

**Aus dem Institut für Hygiene und Mikrobiologie
der Universität Würzburg**

Vorstand: Prof. Dr. med. Oliver Kurzai

**Asymptomatisches Trägertum von *Staphylococcus aureus* und
Haemophilus influenzae bei Senioren**

Inauguraldissertation

**zur Erlangung der Doktorwürde der
medizinischen Fakultät**

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Maria Drayß

aus Walldürn

Würzburg, März 2021

Referentin: Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Heike Claus

Koreferentin: Prof. Dr. med. Ildikó Gágyor

Dekan: Prof. Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 22.02.2022

Die Promovendin ist Ärztin

Inhaltsverzeichnis

Einleitung.....	5
1.1 <i>Haemophilus influenzae</i>	6
1.1.1 Speziesbestimmung und Typisierung.....	6
1.1.2 Pathologie.....	9
1.1.3 Therapie und Prävention	10
1.1.4 Epidemiologische Entwicklung der letzten Jahre.....	11
1.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	14
1.2.1 Speziesbestimmung	15
1.2.2 Asymptomatische Besiedelung und Infektionen	16
1.2.3 Therapie, Risikofaktoren und Prävention.....	18
1.2.4 Epidemiologische Ausgangslage.....	20
1.3 Fragestellung.....	22
Material und Methoden.....	23
2.1 IBI-Studie.....	23
2.2 Fragebogen und Ethikvotum	24
2.3 Statistische Methoden	26
2.3.1 Datenmanagement	26
2.3.2 Deskriptive Statistik und Analyse von Risikofaktoren	29
2.4 Labormaterialien, Geräte und Software	31
2.5 Multilocus-Sequenz-Typisierung	35
2.6 Phylogenetischer Vergleich mit invasiven <i>H. influenzae</i>	38
Ergebnisse	40
3.1 Studienpopulation.....	40
3.2 Asymptomatisches Trägertum von <i>S. aureus</i>	42
3.2.1 Prävalenzdaten von <i>S. aureus</i>	42
3.2.2 Prävalenzdaten von MRSA.....	43
3.3 Risikofaktoren für eine Besiedelung mit <i>S. aureus</i>	44
3.3.1 Selbständig lebende Senioren.....	44
3.3.2 Bewohner von Senioren- und Pflegeheimen	49
3.3.3 Logistische Regression.....	53

3.4 Asymptomatisches Trägertum von <i>H. influenzae</i>	55
3.4.1 Prävalenz von <i>H. influenzae</i>	55
3.4.2 Phylogenetischer Vergleich mit invasiven <i>H. influenzae</i>	56
Diskussion	61
4.1 Studienpopulation und geografische Herkunft	61
4.2 Prävalenz und Risikofaktoren bei <i>S. aureus</i>	62
4.3 Prävalenz und Risikofaktoren bei MRSA	63
4.4 Asymptomatisches Trägertum von <i>H. influenzae</i>	64
4.5 Phylogenetischer Vergleich mit invasiven <i>H. influenzae</i>	65
4.6 Limitationen der Studie.....	66
Schluss	68
Ergänzende Tabellen und Abbildungen	70
Literaturverzeichnis	91
Appendix	105
I Abkürzungsverzeichnis	105
II Abbildungsverzeichnis.....	108
III Tabellenverzeichnis.....	109
IV Danksagung.....	110
V Eigene Veröffentlichungen.....	111

Hinweis: Aus Gründen der besseren Lesbarkeit und Verständlichkeit wird in dieser Arbeit überwiegend das generische Maskulinum stellvertretend für alle Geschlechter verwendet.

Einleitung

Betrachtet man die wichtigsten Todesursachen der Bevölkerung im Lauf der Jahrhunderte, so standen Infektionskrankheiten durch Viren, Bakterien, Pilze oder Parasiten häufig an vorderster Stelle. Im Mittelalter und der Barockzeit wurden ganze Landstriche von der Pest entvölkert. Das 19. Jahrhundert brachte neben Cholera- und Pockenepidemien mit der Tuberkulose eine neue Geißel, welcher auch berühmte Persönlichkeiten wie Friedrich Schiller oder Franz Kafka zum Opfer fielen. Seit der Entwicklung moderner Antibiotika in der zweiten Hälfte des 20. Jahrhundert scheinen Infektionskrankheiten in Europa ihren Schrecken weitgehend verloren zu haben. Dennoch gehört die Pneumonie in Deutschland noch immer zu den 10 häufigsten Todesursachen (Statistisches Bundesamt (Destatis), 2018, p. 129). Die Sepsis ist mit einer Inzidenz von 335 / 100.000 Einwohner (im Jahr 2013) ähnlich häufig, wie der akute Myokardinfarkt (Fleischmann et al., 2016; Freisinger et al., 2014). Zum Anstieg der Sepsis-Zahlen hat vor allem auch der wachsende Anteil älterer und pflegebedürftiger Menschen an der Gesamtbevölkerung beigetragen, die davon am meisten betroffen sind (Fleischmann et al., 2016). Während in Deutschland im Jahr 1960 der Anteil von Menschen in der Altersklasse ab 65 Jahre nur 11,6% betrug, so lag der Anteil im Jahre 2015 bei 21,1% (Statistisches Bundesamt (Destatis), 2018, pp. 31, 136). Trotz ihrer zunehmenden, auch gesundheitsökonomischen Bedeutung sind Senioren in der klinischen und epidemiologischen Forschung noch immer unterrepräsentiert. Neben Keimen des Intestinaltrakts oder Urogenitaltrakts sind auch Bakterien, welche die Atemwege besiedeln, wie *Neisseria meningitidis* (*N. meningitidis*), *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*), Gruppe A Streptokokken, *Haemophilus influenzae* (*H. influenzae*) oder der Hautkeim *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), häufige Auslöser von invasiven Infektionen mit hoher Mortalität bei Senioren. Im Gegensatz zu lokalen Infektionen der Haut oder Schleimhaut, dringt der Erreger dabei in die Blutbahn ein und verursacht ein schweres Krankheitsbild bis hin zur Sepsis. Eine asymptomatische Besiedelung der Haut oder Schleimhäute kann besonders bei engeren

Kontakten zu einer Übertragung auf andere Menschen führen (Wertheim et al., 2005). Wenn die natürliche Schleim- /Hautbarriere gestört ist, kann es zu lokalen oder invasiven Infektionen kommen. Daher sind nicht nur Infektionen selbst, sondern auch die asymptomatische Kolonisierung Gegenstand der Forschung.

1.1 *Haemophilus influenzae*

Haemophilus influenzae ist ein gramnegatives Bakterium, welches als Kommensale die Mukosa des menschlichen Pharynx besiedelt und sowohl lokale Infektionen der Atemwege, als auch invasive Infektionen verursachen kann. Der Name „*haemophilus*“ rührt von seiner Eigenschaft her, zum Wachstum unter anderem Haemin (Faktor X) zu benötigen (Gilsdorf, 2015). Die Bezeichnung „*influenzae*“ ist historisch bedingt, da man das Bakterium bei seiner Entdeckung im Jahre 1892 für den Erreger der Influenza hielt (Pfeiffer, 1892). Tatsächlich konnte das als „*Bacillus influenzae*“ oder auch „Pfeiffer Bacillus“ bezeichnete Bakterium häufig aus dem Sputum von Patienten isoliert werden, welche an ihrer Influenzaerkrankung verstarben. Die Bezeichnung „*Haemophilus influenzae*“ wurde 1920 eingeführt (Winslow et al., 1920).

1.1.1 Speziesbestimmung und Typisierung

H. influenzae ist ein anspruchsvoll wachsendes und fakultativ anaerobes Bakterium, welches zum Wachstum die beiden Faktoren X (Hämin) und V (Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid oder NAD) benötigt. Auf normalem Kochblutagar wächst *H. influenzae* daher nur in Gegenwart von Keimen wie *S. aureus*, welche die benötigten Faktoren durch Beta-Hämolyse freisetzen (Ammon- oder Satellitenphänomen). Diese Eigenschaft nutzt man zur Differenzierung von anderen *Haemophilus spp.* mittels Faktoren-Test. *H. influenzae* ist unbeweglich, nicht sporenbildend und zeigt sich unter dem Mikroskop als kleines, pleomorphes Stäbchen (Herbert et al., 1998). Man unterscheidet zwischen bekapselten oder typisierbaren Stämmen und

unbekapselten, nicht-typisierbaren *H. influenzae* (NTHi). Bekapselte *H. influenzae* lassen sich anhand ihrer Polysaccharidkapsel in die Serotypen a bis f einteilen, welche strukturell und antigenetisch verschieden sind (Pittman, 1931). Das Vorhandensein einer Kapsel erschwert Opsonisierung und Phagozytose durch neutrophile Granulozyten und ist somit ein wichtiger Virulenzfaktor (Inzana, 1990; Noel et al., 1992). Der sogenannte Kapsel-Locus oder Cap locus besteht aus drei Regionen, wovon Region II kapselspezifisch ist, also für die Kapseltypen a-f kodiert. Region I ist für die Kapselexpression verantwortlich. Geht dort das Gen *bexA* verloren, so wird die Kapsel nicht exprimiert und der Stamm ist phänotypisch unbekapselt (Catlin et al., 1972; Falla et al., 1994; Kroll et al., 1990; Kroll et al., 1989). Dies ist jedoch äußerst selten, sodass unbekapselte *H. influenzae* in der Regel auch genetisch echte NTHi sind (Lam et al., 2016).

Neben der Bestimmung des Kapsel- oder Serotyps ist eine Einteilung in acht Biotypen möglich, anhand unterschiedlicher biochemischer Reaktionen (u.a. Produktion von Indol, Urease und Ornithindecaboxylase). Dabei zeigte sich eine Assoziation bestimmter Biotypen mit Stämmen, welche akute Infektionen verursachen (Kilian, 1976; Oberhofer et al., 1979; Sottnek et al., 1984).

Zur Anzucht wird meist Kochblutagar oder auch Brain heart infusion (BHI) Agar verwendet, welcher mit den beiden Faktoren X und V angereichert ist. Die Inkubation erfolgt bei 33-37 °C und einer CO₂-Konzentration von 5-10 %. Nach 1-2 Tagen bilden sich erhabene, leicht durchscheinende und glatte Kolonien. Die Speziesidentifikation erfolgt zunächst anhand des faktorenabhängigen Wachstums, der Koloniemorphologie und Gramfärbung (Ahearn et al., 2017; Herbert et al., 1998). Eine verlässliche Bestimmung ist mittlerweile mit massenspektrometrischen Verfahren wie Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation Time of Flight (MALDI-TOF) möglich (Chen et al., 2017; Zhu et al., 2013). Im besten Falle kommen ergänzend auch molekulare Methoden zur Bestätigung der Spezies zum Einsatz, um eine Verwechslung mit nicht-hämolyisierenden *H. haemolyticus*-Stämmen zu vermeiden (McCrea et al., 2008; Murphy et al., 2007), welche phylogenetisch eng mit NTHi verwandt sind

und ebenfalls die beiden Wachstumsfaktoren V und X benötigen (Hu et al., 2016). Möglich sind eine Kombination von PCR-Assays für verschiedene, gut konservierte Genloci (Binks et al., 2012) wie *hpd* (Protein D), *fucK* (Fucose-Kinase), *ompP2* (Outer membrane protein P2) oder *iga* (IgA-Protease). Ergänzend ist eine Sequenzierung von *ompP6* (Outer membrane protein P6) möglich (Murphy et al., 2007). Zur Bestimmung des Kapseltyps sind spezifische Antiseren zur Durchführung eines Agglutinationstests erhältlich. Allerdings kann auch hier eine Bestätigung des Serotyps mittels PCR-Assay erfolgen (Falla et al., 1994; Lam et al., 2011).

Für epidemiologische Fragestellungen kann über die Serotypisierung hinaus eine molekulare Feintypisierung durchgeführt werden. Hierzu ist die Multilocus-Sequenztypisierung (MLST) ein etabliertes Verfahren (Meats et al., 2003). Es hat die vorher übliche, aber aufwendige Multilocus-Enzym-Elektrophorese oder MLEE (Musser et al., 1990) abgelöst, da durch die Analyse auf DNA-Ebene statt auf Protein-Ebene kein Informationsverlust hinsichtlich Nukleotid-Variationen entsteht und die Vergleichbarkeit und Validität der Ergebnisse besser ist. Bei der MLST werden ca. 500 bp (Basenpaare) lange Fragmente von sieben sogenannten *housekeeping genes* sequenziert und den jeweiligen Sequenzen Allele zugewiesen. Diese Gene kodieren für wichtige Enzyme oder Strukturmoleküle des Bakteriums. Sie werden daher unabhängig von Regulationsmechanismen exprimiert und unterliegen keinem Selektionsdruck wie z.B. Außenmembranproteine. Es sind dies bei *H. influenzae* die folgenden Gene: *adK* (Adenylate kinase) *atpG* (ATP synthase F1 subunit gamma) *frdB* (Fumarate reductase iron-sulfur protein), *fucK* (Fuculokinase), *mdh* (Malate dehydrogenase), *pgi* (Glucose-6-phosphate isomerase), *recA* (RecA protein). Für die unterschiedlichen Allel-Kombinationen werden Sequenz-Typen (ST) vergeben. Bekapselte *H. influenzae* sind innerhalb ihres Serotyps klonal und haben mit anderen Serotypen kaum Allele gemeinsam. NTHi zeigen dagegen eine hohe genetische Diversität und bilden somit eine eigene, heterogene Gruppe (McElligott et al., 2020; Sill et al., 2007).

1.1.2 Pathologie

H. influenzae wird durch Aerosole bzw. Atemwegssekret übertragen (M. Dworkin et al., 2006, p. 1045). Je nach Virulenz des Erregers und Abwehrlage des Wirts kann es nur zu einer asymptomatischen Besiedelung oder auch zu einer lokalen oder invasiven Infektion kommen. Das natürliche Habitat ist der Pharynx bzw. die Mucosa der oberen Atemwege. Die Kolonisierung ist zudem von Faktoren wie z.B. dem Mikrobiom oder der Immunabwehr des Wirts abhängig (Gilsdorf, 2015; Lewnard et al., 2016). *H. influenzae* heftet sich mit Hilfe von Pilus- und Nicht-Pilus-Adhesinen an die Mucosa-Zellen an (Agrawal et al., 2011; Moxon, 1992; Noel et al., 1994). Dabei ist die Umgehung der mukoziliären Clearance wichtig, weshalb eine Schädigung durch respiratorische Viren eine Besiedelung und Infektion begünstigt (DeMuri et al., 2017). Bekapselte Stämme führen häufig zu invasiven Infektionen, wie Epiglottitis und Pneumonie, aber auch Meningitis oder septische Arthritis (Moxon, 2009), da die Polysaccharid-Kapsel das Eindringen in die Blutbahn erleichtert (Inzana, 1990). Unter den bekapselten Stämmen besitzt Hib die höchste Pathogenität (Zwahlen et al., 1989). Unbekapselte *H. influenzae* (NTHi) sind dagegen zunächst meist Kommensale oder verursachen eine lokale Infektion der oberen Atemwege, wie Otitis media, Sinusitis und Konjunktivitis (Agrawal et al., 2011). Bei Kindern ist NTHi einer der häufigsten bakteriellen Erreger von Otitis media (Murphy et al., 2009; Ubukata et al., 2018). Von Infektionen der unteren Atemwege wie Bronchitis oder Pneumonie sind vor allem Erwachsene betroffen (Agrawal et al., 2011; Kilbourn et al., 1983). Bei geschädigtem Epithel kann auch NTHi in die Blutbahn eindringen und invasive Infektionen wie Sepsis oder Meningitis verursachen. Eine wichtige Rolle spielt NTHi auch als Einflussfaktor auf die Entzündungsaktivität und bei Exacerbationen der COPD (chronic obstructive pulmonary disease) (Sethi et al., 2002; Sethi et al., 2001). Risikofaktoren für eine invasive Infektion mit bekapselten *H. influenzae* sind primäre und sekundäre Immundefekte, die die Produktion von Antikörpern beeinträchtigen (Van der Hilst et al., 2002), darunter HIV-Infektion (Adetokunboh et al., 2019) und die (auch funktionelle) Asplenie (Chong et al., 2017), oder Erkrankungen

die mit Immunsuppression einhergehen, wie hämatologische Erkrankungen, Diabetes mellitus oder dialysepflichtige Niereninsuffizienz (Nix et al., 2012).

1.1.3 Therapie und Prävention

Üblicherweise werden Betalactam-Antibiotica wie Ampicillin als Erstlinientherapie von Infektionen mit *H. influenzae* eingesetzt. Allerdings hat die Entwicklung von Resistenzen in den letzten Jahrzehnten deutlich zugenommen, wobei die Raten je nach Land stark schwanken können (Heinz, 2018). Betalactam-Antibiotika binden an Enzyme, die sogenannten Penicillin-bindenden Proteine (PBPs), welche die Peptidoglykan-Untereinheiten der Zellwand quervernetzen, und verhindern so die Zellwandsynthese des Bakteriums (Park et al., 1957). Seit den 1970er Jahren sind bei *H. influenzae* Plasmid-vermittelte Resistenzen gegen Ampicillin durch die Bildung einer Betalaktamase bekannt, welche den Beta-Laktam-Ring des Antibiotikums hydrolysiert (Heinz, 2018; Mathies, 1972; Medeiros et al., 1975; Rubin et al., 1981). Die Häufigkeit dieser Betalaktamase-positiven, Ampicillin-resistenten (= BLPAR) *H. influenzae* beträgt in Deutschland etwa 9,2% (Lam et al., 2015), weltweit 9,6-27,5% (Gilsdorf, 2015). Ein anderer Mechanismus ist die Veränderung der Zielstruktur des Antibiotikums, also eine Modifikation des Penicillin-bindenden Proteins (Ubukata et al., 2001). In Deutschland liegt der Anteil von Ampicillin-resistenten, Betalaktamase-negativen (= BLNAR) *H. influenzae* bei 2,4% (Lam et al., 2015). International liegt die Häufigkeit zwischen <5% in einigen EU-Ländern bis zu knapp 50% in Japan (Heinz, 2018). Stämme, die beide Resistenzmechanismen haben, also Betalaktamase-positiv und Ampicillin / Clavulansäure-resistent sind (= BLPACR), kamen in Deutschland bislang kaum bis gar nicht vor (Lam et al., 2015). Sie sind auch in anderen europäischen Ländern selten (Gilsdorf, 2015). Hierfür wären Cephalosporine der zweiten und dritten Generation eine Behandlungsoption (Tristram et al., 2007).

Gegen *H. influenzae* Serotyp b (Hib) wird in Deutschland seit 1990 von der ständigen Impfkommission (STIKO) des Robert-Koch-Instituts eine

Grundimmunisierung mit einem PRP-Konjugatimpfstoff (Polyribosylribitolphosphat) im Säuglings- und Kleinkindalter allgemein empfohlen (2-3 Impfdosen im Alter von 2-4 Monaten, sowie einmalige Boosterung im Alter von 11-14 Monaten). Erwachsene ohne Impfschutz sollten bei entsprechenden Risikofaktoren wie Asplenie eine einmalige Impfung erhalten ("Ständige Impfkommission: Empfehlungen der ständigen Impfkommission (STIKO) am Robert-Koch-Institut," 2019). Im Falle einer invasiven Erkrankung, d.h. Nachweis von *H. influenzae* in Blut oder Liquor, besteht gemäß Infektionsschutzgesetz (IfSG) § 7 Meldepflicht an das zuständige Gesundheitsamt.

1.1.4 Epidemiologische Entwicklung der letzten Jahre

Vor der Einführung der Hib-Impfung Ende der 80er Jahre war *H. influenzae* Serotyp b für über 95% der invasiven Erkrankungsfälle bei Kleinkindern verantwortlich und war in der Altersgruppe unter 5 Jahren in den USA die Hauptursache für bakterielle Meningitis und Epiglottitis. Die Inzidenz invasiver Hib-Infektionen betrug dort bis > 300/100.000 (Ward et al., 1986). Bei Erwachsenen war sie dagegen mit 0,81/100.000 wesentlich niedriger (Farley et al., 1992). Seit Einführung der Impfung gegen Hib in Europa und Nordamerika treten Erkrankungen durch diesen Serotyp kaum noch auf. In Ländern ohne entsprechende Impfprogramme sind invasive Hib-Infektionen dagegen immer noch häufig, am höchsten in Südostasien mit einer Inzidenz von 238/100.000 im Jahre 2015 (Peltola, 2000; Wahl et al., 2018).

In Ländern mit etablierter Hib-Impfung wird mittlerweile die Mehrzahl der invasiven Erkrankungen durch NTHi verursacht, welche gerade unter Senioren eine hohe Mortalität haben (Collins et al., 2016; Soeters et al., 2018), seltener durch Hib, Hia, Hie oder Hif (Berndsen et al., 2012; Ladhani et al., 2010). Auch ist die Inzidenz invasiver Erkrankungen deutlich gefallen. In Europa lag im Jahre 2014 die Gesamt-Inzidenz der invasiven Erkrankungen durch *H. influenzae* (alle Altersgruppen, alle Serotypen und NTHi) bei 0,6/100.000 Einwohner. Sie war am höchsten bei Kindern im Alter < 1 Jahr mit 6,5/100.000

und bei Senioren im Alter > 60 Jahre mit 1,7/100.000 (Whittaker et al., 2017). Bei invasiven Infektionen durch NTHi sind ebenfalls vor allem Kleinkinder und Senioren betroffen. Dabei ist die Mortalität bei Patienten im Alter von 65 Jahren und älter am höchsten, besonders auch, wenn chronische Erkrankungen vorliegen (M. S. Dworkin et al., 2007; Van Eldere et al., 2014).

In Deutschland ist die Inzidenz invasiver Infektionen mit *H. influenzae* insgesamt niedrig (etwa 1/100.000, vgl. **Abbildung 1. Inzidenz invasiver Infektionen mit *H. influenzae* in Deutschland (2004-2018)**). Auch hier haben Senioren die höchste Krankheitslast (Inzidenz im Jahr 2016 bei > 79-Jährigen: 4,4/100.000) (Robert-Koch-Institut, 2017). Zudem konnte man in den letzten 10 Jahren einen deutlichen Anstieg der Erkrankungszahlen bei älteren Menschen beobachten (vgl. **Abb. 1**), während die Inzidenz bei Kindern < 5 Jahren konstant blieb (Robert-Koch-Institut, 2013, 2017). Bezüglich der Serotyp-Verteilung dominieren in Deutschland NTHi mit 68% der gemeldeten Fälle im Jahre 2016, gefolgt von Serotyp f mit 14% und Serotyp b mit 9,6% der Fälle, während Serotyp a, c und e sehr selten waren (Robert-Koch-Institut, 2017, p. 86; Takla et al., 2020).

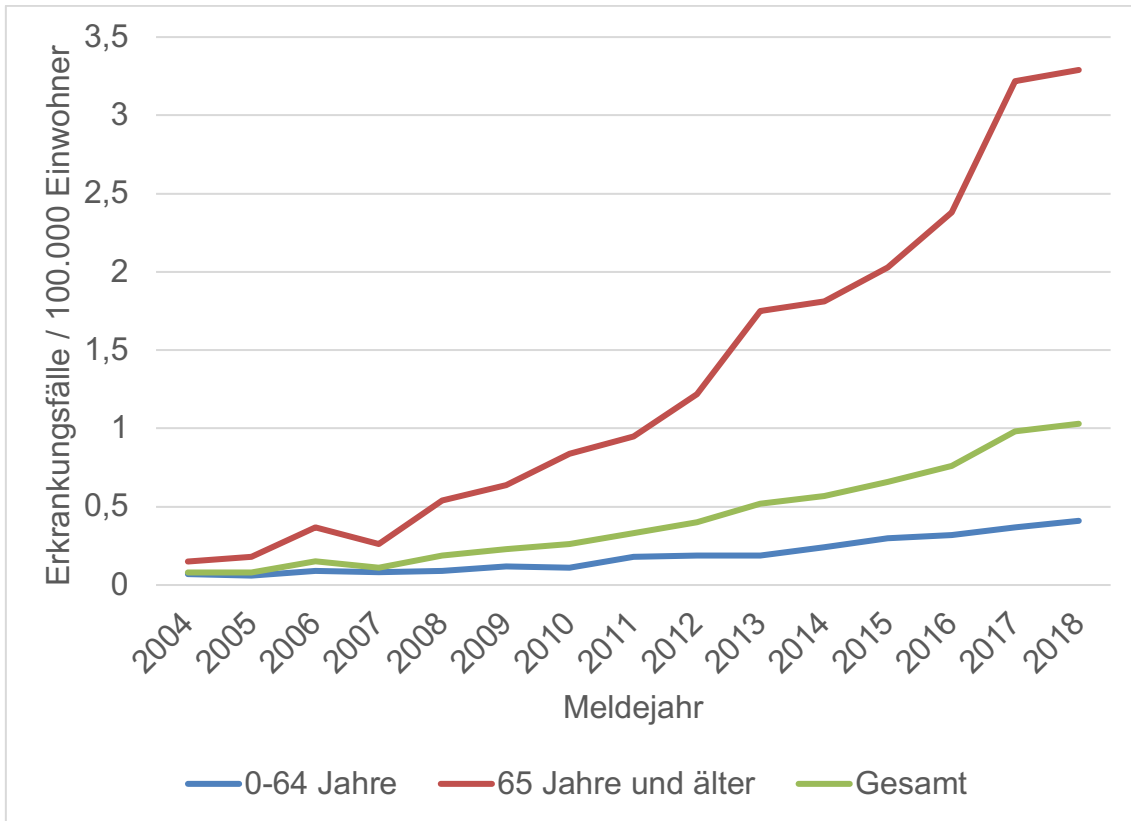


Abbildung 1. Inzidenz invasiver Infektionen mit *H. influenzae* in Deutschland (2004-2018)

Daten entnommen von: Robert Koch-Institut: SurvStat@RKI 2.0, <https://survstat.rki.de>,
 Abfragedatum: 23.05.2019 (Robert-Koch-Institut, 2014).

Kinder sind nicht nur häufiger von lokalen Infektionen wie Otitis media betroffen, sondern auch am häufigsten mit *H. influenzae* besiedelt. Eine Besiedelung mit *H. influenzae* zählt als Risikofaktor für eine Infektion (Agrawal et al., 2011; Giufre et al., 2015). Die Prävalenz der asymptomatischen Kolonisierung ist bei Klein- und Vorschulkindern am höchsten, und nimmt dann mit zunehmendem Lebensalter stark ab. Während in Europa bis zu ca. 70% der Klein- und Vorschulkinder kolonisiert sind (Bosch et al., 2016; Ortiz-Romero et al., 2017), liegt die Rate unter Erwachsenen nur noch bei ca. 1-4% (Adegbola et al., 2014; Sundell et al., 2019). Dabei fallen bei PCR-Testverfahren die Raten höher aus als bei kulturellem Nachweis (Adegbola et al., 2014). Die Besiedelung mit *H. influenzae* unterliegt saisonalen Schwankungen und ist im Winter bzw. in der kühlen Jahreszeit häufiger als im Sommer (Ortiz-Romero et al., 2017). Der

Anteil an *H. influenzae* Serotyp b ist in Ländern mit etablierter Impfung sehr niedrig (Adegbola et al., 2014).

Während die Kolonisierung von Kindern im Europa gut untersucht ist, gab es lange kaum Daten zum asymptomatischen Trägertum bei Erwachsenen und Senioren. Vor allem gab es bislang keine Studie, welche den Focus auf ältere Menschen legte unter Berücksichtigung ihres Lebensraumes (zu Hause lebend oder in einer Pflegeeinrichtung). Auch phylogenetische Analysen inklusive Vergleich von Trägerisolaten mit invasiven Isolaten wurden bisher nur bei Kindern, oder Erwachsenen durchgeführt, nicht aber speziell bei der Altersgruppe der Senioren (Giufre et al., 2015; Shuel et al., 2010; Tsang et al., 2017).

1.2 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus ist ein grampositives Bakterium, welches häufig als potentiell pathogener Kommensale die Haut und Schleimhäute von Menschen und Säugetieren besiedelt. Es kann jedoch auch eine Fülle von Infektionen verursachen wie Haut- und Weichteilinfektionen, darunter Phlegmone oder Abszesse, aber auch invasive Infektionen wie Sepsis, Pneumonie (Mylotte et al., 1987) oder Endokarditis (Sandre et al., 1996). Zudem ist es bekannt als Verursacher von Lebensmittelvergiftungen, Gastroenteritis, Wundinfektionen (Abbas et al., 2018), Katheter-assoziierten und nosokomialen Infektionen (Cheung et al., 1990). Die Bezeichnung „Staphylococcus“ wurde erstmals im Jahre 1882 durch den britischen Chirurgen Alexander Ogston verwendet welcher eitriges Sekret eines Abszesses mikroskopierte und darin traubenförmig zusammengelagerte Mikroorganismen entdeckte (Ogston, 1882, p. 27). Der Namenszusatz „aureus“ (lat. für ‚golden‘) wurde von Rosenbach 1884 aufgrund der gelblichen Farbe der Bakterienkolonien hinzugefügt (Götz et al., 2006, p. 10). Seit dem Aufkommen resistenter Stämme gegen das Beta-Lactamase-feste Antibiotikum Methicillin in den 60er Jahren (Barber, 1961; Jevons et al., 1963) hat der sogenannte Methicillin-resistente *S. aureus* oder MRSA weltweite Verbreitung als „Problemkeim“ in Gesundheits- und

Pflegeeinrichtungen, aber auch in Tiermastbetrieben gefunden (Aires-de-Sousa, 2017; Holden et al., 2013). Seine Fähigkeit zur Resistenzbildung auch gegen Reserve-Antibiotika stellt ein zunehmendes Problem dar (Vestergaard et al., 2019), weshalb sowohl Infektionen durch *S. aureus* als auch das asymptomatische Trägertum Gegenstand der epidemiologischen Forschung sind.

1.2.1 Speziesbestimmung

S. aureus ist meist unbekapselt, unbeweglich und nicht sporenbildend. Das Bakterium bevorzugt ein Wachstum unter aeroben Bedingungen, wobei auch ein anaerobes Wachstum möglich ist. Unter dem Mikroskop zeigt es sich als grampositive Kokken mit einem Durchmesser von 0,5-1,5 µm, welche teilweise in haufenartigen Mustern zusammenliegen oder aber einzeln, in kurzen Ketten, Paaren oder Tetraden auftreten (Götz et al., 2006, p. 11). Die Anzucht kann auf Nährböden wie z.B. Tryptic Soy Agar oder Columbia Agar mit 5% Schafblut erfolgen (Fritz et al., 2008). Nach Inkubation bei 35-37 °C über 24-48 Stunden zeigen sich weißgelbe, Beta-hämolisierende Kolonien. Von anderen *Staphylococcus spp.* lässt sich *S. aureus* neben der Koloniemorphologie und Beta-Hämolyse (Bernheimer et al., 1974) zudem durch das Vorhandensein von bestimmten Leit-Enzymen oder metabolischen Eigenschaften unterscheiden (Baird-Parker, 1965), welche für die Diagnostik hinweisend sind. Das Bakterium besitzt u.a. die Enzyme DNase (Desoxyribonuclease), Katalase, Koagulase (Loeb, 1903) und Clumping factor (Claes et al., 2018), weshalb für eine schnelle Speziesbestimmung der Katalase- und Latex-Agglutinationstest (McDonald et al., 1995; Menzies, 1977) verwendet werden. Bei letzterem kommt es in Anwesenheit der Koagulase zur Verklumpung von mit Fibrinogen beschichteten Latex-Partikeln (Pourshadi et al., 1984). Zur Speziesbestätigung hat sich anstelle der üblichen biochemischen Testreihe (z.B. VITEK-System der Firma BioMérieux) eine massenspektrometrische Bestimmung mittels MALDI-TOF MS-Verfahren etabliert (Sauget et al., 2017; Tang et al., 2019; Ueda et al., 2015). Für einen schnellen Nachweis von *S. aureus* bzw. MRSA werden häufig

aber auch PCR-Verfahren verwendet (Esposito et al., 2014). Für die antibiotische Resistenztestung, welche in der Regel mit automatisierten Systemen wie z.B. VITEK (BioMérieux) erfolgt, ist weiterhin eine kulturelle Anzucht erforderlich.

