

# UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

I. Medizinische Klinik und Poliklinik

Klinikdirektoren

**Prof. Dr. Ansgar W. Lohse | Prof. Dr. Samuel Huber**

## **Über das Risiko einer Kolonisation mit Methicillin-resistentem *Staphylococcus aureus* bei Auslandsreisenden**

### **Dissertation**

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Dai Ton Tran  
aus Cloppenburg

Hamburg 2021

**Angenommen von der  
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 08.02.2023**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

**Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. Holger Rohde**

**Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: Prof. Dr. Marylyn Addo**

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung.....</b>	<b>5</b>
1.1	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	5
1.1.1	Morphologie und Geschichte .....	5
1.1.2	Verbreitung und Epidemiologie .....	6
1.1.3	Virulenz- und Pathogenitätsfaktoren von besonderem Interesse .....	6
1.2	Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA).....	8
1.2.1	$\beta$ -Lactam-Antibiotika und <i>Staphylococcus aureus</i> .....	8
1.2.2	Pathogenese der Methicillin-Resistenz .....	9
1.2.3	Epidemiologische Einteilung von MRSA .....	10
1.2.4	Relevanz von MRSA .....	12
1.3	Reisen und Verbreitung von MRSA.....	12
1.4	Zielsetzung der Studie .....	13
<b>2</b>	<b>Material und Methoden .....</b>	<b>14</b>
2.1	Übersicht des Studiendesign .....	14
2.2	Rekrutierungsmethodik .....	14
2.2.1	Fragebögen.....	14
2.2.2	Datenschutz & Ethikkommission.....	15
2.3	Probengewinnung und -prozedere.....	15
2.4	Verwendete Nährmedien und Plattenguss.....	17
2.4.1	Nährmedien.....	17
2.4.2	Plattenguss .....	18
2.5	Inokulation von Platten .....	20
2.6	Inkubation.....	21
2.7	Haltung der <i>Staphylococcus aureus</i> Referenzisolate .....	21
2.8	VITEK-2-compact Analyse.....	22
2.9	Gramfärbung mit Methanolfixierung .....	24
2.10	Lagerung in Flüssigstickstoff .....	24
2.11	Weiterführende mikrobiologische Diagnostik .....	25
2.12	Materialliste.....	26
2.12.1	Material .....	26
2.12.2	Software .....	27
<b>3</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>28</b>
3.1	Wichtigste Daten aus den Fragebögen der Studienteilnehmer.....	29
3.2	Mikrobiologische Ergebnisse .....	34
3.2.1	MRSA-Befund .....	34
3.2.2	Nebenbefunde .....	34
<b>4</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>36</b>
4.1	Daten aus den Fragebögen .....	36
4.2	Methoden.....	37
4.3	Mikrobiologische Ergebnisse .....	38
4.4	Limitationen .....	42
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung &amp; Summary .....</b>	<b>43</b>

## Inhaltsverzeichnis

---

5.1 Zusammenfassung .....	43
5.2 Summary .....	43
<b>6 Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>44</b>
<b>7 Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>45</b>
<b>8 Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>45</b>
<b>9 Literaturverzeichnis .....</b>	<b>46</b>
<b>10 Anhang.....</b>	<b>58</b>
10.1 Reiseländer .....	58
10.2 Isolierte Bakterien .....	60
10.3 VITEK-2 Identifikationskarten Nachweisspektrum.....	61
10.3.1 VITEK-2 GN ID 21341 .....	61
10.3.2 VITEK-2 GP ID 21342 .....	63
10.4 Fragebögen .....	65
10.4.1 Fragebogen 1.....	65
10.4.2 Fragebogen 2.....	68
10.4.3 Fragebogen 3.....	70
10.5 Aufklärungsbogen .....	71
10.6 Veröffentlichungshinweis .....	77
<b>11 Danksagung.....</b>	<b>77</b>
<b>12 Lebenslauf .....</b>	<b>78</b>
<b>13 Eidesstattliche Versicherung .....</b>	<b>79</b>

# 1 Einleitung

## 1.1 *Staphylococcus aureus*

### 1.1.1 Morphologie und Geschichte

*Staphylococcus aureus* ist ein grampositives, nicht-motiles und nicht-sporenbildendes Bakterium und gehört zur Gattung der Staphylokokken. *Staphylococcus aureus* besitzt unter dem Lichtmikroskop betrachtet eine rundliche Morphologie mit einem Durchmesser von 0,5–1,0 µm und neigt zu einer Haufenbildung, die an Trauben erinnern und Inspiration für die Namensgebung der Gattung nach dem Erstbeschreiber Ogston war (griechisch staphyle: „Traube“) (1–3). *Staphylococcus aureus* besitzt, wie für ein grampositives Bakterium typisch, eine Zellwand, die hauptsächlich aus Peptidoglykanen besteht und 60–80 nm dick ist (2–4). *Staphylococcus aureus* ist ein fakultativer Anaerobier mit Präferenz für aerobe Bedingungen und gehört zu den Koagulase bildenden Staphylokokken (2, 3). *Staphylococcus aureus* teilt sich in zwei Unterarten auf *Staphylococcus aureus* subsp. *anaerobius* und *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* auf (2, 3). *Staphylococcus aureus* subsp. *anaerobius* wurde erstmalig 1985 bei Schafen aus einer Abszessprobe nachgewiesen (5). Beim Menschen stellt nur *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* die klinisch relevante Unterart dar (3). Nur ein einzelner Fallbericht einer mutmaßlichen *Staphylococcus aureus* subsp. *anaerobius* Infektion beim Menschen ist bislang in der Literatur publiziert worden (6).

Bei Kultur auf Blutagar zeigt sich typischerweise eine erhabene, glatt-berandete Kolonie mit β-Hämolyse-Höfen und zusätzlich leicht gelblicher bis orangener Farbe (2, 3), die namensgebend für die Spezies war (lateinisch aureus: „golden“) (2, 7). Die optimale Wachstumstemperatur für *Staphylococcus aureus* beträgt 30–37°C. Ein Wachstum ist jedoch im Temperaturbereich von 10–45°C ebenfalls möglich (2). Ebenso ist *Staphylococcus aureus* in der Lage höhere Salzkonzentration von 6,5% Kochsalz zu tolerieren, in einigen Fällen sogar bis zu 20% (3, 8). Auch längere Perioden von Trockenheit widersteht *Staphylococcus aureus* (9). Bei einer Inkubation bei 34–37°C für 24 Stunden ist mit einer ungefähren Koloniegröße von 1–3 mm zu rechnen (3). *Staphylococcus-aureus*-Varianten ohne Pigmentbildung oder ohne Hämolyse sind beschrieben. Aufgrund ihrer häufig kleinen Koloniegröße bei entsprechender Inkubationsdauer werden diese Varianten auch „small-colony variants“ genannt (SCVs) (3).

*Staphylococcus aureus* ist ein der Menschheit schon länger bekanntes Bakterium. Zum ersten Mal beschrieben wurde *Staphylococcus aureus* im Jahre 1884 von Friedrich Julius Rosenbach, der das Bakterium aus Abszesseiter anzüchtete (7, 10, 11). Rosenbach selbst hatte das Bakterium damals parallel als *Staphylococcus pyogenes aureus* und *Staphylococcus aureus* betitelt (7). 1958 wurde eine Benennung zugunsten von *Staphylococcus aureus* vorgenommen (12) und 1980 von dem International Committee on Systematic Bacteriology (ICSB, heute International Committee on Systematics of Prokaryotes (ICSP)) erneut bestätigt (10). Es gibt unterschiedliche Wege die Verwandtschaftsverhältnisse von *Staphylococcus-aureus*-Isolaten molekularbiologisch zu beschreiben. Eine heute weit verbreitete Methode ist das Multilocus-Sequence-Typing (MLST). Beim MLST werden sieben konservierte Gene sequenziert. Die Kombination an Allelen dieser sieben Gene wird einem Sequence-Type (ST) zugeordnet. Unterscheiden sich Sequence-Types in nur bis zu zwei Genen werden die untersuchten Sequence-Types einem sogenannten Clonal-Complex (CC) zugeordnet (13, 14). Weitere Methoden mit höherer Diskriminierungsschärfe sind die Pulsfeld-Gelelektrophorese (PFGE), das *spa*-Typing und die whole-genome Sequenzierung (14).

### 1.1.2 Verbreitung und Epidemiologie

*Staphylococcus aureus* besiedelt Menschen sowie andere Warmblüter (2, 3, 8, 15). Durch seine relative Robustheit kann *Staphylococcus aureus* auch im Boden, Faeces, Meerwasser oder Staub nachgewiesen werden (8, 9). Seine Umweltstabilität ermöglicht es dem Bakterium allerlei unbelebte Bereiche über Monate zu kontaminieren (16). *Staphylococcus aureus* konnte auf unbelebten Oberflächen, wie Krankenhausbettwäsche oder Sterilgutverpackungen, bis zu 38 Wochen lang nach Kontamination nachgewiesen werden (9, 17). In etwa mehr als ein Drittel der Durchschnittsbevölkerung kann eine Besiedlung mit *Staphylococcus aureus* nachgewiesen werden (18, 19). Prädilektionsstelle beim Menschen ist die Nase bzw. der vordere Nasenabschnitt, aber auch der Rachen, sowie intertriginöse Areale wie die Genital- und Leistenengegend oder die Achseln stellen in manchen Fällen Besiedlungsräume von *Staphylococcus aureus* dar (3, 20–22). Die Prävalenz schwankt je nach Erhebung und kann untersucher- und methodenabhängig sein. Kluytmans et al. beschreibt eine mittlere Besiedlung der Nase in der Durchschnittsbevölkerung mit 37,2% nach Zusammenfassung mehrerer Studien (18). In Deutschland sind ähnliche Prävalenzen von 41,0% in der Allgemeinbevölkerung erhoben worden (23). Da seit der Entdeckung von *Staphylococcus aureus* einige Jahrzehnte vergangen sind, kann ein zeitlicher Faktor der Veränderung der Besiedlungshäufigkeit der Menschen über die Jahre hinweg ebenfalls nicht ausgeschlossen werden. Ältere Studien geben dabei höhere Besiedlungsraten an (18, 21).

Als Risikofaktoren für eine Besiedlung mit *Staphylococcus aureus* werden in älteren Studien außerdem insulinabhängiger Diabetes mellitus, Hämodialyse, intravenöser Drogenkonsum oder Arbeit im Gesundheitswesen diskutiert, während neuere Studien zu einem anderen Ergebnis kommen (3). Eine reine Besiedlung mit *Staphylococcus aureus* ist per Definitionem asymptomatisch, erhöht jedoch das Risiko einer Infektion mit *Staphylococcus aureus* (21). Neben einer Besiedlung als Kommensale kann *Staphylococcus aureus* Auslöser verschiedenster Erkrankungen sein. Häufige Infektionsherde sind Haut und Weichteile, im Englischen als Skin-and-Soft-Tissue-Infection (SSTI) zusammengefasst, wie z.B. Furunkel, Abszesse oder Wundinfektionen. Auch Toxin-vermittelte Lebensmittelvergiftungen durch *Staphylococcus aureus* kommen vor. Osteomyelitiden oder Blutstrom-Infektionen sind als Komplikationen einer *Staphylococcus aureus* Infektion bekannt und beschrieben (14, 16, 24–26). Der Umstand, dass *Staphylococcus aureus* durch den Erwerb einer Resistenz gegen Methicillin resistent gegen eine ganze Klasse von Antibiotika werden kann und damit die effektiven Therapiemöglichkeiten einschränkt, verschärft lediglich die Herausforderung, die dieses Bakterium an die öffentliche Gesundheit weltweit stellt.

### 1.1.3 Virulenz- und Pathogenitätsfaktoren von besonderem Interesse

*Staphylococcus-aureus*-Stämme können eine Palette von Virulenz- und Pathogenitätsfaktoren aufweisen. Im Folgenden werden einige im Blickpunkt der Forschung stehende Virulenz- und Pathogenitätsfaktoren von *Staphylococcus aureus* beleuchtet:

#### 1.1.3.1 Panton-Valentine-Leucocidin

Panton-Valentine-Leucocidin (PVL) ist ein Toxin, das in der Lage ist die Zellmembran von Leukozyten durch Porenformation zu schädigen und dadurch zu lysieren (27). Das Toxin wurde nach seinen Entdeckern aus dem Jahre 1932 Panton und Valentine benannt (14). PVL besteht aus zwei Untereinheiten, die vom *lukSF*-Gen kodiert werden. Dieses Gene ist als Bestandteil der Prophage  $\Phi$ Sa2 im bakteriellen Chromosom von *Staphylococcus aureus* integriert und wird in die Umgebung sezerniert (27). Da das Vorkommen an PVL mit Community-associated Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA) assoziiert wird (14), sind sie nach ihrer Entdeckung

wieder eher in den Fokus der wissenschaftlichen Forschung gerückt. Die klinische Signifikanz von PVL wird dabei seit Jahren kontrovers diskutiert.

Es gab Vermutungen, dass PVL der ursächliche Virulenzfaktor für die erfolgreiche Ausbreitung von bestimmten CA-MRSA-Stämmen sein könnte, wie z.B. USA300, der dominierende CA-MRSA-Stamm in den USA (28, 29). Das Vorhandensein von PVL wurde als Ursache für die erhöhte Rate an Komplikationen wie nekrotisierende Pneumonie, tiefe Abszesse, Faszitis oder SSTIs bei CA-MRSA postuliert. Dem gegenüber stehen Beobachtungen, dass auch Methicillin-sensible-*Staphylococcus aureus*-Stämme PVL produzieren und dort keine signifikante Dominanz von PVL positiven Stämmen gesehen wurde (3, 14, 30). Auch zeigten sich Tiermodellversuche inkonklusiv, was die Rolle von PVL anbelangt (14). Die Studienlage bleibt somit aktuell uneindeutig. Die Rolle von PVL als Virulenz-Pathogenitätsfaktor wird immer noch kontrovers diskutiert und bleibt Gegenstand wissenschaftlicher Forschung (27).

### 1.1.3.2 Hämolsine

Hämolsine schädigen nicht nur Erythrozyten, wie ihr Name andeutet, je nach Hämolysin können auch eine Reihe von anderen Zellen, wie Leukozyten oder Fibroblasten, durch diese Toxine geschädigt werden (13, 31). Hämolsine teilen sich in mehrere Kategorien auf. Zu den bekannten Hämolsinen zählen  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - und  $\delta$ -Hämolysin (13, 32).  $\delta$ -Hämolysin, auch  $\delta$ -Toxin genannt, wird ebenfalls zu den Phenole-soluble-modulins (PSMs) gezählt (31–34).

Hämolsine üben ihre Wirkung auf unterschiedliche Weise aus. So formiert  $\alpha$ -Hämolysin Poren in der Zellmembran nach Bindung an den Rezeptor ADAM10.  $\beta$ -Hämolysin schädigt als Sphingomyelinase die Zellmembran der Zielzellen ohne eine solchen Porenbildung.  $\delta$ -Hämolysin bildet zwar Poren, benötigt als Phenole-soluble-modulin allerdings keinen Rezeptor (31).

### 1.1.3.3 Phenole-soluble-modulins

Phenole-soluble-modulins (PSMs) sind eine weitere Klasse an Zelltoxinen. Sie brauchen nach bisherigem Kenntnisstand keine Rezeptoren für ihre Wirkung (31). Ihr Name rekurriert auf die Methodik ihrer Entdeckung bzw. ersten Gewinnung, durch eine Phenol-Extraktion aus *Staphylococcus epidermidis* (33). Ähnlich wie die Hämolsine gibt es eine Vielfalt an PSMs, deren Benennung nicht ganz einheitlich ist. Am üblichsten ist eine Kategorisierung in Gruppen mit griechischen Buchstaben und Nummerierung (33). Sie wirken an verschiedensten pathogenen Prozessen mit, wie Biofilmauf- und -abbau oder Zellyse. Unter den PSMs zählen die  $\alpha$ -PSMs zu denen mit der stärksten lytischen Wirkung. PSMs sind unter *Staphylococcus aureus*-Stämmen weit verbreitet (32, 33). PSMs werden als weitere Schlüsselvirulenz für CA-MRSA gehandelt, da sie bei CA-MRSA im Vergleich zu HA-MRSA stärker exprimiert werden und einen Einfluss auf Hautnekrosen im Tiermodell darzustellen scheinen (13, 33, 35).

### 1.1.3.4 T-Zell-Superantigene

T-Zell-Superantigene beschreibt eine große Gruppe an Toxinen zu denen die Staphylococcal-enterotoxins (SEs), Staphylococcal-enterotoxins-like (SEls) und das Toxic-shock-syndrom-toxin-1 (TSST-1) zählen (36). Sie haben gemein, dass sie unspezifisch T-Zellen aktivieren können und in schweren Fällen einen Zytokinsturm mit folgender schwerer, systemischer Hyperinflammation, auch als Toxic-shock-syndrom bekannt, auslösen können. Pathomechanistisch binden die T-Zell-Superantigene gleichzeitig an der  $\beta$ -Domäne des T-Zell-Rezeptors und an MHCII und querverbinden beide dadurch (31, 37). Die SE wirken zudem emetogen und in einigen Fällen lösen SEs zusätzlich Diarrhö aus. Dabei sind SEs relativ säure- und hitzestabil (8, 36). Enterotoxine sind unter *Staphylococcus aureus* ein sehr weit verbreitetes Toxin. Bis zu 80% der

*Staphylococcus aureus*-Isolate sind Träger von 5–6 Staphylococcal-enterotoxin-Genen (36).

### 1.1.3.5 Exfoliative Toxine

Exfoliative Toxine greifen Desmoglein in der Haut an und führen zur Ablösung der obersten Hautschichten. Sie sind Serin-Proteasen, die gezielt Desmoglein-1 spalten, was ihre gezielte Wirkung an den obersten Hautschichten erklärt, da Desmoglein-1 fast ausschließlich dort am meisten exprimiert wird (38). Exfoliative Toxine können in schweren Fällen das „staphylococcal scalded skin syndrome“ (SSSS) auslösen (38).

### 1.1.3.6 Protein A

Protein A wird von *Staphylococcus aureus* sezerniert und bindet die Fc-Region der IgG-Antikörper. Diese werden dadurch in ihrer Arbeit gestört und *Staphylococcus aureus* entzieht sich dadurch teilweise der Immunantwort (16, 21, 39).

### 1.1.3.7 Biofilme

Biofilme werden auch von *Staphylococcus aureus* gebildet und stellen ein weiteres Problem bei der Therapie von *Staphylococcus aureus* dar (40).

## 1.2 Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* (MRSA)

### 1.2.1 $\beta$ -Lactam-Antibiotika und *Staphylococcus aureus*

Man kann nicht Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* besprechen ohne Methicillin zu erwähnen. Man kann nicht über Methicillin sprechen, ohne  $\beta$ -Lactam-Antibiotika zu erwähnen.

Um die Methicillinresistenz bei *Staphylococcus aureus* besser zu verstehen, ist ein Verständnis des Wirkmechanismus der  $\beta$ -Lactam-Antibiotika hilfreich und soll daher an dieser Stelle kurz erläutert werden.

Wie bereits angesprochen, ist *Staphylococcus aureus* ein grampositives Bakterium mit einer entsprechenden Zellwand. Diese Zellwand ist für *Staphylococcus aureus* überlebensnotwendig. Sie stabilisiert das osmotische Druckgefälle von intrazellulär nach extrazellulär und verhindert somit eine Ruptur der Zelle (41, 42). Zudem ist ihr Wachstum eine notwendige Voraussetzung der Zellteilung und damit der Fortpflanzung von *Staphylococcus aureus* (41–43). Eine entscheidende Rolle für die Zellwandsynthese spielen dabei die Penicillin-bindenden Proteine (PBP). Es handelt sich bei PBP um membranständige Enzyme (4, 41, 44), die die Verlängerung der Peptidoglykanstränge durch eine Transglykolysierungs-, als auch die Quervernetzung zweier Peptidoglykanstränge durch eine Transpeptidasereaktion katalysieren. Beide Reaktionen können einzeln oder gemeinsam je nach PBP von einem Einzelprotein geleistet werden (4, 45, 46). Ein Bakterium ist im Besitz verschiedener PBP, die im engen Zusammenspiel den Zellwandaufbau ermöglichen und koordinieren (4, 42, 45–47). Methicillin-sensibler *Staphylococcus aureus* (MSSA) ist im Besitz von vier verschiedenen PBP (4, 46, 48). Der Name der Penicillin-bindenden-Proteine ist historisch erwachsen. Es bezeichnete Proteine, die kovalent Penicillin gebunden haben. Ihre eigentliche Funktion war zunächst unklar. Später wurde ihre tragende Rolle als unter anderem Transpeptidase bei der Zellwandsynthese erkannt (45, 48, 49). Der Name für diese Enzymfamilie blieb und so werden auch Zellwandtranspeptidasen, die eine schlechte Affinität zu Penicillin haben, wie z.B. PBP2a, weiterhin Penicillin-bindendes Protein genannt, auch wenn die Affinität zu  $\beta$ -Lactam-Antibiotika gering ist (4, 45). Die PBP einer Bakterienspezies werden nach ihrem Molekulargewicht absteigend nummeriert (4, 42) und können zusätzlich nach ihrer Strukturähnlichkeit in Kategorien weiter eingeteilt werden (4, 47, 50).

Da eukaryotische Zellen keine Zellwand besitzen, diese jedoch für *Staphylococcus aureus* unverzichtbar ist, bietet sich die Zellwand und der ihr zugrunde liegende Stoffwechsel somit als ideale, pharmakologische Angriffsfläche an (42). Dieser

Strategie bedienen sich  $\beta$ -Lactam-Antibiotika, wie Penicillin, dessen Entdeckung durch Alexander Fleming 1929 publiziert wurde und welches den Prototyp der  $\beta$ -Lactam-Antibiotika darstellt (50).

$\beta$ -Lactam-Antibiotika greifen in einen essenziellen Schritt der Zellwandsynthese eines Bakteriums ein. Der  $\beta$ -Lactam-Ring ähnelt chemisch dem Substrat der Transpeptidase-Domäne der PBP. Dies ist die endständige Aminosäuresequenz des Peptidoglykanstammpeptids aus zwei Alaninpeptiden.  $\beta$ -Lactam-Antibiotika ähneln diesem D-Ala-D-Ala-Strukturmotiv (siehe Abbildung 1) und binden kovalent am katalytischen Zentrum der Transpeptidase-Domäne der Penicillin-bindenden Proteine, blockieren diese dadurch irreversibel und verhindern so die Quervernetzung von Peptidoglykansträngen in der Zellwand, die dann in ihrer Funktion gestört ist und diese nicht mehr ausüben kann (4, 41). Dabei sei jedoch anzumerken, dass nicht alle PBP eines Bakteriums gleichermaßen affin für diese Reaktion sind und daher unterschiedlich stark durch  $\beta$ -Lactam-Antibiotika gehemmt werden (4). Dieses pharmakologische Wirkprinzip von  $\beta$ -Lactam-Antibiotika wurde als Theorie als Erstes von Tipper und Strominger propagiert (51) und seit der Entdeckung des Penicillins durch Alexander Fleming Ende der 20er Jahre des 20. Jahrhunderts (52) sind viele weitere Antibiotika entwickelt worden, die auf diesem Grundgerüst aufbauen (50).

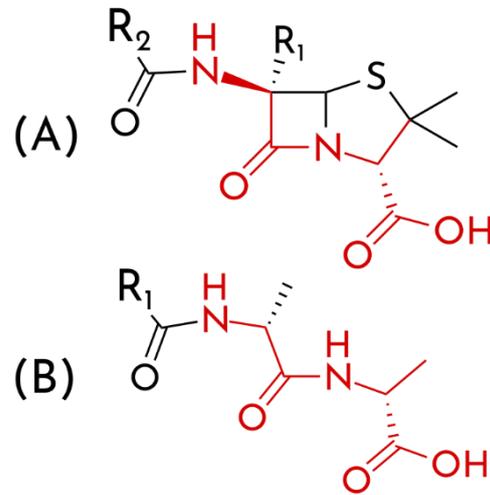


Abbildung 1; chemisches Strukturskelett des Penicillin-Grundgerüst (A) und eines endständigen Alanyl-Alanin-Dipeptids (B) im Vergleich

Rot markiert sind die für das molekulare Mimikry verantwortlichen Strukturähnlichkeiten nach Tipper und Strominger (4, 51).

$R_1$  und  $R_2$  (A) markieren die Abweichungen zu spezifischen Penicillinen.  $R_2$ =Benzylgruppe und  $R_1$ =H entspräche z.B. Penicillin G (Benzylpenicillin).  $R_1$  (B) stellt die weiteren Peptide in Richtung der Stammpeptide des Peptidoglykans dar. Strukturskelette übernommen aus (4) und (50).

### 1.2.2 Pathogenese der Methicillin-Resistenz

Penicillin-Resistenzen bei *Staphylococcus aureus* wurden früh als Phänomen bemerkt und seit der Mitte der 40er Jahre des 20. Jahrhunderts im Rahmen der therapeutischen Nutzung von Penicillin beschrieben (13, 53, 54).

Der Resistenzmechanismus dieser Penicillin-resistenten Staphylokokken beruht auf der Fähigkeit Penicillinasen zu bilden. Ein Enzym, das Verwandtschaft zu den üblichen PBP besitzt (4) und in der Lage ist, den  $\beta$ -Lactam-Ring von  $\beta$ -Lactam-Antibiotika zu spalten und sie dadurch unwirksam zu machen (4, 13, 54). Die Forschung suchte daher nach alternativen Antibiotika, um dieser neuen Resistenzentwicklung etwas entgegenzusetzen (4). Mit Methicillin (ehemals „Celbenin“) gelang es ein Penicillinasefestes  $\beta$ -Lactam-Antibiotikum zu entwickeln (55–57). Doch auch gegen Methicillin entwickelten sich im Laufe der Zeit Resistenzen. Methicillin wird mittlerweile nicht mehr vertrieben, stattdessen wird heutzutage wegen besserer pharmakologischer Eigenschaften, z.B. orale Bioverfügbarkeit, auf andere Penicillinase-stabile Antibiotika wie Flucloxacillin zurückgegriffen (4, 50). In der mikrobiologischen Diagnostik werden Oxacillin oder Cefoxitin genutzt (3, 58).

Der erste dokumentierte Nachweis von Methicillin-Resistenzen bei *Staphylococcus aureus* außerhalb des Labors fand aus Patientenproben eines britischen

Krankenhauses 1961 durch Jevons in ihrem Labor in Colindale statt (13, 59, 60), kaum ein Jahr nach der Einführung von Methicillin (50, 61). Diese Methicillin-Resistenz basiert auf einen anderen Pathomechanismus als die bislang bekannte Penicillin-Resistenz. Sie basiert nicht auf Grundlage einer plasmidkodierte Penicillinase – wobei eine Hyperexpression besagter Penicillinase in einigen Fällen zu einem Methicillin-resistenten Phänotyp führen kann (4). Dabei handelt es sich jedoch nicht um MRSA im klassischen Sinne (62). Die Methicillin-Resistenz von MRSA wirkt vielmehr über eine Veränderung der Zielstruktur der  $\beta$ -Lactam-Antibiotika. MRSA besitzt im Gegensatz zu Methicillinsensiblen *Staphylococcus aureus* ein zusätzliches PBP, meist PBP2a genannt, das schlecht an  $\beta$ -Lactam-Antibiotika bindet und, unbeeinträchtigt von Methicillin oder anderen  $\beta$ -Lactam-Antibiotika, weiterhin seine Transpeptidasefunktion für die Zellwandsynthese ausüben kann (4, 42). Die genetische Information für dieses resistenzverleihende PBP wird im Gegensatz zu den Penicillinasen anstatt in Plasmiden in der Regel im bakteriellen Chromosom selbst kodiert – in mobilen genetischen Cassetten (4, 14). Das korrespondierende Gen für diese PBP wird *mec* genannt. Es gibt unterschiedliche *mec*-Allele, die nach Ähnlichkeit oder Varianz in unterschiedliche Genfamilien und Allotypen benannt werden (63). Für *Staphylococcus aureus* beim Menschen stellt das *mecA*-Gen das relevanteste *mec*-Resistenzgen dar. Weitere *mec*-Gene, die bereits in *Staphylococcus aureus* oder in der Familie der Staphylokokken beschrieben wurden, sind *mecC*, *mecB* und *mecD* (14, 64). Diese können für die Diagnostik von MRSA eine Herausforderung darstellen, da einige Methoden nur spezifisch *mecA* detektieren, wie einige Agglutinationstests oder PCR-Sonden (3, 65).

*mec*-Gene sind mit ihren regulatorischen Genen in mobilen genetischen Elementen eingebettet, welche „staphylococcal cassette chromosome *mec*“ (SCC*mec*) benannt wurden. Es gibt unterschiedliche SCC*mec*-Komplexe und sie können anhand ihres Aufbaus, enthaltener *mec*-Gene, Zusammensetzung weiterer Zusatzgene und Kombination dieser weiter typisiert und untypisiert werden (14, 66). Als mobiles genetisches Element sind *mec*-Gene nicht nur in *Staphylococcus aureus*, sondern in vielen anderen Staphylokokkus-Spezies aufzufinden (63). Die Herkunft von *mecA* bei Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* ist nicht abschließend geklärt, aber es gibt Hinweise, dass die Methicillin-resistenz bereits vor der Entwicklung von Methicillin existiert hat und mit dem flächendeckenden Einsatz von Methicillin in der Verbreitung gefördert wurde (67). Es wird angenommen, dass vermutlich Koagulase-negative Staphylokokken die Quelle des *mecA*-Gens von *Staphylococcus aureus* sind und es zu einem horizontalem Gentransfer gekommen ist. Dabei stehen die Arten *Staphylococcus sciuri* und *Staphylococcus fleuretti* als *mecA*-Ursprung im Fokus des wissenschaftlichen Diskurses (14).

### 1.2.3 Epidemiologische Einteilung von MRSA

MRSA wird epidemiologisch, klassischerweise in drei Gruppen unterteilt: Hospital-associated MRSA (HA-MRSA), Community-associated MRSA (CA-MRSA) und Livestock-associated MRSA (LA-MRSA).

#### 1.2.3.1 Hospital-associated MRSA (HA-MRSA)

Unter dieser Bezeichnung werden Stämme zusammengefasst, die häufig im Bereich der stationären Versorgung gefunden werden. Sie sind neben ihrer Resistenz gegen  $\beta$ -Lactam-Antibiotika häufig resistent gegen weitere Antibiotika, was die therapeutischen Alternativen einschränkt. Zu HA-MRSA werden die ersten entdeckten MRSA-Stämme hinzugerechnet, wie Jevons Colindale-Stamm (13, 68). In deutschen Krankenhäusern stellen eine Mehrheit der MRSA-Nachweise die Stämme ST22 (Barnim-Stamm) und ST255 (Rhein-Hessen-Stamm). Die geografische Bezeichnung beziehen sich dabei rein

auf die Entdeckung bzw. Erstbeschreibung. Diese Stämme sind in den Krankenhäusern des gesamtdeutschen Bundesgebietes zu finden (69).

