

Aus dem Institut für Hygiene und Umweltmedizin  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Prävalenz der Kolonisation mit  
Dritt-Generations-Cephalosporin-resistenten Enterobakterien  
und nachfolgende Infektionsraten bei Aufnahme in die  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Anne-Cathérine Boldt

aus Berlin

Datum der Promotion: 06.03.2020

## **Vorwort**

**Teilergebnisse dieser Dissertation wurden bereits in folgender Publikation vorveröffentlicht:**

Boldt A-C, Schwab F, Rohde AM, Kola A, Bui MT, Martin N, Kipnis M, Schröder C, Leistner R, Wiese-Posselt M, Zweigner J, Gastmeier P, Denkel LA. Admission prevalence of colonization with third-generation cephalosporin-resistant *Enterobacteriaceae* and subsequent infection rates in a German university hospital. PLoS one. 2018 Aug 1;13(8):e0201548. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201548>

## Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung .....	1
2	Abstract .....	3
3	Manteltext .....	5
3.1	Einführung .....	5
3.2	Materialien und Methoden .....	7
3.3	Relevante Ergebnisse.....	13
3.4	Diskussion .....	20
3.5	Literaturverzeichnis.....	25
4	Eidesstattliche Versicherung .....	28
5	Ausführliche Anteilserklärung an der erfolgten Publikation.....	29
6	Auszug aus der Journal Summary List (ISI Web of Knowledge) .....	31
7	Publikation .....	32
7.1	Zusätzliche Informationen.....	50
8	Curriculum Vitae .....	57
9	Publikationsliste .....	59
10	Danksagung .....	60

# 1 Zusammenfassung

## Hintergrund

Enterobakterien mit Resistenzen gegenüber Dritt-Generations-Cephalosporinen (3GCREB) aufgrund von Extended-Spektrum-Beta-Laktamasen (ESBL) sind weltweit, so auch in Deutschland, immer häufiger anzutreffen. In Krankenhäusern stellen diese multiresistenten Erreger (MRE) eine Herausforderung dar. Bereits bei Krankenhausaufnahme sind Patienten häufig mit MRE kolonisiert. Das Ziel dieser Arbeit war es, die Prävalenz der rektalen Kolonisation mit 3GCREB bei Aufnahme in ein großes deutsches Universitätsklinikum zu untersuchen sowie Infektionsraten bei Patienten mit und ohne 3GCREB-Kolonisation und Risikofaktoren für eine 3GCREB-Kolonisation zu bestimmen.

## Materialien und Methoden

Im Zeitraum Mai – September 2014 sowie April – September 2015 wurden Patienten bei Aufnahme auf Nicht-Intensivstationen der Charité – Universitätsmedizin Berlin auf eine rektale Kolonisation mit 3GCREB gescreent und mit Hilfe eines Fragebogens zu potenziellen Risikofaktoren einer MRE-Kolonisation befragt. Retrospektiv wurden alle Patienten auf bakterielle Infektionen untersucht. Deskriptive, univariable und multivariable logistische Regressionsanalysen wurden durchgeführt, um Risikofaktoren für eine Kolonisation mit 3GCREB bei Krankenhausaufnahme zu ermitteln.

## Ergebnisse

4.013 Patienten wurden in die Studie eingeschlossen, von denen 10,3 % (n = 415) bei Krankenhausaufnahme rektal mit 3GCREB besiedelt waren. Die Inzidenz nosokomialer Infektionen bei 3GCREB-besiedelten Patienten betrug 3,5 (95 % CI 2,0-6,1) pro 100 Patienten, verglichen zu 2,3 (95 % CI 1,8-3,0, P = 0,213) pro 100 3GCREB-negative Patienten. Folgende unabhängige Risikofaktoren für eine 3GCREB-Kolonisation wurden identifiziert: vorherige Besiedlung/Infektion mit MRE (OR 2,30, 95 % CI 1,59-3,32), vorangegangene Antibiotikatherapie (OR 1,97, 95 % CI 1,59-2,45), männliches Geschlecht (OR 1,38, 95 % CI 1,12-1,70), vorangegangene Reisen außerhalb Europas (OR 2,39, 95 % CI 1,77-3,22) und Wohnsitze in den Berliner Bezirken Charlottenburg-Wilmersdorf (OR 1,52, 95 % CI 1,06-2,18), Friedrichshain-Kreuzberg (OR 2,32, 95 % CI 1,44-3,74) und Mitte (OR 1,73, 95 % CI 1,26-2,36).

## **Schlussfolgerungen**

Die Prävalenz rektaler Kolonisation mit 3GCREB bei Nicht-Intensivpatienten zum Zeitpunkt der Krankenhausaufnahme war hoch, während die Infektionsinzidenz bei diesen Patienten niedrig war und sich nicht von der Infektionsinzidenz bei 3GCREB-negativen Patienten unterschied. Folglich ist eine rektale 3GCREB-Kolonisation bei Krankenhausaufnahme für Nicht-Intensivpatienten eher von geringer klinischer Relevanz.

## **2 Abstract**

### **Background**

*Enterobacteriaceae* with resistance to third-generation cephalosporins (3GCREB) due to extended-spectrum-beta-lactamases (ESBL) are increasingly common worldwide, including Germany. In hospitals, these multi-drug resistant organisms (MDRO) are a challenge. Already at hospital admission patients are often colonized with MDRO. The aim of this study was to investigate the prevalence of rectal 3GCREB colonization at admission to a large German university hospital, to determine infection incidences of patients with and without 3GCREB colonization and to identify risk factors for 3GCREB colonization.

### **Materials and Methods**

In the period May – September 2014 and April – September 2015, patients admitted to non-intensive care units (non-ICUs) of Charité – Universitätsmedizin Berlin were screened for rectal colonization with 3GCREB and interviewed with a questionnaire on potential risk factors for MDRO colonization. Retrospectively, all patients were reviewed for bacterial infections. Descriptive, univariable and multivariable logistic regression analyses were conducted to determine risk factors for 3GCREB colonization at admission to the hospital.

### **Results**

4,013 patients were included in the study, of whom 10.3% (n = 415) were rectally colonized with 3GCREB at admission to the hospital. Incidence of nosocomial infections among 3GCREB colonized patients was 3.5 (95% CI 2.0-6.1) per 100 patients compared to 2.3 (95% CI 1.8-3.0, P = 0.213) per 100 3GCREB negative patients. The following independent risk factors for 3GCREB colonization were identified: prior colonization/infection with MDRO (OR 2.30, 95% CI 1.59-3.32), prior antimicrobial treatment (OR 1.97, 95% CI 1.59-2.45), male sex (OR 1.38, 95% CI 1.12-1.70), prior travelling outside Europe (OR 2.39, 95% CI 1.77-3.22) and places of residence in the Berlin districts Charlottenburg-Wilmersdorf (OR 1.52, 95% CI 1.06-2.18), Friedrichshain-Kreuzberg (OR 2.32, 95% CI 1.44-3.74) and Mitte (OR 1.73, 95% CI 1.26-2.36).

## **Conclusions**

Prevalence of rectal colonization with 3GCREB among non-ICU-patients admitted to the hospital was high, while infection incidence among these patients was low and did not differ from infection incidence in 3GCREB-negative patients. In consequence, rectal 3GCREB colonization at hospital admission has only minor clinical relevance for non-ICU patients.

## **3 Manteltext**

### **3.1 Einführung**

#### **Prävalenz von Dritt-Generations-Cephalosporin-resistenten Enterobakterien (3GCREB)**

Enterobakterien mit Resistenzen gegenüber Dritt-Generations-Cephalosporinen (3GC) sind weltweit, so auch in Deutschland, immer häufiger anzutreffen [1-4]. Die Resistenzen werden meist durch die Produktion von sogenannten Extended-Spektrum-Beta-Laktamasen (ESBL) vermittelt. Diese bakteriellen Enzyme können die Ringstruktur von Beta-Laktam-Antibiotika, zu denen die 3GC zählen, spalten und sie somit unwirksam machen [5]. Die in der Literatur verwendeten Begriffe ESBL-bildende Enterobakterien (ESBL-E) und 3GC-resistente Enterobakterien (3GCREB) können weitestgehend synonym verwendet werden, da mehr als 90 % der 3GCREB ESBL bilden [6].

Neben anderen Erregern wie methicillinresistenten *Staphylococcus (S.) aureus* (MRSA), Vancomycin-resistenten Enterokokken (VRE) und Carbapenem-resistenten Enterobakterien (CRE) gehören ESBL-E bzw. 3GCREB zu den multiresistenten Erregern (MRE). In der deutschen Allgemeinbevölkerung sind nur etwa 1 % nasal mit MRSA besiedelt [4]. Demgegenüber stehen 7 % der deutschen Allgemeinbevölkerung [7, 8] und 9,5 % der Patienten bei Krankenhausaufnahme in deutsche Universitätskliniken mit rektaler ESBL-E- bzw. 3GCREB-Besiedlung [6].

#### **Klinische Relevanz von 3GCREB**

Natürliches Reservoir von Enterobakteriengattungen wie *Escherichia*, *Klebsiella* und *Proteus* spp. ist der menschliche Darm. Sie fungieren als Teil der physiologischen Darmflora, können potenziell aber auch jede andere Körperregion besiedeln und dort eine Infektion hervorrufen. Somit sind sie fakultativ pathogen. Eine vom Darm ausgehende Übertragung der Erreger kann endogen oder exogen erfolgen. Andere Enterobakteriengattungen wie *Salmonella*, *Shigella* und *Yersinia* spp. wiederum sind kein Teil der physiologischen Darmflora und somit obligate Krankheitserreger [5]. Die Resistenzen der Erreger und die resultierende ineffektive antibiotische Therapie bei Infektionen stellen für das Gesundheitssystem eine Herausforderung dar [9-11]. Während sich in Deutschland und Europa der Anteil von MRSA in humanen Infektionen mit *S. aureus* in den vergangenen Jahren reduziert hat [12, 13], treten Resistenzen bei



humanen Infektionen mit Gram-negativen Erregern, wie durch ESBL bei *Escherichia (E.) coli*-Infektionen, immer häufiger auf [4, 12]. Die Folgen einer Infektion mit ESBL-E werden in der Literatur kontrovers diskutiert. Einige Studien zeigten einen Zusammenhang von ESBL-E-Infektionen mit erhöhten Krankenhauskosten, verlängerten Aufenthaltsdauern und erhöhter Mortalität [14, 15], während andere dies nicht nachweisen konnten [9, 16]. Allerdings konnte gezeigt werden, dass die initiale Antibiotikatherapie bei Patienten mit ESBL-E-Infektionen häufiger nicht adäquat war [9, 10]. Dies kann insbesondere in vulnerablen Populationen, wie Patienten auf Intensivstationen, zu erhöhter Morbidität und Mortalität führen [11]. Die Besiedlung mit ESBL-E wurde mit einer Infektionsinzidenz von 4 % bis 20 % abhängig von der Patientenpopulation, der Geografie und der untersuchten Spezies assoziiert [17-21].

### **Risikofaktoren für eine Kolonisation mit 3GCREB**

Bekannte Risikofaktoren für eine Kolonisation mit 3GCREB bzw. ESBL-E aus dem medizinischen Bereich sind vorangegangene antibiotische Behandlungen [6, 19, 22-24], vorherige Krankenhausaufenthalte [6, 24, 25], frühere Kolonisation oder Infektion mit MRE [6, 25], Aufenthalt in einem Pflegeheim [6, 24] und medikamentöse Behandlung einer gastroösophagealen Refluxkrankheit [6]. Der hohe Anteil von ESBL-E in der Allgemeinbevölkerung gibt Hinweis darauf, dass Risikofaktoren außerhalb des medizinischen Bereiches eine Rolle bei der Verbreitung von ESBL-E spielen. Einer der wichtigsten Risikofaktoren für eine Besiedlung mit ESBL-E ist das Reisen in Hochprävalenz-Regionen, einschließlich Südostasien und Indien [8, 22, 26, 27]. Darüber hinaus scheinen auch andere Lebensstilfaktoren, wie Ernährungsgewohnheiten, relevant zu sein. Der Verzehr von Fleisch, insbesondere Schweine- und Hühnerfleisch, gilt als möglicher Übertragungsweg von ESBL-E bzw. ESBL-tragenden Plasmiden [8, 28-30]. Daneben wurden das Leben in Ballungszentren (z. B. Paris) [31], eine asiatische Muttersprache [30] und ein aus der Region Mittlerer Osten / Südostasien (MESA) stammender Nachname als weitere Risikofaktoren für eine rektale Besiedlung mit ESBL-E identifiziert [32]. Solche regionalen und kulturellen Risikofaktoren für die Kolonisation mit ESBL-E sowie deren Zusammenspiel sind bisher allerdings wenig verstanden.

## **Aktuelle Empfehlung zum ESBL-E-Screening bei Krankenhausaufnahme in Deutschland**

In Deutschland wird von der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) und anderen deutschen Instituten aktuell kein generelles Screening auf ESBL-E bei Krankenhausaufnahme empfohlen [4, 23]. Begründet wird dies durch den fehlenden Nachweis einer effektiven infektions- oder transmissionspräventiven Wirksamkeit des Screenings [23]. An der Charité – Universitätsmedizin Berlin wird kein generelles ESBL-E-Screening bei Krankenhausaufnahme durchgeführt.

### **Zielsetzung dieser Arbeit**

Das Ziel dieser Arbeit war es, die Prävalenz der rektalen Kolonisation mit 3GCREB bei Aufnahme in die Charité – Universitätsmedizin Berlin zu untersuchen. Darüber hinaus sollten die Infektionsraten bei Patienten mit und ohne 3GCREB-Kolonisation sowie Risikofaktoren für eine 3GCREB-Kolonisation bestimmt und Schlussfolgerungen für die Klinik abgeleitet werden.

## **3.2 Materialien und Methoden**

### **Studiendesign und Studienaufbau**

Bei dieser Arbeit handelt es sich um eine prospektive Prävalenzstudie (Querschnittsstudie), welche im Rahmen der multizentrischen Antibiotika-Therapie-Optimierungs-Studie (ATHOS) an der Charité – Universitätsmedizin Berlin durchgeführt wurde. Zusätzlich wurden die Patienten retrospektiv auf das Auftreten von (mitgebrachten und nosokomialen) Infektionen untersucht.

### **Erfassungszeitraum**

Der Erfassungszeitraum lag zwischen Mai und September 2014 sowie April und September 2015.

### **Studienpopulation**

Es wurden Patienten der Charité – Universitätsmedizin Berlin an den Standorten Campus Benjamin Franklin, Campus Charité Mitte und Campus Virchow-Klinikum untersucht. Diese Standorte umfassen zusammen mehr als 3000 Betten.

### ***Einschluss- und Ausschlusskriterien***

Voraussetzungen für die Teilnahme an der Studie waren ein Mindestalter von 18 Jahren, Aufnahme auf eine Nicht-Intensivstation der Charité – Universitätsmedizin Berlin, die an der ATHOS-Studie teilnahm, und die schriftliche Einwilligung in die Studienteilnahme. Eingeschlossene Abteilungen waren: Allgemeinchirurgie, Gastroenterologie, Gefäßchirurgie, Gynäkologie, Hämatologie/Onkologie, interdisziplinäre Stationen, Kardiologie, Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie, Nephrologie, Neurochirurgie, Neurologie, Orthopädie, Strahlentherapie, Transplantationschirurgie, Unfallchirurgie, und Urologie. Aufgrund einer vermutlich eingeschränkten Einwilligungsfähigkeit wurden Patienten der Intensivstation und Psychiatrie von der Studienteilnahme ausgeschlossen. Ebenso ausgeschlossen wurden Patienten der Augenheilkunde, Dermatologie, Geburtshilfe und Hals-Nasen-Ohrenheilkunde. Bei diesen Patienten wurde vorab eine geringe Teilnahmebereitschaft erwartet.

### ***Aufnahmescreening***

Die rekrutierten Patienten wurden bei Krankenhausaufnahme mittels Rektalabstrich auf eine Kolonisation mit 3GCREB untersucht. Das Aufnahmescreening musste in den ersten drei Tagen nach Krankenhausaufnahme erfolgen, wobei Tag eins dem Tag der Aufnahme entsprach. Der Rektalabstrich wurde von Doktoranden, Personal der Station oder von den Patienten selbst durchgeführt. Zusätzlich beantwortete jeder Studienteilnehmer einen Fragebogen über potenzielle Risikofaktoren für eine Besiedlung mit MRE. Dieser Fragebogen beinhaltete Fragen nach Geschlecht, Alter, aktueller Antibiotika-Therapie, Tierkontakt und bisherigen Besiedlungen mit MRE wie MRSA, 3GCREB, CRE und VRE. Darüber hinaus wurden die folgenden potenziellen Risikofaktoren, welche sich auf die letzten 6 Monate vor Krankenhausaufnahme bezogen, abgefragt: vorherige antibiotische Behandlung, Auslandsreisen, Aufenthalt in einer Rehabilitationseinrichtung, Aufenthalt in einem Pflegeheim, Krankenhausaufenthalt in Deutschland oder im Ausland und Einnahme von Antazida oder Protonenpumpenhemmer bei gastroösophagealer Refluxkrankheit. Dieser Fragebogen ist der Publikation von Boldt et al. [33] zu entnehmen (siehe Kapitel 7.1 Zusätzliche Informationen). In der elektronischen Patientenakte wurden Informationen zu Wohnort (Berliner Bezirk), Nationalität (klassifiziert nach Regionen der Weltgesundheitsorganisation (WHO) [34]) und Aufnahmestation gewonnen.

## **Mikrobiologische Methoden**

### ***Kultivierung mittels Chrom-Agar***

Der Rektalabstrich erfolgte mit einem sterilen Watteträger. Getränkt mit Amies Transportmedium wurde der Abstrich in Transportröhrchen (Transystem® Amies, COPAN) bis zur Ankunft im Labor bei Raumtemperatur aufbewahrt. Im Labor wurden die Proben auf ChromID-ESBL-Agar (bioMérieux, Nürtingen, Deutschland), welcher speziell für den Nachweis von ESBL-E verwendet wird, kultiviert.

### ***Klinische Diagnostik mittels Vitek 2 zur Speziesidentifikation und Empfindlichkeitsprüfung von Antibiotika***

Alle ESBL-E-positiven Proben wurden mithilfe des Vitek 2 (Vitek 2 Compact, BioMérieux) auf Spezies und Empfindlichkeit gegenüber Antibiotika analysiert. Für die Speziesidentifikation und Empfindlichkeitsprüfung wurde die GN-Karte (Gram-negative Identifizierungskarte für Vitek 2, BioMérieux) bzw. AST N223 Karte (Testkarte für die Empfindlichkeitsprüfung von Antibiotika, BioMérieux) verwendet. Alle Isolate mit Resistenzen gegen Cefotaxime, Ceftriaxone oder Ceftazidim wurden in die Studie eingeschlossen. Die Definition von Resistenzen gegen Cefotaxime, Ceftriaxone oder Ceftazidim erfolgte nach den EUCAST-Richtlinien [35].

### ***Agardiffusionstest zur Bestätigung der ESBL-Produktion***

Der Agardiffusionstest (Plättchentest) wurde zur Testung der Resistenzen gegen die 3GC Cefpodoxim, Ceftazidim und Cefotaxim mit und ohne Clavulansäure (Mast Diagnostica) für die Bestätigung der ESBL-Produktion angewendet. Mithilfe eines Dispensers (DiscMaster™ Dispenser MDD 63, Mast Diagnostica) wurden die Plättchen des ESBL-Sets (MASTDISCS™ ID, Mast Diagnostica) auf eine mit ESBL-E beimpfte Müller-Hinton-Agar-Platte (BioMérieux) appliziert. Die Plättchen beinhalteten zum einen 30 µg des 3GC (Cefpodoxim, Ceftazidim bzw. Cefotaxim) ohne Zusatz von Clavulansäure und zum anderen 30 µg des 3GC mit Zusatz von 10 µg Clavulansäure. Eine beimpfte Columbia-Agar-Platte (BioMérieux) diente der Kontrolle des Keimwachstums und als Reinheitskontrolle. Die Hemmhöfe auf der Müller-Hinton-Agar-Platte wurden abgelesen und gemäß EUCAST-Leitlinien [35] zur Bestätigung der ESBL-Produktion interpretiert.