1.2.2 Asymptomatische Besiedelung und Infektionen

S. aureus ist ein weit verbreiteter, potentiell pathogener Kommensale der Haut und Schleimhäute von Menschen und Säugetieren. Am häufigsten besiedelt er nährstoffreiche Hautregionen mit einer hohen Dichte von Schweißdrüsen und die umgebende Schleimhaut von Körperöffnungen, welche reich an Muzinen ist (Lowy, 1998; Somerville-Millar et al., 1974). Beim Menschen ist die bevorzugte ökologische Nische meist die Nasenschleimhaut (Grice et al., 2009; Krismer et al., 2017). Allerdings ist ein nicht unerheblicher Anteil der Träger zusätzlich oder sogar ausschließlich oropharyngeal besiedelt, sodass bei nasalen Abstrichen die Prävalenz von *S. aureus* unterschätzt wird (Nilsson et al., 2006). Weitere mögliche Orte sind die Axilla, Leistenregion oder das Perineum. Etwa 20% der Erwachsenen sind dauerhafte Träger von *S. aureus*, ungefähr 30% sind nur intermittierend besiedelt und circa 50% sind nie kolonisiert (Stark et al., 2014; van Belkum et al., 2009; Wertheim et al., 2005). Dauerhafte Träger haben ein erhöhtes Risiko für endogene Infektionen, wogegen bei intermittierend kolonisierten Personen das Risiko ähnlich gering ist wie bei Nicht-Trägern (van Belkum et al., 2009; von Eiff et al., 2001; Wertheim et al., 2004).

Eine erfolgreiche Kolonisierung ist neben Standortfaktoren wie dem Nährstoffgehalt oder bestimmten Eigenschaften des Immunsystems (Emonts et al., 2008) auch vom Mikrobiom des Wirts abhängig. Eine Besiedelung mit *S. pneumoniae* führt z.B. zu geringeren Besiedelungsraten mit *S. aureus* (Bogaert et al., 2004) und der Kommensale *S. lugdunensis* ist in der Lage, Lugdunin – ein gegen *S. aureus* wirksames Bakterizid – zu sezernieren, sodass auch diese Personengruppe eine viel niedrigere *S. aureus*-Trägerrate aufweist (Krismer et al., 2017; Zipperer et al., 2016). Bei intakter Haut und guter Abwehrlage bleibt *S. aureus* ein Kommensale. Ist diese natürliche Barriere

jedoch beschädigt, so entstehen lokale Infektionen des Gewebes wie Hautinfektionen oder Abszesse. Beim Eindringen in die Blutbahn kommt es zu invasiven Infektionen, teilweise mit septischer Streuung. *S. aureus* kann in nahezu allen Körperregionen Entzündungen verursachen, darunter Pneumonie, Sepsis, Endokarditis, Osteomyelitis, Spondylodiszitis und Meningitis, sowie Katheter-assoziierte Infektionen bzw. Infektionen von Implantaten durch Biofilmbildung (Lowy, 1998). Bei nosokomialen Infektionen sind mangelnde Händehygiene des Gesundheitspersonals ein wichtiger Übertragungsweg (Rogmann et al., 2015). Oft entstehen Infektionen jedoch auf endogenem Wege nach vorangegangener Besiedelung der Schleim-/Haut (von Eiff et al., 2001).

S. aureus besitzt eine Reihe von Oberflächenproteinen, um an Zelloberflächen zu binden. Auch sezerniert es verschiedene Proteine und Enzyme, um die körpereigene Immunabwehr zu umgehen und nach Bedarf in die Hämostase einzugreifen. Als Beispiel seien die Adhäsine Fibronectin binding protein A und B (FnbPA und FnbPB), Clumping factor A und B (Clf A und B), sowie staphylococcal protein A (Spa) genannt, mit denen *S. aureus* jeweils an Fibronectin, Fibrinogen, Plasminogen, Thrombozyten und Immunglobuline (Spa) binden kann (Claes et al., 2017; Jonsson et al., 1991; Lowy, 1998; Wertheim et al., 2008). Spa verhindert dabei durch Bindung von IgG eine Opsonisierung (de Jong et al., 2019; Forsgren et al., 1966; Pauli et al., 2014). Die Enzyme Staphylokoagulase, und von Willebrand factor binding protein (vWFbp) aktivieren die Gerinnung, was das Wachstum von Vegetationen bei Endokarditis und von Biofilmen auf Kathetern oder Implantaten erleichtert (Friedrich et al., 2003; Kroh et al., 2009; McAdow et al., 2012). Das Bakterium kann auch intrazellulär, z.B. in Makrophagen, überleben und sich dort vermehren, was eine antibiotische Therapie erschwert (Horn et al., 2017; Kubica et al., 2008). Zahlreiche Enzyme wie Proteasen und Lipasen ermöglichen den Abbau von Gewebe. Leukozidine und Hämolsine wie das α -Toxin führen durch Porenbildung zu Zellmembranschäden beim Wirt. *S. aureus*-Stämme, welche über das Panton-Valentine-Leukozidin (PVL) verfügen, das neutrophile Granulozyten zerstört, verursachen Hautnekrosen sowie die mit

hoher Mortalität behaftete nekrotisierende hämorrhagische Pneumonie (Brown et al., 2012; Lina et al., 1999; Lowy, 1998). Stämme mit Enterotoxinen führen zu Lebensmittelvergiftungen (Lina et al., 2004). Exfoliativ-Toxine wie die Epidermolysierenden Toxine A und B verursachen das Staphylococcal scalded skin syndrome oder SSSS (Bukowski et al., 2010; Melish et al., 1971). Dabei kommt es durch Zerstörung der Zell-Zell-Verbindungen zu Blasenbildung und Hautablösung. Das Toxic shock syndrome toxin 1 (TSST-1) wurde als Auslöser von schwerer Sepsis und Multiorganversagen bei Frauen nach längerem Tragen von Tampons bekannt (Shands et al., 1980), wobei auch Nicht-Menstruations-assoziierte Fälle auftreten (DeVries et al., 2011).

1.2.3 Therapie, Risikofaktoren und Prävention

Nach der Etablierung der Therapie von Infektionen durch *S. aureus* mit Penicillin in den 1940er Jahren kam es bald zur Resistenzentwicklung durch den Erwerb einer Plasmid-kodierten Beta-Lactamase (auch: Penicillinase) (Bondi et al., 1945; Vestergaard et al., 2019). Kurz nach der Entwicklung des Beta-Lactamase-festen Antibiotikums Methicillin im Jahre 1961 wurde das erste Methicillin-resistente klinische Isolat (MRSA) entdeckt (Barber, 1961; Jevons et al., 1963). Als Mechanismus liegt ein modifiziertes Penicillin-bindendes Protein PBP2a zugrunde, welches eine niedrige Affinität zu Penicillin aufweist, sodass MRSA prinzipiell gegen alle Beta-Lactam-Antibiotika resistent ist, also auch gegen Cephalosporine und Monobactame (Vestergaard et al., 2019). Während Infektionen mit Methicillin-sensiblen *S. aureus* (MSSA) mit Beta-Lactamase-festen Beta-Lactam-Antibiotika gut behandelbar sind, werden als Reserve-Antibiotikum für Infektionen mit MRSA Vancomycin, Linezolid, Daptomycin u.a. eingesetzt (Liu et al., 2011). Auch bei diesen Reserveantibiotika gab es jedoch vereinzelt schon Resistenzen (Chang et al., 2003; Mendes et al., 2014; Tsiodras et al., 2001), sodass Forschungsbemühungen um neue Antibiotika vor allem für Vancomycin-intermediär resistente und Vancomycin-resistente *S. aureus* (VISA und VRSA) auf der Prioritäten-Liste der WHO stehen (Tacconelli et al., 2018; Vestergaard et al., 2019).

Als Risiken für eine Besiedelung mit *S. aureus* / MRSA sind zunächst einmal Wirtsfaktoren zu nennen, wie individuelle Eigenheiten des Immunsystems oder Verletzung der Haut als natürliche Barriere. Männer sind häufiger besiedelt (Hoffmann et al., 2015), aber auch Patienten mit Diabetes (Kent et al., 2019), dialysepflichtiger Niereninsuffizienz (Duran et al., 2006) oder Immunsuppression und HIV (Lowy, 1998; McKinnell et al., 2013) haben ein höheres Risiko. Eine Schädigung der Haut bei chirurgischen Eingriffen, chronischen Wunden oder atopischer Dermatitis / Ekzem geht ebenso mit einer höheren Kolonisierungsrate einher wie Asthma bronchiale oder COPD, besonders auch beim Einsatz von Steroiden (Daeschlein et al., 2006; David et al., 2010; Kim et al., 2019; McKinnell et al., 2013; Peters et al., 2017; Tsilochristou et al., 2019).

Ein weiterer entscheidender Risikofaktor für eine Besiedelung ist der Kontakt zum Gesundheitswesen bzw. zu medizinischem Personal, wie er bei Multimorbidität, Pflegebedürftigkeit und invasiven medizinischen Maßnahmen erforderlich ist. So sind Aufenthalte im Krankenhaus, Unterbringung in Pflegeheimen, aber auch eine Antibiotikatherapie und einliegendes Fremdmaterial wie zentrale Venenkatheter, Port-Systeme oder Blasenkatheter mit einer erhöhten Trägerrate von *S. aureus* und MRSA assoziiert (da Silveira et al., 2018; David et al., 2010, pp. 618-619; Giufre et al., 2017; Lasseter et al., 2010; Pan et al., 2013; Peters et al., 2017; Raschpichler et al., 2020). Dabei gibt es Hinweise für ein erhöhtes MRSA-Risiko auch bei häufigen Patientenverlegungen zwischen Akutkrankenhaus und Pflegeeinrichtung, oder bei Stationswechseln des Patienten innerhalb des Krankenhauses (Sasahara et al., 2020). Neben Beachtung von Hygienemaßnahmen kann im Falle einer asymptomatischen Besiedelung mit MRSA eine topische Behandlung mit Mupirocin-Nasensalbe, antiseptischer Mundspülung und Seife versucht werden, wobei bei bis zu 20% der Patienten keine Dekolonisierung erreicht wird (Baratz et al., 2015).

1.2.4 Epidemiologische Ausgangslage

Zur Inzidenz invasiver Infektionen mit *S. aureus* gibt es in Deutschland keine Daten, da es hierzu keine Meldepflicht gibt. Seit dem 01. Juli 2009 sind jedoch invasive Infektionen mit MRSA (Nachweis in Blut oder Liquor) meldepflichtig nach § 7 IfSG (Robert-Koch-Institut, 2014). In den ersten Jahren gab es zunächst einen deutlichen Anstieg der Inzidenz, möglicherweise auch wegen besserer Etablierung des Meldewesens. In den letzten Jahren ist die Anzahl invasiver MRSA-Infektionen rückläufig (vgl. **Abbildung 2. Inzidenz invasiver MRSA-Infektionen nach Altersgruppen in Deutschland (2009-2018)**). Dennoch bleibt ein Trend bislang bestehen, nämlich, dass vor allem ältere Menschen von Infektionen betroffen sind. In Deutschland ist die Inzidenz invasiver MRSA-Infektionen bei Senioren und darunter bei über 80-Jährigen bei weitem am höchsten. Im Jahre 2016 waren in Deutschland 84% der Erkrankten älter als 60 Jahre (Robert-Koch-Institut, 2017, p. 167). Interessanterweise erkrankten in allen Altersgruppen zudem Männer deutlich häufiger als Frauen. So betrug die Inzidenz im Jahr 2016 bei Männern 4,9/100.000 und war bei Frauen mit 2,8/100.000 entsprechend niedriger (Robert-Koch-Institut, 2017, p. 166).

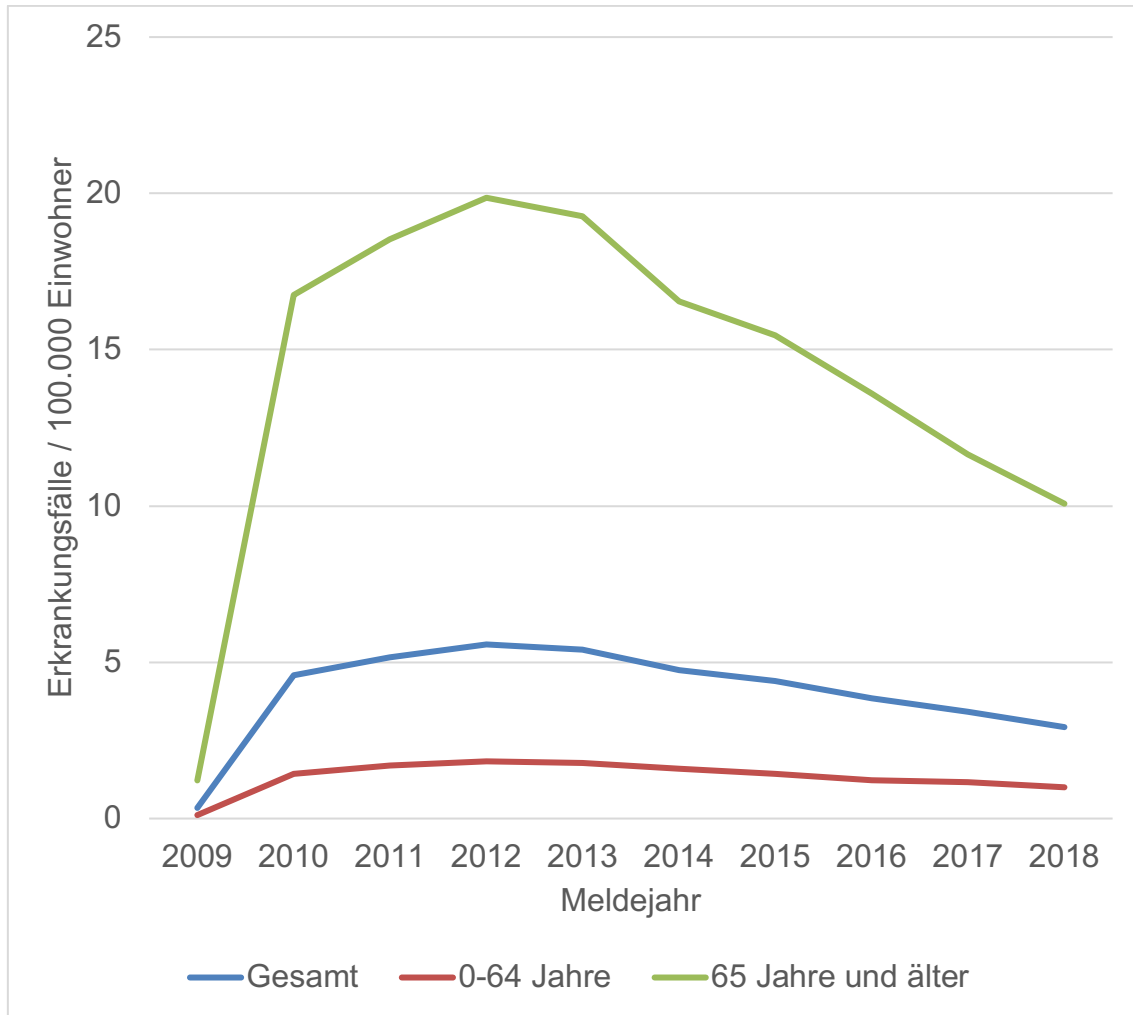


Abbildung 2. Inzidenz invasiver MRSA-Infektionen nach Altersgruppen in Deutschland (2009-2018)

Daten entnommen von: Robert Koch-Institut: SurvStat@RKI 2.0, <https://survstat.rki.de>, Abfragedatum: 28.05.2019 (Robert-Koch-Institut, 2014). Einführung der Meldepflicht erst am 01.07.2009.

Zu *S. aureus* und MRSA gibt es bereits eine Vielzahl von Trägerstudien sowohl an der Allgemeinbevölkerung als auch an speziellen Risikogruppen wie Arbeitern in der Tiermast, Gesundheitspersonal, hospitalisierten Patienten oder Bewohnern von Langzeitpflegeeinrichtungen (Vgl. vorheriges Kapitel). Auch wurden und werden immer wieder bereits bekannte Risikofaktoren für eine Besiedelung und Erkrankung, wie bestimmte Erkrankungen oder invasive medizinische Maßnahmen, untersucht. Zu sozioökonomischen Faktoren gab es jedoch bislang kaum Daten. Auch gibt es noch wenige Studien, welche

ausschließlich Senioren betreffen, ohne sich dabei aber auf spezielle Gruppen wie Pflegeheimbewohner zu beschränken.

1.3 Fragestellung

Vor dem Hintergrund höherer bzw. steigender Inzidenzen invasiver Infektionen bei Senioren war das vorrangige Ziel dieser Arbeit, die Trägerrate von *H. influenzae* und *S. aureus* bei asymptomatischen Senioren als Punktprävalenz zu bestimmen. Eine Kolonisierung gilt nämlich als Risikofaktor für eine Erkrankung (Agrawal et al., 2011; Wertheim et al., 2005). Von besonderem Interesse war bei *S. aureus* der Anteil an Methicillin-resistenten Isolaten (MRSA). Für *H. influenzae* sollte zudem die Häufigkeit der verschiedenen Serotypen und das Vorliegen von Resistenzen untersucht werden.

Ein weiteres Ziel war die Bestimmung von Risikofaktoren für eine Besiedelung mit den genannten Erregern. Wie hoch ist die Trägerrate beider Keime bei älteren Menschen, welche selbständig zu Hause leben im Gegensatz zu Bewohnern von Pflegeheimen oder zu hospitalisierten geriatrischen Patienten? Gibt es bestimmte Risikofaktoren, die eine Besiedelung begünstigen? Unterscheiden sich invasive *H. influenzae*-Fälle von asymptomatischen Trägern gleichen Serotyps bezüglich ihres Resistenzprofils, ihrer Alters- und Geschlechtsverteilung? Sind invasive bzw. Trägerisolate jeweils untereinander phylogenetisch enger verwandt?

Zur Beantwortung dieser Fragen wurde die IBI-Studie (Invasive Bakterielle Infektionen), eine epidemiologische Trägerstudie bei Senioren, konzipiert. Diese prospektive, multizentrische Prävalenzstudie wurde in den Regionen Aachen und Würzburg durchgeführt und beinhaltete eine Abstrichnahme sowie eine Erfassung von potentiellen Risikofaktoren mittels Fragebogen. Dies wird im folgenden Kapitel näher beschrieben.

Material und Methoden

2.1 IBI-Studie

Die IBI-Studie richtete sich sowohl an ältere Menschen, die selbständig zu Hause oder in betreuten Wohneinrichtungen leben, als auch an Bewohner von Seniorenheimen.

Die Rekrutierung der Probanden erfolgte im Zeitraum von Oktober 2012 bis Mai 2013 in den Regionen Aachen (Nordrhein-Westfalen) und Würzburg (Bayern). Dazu wurden Bewohner von Wohn- und Pflegeeinrichtungen eingeladen, sowie Besucher von Senioren-Clubs oder -Cafés, bzw. entsprechenden Vereinsgruppen. Dies wurde begleitet von öffentlichen Informationskampagnen via Lokalzeitung, Radio- und Fernsehen, um einen möglichst großen Bevölkerungsquerschnitt zu erreichen. In Würzburg wurde zusätzlich eine Zufallsstichprobe von 1000 Personen durch das Einwohnermeldeamt generiert, welche ebenfalls eine schriftliche Einladung zur Studienteilnahme erhielten. Ein weiteres Kollektiv setzte sich aus Patienten einer geriatrischen Reha-Klinik in Würzburg zusammen (siehe auch **Abbildung 3. Studiendesign**).

Die Studienteilnehmer sollten ein Mindestalter von 65 Jahren haben und nicht bettlägerig sein. Ausschlusskriterien waren die Teilnahme an einer weiteren Studie, eine Infektion oder eine Körpertemperatur über 38 °C, eine laufende antibiotische Therapie, oder eine antibiotische Therapie innerhalb der vergangenen vier Wochen. Nach schriftlicher und mündlicher Aufklärung sowie schriftlicher Einverständniserklärung sollten die Teilnehmer einen Fragebogen zu möglichen Risikofaktoren beantworten. Studienmitarbeiter der Referenzzentren überprüften dabei die Einhaltung der Einschlusskriterien und nahmen dann bei jedem Teilnehmer jeweils einen Abstrich von Nase und Rachen (Oropharynx).

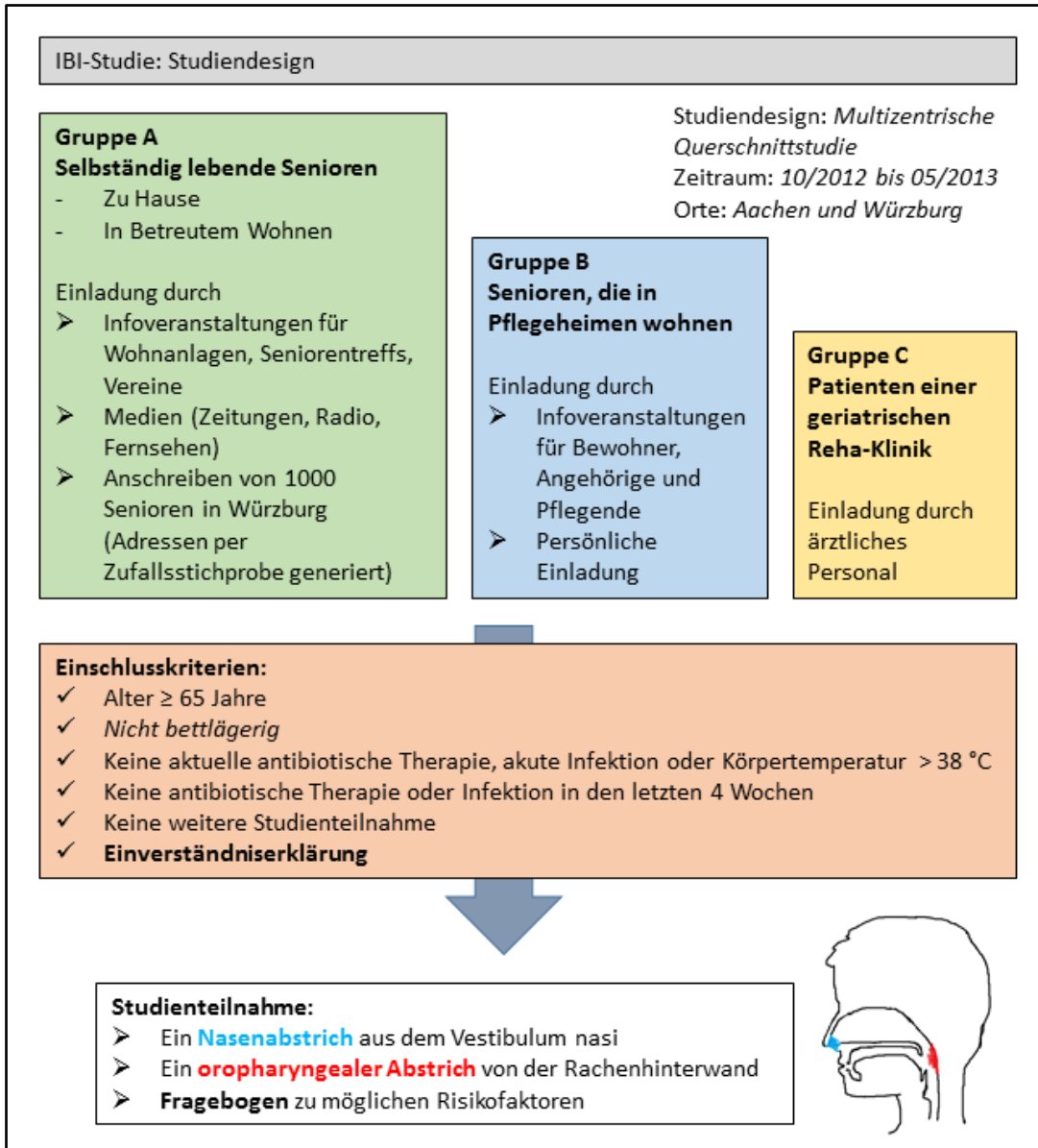


Abbildung 3. Studiendesign

2.2 Fragebogen und Ethikvotum

Ziel des Fragebogens war es, sowohl mögliche sozio-demografische Faktoren als auch medizinische und durch den Lebensstil bedingte Risikofaktoren zu erfassen, die eine Besiedelung mit *H. influenzae* und *S. aureus* begünstigen. Die Erhebung umfasste einen Probandenfragebogen, welchen die Teilnehmer entweder alleine oder gemeinsam mit einem Studienmitarbeiter ausfüllten, sowie einen Mitarbeiterbogen, mit dem das Studienpersonal die Wohnsituation

der Probanden, das Vorhandensein von Ausschlusskriterien und den Impfstatus dokumentierte. Beide Formulare finden sich im Anhang dieser Arbeit (Seite 80-87). Die Erhebung des soziodemografischen und -ökonomischen Status erfolgte in Anlehnung an die Empfehlungen der Deutschen Arbeitsgemeinschaft Epidemiologie (Jöckel et al., 1998). Dabei wurde bezüglich Bildungsgrad und Beruf auch den Gegebenheiten der ehemaligen DDR (Deutsche Demokratische Republik) Rechnung getragen (Polytechnische Oberschule, Produktionsgenossenschaft des Handwerks (PGH)). Folgende soziodemografische Variablen wurden erfragt: Alter, Geschlecht, Familienstand, Wohnort und Wohnsituation (selbständig lebend, betreutes Wohnen, Senioren-/Pflegeheim) sowie der höchste allgemeinbildende Schulabschluss.

Um indirekte Informationen über den sozioökonomischen Status und über die soziale Schicht der Teilnehmer zu erhalten, wurde nach dem am längsten ausgeübten Beruf gefragt. Dazu konnten die Probanden zwischen verschiedenen wirtschaftlichen Sektoren wählen (z.B. Beamte, Angestellter, Arbeiter, etc.) und zusätzlich ihre Position bzw. den Grad der Qualifikation oder Leitungsverantwortung angeben. Die genauen Bezeichnungen finden sich im beigefügten Fragebogen im Anhang (Seite 85) oder auch zusammengefasst in **Tabelle 1**. Umkodierung kategorialer Variablen in Dummy-Variablen.

Hinsichtlich möglicher medizinischer Risikofaktoren wurden Körpergröße und Gewicht erfragt sowie Krankenhausaufenthalte, bestimmte Vorerkrankungen (Diabetes mellitus, Herzinsuffizienz, Asthma, Krebs oder Tumorerkrankung, Bluthochdruck, Neurodermitis, Asplenie, auch funktionell) und medizinische Maßnahmen, wie PEG-Sonde (PEG = perkutane endoskopische Gastrostomie), Tracheostoma, Harnwegskatheter, Beatmung, zentraler Venenkatheter, Dialyse, Herzschrittmacher, Gelenkprothese oder Zahnprothese.

Ein dritter Bereich umfasste Fragen zum Lebensstil und Risikoverhalten der Probanden darunter Nikotinabusus, Kontakt zu Vorschulkindern, Haustierhaltung und Auslandsreisen. Auch hier sind Details im Fragebogen bzw. in Auszügen in **Tab. 1** aufgeführt.

Konnten die Studienteilnehmer ihren Impfausweis vorlegen, wurde dieser durch die Studienmitarbeiter überprüft und das Vorhandensein von folgenden Impfungen mit letztem Impfdatum und Impfstoff auf dem Mitarbeiterbogen dokumentiert: Diphtherie/Tetanus, Pneumokokken, *Haemophilus influenzae* Serotyp b (Hib) und Meningokokken.

Ethikvotum

Alle Teilnehmer gaben ihr schriftliches Einverständnis nach vorheriger Aufklärung. Die Auswertung der Daten erfolgte anonymisiert. Dazu wurden Fragebögen und Abstriche eines jeden Teilnehmers mit einer Probanden-Identifikationsnummer versehen. Das Studienprotokoll wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Universität Würzburg genehmigt (2012-05-25; Aktenzeichen 150/11; siehe Anhang Seite 88-89).

2.3 Statistische Methoden

2.3.1 Datenmanagement

Patienten- und Mitarbeiterfragebögen wurden mit der Software Cardiff TeleForm® eingelesen. Mitunter auftretende Lesefehler der Software wurden dabei anhand der Originalfragebögen manuell korrigiert. Die Daten wurden in einer Microsoft Access-Datenbank gespeichert und für die statistische Analyse in ein Excel-Dateiformat exportiert. Dieser Datensatz wurde um den Trägerstatus für die untersuchten Keime ergänzt (Variablen *H. influenzae*, *S. aureus*, MRSA). Die weitere Aufbereitung der Daten und die statistische Analyse erfolgte eigenständig mit der Software IBM SPSS Statistics.

Manche Variablen, welche im Fragebogen ursprünglich mehrere Merkmalsausprägungen umfassten, wurden vor der statistischen Analyse zu dichotomen Variablen zusammengefasst, um die zu untersuchende Hypothese besser herauszuarbeiten. Auf vorherige Homogenitätstests bezüglich der zu agglutinierenden Merkmalsausprägungen wurde wegen der a-priori

festgelegten Hypothese als Leitkriterium verzichtet (Bortz et al., 2008, pp. 113-114).

Aus Größe und Gewicht wurde zunächst der Body Mass Index (BMI) berechnet. Die beiden metrischen Variablen Alter und BMI wurden zusätzlich jeweils in eine kategoriale Variable umgewandelt, um eine gemeinsame Auswertung mit anderen kategorialen Daten zu erleichtern. Das Alter der Teilnehmer wurde dazu in drei Altersklassen eingeteilt: 65 – 74 Jahre, 75 – 84 Jahre sowie 85 Jahre und älter. Beim BMI wurde nach Normalgewicht bzw. Untergewicht (BMI < 25) oder Übergewicht / Adipositas (BMI ≥ 25) unterschieden entsprechend der WHO-Kriterien (WHO, 1995). Die kategorialen Variablen „Familienstand“, „Höchster allgemeinbildender Schulabschluss“, „Beruf“, „stationärer Krankenhausaufenthalt“ und „Rauchen“ wurden in dichotome Dummy-Variablen umkodiert (siehe **Tabelle 1. Umkodierung kategorialer Variablen in Dummy-Variablen**). Bei der Zusammenfassung der Berufe wurde versucht, den Grad der beruflichen Qualifikation und Position bzw. Leitungsverantwortung abzubilden. Bezüglich Wohnsituation wurden Senioren aus betreuten Wohneinrichtungen zu den selbständig / zu Hause lebenden Teilnehmern gerechnet.

