

***Korrespondierende Autorin**

Prof. Dr. med. Constanze Wendt
MVZ Labor Limbach
Im Breitspiel 15
61115 Heidelberg
E-Mail:
Constanze.Wendt@labor-limbach.de

Interessenkonflikt

Die Autorin gibt an, dass kein Interessenkonflikt im Sinne der Richtlinien des International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) besteht.

Zitierweise

Wendt C.
Hygienisch-mikrobiologische Untersuchungen zur Identifikation von Quellen bei der Analyse von nosokomialen Ausbrüchen. Hyg Med 2016; 41(1/2): D38–44

Manuskriptdaten

Eingereicht: 29.9.2015,
revidierte Fassung
angenommen: 15.1.2016

Praxis

Constanze Wendt*

MVZ Labor Limbach, Im Breitspiel 15, 61115 Heidelberg

Hygienisch-mikrobiologische Untersuchungen zur Identifikation von Quellen bei der Analyse von nosokomialen Ausbrüchen

Identification of the sources of nosocomial outbreaks: microbiological investigations

Zusammenfassung

Zur Ermittlung der Infektionsquelle bei Ausbruchsuntersuchungen (Ursachenfindung) gehören krankenhaushygienische Ortsbegehungen, Überprüfungen von Handlungsabläufen, systematische epidemiologische Analysen und hygienisch-mikrobiologische Untersuchungen. Im Rahmen einer Übersicht wird dargestellt, welche Überlegungen dabei helfen, die richtigen Orte für die Probenentnahme auszuwählen, zu entscheiden, mit welchem Besteck welche Art von Probe entnommen wird, die Untersuchungsmethode im Labor festzulegen und letztendlich die Ergebnisse der Probenentnahmen zu interpretieren. Eine enge interdisziplinäre Zusammenarbeit innerhalb des Ausbruchsmanagement-Teams, sowie dem mikrobiologischen als auch dem krankenhaushygienischen Labor sind erforderlich, um die erforderlichen Umgebungsuntersuchungen zielführend und kosteneffizient durchzuführen.

Schlüsselwörter: Ausbruchsuntersuchung · Nosokomiale Infektion · Umgebungsuntersuchung

Summary

The identification of the source is a crucial step in an outbreak investigation. To this end, site visits, process monitoring, epidemiological analysis, and laboratory investigations of samples from the environment as well as from possible index persons should be performed. Within this review we discuss how to select correct sites for sampling, what kind of material should be collected and which collection method should be used, how to determine the method of analysis in the laboratory and how to interpret the results of the sampling. Close interdisciplinary cooperation within the outbreak team, the microbiology laboratory and the hospital hygiene laboratory is necessary to carry out the required environmental tests in a targeted and cost-effective manner.

Keywords: Outbreak investigation · Nosocomial infection · Environmental sampling

Einleitung

Das Vorgehen bei der systematischen Untersuchung von Ausbrüchen nosokomialer Infektionen wurde in verschiedenen Publikationen zusammengestellt [1–4]. In der

Regel werden Schritte zur Untersuchung der Ausbrüche vorgeschlagen, z. B. [2]:
Schritt 1: Feststellen eines Auslöseereignisses
Schritt 2: Beurteilung der aktuellen Situation aufgrund der bereits vorliegen-

den Erkenntnisse und Entscheidung über die Einberufung des Ausbruchmanagement-Teams

Schritt 3: Einberufung des Ausbruchmanagement-Teams, Fallermittlung und ggf. Bestätigung eines Ausbruchs und entsprechende Meldung (§ 6 IfSG Abs.3)

Schritt 4: Erste krankenhaushygienische Ortsbegehung und Festlegung des akuten Handlungsbedarfs

Schritt 5: Festlegung von ersten Interventionsmaßnahmen zur Verhütung der Weiterverbreitung von Erregern (Schadensbegrenzung)

Schritt 6: Ermittlung der Infektionsquelle (Ursachenfindung)

Schritt 7: Bewertung aller erhobenen Befunde und Festlegung gezielter (ursächlicher) Interventionsmaßnahmen

Schritt 8: Abschluss des Ausbruchmanagements und Festlegung absichernder Maßnahmen

Schritt 9: Abschließende Evaluierung, Defizitanalyse und Festlegung von zukünftigen Präventionsstrategien

Schritt 10: Abschließende Dokumentation

Der Erkennung der Ursachen (hier Schritt 6) kommt dabei eine besondere Bedeutung zu, da hierdurch gezielte Präventionsmaßnahmen eingeleitet werden können.

Eine Analyse der Outbreak Database, in der zum Zeitpunkt der Abfrage 3.464 publizierte nosokomiale Ausbrüche erfasst wurden [<http://www.outbreak-database.com>, Abfrage 6.9.2015], zeigt jedoch, dass die Detektion der Quelle des Ausbruchs ein schwieriges Unterfangen ist. Für nahezu die Hälfte aller publizierten Ausbrüche konnte keine Quelle angegeben werden. Berücksichtigt man, dass die Wahrscheinlichkeit hoch ist, dass Ausbrüche, bei denen die Quelle nicht gefunden wurde, weniger häufig publiziert werden, so kann man davon ausgehen, dass eine Quelle bei deutlich weniger als der Hälfte der Ausbrüche nachgewiesen wird.

