

Aus dem
Institut für Laboratoriumsmedizin des Unfallkrankenhauses Berlin

DISSERTATION

**Einfluss verschiedener Abstrichmedien auf die analytische und
diagnostische Validität der Screeninguntersuchungen auf Methicillin-
resistenten Staphylococcus aureus**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Thomas Hartel

aus Meiningen

Datum der Promotion: 18.09.2020

Vorwort

Teile der in dieser Monographie verwendeten Daten wurden bereits publiziert. Näheres hierzu ist in der „Anteilerklärung an etwaigen erfolgten Publikationen“ am Ende der Arbeit ausgeführt.

Inhaltsverzeichnis

i. Verzeichnis der Abkürzungen.....	5
ii. Verzeichnis der Abbildungen.....	5
iii. Verzeichnis der Tabellen	6
iv. Verzeichnis der Diagramme.....	6
v. Zusammenfassung.....	8
vi. Abstract	10
1. Einleitung	12
1.1. Entwicklung der Methicillinresistenten Staphylococcus aureus (MRSA)-Stämme	12
1.2. Epidemiologie und klinische Bedeutung von MRSA	16
1.3. Übertragung von MRSA	18
1.4. Möglichkeiten des Nachweises von MRSA.....	19
1.4.1. Kulturbasierte Ansätze der MRSA-Diagnostik.....	19
1.4.2. Molekulargenetische Ansätze der MRSA-Diagnostik.....	20
1.5. Hygienische Maßnahmen und Handlungsoptionen in Hinblick auf MRSA.....	22
1.6. Methodische Umsetzung des MRSA-Eingangsscreenings im ukb und Fragestellung	25
2. Methodik	27
2.1. Untersuchungsmaterial.....	27
2.1.1. Patienteneinschluss.....	27
2.1.2. Abstrichmedien und Abstreichtechnik.....	28
2.1.3. Probentransport und Bearbeitungszeiten.....	29
2.2. Molekulargenetische MRSA-Analytik (Cepheid).....	29
2.2.1. Molekulargenetische MRSA-Analytik (Doppeltupfer).....	30
2.2.2. Molekulargenetische MRSA-Analytik (ESwab bzw. MSwab).....	30
2.3. Zusätzliche, extern durchgeführte molekulargenetische MRSA-Analytik	30
2.4. Kulturbasierte MRSA-Analytik	31
2.5. Datenzusammenstellung.....	31

2.6. Statistische Auswertung	32
3. Ergebnisse	35
3.1. Demographische Charakterisierung der Studienkohorte.....	35
3.2. Molekulargenetische MRSA-Diagnostik in Abhängigkeit vom Abstrichmedium	36
3.3. Einfluss des Abstrichmediums auf den Anteil invalider Ergebnisse in der MRSA-PCR..	38
3.4. Kultur-basierte MRSA-Diagnostik in Abhängigkeit vom Abstrichmedium.....	38
3.5. Vergleich molekulargenetischer und Kultur-basierter MRSA-Diagnostikverfahren in Abhängigkeit vom Abstrichsystem	40
3.6. Vergleichende Betrachtung der molekulargenetischen und der kulturellen MRSA- Diagnostik	41
3.7. MRSA-Diagnostik in Abhängigkeit von der Abstrichlokalisation	44
3.8. MRSA-Diagnostik in Abhängigkeit von Abstrichlokalisation und Abstrichmedium	47
4. Diskussion	49
4.1. Gewählter Studienansatz	49
4.2. Einfluss des Abstrichmediums auf den Anteil invalider Ergebnisse in der MRSA-PCR..	53
4.3. Einfluss des Abstrichmediums auf die diagnostische Validität der MRSA-PCR in Bezug auf die MRSA-Routinekultur	54
4.4. Einfluss des Abstrichmediums auf die kulturbasierte MRSA-Diagnostik.....	56
4.5. Bedeutung der Abstrichregionen für die MRSA-Diagnostik	59
5. Zusammenfassung	60
6. Schriftenverzeichnis	61
Eidesstattliche Versicherung	67
Lebenslauf	69
Danksagung	70

i. Verzeichnis der Abkürzungen

CA-MRSA	Community-acquired MRSA
ECDC	European Center for Disease Prevention and Control
HA-MRSA	Hospital-acquired MRSA
IQR	Interquartile range
KbE	Kolonie-bildende Einheit
KISS	Krankenhaus-Surveillance-System
KRINKO	Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention
LA-MRSA	Livestock-associated MRSA
LP	Leiste/Perineum
MRSA	Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>
MSSA	Methicillin-sensibler <i>Staphylococcus aureus</i>
NPW	Negativ-prädiktiver Wert
NR	Nase/Rachen
OR	Odds ratio
PBP	Proteinbindungsprotein
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PEG	Perkutane endoskopische Gastrostomie
PPW	Positiv-prädiktiver Wert
RKI	Robert Koch Institut
SCC _{mec}	Staphylococcal Cassette Chromosome <i>mec</i>
spa	<i>Staphylococcus aureus</i> protein A
ukb	Unfallkrankenhaus Berlin

ii. Verzeichnis der Abbildungen

Abb. 1:	Bakterielle Zellwand mit Darstellung des Ansatzpunktes für β -Laktamantibiotika	13
Abb. 2:	Schematische Gegenüberstellung korrespondierender genetischer Abschnitte des Methicillin-sensiblen und des Methicillin-resistenten <i>Staphylococcus aureus</i>	14
Abb. 3:	Länderbezogene Darstellung der Anteile MRSA-positiver invasiver Isolate in Europa	16
Abb. 4:	Prozentualer Anteil von MRSA bei nosokomialen <i>Staphylococcus aureus</i> Infektionen nach Bundesland über drei 2-Jahreszeiträume	18
Abb. 5:	Kulturbasierte MRSA-Diagnostik	20

Abb. 6: Molekulargenetische MRSA-Diagnostik	21
--	----

iii. Verzeichnis der Tabellen

Tab. 1: Screening und Isolation in den Niederlanden	23
Tab. 2: Beispielhafte Darstellung einer Vier-Felder-Tafel zum Vergleich des Anteils invalider Testergebnisse in der MRSA-PCR in Abhängigkeit vom verwendeten Abstrichmedium	32
Tab. 3: Vergleichende Darstellung der Ergebnisse der MRSA-PCR in Bezug auf die MRSA-Routinekultur	33
Tab. 4: Charakteristika der unterschiedlichen Patientengruppen	35
Tab. 5: Untersuchungsergebnisse der MRSA-PCR in Abhängigkeit vom Abstrichmedium	36
Tab. 6: Patientenbezogene Darstellung der MRSA-PCR Ergebnisse mit unterschiedlichen Testsystemen in Abhängigkeit vom Abstrichmedium	37
Tab. 7: Darstellung der patientenbezogenen Ergebnisse der kulturellen MRSA-Diagnostik mit unterschiedlichen Testsystemen in Abhängigkeit vom Abstrichmedium	39
Tab. 8: Häufigkeiten von als MRSA-positiv Klassifizierten in Abhängigkeit von Untersuchungstechnik und Abstrichmedium	40
Tab. 9: Darstellung der patientenbezogenen Ergebnisse der MRSA-Diagnostik im Vergleich zur MRSA-PCR (Infinity) in Abhängigkeit vom Abstrichmedium	42
Tab. 10: Darstellung der Ergebnisse der kulturellen MRSA-Diagnostik im Vergleich zur MRSA-PCR (cobas 4800) in Abhängigkeit vom Abstrichmedium	43
Tab. 11: Darstellung der Ergebnisse der kulturellen MRSA-Diagnostik im Vergleich zur MRSA-PCR (BD MAX) in Abhängigkeit vom Abstrichmedium	44

iv. Verzeichnis der Diagramme

Dia. 1: Ergebnisse der MRSA-Diagnostik in Abhängigkeit von der Abstrichlokalisation. (gesamter Untersuchungszeitraum)	45
Dia. 2: Ergebnisse der MRSA-Diagnostik in Abhängigkeit von der Abstrichlokalisation. (Vergleich Nase/Rachen und Perineum/Leiste)	46
Dia. 3: Ergebnisse der MRSA-Diagnostik (Routinekultur) in Abhängigkeit von Abstrichlokalisation und Abstrichmedium. (gesamter Untersuchungszeitraum)	47
Dia. 4: Ergebnisse der MRSA-Diagnostik (Routinekultur) in Abhängigkeit von Abstrichlokalisation und Abstrichmedium.	

(Vergleich Nase/Rachen und Perineum/Leiste)	48
Dia. 5: Häufigkeit als MRSA-positiv klassifizierter Patienten in Abhängigkeit vom gewählten Untersuchungsverfahren.	50
Dia. 6: Anteil richtig-negativer Befunde der MRSA-PCR in Bezug auf den Routinemäßig Durchgeführten kulturellen MRSA-Nachweis.	54
Dia. 7: Patientenbezogene Ergebnisse der MRSA-Diagnostik in Abhängigkeit vom Abstrichmedium.	57

v. Zusammenfassung

Auch wenn sich die Prävalenz von methicillinresistentem *Staphylokokkus aureus* (MRSA) in den letzten Jahren rückläufig entwickelt hat, stellt MRSA immer noch große Herausforderungen an medizinische Einrichtungen hinsichtlich Prävention und Behandlung. Der Identifizierung von MRSA-kolonisierten Patienten vor stationärer Aufnahme kommt besondere Bedeutung zu. Das diagnostische MRSA-Screening sowie bei positivem Nachweis die notwendigen hygienischen Maßnahmen sind mit hohen Kosten und großem logistischen Aufwand verbunden. Das MRSA-Screening erfolgt nach Abstrichen an festgelegten Körperstellen durch kulturbasierte Nachweismethoden. Ergänzend können zusätzlich molekulargenetische Tests (MRSA-PCR) verwendet werden, die den analytischen Prozess erheblich beschleunigen. Es existieren verschiedene Abstrichsysteme, die unterschiedliche Möglichkeiten der Probenaufarbeitung bieten und außerdem Einfluss auf die Analytik nehmen können.

Zielstellung der vorliegenden Arbeit war es, den Einfluss von drei unterschiedlichen Abstrichsystemen (Doppelplastiktupfer, ESwab[®], MSwab[®]) auf das molekulargenetische (Xpert[®] MRSA NxG Assay, Cepheid) und kulturbasierte MRSA-Screening (Brilliance[™] MRSA2 Agar, Thermo Fisher Scientific) zu untersuchen. Neben dem Anteil technisch invalider Untersuchungen fand die Übereinstimmung von molekulargenetischen und kulturbasierten Untersuchungsergebnissen Berücksichtigung. Außerdem flossen weitere Methoden der molekulargenetischen und kulturbasierten MRSA-Diagnostik in die Betrachtung ein. In drei aufeinanderfolgenden Untersuchungsabschnitten wurden 553 (Doppeltupfer), 569 (ESwab[®]) bzw. 567 (MSwab[®]) Patienten in der Rettungsstelle des Unfallkrankenhauses Berlin als MRSA-Risikopatienten identifiziert und mit dem jeweiligen System abgestrichen. Die Ergebnisse der verschiedenen Analysetechniken wurden ausgewertet.

Es zeigten sich deutliche Unterschiede zwischen den drei Abstrichmedien in Hinblick auf den Anteil invalider Messergebnisse. Dieser war bei den Doppeltupfern mit 1,3% (7 von 553) signifikant höher verglichen mit den MSwab[®] (0 von 567) ($P=0,007$). Auch verglichen mit den ESwab[®] (0,5%, 3 von 569) waren technisch invalide Ergebnisse unter Verwendung der Doppeltupfer tendenziell häufiger ($P=0,08$). Die diagnostische Validität der MRSA-PCR gemessen am negativ-prädiktiven Wert im Bezug auf die kulturbasierte MRSA-Diagnostik war bei allen drei Abstrichmedien vergleichbar (Doppeltupfer: 99,8%; ESwab[®]: 99,3%; MSwab[®]: 99,8%). In der Gegenüberstellung der kulturbasierten und der molekulargenetischen Ergebnisse fiel ein Ungleichgewicht bei den Anteilen positiver MRSA-Nachweise auf, das vom verwendeten Abstrichmedium abzuhängen scheint. So wurden bei den MSwab[®] mit der Kultur

2,3% und mit der PCR 5,1% der Patienten als MRSA positiv klassifiziert ($P=0,01$). Diese Diskrepanz war bei Verwendung der Doppeltupfer geringer (Kultur: 3,6%, PCR: 6%; $P=0,06$). Bei den ESwab® waren beide Anteile weitestgehend ausgeglichen (Kultur: 4,6%; PCR: 6,2%; $P=0,23$).

Die Untersuchungsergebnisse sind mit einer besonderen Eignung der MSwab® für molekulargenetische Untersuchungstechniken vereinbar. Die ESwab® unterstützten kulturbasierte Untersuchungsverfahren, die derzeit den Standard der MRSA-Diagnostik darstellen, besser als die anderen untersuchten Abstrichsysteme. Ausgehend von den Befunden dieser Arbeit wurde in unserem Haus die MRSA-Screening-Strategie optimiert.

vi. Abstract

Although the prevalence of methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) has declined in recent years, MRSA still poses major challenges to medical institutions in terms of prevention and treatment. Identification of MRSA-colonized patients prior to hospital admission is of particular importance. Diagnostic MRSA-screening as well as hygienic measures necessary for MRSA-positives are associated with high costs and great logistical effort. MRSA-screening is done after sample taking at defined body sites by culture-based techniques. Additionally, molecular-genetic tests (MRSA-PCR) can be used, which considerably enhance the analytical process. There are various systems for sample collection that offer different options for processing and can also influence analysis.

Aims of the present study were to investigate the influence of three different sample collection devices (double swab, ESwab[®], MSwab[®]) on molecular-genetic (Xpert[®] MRSA NxG assay, Cepheid) as well as on culture-based MRSA-screening (Brilliance[™] MRSA2 agar, Thermo Fisher Scientific). The proportion of technically invalid tests and agreement between results of molecular-genetic and culture-based MRSA-tests were considered. In three consecutive periods, 553 (double swabs), 569 (ESwab[®]) and 567 (MSwab[®]) patients were identified to be at risk for MRSA in the emergency department of the Unfallkrankenhaus Berlin. From these patients samples were taken by use of the respective collection device and results of different analysis techniques were evaluated.

The number of technically invalid tests was significantly higher for double swabs with 1.3% (7 out of 553) compared to MSwab[®] (0 out of 567) ($P=0.007$). Compared to ESwab[®] (0.5%, 3 out of 569), technically invalid tests using double swabs tended to be more frequent ($P=0.08$). Diagnostic validity of MRSA-PCR as measured by negative-predictive value in respect on results of culture-based MRSA-testing was comparable with all three devices (double swab: 99.8%, ESwab[®]: 99.3%, MSwab[®]: 99.8%). When comparing results of culture-based and molecular-genetic MRSA-tests, an imbalance in proportions of MRSA-positives was found. This seemed to be dependent on the sample collection device. Thus, using MSwab[®] 2.3% of patients were classified as MRSA-positive by culture-based techniques, while the corresponding proportion was 5.1% for MRSA-PCR ($P=0.01$). This discrepancy was lower when using double swabs (culture: 3.6%, PCR: 6%, $P=0.06$). For ESwab[®], both proportions were largely balanced (culture: 4.6%, PCR: 6.2%, $P=0.23$).

Our results are consistent with a particular suitability of MSwab[®] for molecular-genetic techniques. When considering culture-based MRSA-testing, which is standard in MRSA-

diagnostics, ESwab[®] seems to outperform other sample collection devices. Based on these findings, the MRSA-screening strategy was optimized in our clinic.

1. Einleitung

Staphylococcus aureus wurde in den 1880er Jahren von Alexander Ogston erstmalig beschrieben (**Ogston 1881, Licitra 2013**). Es handelt sich um ein grampositives fakultativ-pathogenes Bakterium, das die Körperoberfläche des Menschen besiedeln kann (**Deurenberg 2007, Peters 2014**). Etwa 20-30% der Bevölkerung sind dauerhaft mit diesem Erreger kolonisiert (**Mehraj 2014, Holtfreter 2016**). Hauptnachweisort beim Menschen ist der Nasenvorhof, von wo aus dann der Rachen und andere Haut- und Schleimhautareale besiedelt werden können (**Peters 2014**). Unter bestimmten Voraussetzungen kann der fakultativ pathogene Keim eine große Zahl unterschiedlicher Infektionen auslösen. Zu diesen Erkrankungen gehören Abszesse, Empyeme, Wundinfektionen, Pneumonie, Osteomyelitis, Endokarditis, Sepsis, katheter- und PEG-assoziierte Infektionen, fremdkörperassoziierte Infektionen durch z. B. Osteosynthesematerial oder Endoprothesen (**Peters 2014**).

Bis zur Einführung des Penicillins lag die Mortalitätsrate bei einer Infektion mit *Staphylococcus aureus* bei ca. 80% (**Oliveira 2002**). Zu Beginn der 40iger Jahre des letzten Jahrhunderts wurde begonnen, durch *Staphylococcus aureus* verursachte Infektionen mit Penicillin zu behandeln, was die Mortalität dramatisch senken half (**Oliveira 2002**).

Aber schon 1942 wurden erste Resistenzen von *Staphylococcus aureus* gegen Penicillin beschrieben (**Oliveira 2002, Deurenberg 2007**). Ursache dieser Resistenzentwicklung war ein Plasmid welches ein penicillin-hydrolysierendes Enzym, eine so genannte Penicillinase oder β -Lactamase, bildet (**Oliveira 2002**). *Staphylococcus aureus*, welche resistent gegenüber β -lactamaseempfindlichen Penicillinen sind, können sensibel gegenüber den so genannten β -lactamasefesten Penicillinen (z. B. Methicillin, Flucloxacillin) sein, die durch chemische Modifikationen nicht mehr durch β -Lactamasen spaltbar sind (**Peters 2014**).

1.1. Entwicklung der Methicillinresistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA)-Stämme

1961 wurde in Großbritannien erstmals ein Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* Stamm (MRSA) beschrieben (**Peters 2014**). Grund für die Resistenz des Bakteriums gegenüber Methicillin war das Vorhandensein des *mecA*-Gens, welches das 78-kDa Penicillinbindungsprotein (PBP) 2a (synonym: PBP2[']) kodiert (**Hanssen 2006, Peters 2014**).

β -Lactamantibiotika binden normalerweise an Proteine der Penicillinbindungsprotein-Familien 1-4 und stören hierdurch deren Transpeptidase-Aktivität, die für die Bildung der stabilen, quervernetzten Peptidoglycanschicht notwendig ist. Durch die in Folge der β -Lactam-Einwirkung instabile bakterielle Zellwand wird der bakterizide Effekt der β -Lactamantibiotika vermittelt (Hanssen 2006) (Abbildung 1).

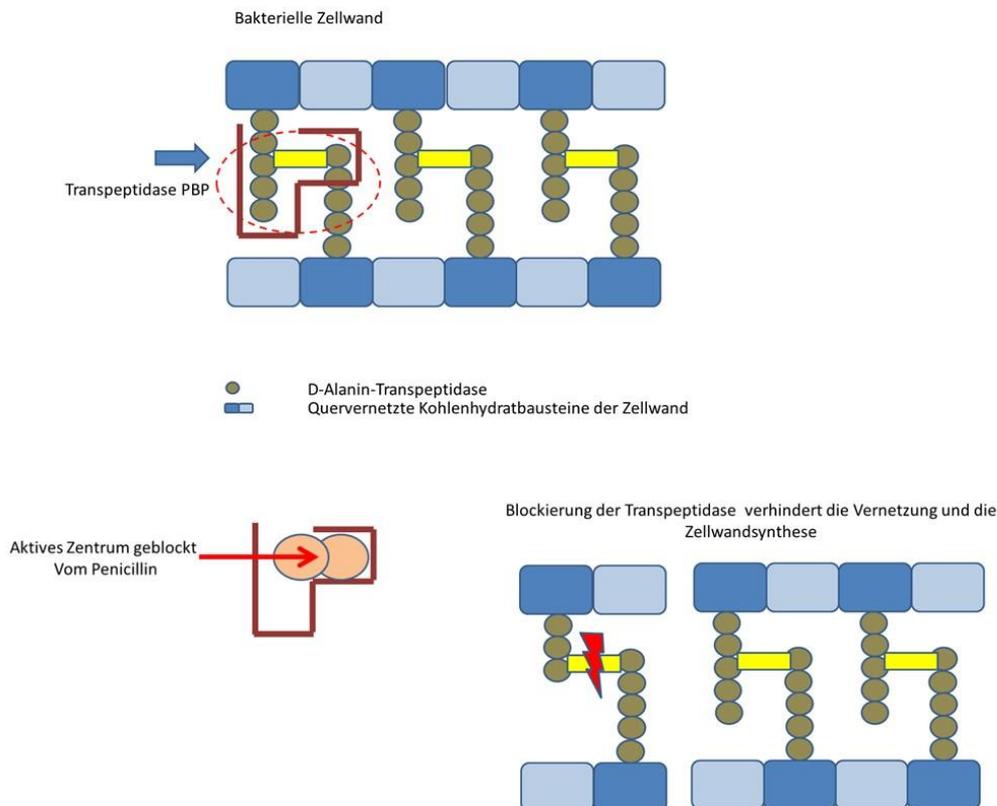


Abbildung 1: Bakterielle Zellwand mit Darstellung des Ansatzpunktes für β -Lactamantibiotika. Durch die Transpeptidase PBP (Penicillinbindungsprotein) wird die bakterielle Zellwand quervernetzt. β -Lactamantibiotika binden und blockieren die enzymatische Bindungsstelle des PBP. Hierdurch wird die Quervernetzung blockiert, so dass die resultierende bakterielle Zellwand instabil ist.

