

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

DISSERTATION

Bakteriämie mit Extended- Spectrum- Beta- Lactamase
(ESBL)-positiven *K. pneumoniae*

Epidemiologie, molekulare Epidemiologie, Risikofaktoren für Kranken-
hausletalität und Zusatzkosten bei Infektion

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Stephan Gürntke

aus Berlin

Datum der Promotion: 09.12.2016

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	III
I. Zusammenfassung.....	4
I.1 Abstrakt	4
I.2 Einführung	6
I.3 Methodik.....	8
I.4 Ergebnisse	10
I.5 Diskussion	18
I.6 Literaturverzeichnis	21
II. Eidesstattliche Versicherung einschließlich Anteilserklärung.....	25
III. Druckexemplare der ausgewählten Publikationen	27
IV. Lebenslauf (Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht).....	43
V. Komplette Publikationsliste	44
VI. Danksagung.....	45

Abkürzungsverzeichnis

BSI	Blood Stream Infection
CCI	Charlson Komorbiditätsindex
CI	Konfidenzintervall
CLSI	Clinical and Laboratorial Standards Institute
ESBL	Extended- Spectrum- Beta- Lactamase
ESBL-E	Extended- Spectrum- Beta- Lactamase <i>Enterobacteriaceae</i>
ESBL-KP-BSI	Bakteriämie mit ESBL-positiven <i>K. pneumoniae</i>
HR	Hazard Ratio
ICD-10	International Classification of Diseases
IQR	Interquartilsabstand
ITS	Intensivstation
MHK	Minimale Hemmkonzentration
N-KP-BSI	Bakteriämie mit ESBL-negativen <i>K. pneumoniae</i>
NICU	Neonatal Intensive Care Unit
PCR	Polymerase- Kettenreaktion
SOP	Standard Operating Procedure
VWD	Verweildauer

I. Zusammenfassung

I.1 Abstrakt

Deutsch

Die Inzidenz von Infektionen mit Extended- Spectrum- Beta- Lactamase (ESBL) bildenden *Enterobacteriaceae* steigt seit einigen Jahren in Deutschland stark an. Folgen dieser Entwicklung sind erhöhte Letalität und Morbidität der betroffenen Patienten. Aber auch kostenintensive und verlängerte Krankenhausaufenthalte und kostenintensive Präventionsmaßnahmen sind Nachwirkungen dieser Entwicklung. Insbesondere in Bezug auf einen der häufigsten ESBL-Bildner, *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), sind viele Fragen noch unbeantwortet. Wie hoch ist die Letalität bei Infektionen mit diesen Erregern, welche Resistenzgene sind am weitesten verbreitet und welche Zusatzkosten entstehen durch Infektionen mit diesen Erregern?

Wir führten eine Kohortenstudie durch und analysierten Daten von Patienten, die in den Jahren 2008 bis 2011 in der Charité – Universitätsmedizin Berlin behandelt wurden. Es wurden alle Patienten eingeschlossen, die mit einer Bakteriämie durch *Escherichia coli* (*E. coli*) oder *K. pneumoniae* diagnostiziert wurden. Innerhalb dieser Kohorte wurden Bakteriämien mit ESBL-bildenden Erregern mit Bakteriämien durch nicht resistente (sensible) Erreger verglichen. Analysiert wurde außerdem die Verteilung der verschiedenen ESBL-Genotypen innerhalb der Bakteriämie verursachenden *K. pneumoniae*. Insbesondere wurde der Einfluss von ESBL-Bildung, Alter, Geschlecht, Verweildauer vor und nach Bakteriämie, verschiedener Grunderkrankungen, nosokomialer Bakteriämie und ESBL-Genotyp auf das Letalitätsrisiko einer *K. pneumoniae* Bakteriämie untersucht. In einer weiteren Analyse wurden obengenannte Parameter und deren Auswirkungen auf Krankenhauskosten und Verweildauer inklusive des Vergleichs zu *E. coli* Bakteriämien geschätzt. Der Nachweis der ESBL-Gene erfolgte mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) und Sequenzierung. Die Risikofaktoren für Letalität wie Alter, Geschlecht und Grunderkrankungen wurden mittels multivariabler Regressionsanalyse von Überlebenszeiten nach Cox berechnet. Die Einflussfaktoren auf Krankenhauskosten wurden mittels univariater Analyse, die Daten zu Krankenhausverweildauer mittels multivariabler linearer Regression bewertet.

Insgesamt wurden 352 Bakteriämien mit *K. pneumoniae* eingeschlossen, darunter fanden sich 19% (n=66) durch ESBL-positive *K. pneumoniae*. Es konnte kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Letalität von Bakteriämien durch ESBL-positive vs. – negative *K. pneumoniae* demonstriert werden (25% vs. 24%, p=0,875). Statistisch signifikante Risikofaktoren für ein Versterben im Krankenhaus nach *K. pneumoniae* Bakteriämie waren chronische Lungenerkrankungen (HR 1,75) und mäßige bis schwere Nierenerkrankungen (HR 2,57). Die häufigsten ESBL-Genotypen waren CTX- M-15 (61%), SHV-5 (27%) und CTX-M-3 (4%). Bakteriämien mit ESBL-bildenden *K. pneumoniae* waren mit einer verlängerten Verweildauer (vor und nach Infektionsbeginn) assoziiert, im Vergleich zu *E. coli* und im Vergleich zu ESBL-negativen *K. pneumoniae*.

Nicht nur die Bildung von Resistenzfaktoren wie ESBL, sondern auch die Spezies der Erreger beeinflussen den Krankheitsverlauf und die krankheitsbedingte Verweildauer im Krankenhaus. Infektionspräventionsmaßnahmen sollten in Zukunft auch den Unterschieden der Erregerspezies innerhalb der Familie der *Enterobacteriaceae* Rechnung tragen.

English

The incidence of infections with Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) –positive pathogens has been increasing for several years in Germany. Consequences of this development are enhanced morbidity and mortality for affected patients. However, costly and prolonged hospital stays and cost-intensive prevention measures are also repercussions of this development. Many questions particularly with regard to one of the most common ESBL-producer, *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), are still unanswered: What is the associated mortality-rate of infections with these particular pathogens? Which resistance genes are responsible for this epidemic? What are the excess costs caused by these infections?

We performed a cohort study and analyzed data from patients who were treated in the years 2008 to 2011 in the Charité- Universitätsmedizin Berlin. All patients that were diagnosed with bacteremia caused by *K. pneumoniae* or *Escherichia coli* (*E. coli*) were included in the analysis. Within this cohort cases with bacteremia due to ESBL-producing *E. coli* or *K. pneumoniae* were compared with cases with non-resistant (susceptible) strains of these two species. Various epidemiological and clinical factors were analyzed in order to estimate their effect on hospital mortality and potential excess hos-

pital costs respectively. Furthermore, the distribution of different ESBL genotypes was assessed. The detection of ESBL genes was carried out by polymerase chain reaction (PCR) and sequencing. The risk factors for mortality such as age, sex and underlying comorbidities were analyzed using univariate analysis and multivariable Cox regression. The factors on hospital stay were evaluated by univariate analysis and multivariable linear regression.

Altogether 352 cases of *K. pneumoniae* bacteremia were included among which 19% (n=66) were found ESBL-positive. There was no significant difference in regards to mortality between ESBL-positive vs. -negative *K. pneumoniae* cases (25% vs. 24%, p=0,875). Independent risk factors for in-hospital death after *K. pneumoniae* bacteremia were lung disease (HR 1.747) and renal disease (HR 2.572). The most common genotypes were CTX ESBL-M-15 (60%), SHV-5 (27%) and CTX-M-3 (5%). Episodes with bacteremia with ESBL-producing *K. pneumoniae* were associated with a prolonged length of hospital stay (before and after onset of infection) compared to *E. coli* and ESBL-negative *K. pneumoniae* cases respectively.

Not only the formation of resistance factors as ESBL, but also the infection causing pathogen species has an effect on the length of hospital stay. In the future, in terms of infection prevention measures, ESBL-positive *K. pneumoniae* should be considered differently compared to *E. coli* in order to effectively prevent transmissions and nosocomial infections.