### **Genotypisierung von 3GCREB-Isolaten**

Die Genotypisierung zur Überprüfung der Verwandtschaft von 3GCREB-Isolaten erfolgte mithilfe des DiversiLab Systems (bioMérieux), das auf einer repetitiven-Sequenzbasierten Polymerase-Kettenreaktion (PCR) und anschließender Mikrofluid-Gel-Elektrophorese basiert.

### **Definition einer Infektion**

Alle Studienteilnehmer wurden retrospektiv auf das Vorhandensein einer Infektion bei Krankenhausaufnahme oder den Erwerb einer Infektion während ihres Krankenhausaufenthaltes mithilfe der elektronischen Patientenakte untersucht. Bei mikrobiologischen Befunden mit Nachweis von Bakterien in klinischen Materialien, wie Urin, Blut, Tracheobronchialsekret oder Wundmaterial, erfolgte anschließend durch zwei unabhängige, infektiologische Experten die Analyse auf Infektionen. Ein dritter Experte wurde in kontroversen Fällen herangezogen. Um eine Infektion zu identifizieren, mussten die folgenden Kriterien zutreffen: 1) Vorhandensein von Bakterien in einem klinischen Material (z. B. Urin, Blut, Tracheobronchialsekret, Wundmaterial) und 2) Dokumentation einer Infektion in der Patientenakte oder eine vom behandelnden Arzt angeordnete adäquate antibakterielle Therapie. Beim Auftreten mehrerer Infektionen wurde die zuerst aufgetretene Infektion gewertet. Infektionen bei Patienten mit 3GCREB-Besiedlung wurden in zwei Gruppen eingeteilt: i) Infektion mit dem 3GCREB des Rektalabstriches bei Krankenhausaufnahme oder ii) Infektion mit anderen Bakterien (nicht dem rektalen 3GCREB). Als Voraussetzung für die Definition einer Infektion mit dem rektalen 3GCREB (i) musste die Speziesidentifikation und das Antibiotika-Resistogramm des rektalen und klinischen Isolates übereinstimmen und/oder beide Isolate laut Stammtypisierung (Genotypisierung) identisch sein. Als übereinstimmend wurden die Isolate gewertet, wenn die Abweichung der Resistogramme  $\leq$  einer zweifachen Verdünnungsstufe der Minimalen Hemmkonzentration (MHK) betrug. Abweichungen bei Einzelsubstanzen von mehr als einer zweifachen Verdünnungsstufe wurden dennoch als übereinstimmend interpretiert, wenn die Abweichung höchstwahrscheinlich durch den Einsatz von Antibiotika hervorgerufen wurde. Wenn möglich, wurde außerdem die Genotypisierung der rektalen und klinischen 3GCREB-Isolate mittels DiversiLab System (bioMérieux) (siehe Abschnitt Genotypisierung von 3GCREB-Isolaten) herangezogen. Weiterhin wurde zwischen ambulant erworbenen (mitgebrachten) und nosokomialen Infektionen

unterschieden. Alle Infektionen, die während der ersten drei stationären Aufenthaltstage (Tag 1-3, Aufnahmetag = Tag 1) auftraten, wurden als mitgebracht definiert. Dagegen wurden alle Infektionen, die > 3 Tage nach Krankenhausaufnahme auftraten, als nosokomial gewertet.

### **Statistische Auswertung**

Die Prävalenz der Kolonisation mit 3GCREB bei Krankenhausaufnahme wurde als die Anzahl auf 3GCREB positiv getesteter Patienten pro 100 untersuchter Patienten definiert. Die Infektionsinzidenz wurde als Anzahl infizierter Patienten pro 100 Patienten mit einer Aufenthaltsdauer > 3 Tage festgelegt. Wilson Score Konfidenzintervalle der 3GCREB-Prävalenz und -Infektionsinzidenzen (Infektionen / 100 Patienten) wurden unter Verwendung von Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health, V3.01, <http://www.openepi.com> [36] ermittelt.

In der deskriptiven Analyse wurden für kategoriale Variablen die Anzahl sowie die prozentualen Anteile berechnet. Für kontinuierliche Variablen wurde der Median und der Interquartilsabstand (IQA) bestimmt. Signifikante Unterschiede wurden für kategoriale Variablen mithilfe des Chi-Quadrat-Tests bzw. des Fisher's-Exakt-Tests überprüft.

In der multivariablen Analyse wurde das Modell der logistischen Regression eingesetzt, um unabhängige Risikofaktoren für die Kolonisation mit 3GCREB bei Krankenhausaufnahme zu identifizieren. Die folgenden patientenbezogenen Parameter wurden in den Analysen berücksichtigt: Alter ( $\leq 45$ , 46-55, 56-65, 66-75 oder  $> 75$ ); Geschlecht (männlich/weiblich); vorangegangene Besiedlung mit MRE; aktuelle Antibiotika-Therapie, Antibiotika-Einnahme während der letzten 6 Monate; Auslandsreisen während der letzten 6 Monate innerhalb oder außerhalb Europas; Aufenthalt in einer Rehabilitationseinrichtung oder Pflegeheim während der letzten 6 Monate; Krankenhausaufenthalt während der letzten 6 Monate in Deutschland, in einem europäischen Land außerhalb Deutschlands oder außerhalb Europas; beruflicher oder privater Tierkontakt; und Behandlung einer gastroösophagealen Refluxkrankheit mit Antazida oder Protonenpumpenhemmer während der letzten 6 Monate. Die Parameter wurden mit „nein“ (Referenz), „ja“ oder „unbekannt“ kategorisiert. Weitere in der Analyse berücksichtigte Parameter waren: Aufnahmestation (Allgemeinchirurgie, Gastroenterologie, Gefäßchirurgie, Gynäkologie, Hämatologie/Onkologie, interdisziplinäre Stationen, Kardiologie, Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie, Neurochirurgie,

Neurologie, Orthopädie, Strahlentherapie, Transplantationschirurgie, Unfallchirurgie, andere). Nephrologie und Urologie wurden aufgrund der geringen Anzahl von Studienteilnehmern auf diesen Stationen zur Kategorie „andere“ zusammengefasst. Darüber hinaus wurden bei der Analyse folgende, durch die elektronische Patientenakte erhobene Parameter berücksichtigt: Wohnort (Nicht-Berlin, Charlottenburg-Wilmersdorf, Friedrichshain-Kreuzberg, Lichtenberg, Marzahn-Hellersdorf, Mitte, Neukölln, Pankow, Reinickendorf, Spandau, Steglitz-Zehlendorf, Tempelhof-Schöneberg, Treptow-Köpenick, unbekannt) und die Nationalität, klassifiziert nach WHO-Regionen (Afrikanische Region, Region Nord- und Südamerika, Südostasien, Europäische Region, Östliche Mittelmeerregion und Westpazifik [34], unbekannt). Die Variablen „Aufnahmestation“, „Wohnort“ und „Nationalität“ wurden dummy-codiert. Die Referenzkategorien für diese Variablen waren jeweils alle anderen „Aufnahmestationen“ bzw. „Wohnorte“ oder „Nationalitäten“. Das Modell der logistischen Regression in der multivariablen Analyse wurde durch schrittweise Rückwärtsselektion erstellt. Das Signifikanz-Niveau zum Ausschluss eines Parameters vom Modell lag bei  $p = 0,05$ . Aus epidemiologischen Gründen wurden Alter und Geschlecht in allen Modellen eingeschlossen. P-Werte  $< 0,05$  wurden als signifikant gewertet. Alle Analysen wurden mithilfe von SPSS 22 (IBM SPSS Statistics, Somers, NY, USA) und SAS 9.3 (SAS Institute, Cary, NC, USA) durchgeführt.

## **Richtlinien**

Bei der Rekrutierung der Patienten im Krankenhaus, der Anfertigung der Publikation „Admission prevalence of colonization with third-generation cephalosporin-resistant *Enterobacteriaceae* and subsequent infection rates in a German university hospital“ sowie der Verfassung dieser Dissertation wurde die „Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis vom 20.06.2012“ [37] eingehalten.

Für diese Studie liegt ein positives Ethikvotum der Ethikkommission der Charité – Universitätsmedizin Berlin (EA4/018/014) vor. Die Patienten wurden über die Studie informiert und willigten schriftlich in die Teilnahme ein.

### 3.3 Relevante Ergebnisse

Insgesamt wurden 4.013 Patienten in die Prävalenzstudie eingeschlossen. Von ursprünglich 4.168 Studienteilnehmern wurden 155 Patienten nachträglich aufgrund von Rektalabstrichen nach dem 3. Tag nach Krankenhausaufnahme, Rücknahme der Patienteneinwilligung und unvollständigen Daten ausgeschlossen. Das Durchschnittsalter der Patienten betrug 62 Jahre (IQA 50-73), die Hälfte aller Patienten war weiblich (50,3 %; n = 2.019).

#### Rektale 3GCREB-Kolonisation bei Krankenhausaufnahme

Bei Aufnahme ins Krankenhaus betrug die Prävalenz der rektalen Kolonisation mit 3GCREB 10,3 % (415 von 4.013 Patienten, 95 % Konfidenzintervall (CI) 9,4-11,3 %). Es waren 14 Patienten (0,3 %) der 415 3GCREB-positiven Patienten mit zwei verschiedenen 3GCREB-Stämmen besiedelt. Somit ergab sich eine Gesamtzahl von 429 3GCREB-Isolaten. Die am häufigsten identifizierte Erregerspezies unter den 3GCREB-Isolaten war *E. coli* (82,1 %, 352 von 429 3GCREB-Isolaten). Als zweithäufigste Spezies wurde *Klebsiella (K.) pneumoniae* (7,9 %, 34 Isolate), gefolgt von *Enterobacter* spp. (5,6 %, 24 Isolate), *Citrobacter* spp. (3,0 %, 13 Isolate), *Klebsiella oxytoca* (0,9 %, 4 Isolate) und *Hafnia alvei* (0,5 %, 2 Isolate) identifiziert. Die Produktion von ESBL konnte in 91,4 % der Fälle (392 von 429 Isolaten) nachgewiesen werden. Die meisten Isolate waren ausschließlich gegen 3GC resistent (61,5 %, 264 von 429 Isolaten). 37,3 % der Isolate (160 von 429 Isolaten) zeigten Resistenzen gegen 3GC und Fluorchinolone, nur 1,2 % der Isolate (5 von 429 Isolaten) eine zusätzliche Resistenz gegen Carbapeneme.

#### Inzidenzen nosokomialer Infektionen

Die Inzidenzen nosokomialer Infektionen wurden für alle Patienten mit einer Aufenthaltsdauer von > 3 Tagen berechnet und sind stratifiziert nach negativem und positivem 3GCREB-Besiedlungsstatus bei Krankenhausaufnahme in Tabelle 1 aufgeführt. Die durchschnittliche Dauer bis zum Auftreten einer nosokomialen Infektion betrug bei allen Patienten 10,5 Tage (6-17 Tage), bei Patienten mit 3GCREB-Kolonisation 9 Tage (IQA 6-18,5 Tage) und bei nicht 3GCREB-kolonisierten Patienten 10,5 Tage (6-16 Tage).



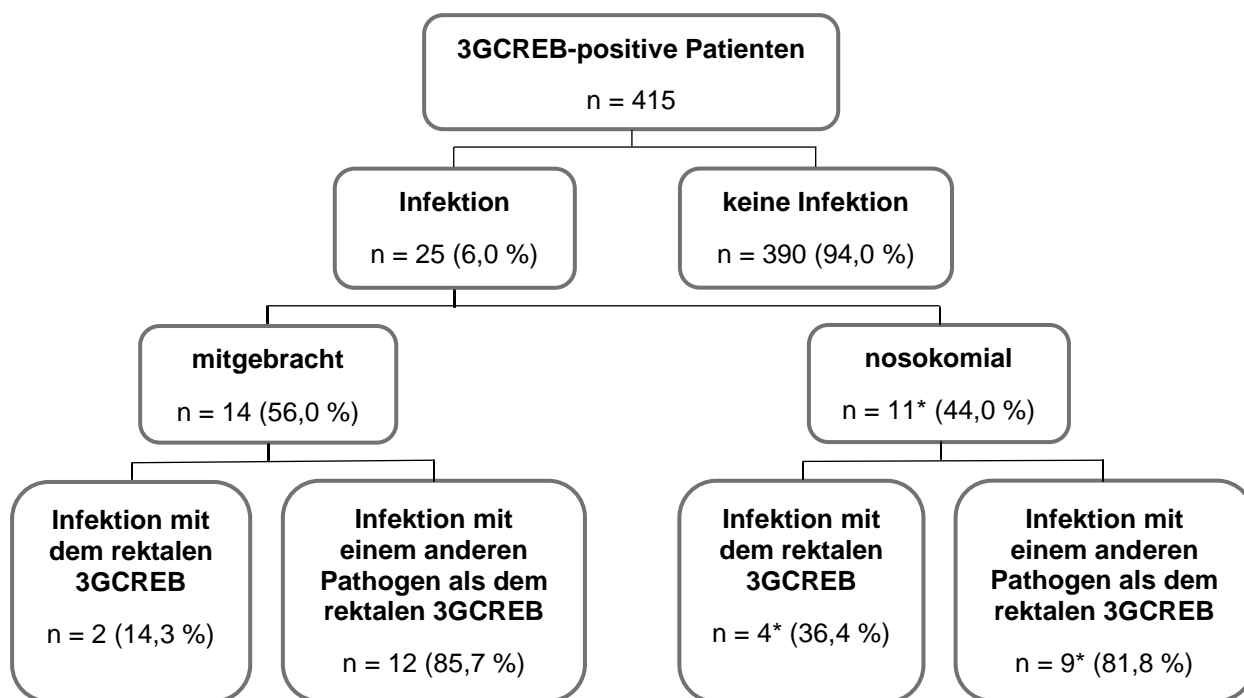
**Tabelle 1:** Infektionsinzidenzen (mit 95 % Konfidenzintervall) pro 100 Patienten bei 2.931 Patienten, die bei Krankenhausaufnahme auf eine 3GCREB-Kolonisation untersucht wurden und mit einer Aufenthaltsdauer von > 3 Tagen, stratifiziert nach positivem (n = 316) und negativem 3GCREB-Kolonisationsstatus (n = 2.615), 3GCREB-Prävalenzstudie, Berlin, Deutschland, 2014/2015. *Tabelle 1 wurde modifiziert nach Tabelle 2 der Publikation von Boldt et al. [33] (siehe Kapitel 7 Publikation).*

Parameter	3GCREB-Kolonisationsstatus bei Krankenhausaufnahme		P-Wert
	Negativ	Positiv	
Alle Infektionen	2,3 (1,8 – 3,0)	3,5 (2,0 – 6,1)	0,213
Infektionen mit dem rektalen 3GCREB		1,3 (0,5 – 3,2)	
Infektionen mit anderen Pathogenen (nicht dem rektalen 3GCREB)		2,9 (1,5 – 5,3)	

P-Werte wurden mithilfe des Chi-Quadrat-Tests berechnet.

### Infektionen bei 3GCREB-kolonisierten Patienten

In der publizierten Studie hatten 25 von 415 3GCREB-positiven Patienten (6,0 %) eine mitgebrachte Infektion oder entwickelten eine nosokomiale Infektion während des Krankenhausaufenthaltes (Abbildung 1). Es litten 6 (1,4 %) der 415 Patienten an Infektionen mit dem bei Krankenhausaufnahme rektal gefundenen 3GCREB und 21 Patienten (5,1 %) an Infektionen mit anderen bakteriellen Pathogenen als dem rektalen 3GCREB. Zwei dieser Patienten (0,5 %) hatten Infektionen, die höchstwahrscheinlich gleichzeitig durch den rektalen 3GCREB und andere Erreger verursacht wurden (Abbildung 1). Von den 25 3GCREB-besiedelten Patienten mit Infektionen haben 11 Patienten (44,0 %) die Infektion während ihres aktuellen Krankenhausaufenthaltes (> 3 Tage nach Aufnahme) erworben, darunter vier von ihnen mit dem rektalen 3GCREB, neun mit anderen Pathogenen. Das klinische Material von zwei dieser 3GCREB-positiven Patienten wurde gleichzeitig auf 3GCREB und andere Pathogene positiv getestet (Abbildung 1). Die durchschnittliche Dauer bis zum Auftreten der nosokomialen Infektion bei 3GCREB-besiedelten Patienten betrug 6 Tage (IQA 4,75-10,5 Tage) für Infektionen mit dem im Rektalabstrich gefundenen 3GCREB und 12 Tage (IQA 6,0-20,0 Tage) für Infektionen mit anderen Erregern. Die häufigsten Erreger, die neben dem rektalen 3GCREB in klinischen Materialien gefunden wurden, waren: *E. coli* mit Empfindlichkeit gegenüber 3GC, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* mit Empfindlichkeit gegenüber Vancomycin, VRE, *S. aureus* und *K. pneumoniae* mit Empfindlichkeit gegenüber 3GC.



\* das klinische Material von zwei 3GCREB-positiven Patienten wurde gleichzeitig auf 3GCREB und andere Pathogene positiv getestet.

**Abbildung 1: Übersicht der Infektionen bei 3GCREB-positiven Patienten, 3GCREB-Prävalenzstudie, Berlin, Deutschland, 2014/2015. Abbildung 1 wurde modifiziert nach Abbildung 2 der Publikation von Boldt et al. [33] (siehe Kapitel 7 Publikation).**

### **Infektionsarten bei 3GCREB-kolonisierten Patienten**

Patienten mit einer 3GCREB-Kolonisation wiesen am häufigsten Harnwegsinfektionen (12 von 25 Patienten; 48,0 %) auf, gefolgt von Blutstrominfektionen (6 von 25 Patienten; 24,0 %), intraabdominalen Infektionen (6 von 25 Patienten; 24,0 %) und einer Wundinfektion (1 Patient von 25 Patienten; 4,0 %).

### **Nachweis der Übereinstimmung von rektalen und klinischen Isolaten**

Ob die rektalen und klinischen Isolate eines Patienten identisch waren, wurde durch den Vergleich der Spezies, der Antibiotika-Resistogramme und, wenn möglich, durch Genotypisierung überprüft. Die Spezies und Antibiotogramme der rektalen und entsprechenden klinischen Isolate wurden bei 6 Patienten als übereinstimmend gewertet. Für zwei dieser Patienten wurden das rektale und klinische Isolat im Labor asserviert, was eine Genotypisierung ermöglichte. Diese ergab, dass die Bakterienstämme der klinischen Proben (Urin, Blut) und die der jeweiligen rektalen 3GCREB bei beiden Patienten identisch waren.

## Risikofaktorenanalyse für die Kolonisation mit 3GCREB

Ein Auszug der statistisch signifikanten Ergebnisse des univariablen Vergleichs zwischen Patienten mit positivem und negativem 3GCREB-Aufnahmescreening ist in Tabelle 2 dargestellt. Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse, dass Patienten, die bei Krankenhausaufnahme mit 3GCREB besiedelt waren, signifikant häufiger männlich waren (56,9 % versus 49,2 %,  $P = 0,003$ ), bei Aufnahme Antibiotika nahmen (21,4 % versus 15,5 %,  $P = 0,002$ ) und zuvor mit MRE kolonisiert oder infiziert waren (10,1 % versus 4,5 %,  $P < 0,001$ ). Außerdem nahmen 3GCREB-positive Patienten in den vergangenen 6 Monaten häufiger Antibiotika ein (3,9 % versus 2,9 %,  $P < 0,001$ ), reisten außerhalb Europas (16,1 % versus 7,5 %,  $P < 0,001$ ), wurden in ein deutsches Krankenhaus aufgenommen (38,3 % versus 31,6 %,  $P = 0,012$ ), hielten sich in einem Pflegeheim auf (9,2 % versus 8,0 %,  $P = 0,024$ ) und wurden aufgrund einer gastroösophagealen Refluxkrankheit mit Antazida oder Protonenpumpenhemmer behandelt (43,6 % versus 38,6 %,  $P = 0,048$ ). Patienten mit rektaler 3GCREB-Besiedlung lebten signifikant häufiger in Friedrichshain-Kreuzberg (5,8 % versus 2,7 %,  $P < 0,001$ ) und Mitte (13,7 % versus 9,7 %,  $P = 0,010$ ), aber seltener außerhalb Berlins (18,8 % versus 24,3 %,  $P = 0,012$ ). Abbildung 2 veranschaulicht die nach Wohnort in Berliner Stadtbezirken stratifizierte Prävalenzen der rektalen Besiedlung mit 3GCREB bei Aufnahme in die Charité – Universitätsmedizin Berlin.