Das von *mecA* kodierte PBP2a weist bei erhaltener Transpeptidase-Aktivität nur eine niedrige Affinität für β -Lactamantibiotika auf, so dass die enzymatische Aktivität auch unter Einwirkung dieser Antibiotika-Gruppe weitgehend erhalten bleibt – MRSA können auch bei ansonsten

adäquaten Serumkonzentrationen von β -Lactamantibiotika eine stabile, quervernetzte Zellwand ausbilden (Hanssen 2006, Deurenberg 2007).

Das *mecA*-Gen ist auf einem mobilen genetischen Element lokalisiert, welches als Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCC*mec*) bezeichnet wird (Hanssen 2006, Deurenberg 2007) (Abbildung 2).

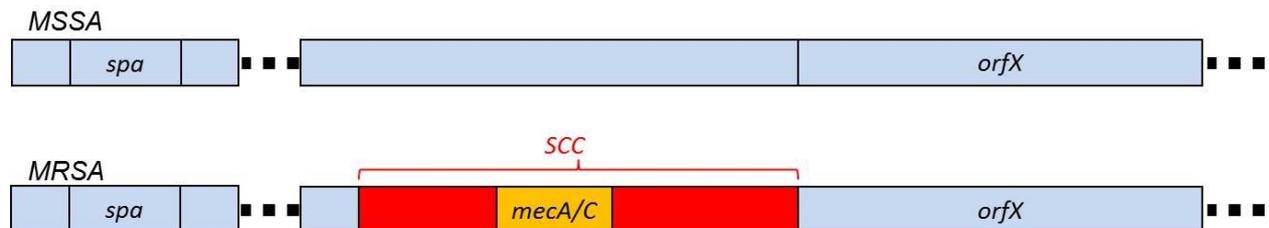


Abbildung 2: Schematische Gegenüberstellung korrespondierender genetischer Abschnitte des Methicillin-sensiblen und des Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (MSSA bzw. MRSA). *spa*: *Staphylococcus aureus* protein A, SCC: Staphylococcal Cassette Chromosome mit *mecA* bzw. *mecC*.

Bei Bakterien erleichtern diese mobilen genetischen Elemente den horizontalen Gentransfer, d.h. den Gentransfer von einem Bakterium auf ein anderes, zum Austausch von Resistenz- und Virulenzfaktoren, z. B. die Entwicklung einer Antibiotikaresistenz.

Mittlerweile wird eine Vielzahl an SCC*mec* Varianten beschrieben (SCC*mec* I-XI) (Shore 2013). Bei dem erstmalig 1961 in Großbritannien beschriebenen MRSA-Stamm handelte es sich um den Typ SCC*mec* Typ I, den so genannten Urklon, welcher sich in den 60iger Jahren weltweit ausbreitete (Oliveira 2002, Shore 2013). Über die Jahre wurden 1982 der SCC*mec* Typ II in Japan, 1985 der SCC*mec* Typ III in Neuseeland, der SCC*mec* Typ IV in den 90iger Jahren und zu Beginn des 21. Jahrhunderts in Australien der SCC*mec* Typ V entdeckt (Hanssen 2006, Shore 2013). Seit der Entdeckung des ersten MRSA-Stammes hat sich der Keim zu einem der wichtigsten multiresistenten Erreger entwickelt (Peters 2014).

Eine weitere Variante des MRSA zeigt anstatt des *mecA*-Gens ein Genhomolog, welches eine 70%ige Übereinstimmung zum *mecA*-Gen aufweist. Dieser MRSA-Typ ist mutmaßlich tierischen Ursprungs und das Gen wird als *mecC*-Gen bezeichnet (Garcia-Alvarez 2011, Lakhundi 2018). Aktuell erscheint die Prävalenz dieses Stammes – insbesondere in nicht von Viehzucht geprägten Regionen – noch niedrig zu sein (Robert-Koch-Institut 2013, Becker

2014). Jedoch wird dieser Typ durch etliche übliche PCR-Techniken zum Nachweis von MRSA oder den PBP2a-Agglutinationstest nicht erfasst, was eine falsch-niedrige Prävalenz vortäuschen könnte.

Seit der Erstbeschreibung 1961 wurde MRSA zunächst ausschließlich als Problem von Krankenhäusern und anderen Einrichtungen des Gesundheitswesens gesehen. Um die Jahrtausendwende änderte sich diese Sichtweise, nachdem es zu Ausbrüchen von MRSA-Infektionen unabhängig von stationären Einrichtungen kam (**Naimi 2003, Deurenberg 2007, Linde 2008, Köck 2011, Becker 2014**). Es etablierten sich die Begriffe „hospital-acquired MRSA“ (HA-MRSA) und „community-acquired MRSA“ (CA-MRSA) (**Becker 2014**). CA-MRSA sind phänotypisch und genotypisch von den HA-MRSA verschieden (**Deurenberg 2007**). Im Gegensatz zu HA-MRSA sind CA-MRSA in der Regel empfindlich auf Nicht- β -Lactamantibiotika. Außerdem werden überwiegend die *SSCmec*-Typen IV und V beschrieben (**Deurenberg 2007**). Seit 2004 wird über MRSA-kolonisierte landwirtschaftliche Nutztiere und in Verbindung damit über eine Kolonisation und Infektion des Menschen berichtet, so dass zusätzlich zu den zwei oben erwähnten Begriffen noch der Begriff „livestock-associated MRSA“ (LA-MRSA) geprägt wurde (**Deurenberg 2007**).

Der Anteil der HA-MRSA an allen Staphylokokkus-aureus-Isolaten aus klinisch relevantem Untersuchungsmaterial lag 2013 nach Ergebnissen der Paul-Ehrlich-Gesellschaft in Deutschland bei 13,5% im Vergleich zu 16,7% (2010) und 20,3% (2007). Insgesamt scheint die Zahl der MRSA-Nachweise im Verlauf der letzten Jahre leicht abzunehmen. Die Inzidenz der MRSA-Fälle nach Zahlen aus der Meldepflicht zu MRSA aus Blutkulturen und Liquor betrug 2014 bei 3.841 gemeldeten Fällen 4,8 Fälle pro 100.000 Einwohner (**Becker 2014, Robert-Koch-Institut 2015**). Der überwiegende Anteil der MRSA-Nachweise mit Angabe klinischer Indikationen stammte aus Wundinfektionen, gefolgt von Septikämien, Pneumonien und Harnwegsinfekten. Bei älteren Patienten läßt sich HA-MRSA häufiger nachweisen und erreicht bei den über 60-Jährigen einen Anteil von über 20% (**Becker 2014, Robert-Koch-Institut 2015**).

Neben HA-MRSA finden sich in den Krankenhäusern in Abhängigkeit von Region und prädisponierenden Risikofaktoren auch zunehmend CA- und LA-MRSA-Klone (**Becker 2014**). In den USA gewinnt CA-MRSA zunehmend an klinischer Bedeutung. Innerhalb der letzten Jahre wurde CA-MRSA zum häufigsten Verursacher von ambulant erworbenen eitrigen

Wundinfektionen (Becker 2014, Ng 2017). In Europa und Deutschland sind vergleichbare Fälle noch sehr rar (Linde 2008, Becker 2014, Ng 2017).

1.2. Epidemiologie und klinische Bedeutung von MRSA

Wenn auch die Zahl der Infektionen mit MRSA in den letzten Jahren weltweit zurückgeht, sind Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* europaweit nachwievor die häufigsten Erreger nosokomialer Infektionen (Meyer 2014). Damit ist MRSA auch verantwortlich für zusätzliche direkte und indirekte Kosten im Gesundheits- und Sozialsystem (Ott 2010, Macedo-Vinas 2013, Peters 2014). Für die Länder der EU wurde 2009 geschätzt, dass MRSA ca. 1 Millionen Krankenhaustage und Extrakosten von 380 Millionen Euro für die Krankenhäuser pro Jahr verursacht. Deutschland liegt im europäischen Vergleich mit einem Anteil nachgewiesener MRSA an allen untersuchten *Staphylococcus aureus* Specimen von ca. 16-25% im Mittelfeld (Abbildung 3).

Figure 3.25. *Staphylococcus aureus*. Percentage (%) of invasive isolates with resistance to meticillin (MRSA), by country, EU/EEA countries, 2017

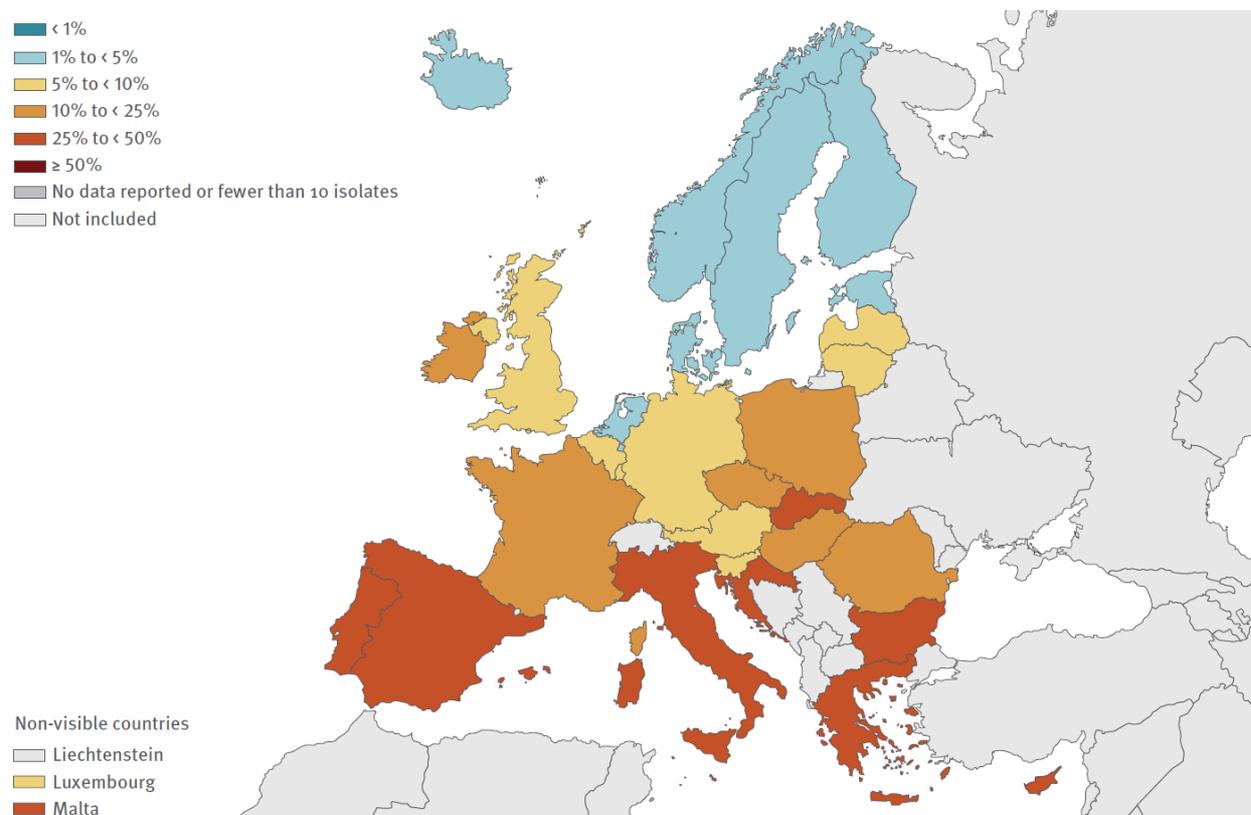


Abbildung 3: Länderbezogene Darstellung der Anteile MRSA-positiver invasiver Isolate in Europa (ECDC 2017).

Ca. 16.000 Menschen infizieren sich jährlich mit MRSA und ein bis zwei von 100 Patienten, die in Krankenhäusern aufgenommen werden, sind vor Aufnahme in das Krankenhaus MRSA besiedelt oder infiziert (**Bartels 2008**). Im Vergleich zu Bakteriämien mit Methicillin-sensiblen Staphylococcus aureus (MSSA) ist die Mortalität bei entsprechenden Infektionen mit MRSA signifikant erhöht (**Peters 2014**).

Aus **Abbildung 3** ist ersichtlich, dass insbesondere in südeuropäischen Ländern die Prävalenz von MRSA hoch ist und dass sich Länder, in denen intensive hygienische Maßnahmen gegen eine Übertragung von MRSA vorgehalten werden (s. 1.5., „*Search and Destroy*“ Strategie in den Niederlanden), durch sehr geringe MRSA-Prävalenzen auszeichnen.

Auch innerhalb Deutschlands bestehen starke regionale und lokale Unterschiede in Hinblick auf die MRSA-Prävalenz sowie ein Trend zu abnehmenden Prävalenzen über die letzten Jahre (**Abbildung 4**). In einer Analyse des Krankenhaus-Infektions-Surveillance-Systems (KISS) konnte gezeigt werden, dass der prozentuale Anteil von MRSA an allen nosokomialen Staphylococcus aureus-Infektionen in Deutschland von 33% im Jahr 2007 auf 27% im Jahr 2012 zurückging. Weiterhin zeigten sich in der Untersuchung für Deutschland ein Nord-Süd- und ein West-Ost-Gefälle beim Anteil des MRSA an den nach gewiesenen Infektionen (**Köck 2013**). Die Ursachen des Rückgangs scheinen multifaktoriell zu sein. Seit 2004 liegt der gesundheitspolitische Fokus auf der Bildung von MRSA-Netzwerken. Weiterhin trugen Kampagnen wie die *Aktion saubere Hände* und seit Mitte 2011 die Labor-Meldepflicht für eine invasive MRSA-Infektionen einen Teil zur Senkung bei.

Im Rahmen der Analyse konnte auch gezeigt werden, dass sich die Anzahl der Patientenscreenings bei Aufnahme im Krankenhaus von 1,4 pro 100 Patienten 2004 auf 16,7 im Jahr 2012 vervielfacht hat (**Meyer 2014**).

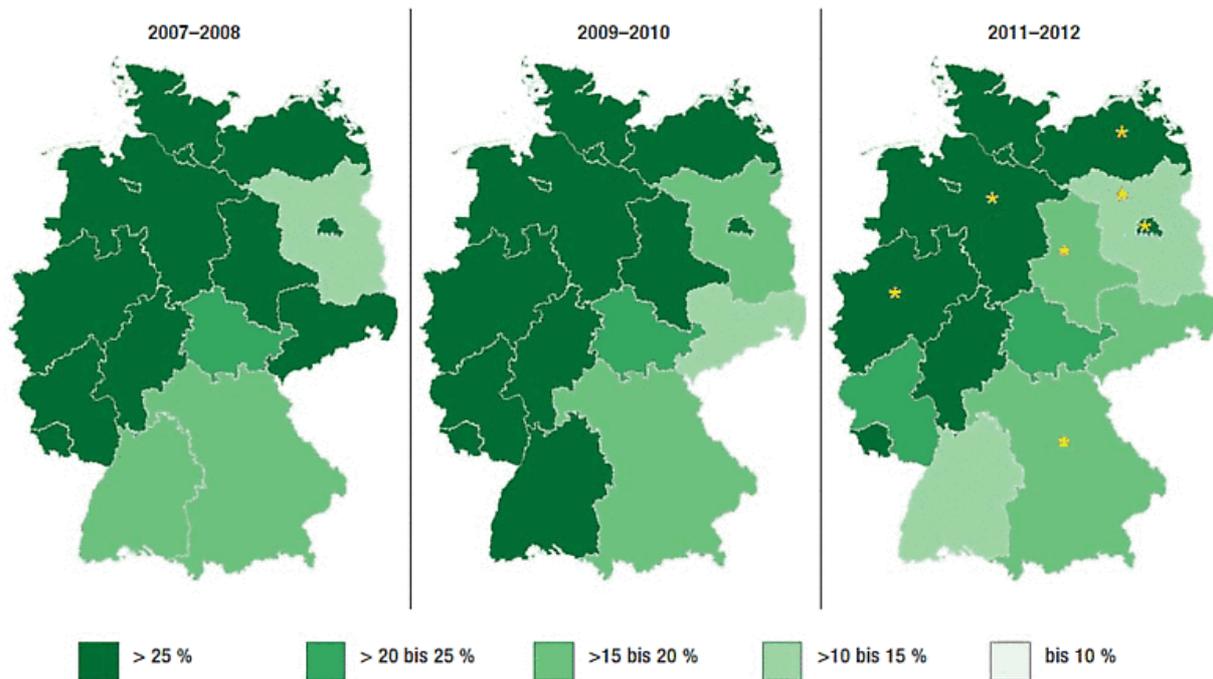


Abbildung 4: Prozentualer Anteil von MRSA bei nosokomialen Staphylococcus-aureus-Infektionen nach Bundesland über drei 2-Jahreszeiträume (Zeitraum 2007-2008, 2009-2010, 2011-2012). *Bundesland ist signifikanter Einflussfaktor (**Meyer 2014**).

1.3. Übertragung von MRSA

Patienten, die mit MRSA kolonisiert sind, tragen wesentlich zum Ein- und Austrag von MRSA in und aus medizinischen Einrichtungen bei (**Peters 2014**). MRSA wird von kolonisierten und infizierten Personen an die Umgebung abgegeben. Auf unbelebten Oberflächen kann MRSA zwischen 7 Tagen und 7 Monaten überleben (**Kramer 2006**). MRSA wird direkt oder indirekt durch Kontakt übertragen. Im Krankenhaus und anderen medizinischen Einrichtungen sind die Hände des Personals der Hauptübertragungsweg. Nasale Kolonisation, respiratorische Infektion bei gleichzeitiger nasaler Kolonisation, MRSA-kolonisierte oder infizierte Wunden, mangelhafte Basishygienemaßnahmen (besonders der Händehygiene) und enger Kontakt in Gemeinschaftseinrichtungen (Pflegeheime) begünstigen die Freisetzung und Übertragung von MRSA (**Pittet 2000**).

Zusätzlich sind patienteneigene Faktoren bekannt, welche die Kolonisation oder Infektion mit MRSA begünstigen. Hier sind vor allem das Vorliegen chronischer Wunden, das Vorhandensein von schleimhautdurchdringenden medizinischen Implantaten (PEG, Blasenkatheter,

Trachestoma), eine Antibiotikabehandlung in der Anamnese, Komorbiditäten und das Zusammenleben mit MRSA-positiven Personen zu nennen (**Peters 2014**).

Die Übertragungswahrscheinlichkeit hängt eng mit Faktoren zusammen, die die Erregerfreisetzung oder -Einwirkung beeinflussen, der Erregerdichte, dem Übertragungsziel sowie den Vorerkrankungen des Empfängers (**Peters 2014**). Untersuchungen zeigen, dass weniger als 100 Kolonie-bildende Einheiten (KbE) ausreichen, um eine Infektion auszulösen, wenn sie in Wunden oder Hautdefekte gelangen (**Dancer 2008**).

Der reduzierende Einfluss eines MRSA-Screenings bei Aufnahme auf die Häufigkeit von nachfolgenden MRSA-Übertragungen ist mittlerweile gut belegt (**Huang 2006, Cunningham 2007, Hardy 2010**).

1.4. Möglichkeiten des Nachweises von MRSA

Der Nachweis von MRSA ist für die adäquate Anwendung therapeutischer und hygienischer Maßnahmen von großer Bedeutung. Hierfür stehen verschiedene mikrobiologische und molekulargenetische Techniken zur Verfügung (**Struelens 2009**).

1.4.1. Kulturbasierte Ansätze der MRSA-Diagnostik

Die mikrobiologischen Ansätze der kulturbasierten MRSA-Identifizierung können einerseits über die Identifizierung des *Staphylococcus aureus* anhand kultureller (z.B. β -Hämolyse) und biochemischer Eigenschaften laufen, der anschließend eine Resistenztestung gegen Oxacillin/Methicillin folgt. Ein alternatives Vorgehen, das sich beim Screening auf MRSA anbietet, verwendet die Kombination von antibakteriellen und chromogenen Zusätzen im Kulturagar (**Struelens 2009, Xu 2016**) (**Abbildung 5**).

Bei diesem Ansatz wird die Probe auf einen Agar aufgebracht, der verschiedene selektive Agenzien zur Unterdrückung des Wachstums von Nicht-MRSA, insbesondere auch Methicillin-sensiblen *Staphylococcus aureus* (MSSA), enthält. Eine gleichzeitig im Agar vorhandene chromogene Substanz wird durch in MRSA immer vorhandene Phosphatase-Aktivität hydrolysiert, was zu einer farblichen Markierung der MRSA-Kolonien führt. Ebenfalls wachsende Nicht-MRSA-Erreger werden in einem Teil der Teststrategien durch eine weitere chromogene Reaktion anders farbig gekennzeichnet. MRSA-verdächtige Kolonien werden anschließend einer spezifischeren Bestätigungsdiagnostik, beispielsweise einem Latex-Agglutinationstest für das *mecA*-Genprodukt PBP2a, unterzogen.