Tabelle 1. Umkodierung kategorialer Variablen in Dummy-Variablen

Ursprüngliche Variable	Dummy-Variable (dichotom)
Familienstand	
verheiratet	Verheiratet
ledig	
verwitwet	
getrennt lebend / geschieden	
Höchster allgemeinbildender Schulabschluss	
Kein Abschluss	Fach- / Abitur
Volksschule	
Realschule	
Polytechnische Oberschule (POS)	
Fach- / Abitur	
Beruf	
Akademiker - keine Mitarbeiter	Akademiker
Akademiker - 1-4 Mitarbeiter	
Akademiker - 5 und mehr Mitarbeiter	
Selbständig - keine Mitarbeiter	Selbständig
Selbständig - 1-4 Mitarbeiter	
Selbständig - 5 und mehr Mitarbeiter	
Beamter - einfacher Dienst	Beamter - einfacher und mittlerer Dienst
Beamter - mittlerer Dienst	
Beamter - gehobener Dienst	Beamter - gehobener und höherer Dienst
Beamter - höherer Dienst	
Angestellter - mit ausführender Tätigkeit nach Anweisung	Angestellter - eher ausführende Tätigkeit
Angestellter - Tätigkeit, die nach Anweisung erledigt wird	
Angestellter - selbständige Leistung in verantwortlicher Tätigkeit	Angestellter - eher leitende Tätigkeit
Angestellter - mit umfassenden Führungsaufgaben	
Arbeiter - ungelernt	Arbeiter - ungelernt oder angelernt
Arbeiter - angelernt	
Arbeiter - Facharbeiter	Arbeiter - Fach-/Vorarbeiter oder Meister
Arbeiter - Vorarbeiter	
Arbeiter - Meister	

Keine feste Tätigkeit - Hausfrau	Hausfrau
Keine feste Tätigkeit – Freiberuflicher, PGH-Mitglied, etc.	Andere Tätigkeit (Freiberuflicher, PGH-Mitglied, etc.) oder nicht zutreffend
Keine der genannten Möglichkeiten trifft zu	

Stationärer Krankenhausaufenthalt

nein	Krankenhausaufenthalt innerhalb des letzten halben Jahres
innerhalb der letzten 4 Wochen	
innerhalb der letzten 3 Monate	
innerhalb des letzten halben Jahres	

Rauchen

Raucher	Raucher
Ex-Raucher seit > 6 Monaten	
Ex-Raucher seit < 6 Monaten	
Nicht-Raucher	

2.3.2 Deskriptive Statistik und Analyse von Risikofaktoren

Um ein *selection bias* zu vermeiden, erfolgte die Analyse der Prävalenzdaten und Risikofaktoren überwiegend getrennt für die verschiedenen Studienkollektive. Patienten der geriatrischen Reha-Klinik wurden aus diesem Grund generell gesondert betrachtet. Zunächst wurde die Punktprävalenz von *H. influenzae*, *S. aureus* und MRSA bestimmt. Dazu wurden auch 95%-Konfidenzintervalle (95% CI) berechnet. Bei niedrigen Proportionen nahe 0 wurde die non-parametrische (exakte) Methode nach Clopper und Pearson verwendet. Für diskrete und kategoriale Variablen wurden absolute und relative Häufigkeiten des jeweiligen Merkmals in der Stichprobe (Studienpopulation), aber auch im Vergleich zwischen Trägern und Nicht-Trägern ermittelt (Kreuztabellen). Für metrische Variablen wurden folgende Lage- und Dispersionsmaße bestimmt: Mittelwert \bar{x} (arithmetisches Mittel), (empirische) Varianz, Standardabweichung, Spannweite, Quartile und Median.

Unterschiede zwischen den Trägerraten bei möglichen Risikogruppen (z.B. Diabetiker) wurden mit dem Chi-Quadrat-Unabhängigkeitstest (χ^2 -Test) untersucht bzw. mit dem exakten Test nach Fisher (*Fisher's exact test*), wenn die Anwendungskriterien für einen χ^2 -Test nicht erfüllt waren. Alle Verfahren wurden als 2-seitige Hypothesentests mit einem Signifikanzniveau von $\alpha = 0,05$ durchgeführt.

Um mögliche Einflussfaktoren auf die asymptomatische Besiedlung mit einem bestimmten Bakterium zu untersuchen, wurde innerhalb der Studienkollektive eine multiple logistische Regression durchgeführt. Ausführlichere mathematische Erläuterungen dazu finden sich in entsprechenden Lehrbüchern wie z.B. bei Kleinbaum und Klein oder M. Bland (Bland, 2015, pp. 237-239; Kleinbaum et al., 2010, pp. 4-7, 45-66, 106-140).

Um ein Vorhersagemodell zu konstruieren, wurde die Methode der Rückwärts-Eliminierung (*backward regression*) angewandt. Bei diesem Verfahren werden zunächst alle unabhängigen Variablen ins Modell eingeschlossen. Dann werden schrittweise die Variablen, welche am wenigsten mit der abhängigen Variable korrelieren, wieder entfernt, bis keine statistisch signifikante Verbesserung des Modells mehr erreicht werden kann (Signifikanzniveau: $p < 0,05$).

Welche und wie viele unabhängige Predictor-Variablen maximal in das initiale Regressionsmodell aufgenommen werden können, wird von der Ereignis-Anzahl der Outcome-Variable (Anzahl der asymptomatischen Träger) der Predictor-Variablen (z.B. Anzahl der Raucher, etc.), und von der Zahl der Freiheitsgrade der Variablen bestimmt. Unter Berücksichtigung dieser Vorbedingungen wurden in Anlehnung an Bursac et al. zudem nur Variablen mit $p < 0,25$ im χ^2 -Test in das initiale Regressionsmodell eingeschlossen (Bursac et al., 2008). Die beiden Variablen „Studienregion“ (Aachen oder Würzburg) und „Geschlecht“ wurden generell zusätzlich in die Berechnung aufgenommen, um ein mögliches Confounding durch unterschiedliche Teilnehmerzahlen oder unbekannte Standortunterschiede zu berücksichtigen.

2.4 Labormaterialien, Geräte und Software

Tabelle 2. Laborgeräte

Gerät	Modell	Hersteller	Firmensitz
Inkubator	Hera Cell	Heraeus	Hanau
Inkubator	Heraeus 6000	Heraeus	Hanau
Inkubator	Heraeus Kelvitron	Heraeus	Hanau
Laborwaage	Sartorius portable	Sartorius AG	Göttingen
Magnetrührer	Magnetmix 2070	Karl Hecht	Sondheim
	New Brunswick scientific Ultra Low Temperature	New Brunswick Scientific GmbH	
Gefrierschrank	Freezer	Fa. Gebr. Liebisch GmbH & Co. KG	Nürtingen Bielefeld
Heizblock	Labtherm	Heidolph Instruments GmbH & Co. KG	
Reagenzschüttler	Heidolph Reax 2000 Biochrom WPA CO 8000		Schwabach Cambridge, UK
Photometer	Cell density meter	Biochrom Ltd.	UK
Thermocycler	Primus 96 plus	MWG Biotech	Ebersberg Foster City, California, USA
Thermocycler	2720 Thermal Cyclor	Applied Biosystems	Foster City, California, USA
Thermocycler	GeneAmp PCR system 2700	Applied Biosystems	USA
Elektrophorese- Kammer	Elektrophorese-Kammer Herolab	Herolab Laborgeräte GmbH	Wiesloch
Spannungsquelle für Gleichspannung	Biometra Power Pack P25	Biometra GmbH	Göttingen Hercules, California, USA
UV-Transilluminator	ChemiDoc MP universal hood III	Bio-Rad Laboratories Inc.	USA

Tabelle 3. Verbrauchsmaterial

Verbrauchsmaterial	Hersteller
Sterile Einmalimpfösen 10µl / 1µl und Impfnadel	Sarstedt GmbH, Nümbrecht
Pipettenspitzen 10µl / 100µl / 1000µl ungestopft	Sarstedt GmbH, Nümbrecht
Pipettenspitzen 0,5-10µl / 10-100µl / 100-1000µl gestopft, Biosphere Filter Tip	Sarstedt GmbH, Nümbrecht
Röhre 5ml mit Stopfen, 75x13mm, Rundboden, PS	Sarstedt GmbH, Nümbrecht
Küvetten für Photometer: Küvette 2x optisch, PS	Sarstedt GmbH, Nümbrecht
Mikro-Schraubröhre 1,5ml	Sarstedt GmbH, Nümbrecht
Safe Seal Reaktionsgefäß 1,5 ml und 0,5ml, PP	Sarstedt GmbH, Nümbrecht
Sterile Watteträger	Heinz Herenz, Hamburg
CryoTubes mit Deckel	Copan Diagnostics Inc., Murrieta, California USA
15ml-Reaktionsgefäße	Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen
Reaktionsgefäße für PCR: PCR SingleCap 8er-SoftStrips 0,2ml; farblos	Biozym Scientific GmbH, Hessisch Oldendorf

Chemikalien

- NaCl (Carl Roth, Karlsruhe)
- Phosphate buffered saline (PBS): GIBCO Dulbecco's phosphate buffered saline powder, no calcium, no magnesium (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Massachusetts USA bzw. GmbH in Erlangen)
- Tris (Carl Roth, Karlsruhe)
- HCl konzentriert (Carl Roth, Karlsruhe)
- UltraPure™ Agarose Invitrogen (Thermo fisher scientific, Erlangen)
- Borsäure (Carl Roth, Karlsruhe)
- EDTA Biochemica (AppliChem GmbH, Darmstadt)
- Glycerin 86%, (Carl Roth, Karlsruhe)
- Bromphenolblau (Merck; Darmstadt)
- N-Lauroylsarcosine (Sigma-Aldrich, Hamburg)
- Midori Green Advance (Nippon Genetics Europe, Düren)
- Größenmarker SmartLadder (Eurogentec, Lüttich, Belgien)

- Desoxynukleotide (dNTP): dNTP Mix peqGOLD, VWR Peqlab (Peqlab Biotechnologie GmbH, Erlangen)

Enzyme

- Taq DNA-Polymerase mit ThermoPol Buffer (New England BioLabs GmbH, Frankfurt a. M.)
- Exonuclease I, 20 U/μl (New England BioLabs GmbH, Frankfurt)
- Antarctic Phosphatase, 5 U/μl (New England BioLabs GmbH, Frankfurt)

Alle aufgeführten Chemikalien in p.a.-Qualität.

Gebrauchslösungen und Puffer

- 1x PBS (pH-Wert: 7,2-7,7)
- 10x TBE (100 mM Tris; 100 mM Borsäure; 2,5 mM EDTA; pH-Wert 8,3)
- GEBS (20% Glycerin; 50mM EDTA; 0,05% Bromphenolblau; 0,05% Sarcosyl [N-Lauroylsarcosine])
- 10 mM Tris-HCl-Puffer (pH-Wert 7,4)

Alle pH-Angaben beziehen sich auf Raumtemperatur (20-25 °C).

Bakterienkulturen

- BD Chocolate Agar (GC II Chocolate Agar with IsoVitaleX; Becton Dickinson GmbH, Heidelberg)
- Kochblutagar für anspruchsvolle Bakterien mit BD IsoVitaleX-Anreicherung, welche den für *Haemophilus*-Species nötigen Faktor V (NAD) enthält.

Kontrollstämmen für PCR-Positiv-Kontrollen:

- *H. influenzae* Serotyp a ATCC 9006: Stammsammlungsnummer WUE 4282/ Hia
- *H. influenzae* Serotyp b ATCC 10211: Stammsammlungsnummer WUE 4283/ Hib

Oligonukleotide

Die verwendeten Primer für die Amplifikation und Sequenzierung der sieben housekeeping-Gene *adk*, *atpG*, *frdB*, *fucK*, *mdh*, *pgi* und *recA* von *H. influenzae* (Meats et al., 2003) sind in untenstehender **Tabelle 4** aufgeführt.

Tabelle 4. Primer für die *H. influenzae*-MLST

Gen	Gen-Produkt	Primer-Name	Primer	Länge des PCR-Produkts [bp]	Länge des sequenzierten Genfragments [bp]
adK	Adenylat-Kinase	adk-F2	GCACTCAAGCACAATTTA	602	477
		adk-R3	GCCTAAGATTTTATCTAACTCTT		
atpG	ATP-Synthase F1 Subunit Gamma	atpG-F	CGAATAGTGCTTGGTAGTACC	590	447
		atpG-R	TTGYACAACAGGYTTTTGCG		
frdB	Fumarat-Reduktase Eisen-Schwefel-Protein	frdB-up	CTTATCGTTGGTCTTGCCGT	577	489
		frdB-dn	TTGGCACTTTCCACTTTTCC		
fucK	Fuculokinase	fucK-up	ACCACTTTCGGCGTGGATGG	560	345
		fucK-dn	AAGATTTCCCAGGTGCCAGA		
mdh	Malat-Dehydrogenase	mdh-up	TCATTGTATGATATTGCCCC	548	405
		mdh-dn	ACTTCTGTACCTGCATTTTG		
pgi	Glucose-6-Phosphat-Isomerase	pgi-up	GGTGAAAAAATCAATCGTAC	590	468
		pgi-dn	ATTGAAAGACCAATAGCTGA		
recA	RecA-Protein	recA-up	ATGGCAACTCAAGAAGAAA	617	426
		recA-dn	TTACCAAACATCACGCCTAT		

Software und Dienstleistungen

- Auftragslabor für die Sequenzierung: GATC Biotech AG, Konstanz
 - o Dienstleistungsprodukt: Sanger Lightrun
- Alinierung und Concatenierung der DNA-Sequenzen:
 - o DNASTAR® SeqMan Pro und MegAlign Pro (DNASTAR Inc., Madison, Wisconsin USA)
- Phylogenetische Analysen:
 - o Software MEGA 7.0 (Kumar et al., 2016)
- Datenpflege:
 - o Einlesen der Fragebögen: Cardiff TeleForm® (Hewlett Packard, Palo Alto, Kalifornien USA)
 - o Microsoft Access und Excel (Microsoft Inc., Albuquerque, New Mexico USA)
- Statistische Analysen: IBM SPSS Statistics Version 23 (IBM, Armonk USA)
- Websites: <https://pubmlst.org/hinfluenzae/>

2.5 Multilocus-Sequenz-Typisierung

Präanalytik und Speziesbestimmung

Bezüglich *S. aureus* wurden sowohl Nasen- als auch Rachenabstrich auf Besiedelung getestet. Waren beide Abstriche positiv, wurde nur das Isolat aus dem Nasenabstrich für die Datenauswertung registriert. Für eine Besiedelung mit *H. influenzae* wurde nur der Rachenabstrich (Oropharynx) getestet. Speziesbestimmung und Resistenztestung von *S. aureus* und *H. influenzae* erfolgten mittels kulturellem Nachweis nach etablierten Standardprotokollen. Bei der Identifikation von *H. influenzae* wurde zusätzlich auf molekulare Methoden inklusive Multilocus-Sequenz-Typisierung (MLST) zurückgegriffen. Alle Isolate wurden bei -80 °C gelagert. Es sei hier erwähnt, dass eine ausführliche Beschreibung der Methodik der Probenverarbeitung und Speziesbestimmung im Rahmen der IBI-Studie Teil einer weiteren Dissertation ist. Daher werden zum Thema Präanalytik nur die wichtigsten Punkte erwähnt, die für die

Interpretation der Prävalenzdaten von *S. aureus* und *H. influenzae* erforderlich sind. Aufgeführt sind die Analysemethoden darüber hinaus bei Drayss et al. (Drayss et al., 2019).

Bakterienanzucht und PCR für die Sequenzierung

Von frischen Übernachtskulturen wurde etwas Koloniematerial mit einem sterilen Watteträger von der Agarplatte genommen und in ein Röhrchen mit 1 ml 0,9-prozentiger NaCl-Lösung gegeben. Diese Bakteriensuspension wurde zur Zellyse für 10-15 min bei 100 °C gekocht. Zur Herstellung des *template* wurde die Bakteriensuspension unter Zugabe 1xPBS auf eine optische Dichte (OD₆₀₀) von 0,1 eingestellt. Die Lagerung der Suspension erfolgte bei -20 °C.

Für die Multilocus-Sequenz-Typisierung wurden für jedes Isolat zunächst die sieben *housekeeping*-Gene *adk*, *atpG*, *frdB*, *fucK*, *mdh*, *pgi*, *recA* amplifiziert, wie von Meats et al. beschrieben (Meats et al., 2003). Der Reaktionsansatz für die PCR setzte sich wie folgt zusammen:

Reaktionsansatz (50µl):

- 26,8µl ddH₂O
- 5 µl ThermoPol Puffer (10x)
- 5 µl dNTPs (8 mM)
- 0,5 µl Primer-up des jeweiligen Gens (200nM)
- 0,5 µl Primer-dn des jeweiligen Gens (200nM)
- 0,2 µl Taq DNA Polymerase (5 U/µl)
- 2 µl *template*

Jede PCR-Reihe enthielt neben den zu sequenzierenden Isolaten noch eine Negativkontrolle ohne Zugabe von DNA und eine Positivkontrolle mit DNA des *Hia*-Stammes WÜ 4282

PCR-Ablauf im Thermocycler:

- Denaturierung 10 min bei 94 °C
- Annealing 1 min bei 55 °C
- Extension 1 min bei 72 °C

- Denaturierung 1 min bei 94 °C
- 36x Wiederholung von Annealing, Extension und Denaturierung
- Annealing 1 min bei 55 °C
- Extension 10 min bei 72 °C
- Abkühlen auf 4 °C

Nach der PCR wurden die Proben bis zur Elektrophorese im Kühlschrank gelagert.

Gelelektrophorese

Die elektrophoretische Auftrennung des PCR-Produkts erfolgte in einem 1,5 %-Agarose-Gel in Tris-Borat-EDTA-Puffer (TBE-Puffer). Als Probenpuffer wurden wurde 50 µl GEBS und 10 µl Midori Green gemischt. Jeweils 5µl wurden zu 10µl Größenmarker bzw. 10µl PCR-Produkt gegeben. Nach der Elektrophorese bei einer Gleichspannung von 200 V für etwa 45 min erfolgte die Bilddokumentation mittels UV-Transilluminator. Die Amplifizierung eines Locus wurde als erfolgreich betrachtet, wenn ein Amplifikat mit der entsprechenden Größe sichtbar war (siehe **Tab. 4**) und gleichzeitig die Negativkontrolle der PCR kein Amplifikat zeigte.

Aufreinigung des PCR-Produkts für die Sequenzierung

Vor der Sequenzierung wurde das PCR-Produkt enzymatisch aufgereinigt. Dabei wurden die Primer der vorangegangenen PCR mit Hilfe des Enzyms Exonuclease I und die restlichen Desoxynukleotide mittels Antarctic Phosphatase entfernt. Die Enzymlösungen wurden mit Tris-HCl-Puffer (Tris-HCl, pH-Wert 7,4) auf eine Konzentration von 1 U/µl verdünnt und im Verhältnis 1:1 gemischt. Anschließend wurden zu jeder Probe 2 µl Enzym-Mix gegeben. Es wurde folgender Inkubationsablauf im Thermocycler verwendet:

- Enzymatische Aufreinigung bei 37 °C für 30 min
- Hitzeinaktivierung der Enzyme bei 80 °C für 20 min
- Abkühlen auf 4 °C

Die Sequenzierung der PCR-Produkte erfolgte im Auftragslabor GATC Biotech AG in Konstanz nach der Kettenabbruchmethode von Sanger (Sanger et al.,

1977) (Heather et al., 2016) unter Verwendung der gleichen Primer, wie bei der Amplifizierung (Meats et al., 2003).

2.6 Phylogenetischer Vergleich mit invasiven *H. influenzae*

Auswahl der invasiven Isolate

Für einen Vergleich von asymptomatischen Trägerstämmen (nur Würzburg) mit invasiven Isolaten, wurden im Sinne einer Fall-Kontroll-Studie entsprechende Erkrankungsfälle aus der Region Würzburg ausgewählt, wenn sie folgende Kriterien der IBI-Studie erfüllten: Die Patienten sollten ein Mindestalter von 65 Jahren haben, sowie maximal 150 km von Würzburg entfernt wohnen, um der geografischen Herkunft der Träger-Isolate Rechnung zu tragen. Der Erkrankungszeitpunkt sollte im Zeitraum der IBI-Studie liegen (Juli 2012 bis Juni 2013). Für diese Auswahl wurde die Datenbank des Nationalen Referenzzentrums für Meningokokken und *Haemophilus influenzae* (NRZMHi) in Würzburg genutzt.

Phylogenetische Analyse mittels Multilocus-Sequenz-Typisierung

Nach der Sequenzierung der Trägerstämmen wie auch der klinischen Isolate wurden die Allel-Varianten und Sequenztypen in der Datenbank PubMLST (<https://pubmlst.org/hinfluenzae/>) ermittelt. Weiterhin wurden die DNA-Sequenzen der Genloci mit der Software DNASTAR® in der üblichen Reihenfolge (*adK* – *atpG* – *frdB* – *fucK* – *mdh* – *pgi* – *recA*) konkateniert.

Um die phylogenetische Verwandtschaft der Isolate auf DNA-Ebene zu untersuchen, wurde mit Hilfe der Software MEGA 7.0 (Kumar et al., 2016) ein phylogenetischer Baum mit der Maximum Likelihood Methode nach dem Modell von Tamura und Nei (Tamura et al., 1993) konstruiert: Dabei wurde zunächst eine bestimmte Anzahl von verschiedenen, möglichen phylogenetischen Bäumen mit der Neighbour Joining-Methode generiert. Von diesen Bäumen

wurde schließlich derjenige Baum mit der höchsten Wahrscheinlichkeit (log likelihood; Maximum Likelihood-Methode) ermittelt. Zusätzlich wurde eine Bootstrap-Analyse (Felsenstein, 1985) mit 1000 Wiederholungen durchgeführt und entsprechend ein Bootstrap Consensus Tree konstruiert, um die statistische Unterstützung der Knoten zu bestimmen und ein Näherungsmodell für die Evolutionsgeschichte der Isolate zu erhalten. Für die Analysen wurde die Standardeinstellung der Software (Nukleotid-Substitutionsmodell) gewählt. Nukleotid-Positionen, welche Lücken oder fehlende Daten enthielten, wurden automatisch eliminiert.

Ergebnisse

3.1 Studienpopulation

Insgesamt gaben 785 Senioren ihr Einverständnis zur Teilnahme (**Abbildung 4. Studienpopulation**). Davon wurden 57 Personen ausgeschlossen, meist aufgrund einer antibiotischen Therapie innerhalb der letzten vier Wochen. In die Studie eingeschlossen wurden 728 Senioren. Davon waren 677 Teilnehmer (93%) nicht hospitalisierte Senioren, während eine kleine Gruppe von 51 Teilnehmern Patienten einer Geriatrischen Reha-Klinik in Würzburg waren. Letztere wurden generell gesondert betrachtet, um ein *selection bias* zu vermeiden, vgl. auch Drayß et al. (Drayss et al., 2019).

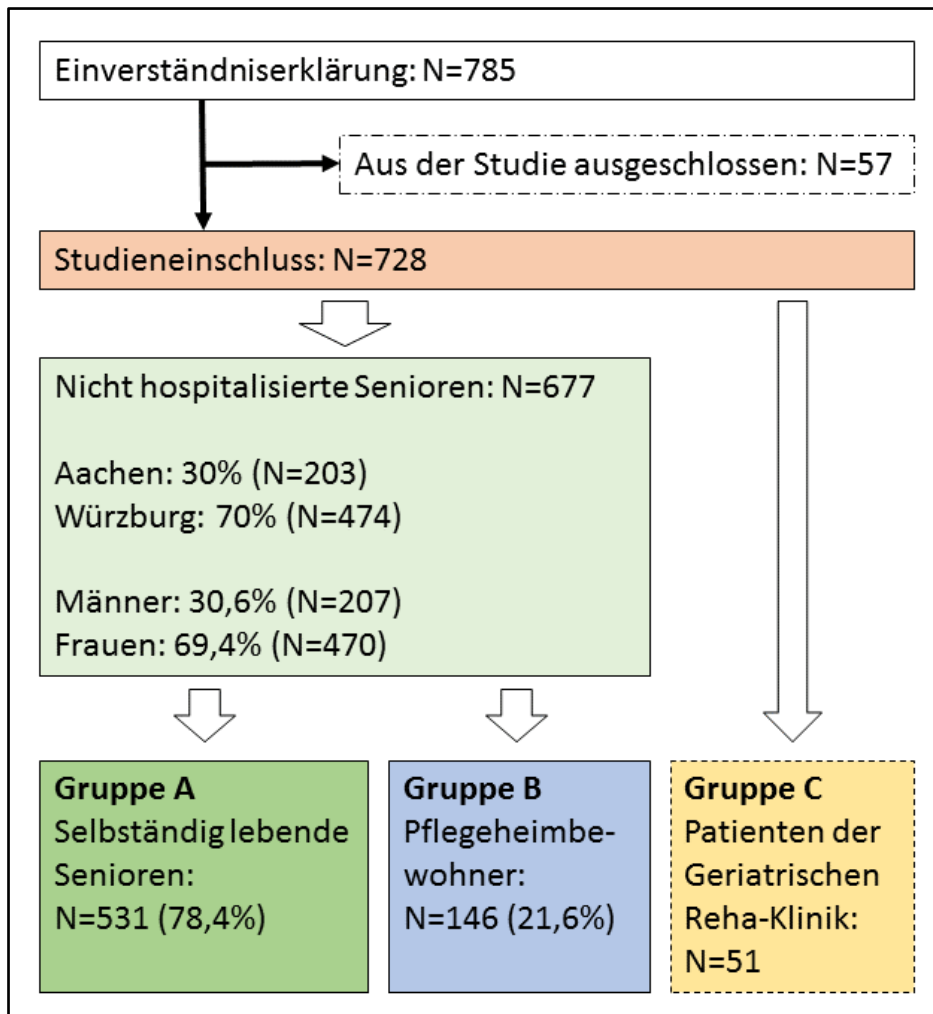


Abbildung 4. Studienpopulation

Von den 677 nicht hospitalisierten Teilnehmern kamen 30% (n=203) aus der Studienregion Aachen und 70% (n=474) aus der Studienregion Würzburg. Der Anteil der Männer betrug 30,6% (207/677). Das Durchschnittsalter betrug 78,51 ± 7,83 Jahre, der Median lag bei 78 Jahren mit einem Interquartilbereich von 11 Jahren und einer Altersspanne von 65 - 106 Jahren. In einem Pflegeheim untergebracht waren 146 Senioren (21,6%), wogegen 531 Senioren (78,4%) selbständig zu Hause oder in Betreutem Wohnen lebten.

In der Gruppe der selbständig lebenden Senioren betrug das Durchschnittsalter 76,1 ± 6,95 Jahre (Median = 76 Jahre; Interquartilbereich = 11 Jahr; Spannweite: 97 - 65 = 32 Jahre). Dagegen waren Bewohner von Pflegeheimen durchschnittlich 9 Jahre älter (Durchschnittsalter: 85,4 ± 7,0 Jahre; Median: 86 Jahre; Interquartilbereich = 9 Jahre; Spannweite: 65 - 106 Jahre).

Vergleicht man die beiden Studienstandorte Aachen und Würzburg (ohne Reha-Patienten), so war in Aachen der Anteil männlicher Teilnehmer geringer (n=47; 23,2%) als in Würzburg (n=160; 33,8%). In Aachen war bei einem Pflegeheimanteil von 25,1% (51 von 203) zudem auch der Altersdurchschnitt mit 80,5 Jahren höher als in Würzburg, wo dieser bei 77,7 Jahren lag und nur 20% (95 von 474) der Teilnehmer aus Pflegeheimen kamen. Diese Standortunterschiede wurden in der weiteren statistischen Auswertung berücksichtigt (**Tabelle 9**. Gesundheitsstatus, Lebensstil und *S. aureus*-Prävalenz bei Senioren, die in Pflegeheimen wohnen im Anhang).

Der Impfpass wurde von 213 der 677 Teilnehmer (31,5%) vorgelegt. Davon waren nur 0,9% (2/213) gegen *Haemophilus influenzae* Typ b geimpft.

In der getrennt gewerteten Gruppe der 51 geriatrischen Reha-Patienten lag der Altersdurchschnitt bei 81,29 ± 8,65 Jahren (Median: 83 Jahre; Interquartilbereich: 14 Jahre; Altersspanne: 65 - 98 Jahre). Darunter waren 25,5% (13/51) Männer (siehe auch **Abbildung 5**. Altersverteilung der verschiedenen Studienpopulationen).

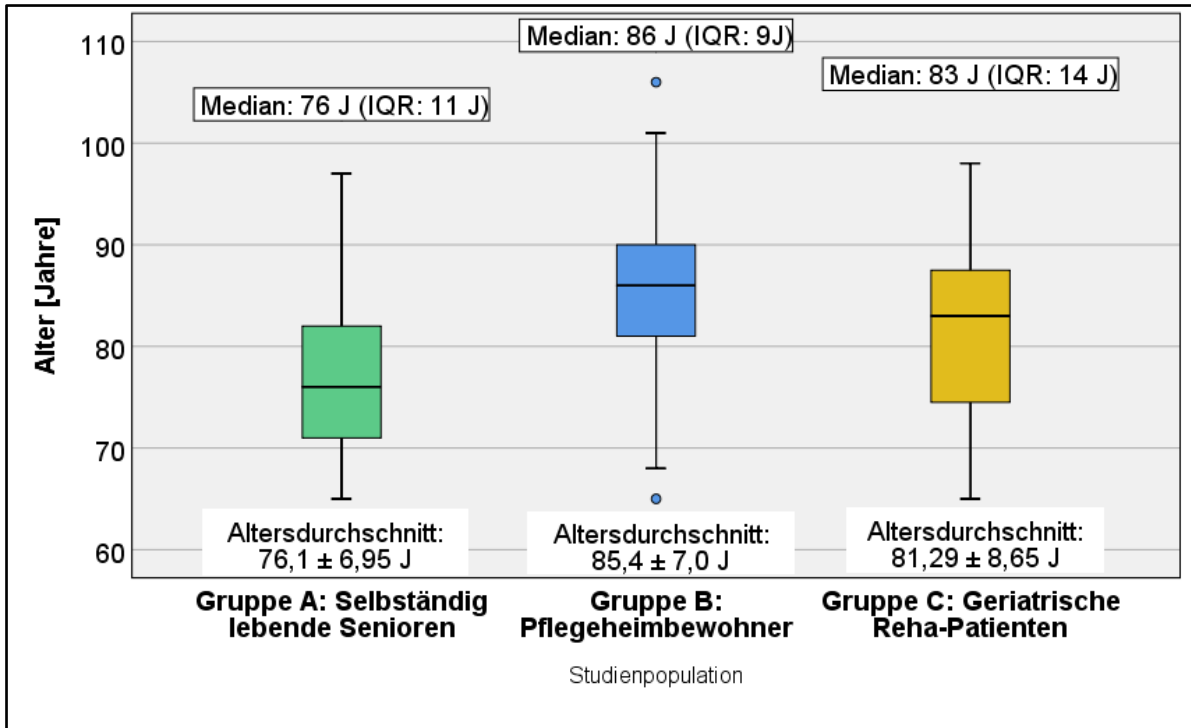


Abbildung 5. Altersverteilung der verschiedenen Studienpopulationen

3.2 Asymptomatisches Trägertum von *S. aureus*

3.2.1 Prävalenzdaten von *S. aureus*

Von allen 677 Senioren, die selbständig zu Hause oder in Pflegeheimen lebten, waren 193 Personen mit *S. aureus* besiedelt. Somit lag die Gesamtprävalenz bei 28,5% ([95% CI: 25,1 bis 32,1%]). Die Prävalenz bei Heimbewohnern war mit 31,5% (46/146; [95%CI: 24,1 bis 39,7%]) etwas höher als bei zu Hause lebenden Senioren, welche eine Trägerrate von 27,7% (147/531; [95% CI: 23,9 bis 31,7%]) hatten. Dieser Unterschied war nicht signifikant ($p=0,408$; χ^2 -Test). Männer waren insgesamt häufiger als Frauen mit *S. aureus* besiedelt (Männer: 32,9% oder 68/207; Frauen: 26,6% oder 125/470; $p=0,116$). Dieser Unterschied erreichte keine Signifikanz, war aber auch in den Subgruppen (selbständig lebende Senioren und Bewohner von Pflegeheimen) zu beobachten. Generell keine Unterschiede gab es dagegen beim Alter der Teilnehmer (siehe auch Subgruppenanalyse). Eine Übersicht über die Prävalenzdaten gibt auch

Tabelle 5. Prävalenzdaten von *S. aureus* und MRSA.

Interessanterweise zeigten Teilnehmer, welche ihren Impfausweis vorgelegt hatten, mit 21,6% oder 46/213 eine signifikant niedrigere *S. aureus*-Prävalenz, als Teilnehmer, welche diesen am Test-Tag nicht vorweisen konnten (31,7% oder 147/464; $p=0,008$). Dieser Trend bestand auch in den Subgruppen. Jedoch wurde dieses Ergebnis nicht in die weiteren Analysen (Logistische Regression) eingeschlossen, da diese Variable nicht als direkter Risikofaktor, sondern eher als Indikator für bestimmte Verhaltensmerkmale oder andere Einflussfaktoren gesehen wurde, vgl. auch Drayß et al. (Drayss et al., 2019).