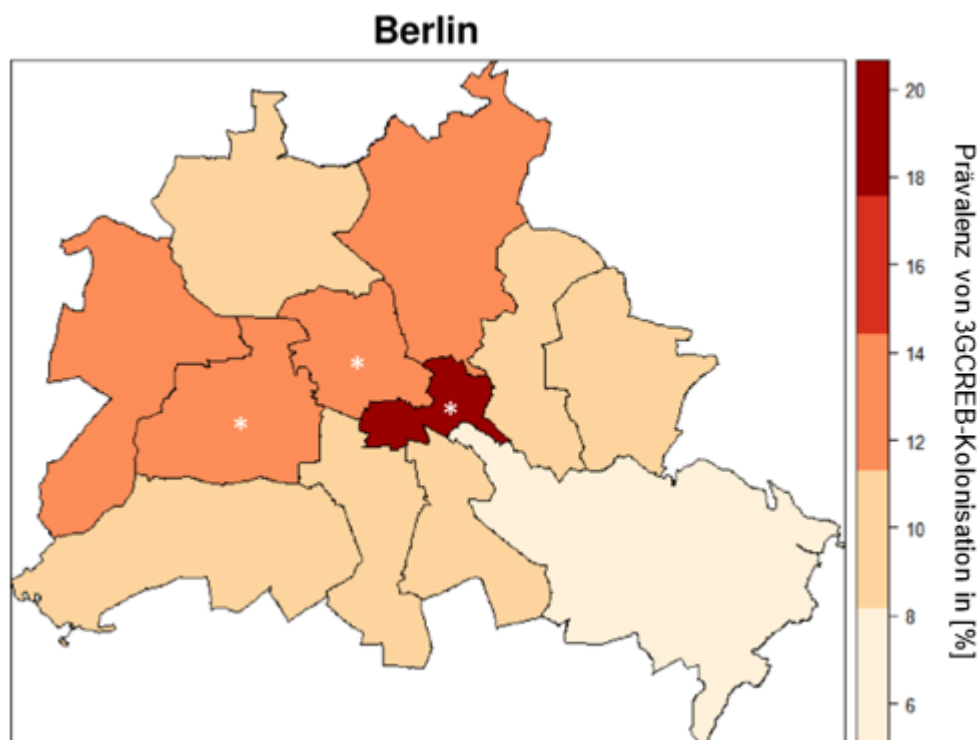
**Tabelle 2:** Auszug aus der deskriptiven Analyse von 4.013 auf 3GCREB-Kolonisation bei Krankenhausaufnahme untersuchten Patienten stratifiziert nach positivem und negativem Kolonisationsstatus, 3GCREB Prävalenzstudie, Berlin, Deutschland, 2014/2015. *Tabelle 2 wurde modifiziert nach Tabelle 3 und S2 der Publikation von Boldt et al. [33] (siehe Kapitel 7 Publikation).*

Parameter	Kategorie	3GCREB-Status		Prävalenz pro 100 Patienten	P-Wert
		Negativ	Positiv		
Patienten		3598 (100 %)	415 (100 %)	10,3	
Geschlecht	Männlich	1770 (49,2 %)	236 (56,9 %)	11,8	0,003*
Vorherige MRE-Kolonisation / MRE-Infektion	Unbekannt	119 (3,3 %)	17 (4,1 %)	12,5	< 0,001*
	Ja	162 (4,5 %)	42 (10,1 %)	20,6	
	Nein	3317 (92,2 %)	356 (85,8 %)	9,7	

<b>Antibiotika-Einnahme<sup>1</sup></b>	Unbekannt	106 (2,9 %)	16 (3,9 %)	13,1	< 0,001*
	Ja	1053 (29,3 %)	188 (45,3 %)	15,1	
	Nein	2439 (67,8 %)	211 (50,8 %)	8,0	
<b>Reisen außerhalb Europas<sup>1</sup></b>	Unbekannt	27 (0,8 %)	5 (1,2 %)	15,6	< 0,001*
	Ja	269 (7,5 %)	67 (16,1 %)	19,9	
	Nein	3302 (91,8 %)	343 (82,7 %)	9,4	
<b>Wohnsitz (Berliner Bezirk)<sup>2</sup></b>	Charlottenburg-Wilmersdorf	257 (7,1 %)	40 (9,6 %)	13,5	0,066
	Friedrichshain-Kreuzberg	98 (2,7 %)	24 (5,8 %)	19,7	0,001*
	Lichtenberg	81 (2,3 %)	8 (1,9 %)	9,0	0,672
	Marzahn-Hellersdorf	86 (2,4 %)	9 (2,2 %)	9,5	0,779
	Mitte	350 (9,7 %)	57 (13,7 %)	14,0	0,010*
	Neukölln	176 (4,9 %)	18 (4,3 %)	9,3	0,618
	Nicht-Berlin	876 (24,3 %)	78 (18,8 %)	8,2	0,012*
	Pankow	159 (4,4 %)	24 (5,8 %)	13,1	0,207
	Reinickendorf	216 (6,0 %)	22 (5,3 %)	9,2	0,566
	Spandau	94 (2,6 %)	12 (2,9 %)	11,3	0,737
	Steglitz-Zehlendorf	643 (17,9 %)	67 (16,1 %)	9,4	0,383
	Tempelhof-Schöneberg	427 (11,9 %)	47 (11,3 %)	9,9	0,746
	Treptow-Köpenick	125 (3,5 %)	8 (1,9 %)	6,0	0,096
	Unbekannt	10 (0,3 %)	1 (0,2 %)	9,1	> 0,999
<b>Aufnahmestation<sup>2</sup></b>	Allgemeinchirurgie	81 (2,3 %)	10 (2,4 %)	11,0	0,837
	Gastroenterologie	603 (16,8 %)	80 (19,3 %)	11,7	0,196
	Gefäßchirurgie	211 (5,9 %)	25 (6,0 %)	10,6	0,896
	Gynäkologie	104 (2,9 %)	14 (3,4 %)	11,9	0,581
	Hämatologie/ Onkologie	159 (4,4 %)	27 (6,5 %)	14,5	0,056
	Interdisziplinäre Stationen	71 (2,0 %)	10 (2,4 %)	12,3	0,550
	Kardiologie	666 (18,5 %)	62 (14,9 %)	8,5	0,074
	Mund-Kiefer- Gesichtschirurgie	237 (6,6 %)	31 (7,5 %)	11,6	0,495
	Neurochirurgie	150 (4,2 %)	18 (4,3 %)	10,7	0,871
	Neurologie	331 (9,2 %)	32 (7,7 %)	8,8	0,317

	Orthopädie	309 (8,6 %)	43 (10,4 %)	12,2	0,227
	Strahlentherapie	37 (1,0 %)	3 (0,7 %)	7,5	0,553
	Transplantations- chirurgie	35 (1,0 %)	8 (1,9 %)	18,6	0,074
	Unfallchirurgie	599 (16,6 %)	51 (12,3 %)	7,8	0,022*
	Andere	5 (0,1 %)	1 (0,2 %)	16,7	0,611

MRE – Multiresistente Erreger. <sup>1</sup> während der vergangenen 6 Monate. <sup>2</sup> Die Parameter Wohnsitz und Aufnahmestation wurden dummy-kodiert. P-Werte wurden mithilfe des Chi-Quadrat-Tests oder des Fisher's-Exakt-Tests berechnet. P-Werte  $\leq 0,05$  wurden als signifikant festgelegt (\*). Die Kategorie „Andere“ in Aufnahmestation beinhaltet die Stationen Nephrologie und Urologie.



**Abbildung 2:** Vergleich der Prävalenz (in %) von 3GCREB-Kolonisation der Patienten bei Krankenhausaufnahme stratifiziert nach Berliner Bezirken. Sternchen weisen auf Bezirke mit signifikant erhöhter 3GCREB-Prävalenz im Vergleich zu anderen Bezirken hin (multivariable logistische Regressionsanalyse). 3GCREB Prävalenzstudie, Berlin, Deutschland, 2014/2015. *Abbildung 2 wurde modifiziert nach Abbildung 3 der Publikation von Boldt et al. [33] (siehe Kapitel 7 Publikation).*

Das finale multivariable logistische Regressionsmodell identifizierte unabhängige Risikofaktoren für die rektale Besiedlung mit 3GCREB bei Krankenhausaufnahme. Die signifikanten Ergebnisse der multivariablen Analyse sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

Unabhängige medizinische bzw. mit dem Gesundheitssystem assoziierte Risikofaktoren waren vorherige Kolonisation/Infektion mit MRE, Behandlung mit Antibiotika in den vergangenen 6 Monaten und männliches Geschlecht. Als protektive Faktoren, die mit einem reduzierten Risiko für eine 3GCREB-Besiedlung assoziiert waren, konnten die Aufnahme in eine kardiologische oder unfallchirurgische Abteilung identifiziert werden. Weitere unabhängige regionale bzw. kulturelle Risikofaktoren waren Reisen außerhalb Europas während der vergangenen 6 Monate sowie Wohnorte in den Berliner Stadtbezirken Charlottenburg-Wilmersdorf, Mitte und Friedrichshain-Kreuzberg.

**Tabelle 3:** Ergebnisse der multivariablen logistischen Regressionsanalyse von 4.013 Patienten zur Identifizierung von Risikofaktoren einer 3GCREB-Kolonisation, 3GCREB Prävalenzstudie, Berlin, Deutschland, 2014/2015. *Tabelle 3 wurde modifiziert nach Tabelle 4 der Publikation von Boldt et al. [33] (siehe Kapitel 7 Publikation).*

Parameter	Kategorie	Odds Ratio	95 % Konfidenzintervall	P-Wert
<b>Geschlecht</b>	Weiblich	1 = Referenz		
	Männlich	1,38	1,12 – 1,70	0,003
<b>Vorherige MRE-Kolonisation / MRE-Infektion</b>	Nein	1 = Referenz		
	Unbekannt	1,13	0,66 – 1,93	
	Ja	2,30	1,59 – 3,32	0,001
<b>Antibiotika-Einnahme<sup>1</sup></b>	Nein	1 = Referenz		
	Unbekannt	1,56	0,89 – 2,74	
	Ja	1,97	1,59 – 2,45	0,005
<b>Reisen außerhalb Europas<sup>1</sup></b>	Nein	1 = Referenz		
	Unbekannt	1,60	0,60 – 4,29	
	Ja	2,39	1,77 – 3,22	0,028
<b>Wohnsitz (Berliner Bezirk)</b>	Nicht-Charlottenburg-Wilmersdorf, Nicht-Friedrichshain-Kreuzberg, Nicht-Mitte	1 = Referenz		
	Charlottenburg-Wilmersdorf	1,52	1,06 – 2,18	0,024
	Friedrichshain-Kreuzberg	2,32	1,44 – 3,74	0,001
	Mitte	1,73	1,26 – 2,36	0,001

<b>Aufnahmestation</b>	Nicht-Kardiologie, Nicht-Unfallchirurgie	1 = Referenz		
	Kardiologie	0,73	0,55 – 0,98	0,037
	Unfallchirurgie	0,67	0,48 – 0,91	0,012

MRE – Multiresistente Erreger. <sup>1</sup> während der letzten 6 Monate. P-Werte ≤ 0,05 sind signifikant.

### 3.4 Diskussion

In dieser Arbeit wurde eine hohe Prävalenz (> 10 %) der rektalen Kolonisation mit 3GCREB bei Aufnahme in die Charité – Universitätsmedizin Berlin festgestellt, während sich nur bei wenigen (6 %) der 3GCREB-besiedelten Patienten Infektionen nachweisen ließen. Die Inzidenz nosokomialer Infektionen bei 3GCREB-positiven Patienten war niedrig und unterschied sich nicht signifikant von der Infektionsinzidenz 3GCREB-negativer Patienten (3,5 / 100 Patienten versus 2,3 / 100 Patienten). Unabhängige Risikofaktoren für eine 3GCREB-Kolonisation waren vorherige Besiedlung/Infektion mit MRE, vorherige antibiotische Therapie, männliches Geschlecht, vorherige Reisen außerhalb Europas und Wohnsitze in den Berliner Bezirken Charlottenburg-Wilmersdorf, Friedrichshain-Kreuzberg und Mitte.

#### **Prävalenz von 3GCREB-Kolonisation und nachfolgende Infektionen bei Krankenhausaufnahme**

Eine ebenso hohe Prävalenz der rektalen 3GCREB-Besiedlung von Patienten bei Krankenhausaufnahme in deutsche Universitätskliniken wiesen mit 9,5 % kürzlich Hamprecht und Kollegen nach [6]. Außerdem publizierten Valenza et al. 2014 und Idelevich et al. 2016, dass 7 % der deutschen Allgemeinbevölkerung mit ESBL-E kolonisiert sind [7, 8]. Weltweit ist ein steigender Trend der Zahlen zur Verbreitung von 3GCREB bzw. ESBL-E zu beobachten [1-4], was die höhere Prävalenz dieser Arbeit hervorhebt. Darüber hinaus ist anzunehmen, dass die im Vergleich zu Patienten bei Krankenhausaufnahme gesündere Allgemeinbevölkerung seltener Antibiotika einnahm. Dies ist ein möglicher Grund für die niedrigere Prävalenz in der Allgemeinbevölkerung, da die Therapie mit Antibiotika einen entscheidenden Risikofaktor für eine Besiedlung mit 3GCREB bzw. ESBL-E darstellt [6, 19, 22-24]. Mehr als 90 % der 3GCREB-Isolate in dieser Arbeit zeigten eine ESBL-Produktion, in mehr als 80 % der Fälle wurde *E. coli* identifiziert. Aus diesem Grund sind Studien zu ESBL-E und ESBL-*E. coli* zum Vergleich

geeignet. Die Literatur zu Infektionsraten bei 3GCREB- bzw. ESBL-E-kolonisierten Patienten in Deutschland ist rar. Internationale Studien zeigten stark variierende Infektionsinzidenzen. So berichtete eine französische Studie, dass 7,8 % der Patienten mit ESBL-*E. coli*-Kolonisation eine anschließende Infektion mit ESBL-*E. coli* erlitten [18]. Weitere Studien auf zwei französischen und einer amerikanischen Intensivstation ergaben, dass 4 %, 8,5 % bzw. 20 % der ESBL-E-besiedelten Patienten eine spätere Infektion mit ESBL-E entwickelten [19-21]. Eine kleinere Studie in Israel stellte bei 15 % der mit ESBL-E kolonisierten Patienten eine nachfolgende Bakteriämie mit Ceftazidim-resistenten Enterobakterien fest [17]. Die vergleichsweise niedrigen Infektionsraten in dieser Arbeit lassen sich vermutlich anhand des Patientenkollektivs erklären. Patienten mit hohem Infektionsrisiko (Intensivpatienten) wurden laut Studienprotokoll ausgeschlossen, während hämatologische/onkologische Patienten, die ebenfalls ein hohes Infektionsrisiko haben, weniger als 5 % der Studienteilnehmer darstellten. Darüber hinaus willigten die Studienteilnehmer freiwillig ein, an dieser Untersuchung teilzunehmen. Hierzu sind eher Patienten mit einem besseren Gesundheitszustand in der Lage. In Westschweden konnten kürzlich Lindblom und Kollegen nachweisen, dass sie bei 94 % der auf ESBL-E positiv untersuchten Stuhlproben von Patienten im weiteren Verlauf keine ESBL-E-positiven klinischen Proben erhielten und sich somit kein Anhalt für eine Infektion mit ESBL-E ergab [38]. Dies unterstützt die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit.

### **Risikofaktoren für eine 3GCREB-Kolonisation bei Krankenhausaufnahme**

Bekannte Risikofaktoren für eine Kolonisation mit 3GCREB bzw. ESBL-E, wie vorangegangene antibiotische Behandlungen und frühere Kolonisation oder Infektion mit MRE [6], konnten auch in dieser Arbeit identifiziert werden. Neben den Risikofaktoren aus dem medizinischen Bereich bestätigte die Arbeit einen weiteren sehr bedeutenden Risikofaktor, das Reisen außerhalb Europas [8, 22, 26, 27]. Insbesondere Aufenthalte in Südostasien und Indien werden signifikant häufiger mit einer ESBL-E-Besiedlung assoziiert, vermutlich aufgrund der dort vorherrschenden hohen Prävalenz [8, 22, 26, 27]. Darüber hinaus konnte wie in anderen Studien gezeigt werden, dass eine 3GCREB-Besiedlung mit dem männlichen Geschlecht assoziiert ist [17, 25, 39]. Wohnsitze in Charlottenburg-Wilmersdorf, Friedrichshain-Kreuzberg und Mitte konnten in der vorliegenden Arbeit erstmals als signifikante, unabhängige Risikofaktoren für eine Besiedlung mit 3GCREB identifiziert werden. Eine mögliche Ursache dieser Beobachtung



könnte sein, dass sich die Bezirke im Zentrum von Berlin ohne Grenzen zum umliegenden Land Brandenburg befinden und die Bezirke die höchste Bevölkerungs- und Verkehrsdichte pro Hektar besitzen [40]. Kürzlich wurde berichtet, dass das Leben in Paris mit einem erhöhten Risiko für den Erwerb einer ESBL-E-Kolonisation verbunden ist [31]. Es ist zu vermuten, dass eine Transmission von 3GCREB in städtischen Bereichen mit häufiger Exposition gegenüber 3GCREB wie z. B. in Supermärkten, öffentlichen Verkehrsmitteln oder durch bestimmte Ernährungsgewohnheiten wahrscheinlicher ist. Die Spearman-Korrelation zeigte eine starke Korrelation zwischen 3GCREB-Prävalenz und der Bevölkerungsdichte ( $r = 0,62$ ,  $P = 0,033$ ) [40]. Im Gegensatz dazu konnte keine signifikante Korrelation zwischen der hohen 3GCREB-Prävalenz und Haushalten mit  $\geq 4$  Personen ( $r = 0,36$ ,  $P = 0,245$ ) oder einem hohen Ausländeranteil aus der östlichen Mittelmeerregion ( $r = 0,22$ ,  $P = 0,484$ ) gefunden werden [40]. Schlussfolgerungen bezüglich einer kausalen Beziehung zwischen 3GCREB-Kolonisation und Bevölkerungsdichte erlauben die hier vorliegenden Ergebnisse nicht. Allerdings werden regionale sowie kulturelle Risikofaktoren immer häufiger diskutiert. Wie in der Einführung erläutert, gelten beispielsweise eine asiatische Muttersprache und ein aus der Region Mittlerer Osten / Südostasien (MESA) stammender Nachname als Risikofaktoren für eine rektale Besiedlung mit ESBL-E [30, 32]. Dazu kommt der Verzehr von Schweine- und Hühnerfleisch, der häufig in Studien als möglicher Übertragungsweg von ESBL-E angebracht wird [8, 28-30]. Folglich ist die Transmission von 3GCREB multifaktoriell und sehr komplex, was weitere Studien zu diesem Thema notwendig macht.

### **Schlussfolgerung für die Klinik**

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass die vorliegende Arbeit eine hohe Prävalenz rektaler 3GCREB-Besiedlung bei Nicht-Intensivpatienten zum Zeitpunkt der Aufnahme in die Charité – Universitätsmedizin Berlin nachwies, während die Infektionsinzidenz bei diesen 3GCREB-positiven Patienten niedrig war. Die Infektionsinzidenz 3GCREB-positiver Patienten unterschied sich nicht signifikant von der Infektionsinzidenz 3GCREB-negativer Patienten. Folglich ist eine rektale 3GCREB-Kolonisation bei Krankenhausaufnahme für Nicht-Intensivpatienten eher von geringer klinischer Relevanz.