I.2 Einführung

Die Zunahme multiresistenter *Enterobacteriaceae* als Darmkommensalen ist ein Phänomen, das zunehmend auch in Deutschland zu beobachten ist [1]. Einen Schwerpunkt dieser Entwicklung stellen die klinisch immer häufiger zu findenden Extended-Spectrum-Beta-Lactamase (ESBL)-bildenden *Enterobacteriaceae* dar [2]. Aktuell ist in der Allgemeinbevölkerung mit einer Prävalenz von 6,3% zu rechnen, wobei von steigenden Zahlen ausgegangen wird [1]. Klinisch relevante Antibiotikaklassen sind gegen diese Erreger in zunehmendem Ausmaß nicht mehr wirksam.

Eine Metaanalyse von 2007 zeigte, dass eine Bakteriämie (BSI) mit ESBL-positiven Organismen mit einem Anstieg der Letalität assoziiert ist [3]. Gleichzeitig kritisieren aber die Autoren den Mangel an gut kontrollierten Studien zu dem Thema. Neuere Studien

stellen zudem einen Anstieg der Letalität durch ESBL-bildende Erreger in Frage [4-6]. Viele der klinischen Studien zu diesem Thema konzentrieren sich ausschließlich auf Infektionen mit ESBL-positiven *Escherichia coli* (*E. coli*) [7, 8]. Wenige Studien untersuchten Infektionen mit ESBL-positiven *K. pneumoniae* und die Verbreitung der verschiedenen ESBL-Genotypen in dieser Erregerspezies [9-12].

Die europäische Gesellschaft für klinische Mikrobiologie und Infektionskrankheiten (ESCMID) empfiehlt Präventionsmaßnahmen im Krankenhaus, um einer Verbreitung vorzubeugen [13]. In Frage kommt zum Beispiel die Kontaktisolation von Patienten mit Besiedlung mit ESBL-positiven Bakterien. Bei solchen aufwendigen und kostenintensiven Maßnahmen stellt sich auch immer die Frage nach der Effektivität und Kosteneffizienz [14, 15]. In der Literatur gibt es Hinweise, dass signifikante Unterschiede im Übertragungspotential zwischen ESBL-positiven *E. coli* und *K. pneumoniae* bestehen [16, 17]. Dies könnte auch einen Unterschied in der Effektivität und damit auch in der Kosteneffizienz von Präventionsmaßnahmen zur Vermeidung von Übertragungen von ESBL-positiven *-K. pneumoniae* und *-E. coli* nach sich ziehen. Es existieren allerdings bislang nur wenige Studien, die die Kosten von Infektionen mit ESBL-positiven *K. pneumoniae* untersucht haben [8, 18].

I.2.1 Zielsetzung

- Welche klinischen und epidemiologischen Faktoren beeinflussen die Letalität bei Bakteriämien mit *K. pneumoniae* (N-KP-BSI) im Vergleich zu ESBL-bildenden *K. pneumoniae* (ESBL-KP-BSI)?
- Welche Resistenzgene vermitteln in Deutschland den Anstieg ESBL-positiver *K. pneumoniae* in Bakteriämien?
- Entstehen durch Bakteriämien mit ESBL-bildenden Enterobacteriaceae Zusatzkosten bzw. eine zusätzliche Verweildauer im Krankenhaus?
- Wie hoch sind diese potentiellen Zusatzkosten bzw. wie lange ist die zusätzliche Verweildauer der Patienten im Krankenhaus?
- Gibt es Einflussfaktoren auf die zusätzliche Verweildauer, die auf Unterschiede in der Erregerspezies zurückzuführen sind?
- Sollte hinsichtlich der Infektionspräventionsmaßnahmen zwischen den verschiedenen Spezies der Enterobacteriaceae unterschieden werden?

I.3 Methodik

I.3.1 Studiendesign und Definitionen

Wir führten eine Kohortenstudie zur Bakteriämie mit *K. pneumoniae* durch. Es wurden alle Patienten der Charité eingeschlossen, bei denen im Studienzeitraum eine *K. pneumoniae* Bakteriämie diagnostiziert wurde. Der Studienzeitraum umfasste 4 Jahre, zwischen dem 1. Januar 2008 und dem 31. Dezember 2011. Im Vorfeld wurde die Studie durch die Ethikkommission der Charité geprüft und bewilligt (Vorgangsnummer: EA4/031/11). Die Erhebung der Patientendaten erfolgte retrospektiv. Als Datengrundlage wurde die Mikrobiologiedatenbank nach positiven Blutkulturen für *K. pneumoniae* durchsucht. Jeder Patient wurde nur einmal in die Analyse eingeschlossen. Wies ein Patient während eines Krankenhausaufenthaltes mehrere Blutkulturen mit *K. pneumoniae* auf, so wurde nur die erste Blutkultur berücksichtigt. Blutkulturen, die mehr als einen Erreger aufwiesen wurden als polymikrobiell definiert. Der Tag der ersten *K. pneumoniae* Blutkultur wurde definiert als Infektionsbeginn der Bakteriämie. Die Bakteriämien wurden entsprechend der mikrobiologischen Diagnose in ESBL-positive und ESBL-negative Bakteriämien eingeteilt. Wies ein Patient während eines Aufenthaltes beide Arten der *K. pneumoniae* Bakteriämien auf (ESBL-positiv oder ESBL-negativ), wurde die erste ESBL-KP-BSI gewertet. Als nosokomial wurde eine Bakteriämie gewertet, wenn der Erstnachweis des Erregers mindestens 48 Stunden nach Aufnahme des Patienten im Krankenhaus erfolgte. Die Grundkrankheiten der Patienten wurden über die ICD-10 kodierten Krankheiten erhoben. Als Bewertungsmaßstab wurde der Charlson Komorbiditätsindex (CCI) jedes Patienten nach der - auf ICD-10 Code-basierten - Methode von Thygesen et al. berechnet [19,20]. Die ursprünglichen 19 Kategorien von Komorbiditäten wurden aufgrund der teilweise selten vertretenen Kategorien organbezogenen zusammengefasst. Folgende 10 Kategorien wurden ausgewertet: Herzerkrankungen, Gefäßerkrankungen, neurologische Erkrankungen, chronische Lungenerkrankungen, Ulkus-Erkrankungen, Lebererkrankungen, Diabetes mellitus, mäßige/ schwere Nierenerkrankungen, Bindegewebserkrankungen, Krebs/ immunologische Erkrankungen. Als Letalität wurde das Versterben im Krankenhaus während des Aufenthalts der Bakteriämieepisode definiert (Krankenhausletalität).

I.3.2 Mikrobiologische Analysen

Die Testung auf die der Bakteriämie zugrunde liegenden Bakterien sowie die Testung der Empfindlichkeit gegenüber Antibiotika erfolgte automatisiert mittels Vitek 2 und wurde gemäß den Standards des *Clinical and Laboratorial Standards Institut* (CLSI) bewertet [21]. Die Bestätigung der Fähigkeit zur ESBL-Bildung wurde mittels minimaler Hemm-Konzentration (MHK) unter Verwendung einer Multiwell-Mikrotiterplatte durchgeführt. Die Cephalosporine der 3. Generation (Cefoxitin, Ceftazidim und Cefpodoxim) wurden allein und in Kombination mit dem ESBL-Inhibitor Clavulansäure getestet (SOP des Instituts für Mikrobiologie AM-MI-120/D, gemäß deutscher Zulassungsbehörde, Reg. Nr. DGA-ML-6243.03). Phänotypisch positiv auf ESBL-Bildung getestete *K. pneumoniae* Isolate wurden mittels PCR und nachfolgender Sequenzierung auf folgende ESBL-Gene untersucht: *bla* TEM-type, *bla* SHV-type, *bla* CTX-M-1-2-8-9-25 Gruppe. Weiterhin wurde auf folgende AmpC-Gene getestet: *bla* CMY-type, *bla* DHA-type, *bla* ACC-type [22].