3.2.2 Prävalenzdaten von MRSA

Methicillin-resistenter *S. aureus* (MRSA) wurde bei 5 von 677 Probanden gefunden, siehe auch Drayß et al. (Drayss et al., 2019). Somit lag die MRSA-Prävalenz bei 0,7% [95% CI: 0,02-1,7%]. Die MRSA-Quote bei den *S. aureus*-Isolaten betrug 2,6% (5 von 193 Isolaten). Der jüngste Träger war 73 Jahre alt, der älteste 88 Jahre. Zwei Träger waren Männer. Die Prävalenz bei selbständig lebenden Senioren war 0,4% (n=2; [95% CI: 0-1,4%]). Bei Pflegeheimbewohnern war die Prävalenz mit 2,1% (n=3; [95% CI: 0,4-5,9]) höher, allerdings noch nicht signifikant (p=0,07; Fisher's exact test). Bei Diabetikern war die Trägerrate signifikant erhöht (2,5%; n=3; $p=0,04$), ebenso bei Probanden mit Gelenkprothese (2,7%; n=3; $p=0,033$). Nur ein Träger war im vorangegangenen halben Jahr in stationärer Behandlung gewesen (**Tabelle 14**. Soziodemografische Faktoren und MRSA-Prävalenz bei nicht hospitalisierten Senioren und **Tabelle 15**. Gesundheitsstatus, Lebensstil und MRSA-Prävalenz bei nicht hospitalisierten Senioren im Anhang). Aufgrund der geringen Fallzahl wurde keine Regressionsanalyse und keine Subgruppen-Analyse von Risikofaktoren durchgeführt.

Patienten der geriatrischen Reha-Klinik

Die *S. aureus*-Prävalenz bei den 51 Patienten der Rehaklinik war 31,4% (n=16; [95% CI: 19,1-45,9]). Bei Patienten mit Gelenkprothese war die Trägerrate mit 48,10% allerdings signifikant höher (13 von 27; **p=0,008**; χ^2 -Test). Ein Patient (2,0%) war mit MRSA besiedelt.

Tabelle 5. Prävalenzdaten von *S. aureus* und MRSA

	<i>S. aureus</i> n (% [95%CI])	MRSA n (% [95%CI])
Gesamtteilnehmer* n=677	193 (28.5 [25.1-32.1])	5 (0.7 [0.02-1.7])
Selbständig lebend* n=531	147 (27.7 [23.9-31.7])	2 (0.4 [0-1.4])
Pflegeheimbewohner* n=146	46 (31.5 [24.1-39.7])	3 (2.1 [0.4-5.9])
Reha-Patienten n=51	16 (31.4 [19.1-45.9])	1 (2.0 [0-10.4])

MRSA, Methicillin-resistenter *S. aureus*; CI, Konfidenzintervall.

*Reha-Patienten ausgeschlossen.

3.3 Risikofaktoren für eine Besiedelung mit *S. aureus*

Die Analyse von möglichen Risikofaktoren für eine Besiedelung mit *S. aureus* wurde getrennt nach Wohn- oder Unterbringungsart der Teilnehmer durchgeführt. Somit ergaben sich zwei Untergruppen: Senioren aus Pflegeheimen und selbständig zu Hause oder in betreutem Wohnen lebende Probanden. Teile der folgenden Ergebnisse wurden von Drayß et al. publiziert (Drayss et al., 2019).

3.3.1 Selbständig lebende Senioren

Die 531 selbständig zu Hause oder in betreuten Wohneinrichtungen lebenden Senioren bildeten die größte Studiengruppe. Davon waren rund ein Drittel (31,6%; n=168) Männer. Betrachtet man die Altersstruktur, so waren nur 15,6% der selbständig lebenden Teilnehmer 85 Jahre oder älter. Verheiratet waren

zum Studienzeitpunkt 35,6% der Senioren. Etwa ein Viertel (24,3%) besaß Fach- / Abitur. Bei den am längsten ausgeübten beruflichen Tätigkeiten waren Berufe im Beamten- oder Dienstleistungssektor neben der Tätigkeit als Hausfrau am häufigsten (**Tabelle 6. Soziodemografische Faktoren und Besiedelung mit *S. aureus* bei selbständig lebenden Senioren**). Die Prävalenz von *S. aureus* war signifikant erhöht bei Personen mit Fach-/Abitur (38,0%; **$p=0,003$**). Bezüglich der anderen Variablen wie Alter, Geschlecht, Familienstand und Beruf unterschieden sich die Trägerraten meist nur geringfügig und nicht signifikant, siehe auch Drayß et al. (Drayss et al., 2019).

Tabelle 6. Soziodemografische Faktoren und Besiedelung mit *S. aureus* bei selbständig lebenden Senioren

Variable		Gesamt- teilnehmer n (%)	<i>S. aureus</i> - Träger n (%)	<i>p</i> - Wert ^a
Gesamt		531 (100)	147 (27.7)	
Soziodemografische Daten				
Geschlecht	Männer	168 (31.6)	53 (31.5)	0.211
	Frauen	363 (68.4)	94 (25.9)	
Alter [Jahre]	65-74	219 (41.2)	60 (27.4)	0.991
	75-84	229 (43.1)	64 (27.9)	
	≥85	83 (15.6)	23 (27.7)	
Familienstand	Verheiratet	189 (35.6)	43 (22.8)	0.068
Schulabschluss	Fach-/Abitur	129 (24.3)	49 (38.0)	0.003
Beruf	Akademiker	18 (3.4)	7 (38.9)	0.289
	Selbständig	25 (4.7)	9 (36.0)	0.362
	Beamter im einfachen oder mittlere Dienst	24 (4.5)	5 (20.8)	0.496
	Beamter im gehobenen oder höheren Dienst	60 (11.3)	19 (31.7)	0.540
	Einfacher Angestellter	191 (36.0)	44 (23.0)	0.086
	Leitender Angestellter	78 (14.7)	25 (32.1)	0.411
	Un- oder angelernter Arbeiter	29 (5.5)	10 (34.5)	0.523
	Facharbeiter, Vorarbeiter oder Meister	42 (7.9)	13 (31.0)	0.719
	Hausfrau	58 (10.9)	13 (22.4)	0.358
	Andere / nicht zutreffend	6 (1.1)	2 (33.3)	0.671

^aVergleich nach Besiedelung mittels χ^2 -Test oder Fisher's exact test und einem Signifikanzniveau von $p < 0.05$; signifikante Werte fettgedruckt.

Übergewicht (311/531; 58,6%), arterielle Hypertonie (253/531; 47,6%) und Herzinsuffizienz (107/531; 20,2%) waren die häufigsten Erkrankungen bzw. medizinischen Risikofaktoren bei selbständig lebenden Senioren. Eine Zahnprothese (Voll- oder Teilprothese) trugen 51,6% (274/531) der Probanden. Krankenhausaufenthalte, Diabetes mellitus, Krebs- oder Tumorerkrankungen, Gelenkprothesen und v.a. invasive medizinische Maßnahmen (PEG / Gastrostoma u.a.) waren dagegen seltener (**Tabelle 7. Gesundheitsstatus, Lebensstil und S. aureus-Prävalenz bei selbständig lebenden Senioren**). Nur 4% (4/531) der Teilnehmer in dieser Untergruppe waren aktive Raucher. Jeweils fast ein Drittel der Probanden gaben Auslandsreisen (158/531; 29,8%) oder Kontakt zu Vorschulkindern (148/531; 28,0%) an. Es zeigten sich jedoch keine Prävalenzunterschiede bei der Besiedelung mit *S. aureus* in Abhängigkeit von Gesundheitsstatus oder Freizeitverhalten der Probanden, vgl. auch Drayß et al. (Drayss et al., 2019).

Tabelle 7. Gesundheitsstatus, Lebensstil und *S. aureus*-Prävalenz bei selbständig lebenden Senioren

Variable		Gesamt- teilnehmer n (%)	Besiedelung mit <i>S. aureus</i> n (%)	p- Wert^a
Gesamt		531 (100)	147 (27.7)	
Studienregion	AAC	152 (28.6)	37 (24.3)	0.286
	WUE	379 (71.4)	110 (29.0)	
Gesundheitsstatus				
BMI	<25	220 (41.4)	69 (31.4)	0.116
	≥25	311 (58.6)	78 (25.1)	
Krankenhausaufenthalt während der letzten 6 Monate*		77 (14.6)	19 (24.7)	0.583
Diabetes mellitus		79 (14.9)	26 (32.9)	0.277
Herzinsuffizienz		107 (20.2)	34 (31.8)	0.333
Asthma		29 (5.5)	6 (20.7)	0.409
Krebs- / Tumorerkrankung		40 (7.5)	9 (22.5)	0.472
Arterielle Hypertonie		253 (47.6)	71 (28.1)	0.923
Atopische Dermatitis		14 (2.6)	5 (35.7)	0.547
Invasive medizinische Maßnahmen und Implantate^b				
Gastrostoma		0 (0)	NA	NA
Herzschrittmacher		13 (2.4)	5 (38.5)	0.362
Gelenkprothese		83 (15.6)	21 (25.3)	0.689
Zahnprothese		274 (51.6)	80 (29.2)	0.439
Zahnvollprothese		127 (23.9)	37 (29.1)	0.733
Zahnteilprothese		172 (32.4)	49 (28.5)	0.836
Freizeitverhalten				
Rauchen*		21 (4.0)	8 (38.1)	0.318
Kontakt zu Vorschulkindern*		148 (28.0)	35 (23.6)	0.196
Haustiere*		64 (12.1)	19 (29.7)	0.766
Auslandsreisen in den letzten 12 Monaten*		158 (29.8)	47 (29.7)	0.525
Auslandsreisen durch Haushaltsmitglieder in den letzten 12 Monaten		88 (16.6)	29 (33.0)	0.241

AAC, Aachen; WUE, Würzburg; BMI, Body Mass Index; NA, nicht angegeben.

^aVergleich nach Besiedelung mittels χ^2 -Test oder Fisher's exact test und einem Signifikanzniveau von $p < 0.05$; signifikante Werte fettgedruckt.

^bInklusive Gastrostoma, Tracheostoma, Beatmung, Zentralvenöser Katheter, Harnblasenkatheter, Dialyse, Herzschrittmacher, Gelenkprothese.

*Keine Datenangabe bei <1% der Studienpopulation.

3.3.2 Bewohner von Senioren- und Pflegeheimen

Bei den 146 Pflegeheimbewohnern, der zweitgrößten Studiengruppe, hatte eine knappe Mehrheit der Pflegeheimbewohner ein Alter von mindestens 85 Jahren (55,5%). Der Anteil der Männer war mit 26,7% (39/146) niedriger, als bei den selbständig lebenden Senioren. Über die Hälfte der Teilnehmer waren zum Studienzeitpunkt verheiratet (84/146; 57,5%). Das Fach-/Abitur besaßen nur 18,1 % (26/146) der Teilnehmer. Dementsprechend war bei den Berufen neben der Tätigkeit als Hausfrau (36/146; 24,7%) eine Beschäftigung als einfacher Angestellter (41/146; 28,1%) oder als un- / angelernter Arbeiter (25/146; 17,1%) am häufigsten (**Tabelle 8. Soziodemografische Faktoren und Besiedelung mit *S. aureus* bei Senioren, die in Pflegeheimen leben**). Verheiratete hatten eine signifikant höhere Prävalenz von *S. aureus* (34/46; 40,5%; **p = 0,007**) als Nicht-Verheiratete Pflegeheimbewohner, siehe auch Drayß et al. (Drayss et al., 2019). Bei den anderen soziodemografischen Variablen zeigten sich in der Analyse mittels χ^2 -Test keine signifikanten Prävalenzunterschiede.

Tabelle 8. Soziodemografische Faktoren und Besiedelung mit *S. aureus* bei Senioren, die in Pflegeheimen leben

Variable		Gesamt- teilnehmer n (%)	Besiedelung mit <i>S. aureus</i> n (%)	p-Wert ^a
Gesamt		146 (100)	46 (31.5)	
Soziodemografische Daten				
Geschlecht	Männer	39 (26.7)	15 (38.5)	0.316
	Frauen	107 (73.3)	31 (29.0)	
Alter [Jahre]	65-74	10 (6.8)	3 (30.0)	0.959
	75-84	55 (37.7)	18 (32.7)	
	≥85	81 (55.5)	25 (30.9)	
Familienstand	Verheiratet	84 (57.5)	34 (40.5)	0.007
Schulabschluss*	Fach-/Abitur	26 (18.1)	9 (34.6)	0.642
Beruf	Akademiker	3 (2.1)	0 (0)	0.552
	Selbständig	3 (2.1)	1 (33.3)	1.0
	Beamter im einfachen oder mittleren Dienst	6 (4.1)	1 (16.7)	0.665
	Beamter im gehobenen oder höheren Dienst	7 (4.8)	4 (57.1)	0.207
	Einfacher Angestellter	41 (28.1)	9 (22.0)	0.165
	Leitender Angestellter	15 (10.3)	4 (26.7)	0.776
	Un- oder angelernter Arbeiter	25 (17.1)	11 (44.0)	0.159
	Facharbeiter, Vorarbeiter oder Meister	8 (5.5)	2 (25.0)	1.0
	Hausfrau	36 (24.7)	12 (33.3)	0.837
	Andere / nicht zutreffend	2 (1.4)	2 (100)	0.098

^aVergleich nach Besiedelung mittels χ^2 -Test oder Fisher's exact test und einem Signifikanzniveau von $p < 0.05$; signifikante Werte fettgedruckt.

*Keine Datenangabe bei 1.4% der Studienpopulation.

Bei Pflegeheimbewohnern waren stationäre Krankenhausaufenthalte, Vorerkrankungen und das Vorhandensein von Implantaten oder invasiven medizinischen Maßnahmen entsprechend häufiger als bei den selbständig lebenden Senioren. Etwa ein Viertel der Probanden (35/146; 24,3%) hatte einen stationären Krankenhausaufenthalt während der vergangenen 6 Monate. Die häufigsten Erkrankungen waren arterielle Hypertonie und Herzinsuffizienz (beide jeweils 50/146; 34,2%) sowie Diabetes mellitus (40/146; 27,4%). Eine Gelenkprothese hatten 19,2% (28/146) der Individuen. Mehr als drei Viertel der Pflegeheimbewohner trugen eine Zahnvoll- oder Teilprothese. Insgesamt gesehen waren Pflegeheimbewohner mit invasiven medizinischen Maßnahmen oder Implantaten häufiger mit *S. aureus* besiedelt, jedoch erreichte dieser Unterschied in der einfachen Analyse mittels χ^2 -Test noch keine Signifikanz. Teilnehmer mit Gastrostoma / PEG waren signifikant häufiger besiedelt (4/5; 80%; **$p=0,003$** ; Fisher's exact test, **Tabelle 9. Gesundheitsstatus, Lebensstil und *S. aureus*-Prävalenz bei Senioren, die in Pflegeheimen wohnen**).

Bei den übrigen Variablen gab es keine signifikanten Prävalenzunterschiede hinsichtlich der Besiedelung mit *S. aureus*, vgl. auch Drayß et al. (Drayss et al., 2019).

Tabelle 9. Gesundheitsstatus, Lebensstil und *S. aureus*-Prävalenz bei Senioren, die in Pflegeheimen wohnen

Variable		Gesamt- teilnehmer n (%)	Besiedelung mit <i>S. aureus</i> n (%)	p-Wert ^a
Gesamt		146 (100)	46 (31.5)	
Studienregion	AAC	51 (34.9)	13 (25.5)	0.269
	WUE	95 (65.1)	33 (34.7)	
Gesundheitsstatus				
BMI	<25	80 (57.1)	24 (30.0)	0.715
	≥25	60 (42.9)	20 (33.3)	
Krankenhausaufenthalt während der letzten 6 Monate*		35 (24.3)	13 (37.1)	0.533
Diabetes mellitus		40 (27.4)	12 (30.0)	0.845
Herzinsuffizienz		50 (34.2)	15 (30.0)	0.852
Asthma		7 (4.8)	2 (28.6)	1.0
Krebs- / Tumorerkrankung		16 (11.0)	5 (31.3)	1.0
Arterielle Hypertonie		50 (34.2)	15 (30.0)	0.852
Atopische Dermatitis		2 (1.4)	1 (50.0)	0.532
Invasive medizinische Maßnahmen und Implantate^b		44 (30.1)	19 (43.2)	0.054
Gastrostoma		5 (3.4)	4 (80.0)	0.034
Herzschrittmacher		5 (3.4)	2 (40.0)	0.650
Gelenkprothese		28 (19.2)	11 (39.3)	0.368
Zahnprothese		113 (77.4)	37 (32.7)	0.672
Zahnvollprothese		65 (44.5)	19 (29.2)	0.720
Zahnteilprothese		50 (34.2)	17 (34.0)	0.708
Freizeitverhalten				
Rauchen		8 (5.5)	2 (25.0)	1.0
Kontakt zu Vorschulkindern*		27 (18.8)	10 (37.0)	0.495
Haustiere		7 (4.8)	2 (28.6)	1.0
Auslandsreisen in den letzten 12 Monaten*		2 (1.4)	1 (50.0)	0.535
Auslandsreisen von Haushaltsmitgliedern in den letzten 12 Monaten*		4 (2.8)	2 (50.0)	0.589

AAC, Aachen; WUE, Würzburg; BMI, Body Mass Index.

^aVergleich nach Besiedelung mittels χ^2 -Test oder Fisher's exact test und einem Signifikanzniveau von $p < 0.05$; signifikante Werte fettgedruckt.

^bInklusive Gastrostoma, Tracheostoma, Beatmung, Zentralvenöser Katheter, Harnblasenkatheter, Dialyse, Herzschrittmacher, Gelenkprothese.

*Keine Datenangabe bei bis zu 1.4% der Teilnehmer.

Nur wenige Pflegeheimbewohner waren aktive Raucher (8/146; 5,5%). Kontakt zu Vorschulkindern war deutlich seltener (27/146; 18,8%) als bei den jüngeren, selbständig lebenden Senioren. Bei allen Variablen zu Faktoren des Lebensstils und Freizeitverhaltens zeigten sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Trägerraten.

3.3.3 Logistische Regression

Für die logistische Regressionsanalyse der Subgruppe der selbständig lebenden Senioren wurden die Variablen Studienregion, Geschlecht, Verheiratet sein, Fach-/Abitur, Arbeit als einfacher Angestellter, BMI ≥ 25 , Kontakt zu Vorschulkindern und Auslandsreisen von Haushaltsmitgliedern in den letzten 12 Monaten entsprechend der Auswahlkriterien ins initiale Modell eingeschlossen. Nur die Variable „Fach-/Abitur“ war signifikant mit einer Besiedelung mit *S. aureus* assoziiert (OR: 1,911 [95% CI: 1,252-2,918]; **$p=0,003$** ; **Table 10. Multivariable logistische Regressionsmodelle: Risikofaktoren die mit einer Besiedelung mit *S. aureus* assoziiert sind**).

Bei den Senioren, welche in Pflegeheimen wohnten, wurden für die Regressionsanalyse die Variablen Studienregion, Geschlecht, Verheiratet sein, ehemalige Beschäftigung als un- oder angelernter Arbeiter, und Vorhandensein von invasiven medizinischen Maßnahmen oder Implantaten in das initiale Modell aufgenommen. Bewohner von Pflegeheimen hatten ein erhöhtes Risiko für eine Besiedelung mit *S. aureus*, wenn sie zum Studienzeitpunkt verheiratet waren (OR: 3,367 [95% CI: 1,502-7,546]; **$p=0,003$**), wenn sie als un- oder angelernter Arbeiter beschäftigt gewesen waren (OR: 2,701 [95% CI: 1,028-

7,096]; **p=0,044**) oder wenn eine invasive medizinische Maßnahme oder Implantate vorlagen (OR: 2,591[95% CI: 1,169-5,744]; **p=0,019**), siehe auch Drayß et al. (Drayss et al., 2019).

Tabelle 10. Multivariable logistische Regressionsmodelle: Risikofaktoren die mit einer Besiedelung mit *S. aureus* assoziiert sind

Subgruppe	Variable	Odds Ratio [95% CI]	p-Wert
Selbständig lebende Senioren^a	Fach-/Abitur	1.911 [1.252-2.918]	0.003
	Verheiratete Senioren	3.367 [1.502-7.546]	0.003
Pflegeheimbewohner^b	Invasive medizinische Maßnahmen oder Implantate ^c	2.591 [1.169-5.744]	0.019
	Un- oder angelernte Arbeiter	2.701 [1.028-7.096]	0.044

CI, Konfidenzintervall

^aIn die Analyse eingeschlossen wurden die Variablen Studienregion, Geschlecht, verheiratet sein, Fach-/Abitur, einfacher Angestellter, BMI \geq 25, Kontakt zu Vorschulkindern, Auslandsreisen von Haushaltsmitgliedern in den letzten 12 Monaten.

^bIn die Analyse eingeschlossen wurden die Variablen Studienregion, Geschlecht, verheiratet sein, un- oder angelernte Arbeiter, invasive medizinische Maßnahmen oder Implantate.

^cInklusive Gastrostoma, Tracheostoma, Beatmung, Zentralvenöser Katheter, Harnblasenkatheter, Dialyse, Herzschrittmacher, Gelenkprothese.

3.4 Asymptomatisches Trägertum von *H. influenzae*

3.4.1 Prävalenz von *H. influenzae*

Von den 677 nicht hospitalisierten Studienteilnehmern waren 13 Personen mit *H. influenzae* besiedelt. Davon gehörten 12 Personen zur Region Würzburg und 1 Person lebte im Raum Aachen. Die Gesamtprävalenz betrug 1,9% [95% CI: 1,0-3,3%]. Die Prävalenzen bei selbständig lebenden Senioren (11/531; 2,1%) und Bewohnern von Pflegeheimen (2/146; 1,4%; $p=0,745$) waren ähnlich niedrig, wie auch bei Drayß et al. beschrieben (Drayss et al., 2019). Auf eine statistische Analyse von Risikofaktoren innerhalb dieser beiden Subgruppen wurde aufgrund der geringen Trägerzahl verzichtet. Der Altersdurchschnitt der Träger lag bei $75,23 \pm 7,34$ Jahren (Median: 73 Jahre; Interquartilbereich: 10 Jahre; Altersspanne: 65 - 89 Jahre). Bei der Analyse nach Altersgruppen war die Prävalenz von *H. influenzae* unter den Teilnehmern im Alter von 65 - 74 Jahren mit 3,9% (9/229) am höchsten, wohingegen Senioren im Alter von 75 - 84 Jahren (2/284; 0,7%) und 85+ Jahren (2/164; 1,2%) weniger häufig besiedelt waren. Dieser Unterschied war mit $p=0,026$ (Fisher's exact test) leicht signifikant. Keine wesentlichen Unterschiede gab es zwischen Männern und Frauen. Senioren mit Kontakt zu Vorschulkindern zeigten ebenfalls keine höhere Trägerrate (**Tabelle 17**. Soziodemografische Merkmale und Prävalenz von *H. influenzae* bei nicht hospitalisierten Senioren Und **Tabelle 18**. Gesundheitsstatus, Lebensstil und Prävalenz von *H. influenzae* bei nicht hospitalisierten Senioren im Anhang).

Ein Isolat aus der Region Würzburg war Serotyp e. Die anderen 12 Isolate waren nicht typisierbare *H. influenzae*-Stämme (NTHi), wovon ein Isolat aus Aachen stammte. Alle Trägerisolate waren Beta-Lactamase-negativ und sensibel gegenüber Ampicillin. Unter den Patienten der geriatrischen Reha-Klinik war niemand mit *H. influenzae* besiedelt.

3.4.2 Phylogenetischer Vergleich mit invasiven *H. influenzae*

Für eine vergleichende Analyse der 11 NTHi-Trägerisolate aus Stadt und Landkreis Würzburg wurden aus Gründen der Homogenität ausschließlich NTHi-Isolate von 29 invasiv erkrankten Senioren des entsprechenden epidemiologischen Jahres ausgewählt. Diese stammten aus Orten in Bayern, Baden-Württemberg (beide jeweils n=11; 37,9%) und Hessen (n=7; 24,1%) mit einer maximalen Entfernung von 148 km zu Würzburg. Die durchschnittliche Distanz der Herkunftsorte betrug $110,97 \pm 32,43\text{km}$ (**Abbildung 6. Entfernung der Herkunftsorte von Träger- und invasiven NTHi Isolaten** und **Abbildung 7. Wohnorte der Träger bzw. Patienten mit NTHi-Isolaten**).

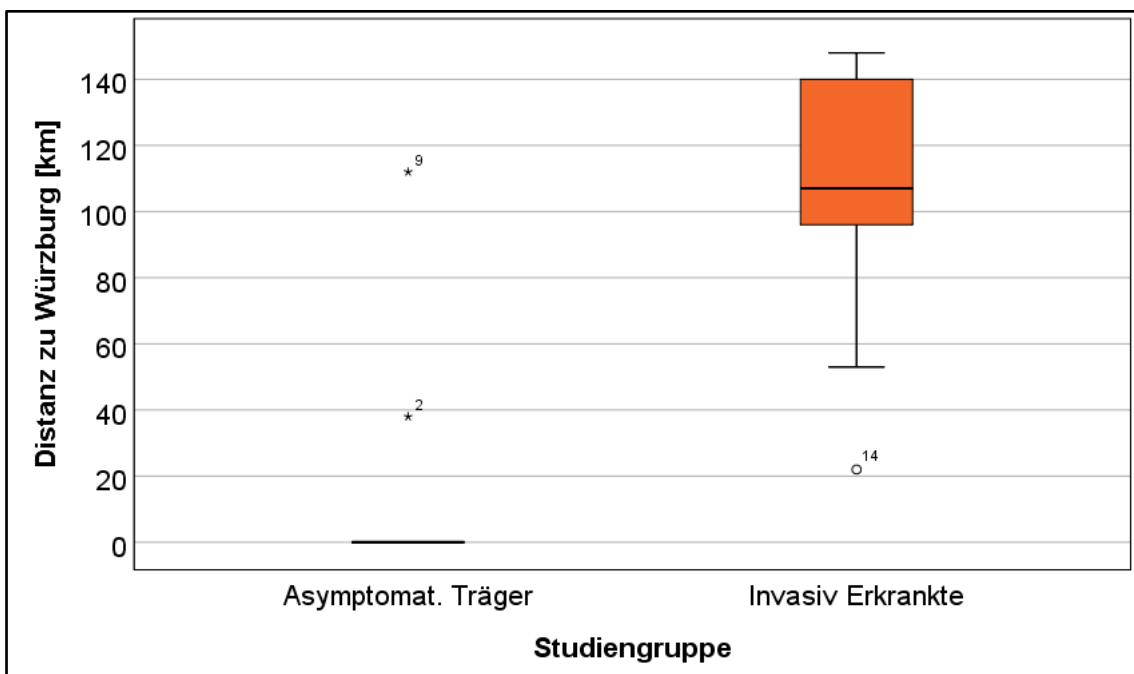


Abbildung 6. Entfernung der Herkunftsorte von Träger- und invasiven NTHi Isolaten

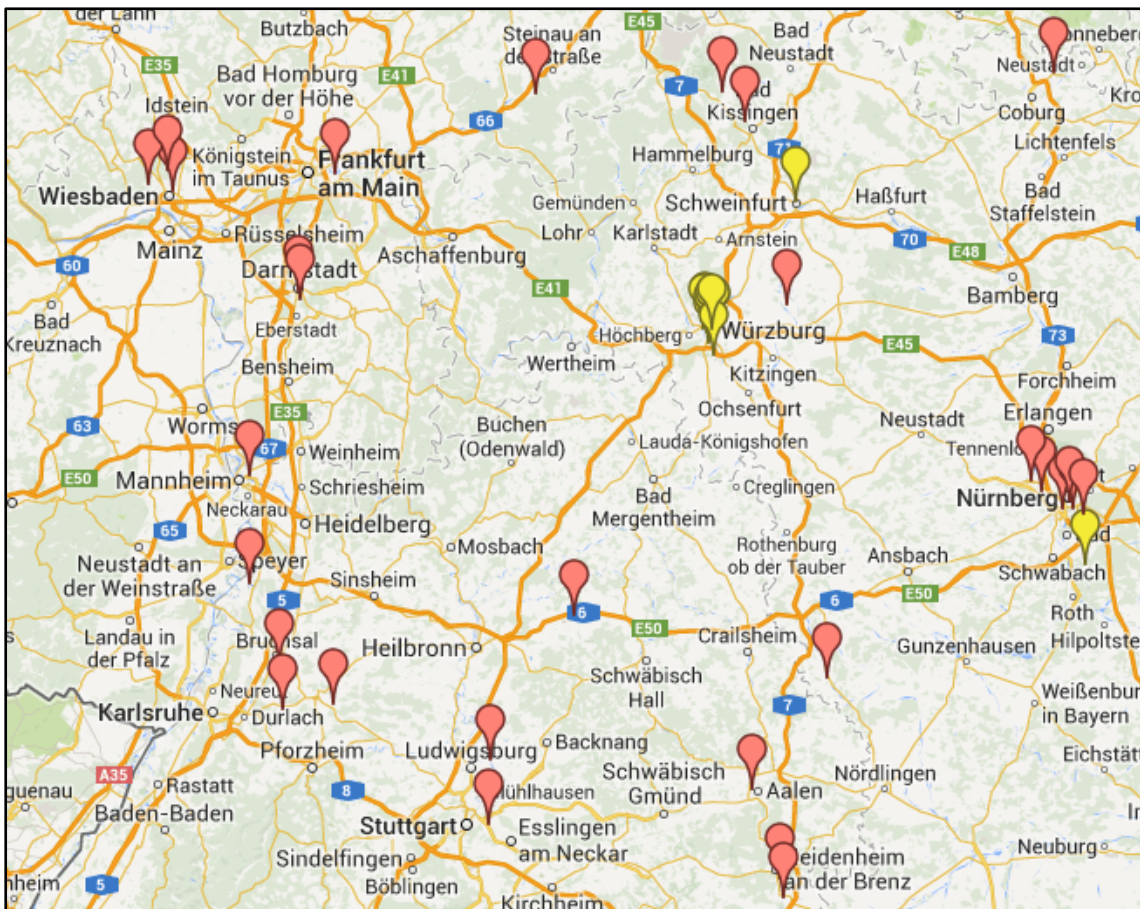


Abbildung 7. Wohnorte der Träger bzw. Patienten mit NTHi-Isolaten

Gelbe Markierung – Trägerisolate; rote Markierung – invasive Isolate.

Die Geschlechtsverteilung unterschied sich in den Vergleichsgruppen nicht wesentlich (Männeranteil bei invasiv Erkrankten: 12/29; 41,37%; Männeranteil bei Trägern: 4/11; 36,4%). Der Altersdurchschnitt war bei den ausgewählten invasiven Fällen jedoch mit $82,9 \pm 8,27$ Jahren höher als in der Gruppe der asymptomatischen Träger, wo dieser $75,73 \pm 7,93$ Jahre betrug (**Abbildung 8. Altersverteilung bei asymptomatischen Trägern und invasiv mit NTHi Erkrankten**).

Unter den invasiven Isolaten waren 4 Isolate Betalaktamase-positiv Ampicillin-resistent (BLPAR), sowie ein Isolat Betalaktamase-negativ Ampicillin-resistent (BLNAR).