### **1.2.3.2 Community-associated MRSA (CA-MRSA)**

Lange war MRSA nur mit Kontakt zum Gesundheitssystem assoziiert. Doch mehrten sich in den 90er-Jahren die Berichte von MRSA-Nachweisen aus dem ambulanten Bereich bei Patient:innen, bei denen kein Kontakt mit dem Gesundheitssektor vorher bestand. So wurde einer der ersten Fälle bei australischen Ureinwohnern nachgewiesen (14). Man begann diese MRSA-Stämme Community-associated MRSA (CA-MRSA) zu nennen (13, 14). Auch CA-MRSA verbreitete sich global und wurde für diverse öffentliche Gesundheitssysteme zu einem Problem (14, 29, 70). Besonders die Assoziation mit schwereren Infektionsverläufen, wie nekrotisierende Pneumonien, Fasziiitis oder tiefe Abszesse, auch bei jungen, vorher gesunden Patient:innen macht diese Stämme besorgniserregend (14, 16, 70). Da sich CA-MRSA-Fälle in Krankenhäusern mehren, gibt es Überlegungen sich von einer epidemiologischen Beschreibung dieser Stämme hinzu zu einer molekularbiologischen Definition von CA-MRSA-Isolaten zu bewegen, um ihre distinktiven Besonderheiten zu HA-MRSA weiter adäquat beschreiben zu können (14). So sind mit CA-MRSA neben Methicillin seltener weitere Resistenzen vergesellschaftet und einige Virulenzfaktoren wie PVL und  $\alpha$ -PSMs sind häufiger oder bzw. stärker bei CA-MRSA-Stämmen exprimiert als bei HA-MRSA-Stämmen (13, 14). Ein bekanntes Beispiel für CA-MRSA-Stämme stellt der USA300-Stamm dar, der sich in Nordamerika rasant ausgebreitet hat und nun der dominante CA-MRSA-Stamm in den Vereinigten Staaten ist, aber auch weltweit regelmäßig nachgewiesen wird (28, 29). In Europa sind die CA-MRSA-Stämme hingegen diverser aufgestellt (14).

### **1.2.3.3 LA-MRSA**

Wenn man bedenkt, dass der Einsatz von Antibiotika in der Viehzucht gängige Praxis ist – 2018 wurden im europäischen Wirtschaftsraum 6431 Tonnen Antibiotika an die Tierwirtschaft abgegeben (71) – und *Staphylococcus aureus* auch andere Arten neben dem Menschen besiedelt, ist es nicht verwunderlich, dass die Tierwelt von der MRSA-Problematik nicht verschont bleiben sollte und bald MRSA-Isolate in der Viehzucht nachgewiesen wurden (30). Bei einer Betrachtung nach Biomasse wurde Tieren im europäischen Wirtschaftsraum 2017 nur etwas weniger Antibiotika verabreicht im Vergleich zu Menschen, 130 mg/kg Biomasse beim Menschen im Vergleich zu 108,3 mg/kg Biomasse beim Tier (72). LA-MRSA wurde zum ersten Mal 1972 im Rahmen einer Mastitis bei einer belgischen Kuh nachgewiesen und findet sich in einer Reihe von weiteren Tieren und Nutztieren (73). In der Viehzucht Tätige oder andere Personen mit engem Kontakt zu LA-MRSA infizierten oder besiedelten Tiere besitzen ein hohes Risiko selbst Träger von LA-MRSA zu werden. Untersuchungen an Landwirten in Nordrhein-Westfalen zeigten eine Durchseuchung von 86% an (74). LA-MRSA wird im Allgemeinen vom klonalen Komplex 398 dominiert (15). Verwandtschaftsanalysen zeigen, dass LA-MRSA-Stämme sich distinktiv von den HA-MRSA- und CA-MRSA-Stämmen unterscheiden (14). Eine große Weiterverbreitung in der Fläche vom Tier zum Menschen und dann weiter von Mensch zu Mensch lässt sich bei LA-MRSA jedoch bislang nicht feststellen (14, 15, 65). Umgekehrt können Tiere auch MRSA-Stämme von Menschen im Sinne einer Humanose erwerben, was z.B. bei Haustieren beobachtet wird (3, 30, 73, 75). Dabei handelt es sich dann aber nicht um eine Besiedlung durch LA-MRSA-Stämme im engeren Sinn, sondern um eine MRSA-Besiedlung von Tieren durch humane Stämme.

### **1.2.3.4 Weitere Entwicklung**

Diese epidemiologische Aufteilung der MRSA-Stämme ist in der Literatur weit verbreitet, dennoch ist diese Aufteilung nicht als Dogma zu verstehen. Es lassen sich zum

einen fließende Übergänge zwischen dieser Aufteilung ausmachen, zum anderen kann sich die Epidemiologie mit der Zeit lokal verändern. HA-MRSA lässt sich in einigen Fällen außerhalb von Krankenhäusern nachweisen und CA-MRSA wird mittlerweile in steigender Häufigkeit der Fälle in nosokomialer Umgebung isoliert und könnte nach einigen Modellierungen die klassischen HA-MRSA-Stämme verdrängen (14). LA-MRSA lässt sich wiederum auch bei Menschen ohne Kontakt zu Nutztvieh nachweisen (14), ist in Regionen mit erhöhter Nutztierdichte häufiger ambulant anzutreffen und kann in vereinzelt Fälle verantwortlich für Krankenhausausbüche gemacht werden (14, 15).

### **1.2.4 Relevanz von MRSA**

Seit der Entdeckung in den 1960er-Jahren war MRSA zunüchst als regionales Problem auf dem europäischen Kontinent bekannt (13), wurde dann jedoch zum Inbegriff antibiotischer Resistenzbildung und stieg zu einem ernsten Bedrohung für die Gesundheitssysteme der Welt auf. Um das erste Jahrzehnt des neuen Jahrtausends sollte MRSA seinen kritischen Höhepunkt in verschiedenen Regionen der Welt erreichen und dann in der Inzidenz langsam abnehmen (24, 29, 76, 77).

MRSA ist einer der häufigsten Verursacher von Blutstrominfektionen, beatmungsassoziierten Pneumonien und chirurgischen Wundinfektionen (14, 21, 24). Nasale Träger von MRSA besitzen ein 3,9-fach erhöhtes Risiko eine nosokomiale Bakteriämie zu entwickeln als MSSA besiedelte Personen (14). Patient:innen, die mit MRSA infiziert sind, haben eine längere Liegedauer im Krankenhaus und ein höheres Risiko an der Folge zu versterben im Vergleich zu Personen, die an einer MSSA-Infektion leiden (14, 78). MRSA-Stämme mit Co-Resistenzen schränken zudem die therapeutischen Möglichkeiten einer antibiotischen Therapie ein und sind dadurch schwieriger zu behandeln. Laut Schätzungen des amerikanischen Centers for Disease Control and Prevention (CDC) sind 2017 10.600 Personen im Krankenhaus im Zusammenhang mit MRSA verstorben. Schätzungsweise 1,7 Milliarden Dollar an Kosten für das Gesundheitssystem werden durch MRSA verursacht. Undiagnostizierte Fälle wurden in diesen Schätzungen nicht berücksichtigt (76). Im selben Jahr wurden in Deutschland 2785 Fällen an invasiven MRSA-Infektionen ans Robert Koch-Institut gemeldet worden (79). In Europa werden 380 Millionen Euro an zusätzliche Kosten durch MRSA für die stationäre Versorgung geschätzt und es soll 32,6 disability-adjusted life years (DALYs) pro 100.000 Einwohnern verursachen (78, 80).

Demnach bleibt MRSA trotz der weltweit langsam sinkenden Inzidenz weiterhin ein allgegenwärtiges Problem im Gesundheitswesen. Die Kenntnis seiner Ausbreitung und eine anhaltende Wachsamkeit sind essenzielle Bausteine, um die sinkende Inzidenz nachhaltig zu halten und eine Trendumkehr mit Inzidenzsteigerung langfristig zu unterbinden.

### **1.3 Reisen und Verbreitung von MRSA**

Der weltweite Ausbreitungserfolg von MRSA führt natürlich unmittelbar zu der Frage, was dazu beitrug und beiträgt, dass MRSA sich geographisch so breit verteilen konnte. Ein Faktor von Interesse in Zeiten der Globalisierung ist die Reisetätigkeit des Menschen. Zanger et al. bemerkten für MSSA in ihrer Fall-Kontrollstudie mit Patient:innen, die mit SSTIs vorstellig wurden, dass diese gehäuft MSSA-Isolate aufwiesen, die im jeweiligen Reiseland weit verbreitet waren (81). So zeigen weitere Fallstudien und retrospektive molekulargenetische Untersuchungen ebenfalls, dass Eintragungen von neuen MRSA-Isolaten aus anderen Ländern über große geographische Entfernungen stattfinden oder stattgefunden haben (28, 82–90). Vor allem für den USA300-Stamm ist eine Assoziation zu Reisen in oder aus den USA gut dokumentiert (14, 89). Die genaue Häufigkeit solcher Übertragungsereignisse bleibt jedoch weiterhin unklar. In einigen Fällen ist der Zusammenhang einer Reiseassoziation auch schwierig zu stellen (65).

Systematische und prospektive Untersuchung zu MRSA und Reisen, die das Risiko erfassen, gibt es Wenige. Die meisten Studien zum Risiko durch Auslandsreisen bestehen aus Fallstudien oder Erhebungen retrospektiver Natur (28, 91). Die Studien von Tappe et al. (85) und von Maier et al. (92) untersuchten die Fragestellung bezüglich deutsche Reisende zu diesem Thema. Beide Studien verfolgen einen retrospektiven Ansatz. Bei Maier et al. bezieht sich der prospektive Anteil auf die Erhebung epidemiologischer Daten, aber nicht auf den MRSA Nachweis vor und nach Reise. In Deutschland bemerkt man eine Zunahme von MRSA-Sequenztypen, die vorher in Deutschland nur sporadisch aufgetreten waren, von denen einige Fälle als Import identifiziert werden konnten (69). Einige größere systematische Studien aus Europa zu diesem Thema fanden in Schweden statt (87, 93). Stenhem et al. haben unter Nutzung von Daten der schwedischen Seuchenschutzbehörde im Zeitraum von 2000–2003 gemeldete MRSA-Fälle untersucht. 444 von 1733 Fällen waren reiseassoziiert. Das Risiko für einen MRSA-Erwerb war dabei unter anderem vom Reiseziel abhängig, mit Nordafrika als höchstes Odds ratio von 59-fachem Risiko im Vergleich zu Reisen nach Westeuropa. Jedoch bleibt zu erwähnen, dass bei Stenhem et al. von den reiseassoziierten Fällen etwas mehr als die Hälfte HA-MRSA (55,4%) war (93). Larsson et al. sprechen von einem Anteil von nur 24% der MRSA-Nachweise, wo Einwohner schwedischer Herkunft in Schweden selbst ihren MRSA-Keim erworben haben. Auch in der Studie war die Anzahl der HA-MRSA in den Jahren von 2000–2010 für die im Ausland erworbenen MRSA-Fälle recht hoch (mehr als 50%) (87). Theorien, wie es zu dem erhöhten Risiko kommt, gibt es viele. Es ist möglich, dass durch Reisen die Reisenden einem neuen Klima ausgesetzt werden oder dass es bei Reisen durch die meist erhöhte körperliche Betätigung zu Mikrotraumata kommt, die als Eintrittspforten für *Staphylococcus aureus* dienen könnten (28). Auch eine eventuelle Korrelation mit der Einnahme von Malariaprophylaxe wird vorgeschlagen (84).

Für andere multiresistente Bakterien, wie Enterobakterien, sind Auslandsreisen als Risikofaktor für eine Besiedlung in prospektiver Hinsicht besser untersucht. Dort zeigt sich eine starke Reiseassoziation (89). So zeigen z.B. prospektive Studien mittels Stuhluntersuchungen aus den Niederlanden und Frankreich, dass es ein starkes Risiko gibt nach einer Auslandsreise mit extended-spectrum- $\beta$ -lactamase (ESBL) positiven Enterobakterien kolonisiert zu werden (94–96). Die Besiedlung mit solchen multiresistenten Enterobakterien sistiert jedoch bei den meisten Reisenden im Verlauf der Zeit, ohne dass eine Intervention notwendig wäre (89, 94–97).

### **1.4 Zielsetzung der Studie**

Aufgrund der geringen Datenlage zum Erwerbungsrisiko bei Auslandsreisen und der hohen Relevanz durch die Reisetätigkeit in Deutschland war es das Ziel dieser Arbeit, das Risiko einer MRSA-Besiedlung durch Auslandsreisen mittels einer prospektiven mikrobiologischen Erhebung zu objektivieren. Zudem sollen eventuell zusätzliche Risikofaktoren und Zusammenhänge mit Reiseattributen beleuchtet werden. Dies soll durch einen prospektiven Studienaufbau und eine Befragung zum Ablauf der Reise vor und nach Reiseantritt ermöglicht werden und anhand der Ergebnisse Risikofaktoren zu eruieren.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Übersicht des Studiendesign

Die geeigneten und rekrutierten Proband:innen sollten vor Reise einen Nasenabstrich durch medizinisches Personal erhalten und einen Fragebogen ausfüllen. Die Proband:innen wurden vor der Reise in der eigenständigen Abnahme eines Nasenabstriches unterwiesen. Der zweite Abstrich sollte nach Reise stattfinden und wurde per Post zurückgeschickt. Bei MRSA-Nachweis schloss sich eine Nachverfolgung mit weiteren Nasenabstrichen und weiteren Fragebögen 1 Monat, 3 Monate und 6 Monate nach Reiserückkehr an. Die Nachverfolgung durchlief alle Zeitpunkte an, solange wie ein positiver MRSA-Befund nachweisbar ist, endet jedoch unabhängig von MRSA-Befund spätestens nach 6 Monaten. Die ersten beiden Wochen der Studie bestanden aus einer mikrobiologischen Etablierungsphase. In den ersten zwei Wochen wurden alle Nasenabstriche zum Screening seriell auf Mannitol-Salz-Agar und Staphylococcus aureus suspekta Kolonien wurden dann auf Blutagar kultiviert und anschließend auf CHROMagar™ kultiviert. Bei MRSA-typischen Anwuchs auf CHROMagar™ wurde das Isolat mit dem VITEK-2-compact identifiziert und eine Antibiotikasuszeptibilitätstestung angeschlossen. Nach den zwei Anfangswochen wurde das mikrobiologische Prozedere auf ein paralleles Ausstrichverfahren umgestellt, wo ein Nasenabstrich parallel auf Mannitol-Salz-Agar und CHROMagar™ ausgestrichen wurde. Bei Mannitol-Salz-Agar wurden MSSA suspekta Kolonien auf Blutagar übertragen und im VITEK-2-compact Spezies identifiziert. MRSA suspekta Kolonien auf dem CHROMagar™ wurden ebenfalls auf Blutagar übertragen und neben einer Speziesidentifizierung zusätzlich einem antimikrobiellen Suszeptibilitätstest (AST) unterzogen. Bei den anderen Teilen der Studie fanden keine Änderungen statt, z.B. bezüglich Rekrutierung, Fragebögen oder Versand.

### 2.2 Rekrutierungsmethodik

Die Proband:innen für die Studie wurden zwischen Juni 2018 und März 2019 aus dem Wartezimmer der Impfbambulanz des Universitätsklinikum-Eppendorfs (UKE) im Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin (BNITM) rekrutiert, während die Proband:innen auf ihren Beratungstermin und oder auf Angehörige gewartet haben. Den Proband:innen wurde genügend Bedenkzeit gegeben, ob sie an der Studie teilnehmen wollen. Die Studienteilnehmer bekamen ein Aufklärungsbogen über die Studie überreicht, den sie sich durchlesen konnten und unterschreiben mussten. Ein mündliches Aufklärungsgespräch fand ebenso statt. Freiwillige, die in den letzten 6 Monaten stationär aufgenommen wurden, jünger als 18 Jahre alt waren oder kürzer als 14 Tage verreisten, wurden von der Teilnahme ausgeschlossen. Europäische Reisedestinationen wurden nicht per se ausgeschlossen, um Reisende mit mehreren Reisezielen nicht auszuschließen. Proband:innen wurden eingeschlossen, wenn sie sich bezüglich Reisedauer nicht ganz sicher waren, wurden aber gebeten darauf zu achten im 2. Fragebogen möglichst die letztendliche Reisedauer einzutragen. Reisende, deren Reise im Nachhinein durch etwaige Gründe kürzer als 14 Tage war, wurden nach Rückkehr aus der Studie ausgeschlossen. Die Studienteilnahme beruhte auf reiner Freiwilligkeit, es wurden keine Teilnahmeanreize angeboten, weder monetär noch anderweitig, wie Bevorzugung in der Wartereihenfolge für eventuelle Beratungs- oder Impftermine.

#### 2.2.1 Fragebögen

In dieser Studie kamen drei verschiedene Fragebögen zu unterschiedlichen Zeitpunkten zum Einsatz (siehe auch 10.4 Fragebögen). Die Studienteilnehmer erhielten nach der Aufklärung und Zustimmung zur Studie einen ersten Fragebogen, der Daten zur Reise abfragt, wie Startdatum, Rückkehrdatum, Reiseziele, -gründe, -unterkunft, und

weitere epidemiologische Daten, wie Alter, Geschlecht, Bildungshintergrund, Berufe und vorangegangene Auslandsreisen. Auch die medizinische Vorgeschichte wurde im ersten Fragebogen abgefragt. Dazu zählten Vorerkrankungen und Medikamenteneinnahme. Die Freiwilligen füllten den Fragebogen in einem separaten Raum allein aus. Das Studienpersonal war bei der Bearbeitung nicht anwesend, stand jedoch bei Fragen bereit und korrigierte nur bei offensichtlichen Fehlern bei Abgabe durch Ansprache des Studienteilnehmers den Fragebogen.

Der zweite Fragebogen fragte erneut einige Daten zur Reise ab, um eine zusätzliche Bestätigung durch den Proband:innen zu gewinnen, ob sich während der Reise einige Umstände geändert hatten, wie z.B. Reisedauer, -abbruch und eventuelle Gründe diesbezüglich. Des Weiteren wurde abgefragt, ob es zu einem Kontakt mit dem Gesundheitssystem des Reiselandes bzw. der Reiseländer gekommen ist und dieser ambulant oder stationär war. Dieser Fragebogen wurde ebenfalls am Rekrutierungstag dem Proband:innen mitgegeben und sollte nach Reiserückkehr ausgefüllt werden. Dieser Fragebogen wurde also zuhause vom Proband:innen ausgefüllt.

Der dritte Fragebogen diente zur Nachverfolgung von MRSA positiven Proband:innen und Erfassung von eventuellen Folgeerkrankungen, die erst verspätet nach Reiserückkehr aufgetreten waren. Auch dieser Fragebogen wurde zuhause selbstständig vom Studienteilnehmer ausgefüllt.

Die Informationen der Fragebögen wurden in einer MS-Access-Datenbank-Datei eingepflegt. Es wurde damit eine elektronisch auswertbare Datenbank anhand der Informationen aus den Fragebögen aufgebaut. Lediglich die letzte Seite des Fragebogen 1 mit den persönlichen Informationen der Proband:innen wurde nicht eingepflegt oder anderweitig digitalisiert.

### **2.2.2 Datenschutz & Ethikkommission**

Die Daten lagen während ihrer Verarbeitung stets pseudonymisiert vor. Die Pseudonymisierung erfolgte durch einen laufenden Nummerncode mit Einziffernpräfix, der pro Freiwilligen identisch auf allen Fragebögen und der Einverständniserklärung des jeweiligen Probanden ist. Nur mithilfe der letzten Seite des ersten Fragebogens kann unmittelbar Rückschluss auf persönliche Informationen gewonnen werden, wie Klarname, Telefonnummer und Postadresse (siehe 10.4.1 Fragebogen 1, Abbildung 15). Einverständniserklärung und Fragebögen wurden in abgeschlossenen Schränken aufbewahrt. Die Einverständniserklärungen und die letzte Seite des ersten Fragebogens mit den persönlichen Informationen wurden nicht digitalisiert und existieren nur in physischer Form. Eine Kopie der Einverständniserklärung wurde jedem Studienteilnehmer ohne Aufforderung mitgegeben. Werden die Einverständniserklärungen und die letzte Seite des ersten Fragebogens vernichtet, findet eine erfolgreiche Anonymisierung statt; die Person kann anhand der verbleibenden Daten nicht mehr hinreichend identifiziert werden. Die Datenbank-Datei und ihre Backup-Versionen befinden sich auf einem mittels VeraCrypt (für Details siehe 2.12.2 Software, Tabelle 2) verschlüsselten Ordner/Container. Für die Studie wurde ein positives Votum der Ethikkommission der Ärztekammer Hamburg eingeholt.

### **2.3 Probengewinnung und -prozedere**

Der erste Fragebogen wurde nach Zusage zur Studienteilnahme ausgefüllt und unmittelbar abgegeben. Der zweite Fragebogen wurde in einem Versandumschlag zusammen mit dem Abstrichgefäß mitgegeben und sollte nach der stattgefundenen Reise ausgefüllt zurückgesendet werden. Der Versand erfolgte auf gewöhnlichem Weg über die Deutsche Post AG als Großbrief. Der luftgepolsterte Versandumschlag zur Rücksendung war bereits vorfrankiert. Die Proband:innen mussten also nach der eigenen Probenentnahme und nach dem Ausfüllen des Fragebogens, den Rückumschlag nur beim

nächsten Briefkasten oder Poststelle abgeben. Der einfache Versandvorgang für die Proband:innen soll zu einer guten Adhärenz beitragen und wurde auch schon in anderen Studien mittels Probenversand über den gewöhnlichen Postverkehr bereits durchgeführt (98), auch im Zusammenhang mit *Staphylococcus aureus* (99). Die Proband:innen wurden von medizinischem Personal angeleitet, wie man einen Abstrich der vorderen Nase durchführt. Der erste Abstrich erfolgte als abschließende Demonstration vom medizinischen Personal selbst. Auf der Einzelverpackung der genutzten Abstrichsysteme von Copan (siehe 2.12.1 Material, Tabelle 1) ist zusätzlich eine piktografische Kurzanleitung abgebildet. Es existieren zwar weitere Abstrichregime zur Detektion von MRSA mit Abstrichen weiterer Körperregionen, wie Achseln, Leiste und weitere (16, 100), aber die vorderen Nasenabschnitte sind der präferierte Kolonisationsort von *Staphylococcus aureus*. Medizinische Laien können leicht in der Abstrichentnahme an der dortigen Stelle unterwiesen werden und bei hoher Fehlerrobustheit der Abstrichergebnisse (3, 18, 22, 100). So zeigen Studien, dass der Nachweiserfolg von Nasenabstrichen von Laien und medizinischen Personal vergleichbar ist und im Falle von großen Populationsuntersuchungen eine verlässliche Alternative zu professionellen Abstrichentnahme sind (22, 98, 100). Im Sinne einer Screening-Situation blieb es bei einem Abstrich beider Nasenlöcher ohne weitere Abstrichorte, sodass eine gute Adhärenz gewährleistet wurde. Als Abstrichtupfer wurde ein kommerzieller Abstrichtupfer von Copan mit eigenem Probengefäß gewählt, welches 1 ml Transportlösung nach Amies enthält. Bei der Transportlösung nach Amies handelt es sich um ein übliches Transportmedium für Mikroorganismen. Seine Phosphatpuffer und Elektrolytzusammensetzung soll eine Zellyse verhindern, Zellvitalität gewährleisten und einen möglichst optimalen Transport ermöglichen (101). Die von uns verwendeten Abstriche von Copan nutzten eine Amies-Lösung ohne Aktivkohlezusatz.

Der erste Abstrich der Proband:innen, der am Rekrutierungstag gewonnen wurde, wurde am selben Tag ausgestrichen. Sollte beim ersten Abstrich vor Reiseantritt bereits ein MRSA nachgewiesen worden sein, wurde der Studienteilnehmer aus der weiteren Studie ausgeschlossen. Bei Ankunft der Abstrichröhrchen der Rückkehrerproben an der Poststelle der Studie wurden die Abstriche temporär in einem Kühlraum bei ca. 4°C temporär gelagert. Der mitgeschickte Fragebogen wird gesichtet und die entsprechenden Eintragungen digitalisiert. Die Abstriche wurden ebenfalls möglichst zügig am selben Tag nach Ankunft ausgestrichen.

Wenn bei dem Studienteilnehmenden ein MRSA nach Reiserückkehr nachgewiesen werden konnte, wurde Fragebogen 3 zusammen mit einem weiteren Abstrichröhrchen nach einem Monat postalisch an die jeweilige Person gesendet. Bei einem weiteren positiven MRSA-Befund wurde 3 Monate vom Rückkehrdatum erneut Fragebogen 3 und ein Abstrichröhrchen an den Freiwilligen versendet. Dieses Prozedere wurde bei einem weiteren MRSA-Nachweis mit 6 Monate nach Rückkehrdatum wiederholt. Danach endete die Nachverfolgung unabhängig von MRSA-Status.

Die Proben wurden während der Rekrutierung und Aufklärung der Proband:innen nach dem Erstabstrich mit den Fragebögen zusammen in einer transparenten Transportbox zwischengelagert. Nach dem Abschluss des Rekrutierungstag, der sich an den Öffnungszeiten der Reiseambulanz orientierte, wurde die Box verschlossen und zum Labor transportiert. Dort wurden die Fragebögen entnommen. Die Transportbox, die nun nur Proben enthielt, wurde zum Kühlraum getragen. Dort wurden die Abstrichröhrchen in Racks geladen und so im Kühlraum zwischengelagert. Beladene Racks wurden zu einem späteren Zeitpunkt zur Werkbank gebracht und dort fand der Ausstrich der gesamten Tagesrekrutierung statt.

## 2.4 Verwendete Nährmedien und Plattenguss

### 2.4.1 Nährmedien

Für die Studie wurden drei Nährböden genutzt. Alle Nährböden waren feste Nährmedien. Als Screening-Nährmedien für den Ausstrich der Tupfer wurden CHROMagar™ MRSA von der Firma CHROMagar™ und Mannitol-Salz-Agar (MSA) von der Firma Merck verwendet. Als Universalmedium diente Columbia-Blutagar mit 5%-Schafsblut-Anteil der Firma bioMérieux (siehe auch Tabelle 1 in 2.12.1 Material). Bei CHROMagar™ und Mannitol-Salz-Agar handelt es sich um Selektiv- und Differenzialnährmedien.

#### 2.4.1.1 Columbia-Blutagar mit 5%-Schafsblut

Als einziges Universalmedium in dieser Arbeit wurde Columbia-Blutagar mit 5%-Schafsblut-Anteil von bioMérieux genutzt. Der Columbia-Blutagar musste nicht angesetzt werden und wurde direkt vom Hersteller in Form von fertigen und sofort einsetzbaren Platten bezogen. Bei Columbia-Blutagar mit 5%-Schafsblut handelt es sich um ein länger bekanntes und etabliertes Universalmedium. Seine Rezeptur wurde 1966 von Ellner et al. publiziert und es eignet sich zur Anzucht diverser anspruchsvoller Bakterienarten, unter anderem auch von Staphylokokken (101, 102). Im folgenden Text dieser Arbeit ist mit Blutagar stets Columbia-Blutagar mit 5% Schafsblutanteil gemeint. Eine andere Form von Blutagar kam in dieser Arbeit nicht zur Anwendung.

#### 2.4.1.2 Mannitol-Salz-Agar

Der Mannitol-Salz-Agar von Merck wurde als Pulver zum Ansetzen bezogen. Es handelt sich um ein festes, selektiv und differenzial Nährmedium. Seine Selektivität erzeugt der Agar durch seinen relativ hohen Kochsalzgehalt von 7,5%, der *Staphylococcus aureus* im Wachstum wenig beeinträchtigt im Gegensatz zu anderen Bakterien wie zum Beispiel *Escherichia coli* (103–105). Seine Differentialeigenschaft erhält der Agar durch sein enthaltenes Phenolrot und das namensgebende Mannitol. *Staphylococcus aureus* verstoffwechselt Mannitol unter Säurebildung, welches dann eine pH-abhängige Farbumschlagsreaktion des Phenolrots im Agar von rötlich zu gelb auslöst. (103, 104). Es ist ein lang bekanntes Medium in der Mikrobiologie, welches von Chapman 1945 in seiner weitgehend jetzigen Rezeptur etabliert wurde (104, 106).

Für die Präparation wurden 108 g des Agars auf 1 l autoklavierten, demineralisierten Wasser hinzugefügt. Diese Anmischung vom beiden geschah in autoklavierten 1 l oder 500 ml Flaschen. Die Menge des Agarpulvers wurde dem Volumen dementsprechend angepasst.

Ein Magnetrührgerät wurde genutzt, um das Pulver aufzulösen. Die Magnetrührstäbchen wurden vor dem Einsatz mit Ethanol desinfiziert und luftgetrocknet.

Nach zufriedenstellender Homogenisierung des Agars wurde das Magnetrührstäbchen mit einem Magneten entfernt und die Flaschen wurden mit Autoklavierband versehen und nach Herstellerangaben autoklaviert (121°C 15 Minuten lang). Nun wurde ein Wasserbad auf 50°C vorgewärmt, indem dann die Flaschen nach dem Autoklavierprozess bis zum Beginn des Plattengusses zwischengelagert werden konnten; siehe für weiteres Prozedere 2.4.2 Plattenguss.

#### 2.4.1.3 CHROMagar™ MRSA

CHROMagar™ MRSA wurde ebenfalls als Pulver zum Ansetzen bezogen. Ein Supplement, ebenfalls in Pulverform, wurde gesondert mitgeliefert. Bei CHROMagar™ MRSA handelt es sich um ein festes, chromogenes Differenzialmedium, das eine zusätzliche selektive Komponente besitzt. Nach Angaben des Herstellers färben sich Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* Kolonien malven- bis pinkfärbend. Das

Wachstum anderer Bakterien und Methicillin-sensibler *Staphylococcus aureus* wird verhindert oder stark gehemmt (107).

Chromogene Medien sind etablierte Medien in der Mikrobiologie. Sie reagieren auf spezifische enzymatische Reaktionen des gesuchten Bakteriums mit einer ortsgebundenen Farbreaktion der Kolonie. Die gesuchte Bakterieneinzelkolonie verfärbt sich und kann für weitere Analysen isoliert und angereichert werden (101, 108, 109). Welche genaue enzymatische Reaktion bei CHROMagar™ MRSA genutzt wird, ist öffentlich nicht bekannt. Die Rezeptur der für die Farbreaktion verantwortlichen Stoffe im CHROMagar™ MRSA befindet sich im Eigentum des Herstellers. Die Selektivität des Agars wird zusätzlich durch ein antibiotikahaltiges Supplement erzielt, dessen Rezeptur ebenfalls proprietär ist (110, 111). CHROMagar™ MRSA wird im folgenden Text verkürzt mit dem Namen Chromagar beschrieben.

Der Chromagar benötigt für seine Funktion ein antibiotikahaltiges Supplement, das im gefriergetrockneten Zustand in einer Ampulle mit dem Pulver mitgeliefert wird. Das Supplement wurde unter einer Werkbank mit 20 ml autoklaviertem Wasser in der Ampulle restituiert. Die Ampulle wurde geschwenkt, bis sich das gesamte Supplement aufgelöst hatte. Danach wurden die 20 ml der Supplementlösung aus der Ampulle in 20 autoklavierte Eppendorfgläser aliquotiert. Die Eppendorfgläser wurden anschließend beschriftet und bei  $-20^{\circ}\text{C}$  bis zur Benutzung eingefroren. Die gefrorenen, supplementhaltigen Eppendorfgläser wurden alle gemeinsam entsorgt, wenn eine neue Packung Chromagarpulver mit neuem Supplement geöffnet wurde und neues Supplement in restituiert Form in neuen Eppendorfgläsern erfolgreich eingefroren wurde.

