diagnostik gewählt werden soll. Von der Deutschen Industrie Norm (DIN) und der amerikanischen CLSI werden zur Testung unterschiedliche Konzentrationsverhältnisse und Breakpoints zur Einteilung sensibler, intermediärer und resistenter Keime empfohlen (204). Des

Weiteren wurde festgestellt, dass bei der Resistenztestung von Antibiotikakombinationen mit BLI zwischen unterschiedlichen standardisierten Verfahren regelmäßig Diskrepanzen auftreten (109,175). Eine korrekte Testung auf das Vorliegen von Resistenzen gegen Penizilline mit BLI scheint nicht nur in der vorgelegten Arbeit, sondern generell ein Problem zu sein.

4.1.1.4 Zeitbedarf und Kosten

Der Zeitgewinn eines schnell erstellten Antibiogramms korreliert mit einer frühzeitig adäquaten antibiotischen Therapie (199). Wie bereits in der Einleitung dieser Arbeit beschrieben kann eine schnelle mikrobiologische Diagnostik Kosten und Letalität der Sepsis senken. Ein Antibiogramm und eine biochemische Keimidentifizierung lagen durch das Studienverfahren rund 24 Stunden früher vor als der routinemäßig erhobene Endbefund. Gegenüber vorläufigen Antibiogrammen (Agardiffusionstests) wurde ein Zeitgewinn von einigen Stunden ermittelt. Kumar et al. fanden heraus, dass nach Einsetzen einer Hypotension bei Patienten im septischen Schock in jeder Stunde ohne adäquate antibiotische Therapie das Überleben sinkt (128). Erfolgte eine wirksame antimikrobielle Behandlung innerhalb der ersten Stunde überlebten 79,9% der Patienten. In jeder weiteren der ersten sechs Stunden einer Hypotension stieg die Letalität um 7,6% an. 9-12 Stunden Hypotension ohne adäquate antibiotische Therapie überlebten nur 25,4% der Patienten. Da durch das Studienverfahren ein Antibiogramm rund 24 Stunden früher vorlag, könnte eine eventuell unwirksame antibiotische Behandlung gegenüber der etablierten Routinediagnostik frühzeitiger umgestellt werden. Patienten, die im Intervall eines solchen Zeitgewinns in einen septischen Schock fallen würden, würden in besonders hohem Maße von dem getesteten Schnellverfahren profitieren. Da Ergebnisse des Studienverfahrens früher vorlagen als Ergebnisse vorläufiger Antibiogramme (Agardiffusionstests), könnte bei dessen Einführung als Routinestandard aus mikrobiologischer Sicht prinzipiell auf Agardiffusionstests verzichtet werden. Damit ließen sich Kosten sparen. Aus klinischer Sicht ließe ein Zeitgewinn ebenfalls positive ökonomische Auswirkungen, wie kürzere

Liegezeiten von Patienten durch frühzeitigere Umstellung einer inadäquaten antibiotischen Behandlung, erwarten (9,13,59,215). Wichtigster Aspekt der Verfahrensetablierung muss allerdings die Letalität septischer Patienten bleiben. Wenn aufgrund fehlerhafter Antibiogramme Patienten falsch behandelt werden, wäre der Zeitgewinn des Schnellverfahrens nutzlos. Im klinisch-therapeutischen Teil soll deshalb die Wahrscheinlichkeit einer inadäquaten antibiotischen Therapie aufgrund der Fehlerrate des Studienverfahrens besonders berücksichtigt werden.

4.1.1.5 Grenzen

Zu berücksichtigen bleiben Grenzen dieser Studie: Bei einer Fallzahl von 75 Proben ergeben sich Unsicherheiten bei der Detektionsgenauigkeit (vgl. Konfidenzintervalle der speziellen Sensitivitäten). Des Weiteren ist die Routinediagnostik im Vitek 2 zwar Goldstandard; dennoch ist diese als Labortest nicht zu 100% reproduzierbar. Studien zeigten, dass auch eine standardisierte Inokulation im System nicht völlig fehlerfreie Ergebnisse garantieren kann (77,113,138,174). Kerremanns et al. konnten darüber hinaus in ihrer Studie durch dritte Verfahren nachweisen, dass Diskrepanzen zwischen Schnell- und Routineverfahren auch Fehler im standardisierten Routineverfahren zugrunde liegen können (120). So könnten gerade die Übereinstimmungen in Antibiogrammen des Studienverfahrens und des Agardiffusionstests (vgl. Tabelle 6, Seite 45) möglicherweise Fehler im Routineverfahren sein. Das Übersehen weiterer Fehler durch Übereinstimmung von Studien- und Referenzverfahren ist nicht ausgeschlossen. Durch die Verwendung von mittlerweile überholten VITEK[®] 2-ID-GNB-Karten ergibt sich eine weitere Grenze dieser Studie. Eine verbesserte neue Generation an Karten erreichte in ersten Studien vor allem für Non - Fermenter deutlich bessere Identifizierungsraten (78,228).

4.1.2 Klinisch-therapeutischer Teil

Eine optimale Labordiagnostik resultiert nur dann in einer optimalen Behandlung, wenn der Kliniker sie effektiv zur Therapie nutzt. Eine umfassende Beurteilung der Ergebnisse des mikrobiologisch-diagnostischen Teils dieser Arbeit kann deshalb nur auf Grundlage klinischer Daten erfolgen. Wichtige Fragen, die in diesem Zusammenhang geklärt werden sollen, sind: Hat die mikrobiologische Diagnostik überhaupt einen wesentlichen Einfluss auf die Sepsistherapie? Welchen therapeutischen Stellenwert haben die im Studienverfahren stärker fehlerbehafteten Penizilline mit BLI? Da die Beratung des Kliniklers zu den wichtigen Aufgaben der Mikrobiologie zählt, sollen darüber hinaus Möglichkeiten der Optimierung der antimikrobiellen Therapie anhand der klinisch-therapeutischen Ergebnisse aufgezeigt werden. Durch eine verbesserte Kommunikation zwischen Labor und Klinik lassen sich adäquatere Therapien und Kostensenkungen erreichen (45,198,199).

4.1.2.1 Einfluss mikrobiologischer Diagnostik auf die antibiotische Therapie

Es lassen sich prinzipiell zwei Arten der Übermittlung mikrobiologischer Diagnostikerggebnisse an die Klinik unterscheiden: Mikroskopische Vorbefunde (Gram-Verhalten des Keims) werden unmittelbar nach Positivmeldung einer Blutkultur (telefonisch und per Befundbericht) gemeldet. Dies dient zunächst der Anpassung des antimikrobiellen Spektrums an gramnegative Erreger. Die Übermittlung von Antibigrammen (Agardiffusionstest, Endbefund) hilft in zweiter Instanz gezielt therapieren zu können. Einerseits können Resistenzen erkannt und inadäquate antibiotische Therapien entsprechend umgesetzt werden. Andererseits ist eine Spektrumverminderung sowohl global als auch für den Patienten wünschenswert (siehe 4.1.2.3). In der vorgelegten Studie konnte für 31 Patienten (53%) ein direkter zeitlicher Zusammenhang zwischen mikrobiologischer Diagnostikerggebnisse und Änderung der antibiotischen Therapie festgestellt werden. Für elf Studienpatienten wurde nach Erhalt des mikroskopischen Befundes (Gram-Identifizierung) eine entsprechende antibiotische Therapie eingeleitet. In sieben Fällen wurde durch Absetzen

unwirksamer bzw. überflüssiger Wirkstoffe das Spektrum vermindert. Am Universitätsklinikum Tübingen werden deutlich häufiger grampositive Keime aus Blutkulturen diagnostiziert als gramnegative. Eine initiale antibiotische Therapie orientiert sich deshalb nicht primär an einer gramnegativen Sepsis, was eine mögliche Erklärung des großen Einflusses des Gram-Befundes auf die Therapie wäre. Nach Erhalt des AntibioGRAMMS wurde in acht Fällen dieser Studie aufgrund von Resistenzen, in neun Fällen zur Spektrumverminderung eine antibiotische Behandlung umgestellt. Da durch das Studienverfahren schneller ein AntibioGRAMM erstellt werden kann, ist dieser Patientenanteil (28%), deren antibiotische Therapie mit Hilfe des AntibioGRAMMS angepasst wurde, bei der späteren Nutzen-Schaden-Abwägung des Verfahrens von besonderer Bedeutung.

Mikrobiologische Befunde standen in dieser Studie häufig im Zusammenhang mit der Umstellung einer antibiotischen Therapie. Der Einfluss der mikrobiologischen Diagnostik auf die Klinik wird in der Literatur als insgesamt eher gering beschrieben (33,88). Grund hierfür könnte sein, dass bis zum Vorliegen der Laborergebnisse stets Zeit vergeht. Eine am klinischen Bild orientierte Initialtherapie kann in diesem Zeitraum bereits eine positive klinische Wirkung zeigen, sodass eine Umstellung nicht mehr nötig wäre. Für die Therapie Schwerverkranker hat die mikrobiologische Diagnostik hingegen eine hohe Bedeutung: Bei einer Untersuchung an Intensivpatienten hatten mikrobiologische Ergebnisse in 63% der Fälle eine Umstellung der antibiotischen Therapie zur Folge (47). Ähnliche Resultate zeigt die Literatur speziell für die Sepsis auf: In einer Studie von Cunney et al. wurde in 36% der Fälle nach dem mikroskopischen Befund (Gram-Präparat), in 50% nach Empfindlichkeitstests eine Initialtherapie abgeändert (44). Für 54% der Patienten wurde das antimikrobielle Spektrum vermindert. Eine Untersuchung an Patienten mit septischem Schock ergab eine antibiotische Therapieumstellung aufgrund mikrobiologischer Befunde in 80% der Fälle (134). Der Anteil an Spektrumvermindierungen betrug 64%. In einer Studie von Munsen et al. wurde nach telefonischer Mitteilung des mikroskopischen Befundes (Gram-Befund)

signifikant häufiger eine antibiotische Therapie umgestellt als nach Übermittlung von Antibigrammen (161). Hingegen sind laut Arbo et al. Blutkulturergebnisse nicht grundsätzlich wichtigste Faktoren bei der Wahl einer antibiotischen Therapie (6). Fasst man diese Ergebnisse der Literatur zusammen, zeigt sich, dass der Einfluss mikrobiologischer Diagnostik auf die antibiotische Therapie von verschiedenen klinischen Parametern abhängt: Je schwerer das Krankheitsbild umso optimaler muss die Behandlung abgestimmt sein und entsprechend häufiger werden mikrobiologische Befunde zur Therapieanpassung herangezogen. Des Weiteren wird dieser Prozess der Therapieanpassung auch in großem Maße durch die Einbindung von Experten wie Infektiologen und Mikrobiologen und klinikindividuelle Behandlungsstrategien mitbestimmt.

4.1.2.2 Klinischer Substanzgebrauch und spezielle Beurteilung der mikrobiologisch-diagnostischen Ergebnisse im klinischen Kontext

Um die Ergebnisse des Schnellverfahrens besser beurteilen zu können, müssen diese in einen größeren klinischen Kontext eingeordnet werden. Eine der wichtigsten Fragen hierbei lautet: Rechtfertigt der Zeitgewinn durch das Studienverfahren Fehlbeurteilungen in Antibigrammen? Oberstes Kriterium sollte in jedem Fall das Wohl des Patienten sein. Des Weiteren sind ökonomische Aspekte zu berücksichtigen. Verschiedene Studien haben gezeigt, dass sich falsche oder korrigierte mikrobiologische Befunde negativ auf Klinik und Patient auswirken können (122,236). In diesem Kontext ist besonders für Blutkulturergebnisse auch mit Todesfällen zu rechnen. Da keine diagnostische Methode 100%ige Sicherheit garantieren kann, bleibt die Frage offen, welche Fehlerquoten maximal akzeptiert werden dürfen. Für Resistenztestungssysteme haben im Laufe der Zeit verschiedene Autoren unterschiedlich hohe Toleranzgrenzen vorgeschlagen (111,153). Die 1999 von Ferraro et al. veröffentlichte Arbeit fordert, dass die Fehlerrate bei der Resistenztestung eines Schnellverfahrens insgesamt unter 10% sein sollte, davon <1,5% VMF und <3% MF (69). Während sich Studien, die ähnliche

Verfahren wie das in der vorgelegten Arbeit verwendete Schnellverfahren zur Blutkulturdiagnostik verwendeten, bei der Bewertung ihrer Ergebnisse auf diese Autoren berufen, soll die Eignung des vorliegenden Studienverfahrens anhand der eigenen klinischen Ergebnisse diskutiert werden.

Zur Beurteilung der Qualität eines Schnellverfahrens ziehen Autoren wie Ferraro et al. häufig die Gesamtrate an VMF, MF und mF heran. Aus der Tatsache, dass nicht alle getesteten Wirkstoffe den gleichen therapeutischen Stellenwert besitzen, ergibt sich das Problem der „Gleichmachung“. Wie stark negativ sich diagnostische Fehler klinisch auswirken, hängt nicht nur von der Gesamtfehlerrate, sondern von der Anwendung des einzelnen, fehlgetesteten Antibiotikums bei der Therapie ab. Da in der vorgelegten Studie ausschließlich Penizilline mit Betalaktamase-Inhibitor (BLI) VMF oder MF aufwiesen, soll im Folgenden die Bedeutung dieser Substanzklasse als klinisches Therapeutikum dargestellt werden.

Penizilline mit BLI waren in dieser Studie nach Chinolonen die klinisch am zweithäufigsten verwendete Wirkstoffklasse. Insgesamt erhielten im klinischen Teil dieser Studie 27 Patienten (44,3%) Penizilline mit BLI. 12 (19,7%) Patienten wurden mit SAM (Ampicillin/Sulbactam) behandelt, 15 (24,6%) mit TZP (Piperacillin/ Tazobactam) bzw. den jeweiligen Wirkstoffäquivalenten (siehe 2.2.2.1.2). Es liegen keine Daten vor, die speziell den Antibiotikagebrauch für die gramnegative Sepsis aufzeigen. In einer Studie an septischen Patienten waren die am häufigsten verwendeten Einzelwirkstoffe in absteigender Reihenfolge Vancomycin, Ceftazidim, Ciprofloxacin, Gentamicin und Piperacillin/ Tazobactam (146). Die laut der 2004 veröffentlichten SARI-Studie (Surveillance der Antibiotika-Anwendung und der bakteriellen Resistenzen auf Intensivstationen) auf deutschen Intensivstationen am häufigsten verwendeten Antibiotika waren Penizilline mit BLI, gefolgt von Cephalosporinen (2. und 3. Generation), Chinolone und Carbapeneme (154). An Universitätskliniken sowie regionalen Krankenhäuser in Südwestdeutsch-

land waren Betalaktam-Antibiotika vor Fluorchinolonen die am häufigsten verwendeten Substanzgruppen (54,119). Für unterschiedliche Fachbereiche wurden z.T. erhebliche Schwankungen bevorzugter Wirkstoffe festgestellt. Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass Penizilline zu den am häufigsten verwendeten Wirkstoffen überhaupt gehören und auch einen hohen Stellenwert speziell für die Sepsistherapie haben.

Folgende Gründe könnten Abweichungen im Substanzgebrauch in dieser Studie gegenüber der Literatur zugrunde liegen: Chinolone werden häufig bei Harnwegsinfekten verwendet (vgl. Studienabschnitt Urinproben). Da der Harntrakt oft Quelle einer Sepsis mit gramnegativen Keimen ist, lässt sich der hohe Verbrauch an Chinolonen in der vorgelegten Studie erklären. Während eingeschränkte Wirkspektren von Cotrimoxazol und Penizillinen ohne BLI Grund für deren geringen Therapieeinsatz in der vorgelegten Studie sein könnten, erstaunt der seltene Gebrauch von Cephalosporinen. Ein möglicher Grund hierfür könnte sich aus dem gehäuften Auftreten von Enterokokken und einem Ausbruch von Vancomycin-resistenten Enterokokken (VRE) an der Universität Tübingen während des Studienzeitraums ergeben. Der Verbrauch an Cephalosporinen könnte reduziert worden sein um den Selektionsdruck für derartige multiresistente Keime möglichst gering zu halten.

