

Aus der Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Evaluation des POCT Biofire® Pneumonia plus Panels in respiratorischen Proben
von akut und chronisch erkrankten Patienten der Kinderklinik Universitätsmedizin
Mainz

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der
Medizin
der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von

Julius Walter Jurack
aus Forst (Lausitz)

Mainz, 2025

Wissenschaftlicher Vorstand: Univ.-Prof. Dr. med. Philipp Drees

1. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Stefan Gehring

2. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Markus Knuf

Tag der Promotion: 20.03.2026

Nachnutzungslizenz: CC-BY-4.0

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	5
Abbildungsverzeichnis	7
Tabellenverzeichnis	8
1. Einleitung / Ziel der Arbeit	10
1.1 Betrachtete Fragestellungen	11
1.2 Zielsetzung	11
2. Literaturdiskussion	12
2.1 Pneumonien im Kindesalter	12
2.2 Patienten mit chronischen (pulmonalen) Erkrankungen in der Pädiatrie .	18
2.2.1 Mukoviszidose	18
2.2.2 Primäre ciliäre Dyskinesie / Kartagener Syndrom.....	20
2.3 Das Biofire® FilmArray® Pneumonia Panel plus	21
2.3.1 Beschreibung des Forschungsgegenstandes	21
2.3.2 Aktueller Forschungsstand verwandter Studien.....	23
3. Material und Methoden	29
3.1 Statistische Informationen	29
3.2 Probenmaterialien	29
3.3 Allgemeine Verfahrensweise vom FilmArray® Pneumonia Panel plus	30
3.4 Qualitätsprüfung vom FilmArray® Pneumonia Panel plus	31
3.4.1 Prozesskontrolle	31
3.4.2 Systemleistungsüberwachung	31
3.5 Ergebnisinterpretation.....	32
3.5.1 Interpretation des Assays	32
3.5.2 Interpretation der Organismus- und Antibiotikaresistenz-Gene	32
3.5.3 Ergebnisbericht des FilmArray® Pneumonia Panel plus.....	35
3.6 Verfahrensweise des mikrobiologisch-kulturellen Vergleichs	36
3.6.1 Allgemeine Untersuchung durch Mikroskopie und Kultur.....	36

3.6.2 Besonderheiten bei der Untersuchung von CF-Patienten.....	38
4. Ergebnisse	41
4.1 Die Studienpopulation	41
4.1.1 Ergebnisse im Biofire FilmArray® Pneumonia Panel plus	42
4.1.2 Ergebnisse in der konventionellen Mikrobiologie	47
4.2 Gegenüberstellung des Biofire® Pneumonia Panel plus mit der konventionellen Mikrobiologie.....	49
4.2.1 Vergleich der bakteriellen Nachweise	51
4.2.2 Proben mit gleichen Untersuchungsmaterialien	54
4.2.3 Panel- und Kulturproben vom gleichen Tag.....	55
4.2.4 Vergleich der Resistenzen	57
4.3 Untersuchung von Subpopulationen	58
4.3.1 Ambulante vs. stationäre Patienten	58
4.3.2 Mukoviszidose-, PCD- und Kartagener Syndrom-Patienten	60
4.3.2.1 Gleiche Untersuchungsproben bei Mukoviszidose-Patienten.....	61
4.3.2.2 Mukoviszidose-Patienten mit einer CFTR-Genetik.....	62
4.3.3 Befunde bei Patienten mit Atemhilfe	64
4.4 Positivnachweise, die durch Biofire® Pneumoniae Panel plus zusätzlich detektiert wurden	66
5. Diskussion	67
6. Limitierende Aspekte	72
7. Zusammenfassung.....	74
Literaturverzeichnis	76
Anhang.....	87
Danksagung.....	89

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
BAL	Bronchioalveoläre Lavage
ca.	circa
CAP	community-acquired pneumonia
CF	Zystische Fibrose
CFTR	Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator
CFU	Colony forming Unit
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
detected	nachgewiesen
ETA	endotracheales Aspirat
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
evtl.	eventuell
FiO ₂	inspiratorische Sauerstoffkonzentration
FN	Falsch negativ
FP	Falsch positiv
GI	gastrointestinal
HRCT	Hochauflösende Computertomographie
i.v.	intravenös
KBE	Koloniebildende Einheit
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
KI	Middle Konfidenzintervall
m	männlich
MERS-CoV	Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus
mind.	mindestens
ml	Milliliter
MRSA	Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>
MSSA	Methicillin-sensitiver <i>Staphylococcus aureus</i>
n	Anzahl
NaCl	Natriumchlorid
not detected	nicht nachgewiesen
NPW	negativer prädiktiver Wert
PCD	Primäre ciliäre Dyskinesie
PCR	Polymerase Chain Reaction

PPW	positiver prädiktiver Wert
QSM	Quantified Standard Material
RN	Richtig negativ
RP	Richtig positiv
RNA	ribonucleic acid
SCV	small colony variants
Sens.	Sensitivität
Spez.	Spezifität
spp.	species pluralis
SOC	Super Optimal broth with Catabolite repression
SOP	Standard Operating Procedures
Tm	Schmelztemperatur
u.a.	unter anderem
V.a.	Verdacht auf
vs.	versus
w	weiblich
z.T.	zum Teil

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1	Flowchart über Ausschlusskriterien der Studienteilnehmer.....	41
Abb. 2	Kreisdiagramm zur Darstellung der Bakteriennachweise im Biofire® Pneumonia Panel plus.....	45
Abb. 3	Kreisdiagramm zur Darstellung der Resistenzgennachweise im Biofire® Pneumonia Panel plus.....	46
Abb. 4	Kreisdiagramm zur Darstellung der Virennachweise im Biofire® Pneumonia Panel plus.....	47
Abb. 5	Flowchart über Ausschlusskriterien der Studienteilnehmer ohne mikrobiologische Referenzkulturen und einer Zeitdifferenz von ≥ 4 Tagen.....	50

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Häufige Erreger der kindlichen Pneumonie.....	13
Tabelle 2	Empirische Therapie zur Behandlung von CAP-Patienten.....	17
Tabelle 3	Gezielte Therapie bei dem V. a. Infektion mit bestimmten Erregern.....	17
Tabelle 4	Mögliche Erregernachweise (Bakterien, atypische Bakterien, Viren) und Antibiotikaresistenzgene, die durch das FilmArray® Pneumonia Panel plus detektiert werden können.....	22
Tabelle 5	Antibiotikaresistenzgene mit zugehörigen Bakterien als Träger.....	34
Tabelle 6	Interpretation verschiedener <i>S. aureus</i> Ereignisse in Verbindung mit den Resistenzgenen <i>mecA/C</i> and <i>MREJ</i>	35
Tabelle 7	Sputumprobenbewertung anhand der Zytologie.....	37
Tabelle 8	Übersicht Agarmedien mit zugehörigen Keimnachweisen.....	39
Tabelle 9	Probenarten.....	41
Tabelle 10a	Beschreibung des Patientenkollektivs.....	42
Tabelle 10b	Weitere klinische Merkmale des Patientenkollektivs.....	42
Tabelle 11	Übersicht von Erregernachweisen durch das Pneumonia Panel plus...	43
Tabelle 12	Nachgewiesene Bakterien im Biofire® Pneumonia Panel plus.....	44
Tabelle 13	Nachgewiesene Resistenzgene im Biofire® Pneumonia Panel plus.....	45
Tabelle 14	Virusnachweise durch das Biofire® Pneumonia Panel plus.....	46
Tabelle 15	Nachgewiesene Bakterien in der mikrobiologischen Kultur.....	48
Tabelle 16	Dauer der konventionell durchgeführten mikrobiologischen Diagnostik.....	49
Tabelle 17	Übersicht aller Gesamtnachweise mit Konkordanzen und Kappa-Werten.....	51
Tabelle 18	Darstellung der Sensitivitäten, Spezifitäten, positiven und negativen prädiktiven Werte aller bakteriellen Erreger beim Vergleich vom Biofire® Pneumonia Panel plus Proben mit der herkömmlichen Mikrobiologie...	52
Tabelle 19	Darstellung der Konkordanzen und Kappa-Werte von Sputum- und BAL-Proben, bei denen das exakt gleiche Material im Biofire® Pneumonia Panel plus und in der Mikrobiologie untersucht wurde.....	54
Tabelle 20	Darstellung der Konkordanzen und Kappa-Werte von Sputum und BAL-Proben, bei der die mikrobiologische Kulturprobe am gleichen Tag einging.....	56
Tabelle 21	Nachgewiesene Resistenzen von MRSA, 3MRGN und 4MRGN in der mikrobiologischen Kultur.....	57

Tabelle 22	Darstellung der Sensitivitäten, Spezifitäten, positiven und negativen prädiktiven Werte beim Nachweis von mecA/C and MREJ.....	58
Tabelle 23	Verteilung der Bakterien- und Virennachweise von Sputum- und BAL-Proben im Panel bei ambulanten und stationären Patienten.....	59
Tabelle 24	Verteilung der Bakteriennachweise im Panel bei Patienten mit und ohne Ziliendysfunktion.....	60
Tabelle 25	Darstellung der Konkordanzen und Kappa-Werte von gleichen Sputum- und BAL-Proben bei Mukoviszidose-Patienten.....	61
Tabelle 26	Darstellung der Sensitivitäten, Spezifitäten, positiven sowie negativen prädiktiven Werte von Sputum und BAL-Proben von Mukoviszidose-Patienten mit Delta F508 homozygoter-Genetik.....	63
Tabelle 27	Bakteriennachweise im Panel bei intubierten/tracheotomierten Patienten vs. Patienten mit ambulantem/milden Verlauf	65
Tabelle 28	Zusätzliche Detektionen des Panels im Vergleich zur mikrobiologischen Kultur	66

1. Einleitung / Ziel der Arbeit

Pneumonien haben je nach Schweregrad eine 30-Tage-Sterblichkeit von 1 bis 25 Prozent. Begleiterkrankungen, hohes Alter und die Infektion mit bestimmten Erregern können sich negativ auf das Outcome der Patienten auswirken. So geht auch die ambulant erworbene Pneumonie mit einer erhöhten Langzeitsterblichkeit einher (1-8). Besonders bei lungenvorerkrankten Patienten wie z.B. mit Mukoviszidose ist die Pneumonie eine der Haupttodesursachen. Durch die gezielte Antibiotikatherapie kann die Überlebensrate dieser Patientengruppe deutlich gesteigert werden (9-11).

Der Goldstandard zur Detektion von Erregern ist die Anzucht von Bakterienkulturen in der Mikrobiologie. Ein Ergebnis kann allerdings frühestens nach einem Tag, meist jedoch eher nach mehreren Tagen angegeben werden. Zudem bietet die Standarddetektion von Erregern in der Mikrobiologie nicht gleichzeitig die Möglichkeit, Viruserkrankungen zu erfassen. Bei ambulant erworbenen oder auch im Krankenhaus erworbenen Erregern, welche eine Pneumonie verursachen, kann man davon ausgehen, dass es somit zu einer Zeitverzögerung kommt, bis eine gezielte antibiotische Therapie begonnen werden kann. Zudem fallen behandlungsbedürftige Koinfektionen mit Viren nicht auf.

Das Biofire® Pneumonia Panel plus bietet die Möglichkeit, Bakterien semiquantitativ mit entsprechenden Erregeranzahlen und entsprechenden Resistenzgenen sowie Viren schon nach einer Stunde nachzuweisen. Diese Form der Diagnostik soll eine gezielte antibiotische Behandlung frühzeitig ermöglichen. Die Sensitivität der Panel-Schnelldiagnostik ist im Vergleich zum herkömmlichen mikrobiologischen Kulturverfahren noch nicht ausreichend beschrieben. Je nach Datenlage kann das Biofire® Pneumonia Panel plus Eingang in die SOP's/Leitlinien zur Behandlung von Pneumonien finden.

In der Studie werden die Bakteriennachweise des Panels mit der herkömmlichen Mikrobiologiediagnostik untersucht. Speziell sollen Patienten mit einer Mukoviszidose-Erkrankung hinsichtlich eines Einflusses auf die Genauigkeit der Erregernachweise betrachtet werden.

1.1 Betrachtete Fragestellungen

Ist es von Nutzen, dass Biofire® FilmArray® Pneumonia Panel plus System für akut und/oder chronisch respiratorisch erkrankte Patienten, speziell Mukoviszidose- und PCD-Patienten, hinsichtlich qualitativer und temporärer Komponenten einer herkömmlichen Mikrobiologie vorzuziehen?

Welche Erreger wurden durch das Biofire® FilmArray® Pneumonia Panel plus erfasst? Konnten virale Co-Infektionen und Resistenzgene durch das Panel dokumentiert werden? Wie gut ist die Übereinstimmung zwischen der POCT und kulturellen Testung der Atemwegssekrete?

1.2 Zielsetzung

Das Biofire® Pneumonia Panel plus bietet den Vorteil, dass es nicht nur Angaben über eine bakterielle Kolonisation von Sputum-/BAL-Proben geben kann, sondern auch Ergebnisse über die Erregermenge, mögliche Resistenzen und virale Kolonisation liefert. Zu der Anwendung, Verlässlichkeit und dem Nutzen des Biofire® Panels gibt es in der Literatur bislang noch sehr wenig Studien. Im Rahmen dieser Doktorarbeit werden Ergebnisse des sich in der Kinderklinik im Einsatz befindlichen Biofire® Pneumonia Panel plus retrospektiv analysiert. Es handelt sich dabei um ein Multiplex-PCR basiertes POCT Verfahren, mit dem vom 24.04.2019 – 31.12.2020 174 Proben untersucht wurden. In der Dissertationsschrift findet ein Vergleich zwischen der herkömmlichen Mikrobiologie und dem Biofire® Pneumonia Panel plus statt. Dabei werden detektierte Erreger und die Dauer der Aufarbeitung berücksichtigt.

In dem untersuchten Patientenkollektiv gibt es eine Untergruppe von z.T. erwachsenen Patienten mit Ziliopathien (z.B. Mukoviszidose oder PCD). Daher wird in der Doktorarbeit eine gesonderte Auswertung dieser chronisch erkrankten Patienten erfolgen.

Bei Patienten mit einer chronischen Besiedlung von Krankheitserregern, die mehrmalig mit dem Panel getestet wurden, wird betrachtet, ob der Keim in allen durchgeführten Proben nachgewiesen wurde.

2. Literaturdiskussion

2.1 Pneumonien im Kindesalter

Ambulant erworbene Pneumonien (CAP) können sich sehr variabel in ihrer klinischen Ausprägung zeigen. Typische Erreger für eine CAP sind *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Staphylococcus aureus*, Gruppe-A-Streptokokken, aerobe gram-negative Bakterien, mikroaerophile Bakterien und Anaerobier (12). Zu den am meisten vorkommenden atypischen Bakterien zählen *Legionella spp.*, *Mykoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia psittaci* sowie *Coxiella burnetii* und zu den respiratorischen Viren Influenza A und B, SARS-CoV-2, andere Coronaviren, Rhinoviren, Parainfluenza-Viren, Adenoviren, Respiratorische-Synzytial-Viren, Humane Metapneumoviren sowie Humane Bocaviren (12-15). Das Parainfluenza- Virus 4 geht mit eher milden oberen Atemwegserkrankungen einher (16, 17). Durch die unterschiedlich ausgebildeten Resistenzen wird sich bei der Therapieentscheidung auf die lokalen Antibiogramme bezogen (12).

Pneumonien variieren anhand der Häufigkeiten ihres Auftretens in der Jahreszeit (in Wintermonaten vermehrt), dem Geschlecht und der Ethnizität (18-20). Verschiedene Viren gehen mit unterschiedlichen Infektionsspitzen über das Jahr verteilt einher. Bei Kindern sind die für die Pneumonie verantwortlichen Erreger sehr variabel. Außerdem hängen sie vom Alter und der Umgebung ab (21, 22). In ca. einem Drittel der Fälle wird kein Erreger gefunden, und bei ca. einem Drittel liegt eine Mischinfektion vor (21, 23-25). In der Tabelle 1 sind die häufigen pädiatrischen Erreger für eine Lungenentzündung aufgeführt (21). 80% der CAP bei Kindern unter zwei Jahren sind viral bedingt. Bei Kindern unter 5 Jahren treten CAP durch Viren in ca. der Hälfte der Fälle auf. Tritt die Pneumonie bei Neugeborenen vor dem siebten Lebenstag auf, so liegt die Ursache meistens in der intrauterinen Aspiration von infiziertem Fruchtwasser, in einer transplazentaren Übertragung oder in der Absaugung von infiziertem Fruchtwasser (21, 23, 24). Eine Pneumonie des Neugeborenen nach dem siebten Lebenstag erfolgt größtenteils durch eine vertikale Infektion oder eine nosokomiale Infektion (26).

Tabelle 1 Häufige Erreger der kindlichen Pneumonie

Erregerarten	Alter	Erreger
Bakterien	< 28 Tage	Streptokokken der Gruppe B*
		<i>Escherichia coli*</i>
		<i>S. pneumoniae</i>
		<i>Klebsiella spp.</i>
		<i>S. aureus</i>
		<i>Streptococcus pyogenes</i>
		<i>Chlamydia trachomatis</i>
	< 3 Monate	<i>S. pneumoniae*</i>
		<i>Chlamydia trachomatis</i>
		<i>Mycoplasma hominis</i>
		<i>Treponema pallidum</i>
		<i>Ureaplasma urealyticum</i>
	< 5 Jahre	<i>S. pneumoniae*</i>
		<i>S. aureus</i>
		<i>Streptococcus pyogenes</i>
		<i>Chlamydia pneumoniae</i>
		<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
		<i>H. influenzae Typ b</i>
		<i>M. catarrhalis</i>
	Nicht typisierbare <i>H. influenzae</i>	
≥ 5 Jahre	<i>S. pneumoniae*</i>	
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	
	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	
Viren	< 7 Tage	Herpes simplex Virus
		Cytomegalovirus
		Rubellavirus
	≥ 7 Tage bis 28 Tage	Respiratory syncytial virus
		Parainfluenza virus
		Influenza
		Adenovirus
		Enteroviren
Coronavirus		

Erregerarten	Alter	Erreger
Viren	< 5 Jahre	Respiratory syncytial virus*
		Influenza A und B
		Human metapneumovirus
		Adenovirus
		Parainfluenza viruses 1, 2, 3
		Enteroviren
		Coronavirus (229EM C43, NL63, HKU1)
		Rhinovirus
	> 5 Jahre	Respiratory syncytial virus
		Adenovirus
		Influenza
		Parainfluenza
		Rhinovirus
		Human metapneumovirus
		SARS-CoV-2
		Rubellavirus
		Varizella zoster Virus
		Cytomegalovirus
		Epstein-Barr Virus

(*Häufigster Erreger in der entsprechenden Altersgruppe und Erregerart) (21, 24, 26-48)

Die über Tröpfcheninfektion oder Aerosolinhalation übertragenen Erreger erreichen durch Mikroaspiration die Alveolen. In Konkurrenz mit dem residenten Mikrobiom erfolgt die Replikation der aufgenommenen Erreger (26).

Die individuelle Immunreaktion in den Alveolen bestimmt u.a. die Krankheitsschwere des Infizierten. Die CAP stellt sich sehr unterschiedlich dar (12, 49-51). Es können leichte Pneumonien mit Fieber, Husten und Kurzatmigkeit bis zu schweren Formen mit Sepsis und Dyspnoe auftreten (12). Bei Neugeborenen und Säuglingen können Probleme bei der Nahrungsaufnahme, Unruhe sowie Erregung auftreten. Bei älteren Kindern/Adoleszenten deuten Pleuraschmerzen, Schmerzen im Abdomen sowie Steifigkeit des Nackens auf eine Pneumonie hin (52-54). Eine erniedrigte Sauerstoffsättigung weist auf einen schweren Krankheitsverlauf hin, der einer stationären Behandlung bedarf (23, 52, 55). Ebenfalls deuten Körpertemperaturen von über 38,4°C, Zyanosen, Hypoxämien, Stöhnen, Einziehungen, Kopfwippen, Tachykardien, verlängerte Rekapillarierungszeiten, veränderte Mentalstatus, keine

Nahrungsaufnahmen und Dehydratationen auf eine Dyspnoe mit Anzeichen einer schweren Erkrankung hin. Frühgeburtlichkeit, niedriges Geburtsgewicht, maternale Chorioamnionitis, vorzeitiger/verlängerter Blasensprung, maternale Streptokokken Gruppe B-Besiedlung und maternales intrapartales Fieber erhöhen das Risiko für eine frühe Pneumonie (48h bis 6. Lebenstag) im Säuglingsalter (52, 53, 56-59). Risikofaktoren im weiteren Lebensverlauf bestehen aus Frühgeburtlichkeiten, niedrigem Körpergewicht, invasiven mechanischen Beatmungen, Atemwegsfehlbildungen, schweren pulmonalen Grunderkrankungen, längeren Aufenthalten in Krankenhäusern und neurologischen Schluckbeeinträchtigungen (26, 33, 60).

Zur Diagnosestellung dient die Kombination aus Infiltraten in der radiographischen Bildgebung mit der passenden Symptomkonstellation (12, 61). Bei mittelschweren bis schweren CAP führt man zusätzlich noch Blut- und Sputum-Kulturen, Gram-Färbungen des Sputums und *S. pneumoniae*-Antigentests im Urin durch (12). Zur Therapieentscheidung sollte eine schnelle Erregerdiagnostik bei Säuglingen und Kindern erfolgen. Das Alter, die Vorerkrankungen, die klinischen Aspekte und der Schweregrad spielen bei der Hospitalisierungsentscheidung einer CAP bei Kindern eine wichtige Rolle (52, 55, 62). Säuglinge, die jünger als 3 bis 6 Monate alt sind, werden in der Regel stationär aufgenommen. Zur Schweregradeinteilung bei Kindern nutzt man die Kombination aus dem klinischen Erscheinungsbild, Verhalten des Kindes, Bewusstsein sowie Essen- und Trinkverhalten. Bei Kindern führt man keine routinemäßige Thorax-Röntgenaufnahme durch (23, 55, 63, 64). Sie ist lediglich bei Kindern zur stationären Aufnahme, mit unklarer Diagnose, mit schweren, rezidivierenden oder komplizierten Pneumonien oder neonatalen Pneumonien indiziert (23, 26, 52, 55). Eine Laboruntersuchung ist von der klinischen Situation, dem Alter, der Erkrankungsschwere, den Komplikationen und der stationären Aufnahme des Kindes abhängig (52, 55). Zur Diagnose einer CAP im Kindesalter Pneumonie reichen erhöhte Körpertemperatur mit anamnestischen/körperlichen Dyspnoeanzeichen aus (52, 65). Bei der neonatale Pneumonie setzt sich die Diagnose aus klinischen, radiologischen und mikrobiologischen Ergebnissen zusammen (26). Sputumproben sind nützlich bei Patienten, die eine intensivmedizinische Therapie erhalten, auf eine empirische Therapie nicht ansprechen oder einen Pleuraerguss haben (52, 66, 67). Zum Ausschluss einer Sepsis werden bei Neugeborenen Blut- und Urinkulturen abgenommen, sowie ein komplettes Blutbild mit Differentialblutbild und eine Lumbalpunktion durchgeführt. Bei V.a. eine virale Pneumonie sollten PCR-Tests und

virale Kulturen durchgeführt werden. Neugeborene mit Dyspnoe werden auf einer neonatalen Intensivstation behandelt, da sich ihr Zustand bei Vorliegen einer neonatalen Pneumonie schnell verschlechtern kann (26).

Zur mikrobiologischen Schnelldiagnostik dienen nicht nur die angesprochenen PCR-Test, sondern auch Enzymimmunoassay (EIA) und Immunfloreszenz. Es wird hinsichtlich der Behandlung und Kohortenbildung bei Säuglingen und Kindern empfohlen, einen der diagnostischen Schnelltests durchzuführen (52, 55, 62).

Die Folgen einer Pneumonie können Pleuraergüsse, Empyeme, nekrotisierende Pneumonien, Lungenabszesse, Pneumatozelen und Hyponatriämien sein (52). Weitere Indikationen für eine intensivmedizinische Therapie sind eine Notwendigkeit einer Atemhilfe, ein drohendes Atemversagen, rezidivierende Apnoen sowie langsame unregelmäßige Atemmuster, kardiovaskuläre Störungen, multilobuläre Infiltrate, Pleuraergüsse, Vigilanzänderungen, Grunderkrankungen wie Sichelzellanämie, Immunschwäche, Immunsuppression oder eine unklare metabolische Azidose (23, 55, 63, 68).

Die empirische Therapie zur Behandlung von CAP-Patienten ohne genauere Kenntnis über das Erregerspektrum richtet sich nach Schweregrad, Epidemiologie und Risikofaktoren des Patienten. Die ambulant durchgeführte Antibiose ist auf *S. pneumoniae* und atypische Erreger oder erweitert auf *H. influenzae*, *M. catarrhalis* und Methicillin-empfindlichen *S. aureus* ausgelegt (12). Die Auswahl des Antibiotikums bei Kindern richtet sich nach dem zu erwartenden Keimspektrum, der Ansprechrate, der einfachen Durchführung, der Verträglichkeit, dem Geschmack, der Sicherheit und den Kosten (69, 70). In der Tabelle 2 und 3 sind die Standard-Antibiosen für die unterschiedlichen Altersgruppen sowie für die verschiedenen Erreger aufgelistet.

Bei der stationären Antibiotikatherapie werden neben den Erregern der ambulant behandelten CAP auch *S. aureus* und gramnegative enterische Bazillen erfasst (12). Resistente oder ungewöhnliche Erreger können Gründe für das nicht Ansprechen auf die Antibiotikatherapie sein (12, 61). Andere Gründe sind fehlregulierte Immunreaktionen des Erkrankten oder nosokomiale Infektionen.