Zur Suche nach der Quelle gehören systematische epidemiologische Analysen, sorgfältig geplante krankenhaushygienische Ortsbegehungen, detaillierte Überprüfungen von Handlungsabläufen und hygienisch-mikrobiologische Untersuchungen [2].

Die anzuwendenden epidemiologischen Methoden werden in der Literatur vergleichsweise ausführlich beschrieben bzw. werden in entsprechenden Lehrbü-

Tabelle 1: Vergleich der Kriterien zur Durchführung mikrobiologischer Untersuchungen bei einzelnen Patienten und im Rahmen eines Ausbruchs.

	Mikrobiologische Diagnostik eines Patient mit Infektionsverdacht	Hygienisch mikrobiologische Untersuchungen im Rahmen eines nosokomialen Ausbruchs
Hintergrundkenntnisse	<ul style="list-style-type: none"> – Literatur – Leitlinien – Erfahrungen zu Erkrankungen mit vergleichbarer Anamnese und Symptomen – Kenntnisse zur lokale Epidemiologie 	<ul style="list-style-type: none"> – Literatur – Erfahrungen zum auslösenden Erreger und Ausbrüchen mit ähnlichen Erregern
Datenerhebung	<ul style="list-style-type: none"> – Anamnese – Körperliche Untersuchung 	<ul style="list-style-type: none"> – Epidemische Kurve – Line-Listing – Ortsbegehungen – Prozessbeobachtungen
Planung der Probennahme	<ul style="list-style-type: none"> – Stellen einer Verdachtsdiagnose 	<ul style="list-style-type: none"> – Erstellen einer Ursachenhypothese
Präanalytik	<ul style="list-style-type: none"> – Entnahme von geeignetem Untersuchungsmaterial auf Basis der Verdachtsdiagnose 	<ul style="list-style-type: none"> – Entnahme von geeignetem Untersuchungsmaterial auf Basis der Hypothese
Analytik	<ul style="list-style-type: none"> – Laboruntersuchung 	<ul style="list-style-type: none"> – Laboruntersuchung
Interpretation	<ul style="list-style-type: none"> – Befundinterpretation auf Basis der Verdachtsdiagnose 	<ul style="list-style-type: none"> – Befundinterpretation auf Basis der Ursachenhypothese

chern zur Epidemiologie oder Biostatistik dargestellt [1–5]. Systematische und gezielte Methodiken zur mikrobiologisch-hygienischen Untersuchung der Umgebung werden jedoch bisher nicht beschrieben. Nicht selten werden daher ungezielt viele Proben aus der Umgebung der Patienten entnommen, ohne dass ein systematisches Vorgehen dahinter steht. Dies kann anderweitig benötigte zeitliche und finanzielle Ressourcen vor Ort und im Labor blockieren und im ungünstigsten Fall die eigentliche Quelle verschleiern und ggf. zu teuren und nicht gerechtfertigten (nicht evidenzbasierten) Maßnahmen führen.

Daher soll im Folgenden der Aspekt der Umgebungsuntersuchungen im Rahmen der Untersuchung von Ausbrüchen nosokomialer Infektionen bearbeitet werden. Es wird dargestellt, welche Überlegungen dabei helfen, die richtigen Orte für die Probenentnahme auszuwählen, zu entscheiden, mit welchem Besteck welche Art von Proben entnommen wird, die Untersuchungsmethode im Labor festzulegen und letztendlich die Ergebnisse der Probenentnahmen in Zusammenschau mit den anderen im Rahmen einer Ausbruchsuntersuchung erhobenen Befunde zu interpretieren.

Auf Screening-Untersuchungen, wie sie für die möglichen Kontaktpatienten durchgeführt werden, soll nicht näher eingegangen werden, da sie in erster Linie der

Fallsuche und weniger der Ursachensuche dienen. Daher müssen hier andere Kriterien angelegt werden.

Kriterien für Untersuchungen

Für eine zielführende und kosteneffiziente Untersuchung ist es erforderlich, geplant und durch Hypothesen geleitet festzulegen, welche Proben mit welchem Probenbesteck entnommen werden und wie sie untersucht werden sollen. Dies soll zunächst an einem Vergleich mit der Diagnosefindung eines erkrankten Patienten vorgestellt werden.

Beispiel:

Ein Patient klagt über akut aufgetretene Abgeschlagenheit, Schüttelfrost und Husten. Bei der körperlichen Untersuchung zeigt sich eine erhöhte Temperatur und auskultatorisch ein gedämpftes Atemgeräusch über den links-basalen Abschnitten der Lunge. Gezielt werden als Untersuchungen eine Röntgenaufnahme der Lunge, eine mikrobiologische Kultur des Sputums und eine Blutkultur angefordert. Bei der Laboranforderung wird um Nachweis von Pneumonie-Erregern mit deren Resistenzen gebeten. Der Nachweis von Pilzen oder Mykobakterien wird nicht angefordert.

