

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin
Allgemeine Pädiatrie
-Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Heymut Omran-

Bakterielles Monitoring des Beatmungsequipments bei
Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht < 1500 Gramm

INAUGURAL – DISSERTATION

zur

Erlangung des doctor medicinae

der Medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von Winking, Torben Christian

aus Essen

2015

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster.

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. med. Dr. h.c. Wilhelm Schmitz
1. Berichterstatter:	Priv.-Doz. Dr. med. Esther Rieger-Fackeldey
2. Berichterstatter:	Priv.-Doz. Dr. med. Dr. PH Frank Kipp
Tag der mündlichen Prüfung:	07.11.2015

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin — Allgemeine Pädiatrie
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Heymut Omran
Referent: Priv.-Doz. Dr. med. Esther Rieger-Fackeldey
Koreferent: Priv.-Doz. Dr. med. Dr. PH Frank Kipp

ZUSAMMENFASSUNG

Titel: Bakteriell Monitoring des Beatmungsequipment bei Frühgeborenen < 1500 g
Winking, Torben Christian

Das CPAP-System stellt bei VLBW-Frühgeborenen einen Risikofaktor für nosokomiale Infektionen dar. Wir untersuchten von Sept. bis Dez. 2012 prospektiv longitudinal, welche Keime zu welchem Zeitpunkt auf dem CPAP-System und den Ambubeuteln der 26 beatmeten VLBW-Frühgeborenen in der Neonatologie des Universitätsklinikums Münster auftraten. Außerdem untersuchten wir zwei Abschnitte im Infusionssystem

Im Median betrug das GA 26+2 SSW und das GG 850 g. Das CPAP-Equipment zeigt zu ca. 59% (95%KI[54; 64]) Keimbeseidlung, diese nahm mit der Nutzungsdauer zu. Tag 3 waren 28% (13% gram-pos./16% gramneg./ 2% Pilze) und Tag 7 39% (16% gram-pos./23% gram-neg./3% Pilze) der Prongs mit fak. path. Keimen kolonisiert (Zunahme der Gesamt- (p=0,021) und der gramneg. (p=0,014) fak. path. Keime auf den Prongs). Die Ambubeutel waren zu ca. 81% (95% KI[76; 85]) keimfrei, an Tag 7 traten im Gegensatz zu Tag 3 gram-neg. fak. path. Keime (11%) auf. Im Screening zeigte sich bei 69% (n=18) der Studienpatienten nach durchschnittlich 3 Wochen eine Kolonisierung, in 67% identisch mit der CPAP-Kolonisation (95%KI[46; 95]). 13 von 25 Kolonisationskeimen waren Enterobacteriaceae. Gramneg. Kolonisierung war häufiger assoziiert mit niedrigem Geburtsgewicht und Gestationsalter (je p=0,045) und längerer Hospitalisationsdauer (p=0,032). Während der CPAP-Beatmung wurden 7 Blut-kultur-pos. und 2 Katheter-pos. Septikämien bei 8 Patienten erfasst. 2 Pneumonien traten bei 2 Patienten (8%) auf. Hier fand sich je *E.colocae* im Trachealsekret, in den Routine-, und in einem Fall in den CPAP-Abstrichen.

Zusammenfassend könnte unter CPAP direkte Ventilation oder Kolonisierung des Gastrointestinaltraktes gramneg. Pneumonien fördern. Wir haben daher das Prong-Wechsel-Intervall patientennaher CPAP- Abschnitte halbiert.

Tag der mündlichen Prüfung: 07.11.2015

ERKLÄRUNG

Ich gebe hiermit die Erklärung ab, dass ich die Dissertation mit dem Titel:

**Bakterielles Monitoring des Beatmungsequipments bei Frühgeborenen
mit einem Geburtsgewicht < 1500 Gramm**

in der Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin — Allgemeine Pädiatrie

unter der Anleitung von Priv.-Doz. Dr. med. Esther Rieger-Fackeldey

1. selbstständig angefertigt,
2. nur unter Benutzung der im Literaturverzeichnis angegebenen Arbeiten angefertigt und sonst kein anderes gedrucktes oder ungedrucktes Material verwendet,
3. keine unerlaubte fremde Hilfe in Anspruch genommen,
4. sie weder in der gegenwärtigen noch in einer anderen Fassung einer in- oder ausländischen Fakultät als Dissertation, Semesterarbeit, Prüfungsarbeit, oder zur Erlangung eines akademischen Grades, vorgelegt habe.

Münster, den 07.11.2015

Torben Christian Winking

Für Carla

Inhaltsverzeichnis:

1) Einleitung: 1

1.1: Epidemiologie	1
1.2: Bakteriämien.....	2
1.3: Beatmungsequipment	3
1.4: Studienziel.....	5

2) Methodik:..... 7

2.1: Patienten und Zeitraum	7
2.2: Probengewinnung.....	7
2.2.1) CPAP-/ nichtinvasives Beatmungssystem:	7
2.2.2.) Beatmungsbeutel:	9
2.2.3) Interlink und Multiverbinder:	10
2.2.4) Routineabstriche:	11
<i>Screeninguntersuchungen:.....</i>	<i>11</i>
<i>Infektionsdiagnostik:.....</i>	<i>11</i>
2.3: Mikrobiologie.....	12
2.3.1) Mikrobiologische Diagnostik:	12
2.3.2) Mikrobiologische Kategorisierung der Keime:	14

3) Ergebnisse: 16

3.1: Patientenkollektiv	16
3.2: Häufigkeit und Art der Erreger bei den Studienabstrichen	17

3.2.1) CPAP- und nichtinvasives Beatmungsequipment:	18
a) CPAP- Prongs/- Masken:.....	18
b) CPAP- Konnektor:.....	23
c) CPAP- Inspirationsschenkel:.....	25
d) CPAP- Wassertopf:.....	26
3.2.2) Beatmungsbeutel:	26
a) Ambubeutel- Masken:.....	27
b) Ambubeutel- Konnektor:.....	29
3.2.3) Infusionssystem:.....	31
a) Interlink:.....	31
b) Multiverbinder:.....	32
3.3: Ergebnisse Screeningabstriche	32
a) Analabstrich:.....	32
b) Rachenabstrich:.....	33
3.4: Korrelation zwischen Screening- und Studienabstrichen	34
3.5: Infektionen während CPAP-Beatmung	38
4) Diskussion:.....	40
5) Literaturverzeichnis:	46
6) Lebenslauf:	54
7) Anhang:	I
1) Tabellen:.....	I
2) Kongressbeiträge:	IV
3) Abkürzungsverzeichnis:	VI

8) Bildanhang:..... VII

1) Einleitung:

1.1: Epidemiologie

Frühgeborene bilden mit ca. zwölf Prozent eine wichtige Untergruppe der Neugeborenen, ihr Anteil ist in den vergangenen drei Jahrzehnten deutlich gestiegen [28]. Nosokomiale Infektionen sind in dieser Patientengruppe häufig, vor allem bei jenen mit einem Geburtsgewicht < 1500 Gramm (so genannte: very low birth weight infants, *VLBW*) und insbesondere bei deren Untergruppe < 1000 Gramm (so genannte extremely low birth weight infants, *ELBW*) [60]. Die kleine Gruppe der *VLBW*-Frühgeborenen macht „0,8–1,5 % der Lebendgeborenen, jedoch bis zu 65 % der in der Neonatalperiode verstorbenen Kinder“ aus [46, S.2]. Über die Gesamtheit der *VLBW*-Frühgeborenen liegt die Infektions- Inzidenz in der Literatur bei ca. 20-30 Prozent [1], wobei die Infektionsgefahr neben zugrundeliegenden Grunderkrankungen vor allem mit niedrigem Geburtsgewicht und -alter zunimmt [1, 25, 36]. Die hohe Infektionsrate liegt an der Unreife der Patienten. Das Immunsystem ist, sowohl auf zellulärer Ebene als auch durch die unterentwickelte Barrierefunktion der Haut und Schleimhäute, noch nicht ausreichend ausgebildet. Zudem führt die Frühgeburtlichkeit zu einem relativen Mangel diaplazentär übertragener IgG- Antikörper, „ein aktiver Transport über die Plazenta erfolgt erst ab Woche 32, sodass die Spiegel bei Frühgeborenen sehr niedrig sind“ [46, S.479]. Inkubatoren, welche wegen der Neigung Frühgeborener zu Hypothermie aufgrund des mangelnden Fettgewebes eine wichtige Rolle spielen, bieten auf der anderen Seite die idealen Bedingungen für bakterielles Wachstum. Dies wurde schon 1991 von *Gupta et al.* [30] durch bakterielles Monitoring herausgestellt (OR 7,48). Die Infektionsgefahr wird ebenso durch den Bedarf von Fremdmaterial im Sinne von lebenswichtigem Unterstützungsequipment erhöht. Hier sind besonders Beatmungsequipment bei unreifer Lungenfunktion und Infusionssysteme zur Ernährung und Medikation zu nennen. Auch männliches Geschlecht zeigt im Vergleich zu dem weiblichen eine erhöhte Rate an Infektionen [22], ferner ist lange Hospitalisierung ein erheblicher Risikofaktor [18, 36]. Die wichtigste Prävention stellt eine gute Basishygiene dar, vor allem eine gründliche Händehygiene, um Infektionen

zu vermeiden. „Das zuständige Hygienefachpersonal sollte durch regelmäßige Schulungen sowie durch regelmäßige Visiten/Begehungen vor Ort die Umsetzung der Empfehlungen zur hygienischen Händedesinfektion aktiv unterstützen und überprüfen (Kat. IA). Dies bezieht sich auf alle Mitarbeiter [(ärztliches und Pflegepersonal)], die (Hand-)Kontakt zu den Patienten haben und auch auf die Eltern und Besucher.“ [39, S.428].

1.2: Bakteriämien

Der größte Teil der nosokomialen Infektionen ist auf Blutstrominfektionen zurückzuführen, die Inzidenz liegt bei ca. 15-25 Prozent [16, 22, 25, 28, 65]. Das Geburtsgewicht ist ein starker Prädiktor für das Auftreten einer solchen Infektion. So liegt die Inzidenz in der Literatur in der *ELBW*- Untergruppe der *VLBW*- Frühgeborenen mit 34 Prozent noch einmal deutlich höher als bei *VLBW*-Frühgeborenen zwischen 1000 und 1500 Gramm mit elf Prozent [25, 31, 51]. Die Prognose einer Sepsis ist stark abhängig vom auslösenden Keim. Grampositive Keime, welche mit 60-80 Prozent [24, 26, 65] den größeren Teil der Keime ausmachen, weisen eine Mortalität von 10-20 Prozent auf. Meistens sind dies Koagulase-negative Staphylokokken (sogenannte KNS). Gramnegative Keime machen 20-30 Prozent der Septikämien aus und weisen eine dem gegenüber erhöhte Mortalität von 30-50 Prozent auf (OR 3,5 gegenüber KNS) [12, 22, 28, 47, 60, 70]. Auch Endorganschäden treten häufiger und früher auf, insgesamt zeigt sich eine gramnegative Sepsis im klinischen Verlauf meist fulminanter [11]. Insbesondere die Infektion mit *Pseudomonas aeruginosa* stellt mit einer Mortalität von bis zu 75 Prozent eine große Gefahr für den frühgeborenen Patienten dar [1]. Auch Pilze, meistens *Candida* weisen ein erhöhtes Risiko (OR 3,2) im Vergleich zu KNS auf. Diese machen erfahrungsgemäß ca. 10-15 Prozent der Septikämien aus [21, 47]. Die Assoziation von Bakteriämie mit zentralen Infusionssystemen (*CVC* = *central venous catheter*) ist weitreichend bekannt. In der klinischen Praxis ist es im Einzelfall schwierig zu verifizieren, ob ein Katheter tatsächlich mit Mikroorganismen bewachsen ist oder lediglich bei der Entfernung mit Patienten- oder Personalkeimen kontaminiert wurde,

da meist nur ein qualitativer und kein quantitativer Nachweis der Mikroorganismen auf dem entfernten Katheter erfolgt. Aus diesem Grunde wird die Inzidenz in der Literatur unterschiedlich hoch beziffert: 45% vs. 73% [5, 25]. In einer Studie von *Golombek et al.* [27] im Jahre 2002 sank die Inzidenz Katheter-assoziiertes Blutstrominfektionen durch ein eingeführtes Katheter-Team von 15,8 auf 5,1 Infektionen pro 1000 Katheter-Tage. Ein signifikanter Inzidenzunterschied von PVKs (peripherer Venenkatheter) gegenüber ZVKs (zentraler Venenkatheter) ist nicht beschrieben [2]. Hingegen ergab sich besonders bei totaler parenteraler Ernährung (TPN = total parenteral nutrition) ein hohes Risiko für eine Infektion (OR 9,2) [9, 52]. Das erhöhte Infektionsrisiko ist allerdings nicht nur auf vermehrte Katheterinfektionen zurückzuführen. *Terrin et al.* [68] zeigte, dass minimale enterale Ernährung neben der parenteralen Substitution die Inzidenz von Blutinfektionen bei nahrungstoleranten VLBW-Frühgeborenen ebenfalls signifikant senkt. Unter anderem führt parenterale Ernährung, wie auch Antibiotikagabe, zu einem signifikant verminderten Aufbau einer physiologischen Darmflora [35]. Eine Senkung der Inzidenz katheterassoziierter Septikämien wird ebenfalls durch Heparinisierung eines Schenkels erreicht [45], welche in vielen neonatologischen Abteilungen, vor allem zum Offenhalten des Infusionssystems, routinemäßig erfolgt. Aus den Referenzstudien [21, 23, 41, 62] geht hervor, dass wohl am ehesten die Konservierungsmittel des Heparins für diesen Effekt verantwortlich sind. *Schwab et al.* [57, 72] zeigten 2006 durch Analyse der Sepsis-Inzidenzen in unterschiedlichen Jahren der Partizipation am Modul *NEO-KISS*-System, dass auch durch Surveillance Systeme Infektionen gesenkt werden können [73].

1.3: Beatmungsequipment

Pneumonien machen etwa 3,5 Prozent der Infektionen bei Frühgeborenen aus und sind zu 81 Prozent beatmungs-assoziiert [25, 38]. Ätiologisch liegen Mikroaspirationen oropharyngealen Sekrets zugrunde. Dreißig Prozent der beatmungsassozierten Pneumonien bei VLBW-Frühgeborenen sind von gramnegativen Erregern verursacht [29].

Mechanische Beatmung (*MV = mechanical ventilation*) wirkt sich aber ebenfalls auf die Inzidenz von Bakteriämien aus (OR 3,2), sodass die lebensnotwendige Unterstützung durch Beatmungssysteme eine wichtige Quelle nosokomialer Infektionen darstellt [9, 19]. Bei den Beatmungssystemen hat sich bei Frühgeborenen mit Atemnotsyndrom in den letzten Jahrzehnten „*Continuous Positive Airway Pressure*“ (*CPAP*) -Beatmung zunehmend durchgesetzt. Die Vorteile der *CPAP*-Beatmung gegenüber der klassischen mechanischen Ventilation sind hinreichend bekannt und belegt. Sie führte zu signifikanter Verringerung der bronchopulmonalen Dysplasie (*BPD*) [3, 4, 55, 69], der Pneumonien [6, 38, 25] und auch der Bakteriämien [48]. Der Sauerstoffbedarf zeigte sich bei *CPAP*, gegenüber der konventionellen Beatmung vermindert [19, 48, 50] was sich positiv auf die Inzidenz der Retinopathia praematurorum (*RPM*) auswirkt. Außerdem war eine Abnahme höhergradiger intraventrikulärer Hämorrhagien (*IVH*, Grad III/IV) zu verzeichnen. Eine besseres neurologisches Outcome der Patienten ist beschrieben [55, 69] und konnte auch von *Loehlinger et al.* [44] im Tierversuch dargestellt werden. Das Krankheitsbild der nekrotisierenden Enterokolitis (*NEC*) tritt Klinik-abhängig bei 4% bis 13% [10] der *VLBW*-Frühgeborenen auf. Bislang ist unter *CPAP*-Beatmung keine erhöhte Inzidenz für die *NEC*, wie zum Beispiel durch eventuelle Mukosaschäden [6] oder Minderdurchblutung der Arteria mesenterica superior [32], belegt. Das Phänomen des „*CPAP-belly*“ wird derzeit als benigne eingeschätzt [6]. Vielmehr führt die weniger invasive *CPAP*-Beatmung durch den niedrigen kontinuierlichen Druck in der Expiration zur Vergrößerung der funktionellen Residualkapazität, daraus resultiert eine Reduktion des alveolären Kollapses, wodurch der Ventilation-Perfusions-Quotient erhöht wird. Der Surfactantbedarf nahm dadurch in mehreren Studien von beispielsweise 40% auf 12% [19, 50] der Frühgeborenen ab. Ein Barotrauma wird durch die niedrigen Drücke im Vergleich zur mechanischen Ventilation deutlich verringert. Außerdem wird die Eigenatmung der Frühgeborenen durch verringerten Flusswiderstand und größeren Belüftungsdurchmesser des Beatmungsmaterials erheblich gesteigert, in der Literatur bis zu vierfach [3], was auch die Anzahl von Apnoen reduziert [53, 55, 69]. Im Gegensatz zur Beatmung nach Intubation kommt es bei *CPAP* nicht zur mechanischen Behinderung des Zilienschlags

der Atemwegsschleimhaut wodurch die Clearance unbeeinflusst bleibt [3]. Ferner führt die *CPAP*-Beatmung zur signifikanten Steigerung der durchschnittlichen Gewichtszunahme der Frühgeborenen pro Tag [4, 19] und zu einer Verkürzung der Hospitalisationsdauer der Patienten im Vergleich zur konventionellen invasiven Beatmung [4, 19]. Trotz dieser Vorteile werden bei der *CPAP*-Beatmung Fremdkörper am Patienten verwendet, mit daraus resultierender Infektionsgefahr. Aly *et al.* [7] beschrieb 2011, dass die Nasenflora, welche physiologisch überwiegend aus KNS besteht, bei *CPAP*-Beatmung zu 38 % gramnegative Keime beinhaltet. Zusätzlich dazu ist vermehrtes Nasenbluten durch Nasentrauma und gehäufte Bedarf von nasalem Absaugen beschrieben. Beispielfhaft wird in der Literatur das Nasenbluten bei 90% der *CPAP*-Patienten nach 10 Tagen angegeben [40]. Dies könnte eine Eintrittspforte für KNS- oder gramnegative Erreger ins Blutssystem darstellen.

In die Untersuchung des Beatmungsequipments schlossen wir zudem die Ambu-Beatmungbeutel der Studienpatienten ein. Diese werden in der klinischen Praxis heutzutage seltener eingesetzt. Im Universitätsklinikum Münster werden sie nur bei Wechsel von Beatmungsgerät bzw. -Schläuchen eingesetzt, um bei in Einzelfällen eintretenden Apnoen während des Wechsels die Eigenatmung des Patienten anstoßen oder beatmen zu können. Trotz des eingeschränkten Einsatzes stellen Ambu-Beatmungsbeutel als Fremdkörper weiterhin ein Infektionsrisiko dar.

1.4: Studienziel

Wir untersuchten das in der Literatur häufig mit Infektionen assoziierte Unterstützungsequipment, den Schwerpunkt bildete das Beatmungsequipment. Hierbei konzentrierten wir uns auf die Untersuchung des *CPAP*-Equipments und der Ambu-Beatmungsbeutel. Zusätzlich untersuchten wir Teile des Infusionssystems. Es war das Ziel, die Kolonisierung mit Mikroorganismen und deren Kolonisierungszeitpunkt zu analysieren und mit den Keimen der standardisierten Screeningabstriche zu vergleichen. Ferner wurden alle Infektionen erfasst und deren Erreger mit denen aus den Screening- und Equipmentabstrichen verglichen. Wir

wollten durch diese Untersuchung die vom Equipment ausgehende Infektionsgefahr besser verstehen und unsere standardisierten Zeitpunkte des Equipment-Wechsels evaluieren.