## Limitationen und Stärken

Die vorliegende Arbeit enthält Limitationen. Zum einen handelt es sich um eine monozentrische Analyse und Schlussfolgerungen können lediglich begrenzt auf andere Krankenhäuser der tertiären Versorgungsstufe übertragen werden. Nichtsdestotrotz lag der mediane Krankheitsschwereindex (Charlson-Comorbidity-Index, CCI) der untersuchten Kohorte bei 3 (IQA 1-5) und ist damit mit anderen Patientenkohorten von Nicht-Intensivstationen deutscher Universitätskliniken vergleichbar, bei denen CCIs abhängig von den vorliegenden Grunderkrankungen zwischen 2 und 5,6 berichtet wurden [30, 41, 42]. Somit ist anzunehmen, dass Schlussfolgerungen aus den vorliegenden Ergebnissen ebenfalls für andere Patientenkohorten von Nicht-Intensivstationen deutscher Universitätskliniken zutreffend sind. Weiterhin wurden die elektronischen Patientenakten durch zwei unabhängig voneinander recherchierende Mitarbeiter auf Infektionen untersucht. Aufgrund unvollständiger Dokumentation des behandelnden Arztes oder fehlender Abnahme von klinischem Material könnten Infektionen nicht erfasst und die Infektionsinzidenz folglich unterschätzt worden sein. Zudem wurde die Recherche nach Infektionen nach dem Entlassungsdatum nicht weiter durchgeführt, sodass eine mögliche Infektion nach Entlassung nicht erfasst wurde. Anhand eines Vergleiches der Antibiogramme von rektalem und klinischem 3GCREB-Isolat wurde analysiert, ob die Isolate übereinstimmten und es sich um denselben Erreger handelte. Leider waren rektale und entsprechende klinische Isolate für nur zwei von sechs 3GCREB-kolonisierten Patienten mit 3GCREB-Infektion verfügbar für die Genotypisierung. Jedoch konnte die Übereinstimmung der Isolate in beiden Fällen mittels PCR verifiziert werden. Folglich könnte die niedrige Infektionsrate von 3GCREB sogar überschätzt sein. Darüber hinaus zeigten die hier dargestellten Ergebnisse, dass zwei von sechs 3GCREB-positiven Patienten mit einer 3GCREB-Infektion gleichzeitig eine Infektion mit VRE *faecium* hatten. Steigende Zahlen zu Ko-Infektionen bei Patienten mit mehr als einem MRE wie MRSA, VRE und ESBL-E wurden zuvor bereits berichtet [43]. In solchen Fällen kann der ursächliche Erreger der Infektion nicht ermittelt werden. Deswegen wurde solch eine Infektion einerseits als Infektion mit 3GCREB und andererseits als Infektion mit anderen Erregern gezählt. Dies könnte zu einer Überschätzung der 3GCREB-Infektionsrate geführt haben. Allerdings ändert dies nichts an den Schlussfolgerungen der Arbeit. Bezüglich der Definition von nosokomialen Infektionen in dieser Arbeit ist anzumerken, dass sie sich lediglich auf den aktuellen

Krankenhausaufenthalt bezog. Vorherige Aufenthalte im Krankenhaus oder einer anderen Gesundheitseinrichtung mit einem dortigen Erwerb einer Infektion, die in der Studie beim untersuchten Krankenhausaufenthalt jedoch als ambulant erworben gezählt wurde, sind nicht auszuschließen.

Stärken der Arbeit sind die hohe Zahl an Studienteilnehmern und der lange Erfassungszeitraum über zwei aufeinanderfolgende Jahre (2014 und 2015), jeweils zur selben Jahreszeit (April/Mai bis September). Die teilnehmenden Stationen waren in beiden Jahren dieselben. Des Weiteren behandelte diese Arbeit alle 3GCREB-Spezies und fokussierte sich nicht allein auf *E. coli* oder schloss ESBL-negative Enterobakterien aus. Mit dieser Arbeit liegt eine sehr umfangreiche Analyse von Risikofaktoren für die Kolonisation mit 3GCREB vor, die nicht nur Risikofaktoren innerhalb des medizinischen Bereiches, sondern auch innerhalb der Gesellschaft untersuchte. Nach aktuellem Wissensstand ist diese Arbeit die erste Prävalenzstudie mit Berechnung der Infektionsinzidenzen für Nicht-Intensivpatienten stratifiziert nach ihrem 3GCREB-Kolonisationsstatus bei Krankenhausaufnahme.

### **Ausblick**

Die Epidemiologie der Kolonisation mit 3GCREB ist noch immer nicht vollständig verstanden. Dies betrifft insbesondere Risikofaktoren außerhalb des medizinischen Bereiches. Für ein besseres Verständnis der Risikofaktoren innerhalb der Gesellschaft sowie des Zusammenspiels verschiedener Risikofaktoren sind weitere Studien auf diesem Gebiet erforderlich. Diese Studien sollten auch molekulare Analysen der 3GCREB-Isolate, z. B. durch Ganzgenom-Sequenzierung einschließen, um die Epidemiologie und Quellen dieser weit verbreiteten MRE besser zu verstehen.

### 3.5 Literaturverzeichnis

1. Bertrand X, Dowzicky MJ. Antimicrobial susceptibility among gram-negative isolates collected from intensive care units in North America, Europe, the Asia-Pacific Rim, Latin America, the Middle East, and Africa between 2004 and 2009 as part of the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial. *Clinical therapeutics*. 2012 Jan;34(1):124-37.
2. Hawkey PM, Jones AM. The changing epidemiology of resistance. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2009 Sep;64 Suppl 1:i3-10.
3. Woerther PL, Burdet C, Chachaty E, Andremont A. Trends in human fecal carriage of extended-spectrum beta-lactamases in the community: toward the globalization of CTX-M. *Clinical microbiology reviews*. 2013 Oct;26(4):744-58.
4. Köck R, Cuny C. [Multidrug-resistant bacteria in animals and humans]. *Medizinische Klinik, Intensivmedizin und Notfallmedizin*. 2018 Oct 1.
5. Suerbaum S, Hornef M, Karch H. Enterobakterien. In: Suerbaum S, Burchard GD, Kaufmann S, Schulz T (eds) *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. Springer-Lehrbuch. Springer, Berlin, Heidelberg. 2016.
6. Hamprecht A, Rohde AM, Behnke M, Feihl S, Gastmeier P, Gebhardt F, Kern WV, Knobloch JK, Mischnik A, Obermann B, Querbach C, Peter S, Schneider C, Schroder W, Schwab F, Tacconelli E, Wiese-Posselt M, Wille T, Willmann M, Seifert H, Zweigler J. Colonization with third-generation cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae on hospital admission: prevalence and risk factors. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2016 Oct;71(10):2957-63.
7. Valenza G, Nickel S, Pfeifer Y, Eller C, Krupa E, Lehner-Reindl V, Holler C. Extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* as intestinal colonizers in the German community. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2014;58(2):1228-30.
8. Idelevich EA, Lanckohr C, Horn D, Wieler LH, Becker K, Köck R. [Multidrug-resistant bacteria in Germany. The impact of sources outside healthcare facilities]. *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz*. 2016 Jan;59(1):113-23.
9. Denis B, Lafaurie M, Donay JL, Fontaine JP, Oksenhendler E, Raffoux E, Hennequin C, Allez M, Socie G, Maziers N, Porcher R, Molina JM. Prevalence, risk factors, and impact on clinical outcome of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* bacteraemia: a five-year study. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*. 2015 Oct;39:1-6.
10. Schwaber MJ, Carmeli Y. Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2007 Nov;60(5):913-20.
11. Trecarichi EM, Cauda R, Tumbarello M. Detecting risk and predicting patient mortality in patients with extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae bloodstream infections. *Future microbiology*. 2012 Oct;7(10):1173-89.
12. de Kraker ME, Jarlier V, Monen JC, Heuer OE, van de Sande N, Grundmann H. The changing epidemiology of bacteraemias in Europe: trends from the European Antimicrobial Resistance Surveillance System. *Clin Microbiol Infect*. 2013 Sep;19(9):860-8.
13. Meyer E, Schroder C, Gastmeier P, Geffers C. The reduction of nosocomial MRSA infection in Germany: an analysis of data from the Hospital Infection Surveillance System (KISS) between 2007 and 2012. *Deutsches Arzteblatt international*. 2014 May 9;111(19):331-6.
14. Rottier WC, Ammerlaan HS, Bonten MJ. Effects of confounders and intermediates on the association of bacteraemia caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae and patient outcome: a meta-analysis. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2012 Jun;67(6):1311-20.

15. Tumbarello M, Spanu T, Di Bidino R, Marchetti M, Ruggeri M, Trecarichi EM, De Pascale G, Proli EM, Cauda R, Cicchetti A, Fadda G. Costs of bloodstream infections caused by *Escherichia coli* and influence of extended-spectrum-beta-lactamase production and inadequate initial antibiotic therapy. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2010 Oct;54(10):4085-91.
16. Leistner R, Bloch A, Sakellariou C, Gastmeier P, Schwab F. Costs and length of stay associated with extended-spectrum beta-lactamase production in cases of *Escherichia coli* bloodstream infection. *Journal of global antimicrobial resistance*. 2014 Jun;2(2):107-9.
17. Ben-Ami R, Schwaber MJ, Navon-Venezia S, Schwartz D, Giladi M, Chmelnitsky I, Leavitt A, Carmeli Y. Influx of extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae into the hospital. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2006 Apr 01;42(7):925-34.
18. Goulenok T, Ferroni A, Bille E, Lecuyer H, Join-Lambert O, Descamps P, Nassif X, Zahar JR. Risk factors for developing ESBL *E. coli*: can clinicians predict infection in patients with prior colonization? *J Hosp Infect*. 2013 Aug;84(4):294-9.
19. Razazi K, Derde LP, Verachten M, Legrand P, Lesprit P, Brun-Buisson C. Clinical impact and risk factors for colonization with extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in the intensive care unit. *Intensive care medicine*. 2012 Nov;38(11):1769-78.
20. Reddy P, Malczynski M, Obias A, Reiner S, Jin N, Huang J, Noskin GA, Zembower T. Screening for extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae among high-risk patients and rates of subsequent bacteremia. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2007 Oct 01;45(7):846-52.
21. Vodovar D, Marcade G, Rousseau H, Raskine L, Vicaut E, Deye N, Baud FJ, Megarbane B. Predictive factors for extended-spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae causing infection among intensive care unit patients with prior colonization. *Infection*. 2014 Aug;42(4):743-8.
22. Karanika S, Karantanos T, Arvanitis M, Grigoras C, Mylonakis E. Fecal Colonization With Extended-spectrum Beta-lactamase-Producing Enterobacteriaceae and Risk Factors Among Healthy Individuals: A Systematic Review and Metaanalysis. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2016 Aug 1;63(3):310-8.
23. Robert Koch-Institut (RKI). [Hygiene measures for infection or colonization with multidrug-resistant gram-negative bacilli. Commission recommendation for hospital hygiene and infection prevention (KRINKO) at the Robert Koch Institute (RKI)]. *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz*. 2012 Oct;55(10):1311-54.
24. Tseng WP, Chen YC, Yang BJ, Chen SY, Lin JJ, Huang YH, Fu CM, Chang SC, Chen SY. Predicting Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacterial Colonization and Associated Infection on Hospital Admission. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2017 Oct;38(10):1216-25.
25. Platteel TN, Leverstein-van Hall MA, Cohen Stuart JW, Thijsen SF, Mascini EM, van Hees BC, Scharringa J, Fluit AC, Bonten MJ. Predicting carriage with extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria at hospital admission: a cross-sectional study. *Clin Microbiol Infect*. 2015 Feb;21(2):141-6.
26. Kuenzli E, Jaeger VK, Frei R, Neumayr A, DeCrom S, Haller S, Blum J, Widmer AF, Furrer H, Battegay M, Endimiani A, Hatz C. High colonization rates of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* in Swiss travellers to South Asia- a prospective observational multicentre cohort study looking at epidemiology, microbiology and risk factors. *BMC infectious diseases*. 2014 Oct 01;14:528.
27. Lübbert C, Straube L, Stein C, Makarewicz O, Schubert S, Mössner J, Pletz MW, Rodloff AC. Colonization with extended-spectrum beta-lactamase-producing and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in international travelers returning to Germany. *International journal of medical microbiology : IJMM*. 2015 Jan;305(1):148-56.
28. de Been M, Lanza VF, de Toro M, Scharringa J, Dohmen W, Du Y, Hu J, Lei Y, Li N, Tooming-Klunderud A, Heederik DJ, Fluit AC, Bonten MJ, Willems RJ, de la Cruz F, van Schaik W. Dissemination of cephalosporin resistance genes between *Escherichia coli* strains from farm animals and humans by specific plasmid lineages. *PLoS genetics*. 2014 Dec;10(12):e1004776.

29. Evers EG, Pielaat A, Smid JH, van Duijkeren E, Vennemann FB, Wijnands LM, Chardon JE. Comparative Exposure Assessment of ESBL-Producing *Escherichia coli* through Meat Consumption. *PLoS one*. 2017;12(1):e0169589.
30. Leistner R, Meyer E, Gastmeier P, Pfeifer Y, Eller C, Dem P, Schwab F. Risk factors associated with the community-acquired colonization of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) positive *Escherichia coli*. an exploratory case-control study. *PLoS one*. 2013;8(9):e74323.
31. Pilmis B, Cattoir V, Lecointe D, Limelette A, Grall I, Mizrahi A, Marcade G, Poilane I, Guillard T, Bourgeois Nicolaos N, Zahar JR, Le Monnier A. Carriage of ESBL-producing Enterobacteriaceae in French hospitals: the PORTABLESE study. *J Hosp Infect*. 2018 Mar;98(3):247-52.
32. Wickramasinghe NH, Xu L, Eustace A, Shabir S, Saluja T, Hawkey PM. High community faecal carriage rates of CTX-M ESBL-producing *Escherichia coli* in a specific population group in Birmingham, UK. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2012 May;67(5):1108-13.
33. Boldt A-C, Schwab F, Rohde AM, Kola A, Bui MT, Martin N, Kipnis M, Schröder C, Leistner R, Wiese-Posselt M, Zweigner J, Gastmeier P, Denkel LA. Admission prevalence of colonization with third-generation cephalosporin-resistant *Enterobacteriaceae* and subsequent infection rates in a German university hospital. *PLoS one*. 2018 Aug 1;13(8):e0201548.
34. World Health Organization. About WHO - WHO regional offices. [Internet] 2019 [cited 2019 Jan 13]; Available from: <https://www.who.int/about/regions/en/>
35. Giske CG, Martinez-Martinez L, Cantón R, Stefani S, Skov R, Glupczynski Y, Nordmann P, Wootton M, Miriagou V, Skov Simonsen G, Zemlickova H, Cohen-Stuart J, Gniadkowski M. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. Version 1.0. [Internet] 2013 [cited 2019 Jan 13]; Available from: [http://www.eucast.org/resistance\\_mechanisms/](http://www.eucast.org/resistance_mechanisms/)
36. Dean AG, Sullivan KM, Soe MM. OpenEpi: Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health, Version 3.01. [Internet] n.d. 2013 Apr 6 [cited 2019 Jan 13]; Available from: [www.OpenEpi.com](http://www.OpenEpi.com)
37. Charité – Universitätsmedizin Berlin. Neufassung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis vom 20.06.2012 (AMB Charité Nr. 092, S. 658). [Internet] 2018 [cited 2019 Feb 3]; Available from: [https://www.charite.de/fileadmin/user\\_upload/portal/charite/presse/publikationen/amt-mitteilungsblatt/2018/AMB180329-208.pdf](https://www.charite.de/fileadmin/user_upload/portal/charite/presse/publikationen/amt-mitteilungsblatt/2018/AMB180329-208.pdf)
38. Lindblom A, Karami N, Magnusson T, Ahren C. Subsequent infection with extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in patients with prior infection or fecal colonization. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology. 2018 Aug;37(8):1491-7.
39. Nakai H, Hagihara M, Kato H, Hirai J, Nishiyama N, Koizumi Y, Sakanashi D, Suematsu H, Yamagishi Y, Mikamo H. Prevalence and risk factors of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae. *Journal of infection and chemotherapy* : official journal of the Japan Society of Chemotherapy. 2016 May;22(5):319-26.
40. Amt für Statistik Berlin-Brandenburg. Statistisches Jahrbuch 2016 – Berlin [Internet] 2017 [cited 2019 Jan 14]; Available from: [https://www.statistik-berlin-brandenburg.de/produkte/Jahrbuch/BE\\_Kap\\_2016.asp](https://www.statistik-berlin-brandenburg.de/produkte/Jahrbuch/BE_Kap_2016.asp)
41. Robinski M, Strich F, Mau W, Girndt M. Validating a Patient-Reported Comorbidity Measure with Respect to Quality of Life in End-Stage Renal Disease. *PLoS one*. 2016;11(6):e0157506.
42. Schmolders J, Friedrich MJ, Michel R, Strauss AC, Wimmer MD, Randau TM, Pennekamp PH, Wirtz DC, Gravius S. Validation of the Charlson comorbidity index in patients undergoing revision total hip arthroplasty. *International orthopaedics*. 2015 Sep;39(9):1771-7.
43. Meyer E, Ziegler R, Mattner F, Schwab F, Gastmeier P, Martin M. Increase of patients co-colonised or co-infected with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* or extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae. *Infection*. 2011 Dec;39(6):501-6.

## 4 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Anne-Cathérine Boldt, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: *Prävalenz der Kolonisation mit Dritt-Generations-Cephalosporin-resistenten Enterobakterien und nachfolgende Infektionsraten bei Aufnahme in die Charité – Universitätsmedizin Berlin* selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; [www.icmje.org](http://www.icmje.org)) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

---

Datum

---

Unterschrift

## 5 Ausführliche Anteilserklärung an der erfolgten Publikation

**Anne-Cathérine Boldt hatte folgenden Anteil an der nachfolgenden Publikation:**

**Boldt A-C**, Schwab F, Rohde AM, Kola A, Bui MT, Märtin N, Kipnis M, Schröder C, Leistner R, Wiese-Posselt M, Zweigner J, Gastmeier P, Denkel LA. Admission prevalence of colonization with third-generation cephalosporin-resistant *Enterobacteriaceae* and subsequent infection rates in a German university hospital. PloS one. 2018 Aug 1;13(8):e0201548. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201548>

### **Beitrag im Einzelnen:**

Planung: Mitwirkung bei der Entwicklung der Forschungsfragen, Planung der Durchführung der Rekrutierung von Patienten.

Datensammlung: Selbstständige Rekrutierung von 597 Patienten für die Studie mit Interview der Patienten mittels Fragebogen und Durchführung des Rektalabstriches bei Patienten, die den Abstrich nicht selbst durchführen konnten oder wollten.

Datenerfassung: Manuelle Eingabe von 864 schriftlichen Daten (Fragebögen und Laborbefunde der Rektalabstriche) in webKess (Online-Plattform des Krankenhaus-Infektions-Surveillance-Systems (KISS) der Charité) und anschließende Validierung der webKess-Einträge. Mithilfe bei Pseudonymisierung der Patientendaten. Manuelle Ergänzung von Patienteninformationen (fehlende Fall- und Patientennummern; Postleitzahl, Nationalität und Familienstand) sowie Korrektur fehlerhaft übertragener Geburtstagsdaten einiger Patienten mittels elektronischer Patientenakte (SAP).

Analysen: Zuarbeit für die Analysen anhand von Tabellen. Selbstständige Prüfung der mit Dritt-Generations-Cephalosporin-resistenten Enterobakterien (3GCREB) kolonisierten Patienten auf eine Infektion mit dem rektalen 3GCREB mittels SAP und Beteiligung an Diskussionen zu hierbei aufgetretenen unklaren Fällen.

Datenauswertung: Zuarbeit für die Datenauswertung anhand von Tabellen.

Publikation: Selbstständige, umfassende Literaturrecherche. Maßgebliche Verfassung des ersten Entwurfs des Manuskripts der Publikation, inklusive der Tabellen 1, 3, 4 und S2 sowie die Verfassung des ersten Entwurfs des Abstracts. Mithilfe bei Überarbeitung des eingereichten Papers anhand der Kommentare der Reviewer, beispielsweise



Vervollständigung der Tabelle zur Liegedauer der Patienten mit Infektion.

---

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers / der betreuenden Hochschullehrerin

---

Unterschrift des Doktoranden / der Doktorandin

## 6 Auszug aus der Journal Summary List (ISI Web of Knowledge)

Das Journal PLoS One erfüllt die Kriterien der geltenden Definition eines Top-Journals bezüglich Publikationen, die vor dem 4. Juli 2018 bei dem Journal eingereicht wurden (siehe Abbildung 1).