Aus dem Sputum werden Rachenflora und Pneumokokken (Penicillin-empfindlich) und aus der Blutkultur Koagulase-negative Staphylokokken isoliert. Die Koagulase-negativen Staphylokokken in der Blutkultur werden als Kontamination bewertet. Der Patient wird auf Basis der Diagnose Pneumokokken-Pneumonie resistenzgerecht mit Penicillin behandelt.

Zeigt ein Patient Symptome einer Infektionskrankung, so muss zunächst eine eingehende Anamnese und eine körperliche Untersuchung durchgeführt werden. Auf Basis der Ergebnisse können Verdachtsdiagnosen formuliert werden, die durch weitergehende Laboruntersuchungen bestätigt werden sollen. Es wird entschieden, welche Materialien wie gewonnen werden müssen und welche Laboruntersuchungen durchgeführt werden sollen. Es sollen dabei Untersuchungsmaterialien und Fragestellungen gewählt werden, für die eine möglichst hohe Prätestwahrscheinlichkeit für einen positiven Ausfall besteht. Würden an dieser Stelle ungezählt verschiedenste Untersuchungen durchgeführt, so besteht das Risiko, Befunde zu erheben, die mit dem eigentlichen Geschehen nichts zu tun haben. Dies kann von der eigentlichen Diagnose ablenken und zu fehlerhafter Therapie und damit auch zur Verschlechterung des Zustandes des Patienten führen.

Die erhaltenen Laborbefunde werden dann in Zusammenhang mit den Symptomen des Patienten interpretiert, so dass eine gezielte Therapie eingeleitet werden kann. So wurde im aufgeführten Beispiel der Befund aus der Blutkultur als Kontamination bewertet, ohne Konsequenzen für die weitere Therapie.

Untersuchungen im Rahmen eines Ausbruchs können mit diesem Beispiel verglichen werden (Tabelle 1).

Entscheidung zu Entnahmestellen für hygienisch-mikrobiologische Untersuchungen

Die Analyse der Outbreak Database (n=3268, Zeitraum von 1970 bis 2015) zeigt, dass die am häufigsten identifizierten Erregerquellen für Ausbrüche Mitpatienten (24,3 % der Ausbrüche), die unbesetzte Patientenumgebung (9,6 % der Ausbrüche), Medizinische Ausrüstung (8,6 % der Ausbrüche) und Personal (hierzu zählt sowohl kolonisiertes als auch passager kontaminiertes Personal) (8,3 % der Ausbrüche)

sind. In geringerer Häufigkeit wurden Medikamente (3,8 %), Lebensmittel (3,0 %) und Pflegeutensilien (2,3 %) als Quelle von Ausbrüchen identifiziert [<http://www.outbreak-database.com>, Abfrage 6.9.2015]. Damit liegt ein breites Spektrum an möglichen Quellen vor, deren ungezielte Untersuchung nicht sinnvoll ist.

Um mögliche Quellen einzugrenzen und für ein gezieltes Vorgehen bei der Gewinnung von Proben, werden im Rahmen der Untersuchung alle Informationen zusammengetragen, die für die Aufklärung des Ausbruchs relevant sind. Dazu gehören:

Art des Erregers und seine natürlichen Reservoirs

Aus hygienischer Sicht ist es sinnvoll, Erreger in drei Gruppen zu unterteilen.

1. Erreger, die direkt oder indirekt von Mensch zu Mensch übertragen werden können, ohne dass es relevante Reservoirs in der Umgebung gibt. Hierzu gehören z. B. *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pyogenes* oder Hepatitis-Viren.
2. Erreger, die von Mensch zu Mensch übertragen werden und daneben relevante Reservoirs in der Umgebung haben.
 - a. Hierbei können sogenannte Trocken- oder Luftkeime (z. B. *Staphylococcus aureus* oder *Candida albicans*) von
 - b. Nass- oder Pfützenkeimen (z. B. *Pseudomonas aeruginosa* oder *Escherichia coli*) abgegrenzt werden.
3. Erreger, die nicht von Mensch zu Mensch übertragen werden, jedoch zur Infektion von Menschen führen können (z. B. *Aspergillus fumigatus* oder *Legionella pneumophila*).

Entsprechend dieser Einteilung richtet sich bei Erregern der ersten Gruppe das Augenmerk auf Patienten oder Personal als mögliche Quelle, bei der zweiten Gruppe können sowohl Patienten oder Personal als auch die Umgebung eine mögliche Quelle sein und für die dritte Erregergruppe ist die Quelle in der Umgebung zu suchen.