2) Methodik:

2.1: Patienten und Zeitraum

Zwischen dem 1. September und dem 31. Dezember 2012 wurden auf der Intensivstation (*NICU*) und der Früh- und Neugeborenenstation (*IMCU*) des Universitätsklinikums Münster zu definierten Zeitpunkten mikrobiologische Abstriche von Beatmungs- und Infusionszubehör entnommen. Diesem Zeitraum ging eine 2-wöchige Testphase im August voraus. In die Studie eingeschlossen waren alle Frühgeborenen, in- und outborn, mit Geburtsgewichten <1500 g (*VLBW*). Ausgeschlossen aus der Studie waren Frühgeborene, die weniger als 3 Tage auf diesen Stationen verweilten.

2.2: Probengewinnung

Folgende Abstriche wurden entnommen:

- Ab dem Zeitpunkt der nicht-invasiven Beatmung vom Beatmungsequipment bis zur Entwöhnung (Beatmungsbeutel und *CPAP*-System).
- Während der Zeit der parenteralen Ernährung vom Interlink, dem Verbindungsstück zwischen Infusionsleitung und Zulauf zum zentralvenösen Katheter.

Die Abstriche wurden mit einem Standard-Abstrichtupfer (*Transwab*®) oder einem dünneren *Mastaswab*™ durchgeführt, welche zuvor mit NaCl 0,9% aus einer sterilen Spritze angefeuchtet wurden. Die Untersuchungen wurden bis zur Verlegung oder bis zur Entfernung des Equipments durchgeführt.

2.2.1) *CPAP*-/ nichtinvasives Beatmungssystem: [siehe Bildanhang 1]

Auf dem *CPAP*-System wählten wir vier Abschnitte aus, von denen zu bestimmten Zeitpunkten Abstriche entnommen wurden.

Der erste Abschnitt (s.g. Wassertopf) lag am weitesten vom Patienten entfernt, unmittelbar an der Beatmungsmaschine. Die Abstriche erfolgten hier am Konnektionsstück des inspiratorischen Beatmungsschlauches zum Wassertopf [siehe Bildanhang 3].

Der zweite Abschnitt (s.g. Inspirationsschenkel) lag etwa auf der Mitte des inspiratorischen Beatmungsschlauches. Hier wurden die Proben im Inneren an einer Konnektionsstelle des Beatmungsschlauches in Richtung auf den Wassertopf entnommen [siehe Bildanhang 2].

Der dritte Abschnitt (s.g. Konnektor) lag am patientennahen Abschnitt des Beatmungsschlauches. Der Konnektor wurde von der zur patientenweisenden Seite, nach Entfernung des aufgesetzten Prongs/der Maske, abgestrichen [siehe Bildanhang 5].

Besagte *CPAP*-Prongs/Masken bildeten den vierten, sich unmittelbar am Patienten befindlichen Abschnitt des *CPAP*-Equipments [siehe Bildanhang 5].

Hier wurde ein dünnerer Mastaswab™ angewendet [siehe Bildanhang 9]. Für die restlichen drei Abschnitte des *CPAP*-Equipments wurden Standard-Abstrichtupfer verwendet.

Das gesamte *CPAP*-Equipment wurden routinemäßig nach 14 (+/- 1) Tagen Nutzung gewechselt. Zu diesem Zeitpunkt wurde der *CPAP*-Prong oder die *CPAP*-Maske [siehe Bildanhang 4] vom Patienten entfernt, von einem sterilen Handschuh überstülpt, das Schlauchsystem im Ganzen entfernt und von allen vier Abschnitten Abstriche genommen. Auf der Früh- und Neugeborenenstation (*IMCU*) wurden die Konnektoren schon nach sieben Tagen Nutzung gewechselt und zu diesem Zeitpunkt Abstriche genommen. Die patientennahen *CPAP*-Prongs/ Masken wurden (auf beiden Stationen: *ICU* und *IMCU*) ebenfalls routinemäßig nach sieben Tagen Nutzung gewechselt und abgestrichen. Zusätzlich wurden die Prongs/ Masken nach drei Tagen Nutzung in der Versorgungszeit des Patienten mit Pflegekraft-Assistenz abgestrichen. Bei offensichtlicher Verschmutzung durch z.B. Erbrochenes wurden die Prongs/Masken auf beiden Stationen bereits vorzeitig ausgetauscht.

Somit ergaben sich bei den *CPAP*-Prongs/ -Masken folgende Abstrich-Zeitpunkte:

Tag 3 der Nutzung von Prong/Maske:

- Zugehöriger Tag der Nutzung der restlichen Abschnitte: Tag 3 oder Tag 10.
- Bei verfrühtem, verschmutzungs- bedingtem Wechsel von Prong/ Maske: Tag 7 oder Tag 14 der Nutzung der restlichen Equipments.

Tag 7 der Nutzung von Prong/Maske (Tag des routinemäßigen Wechsels):

- Zugehöriger Tag der Nutzung des restlichen Equipments: Tag 7 oder Tag 14 .
- Bei verfrühtem, Verschmutzungs- bedingtem Wechsel von Prong/Maske: Tag 10 der Nutzung des restlichen Equipments.

Routinemäßig wurde der Prong/die Maske des Patienten in jeder Versorgungsrunde von der zuständigen Pflegekraft mit einer sterilen, NaCl 0,9%-befeuchteten Kompresse gesäubert. Die Probenentnahmen wurden vor diesen Säuberungen durchgeführt. Die Anzahl der Abstriche eines Patienten variierte mit der Dauer des *CPAP*- Beatmung des Frühgeborenen, sodass es unterschiedlich viele Abstriche zu den bestimmten Zeitpunkten von den Studienpatienten gab.

2.2.2.) Beatmungsbeutel:

Es wurden die Beatmungsbeutel der *CPAP*- und nicht-invasiv beatmeten Studienpatienten untersucht. Nach Extubation wurde die Untersuchung der Beatmungsbeutel der Studienpatienten begonnen. Von den Beatmungsbeutel-Masken wurden auf der Intensivstation (*ICU*) Abstriche an den Tagen 3 und 7 entnommen. Letzterer war der Tag des routinemäßigen Wechsels. Auf der Früh-und Neugeborenenstation (*IMCU*) wurden die Beatmungsbeutel-Masken routinemäßig an Tag 14 der Nutzung gewechselt. Die Abstriche wurden auf der hier an den Tagen 3, 7 und 14 entnommen.

Dazu wurden Standard- Abstrichtupfer verwendet. War keine Maske aufgesetzt, wurde stattdessen ein Abstrich vom Konnektor durchgeführt [siehe Bildanhang 6]. An den

Tagen des routinemäßigen Wechsels (*ICU*: nach 7 Tagen, *IMCU*: nach 14 Tagen Nutzung) wurde im Falle des Maskengebrauchs die Maske abgestrichen und dann entfernt. Danach wurde eine Probenentnahme aus dem darunter liegenden Konnektor durchgeführt. Wurde keine Maske verwendet, wurde nur der Konnektor-Abstrich durchgeführt. Nach Entwöhnung vom Beatmungssystem wurden zeitgleich zu den *CPAP*-Abstrichen auch die Beatmungsbeutelabstriche eingestellt und der Patient aus der Studie entlassen. Die Anzahl der Abstriche eines Patienten variierte somit mit der Dauer der *CPAP*- Beatmung des Frühgeborenen, sodass es unterschiedlich viele Abstriche zu den bestimmten Zeitpunkten von den Studienpatienten gab.

2.2.3) Interlink und Multiverbinder:

Die Abstriche vom Interlink und Multiverbinder wurden unabhängig von den *CPAP*- und Beatmungsbeutel- Abstrichen durchgeführt, solange die Frühgeborenen parenteral ernährt waren. Dies war meist vor der Extubation und somit vor den Abstrichen des *CPAP*-Equipments der Fall. Der Interlink ist ein Rückschlagventil, welches zwischen dem Katheter und der gemeinsamen Endleitung (Multiverbinder) der Infusionsleitungen zwischengeschaltet wird [siehe Bildanhang 8]. Vom Interlink wurden bei liegendem Nabelvenen- oder zentralvenösen Katheter Abstriche mithilfe eines Mastaswab™ entnommen [siehe Bildanhang 9]. Heparin- und Medikationsführende, sowie Leitungen mit hochkalorischer Nutzung (Fettemulsion oder Glukoselösungen über 40%), wurden täglich gewechselt. Leitungen mit Glukosegehalt unter 40% (niederkalorische Leitungen) hingegen nur alle 3 Tage. Der Interlink wurde routinemäßig nach 6 Tagen, den Wechselzeiten der niederkalorischen Leitungen angepasst, gewechselt. Zu diesem Zeitpunkt wurde der Interlink steril vom Katheter getrennt, mit einem Infusionsstopfen verschlossen und dann inklusive aller angeschlossenen Infusionsschläuche entfernt. Zum einen erfolgte dann ein Abstrich am Konnektionsstück zwischen Interlink und Katheter. Zum anderen wurde eine Probensicherung am Konnektionsstück des Multiverbinders (der Infusionssysteme) durchgeführt, wobei der Abstrich auf der vom Patienten entfernten Seite des Interlinks entnommen wurde.

2.2.4) Routineabstriche:

Screeninguntersuchungen:

Zusätzlich zu den bereits genannten Proben wurden die standardisierten, wöchentlichen Screeninguntersuchungen der Intensivstation dokumentiert, welche spätestens seit 10/2013 von der KRINKO als „*zumindest wöchentlich durchzuführendes mikrobiologisches (Kolonisations-) Screening empfohlen*“ (S.421) sind. „*Infektionsepidemiologisch geht es darum, die Kolonisation mit potenziellen Erregern nosokomialer Infektionen in der jeweiligen Patientenpopulation zeitnah zu erfassen*“ [39 S.422]. Diese fanden jeden Montag statt. Es wurden mittels Standard-Abstrichtupfer Abstriche von Rachen und Anus gewonnen und steril eingeschickt. Diese Proben gingen mit in die Auswertung ein. Auf der Früh- und Neugeborenenstation wurden zu der Studienzeit keine Screeningabstriche durchgeführt, sodass die Screening-Untersuchung bei Verlegung auf die Früh und Neugeborenenstation beendet, die der CPAP- und der Beatmungsbeutel-Untersuchung jedoch wie oben erwähnt fortgesetzt wurde.

Infektionsdiagnostik:

Ebenfalls in die Analyse eingeflossen ist die Infektionsdiagnostik, das bedeutet alle pathologischen Ergebnisse von Trachealsekret, Blutkulturen und der Spitze von gezogenen Kathetern. Dies geschah auf der Intensiv und der Früh- und Neugeborenenstation. Bei respiratorischer Verschlechterung mit Verdacht einer Pneumonie wurde nach Reintubation des Patienten Trachealsekret gewonnen. Hierzu wurde das Trachealsekret der reintubierten Patienten beim Absaugen in einem Saugregulierungsventil (Eruplast®), Firma Rüschi) aufgefangen und in die medizinische Mikrobiologie des Universitätsklinikums Münster geschickt. Von jedem Infusionskatheter wurde bei Entfernung, unabhängig ob im Verdacht einer Infektion oder weil er nicht mehr benötigt wurde, die Katheterspitze steril abgeschnitten und in das Institut für medizinische Mikrobiologie des Universitätsklinikums Münster eingeschickt. Bestand der Verdacht auf eine Infektion, wurden an einer peripheren Vene steril 1 ml Blut abgenommen und in eine Blutkulturflasche (BD BACTEC™ Peds plus) gegeben und eingeschickt.

2.3: Mikrobiologie

2.3.1) Mikrobiologische Diagnostik:

Im Institut für medizinische Mikrobiologie des Universitätsklinikums Münster wurden von den Abstrichtupfern des Beatmungs- und Infusionszubehörs, sowie von Rachen und Rektum Kulturen auf Columbia-, MacConkey- und Kochblut-Agar angefertigt. Dazu wurde der 3-Ösen-Ausstrich angewandt. Zusätzlich wurde eine Dextrose-Boullion angelegt. Das Trachealsekret wurde mit einer Öse auf denselben Medien verteilt. Die Urindiagnostik wurde durch Kulturen auf MacConkey- und Colombia CNA-Agar per 2 Ösen-Ausstrich durchgeführt. Für die Keimzahlbestimmung wurde der 8-Ösen-Ausstrich mit einer 10 µl Öse auf Columbia-Agar verwendet. Die Katheterspitzen wurden in BHI-Boullion eingeschickt und zunächst für 24 Stunden bebrütet, bevor ein Colombia-Agar angelegt wurde. Die BHI-Boullion wurde danach weiter bebrütet. Die Blutkulturen wurden mittels BD BACTEC™ (Becton Dickinson) analysiert und bei positivem Befund auf Schaedler-, Kochblut- und Columbia-Agar kultiviert. Zusätzlich wurde ein Grampräparat angefertigt. Die Agar-Kulturen wurden für mindestens 24 Stunden, bei fehlendem sichtbarem Wachstum, bis zu 48 Stunden bebrütet. Abgesehen vom Kochblut-Agar (bei 5% CO²) geschah dies bei Normalluft. Die Dextrose-Boullion wurde ebenfalls für 24 Stunden bei 37 °C bebrütet. Im Falle einer Trübung oder Gasentwicklung und gleichzeitig fehlendem oder geringem Wachstum auf den Agarplatten wurde diese auf Columbia- oder MacConkey-Agar ausgestrichen. Der Agar wurde dann wieder für 24 Stunden bebrütet. Mit der weiter bebrüteten BHI-Boullion wurde auf dieselbe Weise verfahren. Für die Pilzdiagnostik wurden bei allen Proben zusätzlich Ausstriche auf Kimmig- und Chrom-Agar angelegt und für 48 Stunden bebrütet.

Die Keimdifferenzierung erfolgte zur Orientierung zunächst morphologisch. Die genauere Speziesidentifizierung wurde mittels VITEK® 2 (bioMérieux, Frankreich) ermittelt. Die Spezifizierung mit VITEK® 2 beruht auf biochemischen Reaktionen. Beimpfte Testkarten mit verschiedenen Reagenzien werden bei 35,5°C inkubiert und alle 15 Minuten durch einen Fluoreszenzindikator analysiert. Der Keim bildet mit den

unterschiedlichen chemischen Reagenzien spezifische Reaktionsmuster. Das biochemische Muster der Testkarte wird mit einer Datenbank verglichen und dadurch der Keim ermittelt. Mit VITEK® 2 erfolgte ebenso die Resistenztestung. Diese beruht auf der Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration mittels Mikrodilutionsmethode: *„Es handelt sich um einen Reihenverdünnungstest, in dem geometrische Verdünnungen des zu testenden Stoffs in Nährmedium mit dem zu testenden Erreger inokuliert werden. Nach erregerabhängiger Inkubationszeit [...] erfolgt die visuelle Auslesung und Bewertung gegen die mitgeführte Sterilitäts- (Negativ-) und Wachstums-(Positiv-)Kontrolle. Die Konzentration des Chemotherapeutikums, bei der gerade kein sichtbares Wachstum (keine Trübung) erkennbar ist, gilt als minimale Hemmkonzentration“* [34].

Alternativ wurde zur Speziesidentifizierung der MALDI-Biotyper (Bruker, Bremen) angewandt. Der MALDI-Biotyper analysiert die Mikroorganismen durch „matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry“ (MALDI-TOF). Entscheidend für die Differenzierung sind hierbei die unterschiedlichen Flugzeiten der durch Laser ionisierten Proteine der Erreger, welche im Hochvakuum elektromagnetisch beschleunigt werden. *„Die Flugzeit der [Proteine] kann im Vakuum exakt gemessen werden, wobei sowohl die Masse als auch der Ionisierungsgrad der Proteine Einfluss nehmen. Dadurch lassen sich die unterschiedlichen Massen der einzelnen [Proteine] bestimmen und als Gesamtspektrum darstellen. Der größte Teil der im Messbereich befindlichen [Proteine] sind positiv geladene ribosomale Proteine. Ihre jeweiligen Spektren sind für einzelne Bakterien- oder Pilzspezies charakteristisch“*. [56]. Das entstehende Proteinmuster wird als *„molekularer Fingerabdruck“* [56] mit den bekannten Bakterienmustern der Datenbank verglichen und der Erreger somit ermittelt. Eine Resistenztestung erfolgte danach mit VITEK® 2.

Eine molekularbiologische Untersuchung wurde bei keinem der isolierten Mikroorganismen durchgeführt. Zudem ist anzumerken, dass in unserer Studie der Keimnachweis lediglich qualitativ und nicht quantitativ ausgeführt wurde.

2.3.2) Mikrobiologische Kategorisierung der Keime:

Aufgeführt sind die unterschiedlichen Befunde des Instituts für medizinische Mikrobiologie des Universitätsklinikums Münster. Die Enterokokken, welche zum Zeitpunkt der Studie zur Untersuchung auf VRE (Vancomycin-resistente Enterokokken) spezifiziert wurden, kategorisierten wir aufgrund der fehlenden Pathogenität im Atemwegstrakt zu den physiologischen Schleimhautkeimen.

Tabelle 1: Keim- Kategorisierung

Keimgruppe:		Keim
Physiologische Umwelt- und Schleimhaut- und Haut-keime: (phys. U.- u. HK)		Bacillus <i>Bacillus cereus</i> <i>Bacillus circulans</i> <i>Bacillus licheniformis</i> <i>Bacillus thuringiensis</i> Corynebakterien <i>Corynebacterium accolans</i> <i>Corynebacterium amycolatum</i> <i>Corynebacterium pseudo-diphtheriae</i> Enterokokken <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterococcus faecium</i> KNS <i>Micrococcus luteus</i> <i>Paenibacillus glucanolyticus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Staphylococcus haemolyticus/capitis</i> <i>Staphylococcus lugdunensis</i> Vergrünende Streptokokken
Fakultativ pathogene Keime:	Grampositive Keime: Gramnegative Keime: Enterobacteriaceae:	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Enterobacter aerogenes</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Escheria coli</i> <i>Escheria vulneris</i> <i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Klebsiella pneumonia</i> <i>Morganella morganii</i> <i>Pantoea spp.</i> <i>Raoultella planticola</i>

	Nonfermenter:	<i>Acinetobacter lwoffii</i> <i>Acinetobacter pittii</i> <i>Moraxella osloensis</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Pseudomonas oryzae</i>
	Pilze:	<i>Candida albicans</i> <i>Rhizopus</i> <i>Aspergillus fumigatus</i>

3) Ergebnisse:

3.1: Patientenkollektiv

Tabelle 2: Analyse der Studienteilnehmer

Patienten, n	26
Gestationsalter Mittelwert (SSW+d) Median (SSW+d), (minimum-maximum)	26+6 26+2 (23+6 bis 32+5)
Geburtsgewicht, g Mittelwert Median (minimum-maximum)	890 850 (495 bis 1480)
Geburtsgewicht <1000 g, n (%)	21 (81)
Geburtsgewicht <500 g, n (%)	1 (4)
Geschlecht, n (%) Männlich Weiblich	9 (35) 17 (65)
Persistierender Ductus Arteriosus, n (%)	18 (69)
NEC, n (%)	1 (4)
BPD, n (%)	5 (19)
Pneumonien, n (%)	2 (8)
IVH, n (%) Grad 2 Grad 3 Grad 4	7 (27) 2 (8) 3 (12) 0 (0)
Retinopathia praematurorum, n (%) > Grad 1 > Grad 2	13 (50) 7 (27) 4 (15)
Beobachtungswochen Durchschnitt (w+t) Median (w), (minimum-maximum)	7+3 7 (1-19)

Das Patientenkollektiv bestand aus 26 Frühgeborenen. Mit 65% (n=17) waren mehr weibliche als männliche (n=9, 35%) Frühgeborene vertreten. Der Großteil wog unter

1000 Gramm und gehörte somit zur *ELBW*-Gruppe (n=21, 81%), das durchschnittliche Geburtsgewicht betrug 890 Gramm. Das Gestationsalter lag im Durchschnitt bei 26+6 Schwangerschaftswochen. Der Großteil der Studienteilnehmer (69%) wies einen offenen persistierenden Ductus Arteriosus (PDA) auf. Eine Retinopathia praematurorum (*RPM*) kam bei der Hälfte der Patienten vor, 15% (n=4) der Frühgeborenen erlitten eine höhergradige *RPM* (> Grad 2). Drei (12%) weitere Studienteilnehmer wiesen eine erstgradige *IVH* auf. Eine viertgradige *IVH* wurde nicht diagnostiziert. Fünf (19%) der beatmeten Patienten bekamen eine Bronchopulmonale Dysplasie (*BPD*). Drei Pneumonien wurden in der Studiengruppe festgestellt. Eine nekrotisierende Enterokolitis (*NEC*) wurde diagnostiziert, welche konservativ behandelt werden konnte (4%). Abhängig von den Parametern Geburtsalter und -gewicht und noch möglichen folgenden Komplikationen benötigten die Studienteilnehmer maximal 19 Wochen (minimal eine Woche) lang Unterstützung durch das in der Studie untersuchte Equipment. Durchschnittlich waren die Frühgeborenen im Median nach 7,5 (1-19) Wochen soweit, um auf das Equipment zu verzichten und somit die Studie zu verlassen.