Sollte eine schwere CAP vorliegen, können Makrolide mit Beta-Lactam-Antibiotika kombiniert werden (63). Vancomycin plus ein Cephalosporin der dritten Generation zusätzlich Azithromycin mit Nafcillin oder Oxacillin und eine antivirale Therapie dienen als Behandlung für die schwere ambulant erworbene Pneumonie auf der Intensivstation (30, 55, 63, 71, 72). Bei der Behandlung von nosokomialen Pneumonien bei Kindern wird *S. aureus*, Enterobacteriaceae, *Pseudomonas*

aeruginosa und Anaerobier durch ein Aminoglykosid mit Piperacillin-Tazobactam, Meropenem, Ceftazidim, Cefepim oder Clindamycin abgedeckt (63).

Tabelle 2 Empirische Therapie zur Behandlung von CAP-Patienten

Alter	Therapieverfahren	Antibiose
Kinder <7. Lebenstag	First-Line Therapie	Ampicillin + Gentamicin
	Alternativ	Ampicillin + Aminoglykoside
Kinder >7. Lebenstag	First Line	Ampicillin oder Vancomycin + Aminoglykosid oder Cephalosporin
Kinder >28. Lebenstag	First Line	Amoxicillin
	Alternativ	Cephalosporin der 2./3. Generation
		Clindamycin
		Makrolide
		Levofloxacin
		Linezolid
Kinder > 5 Jahre	First-Line Therapie	Amoxicillin
		Makrolide
	Alternativ	Levofloxacin
		Doxycyclin (ab 9 Jahren)

(23, 26, 55, 69, 70, 73-76)

Tabelle 3 Gezielte Therapie bei dem V. a. Infektion mit bestimmten Erregern

Erreger	Antibiose / Antivirale Therapie
Cytomegalovirus	Ganciclovir
Influenzavirus	Oseltamivir
Herpes-simplex-Virus Varizella-Zoster-Virus	Aciclovir
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Azithromycin
<i>P. aeruginosa</i>	Piperacillin-Tazobactam + Ciprofloxacin
MRSA	Vancomycin
	Linezolid
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> <i>Chlamydia pneumoniae</i>	Azithromycin
	Erythromycin
	Levofloxacin

(12, 61, 73, 74)

2.2 Patienten mit chronischen (pulmonalen) Erkrankungen in der Pädiatrie

Untere Atemwegsentszündungen waren 2015 bei Kindern vor dem 19. Lebensjahr auf der gesamten Welt die zweithäufigste Todesursache. Verschiedene Grunderkrankungen können das Risiko für Pneumonien und schwere Verläufe erhöhen (21, 77). Zu diesen zählen u.a. angeborene Herzerkrankungen, bronchopulmonale Dysplasien, Mukoviszidose, Asthma bronchiale, Sichelzellerkrankte, neuromuskuläre Störungen, gastrointestinale Störungen des oberen GI-Trakts und kongenitale oder erworbene Immunschwäche (21, 41, 45).

Am Mukoviszidose-Zentrum in Mainz werden hauptsächlich Patienten mit Mukoviszidose behandelt, wodurch das Patientenkollektiv überwiegend aus diesen besteht.

2.2.1 Mukoviszidose

Mukoviszidose zählt zu den autosomal-rezessiv vererbten Erkrankungen und unter diesen zu den am häufigsten lebensverkürzenden Krankheiten. Sie wird auch als Zystische Fibrose (CF) bezeichnet (78-80).

Bei der Mukoviszidose liegen defekte Chloridionenkanäle auf den apikal gelegenen Epithelzellmembranen vor. Durch eine CFTR-Mutation auf dem 7. Chromosomen (7q31.2) kommt es zur Bildung der pathologischen exokrinen Drüsen. Die Aminosäuredeletion deltaF508 tritt mit ca. 70% am häufigsten auf (78-80). Die Folge ist die Herstellung von funktionsunfähigen Chloridionenkanälen, die zähen Schleim produzieren. Bei den betroffenen Organen handelt es sich um den Dünndarm, das System der Bronchien, Pankreas, die Gallenwege, Gonaden und Schweißdrüsen (78). Die Symptomatik richtet sich je nach Ausprägung in den verschiedenen Organen. Zu 99% liegt eine Atemwegssymptomatik vor (78). Es kann zu chronischem Keuchhusten und wiederkehrenden bronchialen Infekten kommen. Die häufigsten Erreger sind *P. aeruginosa* (80%) und *S. aureus*. Folgeerkrankungen wie Bronchiektasien, obstruktive Emphyseme und Rhinosinusitis können daraus resultieren. Pulmonale Hypertonien, respiratorische Insuffizienzen und Hämoptysen treten als Komplikationen möglicherweise auf. Außerdem kann sich ein Pneumothorax (10%) und eine allergische bronchopulmonale Aspergillose (15%) entwickeln (78, 81).

Das Pankreas ist mit 87% zweithäufigstes betroffenes Organ bei der Mukoviszidose. Durch die exokrine Pankreasinsuffizienz kann es zu chronischer Diarrhoe und Maldigestions-Syndrom kommen (78). Es entstehen fettige, massige, faulige

Stuhlgänge (81). Folge der gestörten Nährstoffaufnahme ist eine Kachexie. Das Pankreas als drüsenhaltiges Organ kann einen Diabetes mellitus im Rahmen der Mukoviszidose verursachen (78, 81).

Möglich ist auch eine Darmmanifestation mit einem distalen intestinalen Obstruktionssyndrom bei Heranwachsenden (20%). Nach der Geburt kann es in 10% der Fälle zu einem Mekoniumileus kommen (78). Eine biliäre Zirrhose oder Cholelithiasis ist bei einer Leber- oder Gallenwegbeteiligung mit ca. 10% zu erwarten (81). Gedeihstörungen, reduzierte Gewichtszunahme sowie verringerte Fertilität bei der Frau und Infertilität durch die beidseitige Vas deferens-Obliteration sind weitere Begleiterkrankungen der Mukoviszidose (78).

Zur frühzeitigen Diagnose wird das Neugeborenen-Screening genutzt. Dabei werden das immunreaktive Trypsin und das pankreasassoziierte Protein bestimmt. Durch den Pilocarpin-Iontophorese-Schweißtest kann eine Mukoviszidose bei einem Chlorid-Gehalt >60 mmol/l ebenfalls nachgewiesen werden. Bei unklaren Fällen kann man Elektrophysiologische Spezialverfahren wie die Nasal-Potenzial-Differenzmessung oder die Messung des intestinalen Ionenstroms an Rektumbiopsien nutzen. Zur erweiterten Diagnostik und Therapieplanung dient die CFTR-Genanalyse (78, 81). Durch das Screening kann die Mortalität bei unter 10-jährigen Kindern (ohne Mekoniumileus) um 5 bis 10 Prozent gesenkt werden, da die Erkrankung zeitiger erkannt wird und damit eine entsprechende Überweisung und Behandlung durchgeführt werden kann (80, 82). Die Kinder zeigen bei früher Diagnosestellung eine verbesserte Lungenfunktion, bessere Wachstumswerte und eine geringere Notwendigkeit einer Intensivtherapie (80, 83-91).

Die Behandlung und Betreuung sollte in einem Zentrum für Cystische Fibrose stattfinden (81). Beim Nachweis bestimmter Mutationen kann eine Funktionsverbesserung der Chloridionenkanäle durch Ivacaftor (Kalydeco®), Lumacaftor/Ivacaftor (Orkambi®), Tezacaftor/Ivacaftor (Symkevi®) mit Ivacaftor (Kalydeco®) oder Elexacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor (Trifkafta®/Kaftrio®) erfolgen (78, 81, 92, 93). Zu den Kontrolluntersuchungen zählen 4 bis 6 mikrobiologische Untersuchungen im Jahr (mind. vierteljährlich). Da Mukoviszidosepatienten eine höhere Infektanfälligkeit, besonders für *P. aeruginosa*, aufweisen, wird ein Eradikationsversuch mit Ciprofloxacin und Colistin oder inhalativen Tobramycin versucht. Eine chronische Besiedlung mit *P. aeruginosa*-Keimen kann bei einer akuten Verschlechterung Ceftazidim und Tobramycin oder Meropenem, Cefepim, Fosfomycin, Piperacillin verabreicht werden (94). Die Entscheidung über den

Gebrauch der Antibiotika hängt von der Inkubationszeit, der Zeit bis zum Erhalt des Resistogramms und der Verträglichkeit ab (78). Als unabhängiger Risikofaktor für einen schnelleren Lungenfunktionsverlust und ein vermindertes Überleben wird die chronische *P. aeruginosa*-Infektion angesehen (9, 95, 96). Durch das frühzeitige Diagnostizieren von *P. aeruginosa*- und *S. aureus*-Infektionen und deren Behandlung können Eradikationen erreicht werden. Die Infektion mit *Burkholderia cepacia* kann eine schlechte Prognose mit sich bringen, da das Pathogen meist multiresistent ist (9, 97-99). Weitere Bakterien für eine chronische Besiedlung bei Mukoviszidose-Patienten sind Nicht-tuberkulöse Mykobakterien. Zu den häufigsten Nachweisen dieser Gruppe zählen *Mycobacterium avium* complex und *Mycobacterium abscessus* complex (schließt ein: *Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium abscessus bolletti*, *Mycobacterium abscessus massiliense*) (9, 100-104).

Da bei Mukoviszidose-Patienten die Antibiotika-/ Antimykotika-Clearance vermutlich stärker als bei Nicht-Erkrankten stattfindet, werden des Öfteren höhere Dosierungen für eine effektivere Wirkung benötigt. Aufgrund der individuellen Lungenvoraussetzungen von Mukoviszidose-Patienten kann die In-vitro-Diagnostik nur begrenzte Informationen über die Wirksamkeit einer Antibiotikatherapie liefern. (94, 105-107). Besonders Patienten mit chronischen Infektionen haben eine unterschiedliche Empfindlichkeit gegenüber Antibiotikatherapien (94, 108-110). Durch die stark viskösen Proben, die heterogenen Verhältnisse der Lunge, die Antibiotika-Sputum-Bindung, die Bildung des Biofilms, das mikroaerophile/anaerobe Milieu und die Vielzahl von unterschiedlichen Erregern sind die Nachweise von Antibiotika- und Antimykotika-Sensibilitäten und die Grenzwertkonzentrationen mit den allgemeinen Untersuchungsverfahren nur bedingt anwendbar (94, 111-113).

2.2.2 Primäre ciliäre Dyskinesie / Kartagener Syndrom

Bei der autosomal rezessiv vererbten primären ciliären Dyskinesie liegt eine reduzierte Beweglichkeit der Zilien u.a. in den Atemwegen vor (81, 114, 115). Dies geschieht durch einen oder mehrere Polypeptiddefekt(e) im Zilienaxonem, einen Proteindefekt in den Spermageißeln oder Defekte in Proteinen für den korrekten Zilienbau. Die Erkrankung manifestiert sich durch rezidivierende Pneumonien, die Bronchiektasen zur Folge haben können (115-122). Es kommt zur bronchialen Überempfindlichkeit, purulenter Rhinorrhoe, chronischer Sinusitis und Unfruchtbarkeit beim männlichen Geschlecht (81). Die Hälfte der betroffenen PCD-Patienten leidet an einem Situs

inversus, wodurch die Krankheit (in Kombination mit chronischer Sinusitis, und Bronchiektasien) als Kartagener Syndrom bezeichnet wird (81, 115, 123-125). Die klinische Präsentation der Erkrankung variiert abgesehen von den häufigen oberen und unteren Atemwegsinfektionen stark (115, 126-129). Bei Neugeborenen treten häufig leichte Dyspnoen mit einem z.T. erhöhten Sauerstoffbedarf für Stunden bis Tage auf (115, 126, 130-134). Das forcierte expiratorische Einsekundenvolumen steht nicht zwangsläufig im Verhältnis zum HRCT-Ergebnis (bei der Mukoviszidose jedoch schon) (115, 135). *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* und nichttuberkulöse Mykobakterien wurden als die relevanten bakteriellen Erreger durch Sputumproben identifiziert (115, 124). Unkomplizierte Erkältungen sind mit vermehrten schweren Verläufen beschrieben, welche aber nicht häufiger als bei Gesunden auftreten (115). Durch die gestörte Ziliarfunktion im Mittelohr kommt es zu einer verminderten mukoziliären Clearance, welche chronische Mittelohrentzündungen mit akuten Schüben in Kindheit und Adoleszenz zur Folge haben (115, 136-138). Männer besitzen häufig lebende, unbewegliche Spermatozoen und teilweise agile Spermatozoen mit unbeweglichen Zilien oder können azoospermisch sein (115, 130, 139, 140). Bei Frauen ist die Fertilität durch die beeinträchtigte Zilienfunktion in den Tubae uterinae herabgesetzt (115, 130).

Um die Diagnose zu sichern, sind laut der European Respiratory Society eine Gesamtbetrachtung von reduzierter Stickstoffmonooxid-Produktion der Nasenschleimhaut, der mukoziliären Clearance, der Ziliarfunktion und Ultrastruktur notwendig (81, 115, 137, 141-143)

Die Behandlung der PCD-Patienten ist ähnlich wie bei der Mukoviszidose. Die Patienten sollten ebenfalls in einem Zentrum für Kinderpulmologie oder einer CF-Ambulanz betreut werden (81). Erkrankte haben im Vergleich zur CF eine reguläre Lebenserwartung mit langsamerer Lungenfunktionsabnahme (115, 144, 145).

2.3 Das Biofire® FilmArray® Pneumonia Panel plus

2.3.1 Beschreibung des Forschungsgegenstandes

Die Fachinformation des Herstellers gibt an, dass der Nachweis spezifischer pathogener Nukleinsäuren in Korrelation mit der entsprechenden Klinik ein wichtiger Bestandteil der Diagnostik und/oder Behandlung von Patienten ist (146).

Zur schnelleren (innerhalb einer Stunde) und exakteren Bestimmung des pathogenen Erregers dient das BioFire Pneumonia Panel plus, wodurch eine beschleunigte und gezieltere Behandlung möglich ist (147, 148).

Mit dem BioFire Pneumonia Panel plus ist es möglich, 33 verschiedene Pathogene aus dem Sputum (inkl. Endotracheal-aspirat) oder einer bronchoalveolären Lavage (inkl. Mini-BAL) zu bestimmen. Das Panel detektiert 15 Bakterien semi-quantitativ, die in genomischen Kopien der bakteriellen Nukleinsäuren pro Milliliter (Kopien/ml) angegeben werden (10^4 , 10^5 , 10^6 , $\geq 10^7$) (146, 147).

Tabelle 4 Mögliche Erregernachweise (Bakterien, atypische Bakterien, Viren) und Antibiotikaresistenzgene, die durch das FilmArray® Pneumonia Panel plus detektiert werden

Bacteria	<i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii complex</i> , <i>Enterobacter cloacae complex</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>Klebsiella aerogenes</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> group, <i>M. catarrhalis</i> , <i>Proteus spp.</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i>
Antimicrobial Resistance Genes	CTX-M, IMP, KPC, mecA/C and MRE, NDM, OXA-48-like, VIM
Atypical Bacteria	<i>Chlamydia pneumoniae</i> , <i>Legionella pneumophila</i> , <i>Mycoplasma pneumoniae</i>
Viruses	Adenovirus, Coronavirus, Human Metapneumovirus, Human Rhinovirus/Enterovirus, Influenza A, Influenza B, Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV), Parainfluenza Virus, Respiratory Syncytial Virus

(146)

Sollten bakterielle Nukleinsäuren nachgewiesen werden, kann dies auf eine normale Atemwegsflora oder eine Kolonisation hindeuten. Die mit dem FilmArray® Pneumonia Panel plus identifizierten semiquantitativen Bin-Ergebnisse sind nicht mit der kulturellen Mikrobiologie in CFU/ml gleichzusetzen. Bin-Ergebnisse sind die Schätzung der genomischen Kopien und werden in Kopien/ml angegeben. Somit korrelieren die Kopien/ml nicht konsistent mit den Bakterienzahlen aus der Mikrobiologie. Zur weiteren klinischen Vorgehensweise rät die Fachinformation vom

FilmArray® Pneumonia Panel plus an, dass das Bin-Ergebnis mit dem klinischen Erscheinungsbild abgeglichen werden sollte (146).

Da humane Rhinoviren und Enteroviren genetisch ähnlich sind, differenziert das Testverfahren diese nicht sicher voneinander. Wenn der Test positiv für Rhinoviren/Enteroviren ist und eine entsprechende klinische Relevanz für die Unterscheidung dieser beiden Viren vorliegt, sollte ein Alternativ-Verfahren (z.B. Zellkultur, Sequenzanalyse) angewendet werden (146).

2.3.2 Aktueller Forschungsstand verwandter Studien

Das Biofire FilmArray® Pneumonia Panel plus ermöglicht seit dem 30.05.2018 eine neue schnellere Diagnostik durch eine PCR im Bereich des Point of care Tests (149). Durch die bisher geringe Verbreitung des Biofire FilmArray® Pneumonia Panel plus existiert zurzeit nur wenig wissenschaftliche Literatur, die sich mit dem Verfahren genauer beschäftigt.

In einer Studie vom Juni 2020 wurden vorbereitete Proben mit unterschiedlichen *S. aureus* Konzentrationen von 10^2 , 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 und 10^7 Kopien/ml hergestellt. Bei dieser Verdünnungsreihe sind 359 von 360 Proben korrekt nachgewiesen worden. Die jeweils 90 Kontrollproben von 10^2 und 10^3 Kopien/ml wurden mit einer 100%igen Sicherheit als „not detected“ aufgeführt, da die Proben ab einem Wert von $10^{3,5}$ Kopien/ml erst als „detected“ angezeigt werden. Nur bei der Eingangskonzentration von 10^4 Kopien/ml konnten 89 von 90 Proben korrekt klassifiziert werden. Bei den Proben mit 10^5 , 10^6 und 10^7 Kopien/ml sind alle jeweils 90 Kontrollen mit 100%iger Sicherheit nachgewiesen worden (150).

Bei den Übergangskonzentration von *Klebsiella aerogenes* wurden die Proben mit $10^{2,5}$, $10^{3,5}$, $10^{4,5}$, $10^{5,5}$, $10^{6,5}$ und $10^{7,5}$ Kopien/ml getestet. Diese Proben erzielten ähnlich gute Ergebnisse (150).

Des Weiteren wurden jeweils 6 Sputum- und BAL-Proben aus jeweils 3 Bakterien mit unterschiedlichen Konzentrationen hergestellt. Alle Sputum-Proben-Ergebnisse stimmten innerhalb des $\pm 0,5 \log_{10}$ Kopien/ml-Bereiches zu 100% (60/60) mit dem Probenansatz überein. Bei den BAL-Proben-Ergebnissen wurde der relative Rang bei 91,6% der Proben korrekt nachgewiesen. Im Probenansatz 1 wurde 4 von 10-mal bei einer Ausgangskonzentration von *Enterobacter cloacae* complex mit $10^{5,5}$ Kopien/ml ein Ergebnis von 10^7 Kopien/ml, statt den erwarteten 10^5 oder 10^6 Kopien/ml, beobachtet. Der Probenansatz 6 zeigte fehlerhafterweise 1-mal bei *Proteus mirabilis*

mit einer Konzentration von 10^7 Kopien/ml ein „not detected“ an. Die restlichen 55 BAL-Probenkonstellationen wurden korrekt angegeben (150).

In der klinischen prospektiven Studie wurden im ersten Testdurchlauf 1796 von 1798 Proben (889 BAL- und 909 Sputum-Proben) untersucht. 1764 Proben ergaben ein gültiges Resultat, wobei 25 der 32 zunächst als ungültig eingestuft Proben im Nachhinein durch genügend Probenmaterial noch als gültig getestet werden konnten (150).

Durch das Zentrallabor konnte ein Vergleich von 836 Sputum-Proben und 846 BAL-Proben zum Biofire FilmArray® Pneumonia Panel plus erstellt werden. Die Probe wurde als positiv gewertet, wenn der Nachweis ein höheres Niveau als $10^{3,5}$ KBE/ml aufwies. Sputum-Proben konnten mit einer Gesamtsensitivität von 75% bis 100% und BAL-Proben von 85,7% bis 100% nachgewiesen werden. Die BAL-Proben von *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii*, *M. catarrhalis* und *Streptococcus agalactiae* nahm man aufgrund zu geringer Nachweiszahlen heraus. Zwischen 88,9% und 99,5% wurden die Spezifitäten für die übrigen Organismen in BAL- und Sputum-Proben angegeben. Falsch negative Ergebnisse traten im Vergleich zur Referenzkultur selten auf. Lediglich bis zu drei Proben für einen Organismus und insgesamt 16 von 1682 getesteten Proben wiesen diese Ergebnisse auf. Falsch positive Ergebnisse kamen bei 163 Ergebnissen von *S. aureus* und *H. influenzae*, 99 von *M. catarrhalis* und 95 von *P. aeruginosa* vor (150).

Bei einem positiven Ergebnis im FilmArray® Pneumonia Panel plus und einem negativen Ergebnis im Zentrallabor wurde im ersten Schritt überprüft, ob der als negativ deklarierte Organismus unter der gesetzten Nachweisgrenze von $10^{3,5}$ KBE/ml lag. Ein unabhängiges Molekular-Assay zog man bei bestehendem Unterschied hinzu. Bei persistierender Unstimmigkeit wurde das Ergebnis der SOC-Kultur aus der Patientenakte der jeweiligen Standorte betrachtet. Man stellte 875 falsch-positive widersprüchliche Resultate von 1015 positiven Proben aus dem FilmArray® Pneumonia Panel plus und dem Vergleichslabor fest. 220 (25,1%) Proben detektierte man als vorhandene Organismen unter dem festgelegten Referenzgrenzwert von $10^{3,5}$ KBE/ml. Die alternative molekulare Methode und die Resultate aus der Patientenakte ergaben für 652 (74,5%) Ergebnisse einen Nachweis des vom Panel detektierten Erregers (150).

Bei den 16 falsch-negativen Ergebnissen konnten anhand des gleichen Ablaufschemas die Organismen in 9 Proben über Molekular-Assays und in einer Probe über die Patientenakte nachgewiesen werden. Die Diskrepanz wurde auf eine zu

geringe Menge des Organismus (unterhalb des messbaren Grenzwertes des FilmArray® Pneumonia Panel plus) zurückgeführt. Die Analyse von 5 falsch negativen Proben ergab einen Fehler in der Referenz des Labors. Beim Nachweis eines *Klebsiella pneumoniae*-Organismus lag vermutlich ein Probentausch oder ein Dokumentationsfehler vor. 3 falsch positive Ergebnisse konnten nicht aufgelöst werden. Es gab keinen Anhalt für eine unspezifische Amplifikation des Biofire FilmArray® Pneumonia Panel plus (150).

Das Biofire FilmArray® Pneumonia Panel plus-Ergebnis wurde zusätzlich mit den Ergebnissen aus den SOC-Kulturen der Patientenakten analysiert. Dies geschah unabhängig von den möglicherweise eingetragenen uneinheitlichen Mengenangaben, wie beispielsweise „wenig“, „am häufigsten“ oder „2+“. Die Empfindlichkeit der Proben ist geringer, da bei jeglichem gemeldeten SOC-Ergebnis das Analyt als positiv angesehen wurde. Bei 59 falsch negativen Biofire FilmArray® Pneumonia Panel plus-Ergebnissen konnten 34 Proben (57,6%) in der SOC-Kultur mit „wenig“ nachweisbaren Erregern detektiert werden. Eventuell lassen sich diese Unterschiede auf zu geringe Organismenanzahlen zurückführen, die unterhalb des Grenzwertes für das Pneumonia Panel plus liegen. 12 (20,3%) Proben wurden nicht weiter kategorisiert, da die Meldung mit relativen Mengenbeschreibungen, wie „zuerst aufgeführt“ oder „mindestens drei“, stattfand (150).

Für die quantitativen Analysen der typischen Bakterien wurden die quantitativen Referenzkultur-Ergebnisse in 1-log-10-Bereiche angegeben. Die Übereinstimmung mit dem Biofire FilmArray® Pneumonia Panel plus fand statt, wenn am Ende des Bereiches der gemeldete Bin-Wert lag. Beispielsweise liegt der quantitative Referenzwert von 35.000 KBE/ml / $3,5 \cdot 10^4$ zwischen einem Pneumonia Panel plus-Wert von 10^4 und 10^5 Kopien/ml. Bei Werten größer als 10^6 KBE/ml lagen die Konkordanzen beim Pneumonia Panel plus für beide Probentypen bei 90,9% bis 100% (150).

In 116 BAL- und 204 Sputum-Proben konnte *S. aureus* nachgewiesen werden. Es wurde bei zusätzlichem Nachweis von mecA/C and MREJ in den Proben des Biofire FilmArray® Pneumonia Panel plus Vergleiche mit den molekularen Tests durchgeführt. Für die BAL-Proben ergab sich ein positiver prädiktiver Wert von 88,9% bzw. ein negativer prädiktiver Wert von 91,4% und für die Sputum-Proben ein positiver prädiktiver Wert von 95,9% bzw. ein negativer prädiktiver Wert von 87,5%. Bei 27 von 28 der falsch positiven bzw. falsch negativen Sputum- und BAL-Proben fand man in unabhängigen molekularen Verfahren Hinweise auf das Vorhandensein von mecA/C

and MREJ. Durch fehlendes Restvolumen konnte eine Probe nicht überprüft werden. Die Kontrolle von *S. aureus*-Isolaten, die mit SOC- und quantitativen Referenzmethoden untersucht wurden, zeigten bei nicht übereinstimmenden Auswertungen, dass die Proben mit MRSA und MSSA polymikrobiell waren. Es gab Analyte, die polymikrobiell mit anderen MRSA (Organismen mit *mecA/C*) waren und ein MSSA mit leeren SCCmec (positiv für *mecA/C* and MREJ, ohne MRSA). Dies ist eine Erklärung für die Nichtübereinstimmung einiger polymikrobieller Proben. Die MREJ-Sequenz einer falsch-negativen Probe enthielt eine Sequenz, welche keine Reaktion beim Biofire FilmArray® Pneumonia Panel plus-MREJ-Primer auslöst (Gebrauchsanweisung gibt Einschränkung an) (150, 151).

