

Institut für Medizinische Mikrobiologie, Virologie und Hygiene  
Universitätsmedizin Rostock

### **Newsletter Herbst 2018**

Sehr geehrte, liebe Kolleginnen und Kollegen,  
im Folgenden lesen Sie den Newsletter unseres Institutes für das Jahr 2018. Die Themen entnehmen Sie bitte den Überschriften.

#### **Molekularbiologische Diagnostik zum Nachweis von Enteritis-Erregern**

Unter den mikrobiologischen Untersuchungen zum Nachweis von Infektionserregern ist die Stuhldiagnostik zurzeit noch in vielerlei Hinsicht unbefriedigend. Das Darmlumen ist der Teil des menschlichen Körpers mit der größten Menge / Masse an Mikroorganismen. Im gesunden Menschen bleiben die Mikroorganismen intraluminal und verrichten dort lebenswichtige Funktionen. Eine Infektion durch pathogene Erreger findet immer in Gegenwart dieser physiologischen Mikroflora statt, wobei in aller Regel auch bei einer gravierenden Symptomatik die physiologischen Mikroorganismen die pathologischen im Stuhl zahlenmäßig um Zehnerpotenzen dominieren.

Deswegen werden bis heute in der mikrobiologischen Stuhldiagnostik selektierende Verfahren angewendet, um die wenigen pathogenen unter den vielen physiologischen Keimen zu isolieren und identifizieren. Dies funktioniert weder mit Kultur-gebundenen noch mit serologischen Verfahren wirklich gut, weil hier die beiden zentralen diagnostischen Qualitätsparameter Sensitivität und Spezifität im extremen Widerstreit stehen – bildlich gesprochen erkennt man den Wald vor lauter Bäumen nicht oder holzt ihn so ab, dass man keine Bäume mehr findet. Bei den Kultur-gebundenen Tests kommt hinzu, dass es keine Selektionsverfahren gibt, mit denen man pathogene *E. coli* Varianten unter den physiologischen herausfiltern könnte (und wir deswegen nicht wissen, wie häufig diese in Deutschland Infektionen verursachen). Bei den serologischen Tests stört schließlich die Matrix Stuhl mit Unmengen schlecht definierter biochemischer Bestandteile so sehr, dass viele Testansätze nicht auswertbar sind.

Deswegen hat das IMIKRO bereits vor Jahren den Nachweis von enteropathogenen Viren komplett von serologischen auf molekularbiologische Testverfahren umgestellt, mit einer Sensitivitätssteigerung um mindestens das Doppelte und einer Spezifitätssteigerung um hoch zweistellige Werte.

Für die Untersuchung auf pathogene Bakterien und Parasiten gab es längere Zeit nur molekularbiologische Tests zum Nachweis einzelner Erreger wie toxische *Clostridium difficile*-Stämme. Nun sind von mehreren Herstellern kommerzielle Multiplex-PCR-Tests verfügbar, die eine durchgängig molekularbiologische Enteritisiagnostik ermöglichen. Das IMIKRO hat sich entschieden, das zurzeit umfassendste und zugleich preiswerteste System einzuführen. In den letzten Monaten haben wir die Validierung des Systems abgeschlossen, so dass wir der UMR die Diagnostik auf ab Dezember akkreditiertem Niveau anbieten können und dann auch sukzessive bis Anfang 2019 einführen werden.

In Zukunft können wir folgende Erreger nachweisen:

Panel 1: Adenovirus, Astrovirus, Norovirus GI/II, Rotavirus, Sapovirus

Panel 2: Aeromonas spp., Campylobacter spp., Clostridium difficile Toxin B, EIEC / Shigella spp., Salmonella spp., Vibrio spp., Yersinia enterocolitica

Panel 3: C. difficile (hypervirulent), E. coli O157, pathogene E. coli Stämme (EAEC, EHEC, EPEC, ETEC)

Panel 4: Blastocystis hominis, Cryptosporidium spp., Cyclospora cayetanensis, Dientamoeba fragilis, Entamoeba histolytica, Giardia lamblia.

Typischerweise werden wir gemäß Ihrem Auftrag bzw. dem Kriterium dünnflüssiger vs. breiiger, schleimiger und/oder blutiger Stuhl zunächst Panel 1 oder 2 in Anwendung bringen, im zweiten Schritt dann vice versa.