Die fehlerhaft getesteten Wirkstoffe (SAM, TZP) haben sowohl in dieser Studie als auch generell bei der antibiotischen Therapie einen hohen klinischen Stellenwert. Da Penizilline ein geringes Nebenwirkungspotential besitzen (v.a. Allergien) und relativ kostengünstig sind, haben die MF im Studienverfahren durchaus therapeutische Relevanz. In wieweit ein MF tatsächlich mit negativen klinischen Effekten (Kostenhebung durch Anwendung teurerer Substanzen, Schädigung des Patienten durch nebenwirkungsstärkere Wirkstoffe) assoziiert wäre, lässt sich nur relativ ungenau vorhersagen. Im Ergebnisteil dieser Studie wurden für das klinische Wirksamwerden der MF folgende Wahrscheinlichkeiten berechnet: $MF_{SAM} = 0,0026$ (0,26%), $MF_{TZP} = 0,0027$

(0,27%). Bei Etablierung des Studien- als Routineverfahren würden diese Fehler Folgendes bedeuten: Von 10 000 Sepsispatienten würden etwa 26 Patienten, die mit SAM behandelt worden wären, nicht mit dem entsprechenden Wirkstoff therapiert werden, weil Keime aufgrund eines MF im Antibiogramm des Studienverfahrens als falsch-resistent erscheinen. Entsprechendes gilt für eine mögliche Therapie mit TZP. Ob der alternative Wirkstoff teurer wäre oder durch Nebenwirkungen den Patienten schädigen würde, kann aus den Daten dieser Studie nicht vorhergesagt werden. Andererseits könnte ein Patient auch durch einen MF profitieren, wenn er als bisher nicht bekannter Allergiker gerade kein SAM oder TZP erhalten würde. Auf eine genaue statistische Wahrscheinlichkeitsberechnung der MF wurde aufgrund dieser ungenauen Vorhersagbarkeit im Ergebnisteil dieser Arbeit verzichtet.

Der für SAM aufgetretenen VMF in dieser Studie würde für eine Etablierung des Studien- als Routineverfahren hingegen schwerwiegendere negative Effekte für das klinische Outcome erwarten lassen. Ein VMF muss jedoch nicht zwangsläufig mit einer inadäquaten antibiotischen Behandlung assoziiert sein. Eine unwirksame Therapie resultiert nur dann, wenn eine Monotherapie mit dem falsch getesteten Wirkstoff vorliegt oder gegen Substanzen einer Kombinationstherapie ebenfalls Resistenzen vorliegen. In dieser Studie wurden sechs Monotherapien mit SAM (davon 3x durchgehend, 1x nur vor, 2x nur nach mikrobiologischer Diagnostik) und eine Kombinationstherapie mit einem resistent getesteten Aminoglykosid (GM) festgestellt. Ein weiterer Aspekt betrifft die Beobachtung, dass trotz korrekter Testung „inadäquate“ Therapien resultieren können. In drei Fällen dieser Studie wurde eine laut Antibiogramm gramnegativ-unwirksame Therapie (Resistenzen gegen verwendete Wirkstoffe) nicht umgesetzt. Den Akten all dieser Patienten konnten Einträge über ein verbessertes klinisches Krankheitsbild (Entfieberung u.a.) entnommen werden, weshalb antibiotische Behandlungen möglicherweise nicht verändert wurden. Als Ursache hierfür könnte die bereits diskutierte Problematik der Übertragbarkeit der „in vitro“ - Resistenztestung von Penizillinen mit BLI auf Situationen „in vivo“ zugrunde liegen.

Unabhängig solcher im Einzelfall auftretender und nicht vorhersehbarer Effekte, wurde im Ergebnisteil die klinische Auswirkung eines VMF berechnet: Bei Etablierung des Studienverfahrens wäre gegenüber dem Routineverfahren die Wahrscheinlichkeit einer inadäquaten Therapie aufgrund des VMF, d.h. einer Therapie mit SAM gegen einen falsch sensibel-getesteten resistenten Keim, um 0,11% höher (Berechnung und deren Erklärung siehe Abbildung 9, Seite 52). Zu beachten bleibt, dass Berechnungen aus Daten dieser Studie erfolgten und sich entsprechend große Unsicherheiten aus Konfidenzintervallen und Resistenzraten ergeben. Im klinisch-therapeutischen Teil dieser Studie wurde bei 17 der 61 Patienten eine antibiotische Therapie mit Hilfe des Antibiogramms angepasst. Der Zeitgewinn durch das Studienverfahren ließe im Umkehrschluss für mindestens 28% der Fälle sowohl klinische als auch ökonomische Vorteile erwarten (siehe 4.1.1.4).

4.1.2.3 Leitlinien und „die optimale antibiotische Therapie“

In einer Studie von Malacarne et al. wurden 99% aller septischen Patienten antibiotisch behandelt (146). Dies zeigt, dass die Sepsis fast immer mit einer antibiotischen Therapie assoziiert ist. 93% der Fälle erhielten eine breite Initialtherapie. Dass die antibiotische Behandlung zu den wichtigsten Maßnahmen der Sepsisbehandlung zählt, bestätigt auch die Auswertung der Patientenakten: Nach mikrobiologischem Nachweis einer gramnegativen Infektion wurde in dieser Studie nur ein Patient nicht antibiotisch behandelt. Die Blutkulturflasche dieses Patienten wurde erst nach 45 Stunden vom Bactec – Gerät positiv gemeldet. Während dieser Zeit trat laut Pflegebericht bereits eine klinische Besserung ein, so dass in diesem Fall keine antibiotische Therapie mehr nötig erschien. Die Gabe von Antibiotika ist jedoch nicht zwangsläufig mit adäquater Behandlung gleichzusetzen. Es müssen individuell für jeden Patienten die richtigen Wirkstoffe gewählt werden.

Die „optimale und universelle“ antibiotische Therapie existiert nicht, allerdings gelten einige Grundsätze für jede Art der antiinfektiösen Behandlung: Im Zentrum steht der Patient, dessen Leiden (in diesem Fall die Infektion) möglichst schnell und mit geringen Nebenwirkungen beseitigt werden soll. Aus ökonomischen Gründen sollten darüber hinaus in erster Linie kostengünstige Substanzen bevorzugt werden. Durch vernünftigen Wirkstoffgebrauch gilt es der nationalen und globalen Zunahme an Resistenzraten entgegenzuwirken (73,124,142,179). Grundprinzip jeder antimikrobiellen Therapie sollte der Leitsatz sein: „So breit wie nötig, so schmal wie möglich.“ Von einer solchen Strategie profitieren Patient und Klinik (94). Vorteile einer schmalen gegenüber einer breiten antibiotischen Therapie sind Kostensenkung, Reduktion der Toxizität und Minimierung der Entwicklung von Resistenzen gegen Antibiotika (15,41,95). Durch Anwendung von Antiinfektiva wird das Gleichgewicht der humanen Mikroflora gestört (211). Das Risiko einer Superinfektionen mit resistenten Erregern wie *Clostridium difficile*, Enterokokken oder Candida ist bei einer breiten Therapie erhöht (21,52,189). Eine schmale Behandlung kann deshalb indirekt die Morbidität und Mortalität senken (48,170). Erfahrene Infektiologen können in vielen Fällen bereits initial mit eingeschränktem Spektrum therapieren (12,71). Die bestmögliche Anpassung einer antibiotischen Therapie kann vielfach jedoch erst nach Vorliegen mikrobiologischer Ergebnisse erfolgen (32,222).

Doch wie hat im Einzelfall eine antimikrobielle Behandlung auszusehen? Zur Orientierung und Hinführung auf eine „individuell optimale“ antibiotische Therapie werden von verschiedenen nationalen und internationalen Expertengruppen ständig aktualisierte Leitlinien ausgearbeitet. Aufgrund hoher Letalitätsraten kommen zur Qualitätssicherung der Sepsistherapie Leitlinien eine besondere Bedeutung zu (42,89). Durch gute Compliance lassen sich Befunde in eine verbesserte Therapie umzusetzen und Kosten reduzieren (14,86). Von verschiedenen Expertengruppen ausgearbeitete Empfehlungen zur antimikrobiellen Behandlung der Sepsis stimmen in großen Teilen überein (19,21,22), Unterschiede liegen in Details. Bei Verdacht auf Sepsis sollte eine

Initialtherapie zunächst breit begonnen werden. Ein möglicher Infektionsherd, die lokale Resistenzlage, Ort der Infekterwerbung (ambulant, nosokomial) sowie Patienten-individuelle Faktoren (Allergien, Begleiterkrankungen, Allgemeinzustand) sollten bei der Wahl geeigneter Wirkstoffe berücksichtigt werden. Nach Identifizierung von Keimen sollte gezielt und mit vermindertem Spektrum weiterbehandelt werden. Ältere Leitlinien empfehlen für die Behandlung gramnegativer Keime zum Teil noch eine Kombinationstherapie. In neueren Studien zeigten sich Monotherapien in den meisten Fällen (Ausnahme: *Pseudomonas aeruginosa*) als gleichwertig (121,196). Nach Erhalt des Antibiotogramms sollte die Therapie schmalstmöglich fortgeführt werden (52). Die Paul-Ehrlich-Gesellschaft (PEG) empfiehlt folgende Wirkstoffe zur Therapie der gramnegativen Sepsis: Acylaminopenizilline mit BLI, Chinolone (2. oder 3. Generation), Cephalosporine (3. Generation), Carbapeneme für Enterobacteriaceae und eine Kombinationstherapie aus Pseudomonas-wirksamem Beta-Laktam-Antibiotikum und Chinolon/ Aminoglykosid für *Pseudomonas aeruginosa* (22). Vielfach werden Leitlinien nicht in die Praxis umgesetzt. Mol et al. stellten eine Compliance von 53% für die Sepsis- und 40% für die HWI-Therapie mit derartigen Empfehlungen fest (158). Neben Leitlinien ist auch der Einfluss der Mikrobiologie auf einen rationalen Antibiotikagebrauch signifikant hoch (210).

Anhand der Studienergebnisse sollen dem Kliniker im Folgenden Möglichkeiten eines verbesserten Wirkstoffeinsatzes aufgezeigt werden. Leitlinien zum Wirkstoffgebrauch wurde im klinischen Teil der vorgelegten Studie mit einigen Einschränkungen entsprochen: Häufig verwendete Aminopenizilline mit BLI (SAM) werden von der PEG nicht grundsätzlich zur Therapie gramnegativer Bakterien empfohlen. Dennoch mag bei Sensibilität des Keimes und leicht ausgeprägter Klinik ein Gebrauch dieser Substanzgruppe durchaus gerechtfertigt sein (z.B. aus Kostengründen). Eine vor mikrobiologischer Diagnostik bestehende antibiotische Therapie wurde überwiegend breit begonnen. Für 36% der Patienten wurde das Spektrum vermindert. Dennoch erhielten nach Vorliegen des Endbefundes noch 13 Patienten eine

Kombinationstherapie aus gramnegativ-wirksamen Substanzen. 14 weitere Patienten wurden mit breit wirksamem Meropenem weitertherapiert, obwohl das Antibiogramm vielfach sensible Alternativen aufzeigte. Auch wenn Koinfekte oder sehr schwere Krankheitsverläufe die Fortführung einer breiten Therapie durchaus rechtfertigen können, blieb das Potenzial mikrobiologischer Befunde zur Spektrumverminderung in der vorgelegten Arbeit vielfach nicht optimal genutzt. Andere Studien zeigen ebenfalls, dass trotz mikrobiologischer Befunde häufig breit weitertherapiert wird: Bei Buising et al. blieb in 30% der Fälle eine mögliche Spektrumverminderung der antibiotischen Therapie nach Vorliegen von Antibiogrammen aus (31). Seit den 90er Jahren nimmt generell der Verbrauch an Breitspektrumantibiotika zu (84,169). Einige Experten haben deshalb vorgeschlagen bei hochsensiblen Keimen auf die Angabe von Reserveantibiotika (Meropenem u.a.) im Laborbefund völlig zu verzichten um den Kliniker auf eine optimale Behandlung hinzuführen (45,57). Bouza et al. konnten speziell für Blutkulturergebnisse positive ökonomische Effekte durch Addition von Therapie-Empfehlungen zu normalen mikrobiologischen Befunden (Identifizierung, Antibiogramm) nachweisen (25).

4.1.2.4 Grenzen

Die Bewertung des Einflusses mikrobiologischer Diagnostik auf die klinische Therapie erfolgte anhand der Patientenakten. Dokumentiert wurde ein zeitlicher Zusammenhang zwischen dem Vorliegen mikrobiologischer Befunde und Umstellungen der antibiotischen Behandlung, die nicht zwangsläufig kausal miteinander verknüpft sein müssen. Letztendlich kann nicht mit 100%iger Sicherheit geschlossen werden, dass der Befund auch Grund der Umstellung war. Weitere Grenzen des klinischen Teils dieser Studie liegen insofern vor, dass die Aktenauswertung auf antibiotische Therapien beschränkt blieb. Es wurden keine Diagnosen, Krankheitsstadien, Grunderkrankungen oder zusätzliche Infektionen mit anderen Keimen berücksichtigt. Neben mikrobiologischen Befunden spielen diese Parameter bei der Wahl geeigneter Antibiotika ebenfalls eine wichtige Rolle. Bei entsprechender klinischer

Indikation ließe sich eventuell ein Antibiotikaeinsatz rechtfertigen, der aus rein mikrobiologischer Sicht nicht als optimal beurteilt werden würde. Ein weiteres Problem ergibt sich aus der Einstufung von Wirkstoffen als äquivalent zu getesteten Substanzen, die in ihrer Wirksamkeit ja nicht völlig identisch sind. Im Falle Ampicillin/ Sulbactam und Amoxicillin/ Clavulansäure, mit dem klinisch ausschließlich therapiert wurde, tritt diese Problematik aufgrund des VMF im Studienverfahren besonders in den Vordergrund. Des Weiteren wurde bei der Berechnung der Wahrscheinlichkeit eines klinisch wirksamen VMF ausschließlich Daten aus dieser Studie verwendet. Unsicherheiten ergeben sich aus Konfidenzintervallen und Resistenzraten. In wie weit ein VMF tatsächlich Einfluss auf die Mortalität hätte, ließe sich nur in einer prospektiven klinischen Studie zweifelsfrei klären.

4.2 Urinproben und Harnwegsinfektion

Da Harnwegsinfektionen zu den häufigsten Infektionen überhaupt zählen, kommt eine Verbesserung der Urinprobendiagnostik vielen Patienten zu Gute: Je früher ein Befund vorliegt umso eher kann adäquat behandelt werden, was wiederum Komplikationen verhindern kann. Zur Bewältigung der großen Menge täglich eingelieferter Urinproben sind darüber hinaus für ein mikrobiologisches Labor schnelle, rationale Verfahren unbedingt erforderlich.

4.2.1 Genauigkeit des Uro-Quick – Systems

4.2.1.1 Urinprobenscreening

In der vorgelegten Studie wurden Urinproben, die von der Universitätsklinik Tübingen in das Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene eingeliefert wurden, parallel zum Routineverfahren standardisiert im Uro-Quick™ 60 - Gerät (ALIFAX S.p.A.) inkubiert und verglichen. Das System erreichte im Test eine Gesamtsensitivität von 87,1% (Gesamtspezifität = 94,9%, positiver prädiktiver Wert (PPW) = 92,8%, negativer prädiktiver Wert (NPW) = 90,7%). Da bei

Harnwegsinfektionen oft Leukozyten im Urin nachgewiesen werden können, ist die Durchführung eines einfachen Leukozytentests als Urinprobenscreening sehr beliebt. In einem zweiten Schritt wurden in der vorgelegten Studie Ergebnisse solcher routinemäßig durchgeführter Leukozytentests zu denen des Uro-Quicks hinzugezogen. Dadurch konnten zusätzlich keimhaltige Urinproben erkannt werden, die im Uro-Quick negativ-gescreent worden waren. Unter Einbezug des Leukozytentests berechneten sich Genauigkeitsparameter für das Gerät folgendermaßen: Sensitivität = 91,8%, Spezifität = 88,1%, PPW = 85,4%, NPW = 93,4%.

Als wichtigster Parameter bei der Beurteilung der Genauigkeit eines Screeningsystems wird die Sensitivität angesehen. Aus der großen Anzahl an Urinproben gilt es zunächst diejenigen auszuschließen, die keine Pathologie aufweisen. Eine ausgedehnte Diagnostik ist aus ökonomischer Sicht nur für Patienten sinnvoll, aus deren Proben mit hoher Wahrscheinlichkeit ein HWI nachzuweisen ist. Screeningsysteme wie das Uro-Quick sollen helfen aus der Vielzahl an Urinproben die nicht relevanten (d.h. erregerefreien) auszufiltern und damit Kosten für die weitere Diagnostik möglichst gering zu halten. Da eine Vielzahl von Urinproben mit Keimen der physiologischen Flora kontaminiert ist, stellt sich die Frage, wie diese bei der Bewertung eines Screeningsystems eingeordnet werden sollen. Bei der Berechnung der Genauigkeitsparameter (Sensitivität, Spezifität, PPW, NPW) wurden im Ergebnisteil Urinproben, in deren Kulturen des Routineverfahrens nur Kontaminaten anwuchsen, nicht miteinbezogen. Laut den MiQ-Richtlinien spricht der Nachweis von als Kontaminanten definierten typischen Keimen der physiologischen Flora nicht für einen Harnwegsinfekt (79). Soll ein Screeninggerät derartige Kontaminanten bereits aussondern können oder ist die Differenzierung zwischen typischen Harnwegserregern und Kontaminationen Aufgabe der weiterführenden Diagnostik? Im Ergebnisteil wurden Genauigkeitsparameter unter unterschiedlicher Einordnung von Urinproben mit Kontaminanten mehrfach berechnet (siehe 3.2.1.2). Sollen derartige Proben vom Uro-Quick positiv-gemeldet werden, ergab sich eine Sensitivität von 75,6%. Soll das System

Urinproben mit Kontaminanten jedoch nicht melden, da diese keine typischen HWI-Erreger enthalten, errechnete sich eine Sensitivität von 87,1%. Diese Berechnungen verdeutlichen, dass die Bewertung von kontaminierten Urinproben, statistische Genauigkeitsparameter in erheblichem Maße beeinflussen. Aus diesem Grund wurden Sensitivitäten des Uro-Quick für die wichtigsten HWI-Erreger im Einzelnen berechnet.