3.2: Häufigkeit und Art der Erreger bei den Studienabstrichen

Von den 26 Studienpatienten wurden im Rahmen der Studie insgesamt 649 Abstriche vom genannten Equipment zu unterschiedlichen Zeitpunkten entnommen. Davon zeigten 252 eine Keimbesiedelung, dies sind ca. 39% (95% KI (35; 43)). Etwa 2/3 der Abstriche (n=426) wurden auf der Intensivstation entnommen, davon 34% (95% KI (30; 39)) positiv. Auf der Früh- und Neugeborenen-Station wiesen 48% (95% KI (41; 54)) der 223 Abstriche Keimwachstum auf.

Der überwiegende Teil der Abstriche wurde vom respiratorischen Equipment entnommen (n=603, 93%):

Die Abstriche der *CPAP*-Beatmung machten insgesamt 52% der Abstriche aus (n=337), 200 davon bewachsen (59%; 95% KI (54; 64)).

Die Beatmungsbeutel-Abstriche machten insgesamt 41% der Abstriche aus (n=266), davon 51 positiv (19%; 95% KI (14; 24)).

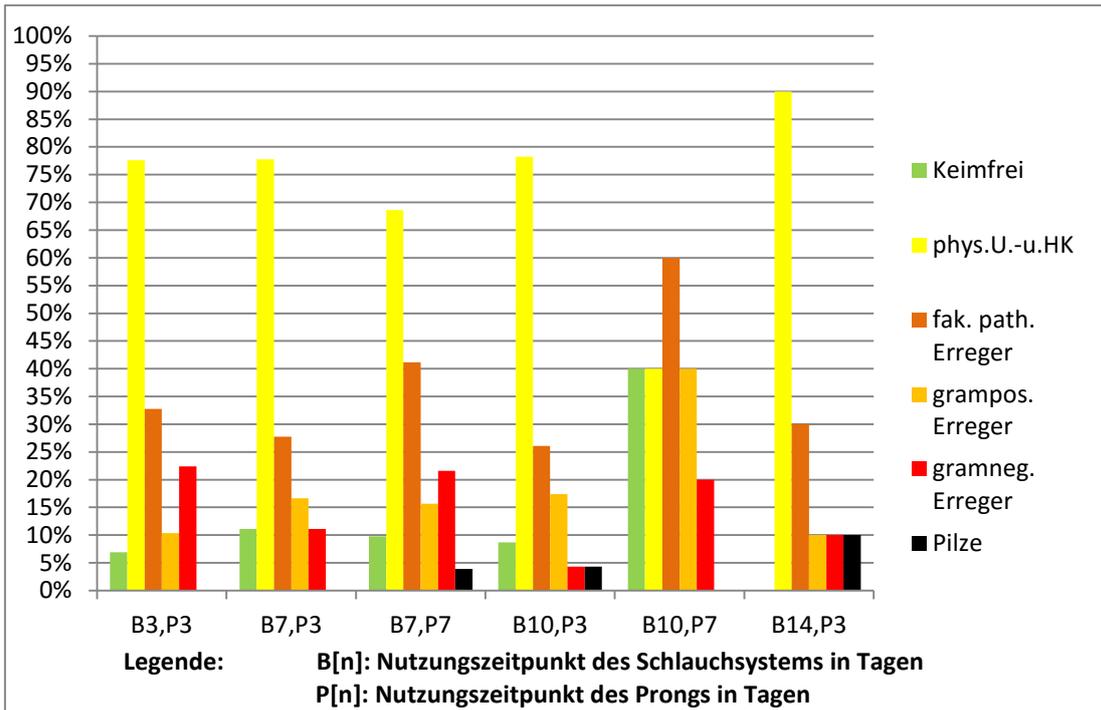
Die restlichen sieben Prozent der Abstriche (n=46) verfielen auf das Infusionszubehör. Bis auf einen Abstrich (2%; 95% KI (0; 5)) zeigten diese Keimfreiheit.

3.2.1) CPAP- und nichtinvasives Beatmungsequipment:

Es konnten 337 Abstriche von insgesamt 25 Patienten gewonnen werden. Die Besiedlung des Equipments nahm mit zunehmendem Abstand des jeweiligen Equipments zum Patienten hin ab. Die weit vom Patienten entfernten Inspirationsschenkel- und Wassertopf-Abstriche wiesen jeweils zu ca. 96% Keimfreiheit auf, die CPAP-Konnektoren-Abstriche waren zu 2/3 negativ und die Patientennahen CPAP-Prong/-Masken-Abstriche zeigten zu 1/10 kein Keimwachstum.

a) CPAP- Prongs/- Masken:

Bei den CPAP-Prongs/-Masken wurde zu den verschiedensten Zeitpunkten 201 Mal abgestrichen. Davon waren 20 keimfrei (10%; 95% KI 6; 14). Durch häufige Mehrfachbesiedelung wurden auf den übrigbleibenden 181 Prongs/Masken 221 Keime isoliert.

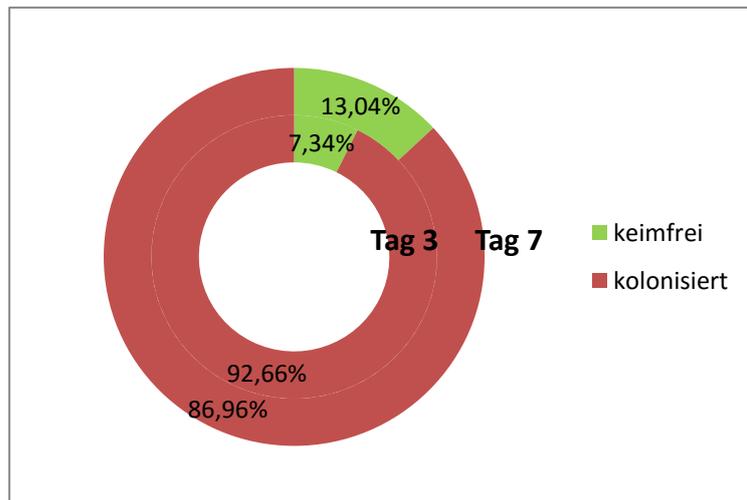


Grafik 1: Kolonisierung der Prongs zu verschiedenen Nutzungszeitpunkten von Schlauchsystem und Prong

Nach Sichtung der Ergebnisse wurden die Abstriche am gleichen Prong-/Masken-Nutzungszeitpunkt (nach Tag 3 oder Tag 7), unabhängig von der Nutzungsdauer des Beatmungssystems, miteinander verglichen.

An Tag 3 der Prongnutzung waren 7% (n=8) keimfrei, an Tag 7 13% (n=12).

Es wurden 109 Abstriche nach 3 Tagen Nutzung des Prongs/ der Maske

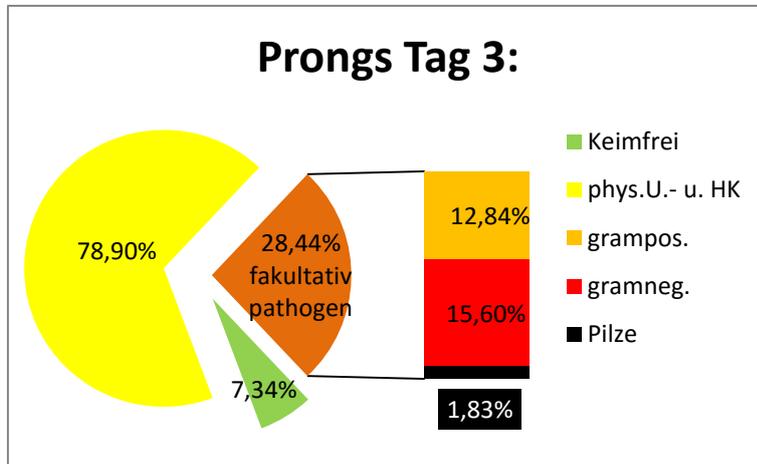


durchgeführt und dabei 127 Keime isoliert.

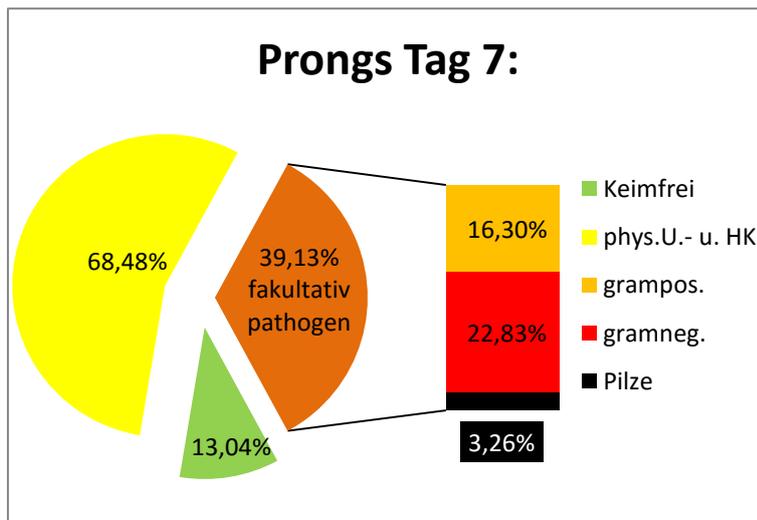
Nach 7 Tagen Nutzung wurden 92 Abstriche durchgeführt und dabei durch Mehrfachbesiedelung 114 Keime isoliert. Somit war die Mehrzahl der Prongs/Masken

sowohl nach Tag 3 (n=101, 93%) als auch nach Tag 7 Nutzung (n=80, 87%) mit Keimen kolonisiert.

Der mit Hautkeimen besiedelte Anteil der Prongs/der Masken betrug nach Tag 3 der



Grafik 3: Prongkolonisierung nach 3 Tagen Nutzung



Grafik 4: Prongkolonisierung nach 7 Tagen Nutzung

Nutzung 79% (n=86). Nach Tag sieben 68% (n=63). Der Anteil der mit fakultativ pathogenen Mikroorganismen besiedelten Prongs lag nach drei Tagen Nutzung bei 30 (n=33) und nach 7 Tagen bei 42 (n=39) Prozent.

Dabei waren an beiden Tagen gramnegative Keime führend:

- Am dritten Tag: 16% (n=17)
- Am siebten Tag: 23% (n=21)

Grampositive Kolonisierungen fielen folgendermaßen aus:

- Am dritten Tag: 13% (n=14)
- Am siebten Tag: 16% (n=15)

An Tag 3 der Nutzung waren zwei (2%) und an Tag 7 drei Pilzbesiedlungen (3%) dokumentiert.

Tabelle 3: Keimnachweise und betroffene Patientenzahl zu den Abstrichzeitpunkten nach 3 und 7 Tagen

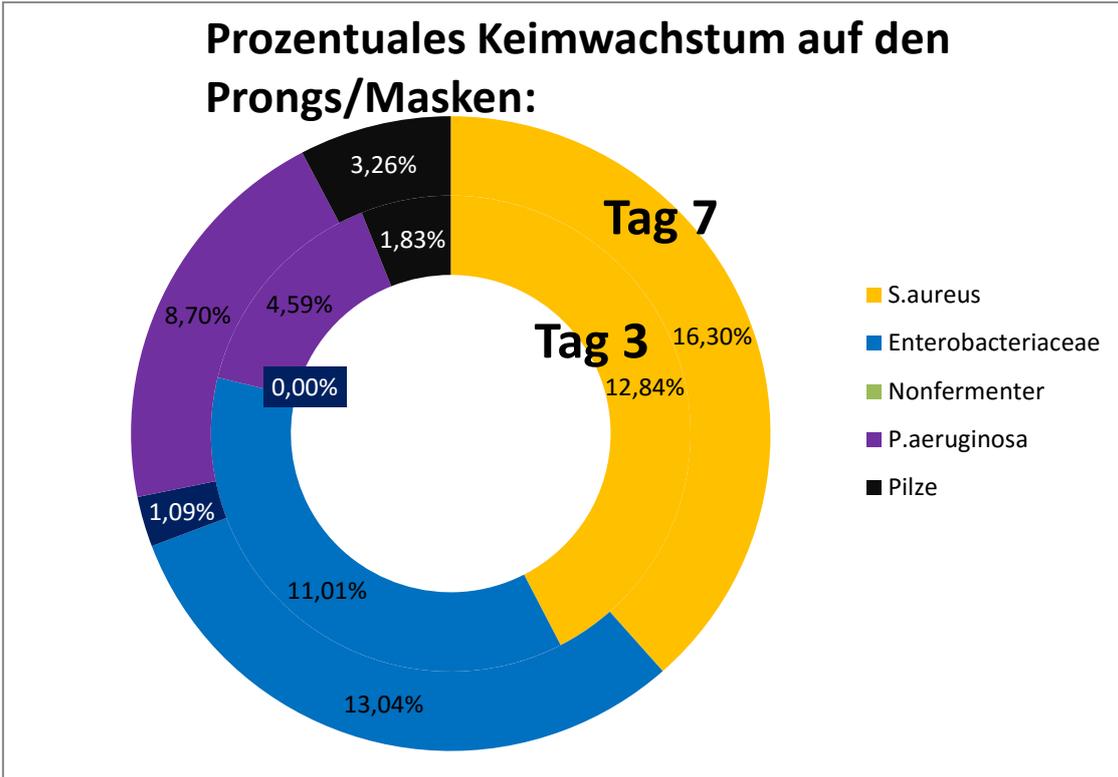
	Tag 3:	Patientenzahl: n	Tag 7:	Patientenzahl: n
Grampositive Keime: <i>n (% der Keime)</i>	14 (13)	3	15 (16)	4
Gramnegative Keime: <i>n (% der Keime)</i>	17 (16)	7	21 (23)	9
Pilze: <i>n (% der path. Keime)</i>	2 (2)	2	3 (3)	3

Bei ungleichmäßiger Gesamt-Abstrichsanzahl und Abstrichsanzahl pro Patient war rein deskriptiv Folgendes erkennbar:

- An Tag 7 wurden auf ca. 10 Prozent weniger Prongs Hautkeime isoliert als an Tag 3.
- Fakultativ pathogene Keime waren nach sieben Tagen etwas häufiger auf den Prongs/Masken isolierbar als nach drei Tagen (ca. 11%).
- Insbesondere gramnegative Keime waren etwas vermehrt auf den Prongs/Masken nachzuweisen als nach drei Tagen (ca. 7%).
- *P.aeruginosa* war an Tag 7 etwas häufiger nachzuweisen als an Tag 3.

Tabelle 4: Spezielle Keime und Patientenzahlen nach den Nutzungstagen 3 und 7

Häufigkeit der Besiedlung der Prongs/Masken mit den unterschiedlichen Keimen:				
	Tag 3: 109 Abstriche	Patientenzahl: n	Tag 7: 92 Abstriche	Patientenzahl: n
<i>S.aureus</i> : <i>n (% der Prongabstriche)</i>	14 (13)	3	15 (16)	4
Enterobacteriaceae: <i>n (% der Prongabstriche)</i>	12 (11)	6	12 (13)	7
Nonfermenter: <i>n (% der Prongabstriche)</i>	0 (0)	0	1 (1)	1
<i>P. aeruginosa</i> : <i>n (% der Prongabstriche)</i>	5 (5)	1	8 (9)	1
Pilze: <i>n (% der Prongabstriche)</i>	2 (2)	2	3 (3)	3



Grafik 5: Spezielle Keime prozentual an den Nutzungstagen 3 und 7

Der isolierte Nonfermenter war ein *Acinetobacter lwoffii*. Bei den Keimen der Enterobacteriaceae-Gruppe dominierte *Enterobacter cloace* (n=14), gefolgt von *E.coli* (n=6) und *K.oxytoca* (n=4).

Bei 25 Patienten der Studie konnten korrespondierende Abstriche der CPAP- Prongs zu den Abstrichzeitpunkten nach 3 und 7 Tagen Nutzung untersucht werden. Insgesamt konnten 58 korrespondierende Paare ausgewertet werden, 1-5 pro Patient. Die dazugehörige

Tabelle befindet sich im Anhang (Tabelle 1). Wir fassten die unterschiedlich vielen Paare (1-5) der Patienten zu jeweils einem Sammelabstrich zusammen und analysierten die daraus

Tabelle 5: Wilcoxon Tag 3/7 bzgl. Grampositiver/-negativer und Gesamtkeime

	Grampositive Keime Tag 7 - Grampositive Keime Tag 3	Gramnegative Keime Tag 7 - Gramnegative Keime Tag 3	Gesamtkeime Tag 7 - Gesamtkeime Tag 3
Z	-1,414 ^b	-2,449 ^b	-2,309 ^b
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	,157	,014	,021
Exakte Signifikanz (2-seitig)	,500	,031	,035
Exakte Signifikanz (1-seitig)	,250	,016	,018
Punkt-Wahrscheinlichkeit	,250	,016	,016

a. Wilcoxon-Test

b. Basiert auf negativen Rängen.