I.3.3 Statistische Analysen

In der deskriptiven Analyse der Patienten mit ESBL-positiven und ESBL-negativen Bakteriämien wurde für kontinuierliche Variablen der Median und der Interquartilsabstand (IQR) bestimmt. Für kategoriale Variablen wurden die Gesamtzahl sowie die prozentuale Verteilung bestimmt. Die Ergebnisse wurden mittels Wilcoxon-Rangsummen-Test für kontinuierliche Variablen und dem *Fisher's exact test* bzw. Chi-Quadrat-Test für kategoriale Variablen ausgewertet. Um den Effekt von ESBL-Bildung bei *K. pneumoniae* Bakteriämien auf die Letalität zu bestimmen, wurde eine Cox-Regressionsanalyse durchgeführt. Folgende Parameter wurden in der stufenweisen Auswahl der Variablen berücksichtigt: ESBL-positiv, Alter > 65 Jahre, männliches Geschlecht, Dauer des Aufenthaltes auf der Intensivstation (in Tagen), polymikrobielle Infektion, Zeitpunkt der Entlassung, nosokomiale Infektion, Dauer des Aufenthaltes vor Infektionsbeginn und der Charlson Komorbiditätsindex (Modell II). In Modell I wurden außerdem separat die 10 zugrunde liegenden Kategorien von Krankheiten analysiert. Die Ergebnisse wurden im Modell berücksichtigt, wenn die Standardabweichung $p < 0.05$ war und ausgeschlossen wenn sie $p \geq 0.05$ waren. Die Odds Ratio und ihr 95% Konfidenzintervall wurde bestimmt. Alle Tests auf Signifikanz wurden zweiseitig durchgeführt und als signifikant erachtet, wenn der p-Wert < 0.05 war. Die Daten wurden mittels Statistikprogramm PASW Statistics 18

(SPSS Inc. 2009, Chicago, Illinois) ausgewertet. Die Regressionskoeffizienten wurden zur Darstellung ihres Effekts mittels exponentieller Transformation umgewandelt und auf die gesuchten Parameter angewandt.

I.3.4 Kostenanalyse

Nachdem die Patientendaten für den Zeitraum gesammelt wurden, wurden die Kosten und die Verweildauer (VWD) jedes Patienten für den analysierten Zeitraum bestimmt. Die Daten hierzu wurden durch die Controlling Abteilung der Charité zur Verfügung gestellt. Die Kostendaten wurden in Form von Krankenhausaufgaben und Rückerstattungskosten zur Verfügung gestellt. Die analysierten Kosten beinhalteten die direkten Behandlungskosten, die durch Behandlung und Untersuchungen zustande kamen, aber auch die indirekten Kosten, wie Kosten für Verwaltung. Die individuellen Kosten pro Fall wurden anhand von tatsächlichen Leistungen am Patienten sowie Pauschalen für die Behandlung (zum Beispiel: Zeit für Arbeit von Pflegepersonal pro Patient) näherungsweise abgeschätzt. Zur ökonomischen Analyse standen somit pro Fall die gesamten Kosten pro Krankenhausaufenthalt, aber auch die Kosten pro Behandlungstag zur Verfügung. Eine Unterscheidung zwischen Kosten vor und nach der Bakteriämie war nicht möglich. Zum Vergleich der Zusatzkosten und Zusatzverweildauer wurde ein bestehender Datensatz zu *E. coli* Bakteriämien herangezogen. Der Datensatz umfasste zum *K. pneumoniae* BSI Datensatz analoge Daten ebenfalls zu BSI durch ESBL-positive und ESBL-negative *E. coli*.

Zur Bestimmung des Einflusses von ESBL-positiven Erregern auf die Verlängerung des Krankenhausaufenthaltes sowie auf die Kosten wurde eine lineare Regressionsanalyse durchgeführt. Die kontinuierlichen Parameter, wie Dauer des Patientenaufenthaltes vor und nach dem Nachweis der Bakteriämie, sowie die Gesamtkosten des Aufenthaltes wurden mittels Logarithmus umgewandelt, um eine Normalverteilung zu erhalten.

I.4 Ergebnisse

I.4.1 Ergebnisse der Letalitätsanalyse

Die Ergebnisse entstammen der Publikation Nr. 01 (*siehe unter Kapitel V. Komplette Publikationsliste*).

I.4.1.1 Univariate Ergebnisse

Im Studienzeitraum wurden 352 Fälle von *K. pneumoniae* Bakteriämien eingeschlossen. Der Großteil der *K. pneumoniae* war ESBL-negativ (81%; n=286), 19% (n=66) waren ESBL-positiv. Der Anteil polymikrobieller Bakteriämien durch ESBL-KP-BSI (14%; n= 9) lag deutlich unter dem Anteil in der Gruppe der N-KP-BSI (27%; n=77). Allerdings war der Anteil nosokomialer Bakteriämien bei ESBL-KP-BSI (74%; n=49) signifikant höher als bei N-KP-BSI (58%; n=166). Patienten mit Bakteriämien mit ESBL-positiven *K. pneumoniae* hatten eine durchschnittliche Krankenhausverweildauer von 44 Tagen. Die durchschnittliche VWD vor der ESBL-KP-BSI lag bei 23 Tagen, danach bei 18 Tagen. Bei den N-KP-BSI war der durchschnittliche Aufenthalt signifikant kürzer: Gesamtaufenthalt 24 Tage, Aufenthalt vor Infektionsbeginn 5 Tage und nach Infektionsbeginn 12 Tage. Tabelle 1 ist ein Überblick der zugrundeliegenden epidemiologischen Parameter der Kohorte zu entnehmen.

Tabelle1: Epidemiologische Parameter der Patienten mit *K. pneumoniae* Bakteriämie

Parameter	ESBL-negative <i>K. pneumoniae</i> (n=286) N (%) / Median (IQR)*	ESBL-positive <i>K. pneumoniae</i> (n=66) N (%) / Median (IQR)*	P-Wert
Alter >65	135 (47%)	33 (50%)	0.682
Geschlecht männlich	184 (64%)	47 (71%)	0.289
polymikrobielle Bakteriämie	77 (27%)	9 (14%)	0.024
nosokomiale Infektion	166 (58%)	49 (74%)	0.015
intensivmedizinischer Aufenthalt	193 (67%)	49 (74%)	0.358
Charlson Komorbiditätsindex	6 (4-9)*	6 (4-8)*	0.551
Herzerkrankungen	56 (20%)	15 (23%)	0.566
Gefäßerkrankungen	51 (18%)	10 (15%)	0.604
neurologische Erkrankungen	26 (9%)	7 (11%)	0.703
Chron. Lungenerkrankungen	47 (16%)	14 (21%)	0.355
Bindegewebserkrankungen	7 (2%)	-	0.461
Ulkus- Erkrankungen	9 (3%)	1 (2%)	0.517
Lebererkrankungen	49 (17%)	15 (23%)	0.288

Diabetes mellitus	81 (28%)	19 (29%)	0.940
mäßige/ schwere Nierenerkrankungen	133 (47%)	39 (59%)	0.065
Krebs/ immunologische Erkrankungen	131 (46%)	23 (35%)	0.106
verstorben im Krankenhaus	72 (25%)	16 (24%)	0.875
VWD (Tage)	24 (11-46)*	44 (26-82)*	<0.001
VWD vor Nachweis der Bakteriämie (Tage)	5 (0-17)*	23 (2-51)*	<0.001
VWD nach Nachweis der Bakteriämie (Tage)	12 (7-25)*	18 (9-42)*	0.027

Der P- Wert wurde mittels Wilcoxon Rangsummen- Test für kontinuierliche Variablen und mittels *Fisher's exact test* für kategoriale Variablen berechnet. ESBL, Extended-Spectrum Beta-Lactamase. VWD, Verweildauer. IQR, Interquartilsabstand. Tabelle aus Publikation Nr. 01 (siehe Kapitel V. komplette Publikationsliste).

I.4.1.2 Cox-Regressionsanalyse

In der Cox Regressionsanalyse der ESBL-KP-BSI Kohorte zeigten folgende Parameter einen statistisch signifikanten Einfluss auf die Letalität im Krankenhaus: chronische Lungenerkrankungen (HR 1.747) undmäßige/ schwere Nierenerkrankung (HR 2.572) im Modell I sowie Charlson Komorbiditätsindex (HR1.159) im Modell II. In beiden Berechnungsmodellen konnte kein statistisch signifikanter Einfluss der ESBL-Produktion auf die Krankenhausmortalität gefunden werden.

Tabelle 2: Ergebnisse der Cox-Regressionsanalyse von *K. pneumoniae* Bakteriämien und deren Einflussfaktoren und auf die Mortalität im Krankenhaus.