Die Detektionsgenauigkeit des Uro-Quick – Systems erwies sich als in erheblichem Maße keim- und keimzahlabhängig: Während das Gerät für Keimzahlen $> 10^5/\text{ml}$ nahezu 100% der HWI-Erreger erkannte, fiel die Detektionsgenauigkeit für geringere Keimzahlen deutlich auf 0,0% - 66,7% ab. Zwar konnte die Gesamtsensitivität unter Einbezug des Leukozytentests insgesamt auf 91,8% erhöht werden, für einzelne Keime blieb die Detektionsgenauigkeit jedoch unverändert. Bei Keimzahlen über $10^5/\text{ml}$ spricht man von einer signifikanten Bakteriurie, die neben anderen Parametern ein wichtiges Kriterium bei der Abschätzung einer Infektion darstellt. Unter bestimmten Voraussetzungen (z.B. bei durch Blasenpunktion gewonnenem Urin) kann ein HWI jedoch auch bei geringeren Keimzahlen vorliegen. Ein Screeninggerät sollte deshalb auch eine geringere Menge an Keimen detektieren können. Die höchsten Sensitivitäten erreichte das System für gramnegative Stäbchen. Unter Einbezug des Leukozytentests konnten Sensitivitäten von 98% für Enterobacteriaceae und 100% für Non-Fermenter erreicht werden. Bei der Detektion von *Enterococcus faecium* trat mit 53,8% die geringste Gesamtsensitivität auf. Andere Keime erkannte des Uro-Quick – System mit einer Sensitivität von 85,7 - 92,7%. Grund dieser starken Schwankungen der Detektionsgenauigkeiten könnte die Zusammensetzung des Wachstumsmediums oder die Bebrütungsdauer des Systems sein. Da schnellwachsende gramnegative Stäbchen häufigste Erreger von Harnwegsinfektionen sind, könnte der Hersteller des Uro-Quick Medien und Bebrütungsdauer speziell auf diese abgestimmt haben. Gerade Enterokokken wachsen auf konventionellen Medien eher langsamer (61).

Zum Uro-Quick – System existiert wenig internationale Literatur (58,194). Entsprechende Studien hatten darüber hinaus andere Intentionen, so dass keine direkt vergleichbaren Ergebnisse vorliegen. In einer spanischsprachigen Publikation betrug die Sensitivität des Gerätes 96,7% (Inkubationszeit: 195 min) bzw. 95,5% (Inkubationszeit: 235 min) (221). Weitere Parameter wurden wie folgt ermittelt: Spezifität = 88,8% / 81,0%, NPW = 99,1% / 98,4%, PPV = 67,9% / 58,7%. Die gegenüber der vorgelegten Arbeit erhöhte Sensitivität lässt sich dadurch erklären, dass sich Velasco et al. bei der Bewertung der Screeninggenauigkeit auf Keimzahlen $>10^4$ /ml beschränkten. Darüber hinaus gibt diese Studie keine Unterscheidung der Detektionsgenauigkeit für Einzelkeime an. Neben dem Uro-Quick existiert eine Vielzahl weiterer (halb)automatisierter Screeningsysteme für Urinproben wie das Coral UTIscreen[®] System (Coral Biotechnology) und andere. Die Keimdetektion basiert auf den unterschiedlichsten Technologien, von denen sich jedoch keine als absolut überlegen herausstellte. Bei unterschiedlichen Studienbedingungen wurden für verschiedene Screeninggeräte Sensitivitäten zwischen rund 86% und 95% ermittelt (100,177,201).

Bei unkomplizierten HWIs werden in rund 90% der Fälle gramnegative Stäbchen (überwiegend *Escherichia coli*) nachgewiesen (114). In der vorgelegten Arbeit wurde ein Keimspektrum mit einem relativ hohen Anteil an grampositiven Kokken und Pilzen ermittelt. Derartige Keime verursachen in der Regel komplizierte Harnwegsinfekte. Da ein Großteil der getesteten Urinproben stationären Bereichen der Universitätsklinik Tübingen entstammte, war ein derartiges Spektrum zu erwarten. Ob die Detektionsgenauigkeit eines Screeningsystems ausreichend ist, muss sich am zu erwartenden Erregerspektrum einer Klinik orientieren. Aufgrund der hohen Sensitivität des Uro-Quick für gramnegative Keime scheint das System für ambulante Bereiche, wo unkomplizierte Harnwegsinfekte deutlich dominieren, als gut geeignet. Ein mikrobiologisches Institut wie Tübingen mit einem hohen Anteil an komplizierten HWIs benötigt hingegen ein Screeningssystem das auch (oder ganz besonders) Problemkeime wie Enterokokken adäquat detektieren kann.

4.2.1.2 Grenzen

Zwar weist diese Studie insgesamt eine hohe Anzahl an Proben auf, dennoch bleibt die Aussagekraft für einzelne Keime aufgrund geringer Fallzahlen eingeschränkt. Als diskussionswürdig ist darüber hinaus die Einordnung von kontaminierten Proben anzusehen. In der vorgelegten Arbeit wurden Urinproben mit Kontaminanten separat aufgeführt und bei der Berechnung der Genauigkeitsparameter des Uro-Quick nur in zweiter Instanz berücksichtigt.

4.2.2 Schnellverfahren zur Antibiogrammerstellung aus Urinproben

4.2.2.1 Mikrobiologisch-diagnostischer Teil

An einem Universitätsklinikum wie Tübingen ist der Anteil an Patienten mit kompliziertem HWI gegenüber unkomplizierten erhöht. Während Erreger unkomplizierter Infektionen meist hochsensibel sind und in der Regel ohne Antibiogramm therapiert werden, weisen Keime komplizierter HWIs häufig Resistenzen gegen verschiedene Wirkstoffe auf. Zur schnellen Erstellung eines Antibiogramms wurde in der vorgelegten Arbeit ein Schnellverfahren evaluiert.

4.2.2.1.1 *Resistenzen gegen Antibiotika*

Von verschiedenen Fachbereichen der Universitätsklinik Tübingen eingelieferte Urinproben wurden im Studienverfahren im Uro-Quick inkubiert. Aus positiv-gemeldeten Proben wurde ein mikroskopisches Präparat erstellt. Zeigte dieses gramnegative Stäbchen wurde ein standardisierter Agardiffusionstest durchgeführt, der am darauffolgenden Tag abgelesen wurde. Ergebnisse der Routineverfahren galten als „Goldstandard“, mit denen Ergebnisse der Studienmethode verglichen wurden. In 20 Antibiogrammen des Studienverfahrens traten an Fehlern auf: 1 VMF (0,4%), 1 MF (0,4%) und 14 mF (5,9%). Ampicillin/ Sulbactam (SAM) wurde mit einem VMF fehlbeurteilt, Cefuroxim (CXM) mit einem MF.

Prinzipiell gelten die Probleme der „in vitro“ – Testung (siehe 4.1.1.3) auch für Urinproben. Da die Niere die Konzentration des Harns in einem weiten Bereich regulieren kann, stellt sich die „in vivo“ – Übertragbarkeit von Ergebnissen der Resistenztestung als besonders schwierig dar. Anhand verschiedener pharmakokinetischer und –dynamischer Parameter wird versucht, Dosierung von Antibiotika entsprechend anzupassen (75,151). Gupta et al. wiesen anhand des klinischen Outcomes nach, dass im Falle Cotrimoxazol die „in vitro“ – Resistenztestung für 50-60% der Patienten mit ambulantem HWI eine Fehltherapie nach sich zieht (91).

Zu der in dieser Studie getesteten Kombination aus Uro-Quick und Agardiffusionstest existieren bislang keine Studien. Jedoch wurden Schnellverfahren zur Antibioigrammerstellung aus Urinproben (d.h. Antibioigramme wurden direkt aus einer Urinprobe erstellt, nicht aus einer Subkultur) ohne Einbezug eines Screeningsystems bereits getestet. Bei Johnson et al. wies ein derartiger Direkttest (Agardiffusionstest) eine Fehlerquote von 0,8% VMF, 0,6% MF und 3,1% mF auf (106). Gute Ergebnisse wurden bei hohen Keimzahlen, Reinkulturen und *Escherichia coli* erreicht. Oakes et al. fanden in einer Studie heraus, dass Fehlerquoten zwischen einem Direkttest und einem standardisiertem Agardiffusionstest bzw. zwei standardisierten Agardiffusionstests nahezu gleich waren (173). Wenn zwei standardisierte Tests schon Abweichungen zeigen, lasse sich auch ein gewisses Maß an Fehlbeurteilungen im Direkttest tolerieren.

Im Verlauf der vorgelegten Arbeit wurde das Uro-Quick – System technisch weiterentwickelt: Spezielle Inkubationslösungen und Verfahren wurden entwickelt, mit deren Hilfe Resistenzmarker oder Antibiotikaresistenzen von Keimen direkt im Gerät nachgewiesen werden können. Erste Studien ermittelten schnelle und zuverlässige Ergebnisse für diese neuen Detektionsverfahren (194,195).

4.2.2.1.2 Grenzen

Einschränkungen der Aussagekraft dieser Studie ergeben sich in erster Linie aufgrund geringer Fallzahlen. Dies lässt sich aus der Größe der Konfidenzintervalle ersehen. Eine möglicherweise nicht ausreichende Standardisierung der Agardiffusionstests stellt sich als weitere Limitation dieser Studie dar. Bei der Einstellung einer Trübung von 0,6 nach McFarland wurde eine Streuung von 0,55-0,65 akzeptiert.

4.2.2.2 Klinisch-therapeutischer Teil

4.2.2.2.1 Einfluss mikrobiologischer Diagnostik auf die Therapie

Da eine Harnwegsinfektion zunächst nicht in dem Maße lebensbedrohlich ist wie eine Sepsis, spielt der Faktor Zeit in der mikrobiologischen Urinprobandiagnostik eine geringere Rolle. Das Wachstum eines nach Gramverhalten und Morphologie klassifizierten Erregers in signifikanter Keimzahl, also der mikrobiologische Nachweis eines HWI, wird als erster Befund an die Klinik gemeldet. Ein anschließend angefertigtes Antibiogramm sowie die Identifizierung werden nach Fertigstellung nachgereicht.

In der vorgelegten Studie standen Antibiotogramme in nur einem Fall im zeitlichen Zusammenhang mit einer antibiotischen Therapieumstellung: Es wurde von Ciprofloxacin auf Levofloxacin umgestellt (gegen beide Substanzen waren Keime im Antibiogramm resistent!). Eine Therapie wurde in allen anderen Fällen nach Erhalt der oben beschriebenen Grobklassifizierung des Erregers initiiert. Anhand dieser Ergebnisse lässt sich vermuten, dass der mikrobiologische Nachweis einer Infektion in Form dieser Klassifizierung in den meisten Fällen für eine adäquate Behandlung ausreichend ist. Ein nachgereichtes Antibiogramm scheint nur dann von Bedeutung zu sein, wenn eine Resistenz gegenüber dem initial verabreichten Antibiotikum besteht. Eine geringe Bedeutung von Empfindlichkeitstests für die HWI-antibiotische Therapie stellte Barnes bereits 1980 fest (10). Bei Kuijper et al. beeinflussten hingegen

Identifizierungen und Antibiotogramme die Behandlung deutlich (127). Tan et al. konnten ebenfalls einen hohen Einfluss von Antibiotogrammen auf die Therapie von Harnwegsinfektionen für Allgemeinarztpraxen nachweisen (212). Diese Unterschiede des Einflusses mikrobiologischer Befunde auf die Therapie in der Literatur lassen sich vermutlich auf unterschiedliche Erregerspektren und verschiedene Ausgangssituation von ambulanten und stationären Einrichtungen zurückführen. Ambulante HWIs werden in den meisten Fällen durch hochsensible Erreger verursacht und verlaufen überwiegend unkompliziert. In der Regel kann ohne ein Antibiotogramm erfolgreich therapiert werden. Macht das Auftreten von komplizierten oder rezidivierenden Infektionen mit resistenten Keimen im ambulanten Bereich die Anforderung eines Antibiotogramms nötig, so wird dessen Einfluss auf die Therapie auch entsprechend hoch sein. Im stationären Bereich hingegen, wo komplizierte HWIs dominieren, werden in der Regel routinemäßig Antibiotogramme angefordert. Gleichzeitig wird am zu erwartenden Erregerspektrum orientiert initial meist breiter therapiert, so dass sich der Einfluss von Antibiotogrammen auf wenige initial falsch behandelte Keime mit höhergradigen Resistenzen beschränken würde.

Folgende Ursache wäre für die geringe Bedeutung von Antibiotogrammen speziell in der vorgelegten Studie denkbar: Als Nachweis eines HWI war in der Mehrzahl der Fälle eine Grobklassifizierung von Keimen Indikator einer Chinolontherapie. Ciprofloxacin wies 2003 bei einer Studie von Wagenlehner et. al an stationären urologischen Patienten die geringste Resistenzrate gegen gramnegative Erreger auf (224). In der vorgelegten Studie traten vier Chinolonresistente Keime auf. Für drei davon waren Patientenakten zur Auswertung im Rahmen dieser Studie nicht zugänglich. In den anderen Fällen bestand für den Kliniker zumeist eine geringe Notwendigkeit eine wirksame antibiotische Therapie umzustellen. Der klinische Teil dieser Studie lässt darüber hinaus vermuten, dass Antibiotogramme nicht zur Spektrumverminderung der HWI-Therapie genutzt werden. Eine antibiotische Behandlung während einer Kurzzeittherapie umzustellen, erscheint grundsätzlich weniger sinnvoll. In einer

längerfristigen Behandlung könnte das Potenzial von Resistenzbefunden jedoch prinzipiell zur Spektrumverminderung verwendet werden.

4.2.2.2.2 *Wirkstoffgebrauch und Leitlinien*

Ein Patient wurde in der vorgelegten Arbeit mit einem Cephalosporin (Cefaclor) behandelt, ein weiterer erhielt eine Monotherapie mit Clarithromycin (eingeschränkte Wirkung im gramnegativen Spektrum). Darüber hinaus wurde ausschließlich mit Chinolonen behandelt. Bei unkomplizierten HWIs wurde laut einer Studie der IMS (Intercontinental Medical Statistics) in Deutschland am häufigsten mit Cotrimoxazol (46%) und Chinolonen (30%) behandelt (162). In anderen europäischen Ländern lag der Verbrauch an Chinolonen z.T. sogar noch deutlich höher. Des Weiteren wurden bei der Therapie unkomplizierter HWIs in unterschiedlichem Ausmaß auch Trimethoprim und Nitrofurantoin verwendet. Der bei HWIs häufig verwendete Wirkstoff Cotrimoxazol wurde für Studienpatienten nicht verwendet. Folgender Grund wäre hierfür denkbar: Mehr als die Hälfte der Proben dieser Studie entstammten stationären Klinikbereichen mit einem hohen Anteil an komplizierten HWIs. Als bakterio-statischer Wirkstoff ist Cotrimoxazol zur Behandlung dieser HWI-Form weniger geeignet. Resistente Keime treten beim entsprechenden Patientengut im Allgemeinen häufiger als bei Chinolonen auf.

In Abhängigkeit der Art des Harnwegsinfektes unterscheiden sich die von der PEG zur Therapie empfohlenen Wirkstoffe (163): Für die akute unkomplizierte Zystitis werden Trimethoprim, Cotrimoxazol, Fluorchinolone, Fosfomycin-Trometamol, Aminoglykoside und Cephalosporine (2. oder 3. Generation) empfohlen. Für die akute unkomplizierte Pyelonephritis und den komplizierten HWI werden Fluorchinolone, Aminopenizilline mit BLI, Cephalosporine (2. oder 3. Generation) und Aminoglykoside (nur Pyelonephritis) als initiale Wirkstoffe und Acylaminopenizilline mit BLI, Cephalosporine (Generation 3b) oder Carbapeneme bei Therapieversagen empfohlen.

Chinolone, die in dieser Studie als häufigstes Mittel der Wahl eingesetzt wurden, können grundsätzlich für alle Formen des HWI verwendet werden. Eine Vielzahl von Experten ist laut Naber jedoch der Ansicht, dass diese Wirkstoffklasse nicht zur Behandlung von unkomplizierten Infekten der unteren Harnwege geeignet ist, sondern Reservemittel für Pyelonephritiden und komplizierte und rezidivierende HWIs sein sollte (36,162). Dadurch lasse sich das Risiko der Resistenzentwicklung vermindern. Rodriguez – Baño et al. ermittelten für ambulante Patienten, die mit ESBL-Stämmen infiziert waren, vermehrt Chinolontherapien in der Anamnese (192). Gemäß dem Leitsatz der schmalst-möglichen antibiotischen Therapie wäre bei entsprechender Wirksamkeit die Bevorzugung von Substanzen wie Trimethoprim, Cotrimoxazol und Fosfomycin gegenüber Chinolonen ebenfalls erstrebenswert. Arone et al. haben die Wirksamkeit von Amoxicillin als schmale und kostengünstige Alternative bei akut unkomplizierten Harnwegsinfektionen nachgewiesen (7). Aufgrund hoher Resistenzraten gegen diese relativ schmal wirksamen Substanzen dürfte deren Anwendung allerdings auf den ambulanten Bereich beschränkt bleiben.

