

Aus der Klinik für Urologie und Kinderurologie  
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. Dr. phil. J. Huber  
des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg

**Differenzierung von Methicillin-sensiblen und Methicillin-resistentem  
*Staphylococcus aureus* anhand flüchtiger organischer Verbindungen  
mittels Multikapillarsäulen-Ionenmobilitätsspektrometrie und  
elektronischer Nase „Cyranose 320“**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Humanmedizin

dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg vorgelegt von

**Franz Schenk Graf von Stauffenberg**

aus Schongau

Marburg, 2023

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg am:

12.05.2023

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs.

Dekanin: Prof. Dr. med. Denise Hilfiker-Kleiner

Referent: Prof. Dr. med. Rainer Hofmann

Korreferent: Prof. Dr. med. Michael Lohoff

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	1
1.1.1. Resistenzbildung und Klassifikation .....	1
1.1.2. Epidemiologie.....	4
1.1.3. Risikofaktoren .....	9
1.1.4. Klinische Manifestationen.....	11
1.1.5. Prävention .....	16
1.1.5.1. Basismaßnahmen .....	16
1.1.5.2. Screening.....	18
1.1.5.2.1. Erregernachweis .....	20
1.1.5.3. Dekolonisierung.....	24
1.1.5.4. Praktische Anwendung von Präventionsmaßnahmen.....	26
1.1.6. Therapie manifester Infektionen.....	26
1.2. VOCs.....	28
1.3. Ionenmobilitätsspektrometrie .....	31
1.4. Cyranose 320.....	34
1.5. Fragestellung .....	36
<b>2. Material und Methoden</b> .....	<b>38</b>
2.1. Material.....	38
2.1.1. Laborgeräte/Laborbedarf.....	38
2.1.2. Verbrauchsmaterialien .....	40
2.1.3. Probenkollektiv.....	41
2.2. Methoden.....	41
2.2.1. Probengewinnung .....	41
2.2.2. Probenlagerung.....	41
2.2.3. MCC-IMS.....	42

2.2.3.1.	Technische Angaben.....	42
2.2.3.2.	Versuchsaufbau .....	44
2.2.3.3.	Messablauf .....	47
2.2.3.4.	Auswertung MCC-IMS .....	49
2.2.4.	Cyranose.....	53
2.2.4.1.	Technische Daten .....	53
2.2.4.2.	Versuchsaufbau .....	55
2.2.4.3.	Messablauf .....	56
2.2.4.4.	Auswertung Cyranose 320.....	58
<b>3.</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>60</b>
3.1.	Ergebnisse MCC-IMS .....	60
3.1.1.	Einzelne Peaks .....	60
3.1.1.1.	MRSA vs. BHI .....	60
3.1.1.2.	MSSA vs. BHI.....	67
3.1.1.3.	MRSA vs. MSSA.....	72
3.1.2.	Abgleich der Peaks mit der Datenbank .....	73
3.1.3.	Entscheidungsbaum .....	80
3.1.3.1.	MRSA vs. BHI .....	83
3.1.3.2.	MSSA vs. BHI.....	84
3.1.3.3.	MRSA vs. MSSA.....	85
3.3.	Ergebnisse Cyranose.....	86
3.3.1.	MRSA vs. BHI .....	86
3.3.2.	MSSA vs. BHI.....	87
3.3.3.	MRSA vs. MSSA.....	88
3.3.4.	MRSA vs. MSSA vs. BHI.....	89
<b>4.</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>92</b>
4.1.	MCC-IMS .....	93
4.2.	Cyranose 320.....	96

4.3. VOC-Analysen in der MRSA-Diagnostik .....	97
4.4. Ausblick .....	99
<b>5. Zusammenfassung/Abstract.....</b>	<b>100</b>
5.1. Zusammenfassung .....	100
5.2. Abstract.....	102
<b>6. Referenzen.....</b>	<b>104</b>
<b>7. Abkürzungsverzeichnis.....</b>	<b>127</b>
<b>8. Tabellenverzeichnis.....</b>	<b>131</b>
<b>9. Abbildungsverzeichnis.....</b>	<b>132</b>
<b>10. Verzeichnis der akademischen Lehrer.....</b>	<b>134</b>
<b>11. Danksagung .....</b>	<b>136</b>

# 1. Einleitung

## 1.1. *Staphylococcus aureus*

### 1.1.1. Resistenzbildung und Klassifikation

Bei *Staphylococcus aureus* handelt es sich um ein grampositives, fakultativ pathogenes Bakterium, welches – neben einer klinisch stummen Kolonisierung – unter gewissen Rahmenbedingungen zu Erkrankungen der Haut und des Bindegewebes, der Atemwege, der Knochen und Gelenke und zu endovaskulären Störungen führen kann [Lowy 1998]. *S. aureus* ist in seiner natürlichen Form gegen nahezu jedes bisher entwickelte Antibiotikum sensibel, ist jedoch für seine ausgeprägte Fähigkeit zur Resistenzentwicklung bekannt [Chambers et al. 2009a]. So konnte der Keim seit der Erstbeschreibung im Jahr 1881 [Ogston 1881] Resistenzen gegen eine Vielzahl an Antibiotika entwickeln. Mit der Entdeckung von Penicillin im Jahr 1928 schien eine wirkungsreiche Therapie gegen *S. aureus* gefunden [Moellering 2012], jedoch konnte bereits kurz nach der klinischen Einführung des Medikaments in den 1940er Jahren durch unsachgemäßen Umgang eine zunehmende Expression der  $\beta$ -Lactamase Penicillinase durch *S. aureus* und eine daraus resultierende Penicillin-Resistenz wahrgenommen werden [Barber 1947; Rammelkamp et al. 1942]. Diese Gruppe, die gegen  $\beta$ -Lactamase-instabile Penicilline resistent, jedoch gegen  $\beta$ -Lactamase-stabile Penicilline – wie Methicillin – empfindlich ist, wird als **Methicillin-sensibler *S. aureus* (MSSA)** bezeichnet [Robert Koch-Institut 2014].

Gegen das 1959 entwickelte, erste penicillinasefeste Antibiotikum Methicillin konnte bereits im Jahr 1961 eine Resistenzentwicklung durch *S. aureus* nachgewiesen werden, weshalb frühzeitig vor übermäßigem und inadäquatem Einsatz des neu entdeckten Antibiotikums gewarnt wurde [Barber 1961; Çetin et al. 1962; Jevons 1961; Knox 1960; Rolinson 1961]. Dies konnte einem Anstieg von **Methicillin-resistentem *S. aureus* (MRSA)** in den darauffolgenden Jahrzehnten jedoch nicht entgegenwirken. So konnte eine flächendeckende MRSA-Verbreitung ab den 1960er Jahren in Europa, ab Ende der 1970er Jahre in den USA und schließlich ab den 1980er Jahren weltweit erfasst werden [Chambers et al. 2009a].

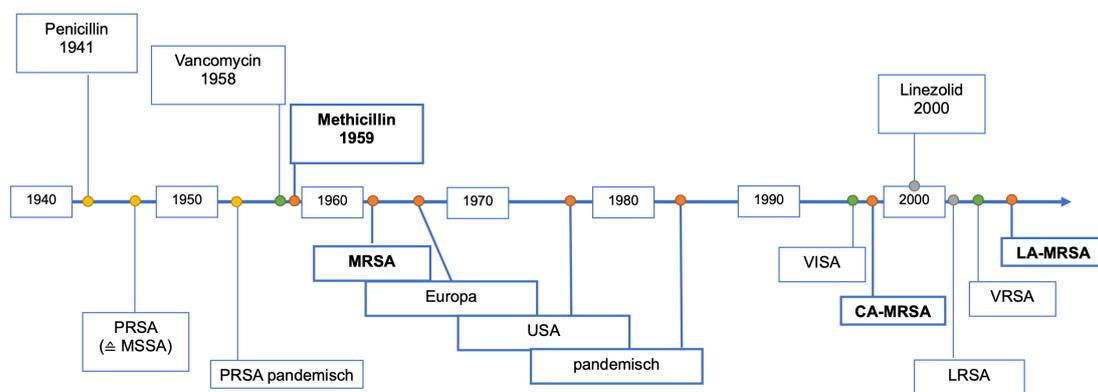
MRSA-Besiedlungen finden sich je nach Population in unterschiedlichen Größenordnungen, weshalb eine Einteilung in drei Gruppen erfolgt:

**hospital- bzw. healthcare-associated/-acquired MRSA (HA-MRSA)** beschreibt das nosokomiale Vorkommen von MRSA in Krankenhäusern und Pflegeeinrichtungen. Lange konnten die meisten MRSA-Stämme nur dieser Gruppe zugeordnet werden. Erst in den 1990er Jahren wurde der Begriff **community-associated MRSA (CA-MRSA)** geprägt, der das Auftreten von MRSA in der Allgemeinbevölkerung ohne Verbindung zu einer vorhergehenden Hospitalisierung darstellt. Seit Mitte der 2000er Jahre wird zusätzlich der Begriff **livestock-associated MRSA (LA-MRSA)** in Beziehung mit der zoonotischen Übertragung von MRSA durch besiedelte landwirtschaftliche Nutz- und Haustiere verwendet. Innerhalb dieser Gruppen bestehen regionale Unterschiede und es dominieren jeweils verschiedene klonale Stämme. Gelegentlich wird der Zusammenhang zwischen HA- und CA-MRSA unter dem Begriff HCA-MRSA (*hospital associated community onset MRSA*) beschrieben, was eine Manifestation des Keimes in ambulanter Umgebung nach kurzzeitiger Hospitalisation beschreibt; dieser Begriff verdeutlicht die fließenden Grenzen innerhalb dieser Gruppen, weshalb hier nicht von einer invariablen Klassifikation ausgegangen werden kann, sondern vielmehr von einer didaktisch sinnvollen Einteilung [Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit 2016; Layer et al. 2018; Moellering 2012; Robert Koch-Institut 2014; Stefani et al. 2012]. Die **genetischen Hintergründe** für die Ausbildung der Methicillinresistenz sind komplex, ein kleiner Exkurs verdeutlicht jedoch die Fähigkeit von *S. aureus*, über eine Menge verschiedener Mechanismen eine Methicillinresistenz auszubilden: Methicillinresistenz wird charakterisiert durch die Ausbildung eines Penicillinbindepoteins (PBP2a), welches zu einer geringeren Affinität der Bakterien zu den meisten  $\beta$ -Lactam-Antibiotika (Penicilline, Cephalosporine und Carbapeneme) und einer damit verbundenen Unwirksamkeit dieser Wirkstoffe führt [Chambers et al. 2009a; Stefani et al. 2012]. Kodiert wird PBP2a über das *mecA*-Gen, welches auf dem beweglichen Genelement *staphylococcal cassette chromosome mec* (SCCmec) lokalisiert ist, das Staphylokokken über horizontalen Gentransfer untereinander austauschen und somit weitergeben können [Hanssen et al. 2006]. Das Vorhandensein kompletter SCCmec-Abschnitte und dem zugehörigen *mecA*-Gen ist der entscheidende Unterschied zwischen MRSA und MSSA [Robert Koch-Institut 2014]. Es sind 12 Subtypen von SCCmec bekannt, welche in unterschiedlich starker Ausprägung in HA-, CA- und LA-MRSA vorkommen, wobei die Grenzen hier auch zunehmend verschwimmen, was eine Charakterisierung der verschiedenen Klassifikationen anhand SCCmec beeinträchtigt [Lee et al. 2018]. Außerdem treten sporadisch die *mecA*-Homologe *mecC* (auch auf

SCCmec lokalisiert) und kürzlich auch mecB – welches über Plasmide ausgetauscht wird [Becker et al. 2018] – auf, welche durch unterschiedliche Mechanismen ebenfalls zur Methicillinresistenz führen können [Robert Koch-Institut 2014]. Teilweise gehen aus SCCmec-Abschnitten auch zusätzliche Antibiotikaresistenzen hervor, was mitunter die Entstehung von Multiresistenzen erklärt [Heizmann et al. 2005]

Methicillin wird mittlerweile nicht mehr im klinischen Alltag angewandt. In der heutigen Praxis werden die vergleichbaren Penicilline Oxacillin und Flucloxacillin verwendet, welche eine erhöhte Stabilität aufweisen. Der Begriff MRSA wird jedoch nach wie vor als Synonym für Resistenzen gegen diese Wirkstoffe verwendet. [Dissemond 2009; Fätkenheuer 2016].

In der Regel weisen MRSA-Isolate neben der Resistenz gegen  $\beta$ -Lactam-Antibiotika diverse Ko-Resistenzen auf, zum Teil in über 80 % der Fälle (siehe Tab. 1). Vancomycin galt seit den 1960er Jahren lange als einziges durchweg effektives Antibiotikum zur Therapie von MRSA. Ende der 1990er Jahre konnten erste Isolate mit eingeschränkter Empfindlichkeit und Anfang der 2000er Jahre schließlich vollkommene Resistenzen gegen Vancomycin festgestellt werden [Centers for Disease Control and Prevention 1997; Chang et al. 2003; McGuinness et al. 2017].



**Abb. 1: Zeitachse zur Einführung grundlegender Antibiotika (oben) und darauffolgender Resistenzentwicklungen von *S. aureus* (unten)** [Chambers et al. 2009a; McGuinness et al. 2017; Robert Koch-Institut 2014; Tsiodras et al. 2001]

*LRSA*: Linezolid-resistenter *S. aureus*; *PRSA*: Penicillin-resistenter *S. aureus*; *VISA*: Vancomycin-intermediär resistenter *S. aureus*; *VRSA*: Vancomycin-resistenter *S. aureus*

Auch gegen diverse neuere Reserveantibiotika, wie z.B. Linezolid – gegen das bereits ein Jahr nach der Einführung im Jahr 2000 eine Resistenz nachgewiesen werden konnte

[Tsiodras et al. 2001] – bildet *S. aureus* zunehmend Resistenzen aus: Tab. 1 stellt die Ko-Resistenzen von MRSA-Isolaten stationärer Patienten in den Jahren 2012 – 2016 in Deutschland dar; hierbei wurden Proben verarbeitet, die von ca. 250 diagnostischen Einrichtungen aus allen Bundesländern an das Nationale Referenzzentrum für Surveillance von nosokomialen Infektionen (NRZ) gesandt wurden. Auch wenn vereinzelte Resistenzraten vergleichsweise gering ausfallen, sollten sie – gerade in Anbetracht der Historie der Methicillinresistenz – als Warnsignal für die Zukunft interpretiert werden.

Antibiotikum	2012 (%)	2013 (%)	2014 (%)	2015 (%)	2016 (%)
Ciprofloxacin	86,6	81,8	80,0	79,7	75,5
Moxifloxacin	86,1	80,8	79,3	79,2	74,5
Erythromycin	65,7	58,9	58,2	56,3	56,6
Clindamycin	58,8	50,6	50,3	48,4	47,0
Gentamicin	5,7	5,0	6,6	5,4	5,1
Tetracyclin	7,4	7,2	8,6	10,9	13,5
Rifampicin	1,4	0,8	1,5	0,79	0,88
Cotrimoxazol	0,5	0,4	0,8	0,95	0,48
Fusidinsäure-Natrium	3,5	4,0	4,7	4,6	5,0
Fosfomycin	0,4	0,2	0,5	0,45	0,24
Linezolid	0	0,1	0,03	0,11	0,16
Tigecyclin	0,13	0,04	0,23	0,23	0
Daptomycin	1,0	2,7	2,9	3,2	2,4
Mupirocin	6,7*	6,2*	I: 5,8/ R: 1,2	I: 4,1/ R: 1,2	I: 4,6/ R: 0,96
Vancomycin	0,2	0,04	0,03	0,04	0,04
Teicoplanin	0,3	0,3	0,13	0,04	0,16

**Tab. 1: Ko-Resistenzen von MRSA-Isolaten stationärer Patienten von 2012 – 2016 eingesandt an das NRZ**

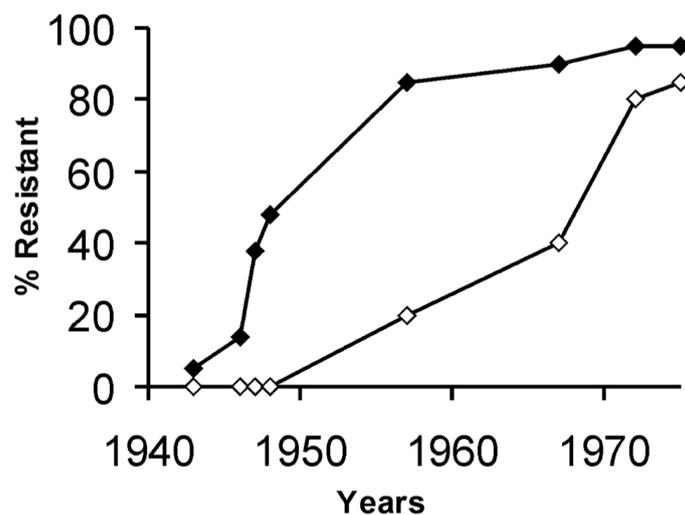
*I: intermediär resistent, R: resistent, \*: I + R [Layer et al. 2018]*

### 1.1.2. Epidemiologie

Bei 20 – 40 % der Bevölkerung kann im Nasenvorhof eine persistierende Besiedlung mit *S. aureus* nachgewiesen werden [Lee et al. 2018]. Der nasale Trägerstatus der restlichen Bevölkerung variiert; während einige Studien ca. 30 % der Bevölkerung als intermittierende Träger und 50 % als Nichtträger einstufen [Wertheim et al. 2005], beschreiben andere Autoren auch die vermeintlichen Nichtträger als – möglicherweise zum jeweiligen Untersuchungszeitpunkt nicht erfasste – intermittierende Träger [Becker et al. 2017; van Belkum et al. 2009]. Auch wenn das Infektionsrisiko von Dauerträgern bis zu dreimal höher gegenüber dem von intermittierenden Trägern ist [van Belkum et al. 2009; Wertheim et al. 2004], scheinen letztere trotzdem ein Risikofaktor für

Keimübertragung und endogene Infektionen zu sein [Kluytmans et al. 1996; von Eiff et al. 2001]. Eine Keimübertragung findet durch direkten Hautkontakt – meistens durch Kontakt mit Krankenhauspersonal [Lowy 1998] –, sowie über Kontakt mit kontaminierten Gegenständen und Oberflächen statt [Chambers et al. 2009a].

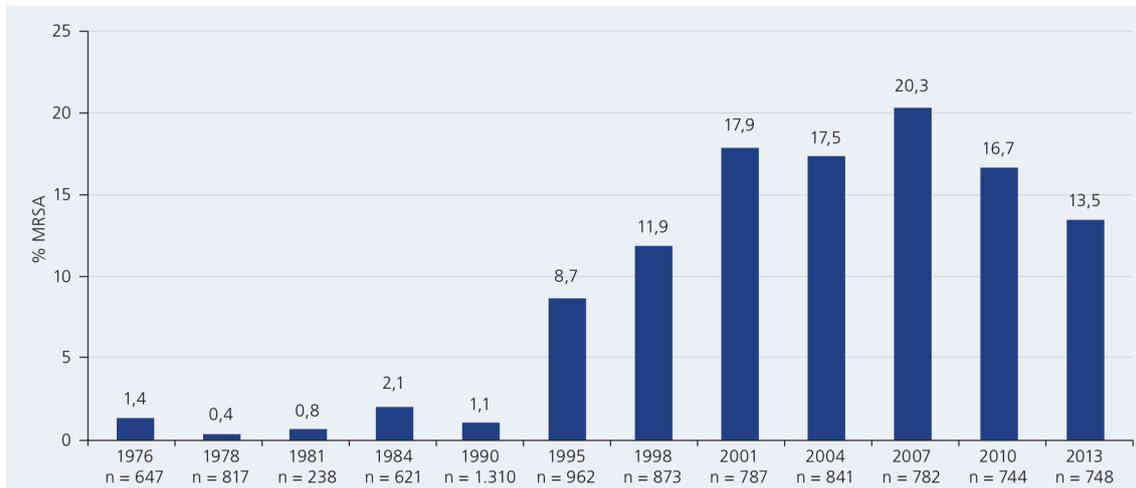
Während die Prävalenz von nasalen *S. aureus*-Isolaten seit den 1930er Jahren aufgrund verbesserter Hygienestandards in Krankenhäusern, allgemeiner Veränderungen im sozioökonomischen Status und abnehmender Familiengrößen insgesamt gesunken ist [Wertheim et al. 2005], steigt die Prävalenz nosokomialer Infektionen mit *S. aureus* infolge einer erhöhten Anzahl immunsupprimierter Patienten, dem vermehrten Verbrauch intravaskulärer Katheter und ferner auch aufgrund wachsender Multiresistenzraten [Lowy 1998]. Dementsprechend ist der Anteil penicillinaseproduzierender, aber **methicillinsensibler *S. aureus*-Isolate (MSSA)** seit dem ersten Auftreten Anfang der 1940er Jahre unter *S. aureus*-Isolaten aus Klinik und Allgemeinbevölkerung drastisch gestiegen (siehe Abb. 2) [Chambers 2001]. Heute sind bis zu 80 % aller klinischen *S. aureus*-Isolate gegen  $\beta$ -Lactamase-instabile Penicilline resistent [Robert Koch-Institut 2014].



**Abb. 2: Zunahme der Prävalenz penicillinaseproduzierender, methicillinsensibler *S. aureus*-Isolate zwischen den 1940er und 1970er Jahren in Krankenhäusern (◆) und der Allgemeinbevölkerung (◇) [Chambers 2001]**

Der Anteil **methicillinresistenter *S. aureus*-Isolate (MRSA)** ist zwar niedriger, zeigt jedoch im zeitlichen Verlauf – wenn auch etwas verzögert in Bezug auf die Einführung von Methicillin – ebenso einen steilen Anstieg, wie Erhebungen aus Untersuchungen klinischer Materialien der Paul-Ehrlich-Gesellschaft (PEG) zwischen 1976 und 2013

zeigen (siehe Abb. 3) [Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit 2016]. Das Hinzukommen von MRSA führte jedoch keineswegs zu einer Verdrängung von MSSA-Infektionen, vielmehr kann man MRSA-Infektionen den durch MSSA induzierten hinzurechnen [Monaco et al. 2016].



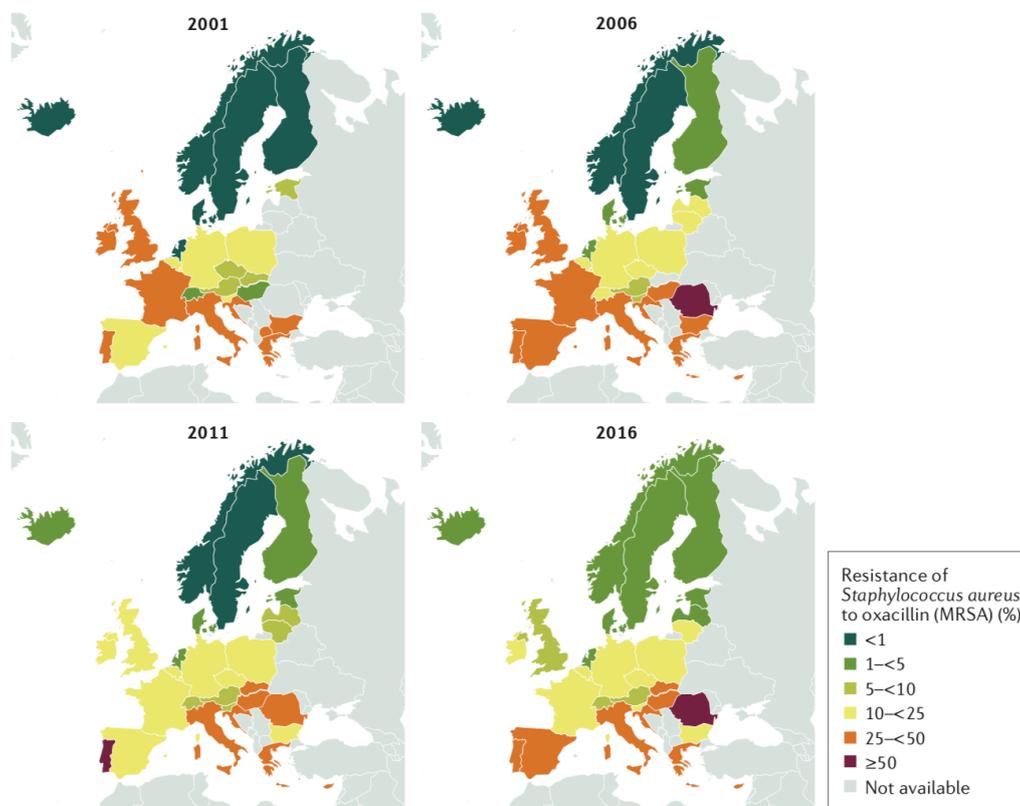
**Abb. 3: Verhältnis von HA-MRSA in Bezug zu allen *S. aureus*-Isolaten im Rahmen von Resistenzstudien der PEG** [Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit 2016]

Studien zur Untersuchung des MRSA-Anteils von durch *S. aureus* verursachten Bakteriämien aus England und Wales zeigen einen nahezu deckungsgleichen Verlauf dieser Kurve, wobei die Resistenzraten hier in den frühen 2000er Jahren die 40 %-Marke übertreffen [Johnson et al. 2005].

Allgemein zählt *S. aureus* zu den häufigsten nosokomialen Erregern. Eine Studie aus den USA erfasste über 2 Jahre den Anteil verschiedener Keime an nosokomialen Infektionen und konnte *S. aureus* mit 16 % als häufigsten Erreger isolieren. Die anteiligen MRSA-Raten schwankten, je nach Erkrankung und Abteilung, zwischen 44 % und 59 %. Insgesamt hatte MRSA einen Anteil von 8.5 % an allen erfassten nosokomialen Infektionen [Sievert et al. 2013].

Vergleichbare Studien aus Europa nennen *S. aureus* nach *Escherichia coli* an zweiter Stelle der aus nosokomialen Infektionen isolierten Bakterien und zeigen einen stark variierenden Trend mit einer von Norden nach Süden steigenden Resistenzrate unter allen *S. aureus*-Isolaten, woraus sich für ganz Europa ein mittlerer Wert von 18 % ergibt. [European Centre for Disease Prevention and Control 2013; Monaco et al. 2016]. Abb. 4 verdeutlicht die enormen Unterschiede in den verschiedenen Ländern und stellt einen in

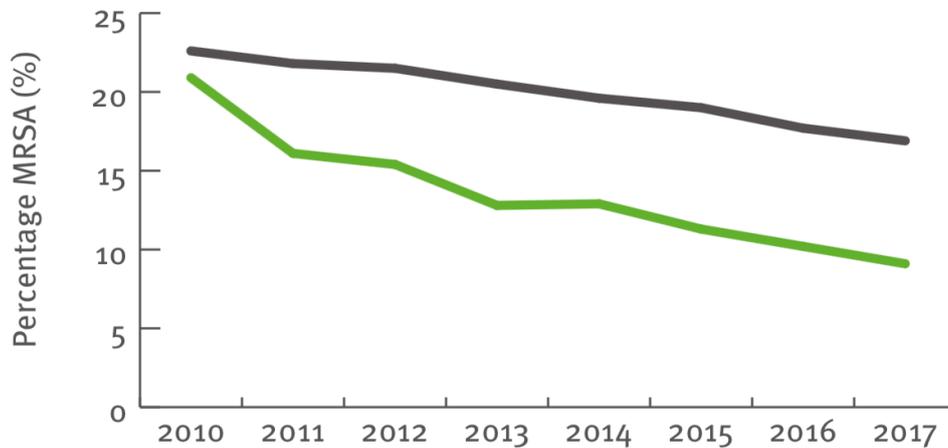
Mitteleuropa tendenziell rückläufigen und in Südeuropa schwankenden Trend dar. In den skandinavischen Ländern ist eine Zunahme der Resistenzrate zu beobachten. Zu beachten ist, dass aufgrund verschiedener Methodiken der Studien keine klare Grenze zwischen HA- und CA-MRSA zu ziehen ist, es wird die allgemeine MRSA-Prävalenz repräsentiert. Im Allgemeinen haben CA-MRSA die niedrigste Prävalenz, bei HA-MRSA weisen Intensivstationen erhöhte Anteile gegenüber Normalstationen auf [Maechler et al. 2017].



**Abb. 4: MRSA-Prävalenz in Europa im zeitlichen Verlauf von 2001 – 2016**  
*anhand Daten aus dem Surveillance Atlas des European Center for Disease Prevention and Control [Lee et al. 2018]*

Dass sich im Mittel in ganz Europa und insbesondere in Deutschland in den letzten Jahren rückläufige Zahlen zeigen [Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit 2016; European Centre for Disease Prevention and Control 2018a] (siehe Abb. 5), ist vermutlich auf Präventionsprogramme und Hygienemaßnahmen zur Einschränkung der Übertragungsraten der jeweiligen Länder zurückzuführen [Duerden et al. 2015; Jarlier et al. 2010; Monaco et al. 2016; Robert

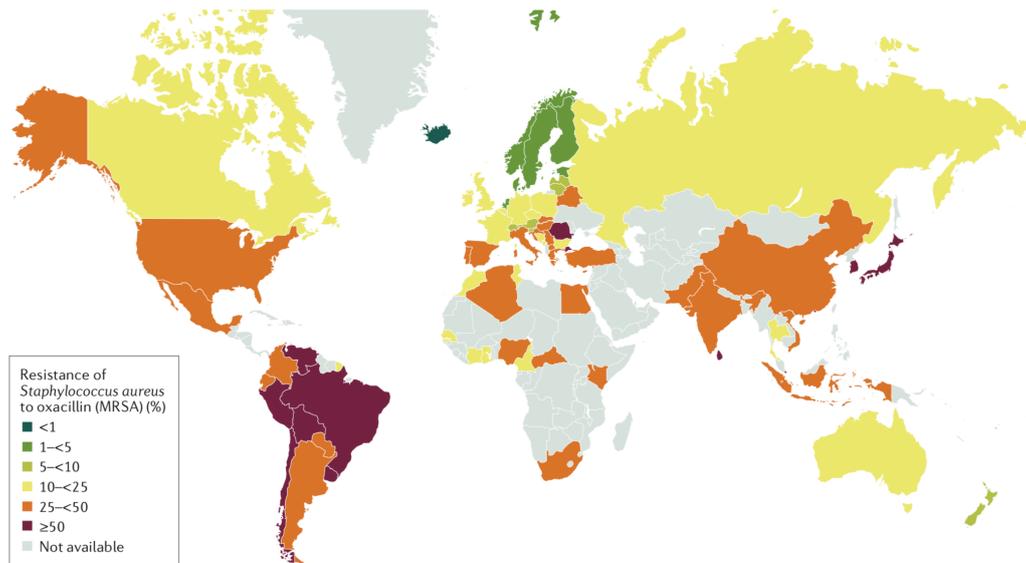
Koch-Institut 2014], die exakten Gründe für den Rückgang lassen sich jedoch nicht eindeutig zuordnen [Meyer et al. 2014].



**Abb. 5: Sinkende MRSA-Prävalenz im europäischen Mittelwert (grau) und in Deutschland (grün)** [European Centre for Disease Prevention and Control 2018b]

Außerdem ist zu beachten, dass in einigen Ländern – wie Griechenland, Malta, Portugal und Rumänien – auch 2017 noch grob 40 % aller *S. aureus*-Isolate methicillinresistent sind [European Centre for Disease Prevention and Control 2018b] und dass es sich hierbei jeweils nur um Mittelwerte handelt. So liegt der Anteil an MRSA unter bestimmten, von *S. aureus*-bedingten nosokomialen Infektionen teilweise deutlich höher [Meyer et al. 2014].

Auch ein Blick auf die globale Prävalenz von MRSA im Jahr 2018 verdeutlicht die Brisanz des Themas in vielen Ländern:



**Abb. 6: Globale MRSA-Prävalenz im Jahr 2018**

anhand Daten aus dem Center for Disease Dynamics, Economics & Policy [Lee et al. 2018]

### 1.1.3. Risikofaktoren

Größtenteils besiedelt *S. aureus* die Haut und Schleimhäute etlicher Körperregionen nur als asymptomatischer Kommensale [Wertheim et al. 2005]. Eine initiale Besiedlung findet meistens im Nasenvorhof statt, von wo aus der Keim sich über den ganzen Körper verteilen kann. Prädilektionsstellen sind die Nase, der Rachen, die Hände und Unterarme, Perineum und Leistenregion, die Haut der Brust und des Abdomens sowie chronische Wunden [Lowy 1998; Robert Koch-Institut 2014; Wertheim et al. 2005].

Risikofaktoren für eine Besiedlung sind männliches Geschlecht, helle Hautfarbe sowie Neugeborenen- und Säuglingsalter; bei bis zu 70 % der Neugeborenen lässt sich eine Besiedlung feststellen, die im Verlauf abnimmt (45 % im Alter von 8 Wochen, 21 % im Alter von 6 Monaten) [Wertheim et al. 2005]. Außerdem ist die Prävalenz eines Erregernachweises erhöht bei Langzeitkatheterisierung, Diabetikern, Patienten mit Hämö- oder Peritonealdialysepflicht, Patienten mit Leberversagen im Endstadium, HIV-Erkrankten, intravenösen Drogenabhängigen, Übergewichtigen sowie medizinischem Personal, welches den Hauptübertragungsweg im Rahmen nosokomialer Infektionen darstellt [Robert Koch-Institut 2014]. Hautkrankheiten – wie Psoriasis und Ekzeme – und zerebrovaskuläre Erkrankungen scheinen ebenfalls in Zusammenhang mit einer erhöhten Anfälligkeit für eine Besiedlung mit *S. aureus* zu stehen [Chambers 2001; van

Belkum et al. 2009; Wertheim et al. 2005]. Speziell für MRSA nennt die Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) Risikopopulationen für eine Kolonisation mit MRSA sowie Risikofaktoren für eine Infektion mit MRSA, dargestellt in Tab. 2 [Robert Koch-Institut 2014].

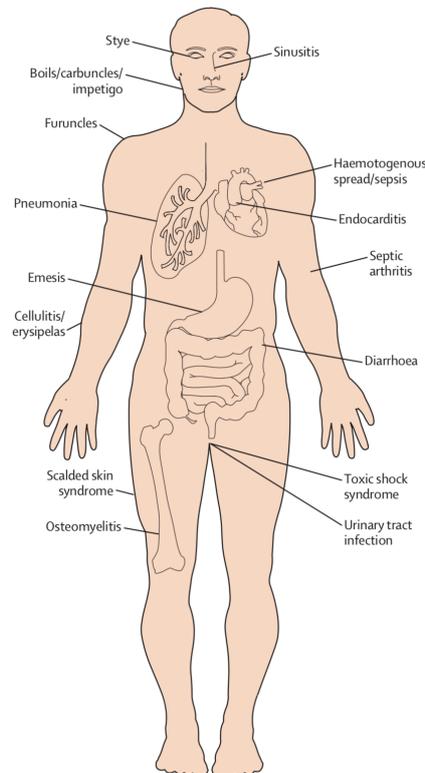
<b>Risikopopulationen für MRSA-Kolonisation</b>	<b>Risikofaktoren für MRSA-Infektionen</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Herkunft aus Bezirken bzw. Institutionen mit erhöhter MRSA-Prävalenz</li> <li>• Dialysepatienten</li> <li>• Innerhalb der vergangenen 12 Monate mindestens ein stationärer Krankenhausaufenthalt über wenigstens 3 Tage</li> <li>• Wiederkehrender Umgang mit MRSA, bspw. bei Krankenhauspersonal oder im Rahmen landwirtschaftlicher Tierhaltung</li> <li>• Kontakt zu MRSA-besiedelten Personen in der Vergangenheit</li> <li>• Chronische Läsionen der Haut und Weichteile</li> <li>• Antibiotische Behandlung innerhalb der vergangenen 6 Monate</li> <li>• Verweilende Katheter bei pflegebedürftigen Patienten</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reduzierte Phagozytenfunktion               <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Diabetiker</li> <li>○ Dialysepatienten</li> </ul> </li> <li>• Alkoholabusus</li> <li>• Hautverletzungen</li> <li>• Invasive Eingriffe, respektive               <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Herz- und Gefäßchirurgie</li> <li>○ Operationen mit Knochenbeteiligung</li> </ul> </li> <li>• Fremdkörper               <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Zentrale iv.-Katheter</li> <li>○ Shunts</li> <li>○ Ports</li> <li>○ Perkutane endoskopische Gastrostomie</li> </ul> </li> <li>• Intensivpatienten, respektive bei               <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Pflegebedarf vor Hospitalisation</li> <li>○ Beatmung</li> <li>○ MRSA in der Krankengeschichte</li> <li>○ Schluckstörungen</li> <li>○ Wunden</li> </ul> </li> </ul>

**Tab. 2: Risikopopulationen für eine MRSA-Kolonisation und Risikofaktoren für eine Infektion durch MRSA [Robert Koch-Institut 2014]**

### 1.1.4. Klinische Manifestationen

Als fakultativ pathogener Erreger löst *S. aureus* durch eine Besiedlung nicht zwingend eine Infektion aus. Voraussetzung dafür ist eine Verletzung der Haut oder der Schleimhautbarriere, z.B. bei Wunden oder durch Fremdkörper, wie unter anderem intravenöse Katheter. Außerdem sind die Virulenz des jeweiligen Erregerstammes, der Immunstatus des Trägers sowie Komorbiditäten entscheidend für den Schweregrad der Infektion [Lowy 1998].

Im weiteren Verlauf werden anhand der **Bakteriämie** – für die *S. aureus* in Industrieländern innerhalb der letzten 20 Jahre hauptverantwortlich ist [Bergin et al. 2017] – und derer Ursachen und Komplikationen die häufigsten Krankheitsbilder erläutert. Einen schematischen Überblick der meisten Erkrankungen zeigt Abb. 7.



**Abb. 7: Von *S. aureus* verursachte Krankheitsbilder** [Wertheim et al. 2005]

*S. aureus* ist für bis zu 20 % der nosokomialen Bakteriämien – also positiven Blutkulturen nach über 48-stündigem Krankenhausaufenthalt – verantwortlich, wobei die nosokomiale *S. aureus*-Bakteriämie (SAB) für ca. 40 – 60 % aller SAB verantwortlich ist. Demgegenüber werden 15 – 25 % der SAB ambulant erworben, 20 – 30 % treten

Gesundheitssystem-assoziiert auf, also bspw. bei ambulanter Vorstellung in Dialysepraxen oder ambulanter Verabreichung von Infusionen sowie in Alten- und Pflegeheimen [Rieg et al. 2011; Yaw et al. 2014].

Einer Untersuchung 500 nosokomialer SAB in den USA zufolge ist MSSA für ca. 60 % und MRSA für ca. 40 % der Fälle verantwortlich [Fakih et al. 2018]. In Europa variieren die Zahlen stark, sodass der MRSA-Anteil zwischen ca. 5 % und 50 % liegt [Robert Koch-Institut 2014]. Eine MRSA-Bakteriämie liegt durchschnittlich doppelt so lange vor wie eine MSSA-Bakteriämie und weist im Vergleich eine signifikant erhöhte Mortalität auf [Cosgrove et al. 2003; Dissemmond 2009; Lee et al. 2018].

**Intravaskuläre Katheter** sind mit 21 % am häufigsten als Ursache für eine Bakteriämie anzusehen [Bergin et al. 2017]. Des Weiteren dienen Fremdkörper wie endotracheale Katheter, Harnwegskatheter, aber auch prothetisches Material als mögliche Eintrittspforten für *S. aureus*. Vereinfacht wird die Adhäsion und Vermehrung auf den Oberflächen dieser Fremdkörper – aber auch auf chronischen Wundinfektionen, die in 70 % der Fälle von *S. aureus* verursacht werden, mit einem MRSA-Anteil von 20 % [Dissemmond 2009] – durch die für *S. aureus* typische Biofilmbildung, welche durch genetische Veränderungen in einigen MRSA-Strängen deutlich verstärkt auftritt [Lee et al. 2018; O'Neill et al. 2007; Vanhommerig et al. 2014]. Studien aus Deutschland machen intravaskuläre Katheter für 33 % aller SAB und 45 % der nosokomialen SAB verantwortlich [Rieg et al. 2011]. Gemäß US-amerikanischen Studien liegt die MRSA-Rate bei durch periphere Venenkatheter induzierten SAB bei 42 % [Austin et al. 2016], bei Zentralvenenkathetern bei 52 % [Sievert et al. 2013]

**Haut- und Weichteilinfektionen** – für die *S. aureus* schon lange als Hauptverantwortlicher gilt [Lowy 1998; Tong et al. 2015] – sind für 18 % der SAB verantwortlich [Bergin et al. 2017]. Bis zum Jahr 2000 war typischerweise MSSA verantwortlich, wenige Jahre später hatte die CA-MRSA-Prävalenz unter den Fällen sich jedoch verdreifacht, sodass MRSA für bis zu 60 % aller Haut- und Weichteilinfektionen in amerikanischen Notaufnahmen verantwortlich gemacht werden konnte [Moran et al. 2006]. Außerdem verdreifachte sich mit dem Auftreten von CA-MRSA auch die generelle Anzahl an Haut- und Weichteilinfektionen; ebenso traten die Infektionen vermehrt bei Patienten ohne klassische Risikofaktoren auf [Tong et al. 2015]. Heute machen Haut- und Weichteilinfektionen 90 % der von CA-MRSA verursachten Infektionen aus [Lee et al. 2018]. Follikulitis, Furunkel und Karbunkel gehören zum Krankheitsspektrum, welche bei Resistenzbildung trotz vermeintlicher Harmlosigkeit

auch gravierende Verläufe verursachen [Rocha et al. 2015] und unter Umständen sogar bis zum Tod führen können [Moellering et al. 2011]. Außerdem können neben der Superinfektion vorbestehender Hautkrankheiten auch primär große Abszesse mit metastatischer Streuung, Phlegmone, Empyembildung – bspw. in Pleura und Gelenken – sowie die lebensbedrohliche nekrotisierende Faszitis auftreten [Hof et al. 2009; Robert Koch-Institut 2016b; Tong et al. 2015]. Einige tiefe Haut- und Weichteilinfektionen werden mit der Bildung des Panton-Valentine-Leukozidins (PVL) in Verbindung gebracht, welches die Fähigkeit zur Ausbreitung erhöht, mit familiären Epidemien tiefer Hauterkrankungen sowie nekrotisierenden Pneumonien mit letalem Verlauf bei anderweitig gesunden Patienten in Verbindung gebracht werden kann und charakteristischerweise, jedoch nicht ausschließlich, von bestimmten CA-MRSA-Stämmen produziert wird [Dissemond 2009; Layer et al. 2018; Monaco et al. 2016; Robert Koch-Institut 2016b].

**Osteoartikuläre Infektionen** können mit ca. 10 % der SAB in Verbindung gebracht werden [Bergin et al. 2017; Rieg et al. 2011]. *S. aureus* ist der häufigste nachgewiesene Keim bei septischer Arthritis, periprothetischen Gelenksinfektionen und Osteomyelitis, welche bei exogener Genese als Ursprung der Bakteriämie und bei hämatogener Genese als Komplikation betrachtet werden kann [Robert Koch-Institut 2016b; Tong et al. 2015]. MSSA dominiert als Erreger osteoartikulärer Infektionen, wobei der MRSA-Anteil hier auch bei bis zu 20 % liegen und zu schwereren Verläufen mit höherer Komplikationsrate führen kann [Bergin et al. 2017; McNeil et al. 2016]. Eine osteoartikuläre Beteiligung entsteht häufig durch **tiefsitzende, metastatische Absiedlungen**, welche alleinstehend zu über 20 % der Komplikationen einer SAB beitragen [Rieg et al. 2011]. Diese führen neben Krankheitsbildern wie Osteomyelitis, Spondylodiszitis und septischer Arthritis u.a. auch zu intramuskulären Abszessen und intraspinalen Empyemen [Seifert et al. 2008]. Tritt im Rahmen einer SAB eine septische Arthritis oder Osteomyelitis auf, kann bei 39 % der MSSA-Infektionen und bei 92 % der MRSA-Infektionen eine zusätzliche Komplikation festgestellt werden [Le et al. 2017].

**Pleuropulmonale Infektionen** sind als Infektionsherd für ca. 4–8 % der SAB verantwortlich [Bergin et al. 2017; Rieg et al. 2011]. *S. aureus* verursacht ca. 1.5–3 % der ambulant erworbenen Pneumonien. MRSA und MSSA sind hierbei – mit den üblichen geographischen Unterschieden – ungefähr in gleichen Teilen vertreten, wenngleich die MRSA-Infektion sich auch im Falle der ambulant erworbenen Pneumonie mit gravierenderer Symptomatik präsentiert [Self et al. 2016; Tong et al. 2015].