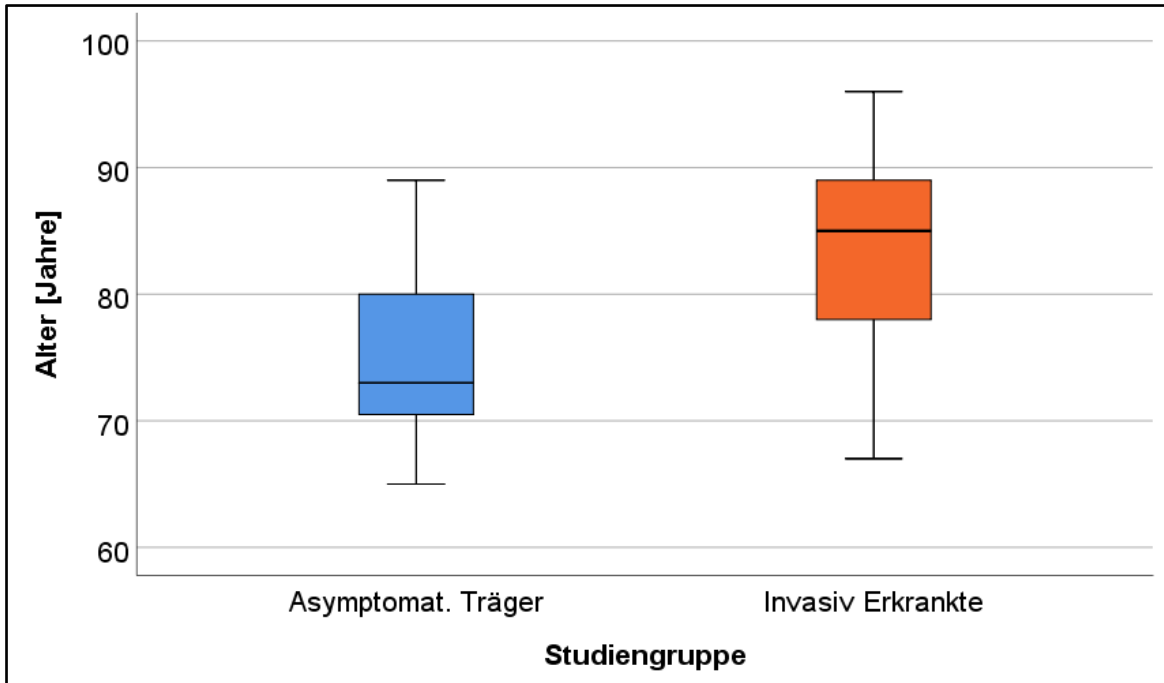


Abbildung 8. Altersverteilung bei asymptomatischen Trägern und invasiv mit NTHi Erkrankten

Die Multilocus-Sequenz-Typisierung (MLST) der 11 Trägerstämme und der 29 invasiven Stämme zeigte eine große genetische Diversität. Insgesamt wurden 34 verschiedene Sequenztypen (ST) bestimmt. Die meisten Sequenztypen kamen nur einfach vor, entweder bei Trägerisolaten oder bei Invasiven Isolaten. Allerdings waren 5 Sequenztypen mit mehreren Isolaten vertreten, nämlich ST-57 (n=2), ST-103 (n=2), ST-142 (n=2), ST-145 (n=3) und ST-266 (n=2). Davon gehörte zu den Sequenztypen ST-145 und ST-266 neben invasiven Isolaten auch ein Trägerisolat. Das einzige invasive BLNAR Isolat war ST-14. Die 4 invasiven BLPAR Isolate gehörten zu den Sequenztypen ST-103 (n=2), ST-836 und ST-1432.

Zur Untersuchung der phylogenetischen Verwandtschaft wurde auf Basis der DNA-Sequenzen ein **Maximum-Likelihood-Tree** inklusive Bootstrap-Analyse erstellt. Hier zeigte sich in den überwiegend kleineren Clustern ebenfalls die hohe Diversität der NTHi, ohne strikte Trennung in reine Cluster mit invasiven Isolaten oder Trägerisolaten. Meist hatten nur kleine Cluster eine gute

statistische Unterstützung in der Bootstrap-Analyse mit Werten > 80% (vgl. **Abbildung 9. Phylogenetische Analyse von invasiven NTHi und Trägerisolaten mit der Maximum Composite Likelihood-Methode**). Die geografische Herkunft der Isolate hatte keinen Einfluss auf eine Clusterbildung (vgl. Anhang: **Tabelle 19. Isolate und Sequenztypen der MLST bei NTHi**). Zahlenmäßig am stärksten vertreten war der Cluster um ST-103 mit ST-139 und ST-145 (insgesamt 6 Isolate). Hier war jedoch teilweise die Bootstrap-Unterstützung < 80% und damit zu gering.

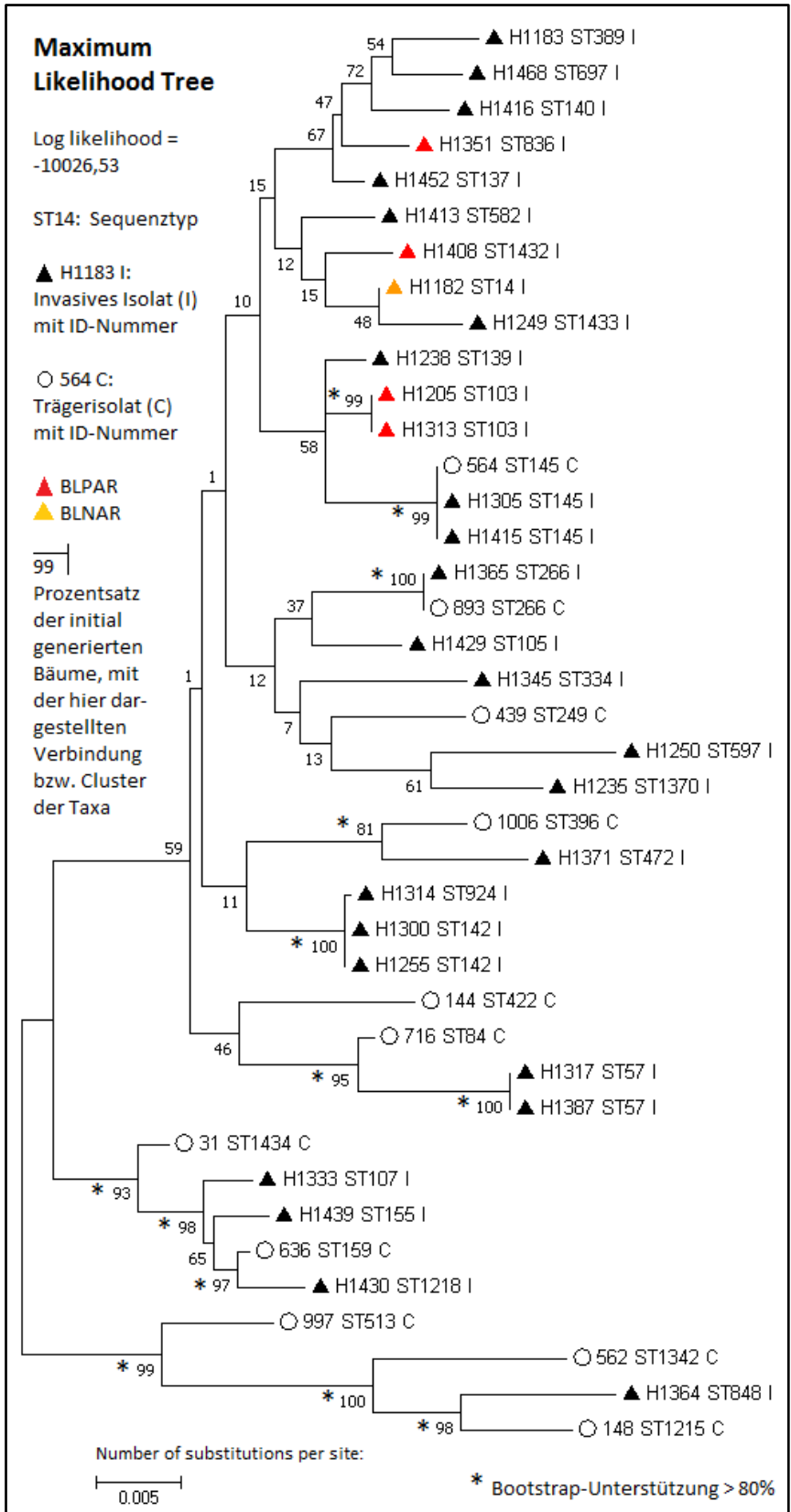


Abbildung 9. Phylogenetische Analyse von invasiven NTHi und Trägerisolaten mit der Maximum Composite Likelihood-Methode

Diskussion

4.1 Studienpopulation und geografische Herkunft

Insgesamt wurden 728 Senioren in die Studie eingeschlossen. Die Teilnehmerzahl ist damit vergleichbar mit anderen Trägerstudien an Senioren oder Bewohnern von Pflegeheimen (Coughtrie et al., 2018; Daeschlein et al., 2006; Gu et al., 2016; Stark et al., 2014). Es waren deutlich weniger Männer als Frauen vertreten (nur ca. 1/3 der Probanden männlich). Dies war in der Subpopulation der Pflegeheimbewohner stärker ausgeprägt und ist teilweise auch durch die demografischen Gegebenheiten in Deutschland mitbedingt. Durch die höhere Lebenserwartung von Frauen besteht in den Jahrgängen der Senioren ein gewisser Frauenüberschuss, welcher in den Alterskohorten ab 80 Jahren besonders ausgeprägt ist (Statistisches Bundesamt, 2013, pp. 25, 37). Im Rahmen der Rekrutierungsmaßnahmen war auch eine nach Alter und Geschlecht stratifizierte Zufallsstichprobe von 1000 Personen zur Teilnahme eingeladen worden. Dennoch weist auch die Subpopulation der selbständig lebenden Senioren einen geringen Männeranteil auf. Ob hierbei auch eine unterschiedliche Teilnahmebereitschaft oder andere Gründe zu diesem Stichprobenausfall führten, bleibt offen.

Verglichen mit anderen Gegenden in Deutschland gehören die Regionen Aachen und Würzburg, in welchen die Studie durchgeführt wurde, zu den mitteldicht besiedelten Gebieten. Diese sind in Deutschland recht verbreitet. So leben etwa 41% der Allgemeinbevölkerung in Gebieten mit mittlerer Populationsdichte (Statistisches Bundesamt (Destatis), 2015, 2018). Insofern dürften die Trägerraten in Regionen mit gleicher Bevölkerungsdichte ähnlich hoch sein. In den dicht besiedelten Ballungsräumen und Großstädten wie Hamburg, Berlin oder München könnten jedoch Prävalenzdaten und Risikofaktoren aufgrund unterschiedlicher sozialer Stratifikation abweichen, siehe auch Drayß et al. (Drayss et al., 2019).

4.2 Prävalenz und Risikofaktoren bei *S. aureus*

Die Prävalenz von *S. aureus* unter Senioren war mit ca. 27-31% in allen Studiengruppen (Selbständig lebend, Pflegeheim, Reha-Klinik) vergleichbar mit anderen deutschen Trägerstudien, im europäischen Vergleich jedoch hoch (Holtfreter et al., 2016; Kwetkat et al., 2018). In der großen europäischen Prävalenzstudie von Den Heijer et al. hatte Ungarn mit 12,1% die niedrigste und Schweden mit 29,4% die höchste Trägerrate (den Heijer et al., 2013). Dabei ist zu berücksichtigen, dass in der vorliegenden IBI-Studie, wie auch in vielen anderen Trägerstudien nur eine Punktprävalenz bestimmt wurde. Der Anteil der dauerhaften Träger dürfte daher etwas niedriger liegen (Stark et al., 2014; Wertheim et al., 2005). In einer Trägerstudie in Nordrhein-Westfalen mit 3 konsekutiven Abstrichen waren beispielsweise nur 17,6% der Teilnehmer dauerhaft besiedelt (Kock et al., 2016).

Keine Prävalenzunterschiede gab es zwischen selbständig lebenden Senioren und Senioren in Pflegeheimen. Somit ist eine Unterbringung in einer Pflegeeinrichtung kein Risikofaktor für eine Besiedelung mit *S. aureus*.

Interessanterweise zeigten sich unter den *S. aureus* besiedelten Senioren keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich des Geschlechts der Teilnehmer. Dies steht im Gegensatz zu vielen bisher bekannten Studien an Erwachsenen aller Altersgruppen, bei denen das männliche Geschlecht einen Risikofaktor für eine Besiedelung darstellt (Graham et al., 2006; Hoffmann et al., 2015; Munckhof et al., 2009). Möglicherweise führen geänderte Wirtsfaktoren, wie z.B. hormonelle und immunologische Veränderungen (Kaye et al., 1991; Nowak et al., 2017), zu einer Angleichung der Trägerrate im Alter. Neuere Studien an Senioren scheinen diesen Trend zu bestätigen (Gu et al., 2016; Kwetkat et al., 2018).

Einliegendes Fremdmaterial oder Implantate wie PEG-Sonden, Blasenkatheter oder Gelenkprothesen sind als Risikofaktor für eine Besiedelung mit *S. aureus* bereits bekannt, was durch die vorliegende Studie nochmals bestätigt wird. Neben der Fähigkeit des Bakteriums zur Bildung von Biofilmen auf

Fremdoberflächen (Lowy, 1998) erleichtert vor allem auch der häufigere und intensivere Pflegekontakt eine Übertragung bei den oft multimorbiden und / oder immobilen Patienten (Giufre et al., 2017; Lasseter et al., 2010; Roghmann et al., 2015).

In der Gruppe der Pflegeheimbewohner bestand eine Assoziation mit Variablen, die auf zumindest zeitweise enge Haushaltskontakte und beengte Wohnverhältnisse hinweisen. Vor allem bei verheirateten Teilnehmern, aber auch bei ehemals un- / angelernten Arbeitern war das Risiko für eine Kolonisierung mit *S. aureus* erhöht. Dabei wurde eine ehemalige Tätigkeit als Arbeiter als Indikator für ein niedriges Einkommen und damit verbunden, für begrenzten Wohnraum gewertet. Dieser Zusammenhang wurde auch in anderen Studien, sowohl in Privathaushalten als auch in Pflegeheimen, beobachtet (Kock et al., 2016; Kwetkat et al., 2018).

Im Gegensatz zu bisherigen Studiendaten (Graham et al., 2006) hatten auch Personen mit höherem Bildungsgrad ein erhöhtes Risiko für eine Besiedelung mit *S. aureus*. Möglicherweise spielen weitere Faktoren eine Rolle, wie z.B. frühere berufliche Tätigkeit im Gesundheitswesen, Bildungs- oder Dienstleistungssektor, welche in der vorliegenden Studie nicht erhoben wurden. Die Gründe für diese Beobachtung bleiben bislang jedoch unklar.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass neben klassischen Risikofaktoren auch sozioökonomische Faktoren von Bedeutung für die Besiedelung mit *S. aureus* sind.

4.3 Prävalenz und Risikofaktoren bei MRSA

Die MRSA-Prävalenz war unter den Senioren äußerst niedrig (Gesamtprävalenz ohne Reha-Patienten 0,7%) und vergleichbar mit Daten aus der Allgemeinbevölkerung in anderen Regionen Deutschlands (Holtfreter et al., 2016; Kock et al., 2016). Die Prävalenz unter Pflegeheimbewohnern und Reha-Patienten war mit jeweils etwa 2% höher, jedoch immer noch niedrig im Vergleich mit anderen Studien in deutschen Pflegeeinrichtungen, wo die

Trägerrate bis zu 6,5% betrug (Daeschlein et al., 2006; Hogardt et al., 2015; Kwetkat et al., 2018; Nillius et al., 2016; Peters et al., 2017). Auch in Belgien war in den letzten Jahren die MRSA-Trägerrate bei Senioren deutlich fallend, während die Besiedelung durch Keime mit extended spectrum-Betalaktamasen zunahm, für welche noch keine Antimicrobial stuartship- und Screening-Programme im Gesundheitswesen etabliert waren (Latour et al., 2019). Somit könnte auch in Deutschland die niedrige MRSA-Prävalenz auf eine gute Implementierung von Surveillancemaßnahmen zurückzuführen sein.

Bekannte Risikofaktoren für eine MRSA-Besiedelung wurden bestätigt. Diabetes (Graham et al., 2006; McKinnell et al., 2013; Stacey et al., 2019), Implantate und einliegendes Fremdmaterial (Hogardt et al., 2015; Peters et al., 2017), aber auch Mobilitätseinschränkung (Lasseter et al., 2010) und dadurch erhöhter Pflegedarf (Raschpichler et al., 2020; Roghmann et al., 2015), welcher bei Senioren in Pflegeheimen oder Trägern von Gelenkprothesen häufiger ist, erhöhen das Risiko für eine Kolonisierung. Dies zeigte sich auch in der Population der Reha-Patienten, was die Notwendigkeit von entsprechenden Hygienemaßnahmen inklusive Screenings in Gesundheits- und Pflegeeinrichtungen unterstreicht (Raschpichler et al., 2020).

4.4 Asymptomatisches Trägertum von *H. influenzae*

Die Prävalenz von *H. influenzae* (1,9%) war bei den Senioren im Gegensatz zu Kindern und jüngeren Erwachsenen (Bosch et al., 2016) sehr gering. Während von Erwachsenen mittleren Alters niedrige Trägerraten bekannt sind (Adegbola et al., 2014), lagen bislang zur Altersgruppe der Senioren kaum bzw. keine Daten vor, sodass diese Studie eine wichtige Lücke schließt.

Interessanterweise war dabei die Trägerrate unter Senioren mit zunehmendem Lebensalter rückläufig (Prävalenz Altersgruppe 65-74 Jahre 3,9% versus 1,2% bei 85+ Jahren; $p=0,026$, Fisher's exact test). Zwar besteht aufgrund der niedrigen Zahl der Isolate eine gewisse statistische Unsicherheit bezüglich dieses Trends, dennoch kann eine Besiedelung von älteren und vor allem

hochbetagten Menschen als sehr selten bis sporadisch angesehen werden, was nun auch Daten aus Brasilien nahelegen (Zanella et al., 2019).

Bei den Isolaten war NTHi vorherrschend, was zur Serotypenverteilung bei invasiven Infektionen in Deutschland passt (Takla et al., 2020). Dies lässt sich auch in anderen Ländern mit etablierter Hib-Impfung beobachten (McElligott et al., 2020; Soeters et al., 2018; Whittaker et al., 2017). Bei aktuellen Trägerstudien an Kindern wurde ebenfalls überwiegend NTHi nachgewiesen (Dunne et al., 2018; Giufre et al., 2015; Ortiz-Romero et al., 2017).

Alle Trägerisolate waren sensibel gegenüber Ampicillin. In Deutschland beträgt bei invasiven Infektionen mit *H. influenzae* die Ampicillin-Resistenz-Rate derzeit etwa 15% (Lam et al., 2015), wobei ältere Menschen die Erkrankungszahlen dominieren (Takla et al., 2020). Somit liegt eine Rate von 0% in der Studienpopulation bei N=13 Trägerisolaten im statistisch erwarteten Bereich.

Keine wesentlichen Prävalenzunterschiede gab es zwischen Bewohnern von Pflegeheimen und selbständig lebenden Senioren sowie Männern und Frauen. Auch sonst gab es keine signifikanten Unterschiede bezüglich potentieller Risikofaktoren wie Kontakt zu Vorschulkindern, Asthma oder Rauchen, wobei aufgrund der niedrigen Prävalenz von *H. influenzae* valide Aussagen schwierig bzw. nicht möglich sind.

4.5 Phylogenetischer Vergleich mit invasiven *H. influenzae*

Sowohl bei Trägerisolaten als auch bei invasiven Isolaten war eine hohe genetische Diversität auffallend, wie bereits für NTHi beschrieben (Shuel et al., 2010). Dabei zeigte sich keinerlei Assoziation mit der geografischen Herkunft der Isolate. In den letzten Jahren wurde für invasive NTHi eine Assoziation zwischen Ampicillin-Resistenz und bestimmten Sequenztypen beschrieben, nämlich Betalactamase positive Ampicillin-Resistenz bei ST-103 und Betalactamase negative Ampicillin-Resistenz bei ST-14 (Heliodoro et al., 2020; Tsang et al., 2017). Dies wird durch die vorliegende Arbeit bestätigt.

Trotz der bereits erwähnten hohen Diversität der Trägerisolate der IBI-Studie und der Isolate von invasiv erkrankten Senioren waren dennoch bestimmte Sequenztypen häufiger vertreten, nämlich ST-57, ST-103, ST-142, ST-145 und ST-266 mit je 2-3 Isolaten. Aktuelle phylogenetische Analysen aus Portugal und Irland zeigen eine Häufung von ST-103 und ST-57 bei invasiven NTHi (Heliodoro et al., 2020; McElligott et al., 2020). In Italien war zudem ein Cluster bestehend aus ST-103 und den eng verwandten ST-139 und ST-145 verbreitet (Giufre et al., 2013), welcher ebenfalls unter den IBI-Studien-Isolaten zu finden war, wenn auch mit teilweise geringer statistischer Unterstützung. Dies legt die Vermutung nahe, dass bestimmte Sequenztypen unter invasiven NTHi auch in Deutschland genetisch erfolgreicher und daher häufiger sind.

Während für die asymptomatische Besiedlung mit *S. aureus* das Risiko einer konsekutiven endogenen Infektion bereits aus früheren Untersuchungen bekannt ist (vgl. Einleitung (Wertheim et al., 2005)) lässt sich dies für die Kolonisierung mit *H. influenzae* durch diese Studie nicht endgültig klären. Einerseits ist die Rate asymptomatischer Träger bei Senioren äußerst niedrig, und nimmt mit zunehmendem Alter weiter ab, wie die vorliegende IBI-Studie zeigen konnte, während gleichzeitig die Inzidenz invasiver Infektionen mit höherem Lebensalter zunimmt (Takla et al., 2020). Andererseits ist die Serotypen-Verteilung von asymptomatischen Stämmen, nämlich mehrheitlich NTHi, in guter Übereinstimmung mit der Verteilung bei invasiven Stämmen. Hier wäre ein longitudinaler Studienansatz mit Follow-up bei kolonisierten Senioren interessant, um mögliche endogene Infektionen zu erfassen.

4.6 Limitationen der Studie

Die Teilnehmerzahl dieser Studie war für eine Untersuchung von Risikofaktoren bei Keimen mit äußerst niedriger Grundprävalenz wie MRSA oder *H. influenzae* relativ gering, jedoch vergleichbar mit anderen geriatrischen Studien (Coughtrie et al., 2018; Stark et al., 2014; Zanella et al., 2019). Jedoch wäre für eine Untersuchung von Risikofaktoren bei Keimen mit äußerst niedriger Grundprävalenz wie MRSA oder *H. influenzae* eine deutlich höhere

Teilnehmerzahl erforderlich. Bei der Probandenrekrutierung wurde unter anderem auch eine nach Alter und Geschlecht stratifizierte Zufallsstichprobe von 1000 Personen generiert und diese Personen schriftlich eingeladen, um eine homogene Studienpopulation zu erhalten. Dennoch besteht bei Querschnittstudien oder Umfragen mit einmaliger Einladung das Risiko einer Verzerrung im Sinne einer Selbstselektion durch Nicht-Teilnahme des Probanden. Bei älteren, selbständig zu Hause lebenden Senioren ist dabei die Möglichkeit eines *healthy volunteer effect* (ähnlich wie der *healthy worker effect*) zu bedenken (McMichael, 1976; Shrank et al., 2011). Kognitive oder Mobilitätseinschränkungen können die Anreise zu den Testzentren und damit die Studienteilnahme erschweren, wodurch diese Senioren in der Studienpopulation unterrepräsentiert werden. Um die Detektion von Keimen wie *H. influenzae* oder *N. meningitidis*, bei denen eine niedrige Prävalenz vermutet wurde, nicht zu verfälschen, waren Senioren mit antibiotischer Vorbehandlung aus der IBI-Studie ausgeschlossen worden. Für eine weiterführende Untersuchung von Risikofaktoren für MRSA wäre jedoch eine Erhebung von akuten oder zurückliegenden Infektionen und antibiotischen Therapien wünschenswert. Unter den Teilnehmern wurde zwar die Prävalenz von Asthma und Nikotinabusus untersucht, nicht jedoch von COPD. Diese Erkrankung sollte bei zukünftigen Trägerstudien erfasst werden, da die Besiedelung der Atemwege mit *H. influenzae* eine wichtige Rolle bei Exacerbationen spielt (Sethi et al., 2001).

In dieser Studie wurden die Probanden nicht über die Einnahme von Medikamenten befragt. Die Erhebung von Vorerkrankungen, Infektionen und Antibiotika-Therapie beruhte auf einer Selbstauskunft der Teilnehmer. Arztbriefe, Medikationspläne oder ähnliche Patientenunterlagen wurden nicht gesichtet. Somit könnte eine Untererfassung von Vorerkrankungen vorliegen, da geriatrische Patienten in der klinischen Erfahrung häufig nicht immer alle Vorerkrankungen nennen können. Manchmal fällt die Wiedergabe der Dauermedikation stattdessen leichter. Eine Erfassung der Medikation würde somit nicht nur die Genauigkeit und Trefferquote der Krankheitsanamnese verbessern, sondern auch die Untersuchung einer möglichen Interaktion von

Medikamenten mit der Keimbesiedelung erlauben. Dies ist gerade bei Senioren ein wichtiges und wenig erforschtes Thema. Nachfolgende Studien sollten zudem ein longitudinales Design beinhalten, um die Dynamik der Besiedelung, Saisonalität und eine mögliche Entstehung von endogenen Infektionen besser zu erfassen.

Schluss

Bedingt durch den wachsenden Anteil alter Menschen an der Gesamtbevölkerung in Deutschland geraten seit den letzten Jahren auch Infektionskrankheiten wieder verstärkt in den Focus. Neben Kleinkindern sind Senioren die am stärksten von invasiven Infektionen betroffene Altersgruppe. Die Erforschung der asymptomatischen bakteriellen Besiedelung von Haut und Schleimhaut mit potentiell pathogenen Keimen ist daher von zentraler Bedeutung, da dies ein Risikofaktor für eine spätere Infektionserkrankung sein kann. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, das asymptomatische Trägertum von *H. influenzae* und von *S. aureus* bei Senioren und mögliche Risikofaktoren für eine Besiedelung zu untersuchen. Zu *H. influenzae* gab es in Deutschland bis dahin keinerlei Daten bei Senioren und auch Risikofaktoren für eine Besiedelung mit *S. aureus* sind noch nicht vollständig verstanden. Im Gegensatz zu der für Deutschland bekannt höheren Prävalenz von *S. aureus* erweist sich die Prävalenz von MRSA und von *H. influenzae* unter Senioren äußerst niedrig. Neben gesundheitlichen Risikofaktoren für eine Besiedelung mit *S. aureus* sind auch sozioökonomische Faktoren wie schulische und berufliche Bildung von Bedeutung. Bei asymptomatischen Trägern von *H. influenzae* sind NTHi vorherrschend, was in Einklang mit der Serotypen-Verteilung bei invasiv erkrankten Senioren steht. Phylogenetisch zeigen sowohl NTHi-Trägerisolate als auch invasive Isolate eine hohe Diversität, wobei wie in anderen europäischen Ländern bestimmte Sequenztypen zahlenmäßig dominieren und zudem eine Assoziation von Ampicillin-Resistenz mit bestimmten Sequenztypen vorliegen könnte. Somit schließt diese Arbeit eine wichtige Lücke in der Untersuchung von Infektionskrankheiten bei Senioren. Ein Gegenstand zukünftiger Forschung sollte der mögliche Einfluss von

Medikamenten auf das Mikrobiom älterer Menschen und die zeitliche Dynamik von Besiedelung und Infektion sein.

Ergänzende Tabellen und Abbildungen

Tabelle 11. Vergleich der Studienregionen Aachen und Würzburg

Variable	Studienregion		p-Wert	Test
	Aachen	Würzburg		
	n (%)	n (%)		
Gesamt	203 (100)	474 (100)		
Wohnen				
Selbständig oder Betreutes Wohnen	152 (74,9)	379 (80,0)	0,154	Chi-Quadrat
Pflegeheim	51 (25,1)	95 (20,0)		
Geschlecht				
Männlich	47 (23,2)	160 (33,8)	0,006	Chi-Quadrat
Weiblich	156 (76,8)	314 (66,2)		
Alter [Jahre]				
Durchschnitt ± SD	80,5 ± 7,4	77,7 ± 7,9	<0,001	t-Test
Median	81	77		
IQR	11	11		
Spannweite	65-98	65-106		
Prävalenzdaten				
<i>S. aureus</i>	50 (24,6)	143 (30,2)	0,163	Chi-Quadrat
MRSA	2 (1,0)	3 (0,6)	0,639	Fisher's exact test
<i>H. influenzae</i>	1 (0,5)	12 (2,5)	0,122	Fisher's exact test

Tabelle 12. Soziodemografische Merkmale der nicht hospitalisierten Senioren

Variable	Prävalenz n (%)	
Gesamt	677 (100)	
Soziodemografische Daten		
Wohnen	Selbständig oder Betreutes Wohnen	531 (78,4)
	Pflegeheim	146 (21,6)
Geschlecht	Männer	207 (30,6)
	Frauen	470 (69,4)
Alter [Jahre]	65-74	229 (33,8)
	75-84	284 (41,9)
	≥85	164 (24,2)
	Altersdurchschnitt ± SD	78,5 ± 7,8
	Median	78
	IQR	11
	Spannweite	65-106
Familienstand	Ledig	73 (10,8)
	Verheiratet	273 (40,3)
	Verwitwet	281 (41,5)
	Geschieden	50 (7,4)
Schulabschluss*	Ohne Abschluss	18 (2,7)
	Volksschule	334 (49,5)
	Mittlere Reife	167 (24,7)
	POS	1 (0,1)
	Fach-/Abitur	155 (23)
Beruf	Akademiker	21 (3,1)
	Selbständig	28 (4,1)
	Beamter in einfachem oder mittlerem Dienst	30 (4,4)
	Beamter in gehobenem oder höherem Dienst	67 (9,9)
	Einfacher Angestellter	232 (34,3)
	Leitender Angestellter	93 (13,7)
	Un- oder angelernter Arbeiter	54 (8,0)
	Facharbeiter, Vorarbeiter oder Meister	50 (7,4)
	Hausfrau	94 (13,9)
Andere / nicht zutreffend	8 (1,2)	

*Keine Datenangabe bei 0,3% der Studienpopulation.

Tabelle 13. Gesundheitsstatus und Lebensstil der nicht hospitalisierten Senioren

Variable	Prävalenz n (%)
Gesamt	677 (100)
Gesundheitsstatus	
BMI* <25	300 (44,7)
≥25	371 (55,3)
Krankenhausaufenthalt während der letzten 6 Monate*	112 (16,7)
Diabetes mellitus	119 (17,6)
Herzinsuffizienz	157 (23,2)
Asthma	36 (5,3)
Krebs- / Tumorerkrankung	56 (8,3)
Arterielle Hypertonie	303 (44,8)
Atopische Dermatitis	16 (2,4)
Asplenie*	9 (1,3)
Invasive medizinische Maßnahmen und Implantate ^c *	152 (22,5)
Gastrostoma	5 (0,7)
Tracheostoma	1 (0,1)
Harnblasenkatheter	10 (1,5)
Beatmung	1 (0,1)
Zentraler Venenkatheter	1 (0,1)
Dialyse	1 (0,1)
Herzschrittmacher	18 (2,7)
Gelenkprothese	111 (16,4)
Zahnprothese*	387 (57,2)
Zahnvollprothese	192 (28,4)
Zahnteilprothese	222 (32,8)
Freizeitverhalten	
Rauchen*	29 (4,3)
Kontakt zu Vorschulkindern*	175 (26,0)
Haustiere*	71 (10,5)
Auslandsreisen in den letzten 12 Monaten*	160 (23,7)
Auslandsreisen von Haushaltsmitgliedern in den letzten 12 Monaten*	92 (13,6)

*Keine Datenangabe bei bis zu 1,8% der Studienpopulation.