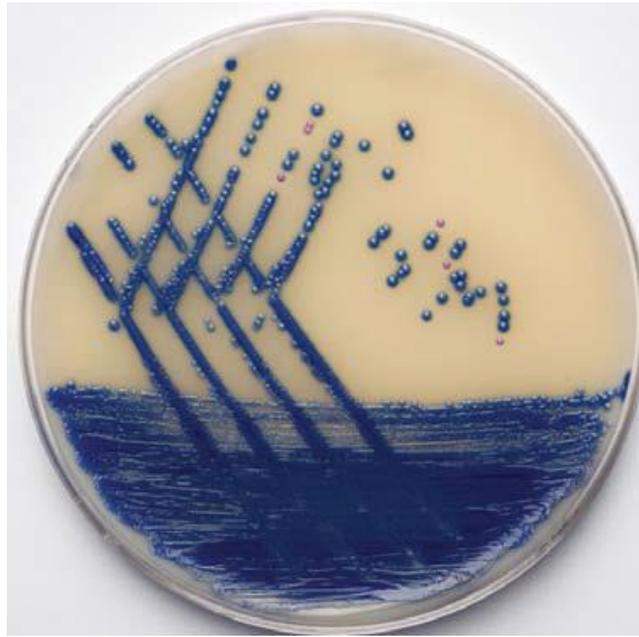


Abbildung 5: Kulturbasierte MRSA-Diagnostik (Brilliance™ MRSA 2 Agar). MRSA-verdächtige Kolonien in dunkelblau. Nicht-MRSA-Erreger in rosa.

Gegenüber molekulargenetischen Testansätzen ist ein wesentlicher Vorteil kulturbasierter Nachweisverfahren, dass sie nicht auf ein bestimmtes genetisches Target beschränkt sind und somit relativ umfassend die phänotypischen Eigenschaften von MRSA nachweisen. So sind sie weniger abhängig vom genetischen Hintergrund, der der Methicillin-Resistenz zugrunde liegt. Von Nachteil – insbesondere dann, wenn man die Eignung für ein Eingangsscreening und hieraus abgeleitete Sofortmaßnahmen im Blick hat – sind jedoch die notwendigen Bebrütungszeiten. Kulturbasierte Verfahren erscheinen daher für Algorithmen, die eine sehr zeitnahe Reaktion innerhalb weniger Stunden erfordern, wenig geeignet.

1.4.2. Molekulargenetische Ansätze der MRSA-Diagnostik

Molekulargenetische Techniken für die MRSA-Diagnostik haben als wesentlichen Vorteil die sehr kurze Zeit zwischen Abstrich und Vorliegen des Untersuchungsergebnisses. Hierdurch lassen sich die Reaktionszeit für hygienische Maßnahmen im Vergleich zu kulturbasierten Testen wesentlich verkürzen (**Wassenberg 2010**). Für den molekulargenetischen MRSA-Nachweis werden unterschiedliche Zielsequenzen im *SSCmec* Element und seiner Umgebung verwendet, wodurch ein spezifischer MRSA-Nachweis auch ohne die bei kulturbasierten Verfahren notwendigen Wachstumszeiten möglich ist. Im Falle des im ukb angewendeten

Verfahrens der MRSA-PCR werden sowohl *mecA* bzw. *mecC* als auch die Insertionsstelle des *SSCmec* Elements mit einer real-time PCR amplifiziert und dann durch Hybridisierung mit fluoreszenzmarkierten, sequenzspezifischen Sonden nachgewiesen (Kurlenda 2010, Wassenberg 2010) (Abbildung 6).

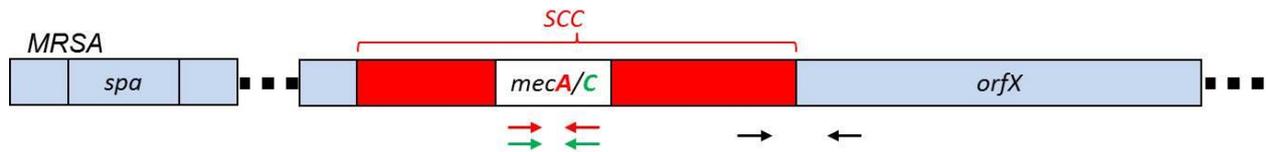


Abbildung 6: Molekulargenetische MRSA-Diagnostik (Strategie des Xpert[®] MRSA NxG Assays). Durch Amplifikation von Zielstrukturen im *mecA* (rote Pfeile) bzw. *mecC* (grüne Pfeile) Gen sowie um die Insertionsstelle des *SSCmec* Elements und anschließende Hybridisierungsreaktion erfolgt der genetische Nachweis von MRSA. *spa*: Staphylococcus aureus protein A, SCC: Staphylococcal Cassette Chromosome mit *mecA* bzw. *mecC*.

Nach Eingang im Labor liegt das Untersuchungsergebnis im Regelfall nach 90-120 min vor. Dies ermöglicht es fast unmittelbar, gezielte hygienische Maßnahmen bei der Aufnahme in die Wege zu leiten.

Für die Bewertung der diagnostischen Validität der molekulargenetischen Techniken der MRSA-Diagnostik sind die kulturbasierten Techniken die Referenz. In Hinblick auf die aus einem negativen Befund der MRSA-PCR resultierenden Entscheidungen ist ein hoher negativ-prädiktiver Wert (NPW), d.h. eine hohe Wahrscheinlichkeit, dass ein negativer Befund in der MRSA-PCR auch durch einen negativen Befund in der kulturbasierten MRSA-Diagnoseverfahren bestätigt wird, notwendig. Ausgehend von MRSA-Prävalenzen in der Größenordnung von 5% erreichen die heute verwendeten molekulargenetischen MRSA-Nachweisverfahren einen NPW von 99% und mehr (Holfelder 2006, Daeschlein 2006, Peters 2014).

Nachteilig an den molekulargenetischen MRSA-Nachweisverfahren sind zum einen die relativ hohen Kosten. Zum anderen erfassen die PCR-Techniken solche MRSA nicht, die modifizierte genetische Strukturen aufweisen, die nicht Zielstruktur der Amplifizierungs- und Hybridisierungsreaktion sind. Außerdem erbringt die PCR lediglich den Nachweis der entsprechenden DNA-Abschnitte, dies bedeutet jedoch nicht zwangsläufig, dass vitale MRSA vorliegen.

1.5. Hygienische Maßnahmen und Handlungsoptionen in Hinblick auf MRSA

Auf Grund der oben beschriebenen Problematik kommt der frühen und sicheren Erkennung von MRSA infizierten bzw. kolonisierten Personen im Rahmen der Krankenhaus-situation eine große Bedeutung zu. Ziel des sogenannten MRSA-Screenings ist es, in der Regel asymptomatische, mit MRSA kolonisierte Personen zu erkennen und entsprechende Hygienemaßnahmen einzuleiten.

Diagnostisch ist es hilfreich, zunächst diejenigen Patienten mit einem erhöhten Risiko für eine MRSA-Besiedlung durch eine klinisch-anamnestische Vorcharakterisierung zu identifizieren. Eine diagnostische Screeninguntersuchung, die nach den gültigen Empfehlungen der Kommission für Krankenhaus-hygiene und Infektionsprävention (KRINKO) vordere Nasenvorhöfe, Rachen, vorhandene Wunden und *gegebenenfalls* Perineum und Leiste einbezieht, sollte sich auf die hierdurch identifizierten Risikopatienten konzentrieren.

Folgende Risikofaktoren werden derzeit vom Robert-Koch-Institut für Deutschland als relevant angesehen (**Peters 2014**):

- Patienten mit bekannter MRSA-Anamnese,
- Patienten aus Einrichtungen oder Regionen mit hoher MRSA-Prävalenz,
- Dialysepatienten,
- Patienten mit einem stationären Krankenhausaufenthalt >3 Tage,
- Patienten mit regelmäßigem direkten beruflichen Kontakt zu MRSA (z.B. Viehzucht),
- Patienten, die während eines stationären Aufenthaltes Kontakt mit MRSA-Trägern hatten,
- Patienten mit chronischen Hautläsionen und
- Patienten mit chronischer Pflegebedürftigkeit, bei denen zusätzlich in den vergangenen 6 Monaten eine Antibiotikatherapie durchgeführt wurde und/oder bei denen ein Katheter liegt.

Studien konnten zeigen, dass die Einführung von MRSA-Screeningmaßnahmen zu einer deutlichen Verminderung nosokomialer Infektraten führt (**Huang 2006, Cunningham 2007, Chaberny 2008, Hardy 2010**).

Die Niederlande und die skandinavischen Länder betreiben hierbei eine sogenannte „*Search and destroy*“ Strategie, die die konsequente Anwendung eines MRSA-Screenings sowie die Eradizierung identifizierter MRSA beinhaltet. Im Gegensatz zu Deutschland, wo sich in etwa 20% aller Staphylococcus aureus Isolate MRSA nachweisen lässt, sind es in den Niederlanden weniger als 2%. In den Niederlanden werden die Patienten bei der Krankenhausaufnahme in MRSA-Risikoklassen eingeteilt (**Tabelle 1**).

Tabelle 1: Screening und Isolation in den Niederlanden (**Köck 2013**).

Risikoklasse	Merkmale	Maßnahmen
Kategorie 1 (sehr hoch)	<ul style="list-style-type: none"> • Bekannter MRSA-Träger 	(Screening &) Isolierung: Einzelzimmer, Handschuhe, Mund-Nasenschutz, Haube, Kittel.
Kategorie 2 (hoch)	<ul style="list-style-type: none"> • Aufenthalt >24h in einem ausländischen Krankenhaus in den letzten 2 Monaten bzw. <24h bei zusätzlichen Risikofaktoren (z.B. Abszess). • Ungeschützter Kontakt zu MRSA-Indexpatient bzw. Aufenthalt in Bereichen, in denen ein MRSA-Ausbruch bekannt ist. • Patient aus dem Ausland, der in NL dialysiert wird. • Kontakt zu Schweinen und Rindern aus landwirtschaftlicher Tierproduktion. • Aus dem Ausland adoptierte Kinder. 	Screening & prophylaktische Isolierung: Einzelzimmer, Handschuhe, Mund-Nasen-Schutz, Haube, Kittel bis zum Ausschluss einer MRSA-Besiedlung. Ggf. Aufhebung der Isolation je nach Ergebnis eines PCR-basierten Schnelltests.
Kategorie 3 (mittel)	<ul style="list-style-type: none"> • Kontakt zu einem MRSA-positiven Mitarbeiter in den letzten 2 Monaten. • Patient, der im Ausland dialysiert wurde (auch Niederländer). • Follow-up MRSA Patient im ersten Jahr nach Dekolonisationstherapie (negative Kontrollen liegen vor). • Patienten mit persistierender MRSA-Exposition (MRSA-positive Lebenspartner, Kontakt zu fleischverarbeitender Industrie), die vor <3 Monaten negativen MRSA-Test hatten. 	Screening und „zurückhaltender Transport durch die Einrichtung“ , aber keine prophylaktische Isolation.
Kategorie 4 (Nicht erhöht)		Standardhygiene

Risikopatienten der Kategorien 1 und 2 werden immer gescreent und es werden bis zum sicheren MRSA-Ausschluss über die Standardhygiene hinausgehende zusätzliche Maßnahmen ergriffen (Vos 2009, Köck 2013).

Im eigenen Haus wurden folgende MRSA-Screening-Indikationen und Bedingungen festgelegt:

- MRSA-Eingangsscreening (molekulargenetischer und kultureller Nachweis) an verschiedenen Körperstellen bei jeder Neuaufnahme eines Risikopatienten und bei allen Neuaufnahmen auf Risikostationen (Intensivstation, Brandverletztzentrum, Rückenmarkverletztzentrum).
- Einmaliges Screening (kultureller Nachweis) von Patienten mit Kontakt zu MRSA-Trägern.

Bei positivem Befund im MRSA-Eingangsscreening erfolgt eine Isolierung des betreffenden Patienten und – wo zeitlich realisierbar und medizinisch sinnvoll – der Versuch der Sanierung.

Als Risikopatienten werden im eigenen Haus Patienten eingeordnet, wenn sie mindestens eines der folgenden Kriterien erfüllen:

- chronische Pflegebedürftigkeit
- liegender Katheter (Blasen Katheter, PEG)
- Dialysepflichtigkeit
- chronische Wunden, Weichteilinfektionen, Gangraen, Hautulcus
- im Ausland dialysierte oder dort länger als 24h im Krankenhaus behandelte Patienten
- Patienten nach Verlegung aus anderen Krankenhäusern und aus Pflegeeinrichtungen
- stationäre Aufenthalte in den letzten 3 Monaten in anderen Krankenhäusern
- Patienten mit Kontakt zum Gesundheitssystem in Ländern mit hoher MRSA-Prävalenz
- Wiederaufnahme von Patienten mit bekannter MRSA-Anamnese

Diese Kriterien lehnen sich an diejenigen des Robert-Koch-Institutes an, sind allerdings noch etwas weiter gefasst.

1.6. Methodische Umsetzung des MRSA-Eingangsscreenings im ukb und Fragestellung

Das in unserem Haus umgesetzte Konzept des MRSA-Eingangsscreening ist im **Kapitel 2** (Methodik) im Detail beschrieben und ging zum Zeitpunkt der praktischen Durchführung der Studie vom Abstrich mit Doppeltupfern (COPAN, Brescia, Italien) aus, in denen das Probenmaterial mit einem in Puffer getränkten Schwamm feucht gehalten wird (**De Silva 2010, Verhoeven 2010**). Von diesem Material ausgehend erfolgt einerseits eine molekulargenetische Untersuchung auf MRSA mit Hilfe des Xpert[®] MRSA NxG Assays (Cepheid, Frankfurt am Main, Deutschland), andererseits wird das Material kulturbasiert mit dem Brilliance[™] MRSA2 Agar (Thermo Fisher Scientific, Wesel, Deutschland) untersucht.

Für den Abstrich steht grundsätzlich eine Vielzahl an unterschiedlichen Abstrichmedien zur Verfügung (**Warnke 2014**). Neben dem erwähnten Doppeltupfer wird für die kulturbasierte mikrobiologische Diagnostik in unserem Haus routinemäßig der ESwab[®] (COPAN) verwendet, der aus einem beflockten Abstrichtupfer und einem Flüssigmedium besteht. Letzteres soll die Vitalität möglicher im Probenmaterial enthaltener Bakterien in der präanalytischen Phase besser sicherstellen (**De Silva 2010, Verhoeven 2010, Saegeman 2011, Silbert 2014**).

Der sogenannte MSwab[®] (COPAN) ist ein für molekulargenetische Analytik optimiertes Abstrichmedium, das ebenfalls aus beflocktem Abstrichtupfer und Flüssigmedium besteht (**Hofmann 2014, Peters 2017**).

Aus der Verwendung von ESwab oder MSwab im von uns praktizierten MRSA-Eingangsscreening könnten ablauftechnische Vereinfachungen (z.B. Möglichkeit der automatisierten Probenweiterverarbeitung) abgeleitet werden, die einem möglichen Einfluss auch auf die diagnostische Validität gegenüberstehen. So könnten aus einer Änderung des verwendeten Abstrichsmedium diagnostisch sowohl Veränderungen auf Seiten der molekulargenetischen als auch der kulturbasierten MRSA-Analytik resultieren.

Um den Einfluss des Abstrichsmediums auf die molekulargenetische und kulturbasierte MRSA-Diagnostik zu charakterisieren, wurden folgende Fragestellungen im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersucht:

- Welchen Einfluss hat das Abstrichmedium auf die Häufigkeit technisch invalider Untersuchungsergebnisse in der molekulargenetischen MRSA-Analytik?

- Gibt es Hinweise auf Unterschiede in der analytischen Validität der molekulargenetischen MRSA-Analytik, die vom Abstrichmedium abhängen, wenn man Bezug nimmt auf die kulturbasierte Analytik als Referenzmethode?
- Gibt es Hinweise auf einen Einfluss der Abstrichmedien auf die Ergebnisse der kulturbasierten MRSA-Analytik?

2. Methodik

2.1. Untersuchungsmaterial

Für die Gewinnung des Untersuchungsmaterials für die geplante vergleichende Untersuchung standen grundsätzlich zwei Herangehensweisen zur Verfügung: Zum Einen der Abstrich jedes einzelnen eingeschlossenen Patienten mit 3 Abstrichmedien, zum Anderen die Untersuchung in 3 Perioden, in denen jeweils Doppeltupfer, ESwab oder MSwab verwendet werden. Wir entschieden uns für letztere Vorgehensweise, wobei die Überlegungen hierzu im 4. Kapitel (Diskussion) ausgeführt werden. Ausgehend von dieser Entscheidung wurden keine zusätzlichen Materialien vom Patienten gewonnen, so dass die Materialgewinnung aus dem auf das jeweilige Abstrichmedium angepassten Routineablauf erfolgen konnte.

Dem Vorhaben wurde durch den Ethikausschuss 2 der Ethikkommission (Charité – Universitätsmedizin Berlin) (EA2/069/16) zugestimmt.

2.1.1. Patienteneinschluss

In die Studie wurden ausschließlich Einsendungen von Material aus der Rettungsstelle des Unfallkrankenhauses Berlin (ukb) eingeschlossen, das im Rahmen des routinemäßigen MRSA-Eingangsscreenings bei MRSA-Risikopatienten gewonnen wurde. Die Einstufung als MRSA-Risikopatient resultierte aus dem Vorliegen eines oder mehrerer der folgenden Risikofaktoren, die bereits in der Einleitung erwähnt wurden:

- Patienten mit bekannter MRSA-Anamnese,
- Patienten aus Regionen/Einrichtungen mit bekannt hoher MRSA-Prävalenz (z.B. Einrichtungen in Ländern mit hoher MRSA-Prävalenz oder Einrichtungen mit bekannt hoher MRSA-Prävalenz in Deutschland),
- Dialysepatienten,
- Patienten mit einem stationären Krankenhausaufenthalt (>3 Tage) in den zurückliegenden 12 Monaten (in einem Krankenhaus in Deutschland oder in anderen Ländern),
- Patienten, die regelmäßig (beruflich) direkten Kontakt zu MRSA haben (z. B. Personen mit Kontakt zu landwirtschaftlichen Nutztieren (Schweine, Rinder, Geflügel)),

- Patienten, die während eines stationären Aufenthaltes Kontakt zu MRSA-Trägern hatten (z.B. bei Unterbringung im gleichen Zimmer),
- Patienten mit chronischen Hautläsionen (z.B. Ulkus, chronische Wunden, tiefe Weichgewebeinfektionen) und
- Patienten mit chronischer Pflegebedürftigkeit (z.B. Immobilität, Störungen bei der Nahrungsaufnahme/Schluckstörungen, Inkontinenz, Pflegestufe) und einem der nachfolgenden Risikofaktoren:
 - Antibiotikatherapie in den zurückliegenden 6 Monaten,
 - liegende Katheter (z.B. Harnblasenkatheter, PEG-Sonde, Trachealkanüle),
 - Alkoholkrankheit.

Als Zielgröße für die 3 Untersuchungsperioden wurden jeweils 500 Patienten festgelegt.

2.1.2. Abstrichmedien und Abstreichtechnik

Es wurden die folgenden Abstrichmedien verwendet:

- Doppelplastiktupfer (#139C, COPAN, Brescia, Italien) (im Folgenden: **Doppeltupfer**): Viskose-Tupfer mit flüssigem Stuart Medium (Natriumglycerophosphat (10 g/l), CaCl₂ (0,1 g/l), Mercaptoessigsäure (1 ml/l)).
- ESwab[®] (COPAN) (im Folgenden: **ESwab**): FLOQSwabs[™] mit flüssigem Amies Medium (NaCl (3 g/l), KCl (0,2 g/l), CaCl₂ (0,1 g/l), MgCl₂ (0,1 g/l), KPO₄ (0,2 g/l), Na₂PO₄ (1,15 g/l), Natriumthioglycolat (1 g/l)).
- MSwab[®] (COPAN) (im Folgenden: **MSwab**): FLOQSwabs[™] mit Transportmedium (Tris-HCl/Tris, EDTA, DMSO, Rinderserumalbumin).

Routinemäßig erfolgte bei Risikopatienten der Abstrich an Nase/Rachen sowie Leisten/Perineum. Ggf. wurden zusätzlich Wunden, Tracheostomata oder Sondeneintrittsstellen abgestrichen.

Die Abstreichtechnik orientierte sich am hausinternen Entnahmestandard. Nase/Rachen bzw. Leiste/Perineum wurden jeweils mit einem Doppeltupfer oder ESwab oder MSwab abgestrichen, so dass bei Abstrich dieser 4 Regionen insgesamt 2 Abstrichsysteme einem Untersuchungsauftrag zugeordnet waren. Entsprechend dem Entnahmestandard wurden die Tupfer trocken angewendet.

Abstrichtechnik im Einzelnen:

- Nase: Tupfer in Nasenvorhof einführen, 3x vorsichtig drehen, auf Schleimhautkontakt achten. Vorgang bei zweitem Nasenvorhof wiederholen.
- Rachen: Tupfer in hinteren Rachenbereich führen und abstreichen bis Befeuchtung sichtbar.
- Leiste/Perineum: Beide Leisten nacheinander von außen nach innen abstreichen, Tupfer dabei drehen. Anschließend mit gleichem Tupfer das Perineum vom Genitale zum Anus hin abstreichen.
- Wunden: Tupfer über die volle Länge der Wunde abrollen. Für jede Wunde neuen Tupfer verwenden.
- PEG-Eintrittsstellen: Tupfer zirkulär um Eintrittsstellen abrollen, für jede Eintrittsstelle neuen Tupfer verwenden.
- Tracheostoma: Trachealsekret aus dem Lumen mit Tupfer entnehmen.

2.1.3. Probentransport und Bearbeitungszeiten

Der Probentransport erfolgte nach Entnahme ohne weitere Zwischenlagerung durch das Rohrpostsystem des ukb. Das Material wurde unmittelbar nach Eingang im Labor im Routinebetrieb aufbereitet und molekulargenetisch untersucht. Die Versendung des Materials für die kulturbasierte MRSA-Diagnostik erfolgte mit den zu festgelegten Zeiten fahrenden Transportdiensten. Bis zu diesen Zeitpunkten wurde das Material bei Raumtemperatur zwischengelagert.