Parameter	HR	CI 95	P-Wert
Modell I			
ESBL-positive <i>K. pneumoniae</i> BSI	0.629	0.36-1.10	0.101
Chron. Lungenerkrankungen	1.747	1.11-2.75	0.016
mäßige/ schwere Nierenerkrankung	2.572	1.59-4.15	0.000
Modell II			
ESBL-positive <i>K. pneumoniae</i> BSI	0.854	0.49-1.48	0.573
Charlson Komorbiditätsindex	1.159	1.09-1.23	0.000

HR, hazard ratio. CI 95, 95% Konfidenzintervall. BSI, Bakteriämie. Modell I beinhaltet: ESBL Produktion, Alter >65 Jahren, Geschlecht= männlich, ITS Aufenthalt, polymikrobielle BSI, Jahr der Entlassung, noso-

komiale Infektion, Verweildauer vor Infektionsbeginn, Herzerkrankungen, Gefäßerkrankungen, neurologische Erkrankungen, chronische Lungenerkrankungen, Ulkus-Erkrankungen, Lebererkrankungen, Diabetes mellitus, mäßige/ schwere Nierenerkrankung, Bindegewebserkrankung, Krebs/ immunologische Erkrankung. Modell II beinhaltet: ESBL Produktion, Alter >65 Jahren, Geschlecht: männlich, ITS- Aufenthalt, polymikrobielle Bakteriämie, Jahr der Entlassung, nosokomiale Infektion, Verweildauer vor Infektionsbeginn, Charlson-Komorbiditätsindex. Tabelle aus Publikation Nr. 01 (siehe Kapitel V. Komplette Publikationsliste).

Abbildung 1. Überlebenskurve der Cox- Regressionsanalyse.

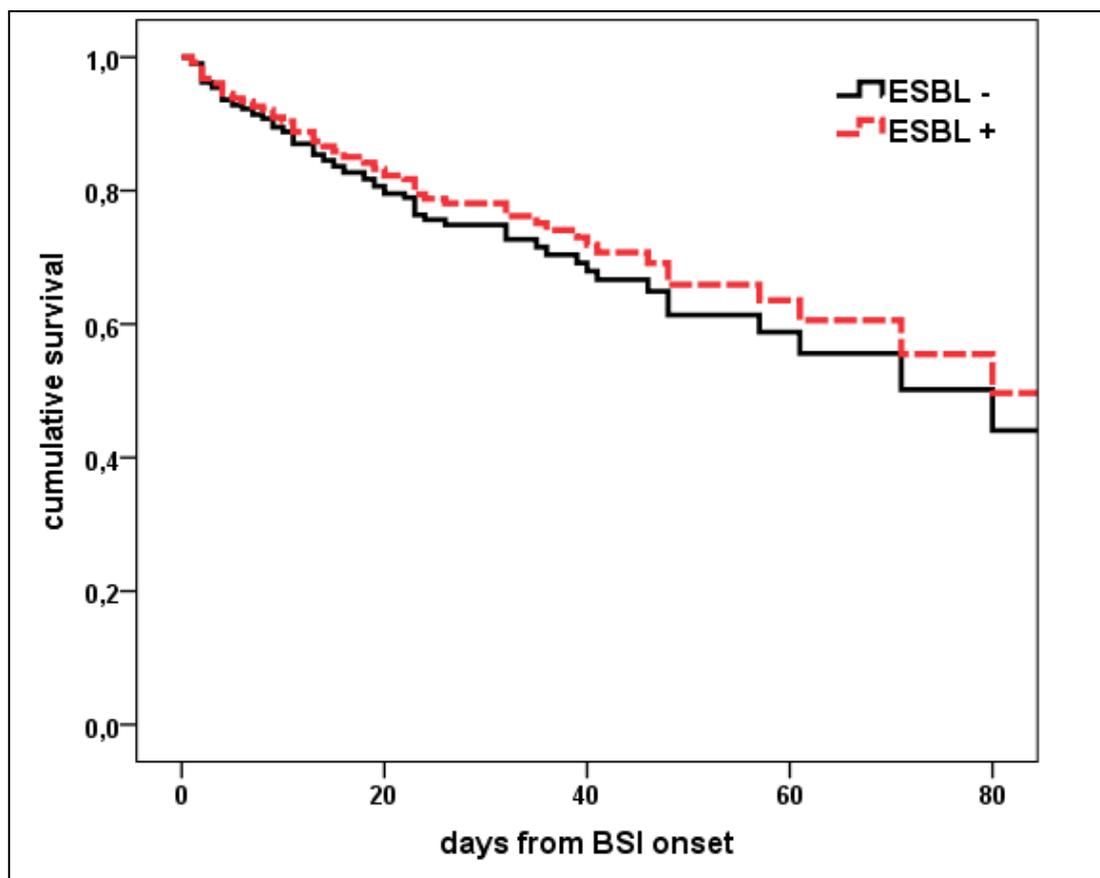


Abbildung 1: Überlebenskurve der Cox-Regressionsanalyse auf Mortalität unterteilt in Bakteriämie mit ESBL-positiven und ESBL-negativen *K. pneumoniae*. Graphik aus Publikation Nr. 01 (siehe Kapitel V. Komplette Publikationsliste).

I.4.2 Ergebnisse der Analyse der molekularen Epidemiologie

Phänotypisch lag die Resistenz laut Antibiogramm bei 98% (n=65) Resistenz gegenüber Piperacillin/ Tazobactam, 3% (n=2) Resistenz gegenüber Meropenem, 55% (n=36) Resistenz gegenüber Gentamicin, 70% (n=46) Resistenz gegenüber Ciprofloxacin und

86% (n=57) Resistenz gegenüber Cotrimoxazol. In 58 Fällen wurde auch die Resistenz gegenüber Tigecyclin getestet, wobei die Resistenz hier bei 11% (n=7) lag. Insgesamt standen 59 (92%) der ESBL- positiven *K. pneumoniae* Isolate für eine Untersuchung mittels PCR zur Verfügung. Unter diesen 59 Isolaten waren 71% (n=42) nosokomiale Infektionen. In 56 (95%) dieser 59 Isolate konnte der ESBL- Genotyp mittels PCR nachgewiesen werden. Die häufigsten Genotypen waren dabei der CTX-M-15 Typ (n=34; 61%), der SHV-5 Typ (n=15; 27%) und der CTX-M-3 Typ (n=2; 4%). Des Weiteren waren in einigen Isolaten der CTX-M-14, der CTX-M-1, der CTX-M-55, der SHV-7 und der SHV-2 Typ nachweisbar (Abbildung 2).

Zusätzliche ESBL Genotypen in Form von bla TEM-type und bla SHV-type waren in 86% (n=48) der Isolate nachweisbar (n=45 TEM- positiv und n=35 SHV- positiv). Ein gleichzeitiges Vorliegen aller drei Betalaktamase- Typen (CTX-M, SHV und TEM) war in 32 Fällen (57,1%) nachweisbar. Die Übrigen 3 ESBL-negativen Isolate zeigten eine Überproduktion von Betalaktamase vom Typ TEM und SHV (TEM-1; TEM-181; SHV-1) als Grund ihrer Resistenz gegenüber Cephalosporinen der 3. Generation.

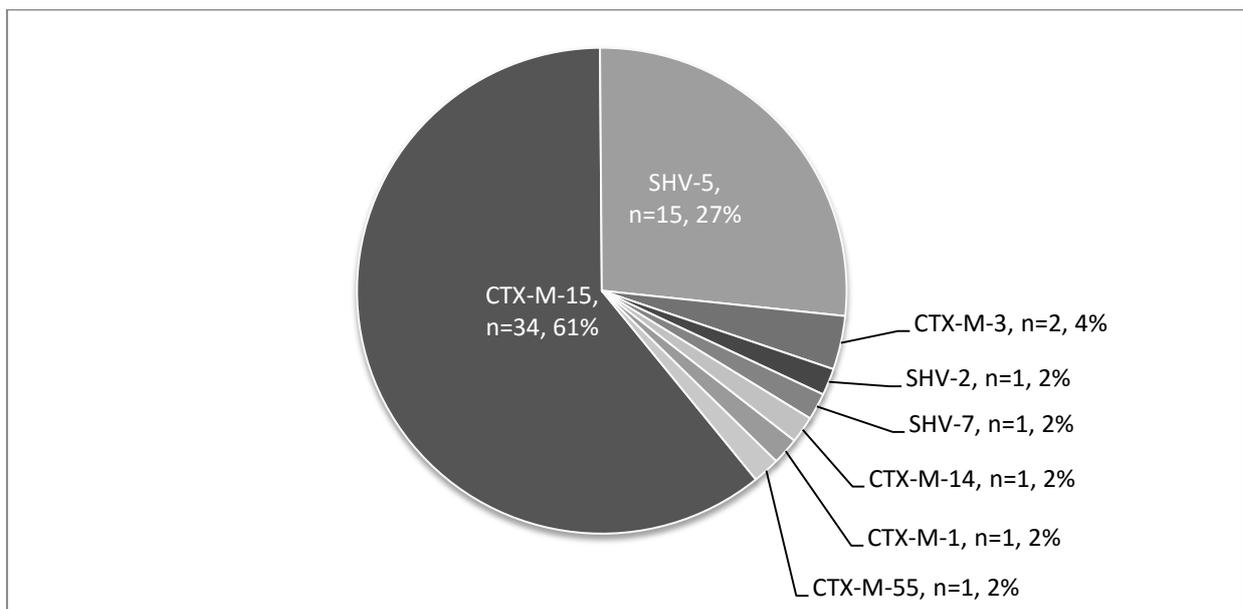


Abbildung 2: Verteilung der ESBL-Genotypen in den analysierten 56 ESBL-positiven *K. pneumoniae* Isolaten. Graphik aus Publikation Nr. 01 (siehe Kapitel V. Komplette Publikationsliste).