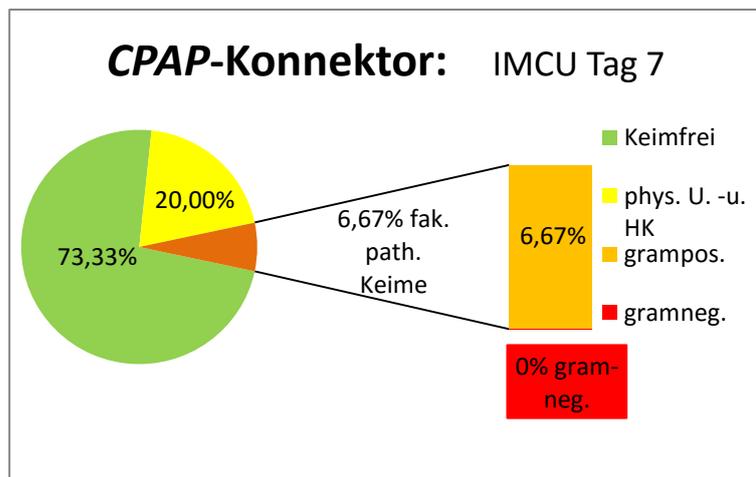
resultierenden je 25 Abstriche von Tag 3 und 7 (je ein Abstrich von Tag 3 und 7 pro Patient). Mit dem Wilcoxon-Test war eine Zunahme der Gesamtkeime ($p=0,021$) und der Gramnegativen Keime ($p=0,014$) nachzuweisen.

b) CPAP-Konnektor:

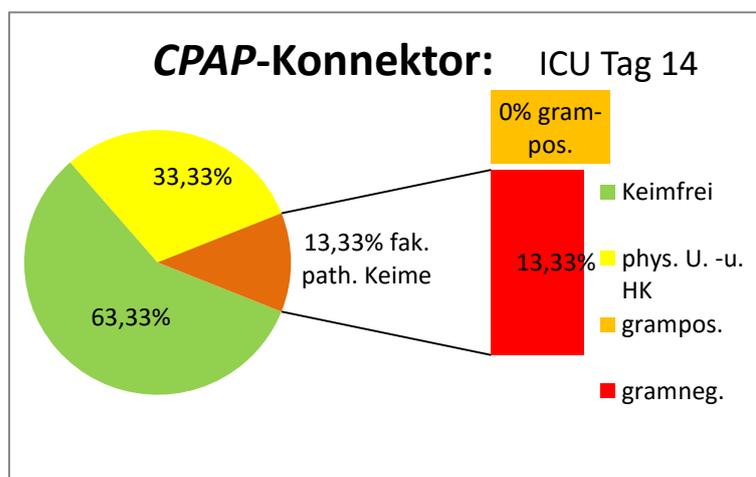
Die CPAP-Konnektor-Abstriche (insgesamt 45) wiesen größtenteils (zu ca. 2/3, $n=30$) Keimfreiheit auf. Aufgrund der unterschiedlichen Wechselzeiten des Konnektors auf der Intensiv- und der Früh- und Neugeborenenstation konnte die Besiedlung nach 7 und 14 Tagen Nutzung verglichen werden. Von Tag 7 wurden 15 Abstriche durchgeführt, dabei wurden 4 Keime isoliert. An Tag 14 wurden 30 Abstriche entnommen und dabei 14 Keime gefunden.

Nach sieben Tagen Nutzung waren noch 11 (73%) Konnektoren keimfrei, 3 (20%) hingegen wiesen Hautkeime auf. Nur ein Konnektor (7%) war mit einem grampositiven Keim, welcher der physiologischen Hautflora nicht zugeordnet wird, besiedelt. Gramnegative Keime oder Pilze wurden nicht gefunden.

Nach 14 Tagen Nutzung waren 63% ($n=19$) der Konnektoren unbesiedelt. Auf den elf besiedelten Konnektoren wurden 14 Keime analysiert. Neun der



Grafik 6: CPAP-Konnektor Tag 7

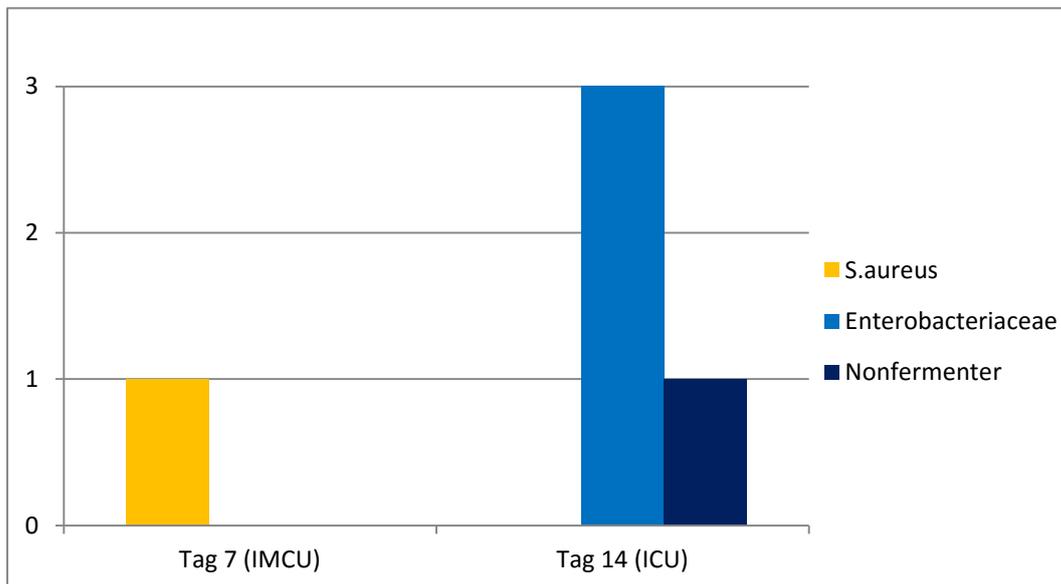


Grafik 7: CPAP-Konnektor Tag 14

Konnektoren waren einfach besiedelt, ausschließlich mit Hautkeimen. Die zwei übrigen

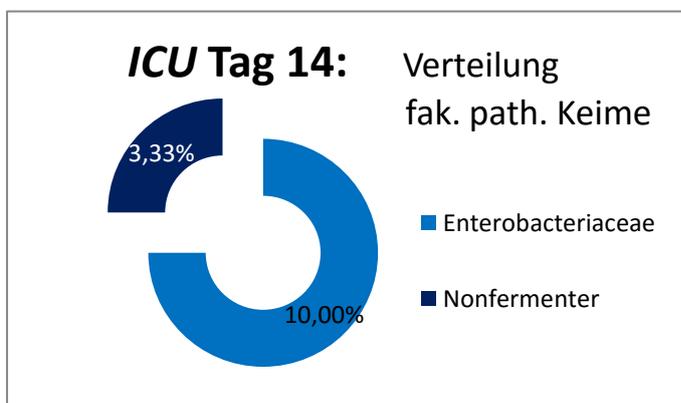
bewachsenen Konnektoren waren mehrfach mit fakultativ pathogenen Mikroorganismen besiedelt: Einer mit zwei gramnegativen Keimen (zweimal Keime aus der Familie der Enterobacteriaceae). Der andere Konnektor war mit zwei unterschiedlichen gramnegativen Keimen (ein Nonfermenter und ein Keim aus der Enterobacteriaceae-Gruppe) und *phys. U.- u. HK* besiedelt.

Hautkeime waren dadurch zu 33% (n=10) auf den Konnektoren nachweisbar. Nicht-Hautflora-zugehörige Keime wurden auf 13% (n=4) der Konnektoren isoliert, sie waren ausschließlich gramnegativ. Eine Pilzbesiedlung lag bei den Konnektoren an Tag 14 der Nutzung nicht vor.



Grafik 8: Spezielle Keime auf den CPAP-Konnektoren

Der grampositive Keim nach 7 Tagen Nutzung war ein *S.aureus*. An Tag 14 zeigten sich dem gegenüber vermehrt gramnegative Keime:



- Ein *Nonfermenter* (3% der Konnektoren): *Pseudomonas oryzihabitans*
- Drei Keime aus der Gruppe der Enterobacteriaceae (10% der Konnektoren):

Grafik 9: Gramnegative Keime an Tag 14

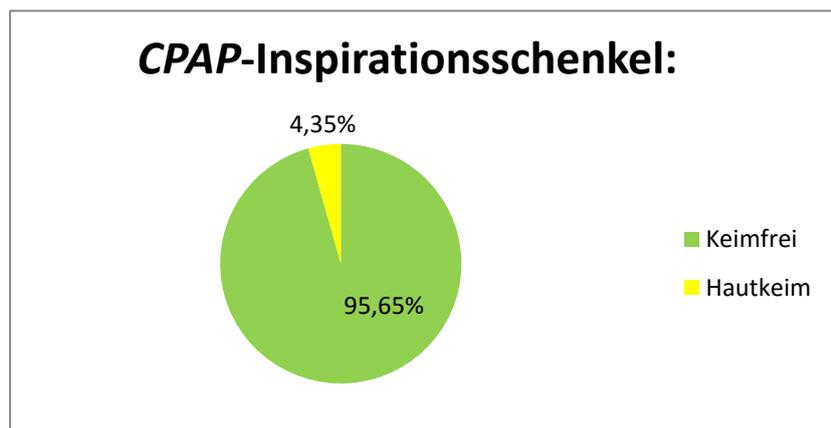
Es waren je ein *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter vulneris* und *Pantoea spp.*.

Somit war die Kolonisation an Tag 14 mit 47% höher als an Tag 7 (27%). Die Konnektorkolonisation mit Hautkeimen an Tag 14 war mit 33% höher als an Tag 7 (20%). An Tag 7 wurden sieben Prozent, an Tag 14 keine grampositiven Keime isoliert. Während an Tag 7 keine gramnegativen Keime gefunden wurden, waren es 13% an Tag 14.

c) CPAP- Inspirationsschenkel:

Der nächste festgelegte Abstrichsbereich auf dem Inspirationsschenkel lag auf halber Strecke zwischen Beatmungsgerät und Patient und noch außerhalb des Inkubators.

Hier konnten von 22 Patienten 46 Abstriche nach 14 Tagen Nutzung entnommen werden. Die Abstrichszahl bei diesen Patienten rangierte zwischen ein und fünfmal. Die Abstriche waren zu 96%

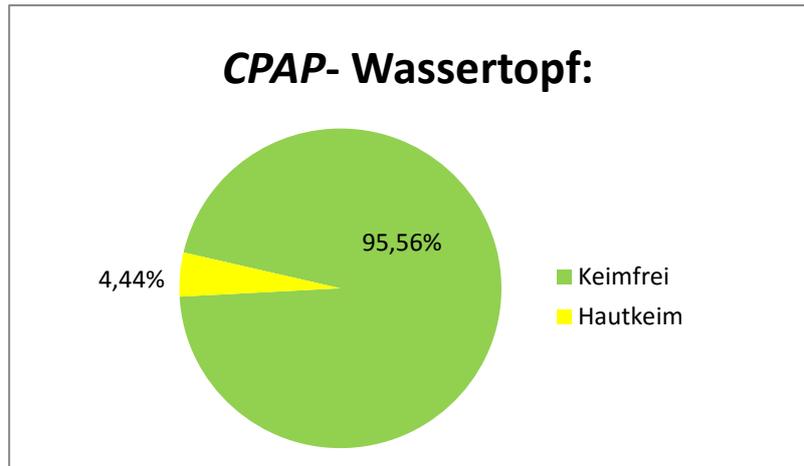


Grafik 10: Inspirationsschenkel

negativ, lediglich bei zwei Patienten, je einer von der Intensiv- und einer von der Früh- und Neugeborenenstation, wurden Hautkeime gefunden. Somit war der Inspirationsschenkel der Beatmungssysteme bis auf zweimalige Hautkeimkolonisation (zweimal KNS) keimfrei.

d) CPAP- Wassertopf:

Der Wassertopf ist dem Beatmungsgerät unmittelbar angeschlossen und somit das vom Patienten am weitesten entfernte Equipment. Es konnten 45 Abstriche zum Wechselzeitpunkt nach 14 Tagen Nutzung bei



Grafik 11: Wassertopf

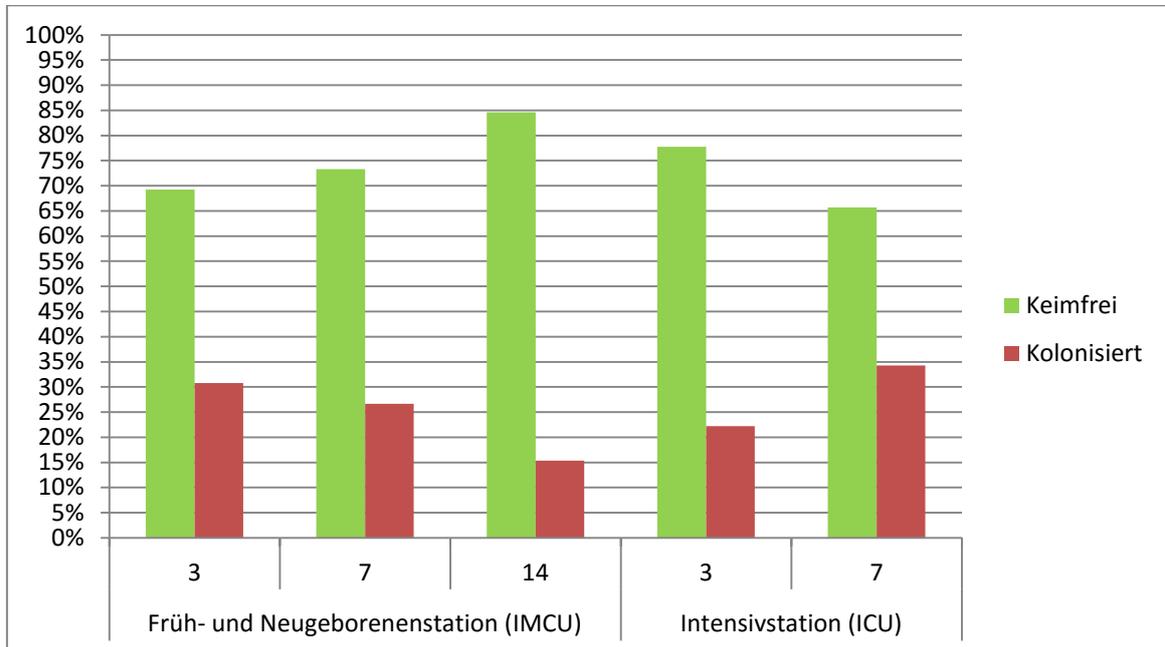
insgesamt 22 Patienten gewonnen werden. Die Abstrichsanzahl bei diesen Patienten rangierte zwischen ein- und fünfmal. Es wurde bei zwei Patienten auf der Früh- und Neugeborenenstation jeweils ein Hautkeim festgestellt. Pathogenere Keime wurden nicht gefunden. Somit war der Wassertopf der Beatmungssysteme bis auf zweimalige Hautkeimkolonisation (KNS, *Bacillus cereus*) keimfrei. Die positiven Befunde der Wassertöpfe stimmten nicht mit den positiven Befunden des Inspirationsschenkel überein, sodass die Hautkeimbesiedlung im Inspirationsschenkel und im Wassertopf unabhängig voneinander erfolgt war.

3.2.2) Beatmungsbeutel:

Während der Studienperiode wurden 266 Ambu-Beutel-Abstriche von allen 26 Patienten entnommen. 176 auf der Intensivstation und 90 auf der Früh- und Neugeborenenstation. Davon waren auf der Intensivstation 105 Konnektor- und 71 Maskenabstriche. Dabei wurden bei 13 (10%) Ambubeutel-Konnektoren Keime isoliert. Bei den Ambubeutel-Masken waren 20 (28%) Masken bewachsen. Auf der Früh- und Neugeborenenstation wurden auf 18 (26%) Ambubeutel-Masken von insgesamt 69 Maskenabstrichen Keime nachgewiesen. Alle 21 Konnektor-Abstriche blieben hier ohne Keimnachweis.

a) Ambubeutel-Masken:

Es wurden insgesamt 140 Abstriche von den Ambubeutel-Masken entnommen.

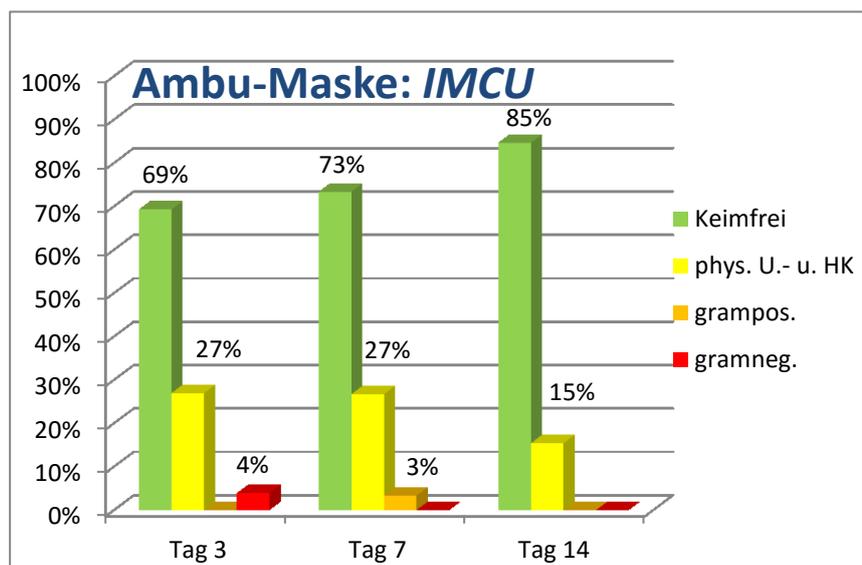


Grafik 12: Ambu-Masken zu den Abstrichzeitpunkten

Davon waren 73% (n=102) keimfrei. Auf den beiden Stationen wurden zusammengenommen auf 38 Masken (37%) 42 Keime isoliert.

Auf der Früh- und Neugeborenenstation (IMCU) wurden 69 Abstriche entnommen und dabei 29 Keime isoliert.

Bei einem Abstrich lag neben physiologischen Umwelt- und Hautkeimen ein fakultativ pathogener grampositiver Keim vor.



Grafik 13: Keime auf den Ambu-Masken, Früh- und Neugeborenenstation

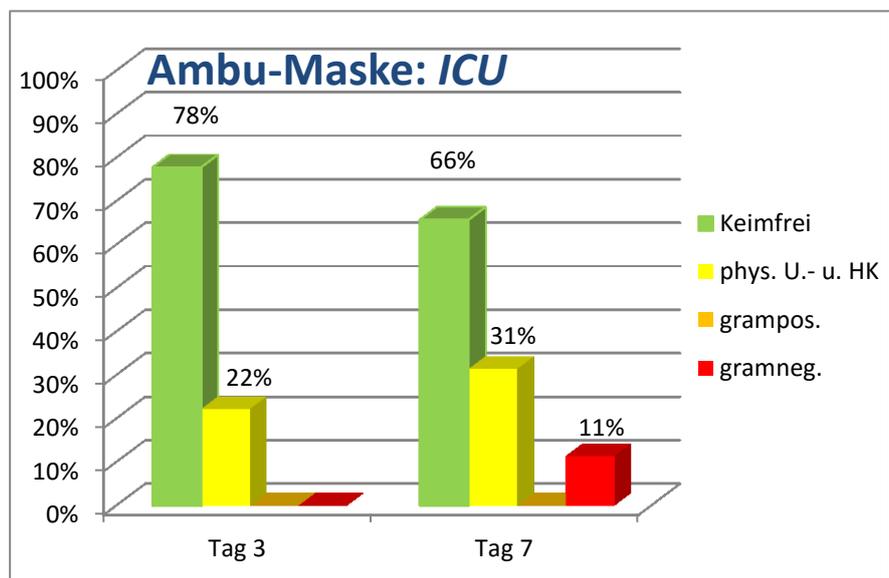
Bei den 18 anderen Abstrichen war die Maske nur von einem Keim kolonisiert.