Die anderen Panels kommen nur durch Ihren spezifischen Auftrag zum Einsatz.

Um den Mehraufwand an Arbeit und Sachmitteln zu kompensieren, werden wir dafür die kulturelle bzw. serologische Stuhl Diagnostik als primäre Diagnostik unterlassen und nur bei positiven PCR-Tests auf bakterielle Erreger ggf. nachträglich zum Einsatz bringen, um Resistenztestungen durchführen zu können.

Wenn Sie allerdings gezielt eine auch primär durchzuführende Kultur-gebundene Diagnostik beauftragen, werden wir diese selbstverständlich durchführen.

Damit fällt Ihnen eine wichtige bahnende Funktion zu: wir brauchen umso mehr Ihre anamnestischen Angaben zum Enteritisgeschehen und soweit nicht offensichtlich, zur Stuhlkonsistenz, damit wir a priori die am ehesten in Frage kommende Teste zum Einsatz bringen. Sofern Sie uns diese Daten korrekt liefern, sollte die ökonomische Belastung insbesondere durch das Einsparen der relativ teuren serologischen Tests für Sie weitgehend unverändert bleiben.

Der Gewinn wird insbesondere im vermehrten Nachweis bakterieller Enteritiserreger liegen – dies schärft Ihre Diagnosen, ermöglicht eine spezifischere Behandlung Ihrer Patienten und führt schließlich zu einer höherwertigen DRG-Kodierbarkeit des Falles !

### **Verschlinkung der Zytomegalie-Diagnostik**

Neben den klassischen Antikörpernachweisen bietet das IMIKRO zwei unterschiedliche Testverfahren zum direkten CMV-Nachweis an, den serologischen pp65 Antigen (Ag) Immunfluoreszenztest und eine quantitative PCR (als je nach Untersuchungsmatrix an der Zellzahl normierte Duplex-PCR zusammen mit einem EBV-Nachweis – eine in house Methode, die wir hochrangig publizieren konnten).

Der pp65-Ag-Nachweis ist in die Jahre gekommen. Er ist nicht nur extrem arbeitsaufwändig, weil jede Probe am Fluoreszenzmikroskop beurteilt werden muss, sondern wegen der speziellen diagnostischen Antikörper auch extrem teuer. Dabei krankt der Test zunächst einmal wie jeder mikroskopische Test von der Betrachterabhängigkeit, zudem auch von der Zahl von Leukozyten, die in den Test eingesetzt werden. Auch wenn wir dies vorherige Zellzählung versuchen zu steuern, kommt es immer wieder zu Extremwerten, die Sensitivität (zu wenig Zellen) oder Spezifität (zu viele Zellen) beeinflussen.

In Zusammenarbeit mit der Klinik für Hämatologie und Onkologie haben wir daher an deren Patientengut die Ergebnisse beider Tests über 4,5 Jahre hinweg verglichen. Lediglich im Bereich ganz geringer CMV-Mengen pro Probe kommt es zu diskrepanten Ergebnissen zwischen beiden Tests, wobei sich durch Prüffunktionen die isoliert niedrig positiven pp65-Ag-Werte mehrheitlich als falsch positiv erwiesen. Auf dieser Basis kamen wir gemeinsam zum Schluss, dass die alleinige Bestimmung der CMV-Mengen durch eine quantitative PCR hinreichend genau ist. Entsprechend werden wir die noch verfügbaren Antiseren für den pp65-Ag-Nachweis aufbrauchen und dann nur noch die PCR einsetzen, was ab Mitte Dezember 2018 der Fall sein dürfte.

### **Auf ein Wort – die Cito-Diagnostik**

So oft, wie Aufträge an uns mit einem Cito-Vermerk versehen werden, haben wir den Eindruck, dass einigen Einsendern nicht klar ist, was der Cito-Auftrag bedeutet – außer dass damit der Wunsch ausgedrückt wird, dass es besonders schnell gehen möge. Dabei sind bei uns die regelhaften Bearbeitungszeiten schon sehr kurz – jeder der in anderen Kliniken der Region gearbeitet hat, wird dies bestätigen können.