Tabelle 14. Soziodemografische Faktoren und MRSA-Prävalenz bei nicht hospitalisierten Senioren

Variable		Gesamt- teilnehmer ^a n (%)	Besiedelung mit MRSA n (%)	p- Wert ^b
Gesamt		677 (100)	5 (0,7)	
Soziodemografische Daten				
Wohnen	Selbständig oder Betreutes Wohnen	531 (78,4)	2 (0,4)	0,070
	Pflegeheim	146 (21,6)	3 (2,1)	
Geschlecht	Männer	207 (30,6)	2 (1,0)	0,644
	Frauen	470 (69,4)	3 (0,6)	
Alter [Jahre]	65-74	229 (33,8)	2 (0,9)	1,000
	75-84	284 (41,9)	2 (0,7)	
	≥85	164 (24,2)	1 (0,6)	
Familienstand	Verheiratet	273 (40,3)	2 (0,7)	1,000
Schulabschluss*	Fach-/Abitur	155 (23)	1 (0,6)	1,000
Beruf	Akademiker	21 (3,1)	0 (0)	1,000
	Selbständig	28 (4,1)	0 (0)	1,000
	Beamter im einfachen oder mittleren Dienst	30 (4,4)	0 (0)	1,000
	Beamter im gehobenen oder höheren Dienst	67 (9,9)	1 (1,5)	0,407
	Einfacher Angestellter	232 (34,3)	1 (0,4)	0,665
	Leitender Angestellter	93 (13,7)	1 (1,1)	0,523
	Un- oder angelernter Arbeiter	54 (8,0)	0 (0)	1,000
	Facharbeiter, Vorarbeiter oder Meister	50 (7,4)	1 (2,0)	0,319
	Hausfrau	94 (13,9)	1 (1,1)	0,528
	Andere / nicht zutreffend	8 (1,2)	0 (0)	1,000

^aSelbständig lebende Teilnehmer und Pflegeheimbewohner, Reha-Patienten nicht eingeschlossen.

^bVergleich nach Besiedelung mittels Fisher's exact test und einem Signifikanzniveau von $p < 0.05$; signifikante Werte fettgedruckt.

*Keine Datenangabe bei 0,3% der Studienpopulation.

Tabelle 15. Gesundheitsstatus, Lebensstil und MRSA-Prävalenz bei nicht hospitalisierten Senioren

Variable		Gesamt- teilnehmer ^a	Besiedelung mit MRSA	p -Wert ^b
		n (%)	n (%)	
Gesamt		677 (100)	5 (0,7)	
Studienregion	AAC	203 (30,0)	2 (1,0)	0,639
	WUE	474 (70,0)	3 (0,6)	
Gesundheitsstatus				
BMI*	<25	300 (44,7)	2 (0,7)	1,000
	≥25	371 (55,3)	3 (0,8)	
Krankenhausaufenthalt während der letzten 6 Monate*		112 (16,7)	1 (0,9)	1,000
Diabetes mellitus		119 (17,6)	3 (2,5)	0,040
Herzinsuffizienz		157 (23,2)	0 (0)	0,595
Asthma		36 (5,3)	0 (0)	1,000
Krebs- / Tumorerkrankung		56 (8,3)	0 (0)	1,000
Arterielle Hypertonie		303 (44,8)	3 (1,0)	0,661
Atopische Dermatitis		16 (2,4)	0 (0)	1,000
Invasive medizinische Maßnahmen und Implantate ^c *		152 (22,5)	3 (2,0)	0,078
Gastrostoma		5 (0,7)	0 (0)	1,000
Harnblasenkatheter		10 (1,5)	0 (0)	1,000
Herzschrittmacher		18 (2,7)	0 (0)	1,000
Gelenkprothese		111 (16,4)	3 (2,7)	0,033
Zahnprothese*		387 (57,2)	4 (1,0)	0,399
Zahnvollprothese		192 (28,4)	1 (0,5)	1,000
Zahnteilprothese		222 (32,8)	3 (1,4)	0,337

Freizeitverhalten*

Rauchen	29 (4,3)	0 (0)	1,000
Kontakt zu Vorschulkindern	175 (26,0)	1 (0,6)	1,000
Haustiere	71 (10,5)	0 (0)	1,000
Auslandsreisen in den letzten 12 Monaten	160 (23,7)	0 (0)	0,597
Auslandsreisen von Haushaltsmitgliedern in den letzten 12 Monaten	92 (13,6)	0 (0)	1,000

^aSelbständig lebende Teilnehmer und Pflegeheimbewohner, Reha-Patienten nicht eingeschlossen.

^bVergleich nach Besiedelung mittels Fisher's exact test und einem Signifikanzniveau von $p < 0.05$; signifikante Werte fettgedruckt.

^cInklusive Gastrostoma, Tracheostoma, Beatmung, Zentralvenöser Katheter, Harnblasenkatheter, Dialyse, Herzschrittmacher, Gelenkprothese.

*Keine Datenangabe bei bis zu 1,8% der Studienpopulation.

Tabelle 16. Gesundheitsstatus und Prävalenz von *S. aureus* bei geriatrischen Reha-Patienten

Variable		Gesamtteilnehmer	Besiedelung mit <i>S. aureus</i>	<i>p</i> -Wert ^a
		n (%)	n (%)	
Gesamt		51 (100)	16 (31.4)	
Geschlecht	Männer	13 (25.5)	6 (46.2)	0.298
	Frauen	38 (74.5)	10 (26.3)	
Alter [Jahre]	65-74	13 (25.5)	2 (15.4)	0.356
	75-84	18 (35.3)	7 (38.9)	
	≥85	20 (39.2)	7 (35.0)	
Gesundheitsstatus				
BMI	< 25	22 (43.1)	9 (40.9)	0.235
	≥25	29 (56.9)	7 (24.1)	
Diabetes mellitus		12 (23.5)	3 (25.0)	0.730
Herzinsuffizienz		9 (17.6)	3 (33.3)	1.0
Asthma		5 (9.8)	2 (40.0)	0.643
Krebs- / Tumorerkrankung		4 (7.8)	1 (25.0)	1.0

Arterielle Hypertonie	28 (54.9)	9 (32.1)	1.0
Atopische Dermatitis	0 (0)	NA	NA
Keine der genannten Erkrankungen	14 (27.5)	5 (35.7)	0.742
Invasive medizinische Maßnahmen und Implantate ^b	29 (56.9)	13 (44.8)	0.031
Gelenkprothese	27 (52.9)	13 (48.1)	0.008

BMI, body mass index; NA, nicht angegeben.

^aVergleich nach Besiedelung mittels χ^2 -Test oder Fisher's exact test und einem Signifikanzniveau von $p < 0.05$; signifikante Werte fettgedruckt.

^bInklusive Gastrostoma, Tracheostoma, Beatmung, Zentralvenöser Katheter, Harnblasenkatheter, Dialyse, Herzschrittmacher, Gelenkprothese.

Tabelle 17. Soziodemografische Merkmale und Prävalenz von *H. influenzae* bei nicht hospitalisierten Senioren

Variable		Gesamt- teilnehmer ^a n (%)	Besiedelung mit <i>H. influenzae</i> n (%)	p- Wert ^b
Gesamt		677 (100)	13 (1,9)	
Soziodemografische Daten				
Wohnen	Selbständig oder Betreutes Wohnen	531 (78,4)	11 (2,1)	0,745
	Pflegeheim	146 (21,6)	2 (1,4)	
Geschlecht	Männer	207 (30,6)	5 (2,4)	0,55
	Frauen	470 (69,4)	8 (1,7)	
Alter [Jahre]	65-74	229 (33,8)	9 (3,9)	0,026
	75-84	284 (41,9)	2 (0,7)	
	≥85	164 (24,2)	2 (1,2)	
Familienstand	Verheiratet	273 (40,3)	1 (0,4)	0,019
Schulabschluss*	Fach-/Abitur	155 (23)	4 (2,6)	0,509
Beruf	Akademiker	21 (3,1)	1 (4,8)	0,339
	Selbständig	28 (4,1)	0 (0)	

Beamter im einfachen oder mittleren Dienst	30 (4,4)	0 (0)	1
Beamter im gehobenen oder höheren Dienst	67 (9,9)	2 (3,0)	0,374
Einfacher Angestellter	232 (34,3)	2 (0,9)	0,237
Leitender Angestellter	93 (13,7)	3 (3,2)	0,403
Un- oder angelernter Arbeiter	54 (8,0)	3 (5,6)	0,077
Facharbeiter, Vorarbeiter oder Meister	50 (7,4)	2 (4,0)	0,248
Hausfrau	94 (13,9)	0 (0)	0,233
Andere / nicht zutreffend	8 (1,2)	0 (0)	1

^aSelbständig lebende Teilnehmer und Pflegeheimbewohner, Reha-Patienten nicht eingeschlossen.

^bVergleich nach Besiedelung mittels Fisher's exact test und einem Signifikanzniveau von $p < 0.05$; signifikante Werte fettgedruckt.

*Keine Datenangabe bei 0,3% der Studienpopulation.

Tabelle 18. Gesundheitsstatus, Lebensstil und Prävalenz von *H. influenzae* bei nicht hospitalisierten Senioren

Variable		Gesamtteilnehmer ^a	Besiedelung mit <i>H. influenzae</i>	<i>p</i> -Wert ^b
		n (%)	n (%)	
Gesamt		677 (100)	13 (1,9)	
Studienregion	AAC	203 (30,0)	1 (0,5)	0,122
	WUE	474 (70,0)	12 (2,5)	
Gesundheitsstatus				
BMI*	<25	300 (44,7)	3 (1,0)	0,242
	≥25	371 (55,3)	9 (2,4)	
Krankenhausaufenthalt während der letzten 6 Monate*		112 (16,7)	0 (0)	0,141
Diabetes mellitus		119 (17,6)	2 (1,7)	1
Herzinsuffizienz		157 (23,2)	3 (1,9)	1

Asthma	36 (5,3)	2 (5,6)	0,148
Krebs- / Tumorerkrankung	56 (8,3)	1 (1,8)	1
Arterielle Hypertonie	303 (44,8)	5 (1,7)	0,781
Atopische Dermatitis	16 (2,4)	0 (0)	1
Asplenie*	9 (1,3)	0 (0)	1
Invasive medizinische Maßnahmen und Implantate ^c *	152 (22,5)	4 (2,6)	0,502
Herzschrittmacher	18 (2,7)	0 (0)	1
Gelenkprothese	111 (16,4)	3 (2,7)	0,457
Zahnprothese*	387 (57,2)	8 (2,1)	1
Zahnvollprothese	192 (28,4)	4 (2,1)	0,766
Zahnteilprothese	222 (32,8)	5 (2,3)	0,767
Freizeitverhalten*			
Rauchen	29 (4,3)	1 (3,4)	0,437
Kontakt zu Vorschulkindern	175 (26,0)	4 (3,4)	0,751
Haustiere	71 (10,5)	3 (4,2)	0,148
Auslandsreisen in den letzten 12 Monaten	160 (23,7)	2 (1,3)	0,743
Auslandsreisen von Haushaltsmitgliedern in den letzten 12 Monaten	92 (13,6)	1 (1,1)	1

^aSelbständig lebende Teilnehmer und Pflegeheimbewohner, Reha-Patienten nicht eingeschlossen.

^bVergleich nach Besiedelung mittels Fisher's exact test und einem Signifikanzniveau von $p < 0.05$; signifikante Werte fettgedruckt.

^cInklusive Gastrostoma, Tracheostoma, Beatmung, Zentralvenöser Katheter, Harnblasenkatheter, Dialyse, Herzschrittmacher, Gelenkprothese.

*Keine Datenangabe bei bis zu 1,8% der Studienpopulation.

Tabelle 19. Isolate und Sequenztypen der MLST bei NTHi


Isolat	ST	Ampicillin-Resistenz	Resistenz-phänotyp	Alter [Jahre]	Geschlecht	Landkreis	Bundesland
H1182 I	14	R	BLNAR	96	w	Ostalbkreis	BW
H1317 I	57	S		88	w	Stuttgart	BW
H1387 I	57	S		78	m	Karlsruhe	BW
716 C	84	S		65	w	Würzburg	BY
H1205 I	103	R	BLPAR	84	m	Kitzingen	BY
H1313 I	103	R	BLPAR	87	w	Hohenlohekreis	BW
H1429 I	105	S		70	w	Heidenheim	BW
H1333 I	107	S		81	m	Bad Kissingen	BY
H1452 I	137	S		81	m	Coburg	BY
H1238 I	139	S		77	m	Wiesbaden	HE
H1416 I	140	S		89	w	Nürnberg	BY
H1255 I	142	S		91	w	Ludwigsburg	BW
H1300 I	142	S		88	w	Bad Kissingen	BY
564 C	145	S		69	w	Würzburg	BY
H1305 I	145	S		88	w	Mannheim	BW
H1415 I	145	S		89	w	Fürth	BY
H1439 I	155	S		73	m	Offenbach	HE
636 C	159	S		74	m	Würzburg	BY
439 C	249	S		73	w	Würzburg	BY
893 C	266	S		69	w	Roth	BY
H1365 I	266	S		85	w	Wiesbaden	HE
H1345 I	334	S		90	w	Karlsruhe	BW
H1183 I	389	S		88	w	Wiesbaden	HE
1006 C	396	S		73	w	Würzburg	BY
144 C	422	S		79	m	Schweinfurt	BY
H1371 I	472	S		87	w	Darmstadt	HE
997 C	513	S		81	m	Würzburg	BY
H1413 I	582	S		81	m	Karlsruhe	BW
H1250 I	597	S		89	w	Ansbach	BY
H1468 I	697	S		67	m	Enzkreis	BW
H1351 I	836	R	BLPAR	94	w	Darmstadt	HE
H1364 I	848	S		67	m	Main-Kinzing-Kreis	HE
H1314 I	924	S		71	m	Nürnberg	BY
148 C	1215	S		89	w	Würzburg	BY
H1430 I	1218	S		84	m	Nürnberg	BY
562 C	1342	S		72	m	Würzburg	BY
H1235 I	1370	S		70	m	Heidenheim	BW
H1408 I	1432	R	BLPAR	92	w	Fürth	BY

H1249 I	1433	S		79	w	Nürnberg	BY
31 C	1434	S		89	w	Würzburg	BY

Abkürzungen:

H1305 I	Invasives Isolat	w	weiblich
997 C	Trägerisolat (carrier)	m	männlich
S	Sensibel		
R	Resistent	BW	Baden-Württemberg
BLNAR	Beta-Lactamase negativ Ampicillin-resistent	BY	Bayern
BLPAR	Beta-Lactamase positiv Ampicillin-resistent	HE	Hessen

9947149889

	Referenznetzwerk des Robert Koch Instituts Invasive Bakterielle Infektionen IBI	Universität Würzburg RWTH Aachen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit Bayern
---	---	--

Identifikationsnr.:

Fragebogen zur Studie
Invasive Bakterielle Infektionen:
Untersuchung des asymptomatischen Trägertums beim älteren
Menschen

(vom Probanden auszufüllen)

Version 3 / 04.05.2012 Studiencode: 150/11 Studienleiter: Prof. Dr. Ulrich Vogel

Sehr geehrte Dame, sehr geehrter Herr,

wie Ihnen in der Probandeninformation bereits mitgeteilt, werden alle Angaben, die Sie im folgenden Fragebogen machen, anonym ausgewertet. Einige gezielte Informationen zu Ihrer Person benötigen wir für unsere statistische Auswertung. Es ist jedoch nicht möglich, aus den erhobenen Daten auf Ihre Person rückzuschließen. Für Fragen oder bei Unklarheiten stehen Ihnen die Studienmitarbeiter gerne zur Verfügung. **Bitte vergessen Sie nicht, diesen auch Ihren Impfausweis zur Erfassung Ihres Immunstatus vorzulegen.**

Alter: Jahre

Körpergröße: cm

Körpergewicht: kg

Geschlecht: männlich weiblich

Familienstand: ledig verheiratet
 verwitwet getrennt lebend/geschieden

Seite 1 von 6

Abbildung 10. Probandenfragebogen – Angaben zur Person

6258149881



Referenznetzwerk
des Robert Koch Instituts
Invasive Bakterielle Infektionen
IBI

Universität Würzburg
RWTH Aachen
Landesamt für Gesundheit und
Lebensmittelsicherheit Bayern

Identifikationsnr.:

Fragebogen zur Studie

Invasive Bakterielle Infektionen: Untersuchung des asymptomatischen Trägertums beim älteren Menschen

(vom Probanden auszufüllen)

Version 3 / 04.05.2012 Studiencode: 150/11 Studienleiter: Prof. Dr. Ulrich Vogel

1. Hatten Sie im letzten halben Jahr einen stationären Aufenthalt im Krankenhaus?

- nein
- innerhalb der letzten vier Wochen
- innerhalb der letzten drei Monate
- innerhalb des letzten halben Jahres

2. Welche der folgenden Erkrankungen liegen bei Ihnen vor?

- Zuckerkrankheit (Diabetes mellitus)
- behandlungsbedürftige Herzschwäche / Herzinsuffizienz
- Asthma
- Krebs, Tumorerkrankung
- Bluthochdruck
- Neurodermitis
- keine der genannten Erkrankungen


3. Liegt bei Ihnen zurzeit eine der folgenden medizinischen Maßnahmen vor?

- künstlicher Magenausgang (Gastrostoma, PEG)
- künstlicher Luftröhrenausgang (Tracheostoma)
- Harnwegskatheter
- Beatmung
- zentraler Venenkatheter (z.B. Port)
- Dialyse
- Herzschrittmacher
- Gelenkprothese
- keine der genannten Maßnahmen liegt bei mir vor

Seite 2 von 6

Abbildung 11. Probandenfragebogen – medizinische Risikofaktoren

1863149888

	Referenznetzwerk des Robert Koch Instituts Invasive Bakterielle Infektionen IBI	Universität Würzburg RWTH Aachen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit Bayern
---	---	--

Identifikationsnr.:

4. Fehlt bei Ihnen die Milz (z.B. von Geburt, durch operative Entfernung, durch Unfall) oder ist Ihre Milz nicht funktionstüchtig (sog. funktionelle Asplenie)?

ja nein

5. Tragen Sie eine Zahnprothese (herausnehmbarer Zahnersatz)?

- nein
 ja, eine Zahnvollprothese
(Prothese nicht an Zähnen befestigt)
 ja, eine Zahnteilprothese
(Prothese mit Halt an noch vorhandenen Zähnen)?

6. Welche Aussage zum Rauchen trifft für Sie zu?

- Ich bin Nicht-Raucher
 Ich bin Raucher
 Ich bin ehemaliger Raucher und
habe vor mehr als sechs Monaten das Rauchen aufgegeben
 Ich bin ehemaliger Raucher und
habe vor weniger als sechs Monaten das Rauchen aufgegeben

7. Falls Sie Raucher sind, wie viele Zigaretten rauchen Sie am Tag?

- weniger als 1 pro Tag
 1-5 pro Tag
 6-10 pro Tag
 11-20 pro Tag
 mehr als 20 pro Tag

8. Haben Sie Umgang mit Vorschulkindern?

ja nein


wenn ja: wie häufig haben Sie Kontakt mit Vorschulkindern?

- mehr als 2 Mal in der Woche
 etwa 1-2 Mal in der Woche
 etwa 2-3 Mal im Monat
 etwa 4-12 Mal im Jahr
 etwa 2 bis 3 Mal im Jahr
 maximal an einem Tag im Jahr

Seite 3 von 6

Abbildung 12. Probandenfragebogen – Freizeitverhalten

3449149880

	<p>Referenznetzwerk des Robert Koch Instituts Invasive Bakterielle Infektionen IBI</p>	<p>Universität Würzburg RWTH Aachen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit Bayern</p>
---	---	--

Identifikationsnr.:

9. Halten Sie Haustiere in der Wohnung?

ja nein

wenn ja: welches der folgenden Haustiere haben Sie?

- Hund
- Katze
- Vogel
- Meerschwein
- Hamster
- Kaninchen/Hase
- Zierfische

10. Waren Sie in den letzten 12 Monaten im Ausland?

ja nein

wenn ja, waren Sie in einem der nachfolgend genannten Länder?

- Russland
- Weißrussland
- Moldawien
- Ukraine
- Armenien
- Aserbaidschan
- Georgien
- Kasachstan
- Kirgisistan
- Tadschikistan
- Turkmenistan
- Usbekistan
- Estland
- Lettland
- Litauen
- Indien
- Pakistan
- Nepal
- Indonesien
- Philippinen
- Brasilien
- Haiti
- Dominikanische Republik

Abbildung 13. Probandenfragebogen – Haustiere und Auslandsreisen

1059149885



Referenznetzwerk
des Robert Koch Instituts
Invasive Bakterielle Infektionen
IBI

Universität Würzburg
RWTH Aachen
Landesamt für Gesundheit und
Lebensmittelsicherheit Bayern

Identifikationsnr.:

11. Leben in Ihrem Haushalt Personen, die in den letzten 12 Monaten verreist waren?

ja nein


wenn ja, waren Sie in einem der nachfolgend genannten Länder?

- | | |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> Russland | <input type="checkbox"/> Estland |
| <input type="checkbox"/> Weißrussland | <input type="checkbox"/> Lettland |
| <input type="checkbox"/> Moldawien | <input type="checkbox"/> Litauen |
| <input type="checkbox"/> Ukraine | |
| <input type="checkbox"/> Armenien | <input type="checkbox"/> Indien |
| <input type="checkbox"/> Aserbaidshan | <input type="checkbox"/> Pakistan |
| <input type="checkbox"/> Georgien | <input type="checkbox"/> Nepal |
| <input type="checkbox"/> Kasachstan | <input type="checkbox"/> Indonesien |
| <input type="checkbox"/> Kirgisistan | <input type="checkbox"/> Philippinen |
| <input type="checkbox"/> Tadschikistan | |
| <input type="checkbox"/> Turkmenistan | <input type="checkbox"/> Brasilien |
| <input type="checkbox"/> Usbekistan | <input type="checkbox"/> Haiti |
| | <input type="checkbox"/> Dominikanische Republik |

12. Welchen höchsten allgemeinbildenden Schulabschluss haben Sie?

- Ich bin von der Schule abgegangen ohne Schulabschluss
- Ich habe den Hauptschulabschluss (Volksschulabschluss)
- Ich habe den Realschulabschluss (Mittlere Reife)
- Ich habe den Abschluss der Polytechnischen Oberschule
- Ich habe die Fachhochschulreife
- Ich habe die allgemeine oder fachgebundene Hochschulreife/Abitur

Abbildung 14. Probandenfragebogen – Schulbildung

	Referenznetzwerk des Robert Koch Instituts Invasive Bakterielle Infektionen IBI	Universität Würzburg RWTH Aachen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit Bayern
---	--	--

 Identifikationsnr.:
13. Welchen Beruf haben Sie am längsten ausgeübt (bitte am ehesten zutreffenden Beruf ankreuzen)

 Ich war Akademiker(in) in freiem Beruf
(Arzt/Ärztin, Rechtsanwalt/- anwältin, Steuerberater[in] u. ä.) und hatte ...

- ... keine weiteren Mitarbeiter(innen)
 ... 1 bis 4 Mitarbeiter(innen)
 ... 5 und mehr Mitarbeiter(innen)

 Ich war selbständig im Handel, Gewerbe, Handwerk, Industrie, Dienstleistung
bzw. PGH-Mitglied und hatte ...

- ... keine weiteren Mitarbeiter(innen)
 ... 1 bis 4 Mitarbeiter(innen)
 ... 5 und mehr Mitarbeiter(innen)
 PGH-Mitglied

Ich war Beamter/Beamtin, Richter(in), Berufssoldat(in) im ...

- ... einfachen Dienst (bis einschl. Oberamtsmeister[in])
 ... mittleren Dienst (von Assistent[in] bis einschl. Hauptsekretär[in], Amtsinspektor[in])
 ... gehobenen Dienst (von Inspektor[in] bis einschl. Oberamtsrat/-rätin)
 ... höheren Dienst, Richter(in) (von Rat/Rätin aufwärts)

Ich war Angestellte(r), und zwar ...

- ... mit ausführender Tätigkeit nach Anweisung
(z. B. Verkäufer[in], Kontorist[in], Datentypist[in])
 ... mit einer Tätigkeit, die ich nach Anweisung erledige
(z. B. Sachbearbeiter[in], Buchhalter[in], technische[r] Zeichner[in], Krankenschwester)
 ... mit selbständiger Leistung in verantwortlicher Tätigkeit
bzw. mit begrenzter Verantwortung für Personal
(z. B. wiss. Mitarbeiter[in], Prokurist[in], Abteilungsleiter[in], Erzieher[in])
bzw. Meister(in) im Angestelltenverhältnis
 ... mit umfassenden Führungsaufgaben
und Entscheidungsbefugnissen (z. B. Direktor[in],
Geschäftsführer[in], Mitglied des Vorstandes)

Ich war Arbeiter(in), und zwar ...

- ... ungelernt
 ... angelernt
 ... Facharbeiter(in)
 ... Vorarbeiter(in), Kolonnenführer(in)
 ... Meister(in), Polier(in), Brigadier(in)


Ich ging keiner festen beruflichen Tätigkeit nach und war tätig als...

- ... als Hausfrau / Hausmann
 ... freiberufliche[r] Künstler[in]/Musiker[in]

 Keine der genannten Möglichkeiten trifft auf mich zu.

Abbildung 15. Probandenfragebogen – Berufliche Tätigkeit

4906149889

	Referenznetzwerk des Robert Koch Instituts Invasive Bakterielle Infektionen IBI	Universität Würzburg RWTH Aachen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit Bayern
---	---	--

Identifikationsnr.:

Mitarbeiterbogen zur Studie
Invasive Bakterielle Infektionen:
Untersuchung des asymptomatischen Trägertums beim älteren Menschen
(vom Studienpersonal auszufüllen)

Version 3 / 04.05.2012 Studiencode: 150/11 Studienleiter: Prof. Dr. Ulrich Vogel

Wohnung: selbständig betreutes Wohnen Altenwohnheim

Institution (Ort):

1. Liegt zurzeit beim Probanden eine der folgenden Erkrankungen oder Behandlungen vor?

- Fieber (Körperkerntemperatur ≥ 38 °C)
- laufende antibiotische Therapie

ja nein

2. Nimmt der Proband noch an anderen wissenschaftlichen Studien teil?

ja nein

Falls ja: Ausschlusskriterium! Der Proband wird **nicht** in die Studie aufgenommen.

3. Haben Sie in den vergangenen 4 Wochen ein Antibiotikum eingenommen?

ja nein weiß ich nicht

Abbildung 16. Mitarbeiterfragebogen – Wohnsituation und Studieneinschlusskriterien

4987149888



Referenznetzwerk
des Robert Koch Instituts
Invasive Bakterielle Infektionen
IBI

Universität Würzburg
RWTH Aachen
Landesamt für Gesundheit und
Lebensmittelsicherheit Bayern

Identifikationsnr.:

4. Erhielt der Proband die nachfolgend genannten Impfungen? Falls ja, bitte gemäß Impfausweis Impfstoff und Datum der letzten Impfung eintragen.

Impfpass vorgelegt

ja nein

wenn ja:

Diphtherie/Tetanus

(z.B. Td Virelon, Covaxis, Revaxis, Repevax) ja, Datum nein

Impfstoff:

Pneumokokken

(z.B. Pneumovax, Prevenar, Synflorix)

ja, Datum nein

Impfstoff:

Haemophilus influenzae b (Hib)

ja, Datum nein

Impfstoff:

Meningokokken-Meningitis

(z.B. Neis-VacC, Menjugate, Mencevax, Menveo)

ja, Datum nein

Impfstoff:

Seite 2 von 2

Abbildung 17. Mitarbeiterfragebogen – Impfstatus



Ethik-Kommission • Versbacher Str. 9 • 97078 Würzburg

Prof. Dr. U. Vogel
Institut für Hygiene und Mikrobiologie
Josef-Schneider-Str. 2

97080 Würzburg

Ethik-Kommission

Institut für Pharmakologie und Toxikologie
Versbacher Str. 9
97078 Würzburg

Vorsitzender: Prof. Dr. M. Stolberg

Geschäftsführer: Dr. R. Wölfel

Sekretariat: S. Schmidt/M. Hutter/A. Geiger

Telefon 0049 (0)931 201 48315

Telefax 0049 (0)931 31 87520

Mail: ethikkommission@uni-wuerzburg.de

www.ethik-kommission.medizin.uni-wuerzburg.de

Würzburg, 25.05.2012/hu

Unser Zeichen: **150/11** (bitte bei Schriftwechsel angeben)

Beratung nach § 15 Berufsordnung für Ärzte in Bayern

Studie: Invasive Bakterielle Infektionen: Untersuchung des asymptomatischen Trägertums beim älteren Menschen.

Antragsteller: Prof. Dr. U. Vogel, Institut für Hygiene und Mikrobiologie, Josef-Schneider-Str. 2, 97080 Würzburg

Sehr geehrter Herr Prof. Vogel,

in der Sitzung der Ethik-Kommission vom 13.09.2011 wurde die o. g. Studie auf der Basis der Unterlagen in Anlage 1 beraten. Nachgeforderte Informationen und revidierte Unterlagen lagen am 04.05.2012 vor.

Seitens der Ethik-Kommission bestehen nunmehr keine Bedenken gegen die Durchführung der Studie.

Die Ethik-Kommission empfiehlt folgende Änderungen/Ergänzungen.

- Die Patienteninformation sollte in folgenden Punkten überarbeitet werden:
- In der Betreuer-Einwilligungserklärung sollte nicht von "*meiner Serumprobe*" - also des Betreuers, sondern von der Serumprobe des Betreuten gesprochen werden.

Sie werden um Beachtung folgender Punkte gebeten:

- Ihrem Antrag entsprechend vorzugehen. Änderungen hierzu sind der Ethik-Kommission zur erneuten Prüfung vorzulegen.
- Die Deklaration des Weltärztebundes in der aktuellen Version hinsichtlich der ethischen und rechtlichen Aspekte biomedizinischer Forschung am Menschen zu beachten.
- Der Ethik-Kommission das Studienende anzuzeigen und einen Kurzbericht über das Ergebnis der Studie vorzulegen.

Entsprechend der ausschließlich beratenden Funktion der Ethik-Kommission betrifft unser Votum nur die ethische Beurteilung des Projektes. Die ärztliche und juristische Verantwortung verbleibt jedoch

Abbildung 18. Ethikvotum Seite 1/2

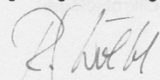
uneingeschränkt beim Projektleiter und seinen Mitarbeitern, so dass alle zivil- und haftrechtlichen Folgen, die sich ergeben könnten, von dieser Seite zu tragen sind.

Die Ethik-Kommission wünscht Ihnen für Ihr Vorhaben viel Erfolg.