4.2.2.2.3 Grenzen

Für klinische Teile dieser Studie gelten prinzipiell die gleichen Grenzen für Blutkulturen und Urinproben (vgl. 4.1.2.4). Aufgrund der sehr geringen Fallzahlen ist die Aussagekraft für Urinproben noch weiter eingeschränkt. In einem der ausgewerteten Fälle wurde nach Erhalt des Antibiogramms eine Therapie von Ciprofloxacin auf Levofloxacin umgestellt. Gegen beide Wirkstoffe waren Keime resistent. Dies verdeutlicht die Problematik, dass die erfassten zeitlichen Zusammenhänge zwischen mikrobiologischer Diagnostik und klinischer Therapie nicht zwingend kausal sein müssen.

4.3 Schlussfolgerung und Ausblick

4.3.1 Blutkulturen und Sepsis

Gegenüber Endbefunden des Routineverfahren brachte das getestete Studienverfahren im Durchschnitt rund einen Tag an Zeitgewinn, gegenüber nicht standardisierten vorläufigen Antibioogrammen (Agardiffusionstests) einige Stunden. Darüber hinaus wies es eine geringere Fehlerquote als vorläufige Antibioogramme auf. Diese waren jedoch frei von VMF. Die Zeitspanne bis zur Positivmeldung einer Blutkultur im Bactec-Gerät konnte durch das Studienverfahren nicht vermindert werden.

Die therapeutisch bedeutsamen VMF und MF traten in dieser Studie ausschließlich für Penizilline mit BLI auf. In welchem Ausmaß oder ob überhaupt ein MF bei Etablierung des Studien- als Routineverfahren negative klinische Auswirkungen hätte, konnte anhand der ermittelten Daten nicht ausreichend beurteilt werden. Mit Hilfe der klinischen Ergebnisse wurde die Wahrscheinlichkeit für das Wirksamwerden des VMF im Studienverfahren für SAM in der antibiotischen Therapie der Sepsis berechnet: $VMF_{SAM} = 0,0011$ (0,11%). Demnach würde bei Etablierung des Studienverfahrens gegenüber dem bisherigen Routineverfahren aufgrund des VMF etwa einer von 1000 Patienten mehr eine SAM-Therapie gegen einen falsch-sensibel getesteten SAM-resistenten Keim erhalten. Aufgrund des mittleren Zeitgewinns von rund 24 Stunden durch das Studienverfahren gegenüber Routineendbefunden würden die zu erwartenden therapeutischen und ökonomischen Vorteile entsprechend überwiegen. Die Etablierung des neuen Verfahrens als Standardmethode scheint deshalb als vertretbar. Durch ständige Weiterentwicklung der Vitek 2 – Testkarten liegen schon jetzt Produkte vor, deren Fehlerquoten noch geringer sind als in dieser Studie. Die Fortsetzung eines solchen Trends ist auch in Zukunft zu erwarten.

Der klinische Teil dieser Studie zeigt, dass mikrobiologische Befunde die antibiotische Therapie einer Sepsis stark beeinflussen. Große therapeutische Bedeutung für die Anpassung einer initialen antibiotischen Therapie haben sowohl mikroskopische Befunde (Gram-Befund) einer positiv-gemeldeten Blutkulturflasche als auch AntibioGramme. Bei der Behandlung der gramnegativen Sepsis wurde in dieser Studie ein vergleichsweise hoher Verbrauch an Chinolonen festgestellt. Cephalosporine wurden hingegen unerwartet selten zur Therapie verwendet. Im Allgemeinen wurde Empfehlungen und Leitlinien zur Therapie weitgehend entsprochen. Allerdings könnten AntibioGramme zur Spektrumverminderung einer breiten antibiotischen Therapie noch effektiver genutzt werden. Möglichkeiten dies durch selektive Befundübermittlungen oder addierte Empfehlungen in mikrobiologischen Berichten eventuell positiv zu beeinflussen, sollten überdacht werden.

4.3.2 Urinproben und Harnwegsinfektion

4.3.2.1 Uro - Quick

Mit einer Gesamtsensitivität von 87,1% bzw. 91,8% (unter Einbezug des Leukozytentests) schnitt das Uro-Quick – System schlechter ab als in einer vergleichbaren Studie. Durch eine mittlere Detektionsdauer von nur 63 Minuten erscheint das Uro-Quick – System als Screeninginstrument von Urinproben auf HWI-Erreger grundsätzlich als geeignet. Das Gerät wies jedoch einige Nachteile auf: Es konnte nicht zwischen einer Infektion und einer Kontamination der Urinprobe unterscheiden. Des Weiteren zeigte es deutliche Schwächen bei der Detektion von *Enterococcus faecium* und geringen Keimzahlen. Da gerade Enterokokken als HWI-Erreger häufiger werden und aufgrund hoher Resistenzraten schwierig zu therapieren sind (49,103), ist das Uro-Quick – System als Screeninggerät von Urinproben am Universitätsklinikum Tübingen nicht geeignet. Speziell gramnegative Keime konnte das Gerät jedoch mit sehr hoher Genauigkeit detektieren. Für ambulante Zwecke erscheint das Uro-Quick deshalb als geeignet.

4.3.2.2 Schnellverfahren zur Antibiogrammerstellung aus Urinproben

Das Schnellverfahren wies insgesamt 1 VMF (0,4%), 1 MF (0,4%) und 14 mF (5,9%) auf. Unter Berücksichtigung der Studie von Oakes et al. erscheint diese Fehlerquote des Studienverfahrens für gramnegative Stäbchen als akzeptabel (173). Vorteile des Verfahrens ergeben sich v.a. durch schnelle Detektionszeiten im Uro – Quick und einen Zeitgewinn zwischen 5 und 15 Stunden bei der Erstellung von Antibiogrammen. Nachteil ist die fehlende biochemische Keimidentifizierung. Prinzipiell ist die Eignung des Verfahrens zur schnellen Testung gramnegativer Keime auf das Vorliegen von Resistenzen gegen Antibiotika zwar vorhanden, aufgrund großer Konfidenzintervalle sollten vor dessen Etablierung jedoch weitere Tests folgen. Außerdem erscheint das Verfahren auch nur dann als sinnvoll, wenn aus sämtlichen vom Uro-Quick positiv-gescreenten Proben direkt ein Antibiogramm erstellt werden würde. Das Erstellen und Beurteilen von Gram-Präparaten, wie es in dieser Studie durchgeführt wurde, würde einen zu großen Zeit- und Personalaufwand bedeuten. Neuentwickelte Technologien für das Uro-Quick könnten eine noch schnellere Alternative der Testung von HWI-Keimen auf Antibiotikaresistenzen aus Urinproben darstellen als das Studienverfahren (194,195).

Als klinisch dominierende Substanzen traten in der vorgelegten Arbeit Chinolone auf, die insgesamt nur einen mF aufwiesen. Auf die Berechnung der Wahrscheinlichkeit des klinischen Wirksamwerdens von VMF und MF wurde verzichtet. Aufgrund des seltenen Gebrauchs von Penizillinen mit BLI und Cephalosporinen und sehr großer Konfidenzintervalle schien dies als wenig aussagekräftig. Der mikrobiologische Nachweis einer Infektion (Grobklassifizierung eines Erregers nach Gramverhalten und Morphologie) zur Induktion einer Therapie war hoch. Antibiogramme wurden nicht zur Spektrumverminderung genutzt. Deren klinische Bedeutung scheint sich auf die Erkennung therapieresistenter Keime zu beschränken.

4.3.3 Ausblick

Die mikrobiologische Diagnostik verändert sich aufgrund von technologischen Fortschritten ständig. Klassische manuelle Verfahren wurden bereits in hohem Maß durch (halb)automatisierte Verfahren ersetzt. Mittlerweile sind es vor allem die molekularen Methoden wie PCR oder FISH, die den Fortschritt bestimmen. Direkte genomische Identifizierungen und Nachweise von Resistenzgenen könnten konventionelle biochemische Identifizierungen und MHK-Bestimmungen (teilweise) ersetzen. In bisherigen Studien konnten molekular diagnostische Verfahren durch hohe Genauigkeit und geringen Zeitbedarf überzeugen (117,118). Weitere Vor- und Nachteile molekularer Diagnostik und dessen Potenzial als Routinestandard wurden mehrfach diskutiert (99,180,234). Bislang sind die Methoden noch nicht in dem Maß ausgereift, dass sie klassische Verfahren vollständig ersetzen könnten. Ob sich dies in Zukunft ändern wird, bleibt abzuwarten.

Aktuell können für die Sepsis zwei gegensätzliche Entwicklungen festgestellt werden: Einerseits wurde eine Abnahme schwerer Krankheitszustände beobachtet. Andererseits nimmt die Anzahl septischer Patienten in den Kliniken zu (60). Zur wesentlichen Senkung der Letalität müssen neue, effektivere Therapiemaßnahmen entwickelt werden (223). Für eine bisher nicht absehbare Zeit bleibt die antibiotische Therapie und damit die schnelle Blutkulturdiagnostik zentrales Element der erfolgreichen Behandlung.

Die Therapie des HWI steht weniger im Mittelpunkt als die Sepsistherapie. Neben etablierten Standardbehandlungen werden momentan v.a. für rezidivierende Infekte Präventivmaßnahmen (Immunisierung u.a.) diskutiert (225,232). Echte kurative Alternativen zur adäquaten antibiotischen Therapie stehen nicht in Aussicht.

Infektionskrankheiten zählen nach wie vor zu den häufigsten Todesursachen weltweit (159). Die Erhaltung der Wirksamkeit der Antibiotika ist deshalb nicht nur für die Sepsis- und HWI-Therapie, sondern für die gesamte Infektiologie von entscheidender Bedeutung. Ob sich dies durch alleinige Einhaltung von Therapieleitlinien erreichen lässt, bleibt jedoch ungewiss (40,86).

5 Zusammenfassung

Sepsis und Harnwegsinfektion haben durch hohe Inzidenz, Morbidität und Letalität eine besondere klinische Relevanz. Eine schnelle und adäquate antimikrobielle Therapie ist für beide Krankheitsbilder wesentlicher Bestandteil einer erfolgreichen Behandlung. In der vorliegenden Arbeit wurden mikrobiologische Schnellverfahren zur Diagnostik gramnegativer Stäbchen aus Blutkulturen und Urinproben evaluiert. Darüber hinaus wurde für die mit diesen Proben assoziierten Krankheitsbilder Sepsis und Harnwegsinfektion der Einfluss mikrobiologischer Diagnostik auf die antibiotische Behandlung ermittelt.

5.1 Blutkulturen und Sepsis

Im mikrobiologisch-diagnostischen Teil dieser Arbeit wurde ein Schnellverfahren zur Diagnostik gramnegativer Stäbchen aus Blutkulturen evaluiert, in dem eine Kombination aus Blutkulturautomat Bactec[®] 9240 (Becton Dickinson) und Vitek[®] 2 (BioMérieux), einem vollautomatisierten System zur Identifizierung und Testung von Keimen auf das Vorliegen von Resistenzen gegen Antibiotika, verwendet wurde. Für 75 Proben wurden folgende Ergebnisse für Identifizierungen ermittelt: 62 (83%) Keime wurden korrekt identifiziert, 12 (16%) konnten nicht identifiziert werden. Eine *Klebsiella oxytoca* wurde als *Enterobacter aerogenes* fehlidentifiziert. In Antibiogrammen traten insgesamt an Fehlern auf: 1 (0,1%) VMF („very major“ – Fehler), 2 (0,2%) MF („major“ – Fehler), 20 (1,9%) mF („minor“ - Fehler). Die klinisch bedeutsamen VMF und MF traten ausschließlich für Penizilline mit Betalaktamase-Inhibitor (BLI) auf. Für das Studienverfahren konnte ein Zeitgewinn von 24,6 Stunden (arithmetischer Mittelwert) gegenüber Routine-Endbefunden ermittelt werden.

Im klinisch-therapeutischen Teil wurden der Wirkstoffgebrauch und der Einfluss mikrobiologischer Diagnostik auf eine antibiotische Therapie für Blutkulturpatienten der Studie ermittelt. Wichtigste Substanzstoffklassen bei der Therapie waren in absteigender Häufigkeit Chinolone, Penizilline mit BLI und

Meropenem. Der Einfluss der mikrobiologischen Diagnostik auf die antibiotische Therapie war hoch: Im untersuchten Zeitraum kam es in 69% der Fälle zur Umstellungen der antibiotischen Therapie. Diese Änderungen standen für 31 Patienten (53%) im Zusammenhang mit mikrobiologischer Diagnostik. Mit Hilfe der klinischen Ergebnisse wurde die Wahrscheinlichkeit für das Wirksamwerden des VMF im Studienverfahren für Ampicillin/Sulbactam (SAM) in der praktischen Therapie der Sepsis berechnet. Gegenüber der Routinediagnostik hätte das Studienverfahren aufgrund des VMF statistisch ein 0,11% höheres Risiko einer Behandlung eines SAM-resistenten Keims mit SAM.

5.2 Urinproben und Harnwegsinfektion

Im mikrobiologisch-diagnostischen Teil wurde zunächst die Genauigkeit des Urinprobenscreening – Systems Uro-Quick™ 60 (ALIFAX S.p.A.) evaluiert. Das Gerät erreichte eine Gesamtsensitivität von 87,1%, eine Gesamtspezifität von 94,9%. Positiver und negativer prädiktiver Wert lagen bei 92,8% und 90,7%. Die Detektionsgenauigkeit war in erheblichem Maße keim- und keimzahlabhängig. Für signifikante Bakteriurien (Keimzahlen $>10^5$ /ml) und gramnegative Keime wurden die höchsten Sensitivitäten erreicht. Im Weiteren wurde in der Kombination Uro-Quick™ 60 und Agardiffusionstest ein Verfahren zur Erstellung von Schnellantibiogrammen aus Urinproben getestet. Insgesamt traten an Fehlern auf: 1 VMF (0,4%), 1 MF (0,4%) und 14 mF (5,9%). Ein Zeitgewinn von 5-15 h gegenüber dem Routineverfahren wurde ermittelt.

Im klinisch-therapeutischen Teil wurden der Wirkstoffgebrauch und der Einfluss mikrobiologischer Diagnostik auf eine antibiotische Therapie für Patienten der Schnellantibiogramme ermittelt. Chinolone waren die am meisten verwendeten antiinfektiösen Therapeutika. Die Umstellung einer Therapie stand häufig im Zusammenhang mit mikrobiologischen Vorbefunden (Klassifizierung kultivierter Keime über das Gram-Verhalten). Der Einfluss von Antibiogrammen auf antibiotische Behandlungen war gering.

5.3 Bewertung der Studienergebnisse

Die Bedeutung eines diagnostischen mikrobiologischen Schnellverfahrens für die antiinfektiöse Behandlung der Sepsis ist hoch. Der Zeitgewinn eines solchen Verfahrens lässt trotz leicht höherer Fehlerrate desselben gegenüber der standardisierten Routinediagnostik positive klinische Effekte erwarten. Für die antibiotische Behandlung einer Harnwegsinfektion hat eine mikrobiologische Schnelldiagnostik eine untergeordnete Bedeutung.