Der Anteil nichtbewachsener Masken betrug nach drei Tagen 69,23% (n=18). Nach sieben Tagen waren es 73,33% (n=22) und nach 14 Tagen 84,62% (n=11). Der Anteil der mit Hautkeimen besiedelten Masken lag an Tag 3 bei 26,92% (n=7), an Tag 7 bei 26,67% (n=8) und an Tag 14 bei 15,38% (n=2). An Tag 3 gab es einen (3,85% der Masken) gramnegativen Keim. Bei einer Maske lag an Tag 7 der Nutzung ein grampositiver Keim (3,33% der Masken) vor.

Somit zeigte sich eine Abnahme der Keimbesiedlung, sowohl der Haut- als auch der grampositiven und gramnegativen Keime. Pilzbesiedlung konnte zu keinem Zeitpunkt isoliert werden.

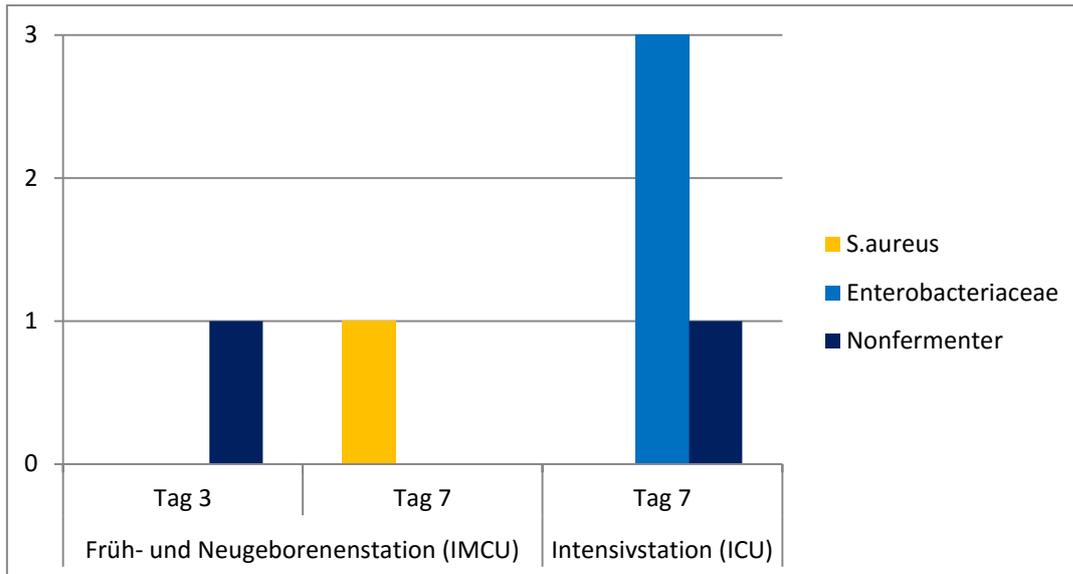
Auf der Intensivstation wurden bei 71 Abstrichen auf 20 Masken Keime nachgewiesen; 23 Keime wurden auf diesen isoliert.

Dies ergab sich durch drei Abstriche mit doppelter (vier gram-



Grafik 14: Keime auf den Ambu-Masken, Intensivstation

negative und zweimal *phys. U.-u. HK*) und 20 Abstriche mit einfacher Besiedlung. Am dritten Tag der Nutzung wurden 36 Abstriche entnommen, am Tag 7 35 Stück. Der Anteil keimfreier Masken betrug an Tag 3 77,78% (n=28). An Tag 7 waren es 65,71% (n=23). Hautkeime lagen an Tag 3 auf 22,22% (n=8) und an Tag 7 auf 31,43% (n=11) der Masken vor. Fakultativ pathogene Mikroorganismen lagen lediglich an Tag 7 vor. Es wurden vier (11,43% der Masken) gramnegative Keime isoliert. Pilze und grampositive Keime konnten an beiden Abstrichzeitpunkten nicht isoliert werden.



Grafik 15: fakultativ pathogene Keime auf den Ambu-Masken

Bei den isolierten Keimen auf der Früh- und Neugeborenenstation handelte es sich an Tag 3 um einen Nonfermenter (*Moraxella osloensis*), an Tag 7 um einen *S.aureus*. Auf der Intensivstation wurden an Tag 3 keine Keime, an Tag 7 ein Nonfermenter (*Moraxella osloensis*) und drei Keime aus der Gruppe der Enterobacteriaceae (*E.cloacae* und zweimal *E.coli*) isoliert.

Insgesamt waren an Tag 7 mehr grampositive und -negative und Hautkeime als an Tag 3 zu verzeichnen. Pilzwachstum wurde nicht gefunden. Die Anzahl keimfreier Masken war an Tag 3 etwas höher.

b) Ambubeutel- Konnektor:

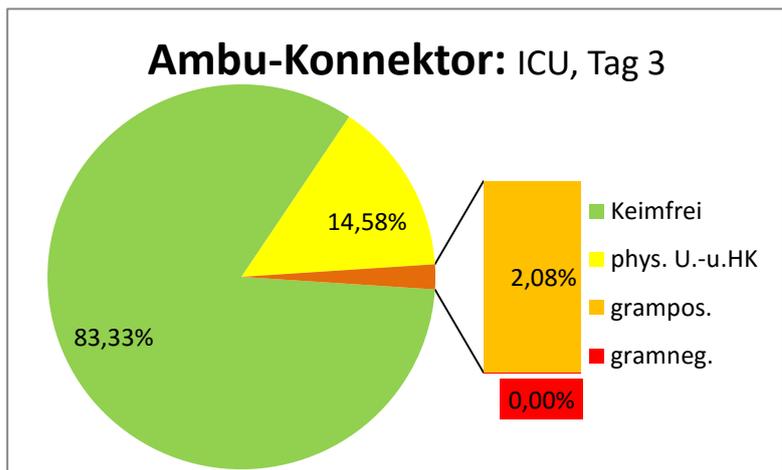
Insgesamt waren von 126 Abstrichen 113 keimfrei (90%).

Auf der Früh- und Neugeborenenstation wurde zu keinem der drei Abstrichzeitpunkte des Ambubeutel-Konnektors eine Kolonisierung gefunden.

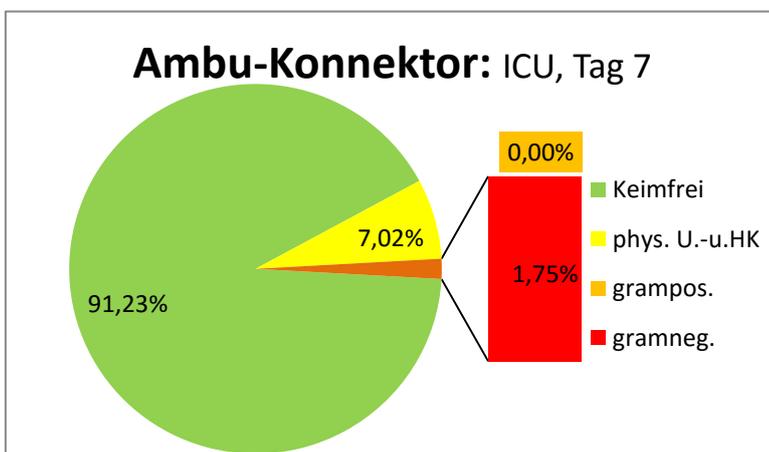


Grafik 16: Keime auf den Ambu-Konnektoren

Auf der Intensivstation wurden an Tag 3 der Nutzung durch insgesamt 48 Abstriche acht Keime isoliert, siebenmal (15% der Konnektoren) physiologische Umwelt- und Hautkeime und ein (2% der Konnektoren) fakultativ pathogener, grampositiver Keim. 40 Konnektoren (83%) zeigten Keimfreiheit. Bei dem grampositiven Keim handelte es sich um *S.aureus*.



Grafik 18: Ambu-Konnektor Intensivstation Tag 3



Grafik 17: Ambu-Konnektor Intensivstation Tag 7

Vom Nutzungstag 7 sind 57 Abstriche dokumentiert. Der Anteil keimfreier Konnektoren lag bei 91% (n=52). Fünf Keime wurden isoliert. Hautkeim-Kolonisation war im Vergleich zum dritten Tag der Nutzung um

knapp siebeneinhalb Prozent niedriger und lag bei 7% (n=4) der Konnektoren. Abgesehen von Hautkeim-Kolonisation wurde kein weiteres grampositives Wachstum gefunden, wohl aber ein Konnektor mit gramnegativer Kolonisation (2% der Konnektoren). Ein Pilzwachstum konnte zu keinem Zeitpunkt festgestellt werden. Der gramnegative Keim war ein Keim aus der Familie der Enterobacteriaceae (*E.cloacae*).

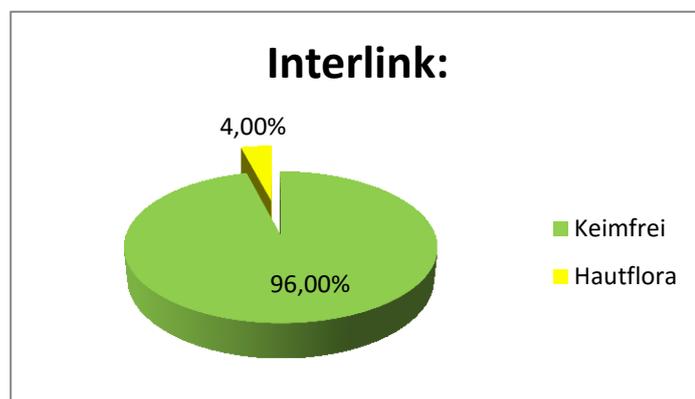
Insgesamt zeigte sich somit kaum Keimwachstum auf den Ambubeutel-Konnektoren.

3.2.3) Infusionssystem:

Parenterale Ernährung war bei unseren Studienpatienten nur in den frühen Lebenswochen notwendig, sodass alle analysierten Abstriche von der Intensivstation stammten. Bei 13 Patienten (21 Abstrichpaare) konnten zum Wechselzeitpunkt sowohl der Interlink, als auch der Multiverbinder abgestrichen werden. Bei vier weiteren Abstrichen musste der Multiverbinder-Abstrich wegen vermutlich unsteriler Abnahme verworfen werden. Dadurch lag bei einem Probanden lediglich ein einmalig isolierter Interlinkabstrich vor, wodurch dieser nicht in den Vergleich mit einbezogen werden konnte. Bei den anderen drei Studienteilnehmern lagen hingegen noch weitere Abstrichpaare vor. Insgesamt wurden bei den 46 Abstrichen (21 Abstrichpaare und 4 einzelne Interlinkabstriche) ein KNS isoliert. Gramnegative Keime oder Pilze wurden nicht gefunden.

a) Interlink:

Vom Interlink wurden bei 14 Patienten insgesamt 25 Abstriche genommen. Sie waren zu 96% (n=24) negativ. Nur bei einem Interlink wurde eine Besiedlung festgestellt. Es handelte sich dabei um einen Hautkeim.



Grafik 19: Interlink des Infusionssystems

Nicht-Hautflora-zugehörige Keime oder Pilze konnten auf den Interlinks nicht nachgewiesen werden.

b) Multiverbinder:

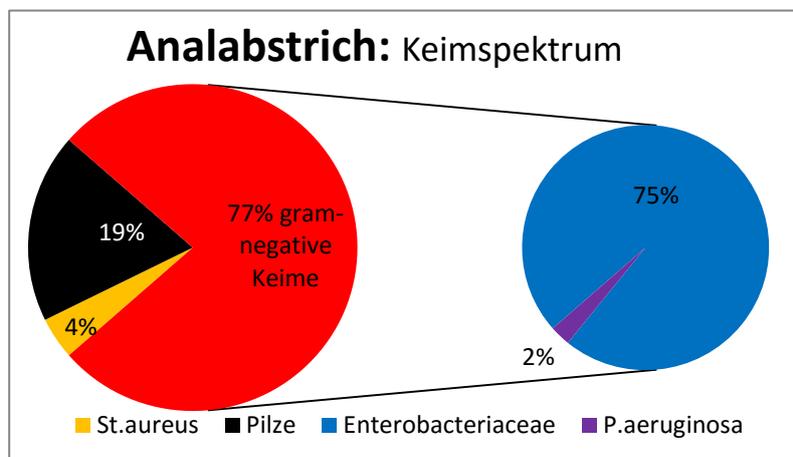
Von 13 Patienten wurden Multiverbinder-Abstriche entnommen und somit insgesamt 21 Abstriche. Diese fielen alle negativ aus. Bei dem Patienten mit dem positiven Interlink-Befund war der dazu gehörende Multiverbinder-Abstrich negativ.

3.3: Ergebnisse Screeningabstriche

Alle Screeninguntersuchungen stammen von der Intensivstation. Insgesamt wurden 242 Screeningabstriche durchgeführt, von diesen wurden nur Abstriche mit Nachweis fakultativ pathogener Mikroorganismen in die Betrachtung mit einbezogen, um die darauf isolierten Keime mit dem bakteriellen Wachstum auf dem Equipment zu vergleichen. In allen routinemäßigen Abstrichen traten 87 (36%; 95% KI [30; 42]) solcher positiven Befunde bei 18 Patienten (69%) auf. Sechs der Patienten waren männlichen Geschlechts. Es kam bei diesen Patienten zu 1-20 positiven Befunden. Bei acht Patienten waren in den Screeningabstrichen keine Mikroorganismen isolierbar.

a) Analabstrich:

Bei insgesamt 121 durchgeführten Abstrichen gab es bei 16 Patienten 39 Abstriche (32%) mit Nachweis von fakultativ pathogenen Mikroorganismen, insgesamt wurden darauf 48 Keime isoliert. Bei den betroffenen Patienten kam es zu jeweils 1-7 positiven Abstrichen mit je 1-2



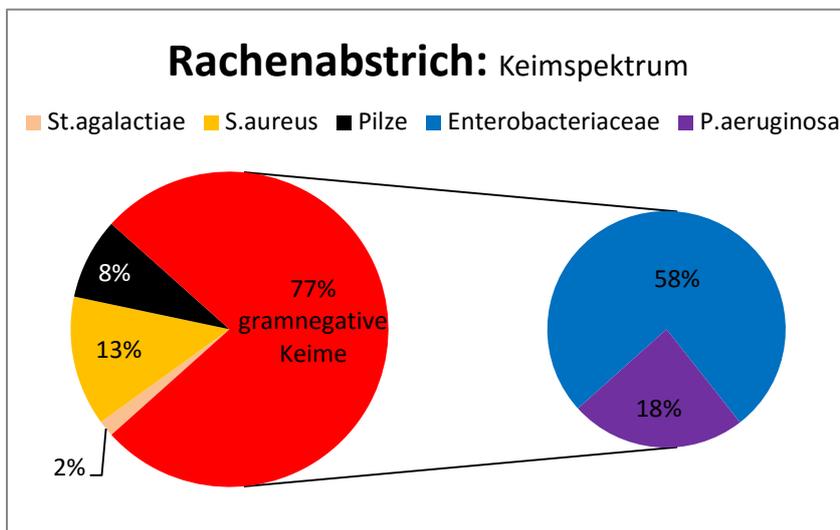
Grafik 20: Kolonisierungen im Analabstrich

Mikroorganismen. Vier Prozent (n=2 bei zwei Patienten) der fakultativ pathogenen Keime waren grampositiv, dies waren zwei *S.aureus*, 77% (n=37 bei zwölf Patienten) waren gramnegativ. Zusätzlich wurden neun (18,75%) Pilze bei insgesamt vier Patienten isoliert.

Bei den gram-negativen Keimen war ein Keim ein *Pseudomonas aeruginosa* (2,08%), die restlichen gramnegativen Keime stammten aus der Gruppe der Enterobacteriaceae (n=36, 75%, 12 Patienten). Am häufigsten war dies *Escheria coli* (n=13 bei vier Patienten), gefolgt von *Enterobacter cloacae* (n=11 bei vier Patienten) und *Klebsiella oxytoca* (n=8 bei zwei Patienten). *Klebsiella pneumoniae* und *Morganella morganii* wurden je zweimal bei je einem Patienten (18,37%) isoliert.

b) Rachenabstrich:

Bei insgesamt 121 durchgeführten Abstrichen waren bei 48 Abstrichen (40%) von 15 Patienten fakultativ pathogene Keime isolierbar. Sechs der Patienten waren männlich. Pro Patient waren 1-6 Abstriche keimpositiv. Die Rachenabstriche waren mit 1-3 Keimen bewachsen, sodass insgesamt 60 Keime isoliert wurden.



Grampositive fakultativ pathogene Keime machten 15% der Bakterien aus (n=9). Dies waren bei insgesamt vier Patienten mit Ausnahme eines *St.agalactiae* ausschließlich *S.aureus*. Gramnegative Keime machten 76,67% (n=46)

Grafik 21: Kolonisierungen im Rachenabstrich

der Mikroorganismen aus. Davon waren 35 Keime (58,33%) aus der Gruppe der Enterobacteriaceae (10 Patienten). Am häufigsten wurden *Enterobacter cloacae* (n=14 bei drei Patienten), gefolgt von *Escheria coli* (n=11 bei vier Patienten) und *Klebsiella*

oxytoca (n=7 bei drei Patienten) gefunden. Bei einem Patienten wurde einmal *Klebsiella pneumoniae* isoliert (identischer Patient zum *K.pneumoniae*-Befund bei den Anal-Abstrichen). Bei einem Patienten wurden je zwei *Pantoea spp.* und *Enterobacter vulneris* isoliert. Die übrigen elf Keime (18,33%) waren *P.aeruginosa* und wurden bei einem Patienten zu acht unterschiedlichen Zeitpunkten isoliert. Es wurde bei zwei Patienten auf fünf Abstrichen (8,33%) eine Pilzkolonisation festgestellt.

3.4: Korrelation zwischen Screening- und Studienabstrichen

Tabelle 6: Kolonisierungen des Magendarmtrakts und des Equipments

	Patienten mit negativen Screeningabstrichen n=8 (31 %)	Patienten mit positiven Screeningabstrichen n=18 (69 %)
Gestationsalter:		
Mittelwert, w+d	27+6	26+4
Median, w+d (Min/Max)	26+8 (24/33)	26+5 (23+6/28+5)
Geburtsgewicht		
Mittelwert, g	1013	835
Median, g (Min/Max)	992,5 (580-1480)	812,5 (495-1420)
Entfernungszeitpunkt des Equipments:		
Mittelwert, n (Wochen)	3	9
Median, n (Wochen), (Min/Max)	2,5 (1-6)	8,5 (3-19)
Kolonisierungen, n	1	20 (1-2 pro Patient)
Kolonisierung des CPAP, n (%)	1 (12,5%)	11 (55%)
Patientenzahl, n	1	11 (61%)
Auftrittszeitpunkt (Wochen)	5	3,5
Dauer der Besiedlung (Wochen)	9	4,6 (2-14)
Keim (%)	<i>S.aureus</i> (100%)	Enterobacteriaceae (n=6, 55%) <i>S.aureus</i> (n=2, 18%) Pilze (n=2, 18%) <i>P.aeruginosa</i> (n=1, 9%)
Übereinstimmung des Keims mit den Screeningabstrichen, n (%)		11 (100%)
Patientenzahl, n		11 (100%)

Kolonisierung des Ambu-Beutels, n Zahl der Patienten, n Auftrittszeitpunkt (Wochen) Dauer der Besiedlung (Wochen) Keim Koexistenz der Keime in: Den Screeningabstrichen [%] Den CPAP-Abstrichen [%]	0 (0) 0	3 (15%) 3 (17%) 2,7 4,3 Enterobacteriaceae (n=2, 50%) <i>S.aureus</i> (n=1, 25%) 100% 67%
Alleinige Kolonisierung in den Screeningabstrichen, n Zahl der Patienten, n Auftrittszeitpunkt (Wochen) Dauer der Besiedlung (Wochen) Keim		8 (40%) 7 (39%) 4 (1-8) 3 (1-7) Enterobacteriaceae (n=5, 63%) Pilze (n=2, 25%) <i>S.aureus</i> (n=1, 13%)

Die Patientengruppe mit negativen Screeningabstrichen waren vom Gestationsalter im Durchschnitt eine Woche älter und hatten ein fast 200 g höheres Geburtsgewicht, im Vergleich zu der Patientengruppe mit positiven Screeningabstrichen. Das Equipment wurde in der Gruppe der Screening-positiven Frühgeborenen fast sechs Wochen länger benötigt.