Influenza-A-Infektionen bieten ein gutes Reservoir für pulmonale Superinfektionen mit *S. aureus*. Beide Erkrankungen zeigen einen zeitlichen Zusammenhang, wobei *S. aureus*-Pneumonien auch ohne Vorerkrankung als eigenständiges Krankheitsbild in Erscheinung treten können [Robert Koch-Institut 2016b; Self et al. 2016]. Deutlich häufiger schlägt *S. aureus* bei nosokomialen Pneumonien zu Buche. *S. aureus* ist in den USA für über 40 % der nosokomialen und Gesundheitssystem-assoziierten Pneumonien verantwortlich, wo die MRSA-Rate bei etwa der Hälfte liegt [Kollef et al. 2005]. Daten aus Deutschland geben niedrigere MRSA-Raten an (siehe Abb. 8) [Meyer et al. 2014]. Die im Rahmen einiger PVL-bildender CA-MRSA-Stämme vermehrt auftretende nekrotisierende Pneumonie geht mit Letalitätsraten von bis zu 37 % innerhalb 48 Stunden einher [Dissemond 2009].

**Infektiöse Endokarditiden (IE)**, deren Mortalitätsrate bei ca. 30 % liegt [Hoerr et al. 2018], sind eine gefürchtete Komplikation der SAB und können mit insgesamt ca. 10 % aller SAB und mit etwa einem Viertel der ambulanten SAB in Verbindung gebracht werden [Rieg et al. 2011]. *S. aureus* ist mit 15 – 40 % der häufigste Erreger der IE in Industriestaaten und für ca. 40 – 50 % aller nosokomial und ambulant erworbenen IE verantwortlich [Bergin et al. 2017; Hoerr et al. 2018; Tong et al. 2015]. Im Vergleich zu anderen Erregern geht die durch *S. aureus* verursachte IE mit einer ungünstigeren Prognose der Erkrankung einher [Han et al. 2017; Hoerr et al. 2018]. In der Regel ist die IE Folge einer SAB und geht – besonders im Falle einer Rechtsherzbeteiligung – gehäuft mit intravaskulären Fremdkörpern einher [Hoerr et al. 2018; Tong et al. 2015]. Ein Risiko bergen auch Fremdkörper, die direkt mit Endothel in Kontakt geraten: 30 – 50 % der Herzschrittmacher-Patienten entwickeln im Rahmen einer SAB eine CIED-Infektion (*cardiovascular implantable electronic device*), aus welcher sich im Verlauf eine CIED-IE entwickeln kann [Sohail et al. 2015]. IE nach Herzklappentransplantationen werden zu 23 – 26 % von *S. aureus* verursacht [Bergin et al. 2017; Han et al. 2017]. MRSA ist zwar für weniger als ein Viertel aller *S. aureus*-IE verantwortlich [Hill et al. 2008], geht aber auch hier mit erhöhter Mortalität einher [Hill et al. 2008; Miro et al. 2005].

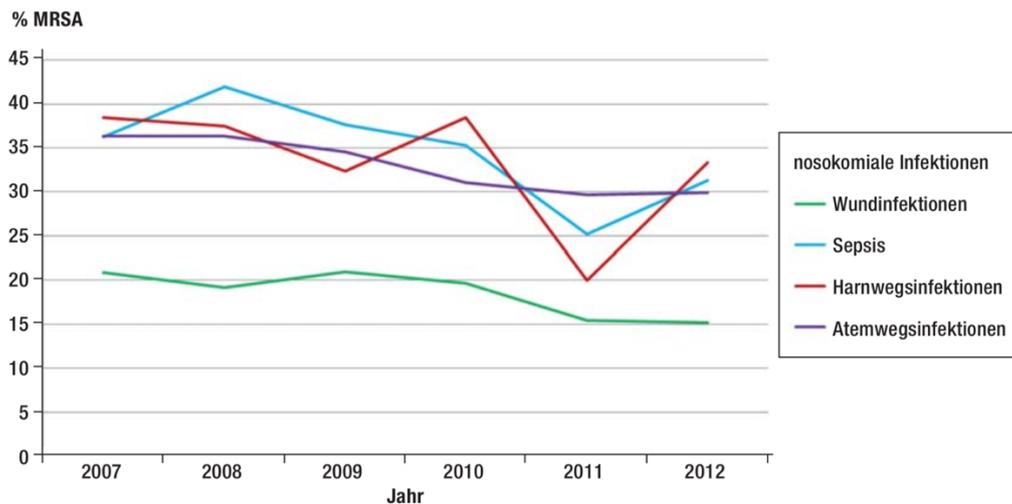
Eine **Meningitis** tritt nur bei ca. 3 % der SAB auf und erfolgt eher sekundär nach neurochirurgischen Eingriffen [Le et al. 2017; Tong et al. 2015]. Infolge einer SAB wird die Krankheit vermehrt ambulant erworben, wird häufiger von MSSA verursacht, geht mit diversen Komorbiditäten einher und weist eine erhöhte Mortalität gegenüber der postoperativen Meningitis auf [Tong et al. 2015]. *S. aureus* ist im Allgemeinen für ca. 5 – 9 % der bakteriellen Meningitiden verantwortlich. MRSA trägt nur zu rund einem

Drittel dieser Infektionen bei, tritt aber vermehrt und mit steigender Tendenz im nosokomialen Umfeld auf und imponiert im Vergleich zur MSSA-Meningitis mit einer Verdopplung der Sterblichkeit [Pintado et al. 2018].

Toxinvermittelte Erkrankungen wie das *Staphylococcal Toxic Shock Syndrome* (TSS) treten in der Regel nicht im Rahmen einer SAB auf. Die Erkrankung trifft einerseits menstruierende Frauen, wobei Tampons als Eintrittspforte für die Bakterien dienen. Es lassen sich außerdem Zusammenhänge mit Haut- und Weichteilinfektionen feststellen [Tong et al. 2015]. MRSA ist für 7 % der menstruationsunabhängigen Fälle verantwortlich und eine im Allgemeinen steigende MRSA-Inzidenz scheint keine Auswirkungen auf das Auftreten von TSS zu haben [DeVries et al. 2011].

**Harnwegsinfektionen** (HWI) werden nur in 1 – 3 % der Fälle von *S. aureus* ausgelöst und gehen in der Regel mit Harnwegskatheterisierung einher [Flores-Mireles et al. 2015]. Eine *S. aureus* Bakteriurie kann in bis zu 34 % kombiniert mit einer SAB auftreten, wobei nur ca. 30 % dieser Patienten eine symptomatische HWI entwickeln. Die SAB kann hierbei sowohl eine Komplikation als auch die Ursache der Bakteriurie darstellen [Karakonstantis et al. 2018]. Studien aus Japan und den USA zeigen HWI-assoziierte MRSA-Raten von 68 % und 59 % [Araki et al. 2002; Sievert et al. 2013]. Für Daten aus Deutschland siehe Abb. 8 [Meyer et al. 2014].

In der Gesamtheit liegt die Sterblichkeit einer SAB bei 15 – 40 % [Bergin et al. 2017; Kaech et al. 2006; van Hal et al. 2012; Vogel et al. 2016], wobei die Mortalität im Falle der MRSA-Bakteriämie noch höher ausfällt [Cosgrove et al. 2003; Fakhri et al. 2018; Kaech et al. 2006; Le et al. 2017; Robert Koch-Institut 2014; Yaw et al. 2014]. Bis zu 25 % der SAB lässt sich kein Infektionsherd zuordnen [Bergin et al. 2017; Rieg et al. 2011; Tong et al. 2015], in ambulant erworbenen SAB werden Werte von bis zu 52 % erreicht [Kaech et al. 2006]. Ein unbekannter Fokus erhöht das Risiko für die Entwicklung eines **septischen Schocks** [Heizmann et al. 2005] – welcher in bis zu 24 % aller SAB auftritt [Rieg et al. 2011] – und verschlechtert, wie der septische Schock selbst auch, die Prognose der SAB [Kaech et al. 2006]. Weitere Risikofaktoren für einen tödlichen Ausgang – aber auch für die Ausbildung einer SAB – sind Alter, Immunsuppression, akutes Nierenversagen und Hämodialyse [Kaech et al. 2006; Tong et al. 2015].



**Abb. 8: MRSA-Anteile an nosokomial erworbenen Infektionen im zeitlichen Verlauf von 2007 – 2012 in Deutschland**

gemäß Daten des Krankenhaus-Infektions-Surveillance-Systems (KISS) [Meyer et al. 2014]

### 1.1.5. Prävention

#### 1.1.5.1. Basismaßnahmen

Um die Verbreitung von MRSA einzudämmen und Infektionen vorzubeugen, werden in Deutschland von der KRINKO wiederkehrend aktualisierte Leitlinien entwickelt und vom Robert Koch-Institut veröffentlicht, anhand derer die folgenden Kapitel erläutert werden. Die Einhaltung dieser Richtlinien ist „für Krankenhäuser und Einrichtungen für ambulantes Operieren“ „gemäß § 23 Abs. 4 in Verbindung mit § 4 Abs. 2 Nr. 2 Buchstabe b Infektionsschutzgesetz (IfSG)“ verpflichtend [Infektionsschutzgesetz 2000; Robert Koch-Institut 2013; Robert Koch-Institut 2014]. Auf internationaler Ebene finden sich vergleichbare Programme [Kalenic et al. 2010; Siegel et al. 2007].

Die grundlegendste und bedeutendste dieser Maßnahmen ist die Einhaltung der Basishygiene. Diese umfasst unter anderem die Händehygiene, welche bei konsequenter Durchführung gemäß Leitlinie eine deutliche Reduktion der Keimübertragung und konsekutiver Infektionen zufolge hat [Barnett et al. 2014; Girou et al. 2006; Guilhermetti et al. 2001; Robert Koch-Institut 2016a]. Einer Studie aus England und Wales zufolge konnte nach Einführung eines nationalen Programms zur Händehygiene die SAB-Inzidenz pro 10 000 Betttagen von 1.88 auf 0.91 gesenkt werden [Stone et al. 2012]. Eine fundamentale Rolle spielt hierbei die alkoholische Händedesinfektion [Lee et al. 2018].

Außerdem beinhaltet die Basishygiene die Flächendesinfektion mit alkoholischen Präparaten [Dissemond 2009], den fachgerechten Umgang mit benutzten Medizinprodukten, Krankenhauswäsche, Geschirr und der Beseitigung von Abfall sowie das Einhalten von Kleiderordnungen. Die jeweiligen Schritte zu den einzelnen Unterpunkten werden von der KRINKO in zugehörigen Richtlinien instruiert [Robert Koch-Institut 2004; Robert Koch-Institut 2007; Robert Koch-Institut 2012; Robert Koch-Institut 2016a].

Neben der Basishygiene liefert die KRINKO ausführliche Leitfäden zur MRSA-Bekämpfung für verschiedene Einrichtungen und Situationen. Um eine wirksame Prävention zu leisten, ist eine kompetente ärztliche Einschätzung der Risiken betreffend Besiedlung, Ansteckungsraten und Infektionen durch MRSA in Bezug auf die Umstände der jeweiligen Gesundheitseinrichtung unabdinglich. Im Allgemeinen umfasst diese Risikoanalyse, neben strikter Compliance bzgl. der Basishygiene, die Durchführung von Screeninguntersuchungen (siehe Kap. 1.1.5.2.) zur frühen Identifizierung MRSA-kolonisierter Patienten. Bei positiven Befunden muss die Basishygiene mit angepassten Sicherheitsvorkehrungen ergänzt werden, bevor eine Dekolonisierung erfolgen kann (siehe Kap. 1.1.5.3.). Diese Sicherheitsvorkehrungen haben die Isolation betroffener Patienten in Einzelzimmern sowie den Einsatz von Schutzbekleidung bei Kontakt mit kolonisierten Patienten zur Folge. Die KRINKO verweist hier auf eine Studie von Marshall et al., der zufolge ebendiese Vorsichtsmaßnahmen einen Rückgang der Übertragungsrate um 60 % erzielen konnten [Marshall et al. 2013]. Die Wirksamkeit von Isolationsmaßnahmen wird jedoch aufgrund diverser Studien, welche keinen klaren Vorteil durch Isolation von Patienten dokumentieren konnten, kontrovers diskutiert [Cepeda et al. 2005; Fätkenheuer 2016; Fazal et al. 1996].

Um eine gute Compliance bzgl. der Richtlinien sicherzustellen, müssen Schulungen des Personals und bei MRSA-positiven Befunden eine Aufklärung der betroffenen Patienten und derer Besucher erfolgen. Außerdem dürfen medizinische Instrumente, wie bspw. Stethoskope, ausschließlich für die jeweiligen Patienten verwendet oder müssen unmittelbar nach der Anwendung gründlich desinfiziert werden. [Robert Koch-Institut 2014].

Ferner schreiben die Präventionsmaßnahmen einen adäquaten Einsatz von Antibiotika vor, um der Ausbildung neuer Resistenzen vorzubeugen. Die hierfür benötigte Herangehensweise wird, in Zusammenarbeit mit der Kommission Antiinfektiva, Resistenz und Therapie (ART) des RKI, von der Arbeitsgemeinschaft der

Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e. V. (AWMF) in der S3-Leitlinie „Strategien zur Sicherung rationaler Antibiotika-Anwendung im Krankenhaus“ erläutert und umfasst detaillierte Vorgaben bzgl. angemessener Antibiotikavergabe [Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e. V. 2019; Robert Koch-Institut 2014].

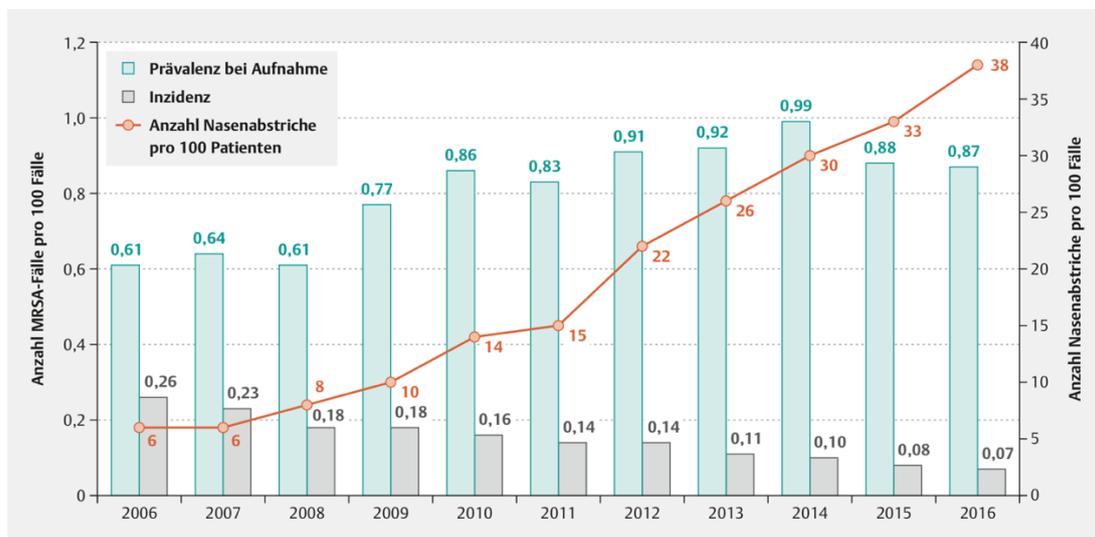
### 1.1.5.2. Screening

Als MRSA-Screening bezeichnet man die routinemäßige Reihenuntersuchung asymptomatischer Patienten mittels Abstrichen und mikrobiologischer oder molekularbiologischer Diagnostik (siehe Kap. 1.1.5.2.1.). Einerseits kann auf diese Weise eine Besiedlung festgestellt werden, bevor sich eine manifeste Infektion entwickelt. Hauptziel des Screenings ist es jedoch, nach der Identifikation von MRSA-Trägern bereits frühzeitig Maßnahmen, wie die Isolation des Patienten mit den einhergehenden Sicherheitsvorkehrungen, zu treffen, um eine weitere Übertragung und Ausbreitung des Keims zu verhindern. Außerdem können Schritte zur Dekolonisierung eingeleitet werden.

In Krankenhäusern empfiehlt die KRINKO im Rahmen der Patientenaufnahme ein Screening gemäß ärztlicher Einschätzung bezüglich des Risikos einzelner Patienten, der Rahmenbedingungen des Krankenhausaufenthalts sowie den Umständen der jeweiligen Station. In jedem Fall sollten jedoch Risikopopulationen mit Herkunft aus bekanntlich MRSA-prävalenteren Bezirken bzw. Institutionen geprüft werden. Liegen weitere Risikofaktoren für eine Keimbesiedlung vor, empfiehlt sich eine zeitlich getrennte Screeninguntersuchung bereits vor der Aufnahme ins Krankenhaus im Rahmen prästationärer Untersuchungen. Das Screening selbst sollte zumindest Abstriche der beiden Nasenvorhöfe beinhalten. Bestehen Wunden, ist auch dort ein Abstrich zu entnehmen. Um die Sensitivität der Ergebnisse zu erhöhen, ist ein Abstrich weiterer Prädilektionsstellen wie des Rachens, des Perineums und der Leiste zweckdienlich. Zusätzliche Rachenabstriche weisen hierbei den größten Nutzen auf [Robert Koch-Institut 2014].

Anhand Daten der KISS veranschaulicht Abb. 9 den Zusammenhang zwischen Aufnahmescreening mittels Nasenabstrich, der zugehörigen MRSA-Prävalenz bei Patientenaufnahme sowie der Inzidenz erstmals diagnostizierter MRSA-Kolonisation im Rahmen des stationären Aufenthalts. Eine Erhöhung der Anzahl an Screening-Abstrichen

steht in Zusammenhang mit erhöhter Detektion einer Besiedlung bei der Aufnahme. Folglich sinkt auch die Inzidenz nosokomial erworbener Besiedlungen [Maechler 2018].



**Abb. 9: MRSA-Prävalenz bei Aufnahme im Zusammenhang mit der Anzahl der Nasenabstriche pro 100 Patientenaufnahmen sowie der Inzidenz nosokomial erworbener MRSA-Besiedlung von 2006 – 2016**  
*anhand Daten des KISS [Maechler 2018]*

Salgado et al. konnten in einer Studie feststellen, dass ohne Aufnahmescreening bis zu 85 % der MRSA-Besiedlungen nicht erkannt werden, was eine vermehrte Nichtisolation kontaminierter Patienten und konsekutiv eine erhöhte MRSA-Transmission zufolge hat [Salgado et al. 2006].

In welchem Umfang das Screening stattfinden sollte, ist in der Literatur umstritten. Allgemein kann zwischen gezieltem und universellem Screening unterschieden werden. Das gezielte Screening schließt verschiedene Stationen mit erhöhtem MRSA-Risiko – also z. B. Intensiv-, chirurgische oder nephrologische Stationen – oder, ggf. in Kombination, je nach Einrichtung bzw. Lokalisation festgelegte Risikopopulationen ein. Demgegenüber steht das universelle Screening, in dessen Rahmen jeder neu aufgenommene Patient auf MRSA untersucht wird. Außerdem werden Isolierungsmaßnahmen bei jedem Patienten mit MRSA in der Anamnese diskutiert, bis ein negatives Ergebnis vorliegt. Zeitlich kann das Screening entweder prästationär – also in ausreichendem Abstand vor der Aufnahme, um ggf. rechtzeitig Dekolonisierungsmaßnahmen einzuleiten und eine kostenaufwendige Isolierung zu verhindern – oder am Tag des Krankenhauseintritts erfolgen [Bartels et al. 2008; Girndt

2016; Robert Koch-Institut 2014]. Prästationäres Screening mit anschließender Dekolonisierung scheint eine sowohl klinisch, als auch finanziell effektive Methode zu sein [Bartels et al. 2008].

Die Effektivität des universellen Screenings wiederum wird kontrovers diskutiert. Während manche Studien dem universellen Screening im Vergleich zum gezielten Screening eine signifikante Erhöhung der MRSA-Detektion sowie eine Reduktion des Auftretens nosokomialer MRSA-Infektionen um mitunter mehr als die Hälfte zusichern [Diller et al. 2008; Lawes et al. 2012; Robicsek et al. 2008], berichten andere Studien lediglich von einer Erhöhung der detektierten MRSA-Prävalenz, ohne die Infektionsrate zu senken [Harbarth et al. 2008; Leonhardt et al. 2011]. Dies könnte jedoch in Zusammenhang mit ohnehin niedrigen Infektionsraten in der jeweiligen Institution stehen, weshalb vor der Implementierung eines universellen Screenings die lokale Situation evaluiert werden sollte [Harbarth et al. 2008]. Das größte Argument gegen das universelle Screening bleibt jedoch die wirtschaftliche Ineffizienz aufgrund hoher Begleitkosten im Vergleich zum gezielten Screening [Harbarth et al. 2008; Leonhardt et al. 2011; Robotham et al. 2016], wobei auf Risikostationen sowie im Rahmen eines MRSA-Ausbruchs auch ein ökonomischer Nutzen entstehen kann [Hubner et al. 2015]. Das gezielte Screening wiederum wird von verschiedenen Studien nicht nur aufgrund der klinischen Wirksamkeit, sondern auch wegen des ökonomischen Mehrwerts anerkannt [Bartels et al. 2008; Carr et al. 2018; Tubbicke et al. 2012a].

#### 1.1.5.2.1. Erregernachweis

##### **Kultureller Erregernachweis**

Gemäß KRINKO ist der Erregernachweis mittels Anlage einer Bakterienkultur maßgeblich im Hinblick auf die MRSA-Diagnostik, da hiermit ein Nachweis aus den relevanten klinischen Proben und eine Resistenztestung auf Antibiotika ermöglicht wird. Außerdem sind weiterführende Analysen wie eine Typisierung für epidemiologische Untersuchungen sowie der Nachweis von Virulenzfaktoren durchführbar [Robert Koch-Institut 2014].

Mikrobiologische Kulturen können beispielsweise aus routinemäßig entnommenen Abstrichen, aber auch – je nach klinisch vermutetem Infektionsherd – aus Wundabstrichen, Blutkulturen, entfernten Kathetern, Liquorproben, respiratorischen Materialien, diversen invasiv oder nicht-invasiv gewonnenen Körperflüssigkeiten, Punktaten oder Gewebeproben angelegt werden. Maßgeblich für die Aussagekraft der

Kulturergebnisse ist hierbei die korrekte Entnahme der Proben. Bei klinischem Verdacht auf eine Infektion sollten jegliche Proben vor Beginn einer antibiotischen Therapie gewonnen werden. Auch die Lagerung und der Transport der Proben haben ausschlaggebende Auswirkungen auf die diagnostische Wertigkeit. Zur korrekten Gewinnung, Lagerung und Transportierung sollten die Vorgaben der entsprechenden Labore genauestens beachtet werden [Weißgerber 2013].

Der Nachweis des Erregers erfolgt durch Übertragung der entsprechenden Probe in flüssige oder feste Nährmedien. Ein Nachweis von *S. aureus* kann mikroskopisch (Darstellung grampositiver Kokken in Haufen) sowie durch verschiedene Tests zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Kultivierung erfolgen, beispielsweise durch Nachweis der durch das Bakterium produzierten Koagulase (mit einer Spezifität von 99.9 %), hitzeresistenter DNase oder durch Agglutinationstest, basierend auf der Expression des Verklumpungsfaktors oder des Protein A [Brown et al. 2005; Robert Koch-Institut 2016b].

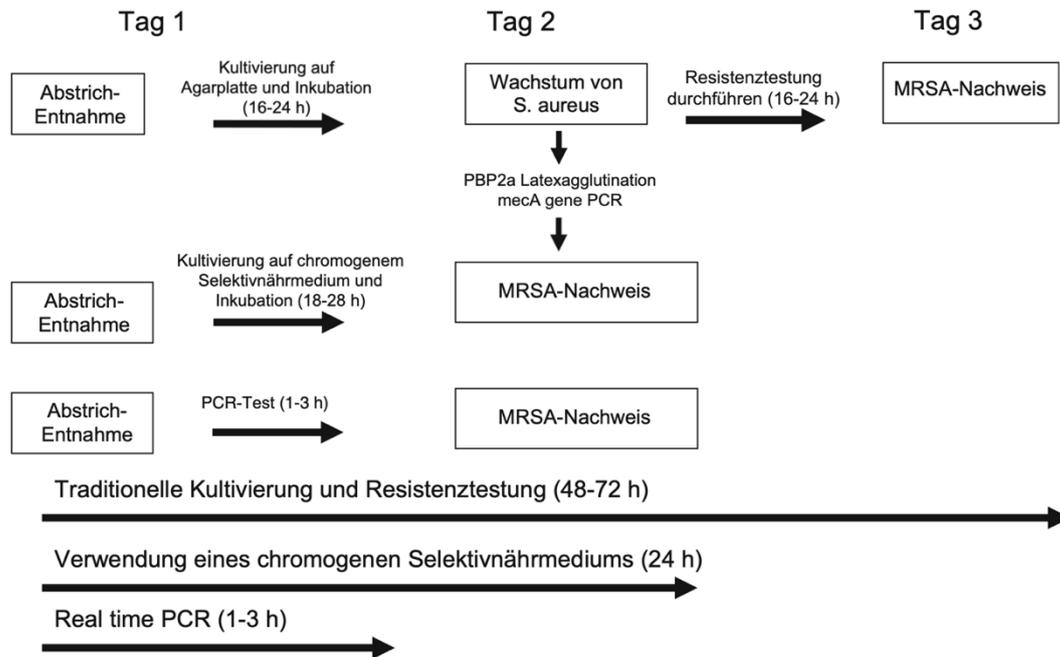
Nach 16 – 24 Stunden Bebrütungszeit kann der Nachweis der Methicillin-Resistenz mithilfe der Methicillin-analog wirksamen Antibiotika Oxacillin oder Cefoxitin erfolgen. Beide Antibiotika können zur Verdünnung von flüssigen und festen Nährmedien verwendet werden, während Cefoxitin auch für Plattendiffusionstests auf festen Nährmedien verwendet wird. Wie viele Bakterien nach Zugabe des jeweiligen Antibiotikums überleben, kann bei der Verdünnungsmethode durch Bestimmen der minimalen Hemmkonzentration und beim Plattendiffusionstest durch Messen des Hemmhofs abgeleitet werden. Somit kann eine Differenzierung in sensible, intermediär resistente und resistente Bakterien erfolgen [Brown et al. 2005; Palavecino 2014a]. Zwischen Probenentnahme und definitivem Resultat vergehen 2 – 3 Tage (siehe Abb. 10), die durchschnittliche Sensitivität der klassischen Kultivierung kann mit 89 – 94 % beziffert werden, die Spezifität mit 93 – 94 % [Binti Abdul Halim et al. 2016; Wagener et al. 2014].

Innovative, auf dem kulturellen Erregernachweis basierende Methoden zum schnelleren MRSA-Nachweis stellen unter anderem chromogene MRSA-Selektivnährmedien dar. Diese enthalten verschiedene selektive Wirkstoffe, welche ausschließlich das Wachstum von MRSA erlauben oder MRSA-Stämmen eine spezielle Färbung verleihen. Sie werden vor allem im Screening eingesetzt, ermöglichen eine direkte und selektive MRSA-Identifikation innerhalb von 18 – 28 Stunden und weisen, je nach Hersteller, eine Sensitivität und Spezifität von bis zu 96 % und 95 % auf [Brown et al. 2005; Palavecino

2014b; Tubbicke et al. 2012b]. Eine weitere Möglichkeit zur beschleunigten Diagnostik von MRSA nach erfolgter Kultivierung von *S. aureus* ist die Durchführung eines auf der Expression des PBP2a beruhenden Latexagglutinationstest. Es handelt sich hierbei um Teststreifen, welche Latexpartikel mit monoklonalen Antikörpern gegen PBP2a enthalten und gemeinsam mit vom Nährmedium abgestrichenen *S. aureus*-Kolonien in eine Lösung gegeben werden. Eine Agglutination und somit ein positives Ergebnis ist nach 5 – 10 Minuten ersichtlich, mit einer Sensitivität und Spezifität von bis zu 100 %. Die Methode kann jedoch nicht auf allen gängigen Nährmedien verlässliche Ergebnisse liefern [Brown et al. 2005; Louie et al. 2000; Palavecino 2014b; Sakoulas et al. 2001].

### **MRSA-Direktnachweis mittels PCR**

Eine neuere Methode zum Nachweis von MRSA ist die Detektion des für die Methicillin-Resistenz verantwortlichen *mecA*-Gens anhand einer Polymerasekettenreaktion (PCR). Das *mecA*-Gen ist auch bei methicillinresistentem *S. epidermidis* nachweisbar, sodass zur Erkennung von MRSA noch für *S. aureus* spezifische Sequenzen des *nuc*-Gens nachgewiesen werden. Dementsprechend kann bei nachgewiesenem *mecA*- und *nuc*-Gen von einer MRSA-Besiedlung ausgegangen werden [Weißgerber 2013]. PCR-Verfahren bringen den Vorteil, dass die Ergebnisse innerhalb von 1 – 5 Stunden vorliegen, während mittels konventioneller Diagnostik anhand mikrobiologischer Kultivierung 2 – 3 Tage oder länger bis zur Ergebniseinsicht vergehen (siehe Abb. 10) [Hell et al. 2016; Palavecino 2014b; Robert Koch-Institut 2014].



**Abb. 10: Zeitlicher Ablauf verschiedener Methoden zum MRSA-Nachweis**  
 modifiziert nach [Palavecino 2014b]

Eine PCR-Analyse kann als MRSA-Direktnachweis aus Abstrichmaterial erfolgen. Diese zwar deutlich schnellere Methode ist jedoch der PCR-Untersuchung von *S. aureus*-Isolaten aus einer angelegten Kultur unterlegen, wo die Sensitivität und Spezifität mit jeweils 100 % beziffert wird [Elsayed et al. 2003; Reischl et al. 2000; Warren et al. 2004]. Je nach Hersteller der Testgeräte zur PCR-Analyse liegen die Werte eines Direktnachweises bei einer Sensitivität von 86 – 100 % und einer Spezifität von 89 – 100 %. Negativ prädiktive Werte variieren zwischen 97 % und 100 %, während positiv prädiktive Werte teilweise nur bei 60 – 100 % liegen, was hohe Risiken falsch positiver Befunde mit sich bringt, weshalb bei positivem Nachweis stets eine zusätzliche Kultivierung erfolgen muss [Hell et al. 2016]. Ein systematisches Review berichtet unter Einbezug von Studien aus zahlreichen Ländern, dass konventionelle Kultivierung mit einer durchschnittlichen Sensitivität und Spezifität von 94 % und 95 % vergleichbar mit Ergebnissen des PCR-Direktnachweises sind, welche eine mittlere Sensitivität und Spezifität von 94 % und 97 % aufweisen [Binti Abdul Halim et al. 2016]. Ein universelles Screening mittels PCR-Analyse ist im Vergleich zur konventionellen Kultivierung eine sehr teure und ökonomisch ineffiziente Methode [Dancer 2008; Hubben et al. 2011], besonders in Regionen mit allgemein niedriger MRSA-Rate [Köck et al. 2014]. Lediglich im gezielten Screening scheint die PCR-Analyse wirtschaftlich

effizient zu sein [Tubbicke et al. 2012a]. Gemäß KRINKO eignet die PCR-Analyse sich zwar für Screening-Verfahren, wobei Ergebnisse erst nach Vorliegen eines kulturellen Verfahrens als definitiv angesehen werden dürfen und die Kultur bei widersprüchlichen Ergebnissen entscheidend ist. Für MRSA-Nachweise im Rahmen von Infektionen und Dekolonisierungskontrollen wird die PCR-Analyse als untauglich bezeichnet [Robert Koch-Institut 2014].

### 1.1.5.3. Dekolonisierung

Um eine wirksame Prävention zu leisten, sollte bei MRSA-positiven Patienten stets eine Dekolonisierung, also Eradikation des Keims, evaluiert werden. Diese kann nicht nur der Ausbildung einer manifesten Infektion vorbeugen, sondern darüber hinaus eine weitere Übertragung des Keims verhindern.

Aufgrund der Gefahren neuer Resistenzentwicklungen und dem Verlust epidemiologischer Daten wird von einer universellen Dekolonisierung ohne vorausgehendes Screening seitens der KRINKO abgeraten. Die Indikation der Dekolonisierung sollte vielmehr bei nachgewiesener MRSA-Trägerschaft individuell beurteilt werden. Vor geplanten Operationen bzw. Interventionen sowie im Rahmen intensivmedizinischer Betreuung ist eine Dekolonisierung bei nachgewiesenen MRSA-Trägern in jedem Fall empfohlen, sogar beim Vorliegen dekolonisierungshemmender Faktoren, wie beispielsweise chronischer Wunden und einliegender Fremdkörper [Robert Koch-Institut 2014]. Zumindest bei intensivstationären Patienten scheint jedoch die universelle Dekolonisierung aller Patienten effektiver als eine gezielte Dekolonisierung nach positivem Screeningbefund zu sein [Huang et al. 2013].

Als Mittel der Wahl zur topischen Dekolonisierung der Nase dient Mupirocin-Salbe, welche vergleichbare Erfolge in der Eradikation von MRSA und MSSA-Trägern zeigt [Ammerlaan et al. 2009]. Hierbei handelt es sich um ein bakteriostatisches Antibiotikum, welches einer wiederholten Anwendung über einen Zeitraum von 4 – 7 Tagen bedarf und eine kurzfristige Eradikationsrate von 90 % eine Woche nach Therapieende sowie einen langfristigen Therapieerfolg von 60 % bis zu ein Jahr nach Abschluss der Applikation erzielen konnte.

Auch wenn Mupirocin-Resistenzen sich in Deutschland tendenziell rückläufig zeigen (siehe Tab. 1), berichtet eine Studie aus den USA von einer Resistenzrate in bis zu über 30 % der untersuchten Fälle, wobei sich ein Zusammenhang mit vorhergehender

Mupirocin-Applikation in der Vergangenheit zeigt [Antonov et al. 2015]. Bei Vorliegen einer Mupirocin-Resistenz kommen zur nasalen Anwendung vorwiegend antiseptische Lösungen zum Einsatz [Robert Koch-Institut 2014].

Eine alleinige nasale Dekolonisierung scheint im Rahmen endemischer MRSA-Infektionsgeschehen mit MRSA-Kolonisation an verschiedenen Körperstellen jedoch nicht zielführend [Harbarth et al. 1999]. Die KRINKO empfiehlt eine lokale Keimeradikation zu etablieren, welche zumindest auf Nase, Rachen und Haut abzielen sollte [Robert Koch-Institut 2014].

Zur Dekolonisierung des Rachens wird das Gurgeln von Octenidin, Triclosan und Chlorhexidin empfohlen. Zur Dekolonisierung intakter Haut eignen sich Desinfektionswaschungen mit Chlorhexidin, Octenidin, Polihexanid sowie Iodophore. Eine Kolonisierung chronischer Wunden kann neben Octenidin und Polihexanid mit Silber sowie Povidin-Iod behandelt werden. Sämtliche der genannten Maßnahmen sollten ein- bis dreimal täglich für mindestens fünf Tage angewandt werden. Zudem sollte eine tägliche Desinfektion der Umgebung sowie der Gebrauchsgegenstände betroffener Patienten erfolgen [Dissemond 2009; Robert Koch-Institut 2014]. Außerdem wird auch der Einsatz von Mupirocin-Salbe an besiedelten Körperstellen außerhalb der Nase diskutiert [Wagener et al. 2014].

Jedoch muss auch eine Dekolonisierung mittels Antiseptika kritisch betrachtet werden, da hier ebenfalls die Möglichkeit von Resistenzentwicklungen besteht, Nebenwirkungen wie Hautirritationen auftreten können und zuletzt auch kontroverse Angaben in der Literatur über den Kosten-Nutzen-Faktor der universellen gegenüber der gezielten Dekolonisierung mit Antiseptika vorliegen [Gidengil et al. 2015; Hardy et al. 2018; Schlotthauer et al. 2017; Tubbicke et al. 2012b].

Von einer standardisierten Dekolonisierung mittels systemischer Antibiotikagabe wird abgeraten [Robert Koch-Institut 2014]. Systemische Therapien können kurzfristig lediglich in 60 % und langfristig nur in 50 % einen Therapieerfolg verzeichnen, während gleichzeitig eine höhere Resistenzentwicklung entsteht. Eine systemische Therapie sollte stets resistenzgerecht erfolgen und nur angewandt werden, wenn dekolonisierungshemmende Faktoren sowie eine Mupirocin-Resistenz vorliegen oder eine vorhergehende topische Dekolonisierung keinen Erfolg erzielen konnte [Ammerlaan et al. 2009; Robert Koch-Institut 2014].

Eine erste Kontrolle des Dekolonisierungserfolgs sollte zwei bis drei Tage nach Beenden der Dekolonisierung durchgeführt werden, wobei erst bei Vorliegen dreier negativer

Abstriche im Abstand von mindestens 24 Stunden aus Lokalisationen mit vormals positiven Abstrichen von einer erfolgreichen Eradikation ausgegangen werden kann [Dissemond 2009]. Es wird jedoch diskutiert, dass die Durchführung von drei Abstrichen im Abstand von drei bis vier Stunden an nur einem Tag die gleiche Verlässlichkeit zur Bestätigung einer erfolgreichen Dekolonisierung bietet. Aufgrund der kürzeren Dauer und somit vereinfachten Durchführung der Dekolonisierungskontrolle soll hierdurch eine erhöhte Compliance, eine schnellere Entisolierung von Patienten und somit auch ein ökonomischer Vorteil erreicht werden [Frickmann et al. 2018].

#### 1.1.5.4. Praktische Anwendung von Präventionsmaßnahmen

In welchem Rahmen Präventionsmaßnahmen durchgeführt werden sollten und welche Effekte sie erzielen, lässt sich nicht einheitlich definieren. Es bedarf individueller Ansätze entsprechend der lokalen epidemiologischen Situation, dem Leistungsspektrum der jeweiligen Institution und letztendlich dem einzelnen Patienten und seiner Komorbiditäten. Zur Etablierung eines passenden Konzepts existieren Modelle wie die vertikale und horizontale Prävention. Die horizontale Prävention zielt auf eine breite Abdeckung von Krankheitserregern ab, ohne auf spezifische Keime oder Situationen einzugehen. Sie umfasst beispielsweise die Basishygiene, beinhaltet jedoch auch Ansätze wie universelles Screening und Dekolonisieren, während die vertikale Prävention sich an individuellen Umständen orientiert und erregerspezifischer agiert und beispielsweise die gezielte Suche nach bestimmten Keimen und folglich eine Isolation und gezielte Dekolonisierung zur Konsequenz hat. Den jeweiligen aktuellen Umständen und Anforderungen entsprechend sollte eine angepasste Kombination aus horizontaler und vertikaler Prävention unter regelmäßiger Evaluation der Vor- und Nachteile einzelner Maßnahmenpakete umgesetzt werden, während evidenzbasierte Basismaßnahmen durch regelmäßige Schulungen und Kontrollen konsequent realisiert werden müssen [Schlotthauer et al. 2017].

#### 1.1.6. Therapie manifester Infektionen

Liegt eine symptomatische Infektion mit *S. aureus* vor, muss je nach Manifestationsort und Schweregrad der Infektion die Etablierung systemischer antibiotischer Therapien sowie gegebenenfalls eine invasive Fokussanierung und die Entfernung liegender Fremdkörper evaluiert werden. So kann beispielsweise im Rahmen von Haut- und

Weichteilinfektionen bei lokal begrenzten Abszessen eine chirurgische Sanierung ohne zusätzliche antibiotische Therapie eine abschließende Behandlung darstellen, während kompliziertere Infektionen mit systemischen Entzündungszeichen einer zusätzlichen systemischen Therapie bedürfen, respektive bei Vorliegen relevanter Komorbiditäten [Liu et al. 2011; Morgan 2011].

Ob eine empirische antibiotische Therapie mit Abdeckung von MRSA verabreicht werden sollte, muss entsprechend der Risikofaktoren der jeweiligen Patienten und Institutionen sowie der lokalen MRSA-Prävalenz individuell entschieden werden [Wagner et al. 2014]. Ebenso müssen die Therapiedauer sowie die Art der Verabreichung – intravenös oder peroral – von der Lokalisation und Ausprägung der Infektion abhängig gemacht werden, wobei eine Therapiedauer von mindestens 7 – 10 Tagen anzustreben ist [Dissemond 2009]. In jedem Fall sollte vor Beginn einer systemischen antibiotischen Therapie eine Kultivierung erfolgen, um die Therapie im Verlauf resistenzgerecht anpassen zu können [Lee et al. 2018].

Lokal begrenzte, MRSA-assoziierte Haut- und Weichteilinfektionen können beispielsweise primär peroral behandelt werden. Bei schwerwiegenden Infektionen sollte die perorale Therapie jedoch erst nach Vorliegen mikrobiologischer Befunde als resistenzgerechte Deeskalation einer empirischen intravenösen Therapie angewandt werden [David et al. 2017; Lee et al. 2018].

Die adäquate Therapie einer *S. aureus*-Infektion stellt eine komplexe Herausforderung im klinischen Alltag dar. Es bedarf eines gut abgewogenen Zusammenspiels aus Fokussanierung und angemessener antibiotischer Therapie unter Einbezug individueller Faktoren des Patienten und der lokalen Gegebenheiten sowie regelmäßiger Überprüfung des Therapieerfolgs. Während bei MSSA-Infektionen in erster Linie  $\beta$ -Lactam-Antibiotika angewandt werden sollten, sind die Therapiemöglichkeiten bei MRSA-Infektionen deutlich komplexer. Eine zusammenfassende Darstellung der antibiotischen Therapiemöglichkeiten einer MRSA-Infektion bietet Tab. 3 anhand der gängigsten Krankheitsbilder.

Syndrom	Vancomycin	Cotrimoxazol <sup>1</sup> (ggfs. hochdosiert)	Daptomycin	Clindamycin <sup>1</sup>	Linezolid	Rifampicin <sup>2</sup>	weitere Substanz <sup>1</sup> als Alternative
unkomplizierte Haut-/ Weichgewebsinfektion		Empfehlung		Empfehlung	Alternative	ggfs. zusätzlich	Doxycyclin, Minocyclin
komplizierte Haut-/ Weichgewebsinfektion	Empfehlung		Empfehlung	Alternative	Empfehlung	ggfs. zusätzlich	
komplizierte intraabdominale Infektion	schlechte Gewebs- penetration <sup>3</sup>		Alternative <sup>3,4</sup>		Alternative <sup>3,4</sup>		Tigecyclin, Empfehlung? <sup>5</sup>
Pneumonie	Empfehlung		nicht empfohlen <sup>6</sup>	Alternative	Empfehlung		
Bakteriämie/Nativklappen- endokarditis	Empfehlung als Monotherapie		Alternative			nicht empfohlen	
Kunstklappenendokarditis	Empfehlung mit Rifampicin					immer zusätzlich	initial 2 Wochen mit Gentamicin
Osteomyelitis/ septische Arthritis	Empfehlung	Alternative mit Rifampicin	Alternative <sup>4</sup>	Alternative +/- Rifampicin	Alternative +/- Rifampicin	ggfs. zusätzlich	Doxycyclin oder Fluorchinolon + Rifampicin für Langzeittherapie
ZNS-Infektion	Empfehlung	Alternative			Alternative	ggfs. zusätzlich	

**Tab. 3: Empfohlener Einsatz und Limitationen ausgewählter Antibiotika für die MRSA-Therapie [Wagener et al. 2014]**

<sup>1</sup> Resistenztestung beachten, <sup>2</sup> nie als Monotherapie, <sup>3</sup> nur in Kombination mit Therapie gegen Gram-negative Keime, <sup>4</sup> keine Zulassung in Deutschland, <sup>5</sup> kontrovers diskutierte Stellungnahmen, <sup>6</sup> Inaktivierung durch Surfactant

## 1.2. VOCs

Der englische Begriff VOC (*volatile organic compounds*) beschreibt flüchtige organische Verbindungen, welche als Stoffwechselprodukte von Organismen in die Umgebung ausgestoßen werden. VOCs sind als Resultat von physiologischen Stoffwechselfvorgängen für den individuellen Geruch eines Organismus verantwortlich. Von Bakterien produzierte VOCs sind auch für den typischen Geruch diverser Lebensmittel, wie beispielsweise Käse und Wein zuständig und verursachen ebenfalls den unangenehmen Geruch verdorbener Lebensmittel [Veselova et al. 2019]. Im Rahmen pathologischer Veränderungen eines Organismus, wie der Besiedlung durch pathogene Bakterien, Stoffwechselkrankheiten oder dem Wachstum von Krebszellen, verändert sich die Zusammensetzung der emittierten VOCs durch das Hinzukommen neuer VOCs oder durch eine Umverteilung der physiologisch entstandenen VOCs [Shirasu et al. 2011].

De Lacy Costello et. al. haben im Jahr 2014 in einem Review das physiologische menschliche „Volatilom“ beschrieben, in welchem sie 1840 – hauptsächlich mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) identifizierte – Verbindungen auflisten konnten, welche in absteigender Häufigkeit in Atemluft, Hautsekreten, Stuhl, Speichel, Urin, Milch und Blut nachgewiesen wurden. Nur 12 VOCs (0.7 % aller nachgewiesenen Verbindungen) konnten allgegenwärtig in allen Körperflüssigkeiten und

in der Atemluft nachgewiesen werden, was kennzeichnend für die Vielzahl und Verschiedenheit von VOCs im menschlichen Organismus ist. Ziel des Reviews war es, eine Datenbank der bekannten physiologischen VOCs zu erstellen, anhand derer zukünftige Untersuchungen sich in der Analyse pathologischer VOCs orientieren können, wobei hierbei auch auf die Unvollständigkeit des Volatiloms und den Bedarf an zusätzlichen Studien hingewiesen wird [de Lacy Costello et al. 2014].