Bei dem in der Studie verwendeten Biofire FilmArray® Pneumonia Panel plus konnten 6 Antimicrobial Resistance Gene, die mit Carbapenem- und Beta-Lactam-Resistenzen in Verbindung stehen, nachgewiesen werden. Um weitere positive und negative Übereinstimmungen für das Antimicrobial Resistance Gene-Ziel zu erreichen, wurden Proben gemäß den Angaben in der Gebrauchsanweisung erfunden, da die Gesamtprävalenz zu niedrig war (150, 151).

Die PCR und Sequenzierung dienten als Vergleichsmethoden für die Interpretation von Viren und atypischen Bakterien. Durch den fehlenden Nachweis von MERS-CoV konnte der positive prädiktive Wert nicht errechnet werden. Der negative prädiktive Wert wurde mit 100% angegeben. Bei Adenoviren lag der positive prädiktive Wert am niedrigsten von allen Sputum-Proben bei 76,5% (ohne besondere Häufungen der Unterschiede in den Altersgruppen). Der positive prädiktive Wert für Adenoviren in BAL-Proben betrug 100%. Bei Coronaviren wurde der niedrigste positive prädiktive Wert (85,7%) in BAL-Proben angegeben. Die atypischen Bakterien konnten nur selten nachgewiesen werden. Der positive und negative prädiktive Wert für *Mycoplasma pneumoniae* (häufigster Nachweis) lag für beide Probentypen zwischen 87,5% und 100%. Unabhängige molekulare Assays konnten zum überwiegenden Teil die falsch positiven sowie falsch negativen Proben detektieren. Diese Tatsache wird auf die zu geringen Konzentrationen der Analyten unterhalb der möglichen Nachweisgrenze zurückgeführt (150).

Bis auf wenige Organismen konnten die meisten Analyten detektiert werden. Die Sensitivitäten ergaben für 10 von 15 Proben in BAL- und Sputum-Proben mehr als 95%. Bei den restlichen 5 Analyten lagen die Empfindlichkeiten zwischen 75% und 91,7%. Mit mehr als 91% wies man die Spezifität für alle Organismen in beiden Probentypen nach (150).

In einer schwedischen Studie wurden 84 Laborproben (Sputum, BAL, Luftröhrenabsaugungen) aus der Mikrobiologie mit V.a. eine Infektion der unteren Atemwege von Juni bis September 2018 untersucht. Sowohl bei der Anlage einer Kultur als Standardmethode als auch beim Biofire-Pneumonia-Panel-plus wies man *H. influenzae* am häufigsten nach. Danach folgten Rhino-/Enteroviren, *S. aureus* und *S. pneumoniae*. Die Übereinstimmung eines in beiden Untersuchungsmethoden nachgewiesenen Erregers betrug 86,0%. Wurde ein Erreger in einem Verfahren nicht nachgewiesen, so stimmte dieses Ergebnis in 67,7% der Fälle mit der anderen Methode überein. 3 Proben mit positivem MRSA-Befund wies man mit der Standardmethode und auch mit dem Pneumonia Panel plus nach. Weitere Resistenzgene konnten nicht festgestellt werden. Die Menge an nachgewiesener bakterieller DNA war bei allen Untersuchungen genauso hoch oder höher im Vergleich zur Standardmethode (152).

Auch in der Studie von Mitton, Rule und Said wurde die diagnostische Leistung des Biofire Pneumonia Panel plus mit dem herkömmlichen Kulturnachweis verglichen. Die mit 59 Proben durchgeführte Studie wurde in Südafrika vom November 2019 bis März 2020 durchgeführt. Es handelt sich zu 88,1% (n = 52) um Proben von Patienten aus Intensivstationen. Die Gesamtsensitivität für den Bakteriennachweis im Assay betrug 92,0% (95% KI, 80,8% bis 97,8%), einer Gesamtspezifität von 93,8% (95% KI, 91,1% bis 95,3%). Der positive Vorhersagewert liegt bei 46,9% (95% KI, 40,2 bis 53,8%) und der negative Vorhersagewert bei 99,5% (95% KI, 98,7% bis 99,8%) (153).

Die Studie hat 52 falsch positive Ergebnisse erzielt, wobei am häufigsten mit 13,6% (n = 8) *Klebsiella pneumoniae* group vorkam. Man konnte nur 1 Probe mit atypischen Bakterien identifizieren sowie 5 Proben mit Viren (4 Humanes Rhinovirus/Enterovirus, 1 Coronavirus und Parainfluenza Virus). Die Studie wies 7 (11,9%) CTX-M, 1 (1,7%) mecA/C and MREJ, 8 (13,6%) NDM, 7 (11,9%) OXA-48 und 1 (1,7%) VIM Resistenzgene nach. Die positive Übereinstimmung betrug 100% (95% KI, 81,5% bis 100,0%), die negative Übereinstimmung 98,5% (95% KI, 96,7% bis 99,4%). Bei den Resistenzgenen kam es zu keinen falsch negativen sowie zu 6 falsch positiven Ergebnissen (2 CTX-M, 1 NDM, 3 OXA-48). Die Zeitdifferenz zwischen dem Biofire FilmArray® Pneumonia Panel plus und der Kultur lag bei 3705 Minuten (95% KI, 3191 bis 4219 Minuten, P < 0,0001). Für die Antibiotikaresistenzgen-Testung ermittelte man eine separate Zeitdifferenz von 3805 Minuten (95% KI, 3038 bis 4573 Minuten, P < 0,0001). Am häufigsten wies man mit 30,5% *A. baumannii* complex nach. Es folgten mit 25,4% *Klebsiella pneumoniae* group und mit 20,3% *S. aureus* (153).

Die Ergebnisse der Studie sprechen dafür, dass das Biofire FilmArray® Pneumonia Panel plus durchaus mit anderen Multiplex Respiratory-Plattformen mithalten kann (153, 154). Die hohe Anzahl falsch positiver Ergebnisse kann möglicherweise durch eine vorhergehende Antibiotika-Therapie beeinflusst worden sein. Es ist ebenfalls möglich, dass das Assay kleinere Mengen eines Pathogens schon nachweisen kann, was mit der herkömmlichen Kultur nicht möglich ist (153).

Von März bis April 2019 wurden in einer koreanischen Studie 100 (99 nach Ausschluss einer Probe) ETA- und Sputum-Proben mit dem Biofire FilmArray® Pneumonia Panel plus untersucht (155). Als Vergleich diente das Standardverfahren zur Anzucht einer Kultur im Labor (155, 156). Bei 64 Proben stimmten die positiven Nachweise im FilmArray® Pneumonia Panel plus mit den Ergebnissen aus der mikrobiologischen Kultur überein. Bei den negativen Ergebnissen waren es 26 Proben. Die häufigsten Übereinstimmungen bei den positiven Befunden traten bei *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex (21/64 = 32,8%), *P. aeruginosa* (19/64 = 29,7%) und *S. aureus* (16/64 = 25,0%) auf. Die Gesamtsensitivität betrug 98,5% (95% KI, 90,6% bis 99,9%) sowie die Gesamtspezifität 76,5% (95% KI, 58,4% bis 88,6%). Die Sensitivität lag bei allen Erregern bis auf *Klebsiella aerogenes* bei 100%. Die Spezifität der einzelnen Bakterien erstreckt sich über 83,3% bis 99,0%. 5 Proben waren im FilmArray® Pneumonia Panel plus positiv für *H. influenzae* und 3 für *S. aureus*, was nicht durch die Kultur bestätigt werden konnte. Bei Durchführung einer zusätzlichen Sequenzierung konnten 4 von 5 *H. influenzae*-Proben und 2 von 3 *S. aureus*-Proben bestätigt werden. Das FilmArray® Pneumonia Panel plus wies 42 Antimicrobial Resistance Genes nach. 21-mal konnte dabei *mecA/C* and *MREJ*, 16-mal *CTX-M* und 5-mal Carbapenemase-Gene (*KPC*, *IMP*, *NDM*, *VIM*) detektiert werden. In 17 von 18 Proben (94,4%) wurden durch das FilmArray® Pneumonia Panel plus Resistenzgene erkannt, die auch im Antibiotikaempfindlichkeitstest positiv waren. 25 weitere Resistenzgene sind zusätzlich nur durch das Panel nachgewiesen. Bei 20 von 25 Ergebnissen (80%) konnte das Resultat durch die Sequenzierung bestätigt werden (155).

3. Material und Methoden

3.1 Statistische Informationen

Zur Datenanalyse dient die Sensitivität, Spezifität, der positive und negative prädiktive Wert, sowie die Signifikanz-Testung nach Kappa.

Des Weiteren werden Konkordanzen und die Cohens Kappa für die Interrater-Reliabilität nach Byrd bestimmt:

$\kappa = < 0 \rightarrow$ keine Übereinstimmung (no agreement)

$\kappa = 0 - 0,20 \rightarrow$ schwache Übereinstimmung (weak agreement)

$\kappa = 0,21 - 0,40 \rightarrow$ geringe Übereinstimmung (slight agreement)

$\kappa = 0,41 - 0,60 \rightarrow$ zufriedenstellende Übereinstimmung (satisfactory agreement)

$\kappa = 0,61 - 0,8 \rightarrow$ gute Übereinstimmung (good agreement)

$\kappa = 0,81 - 0,92 \rightarrow$ sehr gute Übereinstimmung (very good agreement)

$\kappa = 0,93 - 1,0 \rightarrow$ ausgezeichnete Übereinstimmung (excellent agreement) (157)

Die Datenanalyse wurde mithilfe von IBM® SPSS® Statistics Version 27 und Microsoft® Excel® für Microsoft 365 MSO durchgeführt.

Die Ergebnisse wurden mit – oder 0,000 bewertet, wenn keine positiven Nachweise der Erreger ermittelt werden konnten.

3.2 Probenmaterialien

Das FilmArray® Pneumonia Panel plus untersucht BAL-ähnliche und Sputum-ähnliche Proben (146).

Die Probenabnahme, -lagerung und der -transport laufen nach klinikinternen Standards des mikrobiologischen Labors ab.

Die Sputum-Proben werden aus den tiefen Atemwegen durch Husten gewonnen. Dies geschieht entweder spontan, nach tiefem Ein- und Ausatmen mit Einatmungspause oder durch Applikation von ca. 25ml steriler, 3-6%iger NaCl-Lösung inhalativ (158, 159).

Zur Gewinnung von BAL-Proben wird das Bronchoskop so weit in das Lumen des Bronchus vorgeschoben, bis die Spitze das Lumen abdichtet. Anschließend appliziert man bis zu 160ml 0,9%-ige NaCl-Lösung und aspiriert diese wieder. Die zweiten und dritten Aspirate werden verwendet. 3-4x1 ml/kg KG isotone Kochsalzlösung nutzt man

in der Pädiatrie zur Gewinnung von BAL-Proben. Es wird das komplette Aspirat gesammelt und aus diesem werden dann einzelne Proben untersucht (158).

Bei Mini-BAL-Proben (zählt zu den blinden invasiven Verfahren) werden 20-150ml Kochsalzlösung über einen geschützten Katheter appliziert. Die anschließende Aspiration erfolgt ohne Bronchoskop (158).

Nach dem Wechsel eines Trachealtubus kann durch einen sterilen Katheter eine ETA-Probe gewonnen werden (158).

Für die Probentypbestimmung benötigt das FilmArray® Pneumonia plus Panel mindestens 0,2ml (200µL) (146).

3.3 Allgemeine Verfahrensweise vom FilmArray® Pneumonia Panel plus

Die Angaben zu der Verfahrensweise, der Qualitätsprüfung und der Ergebnisinterpretation vom FilmArray® Pneumonia Panel plus stammen aus den Herstellerinformationen der Firma BioFire® by bioMérieux.

Zum Nachweis von Nukleinsäuren aus verschiedenen Pathogenen dient ein geschlossenes Einwegsystem. In dem FilmArray®-Gerät sind alle erforderlichen Reagenzien zur Probenvorbereitung, für die reverse Transkription, die PCR und zum Nukleinsäuren-Nachweis beinhaltet, um die Proben (BAL, mini-BAL, Sputum, ETA) aus den unteren Atemwegen zu testen (146).

Das Probenmaterial wird mit Hydration Solution (Hydrierungslösung) und Sample Buffer (Probenpuffer) in den Riegel eingespritzt. Anschließend wird der Riegel in das FilmArray®-Gerät eingeklappt und ein Durchlauf, der ca. eine Stunde benötigt, begonnen (146).

Einzelne Schritte des FilmArray® Pneumonia Panel plus:

- Lysierung (mechanisch) der Probe (Bead Beating)
- durch Magnetkugelchentechnik werden Nukleinsäuren aus dem Untersuchungsmaterial extrahiert und gereinigt
- die Nested Multiplex-PCR wird begonnen
 - o zunächst reverse Transkription mit einer einzelnen großvolumigen Multiplex-Reaktion
 - o gefolgt von mehreren Singleplex-PCR-Reaktionen der zweiten Stufe (PCR2) zur Vermehrung des PCR1-Produktes

- Nachweis durch Endpunkt-Schmelzkurvendaten zur Erzeugung eines Ergebnisses für jede Zielsequenz auf dem Array des FilmArray® Pneumonia Panel plus
- für den geschätzten Wert in Kopien/ml bei bakteriellen Proben werden vom FilmArray® Pneumonia Panel plus-System auch Echtzeit-Amplifikationsdaten aus Assays in Relation zu dem QSM im Riegel gesetzt (146)

3.4 Qualitätsprüfung vom FilmArray® Pneumonia Panel plus

3.4.1 Prozesskontrolle

Geräteintern befinden sich 2 Prozesskontrollen:

1. RNA Process Control (RNA-Prozesskontrolle)

Bei diesem Kontroll-Assay wird ein RNA-Transskript aus Hefe (*Schizosaccharomyces pombe*) erkannt. Diese liegt in gefriergetrockneter Form im Gerät vor. Wenn der Riegel mit dem Kontrollmaterial beladen wird, kommt es zur Rehydrierung der Hefe. Anschließend durchläuft die Probe sämtliche Schritte des Testprozesses. Mitinbegriffen sind dabei auch die Lyse, die Nukleinsäure-Reinigung, die reverse Transkription, die PCR1, die Verdünnung, die PCR2 und die DNA-Schmelzkurvenanalyse. Der Kontrollvorgang ist erfolgreich, wenn der FilmArray® Pneumonia Panel plus-Riegel alle Stufen mit der Kontrollprobe durchlaufen ist (146).

2. Quantified Standard Material (QSM) Control (Kontrolle von quantifiziertem Standardmaterial)

Dieses Kontrollverfahren detektiert eine quantifizierte synthetische Standard-Nukleinsäure. Die gesamten Schritte des Testprozesses werden im Anschluss an die Probenlyse (Bead Beating) durchgeführt. Ziel der QSM-Kontrolle ist ein Wert von ca. 10^6 Kopien/ml als Assay- und Bin-Ergebnis für bakterielle Analyte. Bei Anzeige eines positiven Resultates wird der Zielwert erreicht (146).

Das Kontrollverfahren ist erfolgreich, wenn die RNA-Prozesskontrolle und auch die QSM-Control als positiv bewertet werden (146).

3.4.2 Systemleistungsüberwachung

Sollte bei der RNA- (80,3 – 84,3°C) oder QSM- (82,7 – 86,7°C) Prozesskontrolle die Schmelztemperatur außerhalb der gewünschten Werte sein, schlägt der Durchlauf automatisch durch die FilmArray®-Software fehl (146). Es ist für die Kontroll-Assays

möglich, die Trenddarstellungen der Schmelztemperaturwerte abzurufen. Diese können dann nach Standardlaborpraktiken zur Qualitätskontrolle aufgezeichnet werden, sofern dies von lokalen, staatlichen oder Akkreditierungsorganisationen angefordert wird (146, 160, 161).

3.5 Ergebnisinterpretation

3.5.1 Interpretation des Assays

Nach Abschluss der PCR2 analysiert das FilmArray® Pneumonia Panel plus-Gerät eine DNA-Schmelzkurve der PCR-Produkte. Dabei wird in den einzelnen Vertiefungen ein Fluoreszenzsignal erzeugt, welches vom Gerät gemessen wird. Sobald das Schmelzprofil ein PCR-Produkt erkannt hat, wird durch die Software die T_m-Kurve errechnet und mit dem für das Assay vermuteten Temperaturbereich verglichen. Die Schmelzkurve gilt als positiv, wenn durch die Nutzung der Software der T_m-Wert der Kurve im assayspezifischen T_m-Bereich erfasst wird. Sollte die Software den T_m-Wert der Kurve außerhalb des assayspezifischen T_m-Bereichs ermitteln, wird die Kurve als negativ bewertet (146).

Anschließend beurteilt die Software bei positiver Schmelzkurve für jeden Assay die zwei Replikate. Voraussetzungen für ein positives Assay-Ergebnis sind die positive Bewertung der beiden betreffenden Schmelzkurven sowie die Ähnlichkeit der zwei Schmelztemperaturen. Wenn einer dieser Punkte nicht erfüllt wird, erscheint eine Bewertung als negativ (146).

Um einen Näherungswert für jedes Genziel zu erhalten, errechnet die Analysen-Software diesen aus den Echtzeit-PCR-Amplifikationsdaten relativ zum QSM. Bei einem zu geringen Wert ($<10^{3,5}$ Kopien/ml) oder keiner messbaren Amplifikation kommt es zu einer negativen Bewertung des Assay. Positiv gelten Werte $\geq 10^{3,5}$ Kopien/ml. Auf Grundlage dieser Analysen weisen die FilmArray® Pneumonia Panels plus semiquantitativ Bakterien sowie ihre genomischen Kopien der Nukleinsäuren pro ml nach (146).

3.5.2 Interpretation der Organismus- und Antibiotikaresistenz-Gene

Die Ergebnisse des FilmArray® Biofire® Pneumonia Panel plus werden in Tabellen der herkömmlichen mikrobiologischen Kultur gegenübergestellt.

Das FilmArray® Pneumonia Panel plus analysiert alle positiven und negativen Ergebnisse, die anschließend der Identifizierung spezifischer Bakterien, atypischer

Bakterien, Viren und Antibiotikaresistenzgenen dient. Die Interpretation erfolgt auf Basis eines Assayergebnisses (146).

Bakterien werden als „detected“ mit einem semiquantitativen Bin-Ergebnis nachgewiesen oder als „not detected“ gekennzeichnet. Damit kann die ungefähre Anzahl der spezifischen Bakteriengenome aufgezeigt werden. Bei der logarithmischen Angabe des Bin-Ergebnisses wird innerhalb des $\pm 0,5$ -log der Assaywert angegeben ($<10^{3,5}$ = „not detected“; $\geq 10^{3,5}$ bis $<10^{4,5}$ = 10^4 ; $\geq 10^{4,5}$ bis $<10^{5,5}$ = 10^5 ; $\geq 10^{5,5}$ bis $<10^{6,5}$ = 10^6 ; $\geq 10^{6,5}$ = $\geq 10^7$) (146).

In der Interpretation von *S. aureus* besteht die Besonderheit, dass der FilmArray® Pneumonia Panel plus-Riegel zwei unterschiedliche Assays (Saureus1 und Saureus2) besitzt. Diese werden unabhängig voneinander durch die FilmArray® Software interpretiert. Wird in beiden kein *S. aureus* nachgewiesen bzw. das Bin-Ergebnis $<10^{3,5}$ sein, gilt das Assay als „not detected“. Sollten ein oder beide Assays den Nachweis mit Bin-Ergebnis erbringen, wird die Probe als „detected“ mit den entsprechenden Kopien/ml angegeben (146).

Adenoviren werden von drei unterschiedlichen Assays (Adenovirus2, Adenovirus3, Adenovirus7) im FilmArray® Pneumonia Panel plus erfasst, um alle Adenovirus-Spezies und -Serotypen nachzuweisen. Die Interpretation der drei Assays ist nicht voneinander abhängig. Adenoviren sind nachgewiesen („detected“), wenn die FilmArray®-Software ein oder mehrere Assay(s) als positiv interpretiert. Sollten alle Assays als negativ bewertet werden, wird das Probenmaterial als „not detected“ interpretiert (146).

Bei den MERS-CoViren gibt es zwei unterschiedliche Assays im FilmArray® Pneumonia Panel plus. Die beiden Assays werden unabhängig voneinander bewertet. Das eine Assay weist das Membranprotein (M)-Gen (MERS1 Assay) und das andere Assay das Envelope (E)-Gen (MERS2 Assay) nach. Beim Nachweis der MERS-CoViren in beiden Assays, gilt die Probe als „detected“. Sollten beide Proben als negativ interpretiert werden, wird das Material als „not detected“ gekennzeichnet. Eine erneute Testung ist bei der Bewertung als „Equivocal“ (mehrdeutig) notwendig. Beim Nachweis vom MERS-CoV in nur einer der beiden Proben ist das der Fall (146).

Für den Nachweis von Antibiotikaresistenzgenen benötigt das FilmArray® Pneumonia Panel plus ein passendes Trägerbakterium, das die Nachweisgrenze von $\geq 10^{3,5}$ Kopien/ml überschritten hat. Die passenden Trägerbakterien zu den Antibiotikaresistenzgenen sind in Tabelle 5 aufgeführt. Bei dem Nachweis eines passenden Bakteriums und dem Antibiotikaresistenzgen im Assay wird der Test als

„detected“ gewertet. Wenn ein passendes Bakterium, aber kein korrespondierendes Antibiotikaresistenzgen nachgewiesen wird, gilt die Probe als „not detected“. Sollte ein passendes Bakterium als „not detected“ bewertet werden, wird unabhängig vom Resultat des Antibiotikaresistenzgen-Assays die Probe als N/A (k.A.) aufgeführt. Es gibt für jedes Antibiotikaresistenzgen ein einzelnes entsprechendes Assay. Die Ausnahme bildet das *mecA/C* and MREJ-Ergebnis. Dieses ist von dem *mecA/C*- und dem MREJ-Assay abhängig. Die Besonderheiten sind in Tabelle 6 zusammengefasst. Als MRSA-Indikator dient ein positiver Nachweis von *S. aureus* als auch von *mecA/C* and MREJ (146).

Tabelle 5 Antibiotikaresistenzgene mit zugehörigen Bakterien als Träger

Antibiotikaresistenzgen	Trägerbakterium
<i>mecA/C</i> und MREJ	<i>S. aureus</i>
CTX-M IMP KPC NDM VIM	<i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i> complex
	<i>Enterobacter cloacae</i> complex
	<i>Escherichia coli</i>
	<i>Klebsiella aerogenes</i>
	<i>Klebsiella oxytoca</i>
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
	<i>P. aeruginosa</i>
	<i>Proteus spp.</i>
	<i>Serratia marcescens</i>
OXA-48-ähnlich	<i>Enterobacter cloacae</i> complex
	<i>Escherichia coli</i>
	<i>Klebsiella aerogenes</i>
	<i>Klebsiella oxytoca</i>
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> group
	<i>Proteus spp.</i>
<i>Serratia marcescens</i>	

(146)

Tabelle 6 Interpretation verschiedener *S. aureus* Ereignisse in Verbindung mit den Resistenzgenen *mecA/C* and MREJ

Pneumonia Panel plus Ergebnis		<i>S. aureus</i>	<i>mecA/C</i> Assay	MREJ Assay
<i>S. aureus</i>	„Detected“	„detected“	Positiv	Positiv
<i>mecA/C</i> and MREJ	„Detected“			
<i>S. aureus</i>	„Detected“	„detected“	Positiv	Negativ
<i>mecA/C</i> and MREJ	„not detected“			
<i>S. aureus</i>	„Detected“	„detected“	Negativ	Positiv
<i>mecA/C</i> and MREJ	„not detected“			
<i>S. aureus</i>	„not detected“	„not detected“	Jedes Ergebnis	Jedes Ergebnis
<i>mecA/C</i> and MREJ	N/A (k.A.)			

(146)

Der Nachweis einer Antibiotikaresistenz („detected“) lässt keine Verbindung zu einem entsprechenden Bakterium zu, wie in Tabelle 5 dargestellt. Um eine Antibiotikaempfindlichkeit aus den Isolaten nachzuweisen, ist das Anlegen einer mikrobiologischen Kultur notwendig (146).

3.5.3 Ergebnisbericht des FilmArray® Pneumonia Panel plus

Im Anschluss an den Durchlauf wird ein in 3 Abschnitten geteilter Testbefund angezeigt. Dieser ist unterteilt in Run-Information (Laufinformation), Detection-Summary (Nachweisüberblick) und Result-Summary (Überblick der Ergebnisse) (146). In den Run-Information werden Sample ID (Nummer der Probe), Protocol (Materialtyp), Pouch Type (Paneltyp), Controls (Passed – bestanden, Failed – nicht bestanden, Invalid – ungültig), Run-Status (Laufstatus – Completed/Incompleted/Aborted), Run-Date (Datum und Uhrzeit der Testdurchführung), Serial No. (Nummer der Serie), Lot. No. (Nummer der Charge), Operator (Testdurchführer) und Instrument (Error – Fehler des Gerätes, Communication Error – Kommunikationsfehler des Gerätes, Software Error – Fehler

der Software) aufgeführt. „Passed“ bedeutet, dass der Durchlauf mit Erfolg beendet wurde und die zwei Pouchkontrollen erfolgreich waren. Wird „Failed“ angezeigt, kam es zum zielführenden Durchlaufen der Probe, aber bei mindestens einer Pouchkontrolle (RNA- oder QSM-Kontrolle) ist ein Fehler aufgetreten. Invalid bedeutet, dass der Durchlauf nicht erfolgreich abgeschlossen wurde (146).

Im Bereich Detection Summary sind die nachgewiesenen („detected“) Resultate des Durchlaufs aufgeführt. Die Kategorien bestehen aus den „Bacteria“ mit dem Bin in copies/ml, den „Antimicrobial Resistance Genes“, den „Atypical Bacteria“ und den „Viruses“. Findet kein Nachweis in einer der Kategorien statt, steht in dem jeweiligen Bereich: „detected: none“. Es kann in der Kategorie Antimicrobial Resistance Genes bei MERS-CoV zusätzlich zum Ergebnis „equivocal“ (mehrdeutig) kommen. Dies resultiert aus einer Kombination der positiven und negativen Assay-Ergebnisse für MERS-CoV, das für uneindeutig befundet wird. „Invalid“ (ungültig) erscheint bei nicht erfolgreich abgeschlossenem Durchlauf. Das Ergebnis „k.A.“ kann nur bei Antibiotikaresistenzgenen angezeigt werden. Es folgt bei Nachweis eines Antibiotikaresistenzgens mit negativem Resultat eines dem Antibiotikaresistenzgen-entsprechenden Organismus/-men (146).