In der Gruppe der Patienten mit negativem Screening befanden sich acht Patienten (31%). Bei einem dieser Patienten (13%) wurde eine Kolonisierung der CPAP-Beatmungequipments mit einem *S.aureus* festgestellt. Sieben dieser acht Patienten (88%) zeigten keine Kolonisierung auf dem Studienequipment.

Bei 18 Patienten (69%) hingegen waren positive Screeningabstriche verzeichnet. Insgesamt wurden 20 Kolonisierungen, ein bis zwei pro Patient, nachgewiesen.

In 55% der Kolonisierungen (n=11 bei 11 Patienten) bestand zusätzlich Besiedlung des CPAP-Zubehörs. In allen Fällen (n=11 der CPAP-Kolonisierungen, bei 11 Patienten) war eine übereinstimmende Kolonisation in den Screeningabstrichen vorhanden. Hierbei waren Keime aus der Gruppe der Enterobacteriaceae (55%, n=6) führend. Danach

folgten *S.aureus* und Pilze mit je 18% (n=2). Einmal zeigte sich eine *P.aeruginosa*-Kolonisierung (9%).

Achtmal (40% der Kolonisationen) zeigten sich lediglich positive Screeningabstriche, ohne Equipmentkolonisierung. Hier waren im Vergleich Keime der Enterobacteriaceae-Familie (63%) noch häufiger, gefolgt von Pilzen mit 25% und *S.aureus* mit 13%.

Bei 3 Patienten (15% der Kolonisationen) zeigte sich je eine Kolonisierung des Beatmungsbeutels, die entsprechenden Keime waren übereinstimmend mit den jeweiligen Screeningabstrichen. In zwei Fällen waren dies Bakterien der Enterobacteriaceae-Spezies (67%), in einem ein *S.aureus* (33%). In 67% (n=2) dieser Fälle war zu diesem Zeitpunkt das CPAP-Equipment ebenfalls korrelierend besiedelt (ein *S.aureus* und ein Keim der Enterobacteriaceae-Familie). In einem Fall ohne parallele CPAP-Kolonisierung war der Keim aus der Gruppe der Enterobacteriaceae.

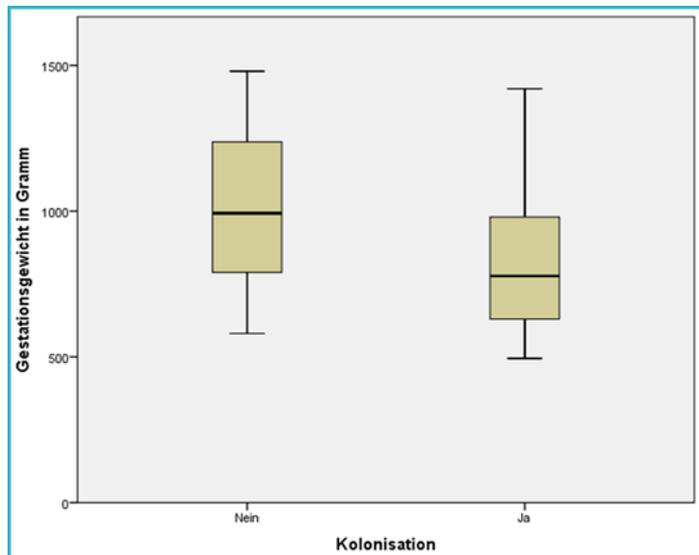
Tabelle 7: Kolonisationen nach Keimen

<u>Keime:</u>	Screeningabstriche:			Positive Studienabstriche:		Infektionsdiagnostik:
	<i>Anal</i>	<i>Rachen</i>	<i>Tracheal</i>	<i>CPAP</i>	<i>Ambu</i>	<i>Katheterspitze</i>
Enterobacteriaceae n=12						
Pat. 2	X (W5)	X (W8)	X (W2)	X (W5)		
Pat. 5	X (W4)			X (W4)		
Pat. 6	X (W5)	X (W5)	X (W6)	X (W5)	X (W7)	
Pat. 11		X (W2)		X (W2)		
Pat. 21	X (W3)	X (W3)		X (W6)		
Pat. 24	X (W1)	X (W2)		X (W2)		
Pat. 12	X (W2)	X (W3)				
Pat. 18	X (W4)	X (W4)			X (W10)	
Pat. 19	X (W9)	X (W8)				
Pat. 23	X (W2)	X (W2)	X (W2)			
Pat. 17	X (W1)					
Pat. 22	X (W1)					

Pilze n=4 Pat. 7 Pat. 20 Pat. 2 Pat. 12	X (W2)	X (W3)		X (W3)		
	X (W2)			X (W1)		X (W1)
	X (W6)	X (W8)	X (W7)			
	X (W6)					
S.aureus n=3 Pat. 8 Pat. 9 Pat. 15	X (W4)	X (W4)		X (W3)		
		X (W2)		X (W2)	X (W3)	
	X (W2)	X (W1)				
P.aeruginosa n=1 Pat. 16						
	X (W1)	X (W1)		X (W1)		

Erwiesene Infektionserreger während CPAP-Beatmung fett gedruckt vermerkt

Kolonisierte Patienten (0-2 Kolonisierungen bei 26 Patienten) hatten eine kürzere Hospitalisationszeit ($p=0,01$) und zeigten einen Trend zu niedrigerem Geburtsgewicht ($p=0,82$, siehe Grafik 22). Geschlecht ($p=0,487$) und Gestationsalter ($p=0,381$) zeigten keine Korrelation zur Kolonisation.



Grafik 22: Geburtsgewicht nach Screeningbefund

Tabelle 8: Risikofaktoren für eine Kolonisierung

	Gestationsalter	Gestationsgewicht	Geschlecht	Hospitalisation
Chi-Quadrat	1,931	5,008	1,438	9,131
df	2	2	2	2
Asymptotische Signifikanz	,381	,082	,487	,010

a. Kruskal-Wallis-Test

b. Gruppenvariable: Kolonisation

Diese Variablen wurden erneut bei Kolonisierung mit gramnegativen Erregern getestet:

Tabelle 9: Risikofaktoren für eine gramnegative Kolonisierung

	Gestationsalter	Gestationsgewicht	Geschlecht	Hospitalisation
Chi-Quadrat	4,023	4,003	,163	4,614
df	1	1	1	1
Asymptotische Signifikanz	,045	,045	,686	,032

a. Kruskal-Wallis-Test

b. Gruppenvariable: Gramnegative_Kolonisation

Hier zeigte, dass mit gramnegativen Erregern kolonisierte *VLBW*- Frühgeborene häufiger eine längere Hospitalisationsdauer ($p=0,032$), ein niedrigeres Gestationsalter ($p=0,045$) und ein niedrigeres Geburtsgewicht ($p=0,045$) hatten.

3.5: Infektionen während *CPAP*-Beatmung

Bei den 2 diagnostizierten Pneumonien unter der *CPAP*-Beatmung (ein weiblicher und ein männlicher Patient) wurde je ein Keim der Enterobacteriaceae-Spezies im Trachealsekret kultiviert, welcher ebenfalls in den anderen Routineabstrichen isolierbar war. Die Sekretentnahme erfolgte nach der Reintubation bei vorheriger respiratorischer Verschlechterung unter *CPAP*. In einem der Fälle war der Keim ebenfalls in den Ambubeutel- und *CPAP*-Abstrichen nachweisbar. Eine weitere Pneumonie wurde vor Extubation diagnostiziert (nicht inbegriffen in die Studie), in dem Fall wurde der im Trachealsekret nachgewiesene *E.cloacae* nach Extubation in den Ambubeutel-Abstrichen nachgewiesen. Die nachgewiesenen *E.cloacae* zeigten keine besonderen Resistenzen. Eine zusätzliche Pneumonie trat vor Extubation und somit nicht im Studienzeitraum auf. Bei diesem Patienten wurde *E.cloacae* im Trachealsekret nachgewiesen.

Während der *CPAP*-Beatmung traten bei acht Patienten (5 weibliche, 3 männliche) neun Septikämien auf (31% der Patienten). Sechs Septikämien konnten per Blutkultur

nachgewiesen werden, davon bei Vieren mit zusätzlichem Nachweis des identischen Erregers auf der ZVK-Spitze. Zweimal (beides KNS) wurde bei klinisch septischen Kindern lediglich ein Erreger auf dem einliegenden, gezogenen Gefäßkatheter nachgewiesen. Da keine Quantifizierung der Keimmenge stattfindet, kann bei den ZVK-Spitzen nicht beurteilt werden, ob die Mikroorganismen beim Ziehen des Katheters durch die Haut auf die Katheteroberfläche gelangten oder ob der Katheter tatsächlich bereits intraluminal besiedelt wurde. Von den routinemäßig untersuchten ZVK-Spitzen mit insgesamt 18 Kathetern mit Keimnachweis waren diese oben genannten sechs (33%) tatsächlich mit einer klinischen Infektion assoziiert. 2/3 der Keimisolationen von den ZVK-Spitzen hingegen waren somit lediglich Kontaminationen, die nachgewiesenen Mikroorganismen waren bis auf einen *C.albicans* alles KNS.

Insgesamt waren somit 31 % der Studienpatienten von einer Sepsis betroffen. Fünf der acht Patienten waren *ELBW*-Frühgeborene. Bei diesen insgesamt acht Fällen wurden 8 KNS und ein *C.albicans* kultiviert. Allerdings ist aufgrund der milden Klinik des Patienten davon auszugehen, dass der *C.albicans* eine Kontamination bei der Abnahme der Blutkultur und der ebenfalls isolierte KNS der auslösende Keim war. Der *C.albicans* war als Hautkolonisor ebenfalls in den *CPAP*- und Routine- Abstrichen nachweisbar. Die Septikämien- auslösenden KNS waren weder in den Studien-, noch auf den Routineabstrichen korrelierend nachweisbar. Der Patient mit dem KNS-Isolat auf dem Interlink hatte keine Sepsis. Es wurden keinerlei gramnegative Keime, vor allem keine *MRGN* (Multiresistente gramnegative Erreger) oder *VRE* (Vancomycin-resistente Enterokokken) in den Blutkulturen nachgewiesen.

4) Diskussion:

In unserer Studie zeigte sich eine Zunahme der bakteriellen Kolonisation auf dem Beatmungsequipment bei zunehmender Nutzungsdauer und Patientennähe. Insgesamt fand sich bei 42% aller Abstriche des Equipments eine Besiedlung. An Tag 7 waren weniger Hautkeime auf den Beatmungsprongs als an Tag 3 vorhanden, dafür mehr pathogene Keime. Auf dem CPAP-Equipment fanden sich in 55% der Fälle dieselben Keime wie in den Routineabstrichen, im gramnegativen Bereich waren dies vorwiegend Enterobacteriaceae. Ambubeutel waren mit abnehmender Nutzung weniger besiedelt. Multiresistente Keime wurden nicht isoliert. Eine gramnegative Kolonisation der Patienten in/auf Rachen und Anus zeigte sich häufiger bei niedrigerem Geburtsgewicht, jüngerem Gestationsalter und längerer Hospitalisationszeit. Die Pneumonierate lag bei 8% (2/26), bei einem dieser Patienten konnte der krankheitsverursachende E.cloacae auch auf dem Equipment nachgewiesen werden.

Auf dem CPAP-System zeigte sich eine Zunahme der Kolonisation von Patienten-fern zu -nah. Wassertopf und Inspirationsschenkel waren zu je 96% [siehe 3.2.1)c) und d)], Konnektor zu 67% [siehe 3.2.1)b)] und Prong/Maske zu nur noch 10 % keimfrei. [siehe 3.2.1)a)]. Auch bei den Beatmungsbeuteln waren die patientenferneren Konnektoren häufiger keimfrei als die Masken (73% vs. 90%) [siehe 3.2.2]. Insgesamt waren die Ambu-Beatmungsbeutel (19%) wesentlich häufiger keimfrei als das CPAP-System (59%). Es fand sich auf den CPAP-Prongs eine Zunahme der fakultativ pathogenen Gesamt- ($p=0,021$) und gramnegativen Keime ($p=0,014$) mit der Nutzungsdauer. Diese Tendenz ergab sich ebenso beim CPAP-Konnektor und bei den Beatmungsbeutel-Masken mit regelmäßiger Nutzung. Die patientennahen CPAP- und Ambubeutel-Abschnitte scheinen damit prädestiniert für eine Kolonisation zu sein. Die patientenfernen Abschnitte hingegen zeigten erfreulicherweise kein gramnegatives Wachstum und scheinen somit infektiologisch keine Rolle zu spielen.

Knapp die Hälfte des CPAP-Equipments zeigte eine Besiedlung. Wie zu erwarten, nimmt die Besiedlung mit Hautkeimen ab, es zeigt sich jedoch bei den pathogenen Keimen v.a. ein Anstieg der gramnegativen Keime.

Gramnegative Keime werden in der Neonatologie vermehrt nachgewiesen und „MRGN“ (Multiresistente gramnegative)-Erreger sind eine ernstzunehmende Gefahr auf den neonatologischen Intensivstationen geworden [8, 59, 63, 64]. Diese Erreger

stellen besonders eine Gefahr für *VLBW*-Frühgeborene dar, da diese überproportional häufig von gramnegativen Infektionen betroffen sind [28, 42]. In unserem Beobachtungszeitraum traten allerdings keine multiresistenten Keime auf.

Insbesondere der Gastrointestinaltrakt stellt dabei ein Reservoir für die gramnegativen Keime dar [15, 17, 20, 61]. Der Nachweis von Erregern gramnegativer Septikämien, die ebenso in Surveillance-Abstrichen nachgewiesen wurden, verdeutlicht den Wert eines routinemäßig durchgeführten bakteriellen Monitorings des Gastrointestinaltrakts. Auch durch Screening des Trachealsekrets kann der Erreger einer Sepsis mit allerdings niedrigem positiv prädiktivem Wert nachgewiesen werden [43]. Mit den Ergebnissen einer Studie von 2005 zu gramnegativen Blutstrominfektionen postulierten *Larson et al.* [42], dass die endogene Darmflora und die umgebenden Gegenstände der Frühgeborenen vermutlich eher als Reservoir zu betrachten seien als die Hände des Pflegepersonals. *Brooks et al.* [13] stellten 2014 heraus, dass in der Patientenumgebung vor allem patientennahe Gegenstände wie „Magen- und Beatmungssonden“ das Reservoir für darmkolonisierende Keime darstellen. In welche Richtung eine Besiedlung erfolgt, ob von Patient auf das Equipment oder andersherum ist bisher unklar. Wahrscheinlich besteht ein gegenseitiger Austausch mit Keimselektion [13, 33, 71]. Zudem kann es bei unzureichenden hygienischen Maßnahmen zu horizontaler Transmission von Mikroorganismen von benachbarten Patienten kommen [15, 33, 58, 71].

Auf der Grundlage unserer Erhebung erscheint es dementsprechend sinnvoll die patientennahen *CPAP*-Konnektoren und -Prongs häufiger zu wechseln oder zu reinigen. Bei den Ambubeutel-Masken war die Zunahme von Gesamt- und gramnegativen Keimen sehr viel weniger ausgeprägt (71% Keimfrei auf der Intensivstation). Auf der Früh- und Neugeborenenstation zeigte sich bei den Ambubeutel-Masken eine Keimabnahme. Wir nehmen an, dass dies darauf zurück zu führen ist, dass die Ambubeutel-Masken auf der IMCU-Station meist nicht mehr genutzt wurden, da die Patienten stabil waren. In der geöffneten, sterilen, nährstofflosen Verpackung [siehe Bildanhang 7] scheinen die Mikroorganismen mit zunehmender Lagerungszeit weniger

überlebensfähig. Das bisherige Wechsel-Regime mit den Ambubeuteln werden wir daher beibehalten, das Intervall des CPAP-Prongwechsels hingegen halbieren.

In unserer Studie wiesen 69% unserer Studienpatienten mindestens die Kolonisation mit einem Erreger in den Screeningabstrichen auf. Wir vermuteten, dass Probanden mit niedrigerem Gestationsalter häufiger zu Kolonisierungen des Magen-Darm-Traktes mit fakultativ pathogenen Erregern neigen. Statistisch zeigte dieser Parameter eine Tendenz ($p=0,082$), erreichte allerdings am ehesten aufgrund der geringen Probandenanzahl keine Signifikanz.

Bei der Betrachtung gramnegativer Kolonisation der Studienpatienten zeigte sich hingegen ein signifikanter Unterschied beim Geburtsgewicht ($p= 0,045$), sodass niedriges Geburtsgewicht als Risikofaktor hinsichtlich gramnegativer Kolonisierungen zu werten ist. *Calil et al.* [14] stellten heraus, dass ein Geburtsgewicht unter 1500 Gramm einen Risikofaktor für multiresistente *E.cloacae* darstellt. Bei *Smith et al.* [61] zeigte sich das Geburtsgewicht als Risikofaktor für eine gramnegative Kolonisation. Ein niedrigeres Gestationsalter als weiteren, mit dem Geburtsgewicht zusammenhängenden Risikofaktor konnten wir ebenso darstellen ($p=0,045$). Das Geschlecht war kein Risikofaktor ($p=0,686$). In der Literatur ist für diesen Parameter ebenfalls keine Korrelation beschrieben. Die in unserer Studie erwiesene Korrelation zwischen einer gramnegativen Kolonisation und der Hospitalisationsdauer ($p=0,032$) deckt sich ebenso mit den Ergebnissen anderer Studien [14, 15, 49, 61]. Aus der Studie von *Schwietz et al.* [58] aus dem Jahre 2003 lässt sich eine ähnliche Tendenz ableiten: Bei Frühgeborenen nahm die Diversität der Darmflora, welche nach Geburt aus der Umgebung erworben wird, mit der Zeit wieder ab. Zudem wiesen die Frühgeborenen zu dem in der Studie gewählten Zeitpunkt von 6 Tagen nach der Geburt eine wesentlich geringere Diversität im Vergleich zu gestillten Reifgeborenen auf. Eine Zunahme gramnegativer Kolonisationskeime mit der Hospitalisationszeit wurde 2013 von *Milicavljevic et al.* [49] beschrieben. Es wurde mittels gastroösophagealer Proben ermittelt, dass der Anteil gramnegativer Keime an den Kolonisationskeimen nach Geburt nur einen geringfügigen Prozentsatz ausmacht, nach 4 Wochen allerdings bis

auf 50 Prozent aller Kolonisationskeime ansteigt. In unserer Studie machten gramnegative Keime ca. 62% der fakultativ pathogenen Kolonisierungen aus.

In unserer Studie stimmten die isolierten Keime auf dem *CPAP*-System insgesamt zu 100% mit Keimen aus den Screeningabstrichen überein. Einzuräumen ist, dass die genetische Identität in unserer Studie nicht überprüft wurde, sodass wir lediglich angeben konnten, dass es sich um denselben Erreger handelt. Wir können ferner aufgrund der nur wöchentlich durchgeführten Screeningabstriche kein Urteil zur Besiedlungsrichtung abgeben.

