

Aus dem Department für Diagnostische Labormedizin der
Universität Tübingen
Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene

**Diagnostisches Potential der Time to Positivity zur
Differenzierung resistenter und empfindlicher
gramnegativer Erreger**

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

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

vorgelegt von

Spazierer, Myriam Hannah

2017

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

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

2. Berichterstatter: Privatdozentin Dr. H. Häberle

Tag der Disputation: 06.10.2017

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	3
Tabellenverzeichnis	4
Abbildungsverzeichnis	5
Abkürzungsverzeichnis	6
1. Resistenzverhalten von Bakterien	8
1.1. Multiresistente Bakterien	8
1.1.1. Multiresistente gramnegative Erreger	9
1.2. Multiresistente Erreger in den Kliniken	10
1.2.1. Gründe für vermehrte Resistenzentwicklung	11
1.2.2. Morbidität und Mortalität eines Patienten mit multiresistentem Keim	11
1.2.3. Auswirkungen einer verzögerten antimikrobiellen Therapie auf die Mortalität	12
1.3. Blutkulturdiagnostik	13
1.4. Time to Positivity (TTP)	13
1.5. Die Time to Positivity (TTP) als Möglichkeit der Vorhersage von Resis- tenzen	14
1.6. Studienziel	14
2. Material und Methoden	15
2.1. Studiencharakteristik	15
2.2. Diagnostik von Blutkulturen	16
2.3. Identifizierung und Anzucht	18
2.3.1. Speziesidentifizierung	18
2.3.2. Resistenztestung	19
2.4. Interpretation der Ergebnisse	20
2.5. Einführung einer korrigierten TTP (TTP _{cor})	20

2.6. Relative Häufigkeitsdichte	21
2.7. Angewandte Statistik	21
2.7.1. Receiver-Operating-Characteristic (ROC)-Analyse und Grenzwertanalyse	21
2.7.2. Ergebnisanalyse	23
3. Ergebnisse	24
3.1. Allgemeine Übersicht	24
3.2. Beobachteter Zusammenhang zwischen TTP und Transportzeit der Blutkulturflaschen	26
3.3. Darstellung der statistisch signifikanten Ergebnisse im ersten tabellarischen Überblick	26
3.4. <i>Klebsiella pneumoniae</i> und Cotrimoxazol	30
3.4.1. Darstellung der TTPA von <i>Klebsiella pneumoniae</i> unter Cotrimoxazol	30
3.4.2. Darstellung der TTPAcor von <i>Klebsiella pneumoniae</i> unter Cotrimoxazol	32
3.5. <i>Acinetobacter baumannii</i> und Piperacillin	33
3.5.1. <i>Acinetobacter baumannii</i> und Piperacillin unter Betrachtung der TTPA	33
3.5.2. <i>Acinetobacter baumannii</i> und Piperacillin unter Betrachtung der TTPAcor	35
3.5.3. <i>Acinetobacter baumannii</i> und Piperacillin unter Betrachtung der TTPF	36
3.5.4. <i>Acinetobacter baumannii</i> und Piperacillin unter Betrachtung der TTPFcor	37
4. Diskussion	40
4.1. Allgemeine Beobachtungen	40
4.2. Diskussion der Ergebnisse für <i>Klebsiella pneumoniae</i>	40
4.2.1. Diskussion der diagnostischen Verwendbarkeit des Ergebnisses für <i>Klebsiella pneumoniae</i>	41

4.3. Diskussion der Ergebnisse für <i>Acinetobacter baumannii</i>	43
4.3.1. Diskussion der diagnostischen Verwertbarkeit des Ergebnisses für <i>Acinetobacter baumannii</i>	43
4.4. Diskussion alternativer diagnostischer Möglichkeiten zur schnellen Er- kennung von Resistenzen in Blutkulturen	45
5. Zusammenfassung	47
Literaturverzeichnis	49
A. Anhang	53
B. Erklärung zum Eigenanteil	62
C. Danksagung	63

Tabellenverzeichnis

1.	Ergebnisübersicht gramnegative Erreger	29
2.	Mittelwerte und Mediane der TTPA für <i>Klebsiella pneumoniae</i> unter Cotrimoxazol	31
3.	Übersicht CutOff, Sensitivät und Spezifität für die TTPA von <i>Klebsiella pneumoniae</i> und Cotrimoxazol	32
4.	Mittelwerte und Mediane der TTPAcor für <i>Klebsiella pneumoniae</i> unter Cotrimoxazol	33
5.	Übersicht CutOff, Sensitivät und Spezifität für die TTPAcor von <i>Klebsiella pneumoniae</i> und Cotrimoxazol	33
6.	Mittelwerte und Mediane der TTPA für <i>Acinetobacter baumannii</i> unter Piperacillin	34
7.	Übersicht CutOff, Sensitivät und Spezifität für die TTPA von <i>Acinetobacter baumannii</i> und Piperacillin	35
8.	Mittelwerte und Mediane der TTPAcor für <i>Acinetobacter baumannii</i> unter Piperacillin	36
9.	Übersicht CutOff, Sensitivät und Spezifität für die TTPAcor von <i>Acinetobacter baumannii</i> und Piperacillin	36
10.	Mittelwerte und Mediane der TTPF für <i>Acinetobacter baumannii</i> und Piperacillin	37
11.	Übersicht CutOff, Sensitivität und Spezifität für die TTPF von <i>Acinetobacter baumannii</i> und Piperacillin	38
12.	Mittelwerte und Mediane der TTPFcor für <i>Acinetobacter baumannii</i> unter Piperacillin	39
13.	Übersicht CutOff, Sensitivität und Spezifität für die TTPFcor von <i>Acinetobacter baumannii</i> und Piperacillin	39
14.	<i>Enterobacteriaceae</i> : Antibiotikakategorien und antimikrobielle Substanzen zur Festlegung von MDR, XDR und PDR	53
15.	Fortsetzung <i>Enterobacteriaceae</i> : Antibiotikakategorien und antimikrobielle Substanzen zur Festlegung von MDR, XDR und PDR	53

16.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> : Antibiotikakategorien und antimikrobielle Substanzen zur Festlegung von MDR, XDR und PDR	54
17.	<i>Acinetobacter baumannii</i> .: Antibiotikakategorien und antimikrobielle Substanzen zur Festlegung von MDR, XDR und PDR	54
18.	Übersicht Ergebnisse gramnegative Erreger TTPA und TTPAN	55
19.	Übersicht Ergebnisse gramnegative Erreger TTPA und TTPAN	56
20.	Übersicht Ergebnisse gramnegative Erreger TTPF und TTPP	57
21.	Übersicht Ergebnisse gramnegative Erreger TTPF und TTPP	58

Abbildungsverzeichnis

1.	Vergleich der TTPA von resistenten und sensiblen <i>Klebsiella pneumoniae</i> spp. unter Cotrimoxazol	31
2.	Vergleich der TTPAcor von resistenten und sensiblen <i>Klebsiella pneumoniae</i> unter Testung von Cotrimoxazol	32
3.	Vergleich der TTPA von resistent und sensibel getesteten <i>Acinetobacter baumannii</i> unter Piperacillin	34
4.	Vergleich der TTPAcor von resistenten und empfindlichen <i>Acinetobacter baumannii</i> unter Piperacillin	35
5.	Vergleich der TTPF von resistenten und empfindlichen <i>Acinetobacter baumannii</i> unter Piperacillin	37
6.	Vergleich der TTPFcor von resistenten und sensiblen <i>Acinetobacter baumannii</i> unter Piperacillin	38
7.	ESBL-Infektionen in Deutschland. Nach [38]	41
8.	ROC-Analyse TTPA <i>Acinetobacter baumannii</i> und Piperacillin	59
9.	ROC-Analyse TTPAcor <i>Acinetobacter baumannii</i> und Piperacillin	59
10.	ROC-Analyse TTPF <i>Acinetobacter baumannii</i> und Piperacillin	60
11.	ROC-Analyse TTPFcor <i>Acinetobacter baumannii</i> und Piperacillin	60
12.	ROC-Analyse TTPA <i>Klebsiella Pneumoniae</i> und Cotrimoxazol	61
13.	ROC-Analyse TTPAcor <i>Klebsiella pneumoniae</i> und Cotrimoxazol	61

Abkürzungsverzeichnis

CDC Centers for Disease Control and Prevention

DTP Differential Time to Positivity

ECDC European Centre for Disease Prevention and Control

MDR multidrug-resistant

PDR pandrug-resistant

XDR extensively drug-resistant

BHI Agar Brain Heart Infusion Agar

TTP Time to Positivity

TTPA Time to Positivity für aerobe Blutkulturen

TTPAN Time to Positivity für anaerobe Blutkulturen

TTPP Time to Positivity für Pilzflaschen

TTPF Time to Positivity first für die am schnellsten positiv gewordene Blutkulturflasche

DTP Differential Time to Positivity

MRSA Methicillin-resistenter Staphylococcus aureus

MSSA Methicillin-sensibler Staphylococcus aureus

FOS Fastidious-Organism-Supplement

SAB Agar Sabouraud-Dextrose-Agar

MALDI Matrix-assistierte Laser-Desorption und -Ionisation

SCS Smart Carrier Station

EUCAST European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

CLSI Clinical and Laboratory Standard Institute

AUC area under the curve

SE Standardfehler

CI Konfidenzintervall

MRGN multiresistente gramnegative Erreger

PCR Polymerase-Ketten-Reaktion

SCCmec Staphylococcal Cassette Chromosome mec

FOS Fastidious-Organism-Supplement

RKI Robert-Koch-Institut

FUO fever of unknown origin

1. Resistenzverhalten von Bakterien

„Antimicrobial resistance is a global public health crisis and a national security threat to the United States, as stated in an executive order signed by the president in September 2014“ [1]. Mit dieser Feststellung beginnt ein im Januar 2016 im Journal of the American Medical Directors Association erschienener Artikel. Grund hierfür sind laut den Autoren der inadäquate Einsatz von Antibiotika weltweit, der die Zunahme an resistenten Erregern fördert. Aufgrund eingeschränkter Behandlungsmöglichkeiten können diese potentiell gefährlich für Patienten werden.

Fitchett und Atun beschreiben einen Rückgang der Bevölkerung von 11 bis 40 Millionen bis 2050 ohne effektive Antibiotikatherapie [2]. Desweiteren wird ein Rückgang der globalen Wirtschaft um 0.1% bis 3.1% beschrieben. Beide Artikel zeigen, wie wichtig die Untersuchung von Bakterien und der adäquate Einsatz von Antibiotika ist. Im Folgenden werden einige wichtige Erreger und die Problematik hinsichtlich heute vorhandener Resistenzen vorgestellt.

1.1. Multiresistente Bakterien

Es gibt verschiedene Definitionen bezüglich Resistenz und Multiresistenz bei Bakterien. Eine einheitliche Definition ist sinnvoll: So können epidemiologische Daten gesammelt und die Daten verschiedener Länder miteinander verglichen werden [3]. Auch unterschiedliche Therapiemaßnahmen können so besser miteinander verglichen und ihre Wirksamkeit überprüft werden. Das European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) und Centers for Disease Control and Prevention (CDC) haben eine einheitliche Definition von erworbenen Resistenzen bei *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp.*, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Acinetobacter spp.* festgelegt [3]. Grund für die Wahl gerader dieser Bakterien ist ihre epidemiologische Bedeutung und ihre Wichtigkeit für das Gesundheitssystem.

Berücksichtigt werden nur erworbene Resistenzen. Intrinsische Resistenzen, die dem Aufbau des Bakteriums zugrunde liegen, werden nicht berücksichtigt. Die von der Expertengruppe eingeführte Definition von Multiresistenz ist folgende [3]:

- Ein Bakterium gilt als MDR (multidrug-resistant), wenn es gegen mindestens ein

Mittel in mindestens drei der aufgeführten Kategorien resistent ist. Als Kategorie gilt dabei eine für das zu testende Bakterium übliche Antibiotikumklasse, wie für *Enterobacteriaceae* Aminoglykoside und Cephalosporine jeder Generation.

- Ein Bakterium ist dann ein XDR (extensively drug-resistant), wenn es gegen mindestens ein Mittel in allen außer zwei der aufgeführten Kategorien resistent ist.
- Unter PDR (Pandrug-Resistant) versteht man ein Bakterium, das gegen alle Mittel aller Kategorien Resistenzen aufweist.

1.1.1. Multiresistente gramnegative Erreger

Die weltweite Zunahme an multiresistenten gramnegativen Erregern ist aufgrund fehlender antimikrobieller Substanzen ein zunehmendes Problem [4]. Wichtige Vertreter der multiresistenten gramnegativen Erreger sind *Pseudomonas aeruginosa*, Enterobakterien wie *Escherichia coli* und *Klebsiella pneumoniae* und *Acinetobacter baumannii*. Grund für die rasche Verbreitung von Resistenzen bei gramnegativen Erregern ist der Austausch von Resistenzgenen [5]. Beispielsweise sind die Extended Betalaktamasen (ESBL)¹, die häufig durch Plasmide codiert und über diese verbreitet werden, eine Ursache für Resistenzen gegen Cephalosporine der dritten Generation wie Ceftazidim bei *Klebsiella spp.* [7]. Die Einteilung in MDR und XDR entspricht der im vorherigen Abschnitt besprochenen. Es sei hier noch auf eine weitere Definition des Robert Koch-Instituts verwiesen [5]. Bei der Definition multiresistenter gramnegativer Keime des Robert Koch-Instituts werden vier Antibiotikagruppen betrachtet, die bei schweren Infektionen als primäre bakterizide Antibiotika eingesetzt werden [5].

Diese sind [5]:

1. Acylureidopenicilline mit Piperacillin als Leitsubstanz
2. Cephalosporine der 3. und 4. Generation, wie Cefotaxim und/oder Ceftazidim
3. Carbapeneme wie Imipinem oder Meropenem

¹Es gibt keine einheitliche Definition von ESBL. Üblicherweise werden als Extended Betalaktamasen die bezeichnet, welche Resistenzen gegen Penicillin, Cephalosporine der 1., 2. und 3. Generation und gegen Aztreonam aufweisen. [6]

4. Fluorchinolone wie Ciprofloxacin

Andere Antibiotika werden nicht berücksichtigt, da sie entweder nicht als Monotherapie (Aminoglykoside) eingesetzt werden oder nur als Reserveantibiotikum (Glycylcycline) gelten [5]. Als bedeutsam wird die Resistenz gegenüber mehr als zwei der angegebenen Antibiotikagruppen eingestuft. Hierbei werden dann die zwei Gruppen der multiresistenten gramnegativen Erreger (MRGN), die 3 MRGN, die gegen drei der vier oben angegebenen Gruppen resistent sind und die 4 MRGN, die gegen alle genannten Gruppen resistent sind und auch die Panresistenz einschließen, unterschieden. Für *Enterobacteriaceae spp.*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Acinetobacter spp.* ist eine Übersicht zur Festlegung von MDR, XDR und PDR nach ECDC [3] in Tabelle 14 bis Tabelle 17 dargestellt.

1.2. Multiresistente Erreger in den Kliniken

Laut eines 2009 im *Clinical Infectious Diseases* erschienenen Artikel, kann die Entwicklung neuer antimikrobieller Substanzen nicht mit dem Auftreten neuer Resistenzen mithalten [8]. In 1.1.1 wurde die deutliche Zunahme an resistenten gramnegativen Keimen im Klinikalltag erwähnt, was ein zunehmendes Behandlungsproblem darstellt. Eine Chicagoer Studie aus dem Jahr 2003 beobachtete, dass 20.6 % aller *K.pneumoniae*-Infektionen auf der Intensivstation resistent auf Cephalosporine mit erweitertem Wirkspektrum sind. Verglichen mit den vorausgegangenen fünf Jahren entspricht dies einer Zunahme von 47 % [7]. Die meisten der durch multiresistente Erreger ausgelöste Infektionen sind nosokomiale Infektionen, laut dieser Studie sind dies 72 %. Vergleichbare Zahlen finden sich auch in der eingangs erwähnten Studie (vgl. [8]). In einer in Singapur durchgeführten Studie zu durch gramnegative Keime ausgelösten Infektionen, trat bei der Hälfte (51.2 %) der durch nicht-multiresistente Keime ausgelösten Infektionen, eine Bakteriämie innerhalb von 48 Stunden auf. Dies spricht für eine ambulant erworbene Infektion. Bei den multiresistenten Keimen trat eine Bakteriämie lediglich in 33.4 % der Fälle innerhalb von 48 Stunden auf [9].

1.2.1. Gründe für vermehrte Resistenzentwicklung

Laut Roberts et. al tragen verschiedene Faktoren im klinischen Alltag zur beobachteten vermehrten Resistenzentwicklung bei [8]:

1. In vielen Fällen werden mutmaßliche Infektionen ohne Erregernachweis antibiotisch behandelt. Es kommt aus Zeitgründen und Kosten nicht zur umfangreicher mikrobiologischer Diagnostik.
2. Die Verpflichtung der im Krankenhaus tätigen Ärzte, ihre Patienten möglichst wirksam zu behandeln, führt oft dazu, dass anstelle von Diagnostik bevorzugt das neueste Breitband-Antibiotikum eingesetzt wird in der Hoffnung, Resistenzen gegen dasselbe seien weniger verbreitet.

Kurzzeitig führt dies zwar zur Einsparung von Kosten, langfristig jedoch führt die inadäquate Therapie zu einer vermehrten Resistenzentwicklung und damit zu einer Kostensteigerung, die auch durch Roberts et. al beschrieben wird[8]. Alle Patienten der Studie waren älter als 17 Jahre und hatten mehr als 5 ICD10-Diagnosen bei Entlassung. Von den 1253 eingeschlossenen Patienten wiesen 50 eine Infektion mit einem multiresistenten Keim auf. Es zeigte sich, dass sich die Behandlungskosten für einen Patienten ohne multiresistenten Keim im Mittel auf 1581 US-Dollar pro Tag beliefen. Für die Behandlung eines Patienten mit multiresistentem Keim war hingegen eine Summe von im Mittel 1975 US-Dollar notwendig, was dem 1.25-fachen entspricht. Zur weiteren Steigerung der Kosten trug außerdem die wesentlich längere Liegedauer eines Patienten mit multiresistentem Keim bei. Bei dieser Studie lag die durchschnittliche Liegezeit eines Patienten ohne resistenten Keim bei 8 Tagen, bei Patienten mit bei 26.4 Tagen. Bedenkt man hierbei noch die höheren Tagesbehandlungskosten, waren die Kosten für die Behandlung eines Patienten mit multiresistentem Erreger ungefähr viermal so hoch [8].

1.2.2. Morbidität und Mortalität eines Patienten mit multiresistentem Keim

Beim Vergleich von systemischen Infektionen mit Ceftazidim-resistenten (CAZ-R) und -sensiblen (CAZ-S) *Klebsiella spp.* starben 43 % der Patienten mit einer CAZ-R-Infektion. Damit wiesen diese Patienten eine dreimal höhere Mortalität auf als die Patienten, die an

einer von CAZ-S *Klebsiella spp.* ausgelösten Infektion erkrankt waren [7].

Die Überlebenden und die Verstorbenen einer systemischen CAZ-R-Infektion wurden hinsichtlich vorhandener Risikofaktoren verglichen. Bezüglich Vorerkrankungen und Immunsuppression zeigte sich kein Unterschied. Statistisch signifikant war jedoch der Beginn einer effektiven Therapie. Patienten, die erst nach 72 h eine wirksame Therapie erhielten, hatten ein höheres Risiko zu sterben (Odds Ratio (OR) =3.80, p =0.03).

Eine an hämatologischen Patienten durchgeführte Studie beobachtete, dass Patienten mit einer Neutropenie, einer schweren Sepsis oder einer aktiven hämatologischen Erkrankung häufiger eine Infektion mit einem Ceftazidim-resistenten gramnegativen Keim hatten. Dies hatte jedoch keinen Einfluss auf die 30 Tage-Mortalität [10]. Unabhängige Risikofaktoren waren hier eine aktive hämatologische Erkrankung, ein höheres Lebensalter und die Verschreibung von Vancomycin.

In einer 2015 von Wang et. al veröffentlichten Studie wurde neben allogener Stammzelltransplantation auch bei einer Blutstrominfektion, die durch Carbapenem resistente gramnegative Keime verursacht worden war, eine höhere Mortalität von hämatologischen Patienten festgestellt [11].