In dem Abschnitt Result-Summary sind alle vom FilmArray® Pneumonia Panel plus erfassbaren Organismen (bei Bacteria mit Bin-Ergebnis in Kopien/ml) und Antimicrobial Resistance Genes aufgelistet. Die Ergebnisse werden wie im Absatz Detection-Summary angezeigt. Zusätzlich steht vor den nicht nachgewiesenen, aber aufgeführten Organismen und Antimicrobial Resistance Genes „not detected“ (146).

3.6 Verfahrensweise des mikrobiologisch-kulturellen Vergleichs

3.6.1 Allgemeine Untersuchung durch Mikroskopie und Kultur

Sputum-, Bronchialsekret- und Trachealsekretproben werden bei 80- bis 100-facher Vergrößerung in 5 Gesichtsfeldern untersucht. Man beurteilt die Anzahl an Plattenepithelzellen, Granulozyten und Makrophagen je Gesichtsfeld. In der Tabelle 7 ist die Qualitätsbewertung von Sputumproben anhand der Zytologie zu erkennen (158, 162). Bei einer Immunsuppression, Mukoviszidose oder einem V.a. Legionellen-, Tuberkulose-, Schimmelpilz- und Mykoseninfektion (die nicht in Europa ihren Ursprung haben) sind diese Kriterien ungeeignet (158).

Tabelle 7 Sputumprobenbewertung anhand der Zytologie

Granulozyten/ Gesichtsfeld	Plattenepithelzellen/ Gesichtsfeld	Bewertung
>25	<10	vorzugsweise geeignet
>25	10-25	geeignet
<25	<25	begrenzt geeignet
>25	>25	begrenzt geeignet
10-25	>25	ungeeignet
<10	>25	ungeeignet

(158, 163)

Werden in BAL- und Mini-BAL-Proben ein relativer Anteil von >20% Granulozyten im Untersuchungsmaterial gefunden, so weist dies auf eine Infektion hin. Eine virale, mykotische oder Protozoen-Infektion kann bei einer Lymphozytenvermehrung von über 10% angenommen werden (158, 164).

Zum Anlegen einer Kultur benutzt man die Basiskultur (bluthaltiges Agarmedium, kochbluthaltiges Agarmedium, selektiver Laktose-Indikator-Agar) und/oder Spezialkulturmedien (Mannitol-Kochsalz-Agar und chromogene „MRSA-Platten“, Sabouraud-Agar, Spezialmedien bei Mukoviszidose, Legionellen-Agar, Mykoplasmen/Ureaplasmen-Agar und Medien für besondere Erreger). Die Kultur wird über einen fraktionierten 3-Ösen-Ausstrich (semiquantitativ) auf der gesamten Platte verteilt (158, 162, 164). Nach 12-, 18- und 48-stündiger Kultivierung (bis zu 4 Wochen) beurteilt man die Platte mit 30 bis 300 Kolonien (158, 164, 165).

Zur besseren Beurteilung von Sputumproben werden eitrig-proteinhaltige Proben, welche teilweise noch homogenisiert werden müssen, in der Mikroskopie und der Kultur untersucht. Trachealsekret und Bronchialsekret wird für eine Minute mit Vortexen gemischt und nur bei sehr viskösen Proben homogenisiert. Bei den BAL- und Mini-BAL-Proben versucht man bei ausreichendem Untersuchungsmaterial die Proben in Mikroskopie und Kultur (Sediment nach Zentrifugation) zu beurteilen. Antigen-, Antikörper- und molekulargenetische Nachweise können bei persistierenden Infiltraten genutzt werden (158).

Im Anhang 1 befindet sich eine Übersicht mit der Tabellenbeschreibung „Mikroskopische und kulturelle Untersuchungen bei der Diagnostik von tiefen Atemwegserkrankungen (nach Martina Kerwat 2010)“. Diese Tabelle zeigt die

verschiedenen Probenmaterialien mit den möglichen entsprechenden Platten zum Erregernachweis (158).

Kommt es zu einem negativen Kulturergebnis, ist das Vorliegen einer Pneumonie (evtl. auch atypischer Keime oder Viren) dennoch möglich. Beim Nachweis von Erregern unter der Schwellenkonzentration besteht bei entsprechender Grunderkrankung oder vorher erfolgter Antibiotikatherapie trotzdem eine mögliche klinische Relevanz. Gekennzeichnet wird dieser Fall durch das Labor mit dem „Erregernamen – 10^3 /ml in Reinkultur vorliegend“ (162, 164, 166, 167).

3.6.2 Besonderheiten bei der Untersuchung von CF-Patienten

Bei der Entnahme von Proben ist auf einen ausreichenden Abstand zur letzten Antibiose zu achten (bzw. Entnahme vor nächster Gabe) (94, 168, 169). Bei CF-Patienten nimmt man je nach Fragestellung und Fähigkeit zum Auswurf unterschiedliche Proben zur mikrobiologischen Untersuchung (94, 170). Zur Diagnostik dienen Sputum, induziertes Sputum, tiefer Rachenabstrich und die BAL (94, 107). Induziertes Sputum stellt die Besiedlung der tiefen Atemwege im Vergleich zur BAL besser dar. Die schwierige mikrobiologische Infektionsdiagnostik von Mukoviszidose-Patienten wird durch ein gesondert unterwiesenes Team mit dem Ziel, sämtliche mukoviszidose-typische/ relevante Erreger und Resistenzen zu erfassen, durchgeführt (94, 171). Diese Grunderkrankung bringt ein anspruchsvolles Erregerspektrum (hohe Keimkonzentration, Mischkulturen ähnlicher Spezies bzw. seltener Pathogene) mit sich (94, 107, 168-170). Bei Exazerbationen oder fehlendem Nachweis von Pathogenen bei Infektanzeichen wird die Basisdiagnostik ausgeweitet. Die Zeiten für die Erregeranzucht werden für CF-Patienten verlängert. Außerdem ist es notwendig für *S. aureus*, *H. influenzae*, *P. aeruginosa*, *B.-cepacia*-Komplex und Pilze Selektivmedien anzulegen (94).

Da das Sputum von Mukoviszidose-Erkrankten viel visköser als das eines Gesunden ist und die Keime darin unterschiedlich verteilt sind, homogenisiert man das Sputum vor den Untersuchungen. Bei adulten Erkrankten ist die Qualität des Sputums hinsichtlich Plattenepithel- und Granulozytenzahl je Gesichtsfeld von geringerem Stellenwert (94, 172-174). Bei zu geringem Auswurf von Mukoviszidose-Patienten wird ein tiefer Rachenabstrich durchgeführt sowie ein Agarmedium über einen 3-Ösenausstrich kultiviert (94).

Die Agarmedien der Basiskultur umfassen immer 6 ganz angelegte Platten (siehe Tabelle 8) (94).

Tabelle 8 Übersicht Agarmedien mit zugehörigen Keimnachweisen

Agar	Keimnachweis
Bluthaltiges Agarmedium	<i>S. pneumoniae</i> , β -hämolyisierende Streptokokken, <i>M. catarrhalis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , Nonfermenter, Schimmelpilze, häufige Mukoviszidose-Leitkeime
Kochbluthaltiges Agarmedium	<i>H. influenzae</i> , <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , Nonfermenter, Schimmelpilze
Laktose-Indikator-Agar	Gramnegative Erreger (<i>P. aeruginosa</i> , <i>Achromobacter xylosoxidans</i> , andere Nonfermenter, Enterobacterales)
<i>S. aureus</i> -Selektivagar (CF-spezifisch)	<i>S. aureus</i> , <i>S. aureus</i> -SCV
<i>B. cepacia</i> -Selektivagar (CF-spezifisch)	<i>B. cepacia</i> -Komplex, <i>Pandoraea spp.</i> , Schimmelpilze, <i>Exophiala dermatitidis</i>
Universelles Pilzmedium (CF-spezifisch)	Schimmelpilze (<i>Aspergillus spp.</i>), <i>Candida spp.</i> , <i>Exophiala dermatitidis</i>

(94)

Die Platten werden für mindestens 48 Stunden (signifikant besser: >5 Tage) bei $36 \pm 1^\circ\text{C}$ bebrütet. Bei einer Bebrütungszeit des *B. cepacia*-Selektivagars von 10 Tagen ist ein positives Ergebnis für schnell wachsende nicht-tuberkulöse Mykobakterien möglich. Die Inkubation für das Pilzmedium beträgt mind. 10 Tage (94).

Im Anhang 2 befindet sich eine Übersicht zu den „Kulturmedien und Untersuchungsverfahren zum Nachweis CF-relevanter Leitkeime“ (94).

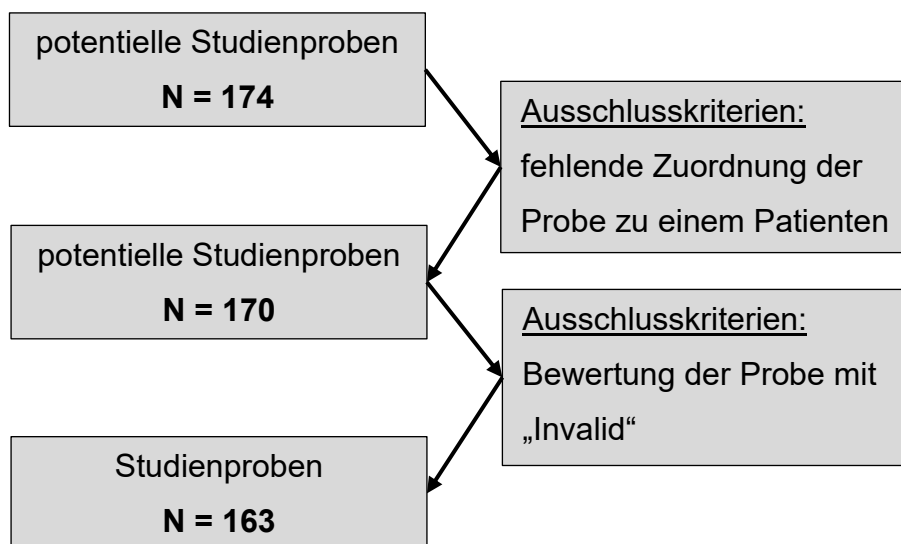
Es gibt keine Empfehlung zu den Untersuchungen auf Kombinationen von Antibiotika oder die Biofilm-basierte Testung (94, 175, 176). Durch die unterschiedlichen, oft multiresistenten Nonfermenter, die langsam wachsenden und angepassten *P. aeruginosa*-Spezies und die seltenen *S. aureus*-Erscheinungsformen ist die sichere Empfindlichkeitstestung oft nur bedingt möglich. Eine Resistenztestung von *P. aeruginosa* sollte aufgrund schwankender Resultate daher nicht bei jeder Testung

erfolgen (94, 177, 178). Eine Untersuchung mindestens alle 3 Monate unter MRGN-Klassifikations-Berücksichtigung ist ausreichend. Wenn eine Empfindlichkeitstestung stattfindet, werden sämtliche Phänotypen und Resistenzen aller gefunden pathogenen Bakterien (z.B. *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *H. influenzae*, Enterobacterales) untersucht (94, 179). Das Standardverfahren zur Resistenztestung bei *P. aeruginosa* ist die Mikrodilution mit einer erweiterten Bebrütungszeit bis 48 Stunden (94). Ein falsches Ergebnis bei der Empfindlichkeitsprüfung liefern oft inaktive *P. aeruginosa*-Erscheinungsformen, *B. cepacia*-Komplex oder seltene Mukoviszidose-typische Nonfermenter (94, 180-182).

4. Ergebnisse

4.1 Die Studienpopulation

Die Erfassung der 174 Panel-Proben bezog sich auf den Zeitraum vom 24.04.2019 bis zum 31.12.2020. Bei der Analyse des FilmArray® Pneumonia Panel plus wurden 170 Patienten mit einbezogen. 4 Probenergebnisse mussten wegen fehlender Zuordnung zu den jeweiligen Patienten ausgeschlossen werden. 7 Proben wurden von dem Gerät als „invalid“ bewertet und fallen somit aus der Gesamtbetrachtung heraus. Insgesamt standen 163 Proben für die Analyse zur Verfügung. Die Studienpopulation setzte sich aus den Patienten der Kinderklinik der Universitätsmedizin Mainz zusammen, bei denen eine FilmArray® Pneumonia Panel plus-Diagnostik durchgeführt wurde. Zu den Untersuchten zählten ambulant und stationär betreute Mukoviszidose-Patienten der pädiatrischen Pneumologie, sowie Patienten der interdisziplinären Kinderintensivstation (Abb. 1).



(Abb. 1 Flowchart über Ausschlusskriterien der Studienteilnehmer bei fehlender Proben-Patienten-Zuordnung und der Bewertung „Invalid“)

Es wurden insgesamt 115 Sputum- und 37 BAL-Proben untersucht. Bei 11 Untersuchungsmaterialien handelte es sich um Rachen-, Pleura oder perihepatischer Flüssigkeit (Tabelle 9).

Tabelle 9 Probenarten

	Sputum-Proben	BAL-Proben	Rachen-Proben	Pleura-Proben	Perihepatische Flüssigkeits-Probe
Anzahl	115	37	7	3	1

Das Probenmaterial stammte von 52,1% (N = 85) männlichen und 47,9% (N = 78) weiblichen Patienten. Bei der Analyse wurden 55 Proben von Patienten mit Mukoviszidose, 4 Proben von Patienten mit PCD und eine Probe von einem Patienten mit Kartagener-Syndrom untersucht. Bei 15 Patienten war zum Zeitpunkt der Datenerhebung die medizinische Dokumentation des Aufenthaltes noch nicht endgültig abgeschlossen (vorläufige Arztbriefe). 27 Proben wurden bei ambulant behandelten Patienten gewonnen und 136 Proben von Patienten mit einem stationären Aufenthalt (Tabelle 10a).

Tabelle 10a Beschreibung des Patientenkollektivs

	Geschlecht	Mukoviszidose	Kartagener-Syndrom	PCD	Ambulant/Stationär
Anzahl	m: 85 (52,1%) w: 78 (47,9%)	55/163	1/163	4/163	27 (16,6%) / 136 (83,4%)

Das Patientenalter liegt zwischen 0 bis 58 bei einem Median von 14,0 Jahren und die Mediane Liegezeit der Patienten lag bei 12,5 Tagen. Weitere klinische Merkmale sind in der Tabelle 10b dargestellt.

Tabelle 10b Weitere klinische Merkmale des Patientenkollektivs

	Alter (in Jahren)	Temperatur (in °C)	Liegezeit (in Tagen)
Median (Minimum-Maximum)	14,0 (0 – 58)	37,10 (34,4 – 40,4)	12,50 (1 – 242)

4.1.1 Ergebnisse im Biofire FilmArray® Pneumonia Panel plus

In der Tabelle 11 werden die entsprechenden Positiv- und Negativergebnisse von Bakterien, atypischen Bakterien, Resistenzgenen und Viren mittels FilmArray® Pneumonia Panel plus dargestellt. 32 Proben brachten keinen Erregernachweis. Am häufigsten konnte eine Kolonisation mit einem oder mehreren Bakterien (112 positive Proben) nachgewiesen werden.

Tabelle 11 Übersicht von Erregernachweisen durch das Pneumonia Panel plus

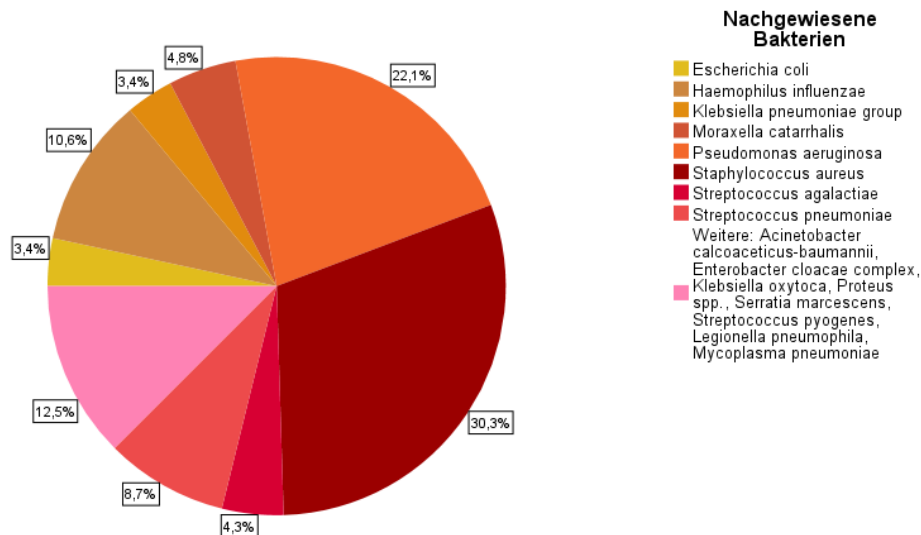
	Anzahl	Prozent
Gesamtproben		
Positivnachweise	131/163	80,4%
Negativnachweise	32/163	19,6%
Nachweis von Bakterien		
Positiv	111/163	68,1%
- Positivproben von atypischen Bakterien ^a	3/111	2,7%
Negativ	52/163	31,9%
Nachweis von Resistenzgenen		
Positiv	22/163	13,5%
Negativ	141/163	86,5%
Nachweis von Viren		
Positiv	63/163	38,7%
Negativ Bakterien	100/163	61,3%

a Zu den atypischen zählen *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae*

In der Tabelle 12 sind alle positiv nachgewiesenen Bakterien aufgelistet, welche vom Panel nach den Ausschlusskriterien der Abb. 1 detektiert wurden. Es konnten 208 Bakterien bei 163 Proben mit dem Biofire® Pneumonia Panel plus nachgewiesen werden. Am häufigsten traten *S. aureus*- und *P. aeruginosa*-Bakterien, gefolgt von *H. influenzae*-Bakterien auf. In 3 Proben wurden atypische Erreger für Pneumonien detektiert (einmalig *Legionella pneumophila* sowie zweimalig *Mycoplasma pneumoniae*) (Tabelle 12).

Tabelle 12 Nachgewiesene Bakterien im Biofire® Pneumonia Panel plus

	Anzahl	Prozent
Bakterien		
Gesamtnachweise	208	
<i>S. aureus</i>	63	30,3%
<i>P. aeruginosa</i>	46	22,1%
<i>H. influenzae</i>	22	10,6%
<i>S. pneumoniae</i>	18	8,7%
<i>M. catarrhalis</i>	10	4,8%
<i>Streptococcus agalactiae</i>	9	4,3%
<i>Escherichia coli</i>	7	3,4%
<i>Klebsiella pneumoniae</i> group	7	3,4%
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	5	2,4%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	5	2,4%
<i>Streptococcus pyogenes</i>	5	2,4%
<i>Serratia marcescens</i>	4	1,9%
<i>Proteus spp.</i>	3	1,4%
<i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i> complex	1	0,5%
<i>Klebsiella aerogenes</i>	0	0,0%
Atypische Bakterien		
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	2	1,0%
<i>Legionella pneumophila</i>	1	0,5%
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	0	0,0%

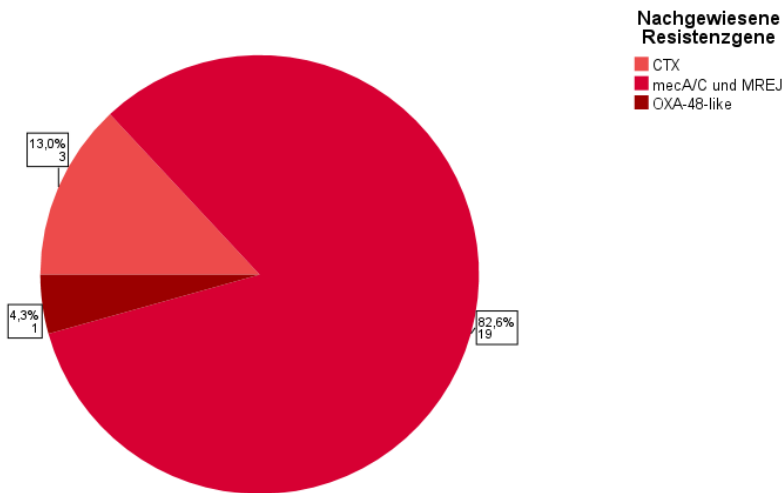


(Abb. 2 Kreisdiagramm zur Darstellung der Bakteriennachweise im Biofire® Pneumonia Panel plus)

Es wurden insgesamt 23 Resistenzgene vom Biofire® Pneumonia Panel plus detektiert. Am häufigsten trat das mecA/C and MREJ-Gen auf. Des Weiteren konnten noch 3 CTX-M- und 1 OXA48-like-Resistenzen nachgewiesen werden (Tabelle 13).

Tabelle 13 Nachgewiesene Resistenzgene im Biofire® Pneumonia Panel plus

Resistenzgene	Anzahl	Prozent
Gesamtnachweise	23	
mecA/C and MREJ	19	82,6%
CTX-M	3	13,0%
OXA-48-like	1	4,3%
IMP	0	0,0%
KPC	0	0,0%
NDM	0	0,0%
VIM	0	0,0%

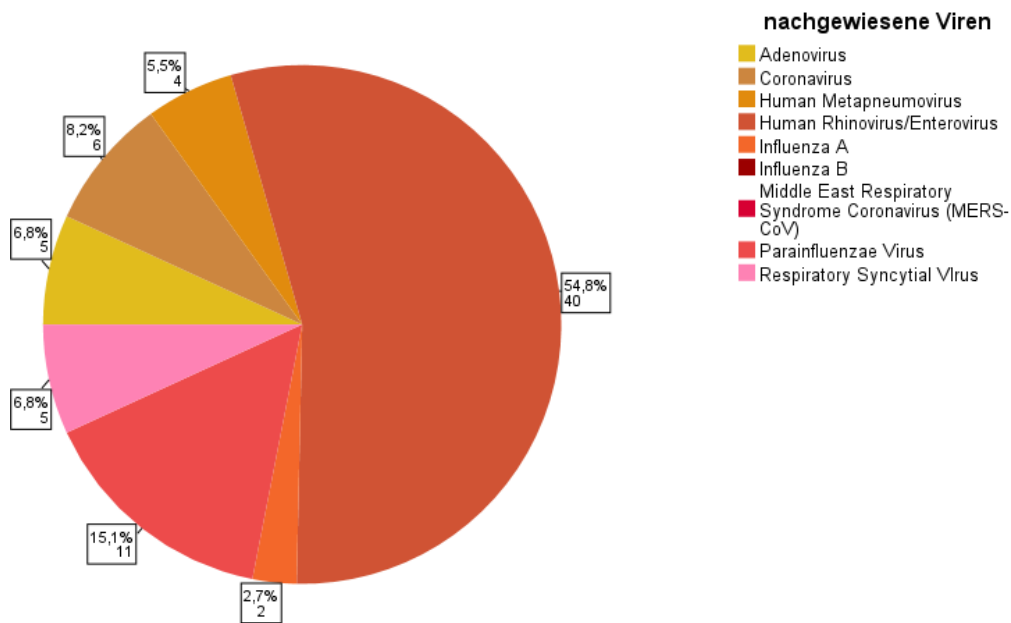


(Abb. 3 Kreisdiagramm zur Darstellung der Resistenzgennachweise im Biofire® Pneumonia Panel plus)

Im Panel konnten 73 Viren nachgewiesen werden. Mit 40 (54,8%) Nachweisen wurde das Human Rhinovirus/Enterovirus am häufigsten detektiert. Das Parainfluenza Virus trat mit 11 Nachweisen am zweithäufigsten auf (Tabelle 14).

Tabelle 14 Virusnachweise durch das Biofire® Pneumonia Panel plus

Viren	Anzahl	Prozent
Gesamtnachweise	73	
Human Rhinovirus/Enterovirus	40	54,8%
Parainfluenza Virus	11	15,1%
Coronavirus	6	8,2%
Adenoviren	5	6,8%
Respiratory Syncytial Virus	5	6,8%
Human Metapneumovirus	4	5,4%
Influenza A	2	2,7%
Influenza B	0	0,0%
Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV)	0	0,0%



(Abb. 4 Kreisdiagramm zur Darstellung der Virennachweise im Biofire® Pneumonia Panel plus)

4.1.2 Ergebnisse in der konventionellen Mikrobiologie

In der Tabelle 15 werden die in der konventionellen mikrobiologischen Kultur nachgewiesenen Erreger nach Abb. 1 dargestellt. Insgesamt konnten in der mikrobiologischen Kultur 145 Bakterien bestimmt werden. Davon waren 122 Bestandteile des FilmArray® Pneumonia Panel. Es wurden 23 bakterielle Erreger in der gesamten Studienpopulation kulturell ermittelt, die im FilmArray® Pneumonia Panel plus nicht enthalten sind, wobei es sich vor allem um *Stenotrophomonas maltophilia* und *A. xylosoxidans* handelt (Tabelle 15).