Die nicht-invasive VOC-Analyse aus der Atemluft hat bisher den größten Stellenwert in der VOC-Diagnostik und erlaubt sowohl Rückschlüsse auf Atemwegserkrankungen als auch auf im Blut zirkulierende und an die Atemluft abgegebene VOCs, welche beispielsweise durch Tumorzellen, oxidativen Stress, oder im Rahmen von Infektionen entstehen [de Lacy Costello et al. 2014; Haick et al. 2014]. Es konnten beispielsweise bereits 1978 erhöhte Konzentrationen der volatilen Schwefelverbindung Dimethylsulfid, verantwortlich für den typischen Foetor hepaticus, aus der Atemluft von leberkranken Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen nachgewiesen werden [Kaji et al. 1978]. Neuere Studien gewährleisteten durch eine VOC-Analyse der Atemluft – unter anderem durch den Nachweis von Dimethylsulfid – eine zu 100% sensitive und zu 70 % spezifische Unterscheidung von Patienten mit und ohne Leberzirrhose [Van den Velde et al. 2008]. Zudem konnten aus der Atemluft spezifische VOCs für sowohl Atemwegserkrankungen, wie beispielsweise Asthma, COPD und cystische Fibrose als auch für extrapulmonale Erkrankungen, wie beispielsweise Diabetes mellitus, rheumatoide Arthritis, Brustkrebs, Schizophrenie, Alzheimer, Parkinson oder Abstoßungsreaktionen nach Organtransplantationen nachgewiesen werden [Bach et al. 2015; Corradi et al. 1999; Corradi et al. 2003; Elmassry et al. 2020; Humad et al. 1988; Montuschi et al. 1999; Novak et al. 2007; Olopade et al. 1997; Paredi et al. 2000; Phillips et al. 2003; Phillips et al. 1993; Probert et al. 2009].

Neben der Atemluftanalyse erlaubt das sogenannte **Headspace-Verfahren** den Nachweis von VOCs unter anderem aus Gewebeproben, Körperflüssigkeiten sowie Zell- und Bakterienkulturen [Amann et al. 2014]. Im Headspace-Verfahren, im Deutschen Dampfraumanalyse, werden in der Dampfphase befindliche VOCs oberhalb einer in einem geschlossenen Gefäß befindlichen, festen oder flüssigen Probe gewonnen und analysiert. Die Konzentration der im Headspace befindlichen VOCs ist hierbei von der ursprünglichen Konzentration der VOCs in der Probe, deren Volatilität, dem Phasenverhältnis zwischen fester, flüssiger und gasförmiger Phase sowie dem temperaturabhängigen Partialdruck abhängig. Durch die Headspace-Analyse können

somit Rückschlüsse auf Bestandteile sowie physiologische und pathologische Veränderungen der jeweiligen Probe gezogen werden [El Manouni El Hassani et al. 2020; Farraia et al. 2019; Peltrini et al. 2020].

Die Headspace-Analyse erlaubt Untersuchungen verschiedener Gewebe und Körperflüssigkeiten. Auch hiermit lassen sich spezifische VOCs für eine Vielzahl an Krankheiten nachweisen, beispielsweise im Rahmen von chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen sowie kolorektalen Krebserkrankungen mittels Stuhluntersuchungen [Vernia et al. 2021], Krebserkrankungen von Lunge oder Leber im Blut [Deng et al. 2004; Xue et al. 2008], oder urogenitalen Krebserkrankungen mittels Urinanalyse [Heers et al. 2018; Wen et al. 2020]. Die Grunderkrankung muss nicht zwingend im direkten lokalen Zusammenhang mit der entsprechenden Probe stehen, es lassen sich zum Beispiel maligne Gallengangsstrikturen mittels VOCs aus dem Urin nachweisen [Navaneethan et al. 2015].

Auch Mikroorganismen produzieren VOCs [Rabis et al. 2011]. Lemfack et al. haben in einer Datenbank knapp 2 000 VOCs aus beinahe 1 000 verschiedenen mikrobiologischen Spezies festgehalten [Lemfack et al. 2018; Lemfack et al. 2014]. Somit ist naheliegend, dass auch Infektionskrankheiten und deren Erreger im menschlichen Organismus mittels VOCs nachgewiesen werden können. Auch zur Diagnostik von Infektionskrankheiten dominieren Studien zum Erregernachweis aus der Atemluft [Sethi et al. 2013]. Hier ist beispielsweise der Nachweis von *Acinetobacter baumannii* [Gao et al. 2016], *Aspergillus fumigatus* [Chambers et al. 2009b] oder *Mycobacterium tuberculosis* [Phillips et al. 2010] möglich, wobei bei letzterem die Headspace-Analyse aus dem Sputum eine höhere Sensitivität und Spezifität aufweist, als die Atemluftanalyse [Fend et al. 2006]. Bei Patienten mit zystischer Fibrose können spezifische VOCs für Superinfektionen mit *Pseudomonas aeruginosa* [Enderby et al. 2009] und *S. aureus* [Neerincx et al. 2016] nachgewiesen werden. Ferner ist über die Atemluft ein Nachweis von VOCs des im Magen ansässigen *Helicobacter pylori* möglich [Lechner et al. 2005].

Im Headspace-Verfahren wird zudem der Nachweis von erregerspezifischen VOCs verschiedener Infektionen im Rahmen von Blut-, Stuhl- und Urinuntersuchungen ermöglicht. Im Blut ist beispielsweise der Nachweis von *E. coli* [Umber et al. 2013], *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *A. baumannii*, *Streptococcus pneumoniae* oder *Neisseria meningitidis* möglich [Allardyce et al. 2006]. Stuhluntersuchungen erlauben die Identifikation spezifischer VOCs der gängigen gastrointestinalen Erreger *Clostridium difficile* [Probert et al. 2004] und *Vibrio cholerae* [Garner et al. 2009].

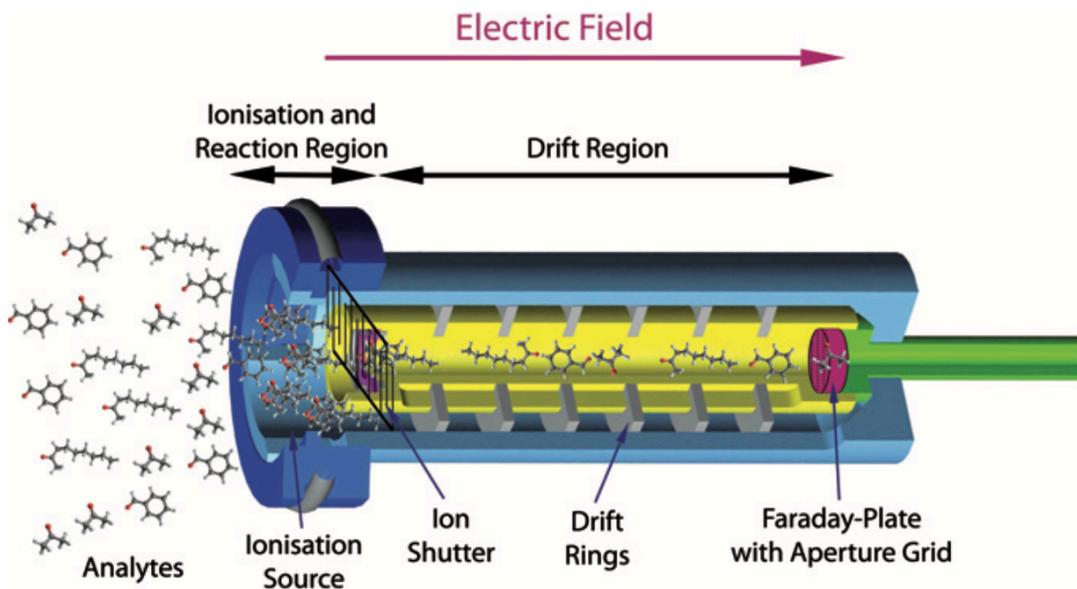
Urinuntersuchungen ermöglichen den Nachweis einer Bakteriurie [Aathithan et al. 2001] sowie eine Erregeridentifizierung mittels VOCs, beispielsweise bei Infektionen mit *E. coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *P. aeruginosa*, *Klebsiella* spp. [Manja et al. 1983; Roine et al. 2014; Storer et al. 2011] oder *Proteus* spp. [Hayward et al. 1977].

Die Detektion krankheitsspezifischer VOCs stellt eine innovative und vielversprechende Möglichkeit der Diagnostik verschiedener Pathologien dar. Ein gängiges, zur VOC-Analyse verwendetes Verfahren liegt in der Massenspektrometrie. In den meisten Fällen wird hierbei zur Vorseparierung der Proben ein Gaschromatograph vorgeschaltet (GC-MS), wobei auch andere Methoden, wie die *selected-ion flow-tube* Massenspektrometrie (SIFT-MS) oder die *proton transfer reaction* Massenspektrometrie (PTR-MS) Verwendung finden. Ferner erlaubt auch die Kopplung eines Gaschromatographen mit einem Flammenionisationsdetektor (GC-FID) die Untersuchung von VOCs [de Lacy Costello et al. 2014]. Neben der Massenspektrometrie stellt die Ionenmobilitätsspektrometrie ein weit verbreitetes Verfahren zur VOC-Analyse dar. Auch hier kann eine Vorseparierung einer Probe durch Kombination eines Gaschromatographen (GC-IMS) oder einer Multikapillarsäule (MCC-IMS) erfolgen [Ruzsanyi et al. 2005]. Eine weitere Methode ist die *high-field asymmetric-waveform* Ionenmobilitätsspektrometrie (FAIMS) dar [Dospinescu et al. 2020]. Außerdem werden vermehrt elektronische Nasen zur Detektion von VOCs angewandt [Farraia et al. 2019]. Anhand der nächsten Kapitel werden mit der Multikapillarsäulen-Ionenmobilitätsspektrometrie und der elektronischen Nase „Cyranose 320“ die in dieser Studie zur VOC-Analyse verwendeten Geräte vorgestellt.

### 1.3. Ionenmobilitätsspektrometrie

Bei der Ionenmobilitätsspektrometrie handelt es sich um eine weit verbreitete Methode, welche unter anderem zum Nachweis von Sprengstoffen, illegalen Drogen und chemischen Kampfstoffen eingesetzt wird, sowohl im militärischen als auch im Sicherheitsbereich, beispielsweise an Flughäfen. Sie wird zudem auch zur Qualitätskontrolle in der Nahrungsmittelindustrie angewandt. So kommen weltweit über 70 000 Geräte zum Einsatz [Bödeker et al. 2008; Junger et al. 2010; Westhoff et al. 2007]. Das Wirkprinzip eines Ionenmobilitätsspektrometers (IMS) wird schematisch in Abb. 11 dargestellt. Es besteht darin, gasförmige Analyten zu ionisieren und diese anschließend

anhand ihrer Ionenmobilität – charakterisiert durch deren Masse, Ladung, Größe und geometrischer Form – aufzuteilen. So entsteht bei Ankunft der Ionen an einer Faraday'schen Platte ein zeitabhängiges Signal entsprechend der jeweiligen Ionenmobilität [Armenta et al. 2011; Baumbach 2009].



**Abb. 11: Schematische Darstellung eines IMS** [Baumbach 2009]

Die zu analysierende gasförmige Probe wird mit einem Trägergas vermischt in die Ionisations- und Reaktionskammer geleitet. Eine Ionisationsquelle gibt radioaktive Strahlung ab, wodurch ionisiertes Trägergas entsteht. Dieses bereits vor Beginn der Messung in der Ionisationskammer befindliche ionisierte Trägergas kollidiert mit dem Analyten, sodass dieser selbst ionisiert wird. Anschließend wird durch Öffnen des Ionen-Shutters der Weg in die Driftkammer geöffnet. Entlang eines externen und innerhalb der Driftkammer durch Driftringe stabilisierten elektrischen Feldes werden Teile der ionisierten Probe durch den geöffneten Shutter in die Driftkammer geleitet. Hier treffen sie auf ein in die entgegengesetzte Richtung laufendes Driftgas, welches von der am Ende der Driftkammer befindlichen Faraday'schen Platte aus abgegeben wird, um ein Austreten von nicht-ionisierten Teilchen durch den geöffneten Ionen-Shutter zu verhindern. In der Driftkammer verliert der Analyt durch wiederholte Kollision mit Trägergasmolekülen Energie, während jedoch über das elektrische Feld kontinuierlich neue Energie aufgenommen wird. Hieraus resultiert eine konstante Drift-Geschwindigkeit der Ionen, welche sich aus deren Masse und geometrischer Struktur ergibt. Die Drift-Geschwindigkeit hängt jedoch u.a. auch von der Stärke des elektrischen

Felds, der Länge der Driftkammer sowie von Temperatur und Umgebungsdruck ab, sodass hier je nach Messprotokoll definierte Werte verwendet werden. Ionen verschiedener Struktur und Masse erreichen schlussendlich entsprechend ihrer Ionenmobilität zu verschiedenen Zeitpunkten die Faraday'sche Platte am Ende der Driftkammer und produzieren ein messbares elektrisches Signal. Die Ionenmobilität verhält sich hierbei reziprok proportional zur Zeit, welche die Ionen bis zum Durchqueren der Driftkammer benötigen, welche wiederum als Driftzeit bezeichnet wird. Die an der Faraday'schen Platte während einer definierten Zeit (zwischen 10 ms und 100 ms) gemessenen elektrischen Signale werden als Ionenmobilitätsspektrum bezeichnet, woraus sich Informationen zur natürlichen Zusammensetzung der gasförmigen Probe ableiten lassen [Baumbach 2009; D'Addario et al. 2014; Koczulla et al. 2011; Westhoff et al. 2007].

Eine erste Separierung der komplexen Zusammensetzung einer Probe kann bereits vor Zuführen ins IMS durch Vorschalten eines Gaschromatographen (GC-IMS) oder einer Multikapillarsäule (englisch *multi-capillary column*, MCC-IMS) erreicht werden. Während eine Vorseparierung im GC-IMS durch eine singuläre Trennsäule erreicht wird, enthält eine Multikapillarsäule etwa 1 000 Kapillaren mit einem Durchmesser von 40 µm und gewährleistet somit eine höhere Flussrate und Probenkapazität im Vergleich zu einer einfachen Röhre [Baumbach 2009; Ruzsanyi et al. 2005]. In der vorliegenden Studie wurde ein MCC-IMS verwendet.

Die Zeit, die ein Analyt benötigt, um eine vorgeschaltete Multikapillarsäule bzw. einen Gaschromatographen zu passieren, wird als Retentionszeit bezeichnet und trägt gemeinsam mit der im IMS bestimmten Ionenmobilität zur Identifikation und Quantifizierung eines Analyten bei [D'Addario et al. 2014; Koczulla et al. 2011].

Die Ionenmobilitätsspektrometrie stellt eine preiswerte und zeitsparende Methode mit hoher Sensitivität bei sehr niedriger Nachweisgrenze dar. Es können ohne Vorkonzentration Messwerte im Bereich von ng/l bis pg/l nachgewiesen werden [Baumbach 2009; Westhoff et al. 2007]. Jedoch ist keine Identifikation unbekannter Substanzen möglich, vielmehr basiert das Prinzip auf einer Wiedererkennung bereits gemessener Proben. Dementsprechend müssen durch systematische Messungen Datenbanken geschaffen werden, um Vergleichswerte für neue Messungen zu schaffen und der Technik somit eine diagnostische Wertigkeit zu verleihen, beispielsweise durch Anwendung im klinischen Alltag und damit einhergehender Datenbanken zu verschiedenen Krankheiten [Junger et al. 2010; Ruzsanyi et al. 2005].

## 1.4. Cyranose 320

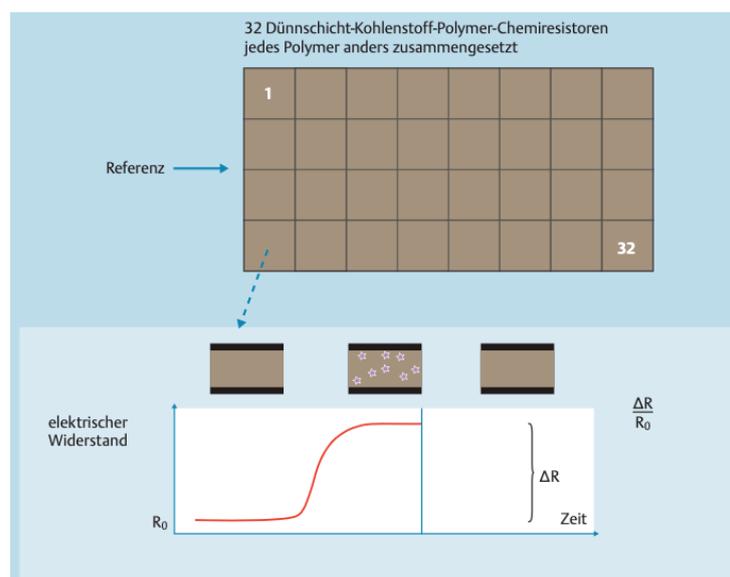


**Abb. 12: Cyranose 320** [Smiths Detection - Pasadena 2004a]

Elektronische Nasen wurden bereits 1994 als Instrumente definiert, welche aus einer Reihe elektrochemischer Sensoren mit teilweiser Spezifität und einem Mustererkennungssystem bestehen und in der Lage sind, einfache oder komplexe Gerüche zu erkennen [Gardner et al. 1994], indem sie in vereinfachter Form das menschliche Geruchssystem nachahmen [Dutta et al. 2005]. Erste Berichte über elektronische Nasen wurden bereits 1964 publiziert [Wilkens et al. 1964]. Anfänglich wurden mit elektronischen Nasen hauptsächlich Lebensmittel und Getränke untersucht, jedoch wurde ein potenzielles Anwendungsgebiet in der medizinischen Diagnostik bereits angekündigt [Gardner et al. 1994]. Mittlerweile liegen zahlreiche Studien zur Anwendung elektronischer Nasen in Hinblick auf die Diagnostik von Krankheiten vor, wobei auch hier die Atemluftanalyse eine übergeordnete Rolle spielt [Farraia et al. 2019].

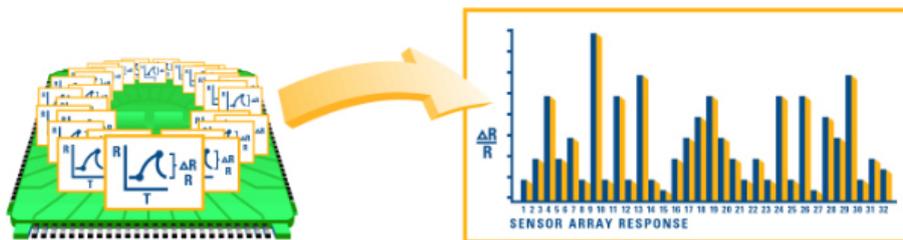
Bei der in Abb. 12 dargestellten Cyranose 320 (Sensigent, Baldwin Park, CA, USA) handelt es sich um eine elektronische Nase, welche auf oben genanntem Wirkprinzip basiert und mit einer Größe von 10 x 22 x 5 cm sowie einem Gewicht von unter 1 kg ein mobiles und handliches Gerät zur Messung von VOCs darstellt [Smiths Detection - Pasadena 2004b]. Eine Pumpe in der Cyranose gewährleistet die Luftzufuhr. Je nach Position eines eingebauten Ventils kann über den Reinigungseinlass Referenz- bzw. Umgebungsluft zur Erstellung der Referenzmessung ( $R_0$ ), oder über die angeschlossene Messnadel der Headspace einer Probe zugeführt werden (siehe Abb. 22).

Die zugeführte Luft bzw. gasförmige Probe wird anschließend dem NoseChip zugeführt. Dieser setzt sich aus 32 individuell in einem Feld angeordneten Dünnschicht-Kohlenstoff-Polymer-Chemiresistoren zusammen. Die Sensoren bestehen aus dünnen Polymerschichten, welche zwischen zwei elektrischen Leitungen auf einem Aluminiumsubstrat angebracht werden und somit leitende Chemiresistoren bilden. Die Polymere verhalten sich wie ein Schwamm und quellen durch Absorption des gasförmigen Analyten kurzzeitig auf, wodurch sich die Leitfähigkeit zwischen den Sensoren verändert, was wiederum zu einer messbaren Erhöhung des Widerstands führt (siehe Abb. 13). Der größte gemessene Widerstand wird als  $R_{\max}$  bezeichnet. Die relative Änderung des Widerstands für einen bestimmten Sensor wird als Sensorreaktion definiert:  $\Delta R / R_0 = (R_{\max} - R_0) / R_0$ . Je nach Zusammensetzung der gasförmigen Probe und der Reaktion mit den individuell konfigurierten Sensoren entstehen so verschiedene messbare elektronische Signale [Dutta et al. 2005; Smiths Detection - Pasadena 2004a].



**Abb. 13: Wirkprinzip der elektronischen Nase Cyranose 320 [Koczulla et al. 2011]**

Nach Auswertung der Daten aller Sensoren wird ein „Geruchsmuster“ erstellt. Im nächsten Schritt werden von der Cyranose Nachbearbeitungs-, Normalisierungs- und Skalierungstechniken auf das Muster angewendet. Die vor- und nachverarbeiteten Daten sind nun bereit für die statistische Analyse und Mustererkennung, welche mithilfe eines externen Computers visualisiert werden können (Abb. 14). Im Anschluss an die Messungen wird das Ventil nochmals umgestellt und eine Spülung des Geräts über den Reinigungseinlass durchgeführt [Dutta et al. 2005; Smiths Detection - Pasadena 2004b].



**Abb. 14: Umwandlung der elektronischen Signale in ein „Geruchsmuster“** [Smiths Detection - Pasadena 2004b]

Durch die Signale aus allen 32 Sensoren entsteht somit für jede Probe ein spezifisches Muster, abhängig von Größe, Polarität, chemischer Struktur und Protonenaffinität der gasförmigen Analyten aus der entsprechenden Probe [Koczulla et al. 2011]. Zur Analyse und Visualisierung der Daten werden verschiedene mathematische Ansätze verwendet, unter anderem Clustermethoden wie die Mahalanobis-Distanz, lineare und nicht-lineare Regression, Hauptkomponentenanalyse, neuronale Netzwerke oder Machine-Learning. Das Ziel der Messungen ist jedoch in jedem Fall eine Mustererkennung der Gerüche bekannter Proben – wie bereits in der Definition einer elektronischen Nase festgelegt – und nicht die Identifikation der einzelnen Bestandteile einer Probe. Mittels der verschiedenen mathematischen Ansätze werden somit bekannte Gerüche mit unbekanntem Proben verglichen [Thaler et al. 2005].

## 1.5. Fragestellung

In der vorliegenden Arbeit sollte anhand hypothesengenerierender Forschung festgestellt werden, ob sich MRSA und MSSA mittels VOC-Analyse anhand der diagnostischen Geräte MCC-IMS und Cyranose 320 im ersten Schritt aus dem verwendeten Nährmedium Brain Heart Infusion Broth (BHI) abgrenzen lassen. Im nächsten Schritt sollte dargestellt

werden, ob eine Unterscheidung zwischen MRSA und MSSA im Nährmedium möglich ist.

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Material

#### 2.1.1. Laborgeräte/Laborbedarf

- Autoklav Systec 5050ELV Tuttnauer Europe b.v., Breda, NL
- BOLA PTFE Schlauch S1810-26 Bohlender GmbH, Grünsfeld
- Cyranose 320 Sensigent, Baldwin Park, CA, USA
- Druckminderer OXYWAY Fast II Weinmann Emergency Medical Technology GmbH + Co. KG, Hamburg
- Elektronisches Maxima-Minima-Thermometer 30.1024 TFA Dostmann GmbH & Co. KG, Wertheim-Reicholzheim
- Flüssigkeits-Glasthermometer Gebr. Haake GmbH, Berlin
- Gasdruckminderer Tescom WEGA 1 Emerson Electric Co., Saint Louis, MO, USA
- Gasnachreinigungs-System ALPHAGAZ Purifier HC-Free AIR LIQUIDE Deutschland GmbH, Düsseldorf
- Gefrierschrank Hera freeze HFU586 Basic (−80 °C) Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA
- Heizblock 3401 Eppendorf AG, Hamburg
- IMS BreathDiscovery BD14 B & S Analytik GmbH, Dortmund
- Kühlschrank (4 °C) LKUv 1610 MediLine Liebherr-International Deutschland GmbH, Biberach an der Riß
- Labor-Spülautomat G 7733 Miele & Cie. GmbH & Co., Gütersloh

- Laborflasche GL 45, 100 ml      Duran Group GmbH, Wertheim/Main
- Laborflasche GL 45, 1 l      Duran Group GmbH, Wertheim/Main
- Laptop Compaq Presario CQ60      HP Inc., Palo Alto, CA, USA
- Laptop Vostro 3560      Dell Inc., Round Rock, TX, USA
- Mutter-Klemmringsatz SS-200-  
NFSET      Swagelok Company, Solon, OH, USA
- Pipette Reference 500 – 1 000 µl      Eppendorf AG, Hamburg
- Reagenzgefäßständer      Eppendorf AG, Hamburg
- Software PCnose 6.9      Sensigent, Baldwin Park CA, USA
- Software RapidMiner 7.5      RapidMiner GmbH, Dortmund
- Software VisualNow 3.7      B & S Analytik GmbH, Dortmund
- Software VOCan 3.7      B & S Analytik GmbH, Dortmund
- Thermostat Julabo U3      Julabo Labortechnik GmbH, Seelbach
- Trockenschrank Heraeus      Thermo Fisher Scientific, Waltham,  
MA, USA
- Wasserbad Julabo 6A      Julabo Labortechnik GmbH, Seelbach
- Zwei-Ventil-Deckel GL 45 mit  
Einsatz für Schlauchanschluss GL  
14, 3.2 mm      Duran Group GmbH, Wertheim/Main

## 2.1.2. Verbrauchsmaterialien

- Atemschutzmaske Barrier Surgical Mask 42290 Mölnlycke Health Care AB, Göteborg, SE
- Atemschutzmaske Earloop Mask Henry Schein Inc., Melville, NY, USA
- Desinfektionsmittel Terralin liquid Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt
- Einmalhandschuhe Latex-Free Powder-Free Sempercare Nitrile Semperit Technische Produkte GmbH, Wien, Österreich
- Einmalhandschuhe Vasco Nitril white B. Braun Melsungen AG, Melsungen
- Medizinische Luft Aer medicinalis Linde Linde Gas Therapeutics GmbH, Unterschleißheim
- Nährmedium BBLTM Brain Heart Infusion 8 ml Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA
- Pipettenspitzen epT.I.P.S. Standard 50 – 1 000 µl Eppendorf AG, Hamburg
- Präzisionswischtücher KimTech Kimberly Clark GmbH, Koblenz
- Reaktionsgefäße 3810X Eppendorf AG, Hamburg
- Sterilwasser Hudson RCI AquaPak 340 ml mit 9/16" Anschlussadapter Teleflex Medical Inc., Research Triangle Park, NC, USA
- Synthetische Luft Alphagaz 1 Luft AIR LIQUIDE Deutschland GmbH, Düsseldorf
- Wasser Ampuwa Spüllösung Aqua ad iniectabilia Fresenius Kabi AG, Bad Homburg

### 2.1.3. Probenkollektiv

Die MRSA- und MSSA-Proben wurden aus anonymisierten Screening-Abstrichen gewonnen, welche als verschlüsselte Stock-Proben im Institut für Mikrobiologie und Krankenhaushygiene der Philipps-Universität Marburg gelagert werden. Es handelt sich um routinemäßige Nasen- und Rachenabstriche, die bei Eintritt jedes stationären Patienten im Rahmen des MRSA-Screenings durchgeführt werden. Eine Zuordnung zu Alter, Geschlecht sowie Erkrankungen der Patienten ist aufgrund der Datenverschlüsselung nicht möglich. Es wurden 40 verschiedene, in Kryoröhrchen gelagerte Stock-Proben in BHI übertragen, 20 davon MRSA und 20 MSSA. Ziel der Messungen war es, vorerst eine Differenzierung der Bakterien aus dem Nährmedium sicherzustellen und anschließend festzustellen, ob Methicillin-sensible und Methicillin-resistente Stämme voneinander unterschieden werden können.

## 2.2. Methoden

### 2.2.1. Probengewinnung

Es wurden aus Stock-Proben je 20 Proben mit MRSA und MSSA aufgetaut und in Brain Heart Infusion Broth (BBL™ Brain Heart Infusion, Becton, Dickinson and Company, Sparks, MD, USA) Flüssigmedium übertragen. Nach 24 Stunden Bebrütungszeit bei 36 °C wurde mithilfe eines Densimats eine Verdünnungsreihe nach McFarland angelegt, sodass die Bakterien in einer Konzentration von  $10^8$  KBE/ml (0.5 McFarland Units) im Nährmedium vorlagen. Aus jeder Probe wurden 500 µl in 1.5 ml fassende Reaktionsgefäße (Eppendorf AG, Hamburg) gefüllt. Analog zu den Proben wurden für Referenzmessungen 27 Reaktionsgefäße mit jeweils 500 µl unbeimpfter BHI befüllt.

### 2.2.2. Probenlagerung

Alle Proben wurden unmittelbar nach Befüllen der Reaktionsgefäße bei -80 °C (Gefrierschrank Hera freeze, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) eingefroren und ca. 1.5 Stunden vor Messbeginn bei +4 °C (Kühlschrank MediLine, Liebherr, Biberach an der Riß) aufgetaut. Als Backup wurden die übrig gebliebenen Proben in den BHI-Reagenzröhrchen bei -80 °C gelagert.

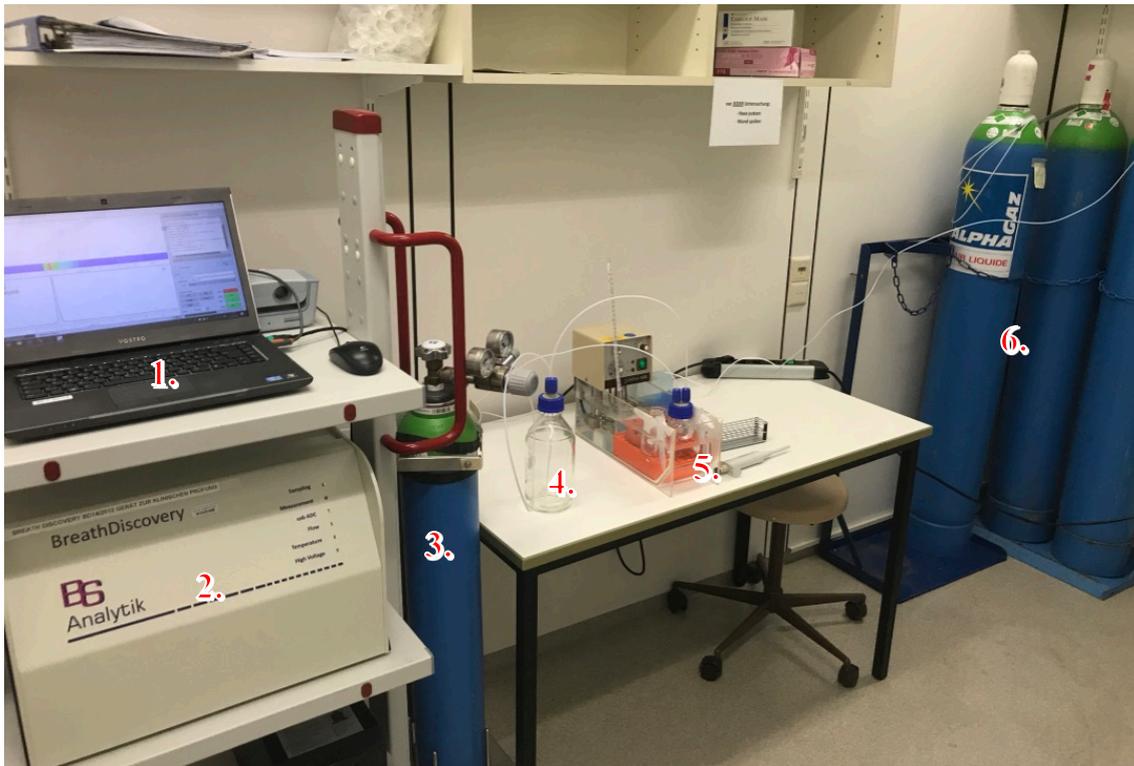
## 2.2.3. MCC-IMS

### 2.2.3.1. Technische Angaben

- Ionisierung  $\beta$ -Strahlenquelle ( $^{63}\text{Ni}$ ), 550 MBq
- Elektrisches Feld  $\approx 320 \text{ V/cm}$
- Polarität Positiv
- Länge Driftregion 120 mm
- Durchmesser Driftregion 15 mm
- Driftspannung 4.38 kV
- Verschlussöffnungszeit 300  $\mu\text{s}$
- Verschlussimpulszeit 100 ms
- Probenfluss 100 ml/min
- Säulenfluss 150 ml/min
- Driftfluss 100 ml/min
- Probennahmedauer 10 Sekunden
- Driftgas Synthetische Luft Alphagaz 1 Luft  
(Reinheit  $\geq 99.999 \text{ mol\%}$ ), nachgereinigt  
mit ALPHAGAZ Purifier HC-Free
- Trägergas Synthetische Luft Alphagaz 1 Luft  
(Reinheit  $\geq 99.999 \text{ mol\%}$ )
- Druck 101 kPa
- Betriebstemperatur 40 °C
- Messprinzip Ionenbeweglichkeitsspektrometrie

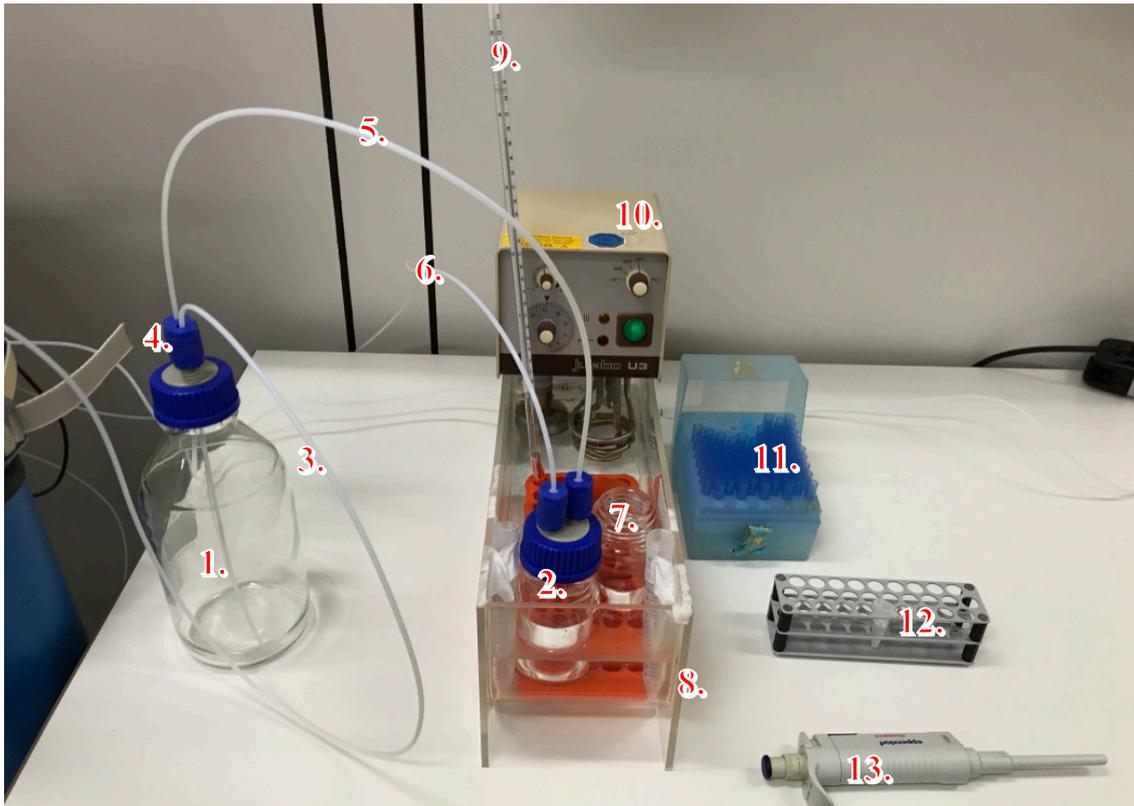
- Multikapillarsäule OV-5
- Detektions-Modus positiv, negativ
- Detektions-Limit  $\mu\text{g/l}$  -  $\text{pg/l}$  ( $\text{ppm}_v$  –  $\text{ppt}_v$ )
- Dynamischer Bereich Größenordnung 1 – 3
- Betrieb Laptop Vostro 3560
- Datenvisualisierung VisualNow 3.7
- Kommunikation USB 2.0
- Stromversorgung 230 V, 50 – 60 Hz, max. 0.8 A
- Energieverbrauch max. 140 W
- Abmessung 50 x 32.5 x 38 cm
- Gewicht ca. 26 kg (ohne Laptop)
- Material PS 4/6 mm

## 2.2.3.2. Versuchsaufbau



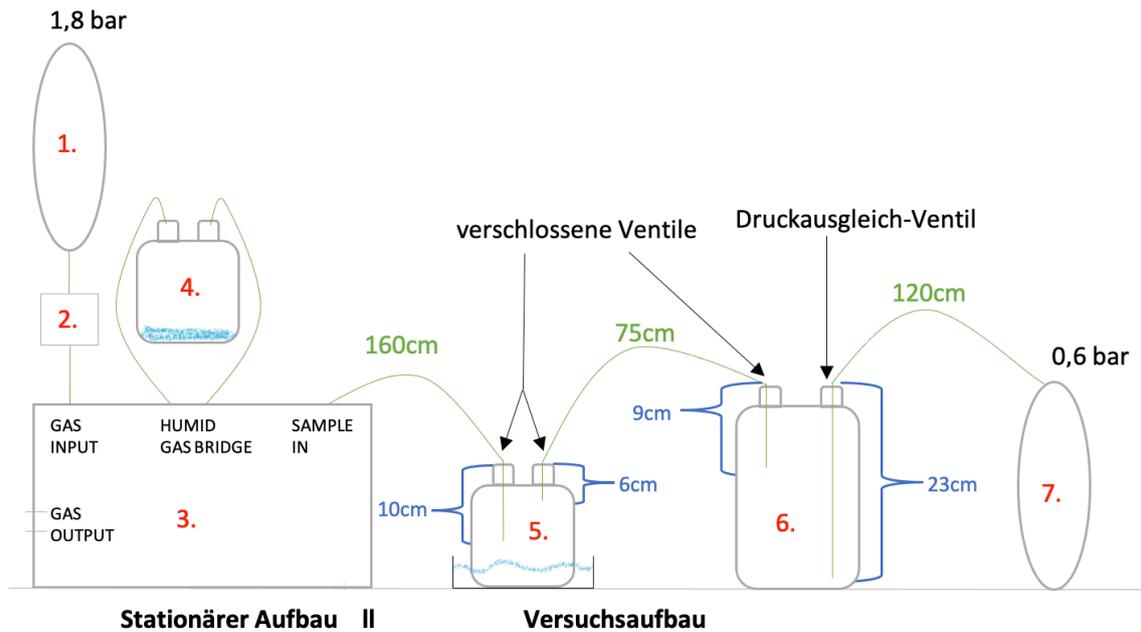
**Abb. 15: Versuchsaufbau MCC-IMS**

*1. Laptop, 2. MCC-IMS, 3. Synthetische Luft als Trägergas, 4. Trägergasflasche, 5. Probenflasche im Wasserbad, 6. Synthetische Luft als Driftgas*



**Abb. 16: Arbeitsfläche Versuchsaufbau MCC-IMS**

1. Trägergasflasche, 2. Probenflasche, 3. Zuleitung Trägergas, 4. Druckausgleich-Ventil, 5. Verbindung Trägergasflasche zur Probenflasche, 6. Verbindung Probenflasche zum MCC-IMS, 7. Probengefäß für Folgeprobe (Aufwärmphase), 8. Wasserbad, 9. Thermometer, 10. Thermostat, 11. Pipettenspitzen, 12. Reagenzgefäßständer, 13. Pipette



**Abb. 17: Schematischer Versuchsaufbau MCC-IMS**

1. Synthetische Luft als Driftgas, 2. Gasnachreinigungs-System, 3. MCC-IMS, 4. Wasserflasche zur Befeuchtung des Spülgases, 5. Probengefäß im Wasserbad, 6. Trägergasflasche, 7. Synthetische Luft als Trägergas; Schläuche und Schlauchlänge insgesamt in grün, Teillänge innerhalb der Flaschen in blau

### Stationärer Aufbau MCC-IMS

Als Driftgas wurde dem MCC-IMS über den „Gas Input“-Anschluss synthetische Luft (Alphagaz 1 Luft, AIR LIQUIDE Deutschland GmbH, Düsseldorf) mit einer Reinheit von  $\geq 99.999$  mol% bei einem Druck von 1.8 bar (Gasdruckminderer Tescom WEGA 1, Emerson Electric Co., Saint Louis, MO, USA) über ein Gasnachreinigungs-System (ALPHAGAZ Purifier HC-Free, AIR LIQUIDE Deutschland GmbH, Düsseldorf) zugeführt. Für die den Messungen nachgeschalteten Spülungen des Geräts wurde zur Befeuchtung des Spülgases eine 100 ml GL 45 Laborflasche (Duran Group GmbH, Wertheim/Main) mit 1 ml sterilem, destilliertem und im Voraus auf störende VOCs überprüfem Wasser befüllt und an den „Humid Gas Bridge“-Anschluss des MCC-IMS angeschlossen. Über die zwei „Gas output“-Anschlüsse konnte das MCC-IMS das Driftgas und das Trägergas inklusive Headspace abführen.

Eine USB-Verbindung vom MCC-IMS an den Laptop (Vostro 3560, Dell Inc., Round Rock, TX, USA) erlaubte eine Steuerung des Geräts über die Software VOCan 3.7 (B & S Analytik GmbH, Dortmund) sowie eine Visualisierung der Messungen über die Software VisualNow 3.7 (B & S Analytik GmbH, Dortmund).

### 2.2.3.3. Messablauf

#### **Vorbereitung Messablauf**

Um den Headspace der Proben bei der Zieltemperatur von 37 °C messen zu können, wurden die 100 ml GL 45 Laborflaschen (Duran Group GmbH, Wertheim/Main) ohne Deckel für mindestens 15 Minuten vor Beginn der Messung in einem mittels eines Thermostats (Julabo U3, Julabo Labortechnik GmbH, Seelbach) auf 37 °C erhitzten Wasserbad (Julabo 6A, Julabo Labortechnik GmbH, Seelbach) aufgewärmt. Eine Temperaturkontrolle des Wasserbads erfolgte durch ein Flüssigkeits-Glasthermometer (Gebr. Haake GmbH, Berlin) (siehe Abb. 16). Vor jeder Probenmessung erfolgte eine Referenzmessung der leeren Laborflasche, um vorher bestehende Kontaminationen auszuschließen.

Während der Messung wurde die 100 ml Laborflasche mit einem Zwei-Ventil-Deckel GL 45 mit einem Einsatz für den Schlauchanschluss (Duran Group GmbH, Wertheim/Main) verschlossen. Über antiadhäsive BOLA PTFE-Schläuche (Bohlender GmbH, Grünsfeld) wurde eine Verbindung zum „Sample-in“-Anschluss des MCC-IMS hergestellt, um das Ansaugen des Headspace zu gewährleisten. Um Messungenauigkeiten durch Störfaktoren in der Raumluft auszuschließen, wurde die Laborflasche vor der Referenz-Leermessung und nach Zugabe der Probe für 30 Sekunden mit synthetischer Luft (Alphagaz 1 Luft, AIR LIQUIDE Deutschland GmbH, Düsseldorf) mit einem Druck von 0.6 bar gespült. Zwischen der Spülung und dem Ansaugen des Headspace durch das MCC-IMS wurde eine Wartezeit von 2 Minuten in den Messablauf etabliert, um eine Verteilung der VOCs in der Umgebung zu ermöglichen. Um die Entstehung eines Überdrucks in der Laborflasche zu verhindern, welcher die Verteilung der VOCs beeinträchtigen könnte, wurde der synthetischen Luft und der 100 ml Laborflasche eine 1 l GL 45 Laborflasche (Duran Group GmbH, Wertheim/Main) mittels Zwei-Ventil-Deckel GL 45 und BOLA PTFE-Schläuchen zwischengeschaltet. Das Ventil mit Verbindung zur synthetischen Luft wurde nicht gänzlich zugeschraubt, um einen Abfluss überschüssiger Luft zu gewährleisten und somit die Entstehung eines Überdrucks zu verhindern, ohne ein Eintreten von Raumluft zu gewährleisten (siehe Abb. 17).

Die zu messenden Proben wurden ca. 1.5 Stunden vor Beginn der Messung im Kühlschrank (MediLine, Liebherr, Biberach an der Riß) bei +4 °C aufgetaut.