1.2.3. Auswirkungen einer verzögerten antimikrobiellen Therapie auf die Mortalität

Wie in 1.2.2 beschrieben, ist eine verzögert begonnene effektive antimikrobielle Therapie ein Risikofaktor für erhöhte Mortalität. Eine auf der Intensivstation eines Lehrkrankenhauses in St. Louis durchgeführte Studie zeigt, dass bei einer inadäquat behandelten Sepsis eine deutlich höhere Mortalität vorliegt (61.9 % vs. 28.4 %) als bei einer adäquat behandelten [12]. Erreger einer inadäquat behandelten Sepsis waren hier unter anderem Methicillin resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) und Vancomycin resistente *Enterokokken*.

Auch in einer retrospektiv durchgeführten Studie mit Patienten, die an einer durch multiresistente gramnegative Erreger hervorgerufene Infektion litten, zeigte sich, dass in der Gruppe der adäquat therapierten Patienten die Mortalität bei 27.4 % lag, in der inadäquat therapierten Gruppe bei 38.4 % [13]. Grund für eine initial inadäquate Therapie war das Vorliegen von Resistenzen gegen das jeweilige Antibiotikum.

1.3. Blutkulturdiagnostik

Eine wichtige Methode zur Detektion von Infektionskrankheiten ist die Blutkultur. Bei Verdacht auf eine Katheterinfektion wird die parallele Blutentnahme empfohlen, es wird zeitgleich eine Probe zentral aus dem Katheter und eine peripher gewonnen [14, 15]. Blutkulturen sollen unmittelbar nach Auftreten der klinischen Symptomatik, wie Fieber und Schüttelfrost, entnommen werden [14]. Um die Sensitivität der Diagnostik zu erhöhen, sollten mehrere Blutkulturpaare durch getrennte Punktion gewonnen werden. Nach Abnahme der Blutkulturen soll der Transport rasch (innerhalb von 2-4 Stunden) erfolgen und ein Schutz gegen Abkühlung vorhanden sein. Häufigste Ursache für falsch-negative Blutkulturen ist die antibiotische Vorbehandlung und ein zu geringes Blutvolumen [14]. Liegen Hinweise auf bereits erfolgtes Erregerwachstum vor, wird ein Grampräparat, eine Subkultur und eine orientierende Resistenztestung durch Agardiffusionstests vorgenommen. Die Blutkulturen werden bis zu 7 Tage, bei Endokarditisverdacht bis zu 21 Tage bebrütet. Die meisten Blutkulturen werden innerhalb von 24 Stunden positiv. Sobald eine Blutkultur positiv ist, erfolgt die Anfertigung eines Grampräparates, Subkulturen und eine orientierende Resistenztestung. Die definitive Resistenztestung kann erst nach Erhalt eines ausreichenden Koloniewachstums erfolgen. Bei fehlendem Koloniewachstum muss die Bebrütungszeit auf 5-7 Tage verlängert werden und auch an das Anfertigen von Spezialmedien gedacht werden [14]. Da durch fehlendes Koloniewachstum keine Resistenztestung erfolgen kann, ist die Zeit bis zum Erhalt eines definitiven Antibiotogramms deutlich verzögert. Dies erschwert eine adäquate antimikrobielle Behandlung.

1.4. Time to Positivity (TTP)

Die Time to Positivity (TTP) ist definiert als Zeitintervall von Beginn des Bebrütens der Blutkultur bis zur Detektion eines Bakterienwachstums durch einen Inkubator [16]. Je nach Art der bebrüteten Flasche werden TTPA (Time to Positivity aerob) als Time to Positivity für aerob bebrütete Blutkulturflaschen, TTPAN (Time to Positivity anaerob) für anaerobe, TTPF (Time To Positivity fastest) für die am schnellsten positiv gewordene Blutkulturflasche - unabhängig von ihrer Art - und TTPP (Time to Positivity Pilze) bei Verdacht auf Pilzinfektionen unterschieden. Die Funktionsweise zur Detektion positiver

Blutkulturen wird in 2.2 beschrieben.

Unter DTP (Differential Time to Positivity) versteht man die Differenz zwischen der Time-to-Positivity einer peripher entnommenen Blutkulturflasche und der Time-to-Positivity einer aus einem zentral liegenden Katheter entnommenen Blutkulturflasche [14]. Sie dient der Diagnosestellung einer Katheter assoziierten Infektion. Beträgt die DTP mehr als 2 h, kann man eine katheterassoziierte Infektion annehmen [14].

1.5. Die Time to Positivity (TTP) als Möglichkeit der Vorhersage von Resistenzen

Eine von Juli 2010 bis März 2011 am National Taiwan University Hospital durchgeführte Studie untersuchte die Fähigkeit der TTP, zwischen vorhandenen und nicht vorhandenen Resistenzen einer durch *Acinetobacter baumannii* spp. ausgelösten Bakteriämie zu unterscheiden [17]. Es waren 99 Patienten eingeschlossen. Insgesamt wurden jedem Patienten mindestens zwei separat gewonnene Blutproben abgenommen und jeweils eine aerobe und eine anaerobe Blutkulturflasche bebrütet. Es waren 144 Blutkulturen positiv, davon wiesen 43 einen MDR *Acinetobacter baumannii* auf. Der Mittelwert der TTP von MDR *Acinetobacter baumannii* lag mit 8.6 Stunden deutlich unter der empfindlichen *Acinetobacter baumannii* mit 14.5 Stunden ($p=0.002$). Die Sensitivität lag hierbei bei 89.3 % und die Spezifität bei 64.8 %. Der positive und negativ prädiktive Wert betragen 50 % und 93.9 % bei einem CutOff der TTP von 11.01 Stunden.

Der negativ prädiktive Wert kann hilfreich für den Ausschluss eines MDR *Acinetobacter baumannii* sein. Die TTP zeigt hier die Möglichkeit der Differenzierung zwischen MDR und sensiblen *Acinetobacter baumannii*.

1.6. Studienziel

Ziel dieser am Universitätsklinikum Tübingen retrospektiv durchgeführten Studie war die Überprüfung, ob die TTP als diagnostische Größe die Möglichkeit der Vorhersage von Resistenzen bietet. Der untersuchte Zeitraum umfasst Januar 2005 bis einschließlich Dezember 2012. Eingeschlossen waren sowohl grampositive als auch gramnegative Keime. In dieser Arbeit werden lediglich die Ergebnisse der gramnegativen Erreger dargestellt.

Die Ergebnisse der grampositiven Erreger sind Gegenstand einer anderen Arbeit. Untersucht wurde, ob es zwischen resistenten und empfindlich getesteten Keimen Unterschiede bezüglich der TTP gibt und ob diese im klinischen Alltag genutzt werden können.

2. Material und Methoden

2.1. Studiencharakteristik

Eingeschlossen in die Studie wurden Blutkulturen von Patienten des Universitätsklinikums Tübingen, der Berufsgenossenschaftlichen Unfallklinik Tübingen und des Zollernalb Klinikums gGmbH. Das Universitätsklinikum Tübingen umfasst 17 Kliniken mit rund 1500 Betten einschließlich Tagesklinikplätzen. Etwa 62000 Patienten werden jährlich stationär versorgt. Weitere 300000 werden ambulant versorgt [18].

Die Berufsgenossenschaftliche Klinik in Tübingen ist eine traumatologische Schwerpunkt-klinik für den gesamten württembergischen Raum und versorgt jährlich 10000 Patienten stationär und 28000 Patienten ambulant[19].

Das Zollernalb Klinikum gGmbH versorgt mit rund 510 Betten 19000 Patienten im Jahr [20].

Einbezogen in die Studie wurden Blutkulturen, die positiv auf einen der festgelegten bakteriellen Erreger getestet wurden. Eine Übersicht über eingeschlossene gramnegative Erreger findet sich in 3.1. Eine Altersbeschränkung der Studienteilnehmer lag nicht vor. Ausgeschlossen wurden Monoinfektion durch Pilze, Dialysate, Aszites- oder Knochenmarkspunktate, die in eine Blutkultur gegeben wurden sowie Blutkulturen, bei denen keine TTP vorlag. Erstisolate einer vorliegenden Infektion wurden gesondert aufgeführt. Für das Vorliegen eines Erstisolats mussten folgende Voraussetzungen erfüllt sein:

1. Der isolierte Keim wurde nicht bereits innerhalb der letzten drei Monate beim gleichen Patienten, unabhängig von der vorliegenden Resistenz, isoliert.
2. Der isolierte Keim wurde nicht im Rahmen einer Mischinfektion mit einem weiteren Keim isoliert, welcher Kriterium [1.] nicht erfüllt.

Einschlusskriterien für die in die Auswertung eingeschlossenen Isolate waren:

1. Es muss ein Erstisolat sein.
2. Die Transportzeit muss bekannt sein.
3. Es muss eine Monoinfektion vorliegen.

2.2. Diagnostik von Blutkulturen

² Zum Nachweis von Erregern in Blutkulturen wurden Blutkulturmedien auf der Basis einer Casein-Soja-Pepton-Bouillon eingesetzt. Durch Vermehrung der Bakterien kam es zur Anreicherung von CO_2 . Am Boden der Blutkulturflasche befand sich ein Indikator mit Fluoreszenzfarbstoffen. Diese Fluoreszenzfarbstoffe befanden sich in einer Matrix, die eine Diffusion von CO_2 erlaubte. Die Fluoreszenzfarbstoffe reagierten auf CO_2 . Durch eine unter der Flasche positionierte Leuchtdiode wurde das fluoreszierende Material angeregt. Die Intensität der Fluoreszenz war dabei proportional der vorhandenen Menge an CO_2 . Somit konnte durch die Bestimmung der fluoreszierenden Intensität mittels Photodiode auf die Menge des vorhandenen CO_2 geschlossen werden. Die Messung erfolgte alle 10 Minuten. Durch das Beifügen von Kunstharzen wurden zuvor gegebene Antibiotika teilweise inaktiviert. Durch kontinuierliches Schütteln der Flaschen kam es außerdem zur teilweisen Lyse von humanen Zellen, wodurch auch intrazellulär wachsende Bakterien detektiert werden konnten.

Für Erwachsene und Kinder älter als 6 Jahre sollen zwischen 3 ml und 10 ml, idealerweise zwischen 8 ml und 10 ml pro Blutkulturflasche entnommen werden, bei jüngeren Kindern zwischen 1 ml und 3 ml und bei Säuglingen mehr als 0.5 ml.

Die Bebrütung erfolgte mittels des Inkubators Bactec 9240 der Firma Becton Dickinson. Verwendete Reagenzien waren:

- BD BACTEC PLUS-Aerob/F-Medium (Becton Dickinson 442192)
- BD BACTEC PLUS-Anaerob/F-Medium (Becton Dickinson 442193)
- BD BACTEC Mycosis- IC/F-Medium (Becton Dickinson 442206)
- BD BACTEC PEDS-Plus/f-Medium (Becton Dickinson 442194)

²Alle Angaben dieses Abschnittes wurden aus der Arbeitsanweisung AM-Mi-126/F SOP „Nachweis von Erregern in Blutkulturmedien“ entnommen [21].

- BD BACTEC 9000 MB MYCO/F Lytic-Medium (Tb) (Becton Dickinson 442003)
- Bactec Fastidious-Organism-Supplement (FOS) (Becton Dickinson 442153)

Die Inkubation erfolgte in der Regel 7 Tage, auch bei Endokarditisverdacht. Bei einer Positivmeldung leuchtete ein Lampe des Geräts und die Position rot auf, sodass die betreffende Blutkulturflasche entnommen werden konnte. Anschließend erfolgten unter der Sicherheitswerkbank nach Desinfektion der Flasche das Aufbringen auf Festnährmedien und die Anfertigung eines Grampräparates. Bei aeroben positiven Blutkulturen erfolgte die Aussaat auf eine Blutagarplatte (Columbia-Schafblutagar, Hersteller: Oxoid, Wesel, Deutschland), die aerob bebrütet und eine BHI Agarplatte (Brain-Heart-Infusion Agar, eigene Herstellung), die unter CO_2 bebrütet wurde. Bei anaeroben positiven Flaschen wurde zusätzlich eine BHI Agarplatte anaerob bebrütet. Bei positiven Pilzflaschen erfolgte die Aussaat auf Blutagar, eine BHI Agarplatte unter CO_2 -Bebrütung und einer SAB-Platte (Sabouraud-Dextrose-Agar, Hersteller:Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) unter aerober Bebrütung. Wenn 7 Tage danach Bakterien, jedoch keine Pilze gewachsen waren, erfolgte die erneute Aussaat auf eine SAB-Platte.

Zur Weiterverarbeitung einer positiven Blutkultur gehörte auch die Herstellung eines vorläufigen Antibiotogramms. Welche Antibiotika getestet wurden, hing von den im Grampräparat erkennbaren Erregern ab. Für die Herstellung des vorläufigen Antibiotogramms wurde mit dem Vacutainer System Flüssigkeit aus der Blutkulturflasche entnommen, ein Tropfen je in die Mitte der Testplatte (Müller-Hinton-Agar, eigene Herstellung) aufgebracht und ausplattiert und anschließend ein Dispenser³ verwendet. Ein positives Ergebnis wurde freigegeben, wenn keine technischen Defekte während der Bebrütung aufgetreten waren, ein Nachweis von Erregern im mikroskopischen Präparat oder der Anzucht vorlag und eine Kontamination ausgeschlossen wurde.

Ein negatives Ergebnis wurde freigegeben, wenn keine technischen Defekte am Messgerät aufgetreten waren, es nach 48 Stunden, bzw. 7, 14, oder 42 Tage keine positive Meldung gab und auch kein Wachstum in einer Subkultur erfolgt war.

Die Ergebnisse wurden sowohl im Laborbuch als auch elektronisch dokumentiert. Störfaktoren konnten eine vorbestehende antibiotische Therapie, zu lange Transportzei-

³Bei einem Dispenser handelt es sich um ein Gerät zur Aufbringung der Antibiotikaplättchen in gleichmäßigen Abständen auf der zu bebrütenden Platte.

ten, zu wenig oder zu viel Blutvolumen und zu niedrige Transporttemperaturen sein.

2.3. Identifizierung und Anzucht

2.3.1. Speziesidentifizierung⁴

Die Identifizierung von Mikroorganismen erfolgte durch das Massenspektrometriegerät Axima Assurance Linear MALDI TOF MS der Firma Shimadzu. Genutzt wurde das Gerät in Verbindung mit der Software SARAMIS Premium der Firma Anagnostec GmbH. Das Massenspektrometriegerät kombinierte die Methode der Matrix-unterstützten Laser-Desorption und -Ionisation (englisch Matrix-assisted Laser Desorption and Ionization, MALDI) mit der herkömmlichen Flugzeitmassenspektroskopie (englisch Time-of-flight mass spectrometry, TOF MS) [23]. Die Kulturen wurden auf einen Probeträger (Target) aufgebracht und in einer sauren Matrix, bestehend aus 4-Hydroxy-Cyanozimtsäure (HCCA) und Dihydroxybenzoesäure (DHB), kristallisiert. Matrixmoleküle sind im ultravioletten Spektralbereich stark absorbierend. Daher führte die Anregung mit kurzen Laserpulsen eines Stickstofflasers zur Deportation einer großen Energiemenge. Durch Relaxationseffekte wurde diese Energie teilweise an das Kristallgitter übertragen. Dies führte zum explosionsartigen Herauslösen von Molekülen (Ablation). Im heißen Ablationsgas kam es zur thermischen Ionisation der herausgelösten Moleküle. Diese waren im nachfolgenden Prozess der Flugzeitmassenspektroskopie zugänglich. Dabei wurden die Moleküle in einem elektrischen Feld beschleunigt. Die Zeit bis zum Auftreffen der Ionen auf dem Detektor ließ eine Aussage über deren Masse zu. Unter Berücksichtigung der Anzahl der Detektorereignisse konnte zudem die Menge der auftreffenden Ionen bestimmt werden [23]. Die erhaltenen Informationen konnten in einem Massenspektrum aufgetragen werden. Es erfolgte nun der Vergleich mit bekannten Massenspektren, wodurch eine Erregeridentifizierung erfolgen konnte. Der Messbereich lag zwischen $2 \cdot 10^3$ u⁵ und $2 \cdot 10^4$ u. Der relative Fehler lag bei 0.08 %.

⁴Die folgende Beschreibung des MALDI ist der Arbeitsanweisung AG-MI-106/A SOP mit dem Titel MALDI-Gerätebeschreibung des Instituts für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene des Universitätsklinikums Tübingen entnommen [22].

⁵Das Einheitszeichen u steht für die atomare Masseneinheit und entspricht ca. $1.66 \cdot 10^{-27}$ kg.

2.3.2. Resistenztestung⁶

Bei Vitek 2 und Vitek 2 XL handelte es sich um ein vollautomatisches Testsystem mit Karten, die über je 64 Küvetten verfügten. Es konnte eine Erregeridentifizierung über eine kolorimetrische Messung oder eine Resistenztestung über eine Trübungsmessung durchgeführt werden. Vor 2009 erfolgte die im vorherigen Abschnitt beschriebene Speziesidentifizierung durch das Vitek. Im Rahmen der Studie betrifft dies den Zeitrahmen von 2005 bis 2008. Die Dichte lag bei 0.5 McFarland⁷. Aus jeder Keimsuspension musste eine Reinheitskontrolle angefertigt werden. Dies erfolgte über das Beimpfen einer halben Blutplatte.

Die Identifizierungskarten enthielten verschiedene Substrate zur Darstellung biochemischer Reaktionen, bei grampositiven waren dies 43, bei gramnegativen Keimen 47 Tests. Alle 15 Minuten erfolgte die Messung eines kolorimetrischen Signals. Zur Identifizierung erfolgte nun ein Abgleich des ermittelten biochemischen Profils mit den biochemischen Profilen von bekannten, abgespeicherten Bakterienstämmen.

Die Resistenzbestimmungskarten enthielten in ihren Küvetten verschiedene Antibiotika, wobei jedes in mindestens drei Konzentrationen vorhanden war. Alle 15 min erfolgte eine Transmissionsmessung bei einer Wellenlänge von 660 nm, die Rückschlüsse über das Wachstum erlaubte. Es erfolgten 16 Messzeiten und zu jedem Zeitpunkt erfolgten drei Messungen, welche jeweils gemittelt wurden. Das Wachstumsprofil wurde anhand des Verhaltens bei An- bzw. Abwesenheit von Antibiotika kontrolliert. Errechnet wurde nun die Minimale Hemmkonzentration (MHK). Die Interpretation erfolgte nach EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing), hierzu musste aber der Keim identifiziert sein. Die Identifikation konnte manuell nach Erhalt der MALDI-Ergebnisse oder durch eine Identifizierungskarte durchgeführt werden.

Wöchentlich erfolgten Qualitätskontrollen.

Bei gramnegativen Keimen handelte es sich um die Resistenzkarte ATC-N116 mit *Escherichia coli* ATCC 25922 und ATCC35218 und *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Bei Notwendigkeit einer exakten MHK-Bestimmung konnte außerdem ein Agardiffusi-

⁶Die folgende Beschreibung ist der Arbeitsanweisung: AG-MI-109/C, SOP mit dem Titel Vitek 2 entnommen [24].

⁷Unter McFarland versteht man den Standard einer Trübung einer Bakteriensuspension. Damit soll die Vergleichbarkeit für Testungen gewährleistet sein [25].

onstest durchgeführt werden. Hierbei wurde ein Festnährmedium (Müller-Hinton-Agar, eigene Herstellung oder Müller-Hinton-Agar mit Pferdeblut (MHF), Oxoid PB5303A, Wesel, Deutschland) mit Chemotherapeutikum beschichteten Platten beimpft [26]. Diese wurden zuvor mit dem zu testenden Keim beimpft. Dazu wurden Kolonien in eine sterile NaCl-(Natriumchlorid)Lösung gegeben mit einem Dichtewert von 0,5 nach MacFarland. Nach einer - je nach Spezies - definierten Inkubationszeit wurden die Hemmhöfe (in mm) abgelesen. Hemmhof bezeichnete dabei die wachstumsfreie Zone um das Filterblättchen, welche mit der MHK korreliert. Die Einteilung in sensibel, intermediär und resistent konnte hierbei nach EUCAST vorgenommen werden [27]. Voraussetzung war hierbei das Vorhandensein eines konfluenten Bakterienrasens. Bei Einzelkolonien war die Inokulationsmenge zu gering und der Test musste wiederholt werden. Eine weitere Möglichkeit bot die Durchführung eines E-Testes (Epsilometer-Test). Der E-Test bestand aus einem Plastikstreifen, der ein Antibiotikum enthielt [28]. Entlang des Streifens bestand ein Konzentrationsgradient in 15 Stufen. Der Streifen wurde auf eine zuvor inokulierte Platte gelegt und inkubiert. Anschließend konnte am ellipsenförmig aufgetretenen Wachstum die MHK (in $\mu\text{g/ml}$) abgelesen werden.