Mit freundlichen Grüßen

Prof. Dr. med. Dr. phil. Michael Stolberg
Vorsitzender der Ethik-Kommission

Ausgefertigt im Auftrag


Dr. med. Reinhard Wölfel
Geschäftsführer der Ethik-Kommission

Anlage 1

Antrag vom 01.07.2011
Studienprotokoll, Version 1
Probandeninformation und Einverständniserklärung, Version 1
Einverständniserklärung, Betreuer, Version 1
Fragebogen, Version 1

revidierte Unterlagen; Eingang 29.03.2012

rev. Ethik-Antrag
Probanden- bzw. Betreuerinformation, jeweils Version 2 vom 26.03.2012
Einverständniserklärung Proband bzw. Betreuer, jeweils Version 2 vom 26.03.2012
Fragebogen Version 2 vom 26.03.2012
Protokoll Version 2 vom 26.03.2012

revidierte Unterlagen; Eingang 04.05.2012

Studienprotokoll, Version 3 vom 04.05.2012
Fragebogen zur Studie, Version 3 vom 04.05.2012
Probandeninformation, Version 3 vom 04.05.2012
Einverständniserklärung, Proband und Betreuer, Version 3 vom 04.05.2012

Abbildung 19. Ethikvotum – Seite 2/2

Literaturverzeichnis

- Abbas, M., Aghayev, E., Troillet, N., Eisenring, M. C., Kuster, S. P., Widmer, A. F., . . . SwissNoso. (2018). Temporal trends and epidemiology of Staphylococcus aureus surgical site infection in the Swiss surveillance network: a cohort study. *Journal of Hospital Infection*, *98*(2), 118-126. doi:10.1016/j.jhin.2017.09.025
- Adegbola, R. A., DeAntonio, R., Hill, P. C., Roca, A., Usuf, E., Hoet, B., & Greenwood, B. M. (2014). Carriage of Streptococcus pneumoniae and other respiratory bacterial pathogens in low and lower-middle income countries: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*, *9*(8), e103293. doi:10.1371/journal.pone.0103293
- Adetokunboh, O. O., Ndwandwe, D., Awotiwon, A., Uthman, O. A., & Wiysonge, C. S. (2019). Vaccination among HIV-infected, HIV-exposed uninfected and HIV-uninfected children: a systematic review and meta-analysis of evidence related to vaccine efficacy and effectiveness. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, *15*(11), 2578-2589. doi:10.1080/21645515.2019.1599677
- Agrawal, A., & Murphy, T. F. (2011). Haemophilus influenzae infections in the H. influenzae type b conjugate vaccine era. *Journal of Clinical Microbiology*, *49*(11), 3728-3732. doi:10.1128/JCM.05476-11
- Ahearn, C. P., Gallo, M. C., & Murphy, T. F. (2017). Insights on persistent airway infection by non-typeable Haemophilus influenzae in chronic obstructive pulmonary disease. *Pathog Dis*, *75*(4). doi:10.1093/femspd/ftx042
- Aires-de-Sousa, M. (2017). Methicillin-resistant Staphylococcus aureus among animals: current overview. *Clinical Microbiology and Infection*, *23*(6), 373-380. doi:10.1016/j.cmi.2016.11.002
- Baird-Parker, A. C. (1965). The Classification of Staphylococci and Micrococci from World-Wide Sources. *Journal of General Microbiology*, *38*, 363-387. doi:10.1099/00221287-38-3-363
- Baratz, M. D., Hallmark, R., Odum, S. M., & Springer, B. D. (2015). Twenty Percent of Patients May Remain Colonized With Methicillin-resistant Staphylococcus aureus Despite a Decolonization Protocol in Patients Undergoing Elective Total Joint Arthroplasty. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, *473*(7), 2283-2290. doi:10.1007/s11999-015-4191-3
- Barber, M. (1961). Methicillin-resistant staphylococci. *Journal of Clinical Pathology*, *14*, 385-393. doi:10.1136/jcp.14.4.385
- Berndsen, M. R., Erlendsdottir, H., & Gottfredsson, M. (2012). Evolving epidemiology of invasive Haemophilus infections in the post-vaccination era: results from a long-term population-based study. *Clinical Microbiology and Infection*, *18*(9), 918-923. doi:10.1111/j.1469-0691.2011.03700.x
- Bernheimer, A. W., Avigad, L. S., & Kim, K. S. (1974). Staphylococcal sphingomyelinase (beta-hemolysin). *Journal of Hygiene, Epidemiology, Microbiology and Immunology*, *18*(3), 258. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4371059>
- Binks, M. J., Temple, B., Kirkham, L. A., Wiertsema, S. P., Dunne, E. M., Richmond, P. C., . . . Smith-Vaughan, H. C. (2012). Molecular surveillance of true nontypeable Haemophilus influenzae: an evaluation of PCR screening assays. *PLoS One*, *7*(3), e34083. doi:10.1371/journal.pone.0034083
- Bland, M. (2015). *An introduction to medical statistics* (4th ed.). Oxford: Oxford University Press.
- Bogaert, D., van Belkum, A., Sluifjter, M., Luijendijk, A., de Groot, R., Rumke, H. C., . . . Hermans, P. W. (2004). Colonisation by Streptococcus pneumoniae and Staphylococcus aureus in healthy children. *Lancet*, *363*(9424), 1871-1872. doi:10.1016/S0140-6736(04)16357-5

- Bondi, A., Jr., & Dietz, C. C. (1945). Penicillin resistant staphylococci. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 60, 55-58. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21004029>
- Bortz, J., Lienert, G. A., & Boehnke, K. (2008). *Verteilungsfreie Methoden in der Biostatistik* (3rd ed.). Heidelberg: Springer Medizin Verlag.
- Bosch, A., van Houten, M. A., Bruin, J. P., Wijmenga-Monsuur, A. J., Trzcinski, K., Bogaert, D., . . . Sanders, E. A. M. (2016). Nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* and other bacteria in the 7th year after implementation of the pneumococcal conjugate vaccine in the Netherlands. *Vaccine*, 34(4), 531-539. doi:10.1016/j.vaccine.2015.11.060
- Brown, M. L., O'Hara, F. P., Close, N. M., Mera, R. M., Miller, L. A., Suaya, J. A., & Amrine-Madsen, H. (2012). Prevalence and sequence variation of panton-valentine leukocidin in methicillin-resistant and methicillin-susceptible staphylococcus aureus strains in the United States. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(1), 86-90. doi:10.1128/JCM.05564-11
- Bukowski, M., Wladyka, B., & Dubin, G. (2010). Exfoliative toxins of *Staphylococcus aureus*. *Toxins*, 2(5), 1148-1165. doi:10.3390/toxins2051148
- Bursac, Z., Gauss, C. H., Williams, D. K., & Hosmer, D. W. (2008). Purposeful selection of variables in logistic regression. *Source Code for Biology and Medicine*, 3, 17. doi:10.1186/1751-0473-3-17
- Catlin, B. W., Bendler, J. W., 3rd, & Goodgal, S. H. (1972). The type b capsulation locus of *Haemophilus influenzae*: map location and size. *Journal of General Microbiology*, 70(3), 411-422. doi:10.1099/00221287-70-3-411
- Chang, S., Sievert, D. M., Hageman, J. C., Boulton, M. L., Tenover, F. C., Downes, F. P., . . . Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* Investigative, T. (2003). Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the vanA resistance gene. *New England Journal of Medicine*, 348(14), 1342-1347. doi:10.1056/NEJMoa025025
- Chen, J. H. K., Cheng, V. C. C., Wong, C. P., Wong, S. C. Y., Yam, W. C., & Yuen, K. Y. (2017). Rapid Differentiation of *Haemophilus influenzae* and *Haemophilus haemolyticus* by Use of Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry with ClinProTools Mass Spectrum Analysis. *Journal of Clinical Microbiology*, 55(9), 2679-2685. doi:10.1128/JCM.00267-17
- Cheung, A. L., & Fischetti, V. A. (1990). The role of fibrinogen in staphylococcal adherence to catheters in vitro. *Journal of Infectious Diseases*, 161(6), 1177-1186. doi:10.1093/infdis/161.6.1177
- Chong, J., Jones, P., Spelman, D., Leder, K., & Cheng, A. C. (2017). Overwhelming post-splenectomy sepsis in patients with asplenia and hyposplenia: a retrospective cohort study. *Epidemiology and Infection*, 145(2), 397-400. doi:10.1017/S0950268816002405
- Claes, J., Ditkowski, B., Liesenborghs, L., Veloso, T. R., Entenza, J. M., Moreillon, P., . . . Heying, R. (2018). Assessment of the Dual Role of Clumping Factor A in *S. Aureus* Adhesion to Endothelium in Absence and Presence of Plasma. *Thrombosis and Haemostasis*, 118(7), 1230-1241. doi:10.1055/s-0038-1660435
- Claes, J., Liesenborghs, L., Peetermans, M., Veloso, T. R., Missiakas, D., Schneewind, O., . . . Vanassche, T. (2017). Clumping factor A, von Willebrand factor-binding protein and von Willebrand factor anchor *Staphylococcus aureus* to the vessel wall. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 15(5), 1009-1019. doi:10.1111/jth.13653
- Collins, S., Vickers, A., Ladhani, S. N., Flynn, S., Platt, S., Ramsay, M. E., . . . Slack, M. P. (2016). Clinical and Molecular Epidemiology of Childhood Invasive Nontypeable *Haemophilus influenzae* Disease in England and Wales. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 35(3), e76-84. doi:10.1097/INF.0000000000000996

- Coughtrie, A. L., Morris, D. E., Anderson, R., Begum, N., Cleary, D. W., Faust, S. N., . . . Clarke, S. C. (2018). Ecology and diversity in upper respiratory tract microbial population structures from a cross-sectional community swabbing study. *Journal of Medical Microbiology*, *67*(8), 1096-1108. doi:10.1099/jmm.0.000773
- da Silveira, M., da Cunha, M., de Souza, C. S. M., Correa, A. A. F., & Fortaleza, C. (2018). Nasal colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among elderly living in nursing homes in Brazil: risk factors and molecular epidemiology. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, *17*(1), 18. doi:10.1186/s12941-018-0271-z
- Daeschlein, G., Assadian, O., Rangous, I., & Kramer, A. (2006). Risk factors for *Staphylococcus aureus* nasal carriage in residents of three nursing homes in Germany. *Journal of Hospital Infection*, *63*(2), 216-220. doi:10.1016/j.jhin.2005.12.014
- David, M. Z., & Daum, R. S. (2010). Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. *Clinical Microbiology Reviews*, *23*(3), 616-687. doi:10.1128/CMR.00081-09
- de Jong, N. W. M., van Kessel, K. P. M., & van Strijp, J. A. G. (2019). Immune Evasion by *Staphylococcus aureus*. *Microbiol Spectr*, *7*(2). doi:10.1128/microbiolspec.GPP3-0061-2019
- DeMuri, G. P., Gern, J. E., Eickhoff, J. C., Lynch, S. V., & Wald, E. R. (2017). Dynamics of bacterial colonization with *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* during symptomatic and asymptomatic viral upper respiratory infection. *Clinical Infectious Diseases*. doi:10.1093/cid/cix941
- den Heijer, C. D., van Bijnen, E. M., Paget, W. J., Pringle, M., Goossens, H., Bruggeman, C. A., . . . Team, A. S. (2013). Prevalence and resistance of commensal *Staphylococcus aureus*, including methicillin-resistant *S aureus*, in nine European countries: a cross-sectional study. *Lancet Infectious Diseases*, *13*(5), 409-415. doi:10.1016/S1473-3099(13)70036-7
- DeVries, A. S., Leshner, L., Schlievert, P. M., Rogers, T., Villaume, L. G., Danila, R., & Lynfield, R. (2011). Staphylococcal toxic shock syndrome 2000-2006: epidemiology, clinical features, and molecular characteristics. *PloS One*, *6*(8), e22997. doi:10.1371/journal.pone.0022997
- Drayss, M., Claus, H., Hubert, K., Thiel, K., Berger, A., Sing, A., . . . Lam, T. T. (2019). Asymptomatic carriage of *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, Group A *Streptococcus* and *Staphylococcus aureus* among adults aged 65 years and older. *PloS One*, *14*(2), e0212052. doi:10.1371/journal.pone.0212052
- Dunne, E. M., Murad, C., Sudigdoadi, S., Fadlyana, E., Tarigan, R., Indriyani, S. A. K., . . . Kartasasmita, C. (2018). Carriage of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, and *Staphylococcus aureus* in Indonesian children: A cross-sectional study. *PloS One*, *13*(4), e0195098. doi:10.1371/journal.pone.0195098
- Duran, N., Ocak, S., & Eskiocak, A. F. (2006). *Staphylococcus aureus* nasal carriage among the diabetic and non-diabetic haemodialysis patients. *International Journal of Clinical Practice*, *60*(10), 1204-1209. doi:10.1111/j.1742-1241.2005.00789.x
- Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., & Stackebrandt, E. (Eds.). (2006). *Proteobacteria: Gamma Subclass* (3rd ed. Vol. 6). New York, NY: Springer.
- Dworkin, M. S., Park, L., & Borchardt, S. M. (2007). The changing epidemiology of invasive *Haemophilus influenzae* disease, especially in persons > or = 65 years old. *Clinical Infectious Diseases*, *44*(6), 810-816. doi:10.1086/511861
- Emonts, M., Uitterlinden, A. G., Nouwen, J. L., Kardys, I., Maat, M. P., Melles, D. C., . . . Belkum, A. (2008). Host polymorphisms in interleukin 4, complement factor H, and C-reactive protein associated with nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and occurrence of boils. *Journal of Infectious Diseases*, *197*(9), 1244-1253. doi:10.1086/533501

- Esposito, S., Terranova, L., Zampiero, A., Ierardi, V., Rios, W. P., Pelucchi, C., & Principi, N. (2014). Oropharyngeal and nasal *Staphylococcus aureus* carriage by healthy children. *BMC Infectious Diseases*, *14*, 723. doi:10.1186/s12879-014-0723-9
- Falla, T. J., Crook, D. W., Brophy, L. N., Maskell, D., Kroll, J. S., & Moxon, E. R. (1994). PCR for capsular typing of *Haemophilus influenzae*. *Journal of Clinical Microbiology*, *32*(10), 2382-2386. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7814470>
- <http://jcm.asm.org/content/32/10/2382.full.pdf>
- Farley, M. M., Stephens, D. S., Brachman, P. S., Jr., Harvey, R. C., Smith, J. D., & Wenger, J. D. (1992). Invasive *Haemophilus influenzae* disease in adults. A prospective, population-based surveillance. CDC Meningitis Surveillance Group. *Annals of Internal Medicine*, *116*(10), 806-812. doi:10.7326/0003-4819-116-10-806
- Felsenstein, J. (1985). Confidence Limits on Phylogenies: An Approach Using the Bootstrap. *Evolution*, *39*(4), 783-791. doi:10.1111/j.1558-5646.1985.tb00420.x
- Fleischmann, C., Thomas-Rueddel, D. O., Hartmann, M., Hartog, C. S., Welte, T., Heublein, S., . . . Reinhart, K. (2016). Hospital Incidence and Mortality Rates of Sepsis. *Dtsch Arztebl Int*, *113*(10), 159-166. doi:10.3238/arztebl.2016.0159
- Forsgren, A., & Sjoquist, J. (1966). "Protein A" from *S. aureus*. I. Pseudo-immune reaction with human gamma-globulin. *Journal of Immunology*, *97*(6), 822-827. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4163007>
- <https://www.jimmunol.org/content/jimmunol/97/6/822.full.pdf>
- Freisinger, E., Fuerstenberg, T., Malyar, N. M., Wellmann, J., Keil, U., Breithardt, G., & Reinecke, H. (2014). German nationwide data on current trends and management of acute myocardial infarction: discrepancies between trials and real-life. *European Heart Journal*, *35*(15), 979-988. doi:10.1093/eurheartj/ehu043
- Friedrich, R., Panizzi, P., Fuentes-Prior, P., Richter, K., Verhamme, I., Anderson, P. J., . . . Bock, P. E. (2003). Staphylocoagulase is a prototype for the mechanism of cofactor-induced zymogen activation. *Nature*, *425*(6957), 535-539. doi:10.1038/nature01962
- Fritz, S. A., Garbutt, J., Elward, A., Shannon, W., & Storch, G. A. (2008). Prevalence of and risk factors for community-acquired methicillin-resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* colonization in children seen in a practice-based research network. *Pediatrics*, *121*(6), 1090-1098. doi:10.1542/peds.2007-2104
- Gilsdorf, J. R. (2015). What the pediatrician should know about non-typeable *Haemophilus influenzae*. *Journal of Infection*, *71 Suppl 1*, S10-14. doi:10.1016/j.jinf.2015.04.014
- Giufre, M., Cardines, R., Accogli, M., Pardini, M., & Cerquetti, M. (2013). Identification of *Haemophilus influenzae* clones associated with invasive disease a decade after introduction of *H. influenzae* serotype b vaccination in Italy. *Clinical and Vaccine Immunology*, *20*(8), 1223-1229. doi:10.1128/CVI.00028-13
- Giufre, M., Daprai, L., Cardines, R., Bernaschi, P., Rava, L., Accogli, M., . . . Cerquetti, M. (2015). Carriage of *Haemophilus influenzae* in the oropharynx of young children and molecular epidemiology of the isolates after fifteen years of *H. influenzae* type b vaccination in Italy. *Vaccine*, *33*(46), 6227-6234. doi:10.1016/j.vaccine.2015.09.082
- Giufre, M., Ricchizzi, E., Accogli, M., Barbanti, F., Monaco, M., Pimentel de Araujo, F., . . . Cerquetti, M. (2017). Colonization by multidrug-resistant organisms in long-term care facilities in Italy: a point-prevalence study. *Clinical Microbiology and Infection*, *23*(12), 961-967. doi:10.1016/j.cmi.2017.04.006
- Götz, F., Bannerman, T., & Schleifer, K. H. (2006). The Genera *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K. H. Schleifer, & E.

- Stackebrandt (Eds.), *Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria* (3rd ed., Vol. 4, pp. 10-75). New York: Springer.
- Graham, P. L., 3rd, Lin, S. X., & Larson, E. L. (2006). A U.S. population-based survey of *Staphylococcus aureus* colonization. *Annals of Internal Medicine*, *144*(5), 318-325. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16520472>
- <http://annals.org/pdfaccess.ashx?url=/data/journals/aim/20110/0000605-200603070-00006.pdf>
- Grice, E. A., Kong, H. H., Conlan, S., Deming, C. B., Davis, J., Young, A. C., . . . Segre, J. A. (2009). Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome. *Science*, *324*(5931), 1190-1192. doi:10.1126/science.1171700
- Gu, F. F., Zhang, J., Zhao, S. Y., Yang, Z. R., Zhang, Y. L., Xiao, S. Z., . . . Han, L. Z. (2016). Risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage among residents in 7 nursing homes in Shanghai, China. *American Journal of Infection Control*, *44*(7), 805-808. doi:10.1016/j.ajic.2016.01.032
- Heather, J. M., & Chain, B. (2016). The sequence of sequencers: The history of sequencing DNA. *Genomics*, *107*(1), 1-8. doi:10.1016/j.ygeno.2015.11.003
- Heinz, E. (2018). The return of Pfeiffer's bacillus: Rising incidence of ampicillin resistance in *Haemophilus influenzae*. *Microb Genom*, *4*(9). doi:10.1099/mgen.0.000214
- Heliodoro, C. I. M., Bettencourt, C. R., Bajanca-Lavado, M. P., & Portuguese Group for the Study of *Haemophilus influenzae* invasive, i. (2020). Molecular epidemiology of invasive *Haemophilus influenzae* disease in Portugal: an update of the post-vaccine period, 2011-2018. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, *39*(8), 1471-1480. doi:10.1007/s10096-020-03865-0
- Herbert, M. A., Crook, D., & Moxon, E. R. (1998). Molecular Methods for *Haemophilus influenzae*. *Methods in Molecular Medicine*, *15*, 243-263. doi:10.1385/0-89603-498-4:243
- Hoffmann, K., den Heijer, C. D., George, A., Apfalter, P., & Maier, M. (2015). Prevalence and resistance patterns of commensal *S. aureus* in community-dwelling GP patients and socio-demographic associations. A cross-sectional study in the framework of the APRES-project in Austria. *BMC Infectious Diseases*, *15*, 213. doi:10.1186/s12879-015-0949-1
- Hogardt, M., Proba, P., Mischler, D., Cuny, C., Kempf, V. A., & Heudorf, U. (2015). Current prevalence of multidrug-resistant organisms in long-term care facilities in the Rhine-Main district, Germany, 2013. *Euro Surveill*, *20*(26). doi:10.2807/1560-7917.es2015.20.26.21171
- Holden, M. T., Hsu, L. Y., Kurt, K., Weinert, L. A., Mather, A. E., Harris, S. R., . . . Nubel, U. (2013). A genomic portrait of the emergence, evolution, and global spread of a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* pandemic. *Genome Research*, *23*(4), 653-664. doi:10.1101/gr.147710.112
- Holtfreter, S., Grumann, D., Balau, V., Barwich, A., Kolata, J., Goehler, A., . . . Broker, B. M. (2016). Molecular Epidemiology of *Staphylococcus aureus* in the General Population in Northeast Germany: Results of the Study of Health in Pomerania (SHIP-TREND-0). *Journal of Clinical Microbiology*, *54*(11), 2774-2785. doi:10.1128/JCM.00312-16
- Horn, J., Stelzner, K., Rudel, T., & Fraunholz, M. (2017). Inside job: *Staphylococcus aureus* host-pathogen interactions. *International Journal of Medical Microbiology*. doi:10.1016/j.ijmm.2017.11.009
- Hu, F., Rishishwar, L., Sivadas, A., Mitchell, G. J., Jordan, I. K., Murphy, T. F., . . . Wang, X. (2016). Comparative Genomic Analysis of *Haemophilus haemolyticus* and Nontypeable

- Haemophilus influenzae and a New Testing Scheme for Their Discrimination. *Journal of Clinical Microbiology*, 54(12), 3010-3017. doi:10.1128/JCM.01511-16
- Inzana, T. J. (1990). Capsules and virulence in the HAP group of bacteria. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 54 Suppl, S22-27. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2193699>
- Jevons, M. P., Coe, A. W., & Parker, M. T. (1963). Methicillin resistance in staphylococci. *Lancet*, 1(7287), 904-907. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13957735>
- <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673663916878?via%3Dihub>
- Jöckel, K. H., Babitsch, B., Bellach, B. M., Bloomfield, K., Hoffmeyer-Zlontnik, J., Winkler, J., & Wolf, C. (1998). Empfehlungen der deutschen Arbeitsgruppe „Epidemiologische Methoden“ in der Deutschen Arbeitsgemeinschaft Epidemiologie der Gesellschaft für Medizinische Informatik, Biometrie und Epidemiologie (GMDS) und der Deutschen Gesellschaft für Sozialmedizin und Prävention (DGSMP) zur Messung und Quantifizierung soziodemographischer Merkmale in epidemiologischen Studien. In W. Ahrens, B. M. Bellach, & K. H. Jöckel (Eds.), *Messung soziodemographischer Merkmale in der Epidemiologie* (pp. 3-39). Munich: MMV Medizin Verlag (RKI-Schriften 1/98).
- Jonsson, K., Signas, C., Muller, H. P., & Lindberg, M. (1991). Two different genes encode fibronectin binding proteins in Staphylococcus aureus. The complete nucleotide sequence and characterization of the second gene. *European Journal of Biochemistry*, 202(3), 1041-1048. doi:10.1111/j.1432-1033.1991.tb16468.x
- Kaye, S. A., Folsom, A. R., Soler, J. T., Prineas, R. J., & Potter, J. D. (1991). Associations of body mass and fat distribution with sex hormone concentrations in postmenopausal women. *International Journal of Epidemiology*, 20(1), 151-156. doi:10.1093/ije/20.1.151
- Kent, S. E., Schneider, G. B., Hollenbeck, B. L., & Vlad, S. C. (2019). Risk factors for Staphylococcus aureus colonization in a presurgical orthopedic population. *American Journal of Infection Control*. doi:10.1016/j.ajic.2019.02.008
- Kilbourn, J. P., Haas, H., Morris, J. F., & Samson, S. (1983). Hemophilus influenzae biotypes and chronic bronchitis. *American Review of Respiratory Disease*, 128(6), 1093-1094. doi:10.1164/arrd.1983.128.6.1093
- Kilian, M. (1976). A taxonomic study of the genus Haemophilus, with the proposal of a new species. *Journal of General Microbiology*, 93(1), 9-62. doi:10.1099/00221287-93-1-9
- Kim, Y. C., Won, H. K., Lee, J. W., Sohn, K. H., Kim, M. H., Kim, T. B., . . . Song, W. J. (2019). Staphylococcus aureus Nasal Colonization and Asthma in Adults: Systematic Review and Meta-Analysis. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 7(2), 606-615 e609. doi:10.1016/j.jaip.2018.08.020
- Kleinbaum, D. G., & Klein, M. (2010). *Logistic Regression. A Self-learning Text* (3rd ed.). New York: Springer.
- Kock, R., Werner, P., Friedrich, A. W., Fegeler, C., Becker, K., Prevalence of Multiresistant Microorganisms Study, G., & Prevalence of Multiresistant Microorganisms, P. M. M. S. G. (2016). Persistence of nasal colonization with human pathogenic bacteria and associated antimicrobial resistance in the German general population. *New Microbes New Infect*, 9, 24-34. doi:10.1016/j.nmni.2015.11.004
- Krismer, B., Weidenmaier, C., Zipperer, A., & Peschel, A. (2017). The commensal lifestyle of Staphylococcus aureus and its interactions with the nasal microbiota. *Nature Reviews: Microbiology*, 15(11), 675-687. doi:10.1038/nrmicro.2017.104
- Kroh, H. K., Panizzi, P., & Bock, P. E. (2009). Von Willebrand factor-binding protein is a hysteretic conformational activator of prothrombin. *Proceedings of the National*

- Academy of Sciences of the United States of America*, 106(19), 7786-7791.
doi:10.1073/pnas.0811750106
- Kroll, J. S., Loynds, B., Brophy, L. N., & Moxon, E. R. (1990). The *bex* locus in encapsulated *Haemophilus influenzae*: a chromosomal region involved in capsule polysaccharide export. *Molecular Microbiology*, 4(11), 1853-1862. doi:10.1111/j.1365-2958.1990.tb02034.x
- Kroll, J. S., Zamze, S., Loynds, B., & Moxon, E. R. (1989). Common organization of chromosomal loci for production of different capsular polysaccharides in *Haemophilus influenzae*. *Journal of Bacteriology*, 171(6), 3343-3347. doi:10.1128/jb.171.6.3343-3347.1989
- Kubica, M., Guzik, K., Koziel, J., Zarebski, M., Richter, W., Gajkowska, B., . . . Potempa, J. (2008). A potential new pathway for *Staphylococcus aureus* dissemination: the silent survival of *S. aureus* phagocytosed by human monocyte-derived macrophages. *PloS One*, 3(1), e1409. doi:10.1371/journal.pone.0001409
- Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33(7), 1870-1874. doi:10.1093/molbev/msw054
- Kwetkat, A., Pfister, W., Pansow, D., Pletz, M. W., Sieber, C. C., & Hoyer, H. (2018). Naso- and oropharyngeal bacterial carriage in nursing home residents: Impact of multimorbidity and functional impairment. *PloS One*, 13(1), e0190716. doi:10.1371/journal.pone.0190716
- Ladhani, S., Slack, M. P., Heath, P. T., von Gottberg, A., Chandra, M., Ramsay, M. E., & European Union Invasive Bacterial Infection Surveillance, p. (2010). Invasive *Haemophilus influenzae* Disease, Europe, 1996-2006. *Emerging Infectious Diseases*, 16(3), 455-463. doi:10.3201/eid1603.090290
- Lam, T. T., Claus, H., Elias, J., Frosch, M., & Vogel, U. (2015). Ampicillin resistance of invasive *Haemophilus influenzae* isolates in Germany 2009-2012. *International Journal of Medical Microbiology*, 305(7), 748-755. doi:10.1016/j.ijmm.2015.08.028
- Lam, T. T., Claus, H., Frosch, M., & Vogel, U. (2016). Analysis of non-typeable *Haemophilus influenzae* in invasive disease reveals lack of the capsule locus. *Clinical Microbiology and Infection*, 22(1), 63 e67-63 e68. doi:10.1016/j.cmi.2015.09.027
- Lam, T. T., Elias, J., Frosch, M., Vogel, U., & Claus, H. (2011). New diagnostic PCR for *Haemophilus influenzae* serotype e based on the *cap* locus of strain ATCC 8142. *International Journal of Medical Microbiology*, 301(2), 176-179. doi:10.1016/j.ijmm.2010.07.004
- Lasseter, G., Charlett, A., Lewis, D., Donald, I., Howell-Jones, R., & McNulty, C. A. (2010). *Staphylococcus aureus* carriage in care homes: identification of risk factors, including the role of dementia. *Epidemiology and Infection*, 138(5), 686-696. doi:10.1017/S0950268810000233
- Latour, K., Huang, T. D., Jans, B., Berhin, C., Bogaerts, P., Noel, A., . . . Glupczynski, Y. (2019). Prevalence of multidrug-resistant organisms in nursing homes in Belgium in 2015. *PloS One*, 14(3), e0214327. doi:10.1371/journal.pone.0214327
- Lewnard, J. A., Givon-Lavi, N., Huppert, A., Pettigrew, M. M., Regev-Yochay, G., Dagan, R., & Weinberger, D. M. (2016). Epidemiological Markers for Interactions Among *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Staphylococcus aureus* in Upper Respiratory Tract Carriage. *Journal of Infectious Diseases*, 213(10), 1596-1605. doi:10.1093/infdis/jiv761
- Lina, G., Bohach, G. A., Nair, S. P., Hiramatsu, K., Jouvin-Marche, E., Mariuzza, R., & International Nomenclature Committee for Staphylococcal, S. (2004). Standard nomenclature for the superantigens expressed by *Staphylococcus*. *Journal of Infectious Diseases*, 189(12), 2334-2336. doi:10.1086/420852

- Lina, G., Piemont, Y., Godail-Gamot, F., Bes, M., Peter, M. O., Gauduchon, V., . . . Etienne, J. (1999). Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clinical Infectious Diseases*, 29(5), 1128-1132. doi:10.1086/313461
- Liu, C., Bayer, A., Cosgrove, S. E., Daum, R. S., Fridkin, S. K., Gorwitz, R. J., . . . Chambers, H. F. (2011). Clinical practice guidelines by the infectious diseases society of america for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in adults and children: executive summary. *Clinical Infectious Diseases*, 52(3), 285-292. doi:10.1093/cid/cir034
- Loeb, L. (1903). The Influence of certain Bacteria on the Coagulation of the Blood. *Journal of Medical Research*, 10(3), 407-419. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19971581>
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2105975/pdf/jmedres00117-0111.pdf>
- Lowy, F. D. (1998). *Staphylococcus aureus* infections. *New England Journal of Medicine*, 339(8), 520-532. doi:10.1056/NEJM199808203390806
- Mathies, A. W., Jr. (1972). Penicillins in the treatment of bacterial meningitis. *Journal of the Royal College of Physicians of London*, 6(2), 139-146. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5061041>
- McAdow, M., Missiakas, D. M., & Schneewind, O. (2012). *Staphylococcus aureus* secretes coagulase and von Willebrand factor binding protein to modify the coagulation cascade and establish host infections. *Journal of Innate Immunity*, 4(2), 141-148. doi:10.1159/000333447
- McCrea, K. W., Xie, J., LaCross, N., Patel, M., Mukundan, D., Murphy, T. F., . . . Gilsdorf, J. R. (2008). Relationships of nontypeable *Haemophilus influenzae* strains to hemolytic and nonhemolytic *Haemophilus haemolyticus* strains. *Journal of Clinical Microbiology*, 46(2), 406-416. doi:10.1128/JCM.01832-07
- McDonald, C. L., & Chapin, K. (1995). Rapid identification of *Staphylococcus aureus* from blood culture bottles by a classic 2-hour tube coagulase test. *Journal of Clinical Microbiology*, 33(1), 50-52. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7699065>
- McElligott, M., Meyler, K., Bennett, D., Mulhall, R., Drew, R. J., & Cunney, R. (2020). Epidemiology of *Haemophilus influenzae* in the Republic of Ireland, 2010-2018. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 39(12), 2335-2344. doi:10.1007/s10096-020-03971-z
- McKinnell, J. A., Miller, L. G., Eells, S. J., Cui, E., & Huang, S. S. (2013). A systematic literature review and meta-analysis of factors associated with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization at time of hospital or intensive care unit admission. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 34(10), 1077-1086. doi:10.1086/673157
- McMichael, A. J. (1976). Standardized mortality ratios and the "healthy worker effect": Scratching beneath the surface. *Journal of Occupational Medicine*, 18(3), 165-168. doi:10.1097/00043764-197603000-00009
- Meats, E., Feil, E. J., Stringer, S., Cody, A. J., Goldstein, R., Kroll, J. S., . . . Spratt, B. G. (2003). Characterization of encapsulated and nonencapsulated *Haemophilus influenzae* and determination of phylogenetic relationships by multilocus sequence typing. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(4), 1623-1636. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12682154>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC153921/pdf/1480.pdf>