Der zeitliche Abstand zwischen Probennahme und Ausstrich in der Mikrobiologie ist im Regelfall kleiner als 24h.

2.2. Molekulargenetische MRSA-Analytik (Cepheid)

Für die molekulargenetische MRSA-Analytik vor Ort wurde der Xpert[®] MRSA NxG Assay (Cepheid, Frankfurt am Main, Deutschland) (im Folgenden: **MRSA-PCR**) auf dem GeneXpert[®] Infinity (Cepheid) (im Folgenden: **Infinity**) verwendet (**Patel 2015, Peterson 2017**).

Die Probenaufarbeitung und die Untersuchung erfolgten im diagnostischen Routineablauf durch Mitarbeiter des Instituts bzw. im externen Versandlabor. Die Methoden sind im Folgenden beschrieben.

2.2.1. Molekulargenetische MRSA-Analytik (Doppeltupfer)

Bei Verwendung der Doppeltupfer wurden bei Einsendungen von Nase/Rachen & Leiste/Perineum jeweils Einzeltupfer von beiden Abstrichpaaren in 2 ml MRSA NxG Elutionsreagenz *gepoolt* aufgenommen. Hierfür wurden die Tupfer im Elutionsreagenz 10 Sekunden auf einem Schüttler eluiert. Anschließend wurden die eluierten Tupfer verworfen, das Elutionsreagenz in die Xpert[®] NxG Kartusche durch Abgießen überführt und diese auf dem Infinity vermessen (**Yarbrough 2018**). Bei weiteren Abstrichlokalisationen wurden diese analog zum beschriebenen Vorgang separat in Elutionsreagenz aufbereitet und untersucht.

Die jeweils zweiten Einzeltupfer eines Abstrichpaares wurden für die mikrobiologische Untersuchung zurückgestellt und im Anschluss versendet.

2.2.2. Molekulargenetische MRSA-Analytik (ESwab bzw. MSwab)

Bei Verwendung der Tupfer mit Flüssigmedium (ESwab bzw. MSwab) wurden bei Einsendungen von Nase/Rachen & Leiste/Perineum Abstrichen jeweils 100 µl mit einer Pipette in das MRSA NxG Elutionsreagenz für die *gepoolte* Analytik überführt. Anschließend wurde das Elutionsreagenz 10 Sekunden geschwenkt, in die Xpert[®] NxG Kartusche durch Abgießen überführt und diese auf dem Infinity vermessen (**Yarbrough 2018**). Bei weiteren Abstrichlokalisationen wurden diese analog zum beschriebenen Vorgang separat in Elutionsreagenz überführt und untersucht.

Die ESwab/MSwab-Probengefäße wurden sofort nach Probenentnahme mit einem neuen Deckel verschlossen und für die mikrobiologische Untersuchung zurückgestellt.

2.3. Zusätzliche, extern durchgeführte molekulargenetische MRSA-Analytik

Zusätzlich zu der in der Routine angewendeten MRSA-PCR wurde das Probenmaterial extern (Labor Berlin – Charité Vivantes GmbH) mit dem cobas[®] 4800 System (Roche Molecular Systems, Pleasanton, USA) sowie dem BD MAX[®] System (Becton Dickinson, Heidelberg, Deutschland) molekulargenetisch in Hinblick auf MRSA untersucht (im Folgenden: **MRSA-cobas** bzw. **MRSA-BD**). Hierbei erfolgten DNA-Isolierung, Amplifikation und Detektion via real-time PCR automatisiert in den Modulen des Analysesystems (**Widen 2014, Peterson 2017**). Das Untersuchungsmaterial wurde nicht gepoolt untersucht.

Im Falle der Untersuchungen mit dem BD MAX wurde die Analytik erst im zweiten Studienabschnitt begonnen, so dass Untersuchungsergebnisse zu den Doppeltupfern für dieses System fehlen.

2.4. Kulturbasierte MRSA-Analytik

Die kulturbasierte MRSA-Analytik erfolgte routinemäßig mit Hilfe von Brilliance™ MRSA2 Agar (Thermo Fisher Scientific, Wesel, Deutschland) (im Folgenden: **MRSA-Routinekultur**) in einem externen Labor (Labor Berlin – Charité Vivantes GmbH).

Nach Inokulierung des nicht gepoolten Probenmaterials wurden die Platten für 20-28 h bei 35-37 °C aerob bebrütet. Anschließend erfolgte die visuelle Auswertung in Bezug auf blau gefärbte, MRSA-verdächtige Kolonien, die dann einer mikrobiologischen Bestätigungsuntersuchung zugeführt wurden.

Zusätzlich erfolgte während der Studienperiode die Untersuchung des nicht gepoolten Probenmaterials mit dem BI-PLATE Plattensystem chromID® MRSA/chromID® S. aureus (bioMérieux, Nürtingen, Deutschland) (im Folgenden: **MRSA-biplate**), das bei analogem Verfahren zur MRSA-Routinekultur eine Identifizierung von MRSA und Methicillin-sensiblen Staphylococcus aureus (MSSA) erlaubt.

2.5. Datenzusammenstellung

Im Rahmen des diagnostischen Routineprozesses wurden die Daten für MRSA-PCR und MRSA-Routinekultur auftragsbezogen gemeinsam verwaltet. Die studienspezifische Zusatzanalytik (MRSA-cobas, MRSA-biplate) erfolgte nach Pseudonymisierung.

Da die zentralen Fragestellungen der Arbeit auf den Vergleich von gepoolter MRSA-PCR und nicht gepoolter MRSA-Routinekultur gerichtet waren, wurden die Ergebnisse der MRSA-Routinekultur auftragsbezogen so zusammengefasst, dass bei Vorliegen mindestens eines positiven Ergebnisses die Kultur als „gepoolt positiv“ und bei ausschließlich negativen Ergebnissen als „gepoolt negativ“ bewertet wurden.

2.6. Statistische Auswertung

Für die Darstellung von Häufigkeitsverteilungen wurden der Median sowie der Bereich der 25. bis 75. Perzentile (interquartile range, IQR) verwendet.

Für den statistischen Vergleich der Untersuchungsergebnisse in Abhängigkeit von Analysetechnik und/oder Abstrichmedium wurde der χ^2 -Test verwendet. Dieser Test überprüft, ob die Verteilungen einer Variablen in zwei Gruppen signifikant voneinander abweichen, beispielsweise die Anteile invalider Testergebnisse in der MRSA-PCR aus MSwab-Material versus MRSA-PCR aus Doppeltupfer-Material.

Die Darstellung dieser Verteilungen kann in der sogenannten Vier-Felder-Tafel erfolgen (**Tabelle 2**).

Tabelle 2: Beispielhafte Darstellung einer Vier-Felder-Tafel zum Vergleich des Anteils invalider Testergebnisse in der MRSA-PCR in Abhängigkeit vom verwendeten Abstrichmedium.

	Abstrichmedium	
MRSA-PCR	MSwab	Doppeltupfer
Valide Testergebnisse	$N_{\text{Valid}}(\text{MSwab})$	$N_{\text{Valid}}(\text{Doppeltupfer})$
Invalide Testergebnisse	$N_{\text{Invalid}}(\text{MSwab})$	$N_{\text{Invalid}}(\text{Doppeltupfer})$

Die Stärke der Beziehung des die Gruppen unterscheidenden Merkmals, im Beispiel die Wahl des Abstrichmediums (MSwab oder Doppeltupfer), mit der Variablen, im Beispiel der Anteil der invaliden Testergebnisse, kann mit Hilfe der sogenannten Odds Ratio (OR) (synonym: Kreuzproduktverhältnis) angegeben werden:

$$OR = \frac{N_{\text{Valid}}(\text{MSwab}) \times N_{\text{Invalid}}(\text{Doppeltupfer})}{N_{\text{Invalid}}(\text{MSwab}) \times N_{\text{Valid}}(\text{Doppeltupfer})}$$

Ob eine Ungleichverteilung statistisch signifikant ist, wird mit Hilfe des χ^2 -Tests ermittelt. Das ermittelte Signifikanzniveau wurde anhand des P-Werts dargestellt, wobei von einem statistisch signifikanten Befund bei einem $P < 0,05$ ausgegangen wurde.

Die diagnostische Validität eines Tests kann mit Hilfe des positiv-prädiktiven Wertes (PPW) bzw. des negativ-prädiktiven Wertes (NPW) erfolgen.

Im Falle dieser Arbeit wurden die Ergebnisse der MRSA-Routinekultur als „Goldstandard“ für die anderen Analysetechniken angesehen und daher die Ergebnisse der anderen Analyseverfahren hierauf bezogen (**Tabelle 3**).

Tabelle 3: Vergleichende Darstellung der Ergebnisse der MRSA-PCR in Bezug auf die MRSA-Routinekultur.

	MRSA-PCR	
MRSA-Routinekultur	Negativ	Positiv
Negativ	Richtig negativ (RN)	Falsch positiv (fp)
Positiv	Falsch negativ (fn)	Richtig positiv (RP)

Der PPW wurde als Anteil der richtig-positiven Untersuchungsergebnisse in Bezug auf alle positiven Untersuchungsergebnisse ermittelt.

$$PPW = \frac{RP}{RP + fp}$$

Am Beispiel des Vergleichs der MRSA-PCR mit der MRSA-Routinekultur beschrieben, gibt der PPW an, wie hoch der Anteil der in MRSA-PCR und MRSA-Routinekultur gemeinsam positiven Testergebnisse an allen in der MRSA-PCR positiven Teste war – anders ausgedrückt, wie viel Prozent der positiven MRSA-PCR-Ergebnisse sich in der MRSA-Routinekultur bestätigen ließen.

Der NPW wurde als Anteil der richtig-negativen Untersuchungsergebnisse in Bezug auf alle negativen Untersuchungsergebnisse ermittelt.

$$NPW = \frac{RN}{RN + fn}$$

Am Beispiel des Vergleichs der MRSA-PCR mit der MRSA-Routinekultur beschrieben, gibt der NPW an, wie hoch der Anteil der in MRSA-PCR und MRSA-Routinekultur gemeinsam negativen Testergebnisse an allen in der MRSA-PCR negativen Teste war – anders ausgedrückt,

wie viel Prozent der negativen MRSA-PCR-Ergebnisse sich in der MRSA-Routinekultur bestätigen ließen.

Für die statistische Auswertung wurde Stata 10.1 (Texas, USA) verwendet.

3. Ergebnisse

3.1. Demographische Charakterisierung der Studienkohorte

In die Studie wurden im Untersuchungszeitraum von 9/2016 bis 12/2016 insgesamt 1.689 Patienten eingeschlossen, wobei der Einschluss Patienten umfasste, die in der Rettungsstelle des ukb routinemäßig für das MRSA-Eingangsscreening vorgesehen waren.

In den einzelnen Untersuchungsabschnitten waren dies zwischen 14.9.-12.10.2016 insgesamt 553 mit Doppeltupfern abgestrichene Patienten. Der Abstrich mit ESwab bzw. MSwab erfolgte in den Zeiträumen 24.10.-11.11.2016 und 14.11.-4.12.2016 an 569 bzw. 567 Patienten.

In der Doppeltupfer-Gruppe war der Anteil an Männern mit 60% signifikant höher als in der ESwab- (54%) und der MSwab-Gruppe (54%) (P-Wert für beide Vergleiche: <0,05). Die Altersverteilung war in allen drei Gruppen mit einem medianen Alter von 70 Jahren (Doppeltupfer), 72 Jahren (ESwab) und 72 Jahren (MSwab) vergleichbar (**Tabelle 4**).

Tabelle 4: Charakteristika der untersuchten Patientengruppen

	Gesamt	Doppeltupfer	ESwab	MSwab
Männlich, Anteil	56%	60%	54%	54%
Alter, Median (IQR)	71 (57-81)	70 (53-81)	72 (57-81)	72 (58-81)
Patientenzahl	1.689	553	569	567
Anzahl abgestrichener Lokalisationsgruppen, N				
1	16	9	7	0
2	1.661	539	556	566
3	10	5	4	1
4	2	0	2	0

In der Rettungsstelle des ukb erfolgen bei MRSA-Risikopatienten routinemäßig 2 Abstriche, die in der Regel Nase/Rachen und Leiste/Perineum umfassen. Teilweise wird von dieser Vorgehensweise abgewichen, und es werden dann Lokalisationen dieser Paare einzeln abgestrichen. In einzelnen Fällen werden außerdem weitere Abstrichlokalisationen einbezogen. Dies war in 179 Fällen auch im Studienzeitraum der Fall, wobei als Sonderlokalisationen

hauptsächlich Wunden, PEG-Sonden, Dauerkatheter und Kombinationen hiervon in die Untersuchungen eingeschlossen wurden.

Auch in der Verteilung der mit zusätzlichen Sonderlokalisationen eingeschlossenen Fälle bestand eine Ungleichverteilung zwischen den Untersuchungszeiträumen. In der Doppeltupfer-Gruppe war diese Zahl mit 38 Fällen (6,9%) signifikant niedriger als in der ESwab- (77 Fälle, 13,5%; P=0,0002) und der MSwab-Gruppe (64 Fälle, 11,3%; P=0,01).

3.2. Molekulargenetische MRSA-Diagnostik in Abhängigkeit vom Abstrichmedium

Über den gesamten Studienzeitraum wurden mit dem Infinity in der Routine-MRSA-PCR 97 (5,8%) von 1.679 Patienten mit validem Testergebnis als MRSA-PCR-positiv klassifiziert. Die Häufigkeit MRSA-PCR-positiver Patienten in den drei Untersuchungsabschnitten mit dem Infinity war mit 33 von 546 (6,0%) für die Doppeltupfer, 35 von 566 (6,2%) für die ESwab und 29 von 567 (5,1%) für die MSwab ungefähr gleich verteilt (**Tabellen 5 und 6**).

Die in **Tabelle 5** dargestellten Zahlen beziehen die Zahl der MRSA-PCR-positiven Patienten auf alle untersuchten, d.h. auch derjenigen mit einem invaliden Testergebnis, wohingegen in **Tabelle 6** lediglich die validen Testergebnisse berücksichtigt wurden.

Tabelle 5: Untersuchungsergebnisse der MRSA-PCR in Abhängigkeit vom Abstrichmedium. Dargestellt sind die Ergebnisse der *Einzeluntersuchungen* und nicht die Zahl der mit dem System als MRSA-positiv oder -negativ Klassifizierten.

	Gesamt	Doppeltupfer	ESwab	MSwab
MRSA-PCR (Infinity), N (%)				
Negativ	1.582	513	531	538
Positiv	97 (5,7%)	33 (6,0%)	35 (6,2%)	29 (5,1%)
Invalide	10 (0,6%)	7 (1,3%)	3 (0,5%)	0
MRSA-PCR (cobas 4800), N (%)				
Negativ	3.158	1.047	1.057	1.054
Positiv	177 (5,3%)	54 (4,9%)	60 (5,4%)	63 (5,6%)
MRSA-PCR (BDmax), N (%)				
Negativ	2.141	./.	1.069	1.072
Positiv	133 (5,9%)	./.	70 (6,2%)	63 (5,6%)

Während bei einer Betrachtung der isolierten Analyseergebnisse (**Tabelle 5**), d.h. beim Vergleich der MRSA-PCR-Ergebnisse im Pool (Infinity) sowie in den einzelnen Ansätze am cobas 4800 und dem BD MAX, keine wesentlichen Unterschiede in Hinblick auf die Anzahl positiver Testergebnisse feststellbar waren, zeigten sich beim Vergleich der Anzahl der mit diesen Methoden als MRSA-positiv Klassifizierten voneinander abweichende Ergebnisse (**Tabelle 6**).

Tabelle 6: *Patientenbezogene* Darstellung der MRSA-PCR Ergebnisse mit unterschiedlichen Testsystemen in Abhängigkeit vom Abstrichmedium.

	Gesamt	Doppeltupfer	ESwab	MSwab
MRSA-PCR (Infinity), N (%)				
Negativ	1.582	513	531	538
Positiv	97 (5,8%)	33 (6,0%)	35 (6,2%)	29 (5,1%)
MRSA-PCR (cobas 4800), N (%)				
Negativ	1.564	515	525	524
Positiv	124 (7,4%)	38 (6,9%)	44 (7,7%)	42 (7,4%)
MRSA-PCR (BDmax), N (%)				
Negativ	1.039	./.	517	522
Positiv	97 (8,5%)	./.	52 (9,1%)	45 (7,9%)

Betrachtet man die Untersuchungsergebnisse des cobas 4800, so lag der Anteil der mit dieser Methodik insgesamt als MRSA-positiv klassifizierten Patienten bei 7,4% (124 von 1.688). Dieser Unterschied im Vergleich zur Infinity-Untersuchung verfehlte ein statistisch signifikantes Niveau nur knapp ($P=0,07$).

In den einzelnen Untersuchungszeiträumen war die Zahl der mit der cobas-PCR MRSA-positiv klassifizierten Patienten mit 6,9% (Doppeltupfer), 7,7% (ESwab) und 7,4% (MSwab) durchweg höher als bei der gepoolten Analytik mit dem Infinity-System.

Noch ausgeprägter war dieses Phänomen mit dem BD MAX, der allerdings nur mit ESwab und MSwab untersucht wurde. Hierbei lag der Anteil der MRSA-positiv Klassifizierten bei 8,5% (insgesamt: 97 von 1136; ESwab: 9,1%, MSwab: 7,9%) und somit signifikant höher verglichen mit den Ergebnissen des Infinity ($P<0,005$).

3.3. Einfluss des Abstrichmediums auf den Anteil invalider Ergebnisse in der MRSA-PCR

In der MRSA-PCR kommt es in seltenen Fällen zu technischen Problemen, die eine Auswertung unmöglich machen. Hieraus resultiert ein logistischer Mehraufwand, da – zumindest bei Verwendung von Doppeltupfern – ein erneuter Abstrich beim Patienten notwendig ist.

Die Häufigkeit invalider Testergebnisse in Abhängigkeit von den verwendeten Abstrichmedien ist in **Tabelle 5** für die MRSA-PCR auf dem Infinity dargestellt. Die Analytik mit den beiden anderen Testsystemen (cobas 4800, BD MAX) wurde extern durchgeführt, und die Erfassung und Dokumentation technischer Probleme erfolgte in diesen Fällen uneinheitlich, so dass eine Betrachtung des Einflusses der unterschiedlichen Abstrichmedien auf diese beiden Analysesysteme nicht möglich war.

Im Gesamtkollektiv unserer Untersuchung kamen invalide Testergebnisse beim Infinity in 10 Fällen vor (0,6% aller PCR-Untersuchungen). Sieben von diesen invaliden Testergebnissen traten in der Phase der Untersuchungen mit Doppeltupfern auf (1,3% der entsprechenden PCR-Untersuchungen) wohingegen diese Problematik bei Verwendung von ESwab mit 3 invaliden Testen (0,5%) tendenziell ($P=0,19$) und bei Verwendung von MSwab mit keinem invaliden Test signifikant seltener auftrat ($P=0,007$). Im χ^2 -Test zeigte sich eine statistisch nicht signifikante Tendenz für eine Überlegenheit der MSwab gegenüber den ESwab in Hinblick auf die Häufigkeit invalider Tests ($P=0,08$).

3.4. Kultur-basierte MRSA-Diagnostik in Abhängigkeit vom Abstrichmedium

Mit Hilfe der für das ukb routinemäßig verwendeten kulturellen MRSA-Diagnostik wurden im gesamten Studienzeitraum 59 von 1.689 Patienten (3,5%) als MRSA-positiv identifiziert (**Tabelle 7**).

Da die Wahl des für die kulturelle Diagnostik verwendeten Abstrichsystems einen Einfluss auf das Ergebnis der kulturellen MRSA-Diagnostik haben könnte, wurden die Untersuchungsergebnisse der 3 Untersuchungsperioden, in denen Doppeltupfer, ESwab oder MSwab verwendet wurden, miteinander verglichen.

Bei dieser getrennten Betrachtung zeigte der Anteil kulturell als MRSA-positiv diagnostizierter Patienten in den drei Untersuchungsabschnitten interessanterweise relativ deutliche Unterschiede. So fiel dieser mit dem routinemäßig durchgeführten Kultur-basierten Verfahren in

der MSwab-Gruppe mit 2,3% signifikant niedriger aus als in der ESwab-Gruppe (4,6%) ($P < 0,04$) und war auch im Vergleich zur Verwendung von Doppeltupfern (3,6%) tendenziell niedriger ($P = 0,19$) (**Tabelle 7**).

Tabelle 7: Darstellung der *patientenbezogenen* Ergebnisse der kulturellen MRSA-Diagnostik mit unterschiedlichen Testsystemen in Abhängigkeit vom Abstrichmedium.

