Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene

Abt.: Infektionsmedizin

Mikrobiologische Diagnostik von Proben des Respirationstraktes

<u>Für die mikrobiologische Basisdiagnostik sind folgende Proben sinnvoll:</u>

- 1) Sputum (keine Speichelprobe, nur bei makroskopisch eitriger Beschaffenheit aussagekräftig)
- 2) Trachealsekret / Bronchialsekret
- 3) Bronchoalveoläre Lavage (BAL)
- 4) Rachenabstrich nur, wenn Sputum oder Proben aus dem unteren Respirationstrakt nicht zu gewinnen sind
- Trachealsekret ist beim kritisch kranken Patienten für eine primäre mikrobiologische Erregerdiagnostik ausreichend gut geeignet.
- Indikation für eine BAL ergibt sich aus besonderen differenzialdiagnostischen Überlegungen, möglichen therapeutischen Aspekten einer endoskopischen Untersuchung und dem Risikoprofil des Patienten (z.B. molekularbiologische Diagnostik einer Pneumocystis-Pneumonie).
- (Andere invasive Verfahren wie "protected specimen brush"(PSB) und Biopsien haben in der Routinediagnostik keinen Stellenwert und ggn. den oben genannten Patientenproben keinen Vorteil und bleiben somit allenfalls Spezialindikationen vorbehalten)

Sputumproben und Trachealsekrete sind oft mit oropharyngealer Begleitflora kontaminiert; auch bei intubierten Patienten ist der Respirationstrakt regelhaft nicht steril. Daher muss die Relevanz nachgewiesener Keime in der Pathogenese einer bakteriellen Infektion überprüft werden. Von Seiten der Mikrobiologie fassen wir diesbezüglich irrelevante Erreger wie folgt zusammen in:

- Oropharyngeale Normalflora
- Grampositive Mischflora (oft das kulturelle Ergebnis nach/unter Antibiotikagabe) [subsumiert sind hierunter z.B. *Enterococcus spp., Corynebacterium spp.*, koagulasenegative Staphylokokken]

Proben sollten umgehend im Labor bearbeitet werden; ist dies nicht möglich, sollen diese bei 4–8°C gekühlt gelagert und bei nächster Möglichkeit transportiert werden. Neben dem Absterben empfindlicher Erreger wie z. B. Pneumokokken und *Haemophilus influenzae* besteht die Gefahr der Überwucherung durch schnell wachsende, möglicherweise irrelevante Mikroorganismen.

Die **Keimzahl** ist ein Kriterium zur Interpretation der Relevanz potentieller Krankheitserreger und hilfreich, zwischen Kolonisation und Infektion zu unterscheiden. Folgende **Schwellenwerte** sind hierfür beschrieben, besitzen aber aufgrund der unten dargestellten Limitationen nur orientierenden Charakter:

- ≥10 ⁵ KBE/ml für Sputum und Trachealsekret
- ≥10 4 KBE/ml für BAL

Diese Grenzwerte unterliegen vielen Störgrößen:

- Erregerart, Stadium der Infektion
- Wirtimmunität
- vorangegangene oder laufende Antibiotikatherapie
- Transportdauer und Technik der Probengewinnung (z.B. Menge der instillierten Flüssigkeit bei BAL)

Entsprechend dem klinischen Erscheinungsbild und des Risikoprofils, müssen ggf. folgende **Spezialuntersuchungen** angefordert werden, die unten näher erläutert werden:

- Legionellendiagnostik
- Diagnostik auf Mykobakterien (z.B. TBC)
- Molekularbiologischer Direktnachweis "besonderer Erreger" (Chlamydia pneumoniae, Mycoplasma pneumoniae, Legionella spp., Bordetella pertussis/-parapertussis, Pneumocystis jirovecii)
- Schimmelpilzdiagnostik ("Kultur auf Pilze", Aspergillus-Antigen (Serum+respiratorische Probe), Aspergillus-PCR, <u>Beta-D-Glukan (Serum)</u> indiziert z.B. bei Patienten mit Immunkompromittierung, strukturellen Lungenerkrankungen, Leberzirrhose, rheumatologischen Grunderkrankungen.