Kenntnisse zu Übertragungswegen des Erregers aus früheren Geschehen und aus der epidemischen Kurve des aktuellen Geschehens

Die Form der epidemischen Kurve kann je nach ihrem Verlauf Hinweise darauf geben, ob es sich um eine Übertragung von Person zu Person, eine Übertragung aus einer Punktquelle oder um eine kontinuierlich streuende Quelle handelt. Idealisierte Kurven sind in Abbildung 1 in Anlehnung an eine Übersicht in „Prevention and control of nosocomial infections“ dargestellt [6]. Bei der Erstellung und Interpretation der Kurven muss berücksichtigt werden, dass sich der Verlauf der Kurve durch die Aufnahme oder Erweiterung eines aktiven Screenings von Patienten ändern kann und nicht den unten dargestellten Bildern entsprechen muss. Es kann daher sinnvoll sein, Kolonisationen und Infektionen in der Kurve zu trennen. Zu beachten bleibt weiterhin, dass es Mischformen der Übertragung gibt und dass sich epidemische Kurven im nosokomialen Setting von Ausbrüchen in anderer Umgebung unterscheiden können. Dies ist vor allem zu bedenken, wenn Ausbrüche durch opportunistische Erreger bedingt sind, deren Übertragungs-

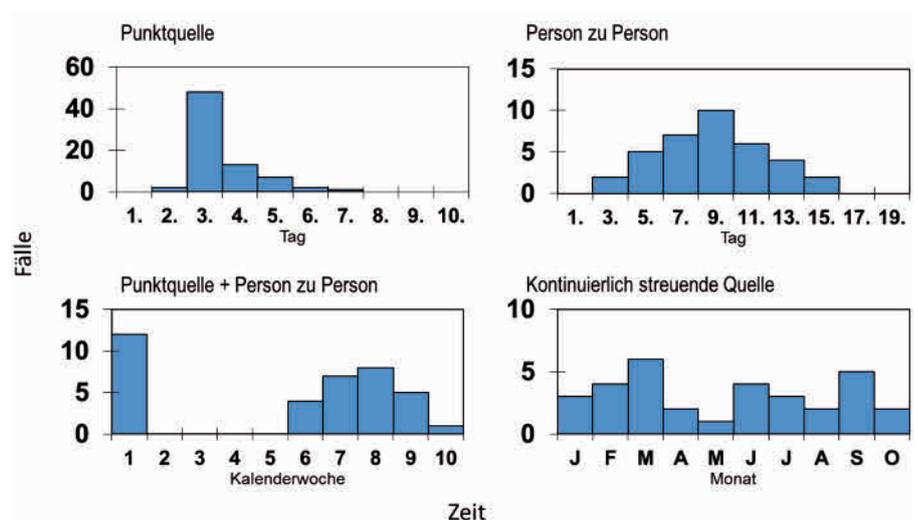


Abbildung 1: Idealisierte epidemische Kurven, adaptiert nach [6].

fähigkeit und Pathogenität von der Suszeptibilität der Patienten abhängt.

Punktquellen und kontinuierlich streuende Quellen können in der Umgebung zu finden sein, während bei der Übertragung von Person zu Person besiedelte oder infizierte Personen die Quellen darstellen.

Erkenntnisse aus der Zusammenstellung der Daten zu den betroffenen Patienten (Line Listing)

Das Line Listing sollte neben den Daten zur Person der Fälle, die Daten zu Aufnahme und Verlegungsverlauf inkl. Angabe zu den Stationen und Zimmern/Betten, sowie Daten zu Untersuchungen und Interventionen enthalten. Je nach Art des Ausbruchs können weitere Daten erforderlich sein. Aus diesen Daten können ggf. Kontakte oder Kontaktpunkte der Patienten abgeleitet werden. Zu einer möglichen Quelle sollte ein Großteil der betroffenen Patienten Kontakt gehabt haben, um tatsächlich die Mehrheit der Fälle erklären zu können.

Beobachtungen aus Vor-Ort-Begehungen und Beobachtungen von Prozessen

Die persönliche Beobachtung von Abläufen und den Verhältnissen vor Ort kann konkrete Hinweise auf mögliche Quellen geben, indem besonders Orte, Gegenstände und Abläufe betrachtet werden, die mit möglichst vielen der Fallpatienten in Beziehung standen. Dies kann ggf. durch Darstellung in einer Vierfeldertafel (betroffene und nicht betroffene Patienten gegenüber Kontakt zur vermuteten Quelle) auch statistisch überprüft werden.

Daneben können vor Ort weitere Erkenntnisse gewonnen werden, ob ein möglicher Untersuchungsort durch Anwesenheit eines Fallpatienten sekundär kontaminiert wurde oder ob es sich tatsächlich um den Ausgangsort der Übertragung handeln kann.

Erkenntnisse aus mehrerer der genannten Datenquellen sollten auf ein gemeinsames Reservoir hinweisen, bevor entschieden wird, diese Quellen zu untersuchen.

Als Beispiel für die besondere Relevanz dieser Zusammenhänge soll an dieser Stelle die Untersuchung von Personal als mögliche Quelle des Ausbruchs stehen. Entscheidet man sich für eine Personaluntersuchung ohne das Vorliegen mehrerer Hinweise auf Übertragungen ausgehend von asymptomatisch besiedeltem Personal, so kann die Detektion von Trägern zu nicht evidenzbasierten Maßnahmen mit erheb-

lichen Nachteilen für die betroffene Person führen. In diesem Zusammenhang sei darauf hingewiesen, dass vor der Untersuchung von Personal auch die Konsequenzen bei Nachweisen des gesuchten Erregers festgelegt werden müssen.