## **Messablauf**

1. Leermessung der Laborflasche
2. 500 µl der Probe wurden in die aufgewärmte Laborflasche pipettiert.
3. Der Zwei-Ventil-Deckel mit angeschlossenen BOLA PTFE-Schläuchen wurde umgehend danach auf die Laborflasche geschraubt.
4. Die Trägergaszufuhr (0.6 bar) wurde geöffnet. Simultan wurde die zugehörige Messsequenz in der Software VOCan 3.7 gestartet, woraufhin eine in die Sequenz integrierte Stoppuhr nach 30 Sekunden das Beenden der Trägergaszufuhr veranlasste.
5. Nach Verschluss des Trägergases begann die in der Sequenz festgelegte Wartezeit von 2 Minuten, um eine ausreichende Verteilung der VOCs zu gewährleisten.
6. Anschließend wurde der Headspace für 10 Sekunden vom MCC-IMS angesaugt und für 12.5 Minuten analysiert.
7. Die Laborflasche wurde nach dem Ansaugen entfernt und mit Desinfektionsmittel (Terralin liquid, Schülke & Mayr GmbH, Norderstedt) befüllt.
8. Nach der eigentlichen Messung startete eine Spülsequenz, welche nach zehnkündigem Ansaugen befeuchteter Luft (siehe Humid Gas Bridge, Abb. 17) einerseits zur Spülung des Geräts beitrug und durch die 12.5-minütige Analyse der befeuchteten Luft zusätzlich in der Software VisualNow 3.7 eine Visualisierung möglicher Verunreinigungen des Geräts durch die Probenmessung erlaubte.

Anhand der beschriebenen Methodik wurden insgesamt 67 Proben gemessen: 20 Proben von MRSA-Stock-Proben in BHI, 20 Proben von MSSA-Stock-Proben in BHI sowie 27 Proben unbeimpfter BHI zur Referenz. Die vor jeder Probenmessung durchgeführte Leermessung der Laborflasche zur Referenz erfolgte analog zum oben genannten Messablauf, wobei auf die Punkte 2 und 7 verzichtet werden konnte.

Die Laborflaschen und Zwei-Ventil-Deckel wurden nach der Messung in einer Laborspülmaschine (G7733 MIELABOR, Miele & Cie. GmbH & Co., Gütersloh) bei 65 °C zweifach mit destilliertem Wasser gespült und anschließend für ca. 1 Stunde bei 100 °C im Trockenschrank (Heraeus, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) getrocknet. Sämtliche Messungen mit MRSA wurden aus hygienischen Gründen in Kooperation mit dem Institut für medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene des Universitätsklinikums Marburg in einem Labor der Sicherheitsstufe S2 durchgeführt.

#### 2.2.3.4. Auswertung MCC-IMS

Die Auswertung der anhand der zuvor beschriebenen Methodik erhobenen Daten erfolgte in Kooperation mit Prof. Dr. rer. nat. habil. Jörg Ingo Baumbach, Fakultät für Bio- und Chemieingenieurwesen der Technischen Universität Dortmund, und Dr. rer. nat. Sybelle Goedicke-Fritz, Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, Labor für Neonatologie und Immunologie, Universitätsklinikum Marburg.

Eine orientierende visuelle Darstellung der erhobenen Daten wird durch die Software VisualNow 3.7 ermöglicht. Hiermit lässt sich ein Chromatogramm, also das Resultat einer durchgeführten Messung, graphisch darstellen. Eine zweidimensionale Abbildung zur Darstellung der Matrix des gesamten MCC-IMS-Chromatogramms einer Messung wird in Form einer Heatmap abgebildet (Abb. 18, Fenster d). Die X-Achse stellt die inverse Ionenmobilität  $1/K_0$  in  $\text{Vs}/\text{cm}^2$  (einen zur Driftzeit proportionalen Wert) und die Y-Achse die Retentionszeit in Sekunden dar. Analog dazu ist eine dreidimensionale Darstellung möglich (Abb. 19) [Bödeker et al. 2008]. Jeder in einer Probe vorkommende Analyt erzeugt in der Matrix entsprechend seiner Ionenmobilität und Retentionszeit ein Signal. Die Signalintensität, welche sich aus der Konzentration des jeweiligen Analyten in der Probe ergibt, wird farblich dargestellt und somit hervorgehoben, wodurch sogenannte Peaks entstehen [Besa et al. 2015; Junger et al. 2010].

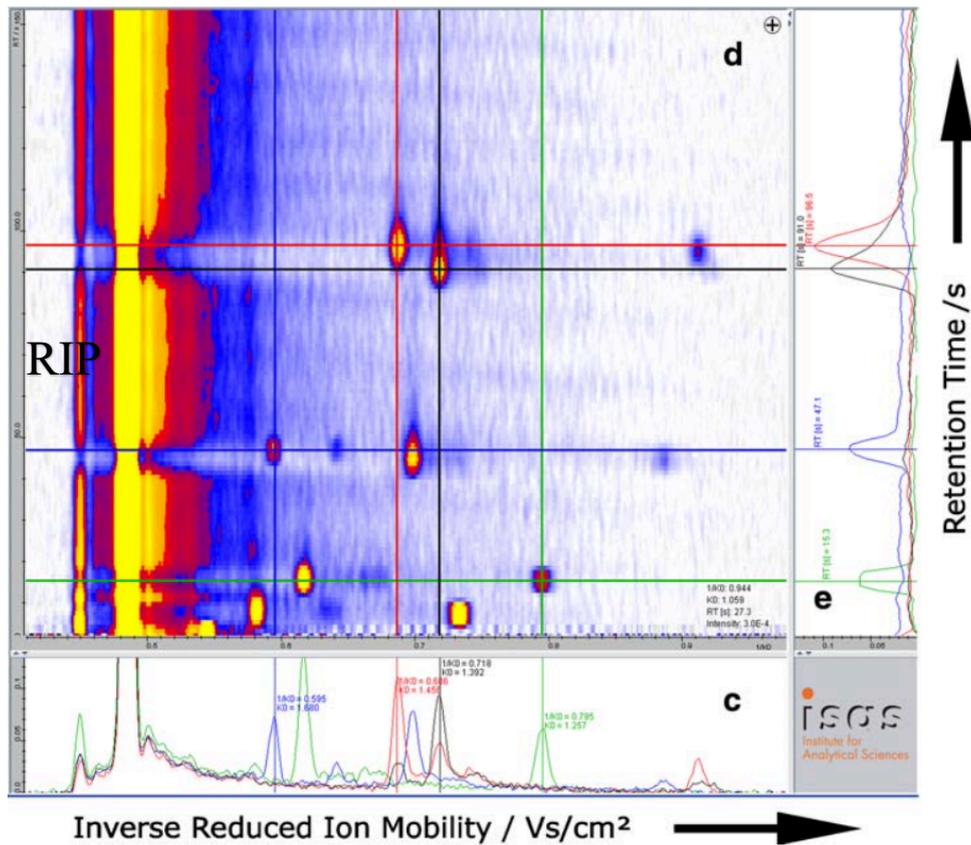


Abb. 18: Heatmap des gesamten Chromatogramms (Fenster d) mit vier einzeln ausgewählten Peaks und Darstellung der einzelnen Spektren (Fenster c) sowie der Retentionszeit (Fenster e) [Bödeker et al. 2008]

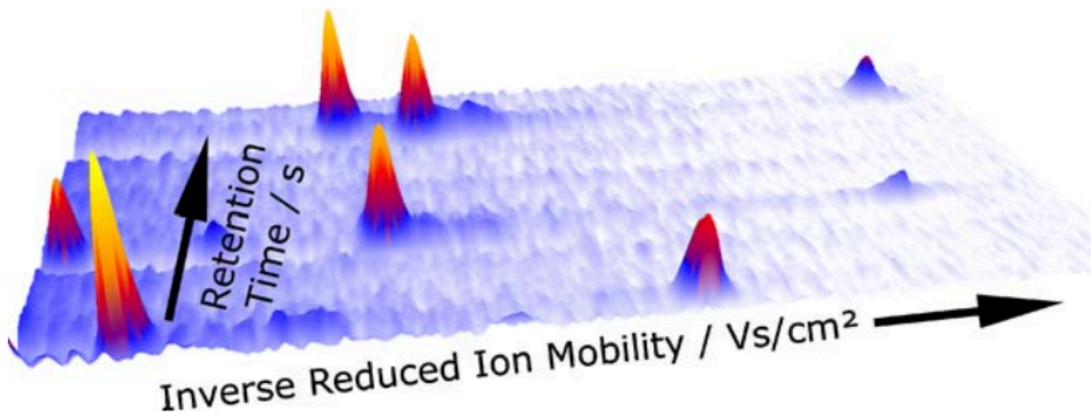


Abb. 19: Dreidimensionale Darstellung eines manuell gewählten Ausschnitts des Fensters d aus Abb. 18 [Bödeker et al. 2008]

Anhand der somit gewährleisteten Visualisierung können einzelne Peaks aus dem Chromatogramm manuell ausgewählt werden. Dieser Prozess wird „*peak picking*“ genannt. Einem erfahrenen Experten ist es somit möglich, alle Peaks eines Datensatzes innerhalb weniger Minuten zu markieren und hierbei auch schwache Signalintensitäten

von Störfaktoren aus der Raumluft zu unterscheiden [Bödeker et al. 2008; D'Addario et al. 2014]. Um Störfaktoren auszuschließen, wurde bei schwächeren Signalintensitäten ein Abgleich mit der jeder Messung vorgeschalteten Referenzmessung der leeren Laborflasche durchgeführt. Somit konnte auch bei schwachen Signalen innerhalb der Probe eine externe Kontamination ausgeschlossen werden, indem die bereits in der Leermessung nachgewiesenen Peaks herausgerechnet wurden. Ebenso wird während jeder Analyse der sogenannte RIP (*reactant ion peak*) herausgerechnet, welcher durch die Ionisation des Driftgases entsteht (siehe Abb. 18) [D'Addario et al. 2014].

Die anhand des *peak pickings* identifizierten Peaks wurden in einem sogenannten Layer gesammelt. Anhand des Layers lässt sich durch wiederholte Messungen eine Mustererkennung generieren, welche die Zuordnung gewisser Peaks zu den entsprechenden Proben gewährleistet. Bestimmte Peaks können durch Abgleich mit vorbestehenden Datenbanken entsprechenden organischen Verbindungen zugeordnet werden [Junger et al. 2010]. Eine exakte Zuordnung gemessener Proben zu einzelnen chemischen Verbindungen ist mittels IMS jedoch nicht möglich und kann beispielsweise mithilfe eines Gaschromatographie-Massenspektrometers (GC-MS) erreicht werden, was jedoch nur nach aufwendiger Vorbereitung der Proben und mit erhöhtem Zeitaufwand möglich ist. IMS-Datenbanken beruhen auf wiederholten Messungen von anhand GC-MS analysierten Proben und der somit gewährleisteten Mustererkennung [de Lacy Costello et al. 2014; Junger et al. 2010]. Dementsprechend kann mittels IMS nur eine prognostische Zuordnung zu in entsprechenden Datenbanken hinterlegten Analyten erfolgen.

Mithilfe der Software VisualNow 3.7 (B & S Analytik GmbH, Dortmund) wurden die Peaks identifiziert, welche die größten Unterschiede in den verschiedenen Gruppen aufzeigten und somit eine Differenzierung der Gruppen ermöglichen. Zur statistischen Auswertung der gewonnenen Daten wurde ein Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Hierbei handelt es sich um einen ungepaarten Hypothesentest, anhand dessen festgestellt werden kann, ob eine statistisch signifikante Unterscheidung zweier gemessener Gruppen vorliegt. Der Mann-Whitney-U-Test ist der bevorzugte statistische Test im Bereich der IMS-Forschung [Hauschild et al. 2012]. Zur Neutralisierung von Alphafehlern wurde eine Bonferroni-Korrektur durchgeführt. Die Visualisierung der Daten erfolgt mittels Box-Whisker-Plots, ebenfalls mithilfe der Software VisualNow 3.7.

Zur weiteren Differenzierung der Gruppen wurde mit der Software RapidMiner 7.5 ein Entscheidungsbaum erstellt. Der Entscheidungsbaum orientiert sich an für die jeweilige

Gruppe signifikanten Peaks, sodass eine Unterscheidung zweier Gruppen in möglichst wenigen Schritten gewährleistet wird. Hierbei wird bei entsprechenden Peaks anhand deren „*best threshold*“ entschieden, welcher Gruppe ein Peak zugeordnet werden kann. Beim *best threshold* handelt es sich um einen Schwellenwert, der als die Signalstärke eines Peaks definiert wird, bei der die meisten Proben korrekt zugeordnet werden können. Die Höhe des *best thresholds* korreliert mit der Signalstärke und lässt somit Rückschlüsse auf die Konzentration der eines Peaks zugrundeliegenden chemischen Verbindung zu, in der vorliegenden Studie auf Stoffwechselprodukte der Bakterien. Die statistische Auswertung in Form einer Konfusionsmatrix erfolgte ebenfalls mit der Software RapidMiner 7.5. Die Konfusionsmatrix stellt den Zusammenhang zwischen den eigentlichen Werten und den – mittels oben genannter Auswertung – vorhergesagten Werten dar.

## 2.2.4. Cyranose



**Abb. 20: Cyranose 320 kopfüber im Stativ**

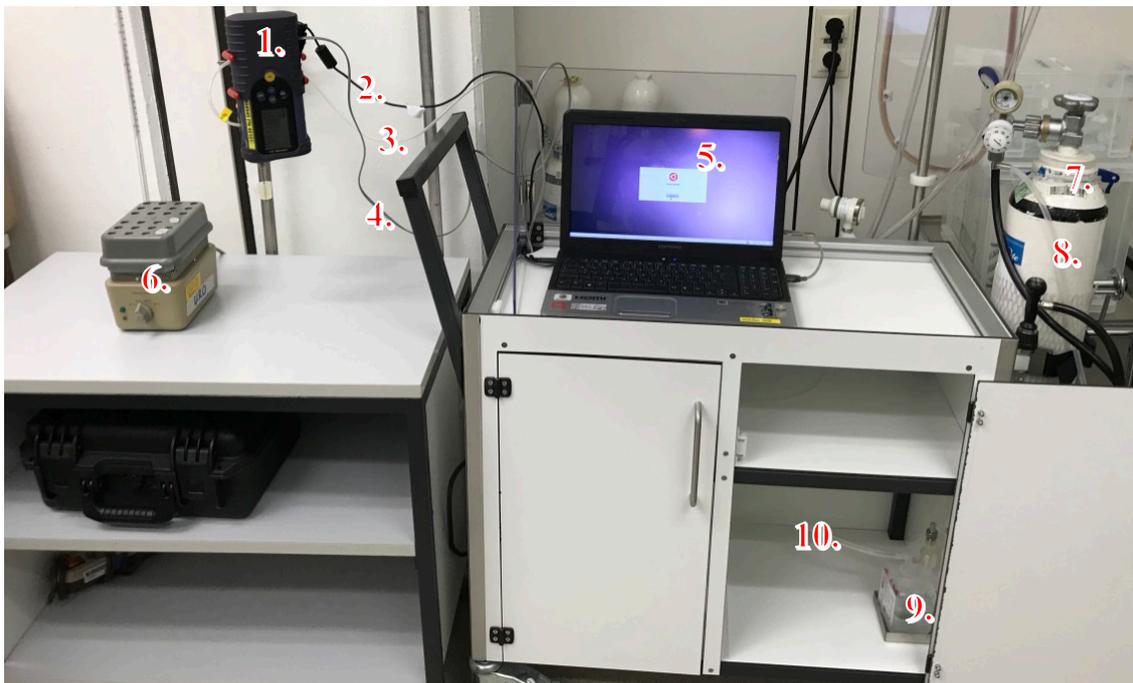
1. Tastenfeld, 2. Display, 3. Messnadel mit Gummistopfen, 4. Luftzufuhr, 5. Datenkabel, 6. Stromkabel

### 2.2.4.1. Technische Daten

- Sensoranordnung 32 individuell zusammengesetzte Dünnschicht-Kohlenstoff-Polymer-Chemiresistoren
- Trägergas Befeuchtetes Gemisch aus medizinischer Luft (Aer medicinalis Linde) und Umgebungsluft

- Trägergasfluss 1 l/min
- Pumpleistung 50 – 180 ml/min
- Betrieb Integriertes Tastenfeld und Laptop  
Compaq Presario CQ60
- Kommunikation RS-232
- Datenvisualisierung PCNose 6.9
- Probenahmedauer 60 Sekunden
- Messnadel 2“ Edelstahl
- Stromversorgung 110 – 240 V
- Batterietyp NiMH Akku
- Display 320 x 200 Grafik mit LED-  
Hintergrundbeleuchtung
- Abmessung 10 x 22 x 5 cm
- Gewicht 0.91 kg

## 2.2.4.2. Versuchsaufbau



**Abb. 21: Versuchsaufbau Cyranose**

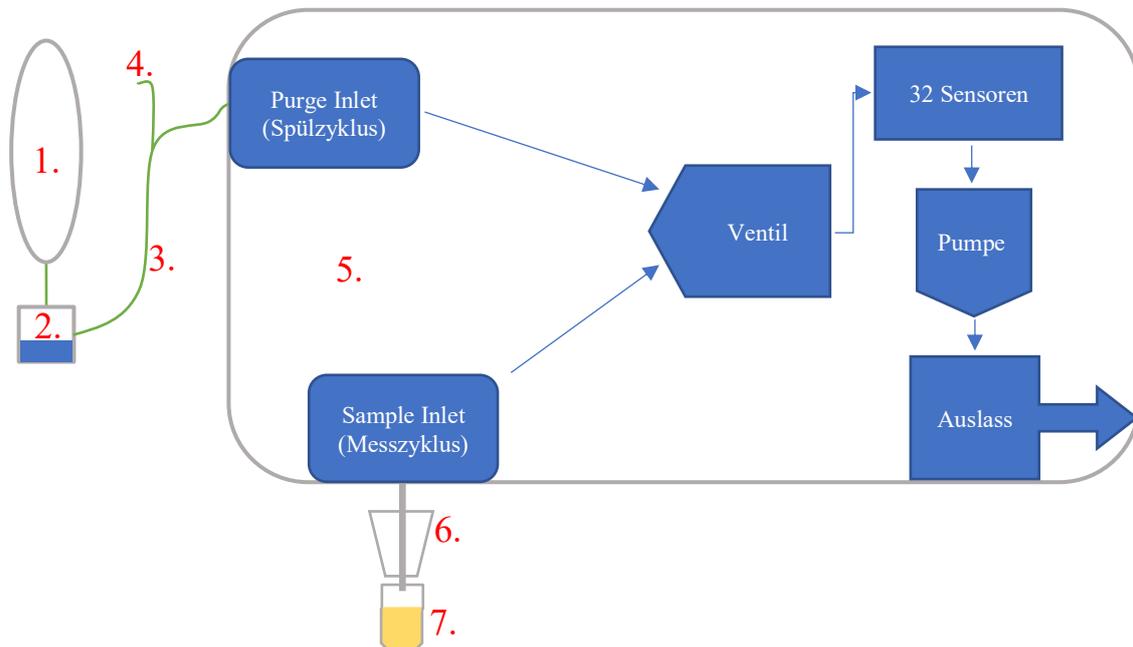
1. Cyranose 320, 2. Stromkabel, 3. Luftzufuhr, 4. Datenkabel, 5. Laptop, 6. Heizblock, 7. Aer medicinalis Linde, 8. Verbindung zum Aquapak, 9. Aquapak zur Luftbefeuchtung, 10. Verbindung zur Cyranose

Zur Gewährleistung der Stabilität wurde die Cyranose kopfüber in eine Halterung eingespannt, sodass die zu messenden Proben handgerecht und in unverändertem Abstand zur Messnadel – welche dem Einsaugen des Headspace über den Proben dient – untersucht werden konnten. Zudem wurde an der Messnadel ein Gummistopfen installiert, welcher zusätzlich einen einheitlichen Abstand der Proben zur Messnadel ermöglichte und außerdem einer Befeuchtung der Nadel durch Probenflüssigkeit vorbeugen konnte. Mittels Datenkabel wurde eine Verbindung zum Laptop (Compaq Presario CQ60, HP Inc., Palo Alto, CA, USA) und der zur Messwerterfassung installierten Software PCnose 6.9 (Sensigent, Baldwin Park CA, USA) hergestellt. Für die Luftzufuhr wurde über ein Schlauchsystem befeuchtete medizinische Luft und mit einem mittels Y-Stück zugeschaltetem offenen Ende Raumluft (Aer medicinalis Linde, Linde Gas Therapeutics GmbH, Unterschleißheim; Sterilwasser Hudson RCI AquaPak, Teleflex Medical Inc., Research Triangle Park, NC, USA) zugeführt.

### 2.2.4.3. Messablauf

#### **Vorbereitungen Messablauf**

Vor Messbeginn wurde der Heizblock auf 37 °C aufgewärmt und die Cyanose mit Strom- und Datenkabel sowie mit dem Schlauchsystem zur Luftzufuhr verbunden. Die zu messenden Proben wurden ca. 1.5 Stunden vor Beginn der Messung im Kühlschrank (MediLine, Liebherr, Biberach an der Riß) bei +4 °C aufgetaut. Zum Erwärmen der Probe wurden die Proben im Reaktionsgefäß (Eppendorf AG, Hamburg) aus dem Kühlschrank genommen und in den Heizblock gestellt. Eine Temperaturkontrolle mit BHI (Thermometer 30.1024, TFA Dostmann GmbH & Co. KG, Wertheim-Reicholzheim) zeigte, dass die Proben nach ca. 5 Minuten die Zieltemperatur von 37 °C erreicht hatten, woraufhin jede Probe jeweils 6 Minuten vor Beginn der ersten Messung aufgewärmt wurde. Die Proben wurden 10 Sekunden vor Beginn des Einsaugens des Headspace aus dem Heizblock genommen, per Hand geschüttelt und erst unmittelbar vor dem Einsaugen geöffnet. Um Messverfälschungen durch den Untersucher vorzubeugen, wurden stets ein ohne Waschmittel in Kochwäsche gewaschener Kittel sowie Einmalhandschuhe (Latex-Free Powder-Free Sempercare Nitrile, Semperit Technische Produkte GmbH, Wien, Österreich) und eine Atemschutzmaske (Barrier Surgical Mask 42290, Mölnlycke Health Care AB, Göteborg, SE) getragen.



**Abb. 22: Schematischer Messaufbau sowie Spül- und Messzyklus der Cyranose 320**  
 [Smiths Detection - Pasadena 2004a]

1. Medizinische Luft, 2. Aquapak, 3. Schlauch zur Cyranose, 4. offenes Ende, 5. Cyranose, 6. Messnadel mit Gummistopfen, 7. Probe im Reaktionsgefäß

*Erklärung: Über die integrierte Pumpe wurde mit variierender Pumpleistung Luft angesaugt, welche daraufhin von den Sensoren analysiert werden konnte. Das Ventil gewährleistete über einen Schaltmechanismus je nach Messung die Einspeisung von Luft über den Purge oder Sample Inlet.*

Nach dem Einschalten durchlief die Cyranose automatisch für 380 Sekunden eine *Warm-Up*-Phase, um die Betriebstemperatur zu erreichen. Mit einem darauffolgenden *Identify Run* wurde der im Folgenden erläuterte Messablauf einmal durchlaufen, statt der Probe wurde durch die Messnadel Umgebungsluft eingesaugt. So konnte die Cyranose anhand einer Analyse der Umgebungsluft eine Referenzmessung erstellen, welche eine Unterscheidung zwischen VOCs aus den Proben und Störfaktoren aus der Umgebungsluft erlaubt.

## Messablauf

1. *Baseline Purge*: Über den *Purge Inlet* wird zu Anfang jeder Messung bei einer Pumpleistung von 120 ml/min für 60 Sekunden befeuchtete medizinische Luft und Raumluft zugeführt, um das Gerät zu spülen und die *Baseline* zu erstellen. 10 Sekunden vor Ablauf der Zeit wurde die zu messende Probe aus dem Heizblock genommen, händisch geschüttelt und unmittelbar vor Schritt 2 geöffnet und an die Messnadel gehalten.
2. *Draw Sample*: Der Headspace über der Probe wurde für 60 Sekunden mit einer Pumpleistung von 120 ml/min über den *Sample Inlet* angesaugt.
3. *Waiting, Remove Snout*: Für 3 Sekunden reduzierte die Cyranose die Pumpleistung auf 50 ml/min. Währenddessen konnte die Probe von der Messnadel entfernt und zurück in den Heizblock gestellt werden.
4. *Purge Air 1*: Mit einer Pumpleistung von 180 ml/min wurde für 10 Sekunden befeuchtete medizinische Luft und Raumluft zur Spülung des Spülzyklus durch den *Purge Inlet* eingesaugt.
5. *Purge Sample 2*: Bei gleichbleibender Pumpleistung von 180 ml/min spülte das Gerät mit befeuchteter medizinischer Luft und Raumluft für 50 Sekunden den Messzyklus durch den *Sample Inlet*.

Jede Probe wurde anhand des oben erläuterten Messablaufs insgesamt 5-mal gemessen, um ein Machine-Learning zu gewährleisten.

### 2.2.4.4. Auswertung Cyranose 320

Die Auswertung der anhand der zuvor beschriebenen Methodik erhobenen Daten erfolgte in Kooperation mit Dr. med. Dr. phil. Tobias Boeselt, Klinik für Pneumologie, Universitätsklinikum Marburg und Dr. rer. nat. Akira Hattesoht, Bioinformatiker, Universitätsklinikum Marburg.

Der Mittelwert der gemessenen Datensätze wurde jeweils anhand eines arithmetischen Mittels bestimmt, anschließend wurde für diese Daten eine Hauptkomponentenanalyse durchgeführt. Die Unterscheidung der Gruppen konnte daraufhin mittels linearer Diskrimanzanalyse (LDA) gewährleistet werden. Als varianzabhängiges Abstandsmaß

für mehrdimensionale Daten wurde die Mahalanobis-Distanz zwischen den jeweiligen Gruppen berechnet [Greulich et al. 2013; Hattesoehl et al. 2011].

Zur Erzeugung des Kreuzvalidierungswertes (*cross validation value*, CVV), welcher Aufschluss über die Vorhersagekraft eines Machine-Learning-Modells gibt [Refaeilzadeh et al. 2009], wurde eine Leave-One-Out-Kreuzvalidierung durchgeführt. Hierbei handelt es sich um eine k-fache Kreuzvalidierung, in der jeweils eine Datenprobe pro Gruppe ausgelassen wird, wobei  $k = n_1 \cdot n_2$  gilt und  $n_1$  und  $n_2$  der Anzahl der Proben der jeweils verglichenen Gruppe entsprechen. [Greulich et al. 2013; Hattesoehl et al. 2011; Heers et al. 2018]. Durch entsprechende Berechnung einer Datenprobe jeder Gruppe als Testsatz und der übrigen Datenproben als Trainingsatz wurde jede mögliche Permutation berücksichtigt. Schlussendlich ließ sich der CVV als Prozentsatz der korrekt zugeordneten Proben berechnen, indem die Klassifizierungen der Datenproben des Testsatzes anhand der Datenproben des entsprechenden Trainingsatzes vorhergesagt wurden [Heers et al. 2018].

## 3. Ergebnisse

### 3.1. Ergebnisse MCC-IMS

Am MCC-IMS wurden gemäß beschriebenen Schema aus Punkt 2.2.3.3. insgesamt 67 Messungen analysiert: 27 Messungen der nicht bebrüteten Trägerlösung BHI sowie jeweils 20 Messungen der mit MRSA und MSSA gemäß Punkt 2.2.1. bebrüteten Trägerlösung (je eine Messung pro vorliegender Stock-Probe).

Nach unter Punkt 2.2.3.4. genanntem Verfahren konnten in den drei Gruppen BHI, MRSA und MSSA insgesamt 62 Peaks identifiziert werden. Alle Peaks mit Bonferroni-korrigiertem p-Wert von  $< 0.001$  (KI 99.9 %) sowie einer Sensitivität und Spezifität  $\geq 90$  % wurden als signifikante Peaks interpretiert und tabellarisch dargestellt. In den folgenden Tabellen werden diejenigen Peaks aufgezeigt, welche in der entsprechenden Gruppe als signifikant nachgewiesen werden konnten und somit eine Abgrenzung aus der jeweiligen Kontrollprobe erlauben. Kap. 3.1.2. gibt Auskunft über die zugeordneten chemischen Substanzen nach Abgleich mit einer bestehenden Datenbank der Firma B & S Analytik GmbH (20160426\_SubstanzDbNIST\_122\_St\_layer.xls, B & S Analytik GmbH, Dortmund), wobei eine exakte Zuordnung zu chemischen Analyten mittels IMS nicht möglich ist und es sich nur um eine Prognose anhand der vorliegenden Datenbank handelt. Für eine genaue Zuordnung bedarf es anderer Messmethoden, wie beispielsweise der Verwendung eines Gaschromatographie-Massenspektrometers (siehe Kap. 2.2.3.4.).

#### 3.1.1. Einzelne Peaks

##### 3.1.1.1. MRSA vs. BHI

In der Gegenüberstellung der Gruppen MRSA und BHI konnten insgesamt 29 Peaks mit einer Bonferroni-korrigierten Signifikanz von  $p < 0.05$  (KI 95 %) identifiziert werden, welche im Vergleich eine signifikant höhere mediane Signalintensität in der Messung der MRSA-Proben aufzeigten und somit eine Abgrenzung von MRSA aus dem Nährmedium ermöglichen. 24 Peaks zeigten zudem einen Bonferroni-korrigierten p-Wert von  $< 0.01$  (KI 99 %), 19 dieser Peaks konnten eine Bonferroni-korrigierte Signifikanz von  $p < 0.001$  (KI 99.9 %) aufweisen. Die aussagekräftigsten Peaks mit Bonferroni-korrigiertem p-Wert

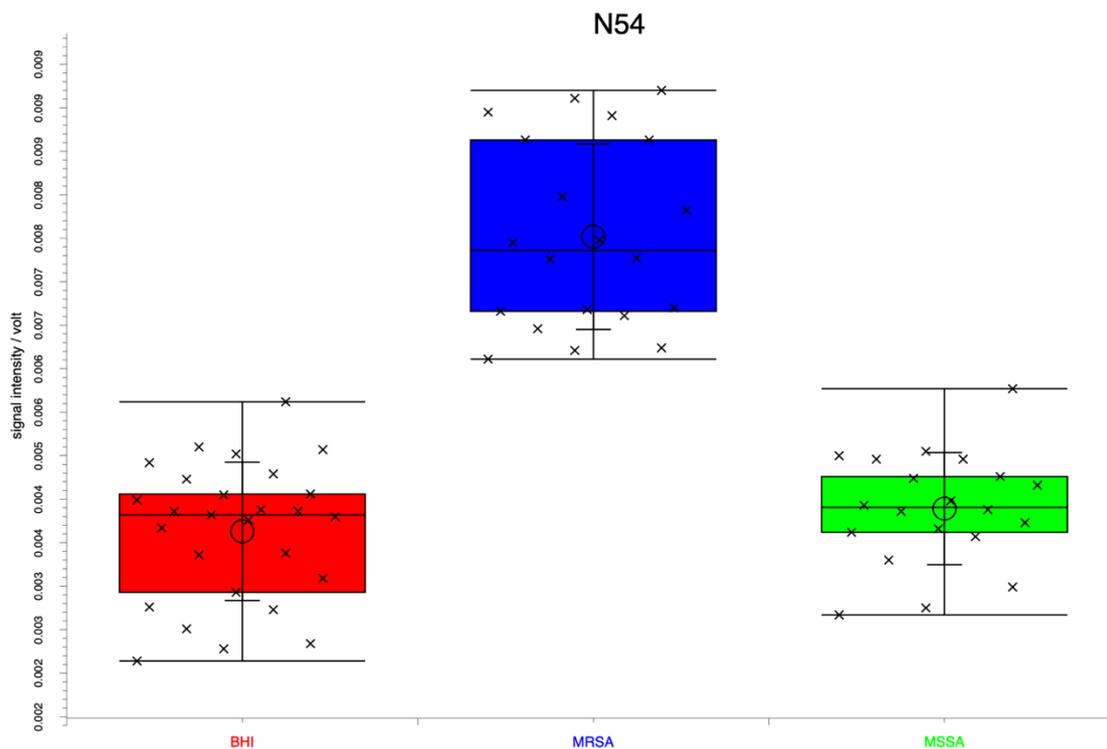
von  $< 0.001$  (KI 99.9 %) sowie einer Sensitivität und Spezifität  $\geq 90$  % sind in Tab. 4 aufgezählt.

Peak	Gruppe	Best threshold	Sensitivität	Spezifität	PPV	NPV	Accuracy
N5	MRSA	0.03	92.6 %	90 %	92.6 %	90 %	91.5 %
N16	MRSA	0.005	96.3 %	90 %	92.9 %	94.7 %	93.6 %
N20	MRSA	0.065	92.6 %	90 %	92.6 %	90 %	91.5 %
N24	MRSA	0.009	96.3 %	99.9 %	99.9 %	95.2 %	97.9 %
N26	MRSA	0.019	96.3 %	90 %	92.9 %	94.7 %	93.6 %
N28	MRSA	0.019	96.3 %	90 %	92.9 %	94.7 %	93.6 %
N36	MRSA	0.009	96.3 %	99.9 %	99.9 %	95.2 %	97.9 %
N49	MRSA	0.029	92.6 %	90 %	92.6 %	90 %	91.5 %
N54	MRSA	0.006	99.9 %	99.9 %	99.9 %	99.9 %	99.9 %
N55	MRSA	0.005	99.9 %	99.9 %	99.9 %	99.9 %	99.9 %
N56	MRSA	0.005	99.9 %	95 %	96.4 %	99.9 %	97.9 %
N57	MRSA	0.005	92.6 %	90 %	92.6 %	90 %	91.5 %

**Tab. 4: Signifikante Peaks in der Gegenüberstellung von MRSA und BHI**

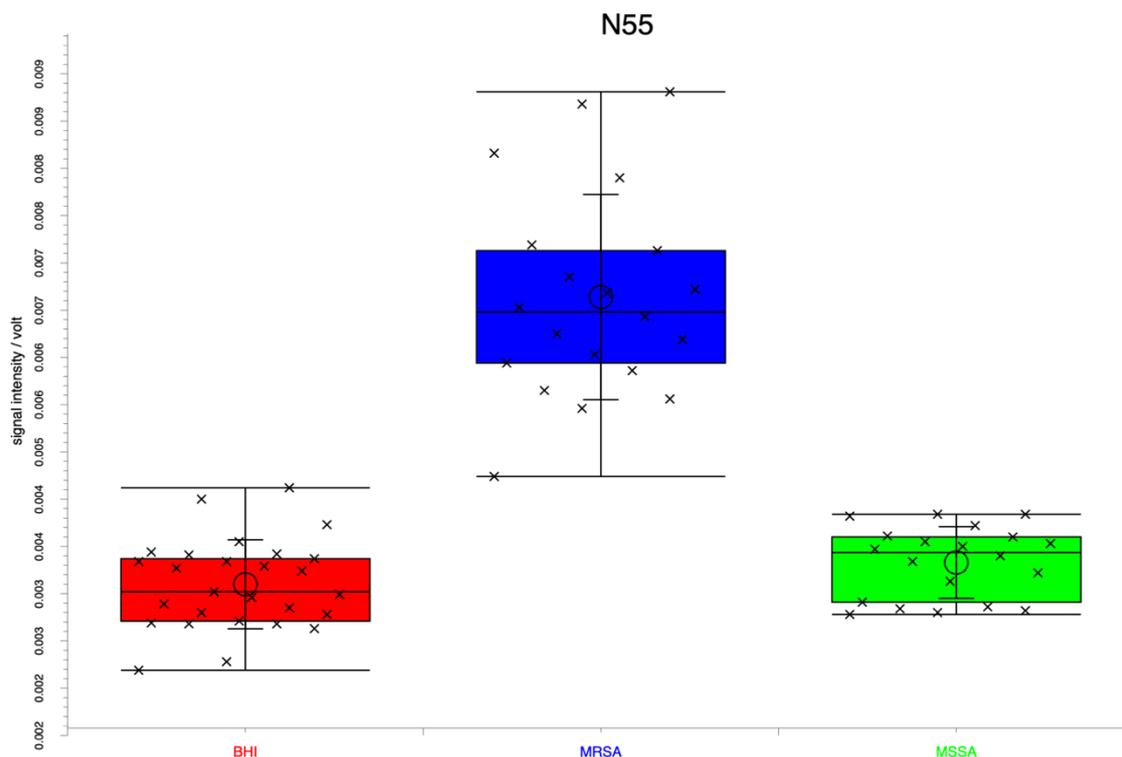
*Jeder Peak weist eine Bonferroni-korrigierte Signifikanz von  $p < 0.001$  auf.*

Die signifikantesten Peaks zur Unterscheidung von MRSA und BHI sind Peak N54 und N55, welche eine Unterscheidung von MRSA aus dem Nährmedium BHI mit einer Sensitivität und Spezifität von je 99.9 % gewährleisten und hierbei eine Bonferroni-korrigierte Signifikanz von  $< 0.001$  (KI 99.9 %) aufweisen. Die graphische Darstellung der Peaks im Box-Whisker-Plot zeigen Abb. 23 und Abb. 24.



**Abb. 23: Box-Whisker-Plot des Peaks N54**

*BHI (rot) vs. MRSA (blau) vs. MSSA (grün), der Peak N54 weist eine signifikant höhere Signalintensität ( $p < 0.001$  nach Bonferroni-Korrektur) mit einem best threshold von 0.006 in der MRSA-Gruppe auf und gewährleistet somit eine Differenzierung sowohl von BHI als auch von MSSA mit einer Sensitivität und Spezifität von je 99.9 %. Es liegt kein signifikanter Unterschied der Signalintensität in den Gruppen MSSA und BHI vor, sodass hier keine Differenzierung möglich ist. Der Peak N54 entspricht nach Abgleich mit der Datenbank der B & S Analytik GmbH dem chemischen Analyten Benzen.*

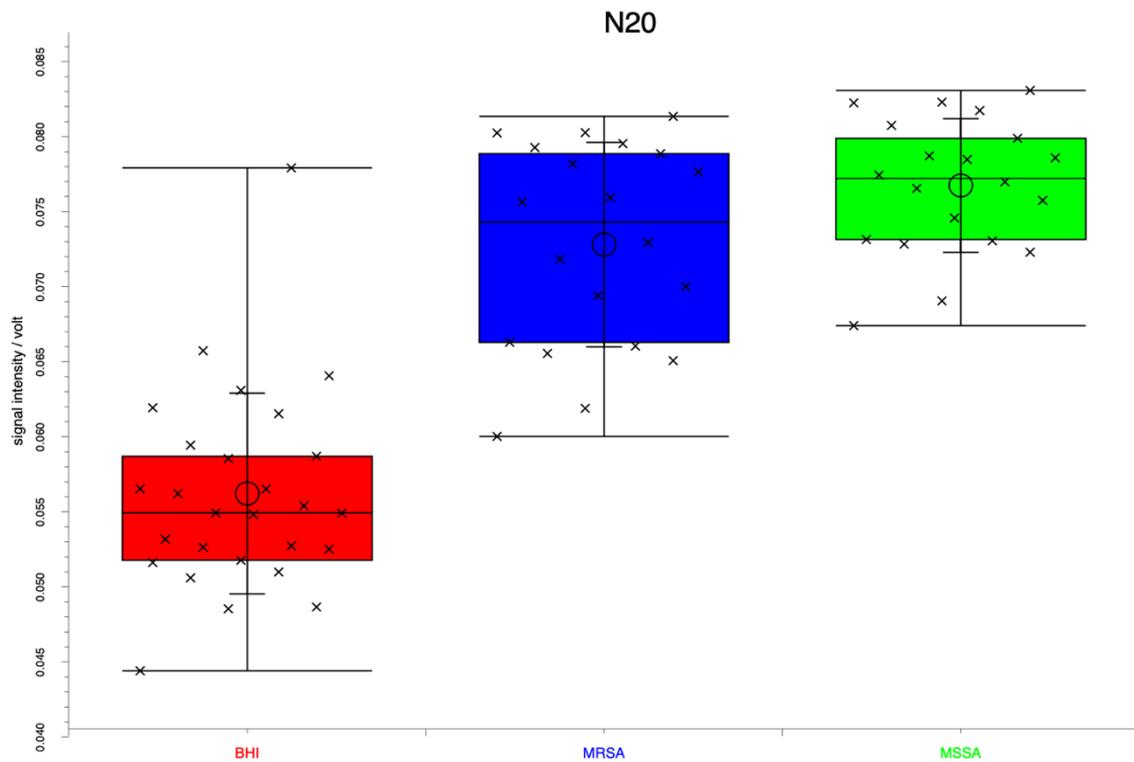


**Abb. 24: Box-Whisker-Plot des Peaks N55**

*BHI (rot) vs. MRSA (blau) vs. MSSA (grün), der Peak N55 weist eine signifikant höhere Signalintensität ( $p < 0.001$  nach Bonferroni-Korrektur) mit einem best threshold von 0.005 in der MRSA-Gruppe auf und gewährleistet somit eine Differenzierung sowohl von BHI als auch von MSSA mit einer Sensitivität und Spezifität von je 99.9 %. Es liegt kein signifikanter Unterschied der Signalintensität in den Gruppen MSSA und BHI vor, sodass hier keine Differenzierung möglich ist. Der Peak N55 entspricht nach Abgleich mit der Datenbank der B & S Analytik GmbH dem chemischen Analyten Acetoin.*

Trotz des vergleichsweise geringen *best thresholds* (Korrelation mit der Signalintensität, siehe Kap. 2.2.3.4.) von 0.006 im Peak N54 und 0.005 im Peak N55 konnten die Peaks in der zugehörigen Leermessung des Probengefäßes nicht identifiziert werden, sodass es sich hierbei nicht um eine Kontamination, sondern um Signale nachweisbarer Stoffwechselprodukte handelt, welche vermehrt von MRSA produziert werden. Zudem existieren auch Peaks mit einem höheren *best threshold* und somit einer höheren Signalintensität, welche ebenfalls eine signifikante Unterscheidung der Gruppe MRSA gegenüber BHI gewährleisten. Exemplarisch wird in Abb. 25 der Box-Whisker-Plot des

Peaks N20 dargestellt, welcher die höchste Signalintensität der aussagekräftigsten Peaks aufzeigt.

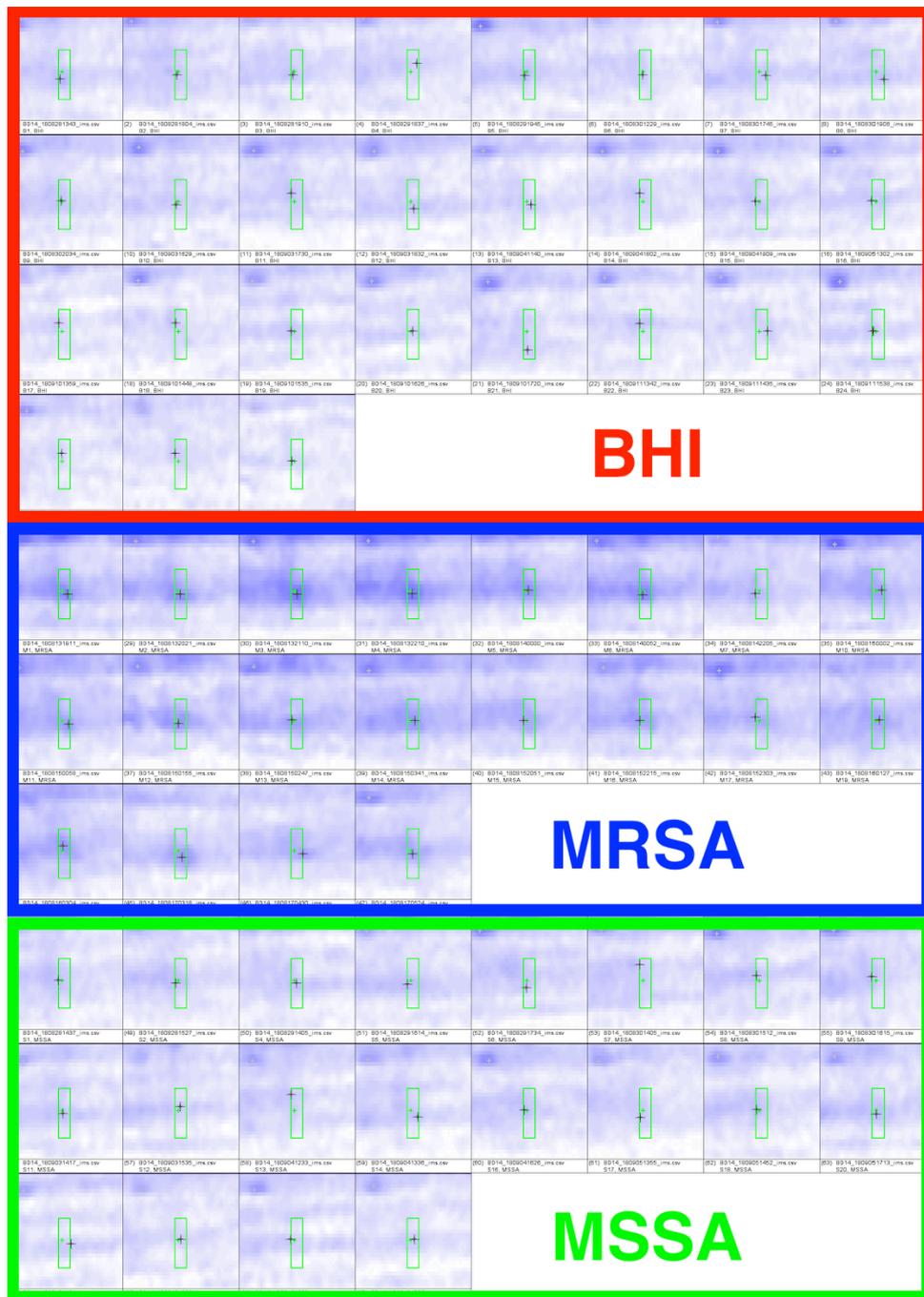


**Abb. 25: Box-Whisker-Plot des Peaks N20**

*BHI (rot) vs. MRSA (blau) vs. MSSA (grün), der Peak N20 weist eine signifikant höhere Signalintensität ( $p < 0.001$  nach Bonferroni-Korrektur) mit einem best threshold von 0.065 in der MRSA-Gruppe auf und gewährleistet somit eine Differenzierung von BHI mit einer Sensitivität von 92.6 % und einer Spezifität von 90 %. Es liegt kein signifikanter Unterschied der Signalintensität in den Gruppen MRSA und MSSA vor, sodass hier keine Differenzierung möglich ist. Der Peak N20 entspricht nach Abgleich mit der Datenbank der B & S Analytik GmbH dem chemischen Analyten 1-Pentanol.*

Ein höherer *best threshold* und eine somit höhere Signalintensität werden in den Heatmaps farblich stärker hervorgehoben (siehe Kap. 2.2.3.4.). Zum Vergleich werden in Abb. 26 und Abb. 27 die Heatmaps des Peaks N55 mit einem verhältnismäßig schwachen *best threshold* von 0.005 gegenüber der Heatmap des Peaks N20 mit der höchsten Signalintensität der aussagekräftigsten Peaks zur Unterscheidung der Gruppen MRSA

und BHI mit einem *best threshold* von 0.065 dargestellt. Ein Schwellenwert, ab dem ein *best threshold* als aussagekräftig gilt, wird derzeit nicht vorgegeben.