Handelt es sich nicht um einen schwer immunkompromittierten Patienten (z.B. Agranulozytose, Z.n. KMTx, Einnahme einiger *Biologicals*) kann auf eine Candida-Diagnostik aus respiratorischen Proben verzichtet werden: Candida-Pneumonien sind extrem selten

Bearbeitungsdauer der Diagnostik:

Die kulturellen Anlagen von Proben aus dem Respirationstrakt werden mind. 2 Tage bebrütet; Spezialkulturen länger, bevor ein endgültiges Ergebnis zu erwarten ist: Legionellen 5 Tage, Schimmelpilze 10 Tage

Spezialdiagnostik aus "respiratorischen Proben"

I. <u>Legionellen</u>:

Die Legionellose (Legionärskrankheit) verläuft als akute respiratorische Erkrankung in Form eines leichten grippalen Infektes (Pontiac-Fieber) oder aber als Pneumonie, die ohne adäquate Therapie eine hohe Letalität aufweist. 80-85% der Legionellosen werden durch *Legionella pneumophila* verursacht, die meistens der Serogruppe 1 und 6 angehören.

Indikation:

- immer bei schwer verlaufenden ambulant erworbenen Pneumonien (intensivpflichtige Pat.)
- Diagnostik "atypischer Pneumonien"

1) Nachweis von Legionellen Antigen im Urin (falls möglich: konzentrierter Morgenurin)

Ausschließlich sicherer Nachweis von *Legionella pneumophila* Serogruppe 1.

Der Nachweis anderer Serogruppen von Legionella pneumophila oder Legionella non-pneumophila spp. erfolgt molekularbiologisch oder kulturell (nach expliziter Anforderung).

Antigen-Teste sind nicht in der Lage, eine Legionellose sicher auszuschließen: bei entsprechendem Verdacht sollte daher der molekularbiologische Direktnachweis aus einer Probe des unteren Respirationstraktes angestrebt werden: – siehe Punkt 3

2) Kultureller Nachweis von Legionellen:

Bei begründetem Verdacht und zur Diagnosesicherung eines positiven Legionella-Antigen Nachweises im Urin können Legionellen aus (tiefem) respiratorischen Proben (z.B. Bronchialsekret bzw. bronchoalveolärer Lavage [BAL]) kultiviert werden.

Da hierfür Spezialnährmedien erforderlich sind, muss diese Untersuchung gesondert angefordert werden; aus BAL führen wir diese Untersuchung routinemäßig durch; aufgrund des langsamen Wachstums von Legionellen dauert der kulturelle Nachweis mehrere Tage.

3) Molekularbiologischer Nachweis von Legionellen durch PCR (Polymerasekettenreaktion):

Bei begründetem Verdacht und zur Diagnosesicherung eines positiven Legionella-Antigen Nachweises im Urin können Legionellen aus (tiefem) respiratorischem Material (z.B. Bronchialsekret bzw. bronchoalveolärer Lavage) molekularbiologische (PCR-Diagnostik) direkt nachgewiesen werden. (Durchführung an jedem Werktag und einmal an Wochenenden)

II. Diagnostik auf Mykobakterien (z.B. TBC) bei V.a. pulmonale Erkrankung

(für weiterführende Details siehe Merkblatt "Tuberkulose-Diagnostik")

Übersicht geeigneter Patientenproben bei V.a. pulmonale Erkrankung durch Mykobakterien

*** = von 3 aufeinanderfolgenden Tagen jeweils eine repräsentative Probe einsenden

	, , , , , , , , , , , , , , , , , , , 	•
Sputum ***	2-5 ml	 vor der Sputum-Abgabe nicht den Mund spülen Abhusten aus den tiefen Atemwegen möglichst erstes Morgensputum Kontamination durch Speichel möglichst vermeiden kein Sammelsputum (nicht länger als 1 Stunde sammeln) wenn kein Sputum abgehustet werden kann: Sputum-Induktion durch 5-10%ige NaCl-Inhalation Bronchoskopie (bei Erwachsenen) bei kleinen Kindern: Magennüchternsekret/-spülwasser
Bronchialsekret ***	2-5ml	Bronchoskopisch unverdünnt gewinnen Cave: lokal wirksame Anästhetika können aufgrund ihrer bakteriziden Wirksamkeit Untersuchungsergebnis verfälschen
Bronchoalveoläre Lavage (BAL)	10-30ml	Möglichst gezielt das betroffene Segment lavagieren
Bronchoskopisch gewonnene Biopsien		max. 1-2ml sterile physiologische Kochsalzlösung zusetzen
Magennüchtern- sekret***	2-5ml	vor allem bei kleinen Kindern → besondere Transportmedien mit Pufferzusatz benutzen
Magenspülwasser***	20-30ml	 ansonsten Sputum / bronchoskop. gewonnene Proben vorziehen