2.4. Interpretation der Ergebnisse

Ab 2012 wurden die Ergebnisse der Sensibilitätstestung des Erregers nach EUCAST interpretiert. Zuvor erfolgte die Interpretation nach CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Bei der Sensibilitätstestung werden sowohl geno- als auch phenotypische Methoden verwendet. Maß der Interpretation bei der phänotypischen Testung ist die minimale Hemmkonzentration. Breakpoints dienen dabei der Einteilung in sensibel, intermediär und resistent [27].

2.5. Einführung einer korrigierten TTP (TTP_{cor})

In 3.2 wird der Zusammenhang zwischen TTP und Transportzeit beschrieben. Um eine Verzerrung des möglicherweise vorhandenen Zusammenhangs zwischen Resistenzprofil eines Erregers und der TTP durch die Transportzeit zu vermeiden, wurde ein Korrektur-

faktor und eine damit verbundene korrigierte TTP (TTPcor) eingeführt:

$$\text{TTPcor} = \sqrt{|\text{Transportzeit} \cdot \text{TTP}|}.$$

Eingeführt wurde der Korrekturfaktor für aerobe, anaerobe und die am schnellsten positiv gewordenen Blutkulturflaschen. Für die Pilzflaschen wurde kein Korrekturfaktor eingeführt, da bei Durchführung der Regressionsanalyse kein statistisch signifikantes Ergebnis vorhanden war. Möglicherweise war dies durch die verhältnismäßig kleine Anzahl an Pilzflaschen (n=246) oder einer geringeren Empfindlichkeit gegenüber Einflüssen der Transportzeit bedingt.

2.6. Relative Häufigkeitsdichte

Die relative Häufigkeitsdichte wird in Histogrammen dargestellt [29]. Dabei wird eine bestimmte Klassenbreite festgelegt. Es gilt [30]:

$$f(x) = \frac{h_i}{\Delta_i},$$

wobei $f(x)$ die relative Häufigkeitsdichte, h_i die relative Häufigkeit und Δ_i die Klassenbreite ist. Nun werden die Daten entsprechend ihrer Merkmalsausprägung in die zuvor festgelegten Klassen eingeteilt. Dabei stellt die Höhe des Balkens die relative Häufigkeit der Klasse dar.

2.7. Angewandte Statistik

2.7.1. Receiver-Operating-Characteristic (ROC)-Analyse und Grenzwertanalyse

Die ROC-Analyse dient dazu, einen Test hinsichtlich der Fähigkeit, zwischen zwei Status zu unterscheiden, zu bewerten [29]. Der Status liegt dabei als binäre Variable vor. Es werden die Sensitivität (y-Achse) und die Falsch-positiv-Rate (1-Spezifität) (x-Achse) in einem Koordinatensystem aufgetragen. Für verschiedene Schwellenwerte (CutOffs) eines stetig, kontinuierlich messbaren Merkmals (z. B. eines Laborparameters) erhält man dabei unterschiedliche Werte für Sensibilität und Spezifität. Die Güte der Messung, zwischen zwei Status zu unterscheiden, wird durch das Integral der ROC-Kurve, der area under

the curve (AUC) bestimmt. Bei exakt möglicher Diskrimination beträgt es 1 mit einer 100%-Sensitivität und -Spezifität [29]. Niedrige Schwellenwerte gehen mit einer hohen Sensitivität und einer niederen Spezifität einher, für hohe Schwellenwerte ergibt sich eine niedrigere Sensitivität und eine hohe Spezifität [31]. Ist durch den Test keine Diskrimination möglich, kann eine 100%-Sensitivität nur durch 0 %-Spezifität erlangt werden [29]. Die AUC beträgt dann 0.5.

Die in unserer Studie gemessene TTP war eine kontinuierliche Variable, das Resistenzverhalten des Erregers wurde binär ausgedrückt (0 = sensibel, 1 = resistent). Für jeden Keim wurde für jedes getestete Antibiotikum eine ROC-Analyse durchgeführt und die AUC bestimmt. Dabei sollte untersucht werden, in wie weit ein Zusammenhang zwischen TTP und Resistenzverhalten existiert und ob ein Schwellenwert für die TTP existiert, mit dem verschiedene Resistenzzustände auseinandergehalten werden können. Als statistisch signifikant wurden dabei Ergebnisse gewertet, bei denen galt:

Die AUC ist nicht 0.5 und 0.5 ist nicht im Konfidenzintervall (CI) enthalten.

Es wurde sowohl der positive Zusammenhang zwischen Resistenzverhalten und TTP als auch der negative Zusammenhang untersucht. Positiv meint, dass bei vorhandener Resistenz die TTP größer ist als bei nicht vorhandener und damit auch gilt, dass die AUC größer als 0.5 ist. Bei negativem Zusammenhang tritt der inverse Sachverhalt auf, d.h. die AUC ist kleiner als 0.5. Bei vorhandener Resistenz ist damit die TTP kürzer als bei nicht vorhandener.

Bedingung für nähere Betrachtung und Diskussion waren:

1. Insgesamt sollen mehr als 30 Keime der betroffenen Spezies isoliert worden sein.
2. Für TTP und TTPcor soll gelten: die AUC ist nicht 0.5 und 0.5 ist nicht Teil des CI.
3. Für einer der beiden (TTP oder TTPcor) soll gelten: die AUC ist größer als 0.75 oder kleiner als 0.25
4. Sowohl die gegen das getestete Antibiotikum sensiblen als auch resistenten Keime sollen eine Anzahl n größer 10 isolierte Keime aufweisen.

2.7.2. Ergebnisanalyse

Die Datenanalyse wurde mit dem Datenanalyse Programm Stata Version 12 (StataCorp LP, Texas, USA) durchgeführt. Für die in 3.4 und in 3.5.1 dargestellten Diagramme, sowie die Berechnung von Mittelwert, Median und Durchführung des Wilcoxon-Ranksum-Test wurde Matlab R2015a (MathWorks, Massachusetts, USA) verwendet. Der Wilcoxon-Ranksum-Test ist äquivalent zum U-Test nach Mann-Whitney [32, 33]. Die Stichproben können einen unterschiedlichen Umfang haben, müssen jedoch unabhängig voneinander sein [33]. Getestet wurde hierbei, mit welcher Wahrscheinlichkeit die beiden Stichproben - die resistent und sensibel gegen das jeweilige Antibiotikum getesteten Keime - den gleichen Median haben (dies entspricht der Nullhypothese) gegen die Alternativhypothese, dass die beiden Stichproben unterschiedliche Mediane haben [33].

3. Ergebnisse

3.1. Allgemeine Übersicht

Insgesamt lagen 6436 Isolate vor. In die Auswertung wurden ausschließlich Monoinfektionen und Erstisolate aufgenommen. Voraussetzung war außerdem das Vorhandensein einer Transportzeit, definiert als Zeit von Blutkulturentnahme bis zum Eintreffen am Mikrobiologischen Institut. Diese Bedingungen erfüllten insgesamt 5174 Isolate.

Es wurden ausschließlich gramnegative Keime betrachtet und diskutiert. Insgesamt wurden 1595 gramnegative Keime isoliert, für die die angesprochenen Bedingungen erfüllt waren. Dabei handelte es sich um folgende Vertreter:

- *Acinetobacter baumannii* (n = 19)
- *andere Acinetobacter spp.* (n = 22)
- *Burkholderia spp.* (n = 5)
- *Campylobacter spp.* (n = 4)
- *Citrobacter spp.* (n = 20)
- *Enterobacter spp.* (n = 90)
- *Escherichia coli* (n = 848)
- *Haemophilus influenzae* (n = 11)
- *Klebsiella pneumoniae* (n = 139)
- *andere Klebsiella spp.* (n = 55)
- *Morganella morganii* (n = 4)
- *Neisseria meningitidis* (n = 5)
- *Proteus mirabilis* (n = 35)
- *Proteus vulgaris* (n = 1)

- *andere Proteus spp.* (n = 1)
- *Pseudomonas aeruginosa* (n = 104)
- *andere Pseudomonas spp.* (n = 19)
- *Serratia marcescens* (n = 34)
- *andere Serratia spp.* (n = 1)
- *Stenothrophomonas maltophilia* (n = 14)

Als statistisch signifikant und damit potentiell aussagekräftig hinsichtlich Zusammenhang zwischen Resistenz und TTP wurde ein Ergebnis betrachtet, wenn die in 2.7.1 genannten Bedingungen erfüllt waren.

Für *Morganella morganii*, *Proteus vulgaris*, *andere Proteus spp.*, *Serratia marcescens*, *andere Serratia spp.*, *Burkholderia spp.*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* und *Campylobacter spp.* konnte kein Zusammenhang zwischen TTP und Resistenz gefunden werden.

3.2. Beobachteter Zusammenhang zwischen TTP und Transportzeit der Blutkulturflaschen

Bei Betrachtung der Ergebnisse der positiv gewordenen Blutkulturflaschen fielen deutliche Unterschiede in der Transportzeit auf. Die Transportzeit war zum Teil kleiner als 1 h, zum Teil jedoch größer als 10 h. Um einen möglichen Einfluss der Transportzeit auf die TTP festzustellen, wurde eine Regressionsanalyse durchgeführt. Dabei ergab sich folgendes:

- Für die TTPF ergab sich ein Regressionskoeffizient von -0.196 ($p < 0.0001$) und ein 95 % Konfidenzintervall (CI) von -0.28 bis -0.11 . Das bedeutet ein Absinken der TTP um 0.2 h pro Stunde Transportzeit.
- Für die TTPA ergab sich ein Regressionskoeffizient von -0.16 ($p < 0.0001$) und ein 95 % CI von -0.22 bis -0.1 .
- Für die TTPAN ergab sich ein Regressionskoeffizient von -0.187 ($p = 0.003$) und ein 95 % CI von -0.31 bis -0.06
- Für die TTPP ergab sich ein Regressionskoeffizient von 0.14 ($p = 0.448$) und ein 95 % CI von -0.22 bis 0.50 . Damit lag kein statistisch signifikantes Ergebnis des Regressionskoeffizienten vor.

Aufgrund dieser Beobachtung wurde die bereits definierte TTPcor eingeführt.

3.3. Darstellung der statistisch signifikanten Ergebnisse im ersten tabellarischen Überblick

Nach Einführung von TTPcor ist in Tabelle 1 ein Überblick über statistisch signifikante Ergebnisse dargestellt. Dabei wird sowohl die TTP als auch die TTPcor aufgeführt. Es gilt:

Die AUC ist größer als 0.75 oder kleiner als 0.25 und 0.5 ist nicht im CI enthalten.

Dabei werden die Ergebnisse aufgeführt, wenn entweder die TTP oder die TTPcor oder beide die genannte Bedingung erfüllen. Die TTP, die die Bedingung erfüllt, wird dick

gedruckt dargestellt.

Wenn gilt:

AUC größer als 0.5 und kleiner als 0.75 oder

AUC kleiner als 0.5 und größer als 0.25, wird das Ergebnis im Anhang in Tabelle 24-27 dargestellt.

Grund hierfür ist, dass bei zusätzlicher Betrachtung des Konfidenzintervalls die Diskrimination zwischen sensiblen und resistenten Erregern schwach ist. Um einen möglichen Zusammenhang zwischen TTP und Resistenz des Erregers feststellen zu können, wurden deshalb nur Ergebnisse mit einer besseren Fähigkeit der Diskrimination, d. h. für die in diesem Abschnitt bereits genannte Bedingung gilt, präsentiert.

Erreger	AB	Anz. sens.	Anz. res.	TTP	AUC	SE	CI
<i>A. baumannii</i>	Piperacillin	7	11	TTPA	0.18	0.11	[0.00, 0.41]
		7	11	TTPAcor	0.31	0.16	[0.00, 0.63]
		7	12	TTPPF	0.20	0.12	[0.00, 0.43]
		7	12	TTPFcor	0.33	0.16	[0.01, 0.65]
<i>Andere A. spp.</i>	Cotrim	19	2	TTPA	0.95	0.06	[0.82, 1.00]
		19	2	TTPAcor	0.76	0.20	[0.38, 1.00]
		20	2	TTPF	0.95	0.06	[0.83, 1.00]
		20	2	TTPFcor	0.78	0.19	[0.41, 1.00]
<i>Citrobacter spp.</i>	AmpSul	10	4	TTPAN	0.45	0.16	[0.13, 0.77]
		10	4	TTPANcor	0.18	0.15	[0.00, 0.48]
	Cefuroxim	12	8	TTPF	0.75	0.13	[0.50, 1.00]
		12	8	TTPFcor	0.78	0.13	[0.53, 1.00]
<i>Enterobacter spp.</i>	Cotrim	61	4	TTPAN	0.20	0.09	[0.03, 0.37]
		61	4	TTPANcor	0.43	0.16	[0.12, 0.74]
<i>Escherichia Coli</i>	Tigecyclin	26	2	TTPA	0.42	0.21	[0.02, 0.83]
		26	2	TTPAcor	0.19	0.10	[0.00, 0.39]
		22	2	TTPAN	0.45	0.24	[0.00, 0.93]
		22	2	TTPANcor	0.23	0.12	[0.00, 0.46]
		29	2	TTPF	0.45	0.25	[0.00, 0.94]
		29	2	TTPFcor	0.19	0.11	[0.00, 0.40]
	AmpSul.	3	12	TTPP	0.17	0.14	[0.00, 0.45]
	Cefotaxim	10	5	TTPP	0.86	0.11	[0.64, 1.00]
	Gentamicin	3	12	TTPP	0.07	0.07	[0.00, 0.20]
	Tobramycin	3	12	TTPP	0.07	0.07	[0.00, 0.20]
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Cotrim.	98	12	TTPA	0.20	0.05	[0.10, 0.30]
		98	12	TTPAcor	0.36	0.07	[0.22, 0.49]
<i>Andere Kleb. spp.</i>	Cefuroxim	46	9	TTPF	0.75	0.10	[0.56, 0.95]
		46	9	TTPFcor	0.63	0.11	[0.41, 0.85]
	Ciprofloxacin	46	2	TTPA	0.87	0.11	[0.65, 1.00]

		46	2	TTPAcor	0.95	0.06	[0.83,1.00]
		53	2	TTPF	0.85	0.10	[0.65, 1.00]
		53	2	TTPFcor	0.92	0.07	[0.77, 1.00]
	Levofloxacin	46	2	TTPA	0.87	0.11	[0.65, 1.00]
		46	2	TTPAcor	0.95	0.06	[0.83, 1.00]
		53	2	TTPF	0.84	0.10	[0.65, 1.00]
		53	2	TTPFcor	0.92	0.07	[0.77, 1.00]
<i>Pseud. aerugin.</i>	Cefepim	10	18	TTPP	0.24	0.10	[0.05, 0.44]
	Ciprofloxacin	9	19	TTPP	0.18	0.09	[0.01, 0.35]
	Fosfomycin	2	26	TTPF	0.77	0.13	[0.51, 1.00]
		2	26	TTPFcor	0.65	0.31	[0.04, 1.00]
	Levofloxacin	8	20	TTPP	0.13	0.07	[0.00, 0.26]
	Piperacillin	10	18	TTPP	0.24	0.10	[0.05, 0.44]
	PipTaz	11	17	TTPP	0.23	0.09	[0.05, 0.41]
	Tobramycin	8	20	TTPP	0.17	0.09	[0.00, 0.35]
<i>andere Pseud. spp.</i>	AmpSul	6	8	TTPA	0.27	0.16	[0.00, 0.58]
		6	8	TTPAcor	0.21	0.13	[0.00, 0.46]
		6	8	TTPF	0.27	0.16	[0.00, 0.58]
		6	8	TTPFcor	0.21	0.13	[0.00, 0.46]
	Cefuroxim	6	8	TTPA	0.27	0.16	[0.00, 0.58]
		6	8	TTPAcor	0.21	0.13	[0.00, 0.46]
		6	8	TTPF	0.27	0.16	[0.00, 0.58]
		6	8	TTPFcor	0.21	0.13	[0.00, 0.46]
	Gentamicin	12	6	TTPA	0.71	0.15	[0.42, 0.99]
		12	6	TTPAcor	0.79	0.11	[0.57, 1.00]
		12	6	TTPF	0.71	0.15	[0.42, 0.99]
		12	6	TTPFcor	0.79	0.11	[0.57, 1.00]
	Meropenem	12	7	TTPA	0.75	0.13	[0.50, 1.00]
		12	7	TTPAcor	0.82	0.10	[0.62, 1.00]
		12	7	TTPF	0.75	0.13	[0.50, 1.00]
		12	7	TTPFcor	0.82	0.10	[0.62, 1.00]
	Piperacillin	16	2	TTPA	0.19	0.11	[0.00, 0.40]
		16	2	TTPAcor	0.22	0.23	[0.00, 0.67]
		16	2	TTPF	0.19	0.11	[0.00, 0.40]
		16	2	TTPFcor	0.22	0.23	[0.00, 0.67]
	Tobramycin	12	6	TTPA	0.71	0.15	[0.42, 0.99]
	12	6	TTPAcor	0.79	0.11	[0.57, 1.00]	
	12	6	TTPF	0.71	0.15	[0.42, 0.99]	
	12	6	TTPFcor	0.79	0.11	[0.57, 1.00]	
<i>Steno. Malto.</i>	Levofloxacin	12	2	TTPA	0.31	0.21	[0.00, 0.73]
		12	2	TTPAcor	0.79	0.12	[0.55, 1.00]
		12	2	TTPF	0.31	0.21	[0.00, 0.73]
		12	2	TTPFcor	0.79	0.12	[0.55, 1.00]

AB: Antibiotikum, **Anz. sens.:** Anzahl sensibel getesteter Erreger, **Anz. res.:** Anzahl resistent getesteter Erreger, **TTP:** Time to Positivity, **TTPA:** Time to Positivity aerobe Blutkulturflasche, **TTPAN:** Time to Positivity anaerobe Blutkulturflasche, **TTPF:** am schnellsten positiv gewordene Blutkulturflasche, **TTPP:** Time to Positivity Pilzblutkulturflasche, **TTPAcor:** korrigierte Time to Positivity aerobe Blutkulturflasche, **TTPANcor:** korrigierte Time to Positivity anaerobe Blutkulturflasche, **TTPFcor:** korrigierte Time to Positivity der am schnellsten positiv gewordenen Blutkulturflasche, **AUC:** area under the curve, **SE:** Standardfehler, **CI:** Konfidenzintervall, **A. baumannii:** *Acinetobacter baumannii*, **Andere A. spp.:** *Anderer Acinetobacter species*, **Cotrim.:** Cotrimoxazol, **AmpSul:** Ampicillin-Sulbactam, **andere Kleb. spp.:** *andere Klebsiella species*, **Pseud. aerugin:** *Pseudomonas aeruginosa*, **andere Pseud. spp.:** *andere Pseudomonas species*, **PipTaz.:** Piperacillin-Tazobactam, **Steno. Malto.:** *Stenothrophomonas Maltophilia*

Tabelle 1: Ergebnisübersicht gramnegative Erreger

Trotz insgesamt großer Grundgesamtheit an isolierten Erregern, war die Anzahl an Erregern mit Ergebnissen, für die die eingangs erwähnten Bedingungen gelten, klein. Insgesamt lag bei den meisten Erregern und Antibiotika nur eine geringe Stichprobenanzahl vor. Nur bei *Klebsiella pneumoniae* unter Testung von Cotrimoxazol und bei *Pseudomonas aeruginosa* unter Testung von Cefepim, Piperacillin und Piperacillin/Tazobactam lag sowohl die Anzahl der als empfindlich als auch die der als resistent getesteten Erreger bei n größer als 10.