	Gesamt	Doppeltupfer	ESwab	MSwab
MRSA-Routinekultur, N (%)				
Negativ	1.630	533	543	554
Positiv	59 (3,5%)	20 (3,6%)	26 (4,6%)	13 (2,3%)
MRSA-Kultur (BI-PLATE 24h), N (%)				
Negativ	1.643	538	548	557
Positiv	46 (2,7%)	15 (2,7%)	21 (3,7%)	10 (1,8%)
MRSA-Kultur (BI-PLATE 48h), N (%)				
Negativ	1.631	535	542	554
Positiv	58 (3,4%)	18 (3,3%)	27 (4,8%)	13 (2,3%)

Auch bei einer Betrachtung der Untersuchungsergebnisse der isolierten Abstriche bestätigte sich dieses Bild. Von allen 3.376 Abstrichen im gesamten Untersuchungszeitraum waren 79 (2,3%) in der kulturellen MRSA-Analytik positiv. Unter Verwendung von MSwab war der Anteil MRSA-positiver Abstriche mit 1,7% (19 von 1.135) niedriger als bei Verwendung von Doppeltupfern (2,6%, 29 von 1.102) oder ESwab (2,7%, 31 von 1.139), wobei ein statistisches Signifikanzniveau von $P < 0,05$ jeweils knapp verfehlt wurde (MSwab vs. Doppeltupfer, $P < 0,12$; MSwab vs. ESwab, $P < 0,09$).

Zusätzlich zu unserem routinemäßig verwendeten kulturellen MRSA-Diagnostikverfahren wurde diese Diagnostik auch mit dem BI-PLATE System mit Ablesungen nach 24h bzw. 48h vorgenommen. Die Zahl der MRSA-positiv klassifizierten Patienten war auch mit diesem Untersuchungsverfahren unter Verwendung der MSwab niedriger als mit Doppeltupfern oder ESwab (**Tabelle 7**). Statistisch signifikant waren diese Unterschiede für den Vergleich von MSwab und ESwab sowohl nach 24h ($P < 0,05$) als auch nach 48h ($P < 0,03$).

3.5. Vergleich molekulargenetischer und Kultur-basierter MRSA-Diagnostikverfahren in Abhängigkeit vom Abstrichsystem

Vergleicht man die in den **Tabellen 6 und 7** aufgeführten MRSA-Frequenzen der einzelnen Untersuchungsabschnitte, so fällt auf, dass die Häufigkeit der auf Grundlage molekulargenetischer Untersuchungsergebnisse als MRSA-positiv klassifizierten Patienten durchweg deutlich höher ausfiel als unter Verwendung von Kultur-basierten Verfahren.

Eine direkte Gegenüberstellung der molekulargenetischen und der Kultur-basierten Untersuchungsergebnisse sowie statistische Vergleiche sind in **Tabelle 8** aufgeführt.

Sowohl in der Doppeltupfer- als auch in der MSwab-Gruppe war die mit der MRSA-PCR (Infinity) ermittelte MRSA-Prävalenz deutlich höher als mit den eingesetzten kulturellen MRSA-Verfahren. Dieser Unterschied verfehlte lediglich in der Doppeltupfer-Gruppe beim Vergleich von Infinity und MRSA-Routinekultur ein statistisches Signifikanzniveau von $P < 0,05$ knapp. Besonders stark ausgeprägt war der Unterschied zwischen MRSA-PCR und -Kultur unter Verwendung der MSwab (5,1% (Infinity) vs. 2,3% (Routinekultur) / 1,8% (BI-PLATE 24h) / 2,3% (BI-PLATE 48h)).

Tabelle 8: Häufigkeiten von als *MRSA-positiv Klassifizierten* in Abhängigkeit von Untersuchungstechnik und Abstrichmedium. Vergleich der Kultur-basierten Ergebnisse mit der MRSA-PCR (Infinity).

	Routinekultur	BI-PLATE 24h	BI-PLATE 48h	Infinity
	$N_{\text{MRSA+}}/N_{\text{gesamt}}$ (%)	$N_{\text{MRSA+}}/N_{\text{gesamt}}$ (%)	$N_{\text{MRSA+}}/N_{\text{gesamt}}$ (%)	$N_{\text{MRSA+}}/N_{\text{gesamt}}$ (%)
	<i>P-Wert vs. Infinity</i>	<i>P-Wert vs. Infinity</i>	<i>P-Wert vs. Infinity</i>	
Gesamt	59/1.689 (3,5%) <i>P < 0,002</i>	46/1.689 (2,7%) <i>P < 0,0001</i>	58/1.689 (3,4%) <i>P = 0,001</i>	97/1.679 (5,8%)
Doppeltupfer	20/553 (3,6%) <i>P = 0,06</i>	15/553 (2,7%) <i>P < 0,007</i>	18/553 (3,3%) <i>P < 0,03</i>	33/546 (6,0%)
ESwab	26/569 (4,6%) <i>P = 0,23</i>	21/569 (3,7%) <i>P = 0,053</i>	27/569 (4,8%) <i>P = 0,29</i>	35/566 (6,2%)
MSwab	13/567 (2,3%) <i>P = 0,01</i>	10/557 (1,8%) <i>P < 0,003</i>	13/567 (2,3%) <i>P < 0,02</i>	29/567 (5,1%)

Demgegenüber wich bei Verwendung der ESwab die MRSA-Prävalenz ermittelt mit der MRSA-PCR (Infinity) nur geringfügig und statistisch nicht signifikant von den Ergebnissen der verschiedenen kulturellen MRSA-Diagnoseverfahren ab.

Auffällig war in dieser Zusammenschau außerdem, dass sowohl mit dem Routinekulturverfahren als auch mit dem BI-PLATE System die Häufigkeit MRSA-positiver Patienten in der ESwab-Gruppe deutlich höher war als in der MSwab- und in der Doppeltupfer-Gruppe. Dieser Unterschied war im Vergleich ESwab vs. MSwab signifikant (Routinekultur (4,6% vs. 2,3%): $P < 0,04$, BI-PLATE 24h (3,7% vs. 1,8%): $P < 0,05$, BI-PLATE 48h (4,8% vs. 2,3%): $P < 0,03$). Demgegenüber unterschieden sich die mit der MRSA-PCR ermittelten Zahlen MRSA-positiver Patienten in den 3 Untersuchungszeiträumen, d.h. unter Verwendung der verschiedenen Abstrichmedien, nicht wesentlich voneinander (Doppeltupfer: 6,0%, ESwab: 6,2%, MSwab: 5,1%).

3.6. Vergleichende Betrachtung der molekulargenetischen und der kulturellen MRSA-Diagnostik

Die möglichen Einflussfaktoren der MRSA-Diagnostik mit molekulargenetischen Techniken unterscheiden sich grundsätzlich von denen der kulturellen Untersuchungsverfahren. Insofern ist eine vergleichende Betrachtung der diagnostischen Validität der molekulargenetischen Untersuchungsergebnisse in Bezug auf das kulturelle Referenzverfahren von Interesse, welche die mögliche Abhängigkeit vom verwendeten Abstrichmedium mit einschließt.

Die entsprechenden Vergleiche sind in **Tabelle 9** gegenübergestellt.

In Bezug auf die kulturelle Referenzmethode für die MRSA-Diagnostik zeigte die MRSA-PCR (Infinity) über den gesamten Untersuchungszeitraum einen sehr hohen negativ-prädiktiven Wert. Lediglich 0,4% der Patienten wurden durch ein negatives Ergebnis in der MRSA-PCR fälschlicherweise als MRSA-negativ klassifiziert, obwohl in mindestens einem Abstrich in der Kultur MRSA nachweisbar war.

Im Vergleich der verschiedenen Abstrichsysteme war der Anteil falsch-negativer Befunde unter Verwendung der ESwab am höchsten (0,7%). Verglichen mit den entsprechenden Anteilen bei Doppeltupfern (0,2%) bzw. MSwab (0,2%) stellte dieser Unterschied allerdings lediglich eine Tendenz dar, die ein statistisches Signifikanzniveau verfehlte ($P = 0,19$ bzw. $P = 0,17$).

Der positiv-prädiktive Wert der MRSA-PCR fiel erwartungsgemäß gering aus (bezogen auf Routinekultur (gesamt): 53,6%).

Auch hier zeigten sich Unterschiede mit den verschiedenen Abstrichsystemen. So war der positiv-prädiktive Wert der MRSA-PCR unter Verwendung von ESwab (62,9%) höher als im Zeitraum der Abstriche mit Doppeltupfern (54,5%) bzw. MSwab (41,4%). Auch bei diesem Vergleich waren die Unterschiede statistisch lediglich nicht signifikante Tendenzen (ESwab vs. Doppeltupfer: P=0,49, ESwab vs. MSwab: P=0,09).

Tabelle 9: Darstellung der *patientenbezogenen* Ergebnisse der kulturellen MRSA-Diagnostik im Vergleich zur MRSA-PCR (Infinity) in Abhängigkeit vom Abstrichmedium. NPW: Negativ-prädiktiver Wert (grün), PPW: Positiv-prädiktiver Wert (rot) jeweils fett in Klammern.

	MRSA-PCR (Infinity), N							
	Gesamt		Doppeltupfer		ESwab		MSwab	
	Negativ	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ	Positiv
Routinekultur								
Negativ	1.576 (99,6%)	45 (46,4%)	512 (99,8%)	15 (45,5%)	527 (99,3%)	13 (37,1%)	537 (99,8%)	17 (58,6%)
Positiv	6 (0,4%)	52 (53,6%)	1 (0,2%)	18 (54,5%)	4 (0,7%)	22 (62,9%)	1 (0,2%)	12 (41,4%)
BI-PLATE 24h								
Negativ	1.579 (99,8%)	54 (55,7%)	512 (99,8%)	19 (57,6%)	529 (99,6%)	16 (45,7%)	538 (100%)	19 (65,5%)
Positiv	3 (0,2%)	43 (44,3%)	1 (0,2%)	14 (42,6%)	2 (0,4%)	19 (54,3%)	0	10 (34,5%)
BI-PLATE 48h								
Negativ	1.571 (99,3%)	50 (51,6%)	511 (99,6%)	17 (51,5%)	523 (98,5%)	16 (45,7%)	537 (99,8%)	17 (58,6%)
Positiv	11 (0,7%)	47 (48,4%)	2 (0,4%)	16 (48,5%)	8 (1,5%)	19 (54,3%)	1 (0,2%)	12 (41,4%)

Auch im Vergleich der MRSA-PCR mit den kulturellen BI-PLATE Untersuchungen spiegelte sich das Bild mit einem geringeren negativ-prädiktiven und einem höheren positiv-prädiktiven

Wert der MRSA-PCR mit ESwab im Vergleich zu den beiden anderen Abstrichmedien erneut wider. Im BI-PLATE (48h) war der Anteil falsch-negativer Klassifizierungen mit dem ESwab-Abstrich mit 1,5% signifikant höher als im Vergleich zum Untersuchungszeitraum der MSwab-Abstriche (0,2%, $P < 0,02$). Dieser Unterschied zeigte sich ebenfalls als Tendenz im Vergleich zu der mit Doppeltupfern abgestrichenen Gruppe (0,4%, $P = 0,06$).

Die MRSA-Diagnostik mit Hilfe des cobas 4800 wurde am nicht gepoolten Material durchgeführt, so dass eine direkte Gegenüberstellung der Ergebnisse in PCR und Kultur für jeden Abstrich möglich war (**Tabelle 10**).

Tabelle 10: Darstellung der Ergebnisse der kulturellen MRSA-Diagnostik im Vergleich zur MRSA-PCR (cobas 4800) in Abhängigkeit vom Abstrichmedium. NPW: Negativ-prädiktiver Wert (grün), PPW: Positiv-prädiktiver Wert (rot) jeweils fett in Klammern.

	MRSA-PCR (cobas 4800), N							
	Gesamt		Doppeltupfer		ESwab		MSwab	
	Negativ	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ	Positiv
Routinekultur								
Negativ	3.150 (99,8%)	107 (60,5%)	1.044 (99,7%)	28 (51,9%)	1.052 (99,5%)	35 (58,3%)	1.054 (100%)	44 (69,8%)
Positiv	8 (0,2%)	70 (39,5%)	3 (0,3%)	26 (48,1%)	5 (0,5%)	25 (41,7%)	0	19 (30,2%)

Auch hier zeigte sich der sehr hohe negativ-prädiktive Wert der MRSA-PCR (99,8%). Der Anteil falsch-negativer Befunde der MRSA-PCR (cobas 4800) war beim MSwab (0 von 1.054) im Vergleich zum ESwab signifikant (5 von 1.057, $P < 0,03$) und im Vergleich mit Doppeltupfern tendenziell (3 von 1.047, $P < 0,09$) niedriger.

Für die MRSA-PCR mit Hilfe des BD MAX war lediglich ein Vergleich zwischen ESwab und MSwab möglich (**Tabelle 11**).

Die grundsätzlichen Testcharakteristika der MRSA-PCR mit einem hohen negativ-prädiktiven und einem niedrigen positiv-prädiktiven Wert zeigten sich auch bei den Untersuchungen mit dem BD MAX. Auch in dieser Untersuchung war bei Verwendung von MSwab im Vergleich zu

ESwab der Anteil der falsch-negativen Befunde niedriger (P=0,1) und der Anteil falsch-positiver Befunde höher (P=0,29).

Tabelle 11: Darstellung der Ergebnisse der kulturellen MRSA-Diagnostik im Vergleich zur MRSA-PCR (BD MAX) in Abhängigkeit vom Abstrichmedium. NPW: Negativ-prädiktiver Wert (grün), PPW: Positiv-prädiktiver Wert (rot) jeweils fett in Klammern.

	MRSA-PCR (BD MAX), N							
	Gesamt		Doppeltupfer		ESwab		MSwab	
	Negativ	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ	Positiv
Routinekultur								
Negativ	2.135 (99,7%)	89 (66,9%)	./.	./.	1.064 (99,5%)	44 (62,9%)	1.071 (99,9%)	45 (71,4%)
Positiv	6 (0,3%)	44 (33,1%)	./.	./.	5 (0,5%)	26 (37,1%)	1 (0,1%)	18 (28,6%)

3.7. MRSA-Diagnostik in Abhängigkeit von der Abstrichlokalisierung

In den „Empfehlungen zur Prävention und Kontrolle von MRSA-Stämmen in Krankenhäusern und anderen medizinischen Einrichtungen“ von KRINKO und RKI (2008) werden als reguläre Abstrichlokalisationen Nase und Rachen sowie vorhandene Wunden genannt. Abstriche an Leiste und Perineum sind nicht explizit für das regelmäßige MRSA-Eingangsscreening gefordert. Insofern ist ein Vergleich der MRSA-Untersuchungsergebnisse in Abhängigkeit von der abgestrichenen Lokalisation von Interesse (**Diagramm 1**).

In unserer Studie war eine Differenzierung der MRSA-Ergebnisse lediglich für die kulturellen Untersuchungsverfahren sowie für die MRSA-PCR mit cobas 4800 und BD MAX möglich, da die routinemäßig im ukb durchgeführte MRSA-PCR (Infinity) an gepooltem Material erfolgt.

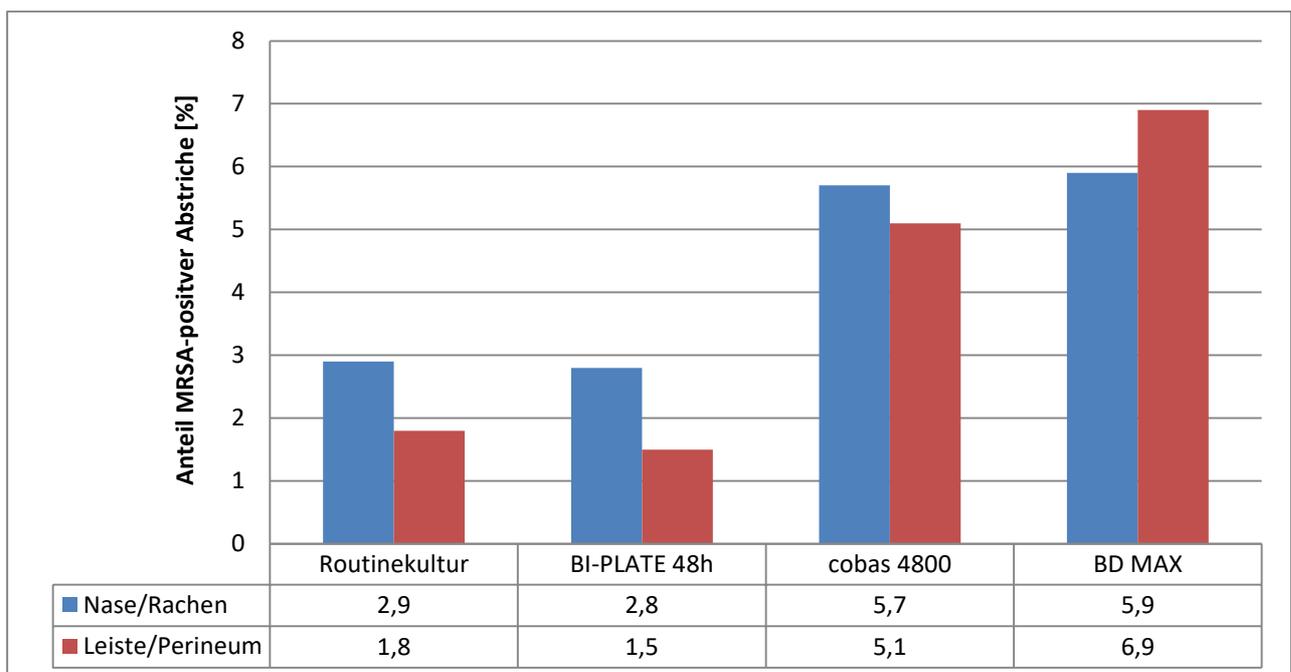
Auch in der nach Abstrichlokalisationen differenzierten Darstellung zeigte sich das in den vorigen Abschnitten beschriebene Phänomen, dass die Häufigkeit MRSA-positiver Befunde mit den molekulargenetischen Testverfahren deutlich höher war als mit den kulturellen.

Für den Vergleich der PCR-Ergebnisse (cobas 4800) mit den Ergebnissen der Routinekultur war dieser Unterschied für Nase/Rachen (93 von 1.639 (5,7%) vs. 48 von 1.664 (2,9%), P=0,0001)

und Leiste/Perineum (63 von 1.233 (5,1%) vs. 22 von 1.245 (1,8%), $P < 0,0001$) hochsignifikant. Vergleichbare Unterschiede zeigten sich auch unter Einbeziehung von Ergebnissen von BI-PLATE und BD MAX.

Im kulturellen MRSA-Nachweisverfahren waren Nasen/Rachen-Abstriche häufiger MRSA-positiv als Abstriche von Leiste/Perineum (Routinekultur: 48 von 1.664 (2,9%) vs. 22 von 1.245 (1,8%), $P = 0,052$, BI-PLATE 48h: 46 von 1.664 (2,8%) vs. 19 von 1.245 (1,5%), $P < 0,03$). Überraschenderweise war bei den molekulargenetischen Untersuchungstechniken ein Unterschied zwischen diesen beiden Abstrichregionen in einer vergleichbaren Größenordnung nicht feststellbar (cobas 4800: $P = 0,51$, BD MAX: $P = 0,35$) (**Diagramm 1**).

Diagramm 1: Ergebnisse der MRSA-Diagnostik in Abhängigkeit von der Abstrichlokalisation. Dargestellt sind die Ergebnisse des gesamten Untersuchungszeitraums.

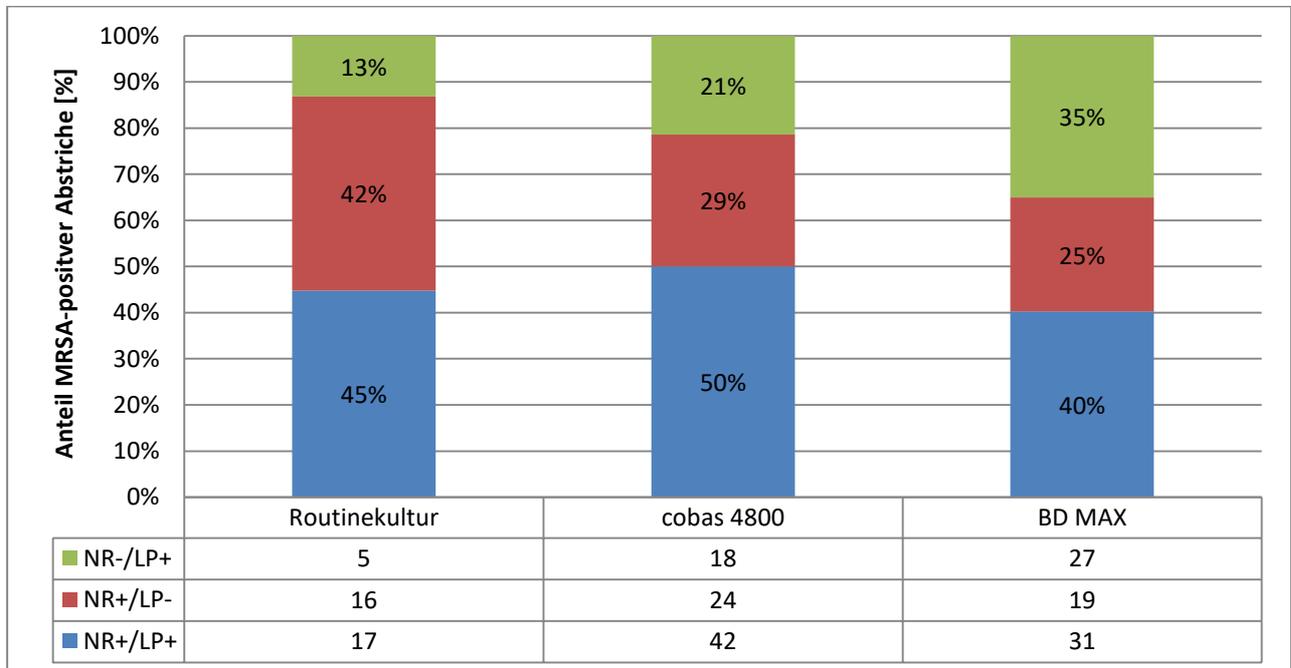


Ob das Abstreichen von Leiste/Perineum zusätzlich zum Abstrich an Nase/Rachen einen diagnostischen Vorteil hat, wurde im nächsten Schritt untersucht.