Für die Präparation des Agars selbst wurden 82,5 g des Chromagarpulvers in 1 l autoklavierten, demineralisierten Wasser aufgelöst. Die Anmischung vom beiden geschah, wie bei der MSA-Präparation in autoklavierten 1 l oder 500 ml Flaschen je nach benötigter Gesamtmenge an Agar. Die Menge des Pulvers wurde dem Volumen entsprechend angepasst. Die weitere Auflösung des Pulvers wurde durch ein Magnetrührgerät unterstützt. Die Magnetrührstäbchen wurden analog zur MSA-Zubereitung mit Ethanol vor dem Einsatz desinfiziert und getrocknet. Die Stäbchen wurden nach Homogenisierung mit einem Magneten entnommen und die Flaschen mit Autoklavierband beklebt. Die Flaschen werden dann in einem mit 2 l demineralisierten Wasser gefüllten Druckkochtopf auf einem Kochfeld für 7 Minuten gekocht. Danach wurden die Flaschen entnommen und in einem Wasserbad auf  $60^{\circ}\text{C}$  runtergekühlt bzw. bei dieser Temperatur im Wasserbad zwischengelagert.

Die passende Menge an Eppendorfgläsern mit gefrorenem Supplement wurde aufgetaut, sodass 1 ml auf 1 l Agar zugemischt werden konnte.

Nachdem die Flaschen eine Temperatur von  $60^{\circ}\text{C}$  erreicht hatten, wurden so sie aus dem Wasserbad entnommen und unter einer Werkbank wurde das Supplement hinzugefügt. Die Flaschen wurden daraufhin geschwenkt und invertiert, um eine gute Durchmischung mit dem Supplement zu erreichen. Für das Prozedere des Plattengusses siehe folgenden Abschnitt 2.4.2 Plattenguss.

### 2.4.2 Plattenguss

Die vorher nach abgeschätztem Bedarf angesetzten Chromagar- und MSA-Agarflaschen wurden aus dem Wasserbad entnommen und unter einer Werkbank mit 3–5 mm Dicke in sterile Plastikpetrischalen gegossen. Es wurden nur so viele Flaschen entnommen, wie in einem Durchgang gegossen werden konnte, damit der Agar nicht in den Flaschen erstarrte. Die so erstellten Platten wurden bis zur Aushärtung unter der sterilen Werkbank belassen, was nur wenige Minuten benötigte. Nach Aushärtung und Abkühlung wurden die Agarplatten mit dem Ansetzdatum beschriftet, in der Werkbank gestapelt, der Stapel in durchsichtige Plastikfolie eingetütet und zur Vorbeugung übermäßiger Kondenswasserbildung nicht-luftdicht verschlossen. In diesem Zustand

wurden die Agarplatten unter Sichtkontrolle bis zu maximal einem Monat bei ca. 4°C in einem dunklen Kühlraum bis zu ihrer Verwendung gelagert. Aus jeder angesetzten Charge wurden Platten entnommen, um sie mit *Staphylococcus-aureus*-Referenzisolaten zu inokulieren. Ein Methicillin-sensibles *Staphylococcus-aureus*-Isolat wurden jeweils auf den beiden Nährböden angezüchtet. Bei Chromagarchargen wurden zusätzlich zwei verschiedene Methicillin-resistente *Staphylococcus-aureus*-Isolate angezüchtet. Eine Charge wurde entsorgt, wenn sie ihre Selektiv- und Differenzialeigenschaften bei der Anzüchtung der Referenzisolate nicht erfüllt oder eine Kontamination mit fremden Mikroorganismen bei Inkubation feststellbar war. Bei MSA wäre dies der Fall, wenn kein Anwuchs von *Staphylococcus aureus* stattfindet oder es keine Farbumschlagsreaktion gibt. Bei Chromagar wäre es der Fall, wenn Methicillin-sensibler-*Staphylococcus-aureus* anwächst, Methicillin-resistenter-*Staphylococcus-aureus* nicht anwächst oder es zu keinem Anwuchs von pinken bis dunkelrosanen MRSA-Kolonien kam.

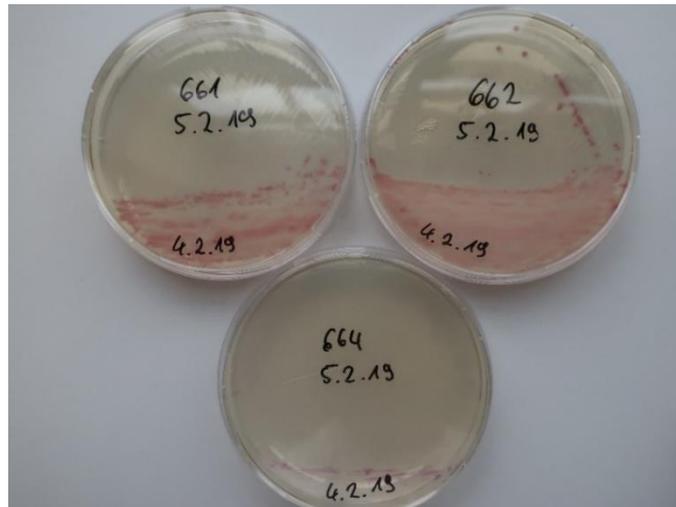


Abbildung 2; Kontrolle einer angesetzten Chromagarcharge

Bei den Isolaten 661 und 662 handelt es sich um bekannte MRSA-Isolate. Der Anwuchs auf Chromagar war erfolgreich. Isolat 664 ist bekannt Methicillin-sensibel. Hier gelang kein Anwuchs von Kolonien. Lila Schlieren sind lediglich oberflächliche Verfärbung. Die Chromagar-Platten vom 04.02.2019 sind nicht zu beanstanden.

Beschriftungslegende: Erste Zeile von oben: Name des Isolates; Zweite Zeile: Ausstrich- und Bebrütungsdatum; Letzte und unterste Zeile: Ausgussdatum



Abbildung 3; Kontrolle einer angesetzten Mannitol-Salz-Agar-Charge

Isolat 664 ist ein bekanntes MSSA-Isolat. Erkennbar ist die gelbe Verfärbung des Agars. Die pink-rötliche Ursprungsfärbung des Agars ist im oberen Bereich der Platte zu sehen. Der Anwuchs von *Staphylococcus aureus* ist gelungen und die Farbreaktion hat stattgefunden. Die MSA-Charge vom 19.02.19 ist nicht zu beanstanden.

## 2.5 Inokulation von Platten

Unter einer sterilen Werkbank wurden die Nasenabstriche direkt zuerst auf Chromagar und dann auf Mannitol-Salz-Agar aufgetragen. Der Tupfer wurden in einem Bereich der Petrischale rollend-streichend aufgetragen (Primärausstrich). Danach erfolgte die Vereinzelung der Bakterien im Primärausstrich mithilfe steriler Plastikimpfeschlingen in 4-Quadranten-Technik (112) (siehe auch Abbildung 4).

Von den selektiv-differenzial Nährmedien wurden entsprechende Einzelkolonien gepickt, die den phänotypischen Kriterien des Herstellers entsprachen, und Subkulturen angelegt. Bei Kulturen auf MSA sind es Kolonien, die eine eine glatt-berandete Kolonie mit Gelbfärbung des Agars erzeugen. Bei Chromagar-Kulturen sind es Kolonien, die glatt-berandete sind und eine malven-, leicht lilafarbige Kolonie zeigen.

Lagen auffällige Kolonien nicht vereinzelt oder im Bakterienrasen des Primärausstrichs vor, wurden weitere Subkulturen mit 4-Quadranten-Technik auf dem entsprechenden Selektivmedium angeschlossen, bis eine zufriedenstellende Einzelkolonie gewonnen werden konnte.

Gepickte Einzelkolonien aus Primärkulturplatten oder Sekundärkulturplatten wurden mittels Plastikimpfösen gepickt und auf Columbia-Blutagar mit 5%-Schafsblut angezüchtet, erneut in 4-Quadranten-Technik. Diese Platte stellte nun das Reinisolat dar.

Gewonnene Reinisolate wurden falls nötig je nach Agarzustand und Kulturzustand in regelmäßigen Abständen auf neuem Blutagar weiterkultiviert, bis alle notwendigen Untersuchungen abgeschlossen waren oder ein Entschluss zur Langzeitlagerung in Flüssigstickstoff gefällt wurde.

Die ersten Probandenproben aus der Etablierungsphase wurden in Serie ausgewertet. Zuerst wurde der Abstrich auf MSA ausgestrichen. Bei Farbumschlag wurden Einzelkolonien gepickt, um ein Reinisolat zu erstellen. Dieses Reinisolat wurde dann auf Chromagar ausgestrichen. Nach 2 Wochen wurde auf das oben beschriebene parallele Ausstrichverfahren gewechselt.

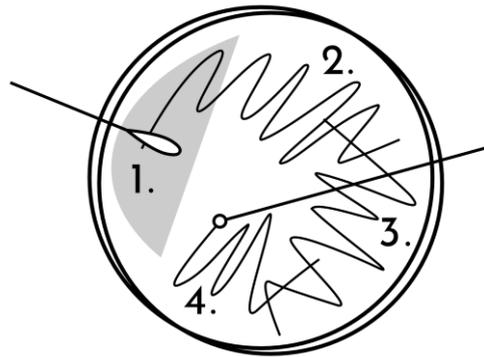


Abbildung 4; Schema 4-Quadranten-Technik (1.) Primärausstrichbereich/ 1. Quadrant (grau). Hier erfolgt die Auftragung der Probe, entweder mittels Abstrichtupfer oder im Falle von Sekundärkulturen von anderen Platten mit einer Impfeschlinge. (2.–4.) restliche Quadranten 2 bis 4; werden mit Impfeschlingen überlappend, sinuswellenförmig ausgestrichen

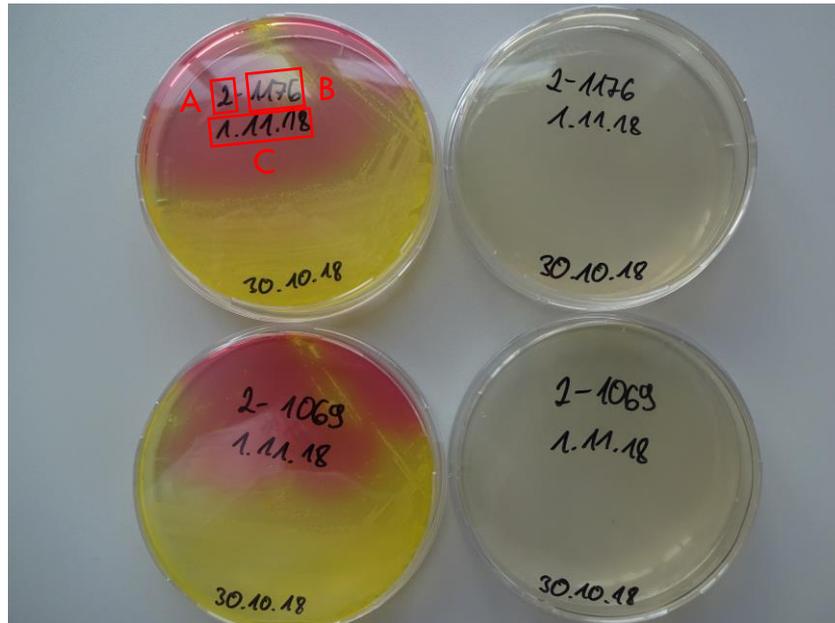


Abbildung 5; Beispielfhaft zwei Plattenpaare zweier Abstrichproben  
Links befinden sich die MSA-Platten, rechts die Chromagarplatten. Die Chromagarplatten zeigen keinen Anwuchs wohingegen auf den MSA-Platten sich Wachstum mit gelben Farbumschlag zeigt. Es handelt sich bei beiden Proben nach weiteren Analysen mittels VITEK-2-compact um *Staphylococcus aureus*. (A) Index, der anzeigt, ob es sich um eine Rückkehrprobe oder Erstabstrich handelt. 2 bedeutet Rückkehrprobe, 1 Erstabstrich. (B) Pseudonym des Probanden. (C) Ausstrich- und Inkubationsdatum.  
Unten ist das Ausgussdatum der Plattencharge aufgeschrieben.

## 2.6 Inkubation

Alle Proben wurden unabhängig von Medium über Nacht bei 36°C inkubiert. Dies geschah in einem Inkubator der Firma Heraeus (siehe 2.12.1 Material, Tabelle 1) ohne CO<sub>2</sub> Begasung. Bei einer Bebrütung über zwei bis drei Nächte wurde eine Temperatur von 32°C gewählt. Dies war meist bei Inkubationen übers Wochenende oder über Feiertage der Fall.

## 2.7 Haltung der *Staphylococcus aureus* Referenzisolate

Während dieser Arbeit wurden insgesamt vier voridentifizierte *Staphylococcus aureus*-Isolate als Referenzisolate verwendet. Zwei Methicillin-sensible und zwei Methicillin-resistente Isolate.

Diese wurden freundlicherweise von der Arbeitsgruppe Infektionsepidemiologie am BNITM gestellt. Die *Staphylococcus-aureus*-Isolate stammen selbst aus Patientenproben und wurden in einem Microbank-System in Flüssigstickstoff eingefroren. Für diese Arbeit wurden diese Isolate wieder aufgetaut und auf Blutagar angezüchtet und so übergeben.

Von den jeweiligen Blutagarplatten wurden Einzelkolonien gepickt und in das eigene Flüssigstickstofflager eingefroren (siehe für den Ablauf 2.10 Lagerung in Flüssigstickstoff). Daneben wurden Einzelkolonien unter einer sterilen Werkbank gepickt und auf Blutagarplatten übertragen, die dann eine laufende Stammkultur darstellten aus der Einzelkolonien je nach Bedarf entnommen wurden. In regelmäßigen Abständen wurden Einzelkolonien aus den alten Blutagarplatten gepickt und auf Neue übertragen. Einzelkolonien von den neuen Platten wurden dann mittels VITEK-2-compact auf die Spezies und Resistenz analysiert, um eine unentdeckte falsche Auswahl einer fremden Einzelkolonie, z.B. durch Kreuzkontamination, aufzudecken und somit die Reinheit, der Referenzisolate zu gewährleisten.

Ebenso wird durch die Resistenztestung eine Verwechslung der Methicillin-sensiblen und -resistenten *Staphylococcus-aureus*-Referenzisolate frühzeitig erkannt.

## 2.8 VITEK-2-compact Analyse



Abbildung 6; VITEK Identifikationskarte nach Inkubation im VITEK-2-compact

In der rechten oberen Ecke der Karte ist der verbliebene Rest des Ansaugschlauchs zu erkennen.

Identifizierung der Stoffwechsellistung des zu untersuchenden Isolats. Die Reaktionen finden in von bioMérieux vorgefertigten Identifikationskarten und Antibiotikakarten statt. Diese enthalten ein Raster an mit Substrat gefüllten Wells die mit einer Suspension der Probe von der Maschine beimpft werden. Die Karten werden dann vom Gerät selbst inkubiert und dann in regelmäßigen Abständen vom Gerät optisch überprüft. Anhand des farbgekoppelten Reaktionsmuster der einzelnen Wells in den Rastern der Identifikationskarten kann dann ein Isolat einer Spezies und seiner Stoffwechsellistung zugeordnet werden. Das Prinzip ist eine miniaturisierte und computerisierte Form der „bunten Reihe“ zu Identifizierung von Bakterien anhand ihrer Stoffwechsellistung (siehe zur Veranschaulichung Abbildung 6).

Es gibt mehrere Klassen an Identifikationskarten beim VITEK-2-System. Für diese Arbeit wurden nur die Karten zur Identifikation von grampositiven oder gramnegativen Erregern genutzt. Dabei kamen fast ausschließlich Karten zur Identifikation grampositiver Erreger zum Einsatz. Die Identifikationskarten zur Identifikation gramnegativer Erreger kamen in dieser Arbeit nur sporadisch zum Einsatz, um eventuelle Fehlerquellen auszuschließen. Corynebakterien und Bacillusbakterien werden nicht durch die Identifikationskarten für grampositive Erreger identifiziert.

Für weitere Details zum Identifikationsspektrum der verwendeten Karten siehe auch im Anhang 10.3 VITEK-2 Identifikationskarten.

Die Wells der AST-Karten enthalten eine definierte Konzentration eines Antibiotikums. Anhand der Geschwindigkeit des Wachstums und der Eintrübung der Wells, kann das VITEK-2-compact ein Resistenzmuster erstellen (113).

Der manuelle Teil des VITEK-2-compacts beinhaltet die Erstellung des Inokulums aus dem zu untersuchenden Isolat. Jede Testkarte, Identifikations- wie AST-Karte, braucht ihr eigenes Inokulum.

Im Folgenden ist der Ablauf zur Erstellung einer VITEK-2-compact konformen Probe nach den Angaben des Herstellers orientiert beschrieben.

Eine Einzelkolonie oder ein Teil einer Einzelkolonie aus einer Blutagarplatte eines zu untersuchenden Isolats wurde mit einer sterilen Einmalimpfchlinge gepickt und in 3 ml sterile Kochsalzlösung von 0,45% NaCl in einem transparenten Einmalkunststoffröhrchen suspendiert.

Reinisolate aus Blutagar wurden mit dem VITEK-2-compact-Gerät identifiziert. Stammt das Reinisolat zusätzlich aus einer Chromagar-Platte wurde auch ein antimikrobieller Suszeptibilitätstest (AST) durchgeführt.

Bei dem VITEK-2-compact handelt es sich um ein teilautomatisiertes System zur bakteriellen Speziesidentifikation und antimikrobiellen Resistenzbestimmung. Das VITEK-2-compact ist Teil des VITEK-Systems von bioMérieux. Das VITEK-System basiert auf einer biochemischen, metabolischen

Es wurde eine möglichst homogene Suspension erstellt, die dann mittels Densichek®-Gerät von bioMérieux auf eine Trübung von 0,5–0,63 McFarland getestet wurde.

Das Densichek®-Gerät maß optisch die Trübung der Suspension und rechnete sie in einen Trübungsgrad nach McFarland (mehr zum Trübungsgrad nach McFarland siehe auch (101)) um. Bei der Messung wurde darauf geachtet, dass die Kunststoffröhrchen unzerkratzt waren und keine Unreinheiten des Kunststoffes selbst direkt vor dem optischen Sensor selbst lagen – eine häufige Fehlerquelle dieses Messverfahren.

War eine zu niedrigere Trübung gemessen worden (<0,5 McFarland), wurde eine weitere Kolonie oder der restliche Teil der Einzelkolonie gepickt und zur Suspension hinzugefügt. Bei höheren Trübungen (>0,63 McFarland) wurde ein Teil der Lösung abpipettiert, verworfen und dasselbe Volumen mit steriler Kochsalzlösung (0,45% NaCl) wieder aufgefüllt und homogenisiert.

Im Anschluss wurde erneut die Trübung mittels Densichek® gemessen und die Schritte wurden wiederholt bis eine Trübung im optimalen Bereich von 0,5–0,63 McFarland titriert wurde.

Sollte es sich um eine Resistenztestung handeln, wurden anschließend bei der Resistenztestung eines grampositiven Isolats noch zusätzlich 280 µl der sterilen Kochsalzlösung (0,45% NaCl) zur Suspension hinzugefügt, um die vom VITEK-System geforderte Verdünnung zu erreichen. Das Volumen unterschied sich danach, ob eine Resistenztestung bei einem grampositiven oder gramnegativen Erreger erfolgte. Bei gramnegativen Isolaten mussten 145 µl hinzugefügt werden. Das Kunststoffröhrchen enthielt für die AST-Messung von *Staphylococcus aureus* dementsprechend 3 ml + 280 µl 0,45%ige Kochsalzlösung.

Das mit der Suspension befüllte Kunststoffröhrchen wurde dann in einer festen, nummerierten Position einer Plastikhalterung eingefügt, die von bioMérieux „Carrier“ genannt wurde. Beim VITEK-2-compact fassen die Carrier 10 Proben. Die Probenposition war auf dem Carrier eingraviert und fest vorgegeben. Der Carrier diente als Magazin für die VITEK-Karten.

Eine passende Identifikationskarte oder AST-Karte wurde nun aus seiner Einzelverpackung geöffnet. Die Verpackung dabei wurde auf der Ansaugschlauch abgewandten Seite geöffnet und ebenfalls in den Carrier gelegt. Es wurde darauf geachtet, dass der Ansaugschlauch der Karte ohne Berührung anderer Oberflächen in die Position des zu analysierenden Röhrchens eingeführt wurde.

Eine AST musste für die Auswertung parallel mit einer Identifikation ablaufen. Eine bloße nachträgliche Messung mit einer AST-Karte war ohne Identifikationskarte mit dem in der Studie eingesetzten VITEK-Gerät nicht möglich.

Der Carrier wurde nun in das VITEK-2-compact eingeschoben. Im Computersystem wurden den Positionen des Carriers, jeweils ein Isolatname zugewiesen.

Nun wurden die Proben in die jeweiligen Karten vom Gerät pneumatisch beimpft. Der Ansaugschlauch wurde vom Gerät thermisch abgeschnitten und die Karte gleichzeitig versiegelt. Die Karten im Carrier wurden dann ins Innere des Gerätes geladen, wo sie inkubiert und ausgelesen wurden.

Der Carrier wurde nun wieder entfernt. Ein neuer Carrier mit Proben konnte jetzt ins Gerät eingeladen werden.

Nach Abschluss der Inkubation und Auswertung der Karten durch das Gerät wurden diese in einen Abfallbehälter ausgeworfen.

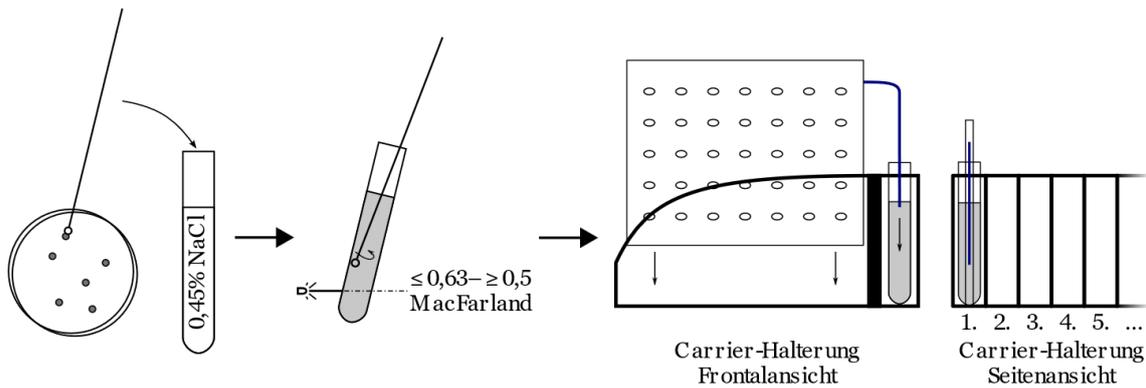


Abbildung 7; Schema für die Aufbereitung der Proben für die VITEK-2-Analyse

Carrier ist zur Veranschaulichung transparent und nur mit fünf Kartenplätzen dargestellt, was nicht der Realität entspricht.

## 2.9 Gramfärbung mit Methanolfixierung

Isolate, deren Kolonien morphologisch schwierig einzuordnendes Wachstum zeigten, oder die ein unklares VITEK-2-compact-Analyseergebnis besaßen (z.B. Speziesidentifizierung fehlgeschlagen oder unsicher), wurden unter anderem einer Gramfärbung unterzogen.

Die Isolate wurden auf einem Objektträger mit einer Impfschlinge aufgetragen und in einem Tropfen sterilem Wasser aufgelöst und auf dem Objektträger in einer Zone von 1,5 bis 2 cm verteilt. Der Objektträger wurde mit einem Bleistift beschriftet. Danach wurde die Probe an der Raumluft getrocknet. Die vorangehende Fixierung der Proben vor der Gramfärbung erfolgte nicht wie typisch durch Hitzefixierung mittels eines Bunsenbrenners, sondern durch Methanolfixierung, welche eine bekannte Alternativmethode der Fixierung darstellt (114, 115). Die Methanolfixierung wurde nach dem Protokoll von Minnerath et al. (114) durchgeführt.

Die Objektträger wurden aufgereiht und jeweils mit 200  $\mu$ l Methanol mittels einer Pipette geflutet. Dann wurde 2 Minuten gewartet und dann das restliche Methanol von den Objektträgern dekantiert. Die Objektträger wurden dann Luft getrocknet. Nach Trocknung von eventuellem Rest-Methanol nach der Fixierung schloss sich die Gramfärbung an. Die Gramfärbung wurde nach dem Protokoll des benutzten Gramfärbekits von Sigma-Aldrich durchgeführt (siehe 2.12.1 Material, Tabelle 1).

Der Objektträger wurde für 60 Sekunden mithilfe einer Plastikpipette mit Kristallviolett geflutet. Das Kristallviolett wurde daraufhin mit destilliertem Wasser abgewaschen. Es folgte die Flutung des Objektträgers mit Gram'scher Jodlösung mittels Plastikpipette. Nach 60 Sekunden wurde die überstehende Jodlösung vom Objektträger mit destilliertem Wasser abgespült. Danach wurde der Objektträger mit der Entfärbelösung mit einer Pipette betropft bis kein violetter Farbstoff aus der Probe mehr austrat. Der Objektträger wurde anschließend erneut mit destilliertem Wasser abgespült. Danach wurde mit einer Plastikpipette Safranin auf den Objektträger aufgetragen. Nach 60 Sekunden wurde das überschüssige Safranin mit destilliertem Wasser abgewaschen. Der Objektträger trocknete zum Schluss an der Raumluft und wurde danach unter einem Lichtmikroskop begutachtet.

## 2.10 Lagerung in Flüssigstickstoff

Unklare Staphylokokken-Spezies bei denen keine konsistente Speziesidentifizierung vom VITEK-2-compact möglich war und *Staphylococcus-aureus*-Isolate, die eine erhöhte minimale Hemmkonzentration (MHK) besaßen, aber eine grenzwertig niedrigere Konzentration als für eine VITEK-2-MRSA-Diagnose benötigt aufwiesen, und eine Wiederholung der Messung keine Klarheit brachte, wurden für eine spätere Analysephase mittels MALDI-TOF-Verfahren und PCR-Nachweis eventueller *mec*-Gene in

Flüssigstickstoff eingefroren (siehe auch 2.11 Weiterführende mikrobiologische Diagnostik). Ebenfalls wurden die Methicillin-sensiblen und -resistenten *Staphylococcus aureus* Referenzstämme in Flüssigstickstoff gelagert. Hierfür wurde ein Microbank-System genutzt (siehe 2.12.1 Material, Tabelle 1). Das folgende Prozedere orientierte sich an dem Protokoll des Herstellers und an dem Kapitel „*Procedures for the Storage of Microorganisms*“ von She et Petti (116).

Von den einzufrierenden Reinisolate wurden frische Reinisolate auf Columbia-Blutagar angezüchtet. Eine Einzelkolonie der Isolate wurden jeweils unter einer sterilen Werkbank aseptisch mit 1µl-Plastikimpfösen in einzelne Microbank-Vials inokuliert. Die Impföse wurde tief ins Microbank-Vial eingeführt und mit den Plastikbeads gerührt, sodass die Impföse möglichst keine Reste der gepickten Einzelkolonie mehr zeigt. Die Microbank-Vials wurden anschließend nicht zu fest verschlossen, mehrmals invertiert und in einem Styroporgefäß umgeben in Trockeneis begraben. Sobald das flüssige Kryopräservativ im Microbank-Vial fest wurde, meist in 3–5 Minuten, wurden diese in einem Flüssigstickstofftank bei –195 °C eingefroren.

Wenn ultra-tiefgefrorene Isolate benötigt wurden, wurden diese aus dem Flüssigstickstofftank genommen und in Trockeneis überführt. Mit dem Trockeneis wurden die Microbank-Vials in eine sterile Werkbank gebracht. Dort wurden die jeweiligen Microbank-Vials erst geöffnet. Ein Microbead wurde ohne Auftauprozess mit einer 1µl-Plastikimpföse aus dem festen-cremigen Kryopräservativ entnommen und auf eine Columbia-Blutagarplatte übertragen. Sollte das Kryopräservativ doch zu festgefroren sein, wurde das Vial in der Werkbank außerhalb des Trockeneises angetaut, bis das Kryopräservativ eine fest-cremige Konsistenz hatte, um ein Microbead aus dem Vial entnehmen zu können. Dies war meist nach wenigen Minuten Auftauen bei Raumtemperatur möglich. Das jeweilige Microbank-Vial wurde dann sofort wieder verschlossen und wieder ins Trockeneis gelegt. Das entnommene Microbead wurde dann vorsichtig auf dem Nährboden innerhalb eines Quadranten ausgerollt und zum Schluss sanft in den Agar gedrückt, sodass es haftete. Es erfolgte dann eine Vereinzelung aus dem Primärausstrichbereichs in üblicher 4-Quadranten-Technik mit 1µl-Plastikimpfösen. Die jeweilige Blutagarplatte wurde dann bei Temperaturen von 36°C inkubiert.

### **2.11 Weiterführende mikrobiologische Diagnostik**

Die in 2.10 Lagerung in Flüssigstickstoff beschriebenen Isolate, die eine weitere mikrobiologische Abklärung benötigten, wurden aus den jeweiligen Microbank-Vials entnommen, auf Blutagar ausgestrichen und gesammelt inkubiert. In Form von inkubierten Blutagarplatten wurden die Isolate zügig nach dem Anwuchs dem mikrobiologischen Institut des UKEs für eine abschließende Identifizierung und einen Resistenznachweis übergeben.

Die Speziesidentifizierung fand dort mittels MALDI-TOF Massenspektrometrie statt. Ergänzt wurde die Untersuchung durch eine PCR-Testung auf Resistenzgene *mecA* und *mecC*.

MALDI-TOF steht für „matrix assisted laser desorption ionization“ (MALDI) und „time of flight“ (TOF) (117). Beide Begriffe beschreiben die Grundlagen für diese Identifikationsmethode. Bei der MALDI-TOF Massenspektrometrie wird das Isolat in speziellen chemischen Substanzen eingebettet, die die Matrix bilden. Die Probe wird anschließend mithilfe eines Lasers mehrmals beschossen. Dadurch werden Moleküle aus der Probe ionisiert und herausgelöst. Diese werden dann mit elektrischer Spannung beschleunigt. Die verschiedenen Moleküle haben unterschiedliche Ladungen und Massen. Worauf sie im elektrischen Feld unterschiedlich stark beschleunigt werden und das schlägt sich in der Flugzeit nieder, die die unterschiedlichen, ionisierten Moleküle benötigen, um eine definierte Strecke bis zum Detektor zurückzulegen (117, 118). Die Moleküle aus einem Isolat bilden charakteristisches Muster, das mit bekannten Mustern

von vorbestimmten Isolaten verglichen werden kann. Da unter den ionisierten Molekülen sich auch speziesspezifische ribosomale Proteinsignaturen befinden, kann eine sichere Aussage zur Spezies des Bakteriums gemacht werden. Die MALDI-TOF Massenspektrometrie hat sich dadurch als gängige und elegante Methode eine Bakterienspezies zu bestimmen etabliert (117, 118).