Bevor also Untersuchungen von der Umgebung oder Untersuchungen von Personen, die nicht der reinen Fallsuche dienen (Screenings) durchgeführt werden, sollten folgende Fragen beantwortet werden, um entsprechend hypothesengeleitet vorgehen zu können:

- Handelt es sich um einen Ausbruchserreger, der die Umgebung oder eine Person längerfristig – mindestens über die Zeit des Ausbruchs – kontaminieren bzw. kolonisieren kann?
- Wäre der Kolonisations- bzw. Kontaminationsort geeignet, dass der Erreger, auch bei guter Compliance mit der Basis-hygiene, von diesem Ort aus streuen kann und eine größere Zahl Patienten erreicht?
- Handelt es sich um eine epidemische Kurve, die mit einer kontinuierlich streuenden oder Punktquelle vereinbar ist?
- Gibt es in der Literatur Beschreibungen von Ausbrüchen, die auf die Kontamination bzw. Kolonisation dieses Ortes oder von Personen zurückzuführen waren?
- Hat der Großteil der Fallpatienten direkt oder indirekt Kontakt mit der verdächtigen Umgebung oder Person gehabt?
- Passen die mögliche Quelle und der mögliche Übertragungsweg mit der Art der auftretenden Infektionen zusammen?

Methode der Probengewinnung

Als Probenmaterialien kommen je nach Art des Ausbruchsgeschehens die unterschiedlichsten Medien in Betracht. Die Palette reicht von Flüssigkeiten (Wasser ggf. Abwasser, andere Flüssigkeiten, wie Desinfektionsmittellösungen oder Medikamente) über Lebensmittel, fest installierte Oberflächen, mobile Oberflächen von Geräten und Instrumenten oder Proben von Personal oder Mitpatienten bis hin zur Untersuchung der Luft.

In aller Regel soll eine hohe Sensitivität bei der Probenentnahme erreicht werden. Daher ist es sinnvoll, möglichst große Probennahme-Mengen zu erreichen. Einige der möglichen Untersuchungsmaterialien sind in Tabelle 2 zusammen mit Hinweisen auf die Behandlung der Proben dargestellt.

Kontaktkulturen mit verhältnismäßig kleinen Oberflächen und nur mäßigen Rückgewinnungsraten sind im Rahmen von Ausbruchuntersuchungen weniger geeignet. Gut geeignet sind im Gegensatz dazu Abstriche von größeren Flächen, die ggf. auch mit sterilen Lappchen entnommen werden können. Kleinere Instrumente oder Geräte können ggf. direkt in Bouillon eingelegt werden.

Direktes Aufbringen der Probe auf eine Oberflächenkultur sollte vermieden werden, da es die Möglichkeiten der Verwendung von Selektivnährböden erheblich einschränkt.

Laboruntersuchungsmethoden

Die Sensitivität der Untersuchung steht bei der Suche nach möglichen Quellen von Ausbrüchen im Vordergrund. Daher sollen entsprechende Methoden verwendet werden, die gezielt und möglichst sensitiv nach dem in Frage kommenden Erreger suchen. Fragestellung und Untersuchungsverfahren sollen möglichst schon vor der Probenahme festgelegt werden, um zu vermeiden, dass sich im Nachhinein herausstellt, dass nicht das bestgeeignete Verfahren verwendet wurde.

Mikrobiologische Proben von Personal oder Patienten können in der Regel nach den Standardmethoden der mikrobiologischen Diagnostik untersucht werden. Hier ist bei der Anforderung darauf zu achten, dass gezielt nach dem Erreger des Ausbruchs gesucht wird.

Bei der Untersuchung von Proben möglicher Quellen aus der Umgebung handelt es sich in aller Regel um Sonderuntersuchungen, für die sich standardisierte und akkreditierte umwelthygienische Verfahren oft nicht eignen. Die Standardverfahren dienen in der Regel der Qualitätssicherung und nicht der sensitiven Suche nach bestimmten Erregern. Beispielsweise findet man bei der Wasseruntersuchung nach Trinkwasser-Verordnung nur Pseudomonaden der Spezies *P. aeruginosa*, aber keine anderen Pseudomonaden.

Daher sollten solche Proben immer in Zusammenarbeit mit einem akkreditierten krankenhaushygienischen Labor entnommen und untersucht werden, das Erfahrung in den Methoden der Untersuchung des nicht menschlichen Probenmaterials hat und mit dem entschieden werden kann, ob sich Routinemethoden eignen oder ob

Tabelle 2: Entnahmemöglichkeiten und Probenbehandlung für Proben, die im Rahmen der Quellensuche bei Ausbruchsuntersuchungen entnommen werden können.