Tabelle 15 Nachgewiesene Bakterien in der mikrobiologischen Kultur

	Nachweise (Anzahl bei Mukoviszidose-Patienten)	Prozent
Bakterien		
Gesamtnachweise	145 (79)	
Vom Biofire® Pneumonia Panel plus nachweisbare Bakterien		
Gesamtnachweise	122 (67)	
<i>S. aureus</i>	45 (30)	36,9%
<i>P. aeruginosa</i>	43 (30)	35,2%
<i>H. influenzae</i>	7 (1)	5,7%
<i>Escherichia coli</i>	5 (0)	4,1%
<i>Klebsiella pneumoniae</i> group	5 (1)	4,1%
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	3 (1)	2,5%
<i>M. catarrhalis</i>	3 (0)	2,5%
<i>Proteus</i> spp.	3 (2)	2,5%
<i>Serratia marcescens</i>	3 (1)	2,5%
<i>S. pneumoniae</i>	3 (0)	2,5%
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1 (0)	0,8%
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 (1)	0,8%
<i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i> complex	0 (0)	0,0%
<i>Klebsiella aerogenes</i>	0 (0)	0,0%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0 (0)	0,0%
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	0 (0)	0,0%
<i>Legionella pneumophila</i>	0 (0)	0,0%
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0 (0)	0,0%
Nicht vom Biofire® Pneumonia Panel plus nachweisbare Bakterien		
Gesamtnachweise	23 (12)	
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	7 (2)	30,4%
<i>A. xylosoxidans</i>	5 (4)	21,7%
<i>Mycobacterium abscessus</i>	2 (0)	8,7%
<i>Acinetobacter maltophilia</i>	1 (0)	4,3%

	Nachweise (Anzahl bei Mukoviszidose-Patienten)	Prozent
Nicht vom Biofire® Pneumonia Panel plus nachweisbare Bakterien		
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	1 (0)	4,3%
<i>Aeromonas hydrophila complex</i>	1 (0)	4,3%
<i>B. cepacia complex</i> (Nonfermenter)	1 (1)	4,3%
<i>Inquilinus limosus</i> (Nonfermenter)	1 (1)	4,3%
<i>Lautropia mirabilis</i>	1 (1)	4,3%
<i>Mycobacterium avium</i>	1 (1)	4,3%
<i>Pandoraea species</i> (Nonfermenter)	1 (1)	4,3%
<i>Providencia rettgeri</i>	1 (1)	4,3%

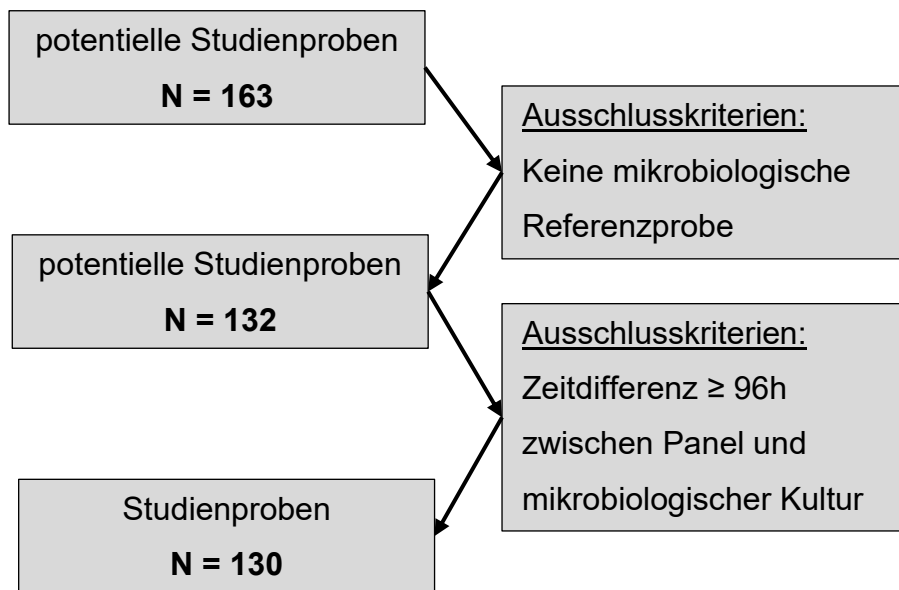
Die durchschnittliche Dauer bis zum endgültigen Ergebnis einer mikrobiologischen Kultur betrug ca. 7,22 Tage bei einem Median von 4,00 Tagen. Das frühestmögliche mikrobiologische Ergebnis wurde nach einem Tag durch ein von dem mikrobiologischen Institut durchgeführtes PCR-Verfahren ermittelt. Die Dauer der anderen Ergebnisse lag zwischen 2 Tagen bis maximal 57 Tagen nach Probenabnahme (Tabelle 16).

Tabelle 16 Dauer der konventionell durchgeführten mikrobiologischen Diagnostik

	Mittelwert	Median	Minimum	Maximum
Dauer der mikrobiologischen Kultur (in Tagen)	7,22	4,00	1	57

4.2 Gegenüberstellung des Biofire® Pneumonia Panel plus mit der konventionellen Mikrobiologie

Für den Vergleich zwischen dem FilmArray® Pneumonia Panel plus und der konventionellen Mikrobiologie mussten alle Proben ausgeschlossen werden, bei denen keine mikrobiologische Kultur untersucht wurde. Des Weiteren wurden nur Proben erfasst, bei denen die Zeitdifferenz zwischen der Probenabnahme für das Panel und der Probenabnahme für die herkömmliche Mikrobiologie weniger als 96h beträgt (Abb. 5).



(Abb. 5 Flowchart über Ausschlusskriterien der Studienteilnehmer ohne mikrobiologische Referenzkulturen und einer Zeitdifferenz von $\geq 96h$)

Nach den Ausschlusskriterien der Abb. 5 ergab sich für die Gegenüberstellung vom Biofire FilmArray® Pneumonia Panel plus mit der mikrobiologischen Kultur die folgende Zusammensetzung der Studienpopulation. Es wurden 69 (53,1%) männliche und 61 (46,9%) weibliche Patienten-Proben mit der herkömmlichen Mikrobiologie verglichen. Es handelte sich um Proben von 45 Mukoviszidose-, 4 PCD- und einem Kartagener-Syndrom-Patienten. Bei 12 Proben gab es zum Zeitpunkt der Auswertung vorläufige Arztbriefe. Die untersuchten Materialien stammen von 24 (18,5%) ambulanten und 106 (81,5%) stationären Patienten.

Die mikrobiologischen Vergleichsproben wurden mit „not detected“ bewertet, wenn in der Kultur ein Bakterium nachgewiesen wurde, welches vom FilmArray® Pneumonia Panel plus nicht erfasst werden konnte.

4.2.1 Vergleich der bakteriellen Nachweise

In den Tabellen 17 und 18 sind die Panel-Ergebnisse den mikrobiologischen Untersuchungsergebnissen gegenübergestellt. Anhand dieser Resultate wurden für die Gesamtnachweise und die einzelnen Erreger hinsichtlich der Sensitivitäten, Spezifitäten, positiven und negativen prädiktiven Werte sowie die Signifikanzen bestimmt.

In der Tabelle 17 ist die Berechnung der Konkordanz und des Kappa-Wertes für die Gesamtnachweise dargestellt. Die Ergebnisse wurden als konkordant bewertet, wenn der Bakteriennachweis im Panel mit der mikrobiologischen Kultur übereinstimmte. Die Konkordanz betrug 95,75%. Die Übereinstimmung konnte mit „gut“ bewertet werden (Tabelle 17).

Tabelle 17 Übersicht aller Gesamtnachweise mit Konkordanzen und Kappa-Werten

Bakterien	Konkordant		Diskkordant		Konkordanz ^a	Kappa-Wert ^b	Kappa-Test Signifikanz
	+/+	-/-	+/-	-/+			
Gesamtnachweise	139/172	2226/2298	72/2298	33/172	95,75%	0,703	<0,001

a Konkordanzen errechnet als Quotient aus der Summe der richtigen Übereinstimmungen aus nachgewiesenen und nicht nachgewiesenen Bakterien im Panel sowie aller Nachweise aus Panel und der mikrobiologischen Kultur

b Kappa-Wert als Bewertung für die Aussagekraft der Konkordanz

Folgende Positivbefunde konnten in signifikanter Höhe bei genügend Nachweisen erhoben werden: *Escherichia coli*, *H. influenzae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae* group, *M. catarrhalis*, *Proteus spp.*, *P. aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *S. aureus*, *S. pneumoniae* und *Streptococcus pyogenes*. Die Sensitivität lag bei *Escherichia coli*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, *Proteus spp.*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. pneumoniae* und *Streptococcus pyogenes* bei über 80%. In allen bakteriellen Nachweisen waren die Spezifitäten bei über 85% (Tabelle 18).

Tabelle 18 Darstellung der Sensitivitäten, Spezifitäten, positiven und negativen prädiktiven Werte aller bakteriellen Erreger beim Vergleich vom Biofire® Pneumonia Panel plus Proben mit der herkömmlichen Mikrobiologie

Bakterien	RP (N)	FP (N)	RN (N)	FN (N)	Sens. (95% KI) ^a	Spez. (95% KI) ^b	PPW (95% KI) ^c	NPW (95% KI) ^d	Fischer- Test Signifikanz ^e
<i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i> complex	0	0	130	0	-	100%	-	100%	-
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	1	2	125	2	33,3%	98,4% (95,8-100%)	33,3%	98,4% (95,9-100%)	0,068
<i>Escherichia coli</i>	5	1	124	0	100%	99,2% (97,2-100%)	83,3%	100%	<0,001
<i>H. influenzae</i>	6	9	114	1	85,7% (48,7-97,4%)	92,7% (87,8-96,8%)	40,0% (18,0-61,5%)	99,1% (97,2-100%)	<0,001
<i>Klebsiella aerogenes</i>	0	0	130	0	-	100%	-	100%	0,068
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	4	126	0	-	96,9% (93,2-99,6%)	-	100%	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> group	3	2	123	2	60,0%	98,4% (95,8-100%)	60,0%	98,4% (95,3-100%)	<0,001
<i>M. catarrhalis</i>	3	5	122	0	100%	96,1% (92,0-99,2%)	37,5% (0,0-75,0%)	100%	<0,001
<i>Proteus spp.</i>	3	0	127	0	100%	100%	100%	100%	<0,001
<i>P. aeruginosa</i>	35	5	82	8	81,4% (69,0-91,9%)	94,3% (88,6-98,9%)	87,5% (76,9-97,3%)	91,1% (85,0-96,5%)	<0,001
<i>Serratia marcescens</i>	2	1	126	1	66,7%	99,2% (97,6-100%)	66,7%	99,2% (97,5-100%)	0,001
<i>S. aureus</i>	39	12	74	5	88,6% (77,5-97,8%)	86,0% (78,8-92,9%)	76,5% (64,6-87,8%)	93,7% (87,8-98,6%)	<0,001

Bakterien	RP (N)	FP (N)	RN (N)	FN (N)	Sens. (95% KI) ^a	Spez. (95% KI) ^b	PPW (95% KI) ^c	NPW (95% KI) ^d	Fischer- Test Signifikanz ^e
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0	9	120	1	0,0%	93,0% (87,7- 97,3%)	0,0%	99,2% (96,8- 100%)	1,000
<i>S. pneumoniae</i>	3	9	118	0	100%	92,9% (88,4- 97,0%)	25,0% (0,0- 54,5%)	100%	<0,001
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1	3	126	0	100%	97,7% (94,6- 100%)	25,0%	100%	0,031
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	0	0	130	0	-	100%	-	100%	-
<i>Legionella pneumophila</i>	0	1	129	0	-	99,2% (97,6- 100%)	-	100%	-
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0	2	128	0	-	98,5% (95,7- 100%)	-	100%	-
Gesamt- nachweise	139	72	2226	33	80,8% (74,3- 86,0%)	96,9% (96,1- 97,5%)	65,9% (60,3- 71,0%)	98,5% (98,0- 98,9%)	<0,001

a Sensitivität errechnet aus den richtig vom Panel nachgewiesenen positiven Ergebnissen und der Summe dieser richtigen positiven Ergebnisse sowie den falsch negativen Ergebnissen

b Spezifität errechnet aus den richtig vom Panel nachgewiesenen negativen Ergebnissen und der Summe dieser richtigen negativen Ergebnisse sowie den falsch positiven Ergebnissen

c positiver prädiktiver Wert errechnet aus den richtig vom Panel nachgewiesenen positiven Ergebnissen und der Summe dieser richtigen positiven Ergebnisse sowie den falsch positiven Ergebnissen

d negativer prädiktiver Wert errechnet aus den richtig vom Panel nachgewiesenen negativen Ergebnissen und der Summe dieser richtigen negativen Ergebnisse sowie den falsch negativen Ergebnissen

e Signifikanz anhand des Fischer-Tests berechnet; bei einem p-Wert von $\leq 0,05$ wurde das Ergebnis als signifikant gewertet

4.2.2 Proben mit gleichen Untersuchungsmaterialien

24 Sputum/ BAL-Proben wurden als identisches Material von dem FilmArray® Pneumonia Panel plus sowie der mikrobiologischen Kultur untersucht. Die Konkordanzen der exakt gleichen Proben waren bei allen Proben außer *P. aeruginosa* (79,17%) und den Negativnachweisen (91,7%) bei über 95%. Ein guter bis sehr guter Kappa-Wert konnte für die Ergebnisse „not detected“, den *S. aureus*-Nachweisen und die durchschnittlichen Nachweise angegeben werden (Tabelle 19).

Tabelle 19 Darstellung der Konkordanzen und Kappa-Werte von Sputum- und BAL-Proben, bei denen das exakt gleiche Material im Biofire® Pneumonia Panel plus und in der Mikrobiologie untersucht wurde

Bakterien	Konkordant		Diskkordant		Konkordanz ^a	Kappa-Wert ^b	Kappa-Test Signifikanz
	+/+	-/-	+/-	-/+			
not detected	5/5	17/19	2/19	0/5	91,7%	0,780	<0,001
<i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii complex</i>	0/0	24/24	0/24	0/0	100%	-	-
<i>Enterobacter cloacae complex</i>	0/0	24/24	0/24	0/0	100%	-	-
<i>Escherichia coli</i>	0/0	24/24	0/24	0/0	100%	-	-
<i>H. influenzae</i>	0/0	23/24	1/24	0/0	95,83%	0,000	0,000
<i>Klebsiella aerogenes</i>	0/0	24/24	0/24	0/0	100%	-	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0/0	24/24	0/24	0/0	100%	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae group</i>	0/0	24/24	0/24	0/0	100%	-	-
<i>M. catarrhalis</i>	0/0	24/24	0/24	0/0	100%	-	-
<i>Proteus spp.</i>	0/0	24/24	0/24	0/0	100%	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	10/15	9/9	0/9	5/15	79,17%	0,600	0,002
<i>Serratia marcescens</i>	0/0	24/24	0/24	0/0	100%	-	-
<i>S. aureus</i>	13/14	10/10	0/10	1/14	95,83%	0,915	<0,001
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0/0	23/24	1/24	0/0	95,83%	0,000	0,000
<i>S. pneumoniae</i>	0/0	24/24	0/24	0/0	100%	-	-
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0/0	24/24	0/24	0/0	100%	-	-
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	0/0	24/24	0/24	0/0	100%	-	-

Bakterien	Konkordant		Diskkordant		Konkordanz ^a	Kappa-Wert ^b	Kappa-Test Signifikanz
	+/+	-/-	+/-	-/+			
<i>Legionella pneumophila</i>	0/0	24/24	0/24	0/0	100%	-	-
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0/0	24/24	0/24	0/0	100%	-	-
Gesamtnachweise	28/34	418/422	4/422	6/34	97,81%	0,837	

a Konkordanz errechnet als Quotient aus der Summe der richtigen Übereinstimmungen aus nachgewiesenen und nicht nachgewiesenen Bakterien im Panel und aller Nachweise aus Panel sowie der mikrobiologischen Kultur

b Kappa-Wert als Bewertung für die Aussagekraft der Konkordanz

4.2.3 Panel- und Kulturproben vom gleichen Tag

Bei der Untersuchung der Sputum- und BAL-Proben konnten bei 103 Proben festgestellt werden, dass diese am gleichen Tag vom Biofire® Pneumonia Panel plus untersucht bzw. in der mikrobiologischen Kultur-Diagnostik eingingen. Bei diesen Proben zeigten sich, dass die Konkordanzen für alle Erreger und die Durchschnittsnachweise bei mind. 90% außer bei *S. aureus* und *P. aeruginosa* bei jeweils 89,32% lagen. Die Bewertung der Kappa-Werte mit „gut“ bis „ausgezeichnet“ wurde für die Ergebnisse „not detected“, *Escherichia coli*, *Proteus spp.*, *P. aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *S. aureus* und die Durchschnittsnachweise angegeben (Tabelle 20).

Tabelle 20 Darstellung der Konkordanzen und Kappa-Werte von Sputum und BAL-Proben, bei der die mikrobiologische Kulturprobe am gleichen Tag einging

Bakterien	Konkordant		Diskkordant		Konkordanz ^a	Kappa-Wert ^b	Kappa-Test Signifikanz
	+/+	-/-	+/-	-/+			
not detected	28/38	59/65	6/65	10/38	84,47%	0,659	<0,001
<i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i> complex	0/0	103/103	0/103	0/0	100%	-	-
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	1/3	98/100	2/100	2/3	96,12%	0,313	0,086
<i>Escherichia coli</i>	5/5	97/98	1/98	0/5	99,03%	0,904	<0,001
<i>H. influenzae</i>	5/6	89/97	8/97	1/6	91,26%	0,485	<0,001
<i>Klebsiella aerogenes</i>	0/0	103/103	0/103	0/0	100%	-	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0/0	100/103	3/103	0/0	97,09%	0,000	0,000
<i>Klebsiella pneumoniae</i> group	2/4	97/99	2/99	2/4	96,12%	0,480	0,007
<i>M. catarrhalis</i>	2/2	97/101	4/101	0/2	96,12%	0,485	0,003
<i>Proteus spp.</i>	3/3	100/100	0/100	0/3	100%	1,000	<0,001
<i>P. aeruginosa</i>	25/32	67/71	4/71	7/32	89,32%	0,744	<0,001
<i>Serratia marcescens</i>	2/3	99/100	1/100	1/3	98,06%	0,657	0,002
<i>S. aureus</i>	35/39	57/64	7/64	4/39	89,32%	0,776	<0,001
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0/1	95/102	7/102	1/1	92,23%	-0,017	1,000
<i>S. pneumoniae</i>	2/2	93/101	8/101	0/2	92,23%	0,311	0,009
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1/1	100/102	2/102	0/1	98,06%	0,493	0,029
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	0/0	103/103	0/103	0/0	100%	-	-

Bakterien	Konkordant		Diskkordant		Konkordanz ^a	Kappa-Wert ^b	Kappa-Test Signifikanz
	+/+	-/-	+/-	-/+			
<i>Legionella pneumophila</i>	0/0	102/103	1/103	0/0	99,03%	0,000	0,000
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0/0	101/103	2/103	0/0	98,06%	0,000	0,000
Durchschnittsnachweise	5,84/ 7,31	92,63/ 95,68	3,05/ 95,68	1,47/ 7,31	95,61%	0,697	

a Konkordanzen errechnet als Quotient aus der Summe der richtigen Übereinstimmungen aus nachgewiesenen und nicht nachgewiesenen Bakterien im Panel sowie aller Nachweise aus Panel und der mikrobiologischen Kultur

b Kappa-Wert als Bewertung für die Aussagekraft der Konkordanz

4.2.4 Vergleich der Resistenzen

In der mikrobiologischen Kultur konnten insgesamt 22 Resistenzgene (MRSA, 3MRGN, 4MRGN) nachgewiesen werden. Das Korrelat zu mecA/C and MREJ-Nachweisen ist die Detektion von MRSA, welche in beiden Methoden auch als häufigste Resistenz vorlag (Tabelle 13 und 21).

Tabelle 21 Nachgewiesene Resistenzen von MRSA, 3MRGN und 4MRGN in der mikrobiologischen Kultur

Resistenzen in der mikrobiologischen Kultur		Anzahl	Prozent
Mikrobiologische Resistenzen/Stämme	Erregernachweise ohne MRSA/MRGN Resistenzmuster	111/133	83,5%
	MRSA	10/133	7,5%
	3MRGN	6/133	4,5%
	4MRGN	6/133	4,5%

In dem Biofire Panel wurden mecA/C and MREJ Resistenzgene nachgewiesen, welche als Hinweis für einen MRSA-Erreger dienen. Als Goldstandard konnte der Nachweis von MRSA in der mikrobiologischen Kultur genutzt werden. Die Sensitivität war 100% und die Spezifität 94,7% (KI 90,0-98,3%) (Tabelle 22). Ein direkter Vergleich der Resistenzgene CTX-M und OXA-48-like ist zu den kulturellen Befunden nicht möglich.

Tabelle 22 Darstellung der Sensitivitäten, Spezifitäten, positiven und negativen prädiktiven Werte beim Nachweis von mecA/C and MREJ

Resistenzen	RP (N)	FP (N)	RN (N)	FN (N)	Sens. (95% KI) ^a	Spez. (95% KI) ^b	PPW (95% KI) ^c	NPW (95% KI) ^d	Fischer-Test Signifikanz ^e
mecA/C and MREJ	10	6	107	0	100%	95,0% (90,6- 99,1%)	62,5% (37,5- 87,5%)	100%	<0,001

a Sensitivität errechnet aus den richtig vom Panel nachgewiesenen positiven Ergebnissen und der Summe dieser richtigen positiven Ergebnisse sowie den falsch negativen Ergebnissen

b Spezifität errechnet aus den richtig vom Panel nachgewiesenen negativen Ergebnissen und der Summe dieser richtigen negativen Ergebnisse sowie den falsch positiven Ergebnissen

c positiver prädiktiver Wert errechnet aus den richtig vom Panel nachgewiesenen positiven Ergebnissen und der Summe dieser richtigen positiven Ergebnisse sowie den falsch positiven Ergebnissen

d negativer prädiktiver Wert errechnet aus den richtig vom Panel nachgewiesenen negativen Ergebnissen und der Summe dieser richtigen negativen Ergebnisse sowie den falsch negativen Ergebnissen

e Signifikanz anhand des Fischer-Tests berechnet; bei einem p-Wert von $\leq 0,05$ wurde das Ergebnis als signifikant gewertet

4.3 Untersuchung von Subpopulationen

4.3.1 Ambulante vs. stationäre Patienten

Im Folgenden werden die Erregernachweise von ambulant bzw. stationär betreuten Patienten verglichen. Bei den ambulanten Patienten wurden am häufigsten *S. aureus* und *P. aeruginosa* bei den Bakterien und Human Rhinovirus/Enterovirus bei den Viren im Panel nachgewiesen. Die stationär behandelten Studienteilnehmer hatten die meisten Nachweise bei *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *H. influenzae* und *S. pneumoniae*. Bei den Viren traten vermehrte Nachweise von Human Rhinovirus/Enterovirus und Parainfluenza Virus auf (Tabelle 23).

Tabelle 23 Verteilung der Bakterien- und Virennachweise von Sputum- und BAL-Proben im Panel bei ambulanten und stationären Patienten

Erreger		Anzahl	
		Ambulante Untersuchung	Stationäre Untersuchung
Bakterien	Gesamtnachweise	26	140
	<i>S. aureus</i>	13 (50,0%)	38 (27,1%)
	<i>P. aeruginosa</i>	9 (34,6%)	31 (22,1%)
	<i>Streptococcus agalactiae</i>	2 (7,7%)	7 (5,0%)
	<i>H. influenzae</i>	1 (3,8 %)	14 (10,0%)
	<i>Proteus spp.</i>	1 (3,8%)	2 (1,4%)
	<i>S. pneumoniae</i>	0 (0,0%)	12 (8,6%)
	<i>M. catarrhalis</i>	0 (0,0%)	8 (5,7%)
	<i>Escherichia coli</i>	0 (0,0%)	6 (4,3%)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> group	0 (0,0%)	5 (3,6%)
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	0 (0,0%)	4 (2,9%)
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	0 (0,0%)	4 (2,9%)
	<i>Enterobacter cloacae</i> complex	0 (0,0%)	3 (2,1%)
	<i>Serratia marcescens</i>	0 (0,0%)	3 (2,1%)
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0 (0,0%)	2 (1,4%)
<i>Legionella pneumophila</i>	0 (0,0%)	1 (0,7%)	
Viren	Gesamtnachweise	8	55
	Human Rhinovirus/Enterovirus	6 (75,0%)	23 (46,0%)
	Parainfluenza Virus	1 (12,5%)	10 (20,0%)
	Influenza A	1 (12,5%)	1 (2,0%)
	Coronavirus	0 (0,0%)	5 (10,0%)
	Adenoviren	0 (0,0%)	4 (8,0%)
	Respiratory Syncytial Virus	0 (0,0%)	4 (8,0%)
	Human Metapneumovirus	0 (0,0%)	3 (6,0%)

4.3.2 Mukoviszidose-, PCD- und Kartagener Syndrom-Patienten

In der Tabelle 24 sind die Anzahlen und prozentualen Verteilungen der unterschiedlichen Bakteriennachweise bei Mukoviszidose-Patienten dargestellt. Am häufigsten traten Erregernachweise im Panel bei Mukoviszidose-Erkrankten mit *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *H. influenzae* und *S. pneumoniae* auf. Bei PCD-Patienten konnte ein *H. influenzae*-Erreger und bei Kartagener-Syndrom-Patienten ein *P. aeruginosa*-Erreger nachgewiesen werden.

Tabelle 24 Verteilung der Bakteriennachweise im Panel bei Patienten mit und ohne Ziliendysfunktion

Bakterien	Patienten mit Ziliendysfunktion (N, prozentuale Verteilung)	Patienten ohne Ziliendysfunktion (N, prozentuale Verteilung)
Gesamtanzahl der Bakteriennachweise	67	98
<i>S. aureus</i>	29 (43,3%)	22 (22,4%)
<i>P. aeruginosa</i>	26 (38,8%) ^a	14 (14,3%)
<i>H. influenzae</i>	3 (4,5%) ^b	12 (12,2%)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	3 (4,5%)	6 (6,1%)
<i>Proteus spp.</i>	2 (3,0%)	1 (1,0%)
<i>S. pneumoniae</i>	1 (1,5%)	11 (11,2%)
<i>M. catarrhalis</i>	1 (1,5%)	7 (7,1%)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 (1,5%)	3 (3,1%)
<i>Serratia marcescens</i>	1 (1,5%)	1 (1,0%)
<i>Escherichia coli</i>	0 (0,0%)	6 (6,1%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> group	0 (0,0%)	5 (5,1%)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0 (0,0%)	4 (4,1%)
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	0 (0,0%)	3 (3,1%)
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0 (0,0%)	2 (2,0%)
<i>Legionella pneumophila</i>	0 (0,0%)	1 (1,0%)

a ein Erregernachweis ist von einem Kartagener-Syndrom-Patienten

b ein Erregernachweis ist von einem PCD-Patienten

CF-Erkrankte erhalten im Rahmen ihrer Behandlung z.T. eine Therapie mit CFTR-Modulatoren. Bei 18 Patienten wurde allerdings keine CFTR-Modulator-Behandlung vorgenommen. Die am häufigsten angewendete Therapie war Symkevi/Kalydeco bei 17 Patienten, gefolgt von 10 Patienten, die Lumacaftor/Ivacaftor erhielten. Vereinzelt wurde Trikafta oder Trikafta/Kalydeco verabreicht.