## 2.12 Materialliste

### 2.12.1 Material

Tabelle 1; Material nach Hersteller alphabetisch sortiert

Material	Herstellernamen/-details	Bestell-/Referenznummer
Columbia-Blutagarplatten (5% Schafsblut)	bioMérieux; Marcy l'Etoile, Frankreich	43041
Densichek® Plus	bioMérieux; Marcy l'Etoile, Frankreich	21250
VITEK-2-AST-N214 Karten	bioMérieux; Marcy l'Etoile, Frankreich	413064
VITEK-2-AST-P592 Karten	bioMérieux; Marcy l'Etoile, Frankreich	22287
VITEK-2-compact Gerät	bioMérieux; Marcy l'Etoile, Frankreich	
VITEK-2-GN ID Karten	bioMérieux; Marcy l'Etoile, Frankreich	21341
VITEK-2-GP ID Karten	bioMérieux; Marcy l'Etoile, Frankreich	21342
CHROMagar™ MRSA „eSwab®“ Abstrichtupfer aus Nylon und Gefäß mit 1ml Amies-Lösung	CHROMagar; Paris, Frankreich Copan Italia SpA; Brescia, Italien	MR502 490CE.A
SuperFrost™ Plus Objektträger	Glaswarenfabrik Karl Hecht GmbH & Co. KG; Sondheim, Deutschland	42409110
Herasafe (Werkbank 1) (Inkubator)	Heraeus; Hanau, Deutschland	
(Werkbank 2 mit Dunstabsaugung)	Heraeus; Hanau, Deutschland Köttermann GmbH; Uetze, Deutschland	
Mannitol-Salz-Agar	Merck KGaA; Darmstadt, Deutschland	1.05404.0500
Microbank™-Mixed	Pro-Lab Diagnostics UK; Wirral, Vereinigtes Königreich	PL.170/M
Sterile Plastikimpfösen 1µl	Sarstedt; Nümbrecht, Deutschland	86.1567.010
Gramfärbe-Kit	Sigma-Aldrich; Buchs, Schweiz	77730
Thermo Scientific MSC 1.8 (Werkbank 3)	Thermo Electron LED GmbH; Langenselbold, Deutschland	51025430

### 2.12.2 Software

*Tabelle 2; Software*

<b>Software name</b>	<b>Version/Details</b>
IBM SPSS Statistics	26.0.0.0 und 27.0.0.0
Inkscape	1.1. Verfügbar unter <a href="https://inkscape.org/">https://inkscape.org/</a>
Microsoft Access	2108
Microsoft Excel	2101
QGIS	3.20.3. Verfügbar unter <a href="https://www.qgis.org/de/site/">https://www.qgis.org/de/site/</a>
VeraCrypt	1.24-Update6. Verfügbar unter <a href="https://www.veracrypt.fr/en/Home.html">https://www.veracrypt.fr/en/Home.html</a>

Deskriptive Statistik und statistische Tests wurden mit IBM SPSS Statistics durchgeführt.

Zur Gestaltung von Diagrammen und für einfache mathematische Operationen wurde Microsoft Excel benutzt.

Die Daten der Fragebögen sind als Microsoft Access Datenbank gespeichert.

Weltkartendiagramm (Abbildung 11) wurde mit dem Geoinformationssystem QGIS generiert.

Für Vektorgrafikzeichnungen wurde das Programm Inkscape genutzt.

### 3 Ergebnisse

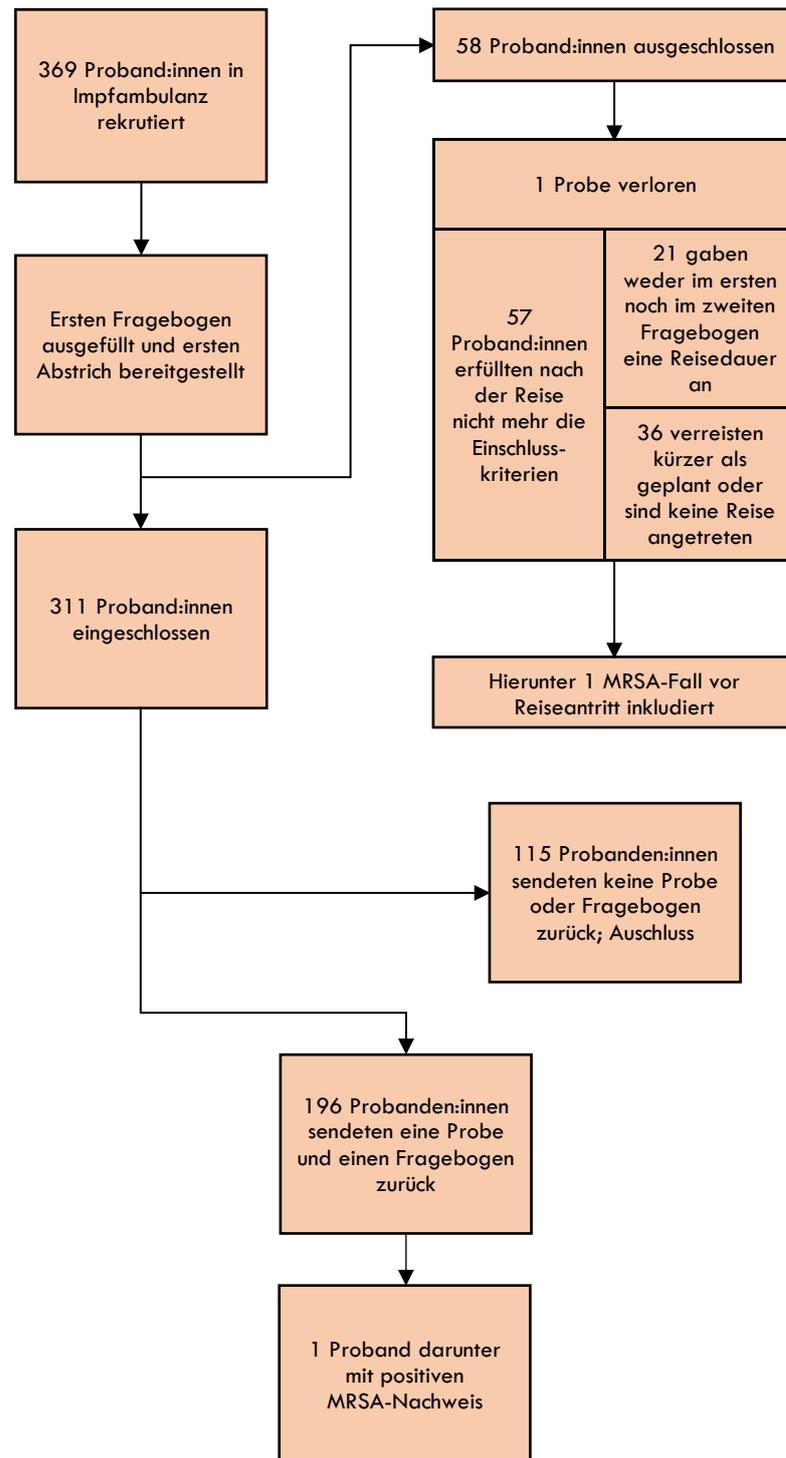


Abbildung 8; Flowchart des Studienverlaufs

### 3.1 Wichtigste Daten aus den Fragebögen der Studienteilnehmer

Tabelle 3; Überblick der wichtigsten Antworten aus den Fragebögen

Grundlage sind 196 Studienteilnehmende, die alle Einschlusskriterien erfüllt haben.

\*Studierende, Auszubildende und Schüler:innen der Gesundheitsberufe sind im Gesundheitswesen zugeordnet, nicht den Schüler:innen und Studierenden. Bei der Zählung der Gesundheitsberufe wurde sich ansonsten an die Falldefinition des statistischen Bundesamtes für die Gesundheitspersonalrechnung orientiert (119).

Unter Lehrer:innen sind Lehrer:innen allgemeinbildender Schulen gemeint, Hochschullehrer:innen zählen unter Andere.

†Summe der Besuche ergibt eine größere Summe als die Summe der Freiwilligen, da viele Proband:innen Mehrdestinationsreisen unternommen haben.

‡Enthält nicht Doxycyclineinnahme zwecks Malariaphylaxe. Diese Reisenden sind gesondert gezählt unter Malariaphylaxe

Kategorie	Probandenanzahl (Prozent), wenn nicht anders angegeben
<b>Geschlechteraufteilung</b>	
– Weiblich	117 (59,7%)
– Männlich	79 (40,3%)
<b>Medianes Alter (Gesamt)</b>	<b>34 (IQR 25–51) [Jahre]</b>
– Medianes Alter weiblich	30,5 (IQR 25–50,8) [Jahre]
– Medianes Alter männlich	35 (IQR 25–52) [Jahre]
<b>Mediane Reisedauer</b>	<b>23 (IQR 18–37,8) [Tage]</b>
– Mediane Reisedauer weiblich	23 (IQR 17–34) [Tage]
– Mediane Reisedauer männlich	24 (IQR 19–40) [Tage]
<b>Höchster Bildungsabschluss</b>	
– Hauptschulabschluss	3 (1,5%)
– Mittlere Reife	16 (8,2%)
– Hochschulreife (Abitur)	59 (30,1%)
– Fachabitur	12 (6,1%)
– Hochschulabschluss	96 (49,0%)
– Promotion	8 (4,1%)
– „Keine Angaben“ oder Frage nicht ausgefüllt	2 (1,0%)
<b>Erwähnenswerte Kumulationen von Berufsgruppen*</b>	
– Schüler:innen/Studierende	42 (21,4%)
– Gesundheitswesen	25 (12,8%)
– Lehrer:innen	11 (5,6%)
– Rentner:innen	10 (4,6%)
– Andere Erwerbstätige und Arbeitslose	104 (53,1%)
– „Keine Angaben“ oder Frage nicht ausgefüllt	4 (2,0%)
<b>Reisegründe</b>	
– Tourismus	168 (85,7%)
– Studium/Schüleraustausch	9 (4,6%)
– Freiwilligendienst	8 (4,1%)
– Geschäfts-/Dienstreise	6 (3,1%)

## Ergebnisse

– Verwandtenbesuch	5 (2,6%)
<b>Häufigkeit an vorangegangenen Fernreisen</b>	
– Ich reise das erste Mal	51 (26,0%)
– 1-2	65 (33,2%)
– 3-5	33 (16,8%)
– mehr als 5	43 (21,9%)
– keine Angaben	4 (2,0%)
<b>Unterbringungsart</b>	
– Outdoor/Camping	21 (10,7%)
– Unterbringung bei Einheimischen/ Verwandten	44 (22,4%)
– Kreuzfahrt	6 (3,1%)
– Einfaches Hotel/Guesthouse/Hostel	80 (40,8%)
– Mittelklasse-Hotel	37 (18,9%)
– Luxus-Hotel	7 (3,6%)
– Keine Angaben	1 (0,5%)
<b>Reiseregionen zusammengefasst nach WHO- Regionalbüros<sup>†</sup></b>	
– Afrika	99 (26,8%) [Besuche]
– Westlicher Pazifik	90 (24,3%) [Besuche]
– Panamerika	85 (23,0%) [Besuche]
– Südostasien	72 (19,5%) [Besuche]
– Europa	14 (3,8%) [Besuche]
– Östliches Mittelmeer	10 (2,7%) [Besuche]
<b>Kontakt mit ausländischem Gesundheitssystem (Gesamt)</b>	<b>15 (7,7%)</b>
– Ambulant (ausschließlich)	11 (5,6%)
– Stationär/Kurzstationär, (einschließlich voran- gegangene ambulante Versorgung)	4 (2,0%)
<b>Antibiotikaeinnahme während der Reise<sup>‡</sup></b>	<b>10 (5,1%)</b>
– Nach Kontakt mit ausländischen Gesundheits- system	7 (3,6%)
– Selbstmedikation	3 (1,5%)
<b>Malariaprophylaxeinnahme (Gesamt)</b>	<b>41 (20,9%)</b>
– Atovaquone/Proguanil	36 (18,4%)
– Doxycyclin	2 (1,0%)
– Mefloquin	2 (1,0%)
– Keine Angaben zum Präparat	1 (0,5%)

369 Personen konnten ursprünglich für die Studie rekrutiert werden. 58 Proband:innen mussten ausgeschlossen werden. Von den eingeschlossenen 311 Proband:innen haben 196 Proband:innen eine Probe und den Fragebogen 2 zurückgesendet. Dies ergibt eine Antwortquote von 63,0%. Die folgende Analyse bezieht sich auf die Daten der 196 Proband:innen.

## Ergebnisse

Unsere Studienkielent besitzt ein medianes Alter von 34 Jahren (IQR 25–51). 117 Probandinnen sind weiblich, 79 Probanden männlich. Ein unbestimmtes bzw. drittes Geschlecht wurde von keinem Studienteilnehmer angegeben. Es besteht eine signifikante Mehrheit an weiblichen Probandinnen (Binomial-Test; Testanteil 50:50; p-Wert: 0,008). Bei der Altersverteilung über die Geschlechter herrschten keine signifikanten

### Altersdemographie der Studienpopulation (Absolute Anzahl)

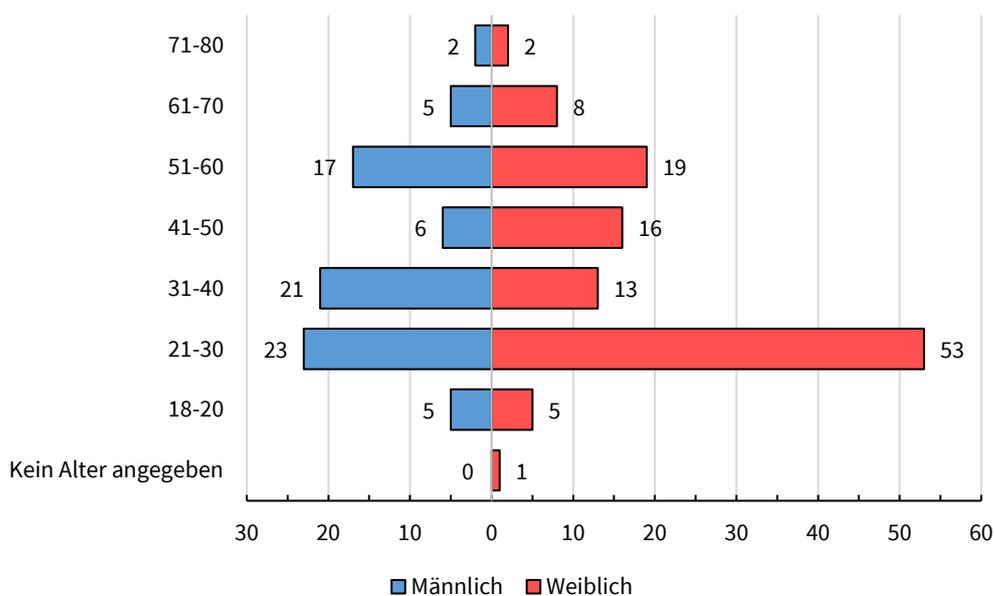


Abbildung 9; Bevölkerungspyramide der Studienpopulation

Unterschiede (Mann-Whitney-U-Test; p-Wert: 0,383). Für eine Veranschaulichung siehe Abbildung 9.

Ein großer Teil der Freiwilligen waren Schüler:innen oder Studierende der Nicht-Gesundheitsberufe. Ein weiterer Teil der Freiwilligen geht einem Beruf im

### Histogramm der Reisedauer

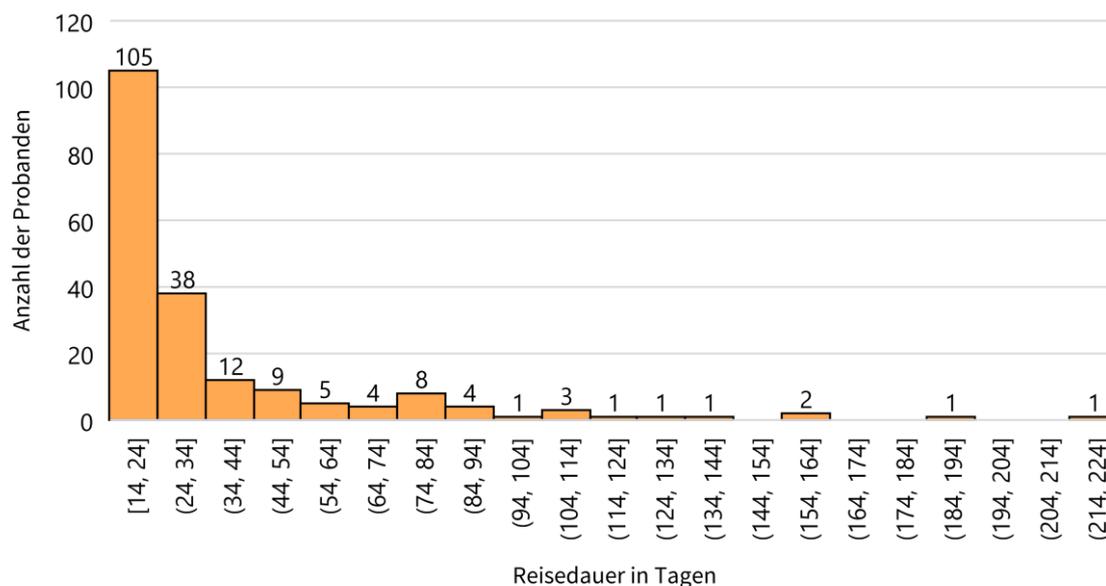


Abbildung 10; Histogramm der Reisedauer der Freiwilligen

Gesundheitswesen nach. Es gab keine Proband:in in unserer Studie, der in der Nutztierwirtschaft arbeitete.

Die Studienteilnehmer sind im Median 23 Tage (IQR 18–37,8) verreist. Dabei gab es einige starke Ausreißer von Langreisenden mit der längsten Reise von 215 Tagen. Solch lange Reisen waren aber in der deutlichen Minderheit. Die 90. Perzentile aller Reisenden befindet sich bereits bei 80 Tagen. Eine unterschiedliche Verteilung der Reisedauer lässt sich zwischen den Geschlechtern nicht feststellen (Mann-Whitney-U-Test; p-Wert: 0,452).

Die Proband:innen verreisten dabei relativ gleichmäßig in die verschiedene Weltregionen mit Ausnahme vom östlichen Mittelmeer und Europa. Letzteres ist vom Studiendesign beabsichtigt. Reisen nach Subsahara-Afrika stellen die Mehrheit der Reisen dar. Die meisten Freiwilligen traten ihre Reise aufgrund touristischer Gründe an. Verwandtenbesuche machten einen geringen Anteil der Reisenden aus. Mehr als Fünftel der Reisenden war jedoch bei Einheimischen oder Verwandten während des Aufenthaltes untergebracht. Die überwiegende Mehrheit unsere Proband:innen brachten schon Reiseerfahrung mit und haben schon mindestens einmal eine Fernreise unternommen. Für rund ein Viertel der Studienteilnehmer stellt die im Rahmen der Studie angegebene Reise ihre erste Reise in Tropenländer dar.

Für die Mehrheit der Freiwilligen verlief die Reise ohne medizinische Zwischenfälle. 15 mussten jedoch lokal medizinische Hilfe in Anspruch nehmen. Vier wurden zusätzlich stationär oder kurzstationär aufgenommen. Zwei der vier Reisenden konnten vor 24 Stunden entlassen werden. Bei knapp der Hälfte (7 von 15 Proband:innen), die Kontakt zum lokalen Gesundheitssystem des Reiselandes hatten, beinhaltete die Therapie die Gabe eines Antibiotikums.

Ungefähr ein Fünftel der Studienpopulation nahm eine Malariaphylaxe ein. Atovaquon/Proguanil (z.B. Malarone) ist das häufigste eingenommene Präparat. Doxycyclin wurde nur von einem geringen Teil der Freiwilligen als Malariaphylaxe genutzt (1%). Doxycyclin machte dabei einen Anteil von 4,9% unter den Malariaphylaxenutzern selbst aus. 87,8% der Studienteilnehmer, die eine Malariaphylaxe einnahmen, nutzten Atovaquon/Proguanil.

Reiseziele der Studienteilnehmer

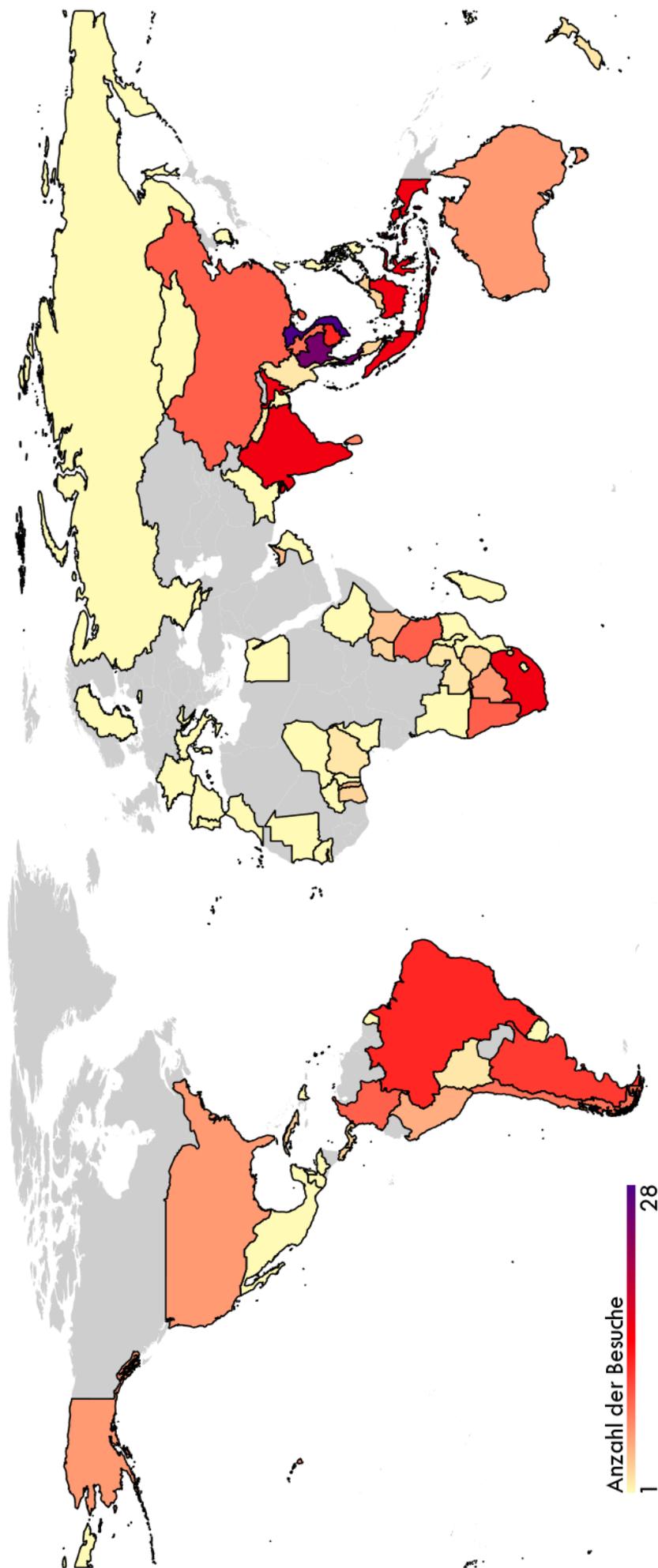


Abbildung 11: Weltkarte mit den Reisezielen der Studienteilnehmer

Farblich markiert ist von wie vielen Probanden ein Land besucht wurde. Z.B. Vietnam wurde von 28 Probanden (7,6%) als Reiseziel angegeben.

Für Detaillierte Auflistung siehe unter 10.1 Reiseländer im Anhang. Abhängige Gebiete sind gesondert dargestellt, wenn die Freiwilligen in der Detailtiefe so angegeben haben (z.B. französisch Guyana, Taiwan).

Weltkartenmaterial stammen von Eurostat: © EuroGeographics bezüglich der Verwaltungsgrenzen (120)

## 3.2 Mikrobiologische Ergebnisse

### 3.2.1 MRSA-Befund

Ein MRSA-positiver Studienteilnehmer konnte zum Beginn der Studie entdeckt und ausgeschlossen werden. Sieben Isolate von vier Proband:innen konnten keinem klaren Methicillin-Resistenzphänotyp zugeordnet werden oder identifiziert werden und wurden an der Mikrobiologie des UKEs weiter analysiert. Bei den Isolaten handelte es sich laut MALDI-TOF Massenspektrometrie ausschließlich um *Staphylococcus aureus*. Anschließend erfolgte eine PCR-Testung der sieben Isolate. Dabei zeigte sich ein Isolat PCR positiv hinsichtlich eines *mecA*-Gen. Ein *mecC*-Gen konnte nicht nachgewiesen werden. Somit konnte insgesamt bei einem Probanden nach Reise ein MRSA festgestellt werden.

Tabelle 4; MRSA-Nachweise nach Reise in der Studienpopulation

	Proband:innen
Proband:innen MRSA negativ nach Reise	195 (99,5%)
Proband:innen MRSA positiv nach Reise	1 (0,5%)
Summe	196 (100%)

Fragebogen 3 und eine dritte Probe liegen für diesen Probanden nicht vor, da die Bearbeitung des unklaren Isolates des im Nachhinein MRSA-positiven Falles zu lange gedauert hatte und die MRSA-Bestätigung dadurch im Studienzeitplan zu spät kam. Eine Nachverfolgung des Probanden fand nicht statt, da er aus dem von der Studie definierten Untersuchungszeitraum von einem Monat nach Reiserückkehr für einen Folgeabstrich weit herausgefallen war. Ein Fragebogen 3 und Abstrichröhrchen wurde somit nicht an den Probanden verschickt. Daten aus Folgefragebögen und Folgeproben liegen für diesen Probanden demnach nicht vor (siehe auch 4.2 Methoden für weitere Diskussion).

Aufgrund der fast ausschließlich hohen Anzahl an Nullbindungen in den Daten (siehe Tabelle 4), die bereits auf eine fehlende statistische Signifikanz hindeuten, bleibt es bei einer deskriptiven Beschreibung.

### 3.2.2 Nebenbefunde

#### 3.2.2.1 MSSA-Besiedlung

Tabelle 5; Kreuztabelle der MSSA-Nachweise und Proband:innen

\*Hinweis zur Summe von 195 Proband:innen: In der Betrachtung ist der MRSA-positive Proband als Spezialfall ausgeschlossen. Der Proband ist zwar mit einem *Staphylococcus aureus* besiedelt, dabei handelt sich jedoch nicht um einen MSSA und wurde deswegen in der Auswertung hier nicht berücksichtigt.

	Nach Reise MSSA positiv	Nach Reise MSSA negativ	Summen
Vor Reise MSSA positiv	47 (24,1%)	13 (6,7%)	60 (30,8%)
Vor Reise MSSA negativ	17 (8,7%)	118 (60,5%)	135 (69,2%)
Summen	64 (32,8%)	131 (67,2%)	195* (100%)

Ohne Betrachtung des MRSA-positiven Proband:innen, konnten bei 60 von 195 Proband:innen ein Methicillin-sensibler *Staphylococcus aureus* vor Reiseantritt nachgewiesen werden. Bei 13 Proband:innen änderte sich dies nach der Reise. Bei ihnen konnte kein MSSA mehr nach Reise nachgewiesen werden. Umgekehrt konnte nach Reise bei 17 Proband:innen nach Reise ein MSSA nachgewiesen werden, der nicht vorher nachweisbar war. 118 Freiwilligen konnte zu keinem Zeitpunkt der Studie ein MSSA

nachgewiesen werden. Reisen scheint keine signifikanten Veränderungen der MSSA-Besiedlung in unserer Studienpopulation hervorzurufen (McNemar-Test; p-Wert: 0,584).

### 3.2.2.2 Spektrum isolierter Bakterien

Der Großteil (knapp über 90%) der isolierten Bakterien aus beiden Abstrichen der 196 Proband:innen sind Staphylokokken. Gramnegative Bakterien wurden selten nachgewiesen. Nur bei 6 Proband:innen insgesamt konnten gramnegative Stäbchen im Nasenabstrich vor oder nach Reise detektiert werden (siehe für Details 10.2 Isolierte Bakterien).

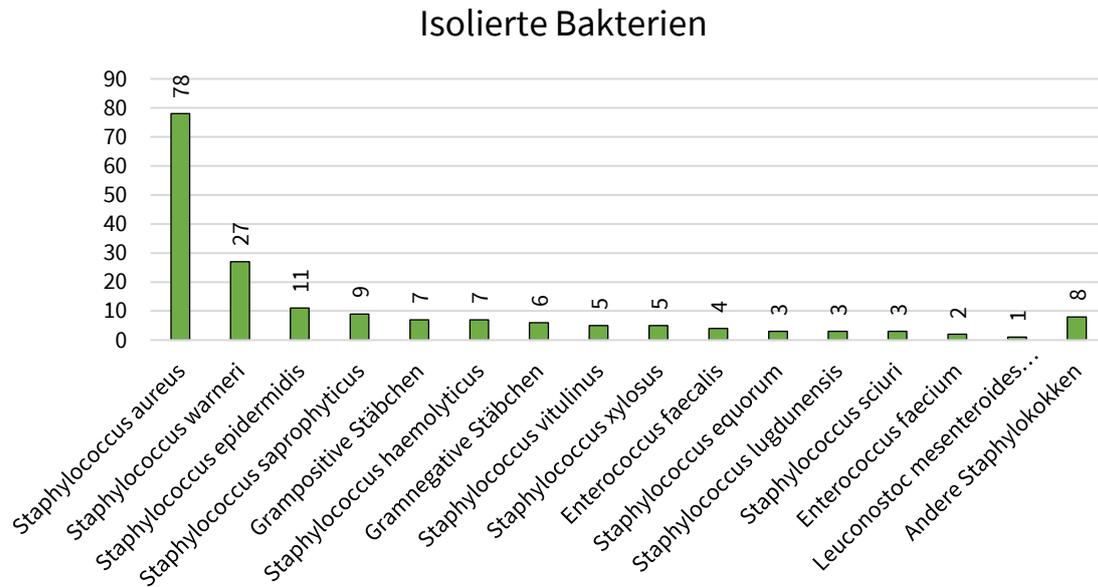


Abbildung 12; Spektrum der nachgewiesenen Bakterien

Zahl gibt an bei wie vielen Proband:innen die Spezies vor oder nach Reise nachgewiesen werden konnte. Die Angaben beinhalten Mehrfachkolonisationen. „Grampositive Stäbchen“ enthält coryneforme Bakterien. Staphylokokkenspezies unter der Prävalenz von 2 Proband:innen wurden zusammengefasst. Für volle Aufschlüsselung siehe Tabelle 9 in Abschnitt 10.2 Isolierte Bakterien.

## 4 Diskussion

### 4.1 Daten aus den Fragebögen

Das mediane Alter unserer Studienpopulation zeigte sich als außerordentlich jünger als das mediane Alter der deutschen Bevölkerung. Die Mediane liegen um fast 10 Jahren auseinander mit 30,5 Jahren (weiblich) und 35 Jahren (männlich) vs. 47,6 Jahren (weiblich) und 44,1 Jahren (männlich) im Stichjahr 2019 (121). Auch ein Vergleich mit dem Altersmedian Hamburgs von etwa 40 Jahren ergibt sich das Bild einer signifikant jüngeren Studienpopulation (eigene Berechnung des Medians mit den Bevölkerungszahlen aus der Datenbank von Destatis Stichjahr 2019 (122); Einstichprobentest nach Wilcoxon; Vergleichsmedian: 40; p-Wert: 0,025). Dieser Unterschied ist sogar dadurch verstärkt, dass in den Bevölkerungserhebungen jüngere Altersjahrgänge, wie die Jahre 0–17, miteinfließen, die durch rechtlich-ethische Bedingungen nicht an unserer Studie teilnehmen konnten. Ein direkter Vergleich der Erwachsenenmediane würde vermutlich zu einer noch größeren Sichtbarkeit der Altersdifferenz zwischen Studien- und Bevölkerungspopulation führen.