Für eine Beurteilung, wie viele MRSA-positive Patienten beim Verzicht auf Leiste/Perineum-Abstriche nicht identifiziert worden wären, wurde gegenübergestellt, wie häufig Abstriche an Nase/Rachen bzw. Leiste/Perineum bei MRSA-positiv Klassifizierten positiv bzw. negativ waren (**Diagramm 2**).

Hierbei wurden die einzelnen Analysetechniken separat dargestellt und nur solche Patienten in der Betrachtung berücksichtigt, bei denen Nase/Rachen- und Leiste/Perineum-Abstriche vorlagen, d.h. Patienten mit isolierten Abstrichen von Nase, Rachen, Leiste oder Perineum sind in der Darstellung nicht enthalten. Hierdurch reduziert sich die Zahl der MRSA-positiven Befunde im Vergleich zu den vorigen Abschnitten.

Diagramm 2: Ergebnisse der MRSA-Diagnostik in Abhängigkeit von der Abstrichlokalisation. Dargestellt ist der Ergebnisausfall der Untersuchungen von Nase/Rachen (NR)- und Leiste/Perineum (LP)-Abstrichen im Vergleich bei Patienten, bei denen NR- und LR-Abstriche vorlagen und mindestens einer davon MRSA-positiv war. Die unterschiedlichen MRSA-Befundkonstellationen sind grün (NR-/LP+), rot (NR+/LP-) und blau (NR+/LP+) dargestellt.



Von den insgesamt 79 in der Routinekultur MRSA-positiven Abstrichen erfolgten 38 in Paaren Nase/Rachen & Leiste/Perineum (entsprechend 76 Abstriche). Für die cobas 4800 bzw. BD MAX MRSA-PCR waren dies 84 Paare (entsprechend 168 Abstriche) bzw. 77 Paare (entsprechend 154 Abstriche).

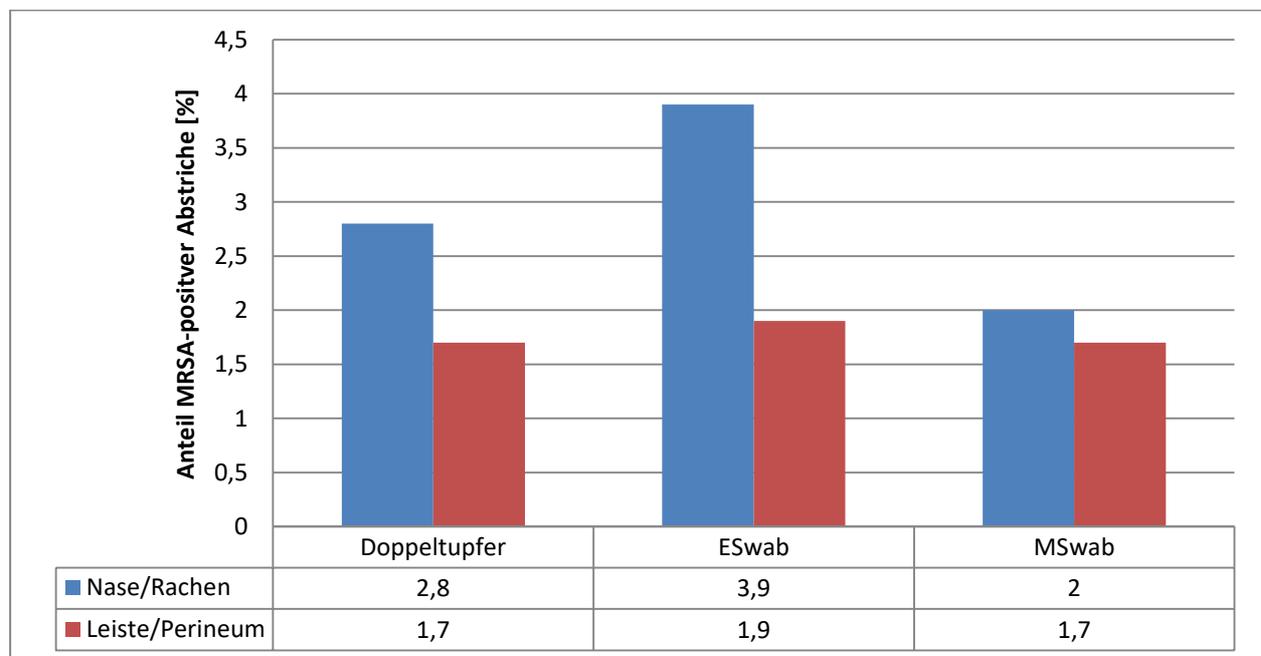
Ausgehend von den Patienten mit Abstriche an Nase/Rachen & Perineum/Leiste wurden in der Routinekultur allein von den Nase/Rachen-Abstrichen 87% aller MRSA-positiven erfasst, d.h. durch den Verzicht auf das Abstreichen von Perineum/Leiste wären 13% der MRSA-positiven Patienten nicht erfasst worden.

Geht man von den Zahlen der MRSA-PCR mit cobas 4800 bzw. BD MAX aus, wären 21% bzw. 35% der in dieser Technik MRSA-positiven Patienten bei Verzicht auf Perineum/Leisten-Abstriche übersehen worden.

3.8. MRSA-Diagnostik in Abhängigkeit von Abstrichlokalisation und Abstrichmedium

Wegen der unterschiedlichen Anteile MRSA-positiver Kulturbefunde zwischen Nase/Rachen einerseits und Leiste/Perineum andererseits wurden die entsprechenden Untersuchungsergebnisse nach den jeweils verwendeten Abstrichmedien untergliedert, ob eine Abhängigkeit von Letzteren besteht (**Diagramm 3**).

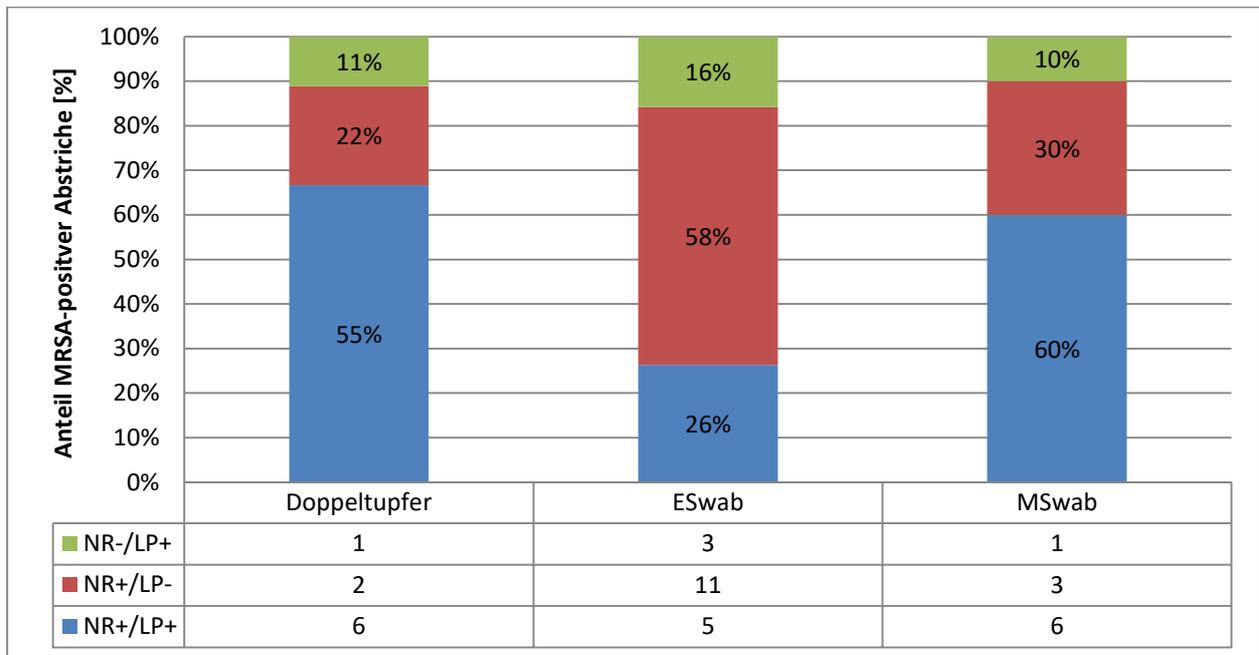
Diagramm 3: Ergebnisse der MRSA-Diagnostik (Routinekultur) in Abhängigkeit von Abstrichlokalisation und Abstrichmedium.



Der Anteil MRSA-positiver Abstriche an Leiste/Perineum war in der Routinekultur konstant niedrig und unabhängig von der Verwendung von Doppeltupfern (7 von 407 (1,7%)), ESwab (8 von 420 (1,9%) oder MSwab (7 von 418 (1,7%)). Bei den Abstrichen an Nase/Rachen waren MRSA-positive Befunde mit ESwab tendenziell häufiger (22 von 560 (3,9%)) als mit Doppeltupfern (15 von 541 (2,8%); $P=0,29$) oder mit MSwab (11 von 563 (2,0%), $P=0,0501$).

Dieser Befund spiegelt sich auch in der Darstellung wider, die den Ergebnisausfall von Nase/Rachen- und Leiste/Perineum-Abstrichen in Kombination angibt (**Diagramm 4**).

Diagramm 4: Ergebnisse der MRSA-Diagnostik (Routinekultur) in Abhängigkeit von Abstrichlokalisation und Abstrichmedium. Dargestellt ist der Ergebnisausfall der Untersuchungen von Nase/Rachen (NR)- und Leiste/Perineum (LP)-Abstrichen im Vergleich bei Patienten, bei denen NR- und LR-Abstriche vorlagen und mindestens einer davon MRSA-positiv war. Die unterschiedlichen MRSA-Befundkonstellationen sind grün (NR-/LP+), rot (NR+/LP-) und blau (NR+/LP+) dargestellt.



So war mit ESwab der Anteil der MRSA-positiven Patienten, die ausschließlich im Nase/Rachen-Abstrich positiv waren, mit 58% deutlich höher als bei Abstrichen mit Doppeltupfern (22%) und MSwab (30%). Die Aussagefähigkeit dieser Ergebnisse ist allerdings bei sehr kleiner Fallzahl nur begrenzt.

4. Diskussion

Die molekulargenetische MRSA-Analytik ist vor der Aufnahme von Patienten mit erhöhtem Risiko für eine MRSA-Besiedelung eine diagnostische Option, um zeitnah eine valide Identifizierung von MRSA-Patienten zu erreichen. Hiervon ausgehend können dann weitere Maßnahmen im Bereich Hygiene aber auch für den weiteren Behandlungsablauf abgeleitet werden (Köck 2013, Peters 2014, Peterson 2010).

Da für die Probennahme zur MRSA-Diagnostik unterschiedliche Abstrichmedien verfügbar sind, die sich in unterschiedlicher Weise für Verbesserungen im diagnostischen Ablauf eignen, war – wie bereits in der Einleitung beschrieben – Zielstellung der dieser Arbeit zugrunde liegenden Untersuchungen, die Beantwortung der folgenden Fragen:

- Welchen Einfluss hat das Abstrichmedium auf die Häufigkeit technisch invalider Untersuchungsergebnisse in der molekulargenetischen MRSA-Analytik?
- Gibt es Hinweise auf vom Abstrichmedium abhängige Unterschiede in der diagnostischen Validität der molekulargenetischen MRSA-Analytik bei Bezugnahme auf die kulturbasierte Analytik als Referenzmethode?
- Gibt es Hinweise auf einen Einfluss der Abstrichmedien auf die Ergebnisse der kulturbasierten MRSA-Analytik?

4.1. Gewählter Studienansatz

Die Fragestellungen dieser Arbeit ließen sich mit zwei grundsätzlich unterschiedlichen Ansätzen bearbeiten. Der in Hinblick auf die Vergleichbarkeit direkteste Weg wäre gewesen, bei allen eingeschlossenen Patienten die betreffenden Körperregionen mit allen in Frage stehenden Medien abzustreichen und alle Abstriche isoliert in die einzelnen Untersuchungsverfahren zu geben. Hiermit wäre gewährleistet gewesen, dass der MRSA-Status der einbezogenen Patienten für alle untersuchten Abstrichsysteme identisch gewesen wäre. Außerdem wäre eine bessere Vergleichbarkeit der einzelnen MRSA-PCR-Verfahren möglich gewesen, da mit allen Systemen PCR-Ergebnisse aller Einzelabstriche verfügbar gewesen wären.

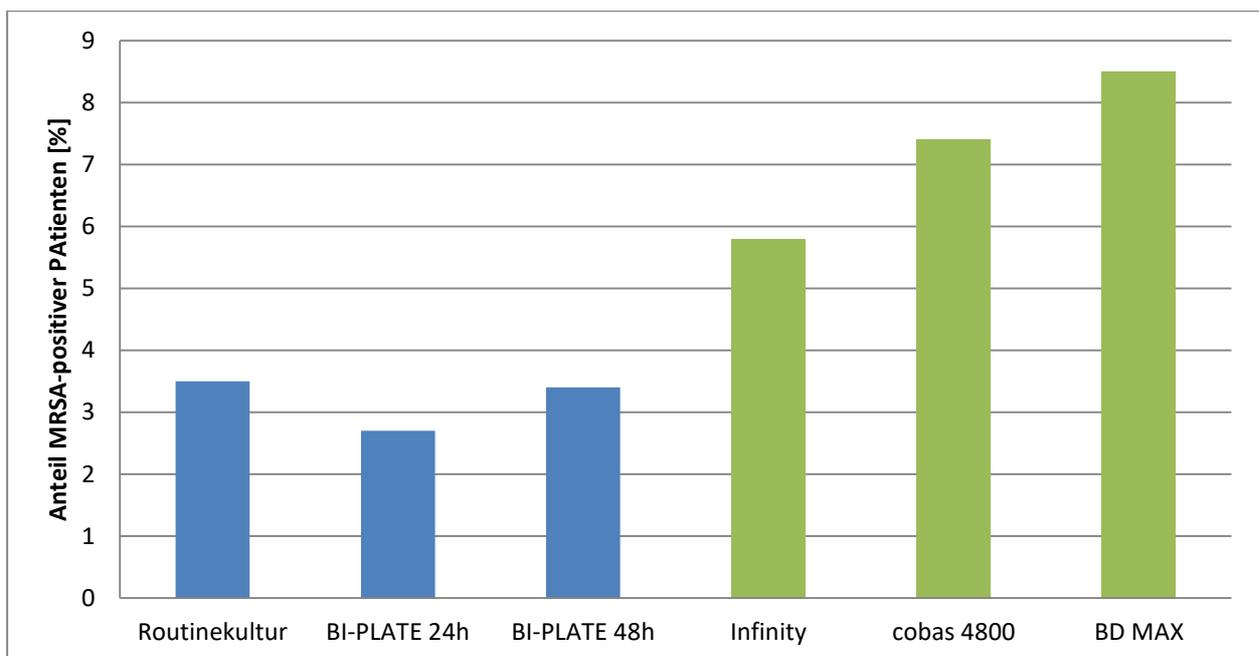
Anstelle dieses Ansatzes wurde bewusst ein anderes Vorgehen gewählt, in dem das molekulargenetische Routineverfahren mit einer gepoolten MRSA-PCR (Infinity) beibehalten wurde. Primär war diese Entscheidung darauf gestützt, dass die Routineabläufe für dieses

Diagnostiksegment so wenig wie möglich geändert werden sollten. Weiterhin spielte ein ökonomischer Aspekt eine Rolle, da sich durch den Verzicht auf das Material-Pooling die Kosten der MRSA-PCR (Infinity) ungefähr verdoppelt hätten. Aufgrund dieser Entscheidung war die MRSA-PCR (Infinity) lediglich mit gepooltem Material durchgeführt gegen die anderen PCR-Verfahren mit isoliert untersuchten Abstrichmaterialien zu vergleichen.

In der Auswertung wurde eine Vergleichbarkeit der Daten so hergestellt, dass die MRSA-PCR (Infinity) jeweils den patientenbezogenen Ergebnissen der anderen PCR-Verfahren gegenübergestellt wurden (**Tabelle 6**). Das patientenbezogene Ergebnis wurde dann als positiv gewertet, wenn mindestens einer der involvierten Abstriche MRSA-positiv war, ein patientenbezogen negativer Befund resultierte aus einem negativen MRSA-Nachweis für alle entsprechenden Abstriche.

Aufgrund des Poolings ist denkbar, dass durch einen möglichen Verdünnungseffekt der Anteil falsch-negativer Ergebnisse in der MRSA-PCR (Infinity) höher ausfiel. Diese Annahme findet eine gewisse Unterstützung in den ermittelten patientenbezogenen MRSA-Prävalenzen, die mit der MRSA-PCR (Infinity) mit 5,8% niedriger ausfiel als mit cobas 4800 bzw. BD MAX (7,4% bzw. 8,5%) (**Diagramm 5**).

Diagramm 5: Häufigkeit als MRSA-positiv klassifizierter Patienten in Abhängigkeit vom gewählten Untersuchungsverfahren. Die kulturellen Untersuchungsverfahren sind blau, die molekulargenetischen grün dargestellt.



Eine gewisse zusätzliche Unschärfe erhielt die Untersuchung dadurch, dass in die gepoolten Untersuchungen der MRSA-PCR (Infinity) die abgestrichenen Sonderlokalisationen mit einfließen, diese jedoch in der weitergehenden externen Studien-Diagnostik nicht berücksichtigt wurden. Auch wenn die Zahl der Fälle mit Sonderlokalisationen in den einzelnen Untersuchungsabschnitten niedrig war (Doppeltupfer: N=38, ESwab: N=77, MSwab: N=64), wird hierdurch die Vergleichbarkeit der einzelnen Studienergebnisse mit der Infinity-PCR eingeschränkt. Nimmt man an, dass die Wahrscheinlichkeit für einen MRSA-Nachweis an Sonderlokalisationen, wie Wunden oder Dauerkatheterm, höher ist als an den „Standardlokalisationen“, würde dies zu einer höheren MRSA-Prävalenz mit der MRSA-PCR (Infinity) führen.

Da ein Vergleich der verschiedenen MRSA-PCR-Techniken nicht Zielstellung der vorliegenden Arbeit war und darüber hinaus die Anzahl der Fälle mit Sonderlokalisationen niedrig war, ist die nur beschränkte Vergleichbarkeit der gepoolten MRSA-PCR (Infinity) mit den anderen Verfahren nur von untergeordneter Bedeutung. Bei der Interpretation der diagnostischen Validität der PCR bezogen auf die Kulturverfahren (**Tabelle 9**), die weiter unten diskutiert wird, sollte dieser Umstand jedoch beachtet werden.

Weiterhin wurde die Studie in 3 Untersuchungsperioden aufgeteilt, in denen die Abstriche mit Doppeltupfern, ESwab bzw. MSwab vorgenommen wurden. Dieser Entscheidung lag im Wesentlichen die Überlegung zugrunde, dass das Abstreichen eines Patienten mit 3 unterschiedlichen Abstrichsystemen weder dem Patienten in der Aufnahmesituation noch dem durchführenden Personal im Routinebetrieb zumutbar gewesen wäre.

Aus analytischer Sicht spielte noch ein weiteres Argument für diese Entscheidung eine bedeutende Rolle. Beim Abstreichen von identischen Regionen mit 3 Abstrichtupfern ist recht wahrscheinlich, dass Qualität und Quantität des Materials beim ersten Abstrichsystem besser oder zumindest anders wären als bei den folgenden. Neben der naheliegenden Reduzierung von für den Abstrich erreichbarbarem Material, wäre auch eine Änderung der Qualität des Materials im Sinne einer veränderten Vitalität der entnommenen Erreger denkbar.

Eine derartige Überlegung wird durch die Zahlen, die in **Diagramm 1** wiedergegeben sind, tendenziell unterstützt:

Die Relation zwischen positivem MRSA-PCR-Ergebnis und positivem MRSA-Kulturergebnis lag bei Nase/Rachen-Abstrichen bei knapp 2,0, bei Abstrichen an Leiste/Perineum war sie mit 2,8 deutlich höher. Dieser Unterschied wäre einerseits mit einem höheren Anteil falsch-positiver Befunde in der MRSA-PCR bei Abstrichen an Leiste/Perineum im Vergleich zu Nase/Rachen-Abstrichen erklärbar. Eine mögliche Begründung hierfür könnte sein – allerdings nur unter der Annahme einer höheren Empfindlichkeit der PCR im Vergleich zur Kultur –, dass an Leiste/Perineum die erfassten MRSA quantitativ geringer waren als bei Abstrichen an Nase/Rachen und dass ein Nachweis in einigen Fällen daher nur durch die MRSA-PCR möglich war. Die Annahme einer tendenziell geringeren Keimzahl an Leiste/Perineum im Vergleich zu Nase/Rachen findet in der Literatur eine gewisse Unterstützung (**Lauderdale 2010**).

Eine ganz andere Sichtweise würde darin liegen, den Unterschied als Hinweis für mehr falsch-negative Ergebnisse der MRSA-Kultur bei Leiste/Perineum-Abstrichen zu deuten. So könnten bei Abstrichen an Leiste/Perineum ähnliche Mengen an MRSA wie bei Nase/Rachen-Abstrichen vorhanden gewesen sein, die allerdings in der erst genannten Lokalisationsgruppe eine geringere Vitalität und somit eine reduzierte Nachweisbarkeit in Kulturverfahren zur Folge gehabt haben könnten.