Journal Data Filtered By: **Selected JCR Year: 2017** Selected Editions:  
SCIE,SSCI Selected Categories: **“MULTIDISCIPLINARY SCIENCES”**  
Selected Category Scheme: WoS  
**Gesamtanzahl: 64 Journale**

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
1	NATURE	710,766	41.577	1.355810
2	SCIENCE	645,132	41.058	1.127160
3	Nature Communications	178,348	12.353	0.926560
4	Science Advances	10,194	11.511	0.057080
5	PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA	637,268	9.504	1.108220
6	National Science Review	952	9.408	0.004340
7	GigaScience	1,694	7.267	0.011030
8	Scientific Data	1,567	5.305	0.008550
9	Journal of Advanced Research	1,843	4.327	0.003820
10	Annals of the New York Academy of Sciences	46,160	4.277	0.033270
11	Science Bulletin	1,952	4.136	0.005900
12	Scientific Reports	192,841	4.122	0.718960
13	Journal of the Royal Society Interface	11,357	3.355	0.030960
14	Research Synthesis Methods	1,374	3.218	0.006030
15	PLoS One	582,877	2.766	1.862350
16	PHILOSOPHICAL TRANSACTIONS OF THE ROYAL SOCIETY A-MATHEMATICAL PHYSICAL AND ENGINEERING SCIENCES	17,807	2.746	0.028220

**Abbildung 1:** Auszug aus der Journal Summary List (ISI Web of Knowledge) des Jahres 2017. Die Fachzeitschriften sind für das Fachgebiet „Multidisciplinary Sciences“ nach Impact Factor in absteigender Reihenfolge gelistet. Das Journal PLoS One (gelb hinterlegt) befindet sich auf Platz 15 von insgesamt 64 gelisteten Journalen und gehört somit zu den oberen 30 Prozent der gelisteten Journale. Es besitzt zudem einen Eigenfaktor von mindestens 0,01. *Abbildung 1 entstammt untenstehender Internetadresse. Das entsprechende Journal wurde gelb hinterlegt.* [https://intranet.charite.de/fileadmin/user\\_upload/microsites/sonstige/medbib/Impact\\_Faktoren\\_2017/ISI-WEB-Liste-Kategorie-Multidisciplinary\\_Sciences.pdf](https://intranet.charite.de/fileadmin/user_upload/microsites/sonstige/medbib/Impact_Faktoren_2017/ISI-WEB-Liste-Kategorie-Multidisciplinary_Sciences.pdf) [Zugriffdatum: 22. März 2019]

## 7 Publikation

**Die Publikation ist auf den folgenden Seiten (Seite 33-56) abgebildet:**

Boldt A-C, Schwab F, Rohde AM, Kola A, Bui MT, Martin N, Kipnis M, Schröder C, Leistner R, Wiese-Posselt M, Zweigner J, Gastmeier P, Denkel LA. Admission prevalence of colonization with third-generation cephalosporin-resistant *Enterobacteriaceae* and subsequent infection rates in a German university hospital. PLoS one. 2018 Aug 1;13(8):e0201548. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201548>

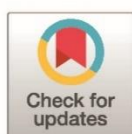
RESEARCH ARTICLE

# Admission prevalence of colonization with third-generation cephalosporin-resistant *Enterobacteriaceae* and subsequent infection rates in a German university hospital

Anne-Catherine Boldt<sup>1</sup>, Frank Schwab<sup>1,2</sup>, Anna M. Rohde<sup>1,2</sup>, Axel Kola<sup>1</sup>, Minh Trang Bui<sup>1</sup>, Nayana Märtin<sup>1</sup>, Marina Kipnis<sup>1</sup>, Christin Schröder<sup>1</sup>, Rasmus Leistner<sup>1</sup>, Miriam Wiese-Posselt<sup>1,2</sup>, Janine Zweigner<sup>2,3</sup>, Petra Gastmeier<sup>1,2</sup>, Luisa A. Denkel<sup>1\*</sup>

**1** Institute of Hygiene and Environmental Medicine, Charité – Universitätsmedizin Berlin, corporate member of Freie Universität Berlin, Humboldt-Universität zu Berlin and Berlin Institute of Health, Berlin, Germany, **2** German Center for Infection Research (DZIF), Braunschweig, Germany, **3** Department of Infection Control and Hospital Hygiene, University Hospital Cologne, Cologne, Germany

\* [luisa.denkel@charite.de](mailto:luisa.denkel@charite.de)



 OPEN ACCESS

**Citation:** Boldt A-C, Schwab F, Rohde AM, Kola A, Bui MT, Märtin N, et al. (2018) Admission prevalence of colonization with third-generation cephalosporin-resistant *Enterobacteriaceae* and subsequent infection rates in a German university hospital. PLoS ONE 13(8): e0201548. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201548>

**Editor:** Vishnu Chaturvedi, Wadsworth Center, UNITED STATES

**Received:** January 11, 2018

**Accepted:** July 17, 2018

**Published:** August 1, 2018

**Copyright:** © 2018 Boldt et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Data Availability Statement:** Patient data used in this study is confidential according to the data privacy act and the institutional ethics committee of Charité Universitätsmedizin Berlin. In addition, information on location, ward of admission, age, sex, place of residence and nationality are indirect identifiers and might enable an interested researcher to track back the identity of the patient. To protect patient confidentiality and participant's privacy, data used for this study can be obtained in anonymous and condensed form only according to

## Abstract

### Background

Many patients admitted to a hospital are already colonized with multi-drug resistant organisms (MDRO) including third-generation cephalosporin-resistant *Enterobacteriaceae* (3GCREB). The aim of our study was to determine the prevalence of rectal 3GCREB colonization at admission to a large German university hospital and to estimate infection incidences. In addition, risk factors for 3GCREB colonization were identified.

### Materials/Methods

In 2014 and 2015, patients were screened for rectal colonization with 3GCREB and filled out a questionnaire on potential risk factors at admission to a non-intensive care unit (non-ICU). All patients were retrospectively monitored for bacterial infections. Descriptive, univariable and multivariable logistic regression analyses were conducted to identify risk factors for 3GCREB colonization at admission.

### Results

Of 4,013 patients included, 10.3% (n = 415) were rectally colonized with 3GCREB at admission. Incidence of nosocomial infections was 3.5 (95% CI 2.0–6.1) per 100 patients rectally colonized with 3GCREB compared to 2.3 (95% CI 1.8–3.0, P = 0.213) per 100 3GCREB negative patients.

Independent risk factors for 3GCREB colonization were prior colonization / infection with MDRO (OR 2.30, 95% CI 1.59–3.32), prior antimicrobial treatment (OR 1.97, 95% CI 1.59–2.45), male sex (OR 1.38, 95% CI 1.12–1.70), prior travelling outside Europe (OR 2.39, 95% CI 1.77–3.22) and places of residence in the Berlin districts Charlottenburg-

the data privacy act. Interested researchers have the opportunity to contact [it-hygiene@charite.de](mailto:it-hygiene@charite.de) to get access to anonymized data, approved by the data access committee at the "Institut für Hygiene und Umweltmedizin, Charité Universitätsmedizin Berlin", we used for this analysis.

**Funding:** The admission screening was done as part of the multi-center Antibiotic Therapy Optimization Study (ATHOS) supported by the German Center for Infection Research (DZIF), AMR and MWP were supported by DZIF (grant number TTU08.801, <http://www.dzif.de>). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

**Competing interests:** The authors have declared that no competing interests exist.

Wilmerdsdorf (OR 1.52, 95% CI 1.06–2.18), Friedrichshain-Kreuzberg (OR 2.32, 95% CI 1.44–3.74) and Mitte (OR 1.73, 95% CI 1.26–2.36).

## Conclusions

Admission prevalence of rectal colonization with 3GCREB was high, while infection incidence did not significantly differ between patients rectally colonized or not with 3GCREB at hospital admission. In consequence, hospitals should prioritize improvement of standard precautions including hand hygiene to prevent infections among all patients irrespective of their 3GCREB status at hospital admission.

## Introduction

The burden of third-generation cephalosporin-resistant *Enterobacteriaceae* (3GCREB) is increasing worldwide [1–3]. Antimicrobial resistance is primarily facilitated by the production of extended-spectrum beta lactamases (ESBL). Currently, about 7% of the population of Germany is colonized with ESBL producing *Enterobacteriaceae* (ESBL-E) [4,5]. ESBL enzymes can disrupt a large variety of beta-lactam antibiotics including third-generation cephalosporins (3GC). Recently, Hamprecht et al. reported that 9.5% of patients admitted to German tertiary care hospitals were colonized with 3GCREB [6]. Of those, ESBL production could be determined in more than 90% [6].

Risk factors for colonization with ESBL-E or 3GCREB can be either healthcare- or community-associated. Known healthcare-associated risk factors are prior antimicrobial treatment, previous hospitalization [4,6,7], a stay in a long-term care facility (LTCF), previous colonization with multi-drug resistant organisms (MDRO) and medical treatment of gastroesophageal reflux disease (GERD) [6].

One of the most important community-associated (CA) risk factors is travelling to high prevalence regions including South-East Asia [4,7]. Nutritional habits, including meat consumption (pork, chicken, beef), were described as probable sources of ESBL-E or ESBL-carrying plasmids [8–11]. Thus far, regional or cultural risk factors for 3GCREB and ESBL-E colonization remain poorly understood.

ESBL-E colonizing the human gut have the potential for causing infections [3]. The impact of infections with ESBL-E is controversial. Some studies have reported an association of ESBL-E infections with increased hospital costs, lengths of stay (LOS) and mortality [12,13], while others have not [14,15]. However, inappropriate initial antibiotic treatment has been shown to be more frequently in patients infected with ESBL-E [14,16]. Delayed initiation of adequate antibiotic treatment may lead to increased morbidity and mortality, especially in vulnerable populations, e.g. intensive care unit (ICU) patients [17]. ESBL-E colonization is associated with infection incidence of 4% to 20% with respect to patient population, geography and species analyzed [18–22].

The aim of our study was to analyze the prevalence of rectal 3GCREB colonization at admission to a large German university hospital and to estimate the rate of infections among those with and without rectal 3GCREB colonization. Infections among 3GCREB colonized patients were analyzed in more detail. The secondary objective was to identify possible healthcare- and community-associated risk factors for 3GCREB colonization.

## Materials and methods

### Participants and setting

The study was conducted as part of the multi-center Antibiotic Therapy Optimization Study (ATHOS) [6]. Our report is based on admission screenings at a German university hospital with more than 3,000 beds.

Patients with an age of  $\geq 18$  years from general wards (anesthesiology, cardiology, dental and oral medicine, gastroenterology, general surgery, gynecology, interdisciplinary unit, hematology / oncology, nephrology, neurology, neurosurgery, orthopedics, radiation therapy, transplant surgery, trauma surgery, urology, vascular surgery) were included in the study. Excluded wards were intensive care units (ICUs), dermatology, obstetrics, ophthalmology, otorhinolaryngology and psychiatry due to expected medical or personal probability to give informed consent to participate in this study. ICU and wards of psychiatry have a high rate of patients not being able to give informed consent for participation in a study, while patients of dermatological, obstetrical, ophthalmological and otorhinolaryngological wards were expected to have a low acceptance of a rectal admission screening. Patients were recruited between May and September 2014 and between April and September 2015, respectively.

Enrolled patients were sampled for colonization with 3GCREB by rectal swabs within 3 days (day 1–3, day of admission = day 1) of admission. Rectal swabs were taken by the patient or the healthcare staff. Each patient was asked to complete a questionnaire regarding potential risk factors for colonization with MDRO including sex, age, current antibiotic treatment, animal contact and previous colonization with MDRO (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), 3GCREB, carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* and vancomycin-resistant enterococci (VRE)). In addition, it inquired about potential risk factors during the 6 months prior to admission: previous antibiotic therapy, travel abroad, stay at rehabilitation center, stay at a long-term care facility (LTCF), hospitalization (in Germany or abroad) and use of antacids or proton-pump inhibitors for gastroesophageal reflux disease (GERD). The questionnaire used in our study can be found in [S1 File](#). In addition, the following information was extracted from electronic patient files: place of residence (Berlin district), nationality classified by World Health Organization (WHO) region [23], and ward of admission. For all patients, presence or acquisition of an infection at admission or during the current hospital stay was analyzed.

### Microbiological methods

Screening swabs (soaked with Amies transport medium) were taken from the rectum and cultivated on ChromID ESBL agar (bioMérieux, Nürtingen, Germany) selecting for ESBL-E. Species identification and antibiotic susceptibility testing of bacteria grown on ChromID ESBL agar was performed by Vitek 2 GN ID and AST N223 card (bioMérieux), respectively. Isolates were included in the study, if they tested non-susceptible to cefotaxime, ceftriaxone or ceftazidime using EUCAST breakpoints [24].

The combination disc test following EUCAST guidelines using cefotaxime, ceftazidime and cefepime with and without clavulanate (Mast Diagnostica, Reinfeld, Germany) was performed to confirm ESBL production [24].

Genotyping of 3GCREB isolates was conducted by repetitive-sequence-based PCR and subsequent microfluidics electrophoresis using the DiversiLab system (bioMérieux).

### Definition of infection

All patients were screened for the presence of bacteria in a clinical specimen (e.g. urine, blood, wound). Electronic patient files of patients tested positive for bacteria in a clinical specimen

were examined in order to identify infections present at admission or acquired during the current hospital stay.

Two independent infection control specialists searched patient files for evidence of bacterial infections. A third infection control specialist was consulted in controversial cases. To qualify an infection needed to meet the following criteria: 1) presence of bacteria in a clinical specimen (e.g. urine, blood or wound) and 2) documentation of infection in patient file or appropriate antimicrobial therapy instituted by treating physician. In case of several infections, the first episode was counted.

Infections among patients colonized with 3GCREB were categorized as i) infection with rectal 3GCREB or ii) infection with other bacteria (not rectal 3GCREB). Infection with rectal 3GCREB (i) was determined, if species identification and antibiotic susceptibility testing of rectal and clinical isolates and / or strain-typing analysis were identical. Similarity of antibiotic susceptibility testing was defined by variation of  $\leq$  one two-fold dilution step of minimal inhibitory concentration (MIC). Differences of more than one two-fold dilution step were accepted for single substances, if this was most likely due to selection of resistance by antibiotic exposure. When possible, additional strain typing analysis of rectal and clinical 3GCREB isolates was conducted by repetitive-sequence-based PCR and subsequent microfluidics electrophoresis using the DiversiLab system (bioMérieux).

Community-acquired and nosocomial infections were monitored. All infections acquired within 3 days (day 1–3, day of admission = day 1) of admission were defined as community-acquired. Infections were considered nosocomial, if the patient had been admitted  $>$  3 days earlier than onset of infection.

### Statistical analysis

The prevalence rate of 3GCREB at admission was defined as the number of patients positive for 3GCREB per 100 patients screened. Infection incidence was defined as the number of patients testing positive for infection per 100 patients with LOS  $>$  3 days. Wilson score confidence intervals of 3GCREB prevalence rates and infection incidences (infections / 100 patients) were calculated using Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health, V3.01, <http://www.openepi.com> [25].

In the descriptive analysis, numbers and percentages were calculated. Differences were identified using the Chi-squared or Fisher's exact test, respectively.

In the multivariable analysis, logistic regression models were applied to identify independent risk factors for colonization with 3GCREB at admission. The following patient-based parameters were considered in the analyses: age ( $\leq 45$ , 46–55, 56–65, 66–75 or  $>$  75); sex (male/ female); prior MDRO colonization; current antibiotic use, antibiotic use during the previous 6 months; travel abroad during the previous 6 months inside or outside Europe; stay at a rehabilitation centre or LTCF during the previous 6 months; hospital stay during the previous 6 months in Germany, in a European country outside Germany or outside Europe; occupational or private animal contact; and treatment of GERD with antacids or proton-pump inhibitors during the previous 6 months. Parameters were categorized as “no” (reference), “yes” or “unknown”. Furthermore, the parameter ward of admission (cardiology, dental and oral medicine, gastroenterology, general surgery, gynecology, hematology / oncology, interdisciplinary unit, neurology, neurosurgery, orthopedics, radiation therapy, transplant surgery, trauma surgery, vascular surgery, other) was included in the analyses. Due to low patient counts, anesthesiology, urology and nephrology were merged into the category “other” wards.

The following parameters identified by the electronic patient files were included: place of residence (not Berlin, Charlottenburg-Wilmersdorf, Friedrichshain-Kreuzberg, Lichtenberg,

Marzahn-Hellersdorf, Mitte, Neukölln, Pankow, Reinickendorf, Steglitz-Zehlendorf, Spandau, Tempelhof-Schöneberg, Treptow-Köpenick, unknown) and nationality classified by WHO regions (African region, Region of Americas, South-East Asia Region, European Region, Eastern Mediterranean Region and Western Pacific Region, unknown) [23]. The variables “wards of admission”, “place of residence” and “region of origin” were dummy-coded. Reference categories for these variables were all other “wards of admission”, “places of residence” or “regions of origin”, respectively.

In the multivariable analysis, the model building strategy was performed stepwise backward, the significance level for excluding a parameter from the model was  $p = 0.05$ . For epidemiological reasons, age and sex were included in all models. P values  $< 0.05$  were considered significant. All analyzes were performed using SPSS 22 (IBM SPSS Statistics, Somers, NY, USA) and SAS 9.3 (SAS Institute, Cary, NC, USA).

## Results

### 3GCREB colonization at admission to the hospital

Overall, 4,013 patients were included in this prevalence study. A flow diagram for study participants is shown in Fig 1. Median age of the patients was 62 years (inter quartile range (IQR) 50–73), 50.3% ( $n = 2,019$ ) were female. Charlson comorbidity index (CCI) was available for 97.1% ( $n = 3,900$ ) of patients. Median CCI did not differ between all patients (CCI 3, IQR 1–5), 3GCREB negative patients (CCI 3, IQR 1–5) and 3GCREB colonized patients (CCI 3, IQR 1–6). Prevalence of 3GCREB colonization at admission was 10.3% (415 of 4,013 patients, 95% CI 9.4–11.3%).