I.4.3 Ergebnisse der Kostenanalyse

Die Ergebnisse entstammen der Publikation Nr. 02 (siehe unter Kapitel V. Komplette Publikationsliste).

Insgesamt wurden 1.851 Patienten mit Bakteriämie durch *K. pneumoniae* (19%, n=352) oder *E. coli* (81%, n=1.499) eingeschlossen. Tabelle 3 gibt die statistisch signifikanten Ergebnisse des univariaten Vergleichs von klinisch-epidemiologischen-, Kosten- und Verweildauer -Parameter beider Subgruppen wieder. Bakteriämien mit ESBL-positiven *Enterobacteriaceae* waren mit einer Verweildauer (VWD) im Median von 30 Tagen (IQR 14-60) assoziiert. Die VWD vor Bakteriämie betrug im Median 10 Tage (IQR 0-30) und nach Beginn der Bakteriämie im Median 15 Tage (IQR 9-34). Bei ESBL-negativen Fällen war die VWD in allen Subkategorien signifikant kürzer: Gesamt VWD 16 Tage (IQR 9-37; $p < 0.001$), VWD vor Beginn 1 Tag (IQR 0-12; $p < 0.001$) und VWD nach Beginn 12 Tage (7-23; $p < 0.001$). Die Krankenhauskosten unterschieden sich signifikant zwischen Bakteriämien mit ESBL-positiven und ESBL-negativen *Enterobacteriaceae*: Median der Gesamtkosten des Krankenhausaufenthalts 22.893€ (IQR 7.024-62.850) vs. 9.734€ (IQR 4.003-27.520; $p < 0.001$), Tageskosten: 817€ (IQR 529-1.264) vs. 598€ (IQR 439-965, $p < 0.001$).

Um den unmittelbaren Einfluss von ESBL-Produktion und Pathogen Spezies (*K. pneumoniae* vs. *E. coli*) auf die Entstehung zusätzlicher Kosten für das Krankenhaus zu ermitteln, wurden vergleichende Analysen der Verweildauer durchgeführt. Im Vergleich zu Kostendaten ermöglichen die Daten zu VWD eine Unterscheidung zwischen dem Zeitpunkt vor Eintritt der Infektion und nach dem Eintritt der Infektion. Abbildung 3 zeigt graphisch die Ergebnisse sechs verschiedener multivariabler linearer Regressionsmodelle mit dem Endpunkt multiplikativer Effekt auf Krankenhausverweildauer in Relation zur Bakteriämie mit ESBL-negativen *K. pneumoniae*. Die Modelle unterschieden sich lediglich in der analysierten Subpopulation (alle Patienten, nur Überlebende) und den Subkategorien der Verweildauer (VWD Gesamt, VWD vor Infektion, VWD nach Infektion). Die Ergebnisse aller Modelle, außer einem, zeigten eine statistisch signifikante Assoziation von Bakteriämien mit ESBL-positiven *K. pneumoniae* mit erhöhter VWD im Vergleich zu anderen Pathogenen (ESBL-negative *K. pneumoniae* und ESBL-positiv/negative *E. coli*). Das einzige Modell mit abweichenden Ergebnissen untersuchte die VWD nach Bakteriämiebeginn, schloss aber auch verstorbene Patienten ein. Die Ergebnisse dieses Modells zeigen einen Einfluss verschiedener Grundkrankheiten und eines nosokomialen Ursprungs der Bakteriämie auf eine Verlängerung der Verweildauer.

Tabelle 3: Statistisch signifikante Ergebnisse des univariaten Vergleichs verschiedener Parameter zwischen Bakteriämien mit *K. pneumoniae* und *E. coli*.

Parameter	Total [N (%) /Median (IQR)]	<i>K. pneumoniae</i> [N (%) /Median (IQR)]	<i>E. coli</i> [N (%) /Median (IQR)]	P-Wert
Anzahl Patienten	1,851 (100%)	352 (100%)	1,499 (100%)	
ESBL positiv	244 (13.2%)	66 (18.8%)	178 (11.9%)	0.001
Polymikrobielle BSI	225 (12.2%)	86 (24.4%)	139 (9.3%)	<0.001
Alter >65	978 (52.8%)	168 (47.7%)	810 (54%)	0.033
Geschlecht männlich	1,022 (55.2%)	231 (65.6%)	791 (52.8%)	<0.001
nosokomiale Infektion	830 (44.8%)	215 (61.1%)	615 (41%)	<0.001
verstorben im Krankenhaus	366 (19.8%)	88 (25.0%)	278 (18.5%)	0.006
ESBL-positiv	61 (25.0%)	16 (24.2%)	45 (25.3%)	0.999
ESBL-negativ	305 (19.0%)	72 (25.2%)	233 (17.6%)	0.005
Aufenthalt auf ITS (Tage)	1,197 (64.7%)	247 (70.2%)	950 (63.4%)	0.016
VWD gesamt	18 (10-39)	27 (12-54)	16 (9-36)	<0.001
VWD vor BSI	1 (0-13)	6 (0-26)	1 (0-12)	<0.001
CCI	6 (3-8)	6 (4-9)	5 (3-8)	0.001
Chron. Lungenerkrankung	242 (13.1%)	61 (17.3%)	181 (12.1%)	0.008
Kosten (gesamt)	10,757 (4226-32005)	18,196 (5978-52158)	9,406 (3989-26135)	<0.001
Kosten (täglich)	617 (446-1004)	728 (495-1206)	595 (440-959)	<0.001

Kontinuierliche Variablen sind als Median und Interquartilsabstand (IQR) dargestellt. Kategoriale Variablen sind absolut und in Prozentangaben (%) dargestellt. BSI, Bakteriämie. VWD, Verweildauer. CCI, Charlson Komorbiditätsindex. Auszug aus Tabelle aus Publikation Nr. 02 siehe Kapitel V. komplette Publikationsliste.