6 Abkürzungen

AB	antibiotische Therapie
ABG	Antibiogramm
AD	Agardiffusionstest
AM	Ampicillin
BHI-Agar	Brain Heart Infusion Agar (hochsupplementierter Kochblutagar)
BGU	Berufsgenossenschaftliche Unfallklinik
BLI	Betalaktamase - Inhibitor
CAZ	Ceftazidim
CIP	Ciprofloxacin
CTX	Cefotaxim
CXM	Cefuroxim
D	fehlende Detektionsgenauigkeit
dGlu	fermentativer Glukosetest der VITEK [®] 2-ID-GNB-Karte
ESBL	extended spectrum beta lactamases
FEP	Cefepim
FISH	fluorescence in situ hybridization
GM	Gentamicin
Gr.	Gruppe
H	prozentuale Häufigkeit des Wirkstoffgebrauchs
HLA	human leucocyte antigen
HWI	Harnwegsinfektion
ID	Identifizierung
KI	Konfidenzintervall
KZ	Keimzahl

LBP	Lipopolysaccharid-Bindungsprotein
LIS	Laborinformationssystem
LPS	Lipopolysaccharide
LVX	Levofloxacin
µl	Mikroliter
M	prozentualen Häufigkeiten einer Mono- bzw. unwirksamen Kombinationstherapie
MEM	Meropenem
mF	„minor“ - Fehler
MF	„major“ - Fehler
MHK	Minimale Hemmkonzentration
min	Minute
ml	Milliliter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
MRSA	Methicillin-resisteter <i>Staphylococcus aureus</i>
n.bek.	nicht bekannt
neg	negativ
NI	nosokomiale Infektion
NPW	negativer prädiktiver Wert
OP	Operation
TNF	Tumornekrosefaktor
PAI-1	Plasminogen Aktivator Inhibitor Typ 1
pCO ₂	CO ₂ – Partialdruck
PCR	Polymerase - Kettenreaktion
PEG	Paul-Ehrlich-Gesellschaft

PIP	Piperacillin
pos	positiv
PPW	positiver prädiktiver Wert
R	Resistenzrate
rhAPC	Recombinant Human Activated Protein C
rpm	Umdrehungen pro Minute
RR	Blutdruck (Riva-Rochi)
RV	Referenzverfahren
S	Sensibilitätsrate
SAM	Ampicillin/Sulbactam
SIRS	systemic inflammatory response syndrome
spp	Spezies
SSI	surgical site infection
SXT	Cotrimoxazol
SV	Studienverfahren
TF	tissue factor (Gewebefaktor)
TLR	Toll-like receptor
TM	Tobramycin
TZP	Piperacilin/Tazobactam
ÜE	Übereinstimmung
UQ	Uro-Quick
VMF	“very major” - Fehler
VRE	Vancomycin-resistente Enterokokken

7 Anhang

Direktidentifizierung und –resistenzbestimmung aus Blutkulturen mittels Vitek 2

Untersuchungsmaterial

- Gramnegative Stäbchen aus Blutkulturen, wobei pro Patient jeweils die erste aerobe oder anaerobe positive Flasche untersucht wird (keine BCA/BCN oder Pilzflasche).
- Nur Flaschen, in denen nur ein Keim wächst, werden in die Evaluation aufgenommen.
- Insgesamt sollen 60 gramnegative Stäbchen getestet werden.

Vorgehen

- Aus der positive Blutkulturflasche werden mit einer Spritze 8,5 ml Medium entnommen und in das Zentrifugationsröhrchen (BD Vacutainer SST II) gegeben.
- Zentrifugation bei 2.000 rpm für 10 Minuten (Zentrifuge im Stuhllabor).
- Der Überstand wird in den infektiösen Müll abgekippt; die Bakterien befinden sich nun auf dem Separationsgel; darunter finden sich die festen Bestandteile des Mediums.
- Das auf dem Gel befindliche Pellet wird in ca. 0,5 ml Vitek-Lösung resuspendiert.
- Einstellen einer Trübung von 0,6 nach McFarland (0,55-0,65) in einem Vitek-Röhrchen.
- Durchführung einer Identifizierung und Resistenztestung im Vitek inklusive Reinheitskontrolle. Dabei wird zur Eingabe in der Smart Carrier Station die Labornummer AM.... (statt AN....) verwendet.
- Wiederholung des Tests (Identifizierung und Antibiogramm) nach Wachstum des Keimes von der Agarplatte unter Standardbedingungen.
- Die routinemäßige Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) wird soweit zeitlich verfügbar parallel durchgeführt.

Zeitraumen

- Die Direktidentifizierung und –resistenzbestimmung wird durchgeführt von Montag bis Freitag von 8:00 Uhr bis 16:00 Uhr und samstags von 8:00 Uhr bis 11:30 Uhr. Dabei ist die Durchführung dieses Tests auch zu anderen Zeiten natürlich erlaubt.

Dokumentation

Folgende Unterlagen sollen für jedes getestete Isolat gesammelt werden:

- Vollständig ausgefüllter und unterschriebener Erfassungsbogen
- ~~Wachstumskurve des Isolates aus dem Blutkulturgerät (MTA)~~
- Befundausdruck des Vitek für Identifizierung und Resistenzbestimmung von Direkt- und Wiederholungstest (MTA)

Ärztlicher Ansprechpartner

- Ansprechpartner für Rückfragen ist Dr.Marschal (Funk: 151 – 9008).

Anhang 1: Arbeitsanweisung zum Studienverfahren für Blutkulturen für Labormitarbeiter.

Erfassungsbogen Direktidentifizierung und –resistenzbestimmung aus Blutkulturen mittels Vitek 2

Lfd.Nr.	Labornummer	Positivmeldung am	Zeitdauer bis zur Positivmeldung	Zeitgewinn durch den Direkttest

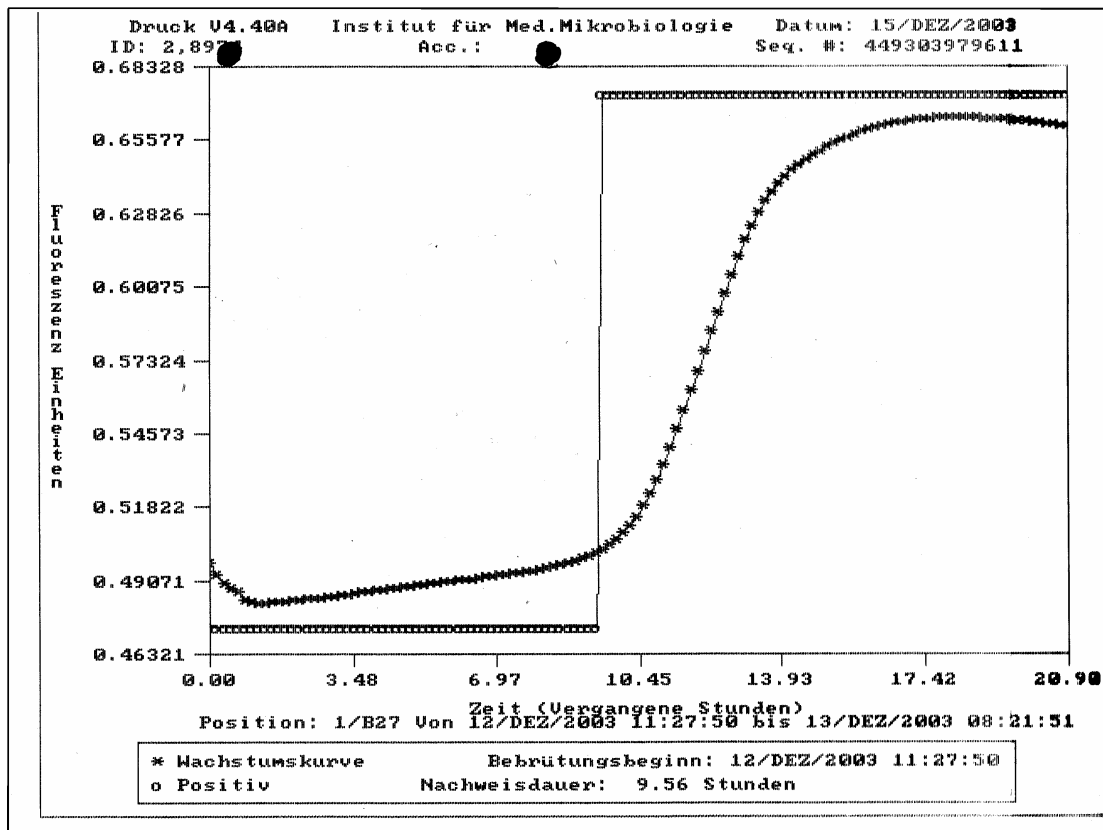
Identifikation	Direktidentifikation	FISH-Identifikation	WH-Identifikation	Übereinstimmung ?

Nr.	Antibiotikum	Abkürzung	MHK		SIR-Beurteilung			Fehler ?
			Direkt-Vitek	Wiederholung	Direkt-Vitek	Direkt-Agar	Wiederholung	
2	Gentamicin	GM						
3	Tobramycin	TM						
6	Ampicillin	AM						
123	Amp./Sub.	SAM						
24	Piperacillin	PIP						
124	Pip./Tezo.	TZP						
13	Cefuroxim	CXM						
25	Cefotaxim	CTX						
16	Cotrimoxazol	SXT						
121	Levofloxacin	LVX						
22	Ciprofloxacin	CIP						
40	Meropenem	MEM						
17	Ceftazidim	CAZ						
39	Cefepim	FEP						

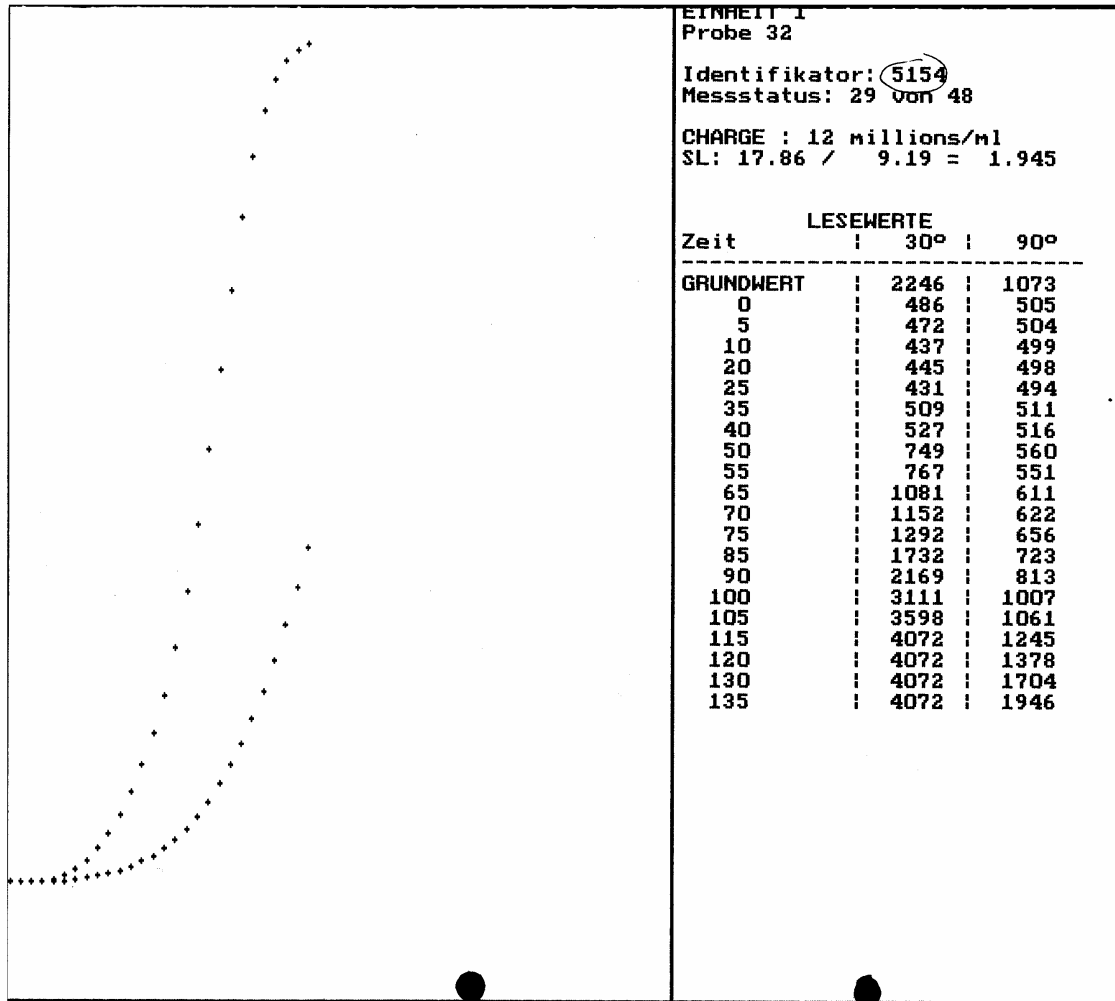
Zeitdauer des Antibiogramms: _____

Datum _____ Unterschrift _____

Anhang 2: Erfassungsbogen zum mikrobiologisch-diagnostischen Teil des Studienverfahrens für Blutkulturen.



Anhang 3: Ausdruck einer Bactec – Wachstumskurve mit Positivmeldung.



Anhang 4: Ausdruck einer Uro-Quick – Wachstumskurve.

Datum: 10/13/2003 08:04:06
WSVT2-R03.01

bioMérieux
Vitek 2 Laborbefund

Seite: 1

Referenz Nr.: am7512-1

Konfiguration von LSN ohne Eingabe der Patientendaten.
(000001108DA7) TUEBINGEN 5mi-09 Okt 10 10:46:24
Typ: Gram Negative Bacillus Identification
Status: FERTIG (03,00)
Keim: Escherichia coli
Ursprung: ID-GNB Identifizierung

ADO	-	LARA	+	dCEL	-	dGAT	+	dGLU	+	G1P	+
dGRT	+	INO	-	5KG	-	dMAL	+	dMAN	+	dMEL	-
PLE	-	dRAF	-	LRHA	+	SAC	+	dsOR	+	dTRE	+
LDC	+	ODC	+	URE	-	MNT	-	TDA	-	AARA	-
AGAL	-	AGLTA	-	BCEL	-	BGAL	+	BGLU	-	BGUR	+
BMAN	-	BNAG	-	BNAGA	-	BXYL	-	GGAA	-	GGT	-
LysA	-	PHOS	+	ProA	-	PyrA	-	zArgA	-		

Beurteilung: Sehr gute Identifizierung

T-index Keim
0,57 Escherichia coli

- Tests widersprechen dem typischen Biomuster. -
Escherichia coli
SAC (0.07) AGAL (0.20)

Zusatztests erforderlich. Siehe ID Zusatztest Information im Techn. Bulletin.
- Zusatztests für die Identifizierung auf Speziesebene. -
Escherichia coli
MOB (99)

Charge 010323640 Verfallsdatum 10-Nov-2004 (0103 2364 0024 0758)
[iwfa awfa dilP inc03:08:35 ver0088]

Datum: 10/13/2003 08:04:09
WSVT2-R03.01

bioMérieux
Vitek 2 Laborbefund

Seite: 1

Referenz Nr.: am7512-1
Konfiguration von LSN ohne Eingabe der Patientendaten.
Position: (000001108DA7) TUEBINGEN 5mi-10 Okt 10 10:46:24
Typ: Gram Negative Susceptibility - AST-N021
Status: FERTIG (06,25) ✓
Keim: Escherichia coli
Ursprung: AST-N021 Identifizierung (0103 2364 0024 0758)

	Vitek 2	Expert	Endbefund
Gentamicin	* <=1 S	<=1 *S	<=1 S
Tobramycin	* <=1 S	<=1 *S	<=1 S
Ampicillin	* >=32 R	>=32 *R	>=32 R
Ampicillin/Sulbactam	* >=32 R	>=32 *R	>=32 R
Piperacillin	* 64 I	64 *I	64 I
Piperacillin/Tazobactam	* <=4 S	<=4 *S	<=4 S
Cefuroxime	* 4 S	4 *S	4 S
Cefotaxime	* <=1 S	<=1 *S	<=1 S
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	* <=20 S	<=20 *S	<=20 S
Levofloxacin	* 1 S	1 *S	1 S
Ciprofloxacin	* 0,5 S	0,5 *S	0,5 S
Meropenem	* <=0,25 S	<=0,25 *S	<=0,25 S
Ceftazidime	* <=1 S	<=1 *S	<=1 S
Cefepime	* <=1 S	<=1 *S	<=1 S
Cefixime	* 0,5 S	0,5 *S	0,5 S
Cefuroxime Axetil	* 4 S	4 *S	4 S
Imipenem	* <=0,5 S	<=0,5 *S	<=0,5 S
Cefazolin	* <=4 S	<=4 *S	<=4 S
Mezlocillin	* 32 I	32 *I	32 I
Norfloxacin	* 2 S	2 *S	2 S
Tetracycline	* <=1 S	<=1 *S	<=1 S

- Advanced Expert Meldungen -
Expert-Befund: Das Resistenzmuster stimmt mit dem identifizierten Keim überein.

- Vorschläge zu Antibiotogrammkorrekturen -
Nach der therapeutischen Interpretation sind keine Änderungen notwendig.