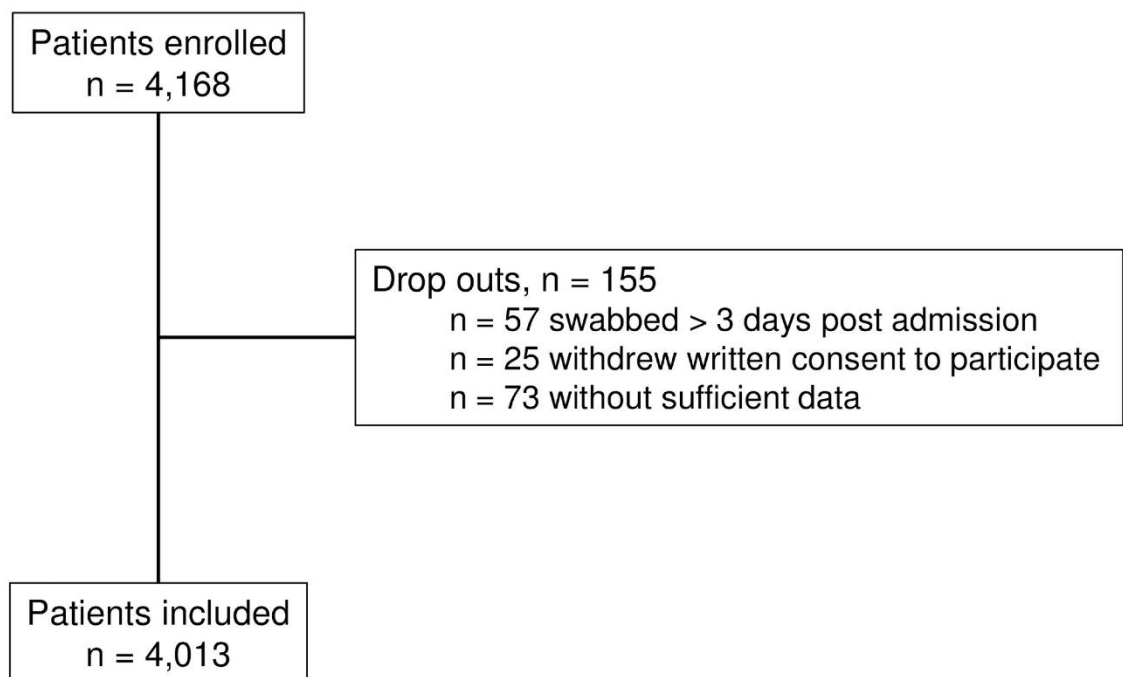


Fig 1. Flow diagram for study participants included in the 3GCREB prevalence study, Berlin, Germany, 2014/2015.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201548.g001>



**Table 1. Distribution of resistances among 429 3GCREB isolates from 415 patients, 3GCREB prevalence study, Berlin, Germany, 2014/2015.**

	Total	<i>E.coli</i> , n (%)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , n (%)	<i>Enterobacter</i> spp., n (%)	<i>Citrobacter</i> spp., n (%)	<i>Klebsiella oxytoca</i> , n (%)	<i>Hafnia alvei</i> , n (%)
<b>Total</b>	429 (100%)	352 (82.1%)	34 (7.9%)	24 (5.6%)	13 (3.0%)	4 (0.9%)	2 (0.5%)
ESBL	392 (91.4%)	345 (80.4%)	34 (7.9%)	7 (1.6%)	3 (0.7%)	2 (0.5%)	1 (0.2%)
No ESBL	37 (8.6%)	7 (1.6%)	0 (0.0%)	17 (4.0%)	10 (2.3%)	2 (0.5%)	1 (0.2%)
<b>Resistant to 3GC</b>	264 (61.5%)	215 (61.1%)	14 (41.2%)	20 (83.3%)	11 (84.6%)	3 (75%)	1 (50%)
ESBL	234 (54.5%)	213 (60.5%)	14 (10.4%)	4 (16.7%)	1 (7.7%)	2 (50%)	0 (0.0%)
No ESBL	30 (7.0%)	2 (0.6%)	0 (0.0%)	16 (66.7%)	10 (76.9%)	1 (25%)	1 (50%)
<b>Resistant to 3GC + FQ</b>	160 (37.3%)	135 (38.4%)	20 (58.9%)	3 (12.5%)	1 (1.7%)	0 (0.0%)	1 (50%)
ESBL	155 (36.1%)	131 (37.2%)	20 (58.9%)	2 (8.3%)	1 (1.7%)	0 (0.0%)	1 (50%)
No ESBL	5 (1.2%)	4 (1.4%)	0 (0.0%)	1 (4.2%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
<b>Resistant to 3GC + FQ + C</b>	5 (1.2%)	2 (0.6%)	0 (0.0%)	1 (4.2%)	1 (1.7%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
ESBL	3 (0.7%)	1 (0.3%)	0 (0.0%)	1 (4.2%)	1 (1.7%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
No ESBL	1 (0.2%)	1 (0.3%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)

3GC—third generation cephalosporins, FQ—fluoroquinolones, C—carbapenemes

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201548.t001>

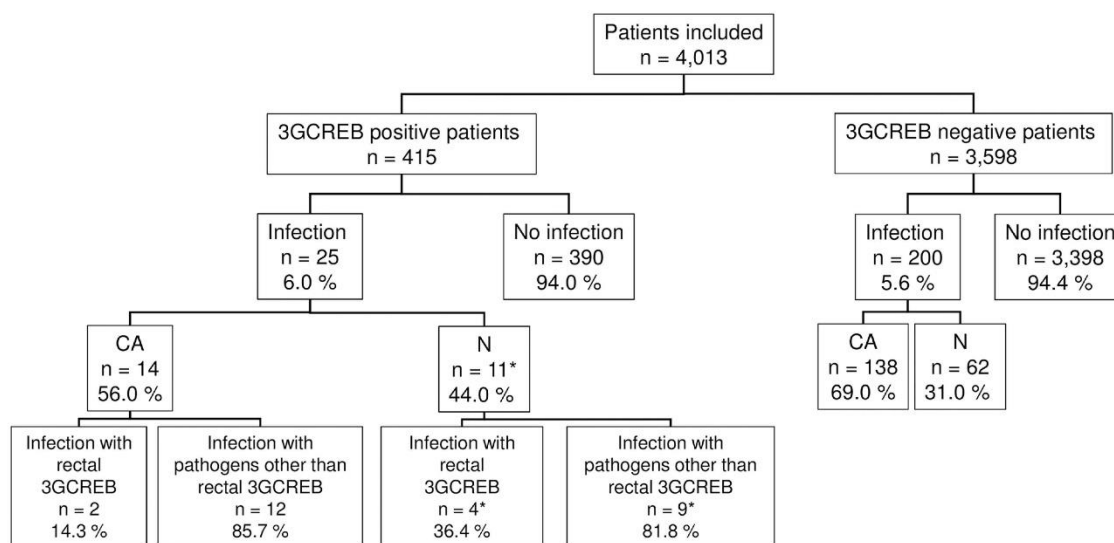
### Microbiology of 3GCREB isolates

Fourteen patients (0.3%) were colonized with two different 3GCREB strains. Microbiological analysis of 429 3GCREB isolates from 415 patients is summarized in Table 1. Of 429 *Enterobacteriaceae* isolated, 264 (61.5%) were resistant only to 3GC, 160 (37.3%) 3GCREB isolates were also resistant to fluoroquinolones (FQ), and 5 isolates (1.2%) carried resistance to 3GC, FQ and carbapenemes (C) simultaneously. The species most frequently identified among 3GCREB isolates were *Escherichia (E.) coli* (82.1%, 352 of 429 isolates), followed by *Klebsiella (K.) pneumoniae* (7.9%, 34 isolates), *Enterobacter* spp. (5.6%, 24 isolates), *Citrobacter* spp. (3.0%, 13 isolates), *Klebsiella oxytoca* (0.9%, four isolates) and *Hafnia alvei* (0.5%, two isolates). Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) production was detected in 392 of 429 3GCREB isolates (91.4%).

### Infections

225 (5.6%) patients with infection were identified among 4,013 study participants. An overview of infections among all patients stratified by 3GCREB colonization status at hospital admission can be found in Fig 2. Incidences of nosocomial infections were calculated for patients with LOS > 3 days screened for colonization with 3GCREB at hospital admission (Table 2). Median time until onset of nosocomial infection was 10.5 days (6–17 days) among all patients, 9 days (IQR 6–18.5 days) among 3GCREB colonized patients and 10.5 days (6–16 days) among patients not colonized with 3GCREB at hospital admission.

**Infections among 3GCREB negative patients.** Infections diagnosed among 3GCREB negative patients were infected wounds (n = 62, 30.9%), urinary tract infections (UTI, n = 55, 27.4%), bloodstream infections (BSI, n = 38, 18.9%), pneumonia (n = 18, 9.0%), intra-abdominal infections (n = 11, 5.5%), *Clostridium difficile* infections (CDI, n = 7, 3.5%), urosepsis (n = 5, 2.5%), and others (n = 5, 2.5%). The latter included enteritis caused by *Salmonella infantis* or *Campylobacter jejuni*, bacterial abscesses and an infected shoulder joint. One patient was diagnosed with pneumonia and UTI at the same time. Pathogens identified most frequently as causative agents of infections were: *Escherichia coli* (n = 55, 27.3%), *Staphylococcus*



CA – Community-acquired, N – Nosocomial  
 \*The clinical specimen of two 3GCREB positive patients was tested positive for 3GCREB and other pathogens at the same time.

**Fig 2. Overview of infections among study participants, 3GCREB prevalence study, Berlin, Germany, 2014/2015.** CA—community-acquired, N—nosocomial. Asterisks indicate that the clinical specimen of two patients colonized with 3GCREB were tested positive for 3GCREB and other pathogens at the same time.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201548.g002>

*aureus* (n = 29, 14.4%), coagulase-negative staphylococci (n = 25, 12.4%), *Enterococcus* spp. (n = 19, 9.5%) and *Streptococcus* spp. (n = 16, 8.0%).

**Infections among 3GCREB colonized patients.** Among the 415 3GCREB positive patients, 25 (6.0%) had an infection at admission or developed an infection during the current hospital stay. Six (1.4%) of 415 patients suffered from infections with the rectal 3GCREB and 21 (5.1%) with bacterial pathogens other than the rectal 3GCREB. Two of these patients (0.5%) had an infection caused by 3GCREB and other pathogens simultaneously (Fig 2). Pathogens other than 3GCREB detected most frequently in infected patients were *E.coli* susceptible to 3GC, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, vancomycin resistant enterococci (VRE), *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae* susceptible to 3GC (S1 Table).

**Table 2. Infection incidences (with 95%CI) per 100 patients among 2,931 patients screened for 3GCREB colonization at admission to the hospital and with LOS > 3 days.** Patients stratified by positive (n = 316) or negative 3GCREB status (n = 2,615) at hospital admission, 3GCREB prevalence study, Berlin, Germany, 2014/2015.

Parameter	3GCREB status at admission	3GCREB status at admission	P value
	Negative	Positive	
All infections	2.3 (1.8–3.0)	3.5 (2.0–6.1)	0.213
Infections with rectal 3GCREB		1.3 (0.5–3.2)	
Infections with other pathogens (not rectal 3GCREB)		2.9 (1.5–5.3)	

95% CI—Confidence interval. P values were calculated by Chi-Squared test.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201548.t002>

Of 25 patients with an incident infection, 11 patients (44.0%) acquired infection(s) during the current hospital stay (> 3 days post admission), four of them with 3GCREB, nine with other pathogens. Two of these patients acquired infections with 3GCREB and other pathogens simultaneously (Fig 2). Median time until onset of nosocomial infection among 3GCREB colonized patients was 6 days (IQR 4.75–10.5 days) for infections with rectal 3GCREB and 12 days (IQR, 6.0–20.0 days) for infections with other pathogens.

The infection diagnosed most frequently among 3GCREB positive patients was urinary tract infection (UTI, 12 of 25 patients; 48.0%), followed by bloodstream infections (BSI, 6 of 25 patients; 24.0%), intra-abdominal infections (6 of 25 patients, 24.0%) and one infected wound (4.0%).

Of 352 patients colonized with 3GCR-*E.coli*, 4 (1.1%) developed an infection (two UTIs, one intra-abdominal infection, one BSI) with 3GCR-*E.coli*. However, in 34 patients colonized with 3GCR-*Klebsiella pneumoniae*, this agent accounted for one BSI and one intra-abdominal infection (2 of 34 patients, 5.9%). This difference (1.0% versus 5.9%,  $P = 0.181$ ) was not determined to be significant. Two of six 3GCREB colonized patients with subsequent 3GCREB infection in this study were co-infected with VRE *faecium* (S1 Table).

Similarity of rectal and clinical isolates was tested by comparing the results of species identification and antibiotic susceptibility testing. Antimicrobial susceptibility of rectal isolates and the respective clinical isolates were determined to be identical in six patients. In two of these patients rectal isolates and the respective clinical specimen were available for strain-typing analysis. This molecular analysis showed that the clinical specimen (urine, blood) of both 3GCREB infections tested were identical with the respective rectal isolate (S1 Fig). An overview of all 3GCREB positive patients with infections at admission or during the current hospital stay is shown in S1 Table.

### Risk factor analysis for 3GCREB colonization

The complete descriptive analysis is presented in Table 3 and S2 Table. In brief, it shows that 3GCREB colonized patients were significantly more often male (56.9% versus 49.2%,  $P = 0.003$ ), took antibiotics at the time of admission (21.4% versus 15.5%,  $P = 0.002$ ), and had been previously colonized or infected with MDRO (10.1% versus 4.5%,  $P < 0.001$ ). Furthermore, patients more frequently tested positive for 3GCREB if—with respect to the previous 6 months—they had taken antibiotics (3.9% versus 2.9%,  $P < 0.001$ ), travelled outside Europe (16.1% versus 7.5%,  $P < 0.001$ ), been admitted to a German hospital (38.3% versus 31.6%,  $P = 0.012$ ), stayed in LTCF (9.2% versus 8%,  $P = 0.024$ ) or were being treated for GERD with antacids or proton-pump inhibitors (43.6% versus 38.6%,  $P = 0.048$ ). Patients colonized with 3GCREB at hospital admission lived significantly more often in Friedrichshain-Kreuzberg (5.8% versus 2.7%,  $P < 0.001$ ) and Mitte (13.7 versus 9.7,  $P = 0.010$ ) and less frequently outside Berlin (18.8 versus 24.3,  $P = 0.012$ ). 3GCREB prevalence in Berlin stratified by district is shown in Fig 3 [26].

Independent risk factors for 3GCREB colonization at hospital admission according to the final multivariable model were prior MDRO colonization / infection (OR = 2.30, 95% CI = 1.59–3.32), antimicrobial treatment (OR = 1.97, 95% CI = 1.59–2.45) and travelling outside Europe (OR = 2.39, 95% CI = 1.77–3.22) during the previous 6 months. Further risk factors were male sex (OR = 1.38, 95% CI = 1.12–1.70), places of residence in Charlottenburg-Wilmersdorf (OR = 1.52, 95% CI = 1.06–2.18), Mitte (OR = 1.73, 95% CI = 1.26–2.36) and Friedrichshain-Kreuzberg (OR = 2.32, 95% CI = 1.44–3.74). Protective factors associated with a reduced risk of 3GCREB colonization were admission to a cardiology ward (OR = 0.73, 95%

**Table 3. Descriptive ysis of demographic patient data of 4,013 patients screened for 3GCREB colonization at admission to the hospital.** Patients stratified by positive or negative 3GCREB status at admission, 3GCREB prevalence study, Berlin, Germany, 2014/anal 2015.

Parameter	Category	3GCREB status at admission		Prevalence per 100 patients	P-value
		Negative	Positive	Positive	
<b>Patient</b>		3598 (100%)	415 (100%)	10.3	
<b>Sex</b>	<b>Male</b>	1770 (49.2%)	236 (56.9%)	11.8	0.003*
<b>Age [years]</b>	≤ 45	689 (19.1%)	83 (20.0%)	10.8	0.854
	46–55	639 (17.8%)	65 (15.7%)	9.2	
	56–65	743 (20.7%)	84 (20.2%)	10.2	
	66–75	895 (24.9%)	107 (25.8%)	10.7	
	> 75	632 (17.6%)	76 (18.3%)	10.7	
<b>Ward of admission*</b>	<b>Cardiology</b>	666 (18.5%)	62 (14.9%)	8.5	0.074
	<b>Dental and oral medicine</b>	237 (6.6%)	31 (7.5%)	11.6	0.495
	<b>Gastroenterology</b>	603 (16.8%)	80 (19.3%)	11.7	0.196
	<b>General surgery</b>	81 (2.3%)	10 (2.4%)	11.0	0.837
	<b>Gynecology</b>	104 (2.9%)	14 (3.4%)	11.9	0.581
	<b>Hematology/oncology</b>	159 (4.4%)	27 (6.5%)	14.5	0.056
	<b>Interdisciplinary unit</b>	71 (2%)	10 (2.4%)	12.3	0.550
	<b>Neurology</b>	331 (9.2%)	32 (7.7%)	8.8	0.317
	<b>Neurosurgery</b>	150 (4.2%)	18 (4.3%)	10.7	0.871
	<b>Orthopedics</b>	309 (8.6%)	43 (10.4%)	12.2	0.227
	<b>Radiation therapy</b>	37 (1%)	3 (0.7%)	7.5	0.553
	<b>Transplant surgery</b>	35 (1%)	8 (1.9%)	18.6	0.074
	<b>Trauma surgery</b>	599 (16.6%)	51 (12.3%)	7.8	0.022
	<b>Vascular surgery</b>	211 (5.9%)	25 (6%)	10.6	0.896
	<b>Other</b>	5 (0.1%)	1 (0.2%)	16.7	0.611
<b>Place of residence (Berlin district)†</b>	<b>Charlottenburg-Wilmersdorf</b>	257 (7.1%)	40 (9.6%)	13.5	0.066
	<b>Friedrichshain-Kreuzberg</b>	98 (2.7%)	24 (5.8%)	19.7	0.001
	<b>Lichtenberg</b>	81 (2.3%)	8 (1.9%)	9.0	0.672
	<b>Marzahn-Hellersdorf</b>	86 (2.4%)	9 (2.2%)	9.5	0.779
	<b>Mitte</b>	350 (9.7%)	57 (13.7%)	14.0	0.010
	<b>Neukölln</b>	176 (4.9%)	18 (4.3%)	9.3	0.618
	<b>NotBerlin</b>	876 (24.3%)	78 (18.8%)	8.2	0.012
	<b>Pankow</b>	159 (4.4%)	24 (5.8%)	13.1	0.207
	<b>Reinickendorf</b>	216 (6%)	22 (5.3%)	9.2	0.566
	<b>Spandau</b>	94 (2.6%)	12 (2.9%)	11.3	0.737
	<b>Steglitz-Zehlendorf</b>	643 (17.9%)	67 (16.1%)	9.4	0.383
	<b>Tempelhof-Schöneberg</b>	427 (11.9%)	47 (11.3%)	9.9	0.746
	<b>Treptow-Köpenick</b>	125 (3.5%)	8 (1.9%)	6.0	0.096
	<b>Unknown</b>	10 (0.3%)	1 (0.2%)	9.1	> 0.999
<b>Region of origin*</b>	<b>African region</b>	2 (0.1%)	0 (0.0%)	0.0	
	<b>Eastern Mediterranean Region</b>	9 (0.3%)	3 (0.7%)	25.0	0.095
	<b>European region</b>	2458 (68.3%)	278 (67.0%)	10.2	0.582
	<b>Region of Americas</b>	7 (0.2%)	0 (0.0%)	0.0	
	<b>South-East Asian Region</b>	1 (0.0%)	0 (0.0%)	0.0	
	<b>Western Pacific region</b>	2 (0.1%)	0 (0.0%)	0.0	
	<b>Unknown</b>	1119 (31.1%)	134 (32.3%)	10.7	0.621

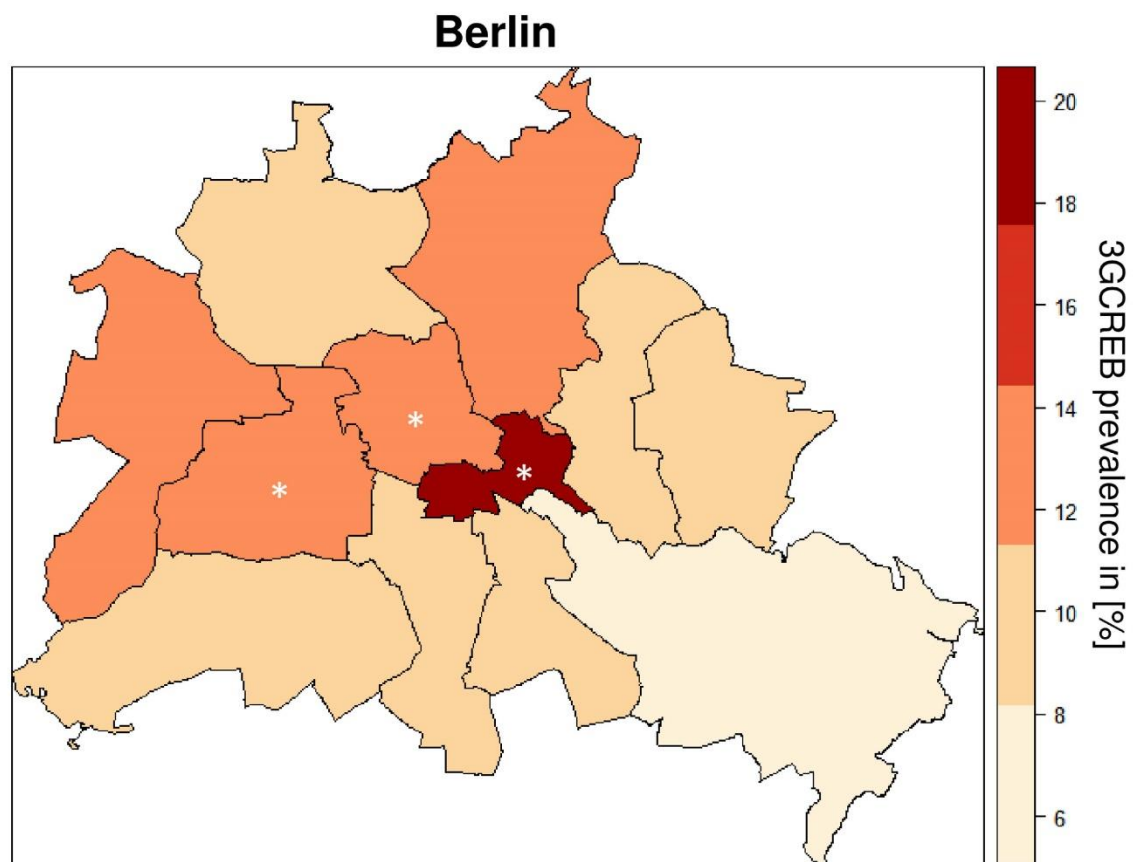
P-values were calculated by Chi-Squared test or Fisher's exact test, respectively.

\*P-values ≤ 0.05 were considered significant.

The parameters place of residence, ward of admission and region of origin were dummy-coded.