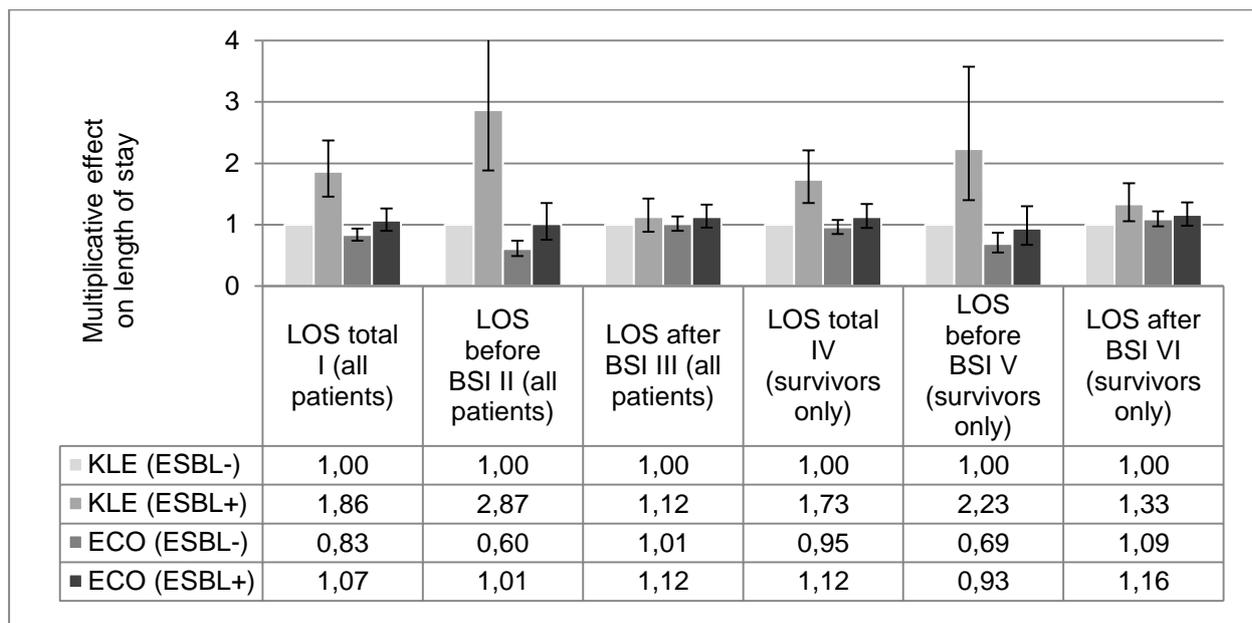


Abbildung 3: Multiplikative Effekte der Erregerspezies (*E. coli* vs. *K. pneumoniae*) und der Fähigkeit zur ESBL-Bildung auf die Krankenhausaufenthaltsdauer bei Bakteriämien durch *Enterobacteriaceae*. Ergebnisse aus sechs Modellen multivariabler linearer Regressionsanalysen, die sich in eingeschlossener Subpopulation (alle Patienten, nur Überlebende) und VWD Kategorie (Gesamt, vor Bakteriämie, nach Bakteriämie) unterscheiden. LOS, Verweildauer. KLE, *K. pneumoniae*. ECO, *E. coli*. BSI, Bakteriämie. (I) Adjustiert nach Geschlecht, Alter, Tod im Krankenhaus, Aufenthalt auf der Intensivstation, polymikrobieller Bakteriämie und den Grundkrankheiten: Herzerkrankung, zerebrovaskuläre Erkrankung, Lungenerkrankung, gastrointestinale Erkrankung, Lebererkrankung, Nierenerkrankung und Krebs / immunologische Erkrankung. (II) Adjustiert nach Geschlecht, Alter, polymikrobieller Bakteriämie und den Grundkrankheiten: Herzerkrankung, zerebrovaskuläre Erkrankung, Lungenerkrankung, gastrointestinale Erkrankung, Lebererkrankung und Krebs / immunologische Erkrankung. (III) Adjustiert nach Geschlecht, Alter, Tod im Krankenhaus, nosokomiale Bakteriämie und den Grundkrankheiten: Herzerkrankung, Lungenerkrankung, rheumatologische Erkrankung, gastrointestinale Erkrankung, Lebererkrankung, Nierenerkrankung und Krebs / immunologische Erkrankung. (IV) Adjustiert nach Geschlecht, Alter, Aufenthalt auf Intensivstation, polymikrobieller Bakteriämie, Krankenhausentlassungsjahr und den Grundkrankheiten: Herzerkrankung, zerebrovaskuläre Erkrankung, Lebererkrankung, Nierenerkrankung und Krebs / immunologische Erkrankung. (V) Adjustiert nach Geschlecht, Alter, polymikrobieller Bakteriämie, Krankenhausentlassungsjahr und den Grundkrankheiten: Herzerkrankung, zerebrovaskuläre Erkrankung, gastrointestinale Erkrankung, Lebererkrankung und Krebs / immunologische Erkrankung. (VI) Adjustiert nach Geschlecht, Alter, nosokomiale Bakteriämie, Krankenhausentlassungsjahr und den Grundkrankheiten: Herzerkrankung, Lungenerkrankung, rheumatologische Erkrankung, gastrointestinale Erkrankung, Lebererkrankung, Nierenerkrankung und Krebs / immunologische Erkrankung. Graphik aus Publikation Nr. 02 (siehe Kapitel V. Komplette Publikationsliste).

I.5 Diskussion

Entsprechend eines systematischen Reviews mit Metaanalyse von 2007 sind Infektionen mit ESBL-positiven Enterobacteriaceae mit erhöhter Letalität assoziiert [3]. Die Autoren weisen aber gleichwohl darauf hin, dass der analysierte Stand der Literatur in seiner Aussagekraft eingeschränkt ist. Von 16 eingeschlossenen Studien wies nur eine adäquate adjustierte Analysemethoden auf, wie z.B. multivariable Regression. Die Ergebnisse sind daher lediglich ein Vergleich kruder Mortalitätsdaten. In unserer Kohorte konnte in Bezug auf Krankenhausletalität kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen Bakteriämien mit ESBL-positiven und ESBL-negativen *K. pneumoniae* gemessen werden. Dies deckt sich mit vorherigen Studien zu Bakteriämien mit *Enterobacteriaceae* [4-6]. Unsere Daten zeigen allerdings einen erheblichen Anstieg der Verweildauer im Krankenhaus assoziiert mit der Bildung von ESBL.

Tumbarello et al. zeigten in ihrer Analyse einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen ESBL-Produktion des Infektionserregers und einer gesteigerten Letalität [12]. Die Letalität in deren Patientenkollektiv lag mit 37% deutlich über dem Ergebnis unserer Analyse, was die Vergleichbarkeit beider Kohorten in Frage stellt. Es wurden umfangreiche Daten über die antibiotische Therapie und die Schwere der Infektion gesammelt. Dennoch wurde keine multivariable Regressionsanalyse durchgeführt, um den Einfluss verschiedenen Parameter auf die Letalität zu beurteilen. In ihrer Metaanalyse zeigten Schwaber et al. eine signifikante Verzögerung in der Behandlung mit geeigneten Antibiotika bei ESBL-E Infektionen [3]. Dieses Phänomen wird mit der gesteigerten Letalität in Verbindung mit ESBL-E Infektionen gebracht. Die Autoren argumentieren, dass, solange es in der Mehrheit der Infektionen wirksame Antibiotika (z.B. Carbapeneme) gäbe, eine Infektion mit ESBL-positiven Erregern nicht zwangsläufig zu einem gesteigerten Sterberisiko führt. Allerdings führen sie auch an, dass aktuell noch keine Datenbasis mit ausreichend adjustierten Analysen in der Literatur existieren würde. Die Ergebnisse einer Untersuchung aus der Arbeitsgruppe Ben-David et al. zeigten, dass im Falle einer Bakteriämie mit *K. pneumoniae* Faktoren wie z.B. Begleiterkrankungen, Schweregrad der Infektion oder Carbapenem-Resistenz einen Einfluss auf die Letalität haben [4]. Eine Bakteriämie durch ESBL-positive *K. pneumoniae* war (im Vergleich, zu Carbapenem-resistenten und pansensiblen *K. pneumoniae*) kein unabhängiger Prädiktor für Le-

talität. In unserer Analyse konnte der Schweregrad der Bakteriämie nicht berücksichtigt werden, somit können wir den Einfluss dieses Faktors auf unsere Kohorte nicht beurteilen. Allerdings waren die in unserer Studie analysierten Erreger zu 97% Carbapenempfindlich, wodurch unsere Studienergebnisse durch die Daten von Ben- David et al. untermauert werden.

Die analysierten Isolate der vorliegenden Untersuchung stammen überwiegend von nosokomialen Infektionen. Hierbei war der häufigste ESBL-Genotyp CTX-M-15. Dies spiegelt die Ergebnisse der Studie von Mhshana et al. wider, die *K. pneumoniae* Ausbrüche auf NICUs untersuchten [11]. Auch andere Studien, die den Genotyp CTX-M-1, als den meist verbreiteten Genotyp unter den nosokomialen Infektionen mit ESBL-positiven *K. pneumoniae* feststellten, unterstützen damit unsere Ergebnisse [9, 10]. Im Gegensatz zu diesen Daten zeigte sich in den Ergebnissen von Tumbarello et al. aus dem Jahr 2006 der SHV- Genotyp als der häufigste ESBL- Vertreter bei den nosokomialen *K. pneumoniae* Isolaten [12]. Dieser Genotyp war mit 31% der zweithäufigste Vertreter in unserer Studie. Interessanterweise fand die Gruppe um Tumbarello et al. keinen einzigen CTX-M Typ in ihren Isolaten. Dieser Unterschied zeigt den Wechsel vom ursprünglich häufig verbreiteten SHV-Typ hin zum derzeit meist verbreiteten CTX-M Typ [23].