*Tabelle 6; Zugrundeliegende Tabelle für Chi-Quadrat-Anpassungstest*

*Als Verteilung sind die Verteilung der beruflichen Bildungsabschlüsse der deutschen Bevölkerung zugrunde gelegt worden (123).*

*$\chi^2$ : 159,318; p-Wert (exakt): <0,001*

	Proband:innen	Erwartete Anzahl
<b>Promotion</b>	8	2,3
<b>Hochschulabschluss</b>	96	33,6
<b>Kein Hochschulabschluss</b>	90	158,1

Des Weiteren besteht unsere Studienpopulation zu einem großen Teil aus höheren Bildungsschichten und unterscheidet sich damit signifikant (Chi-Quadrat-Anpassungstest; p-Wert: <0,001) von der deutschen Bevölkerung. 2019 besaßen 18,5% der deutschen Bevölkerung einen Hochschulabschluss, darin enthalten sind 1,2% der Promovierten Deutschlands (123). Für die erwarteten Werte für unsere Studienpopulation, die sich aus den Prozentsätzen ergeben, siehe Tabelle 6. Zwar wurde nicht nach dem Einkommen

unserer Studienteilnehmer gefragt, da aber in Deutschland das Einkommen stark mit dem Bildungsabschluss korreliert (124), ist davon auszugehen, dass unsere Studienpopulation wahrscheinlich nicht wenige Teilnehmer aus höheren sozio-ökonomischen Einkommensschichten beinhaltet.

Der Anteil an Beschäftigten im Gesundheitssystem in unserer Studie ist mit 12,8% vergleichbar mit der Masse der Erwerbstätigen in Deutschland. 2019 waren etwa 5,74 Millionen von 45,12 Millionen Erwerbstätigen in Deutschland im Gesundheitswesen beschäftigt (125, 126). Dies entspricht 12,7% der Erwerbstätigen bzw. 12,4% der Erwerbspersonen.

*Tabelle 7; Berufsangaben bereinigt nach Erwerbspersonen*

	Proband:innen	Prozent unter den Erwerbspersonen in der Studie
<b>Gesundheitswesen ohne Studierende, Auszubildende und Schüler:innen</b>	22	16,1%
<b>Lehrer:innen</b>	11	8,0%
<b>Andere Erwerbstätige und Arbeitslose</b>	104	75,9%
<b>Gesamt</b>	137	100,0%

In unserer Studie besteht die Studienpopulation zwar zu einem nicht kleinen Teil aus Nichterwerbspersonen (Schüler:innen, Studierende und Rentner:innen), aber auch bei einer um Nichterwerbspersonen bereinigten Betrachtung mit einem Studienanteil von 16,1% zeigen sich keine signifikanten Unterschiede, da die Schüler:innen und Studierende des Gesundheitswesens herausgerechnet werden müssen, weil diese nicht in der Gesundheitspersonalrechnung des Bundes eingebunden sind (Binomialtest; Testanteil 12,4:87,6; p-Wert: 0,121; siehe Tabelle 7) (119). Die mediane Reisedauer von 23 Tagen in unserer Studie ist um ca. 5–6 Tage signifikant länger als bei Erhebungen der Reisebranche in Deutschland (Einstichprobenstest nach Wilcoxon; Vergleichsmedian: 18; p-Wert: <0,001). Die deutsche Bevölkerung verreist zwar im Schnitt um die 13 Tage (127–129), bei Fernreisen liegt die durchschnittliche Reisedauer aber höher bei ungefähr 17 bis 18 Tagen (127, 130). Jüngere Altersgruppen tendieren dabei zu längeren Reisen, was sich mit der Altersstruktur unserer Proband:innen deckt (127). Die Verteilung der Reiseziele unserer Freiwilligen stimmt zwar nicht mit repräsentativen Reiserhebungen überein, aber die Tendenzen, wie starker Fokus von Südostasien, Indien und niedriger Anteil des mittleren Ostens ähneln Erhebungen aus der Reisebranche (127, 129). In unserer Studie sind jedoch Nordamerika unterrepräsentiert und Afrika überrepräsentiert. Eine Erklärung für die fehlenden Reisenden nach Nordamerika ist eventuell der Rekrutierungsort, da vermutlich für eine Nordamerikareise eine Reiseberatung seltener von Reisenden als nötig gesehen als für z.B. Afrikareisen. Eine eventuelle notwendige Gelbfieberimpfung für die Einreise in einige afrikanische Staaten könnte ebenso eine Ursache für die Verzerrung sein.

Die Häufigkeit an Kontaktaufnahmen mit ausländischen Gesundheitssystemen im Reiseland bewegt sich mit 7,7% bei unseren Reisenden im Rahmen dessen, was in einigen Publikationen bereits bei 5% (131) bis 8% (132) beziffert wurde. Unsere Hospitalisierungsrate war mit 2% der Studienpopulation jedoch signifikant erhöht im Vergleich zu Inzidenzen aus der Literatur von 0,3%/0,4% (Binomialtest; Testanteil 0,3/0,4:99,7/99,6; p-Wert: <0,001/0,001) (132). Allerdings zählen zu unserer Zählungsweise auch kurzstationäre Aufenthalte von kleiner 24 Stunden dazu, was eine Erklärung für den relativ hohen Anteil sein könnte.

### 4.2 Methoden

Der Standardversand der Proben über den gewöhnlichen Postweg über die Deutsche Post AG hat beim Empfang keine Probleme verursacht und von Proband:innen wurden keine Beschwerden zugetragen. Da *Staphylococcus aureus* in Transportmedien bis zu 96 Stunden bei Raumtemperatur überlebensfähig ist (133). Die Deutsche Post AG spricht davon, 90% ihrer Briefsendungen am nächsten Tag ausliefern zu können (134). Dies stellt daher in der Regel ein ausreichendes Zeitfenster für den Transport dar. Leider erhielten unsere Rücksendungen nur in Einzelfällen einen vollständigen Poststempel, sodass wir keine eigene Laufzeitberechnung durchführen konnten bzw. diesbezüglich keine Daten erheben konnten. Andere Studien haben ebenfalls den Postweg zum Probentransport gewählt und damit ebenfalls gute Erfahrungen gemacht (98, 99).

Der konsistente Anwuchs und Nachweis von Methicillin-sensiblen *Staphylococcus aureus* bestätigt dies (Positivrate im Rahmen der erwarteten Prävalenz, siehe 4.3 Mikrobiologische Ergebnisse). Er ist ebenfalls ein Hinweis darauf, dass der Abstrich von den Freiwilligen relativ erfolgreich durchgeführt wurde. Unsere ausgewählten selektiv-differential Nährmedien (MSA und Chromagar) sind bereits in großen Studien zu *Staphylococcus aureus* angewendet worden (90, 99). Die mikrobiologischen Nebenbefunde zeigen keinen Hinweis auf große Kontaminationen. Die nachgewiesenen Bakterien sind mehrheitlich bereits im Zusammenhang mit der bakteriellen Nasenflora gebracht worden (135). Dies ist ebenfalls ein Hinweis, dass die Studienteilnehmer den Abstrich korrekt durchgeführt haben. Der Anteil an

gramnegativen Bakterien, der formal nicht auf den selektiv- und differenzial Nährmedien – weder auf MSA, noch auf Chromagar – anwachsen sollte, blieb niedrig. Bei 6 Proband:innen (3,1%) konnten gramnegative Bakterien vor oder nach Reise nachgewiesen werden. Diese Daten dürfen jedoch nicht auf die wahre Last an gramnegativen Erregern in der Nasenflora extrapoliert werden, da das Studienprozedere nicht auf den Nachweis von gramnegativen Bakterien ausgelegt war und eine Kontamination durch die Proband:innen bei der Abnahme des Abstriches nicht vollständig ausgeschlossen werden kann.

Das aufgebaute mikrobiologische Prozedere zeigte sich in der Praxis erfolgreich MRSA zu diagnostizieren. Neben den Positivkontrollen der Chromagarchargen und des nach Reise MRSA positiven Proband:innen wurde ein Studienteilnehmer aufgrund eines positiven MRSA-Nachweises aus einem Erstabstrich vom VITEK-System erkannt und aus der Studie ausgeschlossen. Über einen Anreicherungsschritt der Nasenabstriche wurde diskutiert, aber zugunsten eines schlanken mikrobiologischen Prozederes verzichtet.

Der Anteil der Rücksendungen von 63,0% zeigt, dass trotz fehlenden Zusatzanreizen eine gute Studienadhärenz vorlag. Andere Studien, die ähnlich postbasiert und ohne Anreize arbeiteten, wie z.B. van Cleef et al., kamen auf niedrigere Antwortquoten von 23,8–48% (99, 136).

Der genaue Mechanismus der Verlust der Erstprobe eines Probanden ist weiterhin unklar. Vor allem da am selben Tag alle anderen angefallenen Proben ohne Zwischenfälle bearbeitet werden konnten. Die Diskrepanz zwischen Fragebögen und Ausstrichen ist schnell aufgefallen, aber die Probe konnte initial nicht gefunden werden. Die Probe wurde Monate später durch Zufall in einem anderen Abschnitt des Kühlraums aufgefunden.

Weiterhin hätte im Vorfeld der Studie für unklare VITEK-Ergebnisse eine schnelleres Verfahrensprotokoll etabliert werden sollen bzw. die Proben schneller mittels MALDI-TOF Massenspektrometrie und PCR analysiert werden sollen. Die Verzögerung kam daher, dass es sich bei den letzten unklaren Fällen weitgehend um unsichere MHK-Fälle handelte, die aber zu MSSA tendierten. Diese Isolate waren aber vom VITEK-System erfolgreich und konsistent als *Staphylococcus aureus* identifiziert worden, was später durch eine MALDI-TOF-Diagnostik bestätigt wurde. Das im Nachhinein MRSA positive Isolat verursachte im Gegensatz dazu Probleme in der Speziesidentifizierung. *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus pseudintermedius* und *Staphylococcus aureus* standen nach Wiederholungen als VITEK-Ergebnisse im Raum. Eine Gramfärbung zeigte grampositive Haufenkokken. Da aber die Mannitolaktivität des Isolates, sowohl auf MSA wie auch im VITEK-2-compact, negativ ausgeprägt war, ist von einer geringen Prä-Testwahrscheinlichkeit für *Staphylococcus aureus* ausgegangen worden. Das Isolat wurde ultratiefgefroren und eine abschließende Untersuchung an der Mikrobiologie des UKEs mittels MALDI-TOF und PCR erfolgte aus organisatorischen Gründen am Studienende, um eine formale Bestätigung einzuholen. Dies führte zu dem unglücklichen Umstand, dass eine Nachverfolgung außerhalb des Zeitrahmens lag, als das besagte Isolat sowohl als *Staphylococcus aureus* als auch *mecA* positiv identifiziert wurde. Der Proband war schon seit fast einem Jahr zurückgekehrt, was deutlich außerhalb des Nachbeobachtungszeitraumes lag. Der Proband wurde jedoch im Nachhinein zwecks Mitteilung des MRSA-Nachweises kontaktiert.

### 4.3 Mikrobiologische Ergebnisse

Wir haben eine MSSA-Prävalenz mit 24,1–39,5% erhoben, je nach Betrachtung von ausschließlich vor und nach Reise MSSA positiven oder zu irgendeinem Zeitpunkt positiven Proband:in. Dies bewegt sich im Rahmen dessen, was in der Literatur beschrieben wird (18, 19, 21, 23). Auch scheinen Fernreisen den MSSA-Status unserer Proband:innen nicht signifikant zu ändern (siehe 3.2.2 Nebenbefunde). Theorien, dass

Reisen durch beispielsweise ein anderes Klima oder andere Umweltfaktoren das Mikrobiom beeinflussen, scheinen sich mit den vorliegenden Daten für die alleinige Besiedlungsrate von *Staphylococcus aureus* nicht zu bestätigen (28). Rückschlüsse auf die Zusammensetzung der *Staphylococcus-aureus*-Population, ob z.B. neue Sequenztypen aus dem Reiseland erworben wurden, kann mit den uns vorliegenden Daten nicht getroffen werden, da keine Genotypisierung der MSSA-Isolate stattfand.

Zum Thema MSSA-Besiedlung haben Zanger et al. Untersuchungen durchgeführt, die zu anderen Schlüssen führte als unsere Daten. Zanger et al. beschreiben in ihrer Fall-Kontrollstudie mit SSTI-Patient:innen ein erhöhtes Risiko im Vergleich zu Kontrollproband:innen nach einer Reise einen PVL-positiven MSSA-Stamm aus dem jeweiligen Reiseland zu erwerben und auch die Kolonisationsrate ist im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht (81). Zanger et al. räumen jedoch ein, dass SSTI durch die Natur der Erkrankung bereits eine Vorselektion ist und eine höhere Besiedlungsrate mit MSSA im Vergleich zu anderen Reisenden daran liegen könnte. In Zanger et al. besteht im Gegensatz zu unserer Studie zudem ein großer Anteil der Reisenden aus Nicht-Touristen 50% vs. in unserer Studie 11,8% und zusätzlich sind unsere Proband:innen viel kürzer verreist als in der Studie von Zanger et al. 2,3 Monate im Durchschnitt vs. 23 Tage im Median in unserer Studie (81). Neben der Zeitabhängigkeit einer Besiedlung könnten Entwicklungshelfer, Bildungsreisende oder Verwandtenbesucher mehrere Vorreisen getätigt haben und dementsprechend vorher mit ausländischen MSSA Sequence-Types besiedelt worden sein. Zwar werden diese Szenarien durch die Kontrollgruppe minimiert, die auch wenig Proband:innen mit Reisen touristischer Natur beinhaltet, aber die mögliche Relevanz solcher Effekte kann nicht ganz ausgeschlossen werden. Der beobachteten Einzelreise könnte dadurch ein höherer Beitrag am positiven Nachweisergebnis zugemessen werden.

Die gewonnenen Ergebnisse der Studie stehen ebenfalls im Widerspruch zu den bisherigen Aussagen zur MRSA-Verbreitung in Zusammenhang mit Reisen, die weitgehend von einer Reiseassoziation sprechen. Ähnliche prospektive Studien mit Fokus auf multiresistente gramnegative Darmbakterien deuten auf ein hohes Erwerbungsrisiko durch Fernreisen hin (94, 95). Wir konnten kein höheres Erwerbungsrisiko von MRSA nach Reise feststellen. Die in unserer Studie erhobene MRSA-Prävalenz nach Reise von 0,5% unterscheidet sich sogar ebenfalls nicht signifikant von in der deutschen Allgemeinbevölkerung beobachteten Prävalenz von 0,7% (Binomialtest; Testanteil 0,7:99,3; p-Wert: 0,5) (23).

Erklären könnte sich dieser Unterschied zur Literatur neben Limitation der Studie (siehe dafür 4.4 Limitationen) dadurch, dass für eine Übertragung von MRSA in der Regel engerer und längerer Kontakt nötig ist als z.B. bei einer Übertragung von multiresistenten Darmkeimen. Für Letztere gibt es durch den fäkal-oralen Übertragungsmechanismus auch häufigere Übertragungsmomente bei einer Reise, auch wenn kein enger Kontakt zur einheimischen Bevölkerung besteht, da zum Beispiel meist drei Mahlzeiten am Tag über den gesamten Reisezeitraum zu sich genommen werden und Reisende dabei auf lokale Verpflegung zurückgreifen (89).

Die Hypothese, ob Malariaphylaxe in Kombination mit Fernreisen als Ursache der beobachteten MRSA-Fälle bei Reiserückkehren sein könnte (84), kann mit den Daten der Studie teilweise entschärft werden. Zwar bezieht Helgason et al. diese These auf die Einnahme von Doxycyclin (84), die vorliegenden Daten konnten eine Risikoerhöhung eines MRSA-Erwerbes durch Atovaquone/Proguanil, was von knapp ein Fünftel unserer Freiwilligen eingenommen wurde, nicht nachweisen. Eine Aussage zum Einfluss von Doxycyclin kann unsere Studie aufgrund der geringen Einnahmezahl in unserer Studienpopulation jedoch nicht tätigen.

Die Diskrepanz zu der Fülle an retrospektiven Studien zur MRSA-Übertragung durch Fernreisen, die auf ein Risiko hindeuten, könnte mit der Menge an unbetroffenen Reisenden, die bei einer retrospektiven Betrachtung entgehen, und der damit unvermeidbar folgenden Vorselektion durch retrospektive Studiendesigns erklären. Einige Studien, wie z.B. Tappe et al., Nurjadi et al. oder Helgason et al. (84, 85, 90), untersuchten Patient:innen, die aufgrund von SSTIs vorstellig wurden, aber dies ist an sich schon eine Vorselektion, die das erhebbare Risiko verfälscht, da die vielen Reisenden ohne SSTI oder gesundheitliche Probleme außer Acht gelassen werden, die durch ihre Reise besiedelt oder nicht besiedelt werden. Zhou et al. sprechen davon, dass die Daten von Larsson et al. den Umkehrschluss zulassen, dass dreiviertel der MRSA-Fälle in der schwedischen Provinz Skåne auf im Ausland erworbene MRSA-Fälle zurückzuführen sei. Zwar sagt Larsson et al., dass ein Großteil der Nicht-Schweden ihren MRSA-Keim meist in ihrem Heimatland erworben haben, der Umkehrschluss durch Zhou et al. zu dreiviertel ist jedoch mit den Daten nicht komplett möglich, da die Nicht-Schweden, die in Schweden MRSA erworben haben, das in der Studie das Inland darstellt, nicht genau beziffert werden (28, 87). Der von Larsson et al. zudem bemerkte allgemeine Anstieg der MRSA-Inzidenz in der Provinz kann eventuell durch die gestiegene Einwohnerzahl in der untersuchten Provinz Skåne relativiert werden (137).

Eine Übertragung der prozentuellen Anteile von MRSA positiven vorstellig werdenden Patient:innen mit positiver Reiseanamnese als allgemeines Risiko sollte nicht ohne eine Kontextsetzung der Menge an verreisenden Menschen geschehen. Um die Menge der Reisenden in Deutschland in Perspektive zu setzen: 2019 gab es Deutschland 55,2 Millionen Reisende, die länger als 5 Tage Urlaub gemacht haben (129). Erhebungen zu Folge sind 2018 mit 62% noch nie so viele Bundesbürger verreist wie zuvor (138). Fernreisen stellen dabei einen Marktanteil von 8,4%–18% (127, 129, 130). Dienstreisen bleiben bei den vorgenannten Quellen unberücksichtigt. Der deutsche Reiseverband geht 2019 von zusätzlich 195,4 Millionen Geschäftsreisen mit Deutschland als Ausgangspunkt aus (128).

Stenhem et al. (93) gehen auf den Aspekt der Reisesströme in ihrer Studie ein und rechneten die gemeldeten, importierten MRSA-Fälle Schwedens auf die erhobenen Reisedaten der schwedischen Bevölkerung hoch. Es fand zwar eine statistische Korrektur gegen Confounder statt, jedoch ist die Datenbasis bereits vorselektiert und ist anfällig für Verzerrungen. Zweidrittel der für die Hochrechnung herangezogenen Reisenden waren HA-MRSA positiv und hatten nach der Falldefinition der Studie Kontakt zu einem ausländischen Gesundheitssystem (93). Zwar schwanken die Zahlen stark nach Reiseregion und die Reiseregionen mit dem höchsten errechneten Inzidenzen besitzen auch die höchsten Anteile von CA-MRSA, aber es bleibt ein nicht zu unterschlagender Anteil an HA-MRSA-Nachweisen z.B. von 41,3% bei der nordafrikanischen Reiseregion, der Region mit dem höchsten Anteil an CA-MRSA mit 58,7% (93). Dieser Anteil an HA-MRSA müsste mit der Häufigkeit verglichen werden mit der typische Reisende Kontakt mit lokalen Gesundheitssystemen aufnehmen. In unserer Studie waren es nur 7,7% der Proband:innen, die Kontakt zum Gesundheitssystem des Reiselandes hatten. In der Literatur findet sich eine Kontaktrate zum ausländischen Gesundheitssystems von Reisenden bei 5–8% (131, 132). Diese Zahlen deuten an, dass die Population aus den nationalen MRSA-Fallregistern Schwedens, die als Basis für die Berechnung von Stenhem et al. dienten, sich von Durchschnittsreisenden unterscheidet – unter der Annahme das typische, schwedische Reisende nicht häufiger medizinische Hilfe in Anspruch nehmen müssen als der internationale Durchschnittsreisende. Eine Multiplikation der Studieninzidenz mit den Zahlen aus den Reiseerhebungen von eben Durchschnittsreisenden würde eine überschätzte Inzidenz ergeben. Dadurch errechnen Stenhem et al. ein eventuell höheres Erwerbungsrisiko für Durchschnittsreisende als

vorläge. Die in ihrer Studie schon in absoluten Zahlen gesehen niedrige, hochgerechnete, allgemeine Inzidenz von 5,8 pro 1 Millionen Reisenden könnte unter den Gedanken sogar nach oben verzerrt sein, bzw. 59,4 pro 1 Millionen bei Reisenden nach Nordafrika (93).

Eine Hypothese für die Positivergebnisse retrospektiver Studien wäre, dass die Patient:innen, die sich mit SSTI vorstellen, bereits bestimmte Wirtsfaktoren mitbringen, die zur Infektion geführt haben, während andere Reisende diese unbekanntes Wirtsfaktoren nicht besitzen und nicht mit fremden *Staphylococcus-aureus*-Isolaten besiedelt werden oder bei Besiedlung keine SSTI entwickeln. Ähnliche Hypothesen werden für das Phänomen propagiert, dass einige Menschen nur transient mit fremden *Staphylococcus-aureus*-Isolaten besiedelt werden (21, 139). Ein kleiner Hinweis für diese Hypothese wäre auch die nicht gesteigerte MSSA-Besiedlungsrate nach Reise. Ein Großteil mit MSSA nicht besiedelter blieb nicht besiedelt.

Weitere Untersuchungsperspektiven zum Reiserisiko wären eine Betrachtung, welche Art von Profil eine Reise besitzt. Durchschnittliche Tourist:innen bei einer typischen Pauschalreise haben wenig engen Kontakt zur einheimischen Bevölkerung oder zu dem Nutzvieh im Reiseland und damit kaum Kontakt zum *Staphylococcus-aureus*-Pool mit all seinen Isolaten des jeweiligen Reiselandes. Verwandtschaftsbesuche besitzen in dieser Hinsicht ein anderes, vermutlich erhöhtes Risikoprofil aufgrund engerer Kontakte zu Einheimischen. Ebenso müssen Reisen aufgrund von Freiwilligen-, Entwicklungsarbeit oder Studienreisen gesondert betrachtet werden. Eine Pflegekraft, die vorher in Entwicklungsländern tätig war, besitzt ein anderes Risiko MRSA zu importieren als Durchschnittstourist:innen (91).

In Anlehnung an einen Kommentar von Zanger (91): Wichtig ist am Ende die Frage, was Reisen im Zusammenhang mit MRSA bedeutet. Da Menschen der „Hauptvektor“ für MRSA ist, um große Strecken zu überwinden, aber der Prozess in dem Menschen große Strecken zurücklegen häufig ebenfalls „Reisen“ genannt wird, greifen verschiedene Zusammenhänge ineinander und überlappen sich. Mit den Fortschritten der Globalisierung und der zunehmend niedrigeren Schwelle eine Auslandsreise anzutreten, für Populationen weltweit, sollte eher im Fokus stehen, was an den Start- und Endpunkten einer Reise passiert ist, als wieviel Kilometer zurückgelegt worden sind oder welches Transportmittel benutzt worden ist. MRSA kann durch einen Großelternbesuch auf dem heimischen Bauernhof erworben werden, der mit öffentlichen Verkehrsmitteln erreicht wurde. Und des Weiteren kann ein Land mit relativ erhöhter MRSA-Prävalenz mittels Flugs besucht werden, aber aufgrund einer Geschäftsreise wenig Kontakt zur ausländischen Bevölkerung und „lokalem“ Mikrobiom bestehen. Beides kann man als Reisen betiteln. Migrationsreisen unterscheiden sich ebenso von touristischen Pauschalreisen. Alles unter einem Begriff als Risikofaktor zusammenzufassen ist für so ein Thema mit vielen Facetten und Bereichen hinderlich und nicht wegweisend. Auch die Abnahme der Prävalenz in betroffenen Ländern beeinflusst das Reiserisiko (29). Da Reisende nicht ein vollständiges Kontaktnetzwerk zur ansässigen Bevölkerung aufbauen und die MRSA-Prävalenz im Reiseland wahrscheinlich nicht homogen verteilt ist, wird das MRSA-Risiko für den Reisenden eventuell nochmal verkleinert. Eine sinkende MRSA-Inzidenz im jeweiligen Reiseland würde für Reisende, die sich nur im üblichen Zeitrahmen im Reiseland aufhalten, noch einmal eine Risikoreduktion bedeuten.

Bezüglich klinischer Konsequenz sind unsere prospektiven Ergebnisse dennoch vereinbar mit den Ergebnissen der retrospektiven Studienlandschaft. Zwar deuten die Ergebnisse unserer Studie an, dass der einzelne Reisende kein erhöhtes Risiko eines MRSA-Erwerbs besitzt. Die meisten retrospektiven Studien beschreiben jedoch meistens Reisende, die sich nach Reise aufgrund einer Krankheitssymptomatik in medizinische Betreuung begeben (28, 81, 84, 85). Dadurch beschreiben diese Studien genau das Fallklientel, das für die Patientenversorgung relevant ist. Bei SSTIs nach Reiserückkehr

ist *Staphylococcus aureus* einer der häufigsten auslösenden Erreger (90). Eine erhöhte Wahrscheinlichkeit an MRSA bei diesen Patient:innen ist höchst relevant. Die Reiseanamnese bleibt in der Patientenversorgung demnach weiterhin essenziell, da sie die Prätest-Wahrscheinlichkeit auf multiresistente Organismen erhöht – für mikrobiell resistente gramnegative Organismen, aber auch für MRSA. Bei Erkrankten, die kürzlich eine Reise getätigt haben und z.B. mit einer SSTI vorstellig werden, müssen bei der Therapie weiterhin Resistenzen berücksichtigt werden, da mit einem Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* durchaus zu rechnen ist. So ist in einigen Reiseländern, wie den USA, MRSA als Ursache einer SSTI weitaus häufiger als in Deutschland (16).

Global betrachtet spricht die Studienlage weiterhin dafür, dass Einträge zwischen geografisch weit entfernten Regionen stattfinden. Das Individuum selbst scheint dabei zumindest für touristische Reisen mit unseren vorliegenden Daten im Falle von MRSA ein Erwerbungsrisiko von eher untergeordneter Rolle zu besitzen.

#### 4.4 Limitationen

Limitationen der Studie sind unter anderem die kleine Studienpopulation von 196 Proband:innen. Eine größere Population wäre bei einer eventuellen Inzidenz von 5,8 pro Millionen Reisenden wünschenswert gewesen, um ein belastbareres Ergebnis zu präsentieren. Auch ist die rekrutierte Studienpopulation nicht repräsentativ. Die Studienfreiwilligen waren jünger und gebildeter als die Allgemeinbevölkerung. Mehr als die Hälfte besaß einen Hochschulabschluss oder einen höheren Bildungsabschluss. Diese Verzerrung könnte auch dem Rekrutierungsstandort geschuldet sein, da tendenziell höhere Bildungsschichten im Sinne einer Präventionsmaßnahme dazu neigen sich vor einer Reise medizinisch beraten und sich ggf. impfen zu lassen. Der Zusammenhang von Bildung und dem Wahrnehmen von Präventionsmaßnahmen ist gut belegt (140, 141). Zwar wurde in unserer Studie nicht explizit nach weiteren sozio-ökonomischen Größen wie Einkommen gefragt, aber da in Deutschland hohe Bildungsabschlüsse mit hohem Einkommen korrelieren, wirkt dies wiederum zusätzlich positiv auf den Gesundheitszustand aus (142). All dies könnten Gründe sein, dass eine niedrige Inzidenz in der Studienpopulation erhoben wurde.

Des Weiteren hätte über ein Anreicherungs-schritt für die Nasenabstriche nachgedacht werden können, bevor es zum Ausstreichen kommt, um die Sensitivität der Abstriche zu erhöhen und einem eventuell langen Transport und abnehmende Zellvitalität durch die Post entgegenzuwirken. Ein weitere nicht auszuschließende Fehlerquelle ist die alleinige Speziesidentifizierung mittels VITEK-2-compact und damit ausschließliche biochemische Speziesidentifizierung. Molekulargenetische oder massenspektrometrische Verfahren kamen für die Gesamtheit der Studienproben nicht zur Anwendung. Bei der Erhebung der Reisedaten wurde auch kein Kontakt zu Tieren abgefragt. Dies wäre ein weiterer interessanter Risikofaktor und sollte bei künftigen Studien dieser Art berücksichtigt werden.

## 5 Zusammenfassung & Summary

### 5.1 Zusammenfassung

Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* (MRSA) ist einer der relevantesten antibiotikaresistenten Bakterien im Gesundheitswesen. Die Kenntnis von Risikofaktoren bezüglich seiner Übertragung ist essenziell, um Risiken für die Bevölkerung zu identifizieren und geeignete Gegenmaßnahmen zu etablieren. Reisen stellt ein wichtiges Risiko für die globale Verbreitung von MRSA dar. Retrospektive Studien unter Reiserückkehrern deuten auf ein erhöhtes Risiko hin, MRSA zu erwerben, sowohl als asymptomatische Kolonisation als auch als Ursache von Infektionen.

Unsere Studie untersuchte das Risiko einer MRSA-Kolonisation für deutsche Fernreisende mittels eines prospektiven Studiendesign. Dazu rekrutierten wir vom Juni 2018 bis zum März 2019 Freiwillige während der Impfsprechzeiten der Reiseambulanz des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorfs (UKE) am Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin in Hamburg (BNITM). 369 Reisende haben sich bereit erklärt an unserer Studie teilzunehmen. Von diesen haben 196 Proband:innen Proben zurückgesendet. Studienteilnehmende stellten Nasenabstriche vor und nach Reise, die unter anderem auf MRSA-selektiven Nährmedien ausgestrichen wurden. Nach abgeschlossener biochemischer Identifizierung als *Staphylococcus aureus*, fand ebenfalls eine antimikrobielle Suszeptibilitätstestung der Isolate durch ein VITEK-2-compact statt. Proben mit unklaren Ergebnissen wurden an der Mikrobiologischen Abteilung des UKES weiter untersucht. Dort fand eine Speziesidentifizierung mittels MALDI-TOF Massenspektrometrie und PCR-Diagnostik auf *mec*-Resistenzgene statt.

Nur bei einem von 196 Reisenden wurde nach der Reise eine Kolonisation mit MRSA nachgewiesen. Diese Ergebnisse deuten auf ein niedriges Erwerbungsrisiko einer MRSA-Kolonisation durch Fernreisen hin.