**Abb. 26: Heatmap des Peaks N55**

Heatmap des Peaks N55 in den 27 durchgeführten Messungen der Gruppe BHI (rot) sowie in den je 20 durchgeführten Messungen der Gruppe MRSA (blau) und MSSA (grün). Der Peak N55 weist eine signifikant höhere Signalintensität ( $p < 0.001$  nach Bonferroni-Korrektur) mit einem verhältnismäßig niedrigen *best threshold* von 0.005 in

der MRSA-Gruppe auf und gewährleistet somit eine Differenzierung von BHI mit einer Sensitivität und Spezifität von je 99.9 %. Es liegt kein signifikanter Unterschied der Signalintensität in den Gruppen MSSA und BHI vor, sodass hier keine Differenzierung möglich ist. Im Vergleich zu Abb. 27 lässt sich der Unterschied der Signalintensitäten anhand der farblichen Darstellung feststellen. Der Peak N55 entspricht nach Abgleich mit der Datenbank der B & S Analytik GmbH dem chemischen Analyten Acetoin.

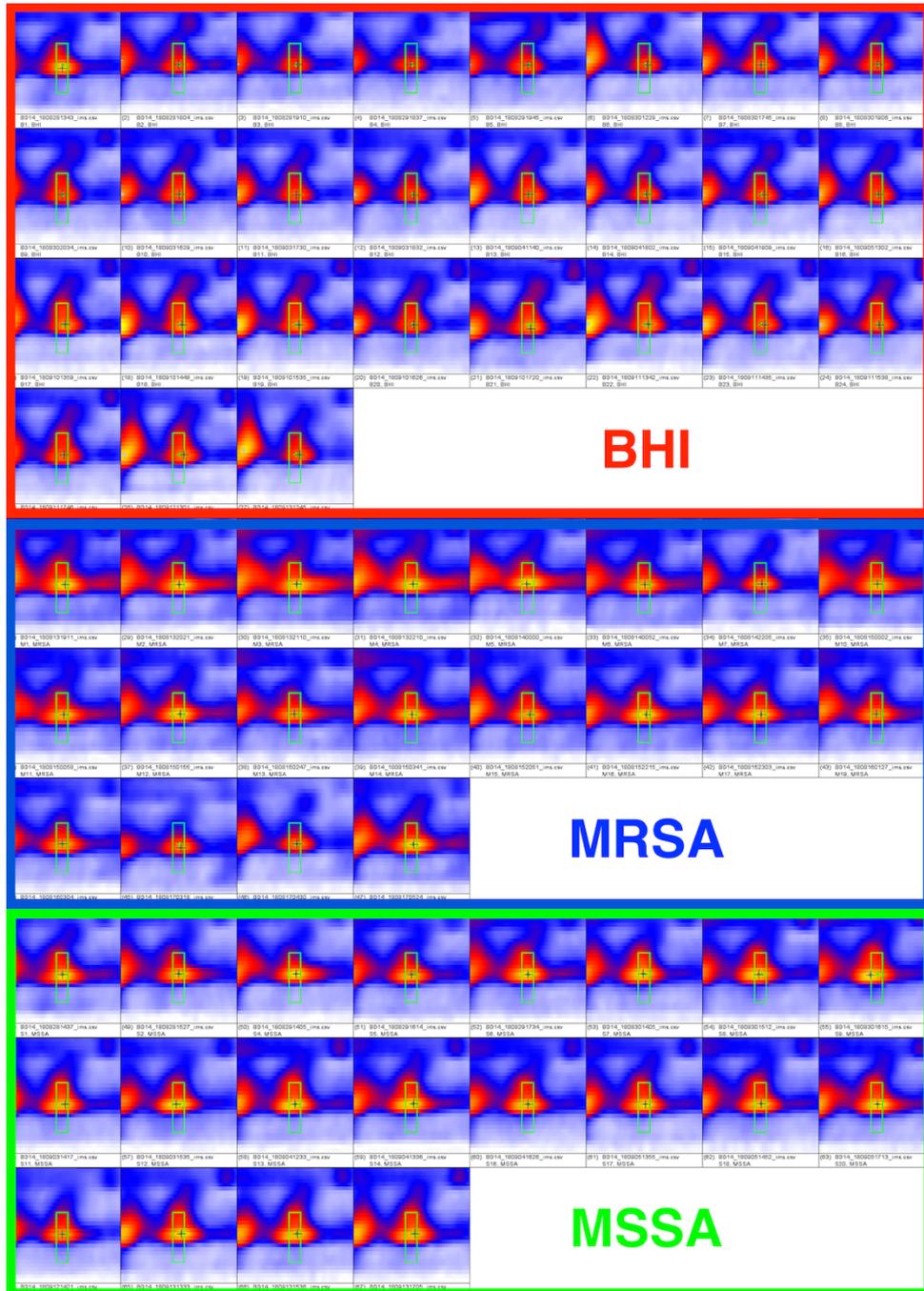


Abb. 27: Heatmap des Peaks N20

*Heatmap des Peaks N20 in den 27 durchgeführten Messungen der Gruppe BHI (rot) sowie in den je 20 durchgeführten Messungen der Gruppe MRSA (blau) und MSSA (grün). Der Peak N20 weist eine signifikant höhere Signalintensität ( $p < 0.001$  nach Bonferroni-Korrektur) mit einem verhältnismäßig hohen best threshold von 0.065 in der MRSA-Gruppe auf und gewährleistet somit eine Differenzierung von BHI mit einer Sensitivität von 92.6 % und einer Spezifität von 90 %. Es liegt kein signifikanter Unterschied der Signalintensität in den Gruppen MRSA und MSSA vor, sodass hier keine Differenzierung möglich ist. Im Vergleich zu Abb. 26 lässt sich der Unterschied der Signalintensitäten anhand der farblichen Darstellung feststellen. Der Peak N20 entspricht nach Abgleich mit der Datenbank der B & S Analytik GmbH dem chemischen Analyten 1-Pentanol.*

#### 3.1.1.2. MSSA vs. BHI

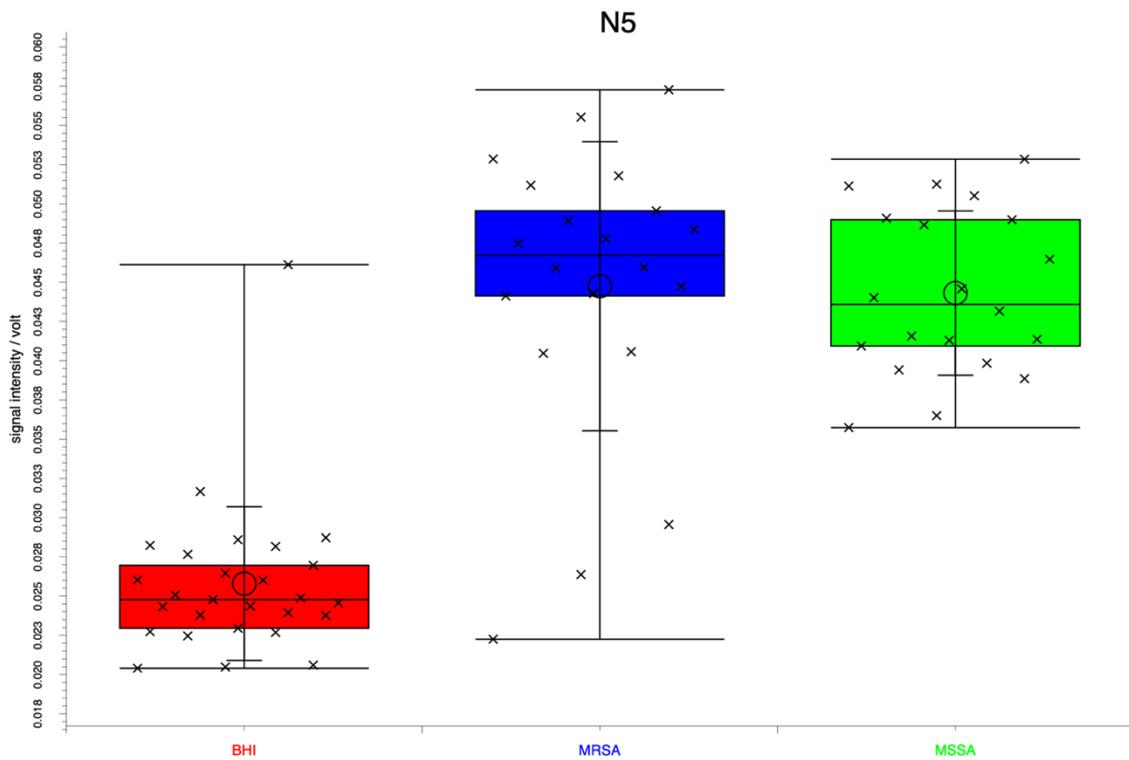
In der Gegenüberstellung der Gruppen MSSA und BHI konnten insgesamt 26 Peaks mit einer Bonferroni-korrigierten Signifikanz von  $p < 0.05$  (KI 95 %) identifiziert werden, welche im Vergleich eine signifikant höhere mediane Signalintensität in der Messung der MSSA-Proben aufzeigten und somit eine Abgrenzung von MSSA aus dem Nährmedium ermöglichen. 23 Peaks zeigten zudem einen Bonferroni-korrigierten p-Wert von  $< 0.01$  (KI 99 %), 20 dieser Peaks konnten eine Bonferroni-korrigierte Signifikanz von  $p < 0.001$  (KI 99.9 %) aufweisen. Die aussagekräftigsten Peaks mit Bonferroni-korrigiertem p-Wert von  $< 0.001$  (KI 99.9 %) sowie einer Sensitivität und Spezifität  $\geq 90$  % sind in Tab. 5 aufgezählt.

Peak	Gruppe	Best threshold	Sensitivität	Spezifität	PPV	NPV	Accuracy
N2	MSSA	0.317	96.3 %	95 %	96.3 %	95 %	95.7 %
N5	MSSA	0.034	96.3 %	99.9 %	99.9 %	95.2 %	97.9 %
N10	MSSA	0.027	92.6 %	99.9 %	99.9 %	90.9 %	95.7 %
N16	MSSA	0.005	96.3 %	99.9 %	99.9 %	95.2 %	97.9 %
N20	MSSA	0.067	96.3 %	99.9 %	99.9 %	95.2 %	97.9 %
N28	MSSA	0.017	92.6 %	95 %	96.2 %	90.5 %	93.6 %
N43	MSSA	0.016	96.3 %	90 %	92.9 %	94.7 %	93.6 %
N49	MSSA	0.036	96.3 %	99.9 %	99.9 %	95.2 %	97.9 %
N60	MSSA	0.321	96.3 %	90 %	92.9 %	94.7 %	93.6 %

**Tab. 5: Signifikante Peaks in der Gegenüberstellung von MSSA und BHI**

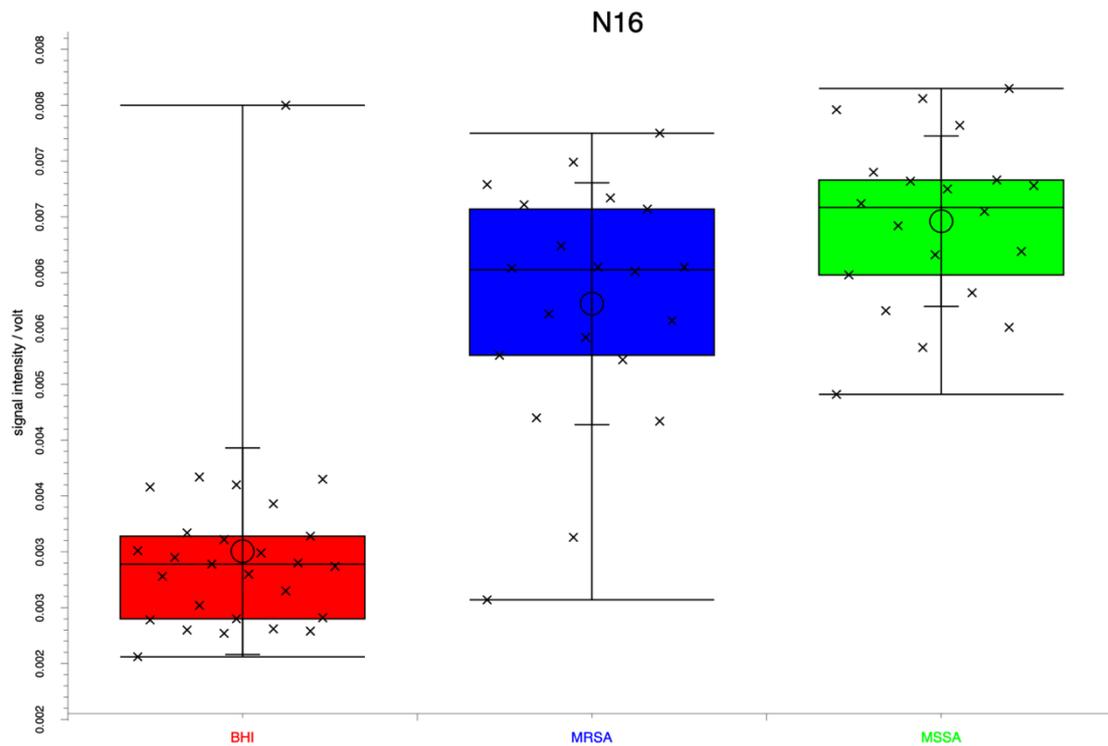
*Jeder Peak weist eine Bonferroni-korrigierte Signifikanz von  $< 0.001$  auf.*

Die signifikantesten Peaks zur Unterscheidung von MSSA aus BHI sind Peak N5, N16, N20 und N49, welche eine Unterscheidung von MSSA aus dem Nährmedium BHI mit einer Sensitivität von je 96.3 % und einer Spezifität von je 99.9 % gewährleisten und hierbei eine Bonferroni-korrigierte Signifikanz von  $< 0.001$  (KI 99.9 %) aufweisen. Die graphische Darstellung der Peaks im Box-Whisker-Plot zeigen Abb. 28 bis 31.



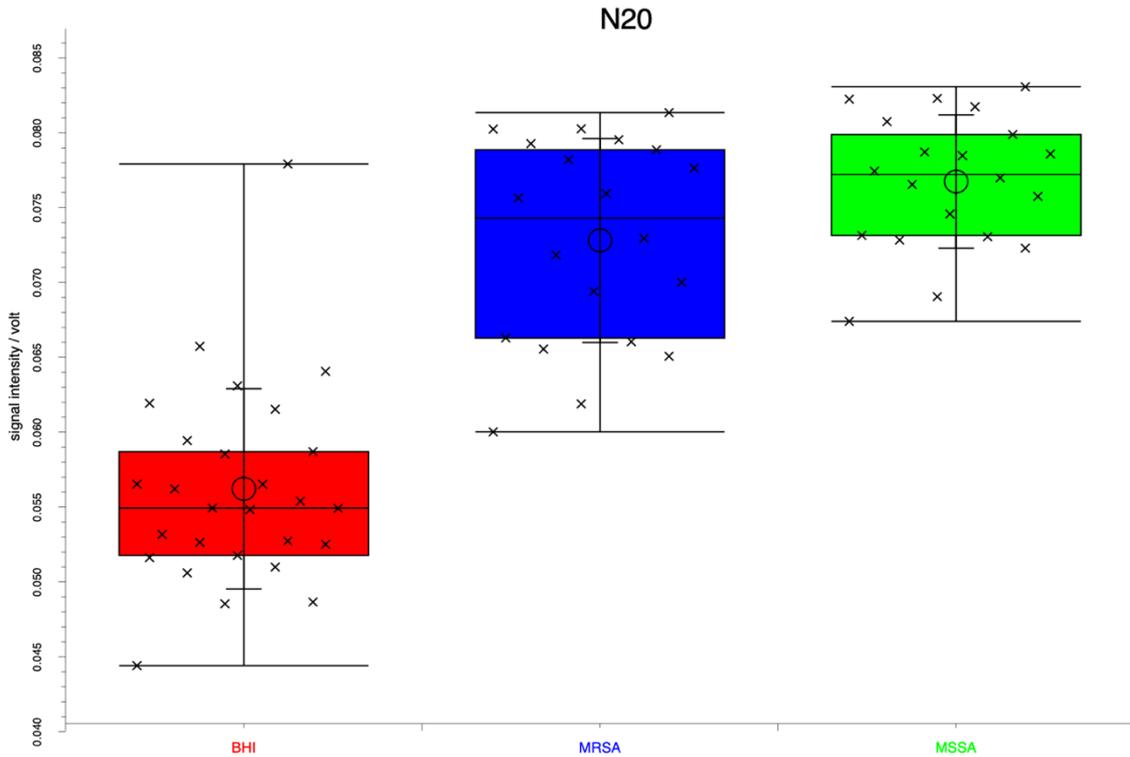
**Abb. 28: Box-Whisker-Plot des Peaks N5**

*BHI (rot) vs. MRSA (blau) vs. MSSA (grün), der Peak N5 weist eine signifikant höhere Signalintensität ( $p < 0.001$  nach Bonferroni-Korrektur) mit einem best threshold von 0.034 in der MSSA-Gruppe auf und gewährleistet somit eine Differenzierung von BHI mit einer Sensitivität von 96.3 % und einer Spezifität von 99.9 %. Es liegt kein signifikanter Unterschied der Signalintensität in den Gruppen MSSA und MRSA vor, sodass hier keine Differenzierung möglich ist. Der Peak N5 entspricht nach Abgleich mit der Datenbank der B & S Analytik GmbH dem chemischen Analyten Acetoin.*



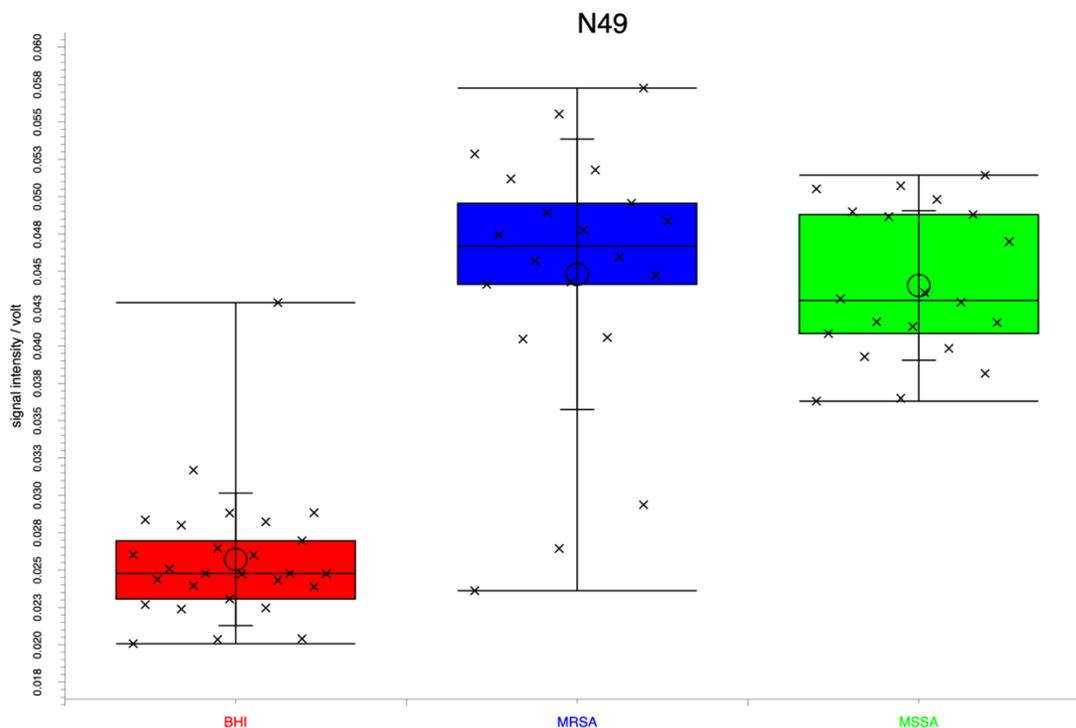
**Abb. 29: Box-Whisker-Plot des Peaks N16**

*BHI (rot) vs. MRSA (blau) vs. MSSA (grün), der Peak N16 weist eine signifikant höhere Signalintensität ( $p < 0.001$  nach Bonferroni-Korrektur) mit einem best threshold von 0.005 in der MSSA-Gruppe auf und gewährleistet somit eine Differenzierung von BHI mit einer Sensitivität von 96.3 % und einer Spezifität von 99.9 %. Es liegt kein signifikanter Unterschied der Signalintensität in den Gruppen MSSA und MRSA vor, sodass hier keine Differenzierung möglich ist. Der Peak N16 entspricht nach Abgleich mit der Datenbank der B & S Analytik GmbH dem chemischen Analyten Benzaldehyd, 2,5-dimethyl.*



**Abb. 30: Box-Whisker-Plot des Peaks N20**

*BHI (rot) vs. MRSA (blau) vs. MSSA (grün), der Peak N20 weist eine signifikant höhere Signalintensität ( $p < 0.001$  nach Bonferroni-Korrektur) mit einem best threshold von 0.067 in der MSSA-Gruppe auf und gewährleistet somit eine Differenzierung von BHI mit einer Sensitivität von 96.3 % und einer Spezifität von 99.9 %. Es liegt kein signifikanter Unterschied der Signalintensität in den Gruppen MRSA und MSSA vor, sodass hier keine Differenzierung möglich ist. Der Peak N20 entspricht nach Abgleich mit der Datenbank der B & S Analytik GmbH dem chemischen Analyten 1-Pentanol.*



**Abb. 31: Box-Whisker-Plot des Peaks N49**

*BHI (rot) vs. MRSA (blau) vs. MSSA (grün), der Peak N49 weist eine signifikant höhere Signalintensität ( $p < 0.001$  nach Bonferroni-Korrektur) mit einem best threshold von 0.036 in der MSSA-Gruppe auf und gewährleistet somit eine Differenzierung von BHI mit einer Sensitivität von 96.3 % und einer Spezifität von 99.9 %. Es liegt kein signifikanter Unterschied der Signalintensität in den Gruppen MRSA und MSSA vor, sodass hier keine Differenzierung möglich ist. Der Peak N49 entspricht nach Abgleich mit der Datenbank der B & S Analytik GmbH dem chemischen Analyten 2-Hexanon.*

### 3.1.1.3. MRSA vs. MSSA

In der Gegenüberstellung der Gruppen MRSA und MSSA konnten insgesamt 19 Peaks mit einer Bonferroni-korrigierten Signifikanz von  $p < 0.05$  (KI 95 %) identifiziert werden, welche im Vergleich eine signifikant höhere mediane Signalintensität in der Messung der MRSA-Proben aufzeigten und somit eine Abgrenzung von MRSA zu MSSA ermöglichen. 16 Peaks zeigten zudem einen Bonferroni-korrigierten p-Wert von  $< 0.01$  (KI 99 %), 11 dieser Peaks konnten eine Bonferroni-korrigierte Signifikanz von  $p < 0.001$  (KI 99.9 %) aufweisen. Die aussagekräftigsten Peaks mit Bonferroni-

korrigiertem p-Wert von  $< 0.001$  (KI 99.9 %) sowie einer Sensitivität und Spezifität  $\geq 90$  % sind in Tab. 6 aufgezählt.

Peak	Gruppe	Best threshold	Sensitivität	Spezifität	PPV	NPV	Accuracy
N36	MRSA	0.01	95 %	90 %	90.5 %	94.7 %	92.5 %
N41	MRSA	0.037	99.9 %	90 %	90.9 %	99.9 %	95 %
N48	MRSA	0.014	90 %	95 %	94.7 %	90.5 %	92.5 %
N54	MRSA	0.006	99.9 %	99.9 %	99.9 %	99.9 %	99.9 %
N55	MRSA	0.005	99.9 %	99.9 %	99.9 %	99.9 %	99.9 %
N57	MRSA	0.005	90 %	95 %	94.7 %	90.5 %	92.5 %

**Tab. 6: Signifikante Peaks in der Gegenüberstellung von MRSA und MSSA**

*Jeder Peak weist eine Bonferroni-korrigierte Signifikanz von  $< 0.001$  auf.*

Die signifikantesten Peaks zur Unterscheidung von MRSA und MSSA sind Peak N54 und N55, welche eine Unterscheidung von MRSA und MSSA mit einer Sensitivität und Spezifität von je 99.9 % gewährleisten und hierbei eine Bonferroni-korrigierte Signifikanz von  $< 0.001$  (KI 99.9 %) aufweisen. Es handelt sich hierbei um die Peaks, welche auch die Unterscheidung von MRSA aus dem Nährmedium BHI gewährleisten und somit als Signale von vermehrt von MRSA produzierten Stoffwechselprodukten interpretiert werden können. Die graphische Darstellung der Peaks im Box-Whisker-Plot zeigen Abb. 23 und Abb. 24.

### 3.1.2. Abgleich der Peaks mit der Datenbank

Die Zuordnung der Peaks zu chemischen Substanzen anhand des Abgleiches mit der bestehenden Datenbank der B & S Analytik GmbH wird in Tab. 7 dargestellt.

Peak	Gruppe	Substanz	1/K0	RT
N2	MSSA	Camphen	0.7	17.9
N5	MSSA	Acetoin	0.7	6.0
N10	MSSA	1-Hexanol, 2-ethyl	0.6	33.4
N16	MSSA	Benzaldehyd, 2,5-dimethyl	0.7	84.2
N20	MSSA	1-Pentanol	0.6	6.0
N24	MRSA	2-Hexanon	0.7	6.4
N26	MRSA	Nonan	0.7	13.4
N28	MSSA	Hexanal, 2-ethyl	0.7	17.0
N36	MRSA	Butanal	0.7	4.5
N41	MRSA	Nonan	0.6	14.0
N43	MSSA	2-Acetylthiazol	0.7	25.9
N48	MRSA	2-Octanon	0.6	24.0
N49	MSSA	2-Hexanon	0.7	6.5
N54	MRSA	Benzen	0.8	14.5
N55	MRSA	Acetoin	0.8	6.0
N56	MRSA	Benzen	0.8	14.4
N57	MRSA	Nonanal	0.6	55.9
N60	MSSA	Benzonitril	0.7	18.5

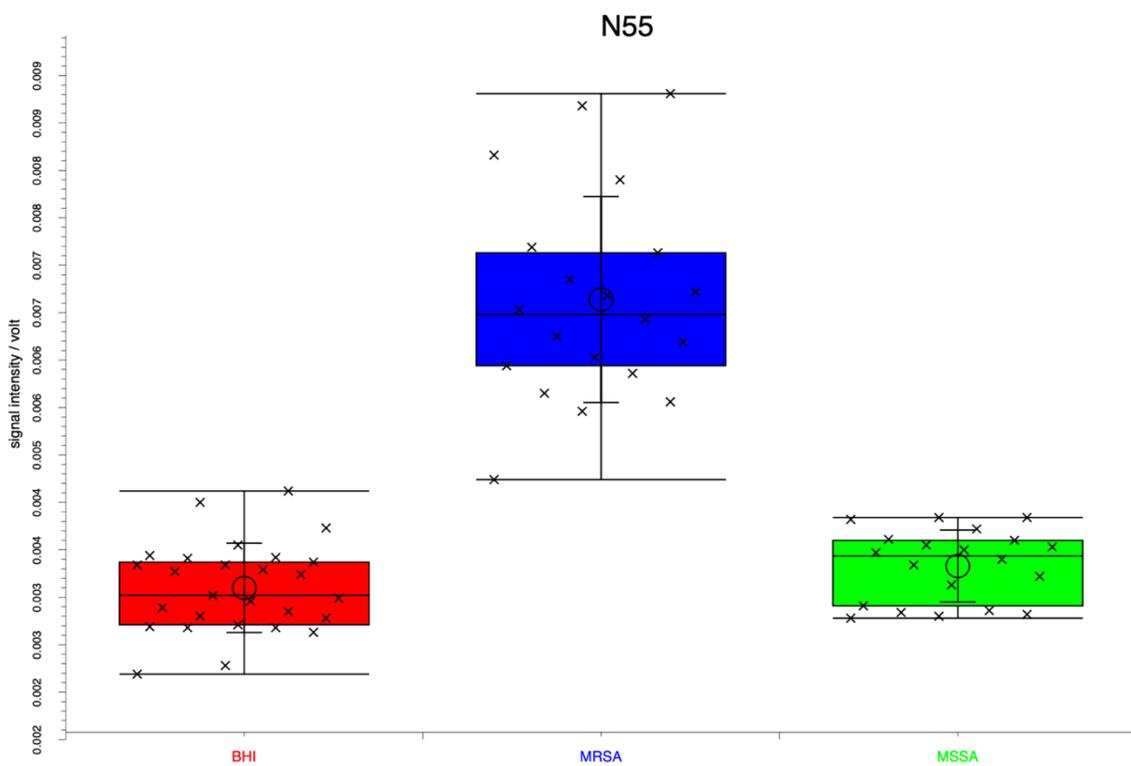
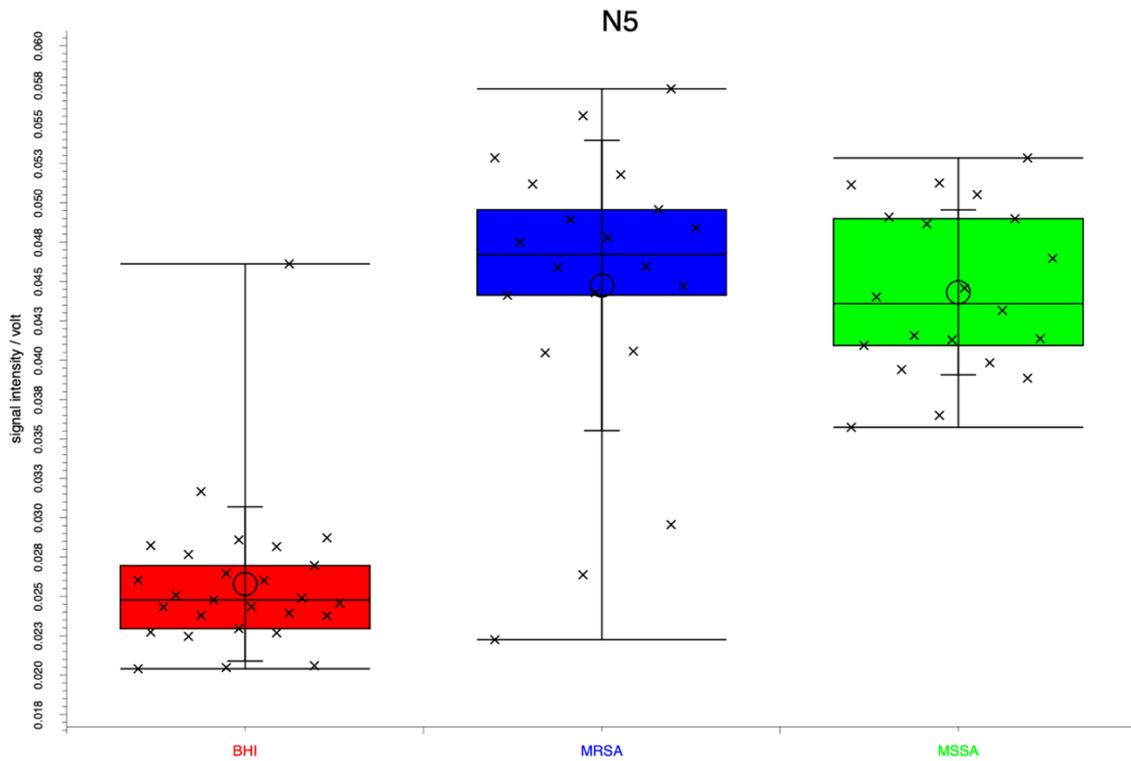
**Tab. 7: Zuordnung der signifikanten Peaks zu chemischen Substanzen nach Abgleich mit der Datenbank der B & S Analytik GmbH**

*Die Einteilung zu den Gruppen MRSA bzw. MSSA beschreibt, in welcher Gruppe die entsprechende Substanz vermehrt exprimiert wird.*

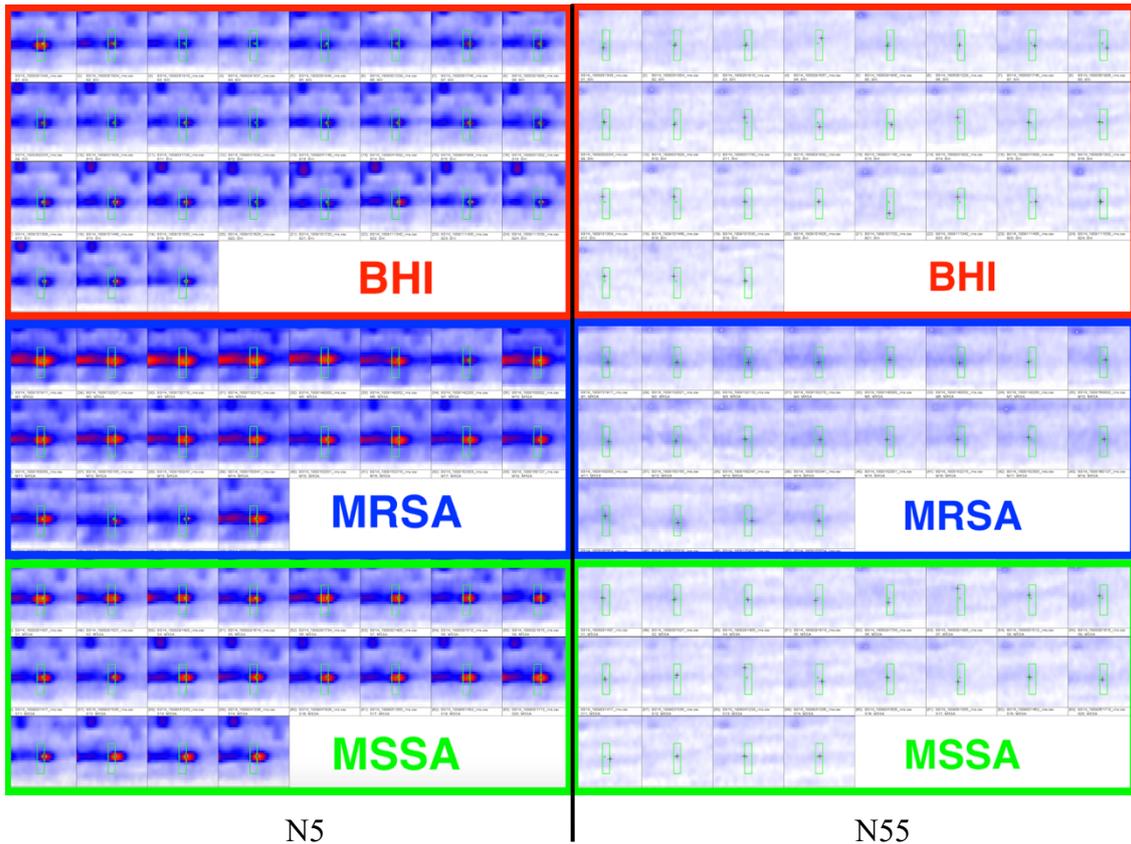
Nachdem mittels IMS jedoch keine exakte Zuordnung zu chemischen Substanzen möglich ist (siehe Kap. 2.2.3.4.), kann es vorkommen, dass verschiedene Peaks der gleichen Substanz zugeordnet werden. So werden beispielsweise die Peaks N5 und N55 nach Abgleich mit der Datenbank beide Acetoin zugeordnet, was sich auf die eng benachbarte Lokalisation der jeweiligen Peaks in der Heatmap zurückführen lässt, erkennbar an ähnlichen Werten der inversen Ionenmobilität ( $1/K_0$ ) und der Retentionszeit (RT) (siehe Tab. 7).

Der Peak N5 ermöglicht sowohl bei MRSA als auch bei MSSA eine signifikante Trennung von der Gruppe BHI (siehe Tab. 4 und Tab. 5), erlaubt jedoch keine Differenzierung der Gruppen MRSA und MSSA. Somit muss es sich hierbei um eine Substanz handeln, welche sowohl von MRSA als auch von MSSA exprimiert wird.

Der Peak N55 wiederum gewährleistet nur eine unspezifische Trennung der Gruppen MSSA und BHI (Sensitivität 85.2 %, Spezifität 50 %), jedoch eine signifikante Differenzierung der Gruppe MRSA sowohl von MSSA als auch von BHI (siehe Tab. 4 und Tab. 6) und muss somit einer Substanz entsprechen, welche von MRSA vermehrt exprimiert wird. Insofern scheint es unwahrscheinlich, dass beide Peaks dem Analyten Acetoin entsprechen. Die gleiche Zuordnung zu Acetoin lässt sich vermutlich auf die Unvollständigkeit der Referenzdatenbank zurückführen. Eine vergleichende Übersicht der Peaks zeigen Abb. 32 und Abb. 33.



**Abb. 32: Gegenüberstellung der Box-Whisker-Plots der Peaks N5 und N55**  
*BHI (rot) vs. MRSA (blau) vs. MSSA (grün)*



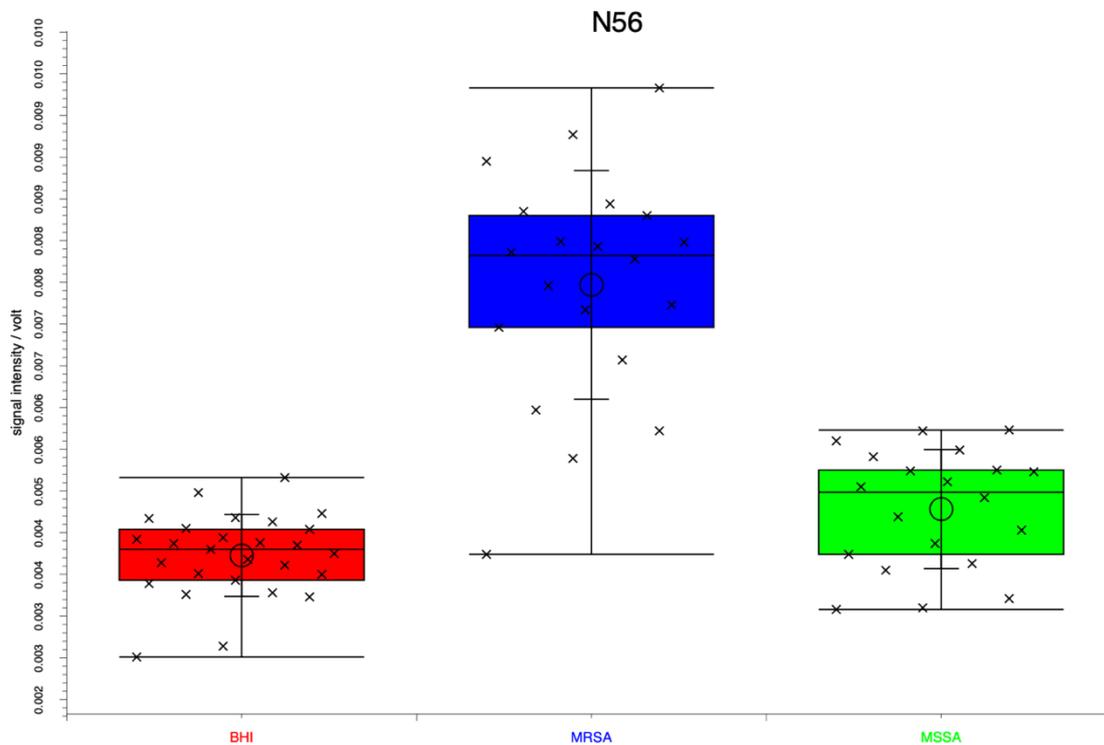
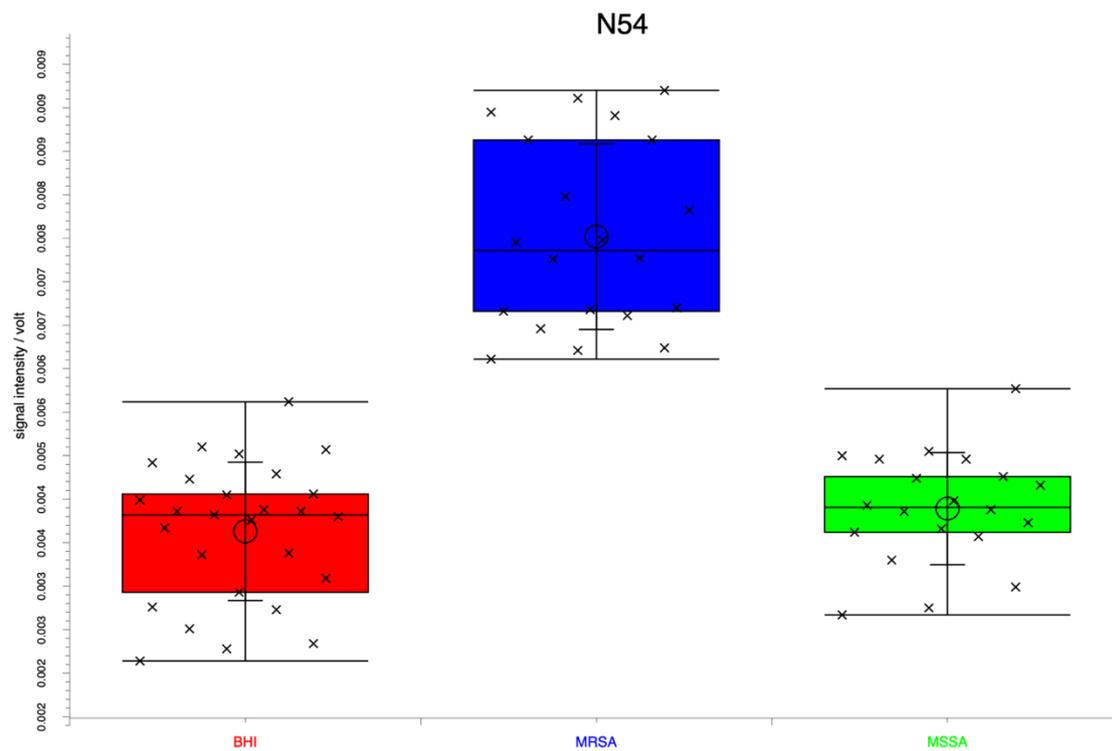
**Abb. 33: Gegenüberstellung der Heatmaps der Peaks N5 und N55**

*Heatmaps der Peaks N5 und N55 in den 27 durchgeführten Messungen der Gruppe BHI (rot) sowie in den je 20 durchgeführten Messungen der Gruppe MRSA (blau) und MSSA (grün). Anhand der farblich hervorgehobenen Signalintensität lässt sich erkennen, dass die dem Peak N5 zugrundeliegende Substanz sowohl von MRSA als auch von MSSA vermehrt exprimiert wird. Der Peak N55 weist allgemein eine niedrigere Signalintensität auf, die zugehörige Substanz wird jedoch hauptsächlich von MRSA exprimiert.*

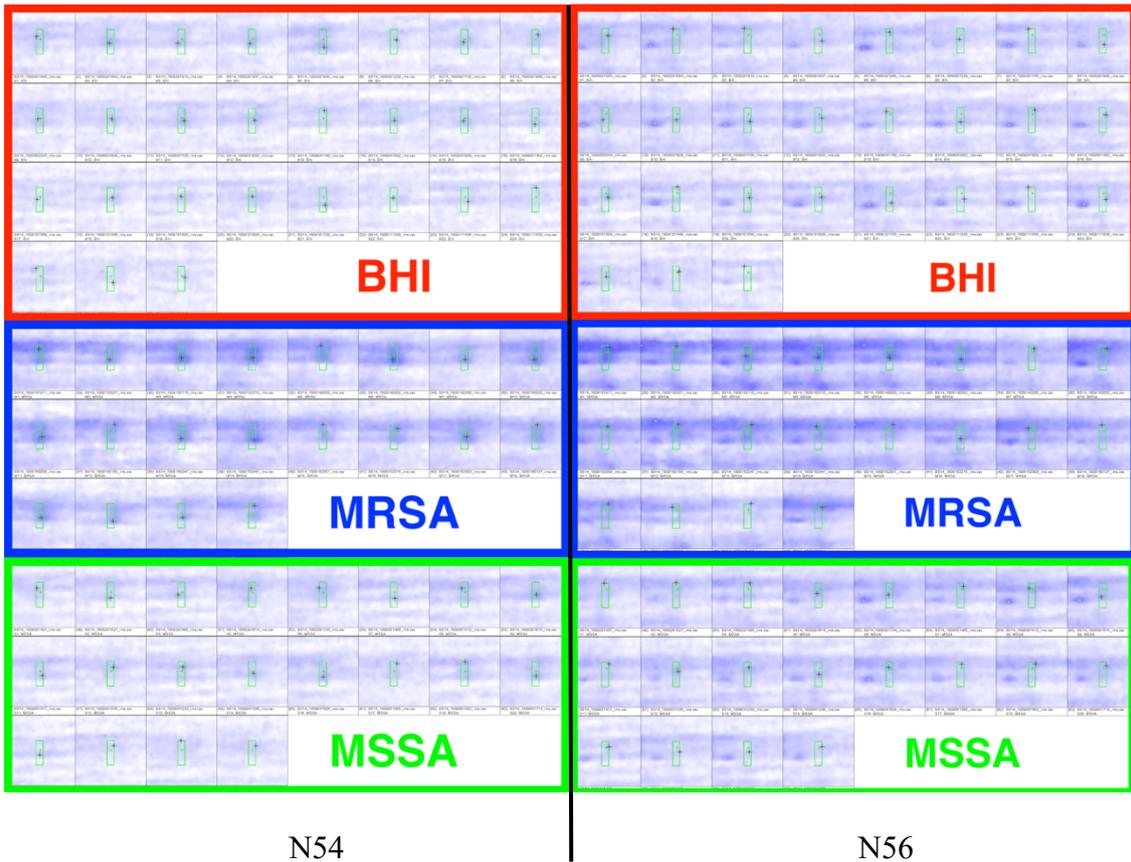
Außerdem werden die Peaks N54 und N56 beide Benzen zugeordnet und sind anhand der ähnlichen Werte der inversen Ionenmobilität und der Retentionszeit ebenfalls eng benachbart (siehe Tab. 7).