In der Kosten- und Verweildaueranalyse zeigte sich, dass Bakteriämien mit ESBL-positiven *K. pneumoniae* mit höheren Kosten und verlängerter Verweildauer assoziiert sind, als ESBL-negative *K. pneumoniae* und ESBL-positive und -negative *E. coli* Bakteriämien. Es gibt nur wenige Studien, die sich mit den ökonomischen Einflüssen von ESBL-positiven Erregern befassen [8, 18, 24]. Diese Studien zeigten mehrheitlich einen signifikanten Anstieg der Kosten des Krankenhausaufenthaltes in Verbindung mit Infektionen mit solchen Erregern. Die meisten dieser Studien basieren auf kleinen Kohorten und differenzieren oft auch nicht zwischen verschiedenen Organismen [8, 18, 24]. Dies spiegelt nicht den unterschiedlichen Einfluss verschiedener Bakterienarten als Einflussfaktoren auf beispielsweise die Steigerung der Kosten wider. Tumbarello et al. zeigten in ihrer Kohorte einen Zusammenhang zwischen ESBL-E Infektion und verlängertem Krankenhausaufenthalt [12]. Unter Differenzierung der Aufenthaltsdauer in die Zeit vor und nach dem Auftreten der Bakteriämie zeigte sich, dass die verlängerte Aufenthaltsdauer meist aus einem verlängerten Aufenthalt vor dem Auftreten der Infektion resultiert. Wir berechneten sechs verschiedene Modelle multivariabler linearer Regressions-

analysen, in denen Erregerspezies, Aufenthaltsdauer (Gesamt VWD vs. VWD vor Infektion und nach Infektion) und Subkohorten (Gesamtkohorte vs. Überlebende) miteinander verglichen wurden. Es zeigte sich, dass ESBL-positive *K. pneumoniae* in allen Modellen, bis auf eines, ein unabhängiger Risikofaktor für eine Verlängerung des Krankenhausaufenthaltes ist. Das abweichende Modell analysierte die VWD nach Infektion, allerdings in der gesamten Kohorte. Beim Einschluss der verstorbenen Patienten kommt es aber vermutlich zu einer Verwässerung des Effekts einer krankheitsbedingten Aufenthaltsverlängerung. Durch das vorzeitige Erreichen des Messpunktes (Versterben wird hier gleichgesetzt mit Krankenhausentlassung) der verstorbenen Patienten kommt der Effekt nicht zu seiner vollständigen Ausprägung im Hinblick auf VWD. Daher sollten für diese Analysen nur überlebende Patienten eingeschlossen werden.

Diese Arbeit hat Limitationen. Bei den von uns durchgeführten Studien handelt es sich um monozentrische Beobachtungen. Die Schwere der Infektionserkrankung konnte nicht berücksichtigt werden. Deswegen können wir den Einfluss dieses Parameters auf unsere Kohorte nicht beurteilen. Des Weiteren wurden keine Daten zur Antibiotikatherapie erhoben. Nach den uns vorliegenden Antibiogrammen waren in der Vielzahl der Fälle (97%) allerdings Therapien mit einem Carbapenem zumindest mikrobiologisch möglich. Unsere Daten sind retrospektiv erhoben und unterliegen den assoziierten Fehlerquellen Recall-Bias und Selektions-Bias.

In unserer Studie konnten wir signifikante Unterschiede in klinischen und epidemiologischen Parametern zwischen Bakteriämien mit *K. pneumoniae* und *E. coli* nachweisen. Fälle mit *K. pneumoniae* Bakteriämien wiesen ein signifikant höheres krudes Letalitätsrisiko im Vergleich zu *E. coli* Bakteriämien auf. Dieser Effekt basiert offenbar nicht allein auf der Fähigkeit der Expression von ESBL. Allerdings sind Bakteriämien mit ESBL-positiven *K. pneumoniae* assoziiert mit signifikant verlängerter Aufenthaltsdauer im Vergleich zu allen anderen untersuchten Gruppen. Eine Verallgemeinerung von Krankenhaushygienemaßnahmen, basierend lediglich auf der Expression von ESBL bzw. auf anderen phänotypischen Resistenzmerkmalen ohne Berücksichtigung der Erregerspezies, missachtet folglich wesentliche Unterschiede in Epidemiologie und Infektionsverlauf verschiedener *Enterobacteriaceae*. Infektionspräventionsmaßnahmen sollten in Zukunft diesen Unterschieden Rechnung tragen und angepasst werden. In dieser Studie wurden nur zwei Spezies der Familie *Enterobacteriaceae* untersucht. Weitere ver-

gleichbare Studien sind notwendig um klinisch relevante Unterschiede innerhalb dieser Kommensalenfamilie aufzudecken und Infektionspräventionsmaßnahmen effektiver und effizienter zu gestalten.

I.6 Literaturverzeichnis

1. Valenza G, Nickel S, Pfeifer Y, Eller C, Krupa E, Lehner-Reindl V, et al. Extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* as intestinal colonizers in the German community. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58: 1228-30
2. Leistner R, Schroder C, Geffers C, Breier AC, Gastmeier P and Behnke M. Regional distribution of nosocomial infections due to ESBL-positive Enterobacteriaceae in Germany: data from the German National Reference Center for the Surveillance of Nosocomial Infections (KISS). *Clin Microbiol Infect* 2015; 21: 255.e1-5
3. Schwaber MJ and Carmeli Y. Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60: 913-20
4. Ben-David D, Kordevani R, Keller N, Tal I, Marzel A, Gal-Mor O, et al. Outcome of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18: 54-60
5. Lin YT, Liu CJ, Fung CP and Tzeng CH. Nosocomial *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia in adult cancer patients--characteristics of neutropenic and non-neutropenic patients. *Scand J Infect Dis* 2011; 43: 603-8
6. Nasa P, Juneja D, Singh O, Dang R and Singh A. An observational study on bloodstream extended-spectrum beta-lactamase infection in critical care unit: incidence, risk factors and its impact on outcome. *Eur J Intern Med* 2012; 23: 192-5
7. Rodriguez-Bano J, Mingorance J, Fernandez-Romero N, Serrano L, Lopez-Cerero L and Pascual A. Outcome of bacteraemia due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*: impact of microbiological determinants. *J Infect* 2013; 67: 27-34

8. Stewardson A, Fankhauser C, De Angelis G, Rohner P, Safran E, Schrenzel J, et al. Burden of bloodstream infection caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae determined using multistate modeling at a Swiss University Hospital and a nationwide predictive model. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2013; 34: 133-43
9. Chong Y, Yakushiji H, Ito Y and Kamimura T. Clinical and molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in a long-term study from Japan. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2011; 30: 83-7
10. Khan E, Schneiders T, Zafar A, Aziz E, Parekh A and Hasan R. Emergence of CTX-M Group 1-ESBL producing *Klebsiella pneumoniae* from a tertiary care centre in Karachi, Pakistan. *J Infect Dev Ctries* 2010; 4: 472-6
11. Mshana SE, Hain T, Domann E, Lyamuya EF, Chakraborty T and Imirzalioglu C. Predominance of *Klebsiella pneumoniae* ST14 carrying CTX-M-15 causing neonatal sepsis in Tanzania. *BMC Infect Dis* 2013; 13: 466
12. Tumbarello M, Spanu T, Sanguinetti M, Citton R, Montuori E, Leone F, et al. Bloodstream infections caused by extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*: risk factors, molecular epidemiology, and clinical outcome. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 498-504
13. Tacconelli E, Cataldo MA, Dancer SJ, De Angelis G, Falcone M, Frank U, et al. ESCMID guidelines for the management of the infection control measures to reduce transmission of multidrug-resistant Gram-negative bacteria in hospitalized patients. *Clin Microbiol Infect* 2014; 20 Suppl 1: 1-55
14. Goddard S and Muller MP. The efficacy of infection control interventions in reducing the incidence of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in the nonoutbreak setting: A systematic review. *Am J Infect Control* 2011; 39: 599-601
15. Savard P and Perl TM. A call for action: managing the emergence of multidrug-resistant Enterobacteriaceae in the acute care settings. *Curr Opin Infect Dis* 2012; 25: 371-7