Charge 143329940 Verfallsdatum 12-Jan-2005 (1433 2994 0022 3147)
Parameter Set 'Parameterset Nat. Resistenzen V3'

[iwfa awfa GLOBAL dila inc06:15:04 ver0088]
MHK Werte in æ/ml

8 Literatur

1. Alanis AJ. (2005). Resistance to antibiotics: are we in the post-antibiotic era? *Arch Med Res.* 36:697-705.
2. Anatoliotaki M, Valatas V, Mantadakis E, Apostolakou H, Mavroudis D, Georgoulis V, Rolston KV, Kontoyiannis DP, Galanakis E, Samonis G. (2004). Bloodstream infections in patients with solid tumors: associated factors, microbial spectrum and outcome. *Infection.* 32:65-71.
3. Anderson RN, Smith BL. (2005). Deaths: leading causes for 2002. *Natl Vital Stat Rep.* 53:1-89.
4. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. (2001). Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med.* 29:1303-1310.
5. Annane D, Bellissant E, Cavaillon JM. (2005). Septic shock. *Lancet.* 365:63-78.
6. Arbo MD, Snyderman DR. (1994). Influence of blood culture results on antibiotic choice in the treatment of bacteremia. *Arch Intern Med.* 154:2641-2645.
7. Arone F, Morrone LA, Bagetta D, Florio L, Lista MR, Bagetta G. (2005). Rational use of antibiotics in acute uncomplicated cystitis: a pharmaco-epidemiological study. *J Chemother.* 17:184-188.
8. Bagshaw SM, Laupland KB. (2006). Epidemiology of intensive care unit-acquired urinary tract infections. *Curr Opin Infect Dis.* 19:67-71.
9. Barenfanger J, Drake C, Kacich G. (1999). Clinical and financial benefits of rapid bacterial identification and antimicrobial susceptibility testing. *J Clin Microbiol.* 37:1415-1418.
10. Barnes MP. (1980). Influence of laboratory reports on prescribing of antimicrobials for urinary tract infection. *J Clin Pathol.* 33:481-483.
11. Barnett BJ, Stephens DS. (1997). Urinary tract infection: an overview. *Am J Med Sci.* 314:245-249.
12. Battagay M, Fluckiger U. (2005). Der Wert der klinischen Infektiologie. *Internist (Berl).* 46:623-629.
13. Beekmann SE, Diekema DJ, Chapin KC, Doern GV. (2003). Effects of rapid detection of bloodstream infections on length of hospitalization and hospital charges. *J Clin Microbiol.* 41:3119-3125.

14. Berild D, Ringertz SH, Lelek M. (2002). Appropriate antibiotic use according to diagnoses and bacteriological findings: report of 12 point-prevalence studies on antibiotic use in a university hospital. *Scand J Infect Dis.* 34:56-60.
15. Berild D, Mohseni A, Diep LM, Jensenius M, Ringertz SH. (2006). Adjustment of antibiotic treatment according to the results of blood cultures leads to decreased antibiotic use and costs. *J Antimicrob Chemother.* 57:326-330.
16. Beutler B. (2004). Inferences, questions and possibilities in Toll-like receptor signalling. *Nature.* 430:257-263.
17. Blondel-Hill E, Hetchler C, Andrews D, Lapointe L. (2003). Evaluation of VITEK 2 for analysis of Enterobacteriaceae using the Advanced Expert System (AES) versus interpretive susceptibility guidelines used at Dynacare Kasper Medical Laboratories, Edmonton, Alberta. *Clin Microbiol Infect.* 9:1091-1103.
18. Blot SI, Depuydt P, Annemans L, Benoit D, Hoste E, De Waele JJ, Decruyenaere J, Vogelaers D, Colardyn F, Vandewoude KH. (2005). Clinical and economic outcomes in critically ill patients with nosocomial catheter-related bloodstream infections. *Clin Infect Dis.* 41:1591-1598.
19. Bochud PY, Glauser MP, Calandra T; International Sepsis Forum. (2001). Antibiotics in sepsis. *Intensive Care Med.* 27:33-48.
20. Bochud PY, Calandra T. (2003). Pathogenesis of sepsis: new concepts and implications for future treatment. *BMJ.* 326:262-266.
21. Bochud PY, Bonten M, Marchetti O, Calandra T. (2004). Antimicrobial therapy for patients with severe sepsis and septic shock: an evidence-based review. *Crit Care Med.* 32:495-512.
22. Bodmann KF, Vogel F, Graninger W., Kresken M, Paar W.D, Peters G, Rietschel E., Seifert H, Shah P, Sörgel F, Stille W., Tauchnitz C, Traumann M., Ullmann U., Wacha H., Wiedemann B. (2001). Antimikrobielle Therapie der Sepsis - PEG-Empfehlungen. *Chemother J.* 10:43-55.
23. Bone RC. (1993). gramnegative sepsis: a dilemma of modern medicine. *Clin Microbiol Rev.* 6:57-68.
24. Book M, Lehmann LE, Schewe JC, Weber S, Stuber F. (2005). Urosepsis – Aktuelle Therapie und Diagnostik. *Urologe A.* 44:413-422.
25. Bouza E, Sousa D, Munoz P, Rodriguez-Creixems M, Fron C, Lechuz JG. (2004). Bloodstream infections: a trial of the impact of different methods of reporting positive blood culture results. *Clin Infect Dis.* 39:1161-1169.

26. Boye K, Hansen DS. (2003). Sequencing of 16S rDNA of *Klebsiella*: taxonomic relations within the genus and to other Enterobacteriaceae. *Int J Med Microbiol.* 292:495-503.
27. Bruins MJ, Bloembergen P, Ruijs G, Wolfhagen M. (2004). Identification and susceptibility testing of Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa* by direct inoculation from positive Bactec blood culture bottles into Vitek 2. *J Clin Microbiol.* 42:7-11.
28. Brun-Buisson C. (2000). The epidemiology of the systemic inflammatory response. *Intensive Care Med.* 26:64-74.
29. Brunkhorst FM. (2006). Epidemiologie, Ökonomie und Praxis – Ergebnisse der deutschen Prävalenzstudie des Kompetenznetzwerkes Sepsis (SepNet). *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther.* 41(1):43-4.
30. Bryce J, Boschi-Pinto C, Shibuya K, Black RE; WHO Child Health Epidemiology Reference Group. (2005). WHO estimates of the causes of death in children. *Lancet.* 365:1147-1152.
31. Buising KL, Thursky KA, Bak N, Skull S, Street A, Presneill JJ, Cades JF, Brown GV. (2005). Antibiotic prescribing in response to bacterial isolates in the intensive care unit. *Anaesth Intensive Care.* 33:571-577.
32. Byl B, Clevenbergh P, Jacobs F, Struelens MJ, Zech F, Kentos A, Thys JP. (1999). Impact of infectious diseases specialists and microbiological data on the appropriateness of antimicrobial therapy for bacteremia. *Clin Infect Dis.* 29:60-66.
33. Campo L, Mylotte JM. (1988). Use of microbiology reports by physicians in prescribing antimicrobial agents. *Am J Med Sci.* 296:392-398.
34. Canton R, Perez-Vazquez M, Oliver A, Coque TM, Loza E, Ponz F, Baquero F. (2001). Validation of the VITEK2 and the Advance Expert System with a collection of Enterobacteriaceae harboring extended spectrum or inhibitor resistant beta-lactamases. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 41:65-70.
35. Carlet J, Ben Ali A, Chalfine A. (2004). Epidemiology and control of antibiotic resistance in the intensive care unit. *Curr Opin Infect Dis.* 17:309-316.
36. Carson C, Naber KG. (2004). Role of fluoroquinolones in the treatment of serious bacterial urinary tract infections. *Drugs.* 64:1359-1373.
37. Claeys G, De Baere T, Wauters G, Vandecandelaere P, Verschraegen G, Muylaert A, Vanechoutte M. (2004). Extended-Spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Enterobacter aerogenes* phenotypically misidentified as *Klebsiella pneumoniae* or *K. terrigena*. *BMC Microbiol.* 4:49.

38. Cockerill FR 3rd, Wilson JW, Vetter EA, Goodman KM, Torgerson CA, Harmsen WS, Schleck CD, Ilstrup DM, Washington JA 2nd, Wilson WR. (2004). Optimal testing parameters for blood cultures. *Clin Infect Dis.* 38:1724-1730.
39. Cohen J. (2002). The immunopathogenesis of sepsis. *Nature.* 420:885-891.
40. Colardyn F. (2005). Appropriate and timely empirical antimicrobial treatment of icu infections--a role for carbapenems. *Acta Clin Belg.* 60:51-62.
41. Cook PP, Catrou PG, Christie JD, Young PD, Polk RE. (2004). Reduction in broad-spectrum antimicrobial use associated with no improvement in hospital antibiogram. *J Antimicrob Chemother.* 53:853-859.
42. Corona A, Bertolini G, Ricotta AM, Wilson AP, Singer M. (2003). Variability of treatment duration for bacteraemia in the critically ill: a multinational survey. *J Antimicrob Chemother.* 52:849-852.
43. Coyle MB, McGonagle LA, Plorde JJ, Clausen CR, Schoenknecht FD. (1984). Rapid antimicrobial susceptibility testing of isolates from blood cultures by direct inoculation and early reading of disk diffusion tests. *J Clin Microbiol.* 20:473-477.
44. Cunney RJ, McNamara EB, Alansari N, Loo B, Smyth EG. (1997). The impact of blood culture reporting and clinical liaison on the empiric treatment of bacteraemia. *J Clin Pathol.* 50:1010-1012.
45. Cunney RJ, Smyth EG. (2000). The impact of laboratory reporting practice on antibiotic utilisation. *Int J Antimicrob Agents.* 14:13-19.
46. Cunney RJ, Aziz HA, Schubert D, McNamara E, Smyth EG. (2000). Interpretative reporting and selective antimicrobial susceptibility release in non-critical microbiology results. *J Antimicrob Chemother.* 45:705-708.
47. Cuthbertson BH, Thompson M, Sherry A, Wright MM, Bellingan GJ; Intensive Care Society. (2004). Antibiotic-treated infections in intensive care patients in the UK. *Anaesthesia.* 59:885-890.
48. Dancer SJ. (2004). How antibiotics can make us sick: the less obvious adverse effects of antimicrobial chemotherapy. *Lancet Infect Dis.* 4:611-619.
49. David RD, DeBlieux PM, Press R. (2005). Rational antibiotic treatment of outpatient genitourinary infections in a changing environment. *Am J Med.* 118:7-13.
50. D'Costa VM, McGrann KM, Hughes DW, Wright GD. (2006). Sampling the antibiotic resistome. *Science.* 311:374-377.

51. De Cueto M, Ceballos E, Martinez-Martinez L, Perea EJ, Pascual A. (2004). Use of Positive Blood Cultures for Direct Identification and Susceptibility Testing with the Vitek 2 System. *J Clin Microbiol.* 42: 3734-3738.
52. Dellinger RP, Carlet JM, Masur H, Gerlach H, Calandra T, Cohen J, Gea-Banacloche J, Keh D, Marshall JC, Parker MM, Ramsay G, Zimmerman JL, Vincent JL, Levy MM; Surviving Sepsis Campaign Management Guidelines Committee. (2004). Surviving Sepsis Campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Crit Care Med.* 32:858-873.
53. Deville WL, Yzermans JC, van Duijn NP, Bezemer PD, van der Windt DA, Bouter LM. (2004). The urine dipstick test useful to rule out infections. A meta-analysis of the accuracy. *BMC Urol.* 2;4:4.
54. De With K, Bergner J, Buhner R, Dorje F, Gonnermann C, Haber M, Hartmann M, Rothe U, Strehl E, Steib-Bauert M, Kern WV. (2004). Antibiotikaaanwendung an deutschen Hochschulkliniken (Projekt INTERUNI-II) Ergebnisse für medizinische Kliniken unter Berücksichtigung von Intensivpflegestationen, onkologischen Stationen und sonstigen Pflegebereichen*. *Med Klin (Munich).* 99:347-354.
55. De With K, Schroder H, Meyer E, Nink K, Hoffmann S, Steib-Bauert M, Kammerer R, Ruess S, Daschner FD, Kern WV. (2004). Antibiotic use in Germany and European comparison. *Dtsch Med Wochenschr.* 129:1987-1992.
56. Diekema DJ, Beekmann SE, Chapin KC, Morel KA, Munson E, Doern GV. (2003). Epidemiology and outcome of nosocomial and community-onset bloodstream infection. *J Clin Microbiol.* 41:3655-3660.
57. Diekema DJ, Lee K, Raney P, Herwaldt LA, Doern GV, Tenover FC. (2004). Accuracy and appropriateness of antimicrobial susceptibility test reporting for bacteria isolated from blood cultures. *J Clin Microbiol.* 42:2258-2260.
58. Dimech W, Roney K. (2002). Evaluation of an automated urinalysis system for testing urine chemistry, microscopy and culture. *Pathology.* 34:170-177.
59. Doern GV, Vautour R, Gaudet M, Levy B. (1994). Clinical impact of rapid in vitro susceptibility testing and bacterial identification. *J Clin Microbiol.* 32:1757-1762.
60. Dombrovskiy VY, Martin AA, Sunderram J, Paz HL. (2005). Facing the challenge: decreasing case fatality rates in severe sepsis despite increasing hospitalizations. *Crit Care Med.* 33:2555-2562.
61. Domig KJ, Mayer HK, Kneifel W. (2003). Methods used for the isolation, enumeration, characterisation and identification of *Enterococcus* spp. 1. Media for isolation and enumeration. *Int J Food Microbiol.* 88:147-164.

62. Dulczak S, Kirk J. (2005). Overview of the evaluation, diagnosis, and management of urinary tract infections in infants and children. *Urol Nurs.* 25:185-191.
63. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, Gill SR, Nelson KE, Relman DA. (2005). Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science.* 308:1635-1638.
64. Edgeworth JD, Treacher DF, Eykyn SJ. (1999). A 25-year study of nosocomial bacteremia in an adult intensive care unit. *Crit Care Med.* 27:1421-1428.
65. Ehrhardt AF, Sanders CC, Thomson KS, Watanakunakorn C, Trujillano-Martin I. (1993). Emergence of resistance to imipenem in *Enterobacter* isolates masquerading as *Klebsiella pneumoniae* during therapy with imipenem/cilastatin. *Clin Infect Dis.* 17:120-122.
66. Eicher DJ, Annibale DJ. (2002). Neonatal sepsis: evaluation and management. *J S C Med Assoc.* 98:106-112.
67. Endimiani A, Tamborini A, Luzzaro F, Lombardi G, Toniolo A. (2002). Epidemiology of bloodstream infections and time to detection of positive blood cultures: an evaluation of the automated BacT/Alert and BACTEC 9240 systems. *New Microbiol.* 25:9-16.
68. Fay D, Oldfather JE. (1979). Standardization of direct susceptibility test for blood cultures. *J Clin Microbiol.* 9:347-350.
69. Ferraro MJ, Jorgensen JH. (1999). Susceptibility testing instrumentation and computerized expert systems for data analysis and interpretation. P. 1593-1600. In P.R. Murray et al. (ed.), *Manual of clinical microbiology*, American Society for Microbiology, Washington, D.C.
70. Finer G, Landau D. (2004). Pathogenesis of urinary tract infections with normal female anatomy. *Lancet Infect Dis.* 4:631-635.
71. Fluckiger U, Zimmerli W, Sax H, Frei R, Widmer AF. (2000). Clinical impact of an infectious disease service on the management of bloodstream infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 19:493-500.
72. Foxman B. (2002). Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity, and economic costs. *Am J Med.* 113 Suppl 1:5-13.
73. French GL. (2005). Clinical impact and relevance of antibiotic resistance. *Adv Drug Deliv Rev.* 57:1514-1527.
74. Friedman G, Silva E, Vincent JL. (1998). Has the mortality of septic shock changed with time. *Crit Care Med.* 26:2078-2086.

75. Fridodt-Moller N. (2002). Correlation between pharmacokinetic/ pharmacodynamic parameters and efficacy for antibiotics in the treatment of urinary tract infection. *Int J Antimicrob Agents*. 19:546-553.
76. Funfstuck R, Ott U, Naber KG. (2006). The interaction of urinary tract infection and renal insufficiency. *Int J Antimicrob Agents*. 28:72-77.
77. Funke G, Monnet D, De Bernardis C, von Graevenitz A, Freney J. (1998). Evaluation of the VITEK 2 system for rapid identification of medically relevant gramnegative rods. *J Clin Microbiol*. 36:1948-1952.
78. Funke G, Funke-Kissling P. (2004). Evaluation of the New VITEK 2 Card for Identification of Clinically Relevant gramnegative Rods. *J Clin Microbiol*. 42: 4067-4071.
79. Gatermann S, Podschun R, Schmidt H, Wittke J, Naber K, Sietzen W, Straube E. (1997). Harnwegsinfektionen (2). In: Mauch H (Hrsg.): *MiQ: Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik / Expertengruppe Mikrobiologische-Infektiologische Qualitätsstandards (MiQ); Fachgruppe „Diagnostische Verfahren in der Mikrobiologie“ der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM)*. Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart-Jena 1997.
80. Gaynes R, Edwards JR; National Nosocomial Infections Surveillance System. (2005). Overview of nosocomial infections caused by gramnegative bacilli. *Clin Infect Dis*. 41:848-854.
81. Geffers C, Zuschneid I, Sohr D, Ruden H, Gastmeier P. (2004). Erreger nosokomialer Infektionen auf Intensivstationen: Daten des Krankenhaus-Infektions-Surveillance-Systems (KISS) aus 274 Intensivstationen. *Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther*. 39:15-19.
82. Geigy JR. (1960). *Documenta Geigy : Wissenschaftliche Tabellen / Redaktion Konrad Diem*. Hrsg. Geigy JR, 6. Aufl. – Basel.
83. Glauser MP, Zanetti G, Baumgartner JD, Cohen J. (1991). Septic shock: pathogenesis. *Lancet*. 338:732-736.
84. Goossens H, Ferech M, Vander Stichele R, Elseviers M; ESAC Project Group. (2005). Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance: a cross-national database study. *Lancet*. 365:579-587.
85. Gootz TD. (2006). The forgotten gramnegative bacilli: What genetic determinants are telling us about the spread of antibiotic resistance. *Biochem Pharmacol*. 71:1073-1084.
86. Gould IM. (1999). A review of the role of antibiotic policies in the control of antibiotic resistance. *J Antimicrob Chemother*. 43:459-465.