The category "Other" in ward of admission includes anesthesiology, nephrology and urology.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201548.t003>



**Fig 3. Comparison of Berlin district-dependent prevalence (in %) of rectal colonization with 3GCREB at admission to the hospital.** Asterisks indicate districts with significantly increased 3GCREB prevalence compared to other districts (multivariable logistic regression analysis). The map was adjusted according to the geodata reference map published by a German newspaper [26]. 3GCREB prevalence study, Berlin, Germany, 2014/2015.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201548.g003>

CI = 0.55–0.98) or a trauma surgery ward (OR = 0.67, 95% CI = 0.48–0.91). The multivariable analysis is summarized in [Table 4](#).

## Discussion

Prevalence of 3GCREB colonization at hospital admission was high, while infection incidence did not significantly differ between patients positive or negative for rectal colonization with 3GCREB at hospital admission. Further, we identified that community-associated risk factors including travelling outside Europe and living in certain urban areas might play an important role in 3GCREB colonization at hospital admission. In consequence, for non-ICU patients, effectiveness of cost and labor intense measures including general admission screenings to prevent transmission of 3GCREB colonization within the hospital may be questioned. Instead, hospitals should focus on improvement of standard precautions including hand hygiene to prevent infections among all patients irrespective of their 3GCREB colonization status at hospital admission.

Table 4. Results of the multivariable conditional logistic regression analysis of 4,013 patients to identify risk factors for colonization with 3GCREB at admission, 3GCREB prevalence study, Berlin, Germany, 2014/2015.

Parameter	Category	Odds Ratio	95% confidence interval	P-value
Sex	Male	1.38	1.12–1.70	0.003
Previous MDRO colonization / infection	Yes	2.30	1.59–3.32	0.001
Antibiotic use during the previous 6 months	Yes	1.97	1.59–2.45	0.005
Travelling to a non-European country during the previous 6 months	Yes	2.39	1.77–3.22	0.028
Place of residence	Charlottenburg-Wilmersdorf	1.52	1.06–2.18	0.024
	Friedrichshain-Kreuzberg	2.32	1.44–3.74	0.001
	Mitte	1.73	1.26–2.36	0.001
Ward of admission	Cardiology	0.73	0.55–0.98	0.037
	Trauma surgery	0.67	0.48–0.91	0.012

P-values ≤ 0.05 were considered significant.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201548.t004>

### 3GCREB colonization at admission to the hospital

The 3GCREB prevalence of 10.3% identified in this study is similar to recently published findings demonstrating that 9.5% of patients were tested positive for 3GCREB at admission to German hospitals [6]. Other studies investigating the prevalence of ESBL-E and ESBL-producing *E. coli* in the population of Germany reported lower prevalence rates of 6 to 7% [4,5]. [1–3]. Hamprecht et al. and our study examined patients at admission to the hospital but not the general population. The difference between these populations is illustrated by the high percentage of patients included in our study reporting use of antibiotics during the previous six months (>30%). This might explain the higher 3GCREB prevalence in patients admitted to the hospital. Furthermore, the range of 3GCREB prevalence in Germany varied between 5.1% and 11.8% depending on the hospital of admission [6]. Thus, regional differences are likely to have an impact. Antibiotic resistance was facilitated by ESBL production in more than 90% of our 3GCREB isolates; more than 80% of those isolates were *E. coli*. This makes a comparison of our data with studies investigating ESBL-E and ESBL-*E. coli* possible.

### Infections

Interestingly, infection incidence among patients colonized with 3GCREB was not significantly higher compared to patients not colonized with 3GCREB at hospital admission. In fact, incidence of infections with the colonizing 3GCREB was very low among 3GCREB positive patients at hospital admission. Carriers of ESBL-E were shown to have varying rates of subsequent infections depending on patient population, geography and the type of infection analyzed. A French hospital had ESBL-E infection incidence of 8% [19]. The rate differed between 4% and 20% among ESBL-E carriers in two French ICUs [20,22]. Furthermore, 8.5% of ESBL-E colonized patients in American ICUs developed ESBL-E-BSI [21], while in an Israeli hospital 15.4% of patients with fecal ceftazidime-resistant *Enterobacteriaceae* colonization had a subsequent bacteremia with the same species [18]. The low incidence of infections with the rectal 3GCREB among patients colonized with 3GCREB at hospital admission observed in the present study might be explained by the fact that we focused on patients from general wards and not high-risk patients. Below 5% of patients were admitted to a hematological / oncological ward, while ICU patients were not considered in this analysis. Recently, high-risk patients identified by a score-assigned prediction model were shown to have a significantly higher cumulative probability of developing an infection with multi-drug resistant Gram-negative bacteria (MDRGN) than lower risk patients [27].

The most frequent infections with the rectal 3GCREB were UTI, BSI and intra-abdominal infections, reflecting the gastrointestinal and urinary tract as typical colonization sites of ESBL-E [28]. Even though the majority of 3GCREB infections (all BSI, all intra-abdominal infections) in our study were nosocomial, we also detected 3GCREB-UTIs not acquired during the current hospital stay. Thus, infections with 3GCREB, especially UTI, are not restricted to the hospital [29,30].

In this study, nosocomial infection was defined by onset of infection > 3 days post admission. Due to this strict definition, incidence of nosocomial infections might be underestimated. However, we performed a sensitivity analysis. Infection incidences did not significantly differ, if onset of infections  $\geq$  3 days post admission were considered nosocomial (2.5 infections per 100 patients with onset > 3 days post admission vs. 2.3 infections per 100 patients with onset  $\geq$  3 days,  $P = 0.624$ ).

### Risk factors for 3GCREB colonization at hospital admission

Known health care-associated risk factors for ESBL-E colonization are antibiotic treatment and prior colonization or infection with MDRO [6,31–36]. These risk factors were also detected in our study. Moreover, as previously shown by others, male gender could be associated with 3GCREB colonization [18,30,35].

Multivariable analysis identified admission to trauma surgery and cardiology wards as independent protective factors for 3GCREB colonization. This finding might be explained by the facts that patients admitted to the ward of trauma surgery usually do not have a history of previous hospitalization and in most cases have fewer secondary diseases. Patients admitted to the ward of cardiology usually have a lower rate of previous antibiotic consumption.

In addition to healthcare-associated risk factors, the present study also focused on community-associated risk factors for 3GCREB colonization. Travel outside Europe is reported as one of the most important risk factors for ESBL-E colonization and was also identified by our study [4,7]. In particular, contact with the Middle East / South Asia (MESA) has a significant association with ESBL-E colonization [4,7,11,37]. The multivariable logistic regression analysis identified residence in Friedrichshain-Kreuzberg, Mitte and Charlottenburg-Wilmersdorf as independent risk factors for 3GCREB colonization at admission. We can only speculate as to reasons for these regional differences. Interestingly, Friedrichshain-Kreuzberg, Mitte and Charlottenburg-Wilmersdorf are the only Berlin districts without a border to Berlin's city limits. These three districts also have the highest residential and traffic densities per hectare [38]. Transmission might be more likely in urban areas with more frequent exposures to 3GCREB, e.g. in households, apartment buildings, public transport, or supermarkets. A Spearman rank order correlation found a strong correlation between 3GCREB prevalence and population density ( $r = 0.62$ ,  $P = 0.033$ ) [38]. In contrast, no correlation was identified for households of  $\geq 4$  person ( $r = 0.36$ ,  $P = 0.245$ ) or for foreigners from the Eastern Mediterranean region ( $r = 0.22$ ,  $P = 0.484$ ) living in Berlin districts [38]. However, a causal relationship between ESBL colonization and population density cannot be concluded from our data. ESBL transmission is complex and not yet fully understood, especially regarding community-associated risk factors including cultural and nutritional habits [3]. Recently, living in Parisian area was identified with an elevated risk of ESBL-E colonization [39]. Certain urban areas might represent a surrogate parameter for the complexity of risk factors for ESBL-E colonization. Such a combination of risk factors might include crowded housing conditions or frequent contact to high prevalence areas, not only by nationality or travel, but also by having visitors or consuming food from those areas. Having an Asian native language or a full name whose origin is in

MESA were previously reported as further surrogate parameters for the complexity of ESBL transmission [11,37].

### Strengths and limitations

Our study has several limitations. First, this is a monocenter analysis done in a university hospital. The ability to draw any general conclusions for other (tertiary care) hospitals is limited. However, median CCI in our cohort is 3 (IQR 1–5), while median CCI among other non-ICU patient cohorts in German university hospitals were reported to vary between 2 and 5.6 depending on underlying diseases [11,40,41]. In consequence, we expect our patient cohort to be comparable to other non-ICU patients in German university hospitals.

Second, despite careful examination of infections among 3GCREB positive patients in electronic patient files independently by two infection control specialists, infections might have been missed due to insufficient reporting by treating physicians or not taking enough cultures. This would lead to an underestimation of infection incidence.

Third, similarity of rectal and clinical 3GCREB isolates was tested by comparing antibiotic susceptibility testing and not by molecular analyses [42]. Unfortunately, rectal and clinical isolates were available for only two of six 3GCREB colonized patients with 3GCREB infection. However, similarity of rectal and clinical isolates could be verified by repetitive PCR-based typing method in both cases. In consequence, our low 3GCREB infection rate might be overestimated.

Fourth, two of six 3GCREB positive patients with subsequent 3GCREB infection were co-infected with VRE *faecium*. The fact that patients are increasingly co-infected with more than one multi-drug resistant organism including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), VRE, and ESBL-E has been shown previously [43]. Thus, the causing agent of these infections cannot be clearly identified. In this study, those infections were counted as both, 3GCREB infections and infections with other pathogens. In consequence, this might lead to an overestimation of 3GCREB infection rate. However, the overestimation of 3GCREB infection rate does not change the conclusion of our study. Fifth, no discharge surveillance was done. If patients were discharged before onset of infection, this infection was missed. Sixth, the definition of nosocomial infections in this study refers to the current hospital stay. We cannot exclude that community-acquired infections might have been acquired during a previous stay in the hospital or another healthcare institution.

Strengths of our study were the high number of patients included and the fact that our study was done during the same season (May–September) on the same wards within two consecutive years (2014 and 2015). Further, this study included all species of 3GCREB and did not focus on *E.coli* alone or excluded ESBL negative *Enterobacteriaceae*. We performed one of the most extensive analyses of risk factors for colonization with 3GCREB including healthcare- and community-associated parameters. To our knowledge, this is the first prevalence study calculating infection incidences for non-ICU patients stratified by the 3GCREB colonization status at hospital admission.

### Outlook

The epidemiology of 3GCREB colonization is still not fully understood, especially in the field of community-associated risk factors. Further studies including molecular analysis of 3GCREB isolates, e.g. by whole genome sequencing, are necessary to understand the epidemiology and sources of these widespread multi-drug resistant Gram-negative organisms.



## Supporting information

**S1 Table. Microbiological overview of all 25 3GCREB colonized patients with infections at admission or during the current hospital stay.** Strain typing was done for patient 3\* and patient 5\*, 3GCREB prevalence study, Berlin, Germany, 2014/2015.  
(DOCX)

**S2 Table. Descriptive analysis of information received by the questionnaire answered by 4,013 patients screened for 3GCREB colonization at admission to the hospital.** Patients stratified by positive or negative 3GCREB status at admission, 3GCREB prevalence study, Berlin, Germany, 2014/2015. P-values were calculated by Chi-Squared test or Fisher's exact test, respectively. P-values  $\leq 0.05$  were considered significant. \* <sup>1</sup>at the time of answering the questionnaire.  
(DOCX)

**S1 Fig. Strain typing analysis for comparison of rectal admission screening swabs with clinical swabs of patient 3 and patient 5.** 1: 3GCR + FQR-*Escherichia coli* from rectal admission screening swab of patient 3, 2: 3GCR + FQR-*Escherichia coli* from blood of patient 3, 3: 3GCR-*Escherichia coli* from rectal admission screening swab of patient 5, 4: 3GCR-*Escherichia coli* from urine of patient 5. 3GCR—resistant to third-generation cephalosporins, FQR—resistant to fluorquinolones.  
(TIF)

**S1 File. Case report form of ATHOS prevalence study with questionnaire on risk factors for colonization with MDRO.**  
(DOCX)

## Acknowledgments

The admission screening was done as part of the multi-center Antibiotic Therapy Optimization Study (ATHOS) supported by the German Center for Infection Research (DZIF). Thanks to Solvy Wolke and Jennifer Golembus for study assistance and identification of infections, Melanie Bienek for strain typing analysis, Norbert Thoma for his kind support in medical database analysis and Gerald Brennan for proofreading.

## Author Contributions

**Conceptualization:** Janine Zweigner, Petra Gastmeier.

**Formal analysis:** Frank Schwab, Rasmus Leistner.

**Investigation:** Anne-Cathérine Boldt, Minh Trang Bui, Nayana Märtin, Marina Kipnis.

**Methodology:** Petra Gastmeier.

**Project administration:** Anna M. Rohde, Janine Zweigner.

**Supervision:** Petra Gastmeier, Luisa A. Denkel.

**Validation:** Anne-Cathérine Boldt, Anna M. Rohde, Luisa A. Denkel.

**Visualization:** Anne-Cathérine Boldt, Christin Schröder, Luisa A. Denkel.

**Writing – original draft:** Anne-Cathérine Boldt, Luisa A. Denkel.

**Writing – review & editing:** Anna M. Rohde, Axel Kola, Rasmus Leistner, Miriam Wiese-Poselt, Janine Zweigner, Petra Gastmeier, Luisa A. Denkel.

## References

1. Hawkey PM, Jones AM (2009) The changing epidemiology of resistance. *J Antimicrob Chemother* 64 Suppl 1: i3–10.
2. Bertrand X, Dowzicky MJ (2012) Antimicrobial susceptibility among gram-negative isolates collected from intensive care units in North America, Europe, the Asia-Pacific Rim, Latin America, the Middle East, and Africa between 2004 and 2009 as part of the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial. *Clin Ther* 34: 124–137. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2011.11.023> PMID: 22154196
3. Woerther PL, Burdet C, Chachaty E, Andremont A (2013) Trends in human fecal carriage of extended-spectrum beta-lactamases in the community: toward the globalization of CTX-M. *Clin Microbiol Rev* 26: 744–758. <https://doi.org/10.1128/CMR.00023-13> PMID: 24092853
4. Lübbert C, Straube L, Stein C, Makarewicz O, Schubert S, et al. (2015) Colonization with extended-spectrum beta-lactamase-producing and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in international travelers returning to Germany. *Int J Med Microbiol* 305: 148–156. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2014.12.001> PMID: 25547265
5. Valenza G, Nickel S, Pfeifer Y, Eller C, Krupa E, et al. (2014) Extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* as intestinal colonizers in the German community. *Antimicrob Agents Chemother* 58: 1228–1230. <https://doi.org/10.1128/AAC.01993-13> PMID: 24295972
6. Hamprecht A, Rohde AM, Behnke M, Feihl S, Gastmeier P, et al. (2016) Colonization with third-generation cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae on hospital admission: prevalence and risk factors. *J Antimicrob Chemother* 71: 2957–2963. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw216> PMID: 27317445
7. Kuenzli E, Jaeger VK, Frei R, Neumayr A, DeCrom S, et al. (2014) High colonization rates of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* in Swiss travellers to South Asia- a prospective observational multicentre cohort study looking at epidemiology, microbiology and risk factors. *BMC Infect Dis* 14: 528. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-528> PMID: 25270732
8. de Been M, Lanza VF, de Toro M, Scharringa J, Dohmen W, et al. (2014) Dissemination of cephalosporin resistance genes between *Escherichia coli* strains from farm animals and humans by specific plasmid lineages. *PLoS Genet* 10: e1004776. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004776> PMID: 25522320
9. Denkel LA, Gastmeier P, Leistner R (2014) Predictive factors for extended-spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae causing infection among intensive care unit patients with prior colonization. *Infection* 42: 945–946. <https://doi.org/10.1007/s15010-014-0680-7> PMID: 25160041
10. Evers EG, Pielat A, Smid JH, van Duijkeren E, Vennemann FB, et al. (2017) Comparative Exposure Assessment of ESBL-Producing *Escherichia coli* through Meat Consumption. *PLoS One* 12: e0169589. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169589> PMID: 28056081
11. Leistner R, Meyer E, Gastmeier P, Pfeifer Y, Eller C, et al. (2013) Risk factors associated with the community-acquired colonization of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) positive *Escherichia coli*. an exploratory case-control study. *PLoS One* 8: e74323. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074323> PMID: 24040229
12. Rottier WC, Ammerlaan HS, Bonten MJ (2012) Effects of confounders and intermediates on the association of bacteraemia caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae and patient outcome: a meta-analysis. *J Antimicrob Chemother* 67: 1311–1320. <https://doi.org/10.1093/jac/dks065> PMID: 22396430
13. Tumbarello M, Spanu T, Di Bidino R, Marchetti M, Ruggeri M, et al. (2010) Costs of bloodstream infections caused by *Escherichia coli* and influence of extended-spectrum-beta-lactamase production and inadequate initial antibiotic therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 54: 4085–4091. <https://doi.org/10.1128/AAC.00143-10> PMID: 20660675
14. Denis B, Lafaurie M, Donay JL, Fontaine JP, Oksenhendler E, et al. (2015) Prevalence, risk factors, and impact on clinical outcome of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* bacteraemia: a five-year study. *Int J Infect Dis* 39: 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2015.07.010> PMID: 26189774
15. Leistner R, Bloch A, Sakellariou C, Gastmeier P, Schwab F (2014) Costs and length of stay associated with extended-spectrum beta-lactamase production in cases of *Escherichia coli* bloodstream infection. *J Glob Antimicrob Resist* 2: 107–109. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2014.01.005> PMID: 27873587
16. Schwaber MJ, Carmeli Y (2007) Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother* 60: 913–920. <https://doi.org/10.1093/jac/dkm318> PMID: 17848376
17. Treccarichi EM, Cauda R, Tumbarello M (2012) Detecting risk and predicting patient mortality in patients with extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae bloodstream infections. *Future Microbiol* 7: 1173–1189. <https://doi.org/10.2217/fmb.12.100> PMID: 23030423

18. Ben-Ami R, Schwaber MJ, Navon-Venezia S, Schwartz D, Giladi M, et al. (2006) Influx of extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae into the hospital. *Clin Infect Dis* 42: 925–934. <https://doi.org/10.1086/500936> PMID: 16511754
19. Goulenok T, Ferroni A, Bille E, Lecuyer H, Join-Lambert O, et al. (2013) Risk factors for developing ESBL *E. coli*: can clinicians predict infection in patients with prior colonization? *J Hosp Infect* 84: 294–299. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2013.04.018> PMID: 23846237
20. Razazi K, Derde LP, Verachten M, Legrand P, Lesprit P, et al. (2012) Clinical impact and risk factors for colonization with extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in the intensive care unit. *Intensive Care Med* 38: 1769–1778. <https://doi.org/10.1007/s00134-012-2675-0> PMID: 22893223
21. Reddy P, Malczynski M, Obias A, Reiner S, Jin N, et al. (2007) Screening for extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae among high-risk patients and rates of subsequent bacteremia. *Clin Infect Dis* 45: 846–852. <https://doi.org/10.1086/521260> PMID: 17806048
22. Vodovar D, Megarbane B (2014) Extended-spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae in the intensive care unit: persistent issues to understand the transition from colonization to infection. *Infection* 42: 943–944. <https://doi.org/10.1007/s15010-014-0682-5> PMID: 25168264
23. <http://www.who.int/about/regions/en/>.
24. Giske CG M-ML, Canton R et al. (2013) EUCAST Guideline for the Detection of Resistance Mechanisms and Specific Resistances of Clinical and/or Epidemiological Importance. Version 10. [http://www.eucast.org/resistance\\_mechanisms/](http://www.eucast.org/resistance_mechanisms/).
25. Dean AG SK SM (2013) OpenEpi: Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health, Version 3.01. [http://openepi.com/Menu/OE\\_Menu.htm](http://openepi.com/Menu/OE_Menu.htm).
26. (2017) <https://github.com/berlinermorgenpost/Berlin-Geodaten>.
27. Tseng WP, Chen YC, Yang BJ, Chen SY, Lin JJ, et al. (2017) Predicting Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacterial Colonization and Associated Infection on Hospital Admission. *Infect Control Hosp Epidemiol* 38: 1216–1225. <https://doi.org/10.1017/ice.2017.178> PMID: 28870265
28. Biehl LM, Schmidt-Hieber M, Liss B, Cornely OA, Vehreschild MJ (2016) Colonization and infection with extended spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae in high-risk patients—Review of the literature from a clinical perspective. *Crit Rev Microbiol* 42: 1–16. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2013.875515> PMID: 24495097
29. Freeman JT, McBride SJ, Nisbet MS, Gamble GD, Williamson DA, et al. (2012) Bloodstream infection with extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae at a tertiary care hospital in New Zealand: risk factors and outcomes. *Int J Infect Dis* 16: e371–374. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2012.01.008> PMID: 22401750
30. Nakai H, Hagihara M, Kato H, Hirai J, Nishiyama N, et al. (2016) Prevalence and risk factors of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae. *J Infect Chemother* 22: 319–326. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2016.02.004> PMID: 26968486
31. Bilavsky E, Temkin E, Lerman Y, Rabinovich A, Salomon J, et al. (2014) Risk factors for colonization with extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae on admission to rehabilitation centres. *Clin Microbiol Infect* 20: O804–810. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12633> PMID: 24674024
32. Friedmann R, Raveh D, Zartzer E, Rudensky B, Broide E, et al. (2009) Prospective evaluation of colonization with extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing enterobacteriaceae among patients at hospital admission and of subsequent colonization with ESBL-producing enterobacteriaceae among patients during hospitalization. *Infect Control Hosp Epidemiol* 30: 534–542. <https://doi.org/10.1086/597505> PMID: 19419270
33. Shitrit P, Reisfeld S, Paitan Y, Gottesman BS, Katzir M, et al. (2013) Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae carriage upon hospital admission: prevalence and risk factors. *J Hosp Infect* 85: 230–232. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2013.07.014> PMID: 24080081
34. Jakobsen L, Kuhn KG, Hansen F, Skov RL, Hammerum AM, et al. (2016) Fecal carriage of extended-spectrum and AmpC beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in surgical patients before and after antibiotic prophylaxis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 86: 316–321. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2016.07.028> PMID: 27567284
35. Platteeel TN, Leverstein-van Hall MA, Cohen Stuart JW, Thijsen SF, Mascini EM, et al. (2015) Predicting carriage with extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria at hospital admission: a cross-sectional study. *Clin Microbiol Infect* 21: 141–146. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2014.09.014> PMID: 25658554
36. Young BE, Lye DC, Krishnan P, Chan SP, Leo YS (2014) A prospective observational study of the prevalence and risk factors for colonization by antibiotic resistant bacteria in patients at admission to hospital in Singapore. *BMC Infect Dis* 14: 298. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-298> PMID: 24889720