Bei den dargestellten Ergebnissen fiel außerdem auf, dass meist nur einer der beiden Parameter (TTP oder TTPcor) einen Zusammenhang zum Resistenzverhalten des Erregers aufwies. Nur bei *Klebsiella pneumoniae* (Cotrimoxazol, TTPA) und andere *Klebsiella spp.* (Ciprofloxacin und Levofloxacin, TTPA und TTPF) lag sowohl bei der TTP als auch bei der TTPcor ein Zusammenhang zwischen TTP und Resistenzverhalten vor. Meist differierte auch die Anzahl an Erregern, die resistent gegen ein Antibiotikum getestet wurden und die Anzahl derer, die sensibel getestet wurden, stark.

Bei *Klebsiella pneumoniae* wurden 98 gegen Cotrimoxazol empfindliche und 12 resistente Keime isoliert.

Bei andere *Klebsiella spp.* und Ciprofloxacin/Levofloxacin wurden 46 sensible und 2 resistente Keime isoliert.

Bedingungen für nähere Betrachtung und Diskussion, wie bereits in 2.7.1 dargestellt, waren:

1. Insgesamt sollen mehr als 30 Keime isoliert worden sein.

2. Für TTP und TTPcor soll gelten: die AUC ist nicht 0.5 und 0.5 nicht Element des CI.
3. Für einer der beiden (TTP oder TTPcor) soll gelten: die AUC ist größer als 0.75 oder kleiner als 0.25
4. Sowohl die gegen das getestete Antibiotikum sensiblen als auch resistenten Keimen sollen eine Anzahl n größer als 10 aufweisen.

Diese Bedingung erfüllte nur *Klebsiella pneumoniae* unter Testung von Cotrimoxazol. Aufgrund der bereits vorhandene Datenlage (vgl. [17]) soll auch *Acinetobacter baumannii* näher dargestellt werden.

3.4. *Klebsiella pneumoniae* und Cotrimoxazol

Im Folgenden wurde nun der Vergleich der TTP der als resistent und sensibel gegen Cotrimoxazol getesteten *Klebsiella pneumoniae* anhand von Histogrammen dargestellt.

Für die Darstellung aller Histogramme gilt: Dargestellt wird auf der x-Achse die TTP in Stunden, auf der y-Achse die relative Häufigkeitsdichte. Die blauen Balken stellen die resistent getesteten und die roten die sensibel getesteten Keime dar. In der oberen Abbildung sind nur die resistenten, in der mittleren nur die sensiblen und in der unteren Abbildung beide im Vergleich dargestellt.

3.4.1. Darstellung der TTPA von *Klebsiella pneumoniae* unter Cotrimoxazol

Die Ergebnisse der ROC-Analyse in Tabelle 1 mit einer AUC = 0.2 und einem CI [0.10, 0.30] zeigen eine Möglichkeit der Diskrimination zwischen resistenten und sensiblen Erregern. In Abbildung 1 fällt auf, dass der Peak der TTPA der resistenten Keime weiter links auf der x-Achse als der der sensiblen Keime zu liegen kommt. Dies lässt eine im Vergleich zur TTPA der sensiblen Keime kürzere TTPA der resistenten Keime vermuten. Damit verbunden, liegt die Vermutung einer schnelleren Vermehrung gegen Cotrimoxazol resistenter Keime nahe und ein damit erkennbarer Unterschied der Mittelwerte und Mediane der TTPA von sensiblen und resistenten Keimen. Bei der TTPA der sensiblen Keime liegt eine breitere Streuung als bei der TTPA der resistenten Keime vor. Es sind

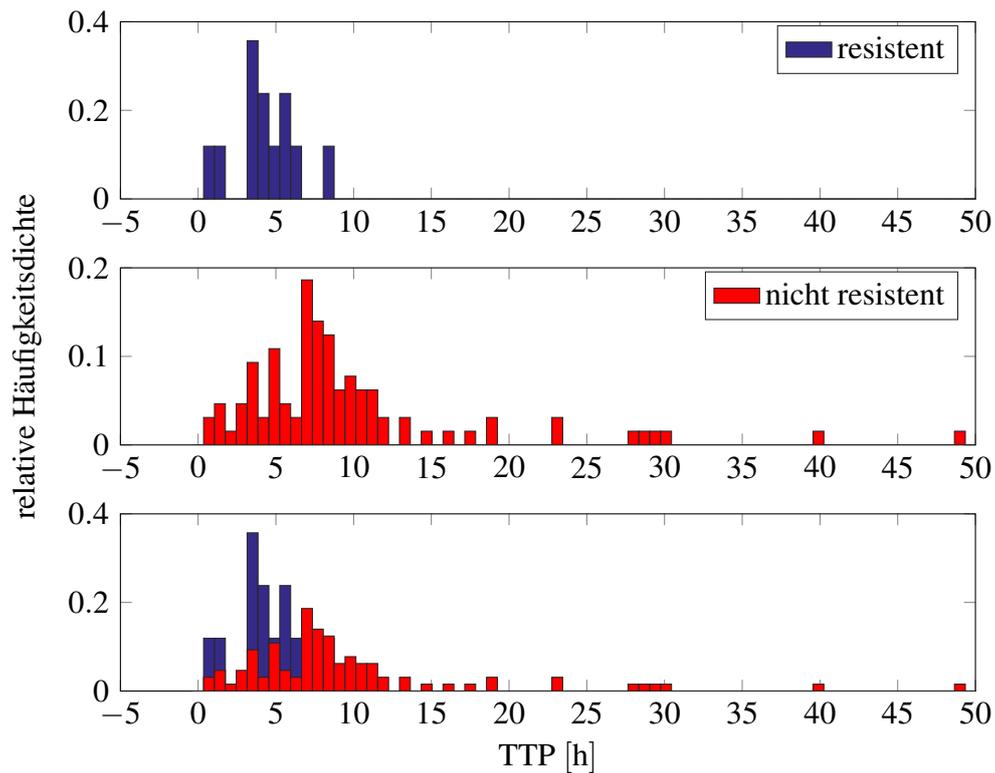


Abbildung 1: Vergleich der TTPA von resistenten und sensiblen *Klebsiella pneumoniae* spp. unter Cotrimoxazol

Spezies	AB	TTP	M ± SD (h) (res.)	Mdn (h) (res.)	M ± SD (h) (sens.) (h)	Mdn (h) (sens.)	p-Wert
<i>Kleb. pneu.</i>	Cotrim	TTPA	4.72 h ± 2.04 h	4.75h	14.48 h ± 21.52 h	8.10h	$p = 7.63 \cdot 10^{-4}$

Kleb. pneu.: *Klebsiella pneumoniae*, **AB**: Antibiotikum, **Cotrim**: Cotrimoxazol, **M**: Mittelwert, **SD**: Standardabweichung, **res.**: resistent, **Mdn**: Median, **h**: hour, **sens.**: sensibel

Tabelle 2: Mittelwerte und Mediane der TTPA für *Klebsiella pneumoniae* unter Cotrimoxazol

TTPA-Werte von bis zu 50 h erkennbar.

In Tabelle 2 wird ersichtlich, dass sowohl der Mittelwert der TTPA als auch der Median der TTPA der resistenten Keime kleiner sind als der der sensiblen Keime. Der dargestellte p-Wert wurde durch den Wilcoxon- Rangsummentest ermittelt. Der p-Wert ($p = 0.0008$) erhärtet die Vermutung einer unterschiedlichen Verteilung der Mediane der TTPA von sensibel und resistent getesteten Erregern.

In Tabelle 3 wird eine Übersicht über CutOffs, Sensitivität und Spezifität für die TTPA gegeben. Wie bereits in 2.7.1 beschrieben, kann eine hohe Sensitivität nur zu Lasten einer geringeren Spezifität und umgekehrt erreicht werden. Die Spezifität ist über alle CutOffs

CutOff (h)	Sensitivität (%)	Spezifität (%)
≥ 1.8	91.67%	3.06%
≥ 2.2	83.33%	5.10%
≥ 3.3	83.33%	7.14%
≥ 3.7	75.00%	13.27%
≥ 4	66.67%	14.29 %
≥ 5	41.67%	17.35%
≥ 5.7	33.33%	24.49%
≥ 6	25.00 %	25.51%
≥ 6.9	16.67%	29.59%
≥ 7	8.33%	29.59%
≥ 8.6	0.00%	54.08 %

Tabelle 3: Übersicht CutOff, Sensitivität und Spezifität für die TTPA von *Klebsiella pneumoniae* und Cotrimoxazol

hinweg gering. Bei einem CutOff von 3.7 h erreicht man eine Sensitivität von 75%, jedoch lediglich eine Spezifität von 13%.

3.4.2. Darstellung der TTPAcor von *Klebsiella pneumoniae* unter Cotrimoxazol

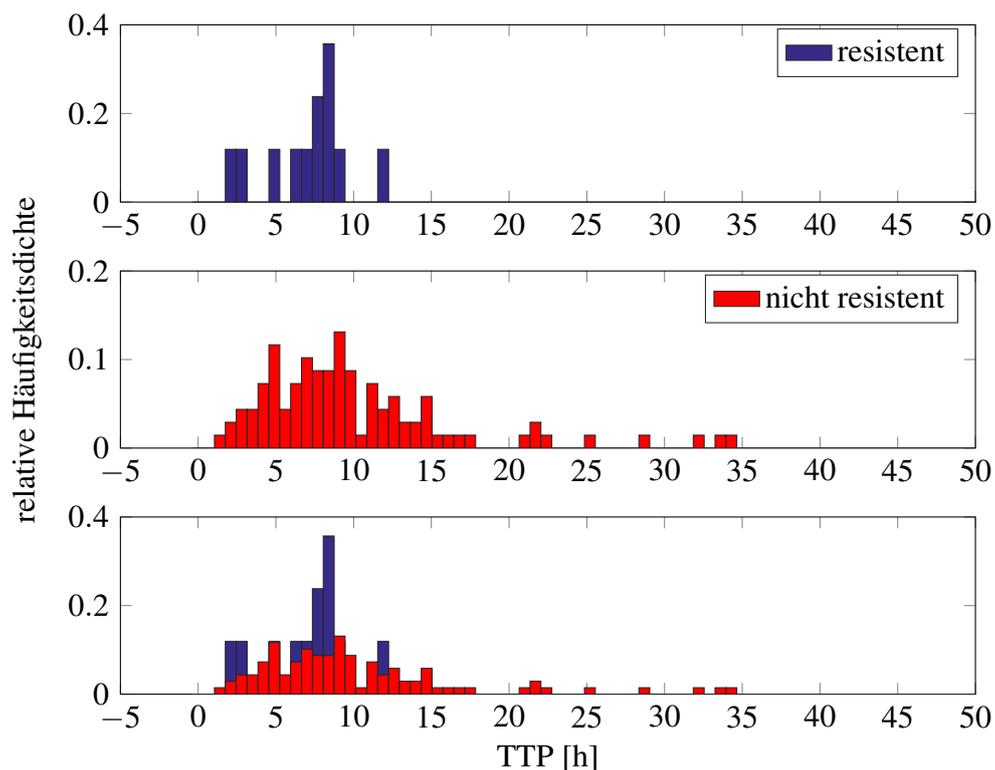


Abbildung 2: Vergleich der TTPAcor von resistenten und sensiblen *Klebsiella pneumoniae* unter Testung von Cotrimoxazol

In Abbildung 2 erkennt man einen Peak der TTPAcor der resistenten Keime bei TTPAcor größer als 10 h. Für sensible Keime lässt sich kein sicherer Peak der TTPAcor finden.

Spezies	AB	TTP	M ± SD (h) (res.)	Mdn (h) (res.)	M ± SD (h) (sens.) (h)	Mdn (h) (sens.)	p-Wert
<i>Kleb. pneu.</i>	Cotrim	TTPAcor	7.40 h ± 2.75 h	8.26h	10.50 h ± 6.58 h	9.12h	p = 0.11

Kleb. pneu.: *Klebsiella pneumoniae*, **AB**: Antibiotikum, **Cotrim**: Cotrimoxazol **M**: Mittelwert, **SD**: Standardabweichung, **res.**: resistent, **Mdn**: Median, **h**: hour, **sens.**: sensibel

Tabelle 4: Mittelwerte und Mediane der TTPAcor für *Klebsiella pneumoniae* unter Cotrimoxazol

CutOff(h)	Sensitivät (%)	Spezifität(%)
≥ 2.9	91.67%	3.06%
≥ 5.3	83.33%	19.39%
≥6.6	75.00%	28.57%
≥7.4	66.67%	32.65%
≥8.2	58.33%	42.86%
≥8.4	41.67%	43.88%
≥8.6	25.00%	44.90%
≥9.4	16.67%	52.04%
≥12.6	8.33%	74.49%

Tabelle 5: Übersicht CutOff, Sensitivät und Spezifität für die TTPAcor von *Klebsiella pneumoniae* und Cotrimoxazol

Im Vergleich zwischen TTPAcor TTPA weist auch hier die TTPA der sensiblen Keime eine breitere Streuung auf. Der Maximalwert der TTPAcor liegt bei ungefähr 35 h und ist kleiner als der der TTPA.

Bei Betrachtung und Vergleich der Mediane und Mittelwerte der TTPAcor von sensibel und resistent getesteten Keimen fällt auf, dass diese sich kaum unterscheiden. Der p-Wert nach Durchführung des Wilcoxon-Ranksum-Test liegt bei p=0.11. Die in Tabelle 1 dargestellte ROC-Analyse zeigt bei der TTPAcor eine AUC = 0.36 und ein CI [0.22, 0.49]. Die Konfidenzintervalle der AUC der ROC-Analyse von TTPA und TTPAcor überschneiden sich, das Konfidenzintervall der AUC der TTPAcor ist etwas breiter. In Tabelle 5 fällt auf, dass die CutOff-Werte der TTPAcor größer sind als die der TTPA. Bei 6.6 h liegt die Sensitivät bei 75%. Die Spezifität liegt hier bei 28.5% und ist damit etwas besser als die der TTPA bei vergleichbarer Sensitivität. Aufgrund der unterschiedlichen CutOff-Werte kann hier jedoch kein direkter Vergleich vorgenommen werden.

3.5. *Acinetobacter baumannii* und Piperacillin

3.5.1. *Acinetobacter baumannii* und Piperacillin unter Betrachtung der TTPA

In Abbildung 3 ist der Vergleich der TTPA resistent und sensibel auf Piperacillin getesteter *Acinetobacter baumannii* dargestellt. Weder für die sensibel noch für die resistent getesteten Erreger ist ein einzelner Peak in der relativen Häufigkeitsdichte erkennbar.

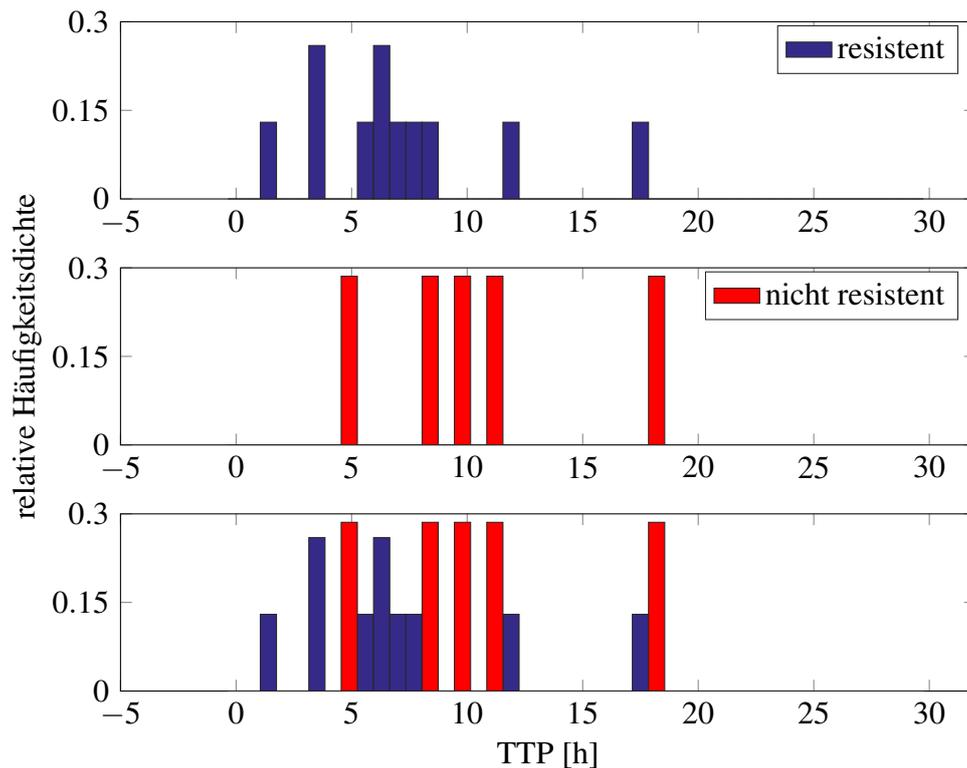


Abbildung 3: Vergleich der TTPA von resistent und sensibel getesteten *Acinetobacter baumannii* unter Piperacillin

Spezies	AB	TTP	M ± SD (h) (res.)	Mdn (h) (res.)	M ± SD (h) (sens.) (h)	Mdn (h) (sens.)	p-Wert
<i>Aci.Bau.</i>	Pip	TTPA	7.45 h ± 4.39 h	6.90h	21.44 h ± 21.55 h	11.20h	0.03

Aci.Bau.: *Acinetobacter baumannii*, **AB**: Antibiotikum, **Pip**: Piperacillin **M**: Mittelwert, **SD**: Standardabweichung, **res**: resistent, **Mdn**: Median, **h**: hour, **sens**: sensibel

Tabelle 6: Mittelwerte und Mediane der TTPA für *Acinetobacter baumannii* unter Piperacillin

Erkennbar ist, dass die TTPA der sensiblen Erreger eine breitere Streuung aufweist und die relative Häufigkeitsdichte immer gleich groß ist. Bei der TTPA der resistenten Keime sieht man bei einer TTPA zwischen 3.15 h und 3.85 h und einer zwischen 5.95 h und 6.65 h zwei Peaks.

Die in Tabelle 6 aufgeführten Werte für Mittelwert und Median der TTPA von sensibel und resistenten Erregern liegen deutlich auseinander. Der p-Wert von 0.03 macht unterschiedliche Mediane und eine damit verbundene unterschiedliche Verteilung der TTPA von resistenten und sensiblen Erregern wahrscheinlich.

In Tabelle 7, bei Darstellung der CutOffs, Sensitivität und Spezifität, wird ebenso wie bei Untersuchung von *Klebsiella pneumoniae* deutlich, dass bei guter Sensitivität die Spezi-

CutOff (h)	Sensitivität (%)	Spezifität (%)
≥ 3.5	90.91%	0.00%
≥ 3.7	81.82%	0.00%
≥ 6	72.73%	14.29%
≥ 6.5	63.64%	14.29%
≥ 7	45.45%	14.29%
≥ 8	36.36%	14.29%
≥ 12.1	18.18%	57.14%

Tabelle 7: Übersicht CutOff, Sensitivität und Spezifität für die TTPA von *Acinetobacter baumannii* und Piperacillin

fität gering ausfällt. Bei einem CutOff von 6 h liegt eine Sensitivität von knapp 73 % und eine Spezifität von 14,3 % vor. Somit werden nur wenige als auf Piperacillin sensible *Acinetobacter baumannii* erkannt und viele als falsch-positiv und damit resistent gegenüber Piperacillin gewertet.