Insofern hätte eine Strategie mit dreifachem Abstreichen zwar einen Methodenvergleich bei jeweils identischem MRSA-Status zur Folge gehabt, durch das in der Abstrichserie sich verändernde Probenmaterial wäre jedoch eine im Routinebetrieb schwer zu kontrollierende mögliche Störgröße in die Untersuchung gebracht worden.

Der von uns gewählte Ansatz hat einige notwendige Voraussetzungen, die nach unserer Einschätzung jedoch erfüllt wurde. Eine Vergleichbarkeit der Zahlen aus den drei Untersuchungszeiträumen setzt voraus, dass eine ausreichend große Probenzahl je Zeitraum untersucht wird und dass die MRSA-Prävalenz der Patienten über die Zeit weitgehend konstant ist. Beide Bedingungen sind weitgehend erfüllt. Je Untersuchungszeitraum wurden mehr als 500 Patienten eingeschlossen. Aus den Auswertungen des Bereichs Hygiene des ukb ist bekannt, dass die Zahl der bei Aufnahme MRSA-positiven Patienten über die Jahre weitgehend konstant geblieben ist. Außerdem sind ausgeprägte Schwankungen der MRSA-Prävalenz über die immerhin einige Wochen dauernden Untersuchungsintervalle wenig wahrscheinlich.

4.2. Einfluss des Abstrichmediums auf den Anteil invalider Ergebnisse in der MRSA-PCR

Die verwendeten Doppeltupfer sowie die ESwab werden primär für kulturelle Untersuchungsverfahren verwendet, die MRSA-PCR (Infinity) ist allerdings für diese beiden Abstrichmedien gut untersucht und zertifiziert (**Yarbrough 2018**). Im Gegensatz hierzu wurden die MSwab für molekulargenetische Testverfahren optimiert und in erster Linie für dieses Einsatzgebiet entwickelt (**Hofmann 2014, Peters 2017**). Von daher wäre nicht überraschend, wenn sich in der Testperformance der MRSA-PCR Unterschiede zwischen diesen Untersuchungsmaterialien zeigen würden.

Wie in **Tabelle 5** dargestellt, war der Anteil invalider Testergebnisse im gesamten Untersuchungszeitraum mit ca. 1% relativ niedrig.

Auch wenn die absolute Zahl der invaliden Testergebnisse in den Untersuchungszeiträumen mit 7 von 553 (1,3%) für die Doppeltupfer, 3 von 569 für die ESwab (0,5%) und 0 von 567 für die MSwab sehr gering war, waren die Unterschiede zwischen MSwab und Doppeltupfer statistisch signifikant ($P=0,007$). Der Unterschied zwischen MSwab und ESwab einerseits und ESwab und Doppeltupfer andererseits zeigte statistisch lediglich eine Tendenz ($P=0,19$ bzw. $P=0,08$).

Aufgrund der niedrigen Zahl der invaliden Ergebnisse sind die festgestellten Unterschiede mit gewisser Vorsicht zu betrachten. Zum Einen könnten die Daten, die eine Überlegenheit der MSwab gegenüber den Doppeltupfern hinsichtlich der Invalid-Rate bei der MRSA-PCR nahelegen, trotz statistischer Signifikanz ein falsch-positives Ergebnis darstellen, zum Anderen ist die Probenzahl für eine sichere Erfassung von Unterschieden zwischen MSwab und ESwab bzw. von ESwab und Doppeltupfern möglicherweise zu gering, so dass Unterschiede zwischen MSwab und ESwab bzw. ESwab und Doppeltupfern in dieser Hinsicht nicht mit letzter Sicherheit ausgeschlossen werden können.

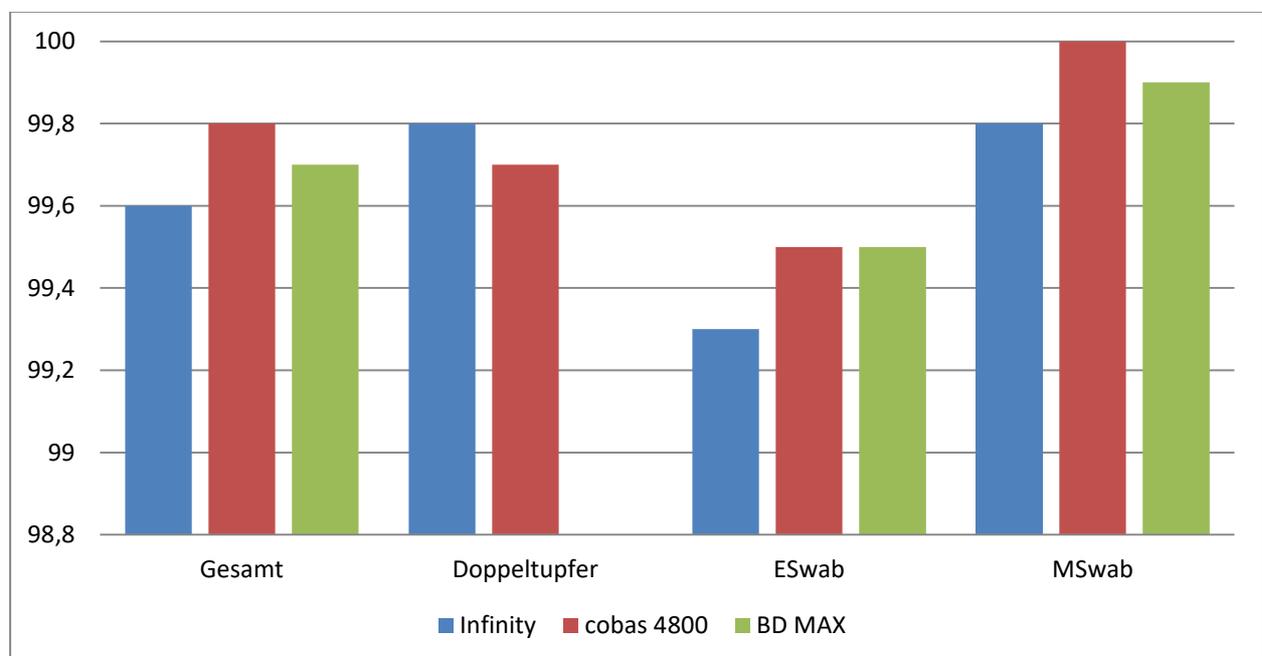
Allerdings würde sich eine Interpretation, dass MSwab den beiden anderen Abstrich-Systemen bei molekulargenetischen Testen überlegen sind, mit der Intention der Produktentwicklung decken (**Hofmann 2014, Peters 2017**).

4.3. Einfluss des Abstrichmediums auf die diagnostische Validität der MRSA-PCR in Bezug auf die MRSA-Routinekultur

Während die Häufigkeit nicht auswertbarer Analysen eher für die Arbeitsabläufe bedeutsam ist, ist der Einfluss von Änderungen am Abstrichsystem auf die Aussagekraft der Analytik von zentraler diagnostischer Relevanz.

Das Einsatzgebiet der MRSA-PCR besteht im Wesentlichen darin, einen sicheren Ausschluss einer MRSA-Besiedlung zu gewährleisten. Dieser Ansatz stützt sich auf den bekanntermaßen hohen negativ-prädiktiven Wert der MRSA-PCR (**Widen 2014, Peterson 2017, Yarbrough 2018**). Das bedeutet, dass ein negatives Ergebnis in der MRSA-PCR im Regelfall durch einen negativen Befund in der MRSA-Routinekultur bestätigt wird. Aufgrund einer in Bezug auf die Kultur nicht sehr hohen Spezifität und einer auch im selektierten Patientengut relativ niedrigen MRSA-Prävalenz ist der positiv-prädiktive Wert der MRSA-PCR jedoch gering (**Roisin 2012**). Positive MRSA-PCR-Befunde werden daher nicht selten von negativen Ergebnissen in der Kultur gefolgt und korrigiert.

Diagramm 6: Anteil richtig-negativer Befunde der MRSA-PCR in Bezug auf den routinemäßig durchgeführten kulturellen MRSA-Nachweis.



Im gesamten Untersuchungszeitraum war der negativ-prädiktive Wert der MRSA-PCR mit 99,6% sehr hoch (**Diagramm 6**), was mit der Literatur gut im Einklang steht (**Widen 2014,**

Peterson 2017, Yarbrough 2018) (Tabelle 9). Vergleicht man die entsprechenden Werte in den einzelnen Untersuchungsperioden, d.h. in Abhängigkeit vom verwendeten Abstrichsystem, so zeigten sich lediglich geringfügige, statistisch nicht signifikante Unterschiede (**Diagramm 6**).

Unter Verwendung von Doppeltupfern und MSwab lag der Anteil falsch-negativer Befunde in der MRSA-PCR bei jeweils 0,2%, was einem NPW von 99,8% entspricht. Im Zeitraum, in dem mit ESwab abgestrichen wurde, waren 0,7% falsch-negative Befunde (NPW: 99,3%) feststellbar. Diese Relation war sowohl beim Vergleich MRSA-PCR (Infinity) vs. MRSA-Routinekultur/BI-PLATE (**Tabelle 9**) als auch unter Berücksichtigung der anderen MRSA-PCR-Verfahren (**Tabellen 10 und 11**) weitgehend identisch nachweisbar (**Diagramm 6**).

Eine Interpretation dieser Befunde kann von zwei Seiten vorgenommen werden:

Einerseits ist denkbar, dass mit dem ESwab-System eine geringere Zahl von Erregern beim Abstrich aufgenommen wird und dass – in diesem Fall unter Annahme einer geringeren Sensitivität der MRSA-PCR gegenüber den MRSA-Kulturverfahren – hierunter insbesondere die molekulargenetischen Nachweisen häufiger falsch-negativ ausfallen. Diese Annahme wird durch die Literatur zu den beflockten ESwab wenig unterstützt (**Verhoeven 2010, Silbert 2014, Warnke 2014**). So wird für diese Tupferart eine im Vergleich zum Viskose-Doppeltupfer gute Erregeraufnahme und anschließend auch Abgabe beschrieben. Weiterhin würde diese Erklärung Unterschiede zwischen ESwab und MSwab, die beide identische Tupfer verwenden, nicht erklären.

Eine andere Erklärungsmöglichkeiten könnte darin bestehen, dass das Puffersystem im ESwab-System Komponenten enthält, die die Empfindlichkeit des molekulargenetischen Verfahrens reduziert. In den Doppeltupfer- und ESwab-Systemen ist Stuart- bzw. Amies-Medium vorgelegt, um das Material befeuchtet zu halten und die Erreger-Vitalität zu erhalten (**Saegeman 2011**). Im MSwab-System wird hierfür ein spezifisch für dieses Produkt entwickelter Transportpuffer verwendet (**Hofmann 2014, Peters 2017**). In den ESwab sind keine Substanzen enthalten, die bekanntermaßen wesentlich mit molekulargenetischen Techniken interagieren, insofern wäre eine selektive Beeinträchtigung der MRSA-PCR durch den Puffer des ESwab wenig nachvollziehbar.

Die Untersuchungsergebnisse lassen sich allerdings auch von einer anderen Seite betrachten. Während die vorige Beschreibung davon ausging, dass maßgeblich für die Unterschiede der

negativ-prädiktiven Werte mit den verschiedenen Abstrichsystemen eine unterschiedliche Zahl falsch-negativer Befunde in der MRSA-PCR war, könnte auch so argumentiert werden, dass das ESwab-Medium die Vitalität der Erreger am besten erhält und so die kulturbasierten Untersuchungsverfahren noch sensitiver MRSA erfassen können. Denkbar wäre daher eine Konstellation mit vergleichbar sensitiver MRSA-PCR mit allen drei Systemen und einer vergleichsweise besseren Sensitivität der MRSA-Kulturdiagnostik mit den ESwab. Hieraus würde ein im Vergleich zu Doppeltupfern und MSwab scheinbar schlechterer NPW resultieren. Der Unterschied könnte jedoch letztendlich auch schlichtweg daraus resultieren, dass die MRSA-Prävalenz im ESwab-Untersuchungszeitraum höher war (MRSA-PCR: **Tabelle 6**, MRSA-Kultur: **Tabelle 7**) als in den beiden anderen Zeiträumen. Aufgrund der Abhängigkeit des negativ-prädiktiven Wertes von Sensitivität, Spezifität und Prävalenz wäre auch dies eine mögliche Erklärung. Diese Argumentation würde durch die von uns ermittelten MRSA-Prävalenzen in der Kulturdiagnostik nicht aber der PCR gestützt. Hierauf wird in den späteren Abschnitten noch eingegangen werden.

Insgesamt erscheint der Einfluss des Abstrichmediums auf die diagnostische Validität der MRSA-PCR jedoch so gering, dass er für die klinisch-diagnostischen Abläufe vermutlich praktisch nicht relevant ist.

4.4. Einfluss des Abstrichmediums auf die kulturbasierte MRSA-Diagnostik

Das Medium eines Transportgefäßes kann einen wesentlichen Einfluss auf das Ergebnis eines kulturellen Erregernachweises nehmen. So sind – beeinflusst unter anderem auch durch die Lagerungsbedingungen – beispielsweise die Anreicherung bestimmter Erreger möglich oder aber bei anspruchsvollen Erregern auch der selektive Verlust vitaler Keime.

Das bei Doppeltupfern und ESwab verwendete Stuart- bzw. Amies-Medium soll ein breites Spektrum an Erregern unterstützen (**Saegeman 2011**), wobei das Amies-Medium als Weiterentwicklung des Stuart-Mediums nach Angaben von COPAN die Vitalität empfindlicher Erreger wie beispielsweise *Neisseria gonorrhoeae* besser erhalten soll. Für das MSwab-Transportmedium wird durch COPAN eine Eignung für Gram positive aerobe und fakultativ anaerobe Bakterien beschrieben.

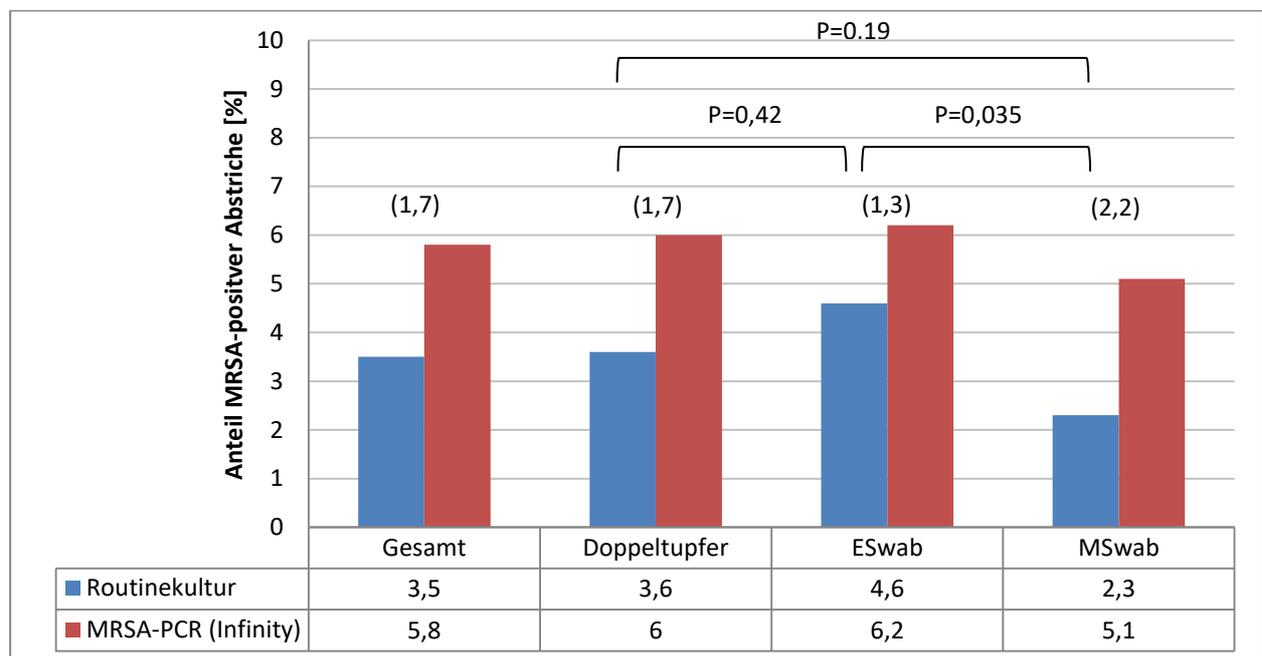
Die in **Tabelle 8** dargestellten Daten, die in anderer Form in **Diagramm 7** wiedergegeben sind, stellen die Ergebnisse der Routine-PCR und der Routine-Kultur gegenüber. Sie legen nahe, dass

auch in unseren Untersuchungen ein möglicher Einfluss der Transportmedien auf die Ergebnisse der kulturellen MRSA-Diagnostik nachweisbar war.

Die mit der MRSA-PCR (Infinity) ermittelte Prävalenz MRSA-positiver Patienten war über alle Untersuchungszeiträume weitgehend konstant, was auch der Erfahrung im Haus entspricht, dass es zu keinen starken Schwankungen hinsichtlich der MRSA-Prävalenz über die Zeit kommt.

Demgegenüber zeigten sich jedoch deutliche Unterschiede in den mit kulturellen Verfahren ermittelten Werten. Sie lagen grundsätzlich niedriger als bei den PCR-Nachweisen. Dies entspricht den publizierten Daten zu diesem Thema (**Roisin 2012, Patel 2015**) und ist durch falsch-positve Ergebnisse in der MRSA-PCR und zum Teil vermutlich auch durch den molekulargenetischen Nachweis nicht mehr vitaler MRSA bedingt.

Diagramm 7: *Patientenbezogene* Ergebnisse der MRSA-Diagnostik in Abhängigkeit vom Abstrichmedium. Das Verhältnis der MRSA-Prävalenzen in Form des Quotienten (Anteil MRSA-PCR positiv)/(Anteil MRSA-Kultur positiv) ist über den Säulen-Paaren in Klammern angegeben. Die P-Werte der Vergleich der einzelnen MRSA-Kulturergebnisse sind dargestellt.



Am höchsten war die kulturell ermittelte MRSA-Prävalenz in der ESwab-Gruppe mit 4,6%. In der Doppeltupfer-Gruppe bzw. MSwab-Gruppe lag diese Zahl mit 3,6% bzw. 2,3% deutlich niedriger. Die Diskrepanz zwischen MRSA-PCR- und -Kulturzahlen war für die MSwab

($P=0,01$) signifikant, für die Doppeltupfer verfehlte der statistische Test ein signifikantes Niveau nur knapp ($P=0,06$).

Auch der Vergleich der kulturell ermittelten MRSA-Prävalenzen zwischen ESwab-Gruppe auf der einen und MSwab- bzw. Doppeltupfer-Gruppe auf der anderen weist darauf hin, dass die MSwab – zumindest in unseren Studiendaten – hinsichtlich der kulturellen Analytik diagnostisch unterlegen sind. Die kulturell ermittelte MRSA-Prävalenz in der MSwab-Gruppe war signifikant niedriger als in der ESwab-Gruppe ($P<0,04$) und tendenziell niedriger als in der Doppeltupfer-Gruppe ($P=0,19$).

Wie bereits erwähnt, erscheint eine starke Abhängigkeit der Empfindlichkeit der MRSA-PCR vom Abstrichsystem nicht sehr wahrscheinlich, was durch die weitgehend gleichen Zahlen für die PCR-ermittelten MRSA-Prävalenzen mit allen drei Abstrichsystemen bestätigt zu sein scheint. Insofern ist eine wahrscheinliche Ursache für die im kulturellen Verfahren mit dem Abstrichmedium schwankenden MRSA-Zahlen darin zu sehen, dass die Vitalität der im Probenmaterial enthaltenen Erreger im Wesentlichen bei MSwab aber auch bei Doppeltupfern nach Abnahmen, Zwischenlagerung und Transport stärker eingeschränkt war als unter Verwendung der ESwab.

Die letztgenannte Interpretation wirft auch ein anderes Licht auf die umfangreich beschriebene geringe Spezifität der MRSA-PCR, die sich in einer relativ hohen Zahl falsch-positiver PCR-Ergebnisse niederschlägt (**Roisin 2012, Patel 2015**). In unserer Untersuchung lag diese bezogen auf die MRSA-Routinekultur bei mehr als 45% (**Tabelle 9**), d.h. nur etwas mehr als 50% der positiven MRSA-PCR-Ergebnisse wird im Kulturverfahren letztendlich bestätigt. Neben der nicht perfekten Spezifität der PCR für MRSA wird zu dieser Tatsache vermutlich zu einem nicht unerheblichen Teil auch der Umstand beitragen, dass mit der PCR nicht mehr vitale Erreger oder aber Erreger, die nach Abnahme, Zwischenlagerung und Transport nicht mehr teilungsfähig sind, nachgewiesen werden.

Unterschiede in den Zwischenlagerungs- und Transportzeiten zwischen den einzelnen Untersuchungszeiträumen wären weitere mögliche Ursache für die festgestellten Unterschiede, die nicht mit letzter Sicherheit ausgeschlossen werden können. Allerdings sind sie aufgrund der Länge der einzelnen Untersuchungsabschnitte und der Anwendung identischer Regelungen für Zwischenlagerung und Transport wenig wahrscheinlich als relevante Störgrößen aufzufassen.