4.3.2.1 Gleiche Untersuchungsproben bei Mukoviszidose-Patienten

Die Konkordanzen der gleichen Untersuchungsproben lagen bei den Bakteriennachweisen bei CF-Erkrankten bei mindestens 90% außer bei *P. aeruginosa* (76,19%). Die Bewertung des Kappa-Wertes mit „gut“ bis „sehr gut“ ist bei den Negativnachweisen, *S. aureus* und der durchschnittlichen Betrachtung aller Ergebnisse zu finden (Tabelle 25).

Tabelle 25 Darstellung der Konkordanzen und Kappa-Werte von gleichen Sputum- und BAL-Proben bei Mukoviszidose-Patienten

Bakterien	Konkordant		Diskkordant		Konkordanz ^a	Kappa-Wert ^b	Kappa-Test Signifikanz
	+/+	-/-	+/-	-/+			
not detected	4/4	15/17	2/17	0/4	90,48%	0,741	0,003
<i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i> complex	0/0	21/21	0/21	0/0	100%	-	-
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	0/0	21/21	0/21	0/0	100%	-	-
<i>Escherichia coli</i>	0/0	21/21	0/21	0/0	100%	-	-
<i>H. influenzae</i>	0/0	20/21	1/21	0/0	95,24%	0,000	0,000
<i>Klebsiella aerogenes</i>	0/0	21/21	0/21	0/0	100%	-	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0/0	21/21	0/21	0/0	100%	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> group	0/0	21/21	0/21	0/0	100%	-	-
<i>M. catarrhalis</i>	0/0	21/21	0/21	0/0	100%	-	-
<i>Proteus spp.</i>	0/0	21/21	0/21	0/0	100%	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	9/14	7/7	0/7	5/14	76,19%	0,545	0,016
<i>Serratia marcescens</i>	0/0	21/21	0/21	0/0	100%	-	-
<i>S. aureus</i>	12/13	8/8	0/8	1/13	95,24%	0,901	<0,001
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0/0	20/21	1/21	0/0	95,24%	0,000	0,000
<i>S. pneumoniae</i>	0/0	21/21	0/21	0/0	100%	-	-

Bakterien	Konkordant		Diskkordant		Konkordanz ^a	Kappa-Wert ^b	Kappa-Test Signifikanz
	+/+	-/-	+/-	-/+			
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0/0	21/21	0/21	0/0	100%	-	-
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	0/0	21/21	0/21	0/0	100%	-	-
<i>Legionella pneumophila</i>	0/0	21/21	0/21	0/0	100%	-	-
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0/0	21/21	0/21	0/0	100%	-	-
Durchschnittsnachweise	1,32/ 1,63	19,16/ 19,37	0,21/ 19,37	0,32/ 1,63	97,52%	0,841	

a Konkordanzen errechnet als Quotient aus der Summe der richtigen Übereinstimmungen aus nachgewiesenen und nicht nachgewiesenen Bakterien im Panel und aller Nachweise aus Panel sowie der mikrobiologischen Kultur

b Kappa-Wert als Bewertung für die Aussagekraft der Konkordanz

4.3.2.2 Mukoviszidose-Patienten mit einer CFTR-Genetik

Patienten mit Mukoviszidose weisen unterschiedliche Arten einer CFTR-Genetik auf. Am häufigsten konnten 32 Delta F508 homozygote Genveränderungen nachgewiesen werden. Die weiteren 14 Veränderungen traten nur vereinzelt bei den CF-Erkrankten auf (Delta F508/W1282X, p.A83Vfs-Mutation homozygot, N1303 K homozygot, Delta F508/3849 + 10kb C>T, Delta F508/R1066C, Delta F508/CFTR dele 2,3, Delta S5 108 homozygot, R347P homozygot, Delta F508/1677 Delta Compound Heterozygotie, Delta F508/Q220X, Delta F508/G542X und W1282X/N1303K). Bei einem Mukoviszidose-Patienten konnte keine Genveränderung aufgezeigt werden.

Bei den Mukoviszidose-Patienten mit einer Delta F508 homozygoten Genveränderung lagen die signifikanten Sensitivitäten von *P. aeruginosa* bei 75,0% (KI 56,7-90,5%) und von *S. aureus* bei 95,2% (KI 84,0-100%). Die signifikanten Ergebnisse für „not detected“, *H. influenzae*, *Proteus spp.* und *Streptococcus pyogenes* waren zu 100% sensitiv. Delta F508 homozygote-Träger zeigten bei allen Erregern und Durchschnittsnachweisen eine Spezifität von mind. 95% außer bei den Negativnachweisen 92,9% (KI 79,7-100%) und *P. aeruginosa* 87,5% (KI 57,1-100%) (Tabelle 26).

Tabelle 26 Darstellung der Sensitivitäten, Spezifitäten, positiven sowie negativen prädiktiven Werte von Sputum- und BAL-Proben von Mukoviszidose-Patienten mit Delta F508 homozygoter-Genetik

Bakterien	RP (N)	FP (N)	RN (N)	FN (N)	Sens. (95% KI) ^a	Spez. (95% KI) ^b	PPW (95% KI) ^c	NPW (95% KI) ^d	Fischer-Test Signifikanz ^e
not detected	4	2	26	0	100%	92,9% (79,7-100%)	66,7%	100%	<0,001
<i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i> complex	0	0	32	0	-	100%	-	100%	-
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	0	0	32	0	-	100%	-	100%	-
<i>Escherichia coli</i>	0	0	32	0	-	100%	-	100%	-
<i>H. influenzae</i>	1	0	31	0	100%	100%	100%	100%	0,031
<i>Klebsiella aerogenes</i>	0	0	32	0	-	100%	-	100%	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	0	32	0	-	100%	-	100%	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> group	0	0	31	1	-	100%	-	96,9% (88,2-100%)	-
<i>M. catarrhalis</i>	0	1	31	0	-	96,9% (90,0-100%)	-	100%	-
<i>Proteus spp.</i>	2	0	30	0	100%	100%	100%	100%	0,002
<i>P. aeruginosa</i>	18	1	7	6	75,0% (56,7-90,5%)	87,5% (57,1-100%)	94,7% (81,3-100%)	53,8% (25,7-80,0%)	0,003
<i>Serratia marcescens</i>	0	0	32	0	-	100%	-	100%	-
<i>S. aureus</i>	20	0	11	1	95,2% (84,0-100%)	100%	100%	91,7% (70,0-100%)	<0,001

Bakterien	RP (N)	FP (N)	RN (N)	FN (N)	Sens. (95% KI) ^a	Spez. (95% KI) ^b	PPW (95% KI) ^c	NPW (95% KI) ^d	Fischer- Test Signifi- kanz ^e
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0	1	31	0	-	96,9% (89,0- 100%)	-	100%	-
<i>S. pneumoniae</i>	0	1	31	0	-	96,9% (89,0- 100%)	-	100%	-
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1	0	31	0	100%	100%	100%	100%	0,031
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	0	0	32	0	-	100%	-	100%	-
<i>Legionella pneumophila</i>	0	0	32	0	-	100%	-	100%	-
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0	0	32	0	-	100%	-	100%	-
Durchschnitts- nachweise	2,42	0,32	28,84	0,42	85,2% (31,3- 98,7%)	98,9% (86,5- 99,9%)	88,3%	98,6%	

a Sensitivität errechnet aus den richtig vom Panel nachgewiesenen positiven Ergebnissen und der Summe dieser richtigen positiven Ergebnisse sowie den falsch negativen Ergebnissen

b Spezifität errechnet aus den richtig vom Panel nachgewiesenen negativen Ergebnissen und der Summe dieser richtigen negativen Ergebnisse sowie den falsch positiven Ergebnissen

c positiver prädiktiver Wert errechnet aus den richtig vom Panel nachgewiesenen positiven Ergebnissen und der Summe dieser richtigen positiven Ergebnisse sowie den falsch positiven Ergebnissen

d negativer prädiktiver Wert errechnet aus den richtig vom Panel nachgewiesenen negativen Ergebnissen und der Summe dieser richtigen negativen Ergebnisse sowie den falsch negativen Ergebnissen

e Signifikanz anhand des Fischer-Tests berechnet; bei einem p-Wert von $\leq 0,05$ wurde das Ergebnis als signifikant gewertet

4.3.3 Befunde bei Patienten mit Atemhilfe

117 Patienten wurden als pulmonal beeinträchtigt bewertet, wenn sie aufgrund ihrer pulmonalen Grunderkrankung bzw. einer zurückliegenden pulmonalen Infektion eine Verlaufsuntersuchung erhielten oder wegen einer pulmonalen Erkrankung aufgenommen/behandelt wurden. Ein Aufenthalt in der Intensivstation war für 56 Patienten, die eine Biofire® Pneumonia Panel plus-Diagnostik erhielten, für

mindestens einen Tag und maximal 242 Tage indiziert. Die Ursache für die Aufnahme auf die Intensivstation war wegen einer pulmonalen Beeinträchtigung bzw. einer Kombination verschiedener Erkrankungen mit mindestens einer pulmonal beeinträchtigten Erkrankung. 25 Patienten wurden oder waren bei Aufnahme intubiert und 14 hatten ein Tracheostoma. Die mediane Intubationsdauer betrug 8,0 Tage bis maximal 45 Tage.

Die Tabelle 27 zeigt die Verteilung der Erregernachweise im Biofire® Pneumonia Panel plus bei intubierten/tracheotomierten und ambulanten/milden Verläufen. In beiden Kategorien kommen auch Mukoviszidose-/ PCD-/ Kartagener Syndrom-Patienten vor. Bei intubierten/tracheotomierten Patienten sind am häufigsten *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* group und *S. pneumoniae* zu finden. Das häufige Auftreten von *S. aureus* und *P. aeruginosa* zeigte sich ebenfalls bei den ambulant behandelten / milden Verläufen. So sind vermehrt Nachweise von *H. influenzae* und *Streptococcus agalactiae* aufgetreten. In dieser Kategorie konnten bei Patienten die atypischen Bakterien *Legionella pneumophila* und *Mycoplasma pneumoniae* nachgewiesen werden (Tabelle 27).

Tabelle 27 Bakteriennachweise im Panel bei intubierten/tracheotomierten Patienten vs. Patienten mit ambulatem/milden Verlauf

Bakterien	Intubiert/Tracheostomiert (N / %)	Ambulanter/milder stationärer Verlauf (N / %)
Gesamtzahl // pulmonal beeinträchtigte Patienten	59 / 31,9% // 39 / 33,3%	126 / 68,1% // 78 / 66,67%
not detected	15 / 37,5%	25 / 62,5%
<i>S. aureus</i>	10 / 20,8%	38 / 79,2%
<i>P. aeruginosa</i>	9 / 23,7%	29 / 76,3%
<i>Escherichia coli</i>	5 / 83,3%	1 / 16,7%
<i>S. pneumoniae</i>	4 / 50,0%	4 / 50,0%
<i>Klebsiella pneumoniae</i> group	4 / 80,0%	1 / 20,0%
<i>H. influenzae</i>	2 / 22,2%	7 / 77,8%
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2 / 25,0%	6 / 75,0%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2 / 50,0%	2 / 50,0%
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2 / 50,0%	2 / 50,0%
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	2 / 66,7%	1 / 33,3%
<i>M. catarrhalis</i>	1 / 20,0%	4 / 80,0%
<i>Serratia marcescens</i>	1 / 50,0%	1 / 50,0%
<i>Proteus spp.</i>	0 / 0,0%	2 / 100%

Bakterien	Intubiert/Tracheostomiert (N / %)	Ambulanter/milder stationärer Verlauf (N / %)
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0 / 0,0%	2 / 100%
<i>Legionella pneumophila</i>	0 / 0,0%	1 / 100%
<i>Acinetobacter calcoaceticus- baumannii complex</i>	0 / 0,0%	0 / 0,0%
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	0 / 0,0%	0 / 0,0%

4.4 Positivnachweise, die durch Biofire® Pneumoniae Panel plus zusätzlich detektiert wurden

Bei der Gegenüberstellung aller Nachweise von dem Biofire® Pneumonia Panel plus mit der mikrobiologischen Kultur wurden durch das Panel 48 Erreger mehr detektiert als beim Kulturergebnis. Die häufigsten Erreger, die zusätzlich nachgewiesen wurden, waren *S. pneumoniae*, *H. influenzae* und *Streptococcus agalactiae*. *S. aureus* wurde 7-mal häufiger nachgewiesen. Bei den Resistenzen konnte nur das mecA/C and MREJ-Gen mit der MRSA gegenübergestellt werden. Dabei kam es zu 6 zusätzlichen Erregernachweisen durch das Pneumonia Panel (Tabelle 28).

Tabelle 28 Zusätzliche Detektionen des Panels im Vergleich zur mikrobiologischen Kultur

	Anzahl / prozentuale Verteilung
Bakterien	
Gesamt	48
<i>S. pneumoniae</i>	9 / 18,8%
<i>H. influenzae</i>	8 / 16,7%
<i>Streptococcus agalactiae</i>	8 / 16,7%
<i>S. aureus</i>	7 / 14,6%
<i>M. catarrhalis</i>	5 / 10,4%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	4 / 8,3%
<i>Streptococcus pyogenes</i>	3 / 6,3%
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	2 / 4,2%
<i>Escherichia coli</i>	1 / 2,1%
<i>Legionella pneumophila</i>	1 / 2,1%
Resistenzen	
mecA/C and MREJ / MRSA	6

5. Diskussion

Die sich seit April 2019 in der Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsmedizin der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz in Verwendung befindenden Biofire® Pneumonia Panels plus wurden zur Untersuchung von Sputum- und BAL-Proben angeschafft. Bis zum heutigen Stand gab es nur wenige Studien über das Panel, welches sowohl Bakterien mit Resistenzgenen und Erregermengen als auch Viren detektieren kann.

In den folgenden Abschnitten werden die Ergebnisse der bakteriellen Nachweise in den entsprechenden Kollektiven beurteilt. Zu den fehlenden/nur geringen Erregernachweisen (≤ 5 Nachweise) einiger Bakterien konnten keine klinisch bedeutsamen Aussagen getätigt werden. Die Erregernachweismöglichkeiten beziehen sich auf das Keimspektrum in Amerika (nicht auf Deutschland speziell mukoviszidose-typische Erreger), da das Panel dort entwickelt wurde.

Basierend auf der umfassenden Analyse aller Ergebnisse wurde unter signifikanten Bedingungen festgestellt, dass „gesunde“ Patienten mit äußerst hoher Sicherheit keine Erreger nachwiesen (96,9%) und Patienten mit negativem Testergebnis nicht infiziert waren (98,5%).

Ähnliche Ergebnisse wurden auch in der Studie von Mitton, Rule und Said erbracht. Hierbei betrug die Gesamtspezifität 93,8% und der negative Vorhersagewert 99,5%. Dies deutet darauf hin, dass bei einem Verdacht auf das Vorhandensein eines bestimmten Erregers dieser bei einem negativen Testergebnis sicher ausgeschlossen werden konnte (153). Ebenfalls stimmte der Vergleich aller bakteriellen Nachweise/Nicht-Nachweise vom Biofire® Pneumonia Panel plus mit dem der mikrobiologischen Kultur zu 95,75% und somit sehr gut überein. Die Sensitivitäten bei den Erregernachweisen von mehr als 5 Nachweisen betrugen zwischen 81,4% und 100%. Die Spezifitäten lagen bei 86,0 – 99,2%. In einer schwedischen Studie wurde die Sensitivität aller Proben mit 86,0% angegeben (152). Die Gesamtspezifität aus einer koreanischen Studie unterliegt der Spezifität dieser Studie leicht mit 76,5%. Allerdings wurde hier eine ebenbürtige Sensitivität mit 98,5% erreicht (155). In Zusammenschau der Ergebnisse von Vergleichsstudien wird das Ergebnis dieser Studie unterstützt.

Gestärkt wird dieses Ergebnis durch die Analyse der „Multicenter Evaluation of the BioFire FilmArray Pneumonia/Pneumonia Plus Panel for Detection and Quantification of Agents of Lower Respiratory Tract Infection“. In dieser Studie wurden Sensitivitäten von 75 – 100% und Spezifitäten von 88,9 – 99,5% erreicht (150). Hinsichtlich dieser

Betrachtung war das Panel der mikrobiologischen Kultur bei den summierten Bakteriennachweisen nahezu ebenbürtig, um bakterielle Erreger nachzuweisen oder eine Besiedlung auszuschließen.

Die Ergebnisse bei *Escherichia coli*, *M. catarrhalis*, *S. pneumoniae* und *Streptococcus pyogenes* verdeutlichten im gesamten Patientenkollektiv, dass bei Verdacht auf eine Infektion mit diesen Erregern eine Panel-Untersuchung bei tatsächlicher Besiedlung einen positiven Nachweis erbrachte. Derart ermutigende Ergebnisse wurden nicht bei allen Verdachtsfällen auf Infektionen beobachtet. Dies lag u. a. an den fehlenden oder zu geringen Besiedlungen (≤ 5 Nachweise) der verschiedenen Erreger, wodurch die Bewertung von *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii complex*, *Enterobacter cloacae complex*, *Klebsiella aerogenes*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae* group, *Serratia marcescens*, *Streptococcus pyogenes*, *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella pneumophila* und *Mycoplasma pneumoniae* nicht möglich war. Unter anderem wurden aus der Studie vom Juni 2020 ebenfalls Proben aufgrund unzureichender Nachweiszahlen ausgeschlossen (150). Bei *Proteus spp.* konnten durch das Panel nur 3 Besiedlungen nachgewiesen werden. Diese stimmten jedoch alle mit den mikrobiologischen Kulturen überein.

Durch die hohen Zahlen an fehlenden Nachweisen von Besiedlungen sowohl im Panel als auch in der mikrobiologischen Kultur konnte gezeigt werden, dass Patienten mit einem negativen Testergebnis sehr sicher mit keinem der detektierten Bakterien besiedelt waren. Zu diesem Ergebnis kam auch die Studie von Murphy, Fowler, Balada-Llasat, Carroll, Stone und Akerele im Juni 2020 bei denen nur 16 falsch negative Proben von 1682 erkannt wurden (150). Wird allerdings ein Test als positiv angezeigt, so galt eine Besiedlung als relativ gesichert (mind. 75%) nur bei *Escherichia coli*, *P. aeruginosa* und *S. aureus*.

Es konnte eine zuverlässige Übereinstimmung von Bakteriennachweisen bzw. den Ergebnissen „not detected“ vom Panel gegenüber der mikrobiologischen Kultur aufgezeigt werden. Basierend auf den Daten erwies sich das Panel als gut geeignet für die schnelle und allgemeine bakterielle Sputum-/BAL-Diagnostik, die die repräsentativen Bakterien umfasst.

Bei 24 Proben wurde das exakt gleiche Untersuchungsmaterial durch das Biofire® Pneumonia Panel plus und die mikrobiologische Kultur untersucht. Da nur eine geringe Anzahl an Bakterienstämmen nachgewiesen werden konnte, kann lediglich die Aussage getroffen werden, dass das Panel bakterielle Erreger der Sputum-/BAL-Proben sicher ausschließen konnte. Die gehäuften Nachweise von *S. aureus* zeigten,

dass man mit dem Untersuchungsverfahren ausreichend sicher einen Bakteriennachweis vorweisen konnte. Die *P. aeruginosa* Nachweise stimmten mit der Vergleichsmikrobiologie nur zu ca. 80% überein. So konnte bei pädiatrischen Patienten gezeigt werden, dass eine PCR-Diagnostik bis zu einem Jahr vor dem Kulturnachweis von *P. aeruginosa* positiv sein kann (94, 183).

Des Weiteren zeigte sich beim Vergleich von Panel- und Mikrobiologie-Proben, welche vom gleichen Tag stammten, dass die nachgewiesenen Bakterien bzw. der Ausschluss einer Besiedlung sicher erfolgen kann. Da die Proben am gleichen Tag gewonnen wurden, konnte gezeigt werden, dass eine Veränderung der Keimbesiedlung durch z.B. eine antibiotische Therapie oder körpereigene Immunreaktionen und ein eventuell damit verbundener fehlerhafter Nachweis oder Ausschluss der Besiedlung nahezu ausgeschlossen wird. Durch die dauerhaft niedrigen Nachweiszahlen einiger Bakterien konnte nur bei „not detected“, *Escherichia coli*, *Proteus spp.* (nur 3 Nachweise), *P. aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *S. aureus* und die Durchschnittsnachweise ein guter Übereinstimmungswert erzielt werden.

Bei den Resistenzgenen war nur die Gegenüberstellung des *mecA/C* and *MREJ*-Nachweisen im Panel zu den MRSA-Nachweisen in der mikrobiologischen Kultur möglich. Es konnte gezeigt werden, dass alle MRSA-Erkrankten im Panel nachgewiesen werden konnten. So erhielten fast alle MRSA-gesunden Patienten auch ein negatives Testergebnis. Bei allen positiven Testergebnissen lag eine tatsächliche MRSA-Besiedlung nur bei ca. 3 von 5 Personen vor. Mit 100%iger Sicherheit hatten die Patienten mit einem negativen Testergebnis auch keine MRSA-Infektion. Die Tabelle 22 zeigt, dass das Panel sowohl zur zuverlässigen Identifizierung aller MRSA-Infektionen als auch zum Ausschluss einer MRSA-Infektion geeignet war. Ein positiver MRSA-Nachweis deutete trotz mittelmäßiger Ergebnisse nicht zwangsläufig darauf hin, dass die Patienten tatsächlich erkrankt waren.

Eine Vergleichsstudie von Murphy, Fowler, Balada-Llasat, Carroll, Stone und Akerele befasste sich ebenfalls mit den Resistenzen von *S. aureus*. Bei dieser war der positive prädiktive Wert bei etwas höher mit ca. 89 – 96%. Allerdings lag der negative prädiktive Wert nur bei 87 – 91% (150).

In der Uniklinik Mainz befindet sich ein Mukoviszidose-Zentrum, weshalb es möglich war, Proben von 59 Mukoviszidose-Patienten zu untersuchen. In der Tabelle 24 ist die Häufigkeit des Auftretens der Patienten mit und ohne Ziliendysfunktion dargestellt. Die Erregernachweise ähnelten sich hinsichtlich der Häufigkeitsverteilung in beiden Gruppen. Dies zeigte, dass das Panel trotz der zähen Beschaffenheit des

Sputummaterials von Patienten mit Ziliendysfunktion die Untersuchungen mit einer hohen Zuverlässigkeit im Vergleich zur restlichen Population durchführen konnte. Mukoviszidose-Erkrankte sind prädestiniert für eine Kolonisation von *P. aeruginosa* (80%), *S. aureus*, *B. cepacia*, Nicht-tuberkulöse Mykobakterien (*Mycobacterium avium complex*, *Mycobacterium abscessus complex*) (9, 78). Das Panel ermöglichte es, vermehrt *P. aeruginosa* und *S. aureus* nachzuweisen (Tabelle 24). Die Übereinstimmung der Erregernachweise bzw. Ausschlüsse von *S. aureus* war vom Panel im Vergleich zur mikrobiologischen Kultur mit über 95% sehr gut. Bei den *P. aeruginosa*-Nachweise wurden nur ca. 3 von 4 Patienten als korrekt infiziert erkannt bzw. eine Erregerbesiedlung ausgeschlossen. Aufgrund unzureichender Nachweise konnten über die Weiteren vom Panel möglichen Erreger keine Aussagen getroffen werden.

Ein ähnliches Ergebnis zeigte sich auch bei den Mukoviszidose-Patienten mit einer Delta F508 homozygoten Genveränderung. Sollte das Panel einen positiven *S. aureus*-Nachweis anzeigen, so war der Patient tatsächlich mit *S. aureus* infiziert. Mit hoher Sicherheit konnte ein *S. aureus*-Infizierter erkannt werden sowie auch bei einem negativen Test eine Infektion ausgeschlossen werden. Bei den *P. aeruginosa*-Ergebnissen schnitt das Panel etwas schlechter ab. Bei einem positiven Testergebnis war die Wahrscheinlichkeit einer tatsächlichen Infektion hoch, während Nicht-Infizierte korrekt als negativ identifiziert wurden. Bei 3 von 4 Patienten wurden Infizierte auch als positiv angezeigt. Das schlechteste Ergebnis ist bei den negativen Tests aufgetreten, bei denen die Patienten tatsächlich nicht infiziert waren. Bei jedem zweiten Patienten, der negativ getestet wurde, lag dennoch eine *Pseudomonas aeruginosa*-Besiedlung vor. Die Übereinstimmung ist im Vergleich zu allen Mukoviszidose-Patienten bei *S. aureus* sowie bei *P. aeruginosa* sehr ähnlich im Ergebnis ausgefallen. Abschließend ließ sich feststellen, dass die Delta F508 homozygote-Genveränderung keinen Einfluss auf die Auswertung der Panelprobe zeigte.

Die Suche nach einem Virusinfekt wird in der Klinik häufig nicht durchgeführt, und wenn, dann nur für ein bestimmtes Virus. Fällt der Test für dieses bestimmte Virus positiv aus, weiß man immer noch nicht, ob dieses Virus oder ein anderes nicht detektiertes Virus für die Symptomatik in Frage kommt. Das FilmArray® Pneumonia Panel plus ist in der Lage, bis zu 9 Virenstämme nachzuweisen. Durch die sehr häufig fehlenden Nachweise der Mikrobiologie konnte kein Vergleich zum Panel durchgeführt werden. Allerdings bestand unter Umständen eine klinische Relevanz für die Detektion

und mögliche Behandlung dieser Erreger. Eine Infektion konnte somit einem viralen Ursprung zugeordnet werden, falls im Vorfeld von einer bakteriellen Ursache ausgegangen wurde.