### 5.2 Summary

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is one of the most relevant multidrug-resistant bacteria in healthcare. The knowledge regarding its spread is essential to identify risk factors for the population and to establish adequate countermeasures. Travel represents an important risk factor concerning the global spread of MRSA. Retrospective studies indicate an increased risk to acquire MRSA after returning from traveling, including asymptomatic colonization as well as source of infections.

Our study investigated this risk for German travelers with a prospective study design. For this purpose, we recruited participants during the visiting hours of the travel medicine outpatient clinic of the University Medical Center Hamburg-Eppendorf (UKE) at the Bernhard-Nocht-Institute for tropical medicine (BNITM) between June 2018 and March 2019. 369 travelers volunteered to participate in our study. 196 participants of these volunteers returned specimens. Participants provided nose swabs before and after travel which were streaked onto MRSA selective media. After successful biochemical identification as *Staphylococcus aureus*, an antimicrobial susceptibility test was performed on the isolates. Samples with unclear results were sent to the department of microbiology of the UKE. MALDI-TOF mass spectrometry was performed for species confirmation, followed by a PCR diagnostic of *mec* resistance genes.

A colonization with MRSA was detected in only one of 196 travelers after the journey. This indicates a low risk of acquiring a MRSA colonization after long-distance travel.

## 6 Abkürzungsverzeichnis

AST	Antimikrobieller Suszeptibilitätstest
BNITM	Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin
CA-MRSA	Community-associated Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
DZIF	Deutsches Zentrum für Infektionsforschung
ESBL	Extended-spectrum $\beta$ -lactamase
HA-MRSA	Hospital-associated Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>
IQR	Interquartilrange
LA-MRSA	Livestock-associated Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>
MALDI	Matrix assisted laser desorption ionization
MHK	Minimale Hemmkonzentration
MLST	Multilocus Sequence Typing
MRSA	Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>
MSSA	Methicillin-sensibler <i>Staphylococcus aureus</i>
PBP	Penicillin-bindendes Protein
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PFGE	Pulsfeld-Gelelektrophorese
PSM	Phenole soluble modulin
PVL	Panton-Valentine-Leukocidin
SCV	Small-colony variant
SSTI	Skin-and-soft-tissue infection
TOF	Time of flight
UKE	Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
UNSD	United Nations Statistics Division

## 7 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1; Material nach Hersteller alphabetisch sortiert .....	26
Tabelle 2; Software.....	27
Tabelle 3; Überblick der wichtigsten Antworten aus den Fragebögen .....	29
Tabelle 4; MRSA-Nachweise nach Reise in der Studienpopulation .....	34
Tabelle 5; Kreuztabelle der MSSA-Nachweise und Proband:innen .....	34
Tabelle 6; Zugrundeliegende Tabelle für Chi-Quadrat-Anpassungstest .....	36
Tabelle 7; Berufsangaben bereinigt nach Erwerbspersonen.....	36
Tabelle 8; Reiseziele der Studienteilnehmer im Detail .....	58
Tabelle 9; Kumulierte Nebenbefunde aus Erst- und Rückkehrerabstrichen .....	60

## 8 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1; chemisches Strukturskelett des Penicillin-Grundgerüst (A) und eines endständigen Alanyl-Alanin-Dipeptids (B) im Vergleich.....	9
Abbildung 2; Kontrolle einer angesetzten Chromagarcharge .....	19
Abbildung 3; Kontrolle einer angesetzten Mannitol-Salz-Agar-Charge .....	19
Abbildung 4; Schema 4-Quadranten-Technik .....	20
Abbildung 5; Beispielhaft zwei Plattenpaare zweier Abstrichproben.....	21
Abbildung 6; VITEK Identifikationskarte nach Inkubation im VITEK-2-compact .....	22
Abbildung 7; Schema für die Aufbereitung der Proben für die VITEK-2-Analyse.....	24
Abbildung 8; Flowchart des Studienverlaufs .....	28
Abbildung 9; Bevölkerungspyramide der Studienpopulation .....	31
Abbildung 10; Histogramm der Reisedauer der Freiwilligen .....	31
Abbildung 11; Weltkarte mit den Reisezielen der Studienteilnehmer .....	33
Abbildung 12; Spektrum der nachgewiesenen Bakterien .....	35
Abbildung 13; Seite 1 des Fragebogens 1 .....	65
Abbildung 14; Seite 2 des Fragebogens 1 .....	66
Abbildung 15; Seite 3 des Fragebogens 1 .....	67
Abbildung 16; Seite 1 des Fragebogens 2 .....	68
Abbildung 17; Seite 2 des Fragebogens 2 .....	69
Abbildung 18; Fragebogen 3 .....	70
Abbildung 19; Seite 1 des Aufklärungsbogens .....	71
Abbildung 20; Seite 2 des Aufklärungsbogens .....	72
Abbildung 21; Seite 3 des Aufklärungsbogens .....	73
Abbildung 22; Seite 4 des Aufklärungsbogens .....	74
Abbildung 23; Seite 5 des Aufklärungsbogens .....	75
Abbildung 24; Seite 6 des Aufklärungsbogens .....	76

## 9 Literaturverzeichnis

1. Ogston A. Micrococcus Poisoning. *J Anat Physiol* 1882; 17(Pt 1):24–58.
2. Schleifer K-H, Bell JA. Genus I. Staphylococcus. In: Vos P de, Garrity GM, Jones D, Bergey DH, Krieg NR, Ludwig W et al., Hrsg. *Bergey's manual of systematic bacteriology Volume 3: The Firmicutes*. Second edition. Dordrecht, London: Springer; 2009: S. 392–421 (*Bergey's manual of systematic bacteriology*; vol. 3).
3. Becker K, Skov RL, Eiff C von. Staphylococcus Micrococcus and Other Catalase-Positive Cocci. In: Jorgensen JH, Carroll KC, Pfaller MA, Hrsg. *Manual of clinical microbiology*. 11th edition. Washington, DC: ASM Press; 2015: S. 354–82 [Stand: 06.07.2021].
4. Fisher JF, Mobashery S.  $\beta$ -Lactams against the Fortress of the Gram-Positive Staphylococcus aureus Bacterium. *Chem Rev* 2021; 121(6):3412–63. DOI: 10.1021/acs.chemrev.0c01010.
5. La Fuente R de, Suarez G, Schleifer KH. Staphylococcus aureus subsp. anaerobius subsp. nov., the Causal Agent of Abscess Disease of Sheep. *International Bulletin of Bacteriological Nomenclature and Taxonomy* 1985; 35(1):99–102. Verfügbar unter: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/00207713-35-1-99>.
6. Peake SL, Peter JV, Chan L, Wise RP, Butcher AR, Grove DI. First report of septicemia caused by an obligately anaerobic Staphylococcus aureus infection in a human. *J Clin Microbiol* 2006; 44(6):2311–3. DOI: 10.1128/JCM.02125-05.
7. Rosenbach FAJ. Mikro-Organismen bei den Wund-Infektions-Krankheiten des Menschen. Wiesbaden: J. F. Bergmann; 1884 [Stand: 03.11.2021]. Verfügbar unter: <https://archive.org/details/mikroorganismenb00roseuoft>.
8. Chapter 7.14.2 The Organism and its characteristics. In: Adams MR, Moss MO, Hrsg. *Food Microbiology*. 3rd ed. Cambridge: Royal Society of Chemistry; 2007: S. 252–62 [Stand: 13.06.2021]. Verfügbar unter: <https://pubs.rsc.org/en/content/chapter/9781847557940-00182/978-1-84755-794-0>.
9. Dietze B, Rath A, Wendt C, Martiny H. Survival of MRSA on sterile goods packaging. *J Hosp Infect* 2001; 49(4):255–61. DOI: 10.1053/jhin.2001.1094.
10. Skerman VBD, McGowan V, Sneath PHA. Approved Lists of Bacterial Names. *IJSEM* 1980; 30(1):225–420. DOI: 10.1099/00207713-30-1-225.
11. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN). Species Staphylococcus aureus [Stand: 03.11.2021]. Verfügbar unter: <https://lpsn.dsmz.de/species/staphylococcus-aureus>.
12. International Committee for Bacteriological Nomenclature. Opinion 17 – Conservation of the Generic name Staphylococcus Rosenbach, Designation of Staphylococcus aureus Rosenbach as the Nomenclatural Type of the Genus Staphylococcus aureus Rosenbach, and Designation of the Neotype culture of Staphylococcus aureus Rosenbach. *International Bulletin of Bacteriological Nomenclature and Taxonomy* 1958; 8(3-4):153–4. DOI: 10.1099/0096266X-8-3-4-153.
13. Chambers HF, Deleo FR. Waves of resistance: Staphylococcus aureus in the antibiotic era. *Nat Rev Microbiol* 2009; 7(9):629–41. DOI: 10.1038/nrmicro2200.

14. Lakhundi S, Zhang K. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. *Clin Microbiol Rev* 2018; 31(4). DOI: 10.1128/CMR.00020-18.
15. Cuny C, Köck R, Witte W. Livestock associated MRSA (LA-MRSA) and its relevance for humans in Germany. *Int J Med Microbiol* 2013; 303(6-7):331–7. DOI: 10.1016/j.ijmm.2013.02.010.
16. Ruscher C. Empfehlungen zur Prävention und Kontrolle von Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus*-Stämmen (MRSA) in medizinischen und pflegerischen Einrichtungen: Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut. *Bundesgesundheitsbl.* 2014; 57(6):695–732. Verfügbar unter: [https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/Kommission/Downloads/MRSA\\_Rili.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/Kommission/Downloads/MRSA_Rili.pdf?__blob=publicationFile).
17. Noble WC. The dispersal of staphylococci in hospital wards. *J Clin Pathol* 1962; 15(6):552–8. DOI: 10.1136/jcp.15.6.552.
18. Kluytmans J, Belkum A van, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clin Microbiol Rev* Juli 1997; 10(3):505–20. DOI: 10.1128/CMR.10.3.505-520.1997.
19. Gorwitz RJ, Kruszon-Moran D, McAllister SK, McQuillan G, McDougal LK, Fosheim GE et al. Changes in the prevalence of nasal colonization with *Staphylococcus aureus* in the United States, 2001-2004. *J Infect Dis* 2008; 197(9):1226–34. DOI: 10.1086/533494.
20. Williams REO. Healthy carriage of *Staphylococcus aureus*: its prevalence and importance. *Bacteriol Rev* 1963; 27(1):56–71.
21. Wertheim HFL, Melles DC, Vos MC, van Leeuwen W, van Belkum A, Verbrugh HA et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *The Lancet Infectious Diseases* 2005; 5(12):751–62. DOI: 10.1016/S1473-3099(05)70295-4.
22. Lautenbach E, Nachamkin I, Hu B, Fishman NO, Tolomeo P, Prasad P et al. Surveillance cultures for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: diagnostic yield of anatomic sites and comparison of provider- and patient-collected samples. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2009; 30(4):380–2. DOI: 10.1086/596045.
23. Köck, R., Werner, P., Friedrich, A. W., Fegeler, Christian, Becker, K. Persistence of nasal colonization with human pathogenic bacteria and associated antimicrobial resistance in the German general population. *New Microbes New Infect* 2016; 9:24–34. DOI: 10.1016/j.nmni.2015.11.004.
24. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Surveillance of Antimicrobial Resistance in Europe 2018. Stockholm; 2019 [Stand: 03.11.2021]. Verfügbar unter: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/surveillance-antimicrobial-resistance-Europe-2018.pdf>.
25. Kourtis AP, Hatfield K, Baggs J, Mu Y, See I, Epton E et al. Vital Signs: Epidemiology and Recent Trends in Methicillin-Resistant and in Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Bloodstream Infections - United States. *Morb Mortal Wkly Rep* 2019; 68(9):214–9. Verfügbar unter: [https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/68/wr/mm6809e1.htm?s\\_cid=mm6809e1\\_w](https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/68/wr/mm6809e1.htm?s_cid=mm6809e1_w).

26. Magill SS, O'Leary E, Janelle SJ, Thompson DL, Dumyati G, Nadle J et al. Changes in Prevalence of Health Care-Associated Infections in U.S. Hospitals. *N Engl J Med* 2018; 379(18):1732–44. DOI: 10.1056/NEJMoa1801550.
27. Tromp AT, van Strijp JAG. Studying Staphylococcal Leukocidins: A Challenging Endeavor. *Front Microbiol* 2020; 11(611). DOI: 10.3389/fmicb.2020.00611.
28. Zhou YP, Wilder-Smith A, Hsu L-Y. The role of international travel in the spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Travel Med* 2014; 21(4):272–81. DOI: 10.1111/jtm.12133.
29. Diekema DJ, Pfaller MA, Shortridge D, Zervos M, Jones RN. Twenty-Year Trends in Antimicrobial Susceptibilities Among *Staphylococcus aureus* From the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Open Forum Infect Dis* 2019; 6(Suppl 1):S47-S53. DOI: 10.1093/ofid/ofy270.
30. Köck, Robin, Mellmann, Alexander, Schaumburg, Frieder, Friedrich, Alexander W., Kipp, Frank, Becker, Karsten. The epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Germany. *Dtsch Arztebl Int* 2011; 108(45):761–7. DOI: 10.3238/arztebl.2011.0761.
31. Oliveira D, Borges A, Simões M. *Staphylococcus aureus* Toxins and Their Molecular Activity in Infectious Diseases. *Toxins (Basel)* 2018; 10(6). DOI: 10.3390/toxins10060252.
32. Kong C, Neoh H, Nathan S. Targeting *Staphylococcus aureus* Toxins: A Potential form of Anti-Virulence Therapy. *Toxins (Basel)* 2016; 8(3). DOI: 10.3390/toxins8030072.
33. Peschel A, Otto M. Phenol-soluble modulins and staphylococcal infection. *Nat Rev Microbiol* 2013; 11(10):667–73. DOI: 10.1038/nrmicro3110.
34. UniProtKB. P0C1V1 (HLD\_STAAU) [ $\delta$ -Hämolysin Proteindatenbankeintrag]. Verfügbar unter: <https://www.uniprot.org/uniprot/P0C1V1> [Stand: 03.11.2021].
35. Wang R, Braughton KR, Kretschmer D, Bach T-HL, Queck SY, Li M et al. Identification of novel cytolytic peptides as key virulence determinants for community-associated MRSA. *Nat Med* 2007; 13(12):1510–4. Verfügbar unter: <https://www.nature.com/articles/nm1656>.
36. Fisher EL, Otto M, Cheung GYC. Basis of Virulence in Enterotoxin-Mediated Staphylococcal Food Poisoning. *Front Microbiol* 2018; 9(436). DOI: 10.3389/fmicb.2018.00436.
37. Deleo FR, Diep B an, Otto M. Host defense and pathogenesis in *Staphylococcus aureus* infections. *Infectious Disease Clinics of North America* 2009; 23(1):17–34. DOI: 10.1016/j.idc.2008.10.003.
38. Bukowski M, Wladyka B, Dubin G. Exfoliative toxins of *Staphylococcus aureus*. *Toxins (Basel)* 2010; 2(5):1148–65. DOI: 10.3390/toxins2051148.
39. Forsgren A, Sjöquist J. "Protein A" from *S. aureus*. I. Pseudo-immune reaction with human gamma-globulin. *J Immunol* 1966; 97(6):822–7. Verfügbar unter: <https://www.jimmunol.org/content/97/6/822>.
40. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 1999; 284(5418):1318–22. DOI: 10.1126/science.284.5418.1318.

41. Lade H, Kim J-S. Bacterial Targets of Antibiotics in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Antibiotics* 2021; 10(4). DOI: 10.3390/antibiotics10040398.
42. Koch, Arthur L. Bacterial wall as target for attack: past, present, and future research. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16(4):673–87. DOI: 10.1128/cmr.16.4.673-687.2003.
43. Pereira SFF, Henriques AO, Pinho MG, Lencastre H de, Tomasz A. Evidence for a dual role of PBP1 in the cell division and cell separation of *Staphylococcus aureus*. *Mol Microbiol* 2009; 72(4):895–904. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2009.06687.x.
44. Spratt BG, Pardee AB. Penicillin-binding proteins and cell shape in *E. coli*. *Nature* 1975; 254(5500):516–7. DOI: 10.1038/254516a0.
45. Massova I, Mobashery S. Kinship and diversification of bacterial penicillin-binding proteins and beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42(1):1–17. DOI: 10.1128/AAC.42.1.1.
46. Fishovitz J, Hermoso JA, Chang M, Mobashery S. Penicillin-binding protein 2a of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *IUBMB Life* 2014; 66(8):572–7. DOI: 10.1002/iub.1289.
47. Ghuysen JM. Serine beta-lactamases and penicillin-binding proteins. *Annu Rev Microbiol* 1991; 45:37–67. DOI: 10.1146/annurev.mi.45.100191.000345.
48. Fisher JF, Mobashery S.  $\beta$ -Lactam Resistance Mechanisms: Gram-Positive Bacteria and *Mycobacterium tuberculosis*. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2016; 6(5). DOI: 10.1101/cshperspect.a025221.
49. Spratt BG. The 2011 Garrod Lecture: From penicillin-binding proteins to molecular epidemiology. *J Antimicrob Chemother* 2012; 67(7):1578–88. DOI: 10.1093/jac/dks109.
50. Bush K, Bradford PA.  $\beta$ -Lactams and  $\beta$ -Lactamase Inhibitors: An Overview. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2016; 6(8). DOI: 10.1101/cshperspect.a025247.
51. Tipper DJ, Strominger JL. Mechanism of action of penicillins: a proposal based on their structural similarity to acyl-D-alanyl-D-alanine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1965; 54(4):1133–41. DOI: 10.1073/pnas.54.4.1133.
52. Fleming A. On the Antibacterial Action of Cultures of a *Penicillium*, with Special Reference to their Use in the Isolation of *B. influenzae*. *Br J Exp Pathol* 1929; 10(3):226–36.
53. Barber M, Rozwadowska-Dowzenko M. Infection by penicillin-resistant staphylococci. *The Lancet* 1948; 252(6530):641–4. DOI: 10.1016/S0140-6736(48)92166-7.
54. Kirby WM. Extraction of a highly potent penicillin inactivator from penicillin resistant staphylococci. *Science* 1944 Jun 2; 99(2579):452–3. DOI: 10.1126/science.99.2579.452.
55. Knox R. A new penicillin (BRL 1241) active against penicillin-resistant staphylococci. *Br Med J* 1960 Sep 3; 2(5200):690–3. DOI: 10.1136/bmj.2.5200.690.
56. Douthwaite AH, Trafford JA. A New Synthetic Penicillin. *Br Med J* 1960 Sep 3; 2(5200):687–90. DOI: 10.1136/bmj.2.5200.687.
57. Kirby WM, Bulger RJ. THE NEW PENICILLINS AND CEPHALOSPORINS. *Annu Rev Med* 1964; 15:393–412. DOI: 10.1146/annurev.me.15.020164.002141.

58. Skov R, Larsen AR, Kearns A, Holmes M, Teale C, Edwards G et al. Phenotypic detection of *mecC*-MRSA: cefoxitin is more reliable than oxacillin. *J Antimicrob Chemother* 2014; 69(1):133–5. DOI: 10.1093/jac/dkt341.
59. Jevons MP. „Celbenin“ - resistant Staphylococci. *Brit Med J* 1961 Jan 14; 1(5219):124–5. DOI: 10.1136/bmj.1.5219.124-a.
60. Rolinson GN. "Celbenin" - resistant Staphylococci. *Brit Med J* 1961 Jan 14; 1(5219):125–6. DOI: 10.1136/bmj.1.5219.125.
61. National Center for Advancing Translational Sciences (NCATS). METHICILLIN [Inxight: Drugs] [Stand: 03.11.2021]. Verfügbar unter: <https://drugs.ncats.io/drug/Q91FH1328A>.
62. Nomura R, Nakaminami H, Takasao K, Muramatsu S, Kato Y, Wajima T et al. A class A  $\beta$ -lactamase produced by borderline oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* hydrolyses oxacillin. *J Glob Antimicrob Resist* 2020; 22:244–7. DOI: 10.1016/j.jgar.2020.03.002.
63. Ito T, Hiramatsu K, Tomasz A, Lencastre H de, Perreten V, Holden MTG et al. Guidelines for reporting novel *mecA* gene homologues. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56(10):4997–9. DOI: 10.1128/AAC.01199-12.
64. Becker K, van Alen S, Idelevich EA, Schleimer N, Seggewiß J, Mellmann A et al. Plasmid-Encoded Transferable *mecB*-Mediated Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect Dis* 2018; 24(2):242–8. Verfügbar unter: [https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/24/2/17-1074\\_article](https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/24/2/17-1074_article).
65. Layer F, Werner G. Eigenschaften, Häufigkeit und Verbreitung von MRSA in Deutschland – Update 2011/2012. *Epidemiologisches Bulletin* 2013; (21):187–96 [Stand: 05.08.2021]. Verfügbar unter: [https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2013/Ausgaben/21\\_13.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2013/Ausgaben/21_13.pdf?__blob=publicationFile).
66. International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements. Classification of staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*): Guidelines for reporting novel SCC*mec* elements. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53(12):4961–7. DOI: 10.1128/AAC.00579-09.
67. Harkins CP, Pichon B, Doumith M, Parkhill J, Westh H, Tomasz A et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* emerged long before the introduction of methicillin into clinical practice. *Genome Biol* 2017; 18(130):1–11. Verfügbar unter: <https://genomebiology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13059-017-1252-9>.
68. Gill SR, Fouts DE, Archer GL, Mongodin EF, DeBoy RT, Ravel J et al. Insights on evolution of virulence and resistance from the complete genome analysis of an early methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain and a biofilm-producing methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* strain. *J Bacteriol* 2005; 187(7):2426–38. DOI: 10.1128/JB.187.7.2426-2438.2005.
69. Layer F, Strommenger B, Cuny C, Noll I, Eckmanns T, Werner G. Häufigkeit, Eigenschaften und Verbreitung von MRSA in Deutschland – Zur Situation 2017/2018. *Epidemiologisches Bulletin* 2019; (42):437–42. DOI: 10.25646/6320.2.
70. Deleo FR, Otto M, Kreiswirth BN, Chambers HF. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *The Lancet* 2010; 375(9725):1557–68. DOI: 10.1016/S0140-6736(09)61999-1.

71. European Medicines Agency (EMA). Sales of veterinary antimicrobial agents in 31 European countries in 2018: Trends from 2010 to 2018 Tenth ESVAC report. Amsterdam; 21.10.2020 [Stand: 12.08.2021]. Verfügbar unter: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/sales-veterinary-antimicrobial-agents-31-european-countries-2018-trends-2010-2018-tenth-esvac-report\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/sales-veterinary-antimicrobial-agents-31-european-countries-2018-trends-2010-2018-tenth-esvac-report_en.pdf).
72. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC); European Food Safety Authority (EFSA); European Medicines Agency (EMA). Third joint inter-agency report on integrated analysis of consumption of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from humans and food-producing animals in the EU/EEA; JIACRA III. Stockholm, Parma, Amsterdam; 2016-2018 [Stand: 09.11.2021]. Verfügbar unter: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/JIACRA-III-Antimicrobial-Consumption-and-Resistance-in-Bacteria-from-Humans-and-Animals.pdf>.
73. Morgan M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and animals: zoonosis or humanosis? *J Antimicrob Chemother* 2008; 62(6):1181–7. DOI: 10.1093/jac/dkn405.
74. Cuny C, Nathaus R, Layer F, Strommenger B, Altmann D, Witte W. Nasal colonization of humans with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) CC398 with and without exposure to pigs. *PLoS ONE* 2009; 4(8):e6800. DOI: 10.1371/journal.pone.0006800.
75. Tenover FC, Goering RV. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain USA300: origin and epidemiology. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2009; 64(3):441–6. DOI: 10.1093/jac/dkp241.
76. Centers for Disease Control and Prevention. Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2019. Atlanta, GA; 2019 [Stand: 03.11.2021]. Verfügbar unter: <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/threats-report/2019-ar-threats-report-508.pdf>.
77. 6.40 Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* (MRSA), invasive Infektion. In: *Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2019*. Berlin: Robert Koch-Institut; 2020: S. 185–8 [Stand: 06.08.2021]. Verfügbar unter: [https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Jahrbuch/Jahrbuch\\_2019.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Jahrbuch/Jahrbuch_2019.pdf?__blob=publicationFile).
78. Köck, R., Becker, K., Cookson, B., van Gemert-Pijnen, J. E., Harbarth, S., Kluytmans, J. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): burden of disease and control challenges in Europe. *Eurosurveillance* 2010; 15(41):19688. DOI: 10.2807/ese.15.41.19688-en.
79. 6.40 Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* (MRSA), invasive Infektion. In: *Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2017*. Berlin: Robert Koch-Institut; 2018 Verfügbar unter: [https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Jahrbuch/Jahrbuch\\_2017.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Jahrbuch/Jahrbuch_2017.pdf?__blob=publicationFile).
80. Cassini A, Högberg LD, Plachouras D, Quattrocchi A, Hoxha A, Simonsen GS et al. Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. *The Lancet Infectious Diseases* 2019; 19(1):56–66. DOI: 10.1016/S1473-3099(18)30605-4.

81. Zanger P, Nurjadi D, Schleucher R, Scherbaum H, Wolz C, Kremsner PG et al. Import and spread of Panton-Valentine Leukocidin-positive *Staphylococcus aureus* through nasal carriage and skin infections in travelers returning from the tropics and subtropics. *Clinical Infectious Diseases* 2012; 54(4):483–92. DOI: 10.1093/cid/cir822.
82. Harris SR, Feil EJ, Holden MTG, Quail MA, Nickerson EK, Chantatita N et al. Evolution of MRSA during hospital transmission and intercontinental spread. *Science* 2010; 327(5964):469–74. DOI: 10.1126/science.1182395.
83. Roman RS, Smith J, Walker M, Byrne S, Ramotar K, Dyck B et al. Rapid geographic spread of a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain. *Clin Infect Dis* 1997; 25(3):698–705. DOI: 10.1086/513758.
84. Helgason KO, Jones ME, Edwards G. Panton-valentine leukocidin-positive *Staphylococcus aureus* and foreign travel. *J Clin Microbiol* 2008; 46(2):832–3. DOI: 10.1128/JCM.02154-07.
85. Tappe D, Schulze MH, Oesterlein A, Turnwald D, Müller A, Vogel U et al. Panton-Valentine leukocidin-positive *Staphylococcus aureus* infections in returning travelers. *Am J Trop Med Hyg* 2010; 83(4):748–50. DOI: 10.4269/ajtmh.2010.10-0252.
86. Longtin Y, Sudre P, François P, Schrenzel J, Aramburu C, Pastore R et al. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: risk factors for infection, and long-term follow-up. *Clin Microbiol Infect* 2009; 15(6):552–9. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2009.02715.x.
87. Larsson A-K, Gustafsson E, Johansson PJH, Odenholt I, Petersson AC, Melander E. Epidemiology of MRSA in southern Sweden: strong relation to foreign country of origin, health care abroad and foreign travel. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014; 33(1):61–8. Verfügbar unter: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10096-013-1929-2>.
88. Stacey AR, Endersby KE, Chan PC, Marples RR. An outbreak of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* infection in a rugby football team. *British Journal of Sports Medicine* 1998; 32(2):153–4. DOI: 10.1136/bjism.32.2.153.
89. Frost I, van Boeckel TP, Pires J, Craig J, Laxminarayan R. Global geographic trends in antimicrobial resistance: the role of international travel. *J Travel Med* 2019; 26(8). DOI: 10.1093/jtm/taz036.
90. Nurjadi D, Fleck R, Lindner A, Schäfer J, Gertler M, Mueller A et al. Import of community-associated, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to Europe through skin and soft-tissue infection in intercontinental travellers, 2011-2016. *Clin Microbiol Infect* 2019; 25(6):739–46. DOI: 10.1016/j.cmi.2018.09.023.
91. Zanger P. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and intercontinental travel--"bad bugs on the move!". *J Travel Med* 2014; 21(4):225–7. DOI: 10.1111/jtm.12140.
92. Maier J, Melzl H, Reischl U, Drubel I, Witte W, Lehn N et al. Panton–Valentine leukocidin-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Germany associated with travel or foreign family origin. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005; 24(9):637–9. Verfügbar unter: <https://doi.org/10.1007/s10096-005-0008-8>.
93. Stenhem M, Ortqvist Å, Ringberg H, Larsson L, Olsson Liljequist B, Haeggman S et al. Imported methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Sweden. *Emerg Infect Dis* 2010; 16(2):189–96. DOI: 10.3201/eid1602.081655.

94. Paltansing S, Vlot JA, Kraakman ME, Mesman R, Bruijning ML, Bernards AT et al. Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-producing Enterobacteriaceae among Travelers from the Netherlands. *Emerg Infect Dis* 2013; 19(8):1206–13. DOI: 10.3201/eid1908.130257.
95. Ruppé E, Armand-Lefèvre L, Estellat C, Consigny P-H, El Mniai A, Boussadia Y et al. High Rate of Acquisition but Short Duration of Carriage of Multidrug-Resistant Enterobacteriaceae After Travel to the Tropics. *Clin Infect Dis* 2015; 61(4):593–600. DOI: 10.1093/cid/civ333.
96. Arcilla MS, van Hattem JM, Haverkate MR, Bootsma MCJ, van Genderen PJJ, Goorhuis A et al. Import and spread of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae by international travellers (COMBAT study): a prospective, multicentre cohort study. *The Lancet Infectious Diseases* 2017; 17(1):78–85. DOI: 10.1016/S1473-3099(16)30319-X.
97. Woerther P-L, Andremont A, Kantele A. Travel-acquired ESBL-producing Enterobacteriaceae: impact of colonization at individual and community level. *J Travel Med* 2017; 24(suppl\_1):S29-S34. DOI: 10.1093/jtm/taw101.
98. Akmatov MK, Pessler F. Self-collected nasal swabs to detect infection and colonization: a useful tool for population-based epidemiological studies? *Int J Infect Dis* 2011; 15(9):e589-93. DOI: 10.1016/j.ijid.2011.04.009.
99. van Cleef BA, Verkade EJM, Wulf MW, Buiting AG, Voss A, Huijsdens XW et al. Prevalence of livestock-associated MRSA in communities with high pig-densities in The Netherlands. *PLoS ONE* 2010; 5(2):e9385. DOI: 10.1371/journal.pone.0009385.
100. Young BC, Votintseva AA, Foster D, Godwin H, Miller RR, Anson LW et al. Multi-site and nasal swabbing for carriage of *Staphylococcus aureus*: what does a single nose swab predict? *J Hosp Infect* 2017; 96(3):232–7. DOI: 10.1016/j.jhin.2017.01.015.
101. Atlas RM, Snyder JW. Reagents, Stains, and Media: Bacteriology. In: Jorgensen JH, Carroll KC, Pfaller MA, Hrsg. *Manual of clinical microbiology*. 11th edition. Washington, DC: ASM Press; 2015: S. 316–49.
102. Ellner PD, Stoessel CJ, Drakeford E, Vasi F. A new culture medium for medical bacteriology. *Am J Clin Pathol* 1966; 45(4):502–4. DOI: 10.1093/ajcp/45.4\_ts.502.
103. Merck KGaA. Mannitol Salt Phenol-Red Agar acc. harm. EP/USP/JP: Ordering number: 1.05404.0500; Technical Data Sheet [Stand: 02.11.2021]. Verfügbar unter: [https://www.merckmillipore.com/DE/de/product/Mannitol-salt-phenol-red-agar,MDA\\_CHEM-105404#anchor\\_BRO](https://www.merckmillipore.com/DE/de/product/Mannitol-salt-phenol-red-agar,MDA_CHEM-105404#anchor_BRO).
104. Shields P, Tsang AY. Mannitol salt agar plates protocols: American Society for Microbiology (ASM); 9.10.2006 [Stand: 15.10.2021]. Verfügbar unter: <https://asm.org/Protocols/Mannitol-Salt-Agar-Plates-Protocols>.
105. Koch, Fr. E. Elektivnährboden für Staphylokokken. *Zentr. Bakt. Parasitenk. I Orig.* 1942 Jun 30; 149(2):122–4.
106. Chapman GH. The Significance of Sodium Chloride in Studies of *Staphylococci*. *J Bacteriol* 1945; 50(2):201–3.
107. CHROMagar, Hrsg. CHROMagar™ MRSA: Instructions For Use. Paris, Frankreich.