4.5. Bedeutung der Abstrichregionen für die MRSA-Diagnostik

Wie bereits in einem früheren Abschnitt erwähnt, werden in den „Empfehlungen zur Prävention und Kontrolle von MRSA-Stämmen in Krankenhäusern und anderen medizinischen Einrichtungen“ von KRINKO und RKI (2008) als reguläre Abstrichlokalisationen Nase und Rachen sowie vorhandene Wunden genannt.

Um zu ermitteln, welchen Beitrag der zusätzliche Abstrich an Leiste/Perineum zur Identifizierung von MRSA-positiven Patienten leistet, wurde die Ergebnisse von Nase/Rachen und Leiste/Perineum gegenübergestellt. Da in dieser Studie lediglich die Ergebnisse für Nase, Rachen, Leiste und Perineum sowie Kombinationen erfasst wurden, nicht aber diejenigen der Sonderlokalisationen, kann der Beitrag der Abstriche an Sonderlokalisationen für die MRSA-Diagnostik leider nicht abgeschätzt werden. Darüber hinaus kann in die Betrachtung auch die MRSA-PCR mit dem Infinity nicht einbezogen werden, da in dieser Routinemethode des ukb die Abstrichlokalisationen generell gepoolt analysiert werden.

Betrachtet man die Daten in **Diagramm 2**, so wird aber augenfällig, dass in Abhängigkeit von der Untersuchungsmethode zwischen 13% bis 35% der MRSA-positiven Patienten übersehen worden wären, wenn ein Abstrich an Leiste/Perineum nicht erfolgt wäre.

Insofern erscheint eine Einbeziehung dieser Lokalisationen in das MRSA-Eingangsscreening sinnvoll zu sein. Auch hier ist wegen einer relativ geringen Zahl MRSA-positiver Fälle bzw. Untersuchungen Vorsicht bei einer Generalisierung der Ergebnisinterpretation geboten.

5. Zusammenfassung

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen bestätigen die gute Eignung der MRSA-PCR als Ausschlussdiagnostik im Rahmen eines MRSA-Eingangsscreenings aufgrund ihres hohen negativ-prädiktiven Wertes. Der positiv-prädiktive Wert der MRSA-PCR ist gering, so dass sich diese Methode für einen sicheren (positiven) Nachweis einer MRSA-Besiedelung wenig eignet. Der Einschluss der Abstrichregion Leiste/Perineum zusätzlich zu den von der KRINKO genannten Standardregionen Nase/Rachen sowie Sonderlokalisation erscheint aufgrund der Untersuchungsergebnisse sinnvoll, da ein relevanter Anteil der MRSA-positiven Patienten (abhängig von der Untersuchungsmethode 13-35%) ohne Berücksichtigung des Leiste/Perineum-Abstrichs falsch-negativ klassifiziert worden wären.

Während die diagnostische Validität der MRSA-PCR durch die in dieser Arbeit untersuchten Abstrichmedien – Doppeltupfer, ESwab und MSwab – nicht wesentlich beeinflusst wurde, war der Anteil der nicht auswertbaren MRSA-PCR-Ergebnisse mit den MSwab deutlich niedriger als bei ESwab und Doppeltupfern. Auch die ESwab verhielten sich in dieser Hinsicht günstiger als die Doppeltupfer. Unter Berücksichtigung der zumindest in unserer Analytik weiterhin bestehenden Vorteile von ESwab oder MSwab, beispielsweise die Automatisierbarkeit der Prozesse der kulturellen Analytik im Anschluss an die MRSA-PCR, sind diese Abstrichmedien für die analytischen Abläufe günstig.

Auch wenn die Studienergebnisse aufgrund des gewählten Designs nicht mit letzter Sicherheit beweisen, dass das Ergebnis der kulturellen MRSA-Diagnostik vom Abstrichmedium beeinflusst wird, so legen unsere Ergebnisse doch nahe, dass die Sensitivität der MRSA-Kultur bei Verwendung der ESwab größer ist als bei Doppeltupfern oder MSwab.

In der Zusammenschau der Ergebnisse wurde in unserer Klinik im Anschluss an die Untersuchung eine Umstellung der Abstrichmedien der MRSA-Diagnostik von den Doppeltupfern auf ESwab vorgenommen.

6. Schriftenverzeichnis

- Bartels, C, Ewert R, Steinmetz I, Kramer A:** Methicillin-Resistente Staphylokokken Frühes Screening senkt die Zahl der Infektionen. Deutsches Ärzteblatt 2008; 13: 672-3
- Becker K, Schaumburg F, Hübner NO, Köck R:** MRSA: Typisierung und Epidemiologie mit Schwerpunkt Deutschland. Krankenhaushygiene up2date 2014; 8: 93-107
- Bradley CW, Wilkinson MAC, Garvey MI:** The effect of universal decolonization with screening in critical care to reduce MRSA across an entire hospital. Infect Control Hosp Epidemiol 2017; 38: 430-5
- Bush K, Bradford PA:** β -Lactams and β -Lactamase inhibitors: an overview. Cold Spring Harb Perspect Med 2006; 6:a025247
- Chaberny IF, Bindseil A, Sohr D, Gastmeier P:** A point-prevalence study for MRSA in a german university hospital to identify patients at risk and to evaluate an established admission screening procedure. Infection 2008; 36: 526-32
- Cunningham R, Jenks P, Northwood J, Wallis M, Ferguson S, Hunt S:** Effect on MRSA transmission of rapid PCR testing of patients admitted to critical care. Journal of Hospital Infection 2007; 65: 24-8
- Cunney C, Witte W:** MRSA bei Mensch und Tieren – was sollten wir darüber wissen?. Krankenhaushygiene up2date 2011; 6: 189-204
- Daeschlein G, Assadian O, Daxboeck F, Kramer A:** Multiplex PCR-ELISA for direct detection of MRSA in nasal swabs advantageous for rapid identification of non-MRSA carriers. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2006; 25: 328-30
- Dancer S:** Importance of the environment in Methicillin-resistant Staphylococcus aureus acquisition: the case for hospital cleaning. Lancet Infect Dis 2008; 8: 101-13
- De Silva S, Wood G, Quek T, Parrott C, Bennett CM:** Comparison of flocced and rayon swabs for detection of nasal carriage of Staphylococcus aureus among pathology staff members. Journal of Clinical Microbiology 2010; 8: 2963-4
- Deurenberg RH, Vink C, Kalenic S, Friedrich AW, Bruggeman CA, Stobberingh EE:** The molecular evolution of Methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Clin Microbiol Infect 2007; 13: 222-35
- ECDC:** Surveillance of antimicrobial resistance in Europe. European centre for disease prevention and control – surveillance report 2017; ISBN 978-92-9498-279-7 (update 1/2019)
- Garcia-Alvarez L, Holden MTG, Lindsay H, Webb CR, Brown DFJ, Curran MD, Walpole E, Brooks K, Pickard DJ, Teale C, Parkhill J, Bentley SD, Edwards GF, Girvan EK,**

Kearns AM, Pichon B, Hill RIR, Larsen AR, Skov RL, Peacock SJ, Maskell DJ, Holmes MA: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine population in the UK and Denmark: a descriptive study. *Lancet Infect Dis* 2011; 11: 595-603

Hanssen AM, Sollid JUE: SCCmec in staphylococci: genes on the move. *FEMS Immunol Microbiol* 2006; 46: 8-20

Hardy K, Price C, Szczepura A, Gossain S, Davies R, Stallard N, Shabir S, McMurray C, Bradbury A, Hawkey PM: Reduction in the rate of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition in surgical wards by rapid screening for colonization: a prospective, cross-over study. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16: 333-9

Hofmann M, Hagen A, Castriciano S, Heckmann M, Steimer M, Carman WF: Evaluation of MSwab direct nucleic acid extraction for detection of viruses, bacteria and parasites in faecal samples using fast-track diagnostic real-time multiplex kits. *ECCMID* 2014

Holfelder M, Eigner U, Turnwald AM, Witte W, Weizenegger M, Fahr A: Direct detection of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in clinical specimens by a nucleic acid-based hybridization assay. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12: 1163-7

Holtfreter S, Grumann D, Balau V, Barwich V, Kolata J, Goehler A, Weiss S, Holtfreter B, Bauerfeind SS, Döring P, Friebe E, Haasler N, Henselin K, Kühn K, Nowotny S, Radke D, Schulz K, Schulz SR, Trübe P, Vu CH, Walther B, Westphal S, Cuny C, Witte W, Völzke H, Grabe HJ, Kocher T, Steinmetz I, Bröker BM: Molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* in the general population in northeast Germany: Results of the study Health in Pomerania (SHIP-TREND-0). *J Clin Microbiol* 2016; 54: 2774-85

Huang SS, Yokoe DS, Hinrichsen VL, Spurchise LS, Datta R, Miroshnik I, Platt R: Impact of routine intensive care unit surveillance cultures and resultant barrier precautions on hospital-wide Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clinical Infection Diseases* 2006; 43: 971-8

Huletsky A, Giroux R, Rossbach V, Gagnon M, Vaillancourt M, Bernier M, Gagnon F, Truchon K, Bastien M, Picard FJ, van Belkum A, Ouellette M, Roy HP, Bergeron MG: New real-time PCR assay for rapid detection of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* directly from specimens containing a mixture of Staphylococci. *J Clin Microbiol*; 42: 1875-84

Jacqmin H, Schuermans A, Desmet S, Verhagen J, Saegeman V: Performance of three generations of Xpert MRSA in routine practice: approaching the aim?. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2017; 36: 1363-5

Jonckheere S, Van Vaerenbergh K, Boel A, Vankeerberghen A, de Beenhouwer H: How is the Xpert MRSA Gen 3 assay (Cepheid) performing on pooled eSwab medium?. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2015; 83: 219-21

Köck R, Mellmann A, Schaumburg F, Friedrich AW, Kipp F, Becker K: Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* in Deutschland. *Deutsches Ärzteblatt* 2011; 108: 761-9

Köck R: MRSA-Screening und –Isolation im Ländervergleich Prävention lohnt sich. *Trilliumdiagnostik* 2013; 11(2): 74-5

Kramer A, Schwebke I, Kampf G: How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. *BMC Infectious Diseases* 2006; 6: 130

Kuehnert MJ, Kruszon-Moran D, Hill HA, McQuillan G, McAllister SK, Fosheim G, McDougal LK, Chaitram J, Jensen B, Fridkin SK, Killgore G, Tenover FC: Prevalance of *Staphylococcus aureus* nasal colonization in the United States, 2001-2002. *JID* 2006; 193: 172-9

Kurlenda J, Grinholc M: Current diagnostic tools for Methicillin-resitant *Staphylococcus aureus* infections. *Mol Diagn Ther* 2010; 14(2): 73-80

Lakhundi S, Zhang K: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular characterization, evolution and epidemiology. *Clinical Microbiology Reviews* 2018; 31(4): e00020-18

Lauderdale TLY, Wang JT, Lee WS, Huang JH, McDonald LC, Huang IW, Chang SC: Carriage rates of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) depend on anatomic location, the number of sites cultured, culture methods, and the distribution of clonotypes. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2010; 29: 1553-9

Licitra G: etymologia. *Emerging Infectious Diseases* 2013; 9: 1553

Linde HJ, Lehn N: Community-associated MRSA: Klinik, Therapie, Hygiene. *Krankenhaushygiene up2date* 2008; 3: 30-46

Macedo-Vinas M, de Angelis G, Rohner P, Safran E, Stewardson A, Frankhauser C, Schrenzel J, Pittet D, Harbarth S: Burden of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection at a Swiss University hospital: excess length of stay and costs. *Journal of Hospital Infection* 2013; 84: 132-7

Mehraj J, Akmatov MK, Strömpl J, Gatzemeier A, Layer F, Werner G, Pieper DH, Medina E, Witte W, Pessler F, Krause G: Methicillin-sensitive and Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal carriage in a random sample of non-hospitalized adult population in northern Germany. *PLoS ONE* 2014; 9: e107937

Meyer E, Schröder C, Gastmeier P, Geffers C: Rückgang von nosokomialen MRSA-Infektionen in Deutschland. *Deutsches Ärzteblatt* 2014; 19: 331-6

Muto CA, Jernigan JA, Ostrowsky BE, Richet HM, Jarvis WR, Boyce JM, Farr BM: SHEA Guideline für preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus*. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 2003; 24(5): 362-86

Naimi TS, LeDell KH, Como-Sabetti K, Borchardt SM, Boxrud DJ, Etienne J, Johnson SK, Vandenesch F, Fridkin S, O'Boyle C, Danila RN, Lynfield R: Comparison of community- and health care-associated Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. *JAMA* 2003; 290: 2976-84

Ng W, Faheem A, McGeer A, Simor AE, Gelosia A, Willey BM, Watt C, Richardson DC, Wong H, Ostrowska K, Vernich L, Muller MP, Gnanasuntharam P, Porter V, Katz K: Community- and healthcare-associated Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains: An investigation into household transmission, risk factors, and environmental contamination. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2017; 38: 61-7

Ogston A: Report upon micro-organisms in surgical diseases. *BMJ* 1881; 1 (1054): 369-75

Oliveira DC, Tomasz A, de Lencastre H: Secrets of success of a human pathogen: molecular evolution of pandemic clones of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *The Lancet* 2002; 2: 180-9

Ott E, Bange FC, Reichardt C, Graf K, Eckstein M, Schwab F, Chaberny IF: Costs of nosocomial pneumonia caused by Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Hospital Infection* 2010; 76: 300-3

Patel PA, Robicsek A, Grayes A, Schora DM, Peterson KE, Wright MO, Peterson LR: Evaluation of multiple real-time PCR tests on nasal samples in a large MRSA surveillance program. *AM J Clin Pathol* 2105; 143: 652-8

Peters G, Becker K, Briesch H, Hergenröder H, Heudorf U, Just HM, Köck R, Martius J, Wendt C, Wilke F, Mielke M, Hübner NO: Empfehlungen zur Prävention und Kontrolle von Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus*-Stämmen (MRSA) in medizinischen und pflegerischen Einrichtungen. *Bundesgesundheitsbl* 2014; 57: 696-732

Peters RM, Schnee SV, Tabatabai J, Schnitzler P, Pfeil J: Evaluation of alere i RSV for rapid detection of respiratory syncytial virus in children hospitalized with acute respiratory tract infection. *J Clin Microbiol*; 55: 1032-6

Peterson L, Diekema D: Point-Counterpoint: To screen or not to screen for Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology* 2010; 48: 683-9

Peterson LR, Liesenfeld O, Woods CW, Allen SD, Pombo D, Patel PA, Mehta MS, Nicholson B, Fuller D, Onderdonk A: Multicenter Evaluation of the LightCycler Methicillin-

resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) advanced tests as a rapid method for detection of MRSA in nasal surveillance swabs. *Journal of Clinical Microbiology* 2010; 48: 1661-6

Peterson LR, Schora DM: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* control in the 21st century: Laboratory involvement affecting disease impact and economic benefit from large population studies. *J Clin Microbiol* 2106; 54: 2647-54

Peterson LR, Woods CW, Davis Jr TE, Wang ZX, Young SA, Osiecki JC, Lewinski MA, Liesenfeld O: Performance of the cobas MRSA/ SA test for simultaneous detection of Methicillin-susceptible and Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from nasal swab. *Am J Clin Pathol* 2017; 148: 119-27

Pittet D, Hugonnet S, Harbarth S, Mourouga P, Sauvan V, Touveneau S, Perneger TV: Effectiveness of a hospital-wide programme to improve compliance with hand hygiene. *The Lancet* 2000; 356: 1307-12

Robert-Koch-Institut: Eigenschaften, Häufigkeit und Verbreitung von MRSA in Deutschland – Update 2011/ 2012. *Epidemiologisches Bulletin* 2013; 21: 1-10

Robert-Koch-Institut: Eigenschaften, Häufigkeit und Verbreitung von MRSA in Deutschland – Update 2013/ 2014. *Epidemiologisches Bulletin* 2015; 31: 1-10

Roisin S, Laurent C, Nonhoff C, Deplano A, Hallin M, Byl B, Struelens MJ, Denis O: Positive predictive value of the Xpert MRSA assay diagnostic for universal patient screening at hospital admission: influence of local ecology. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012; 31: 873-80

Saegeman V, Flamaing J, Muller J, Peetermans WE, Stuyck J, Verhaegen J: Clinical evaluation of Copan ESwab for Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* detection and culture of wounds. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2011; 30: 943-9

Shore AC, Coleman DC: *Staphylococcal cassette chromosome mec*: Recent advances and new insights. *International Journal of Medical Microbiology* 2013; 303: 350-9

Silbert S, Kubasek C, Uy D, Widen R: Comparison of ESwab with traditional swabs for detection of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using two different walk-away commercial real-time PCR methods. *Journal of Clinical Microbiology* 2014; 52: 2641-3

Struelens MJ, Hawkey PM, French GL, Witte W, Tacconelli E: Laboratory tolls and strategies for Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* screening, surveillance and typing: state of the art and unmet needs. *Clin Microbiol Infect* 2009; 15: 112-9

Verhoeven P, Grattard F, Carricajo A, Pozzetto B, Berthelot P: Better detection of *Staphylococcus aureus* nasal carriage by use of nylon flocked swabs. *Journal of Clinical Microbiology* 2010; 48: 4242-4

Vos MC, Behrendt MD, Melles DC, Mollema FPN, de Groot W, Parlevliet G, Ott A, Horst-Kreft D, van Belkum A, Verbrugh HA: 5 Years of experience implementing a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* search and destroy policy at the largest university medical center in the Netherlands. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2009; 30: 977-84

Warnke P, Frickmann H, Ottl P, Podbielski A: Nasal screening for MRSA: Different swabs – different results!. *PLoS ONE*; 9(10): e111627

Warnke P, Devide A, Weise M, Frickmann H, Schwarz NG, Schäffler H, Ottl P, Podbielski A: Utilizing moist or dry swabs for the sampling of nasal MRSA carriers? An *in vivo* and *in vitro* study. *PLoS ONE*; 11(9): e0163073

Wassenberg MWM, Kluytmans JAJW, Box ATA, Bosboom RW, Buiting AGM, van Elzakker EPM, Melchers WJG, van Rijen MML, Thijsen SFT, Troelstra A, Vandenbroucke-Grauls CMJE, Visser CE, Voss A, Wolffs PFG, Wulf MWH, van Zwet AA, de Wit GA, Bonten MJM: Rapid screening of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* using PCR and chromogenic agar: a prospective study to evaluate costs and effects. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16: 1754-61

Waxman DJ, Strominger JL: Penicillin-binding proteins and the mechanism of action of β -Lactam antibiotics. *Ann. Rev. Biochem.* 1983; 52: 825-69

Widen R, Healer V, Silbert S: Laboratory evaluation of the BD MAX MRSA assay. *Journal of Clinical Microbiology* 2014; 52: 2686-8

Xu Z, Hou Y, Peters BM, Chen D, Li B, Li L, Shirliff ME: Chromogenic media for MRSA diagnostics. *Mol Biol Rep* 2016; 43: 1205-12

Yarbrough ML, Warren DK, Allen K, Burkholder D, Daum R, Donskey C, Knaack D, LaMarca A, May L, Miller LG, Parenti DM, Peterson L, Tan TY, Widen R, Hernandez DR, Wolk DM, Burnham CAD: Multicenter Evaluation of Xpert MRSA NxG assay for detection of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in nasal swabs. *J Clin Microbiol* 2018; 56: e1381-17

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Thomas Hartel, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Einfluss verschiedener Abstrichmedien auf die analytische und diagnostische Validität der Screeninguntersuchungen auf Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus*“ 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/innen 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.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

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 etwaigen erfolgten Publikationen

Herr Thomas Hartel hatte folgenden Anteil an der folgenden Publikation:

von Allmen, N., Gorzelniak, K., Liesenfeld, O., Njoya, M., Duncan, J., Marlowe, E.M., Hartel, T., Knaust, A., Hoppe, B., Walter, M. Liquid and Dry Swabs for Culture- and PCR-Based Detection of Colonization with Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* during Admission Screening. *Eur J Microbiol Immunol* 2019; 9(4):131-137. doi: 10.1556/1886.2019.00022.

Sein Beitrag hieran bestand in:

- Mitentwicklung des Studienziels: Vergleich unterschiedlicher Abstrichmedien in Hinblick auf ihre Eignung für das kulturelle und molekulargenetische MRSA-Screening.
- Ausarbeitung des Plans für die Materialgewinnung sowie Koordinierung und Begleitung der einzelnen Sammlungsphasen.
- Zusammenstellung der ukb-seitig erhobenen Untersuchungsbefunde.
- Auswertung der Daten in Bezug auf die Medien-abhängige Konkordanz zwischen molekulargenetischer und kultur-basierter Analytik.
- Diskussion der Untersuchungsergebnisse insbesondere in Hinblick auf die Eignung der unterschiedlichen Abstrichmedien für die MRSA-Diagnostik sowie auf die niedrigeren MRSA-Detektionsraten bei der molekulargenetischen Diagnostik verglichen mit den kulturbasierten Techniken.

Unterschrift, Datum und Stempel des/der erstbetreuenden Hochschullehrers/in

Lebenslauf

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

Danksagung

Herrn PD Dr. B. Hoppe danke ich für die Überlassung dieses Promotionsthemas und die geduldige und engagierte Betreuung im Rahmen dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. A. Ekkernkamp danke ich für die immer wiederkehrende Ermahnung und Ermutigung zur Promotion.

Meinen Kollegen im Unfallkrankenhaus Berlin danke ich für die Unterstützung und die Offenheit bei Diskussionen um diese Promotion.

Meinen Eltern und Saskia Staedtler, meiner Lebensgefährtin, danke ich für die Geduld, die Zeit und die aufbauenden Worte während der Entstehung dieser Arbeit.