Der Peak N54 ermöglicht eine nicht signifikante Trennung der Gruppen MSSA und BHI (Sensitivität 74.1 %, Spezifität 40 %) und eine signifikante Differenzierung der Gruppe MRSA sowohl von BHI als auch von MSSA (siehe Tab. 4 und Tab. 6).

Analog dazu erlaubt der Peak N56 eine signifikante Trennung der Gruppe MRSA von BHI (siehe Tab. 4), als auch eine zwar hochspezifische, jedoch weniger sensitive Trennung der Gruppen MRSA und MSSA (Sensitivität 85 %, Spezifität 99.9 %). Eine Differenzierung der Gruppen MSSA und BHI lässt sich anhand des Peaks N56 nur mit einer Sensitivität von 88.9 % und einer Spezifität von 60 % gewährleisten. Somit entsprechen sowohl der Peak N54 als auch der Peak N56 Substanzen, welche vermehrt von MRSA exprimiert werden. Es könnte sich also in beiden Fällen um die gleiche Substanz handeln, wobei auch hier vermutlich eine Lücke in der Datenbank vorliegt und es sich um verschiedene Substanzen handelt. Dies kann jedoch nur mit anderen Messverfahren, wie beispielsweise GC-MS verifiziert werden (siehe Kap. 2.2.3.4). Eine vergleichende Übersicht der Peaks zeigen Abb. 34 und Abb. 35.



**Abb. 34: Gegenüberstellung der Box-Whisker-Plots der Peaks N54 und N56  
BHI (rot) vs. MRSA (blau) vs. MSSA (grün)**

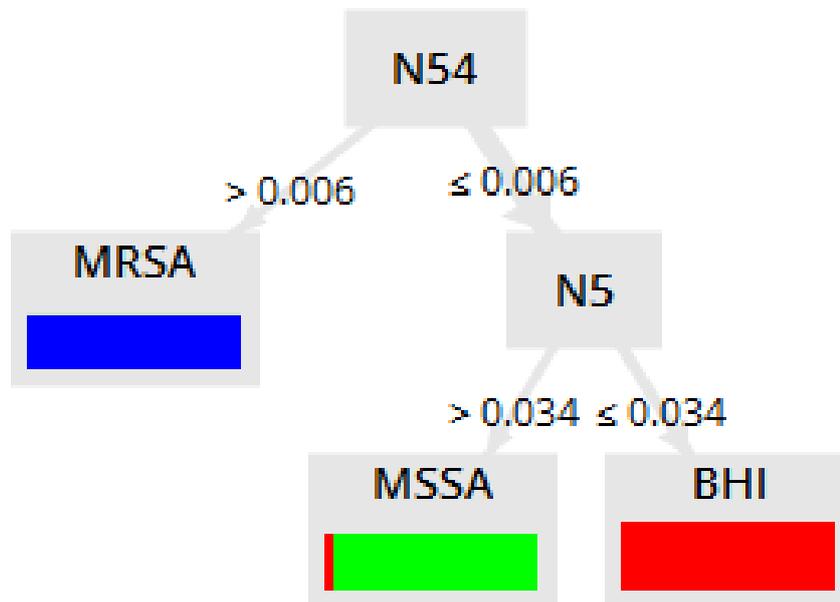


**Abb. 35: Gegenüberstellung der Heatmaps der Peaks N54 und N56**

*Heatmaps der Peaks N54 und N56 in den 27 durchgeführten Messungen der Gruppe BHI (rot) sowie in den je 20 durchgeführten Messungen der Gruppe MRSA (blau) und MSSA (grün). Beide Peaks weisen eine verhältnismäßig niedrige Signalintensität auf, die zugrundeliegenden Substanzen werden jeweils vermehrt von MRSA exprimiert.*

### 3.1.3. Entscheidungsbaum

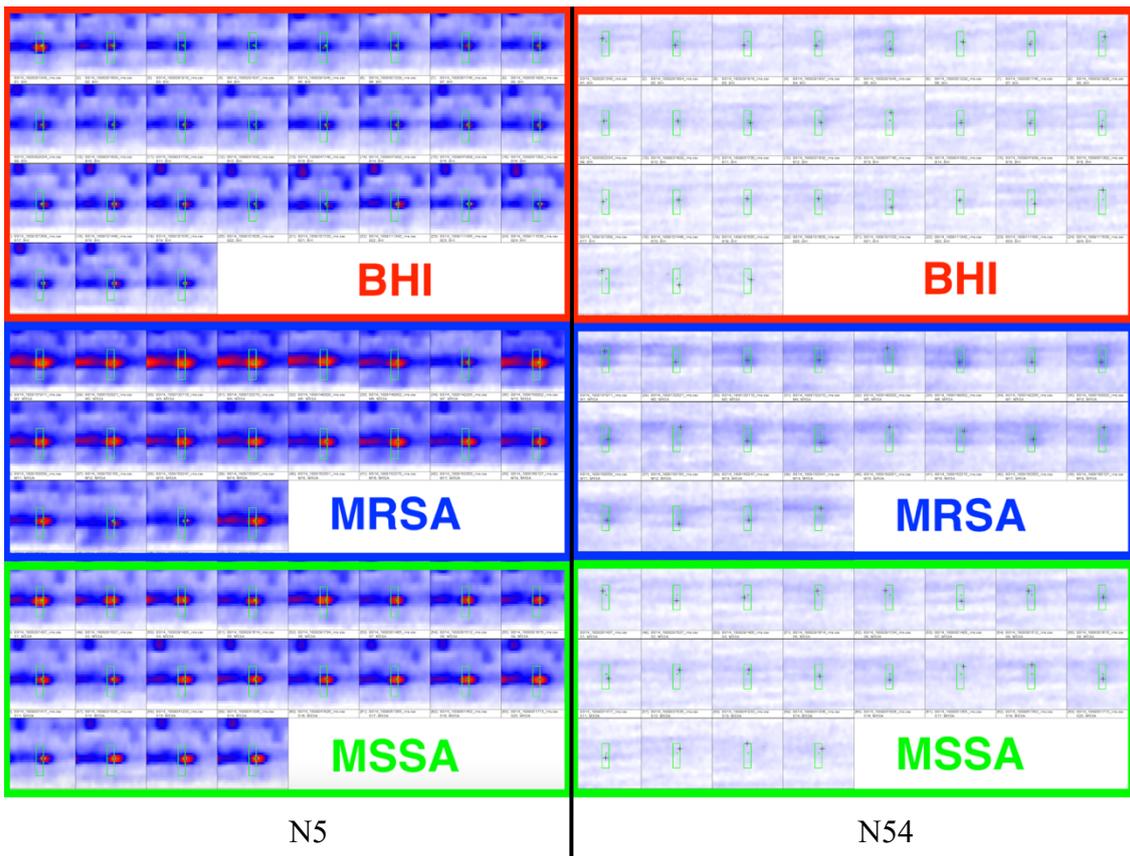
Aus den oben genannten Peaks, welche in der Gegenüberstellung der Gruppen MRSA vs. BHI, MSSA vs. BHI und MRSA vs. MSSA eine signifikante Trennung ermöglichen, sind die Peaks N5 und N54 ausreichend, um anhand eines Entscheidungsbaums in zwei Schritten eine Trennung aller Gruppen zu gewährleisten.



**Abb. 36: Entscheidungsbaum zur Differenzierung der Gruppen MRSA vs. MSSA vs. BHI**

Der Entscheidungsbaum bedient sich der gemäß Punkt 2.2.3.4 erhobenen Peaks, welche die größten Unterschiede in den verschiedenen Gruppen aufzeigen und somit eine möglichst gute Differenzierung der verschiedenen Gruppen ermöglichen. Hierbei wird für jeden Peak anhand der *best thresholds* entschieden, welcher Gruppe ein Peak zugeordnet werden kann.

Der Box-Whisker-Plot des Peaks N5 wird in Abb. 28, der des Peaks N54 in Abb. 23 dargestellt. Abb. 37 zeigt den Vergleich der Heatmaps beider Peaks.



**Abb. 37: Gegenüberstellung der Heatmaps der Peaks N5 und N54**

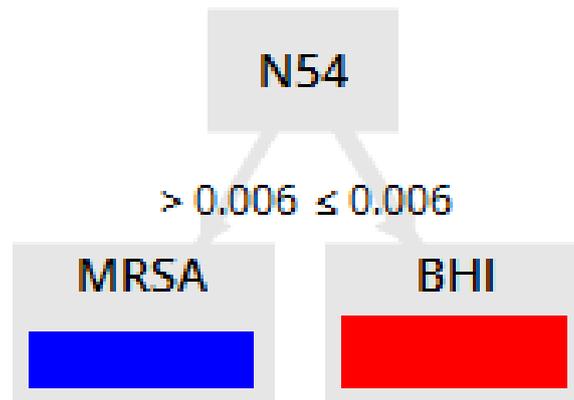
Heatmap der Peaks N5 und N54 in den 27 durchgeführten Messungen der Gruppe BHI (rot) sowie in den je 20 durchgeführten Messungen der Gruppe MRSA (blau) und MSSA (grün).

Der Peak N5 wird vermehrt von MRSA und MSSA exprimiert. Er zeigt im Vergleich der Gruppen MSSA und BHI den größten Unterschied und ermöglicht somit die signifikanteste Differenzierung zwischen BHI und MSSA (Sensitivität 96.3 %, Spezifität 99.9 %, Bonferroni-korrigierte Signifikanz  $p < 0.001$ ). Anhand des *best thresholds* von 0.034 kann somit im Entscheidungsbaum eine Trennung der Gruppen erfolgen (siehe Abb. 36 und Abb. 39)

Der Peak N54 wird vermehrt von MRSA exprimiert und zeigt sowohl gegenüber der Gruppe BHI als auch gegenüber der Gruppe MSSA den größten Unterschied und ermöglicht somit die signifikanteste Differenzierung der Gruppen voneinander (Sensitivität und Spezifität jeweils 99.9 %, Bonferroni-korrigierte Signifikanz  $p < 0.001$ ). Anhand des *best thresholds* von 0.006 im Vergleich der Gruppen MRSA sowohl gegenüber MSSA als auch BHI kann somit im Entscheidungsbaum eine Trennung der Gruppen erfolgen (siehe Abb. 36, Abb. 38 und Abb. 40).

Im Folgenden werden die Entscheidungsbäume und die Konfusionsmatrizes in der Gegenüberstellung der einzelnen Gruppen zueinander dargestellt.

### 3.1.3.1. MRSA vs. BHI

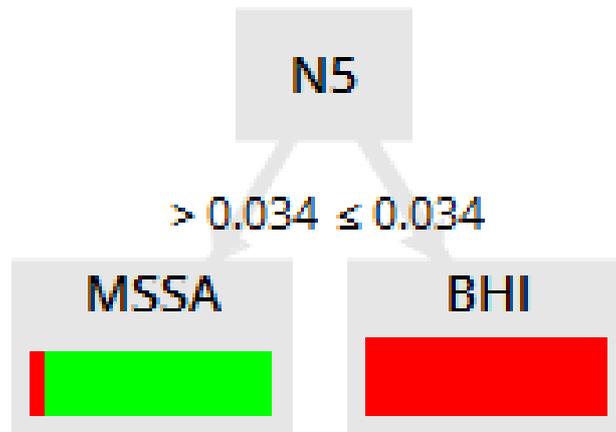


**Abb. 38: Entscheidungsbaum zur Differenzierung der Gruppen MRSA vs. BHI**

	Ist BHI	Ist MRSA		
Vorhersage BHI	27	0	27	PPV = 100 %
Vorhersage MRSA	0	20	20	NPV = 100 %
	27	20	47	
	<b>Sensitivität = 100 %</b>	<b>Spezifität = 100 %</b>	<b>Accuracy = 100 %</b>	

**Tab. 8: Konfusionsmatrix zur Differenzierung der Gruppen MRSA vs. BHI**

### 3.1.3.2. MSSA vs. BHI

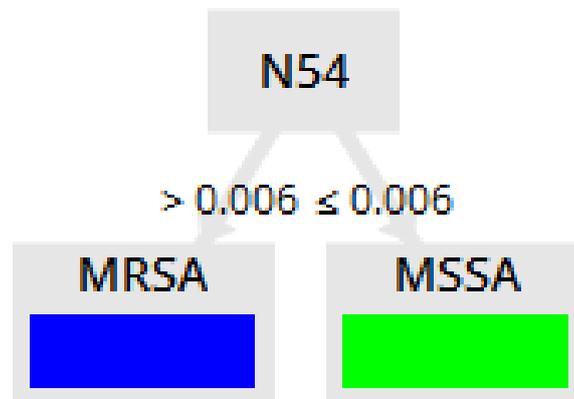


**Abb. 39: Entscheidungsbaum zur Differenzierung der Gruppen MSSA vs. BHI**

	Ist BHI	Ist MSSA		
<b>Vorhersage BHI</b>	26	0	26	<b>PPV = 100%</b>
<b>Vorhersage MSSA</b>	1	20	21	<b>NPV = 95.2%</b>
	27	20	47	
	<b>Sensitivität = 96.3%</b>	<b>Spezifität = 100%</b>	<b>Accuracy = 97.9%</b>	

**Tab. 9: Konfusionsmatrix zur Differenzierung der Gruppen MSSA vs. BHI**

### 3.1.3.3. MRSA vs. MSSA



**Abb. 40: Entscheidungsbaum zur Differenzierung der Gruppen MRSA vs. MSSA**

	Ist MRSA	Ist MSSA		
<b>Vorhersage MRSA</b>	20	0	20	<b>PPV = 100 %</b>
<b>Vorhersage MSSA</b>	0	20	20	<b>NPV = 100 %</b>
	20	20	40	
	<b>Sensitivität = 100 %</b>	<b>Spezifität = 100 %</b>	<b>Accuracy = 100 %</b>	

**Tab. 10: Konfusionsmatrix zur Differenzierung der Gruppen MSSA vs. BHI**

### 3.3. Ergebnisse Cyranose

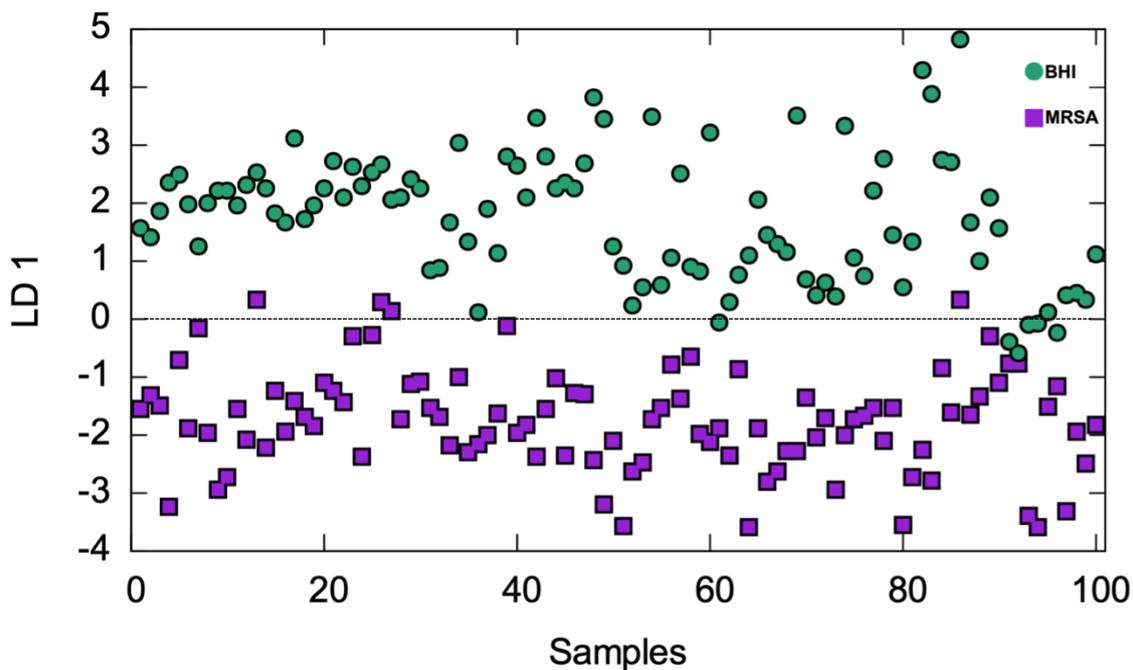
Mit der Cyranose wurden anhand der in Punkt 2.2.4.3. beschriebenen Methodik jeweils 20 Proben der Gruppen BHI, MRSA und MSSA untersucht. In den Gruppen MRSA und MSSA wurde jede der vorliegenden Stock-Proben einem Messzyklus unterzogen, analog dazu wurden in der Gruppe BHI 20 Proben des nicht bebrüteten Nährmediums analysiert. Ein Messzyklus umfasst 5 unmittelbar hintereinander durchgeführte Messabläufe pro vorliegende Probe, um ein Machine-Learning zu gewährleisten. Somit konnten bei 20 Proben pro Gruppe aus jeder Gruppe 100 Messungen anhand des in Punkt 2.2.4.4. beschriebenen Verfahrens statistisch analysiert werden. Im Folgenden werden die Ergebnisse in der Gegenüberstellung der einzelnen Gruppen zueinander dargestellt.

#### 3.3.1. MRSA vs. BHI

In der Differenzierung der Gruppen MRSA und BHI konnten 96 von 100 MRSA-Messungen sowie 94 von 100 BHI-Messungen korrekt zugeordnet werden (Tab. 11), womit sich eine Sensitivität von 96 % bei einer Spezifität von 94 % ergibt. Die Accuracy der vorliegenden Messungen liegt bei 95 %. Der Kreuzvalidierungswert zur Bestimmung der Vorhersagekraft des Machine-Learning-Modells ergibt 90.16 %, sodass eine präzise Vorhersagekraft vorliegt. Die Mahalanobis-Distanz wurde mit 1.876 berechnet. Die lineare Diskriminanzanalyse zum visuellen Vergleich der beiden Gruppen wird in Abb. 41 dargestellt.

	<b>Ist MRSA</b>	<b>Ist BHI</b>		
<b>Vorhersage MRSA</b>	<b>96</b>	<b>6</b>	<b>102</b>	<b>PPV = 94.1 %</b>
<b>Vorhersage BHI</b>	<b>4</b>	<b>94</b>	<b>98</b>	<b>NPV = 95.9 %</b>
	100	100	200	
	<b>Sensitivität = 96 %</b>	<b>Spezifität = 94 %</b>	<b>Accuracy = 95 %</b>	

**Tab. 11: Konfusionsmatrix zur Differenzierung der Gruppen MRSA vs. BHI**



**Abb. 41: Lineare Diskriminanzanalyse zur Differenzierung der Gruppen MRSA vs. BHI**

### 3.3.2. MSSA vs. BHI

In der Differenzierung der Gruppen MSSA und BHI konnten 81 von 100 MSSA-Messungen sowie 75 von 100 BHI-Messungen korrekt zugeordnet werden (Tab. 12), womit sich eine Sensitivität von 81 % bei einer Spezifität von 75 % ergibt. Die Accuracy der vorliegenden Messungen liegt bei 78 %. Der Kreuzvalidierungswert zur Bestimmung der Vorhersagekraft des Machine-Learning-Modells ergibt 71.33 %, sodass auch hier prinzipiell eine präzise, jedoch die vergleichsweise geringste Vorhersagekraft vorliegt. Die Mahalanobis-Distanz wurde mit 1.410 berechnet. Die lineare Diskriminanzanalyse zum visuellen Vergleich der beiden Gruppen wird in Abb. 42 dargestellt.

	Ist MSSA	Ist BHI		
Vorhersage MSSA	81	25	106	PPV = 76.4 %
Vorhersage BHI	19	75	94	NPV = 79.8 %
	100	100	200	
	Sensitivität = 81 %	Spezifität = 75 %	Accuracy = 78 %	

Tab. 12: Konfusionsmatrix zur Differenzierung der Gruppen MSSA vs. BHI

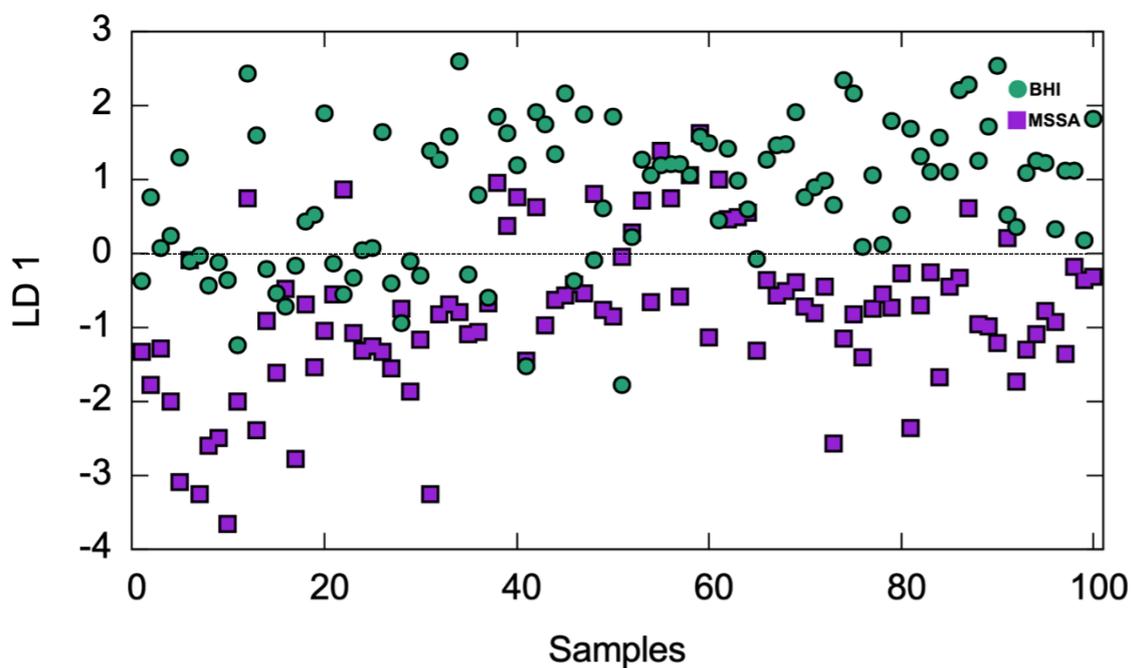


Abb. 42: Lineare Diskriminanzanalyse zur Differenzierung der Gruppen MSSA vs. BHI

### 3.3.3. MRSA vs. MSSA

In der Differenzierung der Gruppen MRSA und MSSA konnten 100 von 100 MRSA-Messungen sowie 91 von 100 MSSA-Messungen korrekt zugeordnet werden (Tab. 13), womit sich eine Sensitivität von 100 % bei einer Spezifität von 91 % ergibt. Die Accuracy der vorliegenden Messungen liegt bei 95.5 %. Der Kreuzvalidierungswert zur Bestimmung der Vorhersagekraft des Machine-Learning-Modells ergibt 91.05 %, sodass eine präzise Vorhersagekraft vorliegt. Die Mahalanobis-Distanz wurde mit 1.994 berechnet. Die lineare Diskriminanzanalyse zum visuellen Vergleich der beiden Gruppen wird in Abb. 43 dargestellt.

	Ist MRSA	Ist MSSA		
Vorhersage MRSA	100	9	109	PPV = 91.7 %
Vorhersage MSSA	0	91	91	NPV = 100 %
	100	100	200	
	Sensitivität = 100 %	Spezifität = 91 %	Accuracy = 95.5 %	

Tab. 13: Konfusionsmatrix zur Differenzierung der Gruppen MRSA vs. MSSA

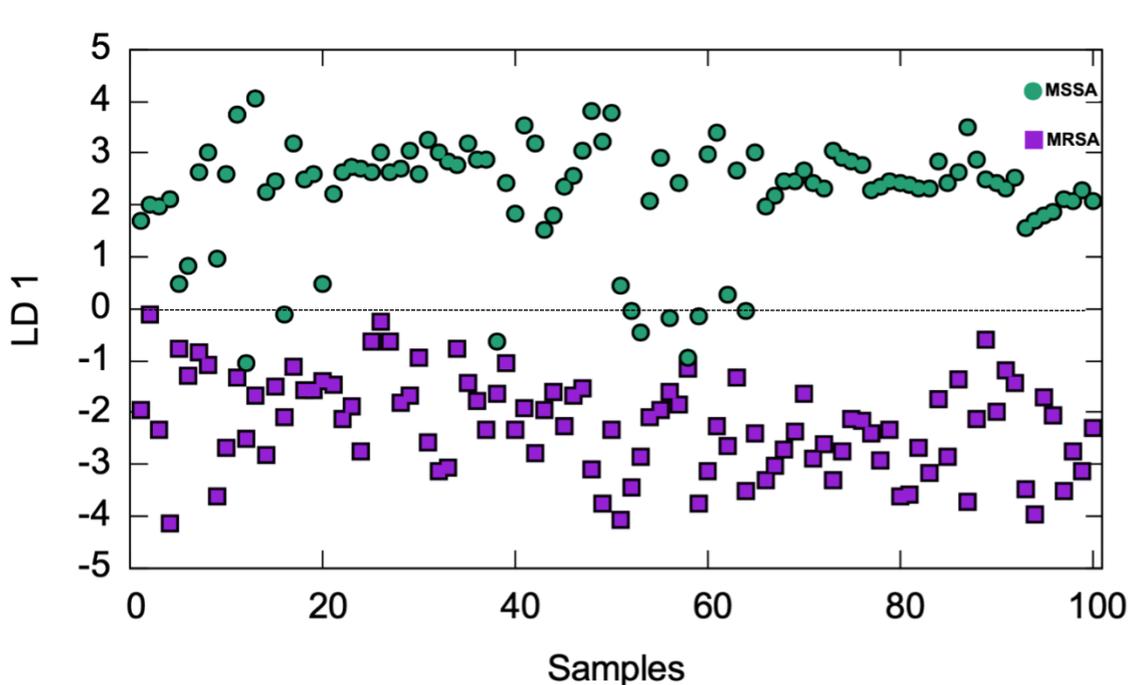
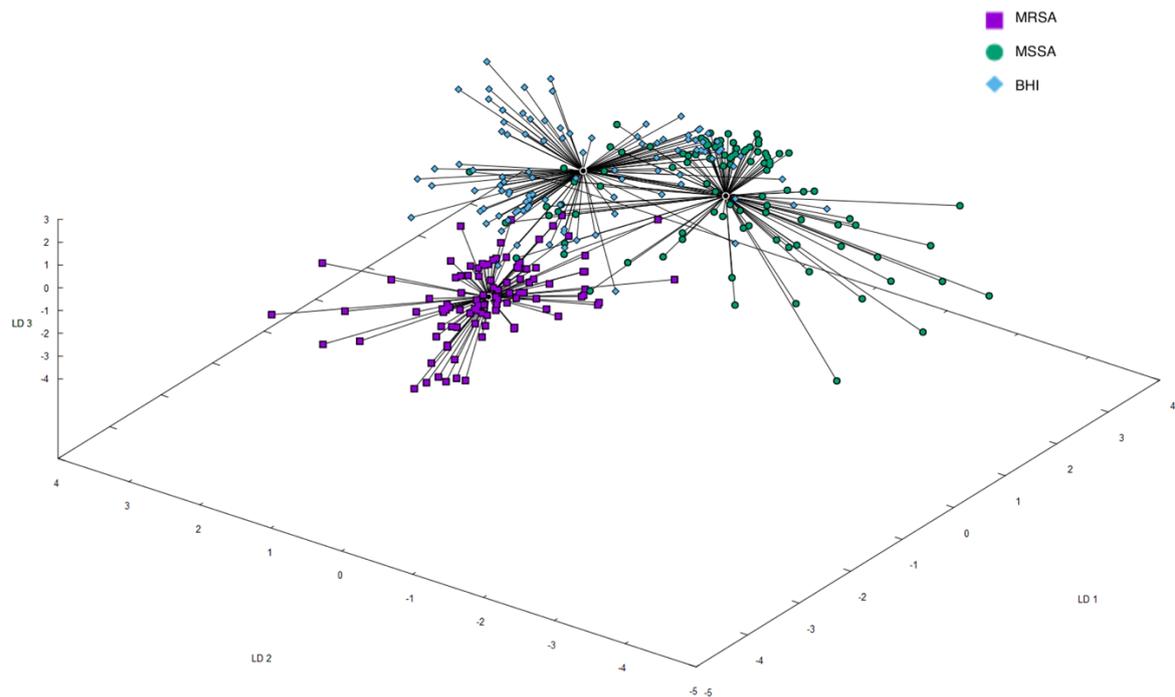


Abb. 43: Lineare Diskriminanzanalyse zur Differenzierung der Gruppen MRSA vs. MSSA

### 3.3.4. MRSA vs. MSSA vs. BHI

Zur Veranschaulichung zeigt Abb. 44 die dreidimensionale Gegenüberstellung der Diskriminanzanalysen aller Gruppen. Die statistischen Parameter werden in Tab. 14 ebenfalls vergleichend dargestellt.



**Abb. 44: Lineare Diskriminanzanalyse zur Differenzierung der Gruppen MRSA vs. MSSA vs. BHI**

	MRSA vs. BHI	MSSA vs. BHI	MRSA vs. MSSA
<b>Mahalanobis-Distanz</b>	1.876	1.410	1.994
<b>Kreuzvalidierungswert</b>	90.16 %	71.33 %	91.05 %
<b>Sensitivität</b>	96 %	81 %	100 %
<b>Spezifität</b>	94 %	75 %	91 %
<b>Accuracy</b>	95 %	78 %	95.5 %

**Tab. 14: Statistische Parameter zur Differenzierung der einzelnen Gruppen mittels Cyranose 320**

Die lineare Diskriminanzanalyse in der Gegenüberstellung der Gruppen MRSA, MSSA und BHI veranschaulicht, dass alle Gruppen sich gut voneinander unterscheiden lassen. Die Gruppen BHI und MSSA erlauben die eingeschränkteste Differenzierung, die Mahalanobis-Distanz von 1.410 stellt exemplarisch auch den niedrigsten Wert der drei Vergleiche dar. Die Gruppen MRSA und BHI lassen sich mit einer Mahalanobis-Distanz

von 1.876 verlässlicher unterscheiden, während die ausschlaggebende Analyse der Gruppen MRSA und MSSA mit einer Mahalanobis-Distanz von 1.994 die zuverlässigste Unterscheidbarkeit aufzeigt, was sich ebenfalls in den übrigen statistischen Parametern widerspiegelt (siehe Tab. 14).

## 4. Diskussion

*S. aureus* kann im Nasenvorhof von 20 – 40 % der Bevölkerung nachgewiesen werden [Lee et al. 2018], wobei intermittierende Träger gegebenenfalls nicht vollständig erfasst werden [Becker et al. 2017; van Belkum et al. 2009]. Der Keim gehört zu den häufigsten Verursachern nosokomialer Infektionen [Sievert et al. 2013]. Durch eine ausgeprägte Fähigkeit zur Resistenzbildung entstehen vermehrt multiresistente Stämme, welche in Methicillin-sensible Stämme (MSSA) mit einer Resistenz gegen  $\beta$ -Lactamase-instabile Penicilline und Methicillin-resistente Stämme (MRSA) mit einer Resistenz gegen  $\beta$ -Lactamase-stabile Penicilline eingeteilt werden [Chambers et al. 2009a; Robert Koch-Institut 2014], wobei auch eine zunehmende Resistenzbildung gegen Reserveantibiotika festgestellt werden kann [Layer et al. 2018]. Diese Stämme tragen zu einer Vielzahl ambulanter und nosokomialer Infektionen bei und sind somit sowohl für eine erhöhte Morbidität und Mortalität als auch für eine deutlich verlängerte Hospitalisationszeit inklusive Isolationsmaßnahmen und damit einhergehender Kosten verantwortlich. Allein MRSA-Infektionen verursachen in der EU jährlich 5 400 Todesfälle, über eine Million Hospitalisationstage und Kosten in Höhe von ca. 380 Millionen Euro [Köck et al. 2014]. Die aktuell als Goldstandard etablierte mikrobiologische Diagnostik mittels Erregerkultivierung ist zeitaufwändig und teuer – wie auch neuere und schnellere, PCR-basierte Screening-Methoden –, was auch den größten limitierenden Faktor für ein universelles Screening und die damit einhergehende Möglichkeit zur Einleitung von Dekolonisierungs- und Isolationsmaßnahmen darstellt [Harbarth et al. 2008; Leonhardt et al. 2011; Robotham et al. 2016]. Deshalb wird derzeit hauptsächlich ein gezieltes Screening durchgeführt, welches sich auf bestimmte Risikogruppen und -einrichtungen beschränkt [Bartels et al. 2008; Carr et al. 2018; Tubbicke et al. 2012a], sich jedoch vor allem auf die Untersuchung von MRSA-Risikogruppen konzentriert, da dieser Stamm mit einer deutlich höheren Morbidität und Mortalität einhergeht, als MSSA [Cosgrove et al. 2003; Dissemmond 2009; Lee et al. 2018]. Es wird jedoch diskutiert, dass die erhöhte Mortalität auf Komorbiditäten zurückzuführen ist, welche bei MRSA-Infektionen häufiger vorliegen als bei MSSA-Infektionen. Hieraus könnte eine Vernachlässigung von MSSA resultieren, obwohl dieser Stamm deutlich häufiger für manifeste Blutstrominfektionen verantwortlich ist und unter Einbezug patientenbezogener Faktoren eine ebenso hohe Mortalität aufweist [Fätkenheuer 2016].

Somit besteht die Notwendigkeit für kosten- und zeiteffektive Methoden der Diagnostik von *S. aureus*, welche sowohl MSSA als auch MRSA mit hoher Sensitivität und Spezifität

erkennen und unterscheiden können sowie entsprechend einfach durchzuführen sind, um eine möglichst universelle Untersuchung großer Patientengruppen zu gewährleisten. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass eine signifikante und genaue Unterscheidung von MSSA- und MRSA-Kulturen durch die Bestimmung von VOCs möglich ist, was als Grundlage für weitere Untersuchungen mit höheren Fallzahlen und im klinischen Setting wegweisend für die Entwicklung derartiger Diagnosemethoden sein könnte.

#### 4.1. MCC-IMS

Die Ergebnisse der am MCC-IMS durchgeführten Messungen zeigen eine gute Unterscheidbarkeit zwischen allen verglichenen Probengruppen.

In der Gegenüberstellung der Gruppen MRSA und BHI konnten 19 hochsignifikante Peaks mit Bonferroni-korrigierter Signifikanz von  $p < 0.001$  (KI 99.9 %) nachgewiesen werden, welche eine Unterscheidung mit einer Sensitivität und Spezifität von über 90 % ermöglichen, wobei zwei Peaks (N54, N55) eine Sensitivität und Spezifität von 99.9 % aufweisen.

MSSA lässt sich aus dem Nährmedium BHI anhand 20 hochsignifikanter Peaks mit einer Sensitivität und Spezifität von über 90 % nachweisen. Vier dieser Peaks (N5, N16, N20, N49) erlauben eine Unterscheidung mit einer Sensitivität von 96.3 % und einer Spezifität von 99.9 %.

Die entscheidende Trennung der Gruppen MRSA und MSSA lässt sich anhand 11 hochsignifikanter Peaks mit einer Sensitivität und Spezifität von über 90 % gewährleisten. Auch hier ermöglichen die Peaks N54 und N55 eine Unterscheidung mit einer Sensitivität und Spezifität von jeweils 99.9 %. Dass diese beiden Peaks sowohl die Unterscheidung von MRSA aus dem Nährmedium BHI als auch von der Gruppe MSSA ermöglichen, führt zum Schluss, dass die zugehörigen Substanzen exklusiv von MRSA exprimiert werden. Anhand der bestehenden Datenbank der B & S Analytik GmbH lassen die Peaks sich den Substanzen Benzen (N54) und Acetoin (N55) zuordnen. Trotz des vergleichsweise niedrigen *best thresholds* und einer somit geringen Signalintensität der beiden Peaks, konnten diese in den entsprechenden Leermessungen der Probengefäße nicht nachgewiesen werden, sodass eine Kontamination ausgeschlossen werden konnte. Außerdem erlauben weitere Peaks mit einem höheren *best threshold* und somit einer stärkeren Emission der jeweiligen chemischen Verbindungen ebenfalls eine

hochsignifikante Trennung der Gruppen MRSA und MSSA mit einer Sensitivität und Spezifität von jeweils > 90 % (siehe Tab. 6).

In der medizinischen Forschung wird die Ionenmobilitätsspektrometrie in erster Linie zur Diagnostik von pulmonalen Erkrankungen mittels Atemluftanalyse eingesetzt [Allers et al. 2016; Baumbach et al. 2007; Ruszkiewicz et al. 2020; Westhoff et al. 2007; Westhoff et al. 2005; Zang et al. 2017], wobei auch extrapulmonale Krankheiten über die Atemluft festgestellt werden können [Jazan et al. 2014; Pagonas et al. 2012]. Außerdem ist mittels Urinanalyse die Detektion verschiedener Krebserkrankungen möglich [Isailovic et al. 2012; Mozdiak et al. 2019]. Ferner ist auch die Erkennung von Mikroorganismen möglich. So kann beispielsweise durch direkte Messungen von Abstrichtupfern das Vorliegen einer bakteriellen Vaginose nachgewiesen werden [Karpas et al. 2012]. Durch Messungen von Bakterienkulturen in Nährmedien können gewisse Bakterien sogar von anderen Stämmen unterschieden werden, wobei auch die Differenzierung sensibler und resistenter Bakterien der gleichen Art möglich ist [Becher et al. 2016; Steppert et al. 2021].

Becher et al. haben 2016 verschiedene multiresistente Keime im Nährmedium BHI mit unterschiedlichen Bebrütungszeiten zwischen 30 Minuten und 24 Stunden am GC-IMS (Firma STEP; Sensortechnik und Elektronik Pockau GmbH, Pockau, Germany) untersucht und konnten hierbei zeigen, dass eine Differenzierung von MRSA und MSSA sowohl aus dem Nährmedium BHI als auch voneinander bereits nach 30 Minuten Bebrütungszeit möglich ist. Eine eindeutige Differenzierung anhand der mittels der Software Matlab erstellten Heatmap war jedoch nicht realisierbar. Erst eine anschließende Clusteranalyse konnte diese gewährleisten. Es wurden mindestens zwei Cluster identifiziert, welche eine signifikante ( $p \leq 0.01$ ) Trennung der Gruppen ermöglichen. Aufgrund der schwachen Signale in der Heatmap und fehlender Referenzmessungen der Probengefäße, die ein Herausrechnen von äußeren Störfaktoren gewährleisten, konnte keine Zuordnung der Peaks zu chemischen Substanzen erfolgen [Becher et al. 2016; Räßler 2015].

Steppert et al. konnten kürzlich feststellen, dass eine Differenzierung von MRSA und MSSA im Nährmedium Tryptic Soy Broth mittels MCC-IMS (ebenfalls Firma STEP), gefilterter Umgebungsluft als Trägergas und einem mit einer zum Druckausgleich punktierten Membran verschlossenen Probengefäß nach einer Bebrütungszeit von 90 Minuten möglich ist. Anhand eines Entscheidungsbaums war die Trennung von MRSA zu MSSA – wie auch in der vorliegenden Studie – anhand eines Peaks möglich,

wobei auch hier zur Differenzierung eine Clusteranalyse durchgeführt wurde und keine Zuordnung zu chemischen Substanzen erfolgte. Es konnten 26 signifikante ( $p \leq 0.05$ ) VOC-Cluster für MRSA und 8 für MSSA gefunden werden, wobei 5 dieser Cluster in beiden Gruppen nachgewiesen wurden. Nach kanonischer Diskriminanzanalyse konnten alle in der Studie untersuchten Bakterien anhand ihrer VOC-Cluster korrekt zugeordnet werden [Steppert et al. 2021].

Die Stärken der vorliegenden Studie gegenüber den Untersuchungen von Becher et al. liegen einerseits in der Verwendung eines MCC-IMS, der eine bessere Vorseparierung der Proben und eine höhere Flussrate ermöglicht als ein GC-IMS [Junger et al. 2010; Ruzsanyi et al. 2005]. Außerdem wurde, wie auch bei Steppert et al., ein geschlossenes System mit einem Mechanismus zum Druckausgleich verwendet, welches eine bessere Verteilung der VOCs gewährleisten soll. Zusätzlich wurden im Gegensatz zu beiden Studien Referenzmessungen der leeren Probengefäße durchgeführt, um äußere Störfaktoren herausrechnen zu können. Außerdem wurde anstelle gefilterter Raumluft synthetische Luft als Trägergas verwendet. Möglicherweise konnten diese Faktoren zur erfolgreichen Differenzierung der Gruppen und der Zuordnung zu chemischen Substanzen ohne vorhergehende Clusteranalyse beitragen.

Die Ergebnisse unserer Messungen zeigen, dass eine Differenzierung der Keime MRSA und MSSA in Nährmedien durch Detektion von VOCs mit einem MCC-IMS mit hoher Sensitivität und Spezifität möglich ist. Anhand vorliegender Datenbanken ist zudem eine Zuordnung der gemessenen VOCs zu chemischen Substanzen und somit eine Identifikation der entsprechenden Stoffwechselprodukte der Bakterien möglich, wobei es sich nur um eine Prognose anhand der vorliegenden Datenbank handelt. Für eine genaue Zuordnung bedarf es anderer Messmethoden, wie beispielsweise der Verwendung eines Gaschromatographie-Massenspektrometers.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bestätigen und erweitern somit die Auffassung aktueller publizierter Literatur zum Thema. MRSA und MSSA können in verschiedenen Nährmedien mittels Ionenmobilitätsspektrometrie verlässlich voneinander unterschieden werden. Die Verwendung eines MCC-IMS sowie eines geschlossenen Systems mit Möglichkeit zum Druckausgleich sowie eine vorhergehende Leermessung der Probengefäße gewährleisten hierbei aller Voraussicht nach die präzisesten Ergebnisse. Dass relevante VOCs in der Literatur bereits nach kürzeren Bebrütungszeiten nachweisbar sind [Becher et al. 2016; Steppert et al. 2021], könnte im klinischen Setting eine beschleunigte MRSA-Diagnostik ermöglichen.