3.5.2. *Acinetobacter baumannii* und Piperacillin unter Betrachtung der TTPAcor

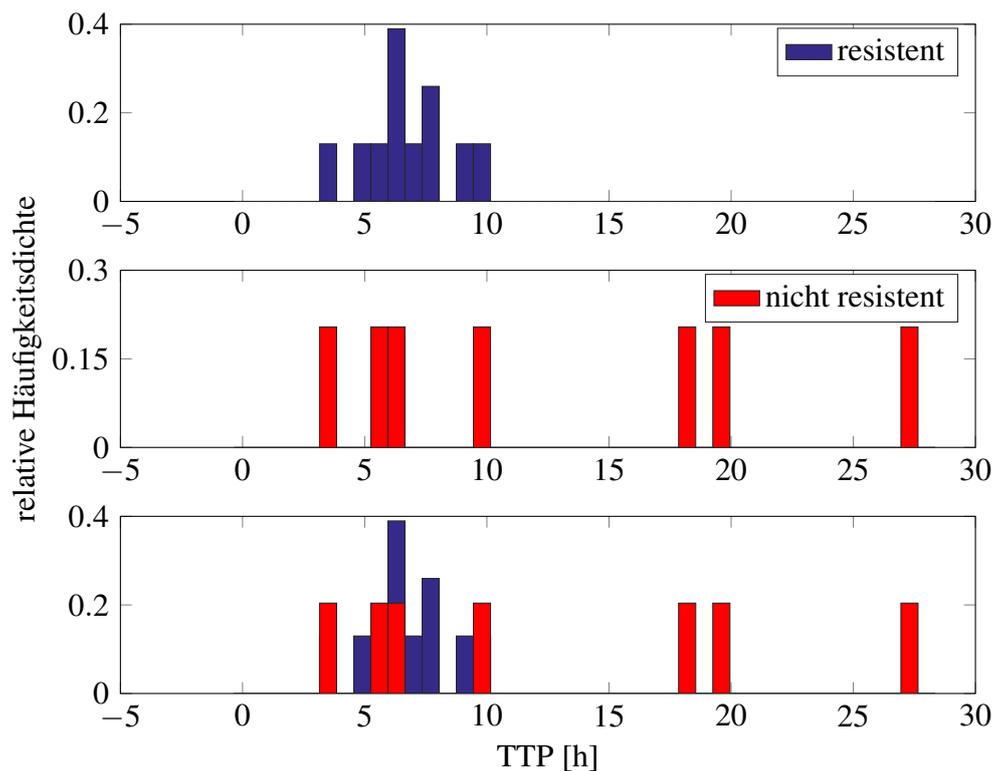


Abbildung 4: Vergleich der TTPAcor von resistenten und empfindlichen *Acinetobacter baumannii* unter Piperacillin

In Abbildung 4 ist, ähnlich wie in Abbildung 3, erkennbar, dass die durchschnittliche TTPAcor der sensiblen Keime breiter gestreut ist als die der resistenten Keime. Die TT-

Spezies	AB	TTP	M ± SD (h) (res.)	Mdn (h) (res.)	M ± SD (h) (sens.) (h)	Mdn (h) (sens.)	p-Wert
<i>Aci.Bau.</i>	Pip	TTPAcor	7.04 h ± 1.81 h	6.78h	13.40 h ± 8.85 h..	10.44h	0.21

Aci.Bau.: *Acinetobacter baumannii*, **AB**: Antibiotikum, **Pip**: Piperacillin **M**: Mittelwert, **SD**: Standardabweichung, **res**: resistent, **Mdn**: Median, **h**: hour, **sens**: sensibel

Tabelle 8: Mittelwerte und Mediane der TTPAcor für *Acinetobacter baumannii* unter Piperacillin

CutOff(h)	Sensitivität (%)	Spezifität (%)
≥ 4.2	100.00%	14.29%
≥ 6.3	72.73%	28.57%
≥ 7.2	45.45%	42.86%
≥ 9.9	9.09%	42.86%

Tabelle 9: Übersicht CutOff, Sensitivität und Spezifität für die TTPAcor von *Acinetobacter baumannii* und Piperacillin

PACor liegt zwischen 0 h und 30 h. Die relative Häufigkeitsdichte ist immer gleich groß. Für die TTPAcor der resistent getesteten Keime erkennt man einen Peak, der zwischen 5.95 h und 6.65 h liegt. Hier ist die relative Häufigkeitsdichte am größten.

Mittelwert und Median der TTPAcor von resistenten und sensiblen Erregern liegen deutlich auseinander. Der p-Wert liegt jedoch bei 0.21. Auch die in Tabelle 1 dargestellte ROC-Analyse zeigt für die TTPAcor keinen Zusammenhang zum Resistenzverhalten. Die AUC der ROC-Analyse für die TTPA liegt bei 0.18, das CI bei [0, 0.43], für die TTPAcor liegt die AUC bei 0.31, das CI bei [0, 0.63]. In Tabelle 9 sind einige CutOff-Werte mit Sensitivität und Spezifität dargestellt. Bei einem CutOff von ca. 6 h ist die Sensitivität für TTPA und TTPAcor vergleichbar bei knapp 73 %. Die Spezifität ist bei der TTPAcor mit 28.6 % im Vergleich zu 14.3 % höher.

3.5.3. *Acinetobacter baumannii* und Piperacillin unter Betrachtung der TTPF

In Abbildung 5 ist weder bei der TTPF der resistenten noch der der sensiblen Erreger ein Peak in der relativen Häufigkeitsdichte zu erkennen. Auffällig ist auch hier die konstant große relative Häufigkeitsdichte der TTPF der sensiblen Erreger über alle Klassen. Die Verteilung der TTPF ist für sensible Erreger breiter gestreut als für resistente und reicht bis zu einer TTPF von 67 h. Die TTPF der resistenten Erreger liegt zwischen 0 h und 20 h. Bei Betrachtung der Mittelwerte und Mediane der TTPF der resistenten und sensiblen Erreger in Tabelle 10 ist ein Unterschied erkennbar. Der p-Wert liegt bei 0.04. In Tabelle 11 sind die CutOff-Werte der TTPF mit zugehöriger Sensitivität und Spezifität dargestellt. Wie auch bei der TTPA und der TTPAcor von *Acinetobacter baumannii* erhält man für niedrige

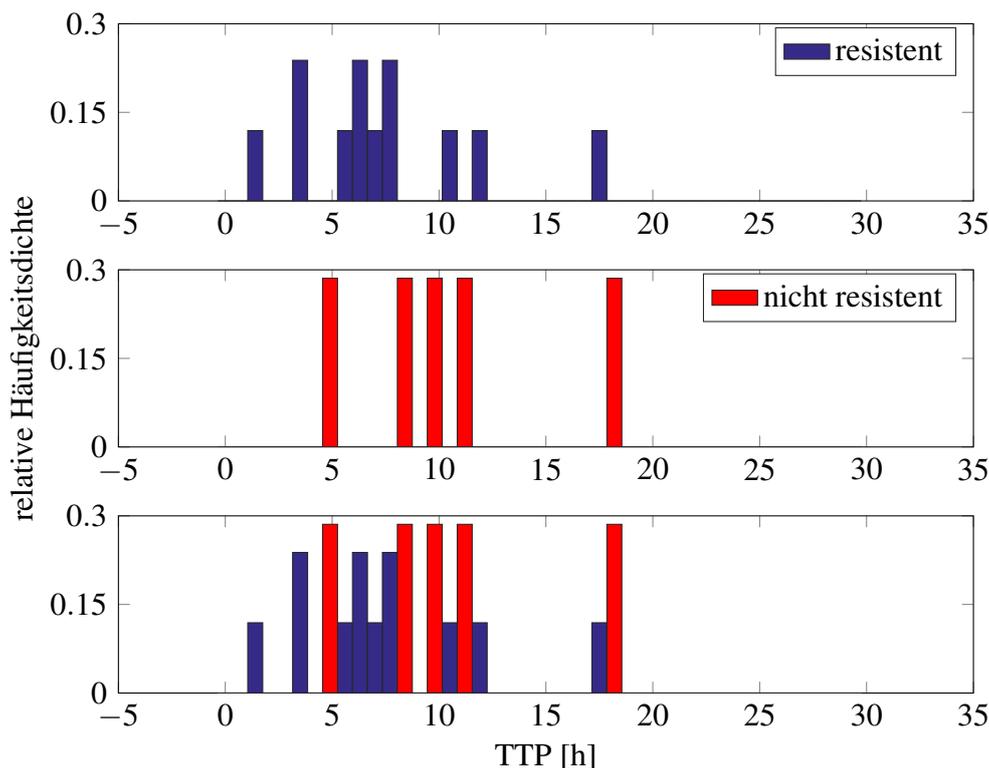


Abbildung 5: Vergleich der TTPF von resistenten und empfindlichen *Acinetobacter baumannii* unter Piperacillin

Spezies	AB	TTPF	M \pm SD (h) (res.)	Mdn (h) (res.)	M \pm SD (h) (sens.) (h)	Mdn (h) (sens.)	p-Wert
<i>Aci.Bau.</i>	Pip	TTPF	7.69 h \pm 4.29 h	6.95h	21.44 h \pm 21.55 h	11.20h	0.04

Aci.Bau.: *Acinetobacter baumannii*, **AB**: Antibiotikum, **Pip**: Piperacillin **M**: Mittelwert, **SD**: Standardabweichung, **res**: resistent, **Mdn**: Median, **h**: hour, **sens**: sensibel

Tabelle 10: Mittelwerte und Mediane der TTPF für *Acinetobacter baumannii* und Piperacillin

CutOff-Werte eine hohe Sensitivität bei niedriger Spezifität.

3.5.4. *Acinetobacter baumannii* und Piperacillin unter Betrachtung der TTPFcor

In Abbildung 6 ist weder für resistente noch für sensible Keime ein Peak der TTPFcor erkennbar. Es ist eine breitere Streuung der TTPFcor für sensible als für resistente Erreger sichtbar. Wie in Tabelle 12 erkennbar, sind Median und Mittelwert der TTPFcor für resistente Erreger kürzer als für sensible Erreger. Der ermittelte p-Wert liegt bei 0.26. Die in Tabelle 1 dargestellte ROC-Analyse zeigt für die TTPF einen Zusammenhang zur Resistenz auf, nicht jedoch für die TTPFcor. Die AUC liegt für die TTPF bei 0.33, das CI bei [0.00; 0.43], für die TTPFcor liegt die AUC bei 0.33, das CI bei

CutOff (h)	Sensitivität (%)	Spezifität (%)
≥ 2	100.00	0.00
≥ 3.5	91.67	0.00
≥ 6	75.00	14.29
≥ 8	41.67	14.29
≥ 10.2	25.00	28.57
≥ 12.1	16.67	57.14

Tabelle 11: Übersicht CutOff, Sensitivität und Spezifität für die TTPF von *Acinetobacter baumannii* und Piperacillin

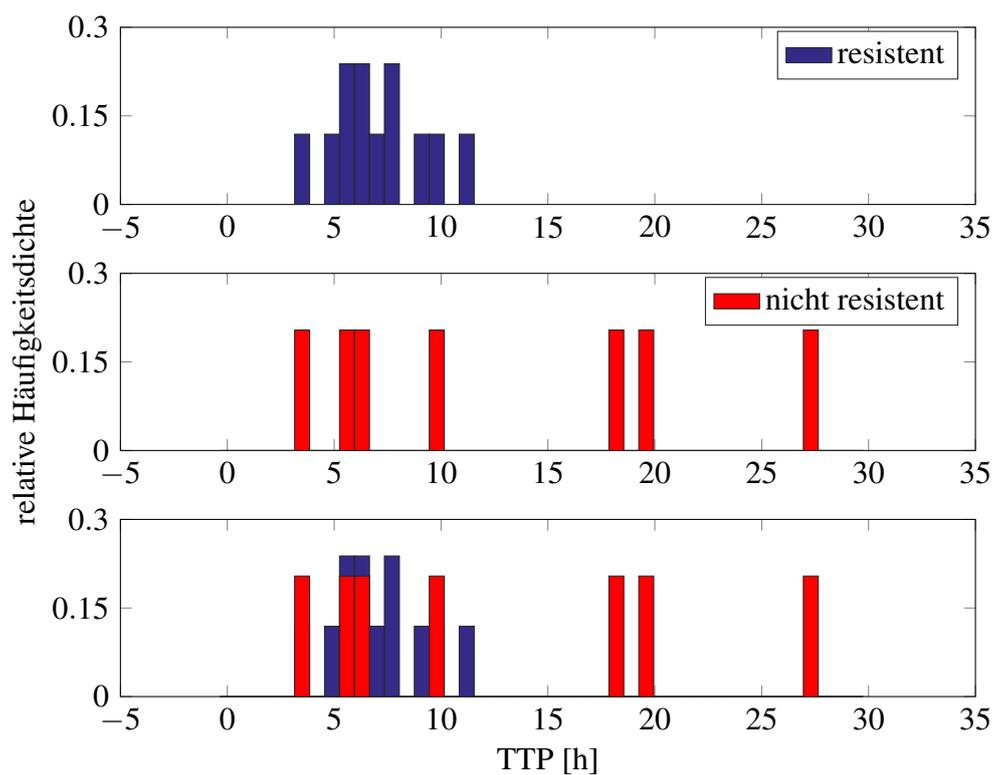


Abbildung 6: Vergleich der TTPF_{cor} von resistenten und sensiblen *Acinetobacter baumannii* unter Piperacillin

Spezies	AB	TTP	M \pm SD (h) (res.)	Mdn (h) (res.)	M \pm SD (h) (sens.) (h)	Mdn (h) (sens.)	p p-Wert
<i>Aci.Bau.</i>	Pip	TTPFcor	7.38 h \pm 2.11 h	7.01h	13.40 h \pm 8.85 h	10.44h	0.26

Aci.Bau.: *Acinetobacter baumannii*, **AB**: Antibiotikum, **Pip**: Piperacillin, **M**: Mittelwert, **SD**: Standardabweichung, **res**: resistent, **Mdn**: Median, **h**: hour, **sens**: sensibel

Tabelle 12: Mittelwerte und Mediane der TTPFcor für *Acinetobacter baumannii* unter Piperacillin

CutOff	Sensitivität (%)	Spezifität (%)
≥ 4.2	100.00	14.29
≥ 5.9	83.33	14.29
≥ 6.2	75.00	28.57
≥ 7.2	50.00	42.86
≥ 11.22	8.33	57.14

Tabelle 13: Übersicht CutOff, Sensitivität und Spezifität für die TTPFcor von *Acinetobacter baumannii* und Piperacillin

[0.00; 0.65]. Die in Tabelle 13 dargestellten CutOff-Werte der TTPFcor zeigen bei einem CutOff von ca. 6 h eine Sensitivität von 75 %, die gleich groß ist wie die Sensitivität für die TTPF bei gleichem CutOff. Die Spezifität ist für die TTPFcor mit 28.6 % besser als für die TTPF.

4. Diskussion

4.1. Allgemeine Beobachtungen

Die Betrachtung der Ergebnisse der ROC-Analyse zeigt Erreger, für die ein Zusammenhang zwischen TTP und Resistenzverhalten des Erregers beobachtet werden kann. Die Diskriminationsfähigkeit der ROC-Analyse ist jedoch nicht gut. Ein Grund für fehlende statistisch signifikante Ergebnisse kann die Transportzeit sein. In 3.2 wird beschrieben, dass ein Absinken der TTP um 0.2 h pro Stunde Transportzeit vorliegt. Leider konnten 205 (11.4 %) der Isolate aufgrund fehlender Transportzeit nicht in die Auswertung einbezogen werden.

Unbekannt ist auch eine eventuell erfolgte Präinkubation. Bei einem solchen Vorgehen ist schon eine Reduktion der TTP beobachtet worden [34], [35].

Chapin et al. beschreiben eine Reduktion der TTP bei verzögertem Transport der Blutkulturen, sowohl für die bei 35°C präinkubierten als auch für Blutkulturen, die bei Raumtemperatur gelagert werden [36]. In 2.2 ist nach Verweis auf [21] eine niedrigere Transporttemperatur als Störfaktor benannt. Über die Sensitivität und Spezifität der TTP im Zusammenhang mit unterschiedlichen Transportzeiten wurde keine Aussage gemacht. In unserer Studie existiert sicherlich eine Unsicherheit hinsichtlich der genauen Erfassung der Transportzeit. Aufgrund der beobachteten Veränderung der TTP durch längere Transportzeiten sind jedoch die durch die TTPcor erhaltenen Ergebnisse ausschlaggebender.

4.2. Diskussion der Ergebnisse für *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae gehört zu den fünf häufigsten Erreger der bakteriellen Sepsis und der nosokomialen Pneumonie. [5]. In Südeuropa sind multiresistente *Klebsiella pneumoniae* Spezies mit Vorkommen von ESBL-Bildnern und Carbapenemasen endemisch. [37] In Abbildung 7 wird die Zunahme von ESBL-Infektionen in Deutschland im Zeitraum 2007-2012 bezogen auf *Escherichia coli* und *Klebsiella pneumoniae* dargestellt. Für einzelne Bundesländer, wie beispielsweise Mecklenburg-Vorpommern, kann ein Rückgang von ESBL-Infektionen im genannten Zeitraum beobachtet werden. Über ganz Deutschland hinweg betrachtet lässt sich jedoch eine Zunahme beobachten.

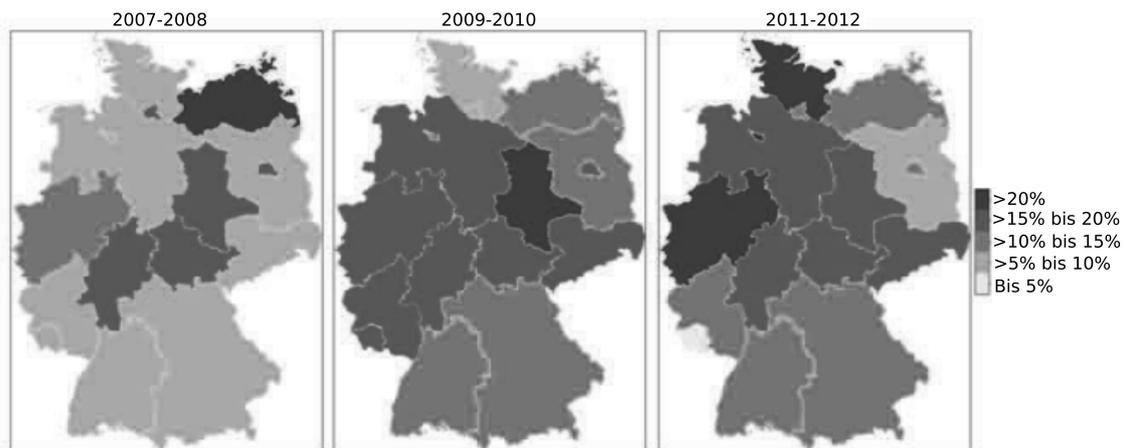


Abbildung 7: ESBL-Infektionen in Deutschland. Nach [38]

Die in Tabelle 1 dargestellte ROC-Analyse von TTPA und TTPAcor unter Cotrimoxazol für *Klebsiella pneumoniae* zeigt einen Zusammenhang von TTPA/TTPAcor und Resistenz auf.

Bei einem CutOff der TTPA von 4 h, wie in Tabelle 3 ersichtlich, beträgt die Sensitivität 66.67% und die Spezifität 14.29%. Bei einem CutOff von 5 h, beträgt die Sensitivität 41.67% und die Spezifität 17.35% und bei einem von 6 h beträgt die Sensitivität 25.00 % und die Spezifität 25.51% .

Unter Berücksichtigung der TTPAcor ergibt sich: Bei einem CutOff von 4 h, wie in Tabelle 5 ersichtlich, beträgt die Sensitivität 83.33% und die Spezifität 8.16%. Bei einem CutOff von 5 h ergibt sich eine Sensitivität von 83.33% und eine Spezifität von 16.33% und bei einem von 6 h ergibt sich eine Sensitivität von 75% und eine Spezifität von 24.49%.

4.2.1. Diskussion der diagnostischen Verwendbarkeit des Ergebnisses für *Klebsiella pneumoniae*

Ziel der Studie war es, zu untersuchen, ob anhand der TTP eine Diskrimination von sensiblen und resistenten Erregern möglich ist und ob diese Möglichkeit der Diskrimination diagnostisch verwertbar ist. Bislang wurde in keiner Studie untersucht, ob anhand der TTP eine Aussage einer möglicherweise vorhandenen Resistenz von *Klebsiella pneumoniae* gegen Cotrimoxazol möglich ist.

Bei Cotrimoxazol handelt es sich um eine Kombination aus Trimethoprim und Sulfa-

methoxazol [39]. Es erfolgt eine Hemmung der Folsäuresynthese an zwei unterschiedlichen Stellen. Angewandt wird es bei akuten und chronischen Harnwegsinfektionen, chronischen Bronchitiden, Sinusitiden und zur Prophylaxe von *Pneumocystis jirovecii*-Pneumonien.

Erkennbar an den Ergebnissen für *Klebsiella pneumoniae* ist, dass bei niedrigem CutOff (3 h oder 4 h) eine gute Sensitivität der Daten, jedoch eine sehr niedrige Spezifität vorhanden ist. Dies führt dazu, dass viele resistente als resistent erkannt werden. Umgekehrt werden jedoch viele sensible Stämme fälschlicherweise als resistent interpretiert.