108. Chromogenic Technology: How does Chromogenic Culture Media technology work? [Stand: 02.11.2021]. Verfügbar unter: [http://www.chromagar.com/p-chromogenic\\_agar\\_technology.html#.YIWQ6KFCRPZ](http://www.chromagar.com/p-chromogenic_agar_technology.html#.YIWQ6KFCRPZ).
109. Prinzi A, Rohde R. How CHROMagar™ Revolutionized Microbe Identification: American Society for Microbiology (ASM); 2020 [Stand: 02.11.2021]. Verfügbar unter: <https://asm.org/Articles/2020/September/How-CHROMagar-TM-Revolutionized-Bacterial-Identifi>.
110. Diederer B, van Duijn I, van Belkum A, Willemse P, van Keulen P, Kluytmans J. Performance of CHROMagar MRSA medium for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2005; 43(4):1925–7. DOI: 10.1128/JCM.43.4.1925-1927.2005.
111. Loulergue J, Gialluly C de, Morange V, Holstein A, van der Mee-Marquet N, Quentin R. Evaluation of a new chromogenic medium for isolation and presumptive identification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from human clinical specimens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2006; 25(6):407–9. Verfügbar unter: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10096-006-0144-9>.
112. Processing, Isolation, Detection, and Interpretation of Aerobic Bacteriology Cultures. In: Garcia LS, Isenberg HD, Hrsg. *Clinical microbiology procedures handbook*. 3rd ed and 2007 update. Washington, DC: ASM Press; 2010: S. 124–50.
113. Karlowsky JA, Richter SS. Antimicrobial Susceptibility Testing Systems. In: Jorgensen JH, Carroll KC, Pfaller MA, Hrsg. *Manual of clinical microbiology*. 11th edition. Washington, DC: ASM Press; 2015: S. 1274–85.
114. Minnerath JM, Roland JM, Rossi LC, Weishalla SR, Wolf MM. A Comparison of Heat versus Methanol Fixation for Gram Staining Bacteria. *Bioscene: Journal of College Biology Teaching* 2009; 35(2):36–41. Verfügbar unter: <https://eric.ed.gov/?id=EJ889704>.
115. Mangels JI, Cox ME, Lindberg LH. Methanol fixation an alternative to heat fixation of smears before staining. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 1984; 2(2):129–37. DOI: 10.1016/0732-8893(84)90008-7.
116. She RC, Petti CA. Procedures for the Storage of Microorganisms. In: Jorgensen JH, Carroll KC, Pfaller MA, Hrsg. *Manual of clinical microbiology*. 11th edition. Washington, DC: ASM Press; 2015: S. 161–8.
117. Singhal N, Kumar M, Kanaujia PK, Viridi JS. MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. *Front Microbiol* 2015; 6(791):1–16. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00791.
118. Ziesing S, Schubert S, Heim A, Vonberg R-P. Methoden der mikrobiologischen Diagnostik. In: Suerbaum S, Burchard GD, Kaufmann SHE, Schulz TF, Hahn H, Falke D, Hrsg. *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. 9., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage. Berlin: Springer Berlin; 2020: S. 175–98 (Lehrbuch).
119. Statistisches Bundesamt (Destatis). Gesundheitspersonalrechnung [Code: 23621]; 2021 [Stand: 06.10.2021]. Verfügbar unter: <https://www-genesis.destatis.de/genesis/online>.
120. Eurostat. Staaten 2020; 2020 [Stand: 28.09.2021]. Verfügbar unter: <https://ec.europa.eu/eurostat/de/web/gisco/geodata/reference-data/administrative-units-statistical-units/countries>.

121. Bundesinstitut für Bevölkerungsforschung (BiB). Medianalter der Bevölkerung (1950-2060) [Stand: 22.09.2021]. Verfügbar unter: <https://www.bib.bund.de/DE/Fakten/Fakt/B20-Medianalter-Bevoelkerung-1950-Vorausberechnung.html>.
122. Statistisches Bundesamt (Destatis). Bevölkerung: Bundesländer, Stichtag, Altersjahre: Fortschreibung des Bevölkerungsstandes [Code: 12411-0012]; 2019 [Stand: 29.09.2021].
123. Statistisches Bundesamt (Destatis). Bevölkerung im Alter von 15 Jahren und mehr nach allgemeinen und beruflichen Bildungsabschlüssen nach Jahren; 2019 [Stand: 02.10.2021]. Verfügbar unter: <https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Bildung-Forschung-Kultur/Bildungsstand/Tabellen/bildungsabschluss.html>.
124. Autorengruppe Bildungsberichterstattung. Bildung in Deutschland 2012 [Tab. I2-1A. Grafik: 3PC]; 2012 [Stand: 01.11.2021]. Verfügbar unter: <https://www.bpb.de/gesellschaft/bildung/zukunft-bildung/162825/durchschnittliches-brutto-einkommen-von-frauen-und-maennern-je-nach-bildungsabschluss-2010>.
125. Statistisches Bundesamt (Destatis). Gesundheitspersonal: Deutschland, Jahre, Einrichtungen, Geschlecht [Code: 23621-0001]; 2019 [Stand: 04.10.2021]. Verfügbar unter: <https://www-genesis.destatis.de/genesis/online>.
126. Statistisches Bundesamt (Destatis). Eckzahlen zum Arbeitsmarkt, Deutschland; 2019 [Stand: 04.10.2021]. Verfügbar unter: <https://www.destatis.de/DE/Themen/Arbeit/Arbeitsmarkt/Erwerbstaetigkeit/Tabellen/eckwerttabelle.html>.
127. Reinhardt U. Tourismus Analyse 2020. Hamburg; 2020 [Stand: 13.09.2021]. Verfügbar unter: [https://www.stiftungfuerzukunftsfragen.de/fileadmin/user\\_upload/tourismusanalyse/2020/Stiftung-fuer-Zukunftsfragen-Tourismusanalyse-2020.pdf](https://www.stiftungfuerzukunftsfragen.de/fileadmin/user_upload/tourismusanalyse/2020/Stiftung-fuer-Zukunftsfragen-Tourismusanalyse-2020.pdf).
128. Deutscher Reiseverband. Der deutsche Reisemarkt: Zahlen und Fakten 2019; Oktober 2020. Verfügbar unter: [https://www.driv.de/public/Downloads\\_2020/20-10-22\\_DRV\\_ZahlenFakten\\_2019\\_Aktualisierung\\_Oktober\\_2020.pdf](https://www.driv.de/public/Downloads_2020/20-10-22_DRV_ZahlenFakten_2019_Aktualisierung_Oktober_2020.pdf).
129. Forschungsgemeinschaft Urlaub und Reisen e.V., Hrsg. Reiseanalyse 2020: Erste ausgewählte Ergebnisse der 50. Reiseanalyse zur ITB 2020. Kiel; 2020 [Stand: 13.09.2021]. Verfügbar unter: [https://reiseanalyse.de/wp-content/uploads/2020/03/RA2020\\_Erste-Ergebnisse\\_DE.pdf](https://reiseanalyse.de/wp-content/uploads/2020/03/RA2020_Erste-Ergebnisse_DE.pdf).
130. Zwingenberger O. ADAC Reisemonitor: Trendforschung im Reisemarkt 2019 eine ADAC Medien und Reise GmbH Studie: Allgemeiner Deutscher Automobil-Club e.V. (ADAC) [Stand: 17.03.2019]. Verfügbar unter: [https://media.adac.de/fileadmin/user\\_upload/Studien/Downloads/Reisemonitor\\_2019\\_D\\_final.pdf](https://media.adac.de/fileadmin/user_upload/Studien/Downloads/Reisemonitor_2019_D_final.pdf).
131. Stark K, Harms G, Hrsg. Gesundheitsprobleme bei Fernreisen in tropische und subtropische Regionen. Berlin: Robert Koch-Institut; 2001. (Gesundheitsberichterstattung des Bundes 02/01) [Stand: 30.09.2021]. Verfügbar unter: [https://edoc.rki.de/bitstream/handle/176904/3152/29qmd3FjnRtQ\\_70.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://edoc.rki.de/bitstream/handle/176904/3152/29qmd3FjnRtQ_70.pdf?sequence=1&isAllowed=y).

132. Spira AM. Preparing the traveller. *The Lancet* 2003; 361(9366):1368–81. Verfügbar unter: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673603130759>.
133. Hindler JF. Screening for Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. In: Garcia LS, Isenberg HD, Hrsg. *Clinical microbiology procedures handbook*. 3rd ed and 2007 update. Washington, DC: ASM Press; 2010: S. 531–4.
134. Deutsche Post AG. Höchste Qualität entlang der Logistikkette [Stand: 07.10.2021]. Verfügbar unter: [https://www.deutschepost.de/de/q/qualitaet\\_gelb.html](https://www.deutschepost.de/de/q/qualitaet_gelb.html).
135. Kaspar U, Kriegeskorte A, Schubert T, Peters G, Rudack C, Pieper DH et al. The culturome of the human nose habitats reveals individual bacterial fingerprint patterns. *Environmental Microbiology* 2016; 18(7):2130–42. DOI: 10.1111/1462-2920.12891.
136. Cooper DL, Smith GE, Chinemana F, Joseph C, Loveridge P, Sebastianpillai P et al. Linking syndromic surveillance with virological self-sampling. *Epidemiol. Infect.* 2008; 136(2):222–4. Verfügbar unter: <https://www.cambridge.org/core/journals/epidemiology-and-infection/article/linking-syndromic-surveillance-with-virological-selfsampling/8D62273084E8BB4DA1CEAD43AC9A0E71>.
137. Statistiska centralbyrån. Population 1 November by region and year. Verfügbar unter: <https://www.statistikdatabasen.scb.se/sq/113570>.
138. Reinhardt U. *Tourismus Analyse 2019*. Hamburg; 2019 [Stand: 12.08.2021]. Verfügbar unter: [http://www.tourismusanalyse.de/fileadmin/user\\_upload/tourismusanalyse/2019/Stiftung-fuer-Zukunftsfragen-Tourismusanalyse-2019.pdf](http://www.tourismusanalyse.de/fileadmin/user_upload/tourismusanalyse/2019/Stiftung-fuer-Zukunftsfragen-Tourismusanalyse-2019.pdf).
139. Nouwen J, Boelens H, van Belkum A, Verbrugh H. Human factor in *Staphylococcus aureus* nasal carriage. *Infect Immun* 2004; 72(11):6685–8. DOI: 10.1128/IAI.72.11.6685-6688.2004.
140. Fletcher JM, Frisvold DE. Higher Education and Health Investments: Does More Schooling Affect Preventive Health Care Use? *Journal of Human Capital* 2009; 3(2):144–76. DOI: 10.1086/645090.
141. Cohen AK, Syme SL. Education: a missed opportunity for public health intervention. *Am J Public Health* 2013; 103(6):997–1001. DOI: 10.2105/AJPH.2012.300993.
142. Phelan JC, Link BG, Diez-Roux A, Kawachi I, Levin B. "Fundamental causes" of social inequalities in mortality: a test of the theory. *J Health Soc Behav* 2004; 45(3):265–85. DOI: 10.1177/002214650404500303.
143. ISO 3166 Maintenance Agency. ISO 3166 Country Codes [Stand: 30.09.2021]. Verfügbar unter: <https://www.iso.org/iso-3166-country-codes.html>.
144. United Nations Statistics Division (UNSD). Standard country or area codes for statistical use (M49) [Stand: 30.09.2021]. Verfügbar unter: <https://unstats.un.org/unsd/methodology/m49/>.
145. VITEK® 2 GN ID Karte [Stand: 17.09.2021]. Verfügbar unter: <https://www.biomerieux.de/klinische-diagnostik/vitek-2-gn-id-karte>.
146. VITEK® 2 GP ID Karte [Stand: 17.09.2021]. Verfügbar unter: <https://www.biomerieux.de/klinische-diagnostik/vitek-2-gp-id-karte>.

147. Tran DT, Winter D, Christner M, Ramharter M, Addo MM, Rolling T et al. Less than you'd think-a prospective study on MRSA-colonization in healthy travelers. *J Travel Med* 2021. DOI: 10.1093/jtm/taaa242.

## 10 Anhang

### 10.1 Reiseländer

Die Tabelle 8 zeigt die Reiseziele unserer Studienteilnehmer an. Zwei Proband:innen haben eine Reiseregion angegeben.

*Tabelle 8; Reiseziele der Studienteilnehmer im Detail*

*Die Tabelle ist primär nach Häufigkeiten, sekundär alphabetisch sortiert.*

*Um einen besseren geografischen Überblick zu gewinnen, wurden abhängige Gebiete und Regionsangaben gesondert erfasst, wenn die Freiwilligen dies so angegeben haben und ein ISO-alpha-3-Ländercode nach ISO oder ein Nummerncode nach der Statistikabteilung der Vereinten Nationen (UNSD) existiert (143, 144) (z.B. Südamerika, französisch Guyana anstatt Frankreich). Bei Regionsangaben (wie z.B. Südamerika und Venezuela) wurden zusätzliche Länder in dieser Region nicht doppelt gezählt.*

<b>Länder-/ Regionsname</b>	<b>Anzahl der Besuche von Proband:innen</b>	<b>Prozent</b>
Vietnam	28	7,6%
Thailand	25	6,8%
Indien	16	4,3%
Indonesien	16	4,3%
Südafrika	16	4,3%
Brasilien	13	3,5%
Kambodscha	13	3,5%
Argentinien	12	3,2%
China	10	2,7%
Kolumbien	10	2,7%
Namibia	10	2,7%
Tansania	10	2,7%
Chile	9	2,4%
Laos	9	2,4%
Sri Lanka	8	2,2%
Australien	7	1,9%
Botsuana	7	1,9%
USA	7	1,9%
Peru	6	1,6%
Kenia	5	1,4%
Swasiland	5	1,4%
Togo	5	1,4%
Vereinigte Arabische Emirate	5	1,4%
Costa Rica	4	1,1%
Ghana	4	1,1%
Hongkong	4	1,1%
Kuba	4	1,1%
Malaysia	4	1,1%
Panama	4	1,1%

## Anhang

Simbabwe	4	1,1%
Singapur	4	1,1%
Uganda	4	1,1%
Bolivien	3	0,8%
Myanmar	3	0,8%
Nepal	3	0,8%
Neuseeland	3	0,8%
Nigeria	3	0,8%
Sambia	3	0,8%
Seychellen	3	0,8%
Angola	2	0,5%
Armenien	2	0,5%
Äthiopien	2	0,5%
Georgien	2	0,5%
Italien	2	0,5%
Kamerun	2	0,5%
Lesotho	2	0,5%
Marokko	2	0,5%
Mexiko	2	0,5%
Philippinen	2	0,5%
Portugal	2	0,5%
Senegal	2	0,5%
Spanien	2	0,5%
Uruguay	2	0,5%
Ägypten	1	0,3%
Bangladesch	1	0,3%
Barbados	1	0,3%
Belize	1	0,3%
Benin	1	0,3%
Bonaire, St. Eustatius und Saba	1	0,3%
Burkina Faso	1	0,3%
Curaçao	1	0,3%
Dominikanische Republik	1	0,3%
Fidschi	1	0,3%
Frankreich	1	0,3%
Französisch-Guayana	1	0,3%
Guatemala	1	0,3%
Honduras	1	0,3%
Kap Verde	1	0,3%
Kroatien	1	0,3%
Macau	1	0,3%
Madagaskar	1	0,3%

Malawi	1	0,3%
Mauretanien	1	0,3%
Mauritius	1	0,3%
Mongolei	1	0,3%
Mosambik	1	0,3%
Niger	1	0,3%
Oman	1	0,3%
Pakistan	1	0,3%
Polynesien	1	0,3%
Réunion	1	0,3%
Russland	1	0,3%
Schweden	1	0,3%
Südamerika	1	0,3%
Südkorea	1	0,3%
Taiwan	1	0,3%
<b>Summe</b>	<b>370</b>	<b>100%</b>

## 10.2 Isolierte Bakterien

Tabelle 9; Kumulierte Nebenbefunde aus Erst- und Rückkehrerabstrichen

Namensspalte zeigt die Spezies oder das Ergebnis der Gramfärbung und Lichtmikroskopie an. Probandenspalte zeigt bei wie vielen Proband:innen besagter Erreger zu irgendeinem Zeitpunkt vor und nach Reise im Rahmen der Studie zu finden war.

Beachte: Auch mehrfach Kolonisationen sind hier erfasst. Eine Summen- und Prozentangabe wären irreführend und sind daher nicht angegeben.

<b>Name</b>	<b>Proband:innen</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	78
<i>Staphylococcus warneri</i>	27
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	11
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	9
Grampositive Stäbchen	7
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	7
<i>Staphylococcus vitulinus</i>	5
<i>Staphylococcus xylosus</i>	5
<i>Enterococcus faecalis</i>	4
<i>Staphylococcus equorum</i>	3
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	3
<i>Staphylococcus sciuri</i>	3
<i>Enterococcus faecium</i>	2
Gramnegative Stäbchen	2
<i>Staphylococcus capitis</i>	2
<i>Staphylococcus gallinarum</i>	2
<i>Staphylococcus kloosii</i>	2
<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>	1
<i>Escherichia coli</i>	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ssp <i>pneumoniae</i>	1
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp <i>cremoris</i>	1
<i>Pantoea</i> spp	1

<i>Staphylococcus carnosus</i> ssp <i>carnosus</i>	1
<i>Staphylococcus hominis</i> ssp <i>hominis</i>	1

### 10.3 VITEK-2 Identifikationskarten Nachweisspektrum

#### 10.3.1 VITEK-2 GN ID 21341

Aufgelistet sind die mit der VITEK-2 GN ID 21341 identifizierbaren Bakterienspezies laut dem Hersteller (145):

##### „*Enterobacteriaceae*

- *Budvicia aquatica*
- *Buttiauxella agrestis*
- *Cedecea davisae*\*
- *Cedecea lapagei*\*
- *Citrobacter amalonaticus*\*
- *Citrobacter braakii*\*
- *Citrobacter farmeri*\*
- *Citrobacter freundii*\*
- *Citrobacter koseri*\*
- *Citrobacter sedlakii*
- *Citrobacter youngae*\*
- *Cronobacter sakazakii* group+
- *Edwardsiella hoshinae*\*
- *Edwardsiella tarda*\*
- *Enterobacter aerogenes*\*
- *Enterobacter amnigenus* 1\*
- *Enterobacter amnigenus* 2\*
- *Enterobacter asburiae*\*
- *Enterobacter cancerogenus*\*
- *Enterobacter cloacae* complex+
- *Enterobacter gergoviae*\*
- *Escherichia coli* O157\*
- *Escherichia coli*\*
- *Klebsiella pneumoniae* ssp. *rhinoscleromatis*
- *Kluyvera ascorbata*\*
- *Kluyvera cryocrescens*
- *Kluyvera intermedia*\* (formerly known as *Enterobacter intermedius*)
- *Leclercia adecarboxylata*\*
- *Moellerella wisconsensis*\*
- *Morganella morganii* ssp. *morganii*\*
- *Morganella morganii* ssp. *sibonii*
- *Pantoea agglomerans* \*
- *Pantoea* spp.
- *Plesiomonas shigelloides*
- *Proteus hauseri*
- *Proteus mirabilis*\*
- *Proteus penneri*\*
- *Proteus vulgaris*

- *Providencia alcalifaciens*\*
- *Providencia rettgeri*
- *Providencia rustigianii*
- *Providencia stuartii*\*
- *Rahnella aquatilis*\*
- *Raoultella ornithinolytica*
- *Raoultella planticola*
- *Roseomonas gilardii*
- *Salmonella enterica* ssp. *arizonae*\*
- *Salmonella enterica* ssp. *diarizonae*
- *Salmonella* group\*
- *Salmonella* ser. *Gallinarum*\*
- *Salmonella* ser. *Paratyphi* A\*
- *Salmonella* ser. *Typhi*\*
- *Serratia ficaria*\*
- *Serratia fonticola*\*
- *Serratia liquefaciens* group\*
- *Serratia marcescens* \*
- *Serratia odorifera* \*
- *Serratia plymuthica* \*
- *Serratia rubidaea*\*
- *Shigella* group\*
- *Shigella sonnei*\*
- *Yersinia aldovae*
- *Yersinia enterocolitica/frederiksenii*\*
- *Yersinia intermedia*\*
- *Yersinia kristensenii*\*
- *Yersinia pestis*
- *Yersinia pseudotuberculosis*\*
- *Yersinia ruckeri*\*
- *Yokenella regensburgei*

\*von den Official Methods of Analysis (OMA) validierte Spezies

+die von den Official Methods of Analysis (OMA) validierten Spezies innerhalb dieser Gruppe oder dieses Komplexes sind *Burkholderia cepacia*, *Cronobacter sakazakii* und *Enterobacter cloacae*.

##### Non-*Enterobacteriaceae*

- *Achromobacter denitrificans*

- |  |  |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Achromobacter xylosoxidans</i></li> <li>• <i>Acinetobacter baumannii complex</i></li> <li>• <i>Acinetobacter haemolyticus</i></li> <li>• <i>Acinetobacter junii</i></li> <li>• <i>Acinetobacter lwoffii</i></li> <li>• <i>Acinetobacter radioresistens</i></li> <li>• <i>Acinetobacter ursingii</i></li> <li>• <i>Actinobacillus ureae</i></li> <li>• <i>Aeromonas hydrophila/Aeromonas caviae</i></li> <li>• <i>Aeromonas salmonicida</i></li> <li>• <i>Aeromonas sobria</i></li> <li>• <i>Aeromonas veronii</i></li> <li>• <i>Alcaligenes faecalis ssp. faecalis</i></li> <li>• <i>Bordatella hinzii</i></li> <li>• <i>Bordetella bronchiseptica</i></li> <li>• <i>Bordetella trematum</i></li> <li>• <i>Brevundimonas diminuta/vesicularis</i></li> <li>• <i>Brucella melitensis</i></li> <li>• <i>Burkholderia cepacia group+</i></li> <li>• <i>Burkholderia gladioli*</i></li> <li>• <i>Burkholderia mallei</i></li> <li>• <i>Burkholderia pseudomallei</i></li> <li>• <i>Chromobacterium violaceum</i></li> <li>• <i>Chryseobacterium gleum</i></li> <li>• <i>Chryseobacterium indologenes</i></li> <li>• <i>Comamonas testosteroni</i></li> <li>• <i>Cupriavidus pauculus</i></li> <li>• <i>Delftia acidovorans</i></li> <li>• <i>Elizabethkingia meningoseptica</i></li> <li>• <i>Francisella tularensis</i></li> <li>• <i>Grimontia hollisae</i></li> <li>• <i>Mannheimia haemolytica</i></li> <li>• <i>Methylobacterium spp.</i></li> <li>• <i>Moraxella group</i></li> <li>• <i>Myroides spp.</i></li> <li>• <i>Neisseria animaloris/zoodegmatidis</i></li> <li>• <i>Ochrobactrum anthropi</i></li> <li>• <i>Oligella ureolytica</i></li> <li>• <i>Paracoccus yeei</i></li> <li>• <i>Pasteurella aerogenes</i></li> <li>• <i>Pasteurella canis</i></li> <li>• <i>Pasteurella dagmatis</i></li> <li>• <i>Pasteurella multocida</i></li> <li>• <i>Pasteurella pneumotropica</i></li> <li>• <i>Pasteurella testudinis</i></li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Photobacterium damsela</i></li> <li>• <i>Pseudomonas aeruginosa*</i></li> <li>• <i>Pseudomonas alcaligenes</i></li> <li>• <i>Pseudomonas fluorescens*</i></li> <li>• <i>Pseudomonas luteola</i></li> <li>• <i>Pseudomonas mendocina</i></li> <li>• <i>Pseudomonas oleovorans</i></li> <li>• <i>Pseudomonas oryzae</i></li> <li>• <i>Pseudomonas putida</i></li> <li>• <i>Pseudomonas stutzeri</i></li> <li>• <i>Ralstonia mannitolilytica</i></li> <li>• <i>Ralstonia pickettii</i></li> <li>• <i>Rhizobium radiobacter</i></li> <li>• <i>Roseomonas gilardii</i></li> <li>• <i>Shewanella algae</i></li> <li>• <i>Shewanella putrefaciens</i></li> <li>• <i>Sphingobacterium multivorum</i></li> <li>• <i>Sphingobacterium spiritivorum</i></li> <li>• <i>Sphingobacterium thalpophilum</i></li> <li>• <i>Sphingomonas paucimobilis</i></li> <li>• <i>Stenotrophomonas maltophilia</i></li> <li>• <i>Vibrio alginolyticus*</i></li> <li>• <i>Vibrio cholerae*</i></li> <li>• <i>Vibrio fluvialis*</i></li> <li>• <i>Vibrio metschnikovii*</i></li> <li>• <i>Vibrio mimicus*</i></li> <li>• <i>Vibrio parahaemolyticus*</i></li> <li>• <i>Vibrio vulnificus*</i></li> </ul> <p>* OMA Official Methods of Analysis validated claim.</p> <p>+ Species within this group or complex that are OMA Official Methods of Analysis validated claims are <i>Burkholderia cepacia</i>, <i>Cronobacter sakazakii</i>, and <i>Enterobacter cloacae</i>.</p> <p><b>Hochpathogene Erreger</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Brucella melitensis</i> *</li> <li>• <i>Burkholderia mallei</i> *</li> <li>• <i>Burkholderia pseudomallei</i>*</li> <li>• <i>Escherichia coli O157*</i></li> <li>• <i>Francisella tularensis</i>*</li> <li>• <i>Yersinia pestis</i>*</li> </ul> <p>*OMA Official Methods of Analysis validated claim.“</p> |
|--|--|

**10.3.2 VITEK-2 GP ID 21342**

Aufgelistet sind die mit der VITEK-2 GP ID 21342 identifizierbaren Bakterienspezies laut dem Hersteller (146):

- *„Abiotrophia defectiva*
- *Aerococcus urinae*
- *Aerococcus viridans*
- *Alloiococcus otitis*
- *Dermacoccus nishinomiyaensis/*  
*Kytococcus sedentarius*
- *Enterococcus avium*
- *Enterococcus casseliflavus*
- *Enterococcus cecorum*
- *Enterococcus columbae*
- *Enterococcus durans*
- *Enterococcus faecalis*
- *Enterococcus faecium*
- *Enterococcus gallinarum*
- *Enterococcus hirae*
- *Enterococcus raffinosus*
- *Enterococcus saccharolyticus*
- *Erysipelothrix rhusiopathiae*
- *Facklamia hominis*
- *Gardnerella vaginalis*
- *Gemella bergeri*
- *Gemella haemolysans*
- *Gemella morbillorum*
- *Gemella sanguinis*
- *Globicatella sanguinis*
- *Globicatella sulfidifaciens*
- *Granulicatella adiacens*
- *Granulicatella elegans*
- *Helcococcus kunzii*
- *Kocuria kristinae*
- *Kocuria rhizophila*
- *Kocuria rosea*
- *Kocuria varians*
- *Lactococcus garvieae*
- *Lactococcus lactis ssp. cremoris*
- *Lactococcus lactis ssp. lactis*
- *Lactococcus raffinolactis*
- *Leuconostoc citreum*
- *Leuconostoc lactis*
- *Leuconostoc mesenteroides ssp.*  
*cremoris*
- *Leuconostoc mesenteroides ssp.*  
*dextranicum*
- *Leuconostoc mesenteroides ssp.*  
*mesenteroides*
- *Leuconostoc pseudomesenteroides*
- *Listeria grayi+*
- *Listeria innocua+*
- *Listeria ivanovii+*
- *Listeria monocytogenes+*
- *Listeria seeligeri+*
- *Listeria welshimeri+*
- *Micrococcus luteus/lylae*
- *Pediococcus acidilactici*
- *Pediococcus pentosaceus*
- *Rothia dentocariosa*
- *Rothia mucilaginosa*
- *Staphylococcus arlettae*
- *Staphylococcus aureus \*+*
- *Staphylococcus auricularis*
- *Staphylococcus capitis*
- *Staphylococcus caprae*
- *Staphylococcus carnosus ssp.*  
*carnosus*
- *Staphylococcus chromogenes*
- *Staphylococcus cohnii ssp. cohnii*
- *Staphylococcus cohnii ssp.*  
*urealyticus*
- *Staphylococcus epidermidis+*
- *Staphylococcus equorum*
- *Staphylococcus gallinarum*
- *Staphylococcus haemolyticus*
- *Staphylococcus hominis ssp. hominis*
- *Staphylococcus hominis ssp.*  
*novobiosepticus*
- *Staphylococcus hyicus+*
- *Staphylococcus intermedius+*
- *Staphylococcus kloosii*
- *Staphylococcus lentus*
- *Staphylococcus lugdunensis*
- *Staphylococcus pseudintermedius*
- *Staphylococcus saprophyticus*
- *Staphylococcus schleiferi*
- *Staphylococcus sciuri*
- *Staphylococcus simulans*
- *Staphylococcus vitulinus*
- *Staphylococcus warneri*
- *Staphylococcus xylosus*
- *Streptococcus agalactiae*
- *Streptococcus alactolyticus*

- |   |  |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Streptococcus anginosus</i></li> <li>• <i>Streptococcus canis</i></li> <li>• <i>Streptococcus constellatus ssp. constellatus</i></li> <li>• <i>Streptococcus constellatus ssp. pharyngis</i></li> <li>• <i>Streptococcus cristatus</i></li> <li>• <i>Streptococcus downei</i></li> <li>• <i>Streptococcus dysgalactiae ssp. dysgalactiae</i></li> <li>• <i>Streptococcus dysgalactiae ssp. equisimilis</i></li> <li>• <i>Streptococcus equi ssp. equi</i></li> <li>• <i>Streptococcus equi ssp. zooepidemicus</i></li> <li>• <i>Streptococcus equinus</i></li> <li>• <i>Streptococcus gallolyticus ssp. gallolyticus</i></li> <li>• <i>Streptococcus gallolyticus ssp. pasteurianus</i></li> <li>• <i>Streptococcus gordonii</i></li> <li>• <i>Streptococcus hyointestinalis</i></li> <li>• <i>Streptococcus infantarius ssp. coli (Str. lutetiensis)</i></li> <li>• <i>Streptococcus infantarius ssp. infantarius</i></li> <li>• <i>Streptococcus intermedius</i></li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Streptococcus mitis/Streptococcus oralis</i></li> <li>• <i>Streptococcus mutans</i></li> <li>• <i>Streptococcus ovis</i></li> <li>• <i>Streptococcus parasanguinis</i></li> <li>• <i>Streptococcus pluranimalium</i></li> <li>• <i>Streptococcus pneumoniae</i></li> <li>• <i>Streptococcus porcinus</i></li> <li>• <i>Streptococcus pseudoporcinus</i></li> <li>• <i>Streptococcus pyogenes</i></li> <li>• <i>Streptococcus salivarius ssp. salivarius</i></li> <li>• <i>Streptococcus salivarius ssp. thermophilus</i></li> <li>• <i>Streptococcus sanguinis</i></li> <li>• <i>Streptococcus sobrinus</i></li> <li>• <i>Streptococcus suis I</i></li> <li>• <i>Streptococcus suis II</i></li> <li>• <i>Streptococcus thoraltensis</i></li> <li>• <i>Streptococcus uberis</i></li> <li>• <i>Streptococcus vestibularis</i></li> <li>• <i>Vagococcus fluvialis</i></li> </ul> <p>*<i>Staphylococcus aureus</i> claim contains only the subspecies <i>aureus</i>.<br/>+OMA Official Methods of Analysis validated claim.“</p> |
|---|--|

## 10.4 Fragebögen

### 10.4.1 Fragebogen 1

Multiresistente Erreger bei Auslandsreisenden (MRE-Trav) – Fragebogen1

Protokoll v3.1 – 2018\_05\_29



HAMBURG

Zentrum für Innere Medizin, I. Med. Klinik und Poliklinik  
Direktor: Prof. Dr. A. W. Lohse  
Martinistr. 52, 20246 Hamburg

Sektion für Tropenmedizin, Bernhard-Nocht-Klinik  
Leiterin: Prof. Dr. M. Addo  
Martinistr. 52, 20246 Hamburg



Sektion für Tropenmedizin, Bernhard-Nocht-Ambulanz  
Leiterin: Prof. Dr. M. Ramharter  
Bernhard-Nocht-Str. 74, 20359 Hamburg

Ansprechpartner: Dr. Koch, Dr. Rolling, Dr. Vinnemeier. Tel: 01522 - 282 3011

#### Studie: Multiresistente Erreger bei Auslandsreisenden

#### Fragebogen 1: Vor der Reise

Wenn Sie eine Frage nicht beantworten möchten, kreuzen Sie bitte „Keine Antwort“ an.

