

Aus dem Universitätsklinikum Münster

Institut für Medizinische Mikrobiologie

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. G. Peters

Dynamik der Mikrobiota der Nase im
Zusammenhang mit einem
Krankenhausaufenthalt

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des doctor medicinae
der Medizinischen Fakultät

der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von Bromisch, Iring Maria

aus Meppen

2011

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

Dekan Univ. Prof. Dr. W. Schmitz

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. K. Becker
 2. Berichterstatter: PD Dr. med. A. Mellmann
- Tag der mündlichen Prüfung: 19.12.2011

ERKLÄRUNG

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

Dynamik der Mikrobiota der Nase im Zusammenhang mit einem Krakenhausaufenthalt

in der/im (Klinik, Institut, Krankenanstalt):

Institut für Medizinische Mikrobiologie, Münster

unter der Anleitung von:

Prof. Dr. K. Becker

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

Melle 22.12.11

Ort, Datum

Brom

Unterschrift

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Institut für Medizinische Mikrobiologie
Direktor: Prof. Dr. med. G. Peters
Referent: Prof. Dr. med. K. Becker
Koreferent: PD. Dr. med. A. Mellmann

Zusammenfassung

Dynamik der Mikrobiota der Nase im Zusammenhang mit einem Krankenhausaufenthalt

Bromisch, Iring Maria

Zur physiologischen Flora (Mikrobiota) der vordere Nasenhöhle, die das Habitat für eine Vielzahl von Mikroorganismen darstellt, zählt auch *Staphylococcus aureus*. Eine Besiedlung mit diesem opportunistischen Erreger kann im Krankenhaus zur Quelle nachfolgender Infektionen werden. Somit sind Daten zur Zusammensetzung der nasalen Mikrobiota und zu möglichen Interaktionen mit *S. aureus* von hohem Interesse.

In einer prospektiven, beobachtenden Kohortenstudie wurde die Dynamik der Kolonisierung der Nasenhöhle mit Mikrobiota bei Aufnahme, während und nach einem Krankenhausaufenthalt untersucht.

Staphylokokken-Isolate fanden sich in allen Abstrichen, *S. epidermidis*-Isolate (94% bei Aufnahme; 99% bei Entlassung) gefolgt von *S. aureus*-Isolaten (31% bei Aufnahme; 36% bei Entlassung) kamen am häufigsten vor. Methicillin-resistente *S. epidermidis*- und *S. aureus* (MRSA)-Stämme wurden zu 61% bzw. 67% im Krankenhaus erworben. Die MRSA-Rate im Studienkollektiv betrug bei Aufnahme 0,95% und stieg auf 2,86% während des stationären Aufenthaltes. Die Kolonisierung mit Corynebakterien und *Enterobacteriaceae* wurde ambulant und nosokomial nachgewiesen. Streptokokken, Enterokokken und Nonfermenter wurden zum größeren Teil nosokomial erworben. Hefepilze wurden bei ca. 10% der Patienten nosokomial erworben.

Während des Krankenhausaufenthaltes kam es zu grundlegenden Veränderungen in der Zusammensetzung der nasalen Mikrobiota des Studienkollektivs, jedoch konnte eine permanente Besiedlung mit nosokomial erworbenen Bakterien, auch nach Ende des Krankenhausaufenthaltes, nur für Staphylokokken gezeigt werden.

Tag der mündlichen Prüfung: 19.12.2011

1	EINLEITUNG	8
1.1	Physiologische Besiedlung der Nase	8
1.1.1	Die Kolonisierung der Nase bei Neugeborenen und Kindern	8
1.1.2	Die Kolonisierung der Nase bei Erwachsenen	9
1.1.3	Anatomie der Nase	12
1.1.4	Die Interaktion von Bakterienspezies untereinander	14
1.2	Infektion	15
1.3	Die Kolonisierung der Nasenhöhle bei Funktionsstörung	16
1.4	Beschreibung der Bakterien und Pilze	17
1.4.1	Staphylokokken	17
1.4.2	<i>Corynebacterium</i>	21
1.4.3	Streptococcus	22
1.4.4	Enterokokken	23
1.4.5	<i>Enterobacteriaceae</i>	24
1.4.6	Nonfermenter	24
1.4.7	Weitere Bakterien	25
1.4.8	Pilze	28
1.5	Fragestellung	29
2	MATERIAL UND METHODEN	30
2.1	Abstriche	30
2.2	Differenzierung	30
2.3	Identifizierung	30
2.3.1	Morphologische Identifizierung	30
2.3.2	Physiologische Identifizierung	34