Die klinische Relevanz des Tests ist gering: Cotrimoxazol wird zur Behandlung von akuten und chronischen Harnwegsinfektionen eingesetzt. Bei Sepsis oder Infektionen der Blutstrombahn erfolgt eine initiale Therapie jedoch mit Cephalosporinen der 3. Generation, Carbapenemen oder Piperacillin/Tazobactam [39]. Festgestellt wurde jedoch, dass bei Vorliegen einer Resistenz gegen Cotrimoxazol 10 der 12 isolierten Keime als MDR nach ECDC/CDC eingestuft wurden. Sie wiesen zusätzlich Resistenzen gegen Ampicillin, Ampicillin/Sulbactam (80 %), Piperacillin (80 %), Piperacillin/Tazobactam (50 %), Cefotaxim (40%), sowie gegen Gentamicin (40 %), Tobramycin (60 %), Ciprofloxacin (70 %) und Levofloxacin (60 %) auf. Eine Resistenz gegen Cotrimoxazol scheint in dieser Studie mit einer Multiresistenz einherzugehen. Insgesamt lag die Rate an gegen Cotrimoxazol resistenten *Klebsiella pneumoniae* (Zeitraum: 2005-2012) bei 10.9 %.

2014 waren laut RKI [40] 13% der Blutkulturisolate von *Klebsiella pneumoniae* resistent gegen Cotrimoxazol für die Region Südwest⁸, 2012 und 2013 lag die Resistenz bei 15,8 %. Die niedrigste Resistenzlage war für Meropenem und Imipinem mit 0.2 % bzw. 0.3 % vorhanden, die höchste für Piperacillin mit 99.4 %. Gegen Cefotaxim waren 14.8% resistent, gegen Ciprofloxacin und Levofloxacin 15,4 % und 17.6 %. Deutschlandweit lagen vergleichbare hohe Resistenzraten vor, für Cotrimoxazol lag sie bei 13.8 % [40], für Meropenem und Imipinem bei 0.8% bzw. 0.7%, für Cefotaxim bei 13.5 % und für Ciprofloxacin und Levofloxacin bei 13.6 % und 17.6 %. Laut ARS lag die Rate an 3MRGN und 4MRGN 2014 bei 10.2% und 0.8% (Vergleich 2008: 7.8 % und 0.3 %). Die Resistenz gegen Cotrimoxazol wurde hier nicht mituntersucht. Es kann deshalb in dieser Studie keine Aussage gemacht werden, ob eine Resistenz gegen Cotrimoxazol mit einer

⁸Die Region Südwest umfasst: Baden-Württemberg, Hessen, Rheinland-Pfalz und das Saarland.

Multiresistenz einhergeht.

Europaweit wurden flächendeckend nur Resistenzen gegen Ceftriaxon, Ciprofloxacin und Gentamicin erfasst [41]. Eine im Zeitraum von Januar 2012 bis Juli 2015 in Frankreich durchgeführte Studie über *Klebsiella pneumoniae* zeigt Resistenzen von 31.5 % für Co-trimoxazol [42]. Dabei wurden jedoch nicht ausschließlich Blutkulturen verwendet.

4.3. Diskussion der Ergebnisse für *Acinetobacter baumannii*

Bei *Acinetobacter baumannii* handelt es sich um ein gramnegatives Bakterium, das ubiquitär in der Umwelt vorkommt [39]. Multiresistente *Acinetobacter baumannii* spp. zählen zu den am schwierigsten zu behandelnden Infektionen [43]. Gründe hierfür sind neben seiner ausgeprägten Umweltresistenz (Überleben in sehr trockener Umgebung ist möglich) häufig hervorgerufene Ausbrüche und multifaktorielle Ursachen der Infektion, die sowohl exogen als auch endogen sein können [44]. Die ROC-Analyse zeigt für TTPA und TTPF unter Testung von Piperacillin die Fähigkeit der Diskrimination zwischen sensiblen und resistenten *Acinetobacter baumannii*. Unter Berücksichtigung der Transportzeit - bei Betrachtung der TTPAcor und TTPFcor - ist dieser Zusammenhang nicht erkennbar. Wie bereits in 1.5 beschrieben, wurde bereits 2011 an einem Krankenhaus in Tawain untersucht, ob ein Zusammenhang zwischen TTP und Resistenz von *Acinetobacter baumannii* besteht [17]. In der dort durchgeführten Studie wurden MDR *Acinetobacter baumannii* mit empfindlichen *Acinetobacter baumannii* verglichen und es wurde ein Unterschied der TTP für MDR und sensible *Acinetobacter baumannii* beobachtet.

In unserer Studie wurden die Keime, die resistent gegen Piperacillin waren, mit denen die sensibel gegen Piperacillin waren, verglichen. Insgesamt lag eine Resistenzrate von 61.1 % (TTPA) bzw. 63.2 % (TTPF) gegen Piperacillin vor.

4.3.1. Diskussion der diagnostischen Verwertbarkeit des Ergebnisses für *Acinetobacter baumannii*

Die in Tabelle 1 dargestellten Ergebnisse der ROC-Analyse für *Acinetobacter baumannii* und Piperacillin weisen für die TTPA und TTPF einen Zusammenhang bezüglich des Resistenzverhaltens auf, jedoch nicht unter Berücksichtigung der Transportzeit für TTPAcor

und TTPFcor. Zur Festlegung eines 3- oder 4MRGNs, wie in 1.1.1 des RKI beschrieben, gehört Piperacillin als Leitsubstanz für die Acylureidopeniciline. Für die Festlegung eines MDR *Acinetobacter baumannii*, wie in 1.1 nach EUCAST und im Anhang in Tabelle 23 sichtbar, gehört Piperacillin als Substanz nicht dazu. Trotzdem ist eine gewisse diagnostische Verwendbarkeit durch die Einteilung nach MRGN durch das RKI gegeben. In wie weit die Verwendung möglich ist, muss aufgrund des durch Berücksichtigung der Transportzeit nicht darzustellenden Zusammenhangs zwischen TTP und Resistenzverhalten hinterfragt werden.

Deutschlandweit lag die Resistenzrate von *Acinetobacter baumannii* gegen Piperacillin 2015 bei 50.0 % und damit deutlich niedriger als in unserer Studie [45]. 2012 lag die Resistenzrate bei in Blutkulturen isolierten *Acinetobacter baumannii* gegen Piperacillin bei 67.2% [45]. Die Rate an 3MRGN lag 2008 bei 28.6 %, 2011 bei 14.1 %, für 4MRGN 2008 bei 5.9 % und 2011 bei 10.7 %. Für die Jahre 2012-2014 konnten zum aktuellen Zeitpunkt keine Daten zur Verfügung gestellt werden. Dabei muss jedoch berücksichtigt werden, dass in den bezüglich Multiresistenz präsentierten Daten nicht ausschließlich Blutkulturen als Grundlage der Auswertung dienten. Gegen Piperacillin lag die Resistenzrate bei einer in Indien durchgeführten Studie für *Acinetobacter baumannii* bei 55 % [46]. In einer in Italien durchgeführten Studie von 2007 bis 2010 liegen die Raten an MDR *Acinetobacter baumannii* bei 54 % [47].

Limitiert wird die Verwendbarkeit des Ergebnisses durch folgende Aspekte:

1. Bei *Acinetobacter baumannii* handelt es nicht um eine einzelne Spezies, sondern um eine Gruppe, die neben *Acinetobacter baumannii* auch *Acinetobacter Genomspecies 3* und *Acinetobacter Genomspecies 13TU* enthält, die sich hinsichtlich Resistenzverhalten und klinischer Manifestation unterscheiden [48]. Es wurde nicht hinsichtlich der einzelnen Spezies unterschieden und es ist unbekannt, inwieweit es Unterschiede im Wachstumsverhalten gibt.
2. Wie auch von Cheng et. al bemerkt, wissen wir nicht, ob möglicherweise vorhandene Unterschiede im Wachstum der unterschiedlichen Spezies von *Acinetobacter baumannii* auch mit Unterschieden in der TTP einhergehen [17].

Um eine klinische Nutzbarkeit des Zusammenhangs TTP und Resistenz für *Acineto-*

bacter baumannii sinnvoll gewinnen zu können, müssen weitere, standardisierte Tests (Transportzeit kurz, gleiches Inokulum, sofortige Weiterverarbeitung) durchgeführt werden.

4.4. Diskussion alternativer diagnostischer Möglichkeiten zur schnellen Erkennung von Resistenzen in Blutkulturen

Es existieren andere Möglichkeiten der schnelleren Resistenztestung. Am National Center for Global Health and Medicine (NCGHM) wurde von Dezember 2012 bis Juni 2013 eine Studie mit einem Schnelltest für gramnegative Keime (BC-GN assay) von neun Genen, die mit Betalaktamresistenz assoziiert sind, durchgeführt [49]. Die Durchführung des Schnelltestes dauert etwa 2 h. Dabei wurden alle *Acinetobacter baumannii*, sowie alle Resistenzgene entdeckt. *Klebsiella pneumoniae* wurde in 86 % durch den Schnelltest detektiert. Auch polymikrobielle Infektionen konnten untersucht werden.

Ein weiterer Ansatz zur schnellen Detektion von Resistenzen bietet eine Studie, die die Veränderung der Zelllänge von *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* und *Pseudomonas aeruginosa* unter Testung der Resistenz gegenüber Ceftazidim untersuchte [50]. Dabei wird aus von Nährböden gewachsenen Kulturen zunächst eine Inkubation in einer Müller-Hinton-Suspension für 90 min und anschließend mit definierten Mengen an Ceftazidim für 60 min durchgeführt. Bei Auftragen auf eine Platte und Betrachten unter dem Fluoreszenzmikroskop können Aussagen bezüglich der Zelllänge gemacht werden. Ab einem Wachstum um den Faktor 1.5 spricht man von einer Elongation, die nur bei sensiblen und nicht bei resistenten Keimen stattfindet. Die Stärke der Veränderung der Zelllänge weist eine Korrelation zur MHK auf, so findet bei durch Standardverfahren als intermediär eingestuften Keimen eine Veränderung der Zelllänge bei höheren Ceftazidimkonzentrationen statt. Durch diese Methode erhält man nach wenigen Stunden ein Ergebnis über das Resistenzverhalten. Im Gegensatz zur Testung durch PCR muss kein bestimmtes Resistenzgen bekannt sein, um die Zelllängenveränderung beobachten zu können. Die Testung erfolgte bislang lediglich für Ceftazidim. Für die Routinediagnostik ist es wahrscheinlich zu aufwendig.

Eine weitere Möglichkeit bietet das Verarbeiten einer positiven Blutkultur direkt über das Vitek 2 und die Durchführung eines Agardiffusionstestes ohne das Anlegen einer Subkultur [51]. Bei grampositiven Kokken lag die Detektionsrate bei 61.3 %. 97.5 % der gramnegativen Stäbe wurden entdeckt, der Fehler der Resistenztestung lag bei 2.1%. Bei Verdacht auf eine Infektion mit gramnegativen Erregern bietet auch diese Möglichkeit gute Ergebnisse.

5. Zusammenfassung

Ziel dieser am Universitätsklinikum Tübingen retrospektiv durchgeführten Studie war die Überprüfung, ob die TTP als diagnostische Größe die Möglichkeit der Vorhersage von Resistenzen bietet. Betrachtet wurden gramnegative Keime. Untersucht worden ist, ob es zwischen resistenten und empfindlich gegen ein Antibiotikum getesteten Keimen Unterschiede bezüglich der TTP gibt und ob diese im klinischen Alltag genutzt werden können. Festgestellt wurde dabei folgendes:

1. Die ROC-Analyse der TTPA und der TTPAcor für *Klebsiella pneumoniae* unter Testung von Cotrimoxazol besitzt die Fähigkeit der Diskriminierung zwischen resistenten und sensiblen Erregern. Die Bedeutung für den klinischen Alltag ist jedoch gering, da Cotrimoxazol nicht bei Blutstrominfektionen eingesetzt wird und andere Materialien nicht untersucht wurden. Das hier lokal beobachtete Phänomen, eine Resistenz gegen Cotrimoxazol gehe gehäuft mit als MDR klassifizierten *Klebsiella pneumoniae* einher, kann aufgrund fehlender Daten nicht auf überregionale Ebene übertragen werden.
2. Bei *Acinetobacter baumannii* unter Testung von Piperacillin liegt für die TTPA und die TTPF unter Betrachtung der ROC- Analyse ein Zusammenhang zur Resistenz gegen Piperacillin vor. Dies kann jedoch unter Berücksichtigung der Transportzeit für TTPAcor und TTPFcor nicht reproduziert werden. Für die TTPA und TTPF erhält man Ergebnisse, die vergleichbar zu bereits 2011 festgestellten Ergebnissen sind (siehe [17]). Auch dort wurden für resistente *Acinetobacter baumannii* kleinere Werte der TTP für Median und Mittelwert als für sensible Keime beobachtet.
3. Neben dem Versuch, über die TTP schneller Aussagen bezüglich Resistenzverhalten eines Erregers machen zu können im Vergleich zu Standardmethoden existieren weitere, in 4.4 beschriebene Versuche und Möglichkeiten, in kürzerer Zeit Kenntnis über die vorhandene Resistenzlage zu gewinnen.

Der für die beiden Spezies *Acinetobacter baumannii* und *Klebsiella pneumoniae* beobachtete Zusammenhang zwischen TTP und Resistenz ist klinisch nicht nutzbar. Eine erneute Untersuchung unter strengeren Auflagen zur tatsächlichen Transportzeit, Dokumen-

tation derselbigen und Menge des inokulierten Blutes müsste durchgeführt werden, um genauere Aussage treffen zu können. In Anbetracht der in 4.4 vorgestellten schnelleren Möglichkeiten zur Identifizierung und Detektion resistenter Keime ist dies nur eingeschränkt zu empfehlen.

Literaturverzeichnis

1. Morrill, H. J., Caffrey, A. R., Jump, R. L., Dosa, D. & LaPlante, K. L. Antimicrobial Stewardship in Long-Term Care Facilities: A Call to Action. *Journal of the American Medical Directors Association* **17**, 183–e1 (2016).
2. Fitchett, J. R. & Atun, R. Antimicrobial resistance: opportunity for Europe to establish global leadership. *The Lancet Infectious Diseases* **16**, 388–389 (2016).
3. Magiorakos, A.-P. *et al.* Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical microbiology and infection* **18**, 268–281 (2012).
4. Viale, P., Giannella, M., Tedeschi, S. & Lewis, R. Treatment of MDR-Gram negative infections in the 21st century: a never ending threat for clinicians. *Current opinion in pharmacology* **24**, 30–37 (2015).
5. Koch-Institut, R. Hygienemaßnahmen bei Infektionen oder Besiedlung mit multi-resistenten gramnegativen Stäbchen - Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut (RKI). *Bundesgesundheitsblatt- Gesundheitsforschung-Gesundheitsschutz* **55**, 1311–1354 (2012).
6. Paterson, D. L. & Bonomo, R. A. Extended-Spectrum β -Lactamases: a Clinical Update. *Clinical microbiology reviews* **18**, 657–686 (2005).
7. Anderson, D. J. *et al.* Predictors of mortality in patients with bloodstream infection due to ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial agents and chemotherapy* **50**, 1715–1720 (2006).
8. Roberts, R. R. *et al.* Hospital and societal costs of antimicrobial-resistant infections in a Chicago teaching hospital: implications for antibiotic stewardship. *Clinical infectious diseases* **49**, 1175–1184 (2009).
9. Ng, E. *et al.* The Excess Financial Burden of Multidrug Resistance in Severe Gram-negative Infections in Singaporean Hospitals. *Ann Acad Med Singapore* **41**, 189–93 (2012).
10. Poon, L. M. *et al.* Risk factors for adverse outcomes and multidrug-resistant Gram-negative bacteraemia in haematology patients with febrile neutropenia in a Singaporean university hospital. *Singapore medical journal* **53**, 720–725 (2012).
11. Wang, L., Wang, Y., Fan, X., Tang, W. & Hu, J. Prevalence of Resistant Gram-Negative Bacilli in Bloodstream Infection in Febrile Neutropenia Patients Undergoing Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Single Center Retrospective Cohort Study. *Medicine* **94**, e1931 (2015).
12. Ibrahim, E. H., Sherman, G., Ward, S., Fraser, V. J. & Kollef, M. H. The influence of inadequate antimicrobial treatment of bloodstream infections on patient outcomes in the icu setting. *Chest Journal* **118**, 146–155 (2000).
13. Kang, C.-I. *et al.* Bloodstream infections caused by antibiotic-resistant gram-negative bacilli: risk factors for mortality and impact of inappropriate initial antimicrobial therapy on outcome. *Antimicrobial agents and chemotherapy* **49**, 760–766 (2005).

14. Seifert, H. *et al.* *Mikrobiologisch-infektiologische Qualitätsstandards (MiQ) Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik 3a 2007* 2007.
15. Pardini, G. Technical Improvements in Culturing Blood. *Sepsis: Diagnostic Methods and Protocols*, 35–46 (2015).
16. Palmer, H. R., Palavecino, E. L., Johnson, J. W., Ohl, C. A. & Williamson, J. C. Clinical and microbiological implications of time-to-positivity of blood cultures in patients with Gram-negative bacilli bacteremia. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* **32**, 955–959. ISSN: 1435-4373 (2013).
17. Lai, C.-C. *et al.* Time to blood culture positivity as a predictor of drug resistance in *Acinetobacter baumannii* complex bacteremia. *Journal of Infection* **63**, 96–98 (2011).
18. 03/2014. <www.medizin.uni-tuebingen.de/Patienten/Kliniken>.
19. 03/2014. <www.bgu-tuebingen.de/unsere-klinik.html>.
20. 03/2014. <www.zollernalb-klinikum.de/wir-ueber-uns/geschaeftsfuehrung/>.
21. Marschal, D. m. M. & Autenrieth, P. D. m. I. B. *Nachweis von Erregern in Blutkulturmedien* (Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene Elfriede-Aulhorn-Straße 6, 72076 Tübingen, 2014).
22. Marschal, D. m. M. & Autenrieth, P. D. m. I. B. *AG-MI-106-MALDI-Gerätebeschreibung des Instituts für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene des Universitätsklinikums Tübingen* (2010).
23. Caprioli, R. M., Farmer, T. B. & Gile, J. Molecular imaging of biological samples: localization of peptides and proteins using MALDI-TOF MS. *Analytical chemistry* **69**, 4751–4760 (1997).
24. Marschal, D. m. M. & Autenrieth, P. D. m. I. B. *AG-MI-109/C, SOP Vitek 2* (2011).
25. 01/2016. <http://www.biology-online.org/dictionary/McFarland%5C_5Test>.
26. Marschal, D. m. M. & Autenrieth, P. D. m. I. B. *AM-MI-138/G, SOP, Empfindlichkeitsprüfung schnellwachsender Bakterien mittels Agardiffusion* (2011).
27. 03/2014. <www.eucast.org/antimicrobial%5C_5susceptibility%5C_5testing>.
28. 06/2016. <<http://www.biomerieux.de/klinische-diagnostik/etest>>.
29. Kirkwood, B. R. & Sterne, J. A. C. *Essential Medical Statistics Second Edition* 429–446 (blackwell publishing, 2003).
30. 06/2016. <http://www.fernuni-hagen.de/ksw/neuestatistik/content/glossar/h/glossaryentry%5C_328.html>.
31. Weiß, C. *Basiswissen Medizinische Statistik* 287–302 (Springer Medizin - Springer Verlag Berlin Heidelberg, 2013).
32. Hartung, J., Elpelt, B. & Klösener, K.-H. *Statistik: Lehr-und Handbuch der angewandten Statistik* 505–544 (Walter de Gruyter, 2009).