Datum des Ausfüllens dieses Fragebogens:   .   .

Geplantes Abreisedatum:   .   .     Abreisedatum unklar

Geplantes Rückreisedatum:   .   .     Rückreisedatum unklar

1. Alter:   Jahre

2. Geschlecht:  w  m  unbestimmt

3. Reisedauer: .....

4. Beruf: .....

#### 5. Höchster erzielter Bildungsabschluss?

keiner  Mittlere Reife  Hochschulreife (Abitur)  Promotion  
 Hauptschulabschluss  Fachabitur  Hochschulabschluss  Keine Antwort

#### 6. Was ist der hauptsächliche Grund ihrer Reise?

Tourismus  Dienstreise  Freiwilligendienst  Heimatbesuch  Studium/Schüleraustausch

#### 7. Falls Tourismus, welche Reiseart trifft am besten auf Ihre Reise zu?

Organisierte Rundreise  Pauschalurlaub  Individualurlaub  Backpacking  Kreuzfahrt

Subject code:

Seite 1 von 3

# Anhang

Multiresistente Erreger bei Auslandsreisenden (MRE-Trav) – Fragebogen1

Protokoll v3.1 – 2018\_05\_29

## 8. Wie werden Sie hauptsächlich untergebracht sein? (eine Antwort)

- Outdoor/Camping       Unterbringung bei Einheimischen/Verwandten       Kreuzfahrt  
 Einfaches Hotel/Guesthouse/Hostel       Mittelklasse-Hotel       Luxus-Hotel

## 9. Reiseregion? (mehrere Antwortmöglichkeiten)

- Afrika       Europa       Lateinamerika       Indien       Südost-Asien

## 10. Reiseland/ -länder:

.....  
.....

## 11. Wie häufig sind Sie bereits in der Vergangenheit in tropische Länder verreist?

- Ich reise das erste Mal       1-2 mal       3-5 mal       mehr als 5 Mal       Keine Antwort

## 12. Wenn sie bereits einmal in tropische Länder gereist sind, Wann? In Welche?

(zB. „Indonesien 2013“, „Kolumbien 2011“) .....

.....  
.....  
.....

## 13. Bestehen bei Ihnen Vorerkrankungen?      Ja      Nein      Keine Antwort

Wenn ja, welche: .....

.....  
.....  
.....

## 14. Nehmen Sie regelmäßig Medikamente ein?      Ja      Nein      Keine Antwort

Wenn ja, welche: .....

.....  
.....

Subject code:

Seite 2 von 3

Abbildung 14; Seite 2 des Fragebogens 1

**Informationen für den Anruf nach der Reise:**

Name: .....

Handynummer: .....

Emailadresse: .....

Straße, Hausnummer: .....

Postleitzahl, Ort: .....

**Wann können wir Sie am besten erreichen?**

vormittags (9 Uhr-12 Uhr);  mittags (12 Uhr-16 Uhr);  nachmittags (16 Uhr- 20Uhr)

sonstige Uhrzeit: .....

Diese Seite (Seite 3 von 3) wird separat in einem abschließbaren Schrank aufbewahrt, nur der Studienleiter hat Zugriff hierauf. Spätestens 4 Wochen nach Ende der Studie wird dieser Bogen endgültig vernichtet. Name, Emailadresse, Handynummer und Postadresse werden nicht in unsere Datenbank eingepflegt.

Subject code:

Seite 3 von 3

Abbildung 15; Seite 3 des Fragebogens 1

## 10.4.2 Fragebogen 2

Multiresistente Erreger bei Auslandsreisenden (MRE-Trav) – Fragebogen2

Protokoll v3.0 – 2018\_02\_27



HAMBURG  
Zentrum für Innere Medizin, I. Med. Klinik und Poliklinik  
Direktor: Prof. Dr. A. W. Lohse  
Martinistr. 52, 20246 Hamburg



Sektion für Tropenmedizin, Bernhard-Nocht-Ambulanz  
Leiterin: Prof. Dr. M. Ramharter  
Bernhard-Nocht-Str. 74, 20359 Hamburg

Sektion für Tropenmedizin, Bernhard-Nocht-Klinik  
Leiterin: Prof. Dr. M. Addo  
Martinistr. 52, 20246 Hamburg

Ansprechpartner: Dr. Koch, Dr. Rolling, Dr. Vinnemeier. Tel: 040-42818-367

### Studie: Multiresistente Erreger bei Auslandsreisenden

#### Fragebogen 2 + Abstrich: Innerhalb der ersten Woche nach Wiederankunft

Wenn Sie eine Frage nicht beantworten möchten, kreuzen Sie bitte „Keine Antwort“ an.

Datum des Ausfüllens dieses Fragebogens:   .   .

Abreisdatum:   .   .

Rückreisdatum:   .   .

Bereiste Länder: .....

#### 1. Sind sie während ihrer Reise oder danach erkrankt?

Ja  Nein  Keine Antwort

Wenn ja, was waren die Symptome:

- |  |   |   |
|--|---|---|
| <input type="checkbox"/> Fieber  | <input type="checkbox"/> Hauterkrankung in einem kleinen Bereich    | <input type="checkbox"/> Erkältungssymptome |
| <input type="checkbox"/> Durchfall   | <input type="checkbox"/> Hautausschlag an großen Teilen des Körpers | <input type="checkbox"/> Erbrechen/Übelkeit |
| <input type="checkbox"/> Gelenk-/Muskelschmerzen durch Trauma (zB. verstauchter Knöchel) |   |   |
| <input type="checkbox"/> Gelenk-/Muskelschmerzen ohne Trauma (zB. Gliederschmerzen)      |   |   |
| <input type="checkbox"/> Sonstiges: .....  |   |   |

... wurden sie ambulant behandelt?  Ja  Nein  Keine Antwort

... wurden sie in einem Krankenhaus im Ausland behandelt?  Ja  Nein  Keine Antwort

... wurden sie in einem Krankenhaus in Deutschland behandelt?  Ja  Nein  Keine Antwort

... wie lange waren sie im Krankenhaus? .....

... wie lautete die Diagnose? .....

Subject code:

Seite 1 von 2

**2. Haben sie während der Reise ein Malaria-medikament eingenommen?**

Ja  Nein  Keine Antwort

Wenn ja:  Atovaquon/Proguanil (z.B. Malarone®)  Doxycyclin  Mefloquin (z.B. Lariam®)

... wie oft?  einmal täglich  einmal wöchentlich

... wie lange vor Aufenthalt im Malariagebiet? ..... Tag(e)

Bsp: Bei Beginn der Einnahme ein Tag vor Reise ins Malariagebiet: bitte „1“ eintragen.

... wie lange nach Aufenthalt im Malariagebiet? (bzw. wie lange planen sie diese insgesamt einzunehmen?) ..... Tage oder ..... Wochen

Bsp: Wenn am dritten Tag nach Wiederankunft dieser Fragebogen ausgefüllt wird und die Tabletten für vier weitere Tage eingenommen werden sollen, bitte „7“ Tage eintragen.

**3. Haben sie während ihrer Reise andere Medikamente eingenommen?**

Ja  Nein  Keine Antwort

... wenn ja, welche und über welchen Zeitraum?

Medikament	Grund für die Einnahme	Dauer der Einnahme

Subject code:

Abbildung 17; Seite 2 des Fragebogens 2

### 10.4.3 Fragebogen 3

Multiresistente Erreger bei Auslandsreisenden (MRE-Trav) – Fragebogen3

Protokoll v3.0 – 2018\_02\_27



**UKE**  
H A M B U R G  
Zentrum für Innere Medizin, I. Med. Klinik und Poliklinik  
Direktor: Prof. Dr. A. W. Lohse  
Martinistr. 52, 20246 Hamburg



**BNITM**  
Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin  
Sektion für Tropenmedizin, Bernhard-Nocht-Ambulanz  
Leiterin: Prof. Dr. M. Ramharter  
Bernhard-Nocht-Str. 74, 20359 Hamburg

**Sektion für Tropenmedizin, Bernhard-Nocht-Klinik**  
Leiterin: Prof. Dr. M. Addo  
Martinistr. 52, 20246 Hamburg

Ansprechpartner: Dr. Koch, Dr. Rolling, Dr. Vinnemeier. Tel: 040-42818-367

#### Studie: Multiresistente Erreger bei Auslandsreisenden

#### **Fragebogen 3 + Abstrich: ca. 1 Monat nach Wiederankunft**

Wenn Sie eine Frage nicht beantworten möchten, kreuzen Sie bitte „Keine Antwort“ an.

Datum des Ausfüllens dieses Fragebogens:   .   .

#### 1. Sind sie seit dem Ausfüllen des letzten Fragebogens neu erkrankt?

Ja  Nein  Keine Antwort

... wenn ja, was waren die Symptome:  Fieber  Gelenk-/Muskelschmerzen

Hauterkrankung in einem kleinen Bereich  Erbrechen/Übelkeit

Hautausschlag an großen Teilen des Körpers  Durchfall

Sonstiges: .....

... was war die Diagnose? .....

... seit wann? .....

... wurden sie ambulant behandelt?  Ja  Nein  Keine Antwort

... wurden sie in einem Krankenhaus behandelt?  Ja  Nein  Keine Antwort

... wie lange? .....

#### 2. Nehmen sie seit dem Ausfüllen des letzten Fragebogens neue Medikamente ein?

Ja  Nein  Keine Antwort

... wenn ja, welche und über welchen Zeitraum? .....

.....

.....

... was ist der Grund für die Einnahme? .....

.....

Subject code:

Seite 1 von 1

Abbildung 18; Fragebogen 3

## 10.5 Aufklärungsbogen

Multiresistente Erreger bei Auslandsreisenden (MRE-Trav) – Anlage1

Protokoll v3.1 – 2018\_05\_29



H A M B U R G

Zentrum für Innere Medizin, I. Med. Klinik und Poliklinik

Direktor: Prof. Dr. A. W. Lohse  
Martinistr. 52, 20246 Hamburg



Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin

Sektion für Tropenmedizin, Bernhard-Nocht-Ambulanz

Leiterin: Prof. Dr. M. Ramharter  
Bernhard-Nocht-Str. 74, 20359 Hamburg

Sektion für Tropenmedizin, Bernhard-Nocht-Klinik

Leiterin: Prof. Dr. M. Addo  
Martinistr. 52, 20246 Hamburg

Ansprechpartner: Dr. Koch, Dr. Rolling, Dr. Vinnemeier. Tel: 01522 - 282 3011

### Studie: Multiresistente Erreger bei Auslandsreisenden

#### Informationen für Studieninteressierte

**Liebe Reisende, lieber Reisender,** Vielen Dank, dass Sie sich an unserer klinischen Studie beteiligen möchten. Die Teilnahme an dieser Studie ist freiwillig und ob Sie teilnehmen oder nicht hat keinerlei Einfluss auf die reisemedizinische Beratung.

**Warum wird diese Studie durchgeführt?** Das Ziel der Studie ist die Erforschung des Vorkommens von multiresistenten Erregern (MRE) bei Auslandsreisenden. Es konnte in vorherigen Studien gezeigt werden, dass Reisende ein erhöhtes Risiko haben, mit Erregern (z.B. Bakterien, Viren) die gegen mehrere Medikamente resistent sind („multiresistent“) auf ihrer Reise besiedelt zu werden. Die meisten Reisenden werden hierdurch nicht krank, einige erleiden jedoch Haut- und Weichteilinfektionen die dann schwieriger mit antibiotischen Medikamenten zu behandeln sind. Die Besiedlung mit MRE scheint bei den meisten Menschen nur vorübergehend zu bestehen. Trotzdem geht von MRE eine mögliche Gefahr für die besiedelten Personen selbst und Personen in deren näherer Umgebung aus, insbesondere dann, wenn diese unter schweren Grunderkrankungen leiden.

**Wie läuft die Studie konkret ab?** Um Sie auf die Besiedlung mit MRE zu untersuchen möchten wir von Ihnen vor und nach der Reise Nasenabstriche entnehmen. In einer einfach zu erlernenden Technik wird dabei ein Wattetupfer an der Schleimhaut der Nase (beide Nasenlöcher) entlang gestreift und danach in unseren Laboratorien im BNI auf das Vorliegen von MRE untersucht. Um die Technik der Entnahme eines Abstriches zu erlernen führen sie den ersten Abstrich bei sich selbst unter Aufsicht durch. Die weiteren Abstriche können von Ihnen dann selbstständig nach der Reise entnommen und per Post an uns zurück geschickt werden. Außerdem möchten wir mit kurzen Fragebögen einige Dinge über Sie und Ihre Reise erfragen. Insgesamt sollte dies jeweils nicht mehr als 30 Minuten ihrer Zeit in Anspruch nehmen. Die frankierten Rückumschläge um Fragebögen und Abstriche an uns zurück zu schicken erhalten sie von uns, ihnen entstehen also keine Kosten.

Sollten wir MRE finden, werden diese angezüchtet um sie weiter zu untersuchen. Die daraus entstehenden Kolonien nennen wir „Biomaterial“. Ein Teil dieses Biomaterials wird tiefgefroren maximal zwei Jahre lang gelagert um es nach Abschluss des ersten Teils der Studie (ab Ende 2018) zu analysieren. Hierfür werden die Proben zum Institut für Mikrobiologie des Universitätsklinikums Eppendorf (UKE) gebracht um dort bestimmte Untersuchungen (z.B. Bestimmung von Resistenzgenen der Erreger) durchzuführen. Danach wird das Biomaterial vernichtet.

Seite 1 von 6

**Folgende Abstriche und Fragebögen sind geplant:**

- Vor der Reise: 1. Abstrich + „Fragebogen 1“. Wenn hier MRE festgestellt werden, ist eine Teilnahme an der Studie nicht mehr möglich.
- Innerhalb der ersten Woche nach Wiederankunft: 2. Abstrich + „Fragebogen 2“
- Falls im 2. Abstrich MRE gefunden wurden: Einen Monat nach Wiederankunft (+eine Woche): 3. Abstrich + „Fragebogen 3“
- Falls im 3. Abstrich MRE gefunden wurden: Drei Monate nach Wiederankunft (+eine Woche): 4. Abstrich + „Fragebogen 3“
- Falls im 4. Abstrich MRE gefunden wurden: Sechs Monate nach Wiederankunft (+eine Woche): 5. Abstrich + „Fragebogen 3“

Nach der Reise werden wir ggf. versuchen Sie telefonisch zu kontaktieren um Sie an Abstrich und Fragebogen zu erinnern.

**Wie werde ich über Resultate der Studie informiert?** Sollten wir nach der Reise bei Ihnen MRE finden, werden wir Sie hierüber telefonisch oder per Email informieren und Sie bitten erneut einen Abstrich durchzuführen. Diesen schicken Sie uns dann bitte zusammen mit einem kurzen Fragebogen zurück. Einen frankierten Rückumschlag hierfür erhalten Sie per Post von uns. Falls wir bei Ihnen bereits vor der Reise MRE finden sollten, werden wir Sie auch hierüber informieren. Falls von Ihnen gewünscht informieren wir gerne Ihre Hausärztin/Ihren Hausarzt über diese Studie und falls gewünscht auch über mögliche gefundene MRE. Sollten wir bei ihnen im ersten Abstrich nach der Reise keine MRE finden werden wir nicht erneut mit Ihnen Kontakt aufnehmen.

**Welchen persönlichen Nutzen habe ich von der Studie?**

Es kann im Rahmen der Studie eine Besiedelung mit multiresistenten Erregern bei Ihnen nachgewiesen werden. Eine Behandlung dieser Besiedelung ist bei ansonsten gesunden Erwachsenen nicht notwendig. Zudem wird durch Nachuntersuchungen überprüft ob die Besiedelung bei Ihnen von Dauer ist oder ob die Erreger (und davon ist in der Regel auszugehen) von alleine verschwinden. Bei Menschen mit schweren Grunderkrankungen kann eine Entfernung der Besiedelung z.B. durch regelmäßige Waschungen notwendig sein („Dekolonisierung“, „Sanierung“). Durch die Teilnahme an der Studie entsteht keine weitere medizinische Betreuung. Sollten im Rahmen der Studie eine Besiedelung oder Erkrankung mit MRE festgestellt werden muss über eine eventuelle Sanierung (bzw. Therapie) der Hausarzt oder ein anderer behandelnder Arzt entscheiden.

**Ist ein Risiko mit der Untersuchung verbunden?**

Wenn bei Ihnen multiresistente Erreger nachgewiesen werden und Sie sich aus anderen Gründen in ein Krankenhaus begeben müssen sollten Sie dies gegenüber dem behandelnden Personal angeben. Unter Umständen sind dann spezielle Hygienemaßnahmen zur Verhütung von Übertragungen auf andere Patientinnen und Patienten notwendig. Die Entnahme der Abstriche ist eine sehr häufig durchgeführte Prozedur die problemlos und schnell erlernt werden und dann von Ihnen selbst durchgeführt werden kann. Risiken bestehen in der Regel keine.

### **Wer darf an dieser Studie teilnehmen und wer nicht?**

Teilnehmen dürfen Personen die

- gesund und 18 Jahre oder älter sind
- in den nächsten 3 Monaten für 2 Wochen bis 6 Monate ins außereuropäische Ausland verreisen
- sich in der Reisemedizinischen Ambulanz des UKE am BNI vorstellen.

Nicht teilnehmen dürfen Personen

- die in den letzten 6 Monaten stationär im Krankenhaus waren
- die dauerhaft in einer Pflegeeinrichtung leben

### **Entstehen durch die Teilnahme für mich Kosten? Erhalte ich eine Aufwandsentschädigung?**

Durch Ihre Teilnahme an dieser wissenschaftlichen Studie entstehen für Sie keine Kosten. Sie erhalten keine Aufwandsentschädigung.

### **Was geschieht mit meinen im Rahmen dieser Studie erhobenen Daten?**

Die Untersuchungsdaten werden von Ihren persönlichen Daten getrennt ausgewertet. Externen Personen oder Institutionen, Firmen etc. werden kein Einblick in Ihre persönlichen Daten und Untersuchungsbefunde erhalten. Lediglich das Gesamtergebnis der Studie wird (ohne Namensnennung und Geburtsdatum) in wissenschaftlichen Zeitschriften und bei Fachtagungen veröffentlicht und nur anonymisierte Untersuchungsdaten, ohne Namensnennungen und Geburtsdatum, werden weitergegeben. Die Vorschriften über die ärztliche Schweigepflicht und den Datenschutz werden jederzeit eingehalten. Bitte nehmen Sie die Datenschutzerklärung auf Seite 4 dieser Einwilligungserklärung zum Datenschutz zur Kenntnis und unterschreiben Sie diese.

### **Ist die Teilnahme freiwillig, kann ich sie widerrufen?**

Die Teilnahme an dieser Studie ist freiwillig. Durch Ihre Bereitschaft, an dieser Studie teilzunehmen, unterstützen Sie maßgeblich die Forschung zu multiresistenten Erregern bei Reisenden. Sie können Ihre Teilnahme jederzeit, auch ohne Angabe von Gründen widerrufen. Hieraus erwachsen Ihnen keine Nachteile für die weitere ärztliche Beratung oder Behandlung.

1. Ich willige in die Teilnahme an dem oben beschriebenen Forschungsvorhaben ein:

Ja  Nein

2. Ich hatte genügend Bedenkzeit um mich zu entscheiden, ob ich an der Studie teilnehmen möchte und alle meine Fragen wurden ausreichend beantwortet:

Ja  Nein

3. Mir wurden Kopien der Information und Einwilligungserklärung ausgehändigt:

Ja  Nein

## Erklärung zum Datenschutz

Wir sind um die Sicherheit der von Ihnen erhobenen Daten bemüht. Bitte lesen Sie sich deshalb folgende wichtige Punkte zum Datenschutz durch:

- *Die im Rahmen des Forschungsvorhabens nach Einwilligungserklärung des Studienteilnehmers erhobenen persönlichen Daten, insbesondere Befunde, unterliegen der Schweigepflicht und den datenschutzgesetzlichen Bestimmungen (u.a. Europäische Datenschutz-Grundverordnung (DSGVO), Neufassung des Bundesdatenschutzgesetzes (BDSG-neu)).*
- *Die Daten werden in Papierform und auf Datenträgern im Bernhard-Nocht-Institut (BNI) und/oder im Universitätsklinikum Eppendorf (UKE) aufgezeichnet und pseudonymisiert<sup>1</sup> verschlüsselt für die Dauer von 10 Jahren gespeichert. Bei der Pseudonymisierung (Verschlüsselung) werden der Name und andere Identifikationsmerkmale (z.B. Teile des Geburtsdatums) durch z.B. eine mehrstellige Buchstaben- oder Zahlenkombination, auch Code genannt, ersetzt, um die Identifizierung des Studienteilnehmers auszuschließen oder wesentlich zu erschweren.*
- *Zugang zu dem „Schlüssel“, der eine persönliche Zuordnung der Daten des Studienteilnehmers ermöglicht, haben neben dem Studienleiter nur von diesem ausdrücklich dazu autorisierte Personen aus der Forschungsgruppe. Sobald der Forschungszweck es zulässt, wird der Schlüssel gelöscht und die erhobenen Daten damit anonymisiert<sup>2</sup>.*
- *Dritten (z.B. externe StatistikerInnen) sollen nur Einsicht in pseudonymisierte Daten erhalten.*
- *Die Auswertung und Nutzung der Daten durch den Studienleiter und seine Mitarbeiter erfolgt in pseudonymisierter Form.*
- *Sind an dem Forschungsvorhaben weitere medizinische Einrichtungen und/oder Labore beteiligt, erfolgt die Weitergabe der studienbezogenen Daten an sie in pseudonymisierter Form.*
- *Die Veröffentlichung der Studienergebnisse erfolgt ausschließlich in anonymisierter Form.*
- *Die Studienteilnehmer haben das Recht, über die von ihnen erhobenen, verarbeiteten und übermittelten personenbezogenen Daten Auskunft zu verlangen, diese zu erhalten und, soweit technisch möglich, eine Übermittlung an eine von den Studienteilnehmern genannten Stelle zu verlangen.*
- *Sie werden über möglicherweise anfallende personenbezogene Ergebnisse der Studie informiert. Konkret bedeutet dies, dass über ein mögliches Auffinden von multiresistenten Erregern (MREs) bei ihnen schriftlich informiert werden.*
- *Sie haben außerdem das Recht, Sie betreffende unrichtige personenbezogene Daten berichtigen zu lassen. Die Studienteilnehmer können unter bestimmten Umständen die Einschränkung der Verarbeitung verlangen<sup>3</sup>.*
- *Sie haben das Recht auf Löschung sie betreffender personenbezogener Daten, z.B. wenn diese Daten für den Zweck, für den sie erhoben wurden, nicht mehr notwendig sind*
- *Die Studienteilnehmer können jederzeit gegen konkrete Entscheidungen oder Maßnahmen zur Verarbeitung der sie betreffenden personenbezogenen Daten Widerspruch einlegen oder die Einwilligung komplett zu widerrufen.*
- *Im Falle des Widerrufs der Einwilligungserklärung werden die bereits erhobenen Daten gelöscht oder anonymisiert<sup>2</sup> und in dieser Form weiter genutzt. Eine Löschung bereits anonymisierter Daten ist nicht möglich. Die Proben werden im Fall des Widerrufs anonymisiert und in dieser Form weiter genutzt.*
- *Dieses Forschungsvorhaben ist durch die zuständige Ethik-Kommission ethisch und fachrechtlich beraten worden.*
- *Den Studienteilnehmern steht es frei von Ihrem Recht Gebrauch zu machen, bei den zuständigen Aufsichtsbehörden für Datenschutz Beschwerde einzureichen, wenn sie der Ansicht sind, dass gegen die datenschutzgesetzlichen Bestimmungen verstoßen wurde.*

# Anhang

---

Multiresistente Erreger bei Auslandsreisenden (MRE-Trav) – Anlage1

Protokoll v3.1 – 2018\_05\_29

**1 Pseudonymisierung** [bezeichnet] die Verarbeitung personenbezogener Daten in einer Weise, dass die personenbezogenen Daten ohne Hinzuziehung zusätzlicher Informationen nicht mehr einer spezifischen betroffenen Person zugeordnet werden können, sofern diese zusätzlichen Informationen gesondert aufbewahrt werden und technischen und organisatorischen Maßnahmen unterliegen, die gewährleisten, dass die personenbezogenen Daten nicht einer identifizierten oder identifizierbaren natürlichen Person zugewiesen werden (Art. 4 Nr. 5 DSGVO).

**2 Anonyme Informationen** [sind] Informationen, die sich nicht auf eine identifizierte oder identifizierbare natürliche Person beziehen, oder personenbezogene Daten, die in einer Weise anonymisiert worden sind, dass die betroffene Person nicht oder nicht mehr identifiziert werden kann (Erwägungsgrund 26 DSGVO)

3 Für eine nähere Erläuterung siehe Artikel 18 und 19 DSGVO.

**Datenschutzbeauftragte/r**

Datenschutzbeauftragter des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf, Matthias Jaster  
Martinistraße 52  
20246 Hamburg  
040 / 7410 - 56890  
m.jaster@uke.de

**Datenschutz-Aufsichtsbehörde**

Der Landesbeauftragte für den Datenschutz Hamburg  
Prof. Johannes Caspar  
Kurt-Schumacher-Allee 4,  
20097 Hamburg, im 6. Obergeschoss  
040 / 42854 - 4040  
mailbox@datenschutz.hamburg.de

4. Ich willige in die oben beschriebene Datenschutzerklärung für dieses Forschungsvorhaben ein:

Ja  Nein

5. Ich willige in die oben beschriebene Entnahme und Nutzung meiner Biomaterialien ein:

Ja  Nein

Seite 5 von 6

# Anhang

Multiresistente Erreger bei Auslandsreisenden (MRE-Trav) – Anlage1

Protokoll v3.1 – 2018\_05\_29

## Einwilligungserklärung

..... geb. am .....

Name des Probanden in Druckbuchstaben

Geburtsdatum

Teilnehmer-Nr. ....

Ich bin in einem persönlichen Gespräch durch den Arzt .....

Name der aufklärenden Ärztin / des Arztes

ausführlich und verständlich über die zu prüfende Untersuchungsmethode sowie über Wesen, Bedeutung, Risiken und Tragweite der wissenschaftlichen Studie aufgeklärt worden. Ich habe darüber hinaus den Text der „Information für Teilnehmende“ sowie die „Erklärung zum Datenschutz“ gelesen und verstanden. Ich hatte die Gelegenheit, mit dem Studienarzt über die Durchführung der wissenschaftlichen Studie zu sprechen. Alle meine Fragen wurden zufriedenstellend beantwortet.

Möglichkeit zur Dokumentation zusätzlicher Fragen seitens des Probanden oder sonstiger Aspekte des Aufklärungsgesprächs:

.....  
.....  
.....  
.....

Ich hatte ausreichend Zeit, mich zu entscheiden. Mir ist bekannt, dass ich jederzeit und ohne Angabe von Gründen meine Einwilligung zur Teilnahme an der Studie zurückziehen kann (mündlich oder schriftlich), ohne dass mir irgendwelche Nachteile entstehen. Mir ist bekannt, dass es zum Nachweis von Multiresistenten Erregern kommen kann.

### **Ich erkläre mich bereit, an der Studie:**

Multiresistente Erreger bei Auslandsreisenden

**freiwillig teilzunehmen.**

Ein Exemplar dieser Einverständniserklärung habe ich erhalten, ein weiteres Exemplar verbleibt im Studienzentrum.

.....  
Hamburg, den .....

(Unterschrift des Studienarztes)

.....  
Hamburg, den .....

(Unterschrift des Studienteilnehmers)

Seite 6 von 6

### **10.6 Veröffentlichungshinweis**

Die Daten aus dieser Dissertation wurden in der Publikation „Less than you’d think – a prospective study on MRSA-colonization in healthy travellers“ im Journal of Travel Medicine am 07.01.2021 veröffentlicht (147).

Des Weiteren wurde diese Studie und damit auch diese Dissertation durch das Deutsche Zentrum für Infektionsforschung (DZIF) finanziert und gefördert.

### **11 Danksagung**

Ich danke Dr. Till Koch und Prof. Dr. Marylyn Addo für die Betreuung und tatkräftigen Unterstützung, während aller Phasen dieser Dissertation. Mein Dank gilt auch My Linh Ly und Doris Winter für die technische Unterstützung und alle konstruktiven Hinweise. Weiterer Dank gilt der Arbeitsgruppe Infektionsepidemiologie für die Bereitstellung von *Staphylococcus-aureus*-Isolaten als Referenzarten für diese Arbeit. Zudem möchte ich dem gesamten Team der Arbeitsgruppe Klinische Infektionsimmunologie für das stets angenehme und produktive Arbeitsklima danken, sowie das Team der Impfabulanz am BNITM für die Geduld, Rücksicht und Offenheit während der Studie.

Zudem danke ich Dr. Martin Christner vom Mikrobiologischen Institut des UKEs für die mikrobiologische Aufarbeitung der letzten Proben und dem Deutschen Zentrum für Infektionsforschung für die finanzielle Unterstützung, ohne die diese Arbeit in der Form nicht möglich gewesen wäre.

## **12 Lebenslauf**

Lebenslauf aus datenschutzrechtlichen Gründen nicht enthalten.

### **13 Eidesstattliche Versicherung**

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: .....