6. Limitierende Aspekte

Bei der Gesamtbetrachtung des Patientenkollektivs und der Ergebnisse des Biofire® Pneumonia Panel plus ergaben sich verschiedene Einschränkungen bei der allgemeinen Anwendung des Panel-Verfahrens.

In der Pädiatrie war die Anzahl an Patienten mit Lungenerkrankungen begrenzt. Zudem setzte sich das Kollektiv der adulten (älter als das abgeschlossene 18. Lebensjahr) Untersuchungsproben fast ausschließlich aus Mukoviszidose-Patienten zusammen. Daher wäre eine größere Kohorte mit mehr pädiatrischen als auch mit mehr adulten pulmonal Erkrankten zur Stabilisierung der bereits vorhandenen Ergebnisse von Vorteil.

Als Folge resultierte daraus eine zu geringe Anzahl an Erregernachweisen. Wie in der Tabelle 15 dargestellt, konnten *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii complex*, *Klebsiella aerogenes* und *Chlamydia pneumoniae* bei der Gegenüberstellung des Biofire® Pneumonia Panel plus mit der mikrobiologischen Kultur nicht nachgewiesen werden. Des Weiteren kam es auch nur zu keinen bis wenigen (≤ 5) Ergebnissen im Panel bei *Enterobacter cloacae complex*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus spp.*, *Serratia marcescens*, *Streptococcus pyogenes*, *Legionella pneumophila* und *Mycoplasma pneumoniae* (Tabelle 12).

Das Panel hatte eine vorgegebene Anzahl an möglichen Nachweisen von 15 verschiedenen Bakterien, 3 atypischen Bakterien und 7 Resistenzgenen. Die mikrobiologische kulturelle Untersuchung bot den Vorteil, dass bei der Anzucht der Bakterien alle Stämme potenziell wachsen konnten. Somit waren auch mehr Bakterien nachweisbar, welche nicht vom Panel erfasst werden können.

Wenn trotz eines negativen Ergebnisses ein Atemwegsinfekt vorlag, konnte dies durch eine zu geringe Konzentration des Krankheitserregers in der Probe begründet werden. Die bakteriellen Analyte hatten eine Nachweisgrenze von 10^4 Kopien/ml. Bei einer Erregerlast von $<10^{3,5}$ Kopien/ml konnte das Biofire® Pneumonia Panel plus die Erreger nicht konstant erfassen. Im bestehenden Verdacht auf eine Atemwegsinfektion sollte trotz eines negativen Ergebnisses eine weitere labortechnische Diagnostik erwogen werden (146).

Die Gewinnung von Sputum-Proben bei pädiatrischen Patienten war nicht immer in ausreichend guter Qualität möglich. Kinder haben zum Teil noch nicht die Fähigkeit Sputum-Proben abzugeben oder können wie auch andere Patienten inkompliant sein. Sollten sie eine Probe bei ihrer (Routine-) Untersuchung einreichen müssen, gaben sie möglicherweise mehr Speichel als Sputum ab. Dies war an der höheren Anzahl an

Plattenepithelzellen und der geringeren Anzahl an Granulozyten in der mikrobiologischen Kultur ersichtlich. Durch das Panel ist eine Angabe dieser beiden Werte als Qualitätsmerkmal des Sputums nicht möglich gewesen.

Am Untersuchungstag vom Biofire® Pneumonia Panel plus konnte auf Grundlage des Ergebnisses bereits eine kalkulierte oder sogar zielgerichtete antibiotische Therapie initiiert worden sein. Sollte die herkömmliche kulturelle Untersuchung zu einem deutlich späteren Zeitpunkt bzw. sogar Tage später stattfinden, so könnte das Resultat der Mikrobiologie beeinflusst worden sein.

Das Panel bot die Möglichkeit, 9 Virenstämme zu erfassen. Da eine Untersuchung einer viralen Infektion bei der herkömmlichen Mikrobiologie kaum bis nicht erfolgte, bestanden keine Vergleichsdaten für die Panelergebnisse. Im mikrobiologischen Kulturergebnis konnten Pilzbesiedlungen nachgewiesen werden. Diese wurden vom Panel nicht erfasst.

7. Zusammenfassung

In der Diagnose und Therapie von pulmonalen Infektionserkrankungen ist bekannt, dass ein früher Nachweis der entsprechenden Erreger ein besseres klinisches Ergebnis für die Patienten zur Folge hat. Die mikrobiologische Diagnostik dient dem verlässlichen Nachweis von Bakterien. Allerdings benötigt die Anzucht der Erregerkulturen meist mehrere Tage. Ein Zwischenergebnis kann zwar oft ermittelt werden, allerdings benötigte dies auch mindestens einen Tag und ist auch nicht bei allen Bakterienstämmen möglich. Das Biofire® Pneumonia Panel plus bietet die Möglichkeit, bestimmte Bakterien mit Erregermenge, atypische Bakterien, Resistenzen sowie Viren zu detektieren. Nach einer Stunde wird durch das PCR-Verfahren bereits ein Ergebnis geliefert. Besonders bei schweren pulmonalen Infektionen kann so eine schnelle und zielgerichtete Therapie erfolgen und ein besseres Outcome erzielt werden.

Hinsichtlich des in dieser Arbeit analysierten Patientenkollektivs zeigte das Biofire® Pneumonia Panel plus in den untersuchten Punkten zuverlässige Nachweise für *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *H. influenzae*, *Escherichia coli* und *Proteus spp.*. Dies bedeutete, dass u. a. eine Mukoviszidose-Erkrankung bzw. eine entsprechende Genmutation keinen negativen Einfluss auf die Bakteriennachweise des Panels hatte. Zudem sollte eine frühzeitige antibiotische Eradikation bei nachgewiesenen *P. aeruginosa* erfolgen. Das Panel konnte somit durch die zügige Diagnostik das Infektionsgeschehen positiv für den Patienten beeinflussen (94).

Die nur geringe Anzahl an bestätigten Bakteriennachweisen lag an dem selektiven Erregerspektrum bei Mukoviszidose-Patienten, welche zum großen Teil die Bakteriennachweise in der vorliegenden Studie erbrachten.

Das Panel ermöglicht im Bereich der Resistenzgenachweise nur eine Zuordnung zwischen dem *mecA/C* and *MREJ*-Gen und MRSA. Es wurde aufgezeigt, dass die Nachweise des *mecA/C* and *MREJ*-Gens verlässlich waren. So wurde durch die Panel-Diagnostik die antibiotische Therapie schon nach einer Stunde auf die möglichen MRSA-Resistenzen der Bakterien angepasst.

Das Panel wies auch verschiedene Viren nach, welche durch die fehlende Vergleichsdiagnostik nicht weiter untersucht werden konnte. Allerdings wurde bei mind. 2 von 5 Erwachsenen mit einer Mukoviszidose-Erkrankung eine pulmonale Exazerbation durch eine Infektion oder Koinfektion mit Viren festgestellt (184).

In weiteren Studien, die sich mit dem Biofire® Pneumonia plus Panel befassten, untersuchte man die Bakterienstämme sowie Resistenzen, welche nur in geringen

Mengen nachgewiesen wurden. Des Weiteren empfiehlt es sich, ein Vergleichsverfahren für Virenarten zu nutzen, mit dem die Qualität des Panels hinsichtlich der möglichen Virus-Nachweise untersucht werden kann. Durch die zügige Detektion der Erreger konnte mit einer gezielten antibiotischen Therapie begonnen werden. Hier besteht die Möglichkeit zu untersuchen, ob sich die frühzeitige Behandlung positiv auf die Verweildauer und das Outcome der Patienten auswirkte. Das Biofire® Pneumonia Panel plus sollte als Schnelldiagnostikverfahren zur Früherkennung von Infektionen in Deutschland weitverbreitet integriert werden sowie in die jeweiligen SOP's, die sich mit dem V. a pulmonale Infektionen befassen, eingepflegt werden. Dadurch könnte eine frühzeitige, gezielte Antibiotikatherapie eingeleitet werden. Die mikrobiologische Kulturdiagnostik sollte allerdings weiterhin erfolgen, da nicht alle Bakterien und Resistenzen vom Panel erfasst werden (auch nicht die typischen Erreger von Mukoviszidose-Patienten) bzw. bei einigen Bakterien aufgrund fehlender Nachweise keine Aussage getroffen werden kann.

Literaturverzeichnis

1. Ramirez JA. Overview of community-acquired pneumonia in adults [Internet] uptodate.com. Last updated: Apr 15, 2022. zitiert am: 03.10.2022. URL: https://www.uptodate.com/contents/overview-of-community-acquired-pneumonia-in-adults?search=pneumonie%20sterbef%C3%A4lle&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=12022.
2. Ramirez JA, Wiemken TL, Peyrani P, et al. Adults Hospitalized With Pneumonia in the United States: Incidence, Epidemiology, and Mortality: Clin Infect Dis; 2017; 65:1806.
3. Violi F, Cangemi R, Falcone M, et al. Cardiovascular Complications and Short-term Mortality Risk in Community-Acquired Pneumonia: Clin Infect Dis; 2017; 64:1486.
4. Fine MJ, Smith MA, Carson CA, et al. Prognosis and outcomes of patients with community-acquired pneumonia. A meta-analysis: JAMA; 1996; 275:134.
5. Lepper PM, Ott S, Nüesch E, et al. Serum glucose levels for predicting death in patients admitted to hospital for community acquired pneumonia: prospective cohort study: BMJ; 2012; 344:e3397.
6. Peyrani P, Ramirez JA. One-year mortality in patients with community-acquired pneumonia: Univ Louisville J Respir Infect; 2017; 1.
7. Eurich DT, Marrie TJ, Minhas-Sandhu JK, Majumdar SR. Ten-Year Mortality after Community-acquired Pneumonia. A Prospective Cohort: Am J Respir Crit Care Med; 2015; 192:597.
8. Mortensen EM, Kapoor WN, Chang CC, Fine MJ. Assessment of mortality after long-term follow-up of patients with community-acquired pneumonia: Clin Infect Dis; 2003; 37:1617.
9. Simon RH. Cystic fibrosis: Antibiotic therapy for chronic pulmonary infection [Internet] uptodate.com. Last updated: Mar 25, 2021. zitiert am: 11.06.2021. URL: https://www.uptodate.com/contents/cystic-fibrosis-antibiotic-therapy-for-chronic-pulmonary-infection?search=mukoviszidose%20m.%20abcessus&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1#H1313835068.
10. Cystic Fibrosis Foundation. 2019 Patient Registry: Annual Data Report. 2020. Available at: <https://www.cff.org/Research/Researcher-Resources/Patient-Registry/2019-Patient-Registry-Annual-Data-Report.pdf> (Accessed on July 19, 2021).
11. Zemanick ET, Hoffman LR. Cystic Fibrosis: Microbiology and Host Response: Pediatr Clin North Am; 2016; 63:617.
12. Ramirez JA. Overview of community-acquired pneumonia in adults [Internet] uptodate.com. Last updated: Dec 28, 2020. zitiert am: 21.05.2021. URL: https://www.uptodate.com/contents/overview-of-community-acquired-pneumonia-in-adults?search=cap%20ohne%20komorbidit%C3%A4ten&source=search_result&selectedTitle=2~150&usage_type=default&display_rank=2#H3389522833.
13. Cillóniz C, Ewig S, Polverino E et al. Microbial aetiology of community-acquired pneumonia and its relation to severity: Thorax; 2011; 66:340.
14. Marrie TJ, Poulin-Costello M, Beecroft MD, Herman-Bnjidic Z. Etiology of community-acquired pneumonia treated in an ambulatory setting: Resp Medicine; 2005; 99:60.
15. Restrepo MI, Mortensen EM, Velez JA et al. A comparative study of community-acquired pneumonia patients admitted to the ward and the ICU: Chest; 2008; 133:610.
16. Edwards MS, Halasa N. Parainfluenza viruses in children [Internet] uptodate.com. Last updated: Apr, 03 2025. zitiert am: 14.04.2025. URL: <https://www.uptodate.com/contents/parainfluenza-viruses-in->

[children?search=parainfluenza%204&source=search_result&selectedTitle=2%7E106&usage_type=default&display_rank=2.](#)

17. Fairchok MP, Martin ET, Kuypers J, Englund JA. A prospective study of parainfluenza virus type 4 infections in children attending daycare: *Pediatr Infect Dis J*; 2011; 30(8):714.

18. File TM. Epidemiology, pathogenesis, and microbiology of community-acquired pneumonia in adults [Internet] uptodate.com. Last updated: Dec 28, 2020. zitiert am: 07.06.2021. URL: https://www.uptodate.com/contents/epidemiology-pathogenesis-and-microbiology-of-community-acquired-pneumonia-in-adults?search=pneumonie%20alter%20erreger%20h%C3%A4ufigkeit&source=search_result&selectedTitle=6~150&usage_type=default&display_rank=2.

19. Gadsby NJ, Russell CD, McHugh MP et al. Comprehensive Molecular Testing for Respiratory Pathogens in Community-Acquired Pneumonia: *Clin Infect Dis*; 2016; 62:817.

20. Jain S, Self WH, Wunderink RG et al. Community-Acquired Pneumonia Requiring Hospitalization among U.S. Adults: *N Engl J Med*; 2015; 373:415.

21. Barson WJ. Pneumonia in children: Epidemiology, pathogenesis, and etiology [Internet] uptodate.com. Last updated: Apr 14, 2020. zitiert am: 24.05.2021. URL: https://www.uptodate.com/contents/pneumonia-in-children-epidemiology-pathogenesis-and-etiology?search=acute%20Pneumonia%20without%20previous%20illness%20child&source=search_result&selectedTitle=7~150&usage_type=default&display_rank=7.

22. Glezen P, Denny FW. Epidemiology of acute lower respiratory disease in children: *N Engl J Med*; 1973; 288:498.

23. Harris M, Clark J, Coote N et al. British Thoracic Society guidelines for the management of community acquired pneumonia in children: update 2011: *Thorax*; 2011; 66 Suppl 2:ii1.

24. Jain S, Williams DJ, Arnold SR et al. Community-acquired pneumonia requiring hospitalization among U.S. children: *N Engl J Med*; 2015; 372:835.

25. Nolan VG, Arnold SR, Bramley AM et al. Etiology and Impact of Coinfections in Children Hospitalized With Community-Acquired Pneumonia: *J Infect Dis*; 2018; 218:179.

26. Speer ME. Neonatal pneumonia [Internet] uptodate.com. Last updated: May 17, 2021. zitiert am: 25.05.2021. URL: https://www.uptodate.com/contents/neonatal-pneumonia?search=cap%20bei%20kindern&topicRef=5987&source=see_link.

27. Byington CL, Bradley JS. Pediatric community-acquired pneumonia. In: Feigin and Cherry's Textbook of Pediatric Infectious Diseases. Cherry JD, Harrison GJ, Kaplan SL et al, editors. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2014. 283 p.

28. Cherry JD, Nadipuram S. Adenoviruses. In: Feigin and Cherry's Textbook of Pediatric Infectious Diseases. Cherry JD, Harrison GJ, Kaplan SL et al, editors. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2014. 1888 p.

29. Gaston B. Pneumonia: *Pediatr Rev* 2002; 23:132.

30. McIntosh K. Community-acquired pneumonia in children: *N Engl J Med*; 2002; 346:429.

31. Sandora T, Harper MB. Pneumonia in hospitalized children: *Pediatr Clin North Am*; 2005; 52:1059.

32. Duke T. Neonatal pneumonia in developing countries: *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*; 2005; 90:F211.

33. Hooven TA, Polin RA. Pneumonia: *Semin Fetal Neonatal Med*; 2017; 22:206.

34. Orvedahl A, Padhye A, Barton K et al. Clinical Characterization of Children Presenting to the Hospital with Enterovirus D68 Infection During the 2014 Outbreak in St. Louis: *Pediatr Infect Dis J*; 2016; 35:481.

35. Bosis S, Esposito S. Enterovirus D68-Associated Community-Acquired Pneumonia in the Pediatric Age Group: *Curr Infect Dis Rep*; 2017; 19:12.
36. Schwartz KL, Nourse C. Panton-Valentine leukocidin-associated *Staphylococcus aureus* necrotizing pneumonia in infants: a report of four cases and review of the literature: *Eur J Pediatr*; 2012; 171:711.
37. Hageman JC, Uyeki TM, Francis JS et al. Severe community-acquired pneumonia due to *Staphylococcus aureus*, 2003-04 influenza season: *Emerg Infect Dis*; 2006; 12:894.
38. Miller MA, Ben-Ami T, Daum RS. Bacterial pneumonia in neonates and older children. In: *Pediatric Respiratory Medicine*. Taussig LM, Landau LI, editors. St. Louis Mosby; 1999. 595 p.
39. Korppi M, Heiskanen-Kosma T, Kleemola M. Incidence of community-acquired pneumonia in children caused by *Mycoplasma pneumoniae*: serological results of a prospective, population-based study in primary health care: *Respirology*; 2004; 9:109.
40. Kurz H, Göpfrich H, Wabnegger L, Apfalter P. Role of *Chlamydia pneumoniae* in children hospitalized for community-acquired pneumonia in Vienna, Austria: *Pediatr Pulmonol*; 2009; 44:873.
41. Jokinen C, Heiskanen L, Juvonen H et al. Incidence of community-acquired pneumonia in the population of four municipalities in eastern Finland: *Am J Epidemiol*; 1993; 137:977.
42. Heiskanen-Kosma T, Korppi M, Jokinen C et al. Etiology of childhood pneumonia: serologic results of a prospective, population-based study: *Pediatr Infect Dis J*; 1998; 17:986.
43. Rhedin S, Lindstrand A, Hjelmgren A et al. Respiratory viruses associated with community-acquired pneumonia in children: matched case-control study: *Thorax*; 2015; 70:847.
44. Self WH, Williams DJ, Zhu Y et al. Respiratory Viral Detection in Children and Adults: Comparing Asymptomatic Controls and Patients With Community-Acquired Pneumonia: *J Infect Dis*; 2016; 213:584.
45. Pelton SI, Hammerschlag MR. Overcoming current obstacles in the management of bacterial community-acquired pneumonia in ambulatory children. *Phila: Clin Pediatr*; 2005; 44:1.
46. Heiskanen-Kosma T, Korppi M, Leinonen M. Serologically indicated pneumococcal pneumonia in children: a population-based study in primary care settings: *APMIS*; 2003; 111:945.
47. Lo MS, Lee GM, Gunawardane N et al. The impact of RSV, adenovirus, influenza, and parainfluenza infection in pediatric patients receiving stem cell transplant, solid organ transplant, or cancer chemotherapy: *Pediatr Transplant* 2013; 17:133.
48. Arslan D, Danziger-Isakov L. Respiratory viral infections in pediatric solid organ and hematopoietic stem cell transplantation: *Curr Infect Dis Rep*; 2012; 14:658.
49. Dickson RP, Erb-Downward JR, Martinez FJ, Huffnagle GB. The Microbiome and the Respiratory Tract: *Annu Rev Physiol*; 2016; 78:481.
50. Dickson RP, Erb-Downward JR, Huffnagle GB. Towards an ecology of the lung: new conceptual models of pulmonary microbiology and pneumonia pathogenesis: *Lancet Respir Med*; 2014; 2:238.
51. Faner R, Sibila O, Agustí A et al. The microbiome in respiratory medicine: current challenges and future perspectives: *Eur Respir J*; 2017; 49.
52. Barson WJ. Community-acquired pneumonia in children: Clinical features and diagnosis [Internet] uptodate.com. Last updated: Sep 25, 2019. zitiert am: 26.05.2021. URL: <https://www.uptodate.com/contents/community-acquired-pneumonia-in-children-clinical-features-and->

[diagnosis?search=acute%20Pneumonia%20without%20previous%20illness%20child&source=search_result&selectedTitle=6~150&usage_type=default&display_rank=6#H1509636712](https://www.uptodate.com/contents/pneumonia-in-children-inpatient-treatment?search=acute%20Pneumonia%20without%20previous%20illness%20child&source=search_result&selectedTitle=6~150&usage_type=default&display_rank=6#H1509636712).

53. Shah SN, Bachur RG, Simel DL, Neuman MI. Does This Child Have Pneumonia?: The Rational Clinical Examination Systematic Review: JAMA; 2017; 318:462.
54. Margolis P, Gadomski A. The rational clinical examination. Does this infant have pneumonia?: JAMA; 1998; 279:308.
55. Bradley JS, Byington CL, Shah SS et al. The management of community-acquired pneumonia in infants and children older than 3 months of age: clinical practice guidelines by the Pediatric Infectious Diseases Society and the Infectious Diseases Society of America: Clin Infect Dis 2011; 53:e25.
56. Pereira JC, Escuder MM. The importance of clinical symptoms and signs in the diagnosis of community-acquired pneumonia: J Trop Pediatr; 1998; 44:18.
57. Mahabee-Gittens EM, Grupp-Phelan J, Brody AS et al. Identifying children with pneumonia in the emergency department. Phila: Clin Pediatr; 2005; 44:427.
58. Harari M, Shann F, Spooner V et al. Clinical signs of pneumonia in children: Lancet; 1991; 338:928.
59. Campbell H, Byass P, Lamont AC et al. Assessment of clinical criteria for identification of severe acute lower respiratory tract infections in children: Lancet; 1989; 1:297.
60. Barnett EB, Klein JO. Bacterial infections of the respiratory tract. In: Infectious Diseases of the Fetus and Newborn. Wilson CB, Nizet V, Maldonado YA, Remington JS, Klein JO, editors. Philadelphia, PA: Elsevier (Saunders); 2016. 272 p.
61. Metlay JP, Waterer GW, Long AC et al. Diagnosis and Treatment of Adults with Community-acquired Pneumonia. An Official Clinical Practice Guideline of the American Thoracic Society and Infectious Diseases Society of America.: Am J Respir Crit Care Med; 2019; 200:e45.
62. Subramony A, Zachariah P, Krones A et al. Impact of Multiplex Polymerase Chain Reaction Testing for Respiratory Pathogens on Healthcare Resource Utilization for Pediatric Inpatients: J Pediatr; 2016; 173:196.
63. Barson WJ. Pneumonia in children: Inpatient treatment [Internet] uptodate.com. Last updated: Apr 13, 2021. zitiert am: 27.05.2021. URL: https://www.uptodate.com/contents/pneumonia-in-children-inpatient-treatment?search=acute%20Pneumonia%20without%20previous%20illness%20child&topicRef=5987&source=see_link.
64. Russell G. Community acquired pneumonia: Arch Dis Child; 2001; 85:445.
65. Leventhal JM. Clinical predictors of pneumonia as a guide to ordering chest roentgenograms. Phila: Clin Pediatr; 1982; 21:730.
66. Lahti E, Peltola V, Waris M et al. Induced sputum in the diagnosis of childhood community-acquired pneumonia: Thorax; 2009; 64:252.
67. Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A et al. Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults: Clin Infect Dis; 2007; 44 Suppl 2:S27.
68. Duncan H, Hutchison J, Parshuram CS. The Pediatric Early Warning System score: a severity of illness score to predict urgent medical need in hospitalized children: J Crit Care; 2006; 21:271.
69. Barson WJ. Community-acquired pneumonia in children: Outpatient treatment [Internet] uptodate.com. Last updated: Apr 13, 2021. zitiert am: 27.05.2021. URL: <https://www.uptodate.com/contents/community-acquired-pneumonia-in-children-outpatient->

[treatment?search=acute%20Pneumonia%20without%20previous%20illness%20child&topicRef=5979&source=see_link.](#)

70. Low DE, Pichichero ME, Schaad UB. Optimizing antibacterial therapy for community-acquired respiratory tract infections in children in an era of bacterial resistance: *Clin Pediatr (Phila)*; 2004; 43:135.
71. American Academy of Pediatrics. Tables of antibacterial drug dosages. In: *Red Book: 2018 Report of the Committee on Infectious Diseases*. Kimberlin DW, Brady MT, Jackson MA, Long SS, editors. Itasca, IL: American Academy of Pediatrics; 2018. 914 p.
72. Downes KJ, Cowden C, Laskin BL et al. Association of acute kidney injury with concomitant vancomycin and piperacillin/tazobactam treatment among hospitalized children: *JAMA Pediatr*; 2017; 171:e173219.
73. Hasvold J, Bradford L, Nelson C et al. Gentamicin resistance among *Escherichia coli* strains isolated in neonatal sepsis: *J Neonatal Perinatal Med*; 2013; 6:173.
74. Muller-Pebody B, Johnson AP, Heath PT et al. Empirical treatment of neonatal sepsis: are the current guidelines adequate?: *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*; 2011; 96:F4.
75. Cooper MD, Keeney RE, Lyons SF, Cheattle EL. Synergistic effects of ampicillin-aminoglycoside combinations on group B streptococci: *Antimicrob Agents Chemother*; 1979; 15:484.
76. Rose M, Liese J, Barker M. AWMF Register Nr. 048-013: S2k-Leitlinie - Pädiatrische ambulant erworbene Pneumonie (pCAP). AWMF online: Deutschen Gesellschaft für Pädiatrische Infektiologie (DGPI) und der Gesellschaft für Pädiatrische Pneumologie (GPP); 03/2017.
77. Global Burden of Disease Child and Adolescent Health Collaboration, Kassebaum N, Kyu HH et al. Child and Adolescent Health From 1990 to 2015: Findings From the Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors 2015 Study: *JAMA Pediatr*; 2017; 171:573.
78. Herold G. *Innere Medizin 2020 Köln*: Gerd Herold; 2020. 505-6 p.
79. Cystic Fibrosis Foundation. 2018 Patient Registry: Annual Data Report [Internet] zitiert am: 16.05.21 URL: <https://www.cff.org/Research/Researcher-Resources/Patient-Registry/2018-Patient-Registry-Annual-Data-Report.pdf> 2018.
80. Katkin JP. Cystic fibrosis: Clinical manifestations and diagnosis [Internet] uptodate.com. Last updated: Aug 20, 2020. zitiert am: 16.05.2021. URL: https://www.uptodate.com/contents/cystic-fibrosis-clinical-manifestations-and-diagnosis?search=mukoviszidose&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1.
81. Arnold R. *Klinikleitfaden Pädiatrie*. 11. Auflage ed. Claßen M, Sommerburg O, editors. München 2020. 546-50 p.
82. Grosse SD, Rosenfeld M, Devine OJ et al. Potential impact of newborn screening for cystic fibrosis on child survival: a systematic review and analysis: *J Pediatr*; 2006; 149:362.
83. Robinson P. Cystic fibrosis: *Thorax*; 2001; 56:237.
84. Khoury MJ, McCabe LL, McCabe ER. Population screening in the age of genomic medicine: *N Engl J Med*; 2003; 348:50.
85. Sims EJ, McCormick J, Mehta G et al. Newborn screening for cystic fibrosis is associated with reduced treatment intensity: *J Pediatr*; 2005; 147:306.
86. Dankert-Roelse JE, Mérelle ME. Review of outcomes of neonatal screening for cystic fibrosis versus non-screening in Europe: *J Pediatr*; 2005; 147:S15.
87. Siret D, Bretaudeau G, Branger B et al. Comparing the clinical evolution of cystic fibrosis screened neonatally to that of cystic fibrosis diagnosed from clinical symptoms:

- a 10-year retrospective study in a French region (Brittany): *Pediatr Pulmonol*; 2003; 35:342.
88. Sims EJ, Clark A, McCormick J et al. Cystic fibrosis diagnosed after 2 months of age leads to worse outcomes and requires more therapy: *Pediatrics*; 2007; 119:19.
89. Dijk FN, McKay K, Barzi F et al. Improved survival in cystic fibrosis patients diagnosed by newborn screening compared to a historical cohort from the same centre: *Arch Dis Child*; 2011; 96:1118.
90. Zhang Z, Lindstrom MJ, Farrell PM et al. Pubertal Height Growth and Adult Height in Cystic Fibrosis After Newborn Screening: *Pediatrics*; 2016; 137.
91. Leung DH, Heltshe SL, Borowitz D et al. Effects of Diagnosis by Newborn Screening for Cystic Fibrosis on Weight and Length in the First Year of Life: *JAMA Pediatr*; 2017; 171:546.
92. Simon RH. Cystic fibrosis: Treatment with CFTR modulators [Internet] uptodate.com. Last updated: Mar 29, 2021. zitiert am: 11.06.2021. URL: https://www.uptodate.com/contents/cystic-fibrosis-treatment-with-cftr-modulators?search=trikafta&source=search_result&selectedTitle=2~8&usage_type=default&display_rank=1.
93. US Food and Drug Administration. Highlights of prescribing information for Trikafta [Internet] zitiert am: Dec 30, 2020. URL: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2020/212273s002lbl.pdf 12/2020.
94. Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie. MiQ: Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik 24, Atemwegsinfektionen bei Mukoviszidose. Podbielski A., Abele-Horn M., Becker K., Kniehl E., Rüssmann H., Schubert S., et al., editors: Urban & Fischer; 2019.
95. Rosenfeld M, Gibson RL, McNamara S et al. Early pulmonary infection, inflammation, and clinical outcomes in infants with cystic fibrosis: *Pediatr Pulmonol*; 2001; 32:356.
96. Emerson J, Rosenfeld M, McNamara S et al. *Pseudomonas aeruginosa* and other predictors of mortality and morbidity in young children with cystic fibrosis: *Pediatr Pulmonol*; 2002; 34:91.
97. Langton Hewer SC, Smyth AR. Antibiotic strategies for eradicating *Pseudomonas aeruginosa* in people with cystic fibrosis: *Cochrane Database Syst Rev*; 2017; 4:CD004197.
98. Mayer-Hamblett N, Kloster M, Rosenfeld M et al. Impact of Sustained Eradication of New *Pseudomonas aeruginosa* Infection on Long-term Outcomes in Cystic Fibrosis: *Clin Infect Dis*; 2015; 61:707.
99. Ratjen F, Moeller A, McKinney ML et al. Eradication of early *P. aeruginosa* infection in children <7 years of age with cystic fibrosis: The early study: *J Cyst Fibros*; 2019; 18:78.
100. Olivier KN, Weber DJ, Wallace RJ Jr et al. Nontuberculous mycobacteria. I: multicenter prevalence study in cystic fibrosis: *Am J Respir Crit Care Med*; 2003; 167:828.
101. Mussaffi H, Rivlin J, Shalit I et al. Nontuberculous mycobacteria in cystic fibrosis associated with allergic bronchopulmonary aspergillosis and steroid therapy: *Eur Respir J*; 2005; 25:324.
102. Esther CR Jr, Esserman DA, Gilligan P et al. Chronic Mycobacterium abscessus infection and lung function decline in cystic fibrosis: *J Cyst Fibros*; 2010; 9:117.
103. Bryant JM, Grogono DM, Rodriguez-Rincon D et al. Emergence and spread of a human-transmissible multidrug-resistant nontuberculous mycobacterium: *Science*; 2016; 354:751.

104. Shaw LP, Doyle RM, Kavaliunaite E et al. Children With Cystic Fibrosis Are Infected With Multiple Subpopulations of Mycobacterium abscessus With Different Antimicrobial Resistance Profiles: Clin Infect Dis; 2019; 69:1678.
105. Rivosecchi RM, Samanta P, Demehin M et al. Pharmacokinetics of azole antifungals in cystic fibrosis: Mycopathologia; 2018. 183: 39-50 p.
106. Illamola SM, Huynh H Q, Liu X et al. Population pharmacokinetics of amikacin in adult patients with cystic fibrosis. Antimicrob Agents Chemother. 2018;62: e00877-18.
107. Schwarz C, Düesberg U, Bend J et al. AWMF S3-Leitlinie "Lungenerkrankungen bei Mukoviszidose" Modul 2: Diagnostik und Therapie bei der chronischen Infektion mit Pseudomonas aeruginosa: Pneumologie; 2018. 72: 347-92 p.
108. Aaron SD, Vandemheen KL, Ferris W et al. Combination antibiotic susceptibility testing to treat exacerbations of cystic fibrosis associated with multiresistant bacteria: a randomised, double-blind, controlled clinical trial: Lancet; 2005. 366: 463-71 p.
109. Smith AL, Fiel SB, Mayer-Hamblett N et al. Susceptibility testing of Pseudomonas aeruginosa isolates and clinical response to parenteral antibiotic administration: lack of association in cystic fibrosis: Chest; 2003. 123: 1495-502 p.
110. Somayaji R, Parkins MD, Shah A et al. Antimicrobial Resistance in Cystic Fibrosis International Working Group. Antimicrobial susceptibility testing (AST) and associated clinical outcomes in individuals with cystic fibrosis: A systematic review: J Cyst Fibros; 2019. 18: 236-43 p.
111. Kidd TJ, Canton R, Ekkelenkamp M et al. Antimicrobial resistance in Cystic Fibrosis International Working Group. Defining antimicrobial resistance in cystic fibrosis: J Cyst Fibros; 2018. 17: 696-704 p.
112. Field TR, White A, Elborn JS et al. Effect of oxygen limitation on the in vitro antimicrobial susceptibility of clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa grown planktonically and as biofilms: Eur J Clin Microbiol Infect Dis; 2002. 24: 677-87 p.
113. Worlitzsch D, Tarran R, Ulrich M et al. Effects of reduced mucus oxygen concentration in airway Pseudomonas infections of cystic fibrosis patients: J Clin Invest; 2002. 109: 317-25 p.
114. Zariwala MA, Knowles MR, Omran H. Genetic defects in ciliary structure and function: Annu Rev Physiol; 2007; 69:423.
115. Bergström S-E. Primary ciliary dyskinesia (immotile-cilia syndrome) [Internet] uptodate.com. Last updated: Feb 24, 2021. zitiert am: 16.05.2021. URL: https://www.uptodate.com/contents/primary-ciliary-dyskinesia-immotile-cilia-syndrome?search=pcd&source=search_result&selectedTitle=1~20&usage_type=defaul&display_rank=1.
116. Horani A, Ferkol TW. Understanding Primary Ciliary Dyskinesia and Other Ciliopathies: J Pediatr; 2021; 230:15.
117. Rosenbaum JL, Cole DG, Diener DR. Intraflagellar transport: the eyes have it: J Cell Biol; 1999; 144:385.
118. Merveille AC, Davis EE, Becker-Heck A et al. CCDC39 is required for assembly of inner dynein arms and the dynein regulatory complex and for normal ciliary motility in humans and dogs: Nat Genet; 2011, 43:72.
119. Becker-Heck A, Zohn IE, Okabe N et al. The coiled-coil domain containing protein CCDC40 is essential for motile cilia function and left-right axis formation: Nat Genet; 2011; 43:79.
120. Mitchison HM, Schmidts M, Loges NT et al. Mutations in axonemal dynein assembly factor DNAAF3 cause primary ciliary dyskinesia: Nat Genet 2012; 44:381.
121. Boon M, Jorissen M, Proesmans M, De Boeck K. Primary ciliary dyskinesia, an orphan disease: Eur J Pediatr; 2013; 172:151.

122. Ferkol TW, Puffenberger EG, Lie H et al. Primary ciliary dyskinesia-causing mutations in Amish and Mennonite communities: *J Pediatr*; 2013; 163:383.
123. Nonaka S, Shiratori H, Saijoh Y, Hamada H. Determination of left-right patterning of the mouse embryo by artificial nodal flow: *Nature*; 2002; 418:96.
124. Noone PG, Leigh MW, Sannuti A et al. Primary ciliary dyskinesia: diagnostic and phenotypic features: *Am J Respir Crit Care Med*; 2004; 169:459.
125. Kuehni CE, Frischer T, Strippoli MP et al. Factors influencing age at diagnosis of primary ciliary dyskinesia in European children: *Eur Respir J*; 2010; 36:1248.
126. Guo Z, Chen W, Wang L, Qian L. Clinical and Genetic Spectrum of Children with Primary Ciliary Dyskinesia in China: *J Pediatr*; 2020; 225:157.
127. Leigh MW, Ferkol TW, Davis SD et al. Clinical Features and Associated Likelihood of Primary Ciliary Dyskinesia in Children and Adolescents: *Ann Am Thorac Soc*; 2016; 13:1305.
128. Rubbo B, Best S, Hirst RA et al. Clinical features and management of children with primary ciliary dyskinesia in England: *Arch Dis Child*; 2020; 105:724.
129. Cao Y, Shao C, Song Y et al. Clinical analysis of patients with primary ciliary dyskinesia in mainland China: *Clin Respir J*; 2016; 10:765.
130. Knowles MR, Daniels LA, Davis SD et al. Primary ciliary dyskinesia. Recent advances in diagnostics, genetics, and characterization of clinical disease: *Am J Respir Crit Care Med*; 2013; 188:913.
131. Lucas JS, Burgess A, Mitchison HM et al. Diagnosis and management of primary ciliary dyskinesia: *Arch Dis Child* 2014; 99:850.
132. Lie H, Ferkol T. Primary ciliary dyskinesia: recent advances in pathogenesis, diagnosis and treatment: *Drugs*; 2007; 67:1883.
133. Lie H, Zariwala MA, Helms C et al. Primary ciliary dyskinesia in Amish communities: *J Pediatr*; 2010; 156:1023.
134. Hosie PH, Fitzgerald DA, Jaffe A et al. Presentation of primary ciliary dyskinesia in children: 30 years' experience: *J Paediatr Child Health*; 2015; 51:722.
135. Irving SJ, Ives A, Davies G et al. Lung clearance index and high-resolution computed tomography scores in primary ciliary dyskinesia: *Am J Respir Crit Care Med*; 2013; 188:545.
136. Leigh MW, Zariwala MA, Knowles MR. Primary ciliary dyskinesia: improving the diagnostic approach: *Curr Opin Pediatr*; 2009; 21:320.
137. Barbato A, Frischer T, Kuehni CE et al. Primary ciliary dyskinesia: a consensus statement on diagnostic and treatment approaches in children: *Eur Respir J*; 2009; 34:1264.
138. Prulière-Escabasse V, Coste A, Chauvin P et al. Otologic features in children with primary ciliary dyskinesia: *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*; 2010; 136:1121.
139. Jonsson MS, McCormick JR, Gillies CG, Gondos B. Kartagener's syndrome with motile spermatozoa: *N Engl J Med*; 1982; 307:1131.
140. Munro NC, Currie DC, Lindsay KS et al. Fertility in men with primary ciliary dyskinesia presenting with respiratory infection: *Thorax*; 1994; 49:684.
141. Lucas JS, Barbato A, Collins SA et al. European Respiratory Society guidelines for the diagnosis of primary ciliary dyskinesia: *Eur Respir J*; 2017; 49.
142. Jackson CL, Behan L, Collins SA et al. Accuracy of diagnostic testing in primary ciliary dyskinesia: *Eur Respir J*; 2016; 47:837.
143. Shapiro AJ, Davis SD, Polineni D et al. Diagnosis of Primary Ciliary Dyskinesia. An Official American Thoracic Society Clinical Practice Guideline: *Am J Respir Crit Care Med*; 2018; 197:e24.
144. Davis SD, Rosenfeld M, Lee HS et al. Primary Ciliary Dyskinesia: Longitudinal Study of Lung Disease by Ultrastructure Defect and Genotype: *Am J Respir Crit Care Med*; 2019; 199:190.

145. Marthin JK, Petersen N, Skovgaard LT, Nielsen KG. Lung function in patients with primary ciliary dyskinesia: a cross-sectional and 3-decade longitudinal study: *Am J Respir Crit Care Med*; 2010; 181:1262.
146. BioFireDiagnostics. FilmArray® Pneumonia Panel plus [E-Book]. DOI: RFIT-PRT-0947 FilmArray Pneumoplus Instructions for Use DE2019. 1, 2, 15-28 p.
147. BioFireDiagnostics. The BioFire® FilmArray® Pneumonia (PN) Panel [Internet] zitiert am: 24.03.2020. URL: <https://www.biofiredx.com/products/the-filmarray-panels/filmarray-pneumonia/> 2020.
148. Buchan B et al. Clinical Evaluation and Potential Impact of a Semi-Quantitative Multiplex Molecular Assay for the Identification of Pathogenic Bacteria and Viruses in Lower Respiratory specimens. San Diego CA: American Thoracic Society Conference; May 20th 2018.
149. BioFireDiagnostics. ASAY-PRT-0789 SDS Pneumo FilmArray Reagent Kit EN-US. Safety Data Sheet [E-Book] 2018.
150. Murphy CN, Fowler R, Balada-Llasat JM, Carroll A, Stone H, Akerele O, et al. Multicenter Evaluation of the BioFire FilmArray Pneumonia/Pneumonia Plus Panel for Detection and Quantification of Agents of Lower Respiratory Tract Infection. *J Clin Microbiol*. 2020;58(7).
151. BioFire. FilmArray Pneumonia panel instruction booklet [E-Book]. DOI: RFIT-ASY-0144/145. Biofire. Salt Lake City, UT 2018.
152. Edin A, Eilers H, Allard A. Evaluation of the Biofire Filmarray Pneumonia panel plus for lower respiratory tract infections. *Infect Dis (Lond)*. 2020;52(7):479-88.
153. Mitton B, Rule R, Said M. Laboratory evaluation of the BioFire FilmArray Pneumonia plus panel compared to conventional methods for the identification of bacteria in lower respiratory tract specimens: a prospective cross-sectional study from South Africa. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2020;99(2):115236.
154. Ramanan P, Bryson AL, Binnicker MJ, Pritt BS, Patel R. Syndromic panel-based testing in clinical microbiology. *Clin Microbiol Rev*. 2018;31: e00024-17.
155. Yoo IY, Huh K, Shim HJ, Yun SA, Chung YN, Kang OK, et al. Evaluation of the BioFire FilmArray Pneumonia Panel for rapid detection of respiratory bacterial pathogens and antibiotic resistance genes in sputum and endotracheal aspirate specimens. *Int J Infect Dis*. 2020;95:326-31.
156. Leber al. Clinical microbiology procedures handbook 4th ed. Washington, DC: ASM Press 2016.
157. Byrt T. How good is that agreement?: *Epidemiology*; 1996; 7(5):561.
158. Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie. MiQ: Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik 7, Infektionen der tiefen Atemwege Teil I. Mauch H, Podbielski A, Hermann M, Kniehl E, Rüssmann H, editors. München, Jena: Elsevier/Urban & Fischer; 2010.
159. Cumitech. Essential procedures for clinical microbiology. Isenberg HD, editor. Washington DC: ASM; 1998.
160. NCCLS Approved Guideline. Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures: Principles and Definitions 2006.
161. NCCLS Approved Guideline. User Protocol for Evaluation of Quantitative Test Performance 2008.
162. Deutsches Institut für Normung e.V. Diagnostik von Infektionen der tiefen Atemwege Teil 1-3 DIN 58962. Berlin (Beuth) 1990.
163. Cumitech. Laboratory Diagnosis of Lower Respiratory Tract Infections 7th ed. Bartlett JG, Ryan KJ, Smith TF, Wilson WR, editors. Washington DC: ASM Press; 1987.
164. Cumitech. Lower Respiratory Tract Infections. Sharp SE, editor: ASM Press; 2004.

165. Baselski VS, el-Torky M, Coalson JJ, Griffin JP. The standardization of criteria for processing and interpreting laboratory specimens in patients with suspected ventilator-associated pneumonia 1992. *Chest* 102: 571-9 p.
166. Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie. MiQ: Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik 8, Infektionen der tiefen Atemwege Teil II. Mauch H, Podbielski A, Hermann M, Kniehl E, Rüssmann H, editors. München, Jena: Elsevier/Urban & Fischer; 2010.
167. Dt Ärztebl. Richtlinien der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung in der Mikrobiologie 1992. 89: 1004-7 p.
168. Pye A, Hill SL, Bharadwa P et al. Effect of storage and postage on recovery and quantitation of bacteria in sputum samples: *J Clin Pathol*; 2008. 61: 352-4 p.
169. Müller FM, Bend J, Huttegger I et al. AWMF S3-Leitlinie "Lungenerkrankung bei Mukoviszidose" Modul 1: Diagnostik und Therapie nach dem ersten Nachweis von *Pseudomonas aeruginosa*: *Monatsschr Kinderheilkd*; 2015. 163: 590-9 p.
170. The UK Cystic Fibrosis Trust Microbiology Laboratory Standards Working Group. Laboratory standards for processing microbiological samples from people with cystic fibrosis. First edition [Internet] zitiert im: September 2010. URL: <https://www.cysticfibrosis.org.uk/>: Consensus document outlining laboratory standards for processing microbiological samples; September 2010.
171. Ronchetti K, Tame JD, Paisey C et al. The CF-Sputum Induction Trial (CF-SpIT) to assess lower airway bacterial sampling in young children with cystic fibrosis: a prospective internally controlled interventional trial: *Lancet Respir Med*; 2018; 6(6): . 461-71 p.
172. Masoud-Landgrad L, Badura A, Eber E et al. Modified culture method detects a high diversity of fungal species in cystic fibrosis patients: *Med Mycol*; 2014. 52: 179-86 p.
173. Delhaes L, Touati K, Faure-Cognet O et al. Prevalence, geographic risk factor, and development of a standardized protocol for fungal isolation in cystic fibrosis: Results from the international prospective study "MFIP": *J Cyst Fibros*; 2019. 18: 212-20 p.
174. Hammerschlag MR, Harding L, Maccone A et al. Bacteriology of sputum in cystic fibrosis: evaluation of dithiothreitol as a mucolytic agent: *J Clin Microbiol*; 1980. 11: 552-7 p.
175. Waters V, Ratjen F. Standard versus biofilm antimicrobial susceptibility testing to guide antibiotic therapy in cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;10: CD009528.
176. Waters V, Ratjen F. Combination antimicrobial susceptibility testing for acute exacerbations in chronic infection of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;6: CD006961.
177. Foweraker JE, Laughton CR, Brown DFJ et al. Phenotypic variability of *P. aeruginosa* in Sputa from patients with acute infective exacerbation of cystic fibrosis and its impact on the validity of antimicrobial susceptibility testing: *J Antimicrob Chemother*; 2005. 55: 921-27 p.
178. Hogardt M, Ullrich J, Riehn-Kopp H et al. EuroCareCF quality assessment of diagnostic microbiology of cystic fibrosis isolates: *J Clin Microbiol*; 2009. 47: 3435-8 p.
179. Foweraker J, Laughton CR, Brown DFJ et al. Comparison of methods to test antibiotic combinations against heterogeneous populations of multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* from patients with acute infective exacerbations in cystic fibrosis: *Antimicrob Agents Chemother*; 2009. 53: 4809-15 p.
180. Saiman L, Burns JL, Larone D et al. Evaluation of MicroScan Autoscan for identification of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from cystic fibrosis patients: *J Clin Microbiol*; 2003. 41: 492-4 p.

181. Sader HS, Fritsche TR, Jones RN. Accuracy of three automated systems (MicroScan WalkAway, VITEK, and VITEK 2) for susceptibility testing of *Pseudomonas aeruginosa* against five broad-spectrum beta-lactam agents: *J Clin Microbiol*; 2006. 44: 1101-4 p.
182. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 9.0 [Internet] URL: <http://www.eucast.org>. 2019.
183. Blanchard AC, Rooney AM, Yau Y et al. Early detection using qPCR of *Pseudomonas aeruginosa* infection in children with cystic fibrosis undergoing eradication treatment: *J Cyst Fibros*; 2018; 17: 723-8.
184. Kiedrowski MR, Bomberger JB. Viral-bacterial co-infections in the cystic fibrosis respiratory tract: *Front Immunol*; 2018; 9: 3067.

Anhang

	Sputum	Tracheal- sekret	Tracheal- sekret von Neugebo- renen	Bronchial- sekret	BAL, Mini- BAL	PSB**, Lungenbiopat, transthorakale Feinnadelpunktion	Pleura- flüssig- keit
Gramfärbung	x	x	x	x	x	x	x
Thioglycolat- /BHI-Bouillon					x*	x	x
Columbia- Schafblut-Agar	x	x	x	x	x	x	x
Columbia- Kochblut-Agar						x	x
Columbia- Kochblut-Agar mit Bacitracin- Plättchen***	x	x	x	x	x		
MacConkey- Agar	x	x	x	x	x	x	x
anaerobe Kultur, z.B. Schädler und KV-Agar					x	x	x
Sabouraud- Agar		x*	x*	x*	x*	x*	x*
Mannit- Kochsalz-Platte oder Chromagar MRSA	x*	x*	x*	x*	x*		
Mykoplasmen/ Ureaplasmen- Agar			x				
Legionellen- Agar****		x*	x*	x*	x*	x*	x*

x* In Abhängigkeit von der Fragestellung und des Patientenklimentels

** PSB = geschützte Bürste („Protected Specimen Brush“)

*** alternativ: Kochblut-Bacitracin-Agar

**** siehe Kapitel 8.2.5 Legionellen

Spezialkulturen bei Mukoviszidose siehe MiQ 24.

(Anhang 1 Mikroskopische und kulturelle Untersuchungen bei der Diagnostik von tiefen Atemwegserkrankungen (nach Martina Kerwat 2010))(158)

Erreger	Kulturbedien, Selektivmedien und Untersuchungsverfahren*
S. aureus	Chromogene Agar: chromID™ S. aureus Elite Agar, CHROMagar™ Staph aureus; SaSelect-Agar, Columbia CNA Agar mit 5% Schafblut, Mannitol-Kochsalzagar, BHI-NaCl-Agar, Columbia-Blutagar, ggf. MRSA-Selektivagar
H. influenzae	Kochblutagar mit Bacitracin oder Oleandomycin
P. aeruginosa	MacConkey-Agar, Cetrimid-Agar, Pseudomonas CN Agar, CFC Pseudomonas Agar, chromID™ P. aeruginosa Agar***
B. cepacia-Komplex	BCSA, OFPBL-Agar, PC-Agar, [chromID® Burkholderia cepacia Agar***]
S. maltophilia	MacConkey-Agar, (Meropenem-Agar, VIA-Agar)
Achromobacter spp.	MacConkey-Agar
Aspergillus spp.**	Malzextraktagar, Sabouraud-Dextrose-Agar****
Nokardien	Löwenstein-Jensen-Agar, Polymyxin-Agar/Columbia-Blutagar mit Polymyxin-Blättchen (verlängerte Bebrütung)

* Die verschiedenen Agarmedien sind als Alternativen zu verstehen. Der Nachweis einiger Erreger oder Erregervarianten (z.B. SCVs) wird z.T. durch eine verlängerte Inkubation von 3-5 Tagen verbessert. Die meisten Erreger, z.B. *P. aeruginosa* wachsen zusätzlich auf nicht-selektiven Medien (z.B. Columbia-Blutagar, Kochblutagar).

** *Aspergillus spp.* und andere Pilze wachsen auf speziellen Pilzmedien, können aber auch über ggf. mitgeführte antibiotikahaltige Selektivmedien (z.B. *B. cepacia*-Selektivagar) und nicht-selektive Medien der Basiskultur angezüchtet werden.

*** Zu den neuen chromID-Agar für *P. aeruginosa* und *B. cepacia*-Komplex-Spezies gibt es im Bereich der CF-Mikrobiologie bisher wenig Erfahrungen.

**** Mit Chloramphenicol und Gentamicin bzw. Cycloheximid als Zusatz; Malzextraktagar ohne Antibiotikazusatz (niedriger pH-Wert zur Selektion)

VIA: Vancomycin/Imipenem-Agar

(Anhang 2 Kulturbedien und Untersuchungsverfahren zum Nachweis CF-relevanter Leitkeime)(94)

Danksagung

Hiermit möchte ich mich bei allen bedanken, die durch ihre Unterstützung zur Entstehung dieser Dissertation beigetragen haben.

Zunächst gilt mein Dank Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Stefan Gehring für die Bereitstellung des Themas, die stets freundlichen Zusammenkünfte und motivierenden Gespräche.

Ebenfalls bedanke ich mich recht herzlich bei Herrn Philip Koliopoulos. Mit seiner flexiblen und transparenten Art und den unterstützenden Worten hat er mir bei der Entstehung dieser Dissertation sehr geholfen.

Zum Abschluss danke ich meiner Familie und meinen Freunden für die große moralische Unterstützung und die motivierenden Worte.

Durch die Unterstützung aller Beteiligten wurde mir erst die Abgabe dieser Dissertationsschrift in diesem Umfang ermöglicht.