33. 08/2015. <<http://de.mathworks.com/help/stats/ranksum.html?refresh=true>>.
34. De, S. K., Shetty, N. & Kelsey, M. How to use... blood cultures. *Archives of disease in childhood - Education & practice edition*, edpract-2013 (2013).
35. Kerremans, J., Van Der Bij, A., Goessens, W., Verbrugh, H. & Vos, M. Immediate incubation of blood cultures outside routine laboratory hours of operation accelerates antibiotic switching. *Journal of clinical microbiology* **47**, 3520–3523 (2009).
36. Chapin K, L. T. Comparison of Bactec 9240 and Difco ESP blood culture systems for detection of organisms from vials whose entry was delayed. *Journal of Clinical Microbiology* **34**, 543–549 (1996).
37. Girometti, N. *et al.* Klebsiella pneumoniae Bloodstream Infection: Epidemiology and Impact of Inappropriate Empirical Therapy. *Medicine* **93**, 298–309 (2014).
38. (FF), B. (P. D. M. M. *et al.* *Unterrichtung durch die Bundesregierung Bericht der Bundesregierung ueber nosokomiale Infektionen und Erreger mit speziellen Resistenzen und Multiresistenzen* 2014.
39. Hahn, H. & Stefan H.E. Kaufmann Thomas F. Schulz, S. S. *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie* 237–268, 275–285, 719–722, 740–741, 780–786, 848–851 (Springer-Verlag, 2009).
40. (RKI), R. K.-I. 06/2016. <<https://ars.rki.de>>.
41. *Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2013* Techn. Ber. (European Centre for Disease Prevention und Control (ECDC), 2013). <www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2013.pdf>.
42. Abat, C., Raoult, D. & Rolain, J.-M. Decreasing level of resistance in invasive Klebsiella pneumoniae strains isolated in Marseille, January 2012-July 2015. *Springer-Plus* **5**, 1–6 (2016).
43. Eliopoulos, G. M., Maragakis, L. L. & Perl, T. M. Acinetobacter baumannii: Epidemiology, Antimicrobial Resistance, and Treatment Options. **46**, 1254–1263 (2008).
44. Fournier, P. E., Richet, H. & Weinstein, R. A. The Epidemiology and Control of Acinetobacter baumannii in Health Care Facilities. *Clinical infectious diseases* **42**, 692–699 (2006).
45. (RKI), R. K.-I. 03/2017. <<https://ars.rki.de>>.
46. Gupta, N., Gandham, N., Jadhav, S. & Mishra, R. N. Isolation and identification of Acinetobacter species with special reference to antibiotic resistance. *Journal of natural science, biology, and medicine* **6**, 159 (2015).
47. De Francesco, M., Ravizzola, G., Peroni, L., Bonfanti, C. & Manca, N. Prevalence of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii and Pseudomonas aeruginosa in an Italian hospital. *Journal of infection and public health* **6**, 179–185 (2013).
48. Zhang, H.-Z., Zhang, J.-S. & Qiao, L. The Acinetobacter baumannii group: a systemic review. *World journal of emergency medicine* **4**, 169–174. ISSN: 1920-8642 (2013).

49. Tojo, M. *et al.* Evaluation of an automated rapid diagnostic assay for detection of Gram-negative bacteria and their drug-resistance genes in positive blood cultures. *PLoS One* **9**, e94064 (2014).
50. Otero, F. *et al.* Rapid Detection of Antibiotic Resistance in Gram-Negative Bacteria Through Assessment of Changes in Cellular Morphology. *Microbial Drug Resistance*. doi:10.1089/mdr.2016.0023 (2016).
51. Kong, H. *et al.* Rapid identification and antimicrobial susceptibility testing directly from blood cultures of gram-negative and gram-positive isolates. *Clinical laboratory* **59**, 1305–1310. ISSN: 1433-6510 (2013).

A. Anhang

Antibiotikakategorie	antimikrobielle Substanz	Species mit intrinsicher Resistenz
Aminoglykoside	Gentamicin Tobramycin Amikacin Netilmicin	<i>Providencia rettgeri</i> , <i>Providencia stuartii</i> <i>Providencia rettgeri</i> , <i>Providencia stuartii</i> <i>Providencia rettgeri</i> , <i>Providencia stuartii</i>
Anti-MRSA Cephalosporin	Ceftarolin*	
Antipseudomonas Penicillin und Betalaktamaseinhibitor	Ticarcillin-Clavulansäure Piperacillin-Tazobactam	<i>Escherichia hermanii</i> <i>Escherichia hermanii</i>
Carbapeneme	Ertapenem Imipenem Meropenem Doripenem	
Cephalosporine 1. und 2. Generation	Cefazolin Cefuroxim	<i>Citrobacter freundii</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Hafnia alvei</i> , <i>Morganella morganii</i> , <i>Proteus penneri</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Providencia rettgeri</i> , <i>Providencia stuartii</i> , <i>Serratia marcescens</i> <i>Morganella morganii</i> , <i>Proteus penneri</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Serratia marcescens</i>
Cephalosporine 3. und 4. Generation	Cefotaxim/Cetriaxon Ceftazidim Cefepim	
Cephamyacin	Cefoxitin Cefotecan	<i>Citrobacter freundii</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Hafnia alvei</i> <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Hafnia alvei</i>
Fluorchinolone	Ciprofloxacin	
Folatsäureinhibitoren	Trimethoprim- Sulfamethoxazol	
Glycylcycline	Tigecyclin	
Monobactam	Aztreonam	
Penicilline	Ampicillin	<i>Citrobacter koseri</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Escherichia hermanii</i> , <i>Hafnia alvei</i> , <i>Klebsiella</i> spp., <i>Morganella morganii</i> , <i>Proteus penneri</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Providencia rettgeri</i> , <i>Providencia stuartii</i> , <i>Serratia marcescens</i>

*nur für *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* und *Klebsiella oxytoca* zugelassen

Tabelle 14: Enterobacteriaceae: Antibiotikakategorien und antimikrobielle Substanzen zur Festlegung von MDR, XDR und PDR

Antibiotikakategorie	antimikrobielle Substanz	Species mit intrinsicher Resistenz
Penicillin und Betalaktamaseinhibitor	Amoxicillin-Clavulansäure	<i>Citrobacter freundii</i> , <i>Citrobacter koseri</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Hafnia alvei</i> , <i>Morganella morganii</i> , <i>Providencia rettgeri</i> , <i>Providencia stuartii</i> , <i>Serratia marcescens</i>
	Ampicillin-Sulbactam	<i>Citrobacter freundii</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Hafnia alvei</i> , <i>Morganella morganii</i> , <i>Providencia rettgeri</i> , <i>Serratia marcescens</i>
Fenicole	Chloramphenicol	
Phosphonsäurederivate	Fosfomycin	
Polymyxin	Colistin	<i>Morganella morganii</i> , <i>Proteus penneri</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Providencia rettgeri</i> , <i>Providencia stuartii</i> , <i>Serratia marcescens</i>
Tetrazykline	Tetrazyklin	<i>Morganella morganii</i> , <i>Proteus penneri</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Providencia rettgeri</i> , <i>Providencia stuartii</i>
	Doxycyclin	<i>Morganella morganii</i> , <i>Proteus penneri</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Providencia rettgeri</i> , <i>Providencia stuartii</i>
	Minocyclin	<i>Morganella morganii</i> , <i>Proteus penneri</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Providencia rettgeri</i> , <i>Providencia stuartii</i>

Tabelle 15: Fortsetzung Enterobacteriaceae: Antibiotikakategorien und antimikrobielle Substanzen zur Festlegung von MDR, XDR und PDR

Antibiotikakategorie	antimikrobielle Substanz
Aminoglykoside	Gentamicin Amikacin Tobramycin Netilmicin
Pseudomonaden wirksame Carbapeneme	Imipinem Meropenem Doripenem
Pseudomonaden wirksame Cephalosporine	Cefazidim Cefepim
Pseudomonaden wirksame Fluorchinolone	Ciprofloxacin Levofloxacin
Pseudomonaden wirksame Penicilline und Betalaktamaseinhibitoren	Ticarcillin-Clavulansäure Piperacillin-Tazobactam
Monobactame	Aztreonam
Phosphonsäurederivate	Fosfomycin
Polymyxin	Colistin Polymyxin B

Tabelle 16: *Pseudomonas aeruginosa*: Antibiotikakategorien und antimikrobielle Substanzen zur Festlegung von MDR, XDR und PDR

Antibiotikakategorie	antimikrobielle Substanz
Aminoglykoside	Gentamicin Amikacin Tobramycin Netilmicin
Pseudomonaden wirksame Carbapeneme	Imipinem Meropenem Doripenem
Pseudomonaden wirksame Fluorchinolone	Ciprofloxacin Levofloxacin
Pseudomonaden wirksame Penicilline und Betalaktamaseinhibitoren	Ticarcillin-Clavulansäure Piperacillin-Tazobactam
Cephalosporine mit erweitertem Wirkspektrum	Cefotaxim Ceftriaxon Ceftazidim Cefepim
Folsäuresyntheseinhibitoren	Trimethoprim-Sulfamethoxazol
Penicilline und Betalkatamaseinhibitoren	Ampicillin-Sulbactam
Polymyxin	Colistin Polymyxin B
Tetrazykline	Tetrazyklin Doxycyclin Minocyclin

Tabelle 17: *Acinetobacter baumannii*: Antibiotikakategorien und antimikrobielle Substanzen zur Festlegung von MDR, XDR und PDR

Spezies	AB	Anz.	TA	AUC	ST. E	CI	TAcor	AUC	ST. E	CI	Anz.	TAN	AUC	ST. E	CI	TANcor	AUC	ST. E	CI
<i>Aci Bau</i>	Cefo	18	x	0.44	0.38	[0.00, 1.00]	x	0.06	0.08	[0.00, 0.21]									
	Pip	18	x	0.18	0.11	[0.00, 0.41]	x	0.31	0.16	[0.00, 0.63]									
and. <i>Aci spp.</i>	Cefo	19	x	0.21	0.11	[0.00, 0.42]	x	0.31	0.12	[0.06, 0.55]									
	Cotrim	21	x	0.95	0.06	[0.82, 1.00]	x	0.76	0.20	[0.38, 1.00]									
<i>Citro spp.</i>	AmpSul										14	x	0.45	0.16	[0.13, 0.77]	x	0.18	0.15	[0.00, 0.48]
	Cefu Pip	12	x	0.80	0.14	[0.53, 1.00]	x	0.63	0.18	[0.28, 0.98]									
<i>Entero. spp.</i>	Amp.										54	x	0.21	0.07	[0.08, 0.34]	x	0.16	0.10	[0.00, 0.35]
	Cotrim. Genta Tob										65	x	0.20	0.09	[0.03, 0.37]	x	0.43	0.16	[0.12, 0.74]

AB = Antibiotikum; Anz. = Anzahl; AUC = area under the curve; ST. E = Standardfehler; CI = Konfidenzintervall; TA = Time to Positivity aerobe Blutkulturflasche, TAcor = Time to positivity aerobe Blutkulturflasche unter Berücksichtigung der Transportzeit; TAN = Time to Positivity anaerobe Blutkulturflasche, TANcor = Time to Positivity anaerobe Blutkulturflasche unter Berücksichtigung der Transportzeit; Spp. = Spezies; Amp = Ampicillin; AmpSul = Ampicillin-Sulbactam; Cefa = Cefazolin; Cefe = Cefepim; Cipro = Ciprofloxacin; Clinda = Clindamycin; Col = Colistin; Cotrim = Cotrimoxazol; Ery = Erythromycin; Fos = Fosfomycin; Genta = Gentamicin; Imi = Imipenem; Mero = Meropenem; Oxa = Oxacillin; Pen = Penicillin; Pip = Piperacillin; Rif = Rifampicin; Tig = Tigecyclin; *Aci bau* = *Acinetobacter baumannii*; Cefo = Cefotaxim; and. *Aci spp.* = andere *Acinetobacter species*; *Citro spp.* = *Citrobacter species*; Cefu = Cefuroxim; *Entero. spp.* = *Enterobacter spp.*; Tob = Tobramycin

Tabelle 18: Übersicht Ergebnisse gramnegative Erreger TTPA und TTPAN

Spezies	AB	Anz.	TA	AUC	ST. E	CI	TAcor	AUC	ST. E	CI	Anz.	TAN	AUC	ST. E	CI	TANcor	AUC	ST. E	CI
<i>E Coli</i>	AmpSul	684	x	0.44	0.02	[0.39, 0.49]	x	0.45	0.02	[0.40, 0.50]	686	x	0.45	0.02	[0.41, 0.49]	x	0.46	0.02	[0.42, 0.51]
	Cefo																		
	Cipro																		
	Cotrim																		
	Genta																		
	Levo																		
Pip	684	x	0.46	0.04	[0.38, 0.54]	x	0.38	0.04	[0.31, 0.46]	686	x	0.45	0.02	[0.41, 0.49]	x	0.46	0.02	[0.41, 0.50]	
PipTaz																			
Tig																			
Tob	28	x	0.42	0.21	[0.02, 0.83]	x	0.19	0.10	[0.00, 0.39]	24	x	0.45	0.24	[0.00, 0.93]	x	0.23	0.12	[0.00, 0.46]	
<i>Kleb pneu</i>	Amp	92	x	0.61	0.32	[0.00, 1.00]	x	0.83	0.09	[0.65, 1.00]	95	x	0.32	0.06	[0.20, 0.44]	x	0.50	0.23	[0.05, 0.94]
	AmpSul	110	x	0.32	0.06	[0.20, 0.44]	x	0.39	0.06	[0.27, 0.50]									
	Cipro	110	x	0.31	0.09	[0.13, 0.49]	x	0.35	0.08	[0.19, 0.51]									
	Cotrim	110	x	0.20	0.05	[0.10, 0.30]	x	0.36	0.07	[0.22, 0.49]									
	and. <i>Kleb spp.</i>	Amp	44	x	0.57	0.08	[0.41, 0.73]	x	0.76	0.06									
and. <i>Kleb spp.</i>	Cipro	48	x	0.87	0.11	[0.65, 1.00]	x	0.95	0.06	[0.83, 1.00]									
	Levo	48	x	0.87	0.11	[0.65, 1.00]	x	0.95	0.06	[0.83, 1.00]									
	and. <i>Kleb spp.</i>	Amp	29	x	0.59	0.10	[0.39, 0.79]	x	0.72	0.10	[0.52, 0.92]								
and. <i>Pseud spp.</i>	Cipro	14	x	0.27	0.16	[0.00, 0.58]	x	0.21	0.13	[0.00, 0.46]									
	AmpSul	14	x	0.27	0.16	[0.00, 0.58]	x	0.21	0.13	[0.00, 0.46]									
	Cefu	14	x	0.27	0.16	[0.00, 0.58]	x	0.21	0.13	[0.00, 0.46]									
	Genta	18	x	0.71	0.15	[0.42, 0.99]	x	0.79	0.11	[0.57, 1.00]									
	Mero	19	x	0.75	0.13	[0.50, 1.00]	x	0.82	0.10	[0.62, 1.00]									
	Pip	18	x	0.19	0.11	[0.00, 0.40]	x	0.22	0.23	[0.00, 0.67]									
	Tob	18	x	0.71	0.15	[0.42, 0.99]	x	0.79	0.11	[0.57, 1.00]									
	and. <i>Pseud spp.</i>	Genta	13	x	0.69	0.15	[0.39, 1.00]	x	0.19	0.13	[0.00, 0.44]								
<i>Steno malt</i>	Levo	14	x	0.31	0.21	[0.00, 0.73]	x	0.79	0.12	[0.55, 1.00]									

AB = Antibiotikum; Anz. = Anzahl; AUC = area under the curve; ST. E = Standardfehler; CI = Konfidenzintervall; TA = Time to Positivity aerobe Blutkulturflasche, TAcor = Time to positivity aerobe Blutkulturflasche unter Berücksichtigung der Transportzeit; TAN = Time to Positivity anaerobe Blutkulturflasche, TANcor = Time to Positivity anaerobe Blutkulturflasche unter Berücksichtigung der Transportzeit; *E Coli* = *Escherichia Coli*; AmpSul = Ampicillin-Sulbactam; Cefo = Cefotaxim; Cipro = Ciprofloxacin; Cotrim = Cotrimoxazol; Genta = Gentamicin; Levo = Levofloxacin; Pip = Piperacillin; PipTaz = Piperacillin-Tazobactam; Tig = Tigecyclin; Tob = Tobramycin; *Kleb pneu* = *Klebsiella pneumoniae*; Amp = Ampicillin; and. *Kleb spp.* = andere *Klebsiella species*; *Prot mir* = *Proteus mirabilis*; Cefu = Cefuroxim; Mero = Meropenem; and. *Pseud spp.* = andere *Pseudomonas species*; *Steno malt* = *Stenotrophomonas maltophilia*

Tabelle 19: Übersicht Ergebnisse gramnegative Erreger TTPA und TTPAN

Spezies	AB	Anz.	TTPF	AUC	ST. Error	CI	TTPFcor	AUC	ST. Error	CI	Anz.	TTPP	AUC	ST. Error	CI	
<i>Acı Bau</i>	Cefo	19	x	0.44	0.39	[0.00, 1.00]	x	0.09	0.10	[0.00, 0.28]						
	Pip	19	x	0.20	0.12	[0.00, 0.43]	x	0.33	0.16	[0.01, 0.65]						
and. <i>Acı spp.</i>	Cefo	20	x	0.30	0.14	[0.03, 0.56]	x	0.26	0.11	[0.04, 0.49]						
	Cotrim	22	x	0.95	0.06	[0.83, 1.00]	x	0.78	0.19	[0.41, 1.00]						
<i>Citro spp.</i>	AmpSul	20	x	0.75	0.13	[0.50, 1.00]	x	0.78	0.13	[0.53, 1.00]						
	Cefu Pip															
<i>Enterob spp.</i>	Amp	90	x	0.63	0.29	[0.06, 1.00]	x	0.65	0.06	[0.53, 0.78]						
	Cotrim															
	Genta Tob															
<i>E. Coli</i>	AmpSul	847	x	0.45	0.02	[0.41, 0.49]	x	0.47	0.02	[0.43 0.51]	15	x	0.17	0.14	[0.00, 0.45]	
	Cefo										15	x	0.86	0.11	[0.64,1.00]	
	Cipro	848	x	0.46	0.02	[0.41, 0.50]	x	0.45	0.02	[0.41, 0.49]	15	x	0.07	0.07	[0.00, 0.20]	
	Cotrim															
	Genta	847	x	0.45	0.02	[0.41, 0.49]	x	0.47	0.02	[0.43, 0.52]						
	Levo															
	Pip															
	PipTaz	847	x	0.48	0.04	[0.40, 0.55]	x	0.41	0.04	[0.34, 0.48]						
Tig	31	x	0.45	0.25	[0.00, 0.94]	x	0.19	0.11	[0.00, 0.40]							
Tob										15	x	0.07	0.07	[0.00, 0.20]		

AB = Antibiotikum; Anz. = Anzahl; AUC = area under the curve; ST. E = Standardfehler; CI = Konfidenzintervall; TA = Time to Positivity aerobe Blutkulturflasche, TAcor = Time to positivity aerobe Blutkulturflasche unter Berücksichtigung der Transportzeit; TAN = Time to Positivity anaerobe Blutkulturflasche, TANcor = Time to Positivity anaerobe Blutkulturflasche unter Berücksichtigung der Transportzeit; Spp. = Spezies; Amp = Ampicillin; AmpSul = Ampicillin-Sulbactam; Cefa = Cefazolin; Cefe = Cefepim; Cipro = Ciprofloxacin; Clinda = Clindamycin; Col = Colistin; Cotrim = Cotrimoxazol; Ery = Erythromycin; Fos = Fosfomycin; Genta = Gentamicin; Imi = Imipenem; Mero = Meropenem; Oxa = Oxacillin; Pen = Penicillin; Pip = Piperacillin; Rif= Rifampicin; Tig = Tigecyclin; *Acı bau* = *Acinetobacter baumannii*; Cefo = Cefotaxim; and. *Acı spp.*= andere *Acinetobacter species*; *Citro spp.* = *Citrobacter species*; Cefu = Cefuroxim; *Enterob. spp.* = *Enterobacter spp.*; Tob = Tobramycin