Es traten zwei Pneumonien unter *CPAP*-Beatmung auf. Die auslösenden *Enterobacter cloacae*, mit Nachweis aus dem Trachealsekret, wurden ebenfalls in den Screeningabstrichen isoliert. Teilweise waren die Keime auch auf dem *CPAP*-System nachweisbar.

Bekanntermaßen stellt *CPAP* einen Risikofaktor für eine nosokomiale Infektion dar [61]. Aufgrund einer höheren potenziellen Pathogenität ist insbesondere die Zunahme gramnegativer Keime der patientennahen Abschnitte des Beatmungsequipments in unserer Studie herauszustellen [1, 28, 47].

Mit der bisherigen Studienlage ist nicht beantwortbar, ob ein Beatmungssystem, wie das *CPAP*-System eine Kolonisation fördert. Die Zunahme gramnegativer Keime in der Nasenflora bei *CPAP*-Beatmung könnte ein Zeichen dafür sein, dass eine gramnegative Kolonisation gefördert wird [7]. Allerdings fällt das Auftreten von Pneumonien mit gramnegativen Keimnachweis bei nichtinvasiver Beatmung geringer aus, als bei invasiver Beatmung [38]. *Strenger et al.* [64] konnten 2013 darstellen, dass Kolonisierungen abhängig von der Spezies bis zu einem Jahr nach Verlassen des Krankenhausumfeldes persistieren.

Die Anzahl von zwei Pneumonien (8%, 11,5% der Patienten, unter *CPAP*: n=2,) bei *VLBW*-Frühgeborenen deckt sich mit Angaben aus der Literatur. Der Vollständigkeit halber ist zu erwähnen, dass es bei einem Patienten vor Eintritt in die Studie (noch intubiert) zu einer Pneumonie kam, sodass die Gesamtinzidenz bei 11,5% lag (n=3).

In der Literatur liegt die Inzidenz bei dieser Patientengruppe bei 11-13% [18, 25, 57]. In beiden Fällen waren die isolierten, auslösenden Keime *Enterobacter cloacae*. Graham et al. [29] schrieben 2007 den gramnegativen Erregern ca. 30% der Pneumonien bei VLBW-Frühgeborenen zu. Das Studienpatientenkollektiv ist sicherlich zu gering um einen Vergleich mit anderen publizierten Studien zu ziehen.

In unserer Studie wurden die auslösenden *Enterobacter cloacae* auch in den Screeningabstrichen isoliert, sodass wir von endogenen Infektionen ausgehen. Bei einem Patient ließ sich der Keim ebenfalls auf dem CPAP-Equipment isolieren, sodass über eine Ventilation des Keimes in das Trachealsystem spekuliert werden kann. Der *Enterobacter cloacae* wurde allerdings auf dem CPAP-System und in der Surveillance zum selben Zeitpunkt nachgewiesen, sodass sich der Verdacht einer Keimtranslokation vom CPAP in den Patienten zeitlich nicht darstellen lässt.

In unserer Studie konnten die Sepsis-auslösenden Keime, allesamt KNS, nicht in den Beatmungsequipment- oder Surveillance-Abstrichen isoliert werden. Blutinfektionen mit Kolonisationskeimen konnten wir somit nicht beschreiben.

Die Inzidenz von 31% (8/26 Patienten) der LOS (*late onset septicemia*) war, insbesondere mit Blick auf das Patientenkollektiv (21/26 waren ELBW-Frühgeborene), mit den Ergebnissen anderer Studien vergleichbar [25, 36, 51, 66]. Beispielhaft zeigten 2010 die Daten aus dem amerikanischen NICHD Neonatal Research Network mit 9575 Studienteilnehmern in der Analyse von Stoll et al. [67], dass die LOS -Rate bei Frühgeborenen mit einem Gestationsalter von 22 Schwangerschaftswochen (SSW) bei 58% und mit 28 Wochen SSW bei 20% liegt. Obwohl der Anteil gramnegativer Keime als Auslöser von Septikämien zunimmt und ihm in der Literatur mittlerweile ein Anteil von bis zu 20-30% [29] zugeschrieben wird, zeigten sich in unseren Blutkulturen lediglich KNS. Hierzu lässt sich die Studie von Anderson et al. [8] aus dem Jahre 2008 heranziehen. In dieser stellte sich heraus, dass der Quotient von Infektionen in sterilen Körperflüssigkeiten (Blut, Liquor, Pleuraflüssigkeit) zur Anzahl multiresistent-gramnegativ kolonisierter Patienten etwa 1:26 betrage. Der Quotient von dem bei uns häufiger auftretenden, kolonisierenden Keim *Enterobacter cloacae* etwa 1:41, der bei

uns einmalig aufgetretene *Enterobacter aerogenes* 1:11. Die relativ kleinen Quotienten legen nahe, dass bei einer Studie mit Kolonisations- und Infektionsvergleich wesentlich größere Probandenzahlen nötig sind, als die 26 Probanden unserer Studie, um ein messbares Ergebnis zu produzieren.

Ausblick:

Da Beatmungssysteme bei der Kolonisation des Magendarmtraktes eine Rolle spielen [13, 33, 69] und möglicherweise Erreger auf der Haut und am Equipment in das Trachealsystem eingebracht werden können, könnten hygienische Maßnahmen vor allem an patientennahen Abschnitten des Beatmungssystems ein Ansatzpunkt sein, um die Inzidenz von endogenen Pneumonien mit gramnegativen Erregern zu senken, vor allem da bislang der Ansatz der Dekontamination des Magendarmtraktes (*SDD= selektive Darm-Dekontamination*) in Studien bisher erfolglos blieb, vielmehr zu vermehrten Resistenzen der Erreger führte [63]. Auch in der Erwachsenen- Medizin wird die *SDD* kontrovers diskutiert, sodass bislang keine Empfehlung für die *SDD* zur Prävention von Pneumonien bei Patienten auf Intensivstationen ausgesprochen wurde [37, 54]. Vielmehr zeigte restriktiver Gebrauch von Antibiotika eine Senkung gramnegativer Kolonisierungen [14, 35, 59]. Weitere Untersuchungen mit größeren Patientenkollektiven könnten mehr Aufschluss darüber geben, inwieweit das *CPAP*-System zu gramnegativen Pneumonien beiträgt. Wir haben an unserer Neonatologie das Intervall für den *CPAP*- Prong/Maskenwechsel von 7 auf vier Tage verkürzt.

5) Literaturverzeichnis:

1. Adams-Chapman, I., & Stoll, B. J. (2002). Prevention of nosocomial infections in the neonatal intensive care unit. *Current opinion in pediatrics*, 14(2), 157-164.
2. Ainsworth, S., Clerihew, L., & McGuire, W. (2007). Percutaneous central venous catheters versus peripheral cannulae for delivery of parenteral nutrition in neonates. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (3).
3. Aly, H. Z. (2001). Nasal prongs continuous positive airway pressure: a simple yet powerful tool. *Pediatrics*, 108(3), 759-761.
4. Aly, H., Milner, J. D., Patel, K., & El-Mohandes, A. A. (2004). Does the experience with the use of nasal continuous positive airway pressure improve over time in extremely low birth weight infants?. *Pediatrics*, 114(3), 697-702.
5. Aly, H., Herson, V., Duncan, A., Herr, J., Bender, J., Patel, K., & El-Mohandes, A. A. (2005). Is bloodstream infection preventable among premature infants? A tale of two cities. *Pediatrics*, 115(6), 1513-1518.
6. Aly, H., Massaro, A. N., Hammad, T. A., Narang, S., & Essers, J. (2009). Early nasal continuous positive airway pressure and necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Pediatrics*, 124(1), 205-210.
7. Aly, H., Hammad, T. A., Ozen, M., Sandhu, I., Taylor, C., Olaode, A., ... & Keiser, J. (2011). Nasal colonization among premature infants treated with nasal continuous positive airway pressure. *American journal of perinatology*, 28(04), 315-320.
8. Anderson, B., Nicholas, S., Sprague, B., Campos, J., Short, B., & Singh, N. (2008). Molecular and Descriptive Epidemiology of Multidrug-Resistant Enterobacteriaceae in Hospitalized Infants. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 29(3), 250-255.
9. Avila-Figueroa, C., Goldmann, D. A., Richardson, D. K., Gray, J. E., Ferrari, A., & Freeman, J. (1998). Intravenous lipid emulsions are the major determinant of coagulase-negative staphylococcal bacteremia in very low birth weight newborns. *The Pediatric infectious disease journal*, 17(1), 10-17.
10. Bell, E. F. (2005). Preventing necrotizing enterocolitis: what works and how safe?. *Pediatrics*, 115(1), 173-174.

11. Benjamin, D. K., Miller, W., Garges, H., McKinney, R. E., Cotton, M., Fisher, R. G., & Alexander, K. A. (2001). Bacteremia, central catheters, and neonates: when to pull the line. *Pediatrics*, *107*(6), 1272-1276.
12. Benjamin, D. K., DeLong, E., Cotten, C. M., Garges, H. P., Steinbach, W. J., & Clark, R. H. (2004). Mortality following blood culture in premature infants: increased with Gram-negative bacteremia and candidemia, but not Gram-positive bacteremia. *Journal of Perinatology*, *24*(3), 175-180.
13. Brooks, B., Firek, B. A., Miller, C. S., Sharon, I., Thomas, B. C., Baker, R., ... & Banfield, J. F. (2014). Microbes in the neonatal intensive care unit resemble those found in the gut of premature infants. *Microbiome*, *2*(1), 1. Chicago
14. Calil, R., Marba, S. T. M., von Nowakonski, A., & Tresoldi, A. T. (2001). Reduction in colonization and nosocomial infection by multiresistant bacteria in a neonatal unit after institution of educational measures and restriction in the use of cephalosporins. *American journal of infection control*, *29*(3), 133-138.
15. Carl, M. A., Ndao, I. M., Springman, A. C., Manning, S. D., Johnson, J. R., Johnston, B. D., ... & Tarr, P. I. (2014). Sepsis From the Gut: The Enteric Habitat of Bacteria That Cause Late-Onset Neonatal Bloodstream Infections. *Clinical Infectious Diseases*, ciu084.
16. Chien, L. Y., Macnab, Y., Aziz, K., Andrews, W., Mcmillan, D. D., Lee, S. K., & Canadian Neonatal Network. (2002). Variations in central venous catheter-related infection risks among Canadian neonatal intensive care units. *The Pediatric infectious disease journal*, *21*(6), 505-511.
17. Cordero, L., Rau, R., Taylor, D., & Ayers, L. W. (2004). Enteric gram-negative bacilli bloodstream infections: 17 years' experience in a neonatal intensive care unit. *American journal of infection control*, *32*(4), 189-195.
18. Couto, R. C., Pedrosa, T. M., Cristina de Paula Tofani, M. D., & Pedroso, E. R. (2006). Risk factors for nosocomial infection in a neonatal intensive care unit. *Risk*, *27*(6), 571-575.
19. De Klerk, A. M., & De Klerk, R. K. (2001). Nasal continuous positive airway pressure and outcomes of preterm infants. *Journal of paediatrics and child health*, *37*(2), 161-167.
20. Donnell, S. C., Taylor, N., van Saene, H. K. F., Magnall, V. L., Pierro, A., & Lloyd, D. A. (2002). Infection rates in surgical neonates and infants receiving

- parenteral nutrition: a five-year prospective study. *Journal of Hospital Infection*, 52(4), 273-280.
21. Elliott, T. S. J., & Curran, A. (1989). Effects of heparin and chlorbutol on bacterial colonisation of intravascular cannulae in an *in vitro* model. *Journal of Hospital Infection*, 14(3), 193-200.
 22. Fanaroff, A. A., Korones, S. B., Wright, L. L., Verter, J., Poland, R. L., Bauer, C. R., ... & National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. (1998). Incidence, presenting features, risk factors and significance of late onset septicemia in very low birth weight infants. *The Pediatric infectious disease journal*, 17(7), 593-598.
 23. Freeman, R., Holden, M. P., Lyon, R., & Hjersing, N. (1982). Addition of sodium metabisulphite to left atrial catheter infusates as a means of preventing bacterial colonisation of the catheter tip. *Thorax*, 37(2), 142-144.
 24. Freeman, J., Goldmann, D. A., Smith, N. E., Sidebottom, D. G., Epstein, M. F., & Platt, R. (1990). Association of intravenous lipid emulsion and coagulase-negative staphylococcal bacteremia in neonatal intensive care units. *New England Journal of Medicine*, 323(5), 301-308.
 25. Geffers, C., Baerwolff, S., Schwab, F., & Gastmeier, P. (2008). Incidence of healthcare-associated infections in high-risk neonates: results from the German surveillance system for very-low-birthweight infants. *Journal of Hospital Infection*, 68(3), 214-221.
 26. Geffers, C., Gastmeier, A., Schwab, F., Groneberg, K., Rüden, H., & Gastmeier, P. (2010). Use of Central Venous Catheter and Peripheral Venous Catheter as Risk Factors for Nosocomial Bloodstream Infection in Very-Low-Birth-Weight Infants. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 31(4), 395-401.
 27. Golombek, S. G., Rohan, A. J., Parvez, B., Salice, A. L., & LaGamma, E. F. (2001). " Proactive" management of percutaneously inserted central catheters results in decreased incidence of infection in the ELBW population. *Journal of perinatology: official journal of the California Perinatal Association*, 22(3), 209-213.
 28. Graham III, P. L., Begg, M. D., Larson, E., Della-Latta, P., Allen, A., & Saiman, L. (2006). Risk factors for late onset gram-negative sepsis in low birth weight infants hospitalized in the neonatal intensive care unit. *The Pediatric infectious disease journal*, 25(2), 113-117.

29. Graham III, P. L., Della-Latta, P., Wu, F., Zhou, J., & Saiman, L. (2007). The gastrointestinal tract serves as the reservoir for Gram-negative pathogens in very low birth weight infants. *The Pediatric infectious disease journal*, 26(12), 1153-1156.
30. Gupta, A. K., Anand, N. K., Manmohan, N. K., Lamba, I. M. S., Gupta, R., & Srivastava, L. (1991). Role of bacteriological monitoring of the hospital environment and medical equipment in a neonatal intensive care unit. *Journal of Hospital Infection*, 19(4), 263-271.
31. Härtel, C., Faust, K., Avenarius, S., Bohnhorst, B., Emeis, M., Gebauer, C., ... & German Neonatal Network. (2012). Epidemic microclusters of blood-culture proven sepsis in very-low-birth weight infants: experience of the German Neonatal Network. *PloS one*, 7(6), e38304.
32. Havranek, T., Thompson, Z., & Carver, J. D. (2006). Factors that influence mesenteric artery blood flow velocity in newborn preterm infants. *Journal of perinatology*, 26(8), 493-497.
33. Hewitt, K. M., Mannino, F. L., Gonzalez, A., Chase, J. H., Caporaso, J. G., Knight, R., & Kelley, S. T. (2013). Bacterial diversity in two neonatal intensive care units (NICUs). *PloS one*, 8(1), e54703. Chicago
34. Hübner et al. (Dezember 2007). *Vergleich von Methoden zur Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration und Schlussfolgerungen zur Weiterentwicklung der Methoden*. Von german medical science: <http://www.egms.de/de/journals/dgkh/2007-2/dgkh000067.shtml> abgerufen.
35. Jacquot, A., Neveu, D., Aujoulat, F., Mercier, G., Marchandin, H., Jumas-Bilak, E., & Picaud, J. C. (2011). Dynamics and clinical evolution of bacterial gut microflora in extremely premature patients. *The Journal of pediatrics*, 158(3), 390-396.
36. Kawagoe, J. Y., Segre, C. A., Pereira, C. R., Cardoso, M. F. S., Silva, C. V., & Fukushima, J. T. (2001). Risk factors for nosocomial infections in critically ill newborns: a 5-year prospective cohort study. *American journal of infection control*, 29(2), 109-114.
37. Keyt, H., Faverio, P., & Restrepo, M. I. (2014). Prevention of ventilator-associated pneumonia in the intensive care unit: A review of the clinically relevant recent advancements. *The Indian journal of medical research*, 139(6), 814.

38. Kohlenberg, A., Schwab, F., Behnke, M., Geffers, C., & Gastmeier, P. (2010). Pneumonia associated with invasive and noninvasive ventilation: an analysis of the German nosocomial infection surveillance system database. *Intensive care medicine*, 36(6), 971-978.
39. Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (2013) Risikocharakterisierung intensivmedizinisch behandelter Früh- und Neugeborener und Daten zur Ist-Situation in deutschen neonatologischen Intensivpflegestationen 2013. Fachliche Erläuterungen zu folgender Empfehlung: Praktische Umsetzung sowie krankenhaushygienische und infektionspräventive Konsequenzen des mikrobiellen Kolonisationsscreenings bei intensivmedizinisch behandelten Früh- und Neugeborenen. Ergänzende Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO). Supplement zum Epidemiologischen Bulletin Nr. 42. Robert Koch-Institut, Berlin
40. Kopelman, A. E., & Holbert, D. (2003). Use of oxygen cannulas in extremely low birthweight infants is associated with mucosal trauma and bleeding, and possibly with coagulase-negative staphylococcal sepsis. *Journal of perinatology*, 23(2), 94-97.
41. Kropec, A., Huebner, J., Frank, U., Lemmen, S., Hirt, U., & Daschner, F. D. (1993). In vitro activity of sodium bisulfite and heparin against staphylococci: new strategies in the treatment of catheter-related infection. *Journal of Infectious Diseases*, 168(1), 235-237.
42. Larson, E. L., Cimiotti, J. P., Haas, J., Nesin, M., Allen, A., Della-Latta, P., & Saiman, L. (2005). Gram-negative bacilli associated with catheter-associated and non-catheter-associated bloodstream infections and hand carriage by healthcare workers in neonatal intensive care units. *Pediatric Critical Care Medicine*, 6(4), 457-461.
43. Lau, Y. L., & Hey, E. (1991). Sensitivity and specificity of daily tracheal aspirate cultures in predicting organisms causing bacteremia in ventilated neonates. *The Pediatric infectious disease journal*, 10(4), 290-293.
44. Loeliger, M., Inder, T., Cain, S., Ramesh, R. C., Camm, E., Thomson, M. A., ... & Rees, S. M. (2006). Cerebral outcomes in a preterm baboon model of early versus delayed nasal continuous positive airway pressure. *Pediatrics*, 118(4), 1640-1653.
45. Mahieu, L. M., De Dooy, J. J., Lenaerts, A. E., Ieven, M. M., & De Muynck, A. O. (2001). Catheter manipulations and the risk of catheter-associated bloodstream

- infection in neonatal intensive care unit patients. *Journal of Hospital Infection*, 48(1), 20-26.
46. Maier, R. F., Obladen, M., Stiller, B., & Bahr, M. (Eds.). (2011). *Neugeborenenintensivmedizin: Evidenz und Erfahrung*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
 47. Makhoul, I. R., Sujov, P., Smolkin, T., Lusky, A., & Reichman, B. (2005). Pathogen-specific early mortality in very low birth weight infants with late-onset sepsis: a national survey. *Clinical infectious diseases*, 40(2), 218-224.
 48. Meyer, M., Mildenhall, L., & Wong, M. (2004). Outcomes for infants weighing less than 1000 grams cared for with a nasal continuous positive airway pressure-based strategy. *Journal of paediatrics and child health*, 40(1-2), 38-41.
 49. Milisavljevic, V., Garg, M., Vuletic, I., Miller, J. F., Kim, L., Cunningham, T. D., & Schröder, I. (2013). Prospective assessment of the gastroesophageal microbiome in VLBW neonates. *BMC pediatrics*, 13(1), 49.
 50. Morley, C. J., Davis, P. G., Doyle, L. W., Brion, L. P., Hascoet, J. M., & Carlin, J. B. (2008). Nasal CPAP or intubation at birth for very preterm infants. *New England Journal of Medicine*, 358(7), 700-708.
 51. Moro, M. L., De Toni, A., Stolfi, I., Carrieri, M. P., Braga, M., & Zunin, C. (1996). Risk factors for nosocomial sepsis in newborn intensive and intermediate care units. *European journal of pediatrics*, 155(4), 315-322.
 52. Okada, Y., Papp, E., Klein, N. J., & Pierro, A. (1999). Total parenteral nutrition directly impairs cytokine production after bacterial challenge. *Journal of pediatric surgery*, 34(2), 277-280.
 53. Pantalitschka, T., Sievers, J., Urschitz, M. S., Herbets, T., Reher, C., & Poets, C. F. (2009). Randomised crossover trial of four nasal respiratory support systems for apnoea of prematurity in very low birthweight infants. *Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal Edition*, 94(4), F245-F248.
 54. Philips, B. J. (2014). Selective decontamination of the digestive tract: time to implement it in all UK intensive care units? Maybe not yet. *British journal of anaesthesia*, aeu260.
 55. Polin, R. A., & Sahni, R. (2002, October). Newer experience with CPAP. In *Seminars in Neonatology* (Vol. 7, No. 5, pp. 379-389). WB Saunders.