- Medeiros, A. A., & O'Brien, T. F. (1975). Ampicillin-resistant Haemophilus influenzae type B possessing a TEM-type beta-lactamase but little permeability barrier to ampicillin. *Lancet*, *1*(7909), 716-719. doi:10.1016/s0140-6736(75)91630-x
- Melish, M. E., & Glasgow, L. A. (1971). Staphylococcal scalded skin syndrome: the expanded clinical syndrome. *Journal of Pediatrics*, *78*(6), 958-967. doi:10.1016/s0022-3476(71)80425-0
- Mendes, R. E., Hogan, P. A., Streit, J. M., Jones, R. N., & Flamm, R. K. (2014). Zyvox(R) Annual Appraisal of Potency and Spectrum (ZAAPS) program: report of linezolid activity over 9 years (2004-12). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *69*(6), 1582-1588. doi:10.1093/jac/dkt541
- Menzies, R. E. (1977). Comparison of coagulase, deoxyribonuclease (DNase), and heat-stable nuclease tests for identification of Staphylococcus aureus. *Journal of Clinical Pathology*, *30*(7), 606-608. doi:10.1136/jcp.30.7.606
- Moxon, E. R. (1992). Molecular basis of invasive Haemophilus influenzae type b disease. *Journal of Infectious Diseases*, *165 Suppl 1*, S77-81. doi:10.1093/infdis/165-supplement_1-s77
- Moxon, E. R. (2009). Bacterial variation, virulence and vaccines. *Microbiology*, *155*(Pt 4), 997-1003. doi:10.1099/mic.0.024877-0
- Munckhof, W. J., Nimmo, G. R., Schooneveldt, J. M., Schlebusch, S., Stephens, A. J., Williams, G., . . . Giffard, P. (2009). Nasal carriage of Staphylococcus aureus, including community-associated methicillin-resistant strains, in Queensland adults. *Clinical Microbiology and Infection*, *15*(2), 149-155. doi:10.1111/j.1469-0691.2008.02652.x
- Murphy, T. F., Brauer, A. L., Sethi, S., Kilian, M., Cai, X., & Lesse, A. J. (2007). Haemophilus haemolyticus: a human respiratory tract commensal to be distinguished from Haemophilus influenzae. *Journal of Infectious Diseases*, *195*(1), 81-89. doi:10.1086/509824
- Murphy, T. F., Faden, H., Bakaletz, L. O., Kyd, J. M., Forsgren, A., Campos, J., . . . Pelton, S. I. (2009). Nontypeable Haemophilus influenzae as a pathogen in children. *Pediatric Infectious Disease Journal*, *28*(1), 43-48. doi:10.1097/INF.0b013e318184dba2
- Musser, J. M., Kroll, J. S., Granoff, D. M., Moxon, E. R., Brodeur, B. R., Campos, J., . . . et al. (1990). Global genetic structure and molecular epidemiology of encapsulated Haemophilus influenzae. *Reviews of Infectious Diseases*, *12*(1), 75-111. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1967849>
- Mylotte, J. M., McDermott, C., & Spooner, J. A. (1987). Prospective study of 114 consecutive episodes of Staphylococcus aureus bacteremia. *Reviews of Infectious Diseases*, *9*(5), 891-907. doi:10.1093/clinids/9.5.891
- Nillius, D., von Muller, L., Wagenpfeil, S., Klein, R., & Herrmann, M. (2016). Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus in Saarland, Germany: The Long-Term Care Facility Study. *PloS One*, *11*(4), e0153030. doi:10.1371/journal.pone.0153030
- Nilsson, P., & Ripa, T. (2006). Staphylococcus aureus throat colonization is more frequent than colonization in the anterior nares. *Journal of Clinical Microbiology*, *44*(9), 3334-3339. doi:10.1128/JCM.00880-06
- Nix, E. B., Hawdon, N., Gravelle, S., Biman, B., Brigden, M., Malik, S., . . . Ulanova, M. (2012). Risk of invasive Haemophilus influenzae type b (Hib) disease in adults with secondary immunodeficiency in the post-Hib vaccine era. *Clinical and Vaccine Immunology*, *19*(5), 766-771. doi:10.1128/CVI.05675-11
- Noel, G. J., Hoiseth, S. K., & Edelson, P. J. (1992). Type b capsule inhibits ingestion of Haemophilus influenzae by murine macrophages: studies with isogenic encapsulated and unencapsulated strains. *Journal of Infectious Diseases*, *166*(1), 178-182. doi:10.1093/infdis/166.1.178

- Noel, G. J., Love, D. C., & Mosser, D. M. (1994). High-molecular-weight proteins of nontypeable *Haemophilus influenzae* mediate bacterial adhesion to cellular proteoglycans. *Infection and Immunity*, *62*(9), 4028-4033. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8063423>
- Nowak, J. E., Borkowska, B. A., & Pawlowski, B. Z. (2017). Sex differences in the risk factors for *Staphylococcus aureus* throat carriage. *American Journal of Infection Control*, *45*(1), 29-33. doi:10.1016/j.ajic.2016.07.013
- Oberhofer, T. R., & Back, A. E. (1979). Biotypes of *Haemophilus* encountered in clinical laboratories. *Journal of Clinical Microbiology*, *10*(2), 168-174. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/315964>
- Ogston, A. (1882). Micrococcus Poisoning. *Journal of Anatomy and Physiology*, *17*(Pt 1), 24-58. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17231450>
- Ortiz-Romero, M. D. M., Espejo-Garcia, M. P., Alfayate-Miguel, S., Ruiz-Lopez, F. J., Zapata-Hernandez, D., Gonzalez-Pacanowska, A. J., & Collaborators of Study Group of Infectious Diseases in the Child in, C. (2017). Epidemiology of Nasopharyngeal Carriage by *Haemophilus influenzae* in Healthy Children: A Study in the Mediterranean Coast Region. *Pediatric Infectious Disease Journal*, *36*(10), 919-923. doi:10.1097/INF.0000000000001625
- Pan, A., Lee, A., Cooper, B., Chalfine, A., Daikos, G. L., Garilli, S., . . . Surf study group, i. c. w. t. M.-S. T. (2013). Risk factors for previously unknown methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage on admission to 13 surgical wards in Europe. *Journal of Hospital Infection*, *83*(2), 107-113. doi:10.1016/j.jhin.2012.09.020
- Park, J. T., & Strominger, J. L. (1957). Mode of action of penicillin. *Science*, *125*(3238), 99-101. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13390969>
- <http://science.sciencemag.org/content/sci/125/3238/99.full.pdf>
- Pauli, N. T., Kim, H. K., Falugi, F., Huang, M., Dulac, J., Henry Dunand, C., . . . Wilson, P. C. (2014). *Staphylococcus aureus* infection induces protein A-mediated immune evasion in humans. *Journal of Experimental Medicine*, *211*(12), 2331-2339. doi:10.1084/jem.20141404
- Peltola, H. (2000). Worldwide *Haemophilus influenzae* type b disease at the beginning of the 21st century: global analysis of the disease burden 25 years after the use of the polysaccharide vaccine and a decade after the advent of conjugates. *Clinical Microbiology Reviews*, *13*(2), 302-317. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10756001>
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC100154/pdf/cm000302.pdf>
- Peters, C., Dulon, M., Kleinmuller, O., Nienhaus, A., & Schablon, A. (2017). MRSA Prevalence and Risk Factors among Health Personnel and Residents in Nursing Homes in Hamburg, Germany - A Cross-Sectional Study. *PloS One*, *12*(1), e0169425. doi:10.1371/journal.pone.0169425
- Pfeiffer, R. (1892). I.-Preliminary Communication on the Exciting causes of Influenza. *British Medical Journal*, *1*(1620), 128. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20753501>
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2419508/pdf/brmedj08830-0024a.pdf>
- Pittman, M. (1931). Variation and Type Specificity in the Bacterial Species *Haemophilus influenzae*. *Journal of Experimental Medicine*, *53*(4), 471-492. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19869858>
- <http://jem.rupress.org/content/jem/53/4/471.full.pdf>

- Pourshadi, M., & Klaas, J. (1984). Evaluation of latex agglutination and microtube coagulase tests for detection of *Staphylococcus aureus*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 2(4), 287-291. doi:10.1016/0732-8893(84)90059-2
- Raschpichler, G., Raupach-Rosin, H., Akmatov, M. K., Castell, S., Rubsamen, N., Feier, B., . . . Karch, A. (2020). Development and external validation of a clinical prediction model for MRSA carriage at hospital admission in Southeast Lower Saxony, Germany. *Scientific Reports*, 10(1), 17998. doi:10.1038/s41598-020-75094-6
- Robert-Koch-Institut. (2014). SurvStat@RKI 2.0. Retrieved from <https://survstat.rki.de/>
- Robert-Koch-Institut (Ed.) (2013). *Infektionsepidemiologisches Jahrbuch für 2012*. Berlin.
- Robert-Koch-Institut (Ed.) (2017). *Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Erkrankungen für 2016*. Berlin.
- Roghmann, M. C., Johnson, J. K., Sorkin, J. D., Langenberg, P., Lydecker, A., Sorace, B., . . . Mody, L. (2015). Transmission of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) to Healthcare Worker Gowns and Gloves During Care of Nursing Home Residents. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 36(9), 1050-1057. doi:10.1017/ice.2015.119
- Rubin, L. G., Medeiros, A. A., Yolken, R. H., & Moxon, E. R. (1981). Ampicillin treatment failure of apparently beta-lactamase-negative *Haemophilus influenzae* type b meningitis due to novel beta-lactamase. *Lancet*, 2(8254), 1008-1010. doi:10.1016/s0140-6736(81)91214-9
- Sandre, R. M., & Shafran, S. D. (1996). Infective endocarditis: review of 135 cases over 9 years. *Clinical Infectious Diseases*, 22(2), 276-286. doi:10.1093/clinids/22.2.276
- Sanger, F., Nicklen, S., & Coulson, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 74(12), 5463-5467. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/271968>
- Sasahara, T., Ae, R., Yoshimura, A., Kosami, K., Sasaki, K., Kimura, Y., . . . Cui, L. (2020). Association between length of residence and prevalence of MRSA colonization among residents in geriatric long-term care facilities. *BMC Geriatrics*, 20(1), 481. doi:10.1186/s12877-020-01885-1
- Sauget, M., Valot, B., Bertrand, X., & Hocquet, D. (2017). Can MALDI-TOF Mass Spectrometry Reasonably Type Bacteria? *Trends in Microbiology*, 25(6), 447-455. doi:10.1016/j.tim.2016.12.006
- Sethi, S., Evans, N., Grant, B. J., & Murphy, T. F. (2002). New strains of bacteria and exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *New England Journal of Medicine*, 347(7), 465-471. doi:10.1056/NEJMoa012561
- Sethi, S., & Murphy, T. F. (2001). Bacterial infection in chronic obstructive pulmonary disease in 2000: a state-of-the-art review. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(2), 336-363. doi:10.1128/CMR.14.2.336-363.2001
- Shands, K. N., Schmid, G. P., Dan, B. B., Blum, D., Guidotti, R. J., Hargrett, N. T., . . . Fraser, D. W. (1980). Toxic-shock syndrome in menstruating women: association with tampon use and *Staphylococcus aureus* and clinical features in 52 cases. *New England Journal of Medicine*, 303(25), 1436-1442. doi:10.1056/NEJM198012183032502
- Shrank, W. H., Patrick, A. R., & Brookhart, M. A. (2011). Healthy user and related biases in observational studies of preventive interventions: a primer for physicians. *Journal of General Internal Medicine*, 26(5), 546-550. doi:10.1007/s11606-010-1609-1
- Shuel, M., Law, D., Skinner, S., Wylie, J., Karlowsky, J., & Tsang, R. S. (2010). Characterization of nontypeable *Haemophilus influenzae* collected from respiratory infections and invasive disease cases in Manitoba, Canada. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 58(2), 277-284. doi:10.1111/j.1574-695X.2009.00634.x

- Sill, M. L., Law, D. K., Zhou, J., Skinner, S., Wylie, J., & Tsang, R. S. (2007). Population genetics and antibiotic susceptibility of invasive *Haemophilus influenzae* in Manitoba, Canada, from 2000 to 2006. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, *51*(2), 270-276. doi:10.1111/j.1574-695X.2007.00299.x
- Soeters, H. M., Blain, A., Pondo, T., Doman, B., Farley, M. M., Harrison, L. H., . . . Briere, E. C. (2018). Current Epidemiology and Trends in Invasive *Haemophilus influenzae* Disease-United States, 2009-2015. *Clinical Infectious Diseases*. doi:10.1093/cid/ciy187
- Somerville-Millar, D. A., & Noble, W. C. (1974). Resident and transient bacteria of the skin. *Journal of Cutaneous Pathology*, *1*(6), 260-264. doi:10.1111/j.1600-0560.1974.tb00637.x
- Sottnek, F. O., & Albritton, W. L. (1984). *Haemophilus influenzae* biotype VIII. *Journal of Clinical Microbiology*, *20*(4), 815-816. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6333437>
- <https://jcm.asm.org/content/jcm/20/4/815.full.pdf>
- Stacey, H. J., Clements, C. S., Welburn, S. C., & Jones, J. D. (2019). The prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among diabetic patients: a meta-analysis. *Acta Diabetologica*, *56*(8), 907-921. doi:10.1007/s00592-019-01301-0
- Ständige Impfkommision: Empfehlungen der ständigen Impfkommision (STIKO) am Robert-Koch-Institut. (2019). *Epidemiologisches Bulletin*, *34*, 313-364. doi:10.25646/6233.7
- Stark, L., Olofsson, M., Lofgren, S., Molstad, S., Lindgren, P. E., & Matussek, A. (2014). Prevalence and molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* in Swedish nursing homes - as revealed in the SHADES study. *Epidemiology and Infection*, *142*(6), 1310-1316. doi:10.1017/S0950268813002033
- Statistisches Bundesamt (Ed.) (2013). *Statistisches Jahrbuch 2013*. Wiesbaden, Germany: Federal Statistical Office of Germany.
- Statistisches Bundesamt (Destatis) (Ed.) (2015). *Statistisches Jahrbuch 2015*. Wiesbaden, Germany: Federal Statistical Office of Germany.
- Statistisches Bundesamt (Destatis) (Ed.) (2018). *Statistisches Jahrbuch 2018*. Wiesbaden, Germany: Federal Statistical Office of Germany.
- Sundell, N., Andersson, L. M., Brittain-Long, R., Sundvall, P. D., Alsio, A., Lindh, M., . . . Westin, J. (2019). PCR Detection of Respiratory Pathogens in Asymptomatic and Symptomatic Adults. *Journal of Clinical Microbiology*, *57*(1). doi:10.1128/JCM.00716-18
- Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Harbarth, S., Mendelson, M., Monnet, D. L., . . . Group, W. H. O. P. P. L. W. (2018). Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *Lancet Infectious Diseases*, *18*(3), 318-327. doi:10.1016/S1473-3099(17)30753-3
- Takla, A., Schonfeld, V., Claus, H., Krone, M., An der Heiden, M., Koch, J., . . . Lam, T. T. (2020). Invasive *Haemophilus influenzae* Infections in Germany After the Introduction of Routine Childhood Immunization, 2001-2016. *Open Forum Infect Dis*, *7*(10), ofaa444. doi:10.1093/ofid/ofaa444
- Tamura, K., & Nei, M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, *10*(3), 512-526. doi:10.1093/oxfordjournals.molbev.a040023
- Tang, W., Ranganathan, N., Shahrezaei, V., & Larrouy-Maumus, G. (2019). MALDI-TOF mass spectrometry on intact bacteria combined with a refined analysis framework allows accurate classification of MSSA and MRSA. *PLoS One*, *14*(6), e0218951. doi:10.1371/journal.pone.0218951
- Tristram, S., Jacobs, M. R., & Appelbaum, P. C. (2007). Antimicrobial resistance in *Haemophilus influenzae*. *Clinical Microbiology Reviews*, *20*(2), 368-389. doi:10.1128/CMR.00040-06

- Tsang, R. S. W., Shuel, M., Whyte, K., Hoang, L., Tyrrell, G., Horsman, G., . . . Needle, R. (2017). Antibiotic susceptibility and molecular analysis of invasive *Haemophilus influenzae* in Canada, 2007 to 2014. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *72*(5), 1314-1319. doi:10.1093/jac/dkw565
- Tsilochristou, O., du Toit, G., Sayre, P. H., Roberts, G., Lawson, K., Sever, M. L., . . . Immune Tolerance Network Learning Early About Peanut Allergy Study, T. (2019). Association of *Staphylococcus aureus* colonization with food allergy occurs independently of eczema severity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. doi:10.1016/j.jaci.2019.04.025
- Tsiodras, S., Gold, H. S., Sakoulas, G., Eliopoulos, G. M., Wennersten, C., Venkataraman, L., . . . Ferraro, M. J. (2001). Linezolid resistance in a clinical isolate of *Staphylococcus aureus*. *Lancet*, *358*(9277), 207-208. doi:10.1016/S0140-6736(01)05410-1
- Ubukata, K., Morozumi, M., Sakuma, M., Takata, M., Mokuno, E., Tajima, T., . . . Group, A. O. M. S. S. (2018). Etiology of Acute Otitis Media and Characterization of Pneumococcal Isolates After Introduction of 13-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine in Japanese Children. *Pediatric Infectious Disease Journal*, *37*(6), 598-604. doi:10.1097/INF.0000000000001956
- Ubukata, K., Shibasaki, Y., Yamamoto, K., Chiba, N., Hasegawa, K., Takeuchi, Y., . . . Konno, M. (2001). Association of amino acid substitutions in penicillin-binding protein 3 with beta-lactam resistance in beta-lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *45*(6), 1693-1699. doi:10.1128/AAC.45.6.1693-1699.2001
- Ueda, O., Tanaka, S., Nagasawa, Z., Hanaki, H., Shobuike, T., & Miyamoto, H. (2015). Development of a novel matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrum (MALDI-TOF-MS)-based typing method to identify meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones. *Journal of Hospital Infection*, *90*(2), 147-155. doi:10.1016/j.jhin.2014.11.025
- van Belkum, A., Verkaik, N. J., de Vogel, C. P., Boelens, H. A., Verveer, J., Nouwen, J. L., . . . Wertheim, H. F. (2009). Reclassification of *Staphylococcus aureus* nasal carriage types. *Journal of Infectious Diseases*, *199*(12), 1820-1826. doi:10.1086/599119
- Van der Hilst, J. C., Smits, B. W., & van der Meer, J. W. (2002). Hypogammaglobulinaemia: cumulative experience in 49 patients in a tertiary care institution. *Netherlands Journal of Medicine*, *60*(3), 140-147. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12164371>
- Van Eldere, J., Slack, M. P., Ladhani, S., & Cripps, A. W. (2014). Non-typeable *Haemophilus influenzae*, an under-recognised pathogen. *Lancet Infectious Diseases*, *14*(12), 1281-1292. doi:10.1016/S1473-3099(14)70734-0
- Vestergaard, M., Frees, D., & Ingmer, H. (2019). Antibiotic Resistance and the MRSA Problem. *Microbiol Spectr*, *7*(2). doi:10.1128/microbiolspec.GPP3-0057-2018
- von Eiff, C., Becker, K., Machka, K., Stammer, H., & Peters, G. (2001). Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. Study Group. *New England Journal of Medicine*, *344*(1), 11-16. doi:10.1056/NEJM200101043440102
- Wahl, B., O'Brien, K. L., Greenbaum, A., Majumder, A., Liu, L., Chu, Y., . . . Knoll, M. D. (2018). Burden of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* type b disease in children in the era of conjugate vaccines: global, regional, and national estimates for 2000-15. *Lancet Glob Health*, *6*(7), e744-e757. doi:10.1016/S2214-109X(18)30247-X
- Ward, J. I., Lum, M. K., Hall, D. B., Silimperi, D. R., & Bender, T. R. (1986). Invasive *Haemophilus influenzae* type b disease in Alaska: background epidemiology for a vaccine efficacy trial. *Journal of Infectious Diseases*, *153*(1), 17-26. doi:10.1093/infdis/153.1.17

- Wertheim, H. F., Melles, D. C., Vos, M. C., van Leeuwen, W., van Belkum, A., Verbrugh, H. A., & Nouwen, J. L. (2005). The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infectious Diseases*, *5*(12), 751-762. doi:10.1016/S1473-3099(05)70295-4
- Wertheim, H. F., Vos, M. C., Ott, A., van Belkum, A., Voss, A., Kluytmans, J. A., . . . Verbrugh, H. A. (2004). Risk and outcome of nosocomial *Staphylococcus aureus* bacteraemia in nasal carriers versus non-carriers. *Lancet*, *364*(9435), 703-705. doi:10.1016/S0140-6736(04)16897-9
- Wertheim, H. F., Walsh, E., Choudhury, R., Melles, D. C., Boelens, H. A., Miajlovic, H., . . . van Belkum, A. (2008). Key role for clumping factor B in *Staphylococcus aureus* nasal colonization of humans. *PLoS Medicine*, *5*(1), e17. doi:10.1371/journal.pmed.0050017
- Whittaker, R., Economopoulou, A., Dias, J. G., Bancroft, E., Ramliden, M., Celentano, L. P., . . . Control Country Experts for Invasive *Haemophilus influenzae*, D. (2017). Epidemiology of Invasive *Haemophilus influenzae* Disease, Europe, 2007-2014. *Emerging Infectious Diseases*, *23*(3), 396-404. doi:10.3201/eid2303.161552
- WHO. (1995). Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. *World Health Organization Technical Report Series*, *854*, 452. Retrieved from [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/37003/WHO TRS 854.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/37003/WHO_TRS_854.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Winslow, C. E., Broadhurst, J., Buchanan, R. E., Krumwiede, C., Rogers, L. A., & Smith, G. H. (1920). The Families and Genera of the Bacteria: Final Report of the Committee of the Society of American Bacteriologists on Characterization and Classification of Bacterial Types. *Journal of Bacteriology*, *5*(3), 191-229. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16558872>
<http://jb.asm.org/content/5/3/191.full.pdf>
- Zanella, R. C., Brandileone, M. C. C., Almeida, S. C. G., de Lemos, A. P. S., Sacchi, C. T., Goncalves, C. R., . . . Andrade, A. L. (2019). Nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Staphylococcus aureus* in a Brazilian elderly cohort. *PLoS One*, *14*(8), e0221525. doi:10.1371/journal.pone.0221525
- Zhu, B., Xiao, D., Zhang, H., Zhang, Y., Gao, Y., Xu, L., . . . Shao, Z. (2013). MALDI-TOF MS distinctly differentiates nontypable *Haemophilus influenzae* from *Haemophilus haemolyticus*. *PLoS One*, *8*(2), e56139. doi:10.1371/journal.pone.0056139
- Zipperer, A., Konnerth, M. C., Laux, C., Berscheid, A., Janek, D., Weidenmaier, C., . . . Krismer, B. (2016). Human commensals producing a novel antibiotic impair pathogen colonization. *Nature*, *535*(7613), 511-516. doi:10.1038/nature18634
- Zwahlen, A., Kroll, J. S., Rubin, L. G., & Moxon, E. R. (1989). The molecular basis of pathogenicity in *Haemophilus influenzae*: comparative virulence of genetically-related capsular transformants and correlation with changes at the capsulation locus *cap*. *Microbial Pathogenesis*, *7*(3), 225-235. doi:10.1016/0882-4010(89)90058-2

Appendix

I Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
µl	Mikroliter
<i>adK</i>	Adenylate kinase
ALL	Akute lymphatische Leukämie
Aqua dest.	Aqua destillata
ATP	Adenosin-Triphosphat
<i>atpG</i>	ATP synthase F1 subunit gamma
BLNAR	Betalaktamase negativ Ampicillin resistent
BLPACR	Betalaktamase positiv Ampicillin/Clavulansäure-resistent
BLPAR	Betalaktamase positiv Ampicillin resistent
BMI	Body mass index
bp	Basenpaare
Chi ² oder χ^2	Chi-Quadrat
CI	Confidence interval
ClfA	Clumping factor A
ClfB	Clumping factor B
COPD	Chronic obstructive pulmonary disease
ddH ₂ O	destilliertes Wasser
DDR	Deutsche Demokratische Republik
dn	down
DNA	Desoxyribonucleic acid (Desoxyribonukleinsäure)
DNase	Desoxyribonuclease
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphat
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
FnBPA	Fibronectin binding protein A
FnBPB	Fibronectin binding protein B
<i>frdB</i>	Fumarate reductase iron-sulfur protein
<i>fucK</i>	Fuculokinase
fucK	Fuculose-Kinase
<i>H. influenzae</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>
HCl	Chlorwasserstoff (Salzsäure)
Hia	<i>Haemophilus influenzae</i> Serotyp a
Hib	<i>Haemophilus influenzae</i> Serotyp b
Hic	<i>Haemophilus influenzae</i> Serotyp c
Hid	<i>Haemophilus influenzae</i> Serotyp d

Hie	<i>Haemophilus influenzae</i> Serotyp e
Hif	<i>Haemophilus influenzae</i> Serotyp f
HIV	Human immunodeficiency virus
hpd	Protein D
IBI	Invasive bakterielle Infektionen (Studien-Name)
IfSG	Infektionsschutzgesetz
iga	IgA (Immunglobulin A)-Protease
IQR	Interquartile range
J	Jahre
m	Meter
M	Molare Masse bzw. molar
MALDI-TOF	Matrix assisted laser desorption ionisation time of flight
<i>mdh</i>	Malate dehydrogenase
ml	Milliliter
MLEE	Multilocus enzyme electrophoresis
MLST	Multilocus sequence typing (Multilocus-Sequenztypisierung)
mM	millimolar
MRSA	Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>
MSSA	Methicillin-sensibler <i>Staphylococcus aureus</i>
n	Anzahl
<i>N. meningitidis</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
NaCl	Natriumchlorid
NAD	Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid
NRZMHi	Nationales Referenzzentrum für Meningokokken und <i>Haemophilus influenzae</i>
NTHi	Nicht typisierbarer <i>Haemophilus influenzae</i>
OD	Optische Dichte
ompP2	Outer membrane protein P2
ompP6	Outer membrane protein P6
OR	Odds ratio
p	Wahrscheinlichkeit
p.a.	Pro analysi
PBP	Penicillin binding protein
PBS	Phosphate buffered saline
PCR	Polymerase chain reaction
PEG	Perkutane endoskopische Gastrostomie
PGH	Produktionsgenossenschaft des Handwerks
<i>pgi</i>	Glucose-6-Phosphate isomerase
POS	Polytechnische Oberschule
PRP	Polyribosylribitolphosphat
PVL	Panton-Valentine-Leukozidin
<i>recA</i>	RecA protein

<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. lugdunensis</i>	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>
<i>S. pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Spa	Staphylococcal protein A
spp	Subspezies
SSSS	Staphylococcal scalded skin syndrome
ST	Sequenztyp
STIKO	Ständige Impfkommission
TBE	Tris-Borsäure-EDTA
TSST	Toxic shock syndrome toxin
U	Unit
USA	United States of America
VISA	Vancomycin intermediär resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>
VRSA	Vancomycin resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>
vWfBp	Von Willebrand-Factor binding protein
WHO	World Health Organization

II Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1. Inzidenz invasiver Infektionen mit <i>H. influenzae</i> in Deutschland (2004-2018).....	13
Abbildung 2. Inzidenz invasiver MRSA-Infektionen nach Altersgruppen in Deutschland (2009-2018).....	21
Abbildung 3. Studiendesign.....	24
Abbildung 4. Studienpopulation.....	40
Abbildung 5. Altersverteilung der verschiedenen Studienpopulationen	42
Abbildung 6. Entfernung der Herkunftsorte von Träger- und invasiven NTHi Isolatn.....	56
Abbildung 7. Wohnorte der Träger bzw. Patienten mit NTHi-Isolatn.....	57
Abbildung 8. Altersverteilung bei asymptomatischen Trägern und invasiv mit NTHi Erkrankten.....	58
Abbildung 9. Phylogenetische Analyse von invasiven NTHi und Trägerisolatn mit der Maximum Composite Likelihood-Methode	60
Abbildung 10. Probandenfragebogen – Angaben zur Person.....	81
Abbildung 11. Probandenfragebogen – medizinische Risikofaktoren	82
Abbildung 12. Probandenfragebogen – Freizeitverhalten	83
Abbildung 13. Probandenfragebogen – Haustiere und Auslandsreisen.....	84
Abbildung 14. Probandenfragebogen – Schulbildung	85
Abbildung 15. Probandenfragebogen – Berufliche Tätigkeit	86
Abbildung 16. Mitarbeiterfragebogen – Wohnsituation und Studieneinschlusskriterien.....	87
Abbildung 17. Mitarbeiterfragebogen – Impfstatus.....	88
Abbildung 18. Ethikvotum Seite 1/2.....	89
Abbildung 19. Ethikvotum – Seite 2/2.....	90

III Tabellenverzeichnis

Tabelle 1. Umkodierung kategorialer Variablen in Dummy-Variablen	28
Tabelle 2. Laborgeräte.....	31
Tabelle 3. Verbrauchsmaterial.....	32
Tabelle 4. Primer für die H. influenzae-MLST.....	34
Tabelle 5. Prävalenzdaten von S. aureus und MRSA	44
Tabelle 6. Soziodemografische Faktoren und Besiedelung mit S. aureus bei selbständig lebenden Senioren	46
Tabelle 7. Gesundheitsstatus, Lebensstil und S. aureus-Prävalenz bei selbständig lebenden Senioren	48
Tabelle 8. Soziodemografische Faktoren und Besiedelung mit S. aureus bei Senioren, die in Pflegeheimen leben.....	50
Tabelle 9. Gesundheitsstatus, Lebensstil und S. aureus-Prävalenz bei Senioren, die in Pflegeheimen wohnen.....	52
Tabelle 10. Multivariable logistische Regressionsmodelle: Risikofaktoren die mit einer Besiedelung mit S. aureus assoziiert sind.....	54
Tabelle 11. Vergleich der Studienregionen Aachen und Würzburg.....	70
Tabelle 12. Soziodemografische Merkmale der nicht hospitalisierten Senioren	71
Tabelle 13. Gesundheitsstatus und Lebensstil der nicht hospitalisierten Senioren	72
Tabelle 14. Soziodemografische Faktoren und MRSA-Prävalenz bei nicht hospitalisierten Senioren	73
Tabelle 15. Gesundheitsstatus, Lebensstil und MRSA-Prävalenz bei nicht hospitalisierten Senioren	74
Tabelle 16. Gesundheitsstatus und Prävalenz von S. aureus bei geriatrischen Reha-Patienten	75
Tabelle 17. Soziodemografische Merkmale und Prävalenz von H. influenzae bei nicht hospitalisierten Senioren	76
Tabelle 18. Gesundheitsstatus, Lebensstil und Prävalenz von H. influenzae bei nicht hospitalisierten Senioren	77
Tabelle 19. Isolate und Sequenztypen der MLST bei NTHi.....	79

IV Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. med. Ulrich Vogel für die Überlassung des Themas, Frau Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Heike Claus für die Übernahme der Betreuung, sowie Dr. med. Thiên-Trí Lâm für die wertvollen Anregungen und Begleitung meiner wissenschaftlichen Ausbildung. Auch allen anderen Mitgliedern der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. med. Ulrich Vogel sei gedankt, vor allem Dr. rer. nat. Kerstin Hubert, Katrin Thiel und Daniela Stanke.

V Eigene Veröffentlichungen

Teutsch B, Berger A, Marosevic D, Schönberger K, Lãm TT, Hubert K, Beer S, Wienert P, Ackermann N, Claus H, **Drayß M**, Thiel K, van der Linden M, Vogel U, Sing A. Corynebacterium species nasopharyngeal carriage in asymptomatic individuals aged ≥ 65 years in Germany. Infection. 2017 Oct;45(5):607-611. doi: 10.1007/s15010-017-1017-0. Epub 2017 Apr 20. PMID: 28429151.

Teile dieser Arbeit wurden in folgender Publikation veröffentlicht:

Drayß M, Claus H, Hubert K, Thiel K, Berger A, Sing A, Linden MV, Vogel U, Lãm TT. Asymptomatic carriage of Neisseria meningitidis, Haemophilus influenzae, Streptococcus pneumoniae, Group A Streptococcus and Staphylococcus aureus among adults aged 65 years and older. PLoS One. 2019 Feb 8;14(2):e0212052. doi: 10.1371/journal.pone.0212052. PMID: 30735539; PMCID: PMC6368330.