## 4.2. Cyranose 320

Die mit der Cyranose 320 durchgeführten Messungen zeigen ebenfalls sehr gute Ergebnisse.

MRSA konnte mit einer Sensitivität von 96 % und einer Spezifität von 94 % vom Nährmedium BHI abgegrenzt werden, während eine Differenzierung von MSSA und BHI nur mit einer Sensitivität von 81 % und einer Spezifität von 75 % erreicht werden konnte. Letztendlich war jedoch eine signifikante Trennung der Gruppen MRSA und MSSA mit einer Sensitivität von 100 % und einer Spezifität von 91 % möglich.

Die Cyranose 320 wird in der medizinischen Forschung mit vielversprechenden Ergebnissen angewandt, wobei auch hier die Diagnostik anhand der Atemluftanalyse dominiert, sowohl zur Detektion chronischer und maligner [Benedek et al. 2013; Bos et al. 2014; Dragonieri et al. 2009; Dragonieri et al. 2007; Fens et al. 2009; Hattesoehl et al. 2011], als auch infektiöser Atemwegserkrankungen [Schnabel et al. 2015; Thaler et al. 2018]. Auch mit der Cyranose lassen sich extrapulmonale Erkrankungen in der Atemluft detektieren [Brekelmans et al. 2016; Dragonieri et al. 2016].

Mittels Headspace-Analyse ist anhand Messungen verschiedener Gewebeproben unter anderem der Nachweis von Blasentumoren im Urin [Heers et al. 2018; Horstmann et al. 2015], eine Differenzierung chronisch entzündlicher Darmkrankheiten anhand Stuhlproben [de Meij et al. 2014] sowie die Erkennung von HNO-Infektionen durch Messungen direkt von Abstrichtupfern möglich, wobei hier sogar eine Differenzierung unterschiedlicher Bakterien erfolgen kann [Dutta et al. 2005; Shykhon et al. 2004].

Auch mit der Cyranose ist durch Messungen von Bakterienkulturen in Nährmedien die Differenzierung sensibler und resistenter Bakterien der gleichen Art möglich. Dutta et al. konnten 2005 erfolgreich eine Differenzierung von MRSA, MSSA und koagulase-negativen Staphylokokken aus klinischen Abstrichen nach 24 Stunden Bebrütungszeit im Nährmedium ISO S Agarlösung durchführen, jedoch unter Verwendung dreier artifizieller neuronaler Netzwerke, womit ein separates Machine-Learning-Modell und eine andere statistische Analyse verwendet wurden, als in der vorliegenden Arbeit. Während in unserer Studie eine lineare Diskriminanzanalyse mit Berechnung der Mahalanobis-Distanz zur Differenzierung der Gruppen und eine Leave-One-Out-Kreuzvalidierung zur Prognose der Vorhersagekraft des Machine-Learnings durchgeführt wurde, haben Dutta et al. eine Kombination aus einer Hauptkomponentenanalyse, eines *Fuzzy-c-Means*-Algorithmus, einer *Self-organizing*

map und dreier neuronaler Netzwerke in Form eines radialen Basisfunktionsnetzwerks (RBF), eines *multi-layer perceptrons* (MLP) und eines probabilistischen neuronalen Netzes (PNN) angewandt. Die Studie konnte unter Verwendung des MLP-Netzwerks in 78 % der Fälle eine korrekte Zuordnung erreichen, während das PNN eine Accuracy von 96 % und das RBF eine Accuracy von 99.96 % zur Trennung der Gruppen gewährleisteten. Unsere Studie konnte mit einer Accuracy von 95.5 % und einem Kreuzvalidierungswert von 91.05 % zur Trennung von MRSA und MSSA ebenfalls ein sehr gutes Ergebnis erzielen [Dutta et al. 2005].

Hieraus lässt sich schließen, dass mit der Cyranose 320 eine Differenzierung von MRSA und MSSA in unterschiedlichen Nährmedien durch eine Headspace-Analyse mit verschiedenen statistischen Ansätzen bei hoher Sensitivität und Spezifität möglich ist. Die Cyranose 320 stellt mit einer Größe von 10 x 22 x 5 cm sowie einem Gewicht von unter 1 kg ein mobiles und handliches Gerät zur Messung von VOCs dar. Sie bedient sich ebenfalls einer Erkennung von Geruchsmustern, lässt jedoch keine Rückschlüsse auf die zugrundeliegenden Stoffwechselprodukte der Bakterien zu.

### 4.3. VOC-Analysen in der MRSA-Diagnostik

VOC-Analysen könnten eine zeit- und kostensparende Alternative zur mikrobiologischen Diagnostik mittels Kultivierung darstellen. MRSA- und MSSA-Kulturen im Nährmedium BHI lassen sich gemäß unseren Ergebnissen verlässlich voneinander unterscheiden, wobei nur Keime nach einer Übertragung aus bereits vorliegenden Primärkulturen gemessen wurden. Vergleichbare Studien können dies bestätigen, auch mit verkürzten Bebrütungszeiten von nur 30 Minuten [Becher et al. 2016]. Eine Unterscheidung der Keime anhand VOCs kann jedoch auch ohne Vorliegen einer Primärkultur gewährleistet werden, indem Abstrichtupfer direkt in ein Nährmedium gegeben werden, welches nach 24 Stunden Bebrütungszeit gemessen wird [Dutta et al. 2005]. Auch andere Nährmedien als BHI erlauben eine Differenzierung von MRSA und MSSA [Dutta et al. 2005; Steppert et al. 2021], sodass ein Keimnachweis auch durch VOC-Messungen über Selektivnährmedien möglich sein könnte, was die Diagnostik direkt aus klinischen Abstrichen ohne Übertragung aus einer Primärkultur vereinfachen könnte. Außerdem ist es möglich, *S. aureus* durch Headspace-Untersuchungen von nicht inkubierten Abstrichtupfern von anderen Keimen zu differenzieren, jedoch mit schwächeren Ergebnissen als bei Messungen von angelegten Kulturen [Shykhon et al.

2004]. Zukünftige Studien könnten untersuchen, ob eine Unterscheidung von MRSA und MSSA direkt von Abstrichtupfern mit vergleichbaren Ergebnissen möglich ist, um den Prozess nochmals zu verkürzen.

Die PCR-Testung erlaubt zwar deutlich schnellere Ergebnisse als die konventionelle Kultivierung, ist jedoch erheblich teurer [Henson et al. 2014] und nicht überall verfügbar. Handliche Diagnosegeräte wie die Cyranose 320 könnten demgegenüber einen bedeutenden ökonomischen Vorteil bieten, dies auch im ambulanten Setting.

Die Diagnostik mittels VOC-Analysen durch MCC-IMS und Cyranose basiert auf einer Mustererkennung. Die fehlende Möglichkeit, die zugrundeliegenden chemischen Substanzen und somit die entsprechenden Stoffwechselprodukte der Bakterien zu identifizieren, ist eine prinzipielle Schwäche der VOC-Diagnostik. Durch Abgleich mit systematisch erstellten Datenbanken ist jedoch zumindest für die MCC-IMS-Messungen eine Zuordnung zu chemischen Substanzen möglich, sofern diese in der Datenbank erfasst sind. Nach Abgleich mit der Referenzdatenbank der B & S Analytik GmbH entsprechen die signifikantesten Peaks, die anhand des Entscheidungsbaums (Kap. 3.1.3.) eine Trennung der Gruppen in zwei Schritten ermöglichen, den Substanzen Acetoin (Peaks N5 und N55) und Benzen (Peak N54). Die Zuordnung der eng benachbarten Peaks N5 und N55 zu Acetoin lässt sich vermutlich auf die Unvollständigkeit der Referenzdatenbank zurückführen. Künftige Studien sollten den Headspace der Proben mittels eines GC-MS analysieren, um eine genauere Identifikation der entsprechenden Peaks zu ermöglichen.

Bereits frühere VOC-Untersuchungen konnten eine Emission von Acetoin durch *S. aureus* feststellen [Filipiak et al. 2012]. Acetoin und Benzen lassen sich zwar auch in VOC-Messungen verschiedener Körperflüssigkeiten und der Atemluft gesunder Probanden nachweisen [de Lacy Costello et al. 2014]. Ein Vorteil unserer Messungen am MCC-IMS gegenüber z.B. der Atemluftanalyse ist jedoch die Verwendung eines geschlossenen Messsystems, sodass Messverfälschungen durch physiologisch im menschlichen Organismus vorkommende VOCs ausgeschlossen werden können.

Letztendlich ist eine Identifizierung der den VOCs zugrundeliegenden chemischen Substanzen jedoch nicht unbedingt nötig, um eine verlässliche Diagnostik anhand der Geruchsmustererkennung zu gewährleisten.

#### 4.4. Ausblick

Die Ergebnisse der Studie sind sehr vielversprechend. Es konnte gezeigt werden, dass eine Unterscheidung der Bakterien MRSA und MSSA aus dem Flüssignährmedium BHI und insbesondere eine Differenzierung der Keime voneinander mittels MCC-IMS und Cyranose 320 mit hoher Sensitivität und Spezifität möglich ist.

Es bedarf weiterer, prospektiver Studien, um die Ergebnisse im klinischen Setting und mit höheren Probenzahlen zu verifizieren. Hierbei sollte untersucht werden, ob eine Differenzierung von MRSA und MSSA aus Selektivnährmedien oder unmittelbar von direkt am Patienten entnommenem Abstrichmaterial möglich ist, um somit eine besonders zeiteffektive Diagnostik zu gewährleisten.

Für die Cyranose 320 können beim Hersteller individuell angefertigte NoseChips in Auftrag gegeben werden, wodurch die Genauigkeit der Messungen entsprechend den Anforderungen des Auftraggebers erhöht werden kann. Deshalb könnte eine weiterführende Identifizierung der den VOCs zugrundeliegenden chemischen Substanzen lohnend sein, um NoseChips zu entwickeln, welche speziell auf die Erkennung der entsprechenden Substanzen abgestimmt sind.

Sollte die Erkennung von MRSA und MSSA anhand VOCs sich auch in klinischen Studien bewähren – bestenfalls durch vergleichbare Ergebnisse von Headspace-Messungen unmittelbar über Abstrichtupfern – könnten das MCC-IMS und die Cyranose 320 eine bedeutende Rolle in der MRSA-Diagnostik einnehmen. Besonders die Cyranose 320 könnte als handliches und mit Beschaffungskosten von ca. 10 000 US\$ [Doty et al. 2020] vergleichsweise günstiges Diagnosetool auch im ambulanten Setting eingesetzt werden, beispielsweise im Rahmen eines universellen prästationären Screenings, welches bekanntermaßen eine sehr effektive, jedoch derzeit finanziell ineffiziente Methode des MRSA-Screenings darstellt [Korczak et al. 2010; Leonhardt et al. 2011; Robert Koch-Institut 2014; Robicsek et al. 2008]. Die damit einhergehende Möglichkeit der gezielten Isolation und Dekolonisierung würde weitere Kosten einsparen, Übertragungen verhindern und erneuten Resistenzbildungen vorbeugen.

## 5. Zusammenfassung/Abstract

### 5.1. Zusammenfassung

**Hintergrund:** *Staphylococcus aureus* besiedelt als Kommensale 20–40 % der Bevölkerung und gehört zu den häufigsten Verursachern nosokomialer Infektionen. Bereits frühzeitig sind multiresistente Stämme entstanden, welche in Methicillin-sensible Stämme (MSSA) und Methicillin-resistente Stämme (MRSA) eingeteilt werden. Auch gegen Reserveantibiotika entwickeln sich zunehmend Resistenzen. *S. aureus* ist für eine erhöhte Morbidität und Mortalität sowie für eine verlängerte Hospitalisationszeit inklusive Isolationsmaßnahmen und damit einhergehender Kosten verantwortlich. Die mikrobiologische Diagnostik mittels Erregerkultivierung stellt den Goldstandard zum Keimnachweis und zur Bestimmung von Resistenzen dar, ist jedoch zeitaufwendig und teuer. Die PCR-basierte Diagnostik ist zwar schneller, jedoch wirtschaftlich nicht effizient. Ein frühzeitiger Keimnachweis durch Screening-Untersuchungen mit darauffolgender Isolation oder Dekolonisierung kann zu einer Reduktion der Keimübertragung und folglich der Morbidität, Mortalität und der assoziierten Kosten führen. Somit besteht die Notwendigkeit für kosten- und zeiteffektive Methoden zur Erkennung von MSSA und MRSA mit hoher diagnostischer Wertigkeit.

**Ziel:** In der vorliegenden Arbeit sollte festgestellt werden, ob sich MRSA und MSSA anhand der Analyse volatiler organischer Verbindungen (*volatile organic compounds*, VOC), welche durch Stoffwechselprozesse von Organismen exprimiert werden, mittels Multikapillarsäulen-Ionenmobilitätsspektrometrie (MCC-IMS) sowie der elektronischen Nase Cyranose 320 aus dem Nährmedium Brain Heart Infusion Broth (BHI) identifizieren und voneinander differenzieren lassen.

**Methoden:** Es wurden aus routinemäßig entnommenen Screening-Abstrichen je 20 Proben mit MRSA und MSSA ins Flüssignährmedium BHI übertragen und auf eine Konzentration von  $10^8$  KBE/ml verdünnt. Aus jeder Probe wurden 500  $\mu$ l für die Messungen entnommen.

Mit dem MCC-IMS wurden mittels Headspace-Messungen je 20 MRSA- und MSSA-Proben und analog dazu 27 Proben des nicht bebrüteten Flüssignährmediums BHI analysiert. Vor jeder Probenmessung erfolgte eine Leermessung der Laborflasche zur Referenz und zur Elimination von Störfaktoren. Die aus den Messungen resultierenden

Peaks wurden visualisiert und statistisch analysiert und ermöglichten im Anschluss durch Zuordnung spezifischer Peaks zu den jeweiligen Proben eine Differenzierung der Gruppen. Durch Abgleich mit einer bestehenden Datenbank konnten die Peaks entsprechenden organischen Substanzen zugeordnet werden.

Mit der Cyranose 320 wurde der Headspace von je 20 MRSA- und MSSA-Proben und von 20 Proben nicht bebrüteter BHI analysiert. Jede Probe wurde 5-mal hintereinander gemessen, um ein Machine-Learning zu gewährleisten. Im Anschluss erfolgten eine lineare Diskriminanzanalyse und die Berechnung der Mahalanobis-Distanz zur Differenzierung der Gruppen. Eine Leave-One-Out Kreuzvalidierung wurde zur Bestimmung des Kreuzvalidierungswerts durchgeführt. Die Gruppen konnten durch eine Mustererkennung voneinander unterschieden werden.

**Ergebnisse:** Mittels MCC-IMS konnten in der Gegenüberstellung der Gruppen MRSA und BHI 19 hochsignifikante Peaks ( $p < 0.001$ ) nachgewiesen werden, welche eine Unterscheidung mit einer Sensitivität und Spezifität von jeweils  $> 90\%$  bis  $99.9\%$  ermöglichen. MSSA konnte aus dem Nährmedium BHI anhand 20 hochsignifikanter Peaks mit einer Sensitivität von  $92.6\%$  bis  $96.3\%$  und einer Spezifität von  $90\%$  bis  $99.9\%$  differenziert werden. MRSA und MSSA konnten anhand 11 hochsignifikanter Peaks mit einer Sensitivität und Spezifität von jeweils  $90\%$  bis  $99.9\%$  voneinander differenziert werden. Zwei Peaks waren ausreichend, um anhand eines Entscheidungsbaums in zwei Schritten eine Trennung aller Gruppen zu gewährleisten. Die Cyranose 320 konnte die Gruppen MRSA und BHI mit einer Sensitivität von  $96\%$  und einer Spezifität von  $94\%$  voneinander abgrenzen. Eine Differenzierung von MSSA und BHI konnte mit einer Sensitivität von  $81\%$  und einer Spezifität von  $75\%$  erreicht werden. MRSA und MSSA konnten mit einer Sensitivität von  $100\%$  und einer Spezifität von  $91\%$  voneinander unterschieden werden.

**Schlussfolgerung:** Eine Unterscheidung der Bakterien MRSA und MSSA aus dem Flüssignährmedium BHI und insbesondere eine Differenzierung der Keime voneinander ist mittels MCC-IMS sowie Cyranose 320 mit hoher Sensitivität und Spezifität möglich. Es bedarf weiterer, prospektiver Studien im klinischen Setting, um die Ergebnisse zu verifizieren und somit eine potenzielle zeit- und kostensparende Alternative zur konventionellen Diagnostik zu ermöglichen.

## 5.2. Abstract

**Background:** *Staphylococcus aureus* can be found as a commensal in 20 – 40 % of the population and is one of the most frequent causes of nosocomial infections. Multi-resistant strains have emerged early and are classified into methicillin-sensitive strains (MSSA) and methicillin-resistant strains (MRSA). Resistance to reserve antibiotics is also increasingly developing. *S. aureus* is responsible for increased morbidity and mortality as well as prolonged hospitalisation periods including isolation measures and associated costs. Microbiological diagnosis using bacterial culture remains the gold standard for germ detection and susceptibility testing albeit being time-consuming and expensive. PCR-based diagnostics ensure quicker results but are uneconomical. Early bacterial detection ensured by screening tests with subsequent isolation or decolonisation measures can lead to a reduction in transmission rates and consequently in morbidity, mortality, and associated costs. Thus, there is a need for cost- and time-effective methods for the detection of MSSA and MRSA with high diagnostic value.

**Aim:** The aim of this study was to determine whether MRSA and MSSA can be differentiated from the culture medium Brain Heart Infusion Broth (BHI) and from each other based on the analysis of volatile organic compounds (VOCs) – which are expressed by organisms as a result of metabolic processes – by using multicapillary column ion mobility spectrometry (MCC-IMS) as well as the electronic nose Cyranose 320.

**Methods:** 20 samples each with MRSA and MSSA obtained from routinely collected screening samples were transferred to the liquid culture medium BHI and diluted to a concentration of  $10^8$  CFU/ml. From each sample, 500  $\mu$ l were collected for measurements.

Using the MCC-IMS, 20 MRSA and MSSA samples each and analogously 27 samples of the non-incubated liquid culture medium BHI were analysed by headspace measurements. Each sample measurement was preceded by a blank measurement of the laboratory bottle for reference and to eliminate interfering factors. The peaks resulting from the measurements were visualised and statistically analysed and subsequently allowed differentiation between the groups by assigning specific peaks to the respective samples. By comparison with an existing database, the peaks could be assigned to corresponding organic substances.

The Cyranose 320 was used to analyse the headspace of 20 MRSA and MSSA samples each and 20 samples of non-incubated BHI. Each sample was measured 5 times in succession to ensure machine learning. This was followed by linear discriminant analysis and calculation of Mahalanobis distance to differentiate between groups. Leave-one-out cross-validation was performed to determine the cross-validation value. The groups could be distinguished from each other by pattern recognition.

**Results:** Using MCC-IMS, 19 highly significant peaks ( $p < 0.001$ ) were detected in comparison between the groups MRSA and BHI, showing discrimination with sensitivity and specificity of  $> 90\%$  up to  $99.9\%$  each. MSSA can be differentiated from culture medium BHI using 20 highly significant peaks with sensitivity of  $92.6\%$  up to  $96.3\%$  and specificity of  $90\%$  up to  $99.9\%$ . MRSA and MSSA can be differentiated from each other based on 11 highly significant peaks with sensitivity and specificity of  $90\%$  up to  $99.9\%$  each. Two peaks are sufficient to ensure separation of all groups using a two-step decision tree.

Cyranose 320 was able to differentiate MRSA from BHI with sensitivity of  $96\%$  and specificity of  $94\%$ . Differentiation of MSSA and BHI was achieved with sensitivity of  $81\%$  and specificity of  $75\%$ . MRSA and MSSA could be differentiated from each other with sensitivity of  $100\%$  and specificity of  $91\%$ .

**Conclusion:** Differentiation between MRSA, MSSA and the liquid culture medium BHI is possible with high sensitivity and specificity by using MCC-IMS as well as Cyranose 320. Further clinical prospective studies will be needed to verify the results and thus find a possible, time- and cost-saving alternative to conventional diagnostics.

## 6. Referenzen

- Aathithan, S., Plant, J. C., Chaudry, A. N. & French, G. L. (2001). Diagnosis of bacteriuria by detection of volatile organic compounds in urine using an automated headspace analyzer with multiple conducting polymer sensors. *J Clin Microbiol*, 39(7), 2590-2593.
- Allardyce, R. A., Langford, V. S., Hill, A. L. & Murdoch, D. R. (2006). Detection of volatile metabolites produced by bacterial growth in blood culture media by selected ion flow tube mass spectrometry (SIFT-MS). *J Microbiol Methods*, 65(2), 361-365.
- Allers, M., Langejuergen, J., Gaida, A., Holz, O., Schuchardt, S., Hohlfeld, J. M. et al. (2016). Measurement of exhaled volatile organic compounds from patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) using closed gas loop GC-IMS and GC-APCI-MS. *J Breath Res*, 10(2), 026004.
- Amann, A., de Lacy Costello, B., Miekisch, W., Schubert, J., Buszewski, B., Pleil, J. et al. (2014). The human volatilome: volatile organic compounds (VOCs) in exhaled breath, skin emanations, urine, feces and saliva. *J Breath Res*, 8(3), 034001.
- Ammerlaan, H. S., Kluytmans, J. A., Wertheim, H. F., Nouwen, J. L. & Bonten, M. J. (2009). Eradication of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage: a systematic review. *Clin Infect Dis*, 48(7), 922-930.
- Antonov, N. K., Garzon, M. C., Morel, K. D., Whittier, S., Planet, P. J. & Lauren, C. T. (2015). High prevalence of mupirocin resistance in *Staphylococcus aureus* isolates from a pediatric population. *Antimicrob Agents Chemother*, 59(6), 3350-3356.
- Araki, M., Kariyama, R., Monden, K., Tsugawa, M. & Kumon, H. (2002). Molecular epidemiological studies of *Staphylococcus aureus* in urinary tract infection. *J Infect Chemother*, 8(2), 168-174.
- Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e. V. (2019). S3-Leitlinie: Strategien zur Sicherung rationaler Antibiotika-Anwendung im Krankenhaus. 15.12.2013 mit verlängerter Gültigkeit bis 30.11.2018 und angekündigter Erneuerung für den 31.01.2019. URL: [https://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/092-](https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/092-)

001\_S3\_Antibiotika\_Anwendung\_im\_Krankenhaus\_2013-verlaengert.pdf,  
abgerufen am 16.01.2019.

- Armenta, S., Alcalá, M. & Blanco, M. (2011). A review of recent, unconventional applications of ion mobility spectrometry (IMS). *Anal Chim Acta*, 703(2), 114-123.
- Austin, E. D., Sullivan, S. B., Whittier, S., Lowy, F. D. & Uhlemann, A. C. (2016). Peripheral Intravenous Catheter Placement Is an Underrecognized Source of Staphylococcus aureus Bloodstream Infection. *Open Forum Infect Dis*, 3(2), ofw072.
- Bach, J. P., Gold, M., Mengel, D., Hattesoehl, A., Lubbe, D., Schmid, S. et al. (2015). Measuring Compounds in Exhaled Air to Detect Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease. *PLoS One*, 10(7), e0132227.
- Barber, M. (1947). Staphylococcal infection due to penicillin-resistant strains. *British medical journal*, 2(4535), 863–865.
- Barber, M. (1961). Methicillin-resistant staphylococci. *J. clin. Pathol.*, 14, 385–393.
- Barnett, A. G., Page, K., Campbell, M., Brain, D., Martin, E., Rashleigh-Rolls, R. et al. (2014). Changes in healthcare-associated Staphylococcus aureus bloodstream infections after the introduction of a national hand hygiene initiative. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 35(8), 1029-1036.
- Bartels, C., Ewert, R., Steinmetz, I. & Kramer, A. (2008). Methicillin-Resistente Staphylokokken: Frühes Screening senkt die Zahl der Infektionen. *Dtsch Arztebl Int*, 105(13), 672-674.
- Baumbach, J., Bunkowski, A., Lange, S., Oberwahrenbrock, T., Kleinbölting, N., Rahmann, S. et al. (2007). IMS2 – An integrated medical software system for early lung cancer detection using ion mobility spectrometry data of human breath. *Journal of Integrative Bioinformatics*, 4(3), 186-197.
- Baumbach, J. I. (2009). Ion mobility spectrometry coupled with multi-capillary columns for metabolic profiling of human breath. *J Breath Res*, 3(3), 034001.
- Becher, G., Räßler, T., Purkhart, R., Steppert, C., Schimanski, S. & Schüler, W. (2016). Schnelle und sichere Differenzierung von MRSA und MSSA in Flüssigkultur mittels GC-IMS. *Pneumologie*, 70(S 01).

- Becker, K., Schaumburg, F., Fegeler, C., Friedrich, A. W., Kock, R. & Prevalence of Multiresistant Microorganisms, P. M. M. S. (2017). Staphylococcus aureus from the German general population is highly diverse. *Int J Med Microbiol*, 307(1), 21-27.
- Becker, K., van Alen, S., Idelevich, E. A., Schleimer, N., Seggewiss, J., Mellmann, A. et al. (2018). Plasmid-Encoded Transferable mecB-Mediated Methicillin Resistance in Staphylococcus aureus. *Emerg Infect Dis*, 24(2), 242-248.
- Benedek, P., Lazar, Z., Bikov, A., Kunos, L., Katona, G. & Horvath, I. (2013). Exhaled biomarker pattern is altered in children with obstructive sleep apnoea syndrome. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 77(8), 1244-1247.
- Bergin, S. P., Holland, T. L., Fowler, V. G., Jr. & Tong, S. Y. C. (2017). Bacteremia, Sepsis, and Infective Endocarditis Associated with Staphylococcus aureus. *Curr Top Microbiol Immunol*, 409, 263-296.
- Besa, V., Teschler, H., Kurth, I., Khan, A. M., Zarogoulidis, P., Baumbach, J. I. et al. (2015). Exhaled volatile organic compounds discriminate patients with chronic obstructive pulmonary disease from healthy subjects. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 10, 399-406.
- Binti Abdul Halim, N. I., Binti A. Rahman, N. A., Binti Mohamad Zin, N., Bin Baba, M. S., A Rahman, N. I. & Haque, M. (2016). A Systematic Review on Prevention of Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus Infection by Pre-Admission Screening: The Cost Effectiveness and Practicality. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 7(1), 1-19.
- Bödeker, B., Vautz, W. & Baumbach, J. I. (2008). Visualisation of MCC/IMS-data. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry*, 11(1-4), 77-81.
- Bos, L. D., Schultz, M. J. & Sterk, P. J. (2014). Exhaled breath profiling for diagnosing acute respiratory distress syndrome. *BMC Pulm Med*, 14, 72.
- Brekelmans, M. P., Fens, N., Brinkman, P., Bos, L. D., Sterk, P. J., Tak, P. P. et al. (2016). Smelling the Diagnosis: The Electronic Nose as Diagnostic Tool in Inflammatory Arthritis. A Case-Reference Study. *PLoS One*, 11(3), e0151715.
- Brown, D. F., Edwards, D. I., Hawkey, P. M., Morrison, D., Ridgway, G. L., Towner, K. J. et al. (2005). Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing

- of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J Antimicrob Chemother*, 56(6), 1000-1018.
- Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V. (2016). GERMAP 2015 – Bericht über den Antibiotikaverbrauch und die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen in der Human- und Veterinärmedizin in Deutschland. *Antiinfectives Intelligence, Rheinbach*.
- Carr, A. L., Daley, M. J., Givens Merkel, K. & Rose, D. T. (2018). Clinical Utility of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Nasal Screening for Antimicrobial Stewardship: A Review of Current Literature. *Pharmacotherapy*, 38(12), 1216-1228.
- Centers for Disease Control and Prevention (1997). Reduced Susceptibility of *Staphylococcus aureus* to Vancomycin. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 46, 624-626.
- Cepeda, J. A., Whitehouse, T., Cooper, B., Hails, J., Jones, K., Kwaku, F. et al. (2005). Isolation of patients in single rooms or cohorts to reduce spread of MRSA in intensive-care units: prospective two centre study. *The Lancet*, 365(9456), 295-304.
- Çetin, E. T. & Ang, Ö. (1962). Staphylococci Resistant to Methicillin ("Celbenin"). *Br Med J*, 2(5296), 51-52.
- Chambers, H. F. (2001). The Changing Epidemiology of *Staphylococcus aureus*? *Emerging Infectious Diseases*, 7(2), 178-182.
- Chambers, H. F. & Deleo, F. R. (2009a). Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nat Rev Microbiol*, 7(9), 629-641.
- Chambers, S. T., Syhre, M., Murdoch, D. R., McCartin, F. & Epton, M. J. (2009b). Detection of 2-pentylfuran in the breath of patients with *Aspergillus fumigatus*. *Med Mycol*, 47(5), 468-476.
- Chang, S., Sievert, D. M., Hageman, J. C., Boulton, M. L., Tenover, F. C., Downes, F. P. et al. (2003). Infection with Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* Containing the vanA Resistance Gene. *N Engl J Med*, 348(14), 1342-1347.

- Corradi, M., Majori, M., Cacciani, G. C., Consigli, G. F., de'Munari, E. & Pesci, A. (1999). Increased exhaled nitric oxide in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*, 54(7), 572-575.
- Corradi, M., Pesci, A., Casana, R., Alinovi, R., Goldoni, M., Vettori, M. V. et al. (2003). Nitrate in exhaled breath condensate of patients with different airway diseases. *Nitric Oxide*, 8(1), 26-30.
- Cosgrove, S. E., Sakoulas, G., Perencevich, E. N., Schwaber, M. J., Karchmer, A. W. & Carmeli, Y. (2003). Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a meta-analysis. *Clin Infect Dis*, 36(1), 53-59.
- D'Addario, M., Kopczynski, D., Baumbach, J. I. & Rahmann, S. (2014). A modular computational framework for automated peak extraction from ion mobility spectra. *BMC Bioinformatics*, 15, 25.
- Dancer, S. J. (2008). Considering the introduction of universal MRSA screening. *J Hosp Infect*, 69(4), 315-320.
- David, M. Z. & Daum, R. S. (2017). Treatment of *Staphylococcus aureus* Infections. *Curr Top Microbiol Immunol*, 409, 325-383.
- de Lacy Costello, B., Amann, A., Al-Kateb, H., Flynn, C., Filipiak, W., Khalid, T. et al. (2014). A review of the volatiles from the healthy human body. *J Breath Res*, 8(1), 014001.
- de Meij, T. G., de Boer, N. K., Benninga, M. A., Lentferink, Y. E., de Groot, E. F., van de Velde, M. E. et al. (2014). Faecal gas analysis by electronic nose as novel, non-invasive method for assessment of active and quiescent paediatric inflammatory bowel disease: Proof of principle study. *J Crohns Colitis*.
- Deng, C., Zhang, X. & Li, N. (2004). Investigation of volatile biomarkers in lung cancer blood using solid-phase microextraction and capillary gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 808(2), 269-277.
- DeVries, A. S., Leshner, L., Schlievert, P. M., Rogers, T., Villaume, L. G., Danila, R. et al. (2011). Staphylococcal toxic shock syndrome 2000-2006: epidemiology, clinical features, and molecular characteristics. *PLoS One*, 6(8), e22997.

- Diller, R., Sonntag, A. K., Mellmann, A., Grevener, K., Senninger, N., Kipp, F. et al. (2008). Evidence for cost reduction based on pre-admission MRSA screening in general surgery. *Int J Hyg Environ Health*, 211(1-2), 205-212.
- Dissemond, J. (2009). Methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA): Diagnostic, clinical relevance and therapy. *J Dtsch Dermatol Ges*, 7(6), 544-551.
- Dospinescu, V. M., Tiele, A. & Covington, J. A. (2020). Sniffing Out Urinary Tract Infection-Diagnosis Based on Volatile Organic Compounds and Smell Profile. *Biosensors (Basel)*, 10(8).
- Doty, A. C., Wilson, A. D., Forse, L. B. & Risch, T. S. (2020). Assessment of the Portable C-320 Electronic Nose for Discrimination of Nine Insectivorous Bat Species: Implications for Monitoring White-Nose Syndrome. *Biosensors (Basel)*, 10(2).
- Dragonieri, S., Annema, J. T., Schot, R., van der Schee, M. P., Spanevello, A., Carratu, P. et al. (2009). An electronic nose in the discrimination of patients with non-small cell lung cancer and COPD. *Lung Cancer*, 64(2), 166-170.
- Dragonieri, S., Quaranta, V. N., Carratu, P., Ranieri, T., Marra, L., D'Alba, G. et al. (2016). An electronic nose may sniff out amyotrophic lateral sclerosis. *Respir Physiol Neurobiol*, 232, 22-25.
- Dragonieri, S., Schot, R., Mertens, B. J., Le Cessie, S., Gauw, S. A., Spanevello, A. et al. (2007). An electronic nose in the discrimination of patients with asthma and controls. *J Allergy Clin Immunol*, 120(4), 856-862.
- Duerden, B., Fry, C., Johnson, A. P. & Wilcox, M. H. (2015). The Control of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Blood Stream Infections in England. *Open Forum Infect Dis*, 2(2), ofv035.
- Dutta, R., Morgan, D., Baker, N., Gardner, J. W. & Hines, E. L. (2005). Identification of Staphylococcus aureus infections in hospital environment: electronic nose based approach. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 109(2), 355-362.
- El Manouni El Hassani, S., Soers, R. J., Berkhout, D. J. C., Niemarkt, H. J., Weda, H., Nijssen, T. et al. (2020). Optimized sample preparation for fecal volatile organic compound analysis by gas chromatography-mass spectrometry. *Metabolomics*, 16(10), 112.
- Elmassry, M. M. & Piechulla, B. (2020). Volatilomes of Bacterial Infections in Humans. *Front Neurosci*, 14, 257.

- Elsayed, S., Chow, B. L., Hamilton, N. L., Gregson, D. B., Pitout, J. D. & Church, D. L. (2003). Development and validation of a molecular beacon probe-based real-time polymerase chain reaction assay for rapid detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Arch Pathol Lab Med*, 127(7), 845-849.
- Enderby, B., Smith, D., Carroll, W. & Lenney, W. (2009). Hydrogen cyanide as a biomarker for *Pseudomonas aeruginosa* in the breath of children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*, 44(2), 142-147.
- European Centre for Disease Prevention and Control (2018a). Surveillance of antimicrobial resistance in Europe – Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) 2017. *Stockholm: ECDC*.
- European Centre for Disease Prevention and Control, E. (2013). Point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use in European acute care hospitals. *Stockholm: ECDC*.
- European Centre for Disease Prevention and Control, E. (2018b). Surveillance of antimicrobial resistance in Europe – Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) 2017. *Stockholm: ECDC*.
- Fakih, M. G., Battjes, R., Sturm, L., Jones, L., Groves, C., Bufalino, A. et al. (2018). Hospital-Onset *Staphylococcus aureus* Bacteremia Is A Better Measure Than MRSA Bacteremia for Assessing Infection Prevention: Evaluation of 50 US Hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 39(4), 476-478.
- Farraia, M. V., Cavaleiro Rufo, J., Paciencia, I., Mendes, F., Delgado, L. & Moreira, A. (2019). The electronic nose technology in clinical diagnosis: A systematic review. *Porto Biomed J*, 4(4), e42.
- Fätkenheuer, G. (2016). MRSA-Patienten: Isolierung ist überflüssig und stigmatisierend. *Dtsch Arztebl International*, 113(21), 12-14.
- Fazal, B. A., Telzak, E. E., Blum, S., Turett, G. S., Petersen-Fitzpatrick, F. E. & Lorian, V. (1996). Trends in the prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* associated with discontinuation of an isolation policy. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 17(6), 372-374.

- Fend, R., Kolk, A. H., Bessant, C., Buijtel, P., Klatser, P. R. & Woodman, A. C. (2006). Prospects for clinical application of electronic-nose technology to early detection of *Mycobacterium tuberculosis* in culture and sputum. *J Clin Microbiol*, 44(6), 2039-2045.
- Fens, N., Zwinderman, A. H., van der Schee, M. P., de Nijs, S. B., Dijkers, E., Roldaan, A. C. et al. (2009). Exhaled breath profiling enables discrimination of chronic obstructive pulmonary disease and asthma. *Am J Respir Crit Care Med*, 180(11), 1076-1082.
- Filipiak, W., Sponring, A., Baur, M. M., Filipiak, A., Ager, C., Wiesenhofer, H. et al. (2012). Molecular analysis of volatile metabolites released specifically by *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Microbiol*, 12, 113.
- Flores-Mireles, A. L., Walker, J. N., Caparon, M. & Hultgren, S. J. (2015). Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol*, 13(5), 269-284.
- Frickmann, H., Schwarz, N. G., Hahn, A., Ludyga, A., Warnke, P. & Podbielski, A. (2018). Comparing a single-day swabbing regimen with an established 3-day protocol for MRSA decolonization control. *Clin Microbiol Infect*, 24(5), 522-527.
- Gao, J., Zou, Y., Wang, Y., Wang, F., Lang, L., Wang, P. et al. (2016). Breath analysis for noninvasively differentiating *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia from its respiratory tract colonization of ventilated patients. *J Breath Res*, 10(2), 027102.
- Gardner, J. W. & Bartlett, P. N. (1994). A brief history of electronic noses. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 18(1-3), 210-211.
- Garner, C. E., Smith, S., Bardhan, P. K., Ratcliffe, N. M. & Probert, C. S. (2009). A pilot study of faecal volatile organic compounds in faeces from cholera patients in Bangladesh to determine their utility in disease diagnosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 103(11), 1171-1173.
- Gidengil, C. A., Gay, C., Huang, S. S., Platt, R., Yokoe, D. & Lee, G. M. (2015). Cost-effectiveness of strategies to prevent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* transmission and infection in an intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 36(1), 17-27.
- Girndt, M. (2016). Multiresistente Erreger. *Der Nephrologe*, 11(6), 408-416.

- Girou, E., Legrand, P., Soing-Altrach, S., Lemire, A., Poulain, C., Allaire, A. et al. (2006). Association between hand hygiene compliance and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* prevalence in a French rehabilitation hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 27(10), 1128-1130.
- Greulich, T., Hattesoehl, A., Grabisch, A., Koepke, J., Schmid, S., Noeske, S. et al. (2013). Detection of obstructive sleep apnoea by an electronic nose. *Eur Respir J*, 42(1), 145-155.
- Guilhermetti, M., Hernandez, S. E., Fukushigue, Y., Garcia, L. B. & Cardoso, C. L. (2001). Effectiveness of hand-cleansing agents for removing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from contaminated hands. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 22(2), 105-108.
- Haick, H., Broza, Y. Y., Mochalski, P., Ruzsanyi, V. & Amann, A. (2014). Assessment, origin, and implementation of breath volatile cancer markers. *Chem Soc Rev*, 43(5), 1423-1449.
- Han, S. M., Sorabella, R. A., Vasan, S., Grbic, M., Lambert, D., Prasad, R. et al. (2017). Influence of *Staphylococcus aureus* on Outcomes after Valvular Surgery for Infective Endocarditis. *J Cardiothorac Surg*, 12(1), 57.
- Hanssen, A. M. & Ericson Sollid, J. U. (2006). SCCmec in staphylococci: genes on the move. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 46(1), 8-20.
- Harbarth, S., Dharan, S., Liassine, N., Herrault, P., Auckenthaler, R. & Pittet, D. (1999). Randomized, placebo-controlled, double-blind trial to evaluate the efficacy of mupirocin for eradicating carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*, 43(6), 1412-1416.
- Harbarth, S., Fankhauser, C., Schrenzel, J., Christenson, J., Gervaz, P., Bandiera-Clerc, C. et al. (2008). Universal screening for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at hospital admission and nosocomial infection in surgical patients. *JAMA*, 299(10), 1149-1157.
- Hardy, K., Sunnucks, K., Gil, H., Shabir, S., Trampari, E., Hawkey, P. et al. (2018). Increased Usage of Antiseptics Is Associated with Reduced Susceptibility in Clinical Isolates of *Staphylococcus aureus*. *mBio*, 9(3).

- Hattesoehl, A. D., Jorres, R. A., Dressel, H., Schmid, S., Vogelmeier, C., Greulich, T. et al. (2011). Discrimination between COPD patients with and without alpha 1-antitrypsin deficiency using an electronic nose. *Respirology*, *16*(8), 1258-1264.
- Hauschild, A. C., Schneider, T., Pauling, J., Rupp, K., Jang, M., Baumbach, J. I. et al. (2012). Computational methods for metabolomic data analysis of ion mobility spectrometry data-reviewing the state of the art. *Metabolites*, *2*(4), 733-755.
- Hayward, N. J. & Jeavons, T. H. (1977). Assessment of technique for rapid detection of *Escherichia coli* and *Proteus* species in urine by head-space gas-liquid chromatography. *J Clin Microbiol*, *6*(3), 202-208.
- Heers, H., Gut, J. M., Hegele, A., Hofmann, R., Boeselt, T., Hattesoehl, A. et al. (2018). Non-invasive Detection of Bladder Tumors Through Volatile Organic Compounds: A Pilot Study with an Electronic Nose. *Anticancer Res*, *38*(2), 833-837.
- Heizmann, P., Heizmann, W. R. & Hetzer, R. (2005). MRSA: Resistenzmechanismen, Epidemiologie, Risikofaktoren, Prophylaxe, Therapie. *Z Herz- Thorax- Gefäßschir*, *19*(2), 78-88.
- Hell, M., Bauer, J. W. & Laimer, M. (2016). [Molecular diagnosis of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Methods and efficacy]. *Hautarzt*, *67*(1), 6-15.
- Henson, G., Ghonim, E., Swiatlo, A., King, S., Moore, K. S., King, S. T. et al. (2014). Cost-benefit and effectiveness analysis of rapid testing for MRSA carriage in a hospital setting. *Clin Lab Sci*, *27*(1), 13-20.
- Hill, E. E., Peetermans, W. E., Vanderschueren, S., Claus, P., Herregods, M. C. & Herijgers, P. (2008). Methicillin-resistant versus methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* infective endocarditis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, *27*(6), 445-450.
- Hoerr, V., Franz, M., Pletz, M. W., Diab, M., Niemann, S., Faber, C. et al. (2018). *S. aureus* endocarditis: Clinical aspects and experimental approaches. *Int J Med Microbiol*, *308*(6), 640-652.
- Hof, H. & Dörries, R. (2009). Duale Reihe: Medizinische Mikrobiologie. *Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart*, *4*, 313-315.

- Horstmann, M., Steinbach, D., Fischer, C., Enkelmann, A., Grimm, M. O. & Voss, A. (2015). 834 Urine based bladder cancer detection by an electronic nose system: First results of a pilot study. *European Urology Supplements*, 14(2).
- Huang, S. S., Septimus, E., Kleinman, K., Moody, J., Hickok, J., Avery, T. R. et al. (2013). Targeted versus Universal Decolonization to Prevent ICU Infection. *N Engl J Med*, 368(24), 2255-2265.
- Hubben, G., Bootsma, M., Luteijn, M., Glynn, D., Bishai, D., Bonten, M. et al. (2011). Modelling the costs and effects of selective and universal hospital admission screening for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *PLoS One*, 6(3), e14783.
- Hubner, C., Hubner, N. O., Wegner, C. & Flessa, S. (2015). Impact of different diagnostic technologies for MRSA admission screening in hospitals - a decision tree analysis. *Antimicrob Resist Infect Control*, 4, 50.
- Humad, S., Zarling, E., Clapper, M. & Skosey, J. L. (1988). Breath pentane excretion as a marker of disease activity in rheumatoid arthritis. *Free Radic Res Commun*, 5(2), 101-106.
- Infektionsschutzgesetz (2000). Infektionsschutzgesetz vom 20. Juli 2000 (BGBl. I S. 1045), das zuletzt durch Artikel 6 des Gesetzes vom 11. Dezember 2018 (BGBl. I S. 2394) geändert worden ist. URL: <https://www.gesetze-im-internet.de/ifsg/ifsg.pdf>, abgerufen am 14. Jan. 2019.
- Isailovic, D., Plasencia, M. D., Gaye, M. M., Stokes, S. T., Kurulugama, R. T., Pungpapong, V. et al. (2012). Delineating diseases by IMS-MS profiling of serum N-linked glycans. *J Proteome Res*, 11(2), 576-585.
- Jarlier, V., Trystram, D., Brun-Buisson, C., Fournier, S., Carbonne, A., Marty, L. et al. (2010). Curbing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in 38 French hospitals through a 15-year institutional control program. *Arch Intern Med*, 170(6), 552-559.
- Jazan, E. & Mirzaei, H. (2014). Direct analysis of human breath ammonia using corona discharge ion mobility spectrometry. *J Pharm Biomed Anal*, 88, 315-320.
- Jevons, M. P. (1961). „Celbenin“-resistant *Staphylococci*. *Br Med J*, 1(5219), 124-125.
- Johnson, A. P., Pearson, A. & Duckworth, G. (2005). Surveillance and epidemiology of MRSA bacteraemia in the UK. *J Antimicrob Chemother*, 56(3), 455-462.