Untersuchungsmaterial	Entnahmemöglichkeit	Probenbesteck	Probenbehandlung
Trinkwasser	– Größere Menge, mindestens 100 ml	– Sterile Probengefäße, Volumen mindestens 100 ml	– Filtration
Medikamente	– Möglichst große Menge	– Originalgebinde, wenn möglich in Verwendung befindliches Gebinde und unangebrochene Gebinde derselben Charge	– Filtration, ggf. direkte Untersuchung durch Anreicherung in Bouillon – Ggf. Anlage unter Reinraumbedingungen unter Berücksichtigung der Validierung nach Pharmakopöe
Desinfektionsmittellösungen	– Größere Menge, Entnahme mit Enthemmer	– Steriles Probengefäß (ca. 100 ml) mit vorgelegtem Enthemmer	– Filtration, direkte Untersuchung
Spüllösungen	– Größere Menge, ggf. Entnahme mit Enthemmer	– Steriles Probengefäß (ca. 100 ml) ggf. mit vorgelegtem Enthemmer	– Filtration, direkte Untersuchung
Natürlich kontaminiertes Wasser (z. B. Wasser aus Kühltürmen, Abwasser)	– Kleine bis mittlere Mengen ausreichend (bis maximal 100ml)	– Steriles Probengefäß (10–100 ml)	– Direkt Untersuchung – Verdünnung, wenn eine selektive Untersuchung nicht möglich ist – Anreicherung nach Dekontamination, wenn möglich
Lebensmittel	– Rückstellproben	– Sterile Rückstellgefäße	– Entsprechend den üblichen Vorgaben (siehe z. B. [7]), ggf. zusätzliche Anreicherungen
Nicht mobile Oberflächen oder Oberflächen größerer Medizinprodukte, die sich nicht zum Einlegen eignen	– Abstriche mit befeuchtetem Tupfer, Lappchen oder Schwämmchen – Ggf. Durchspülen von Lumina (vgl. Endoskope)	– Sterile Tupfer, Lappchen, Schwämme, sterile Lösung zum Befeuchten und sterile Transportgefäße, ggf. mit Transportmedien, um ein Austrocknen zu verhindern – Spüllösungen s. o.	– Anreicherung und Direktanlage – Spüllösungen s. o.
Mobile Produkte (z. B. Instrumente, Geräte, Materialien wie Verbandmaterialien), die sich zum Einlegen eignen	– Originalprodukt, wo möglich, sonst siehe bei nicht mobilen Oberflächen	– Transport des gesamten Produktes in steriler Verpackung	– Einlegen in Nährlösung – bei nicht sterilen Produkten möglichst selektive Medien verwenden
Raumluft	– Aktive Luftkeimsammlung – Sedimentation (weniger sensitiv als aktive Sammlung) – Impingerverfahren (Waschflaschen)	– Luftkeimsammler mit entsprechenden Nährmedien – Ggf. Spezialmedien – Impingerflaschen mit geeigneter Lösung	– Direkte Bebrütung – Filtration
Proben von Personen	– Abstriche	– Transportgefäß mit Transportmedien	– Direkt Untersuchung – Anreicherung

im Sinne der Sensitivität von üblichen Methoden abgewichen werden muss. Zu Bedenken sind hier beispielsweise der Einsatz von Enthemmern, die Möglichkeiten der Anreicherung und der gezielten Hemmung von Begleitflora, sowie der Validierung der Verfahren. Hinzukommen muss ggf. die Erfahrung zu speziellen Nährmedien für besondere Krankheitserreger aus der mikrobiologischen Diagnostik, so dass ein interdisziplinäres Team erforderlich ist.

Wo möglich, können selektive Nährmedien eingesetzt werden, auf denen gezielt

bestimmte Erregergruppen, Erregerspezies oder Erreger mit bestimmten Eigenschaften, z. B. Antibiotikaresistenz angezüchtet werden können. Der Einsatz solcher Medien kann ein Überwachsen mit anderer mikrobieller Flora, die für die aktuelle Fragestellung nicht von Interesse ist, verhindern. Andererseits besteht das Risiko, dass die Empfindlichkeit der Untersuchung reduziert wird, weil die Erreger sich durch Persistenz außerhalb des Menschen verändert haben können, z. B. ihre Antibiotikaresistenz nicht in vollem Maße experi-

mieren. In solchen Fällen kann eine Kombination aus selektiven und nicht selektiven Medien hilfreich sein.

Bei der Untersuchung von Quellen muss sichergestellt werden, dass alle relevanten Isolate asserviert werden, um sie später einer Typisierung zugänglich machen zu können.

Molekularbiologische Methoden auf Basis der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) sind für die primäre Suche nach auslösenden Mikroorganismen in der Regel nicht geeignet, da sie lediglich DNA aber nicht ver-

mehrfachfähige Mikroorganismen nachweisen können. Zudem ist eine Typisierung auf Basis von PCR-Produkten in der Regel nicht möglich.

Nur in speziellen Fällen, z. B. bei nicht anzüchtbaren Mikroorganismen, wie z. B. *Pneumocystis jirovecii* oder Viren kann auch eine PCR angezeigt sein.