56. Schubert, Sören, and Andreas Wieser. "MALDI-TOF-MS in der mikrobiologischen Diagnostik." *BIOspektrum* 16.7 (2010): 760. S.761
57. Schwab, F., Geffers, C., Bärwolff, S., Rüden, H., & Gastmeier, P. (2007). Reducing neonatal nosocomial bloodstream infections through participation in a national surveillance system. *Journal of Hospital Infection*, 65(4), 319-325.
58. Schwiertz, A., Gruhl, B., Löbnitz, M., Michel, P., Radke, M., & Blaut, M. (2003). Development of the intestinal bacterial composition in hospitalized preterm infants in comparison with breast-fed, full-term infants. *Pediatric research*, 54(3), 393-399.
59. Singh, N., Patel, K. M., Leger, M. M., Short, B., Sprague, B. M., Kalu, N., & Campos, J. M. (2002). Risk of resistant infections with Enterobacteriaceae in hospitalized neonates. *The Pediatric infectious disease journal*, 21(11), 1029-1033.
60. Singh, N. (2004). Large infection problems in small patients merit a renewed emphasis on prevention. *Infection control and hospital epidemiology*, 25(9), 714-716.
61. Smith, A., Saiman, L., Zhou, J., Della-Latta, P., Jia, H., & Graham III, P. L. (2010). Concordance of gastrointestinal tract colonization and subsequent bloodstream infections with gram-negative bacilli in very low birthweight infants in the neonatal intensive care unit. *The Pediatric infectious disease journal*, 29(9), 831.
62. Stickler, D., Dolman, J., Rolfe, S., & Chawla, J. (1989). Activity of antiseptics against *Escherichia coli* growing as biofilms on silicone surfaces. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 8(11), 974-978.
63. Strenger, V., Gschliesser, T., Grisold, A., Zarfel, G., Feierl, G., Masoud, L., ... & Urlesberger, B. (2011). Orally administered colistin leads to colistin-resistant intestinal flora and fails to prevent faecal colonisation with extended-spectrum β -lactamase-producing enterobacteria in hospitalised newborns. *International journal of antimicrobial agents*, 37(1), 67-69.
64. Strenger, V., Feierl, G., Resch, B., Zarfel, G., Grisold, A., Masoud-Landgraf, L., ... & Urlesberger, B. (2013). Fecal carriage and intrafamilial spread of extended-spectrum β -lactamase-producing enterobacteriaceae following colonization at the neonatal ICU. *Pediatric Critical Care Medicine*, 14(2), 157-163.

65. Stoll, B. J., Hansen, N., Fanaroff, A. A., Wright, L. L., Carlo, W. A., Ehrenkranz, R. A., ... & Poole, W. K. (2002). Late-onset sepsis in very low birth weight neonates: the experience of the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics*, *110*(2), 285-291.
66. Stoll, B. J., Hansen, N. I., Adams-Chapman, I., Fanaroff, A. A., Hintz, S. R., Vohr, B., ... & National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. (2004). Neurodevelopmental and growth impairment among extremely low-birth-weight infants with neonatal infection. *Jama*, *292*(19), 2357-2365.
67. Stoll, B. J., Hansen, N. I., Bell, E. F., Shankaran, S., Laptook, A. R., Walsh, M. C., ... & Higgins, R. D. (2010). Neonatal outcomes of extremely preterm infants from the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics*, *ped*s-2009.
68. Terrin, G., Passariello, A., Canani, R. B., Manguso, F., Paludetto, R., & Cascioli, C. (2009). Minimal enteral feeding reduces the risk of sepsis in feed-intolerant very low birth weight newborns. *Acta paediatrica*, *98*(1), 31-35.
69. Verder, H., Bohlin, K., Kamper, J., Lindwall, R., & Jonsson, B. (2009). Nasal CPAP and surfactant for treatment of respiratory distress syndrome and prevention of bronchopulmonary dysplasia. *Acta Paediatrica*, *98*(9), 1400-1408.
70. Vergnano, S., Menson, E., Kennea, N., Embleton, N., Russell, A. B., Watts, T., ... & Heath, P. T. (2011). Neonatal infections in England: the NeonIN surveillance network. *Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal Edition*, *96*(1), F9-F14.
71. Weinstein, R. A., & Hota, B. (2004). Contamination, disinfection, and cross-colonization: are hospital surfaces reservoirs for nosocomial infection?. *Clinical infectious diseases*, *39*(8), 1182-1189.
72. Zuschneid, I., Schwab, F., Geffers, C., Rüden, H., & Gastmeier, P. (2003). Reducing central venous catheter-associated primary bloodstream infections in intensive care units is possible: data from the German nosocomial infection surveillance system. *Infection control and hospital epidemiology*, *24*(7), 501-505.
73. Zuschneid, M. D., F Schwab, M. D., C Geffers, M. D., M Behnke, M. D., H Rüdén, M. D., & P Gastmeier, M. D. (2007). Trends in ventilator-associated pneumonia rates within the German nosocomial infection surveillance system (KISS). *Infection control and hospital epidemiology*, *28*(3), 314-318.

6) Lebenslauf:

7) Anhang:

1) Tabellen:

Tabelle 10: Prong-Kolonisierungen nach 3 und 7 Tagen Nutzung nach Patient und Wochenverlauf

		Tag 3							Tag 7								
Patient	(Erstauftreten Kolonisierung/ Woche)	Keimfrei	Hautkeime	KNS	S.aureus	Enterobacteriaceae	Pilze	Nonfermenter	P.aeruginosa	Keimfrei	Hautkeime	KNS	S.aureus	Enterobacteriaceae	Pilze	Nonfermenter	P.aeruginosa
1	W7				X						X						
	W8				X								X				
	W9				X								X	X			
2	W15		X								X			X			
	W16					X								X			
	W17		X											X			
3	W4			X							X						
	W5		X							X							
4	W4		X	X							X						
5	W3	X										X					
	W4		X			X					X			X			
	W7					X					X						
6	W3		X								X						
	W5					X								X			
	W9		X								X						
7	W3		X												X		
	W5		X								X						
	W11		X								X						
	W13		X								X						
8	W3		X									X					
9	W3	X								X							
	W7		X		X								X				

	W8		X		X								X				
	W10				X								X				
10	W5		X								X						
	W6		X											X			
11	W4		X														
	W5		X								X						
12	W2		X														X
13	W2		X								X						
14	W3		X									X	X	X			
15	W6		X								X						
	W4								X								X
16	W6		X														X
	W7		X						X								X
	W10		X														
	W10		X								X						
17	W2		X							X							
	W6		X														
	W7																
18	W10		X														
19	W8		X								X						
	W10		X								X						
20	W1		X												X		
	W3		X			X					X						
	W4		X								X						
	W6		X							X							
	W7		X								X						
21	W3		X								X						
	W7		X										X				
	W8		X			X					X						
22	W2	X									X						
	W3		X								X			X			
23	W2		X								X						

24	W2		X								X			X			
	W3		X			X					X						
	W4		X								X			X			
25	W4	X									X						

2) Kongressbeiträge:



WESTFÄLISCHE
WILHELMS-UNIVERSITÄT
MÜNSTER



UKM
Universitätsklinikum
Münster

Mikrobiologisches Monitoring des CPAP-Beatmungssystems bei VLBW- Frühgeborenen

TORBEN C. WINKING¹; JÖRG WÜLLENWEBER²; FRANK KIPP³; ESTHER RIEGER-FACKELDEY¹
¹Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, Allgemeine Pädiatrie; ²Institut für medizinische Mikrobiologie; ³Institut für Hygiene; Universitätsklinikum Münster; Münster

Prospektive Studie von September bis Dezember 2012:

- 26 VLBW- Studienpatienten, davon 21 ELBW
- 337 Abstriche vom CPAP-Equipment:
 - CPAP- Wassertopf¹
 - CPAP- Inspirationschenkel²
 - CPAP- Konnektor³
 - CPAP- Prong⁴
- KRINKO- empfohlene, wöchentliche Routine-Abstriche von Anus und Rachen⁵



SCHLUSSFOLGERUNGEN:

- Kolonisierung des CPAP- Equipments erfolgt v.a. patientennah, mit Patientenkeimen (75%)
- Gramnegative Keime nehmen mit der Nutzungsdauer zu
- Pneumonien waren selten, evtl. durch Kolonisierung des Equipments getriggert
- Häufigere Reinigung/Wechsel, v.a. patientennah erwägen

Methodik:

- Studienteilnahme während der CPAP-Beatmung
- Abstriche von Wassertopf und Inspirationschenkel des CPAP-Systems beim Wechsel an Tag 14 Abstriche des CPAP- Konnektors (beim Wechsel) auf der IMCU an Tag 7 und auf der ICU an Tag 14
- Abstriche des CPAP- Prongs nach 3 Tagen und beim Wechsel nach 7 Tagen

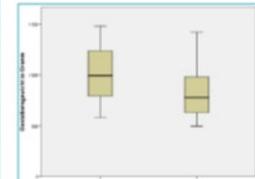


Hauptergebnisse:

- Wassertopf und Inspirationschenkel waren nur geringfügig mit Hautkeimen besiedelt.
- Die Konnektoren waren an Tag 14 als an Tag 7 häufiger mit Keimen, insb. Gramnegativen bewachsen.
- Zunahme der Keimzahl auf den Prongs (p=0,005), durch Zunahme der gramnegativen Keime (p=0,008) von Tag 3 zu Tag 7 der Nutzung.
- Eine Kolonisierung der Studienpatienten stand im Zusammenhang mit niedrigem Geburtsgewicht (p=0,02) und zunehmender Hospitalisationsdauer (p=0,011).

Kolonisierung der Patienten:

Parameter	Keimnachweis	Keimzahl	Keimarten
Wassertopf	2/26 (8%)	100	Staph. epiderm., Bac. p.
Inspirationschenkel	1/26 (4%)	50	Staph. epiderm., Bac. p.
Konnektor	12/26 (46%)	1500	Staph. epiderm., Bac. p., E. coli, K. pneumoniae
Prong	17/26 (65%)	2000	Staph. epiderm., Bac. p., E. coli, K. pneumoniae



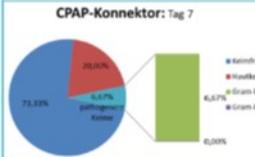
- Bei Patienten mit niedrigem Geburtsgewicht und/oder zugelegt sich häufiger und mehr Kolonisationen in Routin-, und/oder CPAP-Abstrichen.

CPAP- Ergebnisse:

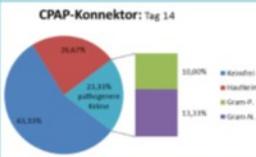
Wassertopf und Inspirationschenkel:

- Je 45 Abstriche vom Wassertopf und vom Inspirationschenkel, je zwei KNS.
- Die Keime waren nicht identisch
- > Kein Keimwachstum in den Schläuchen

CPAP-Konnektor: Tag 7



CPAP-Konnektor: Tag 14



Besiedlung der Prongs/Masken an:



Keimart	Tag 3, n (%)	Tag 7, n (%)
Keimnachweis	17 (65%)	24 (92%)
Keimzahl	100	1500
Keimarten	100	1500

- Von 201 Prongs 20 ohne Keimbewachung; 107 isolierte „pathogenere“ Keime

Infektionen unter CPAP- Beatmung:

- nach NEO-KISS-Kriterien¹⁸
- 15 Patienten betroffen
- Auftreten nach durchschnittlich 18 (7-47) Tagen
- Alle acht Septidemien durch KNS, ohne Keimnachweis auf dem CPAP-Equipment oder in den Routine-abstrichen
- Zwei Pneumonien durch *E. cloacae*, beide ebenfalls in den Routine-, einmal in den CPAP- Abstrichen nachweisbar
- Zwei Harnwegsinfekte durch *E. cloacae* (Nachweis in den CPAP- und Routineabstrichen) und *C. albicans* (Nachweis in der Routine)

Universitätsklinikum Münster, Klinik für Kinder- und Jugendmedizin,
Allgemeine Pädiatrie, Esther.Rieger-Fackeldey@ukmuenster.de

Abbildung 1: Kongressbeitrag zur CPAP-Studie

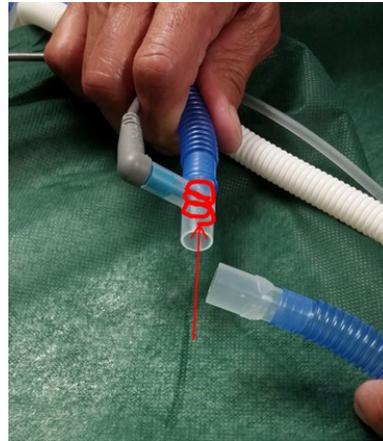
3) Abkürzungsverzeichnis:

BPD	Bronchopulmonale Dysplasie
CPAP	continuous positive airway pressure
CVC	central venous catheter
fak. path. Keime	fakultativ pathogene Keime
ELBW	extremely low birthweight infants
IMCU	intermediate care unit
IVH	intraventrikuläre Hämorrhagie
KNS	Koagulase-negative Staphylokokken
KRINKO	Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention
MALDI-TOF	matrix assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry
MGRN	Multiresistente gramnegative Erreger
MRSA	Multiresistenter Staphylokokkus aureus
NEC	necrotizing enterocolitis
NICU	neonatal intensive care unit
phys. U.- und HK.	physiologische Umwelt- und Hautkeime
PDA	persistierender Ductus arteriosus
PVK	peripherer Venenkatheter
RPN	Retinopathia praematurorum
SSW	Schwangerschaftswochen
TPN	total parenteral nutrition
VRE	Vancomycin-resistente Enterokokken
VLBW	very low birthweight infants
ZVK	zentraler Venenkatheter

8) Bildanhang:



Bildanhang 1: CPAP- Beatmungssystem



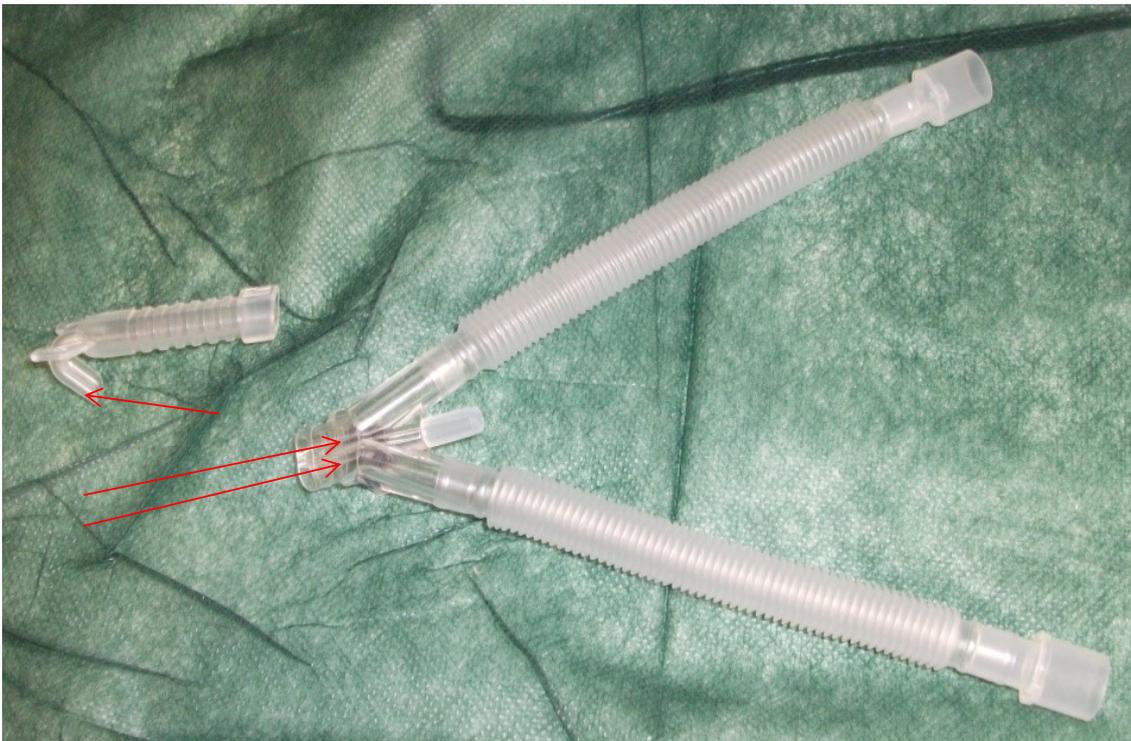
Bildanhang 2: Abstrichentnahme
Inspirationschenkel



Bildanhang 3: Abstrichentnahme
Wassertopf



Bildanhang 4: CPAP-Beatmungssystem mit Prong am Patienten



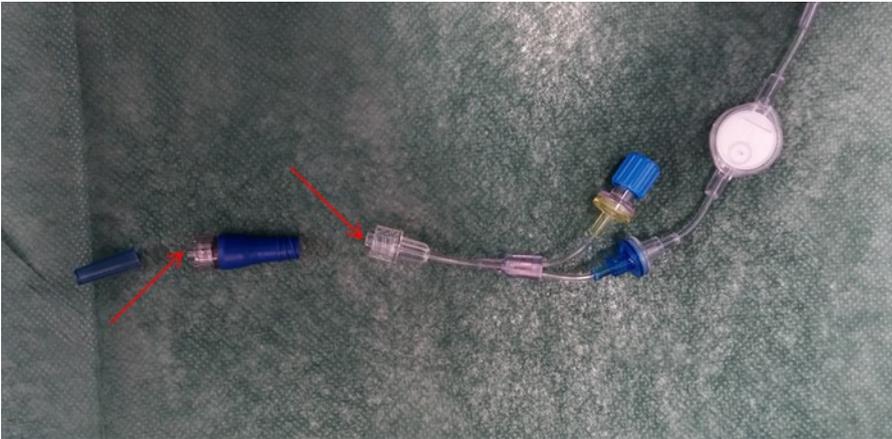
Bildanhang 5: Abstrichentnahmestelle CPAP-Prong (links) und Konnektor (rechts)



Bildanhang 6: Ambu- Beatmungsbeutel am Patienten



Bildanhang 7: Abstrichentnahmestelle Ambubeutel- Maske (links) und - Konnektor (rechts)



Bildanhang 8: Abstrichentnahme Interlink (links) und Multiverbinder (rechts)



Bildanhang 9: Transwab® (links) und Mastaswab™ (rechts)