37. Wickramasinghe NH, Xu L, Eustace A, Shabir S, Saluja T, et al. (2012) High community faecal carriage rates of CTX-M ESBL-producing *Escherichia coli* in a specific population group in Birmingham, UK. *J Antimicrob Chemother* 67: 1108–1113. <https://doi.org/10.1093/jac/dks018> PMID: 22403261
38. Regional authority for statistics Berlin Brandenburg Statistisches Jahrbuch 2016 [https://www.statistik-berlin-brandenburg.de/produkte/Jahrbuch/BE\\_Kap\\_2016.asp](https://www.statistik-berlin-brandenburg.de/produkte/Jahrbuch/BE_Kap_2016.asp).
39. Pilmis B, Cattoir V, Leconte D, Limelette A, Grall I, et al. (2017) Carriage of ESBL-producing Enterobacteriaceae in French Hospitals: the PORTABLESE study. *J Hosp Infect*.
40. Robinski M, Strich F, Mau W, Girndt M (2016) Validating a Patient-Reported Comorbidity Measure with Respect to Quality of Life in End-Stage Renal Disease. *PLoS One* 11: e0157506. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157506> PMID: 27294867
41. Schmolders J, Friedrich MJ, Michel R, Strauss AC, Wimmer MD, et al. (2015) Validation of the Charlson comorbidity index in patients undergoing revision total hip arthroplasty. *Int Orthop* 39: 1771–1777. <https://doi.org/10.1007/s00264-015-2810-y> PMID: 26105762
42. Sekowska A, Gospodarek E, Kaminska D (2012) Antimicrobial susceptibility and genetic similarity of ESBL-positive *Klebsiella pneumoniae* strains. *Arch Med Sci* 8: 993–997. <https://doi.org/10.5114/aoms.2012.32404> PMID: 23319972
43. Meyer E, Ziegler R, Mattner F, Schwab F, Gastmeier P, et al. (2011) Increase of patients co-colonised or co-infected with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* or extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae. *Infection* 39: 501–506. <https://doi.org/10.1007/s15010-011-0154-0> PMID: 21710119

## 7.1 Zusätzliche Informationen

Tabellen und Abbildungen dieses Kapitels sind dem Abschnitt „Supporting information“ der Publikation anhand der jeweils aufgeführten Internetadresse entnommen.

**S1 Table.** Microbiological overview of all 25 3GCREB colonized patients with infections at admission or during the current hospital stay.

Strain typing was done for patient 3\* and patient 5\*, 3GCREB prevalence study, Berlin, Germany, 2014/2015. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201548.s001> [cited 2019 Mar 22]

Patient	Colonizing 3GCRE	Type of infection	Pathogens identified in clinical specimen	Category of infection (3GCREB / Other)	Nosocomial (N) / Community-associated (CA)	Time to onset of infection (days)
1	3GCR+ FQR- <i>E.coli</i>	Intra-abdominal infection	3GCR + FQR- <i>E.coli</i> , 3GC + FQR – <i>Klebsiella pneumoniae</i> , Vancomycin-resistant <i>Enterococcus faecium</i>	3GCREB, other	N	21
2	3GCR- <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Intra-abdominal infection	3GC- <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Morganella morganii</i> , <i>Citrobacter brakii</i> , Vancomycin-resistant <i>Enterococcus faecium</i> (VRE), <i>Enterococcus faecium</i>	3GCREB, other	N	5
3*	3GCR- <i>E.coli</i>	UTI	3GCR- <i>E.coli</i>	3GCREB	N	4
4	3GCR +- <i>E.coli</i>	UTI	3GCR + FQR- <i>E.coli</i>	3GCREB	CA	1
5*	3GCR + FQR- <i>E.coli</i>	BSI	3GCR + FQR- <i>E.coli</i>	3GCREB	N	7
6	3GCR + FQR- <i>K. pneumoniae</i>	BSI	3GCR + FQR- <i>K. pneumoniae</i>	3GCREB	CA	2
7	3GCR + FQR- <i>E.coli</i>	UTI	3GCR- <i>E.coli</i>	Other	N	6
8	3GCR + FQR- <i>K. pneumoniae</i>	UTI	<i>Enterococcus faecalis</i>	Other	CA	1
9	3GCR + FQR- <i>E.coli</i>	UTI	<i>E.coli</i>	Other	CA	3
10	3GCR- <i>E.coli</i>	UTI	<i>E.coli</i>	Other	CA	1
11	3GCR + FQR- <i>E.coli</i>	UTI	<i>E.coli</i>	Other	CA	2

12	3GCR + FQR- <i>E.coli</i>	Intra-abdominal infection	<i>Streptococcus mitis / oralis</i> , <i>Pediococcus pentosaceus</i>	Other	N	12
13	3GCR + FQR- <i>E.coli</i>	UTI	<i>E.coli</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i>	Other	CA	2
14	3GCR + FQR- <i>E.coli</i>	BSI	<i>Staphylococcus aureus</i>	Other	N	17
15	3GCR- <i>Citrobacter freundii</i>	UTI	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Other	CA	2
16	3GCR- <i>E.coli</i>	Urosepsis	<i>E.coli</i>	Other	CA	1
17	3GCR- <i>E.coli</i>	Intra-abdominal infection	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Other	CA	2
18	3GCR- <i>Enterobacter spp.</i>	Intra-abdominal infection	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Streptococcus mitis / oralis</i> , 3GCR + FQR- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Other	CA	3
19	3GCR- <i>E.coli</i>	Infected wound	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Other	CA	2
20	3GCR + FQR- <i>E.coli</i>	BSI	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	Other	N	24
21	3GCR- <i>E.coli</i>	UTI	<i>Streptococcus agalacticae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>	Other	N	9
22	3GCR- <i>E.coli</i>	BSI	<i>Staphylococcus hominis</i>	Other	N	20
23	3GCR- <i>E.coli</i>	Intra-abdominal infection	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Streptococcus anginosus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	Other	N	6
24	3GCR- <i>Enterobacter cloacae complex</i>	UTI	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	Other	CA	2
25	3GCR + FQR- <i>E.coli</i>	BSI	<i>Enterococcus faecalis</i>	Other	CA	3

3GCR- resistant to third generation cephalosporins, FQR – resistant to fluorquinolones

**S2 Table. Descriptive analysis of information received by the questionnaire answered by 4,013 patients screened for 3GCREB colonization at admission to the hospital.**

Patients stratified by positive or negative 3GCREB status at admission, 3GCREB prevalence study, Berlin, Germany, 2014/2015. P-values were calculated by Chi-Squared test or Fisher's exact test, respectively. P-values  $\leq 0.05$  were considered significant. \* <sup>1</sup>at the time of answering the questionnaire.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201548.s002> [cited 2019 Mar 22]

		<b>3GCREB status at admission</b>		<b>Prevalence per 100 patients</b>	<b>P-value</b>
<b>Parameter</b>	<b>Category</b>	<b>Negative</b>	<b>Positive</b>	<b>Positive</b>	
<b>Patient</b>		3598 (100%)	415 (100%)	10.3	
<b>Current<sup>1</sup> antibiotic use</b>	Unknown	621 (17.3%)	80 (19.3%)	11.4	0.002*
	Yes	556 (15.5%)	89 (21.4%)	13.8	
	No	2421 (67.3%)	246 (59.3%)	9.2	
<b>Previous MDRO colonization / infection</b>	Unknown	119 (3.3%)	17 (4.1%)	12.5	< 0.001*
	Yes	162 (4.5%)	42 (10.1%)	20.6	
	No	3317 (92.2%)	356 (85.8%)	9.7	
<b>Antibiotic use during the previous 6 months)</b>	Unknown	106 (2.9%)	16 (3.9%)	13.1	< 0.001*
	Yes	1053 (29.3%)	188 (45.3%)	15.1	
	No	2439 (67.8%)	211 (50.8%)	8.0	
<b>Travelling in Europe (during the previous 6 months)</b>	Unknown	27 (0.8%)	5 (1.2%)	15.6	0.401
	Yes	568 (15.8%)	58 (14%)	9.3	
	No	3003 (83.5%)	352 (84.8%)	10.5	
<b>Travelling outside Europe (during the previous 6 months)</b>	Unknown	27 (0.8%)	5 (1.2%)	15.6	< 0.001*
	Yes	269 (7.5%)	67 (16.1%)	19.9	
	No	3302 (91.8%)	343 (82.7%)	9.4	
<b>Stay in rehabilitation center (during the previous 6 months)</b>	Unknown	4 (0.1%)	2 (0.5%)	33.3	0.168
	Yes	294 (8.2%)	36 (8.7%)	10.9	
	No	3300 (91.7%)	377 (90.8%)	10.3	

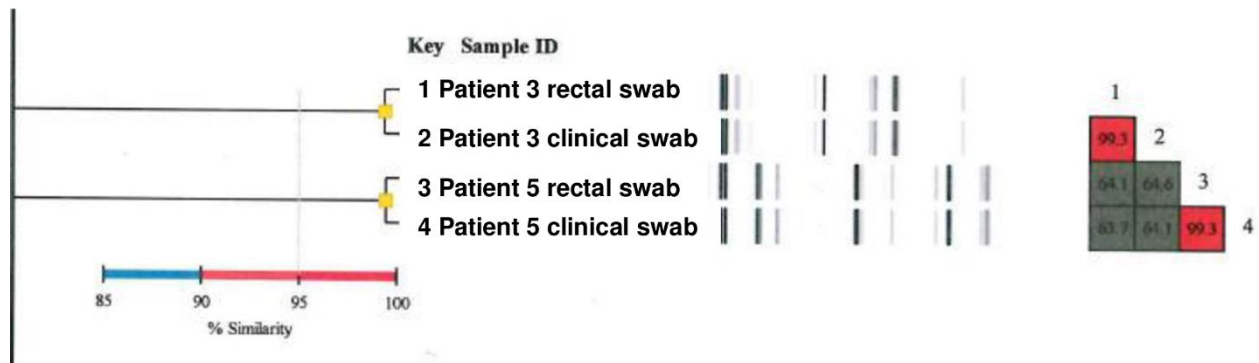
<b>Stay in LTCF (during the previous 6 months)</b>	Unknown	2 (0.1%)	2 (0.5%)	50.0	0.024*
	Yes	288 (8%)	38 (9.2%)	11.7	
	No	3308 (91.9%)	375 (90.4%)	10.2	
<b>Hospital stay in Germany (during the previous 6 months)</b>	Unknown	50 (1.4%)	8 (1.9%)	13.8	0.012*
	Yes	1138 (31.6%)	159 (38.3%)	12.3	
	No	2410 (67%)	248 (59.8%)	9.3	
<b>Hospital stay in Europe (during the previous 6 months)</b>	Unknown	50 (1.4%)	8 (1.9%)	13.8	0.185
	Yes	268 (7.4%)	40 (9.6%)	13.0	
	No	3280 (91.2%)	367 (88.4%)	10.1	
<b>Hospital stay outside Europe (during the previous 6 months)</b>	Unknown	50 (1.4%)	8 (1.9%)	13.8	0.671
	Yes	7 (0.2%)	1 (0.9%)	13.0	
	No	3541 (98.4%)	406 (97.8%)	10.1	
<b>Occupational animal contact (during the previous 6 months)</b>	Unknown	2 (0.1%)	0 (0%)	0.0	0.783
	Yes	1188 (33%)	132 (31.8%)	10.0	
	No	2408 (66.9%)	283 (68.2%)	10.5	
<b>Private animal contact (during the previous 6 months)</b>	Unknown	2 (0.1%)	1 (0.2%)	33.3	0.334
	Yes	46 (1.3%)	7 (1.7%)	13.2	
	No	3550 (98.7%)	407 (98.1%)	10.3	
<b>Treatment of GERD (during the previous 6 months)</b>	Unknown	57 (1.6%)	2 (0.5%)	3.4	0.040*
	Yes	1389 (38.6%)	181 (43.6%)	11.5	
	No	2152 (59.8%)	232 (56.4%)	9.6	

P-values were calculated by Chi-Squared test or Fisher's exact test, respectively. P-values  $\leq 0.05$  were



considered significant (\*). <sup>1</sup>at the time of answering the questionnaire. MDRO – multidrug resistant organisms, LTCF – long term care facility, GERD – gastroesophageal reflux disease.

## Strain typing analysis



**S1 Fig. Strain typing analysis for comparison of rectal admission screening swabs with clinical swabs of patient 3 and patient 5.**

1: 3GCR + FQR-Escherichia coli from rectal admission screening swab of patient 3, 2: 3GCR + FQR-Escherichia coli from blood of patient 3, 3: 3GCR-Escherichia coli from rectal admission screening swab of patient 5, 4: 3GCR-Escherichia coli from urine of patient 5. 3GCR—resistant to third-generation cephalosporins, FQR—resistant to fluorquinolones. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201548.s003> [cited 2019 Mar 22]



Put Pat.ID sticker here

**ATHOS prevalence study**

Recruiter initials

**A. Patient information**

Patient- ID (Studynumber)			
Unit-ID	Age in years	Sex	<input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F
Entry date to ATHOS-Area (DD.MM.YY)			
Entry date to ATHOS-Unit (DD.MM.YY)			
Date of rectal swab (DD.MM.YY)			
Current AB therapy (oral/iv)?			
<input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Unknown			

**B. Results of Screening**

Negative

Positive

Microbiological Finding ( resistant <i>Citrobacter</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Serratia</i> , <i>Proteus</i> and <i>Hafnia</i> species)			
Isolate 1 (genus + species)			Isolate 2 (genus + species)
MDR-GN	<input type="checkbox"/> 3GCREB	<input type="checkbox"/> 3MDR-GN	<input type="checkbox"/> 4MDR-GN
VRE	<input type="checkbox"/> Yes	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No
ESBL (omit if VRE)	<input type="checkbox"/> Positive	<input type="checkbox"/> Negative	<input type="checkbox"/> Positive <input type="checkbox"/> Negative
Colony number	<input type="checkbox"/> +	<input type="checkbox"/> ++	<input type="checkbox"/> +++

**Risk factor questionnaire**

**1. Were you ever diagnosed with a multidrug-resistant organism (colonisation or infection)?**

Yes       No       Unknown

If yes, which type? MRSA   VRE   ESBL- Producer   3GCREB   3MDR-GN   4MDR-GN   Unknown

**2. Did you take antibiotics in the previous 6 months (not including a current AB Therapy)?**

Yes       No       Unknown

**3. Have you been abroad in the last 6 months?**

Yes       No       Unknown

If yes, up to three entries : Within Europe name country by hand and outside Europe pick a region:

Africa   Asia (indicate extra if in India)   North America    Central and South Amerika  
Australia + Oceania   Arabian Peninsula

**4. Have you been to a rehabilitation facility in the last 6 months?**

Yes       No       Unknown

**5. Have you been to a long-term care facility in the last 6 months?**

Yes       No       Unknown

**6. Have you been to a hospital in Germany or abroad for stationary care in the last 6 months?**

Yes       No       Unknown

If yes, up to three entries : Within Europe name country by hand and outside Europe pick a region:

Africa   Asia (indicate extra if in India)   North Amerika    Central and South Amerika  
Australia + Oceania   Arabian Peninsula

**7. Do you have occupational animal contact?**

Yes       No       Unknown

**8. Do you have pets?**

Yes       No       Unknown

**9. Did you take medication against gastroesophageal reflux disease in the last 6 months?**

Yes       No       Unknown

Medication against gastroesophageal reflux disease are e.g.:

a. Antacids  
b. Proton-pump inhibitors

## **8 Curriculum Vitae**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

## 9 Publikationsliste

- 1) **Boldt A-C**, Schwab F, Rohde AM, Kola A, Bui MT, Märtin N, Kipnis M, Schröder C, Leistner R, Wiese-Posselt M, Zweigner J, Gastmeier P, Denkel LA. Admission prevalence of colonization with third-generation cephalosporin-resistant *Enterobacteriaceae* and subsequent infection rates in a German university hospital. PloS one. 2018 Aug 1;13(8):e0201548.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201548>
  
- 2) Kipnis M, Schwab F, Kramer TS, Stegemann MS, Isner C, Pilarski G, Märtin N, Bui MT, **Boldt A-C**, Behnke M, Denkel LA, Wiese-Posselt M, Zweigner J, Gastmeier P, Rohde AM. Incidence of healthcare-associated *Clostridioides difficile* infections and association with ward-level antibiotic consumption in a German university hospital: an ecological study. The Journal of antimicrobial chemotherapy. 2019 May 16.  
<https://doi.org/10.1093/jac/dkz195>

## 10 Danksagung

Zu aller erst möchte ich mich ganz herzlich bei Frau Prof. Dr. med. Gastmeier bedanken für die Möglichkeit am Institut für Hygiene und Umweltmedizin mit diesem interessanten Thema zu promovieren.

Die Zusammenarbeit mit meiner Betreuerin, Dr. rer. nat. Luisa A. Denkel, schätzte ich zu jeder Zeit. Ihr konstruktives Feedback zu meiner Arbeit war stets hilfreich. Ich bin sehr dankbar für die wirklich großartige Unterstützung.

Auch Dr. med. Rasmus Leistner möchte ich für jeden Rat während meiner Zeit am Institut herzlich danken.

Darüber hinaus möchte ich an dieser Stelle Solvy Wolke (Studienbüro) für die planerische Unterstützung und den Doktorandinnen Minh Trang Bui, Nayana Märtin und Marina Kipnis sowie Anja Webner für die Mithilfe bei der Patientenrekrutierung im Krankenhaus danken.

Außerdem danke ich PD Dr. med. Axel Kola und seinem Team für die mikrobiologische Diagnostik der Proben und Dr. rer. medic. Frank Schwab für die Unterstützung bei der statistischen Analyse.

Ein ganz besonderer Dank gilt meiner Familie, insbesondere meinen Eltern, für die liebevolle Unterstützung. Sorgenfrei konnte ich mich dadurch auf meine Ziele konzentrieren.

Ein überaus großer Dank verdient mein Verlobter. Seine Umarmungen und aufmunternden Worte erleichterten mir die jahrelange Disziplin während meines Studiums und der Anfertigung dieser Dissertation enorm.