87. Graham PL 3rd, Begg MD, Larson E, Della-Latta P, Allen A, Saiman L. (2006). Risk factors for late onset gramnegative sepsis in low birth weight infants hospitalized in the neonatal intensive care unit. *Pediatr Infect Dis J.* 25:113-117.
88. Granato PA. (1993). The impact of same-day tests versus traditional overnight testing. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 16:237-243.
89. Gross PA, Barrett TL, Dellinger EP, Krause PJ, Martone WJ, McGowan JE Jr, Sweet RL, Wenzel RP. (1994). Quality standard for the treatment of bacteremia. Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 18:428-430.
90. Gupta K, Hooton TM, Stamm WE. (2001). Increasing antimicrobial resistance and the management of uncomplicated community-acquired urinary tract infections. *Ann Intern Med.* 135:41-50.
91. Gupta K, Stamm WE. (2002). Outcomes associated with trimethoprim/sulphamethoxazole (TMP/SMX) therapy in TMP/SMX resistant community-acquired UTI. *Int J Antimicrob Agents.* 19:554-556.
92. Hansen DS, Jensen AG, Norskov-Lauritsen N, Skov R, Bruun B. (2002). Direct identification and susceptibility testing of enteric bacilli from positive blood cultures using VITEK (GNI+/GNS-GA). *Clin Microbiol Infect.* 8:38-44.
93. Harris AD, McGregor JC, Furuno JP. (2006). What infection control interventions should be undertaken to control multidrug-resistant Gram-negative bacteria? *Clin Infect Dis.* 43:57-61.
94. Hitt CM, Nightingale CH, Quintiliani R, Nicolau DP. (1997). Streamlining antimicrobial therapy for lower respiratory tract infections. *Clin Infect Dis.* 24:231-237.
95. Hoffken G, Niederman MS. (2002). Nosocomial pneumonia: the importance of a de-escalating strategy for antibiotic treatment of pneumonia in the ICU. *Chest.* 122:2183-2196.
96. Hooton TM, Scholes D, Hughes JP, Winter C, Roberts PL, Stapleton AE, Stergachis A, Stamm WE. (1996). A prospective study of risk factors for symptomatic urinary tract infection in young women. *N Engl J Med.* 335:468-474.
97. Hooton TM. (2000). Pathogenesis of urinary tract infections: an update. *J Antimicrob Chemother.* 46:1-7.
98. Hotchkiss RS, Karl IE. (2003). The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med.* 348:138-150.

99. Houpiikian P, Raoult D. (2002). Traditional and molecular techniques for the study of emerging bacterial diseases: one laboratory's perspective. *Emerg Infect Dis.* 8:122-31.
100. Hughes C, Roebuck MJ. (2003). Evaluation of the IRIS 939 Udx flow microscope as a screening system for urinary tract infection. *J Clin Pathol.* 56:844-849.
101. Hugonnet S, Sax H, Eggimann P, Chevrolet JC, Pittet D. (2004). Nosocomial bloodstream infection and clinical sepsis. *Emerg Infect Dis.* 10:76-81.
102. Ibrahim EH, Sherman G, Ward S, Fraser VJ, Kollef MH. (2000). The influence of inadequate antimicrobial treatment of bloodstream infections on patient outcomes in the ICU setting. *Chest.* 118:146-155.
103. Ishikawa K, Hayakawa S, Miyakawa S, Kusaka M, Shiroki R, Hoshinaga K. (2005). Survey of the susceptibility of urinary isolates to antibacterial agents in 2003. *J Infect Chemother.* 11:44-47.
104. Jack RS, Fan X, Bernheiden M, Rune G, Ehlers M, Weber A, Kirsch G, Mentel R, Furll B, Freudenberg M, Schmitz G, Stelter F, Schutt C. (1997). Lipopolysaccharide-binding protein is required to combat a murine gramnegative bacterial infection. *Nature.* 389:742-745.
105. Jacobs MR. (2003). How can we predict bacterial eradication? *Int J Infect Dis.* 7 Suppl 1:13-20.
106. Johnson JR, Tiu FS, Stamm WE. (1995). Direct antimicrobial susceptibility testing for acute urinary tract infections in women. *J Clin Microbiol.* 33:2316-2323.
107. Johnson JR. (2003). Microbial virulence determinants and the pathogenesis of urinary tract infection. *Infect Dis Clin North Am.* 17:261-278.
108. Johnson JR, Scheutz F, Ulleryd P, Kuskowski MA, O'Bryan TT, Sandberg T. (2005). Phylogenetic and pathotypic comparison of concurrent urine and rectal *Escherichia coli* isolates from men with febrile urinary tract infection. *J Clin Microbiol.* 43:3895-3900.
109. Jones RN, Dudley MN. (1997). Microbiologic and pharmacodynamic principals applied to the antimicrobial susceptibility testing of ampicillin/sulbactam: analysis of the correlations between in vitro test results and clinical response. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 28:5-18.
110. Jones RN, Craig WA, Ambrose PG, Dudley MN, Pottumarthy S. (2005). Reevaluation of Enterobacteriaceae MIC/disk diffusion zone diameter regression scattergrams for 9 beta-lactams: adjustments of breakpoints for strains producing extended spectrum beta-lactamases. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 52:235-246.

111. Jorgensen JH. (1993). Selection criteria for an antimicrobial susceptibility testing system. *J Clin Microbiol.* 31:2841-2844.
112. Jorgensen JH. (2004). Who defines resistance? The clinical and economic impact of antimicrobial susceptibility testing breakpoints. *Semin Pediatr Infect Dis.* 15:105-108.
113. Joyanes P, Conejo MC, Martinez-Martinez L, Perea EJ. (2001). Evaluation of the Vitek 2 system for the identification and susceptibility testing of three species of nonfermenting gramnegative rods frequently isolated from clinical samples. *J Clin Microbiol.* 39:3247-3253.
114. Kahlmeter G; ECO.SENS. (2003). An international survey of the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infections: the ECO.SENS Project. *J Antimicrob Chemother.* 51:69-76.
115. Kang CI, Kim SH, Park WB, Lee KD, Kim HB, Kim EC, Oh MD, Choe KW. (2004). Bloodstream infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for mortality and treatment outcome, with special emphasis on antimicrobial therapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 48:4574-4581.
116. Kang CI, Kim SH, Park WB, Lee KD, Kim HB, Kim EC, Oh MD, Choe KW. (2005). Bloodstream infections caused by antibiotic-resistant gramnegative bacilli: risk factors for mortality and impact of inappropriate initial antimicrobial therapy on outcome. *Antimicrob Agents Chemother.* 49:760-766.
117. Kempf VA, Trebesius K, Autenrieth IB. (2000). Fluorescent In situ hybridization allows rapid identification of microorganisms in blood cultures. *J Clin Microbiol.* 38:830-838.
118. Kempf VA, Mandle T, Schumacher U, Schafer A, Autenrieth IB. (2005). Rapid detection and identification of pathogens in blood cultures by fluorescence in situ hybridization and flow cytometry. *Int J Med Microbiol.* 295:47-55.
119. Kern WV, de With K, Steib-Bauert M, Fellhauer M, Plangger A, Probst W; MABUSE-INTERREGIO-II Project Team. (2005). Antibiotic use in non-university regional acute care general hospitals in southwestern Germany, 2001-2002. *Infection.* 33:333-339.
120. Kerremans JJ, Goessens WH, Verbrugh HA, Vos MC. (2004). Accuracy of identification and susceptibility results by direct inoculation of Vitek 2 cards from positive BACTEC cultures. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 23:892-898.
121. Klibanov OM, Raasch RH, Rublein JC. (2004). Single versus combined antibiotic therapy for gramnegative infections. *Ann Pharmacother.* 38:332-337.

122. Kohn LT, Corrigan JM, Donaldson MS. (2000). To err is human: building a safer system. National Academic Press, Washington, D.C.
123. Kollef MH. (2005). gramnegative bacterial resistance: evolving patterns and treatment paradigms. *Clin Infect Dis.* 40:85-88.
124. Kollef MH, Micek ST. (2005). Strategies to prevent antimicrobial resistance in the intensive care unit. *Crit Care Med.* 33:1845-1853.
125. Kreger BE, Craven DE, McCabe WR. (1980). gramnegative bacteremia. IV. Re-evaluation of clinical features and treatment in 612 patients. *Am J Med.* 68:344-355.
126. Kuehn MJ, Heuser J, Normark S, Hultgren SJ. (1992). P pili in uropathogenic *E. coli* are composite fibres with distinct fibrillar adhesive tips. *Nature.* 356:252-255.
127. Kuijper EJ, van der Meer J, de Jong MD, Speelman P, Dankert J. (2003). Usefulness of Gram stain for diagnosis of lower respiratory tract infection or urinary tract infection and as an aid in guiding treatment. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 22:228-234.
128. Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, Suppes R, Feinstein D, Zanotti S, Taiberg L, Gurka D, Kumar A, Cheang M. (2006). Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med.* 34:1589-1596.
129. Kunin CM. (2006). Urinary-catheter-associated infections in the elderly. *Int J Antimicrob Agents.* 28 Suppl 1:78-81.
130. Landry DW, Oliver JA. (2001). The pathogenesis of vasodilatory shock. *N Engl J Med.* 345:588-595.
131. Laupland KB, Zygun DA, Davies HD, Church DL, Louie TJ, Doig CJ. (2002). Incidence and risk factors for acquiring nosocomial urinary tract infection in the critically ill. *J Crit Care.* 17:50-57.
132. Leibovici L, Shraga I, Drucker M, Konigsberger H, Samra Z, Pitlik SD. (1998). The benefit of appropriate empirical antibiotic treatment in patients with bloodstream infection. *J Intern Med.* 244:379-386.
133. Lemmen SW, Hafner H, Zolldann D, Stanzel S, Lutticken R. (2004). Distribution of multi-resistant gramnegative versus Gram-positive bacteria in the hospital inanimate environment. *J Hosp Infect.* 56:191-197.

134. Leone M, Bourgoïn A, Cambon S, Dubuc M, Albanese J, Martin C. (2003). Empirical antimicrobial therapy of septic shock patients: adequacy and impact on the outcome. *Crit Care Med.* 31:462-467.
135. Leverstein-van Hall MA, Fluit AC, Paauw A, Box AT, Brisse S, Verhoef J. (2002). Evaluation of the Etest ESBL and the BD Phoenix, VITEK 1, and VITEK 2 automated instruments for detection of extended-spectrum beta-lactamases in multiresistant *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. *J Clin Microbiol.* 40:3703-3011.
136. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G; SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS. (2003). 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med.* 31:1250-1256.
137. Levy SB, Marshall B. (2004). Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nat Med.* 10:122-129.
138. Ling TK, Tam PC, Liu ZK, Cheng AF. (2001). Evaluation of Vitek 2 rapid identification and susceptibility testing system against gramnegative clinical isolates. *J Clin Microbiol.* 39:2964-2966.
139. Ling TK, Liu ZK, Cheng AF. (2003). Evaluation of the Vitek 2 system for rapid direct identification and susceptibility testing of gramnegative bacilli from positive blood cultures. *J Clin Microbiol.* 41:4705-4707.
140. Liu P, Muller M, Derendorf H. (2002). Rational dosing of antibiotics: the use of plasma concentrations versus tissue concentrations. *Int J Antimicrob Agents.* 19:285-290.
141. Livermore DM, Struelens M, Amorim J, Baquero F, Bille J, Canton R, Henning S, Gatermann S, Marchese A, Mittermayer H, Nonhoff C, Oakton KJ, Praplan F, Ramos H, Schito GC, Van Eldere J, Verhaegen J, Verhoef J, Visser MR. (2002). Multicentre evaluation of the VITEK 2 Advanced Expert System for interpretive reading of antimicrobial resistance tests. *J Antimicrob Chemother.* 49:289-300.
142. Livermore DM. (2005). Minimising antibiotic resistance. *Lancet Infect Dis.* 5:450-459.
143. Lo TS, Smego RA. (2004). Avoiding laboratory pitfalls in infectious diseases. *Postgrad Med J.* 80:660-662.
144. MacArthur RD, Miller M, Albertson T, Panacek E, Johnson D, Teoh L, Barchuk W. (2004). Adequacy of early empiric antibiotic treatment and survival in severe sepsis: experience from the MONARCS trial. *Clin Infect Dis.* 38:284-288.
145. MacKenzie FM, Struelens MJ, Towner KJ, Gould IM; ARPAC Steering Group; ARPAC Consensus Conference Participants. (2005). Report of the Consensus

- Conference on Antibiotic Resistance; Prevention and Control (ARPAC). *Clin Microbiol Infect.* 11:938-954.
146. Malacarne P, Rossi C, Bertolini G; GiViTI Group. (2004). Antibiotic usage in intensive care units: a pharmaco-epidemiological multicentre study. *J Antimicrob Chemother.* 54:221-224.
147. Marshall JC, Maier RV, Jimenez M, Dellinger EP. (2004). Source control in the management of severe sepsis and septic shock: an evidence-based review. *Crit Care Med.* 32:513-526.
148. Marshall JC. (2005). Lipopolysaccharide: an endotoxin or an exogenous hormone? *Clin Infect Dis.* 41:470-480.
149. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. (2003). The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med.* 348:1546-1554.
150. Martin GS, Mannino DM, Moss M. (2006). The effect of age on the development and outcome of adult sepsis. *Crit Care Med.* 34:15-21.
151. Mazzei T, Cassetta MI, Fallani S, Arrigucci S, Novelli A. (2006). Pharmacokinetic and pharmacodynamic aspects of antimicrobial agents for the treatment of uncomplicated urinary tract infections. *Int J Antimicrob Agents.* 28 Suppl 1:35-41.
152. McCuskey RS, Urbaschek R, Urbaschek B. (1996). The microcirculation during endotoxemia. *Cardiovasc Res.* 32:752-763.
153. Metzler CM, DeHaan RM. (1974). Susceptibility tests of anaerobic bacteria: statistical and clinical considerations. *J Infect Dis.* 130:588-594.
154. Meyer E, Schwab F, Jonas D, Rueden H, Gastmeier P, Daschner FD. (2004). Surveillance of antimicrobial use and antimicrobial resistance in intensive care units (SARD): 1. Antimicrobial use in German intensive care units. *Intensive Care Med.* 30:1089-1096.
155. Micek ST, Lloyd AE, Ritchie DJ, Reichley RM, Fraser VJ, Kollef MH. (2005). *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infection: importance of appropriate initial antimicrobial treatment. *Antimicrob Agents Chemother.* 49:1306-1311.
156. Mirrett S, Weinstein MP, Reimer LG, Wilson ML, Reller LB. (2001). Relevance of the number of positive bottles in determining clinical significance of coagulase-negative staphylococci in blood cultures. *J Clin Microbiol.* 39:3279-3281.
157. Mirrett S, Reller LB, Petti CA, Woods CW, Vazirani B, Sivadas R, Weinstein MP. (2003). Controlled clinical comparison of BacT/ALERT standard aerobic medium with BACTEC standard aerobic medium for culturing blood. *J Clin Microbiol.* 41:2391-2394.