Tabelle 20: Übersicht Ergebnisse gramnegative Erreger TTPF und TTPP

Spezies	AB	Anz.	TTPF	AUC	ST. Error	CI	TTPFcor	AUC	ST. Error	CI	Anz.	TTPP	AUC	ST. Error	CI
<i>Kleb pneu</i>	Amp AmpSul Cipro Cotrim														
and. <i>Kleb spp.</i>	Amp	50	x	0.56	0.08	[0.41, 0.71]	x	0.76	0.08	[0.60, 0.92]					
	Cefu	55	x	0.75	0.10	[0.56, 0.95]	x	0.63	0.11	[0.41, 0.85]					
	Cipro	55	x	0.85	0.10	[0.65, 1.00]	x	0.92	0.07	[0.77, 1.00]					
	Levo	55	x	0.84	0.10	[0.65, 1.00]	x	0.92	0.07	[0.77, 1.00]					
	Pip	55	x	0.73	0.09	[0.56, 0.90]	x	0.57	0.10	[0.37, 0.77]					
	PipTaz	55	x	0.75	0.13	[0.50, 1.00]	x	0.74	0.11	[0.51, 0.96]					
<i>Pr. mir</i>	Cipro														
<i>Pseud aerugin</i>	Cefe										28	x	0.24	0.10	[0.05, 0.44]
	Cipro										28	x	0.18	0.09	[0.01, 0.35]
	Fos	28	x	0.77	0.13	[0.51, 1.00]	x	0.65	0.31	[0.04, 1.00]					
	Levo										28	x	0.13	0.07	[0.00, 0.26]
	Mero										28	x	0.26	0.11	[0.05, 0.46]
	Pip										28	x	0.24	0.10	[0.05, 0.44]
	PipTaz										28	x	0.23	0.09	[0.05, 0.41]
	Tob										28	x	0.17	0.09	[0.00, 0.35]
and. <i>Pseud. spp.</i>	AmpSul	14	x	0.27	0.16	[0.00, 0.58]	x	0.21	0.13	[0.00, 0.46]					
	Cefu	14	x	0.27	0.16	[0.00, 0.58]	x	0.21	0.13	[0.00, 0.46]					
	Genta	18	x	0.71	0.15	[0.42, 0.99]	x	0.79	0.11	[0.57, 1.00]					
	Mero	19	x	0.75	0.13	[0.50, 1.00]	x	0.82	0.10	[0.62, 1.00]					
	Pip	18	x	0.19	0.11	[0.00, 0.40]	x	0.22	0.23	[0.00, 0.67]					
	Tob	18	x	0.71	0.15	[0.42, 0.99]	x	0.79	0.11	[0.57, 1.00]					
<i>Steno malt</i>	Genta	13	x	0.69	0.15	[0.39, 1.00]	x	0.19	0.13	[0.00, 0.44]					
	Levo	14	x	0.31	0.21	[0.00, 0.73]	x	0.79	0.12	[0.55, 1.00]					

AB = Antibiotikum; Anz. = Anzahl; AUC = area under the curve; ST. E = Standardfehler; CI = Konfidenzintervall; TA = Time to Positivity aerobe Blutkulturflasche, TAcor = Time to positivity aerobe Blutkulturflasche unter Berücksichtigung der Transportzeit; TAN = Time to Positivity anaerobe Blutkulturflasche, TANcor = Time to Positivity anaerobe Blutkulturflasche unter Berücksichtigung der Transportzeit; *E. Coli*= *Escherichia Coli*; AmpSul = Ampicillin-Sulbactam; Cefu = Cefotaxim; Cipro = Ciprofloxacin; Cotrim = Cotrimoxazol; Genta = Gentamicin; Levo = Levofloxacin; Pip = Piperacillin; PipTaz = Piperacillin-Tazobactam; Tig = Tigecyclin; Tob = Tobramycin; *Kleb pneu* = *Klebsiella pneumoniae*; Amp = Ampicillin; and. *Kleb spp.*= andere *Klebsiella species*; *Prot mir* = *Proteus mirabilis*; Cefu = Cefuroxim; Mero = Meropenem; *Pseud aerugin* = *Pseudomonas aeruginosa*; Fos = Fosfomycin; and. *Pseud spp.* = andere *Pseudomonas species*; *Steno malt* = *Stenothrophomonas maltophilia*

Tabelle 21: Übersicht Ergebnisse gramnegative Erreger TTPF und TTPP

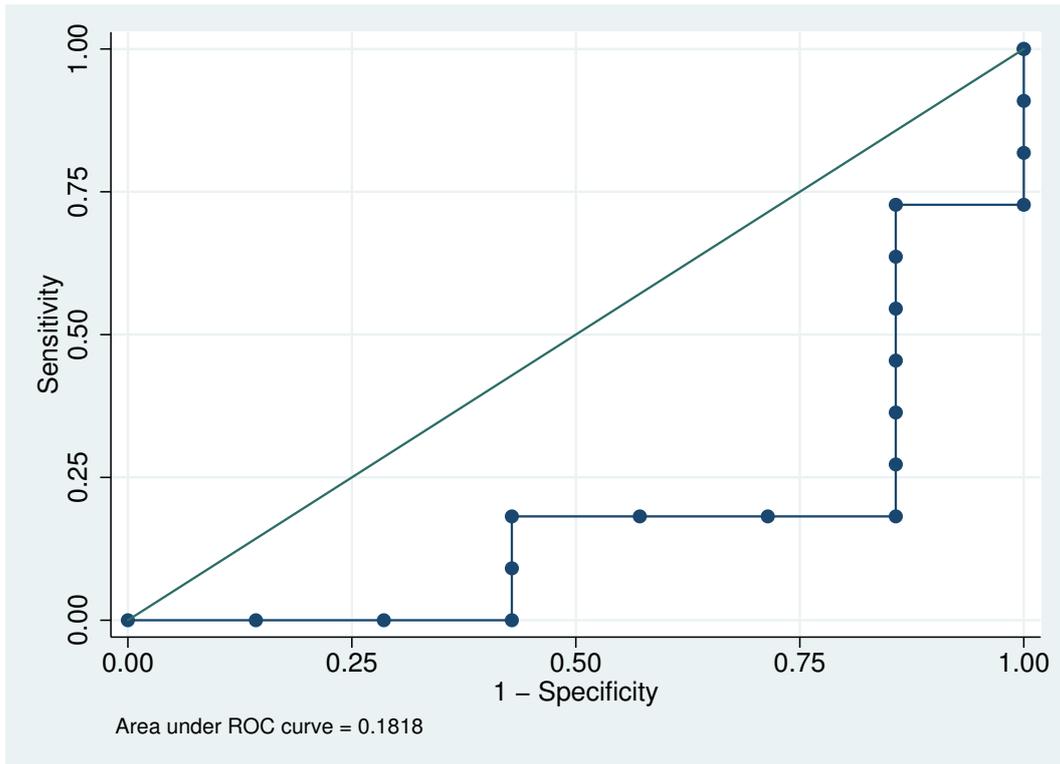


Abbildung 8: ROC-Analyse TTPA *Acinetobacter baumannii* und Piperacillin

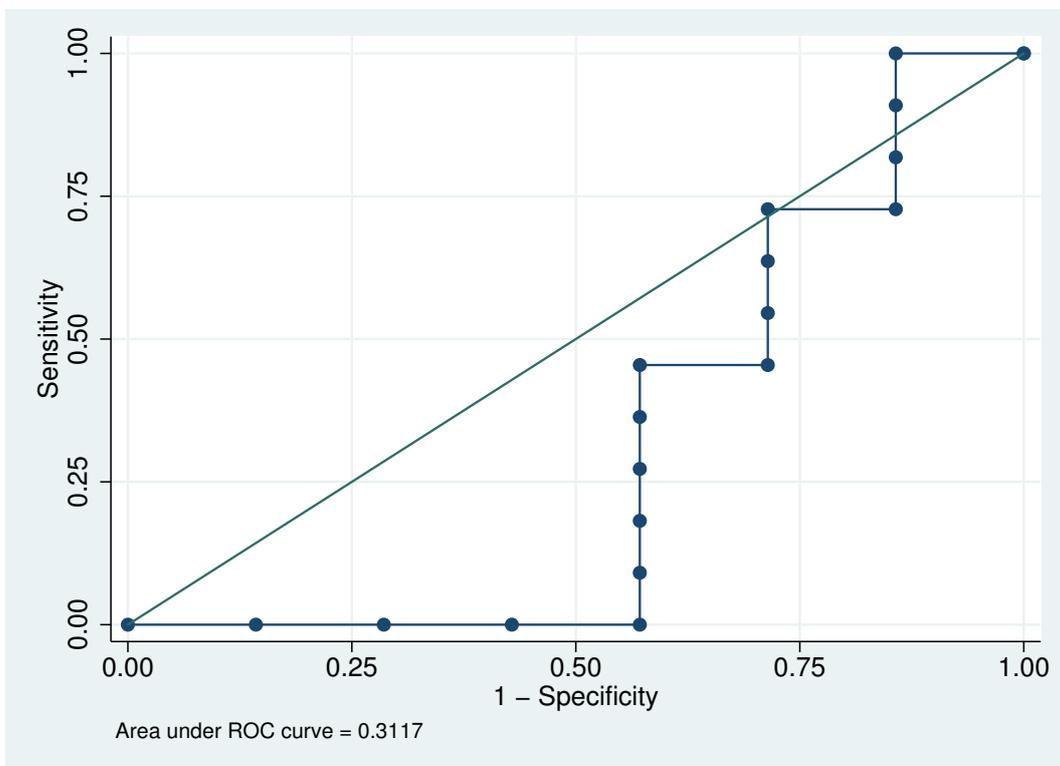


Abbildung 9: ROC-Analyse TTPAcor *Acinetobacter baumannii* und Piperacillin

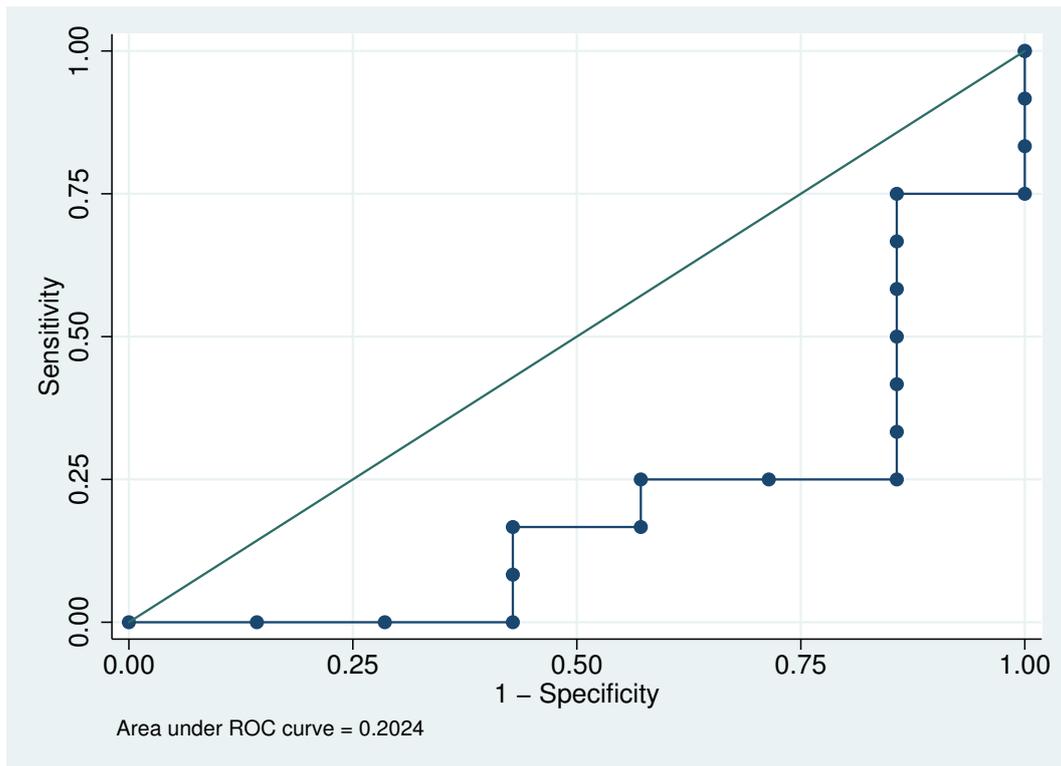


Abbildung 10: ROC-Analyse TTPF *Acinetobacter baumannii* und Piperacillin

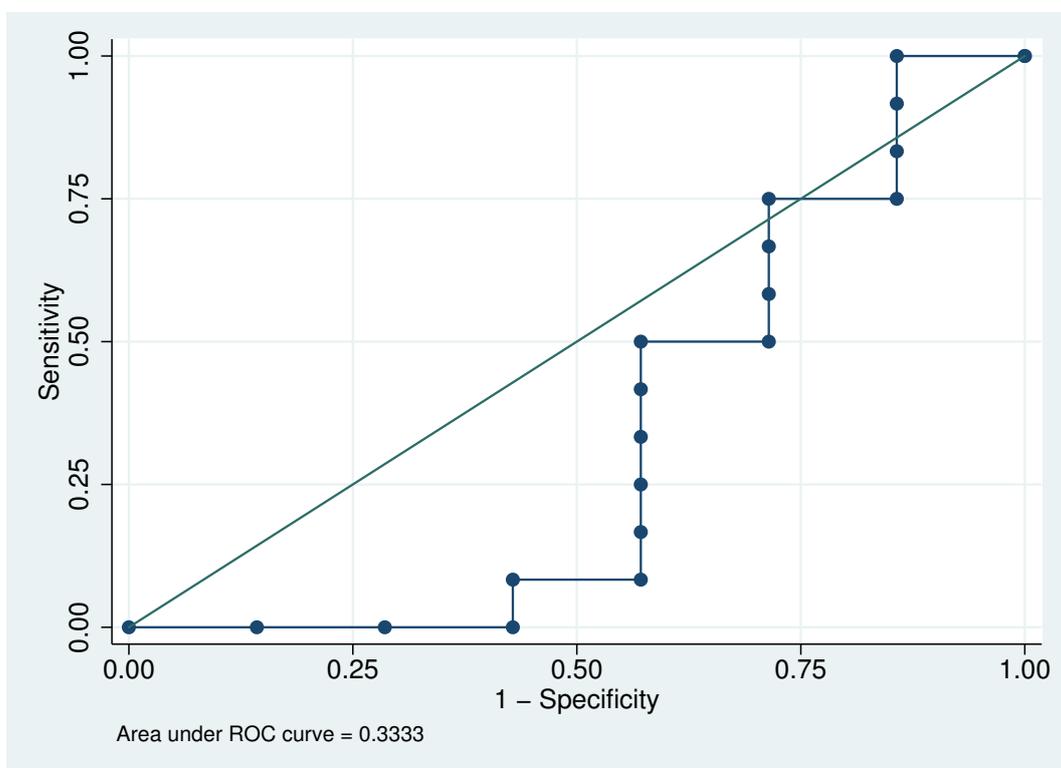


Abbildung 11: ROC-Analyse TTPF_{cor} *Acinetobacter baumannii* und Piperacillin

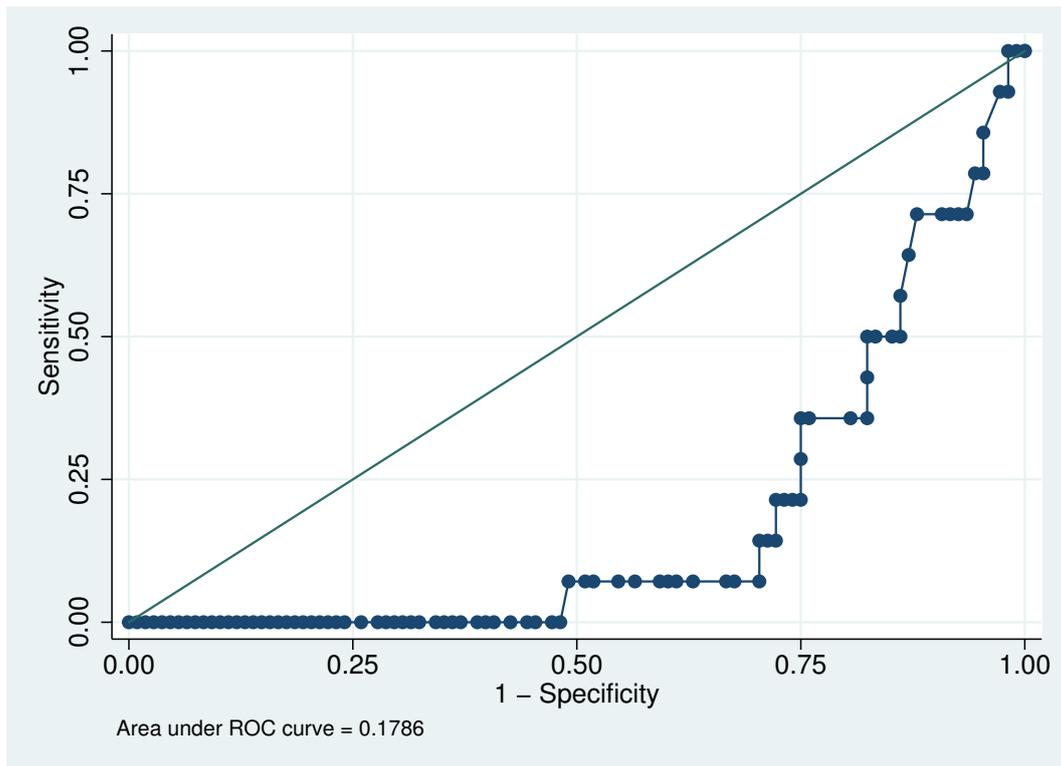


Abbildung 12: ROC-Analyse TTPA *Klebsiella Pneumoniae* und Cotrimoxazol

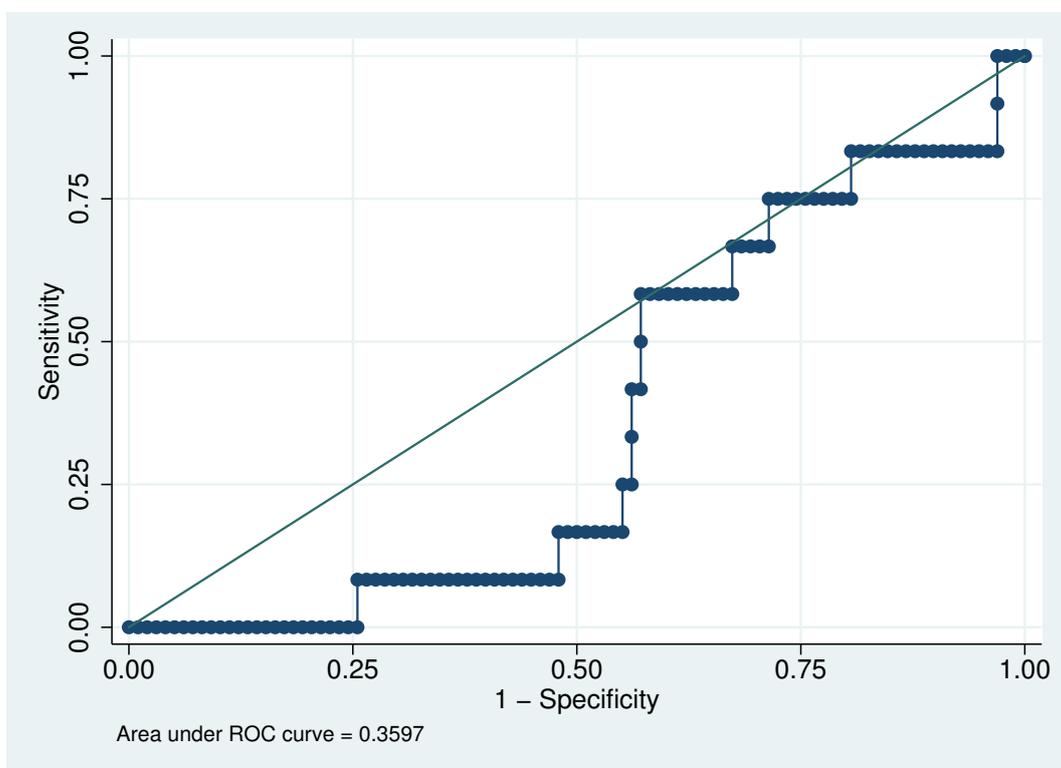


Abbildung 13: ROC-Analyse TTPAcor *Klebsiella pneumoniae* und Cotrimoxazol

B. Erklärung zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde am Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene unter Betreuung von Prof. Dr. Ingo B. Autenrieth durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte durch Prof. Dr. med. MSc. Matthias Willmann.

Sämtliche Versuche wurden durch alle medizinischen-technischen Assistenten des Instituts durchgeführt.

Die statistische Auswertung erfolgte durch Prof. Dr. med. MSc. Matthias Willmann und durch mich.

Ich versichere, das Manuskript selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Ort/Datum

Myriam Spazierer

C. Danksagung

Mein Dank geht an Prof. Dr. Ingo B. Autenrieth und Prof. Dr. med. MSc. Matthias Willmann für die Konzeption dieser Arbeit und die Unterstützung während der Durchführung und statistischen Auswertung. Mein Dank geht außerdem an Tobias Menold für das Engagement und die Hilfe bei der Arbeit mit Matlab und \LaTeX , sowie an meine Eltern für die Unterstützung während meines Studiums.