Typisierung

Zur weiteren Klärung, ob ein von Patienten, Personal oder aus der Umgebung gewonnenes Isolat tatsächlich zum Ausbruch gehört, müssen insbesondere bei ubiquitär nachweisbaren Spezies Typisierungsmethoden herangezogen werden. Hierbei haben sich molekularbasierte Methoden durchgesetzt, da sie im Gegensatz zu phänotypischen Methoden deutlich besser standardisierbar und reproduzierbar sind. Zu den derzeit zur Verfügung stehenden Methoden gehören die Analyse von Plasmidprofilen, Pulsfeldgelelektrophorese (PFGE) von Restriktionsfragmenten, Genomkartierungen, Zufallsprimer-PCR (RAPC), PCR repetitiver Elemente (rep PCR), Ribotypisierung, selektive Amplifikation bestimmter DNA-Fragmente (AFLP), Sequenzierung bestimmter Genabschnitte (Housekeeping Gens) (MLST), Amplifizierung von Genabschnitten mit variabler Länge, die durch die Anzahl der Abschnittswiederholungen bedingt sind (MLVA), Sequenzierungen einzelner Gene (z. B. des *spa*-Gens bei *S. aureus*), Detektion von Einzelnukleotidpolymorphismen (SNP), Sequenzierung des Gesamtgenoms oder Massenspektrometrie. Hierbei gilt die PFGE nach wie vor als der Goldstandard für die Typisierung, da sie ein sehr hohes Unterscheidungsvermögen besitzt und für eine große Breite bakterieller Erreger und einiger Pilze durchführbar ist. Die Durchführung ist jedoch zeitaufwändig und teuer. Andere Methoden sind für spezielle Erreger gut untersucht und angepasst.

Die Methoden sowie deren Vor- und Nachteile zu beschreiben, würde den Artikel sprengen. Hier sei auf die entsprechende Fachliteratur verwiesen [8]. Typisierungen bleiben in der Regel spezialisierten Laboren vorbehalten, wobei hier die Zusammenarbeit mit Referenzlaboratorien gesucht werden sollte [9].

Auch die Befunde der Typisierung müssen kritisch im Zusammenhang mit den epidemiologischen Daten sowie den Erkenntnissen zum Verhalten einzelner Erre-

Tabelle 3: Vergleich der Kriterien zur Durchführung mikrobiologischer Untersuchungen bei einzelnen Patienten und im Rahmen eines Ausbruchs.

Ergebnis der Probe	Die Epidemiologie legt nahe, dass es sich um eine Quelle handelt	Epidemiologisch gibt es keine Hinweise, dass es sich um eine Quelle handelt
Negativer Befund	Einzelne negative Befunde schließen die Quelle nicht aus. Wiederholungen sind notwendig.	Es wurde eine Probe untersucht, die man nicht hätte untersuchen sollen. Das Ergebnis bestätigt den Ausschluss der Quelle
Positiver Nachweis	Die Vermutung wurde bestätigt. Die Quelle wurde mit hoher Wahrscheinlichkeit nachgewiesen.	Es handelt sich wahrscheinlich um einen Zufallsbefund ohne Bedeutung für den Ausbruch. Vorschnelle Maßnahmen vermeiden.

ger (klonale Verbreitung oder hohe genetische Variabilität) bewertet und interpretiert werden.

Interpretation der Befunde

Die Befunde aller bei der Ausbruchsuntersuchung gesammelten Proben müssen im Hinblick auf die Hypothese interpretiert werden. Hierbei sind die Fragen zu beantworten, ob

1. der negative Befund die Quelle sicher ausschließt und
2. der positive Befund tatsächlich einen Großteil der Patientenfälle erklärt.

Liegt eine hohe Prätestwahrscheinlichkeit für einen positiven Befund vor, d. h. verschiedene Daten weisen auf eine Quelle hin, in der dann auch Erreger nachgewiesen wurden, so macht dies wahrscheinlich, dass die Quelle des Ausbruchs gefunden wurde (Tabelle 3). Ist bei gleicher Konstellation ein Befund negativ, so kann dies an der mangelnden Sensitivität der Methode liegen und es ist zu diskutieren, ob eine Untersuchung wiederholt wird und dabei sensitive Methoden eingesetzt werden können.

Bei wiederholt negativen Befunden sind die epidemiologischen Daten erneut dahingehend zu betrachten, ob andere Quellen vorliegen können.

Finden sich positive Ergebnisse in Proben, für die eine geringe Prätestwahrscheinlichkeit vorlag, d. h. die vorhandenen Daten stehen nicht mit dem Probenergebnis in Einklang, so kann es sich hier um einen unabhängigen Nebenbefund handeln, und die Suche nach der Quelle sollte fortgeführt werden. Die Entnahme solcher Proben sollte im Rahmen der Untersuchung von Ausbrüchen vermieden werden.

Beispiel:

Im Rahmen eines Ausbruchs von MRSA-Kolonisationen wurden alle Mitarbeiter der Station untersucht, die aktuell auf den verschiedenen Dienstplänen standen. MRSA wurde bei einem Famulanten nachgewiesen.

Weitere Nachforschungen ergaben, dass der Famulant erst seit zwei Wochen auf der Station eingesetzt wurde, sechs der acht betroffenen Patienten aber bereits davor positiv getestet worden waren. Somit könnte der Famulant zwar im Rahmen des Ausbruchs kolonisiert worden sein, kann jedoch nicht die Quelle für die ersten sechs Patienten gewesen sein.