158. Mol PG, Denig P, Gans RO, Nannanpanday PV, Degener JE, Laseur M, Haaijer-Ruskamp FM. (2006). Limited effect of patient and disease characteristics on compliance with hospital antimicrobial guidelines. *Eur J Clin Pharmacol.* 24:1-9.
159. Morens DM, Folkers GK, Fauci AS. (2004). The challenge of emerging and re-emerging infectious diseases. *Nature.* 430:242-249.
160. Moss M. (2005). Epidemiology of sepsis: race, sex, and chronic alcohol abuse. *Clin Infect Dis.* 41:490-497.
161. Munson EL, Diekema DJ, Beekmann SE, Chapin KC, Doern GV. (2003). Detection and treatment of bloodstream infection: laboratory reporting and antimicrobial management. *J Clin Microbiol.* 41:495-497.
162. Naber KG. (2000). Survey on antibiotic usage in the treatment of urinary tract infections. *J Antimicrob Chemother.* 46:49-52.
163. Naber KG, Fünfstück R, Hofstetter A, Brühl P, Hoyme U. (2000). Empfehlungen zur antimikrobiellen Therapie von Infektionen der Nieren und des Urogenitaltraktes bei Erwachsenen. *Chemother J.* 9:193-199.
164. National Committee for Clinical Laboratory Standards. (2002). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twelfth information supplement M100-S12. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.
165. Navon-Venezia S, Ben-Ami R, Carmeli Y. (2005). Update on *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* infections in the healthcare setting. *Curr Opin Infect Dis.* 18:306-313.
166. Neu HC. (1992). The crisis in antibiotic resistance. *Science.* 257:1064-1073.
167. Nicolle LE, Bjornson J, Harding GK, MacDonell JA. (1983). Bacteriuria in elderly institutionalized men. *N Engl J Med.* 309:1420-1425.
168. Nicolle LE. (2005). Catheter-related urinary tract infection. *Drugs Aging.* 22:627-639.
169. Niederman MS. (2005). Principles of appropriate antibiotic use. *Int J Antimicrob Agents.* 26:170-175.
170. Niederman MS. (2006). The importance of de-escalating antimicrobial therapy in patients with ventilator-associated pneumonia. *Semin Respir Crit Care Med.* 27:45-50.
171. Nolte FS, Williams JM, Jerris RC, Morello JA, Leitch CD, Matushek S, Schwabe LD, Dorigan F, Kocka FE. (1993). Multicenter clinical evaluation of a continuous

- monitoring blood culture system using fluorescent-sensor technology (BACTEC 9240). *J Clin Microbiol.* 31:552-557.
172. Norrby SR, Nord CE, Finch R; European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. (2005). Lack of development of new antimicrobial drugs: a potential serious threat to public health. *Lancet Infect Dis.* 5:115-119.
173. Oakes AR, Badger R, Grove DI. (1994). Comparison of direct and standardized testing of infected urine for antimicrobial susceptibilities by disk diffusion. *J Clin Microbiol.* 32:40-45.
174. O'Hara CM, Miller JM. (2003). Evaluation of the Vitek 2 ID-GNB assay for identification of members of the family Enterobacteriaceae and other nonenteric gramnegative bacilli and comparison with the Vitek GNI+ card. *J Clin Microbiol.* 41:2096-2101.
175. Oliver A, Perez-Vazquez M, Martinez-Ferrer M, Baquero F, De Rafael L, Canton R. (1999). Ampicillin-sulbactam and amoxicillin-clavulanate susceptibility testing of *Escherichia coli* isolates with different beta-lactam resistance phenotypes. *Antimicrob Agents Chemother.* 43:862-867.
176. Opal SM, Gluck T. (2003). Endotoxin as a drug target. *Crit Care Med.* 31:57-64.
177. Pancholi P, Pavletich K, Della-Latta P. (2005). Rapid screening of urine specimens for bacteriuria by the cellenium system. *J Clin Microbiol.* 43:5288-5290.
178. Paterson DL, Bonomo RA. (2005). Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev.* 18:657-686.
179. Paterson DL. (2006). The role of antimicrobial management programs in optimizing antibiotic prescribing within hospitals. *Clin Infect Dis.* 42:90-95.
180. Peters RP, van Agtmael MA, Danner SA, Savelkoul PH, Vandembroucke-Grauls CM. (2004). New developments in the diagnosis of bloodstream infections. *Lancet Infect Dis.* 4:751-760.
181. Peterson LR, Hamilton JD, Baron EJ, Tompkins LS, Miller JM, Wilfert CM, Tenover FC, Thomson Jr RB Jr. (2001). Role of clinical microbiology laboratories in the management and control of infectious diseases and the delivery of health care. *Clin Infect Dis.* 32:605-611.
182. Platt R, Polk BF, Murdock B, Rosner B. (1982). Mortality associated with nosocomial urinary-tract infection. *N Engl J Med.* 307:637-642.
183. Polderman KH, Girbes AR. (2004). Drug Diagnostik trials in sepsis: divergent results. *Lancet.* 363:1721-1723.

184. Putnam LR, Howard WJ, Pfaller MA, Koontz FP, Jones RN. (1997). Accuracy of the Vitek system for antimicrobial susceptibility testing Enterobacteriaceae bloodstream infection isolates: use of "direct" inoculation from Bactec 9240 blood culture bottles. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 28:101-104.
185. Ramos JM, Masia M, Elia M, Gutierrez F, Royo G, Bonilla F, Padilla S, Martin-Hidalgo A. (2004). Epidemiological and clinical characteristics of occult bacteremia in an adult emergency department in Spain: influence of blood culture results on changes in initial diagnosis and empiric antibiotic treatment. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 23:881-887.
186. Raoult D, Fournier PE, Drancourt M. (2004). What does the future hold for clinical microbiology? *Nat Rev Microbiol.* 2:151-159.
187. Reimer LG, Wilson ML, Weinstein MP. (1997). Update on detection of bacteremia and fungemia. *Clin Microbiol Rev.* 10:444-465.
188. Remick DG. (1995). Applied molecular biology of sepsis. *J Crit Care.* 10:198-212.
189. Richards GA. (2005). The therapeutic challenge of gramnegative sepsis: prolonging the lifespan of a scarce resource. *Clin Microbiol Infect.* 11:18-22.
190. Riedemann NC, Guo RF, Ward PA. (2003). Novel strategies for the treatment of sepsis. *Nat Med.* 9:517-524.
191. Rietschel ET, Brade H, Holst O, Brade L, Muller-Loennies S, Mamat U, Zahringer U, Beckmann F, Seydel U, Brandenburg K, Ulmer AJ, Mattern T, Heine H, Schletter J, Loppnow H, Schonbeck U, Flad HD, Hauschildt S, Schade UF, Di Padova F, Kusumoto S, Schumann RR. (1996). Bacterial endotoxin: Chemical constitution, biological recognition, host response, and immunological detoxification. *Curr Top Microbiol Immunol.* 216:39-81.
192. Rodriguez-Baño J, Navarro MD, Romero L, Martinez-Martinez L, Muniain MA, Perea EJ, Perez-Cano R, Pascual A. (2004). Epidemiology and clinical features of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in nonhospitalized patients. *J Clin Microbiol.* 42:1089-1094.
193. Rosamond J, Allsop A. (2000). Harnessing the power of the genome in the search for new antibiotics. *Science.* 287:1973-1976.
194. Roveta S, Marchese A, Debbia EA. (2004). Evaluation of the Uro-Quick, a new rapid automated system, for the detection of well-characterized antibiotic-resistant bacteria. *J Chemother.* 16:107-118.
195. Roveta S, Marchese A, Debbia EA. (2006). Antibiotic susceptibility tests directly on urine samples using Uro-Quick, a rapid automated system. *J Chemother.* 18:12-19.

196. Safdar N, Handelsman J, Maki DG. (2004). Does combination antimicrobial therapy reduce mortality in gramnegative bacteraemia? A meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* 4:519-527.
197. Schappert SM. (1999). Ambulatory care visits to physician offices, hospital outpatient departments, and emergency departments: United States, 1997. *Vital Health Stat* 13. 143: 1-39.
198. Schentag JJ, Ballow CH, Fritz AL, Paladino JA, Williams JD, Cumbo TJ, Ali RV, Galletta VA, Gutfeld MB, Adelman MH. (1993). Changes in antimicrobial agent usage resulting from interactions among clinical pharmacy, the infectious disease division, and the microbiology laboratory. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 16:255-264.
199. Schifman RB, Pindur A, Bryan JA. (1997). Laboratory practices for reporting bacterial susceptibility tests that affect antibiotic therapy. *Arch Pathol Lab Med.* 121:1168-1170.
200. Schumann RR, Leong SR, Flaggs GW, Gray PW, Wright SD, Mathison JC, Tobias PS, Ulevitch RJ. (1990). Structure and function of lipopolysaccharide binding protein. *Science.* 249:1429-1431.
201. Semeniuk H, Noonan J, Gill H, Church D. (2002). Evaluation of the Coral UTI Screen system for rapid automated screening of significant bacteriuria in a regional centralized laboratory. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 44:7-10.
202. Shah PM, Ullmann U, Seifert H, Trautmann M, Briedigkeit H, Gross RJ, Jansen B, Kern WV, Reinert RR, Rosenthal EJK, Roth B, Salzberger B, Schrappe M, Spencker FB, von Stockhausen HB, Steinmetz T, A'Asi J. (1997). Sepsis-Blutkulturdiagnostik (3). In: Mauch H (Hrsg.): *MiQ: Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik/ Expertengruppe Mikrobiologische-Infektiologische Qualitätsstandards (MiQ); Fachgruppe „Diagnostische Verfahren in der Mikrobiologie“ der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM).* Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart-Jena 1997.
203. Shafazand S, Weinacker AB. (2002). Blood cultures in the critical care unit: improving utilization and yield. *Chest.* 122:1727-1736.
204. Simpson I, Durodie J, Knott S, Shea B, Wilson J, Machka K. (1998). Effects of following National Committee for Clinical Laboratory Standards and Deutsche Industrie Norm-Medizinische Mikrobiologie guidelines, country of isolate origin, and site of infection on susceptibility of *Escherichia coli* to amoxicillin-clavulanate (Augmentin). *J Clin Microbiol.* 36:1361-1365.

205. Singer M, De Santis V, Vitale D, Jeffcoate W. (2004). Multiorgan failure is an adaptive, endocrine-mediated, metabolic response to overwhelming systemic inflammation. *Lancet*. 364:545-548.
206. Stamm WE. (2002). Scientific and clinical challenges in the management of urinary tract infections. *Am J Med*. 113:1-4.
207. Stein GE. (2005). Antimicrobial resistance in the hospital setting: impact, trends, and infection control measures. *Pharmacotherapy*. 25:44-54.
208. Stürenburg E, Mack D. (2003). Extended-spectrum beta-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory, therapy, and infection control. *J Infect*. 47:273-295.
209. Stürenburg E, Sobottka I, Feucht HH, Mack D, Laufs R. (2003). Comparison of BD Phoenix and VITEK2 automated antimicrobial susceptibility test systems for extended-spectrum beta-lactamase detection in *Escherichia coli* and *Klebsiella* species clinical isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 45:29-34.
210. Sturm AW. (1988). Rational use of antimicrobial agents and diagnostic microbiology facilities. *J Antimicrob Chemother*. 22:257-260.
211. Sullivan A, Edlund C, Nord CE. (2001). Effect of antimicrobial agents on the ecological balance of human microflora. *Lancet Infect Dis*. 1:101-114.
212. Tan TY, McNulty C, Charlett A, Nessa N, Kelly C, Beswick T. (2003). Laboratory antibiotic susceptibility reporting and antibiotic prescribing in general practice. *J Antimicrob Chemother*. 51:379-384.
213. Ten Cate H, Schoenmakers SH, Franco R, Timmerman JJ, Groot AP, Spek CA, Reitsma PH. (2001). Microvascular coagulopathy and disseminated intravascular coagulation. *Crit Care Med*. 29:95-97.
214. Thornsberry C, Anhalt JP, Washington JA 2nd, McCarthy LR, Schoenknecht FD, Sherris JC, Spencer HJ. (1980). Clinical laboratory evaluation of the Abbott MS-2 automated antimicrobial susceptibility testing system: report of a collaborative study. *J Clin Microbiol*. 12:375-390.
215. Trenholme GM., Kaplan RL, Karakusis PH, Stine T, Fuhrer J, Landau W, Levin S. (1989). Clinical impact of rapid identification and susceptibility testing of bacterial blood culture isolates. *J Clin Microbiol*. 27:1342-1345.
216. Turner PJ. (2005). Extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Infect Dis*. 41:273-275.
217. Ulevitch RJ. (2003). Regulation of receptor-dependent activation of the innate immune response. *J Infect Dis*. 187:351-355.

218. Valles J, Rello J, Ochagavia A, Garnacho J, Alcalá MA. (2003). Community-acquired bloodstream infection in critically ill adult patients: impact of shock and inappropriate antibiotic therapy on survival. *Chest*. 123:1615-1624.
219. Van Eldere J. (2005). Changing needs, opportunities and constraints for the 21st century microbiology laboratory. *Clin Microbiol Infect*. 11:15-18.
220. Varaldo PE. (2002). Antimicrobial resistance and susceptibility testing: an evergreen topic. *J Antimicrob Chemother*. 50:1-4.
221. Velasco D, Gil E, Garcia P, Guerrero A. (2002). Eficacia de dos métodos semiautomáticos para exclusion de bacteriuria. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 20:22-24.
222. Vincent JL. (2003). Nosocomial infections in adult intensive-care units. *Lancet*. 361:2068-2077.
223. Vincent JL, Abraham E. (2006). The last 100 years of sepsis. *Am J Respir Crit Care Med*. 173:256-263.
224. Wagenlehner FME, Niemetz A, KG Naber. (2003). Erregerspektrum und Antibiotikaresistenz beim Harnwegsinfekt und Konsequenzen für die Antibiotikatherapie - Untersuchung bei stationären urologischen Patienten mit Harnwegsinfektionen (1994-2001). *Urologe A*. 42:13-25.
225. Wagenlehner FM, Naber KG. (2006). Treatment of bacterial urinary tract infections: presence and future. *Eur Urol*. 49:235-244.
226. Wallet F, Loiez C, Renaux E, Lemaitre N, Courcol RJ. (2005). Performances of VITEK 2 colorimetric cards for identification of gram-positive and gramnegative bacteria. *J Clin Microbiol*. 43:4402-4406.
227. Walsh C. (2000). Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. *Nature*. 406:775-781.
228. Waterer GW, Wunderink RG. (2001). Increasing threat of gramnegative bacteria. *Crit Care Med*. 29:75-81.
229. Weinstein MP, Towns ML, Quartey SM, Mirrett S, Reimer LG, Parmigiani G, Reller LB. (1997). The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of bacteremia and fungemia in adults. *Clin Infect Dis*. 24:584-602.
230. Weinstein MP. (2003). Blood culture contamination: persisting problems and partial progress. *J Clin Microbiol*. 41:2275-2278.

231. Wilcox MH. (2006). Tigecycline and the need for a new broad-spectrum antibiotic class. *Surg Infect (Larchmt)*. 7:69-80.
232. Williams DH, Schaeffer AJ. (2004). Current concepts in urinary tract infections. *Minerva Urol Nefrol*. 56:15-31.
233. Wilson ML, Gaido L. (2004). Laboratory diagnosis of urinary tract infections in adult patients. *Clin Infect Dis*. 38:1150-1158.
234. Woodford N, Sundsfjord A. (2005). Molecular detection of antibiotic resistance: when and where? *J Antimicrob Chemother*. 56:259-261.
235. Yamamoto S, Tsukamoto T, Terai A, Kurazono H, Takeda Y, Yoshida O. (1997). Genetic evidence supporting the fecal-perineal-urethral hypothesis in cystitis caused by *Escherichia coli*. *J Urol*. 157:1127-1129.
236. Yuan S, Astion ML, Schapiro J, Limaye AP. (2005). Clinical impact associated with corrected results in clinical microbiology testing. *J Clin Microbiol*. 43:2188-2193.
237. Zaragoza R, Artero A, Camarena JJ, Sancho S, Gonzalez R, Nogueira JM. (2003). The influence of inadequate empirical antimicrobial treatment on patients with bloodstream infections in an intensive care unit. *Clin Microbiol Infect*. 9:412-418.

9 Danksagung

Zunächst möchte ich mich ganz herzlich bei Prof. Autenrieth für die Annahme als Doktorand bedanken. Mein besonderer Dank gilt meinem Betreuer Dr. Matthias Marschal. Er war immer für Fragen erreichbar, offen für meine Vorschläge und hat stets nur konstruktive Kritik geäußert. Für das Durchlesen meiner Arbeit und Verbesserungsvorschläge möchte ich mich bei Dr. T. Hierl, für die statistische Beratung bei PD Dr. M. Eichner bedanken.

Des weiteren gilt mein Dank allen Mitarbeitern des Institutes, die im mikrobiologisch-diagnostischen Teil der Studie mitgewirkt haben. Besonders möchte ich mich bei Frau S. Toll und S. Neu bedanken, die mich während meiner Zeit im Labor sehr unterstützt haben. Für ihren Beitrag zum Gelingen des klinisch-therapeutischen Teils dieser Studie möchte ich mich bedanken bei den Verantwortlichen der klinischen Fächer für die Genehmigungen zur Akteneinsicht und den Mitarbeitern der Archive für die Hilfe bei der Aktensuche.

Für das Durchlesen meiner Arbeit und konstruktive Verbesserungsvorschläge möchte ich mich bedanken bei: Ellen Häberle, Johannes Loos, Manuela Loos, Lisa Mirabella, Hedwig Starz, Dr. Martin Starz, Stefanie Wöhrle.

10 Lebenslauf

Name: Dominik Loos
Geburtsdatum: 08.07.1982
Geburtsort: Aalen
Familienstand: ledig

Eltern: Werner Loos; Angestellter der Stadt Aalen
Monika Loos, geb. Starz; Erzieherin

Geschwister: Manuela loos; Studentin für Sonderschulpädagogik
Johannes Loos; Schüler für Physiotherapie
Ann-Kathrin Loos; Schülerin

Schulbildung: 1989-1993: Brauenbergschule Wasseralfingen
1993-2002: Kopernikusgymnasium Wasseralfingen
Juni 2002: Abitur (Leistungskurse: Mathematik, Chemie)

Zivildienst: 15.07.2002-14.05.2003: Krankenpflagedienst in der Klinik am Ipf
Bopfingen

Studium: Sommersemester 2003: Beginn des Studiums der Humanmedizin
an der Universität Tübingen
März 2005: Ärztliche Vorprüfung
19.05.2009: Ärztliche Prüfung (2. Staatsexamen)