- Junger, M., Bodeker, B. & Baumbach, J. I. (2010). Peak assignment in multi-capillary column-ion mobility spectrometry using comparative studies with gas chromatography-mass spectrometry for VOC analysis. *Anal Bioanal Chem*, 396(1), 471-482.
- Kaech, C., Elzi, L., Sendi, P., Frei, R., Laifer, G., Bassetti, S. et al. (2006). Course and outcome of *Staphylococcus aureus* bacteraemia: a retrospective analysis of 308 episodes in a Swiss tertiary-care centre. *Clin Microbiol Infect*, 12(4), 345-352.
- Kaji, H., Hisamura, M., Saito, N. & Muraio, M. (1978). Gas chromatographic determination of volatile sulfur compounds in the expired alveolar air in hepatopathic subjects. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 145(3), 464-468.
- Kalenic, S., Cookson, B., Gallagher, R., Popp, W., Asensio-Vegas, A., Assadian, O. et al. (2010). Comparison of recommendations in national/regional Guidelines for prevention and control of MRSA in thirteen European countries. *International Journal of Infection Control*, 6(2).
- Karakonstantis, S. & Kalemaki, D. (2018). Evaluation and management of *Staphylococcus aureus* bacteriuria: an updated review. *Infection*, 46(3), 293-301.
- Karpas, Z., Cohen, G., Atweh, E., Barnard, G. & Golan, M. (2012). Recent Applications of Ion Mobility Spectrometry in Diagnosis of Vaginal Infections. *International Journal of Spectroscopy*, 2012, 1-6.
- Kluytmans, J. A., Mouton, J. W., VandenBergh, M. F., Manders, M. J., Maat, A. P., Wagenvoort, J. H. et al. (1996). Reduction of surgical-site infections in cardiothoracic surgery by elimination of nasal carriage of *Staphylococcus aureus*. *Infect Control Hosp Epidemiol.*, 17(12), 780-785.
- Knox, R. (1960). A New Penicillin (BRL 1241) Active Against Penicillin-resistant *Staphylococci*. *Br Med J*, 2(5200), 690-693.
- Köck, R., Becker, K., Cookson, B., van Gemert-Pijnen, J. E., Harbarth, S., J., K. et al. (2014). Systematic literature analysis and review of targeted preventive measures to limit healthcare-associated infections by meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Euro Surveill.*, 19(29), 23-34.

- Koczulla, A. R., Hattesoehl, A., Biller, H., Hofbauer, J., Hohlfeld, J., Oeser, C. et al. (2011). [Smelling diseases? A short review on electronic noses]. *Pneumologie*, 65(7), 401-405.
- Kollef, M. H., Shorr, A., Tabak, Y. P., Gupta, V., Liu, L. Z. & Johannes, R. S. (2005). Epidemiology and outcomes of health-care-associated pneumonia: results from a large US database of culture-positive pneumonia. *Chest*, 128(6), 3854-3862.
- Korczak, D. & Schöffmann, C. (2010). Medizinische Wirksamkeit und Kosten- Effektivität von Präventions- und Kontrollmaßnahmen gegen Methicillin- resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA)-Infektionen im Krankenhaus Therapie. *Schriftenreihe Health Technology Assessment, Bd. 100*(1).
- Lawes, T., Edwards, B., Lopez-Lozano, J. M. & Gould, I. (2012). Trends in *Staphylococcus aureus* bacteraemia and impacts of infection control practices including universal MRSA admission screening in a hospital in Scotland, 2006-2010: retrospective cohort study and time-series intervention analysis. *BMJ Open*, 2(3).
- Layer, F., Strommenger, B., Cuny, C., Noll, I., Abu Sin, M., Eckmanns, T. et al. (2018). Eigenschaften, Häufigkeit und Verbreitung von MRSA in Deutschland – Update 2015/2016. *Epid Bull Robert-Koch-Institut*, 5, 57-62.
- Le, J., Dam, Q., Tran, T., Nguyen, A., Adler-Shohet, F. C., Kim, S. et al. (2017). Epidemiology and hospital readmission associated with complications of *Staphylococcus aureus* bacteremia in pediatrics over a 25-year period. *Epidemiol Infect*, 145(12), 2631-2639.
- Lechner, M., Karlseder, A., Niederseer, D., Lirk, P., Neher, A., Rieder, J. et al. (2005). *Helicobacter pylori* infection increases levels of exhaled nitrate. *Helicobacter*, 10(5), 385-390.
- Lee, A. S., de Lencastre, H., Garau, J., Kluytmans, J., Malhotra-Kumar, S., Peschel, A. et al. (2018). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nat Rev Dis Primers*, 4, 18033.
- Lemfack, M. C., Gohlke, B. O., Toguem, S. M. T., Preissner, S., Piechulla, B. & Preissner, R. (2018). mVOC 2.0: a database of microbial volatiles. *Nucleic Acids Res*, 46(D1), D1261-D1265.

- Lemfack, M. C., Nickel, J., Dunkel, M., Preissner, R. & Piechulla, B. (2014). mVOC: a database of microbial volatiles. *Nucleic Acids Res*, 42(Database issue), D744-748.
- Leonhardt, K. K., Yakusheva, O., Phelan, D., Reeths, A., Hosterman, T., Bonin, D. et al. (2011). Clinical effectiveness and cost benefit of universal versus targeted methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* screening upon admission in hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 32(8), 797-803.
- Liu, C., Bayer, A., Cosgrove, S. E., Daum, R. S., Fridkin, S. K., Gorwitz, R. J. et al. (2011). Clinical practice guidelines by the infectious diseases society of america for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in adults and children. *Clin Infect Dis*, 52(3), e18-55.
- Louie, L., Matsumura, S. O., Choi, E., Louie, M. & Simor, A. E. (2000). Evaluation of three rapid methods for detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*, 38(6), 2170-2173.
- Lowy, F. D. (1998). *Staphylococcus aureus* infections. *N Engl J Med*, 339(8), 520-532.
- Maechler, F. (2018). Surveillance von Infektionserregern am Beispiel der Erregersurveillance im KISS. *Krankenhaushygiene up2date*, 13(02), 227-246.
- Maechler, F., Geffers, C., Schwab, F., Pena Diaz, L. A., Behnke, M. & Gastmeier, P. (2017). [Development of antimicrobial resistance in Germany : What is the current situation?]. *Med Klin Intensivmed Notfmed*, 112(3), 186-191.
- Manja, K. S. & Rao, K. M. (1983). Gas-chromatographic detection of urinary tract infections caused by *Escherichia coli* and *Klebsiella* sp. *J Clin Microbiol*, 17(2), 264-266.
- Marshall, C., Richards, M. & McBryde, E. (2013). Do active surveillance and contact precautions reduce MRSA acquisition? A prospective interrupted time series. *PLoS One*, 8(3), e58112.
- McGuinness, W. A., Malachowa, N. & DeLeo, F. R. (2017). Vancomycin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Yale J Biol Med*, 90(2), 269-281.
- McNeil, J., Hulten, K. G., Mason, E. O., Kaplan, S. L. & Vallejo, J. G. (2016). Bacteremic *Staphylococcus aureus* Osteoarticular Infections: Observations on Treatment and Outcomes in a Population With a High Prevalence of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Open Forum Infectious Diseases*, 3(suppl\_1).

- Meyer, E., Schröder, C., Gastmeier, P. & Geffers, C. (2014). The reduction of nosocomial MRSA infection in Germany—an analysis of data from the Hospital Infection Surveillance System (KISS) between 2007 and 2012. *Dtsch Arztebl Int*, *111*(19), 331–336.
- Miro, J. M., Anguera, I., Cabell, C. H., Chen, A. Y., Stafford, J. A., Corey, G. R. et al. (2005). Staphylococcus aureus Native Valve Infective Endocarditis: Report of 566 Episodes from the International Collaboration on Endocarditis Merged Database. *Clinical Infectious Diseases*, *41*(4), 507-514.
- Moellering, R. C., Jr. (2012). MRSA: the first half century. *J Antimicrob Chemother*, *67*(1), 4-11.
- Moellering, R. C., Jr., Abbott, G. F. & Ferraro, M. J. (2011). Case records of the Massachusetts General Hospital. Case 2-2011. A 30-year-old woman with shock after treatment of a furuncle. *N Engl J Med*, *364*(3), 266-275.
- Monaco, M., Pimentel de Araujo, F., Cruciani, M., Coccia, E. M. & Pantosti, A. (2016). Worldwide Epidemiology and Antibiotic Resistance of Staphylococcus aureus. In: Bagnoli F., Rappuoli R., Grandi G. (eds) Staphylococcus aureus. Current Topics in Microbiology and Immunology, Springer, Cham. *409*, 21-56.
- Montuschi, P., Corradi, M., Ciabattoni, G., Nightingale, J., Kharitonov, S. A. & Barnes, P. J. (1999). Increased 8-isoprostane, a marker of oxidative stress, in exhaled condensate of asthma patients. *Am J Respir Crit Care Med*, *160*(1), 216-220.
- Moran, G. J., Krishnadasan, A., Gorwitz, R. J., Fosheim, G. E., McDougal, L. K., Carey, R. B. et al. (2006). Methicillin-resistant S. aureus infections among patients in the emergency department. *N Engl J Med*, *355*(7), 666-674.
- Morgan, M. (2011). Treatment of MRSA soft tissue infections: An overview. *Injury*, *42*, S11-17.
- Mozdiak, E., Wicaksono, A. N., Covington, J. A. & Arasaradnam, R. P. (2019). Colorectal cancer and adenoma screening using urinary volatile organic compound (VOC) detection: early results from a single-centre bowel screening population (UK BCSP). *Tech Coloproctol*, *23*(4), 343-351.
- Navaneethan, U., Parsi, M. A., Lourdasamy, D., Grove, D., Sanaka, M. R., Hammel, J. P. et al. (2015). Volatile Organic Compounds in Urine for Noninvasive Diagnosis of Malignant Biliary Strictures: A Pilot Study. *Dig Dis Sci*, *60*(7), 2150-2157.

- Neerincx, A. H., Geurts, B. P., van Loon, J., Tiemes, V., Jansen, J. J., Harren, F. J. et al. (2016). Detection of *Staphylococcus aureus* in cystic fibrosis patients using breath VOC profiles. *J Breath Res*, *10*(4), 046014.
- Novak, B. J., Blake, D. R., Meinardi, S., Rowland, F. S., Pontello, A., Cooper, D. M. et al. (2007). Exhaled methyl nitrate as a noninvasive marker of hyperglycemia in type 1 diabetes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *104*(40), 15613-15618.
- O'Neill, E., Pozzi, C., Houston, P., Smyth, D., Humphreys, H., Robinson, D. A. et al. (2007). Association between Methicillin Susceptibility and Biofilm Regulation in *Staphylococcus aureus* Isolates from Device-Related Infections. *Journal of Clinical Microbiology*, *45*(5), 1379-1388.
- Ogston, A. (1881). Report upon micro-organisms in surgical diseases. *BMJ*, *1*, 369–375.
- Olopade, C. O., Zakkar, M., Swedler, W. I. & Rubinstein, I. (1997). Exhaled pentane levels in acute asthma. *Chest*, *111*(4), 862-865.
- Pagonas, N., Vautz, W., Seifert, L., Slodzinski, R., Jankowski, J., Zidek, W. et al. (2012). Volatile organic compounds in uremia. *PLoS One*, *7*(9), e46258.
- Palavecino, E. L. (2014a). Clinical, epidemiologic, and laboratory aspects of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Methods Mol Biol*, *1085*, 1-24.
- Palavecino, E. L. (2014b). Rapid methods for detection of MRSA in clinical specimens. *Methods Mol Biol*, *1085*, 71-83.
- Paredi, P., Kharitonov, S. A. & Barnes, P. J. (2000). Elevation of exhaled ethane concentration in asthma. *Am J Respir Crit Care Med*, *162*(4 Pt 1), 1450-1454.
- Peltrini, R., Cordell, R., Ibrahim, W., Wilde, M., Salman, D., Singapuri, A. et al. (2020). Volatile organic compounds in a headspace sampling system and asthmatics sputum samples. *J Breath Res*.
- Phillips, M., Basa-Dalay, V., Bothamley, G., Cataneo, R. N., Lam, P. K., Natividad, M. P. et al. (2010). Breath biomarkers of active pulmonary tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)*, *90*(2), 145-151.
- Phillips, M., Cataneo, R. N., Ditkoff, B. A., Fisher, P., Greenberg, J., Gunawardena, R. et al. (2003). Volatile markers of breast cancer in the breath. *Breast J*, *9*(3), 184-191.
- Phillips, M., Sabas, M. & Greenberg, J. (1993). Increased pentane and carbon disulfide in the breath of patients with schizophrenia. *J Clin Pathol*, *46*(9), 861-864.

- Pintado, V., Pazos, R., Jiménez-Mejías, M. E., Rodríguez-Guardado, A., Díaz-Pollán, B., Cabellos, C. et al. (2018). Staphylococcus aureus meningitis in adults: A comparative cohort study of infections caused by methicillin-resistant and methicillin-susceptible strains. *Journal of Hospital Infection*.
- Probert, C., Ahmed, I., Khalid, T., Johnson, E., Smith, S. & Ratcliffe, N. (2009). Volatile Organic Compounds as Diagnostic Biomarkers in Gastrointestinal and Liver Diseases. *J Gastrointest Liver Dis*, 18(3), 337-343.
- Probert, C. S., Jones, P. R. & Ratcliffe, N. M. (2004). A novel method for rapidly diagnosing the causes of diarrhoea. *Gut*, 53(1), 58-61.
- Rabis, T., Sommerwerck, U., Anhenn, O., Darwiche, K., Freitag, L., Teschler, H. et al. (2011). Detection of infectious agents in the airways by ion mobility spectrometry of exhaled breath. *International Journal for Ion Mobility Spectrometry*, 14(4), 187-195.
- Rammelkamp, C. H. & Maxon, T. (1942). Resistance of Staphylococcus aureus to the Action of Penicillin. *Exp Biol Med (Maywood)*, 51, 386-389.
- Räßler, T. (2015). Validierung des Systems Multimarkermonitor auf der Basis eines GC-IMS für die Nutzung in der medizinischen Diagnostik als Screeningmethode. *Hochschule Mittweida*.
- Refaeilzadeh, P., Tang, L. & Liu, H. (2009). Cross-Validation. *Encyclopedia of Database Systems*, 532-538.
- Reischl, U., Linde, H. J., Metz, M., Leppmeier, B. & Lehn, N. (2000). Rapid identification of methicillin-resistant Staphylococcus aureus and simultaneous species confirmation using real-time fluorescence PCR. *J Clin Microbiol*, 38(6), 2429-2433.
- Rieg, S. & Kern, W. (2011). Die nosokomiale Staphylococcus aureus-Bakteriämie. *Krankenhaushygiene up2date*, 6(04), 261-274.
- Robert Koch-Institut (2004). [Responsibilities of public health in cleaning and disinfection of surfaces. Recommendation by the Committee of Hospital Hygiene and Infection Control by the Robert Koch Institute]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, 47(1), 51-61.

- Robert Koch-Institut (2007). Anforderung der Krankenhaushygiene und des Arbeitsschutzes an die Hygienebekleidung und persönliche Schutz-ausrüstung. *Epid Bull.*
- Robert Koch-Institut (2012). [Hygiene requirements for the reprocessing of medical devices. Recommendation of the Commission for Hospital Hygiene and Infection Prevention (KRINKO) at the Robert Koch Institute (RKI) and the Federal Institute for Drugs and Medical Devices (BfArM)]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, 55(10), 1244-1310.
- Robert Koch-Institut (2013). [Surveillance of nosocomial infections as well as the detection of pathogens with special resistance and multi-resistance]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, 56(4), 580-583.
- Robert Koch-Institut (2014). Empfehlungen zur Prävention und Kontrolle von Methicillin-resistenten Staphylococcus aureus-Stämmen (MRSA) in medizinischen und pflegerischen Einrichtungen. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz*, 57(6), 695-732.
- Robert Koch-Institut (2016a). Händehygiene in Einrichtungen des Gesundheitswesens. Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut (RKI). *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, 59(9), 1189-1220.
- Robert Koch-Institut (2016b). Staphylokokken-Erkrankungen, insbesondere Infektionen durch MRSA. *RKI-Ratgeber*. URL: [https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber\\_Staphylokokken\\_MRSA.html](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Staphylokokken_MRSA.html), abgerufen am 23.08.2021.
- Robicsek, A., Beaumont, J. L., Paule, S. M., Hacek, D. M., Thomson Jr, R. B., Kaul, K. L. et al. (2008). Universal surveillance for methicillin-resistant Staphylococcus aureus in 3 affiliated hospitals. *Ann Intern Med.*, 148(6), 409-418.
- Robotham, J. V., Deeny, S. R., Fuller, C., Hopkins, S., Cookson, B. & Stone, S. (2016). Cost-effectiveness of national mandatory screening of all admissions to English National Health Service hospitals for methicillin-resistant Staphylococcus aureus:

- a mathematical modelling study. *The Lancet Infectious Diseases*, 16(3), 348-356.
- Rocha, S., Ferreira, M. E., Serra, J. E. & Saraiva da Cunha, J. (2015). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Meningitis and Endocarditis After a Shrimp Skin Lesion. An Unusual Case Report. *Infect Dis Clin Pract*, 23(3), 161-163.
- Roine, A., Saviak, T., Kumpulainen, P., Karjalainen, M., Tuokko, A., Aittoniemi, J. et al. (2014). Rapid and accurate detection of urinary pathogens by mobile IMS-based electronic nose: a proof-of-principle study. *PLoS One*, 9(12), e114279.
- Rolinson, G. N. (1961). "Celbenin" - resistant *Staphylococci*. *Br Med J*, 1(5219), 125-126.
- Ruszkiewicz, D. M., Sanders, D., O'Brien, R., Hempel, F., Reed, M. J., Riepe, A. C. et al. (2020). Diagnosis of COVID-19 by analysis of breath with gas chromatography-ion mobility spectrometry - a feasibility study. *EClinicalMedicine*, 29, 100609.
- Ruzsanyi, V., Baumbach, J. I., Sielemann, S., Litterst, P., Westhoff, M. & Freitag, L. (2005). Detection of human metabolites using multi-capillary columns coupled to ion mobility spectrometers. *J Chromatogr A*, 1084(1-2), 145-151.
- Sakoulas, G., Gold, H. S., Venkataraman, L., DeGirolami, P. C., Eliopoulos, G. M. & Qian, Q. (2001). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: comparison of susceptibility testing methods and analysis of *mecA*-positive susceptible strains. *J Clin Microbiol*, 39(11), 3946-3951.
- Salgado, C. D. & Farr, B. M. (2006). What proportion of hospital patients colonized with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* are identified by clinical microbiological cultures? *Infect Control Hosp Epidemiol*, 27(2), 116-121.
- Schlotthauer, U. & Schulze-Röbbecke, R. (2017). Vertikale und horizontale Präventionsstrategien. *Krankenhaushygiene up2date*, 12(04), 379-394.
- Schnabel, R. M., Boumans, M. L., Smolinska, A., Stobberingh, E. E., Kaufmann, R., Roekaerts, P. M. et al. (2015). Electronic nose analysis of exhaled breath to diagnose ventilator-associated pneumonia. *Respir Med*, 109(11), 1454-1459.
- Seifert, H., Wisplinghoff, H., Kaasch, A., Achilles, K., Langhorst, A., Peyerl-Hoffmann, G. et al. (2008). [Epidemiology, course and prognosis of *Staphylococcus aureus* bacteremia--Preliminary results from the INSTINCT (INvasive *STaphylococcus aureus* INfection CohorT) cohort]. *Dtsch Med Wochenschr*, 133(8), 340-345.

- Self, W. H., Wunderink, R. G., Williams, D. J., Zhu, Y., Anderson, E. J., Balk, R. A. et al. (2016). Staphylococcus aureus Community-acquired Pneumonia: Prevalence, Clinical Characteristics, and Outcomes. *Clin Infect Dis*, 63(3), 300-309.
- Sethi, S., Nanda, R. & Chakraborty, T. (2013). Clinical application of volatile organic compound analysis for detecting infectious diseases. *Clin Microbiol Rev*, 26(3), 462-475.
- Shirasu, M. & Touhara, K. (2011). The scent of disease: volatile organic compounds of the human body related to disease and disorder. *J Biochem*, 150(3), 257-266.
- Shykhon, M. E., Morgan, D. W., Dutta, R., Hines, E. L. & Gardner, J. W. (2004). Clinical evaluation of the electronic nose in the diagnosis of ear, nose and throat infection: a preliminary study. *J Laryngol Otol*, 118(9), 706-709.
- Siegel, J. D., Rhinehart, E., Jackson, M., Chiarello, L. & Healthcare Infection Control Practices Advisory, C. (2007). Management of multidrug-resistant organisms in health care settings, 2006. *Am J Infect Control*, 35(10 Suppl 2), S165-193.
- Sievert, D. M., Ricks, P., Edwards, J. R., Schneider, A., Patel, J., Srinivasan, A. et al. (2013). Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009-2010. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 34(1), 1-14.
- Smiths Detection - Pasadena, I. (2004a). The Cyranose 320 ENose - User's Manual. *Part Number 11-60001, Edition 5, Revision F*, 2-10.
- Smiths Detection - Pasadena, I. (2004b). The Cyranose 320 ENose - User's Manual. *Part Number 11-60001, Edition 5, Revision F*.
- Sohail, M. R., Palraj, B. R., Khalid, S., Uslan, D. Z., Al-Saffar, F., Friedman, P. A. et al. (2015). Predicting risk of endovascular device infection in patients with Staphylococcus aureus bacteremia (PREDICT-SAB). *Circ Arrhythm Electrophysiol*, 8(1), 137-144.
- Stefani, S., Chung, D. R., Lindsay, J. A., Friedrich, A. W., Kearns, A. M., Westh, H. et al. (2012). Meticillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA): global epidemiology and harmonisation of typing methods. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 39(4), 273-282.

- Steppert, I., Schonfelder, J., Schultz, C. & Kuhlmeier, D. (2021). Rapid in vitro differentiation of bacteria by ion mobility spectrometry. *Appl Microbiol Biotechnol*, 105(10), 4297-4307.
- Stone, S. P., Fuller, C., Savage, J., Cookson, B., Hayward, A., Cooper, B. et al. (2012). Evaluation of the national Cleanyourhands campaign to reduce *Staphylococcus aureus* bacteraemia and *Clostridium difficile* infection in hospitals in England and Wales by improved hand hygiene: four year, prospective, ecological, interrupted time series study. *BMJ*, 344, e3005.
- Storer, M. K., Hibbard-Melles, K., Davis, B. & Scotter, J. (2011). Detection of volatile compounds produced by microbial growth in urine by selected ion flow tube mass spectrometry (SIFT-MS). *J Microbiol Methods*, 87(1), 111-113.
- Thaler, E. R. & Hanson, C. W. (2005). Medical applications of electronic nose technology. *Expert Rev Med Devices*, 2(5), 559-566.
- Thaler, E. R. & Hanson, C. W. (2018). Use of an Electronic Nose to Diagnose Bacterial Sinusitis. *American Journal of Rhinology*, 20(2), 170-172.
- Tong, S. Y., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L. & Fowler, V. G., Jr. (2015). *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clin Microbiol Rev*, 28(3), 603-661.
- Tsiodras, S., Gold, H. S., Sakoulas, G., Eliopoulos, G. M., Wennersten, C., Venkataraman, L. et al. (2001). Linezolid resistance in a clinical isolate of *Staphylococcus aureus*. *The Lancet*, 358, 207-208.
- Tubbicke, A., Hubner, C., Hubner, N. O., Wegner, C., Kramer, A. & Flessa, S. (2012a). Cost comparison of MRSA screening and management - a decision tree analysis. *BMC Health Serv Res*, 12, 438.
- Tubbicke, A., Hubner, C., Kramer, A., Hubner, N. O. & Flessa, S. (2012b). Transmission rates, screening methods and costs of MRSA--a systematic literature review related to the prevalence in Germany. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 31(10), 2497-2511.
- Umber, B. J., Shin, H. W., Meinardi, S., Leu, S. Y., Zaldivar, F., Cooper, D. M. et al. (2013). Gas signatures from *Escherichia coli* and *Escherichia coli*-inoculated human whole blood. *Clin Transl Med*, 2, 13.

- van Belkum, A., Verkaik, N. J., de Vogel, C. P., Boelens, H. A., Verveer, J., Nouwen, J. L. et al. (2009). Reclassification of *Staphylococcus aureus* nasal carriage types. *J Infect Dis*, *199*(12), 1820-1826.
- Van den Velde, S., Nevens, F., Van Hee, P., van Steenberghe, D. & Quirynen, M. (2008). GC-MS analysis of breath odor compounds in liver patients. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, *875*(2), 344-348.
- van Hal, S. J., Jensen, S. O., Vaska, V. L., Espedido, B. A., Paterson, D. L. & Gosbell, I. B. (2012). Predictors of mortality in *Staphylococcus aureus* Bacteremia. *Clin Microbiol Rev*, *25*(2), 362-386.
- Vanhommerig, E., Moons, P., Pirici, D., Lammens, C., Hernalsteens, J. P., De Greve, H. et al. (2014). Comparison of biofilm formation between major clonal lineages of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *PLoS One*, *9*(8), e104561.
- Vernia, F., Valvano, M., Fabiani, S., Stefanelli, G., Longo, S., Viscido, A. et al. (2021). Are Volatile Organic Compounds Accurate Markers in the Assessment of Colorectal Cancer and Inflammatory Bowel Diseases? A Review. *Cancers (Basel)*, *13*(10).
- Veselova, M. A., Plyuta, V. A. & Khmel, I. A. (2019). Volatile Compounds of Bacterial Origin: Structure, Biosynthesis, and Biological Activity. *Microbiology*, *88*(3), 261-274.
- Vogel, M., Schmitz, R. P., Hagel, S., Pletz, M. W., Gagelmann, N., Scherag, A. et al. (2016). Infectious disease consultation for *Staphylococcus aureus* bacteremia - A systematic review and meta-analysis. *J Infect*, *72*(1), 19-28.
- von Eiff, C., Becker, K., Machka, K., Stammer, H. & Peters, G. (2001). Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. Study Group. *N Engl J Med*, *344*(1), 11-16.
- Wagener, J. & Seybold, U. (2014). [MRSA - hygiene management, diagnostics and treatment]. *Dtsch Med Wochenschr*, *139*(13), 643-651.
- Warren, D. K., Liao, R. S., Merz, L. R., Eveland, M. & Dunne, W. M., Jr. (2004). Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* directly from nasal swab specimens by a real-time PCR assay. *J Clin Microbiol*, *42*(12), 5578-5581.
- Weißgerber, P. (2013). Mikrobiologische Diagnostik und Infektiologie. *Repetitorium Krankenhaushygiene und hygienebeauftragter Arzt.*, 145-182.

- Wen, Q., Boshier, P., Myridakis, A., Belluomo, I. & Hanna, G. B. (2020). Urinary Volatile Organic Compound Analysis for the Diagnosis of Cancer: A Systematic Literature Review and Quality Assessment. *Metabolites*, 11(1).
- Wertheim, H. F., Vos, M. C., Ott, A., van Belkum, A., Voss, A., Kluytmans, J. A. et al. (2004). Risk and outcome of nosocomial *Staphylococcus aureus* bacteraemia in nasal carriers versus non-carriers. *The Lancet*, 364(9435), 703-705.
- Wertheim, H. F. L., Melles, D. C., Vos, M. C., van Leeuwen, W., van Belkum, A., Verbrugh, H. A. et al. (2005). The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *The Lancet Infectious Diseases*, 5(12), 751-762.
- Westhoff, M., Litterst, P., Freitag, L. & Baumbach, J. I. (2007). Ion mobility spectrometry in the diagnosis of sarcoidosis: results of a feasibility study. *J Physiol Pharmacol*, 58 Suppl 5(Pt 2), 739-751.
- Westhoff, M., Litterst, P., Freitag, L., Ruzsanyi, V., Bader, S., Urfer, W. et al. (2005). Ion Mobility Spectrometry: A New Method for the Detection of Lung Cancer and Airway Infection in Exhaled Air? First Results of a Pilot Study. *Chest*, 128(4).
- Wilkens, W. F. & Hartman, J. D. (1964). An Electronic Analog for the Olfactory Processes. *Ann N Y Acad Sci*, 116, 608-612.
- Xue, R., Dong, L., Zhang, S., Deng, C., Liu, T., Wang, J. et al. (2008). Investigation of volatile biomarkers in liver cancer blood using solid-phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 22(8), 1181-1186.
- Yaw, L. K., Robinson, J. O. & Ho, K. M. (2014). A comparison of long-term outcomes after methicillin-resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* bacteraemia: an observational cohort study. *The Lancet Infectious Diseases*, 14(10), 967-975.
- Zang, X., Perez, J. J., Jones, C. M., Monge, M. E., McCarty, N. A., Stecenko, A. A. et al. (2017). Comparison of Ambient and Atmospheric Pressure Ion Sources for Cystic Fibrosis Exhaled Breath Condensate Ion Mobility-Mass Spectrometry Metabolomics. *J Am Soc Mass Spectrom*, 28(8), 1489-1496.

## 7. Abkürzungsverzeichnis

§	Paragraph
%	Prozent
°C	Grad Celsius
1/ K <sub>0</sub>	inverse Ionenmobilität
β	beta
μm	Mikrometer
μs	Mikrosekunde
A	Ampere
<i>A. baumannii</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
Abb.	Abbildung
Abs.	Absatz
AWMF	Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V.
BHI	Brain Heart Infusion Broth
bspw.	beispielsweise
bzw.	beziehungsweise
CA-MRSA	<i>Community-associated</i> MRSA
ca.	circa
CIED	<i>cardiovascular implantable electronic device</i>
cm	Centimeter
COPD	<i>chronic obstructive pulmonary disease</i>
CVV	<i>cross validation value</i> , Kreuzvalidierungswert
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
GC-IMS	Gaschromatographie-IMS
GC-MS	Gaschromatographie-Massenspektrometrie
GC-MS	Gaschromatographie-Massenspektrometer
ggf.	gegebenenfalls

HA-MRSA	<i>Hospital- bzw. healthcare-associated/-acquired MRSA</i>
HCA-MRSA	<i>hospital associated community onset MRSA</i>
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
HNO	Hals-, Nasen-, Ohren-Heilkunde
HWI	Harnwegsinfektion
Hz	Hertz
IE	infektiöse Endokarditis
IfSG	Infektionsschutzgesetz
IMS	Ionenmobilitätsspektrometer
iv.	intravenös
Kap.	Kapitel
KBE	Koloniebildende Einheit
kg	Kilogramm
KI	Konfidenzintervall
KISS	Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System
kPa	Kilopascal
KRINKO	Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention
kV	Kilovolt
l	Liter
LA-MRSA	<i>livestock-associated MRSA</i>
LDA	lineare Diskrimanzanalyse
LRSA	Linezolid-resistenter <i>S. aureus</i>
max.	maximal
MBq	Megabecquerel
MCC-IMS	Multikapillarsäulen-IMS
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MRSA	Methicillin-resistenter <i>S. aureus</i>

ms	Millisekunde
MSSA	Methicillin-sensibler <i>S. aureus</i>
ng	Nanogramm
Ni	Nickel
NiMH	Nickel-Metallhydrid-Akkumulator
Nr.	Nummer
NRZ	Nationales Referenzzentrum
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
p. o.	per os
PBP2a	Penicillibindeprotein 2a
PCR	Polymerasekettenreaktion
PEG	Paul-Ehrlich-Gesellschaft
pg	Pikogramm
ppm <sub>v</sub>	<i>parts per million by volume</i>
ppt <sub>v</sub>	<i>parts per trillion by volume</i>
PRSA	Penicillin-resistenter <i>S. aureus</i>
PVL	Panton-Valentine-Leukozidin
RIP	<i>reactant ion peak</i>
RKI	Robert Koch-Institut
RT	<i>retention time</i> , deutsch: Retentionszeit
s	Sekunde
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
SAB	<i>S. aureus</i> -Bakteriämie
SCCmec	<i>staphylococcal cassette chromosome mec</i>
spp.	Spezies
Tab.	Tabelle
TSS	<i>Toxic Shock Syndrome</i>

u. a.	unter anderem
V	Volt
VISA	Vancomycin-intermediär resistenter <i>S. aureus</i>
VOC	<i>volatile organic compounds</i>
VRSA	Vancomycin-resistenter <i>S. aureus</i>
Vs	Voltsekunde
vs.	versus
W	Watt
z. B.	zum Beispiel

## 8. Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Ko-Resistenzen von MRSA-Isolaten stationärer Patienten von 2012 – 2016 .....	4
Tab. 2: Risikopopulationen für eine MRSA-Kolonisation und Risikofaktoren für eine Infektion durch MRSA .....	10
Tab. 3: Empfohlener Einsatz und Limitationen ausgewählter Antibiotika für die MRSA-Therapie .....	28
Tab. 4: Signifikante Peaks in der Gegenüberstellung von MRSA und BHI .....	61
Tab. 5: Signifikante Peaks in der Gegenüberstellung von MSSA und BHI .....	68
Tab. 6: Signifikante Peaks in der Gegenüberstellung von MRSA und MSSA .....	73
Tab. 7: Zuordnung der signifikanten Peaks zu chemischen Substanzen nach Abgleich mit der Datenbank der B & S Analytik GmbH .....	74
Tab. 8: Konfusionsmatrix zur Differenzierung der Gruppen MRSA vs. BHI .....	83
Tab. 9: Konfusionsmatrix zur Differenzierung der Gruppen MSSA vs. BHI .....	84
Tab. 10: Konfusionsmatrix zur Differenzierung der Gruppen MSSA vs. BHI .....	85
Tab. 11: Konfusionsmatrix zur Differenzierung der Gruppen MRSA vs. BHI .....	86
Tab. 12: Konfusionsmatrix zur Differenzierung der Gruppen MSSA vs. BHI .....	88
Tab. 13: Konfusionsmatrix zur Differenzierung der Gruppen MRSA vs. MSSA .....	89
Tab. 14: Statistische Parameter zur Differenzierung der einzelnen Gruppen mittels Cyranose 320 .....	90

## 9. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Zeitachse zur Einführung grundlegender Antibiotika und darauffolgender Resistenzentwicklungen von <i>S. aureus</i> .....	3
Abb. 2: Zunahme der Prävalenz penicillinaseproduzierender, methicillinsensibler <i>S. aureus</i> -Isolate zwischen den 1940er und 1970er Jahren in Krankenhäusern und der Allgemeinbevölkerung .....	5
Abb. 3: Verhältnis von HA-MRSA in Bezug zu allen <i>S. aureus</i> -Isolaten im Rahmen von Resistenzstudien der PEG .....	6
Abb. 4: MRSA-Prävalenz in Europa im zeitlichen Verlauf von 2001 – 2016 .....	7
Abb. 5: Sinkende MRSA-Prävalenz im europäischen Mittelwert und in Deutschland ....	8
Abb. 6: Globale MRSA-Prävalenz mit Daten aus dem Center for Disease Dynamics, Economics & Policy .....	9
Abb. 7: Von <i>S. aureus</i> verursachte Krankheitsbilder .....	11
Abb. 8: MRSA-Anteile an nosokomial erworbenen Infektionen im zeitlichen Verlauf von 2007 – 2012 in Deutschland .....	16
Abb. 9: MRSA-Prävalenz bei Aufnahme im Zusammenhang mit der Anzahl der Nasenabstriche pro 100 Patientenaufnahmen sowie der Inzidenz nosokomial erworbener MRSA-Besiedlung von 2006 – 2016 .....	19
Abb. 10: Zeitlicher Ablauf verschiedener Methoden zum MRSA-Nachweis .....	23
Abb. 11: Schematische Darstellung eines IMS .....	32
Abb. 12: Cyranose 320 .....	34
Abb. 13: Wirkprinzip der elektronischen Nase Cyranose 320 .....	35
Abb. 14: Umwandlung der elektronischen Signale in ein „Geruchsmuster“ .....	36
Abb. 15: Versuchsaufbau MCC-IMS .....	44
Abb. 16: Arbeitsfläche Versuchsaufbau MCC-IMS .....	45
Abb. 17: Schematischer Versuchsaufbau MCC-IMS .....	46
Abb. 18: Heatmap des gesamten Chromatogramms mit vier einzeln ausgewählten Peaks und Darstellung der einzelnen Spektren in sowie der Retentionszeit .....	50
Abb. 19: Dreidimensionale Darstellung eines manuell gewählten Ausschnitts des Fensters d aus Abb. 18 .....	50
Abb. 20: Cyranose 320 kopfüber im Stativ .....	53
Abb. 21: Versuchsaufbau Cyranose .....	55
Abb. 22: Schematischer Messaufbau sowie Spül- und Messzyklus der Cyranose 320 .....	57

Abb. 23: Box-Whisker-Plot des Peaks N54 .....	62
Abb. 24: Box-Whisker-Plot des Peaks N55 .....	63
Abb. 25: Box-Whisker-Plot des Peaks N20 .....	64
Abb. 26: Heatmap des Peaks N55 .....	65
Abb. 27: Heatmap des Peaks N20 .....	66
Abb. 28: Box-Whisker-Plot des Peaks N5 .....	69
Abb. 29: Box-Whisker-Plot des Peaks N16 .....	70
Abb. 30: Box-Whisker-Plot des Peaks N20 .....	71
Abb. 31: Box-Whisker-Plot des Peaks N49 .....	72
Abb. 32: Gegenüberstellung der Box-Whisker-Plots der Peaks N5 und N55 .....	76
Abb. 33: Gegenüberstellung der Heatmaps der Peaks N5 und N55 .....	77
Abb. 34: Gegenüberstellung der Box-Whisker-Plots der Peaks N54 und N56 .....	79
Abb. 35: Gegenüberstellung der Heatmaps der Peaks N54 und N56 .....	80
Abb. 36: Entscheidungsbaum zur Differenzierung der Gruppen MRSA vs. MSSA vs. BHI .....	81
Abb. 37: Gegenüberstellung der Heatmaps der Peaks N5 und N54 .....	82
Abb. 38: Entscheidungsbaum zur Differenzierung der Gruppen MRSA vs. BHI .....	83
Abb. 39: Entscheidungsbaum zur Differenzierung der Gruppen MSSA vs. BHI .....	84
Abb. 40: Entscheidungsbaum zur Differenzierung der Gruppen MRSA vs. MSSA .....	85
Abb. 41: Lineare Diskriminanzanalyse zur Differenzierung der Gruppen MRSA vs. BHI .....	87
Abb. 42: Lineare Diskriminanzanalyse zur Differenzierung der Gruppen MSSA vs. BHI .....	88
Abb. 43: Lineare Diskriminanzanalyse zur Differenzierung der Gruppen MRSA vs. MSSA .....	89
Abb. 44: Lineare Diskriminanzanalyse zur Differenzierung der Gruppen MRSA vs. MSSA vs. BHI .....	90

## 10. Verzeichnis der akademischen Lehrer

Meine akademischen Lehrer an der Universität Pécs waren die Damen und Herren:

Ábrahám, Agócs, Balogh, Bán, Bátor, Benderné Gáspár, Berente, Béres, Berki, Berta, Birkás, Bódis, Bogár, Bognár, Boldizsár, Borbasné Farkas, Brubel, Bukovecz, Buzás, Buzásné Telkes, Csermely, Csernus, Csikós, Csontos, Czakó, Czeiter, Dányádi, Decsi, Donauer, Engelmann, Ezer, Fábíán, Faluhelyi, Fogarasi-Nuber, Fónai, Futó, Gálné Farkas, Gálosi, Gaszner, Gőcze, Gulyás, Hadzsiev, Halmai, Hantó, Heim, Hollósy, Homlok, Horváth, Horváth-Opper, Horváth-Sarródi, Huber, Huberné Barkó, Juhász, Kállai, Karádi, Kellermayer, Kengyel, Kerekes, Kériné Józsa, Kiss I., Kiss P., Kiss T. , Komlósi, Kónigné Péter, Koppán, Környei, Kovács M., Kövdesi, Leipoldné Vig, Lengyel, Lipcisk, Loránd, Lóránd, Lőrinczy, Lukács, Magyarai, Marquettené Bock, Matus, Mazák, Meleg, Mess, Mikó, Molnár, Nagy A., Nagy L., Nagy Z., Némethné Tóth, Ohmacht, Oláh, Opper, Öri, Palkovics, Patzainé Gőcze, Pethőné Lubics, Petykó, Pótó, Ráczné Mikó-Baráth, Radnai, Reglódi, Rékási, Rinfel, Rugási, Rúzsás, Schipp, Schmidt, Sétáló, Somogyi, Stayer-Harci, Szabó, Szántó, Szapáry, Szelényi, Szelestei, Szepesné Mühl, Takátsy, Talián, Tapodi, Térczely, Than, Tiringner, Toller, Tóth, Varga, Várnai, Vértes, Viségrady, Wittmann, Zalán.

Meine akademischen Lehrer an der Semmelweis-Universität Budapest waren die Damen und Herren:

Ágh, Alasztics, Alföldy, Andrikovics, Antal, Bakó, Balázs-Héjja, Banga, Bánhegyi, Barabás, Baróti-Tóth, Becker, Bérczi, Bereczki, Berencsi, Berényi, Béres-Mólnar, Betti, Birkás, Bognár, Borka, Buzás, Cserháti, Csóka, Dani, Dobay, Entz, Fancsovits, Farkas, Ferdinandy, Fullajtár, Gaál-Weisinger, Gál, Gasparics, Gazdag, Glasz, Göbl, Görbe, Gudenus, Hadarits, Hamar, Hangody, Harrach, Hartyánszky, Hauser, Hermann, Hidi, Hirczi, Holló, Horváth, Hruby, Igaz, Iványi, Jakabfi, Jaksch, Joó, Juhárosi, Juhász, Kalabay, Kalász, Kállai, Kanizsai, Kapui, Kárpáti, Kató, Kellermayer, Kerényi, Keszthelyi, Király, Kiss A., Kocsik B., Kocsik P., Kökény, Köles, Kopa, Kotányi, Kóthy, Kovács G., Kovács S., Kováts, Kriston, Kriván, Lászik, Machay, Magyar, Majoros, Maneschg, Márton, Máté-Horváth, Máthé, Merkely, Mihály, Mócsai, Molnár, Mózes, Müller, Nagy S., Nagy Z., Nemes, Nyirády, Okruch, Ostorházi, Osztheimer, Pap, Perlaky, Polgári, Polony, Rácz, Reis, Resch, Réthelyi, Réti, Rigó, Romics, Rurik, Saftics, Sággy, Sallai, Sárdy, Sas, Sinkó, Sipos, Sóttonyi, Stercz, Szabó A., Szabó D., Szabó G., Szabó-Taylor, Szarka, Szatmári, Szebik, Székely, Szélvári, Szendrői, Szentmáry, Szepessy,

Szóke, Takács I., Takács M., Takáts, Tamás, Tassy, Tímár, Tordai, Toronyi, Tóth, Tövisházi, Tringer, Túry, Urbancsek, Vajna, Vámos, Vásárhelyi, Vasas, Vass, Vincze, Wéber, Zilcz.

## 11. Danksagung

Mein Dank gilt meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. med. Rainer Hofmann, der mir die Themenauswahl und die Durchführung der Forschungsarbeit an der Klinik für Urologie und Kinderurologie des Universitätsklinikums Marburg ermöglicht hat. Außerdem bin ich ihm für die abschließende Beurteilung und Betreuung der Arbeit über seinen Ruhestand hinaus außerordentlich dankbar.

Zudem bin ich meinem Betreuer, Herrn Dr. med. Hendrik Heers, für das stetige Engagement während des gesamten Entstehungsprozesses dieser Arbeit und für die immer verfügbare Hilfestellung bei Hindernissen jeder Art zu tiefstem Dank verpflichtet.

Die Gewinnung und Analyse der Daten des MCC-IMS wäre ohne die Mitarbeit von Herrn Prof. Dr. rer. nat. habil. Jörg Ingo Baumbach und Frau Dr. rer. nat. Sybelle Goedicke-Fritz nicht denkbar gewesen. Ihnen beiden – und insbesondere Frau Dr. rer. nat. Sybelle Goedicke-Fritz – möchte ich für die immerwährende Hilfsbereitschaft während der Messungen und der Datenanalyse meinen tiefsten Dank aussprechen.

Ferner möchte ich mich bei Herrn Dr. med. Dr. phil. Tobias Bösel für die Unterstützung in Hinblick auf den Messaufbau und die Auswertung der Daten der Cyranose 320 bedanken.

Außerdem bedanke ich mich bei allen MitarbeiterInnen des schlafmedizinischen Labors der Klinik für Pneumologie und des Instituts für Mikrobiologie und Krankenhaushygiene für das Zurverfügungstellen der Räumlichkeiten für die Messungen. Insbesondere möchte ich mich bei Frau Ursula Boas und Frau Joana Bartosch bedanken, welche sämtliche während der Messungen auftretenden Fragen stets beantworten konnten.