Bei einem gezielten Vorgehen wären nur Personen untersucht worden, die über den ganzen Ausbruchszeitraum Kontakt zu den betroffenen Patienten gehabt haben können.

Bei den Überlegungen zur Interpretation positiver Befunde sollte auch immer wieder hinterfragt werden, ob ein positiver Befund lediglich die Konsequenz aus der Kontamination durch einen Fallpatienten ist, oder ob eine logische Möglichkeit besteht, dass Patienten tatsächlich aus dieser Quelle infiziert worden sein können.

Beispiel:

Während eines Ausbruchs von 4MRGN *Acinetobacter baumannii* wurde der Erreger auf der Außenseite einer Handschuhbox gefunden.

Die Box befand sich im Zimmer eines Fallpatienten und wurde nur dort eingesetzt. Damit handelt es sich am ehesten um eine sekundäre Kontamination durch den im Zimmer behandelten Patienten. Die Untersuchung war nicht zielführend.

Hätte es sich um eine Box gehandelt, die auf einem Verbandswagen von Zimmer zu

Zimmer mitgenommen wurde, so wäre hier eine mögliche Quelle gefunden worden.

Schlussfolgerungen

Vergleichbar mit der Diagnostik eines kranken Patienten sollten auch bei der Untersuchung von Ausbrüchen Proben möglichst gezielt entnommen werden. Neben dem finanziellen Aspekt verhindert dies, dass nicht den Ausbruch erklärende (falsch-positive) Nebenfunde von der eigentlichen Ursachensuche ablenken und ggf. zu teuren und einschneidenden Maßnahmen führen, die jedoch nicht relevant für die Beendigung des Ausbruchs sind. Andererseits soll durch die gezielte Probenentnahme die Quelle identifiziert werden, um den Ausbruch schnellstmöglich mit zielgerichteten Maßnahmen zu beenden und die Ursache nachhaltig zu beseitigen.

Um die Abarbeitung und Ergebnisinterpretation von Proben, die im Rahmen von Ausbruchsuntersuchungen gewonnen wurden, zu erleichtern, kann die Verwendung eines individuellen Probennahmeprotokolls hilfreich sein. In diesem sollten neben den üblichen Angaben zu Probenmaterial und Entnahmestelle dokumentiert werden, welcher Erreger im Rahmen der Ausbruchsanalyse gesucht wird und welche Daten auf die gewonnene Probe als Quelle hinweisen.

Letztlich sollte nicht unerwähnt bleiben, dass besonders schwerwiegende Ausbrüche nicht selten auch rechtliche Konsequenzen haben, so dass der korrekten Probenentnahme und fachkundigen Untersuchung sowie der dazugehörigen Dokumentation eine hohe Bedeutung zugemessen werden muss. Eine enge Zusammenarbeit innerhalb des Ausbruchsmanagement-Teams und mit dem mikrobiologischen und dem krankenhaushygienischen Labor ist unabdingbar, um einen interdisziplinären Austausch zu gewährleisten und ein fachlich hochwertiges Ausbruchmanagement sicherzustellen.

Literatur

1. Ammon A, Gastmeier P, Weist K, Kramer MH, Petersen LR. Empfehlungen zur Untersuchung von Ausbrüchen nosokomialer Infektionen. RKI 2001 (http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/Kommission/Downloads/Ausbr_RiliHeft.pdf?__blob=publicationFile) (Letzter Abruf: 18.1.16)
2. Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert Koch-Institut. Ausbruchmanagement und strukturiertes Vorgehen bei gehäuftem Auftreten nosokomialer Infektionen. Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz 2002;45:180–186. http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/Kommission/Downloads/Ausbr_Rili.pdf?__blob=publicationFile (Letzter Abruf: 18.1.16)
3. Minjal I, Ostrowski B. Investigation of Disease Outbreaks In Manual of Clinical Microbiology, 11th Edition, Jorgenden J.H., Pfaller M.A. et al Editor, 2015, ASM Press 131–160.
4. Jarvis WR. Investigation of Outbreaks in Hospital Epidemiology an Infections Control, 4th Edition, Mayhall C.G. Editor, 2014 Lippinkott Williams and Wilkins 136–141.
5. Diepgen TL. Grundwissen Epidemiologie, medizinische Biometrie und medizinische Informatik. Querschnittsbereich 2008 Verlag Hans Huber, Bern.
6. Wendt C, Herwaldt LA. Epidemics: identification and management. In: Prevention and control of nosocomial infections, Wenzel RP, Editor. 1997, Williams and Wilkins, Baltimore. 175–213.
7. Baumgart J, Becker B, Stephan R (Herausgeber: Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln, Loseblattwerk Behr's Verlag
8. Trees E, Rota PA, McCannel D, Gerner-Schmidt P. Molecular Epidemiology In Manual of Clinical Microbiology, 11th Edition, Jorgenden JH, Pfaller MA et al Editor, 2015, ASM Press 131–160.
9. Robert Koch-Institut. Nationale Referenzzentren und Konsiliarlabore. Stand Januar 2016. http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/NRZ/nrz_liste.pdf?__blob=publicationFile (Letzter Abruf: 18.1.16)