Der Cito-Auftrag bedeutet, dass dieser Probe die höchste Bearbeitungspriorität eingeräumt wird und alle anderen Proben demgegenüber zurückzustehen haben. Entsprechend muss auch der klinische Hintergrund geartet sein, dass für den einen Patienten alle anderen ins Hintertreffen geraten.

Im Fall der mikroskopischen und Kulturdiagnostik bedeutet der Cito-Auftrag, dass diese Probe an allen anderen vorbei in der Schlange vorgezogen wird und sich die Bearbeitung der anderen um die Bearbeitungszeit der Cito-Probe nach hinten verschiebt. Dies mag selbst bei zweifelhafter Berechtigung des Cito-Auftrages zu hinnehmbaren Nachteilen für die anderen Proben und die daran hängenden Patienten führen. Im Fall von serologischen und molekularbiologischen Untersuchungen bedeutet der Cito-Auftrag, dass Geräteläufe nur für die eine Cito-Probe komplett umzuplanen sind. Bei mehrstündigem Untersuchungsgängen und deswegen nur ein bis zwei Geräteläufen pro Tag bedeutet dies, dass die anderen Proben ggf. einen Tag später bearbeitet werden. Dies ist im Fall unberechtigter Cito-Aufträge ethisch und juristisch nicht hinnehmbar.

Deswegen gehen Sie bitte gedankenvoll mit dem Cito-Auftrag um – für ein bisschen Schnelligkeitsgewinn verlangsamen Sie für viele andere die Diagnostik. Im Bereich der niedergelassenen Labors wird ein ökonomisches Regulativ verwendet – Cito-Proben kosten ein Vielfaches der regulären Untersuchung. Wir möchten dieses Regulativ nach Möglichkeit vermeiden.

Um mit einem Beispiel zu Enden: wenn ein MRSA-Screening Ergebnis schnell benötigt wird, versieht man nicht den Auftrag auf einen kulturellen Nachweis mit einem Cito-Vermerk, sondern fordert eine PCR-Untersuchung an – der Zeitgewinn für Ihr Ergebnis liegt hier im Bereich von Stunden bis einem Tag. Entsprechende Alternativen bieten wir in vielen Fällen – im Zweifelsfall können Sie dies mit einem Anruf klären.

### **Surveillancebericht der UMR**

Unser jährlicher Surveillancebericht 2017 zur Durchführung mikrobiologisch-hygienischer Diagnostik, Erregernachweisen und –resistenzen sowie zum Antibiotikaeinsatz steht seit Mitte des Jahres im Intranet jedem Interessierten zur Verfügung.

Es gab 2017 zum Glück wenig auffällige oder gar unangenehme Entwicklungen, die man gesondert herausstellen müsste. Trotzdem können einzelne Einrichtungen sehr wohl auch jetzt noch Nutzen aus den Statistiken ziehen. Für die Details sei auf den Bericht verwiesen.

Unter der fortlaufenden Rubrik **Neuerungen und Neuigkeiten** präsentieren wir dieses Mal:

Test	Termin	Hinweis
PCR-Multiplexnachweise zur Untersuchung von Herzklappen	November 2018	ergänzt das Angebot zur PCR-technischen Untersuchung von Atemwegsmaterialien, Blutkulturen, Genitaltraktmaterialien, Liquores
Testeinstellung CMV pp65-Ag-Nachweis	Dezember 2018	CMV-Nukleinsäure- bzw. Antikörpernachweise nutzen

Test	Termin	Hinweis
Einführung der umfassenden PCR-Diagnostik für Enteritiserreger	Januar 2019	Kulturnachweise für enteropathogene Bakterien auf spezifische Anforderung weiter verfügbar

Fortbildung	Termin	Hinweis
13. Rostocker Hygienetag „Krankenhaushygiene im Dialog“	6.3.2019	Flyer erscheint 12/2018 (erst dann Anmeldung möglich)

---

\*MIF – Mikrobiologisch-infektiologische Fortbildung, in der Regel am 4. Montag im Monat

QM-Aktivität	Termin	Hinweis
Überwachungsbegehung virologische / hygienische Diagnostik durch die DAkKS	Dezember 2018 / Januar 2019	

Bis zum nächsten Newsletter des IMIKRO verbleibe ich mit den besten kollegialen Grüßen

Ihr Prof. Dr. Dr. Andreas Podbielski