16. Hilty M, Betsch BY, Bogli-Stuber K, Heiniger N, Stadler M, Kuffer M, et al. Transmission dynamics of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in the tertiary care hospital and the household setting. *Clin Infect Dis* 2012; 55: 967-75
17. Tschudin-Sutter S, Frei R, Dangel M, Stranden A and Widmer AF. Rate of transmission of extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae without contact isolation. *Clin Infect Dis* 2012; 55: 1505-11
18. Schwaber MJ, Navon-Venezia S, Kaye KS, Ben-Ami R, Schwartz D and Carmeli Y. Clinical and economic impact of bacteremia with extended- spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 1257-62
19. M.E. Charlson, P. Pompei, K.L. Ales, C.R. MacKenzie, A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation, *J Chronic Dis* 40 (1987) 373–383.
20. Thygesen SK, Christiansen CF, Christensen S, Lash TL, Sorensen HT. The predictive value of ICD-10 diagnostic coding used to assess Charlson comorbidity index conditions in the population-based Danish National Registry of Patients. *BMC Med Res Methodol* 2011;11:83
21. Clinical and Laboratorial Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Wayne, PA, USA: Clinical and Laboratorial Standards Institute (CLSI); 2012. p. 1e184.
22. Grobner S, Linke D, Schutz W, Fladerer C, Madlung J, Autenrieth IB, et al. Emergence of carbapenem-non-susceptible extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates at the university hospital of Tübingen, Germany. *J Med Microbiol* 2009; 58: 912-22
23. Carrer A, Nordmann P. CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae*: a change in the epidemiology of ESBL. *Pathol Biol (Paris)* 2011;59:e133e5
24. Hu B, Ye H, Xu Y, Ni Y, Hu Y, Yu Y, et al. Clinical and economic outcomes associated with community-acquired intra-abdominal infections caused by extended

spectrum beta-lactamase (ESBL) producing bacteria in China. *Curr Med Res Opin* 2010; 26: 1443-9

II. Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Stephan Gürntke, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema:

Bakteriämie mit Extended- Spectrum- Beta- Lactamase (ESBL)-positiven K. pneumoniae- Epidemiologie, molekulare Epidemiologie, Risikofaktoren für Krankenhausletalität und Zusatzkosten bei Infektion

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 (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o.) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an den ausgewählten Publikationen entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o.) und werden von mir verantwortet.

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

Datum

Unterschrift

Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen

Stephan Gürntke hatte folgenden Anteil an den unten stehenden Publikationen:

Publikation 1: Gürntke S, Kohler C, Steinmetz I, Pfeifer Y, Eller C, Gastmeier P, Schwab F, Leistner R. Molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamasen(ESBL)-positive *Klebsiella pneumoniae* from bloodstream infections and risk factors for mortality. *J Infect Chemother.* 2014 Dec;20(12):817-9. doi: 10.1016/j.jiac.2014.08.012. Epub 2014 Sep 13. PubMed PMID: 25224765. *Journal impact factor 2014: 1,384*

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jiac.2014.08.012>

Beitrag im Einzelnen:

Planung: Zuarbeit und Entwicklung der Forschungsfrage, Entwicklung des Studienkonzepts, Planung der Durchführung und Einarbeitung in die Literatur.

Durchführung: Zuarbeit und Erhebung der Daten, Pflege der Datenbanken, Sammlung und teilweise Verarbeitung der Isolate.

Analyse: Univariate Analyse mit SPSS 18, Erarbeitung der Tabellen und Graphiken.

Publikation: Selbständige Erstellung und Publikation.

Publikation 2: Leistner R, **Gürntke S**, Sakellariou C, Denkel LA, Bloch A, Gastmeier P, Schwab F. Bloodstream infection due to extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-positive *K. pneumoniae* and *E. coli*: an analysis of the disease burden in a large cohort. *Infection.* 2014 Dec;42(6):991-7. doi: 10.1007/s15010-014-0670-9. Epub 2014 Aug 7. PubMed PMID: 25100555. *Journal impact factor 2014: 2,864*

<http://dx.doi.org/10.1007/s15010-014-0670-9>

Beitrag im Einzelnen:

Planung: Zuarbeit und Entwicklung der Forschungsfrage, Entwicklung des Studienkonzepts, Planung der Durchführung und Einarbeitung in die Literatur.

Durchführung: Zuarbeit und Erhebung der Daten, Pflege der Datenbanken, Sammlung und teilweise Verarbeitung der Isolate.

Analyse: Univariate Analyse mit SPSS 18, Erarbeitung der Tabellen und Graphiken.

Publikation 3: Leistner R, Sakellariou C, **Gürntke S**, Kola A, Steinmetz I, Kohler C, Pfeifer Y, Eller C, Gastmeier P, Schwab F. Mortality and molecular epidemiology associated with extended-spectrum β -lactamase production in Escherichia coli from bloodstream infection. Infect Drug Resist. 2014 Mar 13;7:57-62. doi: 10.2147/IDR.S56984. eCollection 2014. PubMed PMID: 24648746; PubMed Central PMCID: PMC3958498. Journal impact factor 2014: -

<https://dx.doi.org/10.2147/IDR.S56984>

Beitrag im Einzelnen:

Planung: Zuarbeit und Entwicklung der Forschungsfrage, Entwicklung des Studienkonzepts, Planung der Durchführung und Einarbeitung in die Literatur.

Durchführung: Zuarbeit und Erhebung der Daten, Pflege der Datenbanken, Sammlung und teilweise Verarbeitung der Isolate.

Analyse: Univariate Analyse mit SPSS 18, Erarbeitung der Tabellen und Graphiken.

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

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

III. Druckexemplare der ausgewählten Publikationen

IV. Lebenslauf

V. Komplette Publikationsliste

- 1) **Gürntke S**, Kohler C, Steinmetz I, Pfeifer Y, Eller C, Gastmeier P, Schwab F, Leistner R. Molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamasen(ESBL)-positive *Klebsiella pneumoniae* from bloodstream infections and risk factors for mortality. *J Infect Chemother*. 2014 Dec;20(12):817-9. doi: 10.1016/j.jiac.2014.08.012. Epub 2014 Sep 13. PubMed PMID: 25224765. *Journal impact factor 2014: 1,384*

- 2) Leistner R, **Gürntke S**, Sakellariou C, Denkel LA, Bloch A, Gastmeier P, Schwab F. Bloodstream infection due to extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-positive *K. pneumoniae* and *E. coli*: an analysis of the disease burden in a large cohort. *Infection*. 2014 Dec;42(6):991-7. doi: 10.1007/s15010-014-0670-9. Epub 2014 Aug 7. PubMed PMID: 25100555. *Journal impact factor 2014: 2,864*

- 3) Leistner R, Sakellariou C, **Gürntke S**, Kola A, Steinmetz I, Kohler C, Pfeifer Y, Eller C, Gastmeier P, Schwab F. Mortality and molecular epidemiology associated with extended-spectrum β -lactamase production in *Escherichia coli* from bloodstream infection. *Infect Drug Resist*. 2014 Mar 13;7:57-62. doi: 10.2147/IDR.S56984. eCollection 2014. PubMed PMID: 24648746; PubMed Central PMCID: PMC3958498. *Journal impact factor 2014: -*

VI. Danksagung

Frau Prof. Dr. Gastmeier danke ich für die Vergabe dieses interessanten Promotions-themas sowie die Möglichkeit, als Teil Ihres Institutes bei der Forschungsarbeit mit-zuwirken.

Dr. Leistner danke ich für die hervorragende und stets freundliche Betreuung wäh- rend meiner Arbeit sowie seine stets konstruktive, aber auch hilfreiche Bearbeitung meiner Fragen.

Yvonne Pfeiffer vom Robert-Koch Institut (RKI) in Wernigerode sowie Christian Koh- ler vom Friedrich-Löffler-Institut danke ich für die Typisierung der ESBL-Isolate.

PD Dr. Axel Kola aus dem Hygienelabor des Instituts, Frank Schwab (Mathematiker des Hygieneinstituts), Gabriele Rose (MTA) sowie Petra Dem (Study Nurse) danke ich für die hilfreiche Zuarbeit bei der Bearbeitung der Proben und Daten.

Meiner Familie danke ich für Ihre Unterstützung und das fortwährende Interesse an meiner Arbeit.

Ein ganz besonderer Dank gilt meiner Frau Katharina. Ihre Unterstützung, Motivation und Liebe haben entscheidend dazu beigetragen, mein Ziel nie aus den Augen zu verlieren und am Ball zu bleiben.