3	ERGEBNISSE	55
3.1	Zusammenfassung der Daten	55
3.2	Staphylokokken	58
3.3	Pilze	61
3.4	Corynebakterien	62
3.5	Streptokokken	63
3.6	Enterokokken	64
3.7	Enterobacteriaceae	65
3.8	Nonfermenter	66
3.9	Weitere Bakterien	66
3.10	Testreliabilität	68
4	DISKUSSION	72
4.1	Staphylokokken	72
4.2	Pilze	73
4.3	<i>Corynebacterium</i>	73
4.4	Streptokokken	74
4.5	Enterokokken	74
4.6	<i>Enterobacteriaceae</i>	75
4.7	Nonfermenter	76
4.8	Weitere Bakterien	77
4.9	Studien zur Dynamik nosokomialer Infektionen	78
4.10	Übertragungswege	78

4.11	Limitationen der Studie und Ausblick	79
5	LEBENS LAUF	83
5.1	Persönliche Daten	
5.2	Schulischer Werdegang	
5.3	Universitärer Werdegang	
6	DANKSAGUNG	84
7	ANHANG	I

1 Einleitung

1.1 Physiologische Besiedlung der Nase

Der menschliche Organismus bildet für Bakterien und Pilze ein günstiges Habitat, da er für die komplexen Regelvorgänge der Mikroorganismen konstante Umweltbedingungen bietet.

Eine Temperatur von etwa 32° C auf der Hautoberfläche und 37° C Kerntemperatur, anhaltende Feuchtigkeit und eine Versorgung mit Metaboliten sorgen dafür, dass an diese konstanten Bedingungen sich anpassende Mikroorganismen gut wachsen können. Begrenzt wird ihr Wachstum durch Defensine des Wirtes, dem Hydrolipidmantel der Haut, dem Nahrungsangebot und dem Konkurrenzdruck anderer Mikroorganismen.

1.1.1 Die Kolonisierung der Nase bei Neugeborenen und Kindern

Vor der Geburt ist die Nase des Fetus steril. Die physiologische Besiedlung des neugeborenen Kindes mit Mikroorganismen beginnt während und kurz nach der Geburt, wenn das Neugeborene in Kontakt kommt mit der Mikrobiota des Geburtskanals und in den ersten Lebenstagen mit der Mikrobiota der Haut und des Respirationstraktes der das Neugeborene pflegenden Personen (Cvetnic et al. 1991, 151-160).

Speziell Bakterien, die die Kapazität zur Adhäsion an epithelialen Zellen der respiratorischen Mucosa haben, beginnen die Nasenhöhle zu besiedeln. In der ersten Phase der Kolonisierung kommen vor allem *Escherichia coli* (8%) *Staphylococcus aureus* (11%) und *Staphylococcus epidermidis* (39%) vor. Auch die Geburt (spontan oder per sectio caesarea), der Apgar-Index und die Länge

des Krankenhausaufenthaltes haben Einfluss auf die Mikrobiota (Ostfeld et al. 1983, 1046-1049).

Schulkinder sind zum großen Teil nasal mit *Moraxella catarrhalis* (27%-34%), *Streptococcus pneumoniae* (19%-50%) und *Haemophilus influenzae* (13%-40%) besiedelt (Gluck and Gebbers 2000, 426-428; Gordts et al. 2000, 184-188).

1.1.2 Die Kolonisierung der Nase bei Erwachsenen

Die Nasenhöhle von Erwachsenen kann sehr unterschiedlich kolonisiert sein. Folgende Tabelle soll einen Überblick vermitteln, welche Bakterien und Pilze in welchen Größenordnungen in früheren, kulturbasierten Studien gefunden wurden und deshalb während der Arbeit zur vorliegenden Studie zu erwarten sind:

Tabelle 1: physiologische Kolonisierung der Nasenhöhle von Erwachsenen mit Angabe der Häufigkeit in%

Bakterium / Pilz	% der Fälle	Quelle
Aerobe Bakterien	76-100	(Savolainen, Ylikoski, and Jousimies-Somer 1986, 249-255)(Hartog et al. 1995, 672-677)
Anaerobe Bakterien	29-77	(Savolainen, Ylikoski, and Jousimies-Somer 1986, 249-255)(Hartog et al. 1995, 672-677)
Potenziell pathogene Bakterien	77	(Gluck and Gebbers 2000, 426-428)
<i>Staphylococcus</i> spp.	42	(Hartog et al. 1995, 672-677)
<i>Staphylococcus aureus</i>	18-44	(Savolainen, Ylikoski, and Jousimies-Somer 1986, 249-255)(Jousimies-Somer, Savolainen, and Ylikoski 1989, 2736-2743)(Konno et al. 2006, 83-96)(Lina et al. 2003, 18-23)(Panhotra, Saxena, and Al Mulhim 2005, 304-308)(Pant et al. 2006, 194-199)(Rim and Bacon 2007, 1044-1046)(Uehara et al. 2000, 127-133)(Larson et al. 1986, 604-608)
Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>	1-4	(Panhotra, Saxena, and Al Mulhim 2005, 304-308)(Rim and Bacon 2007, 1044-1046)(Rasmussen et al. 2000, 663-675)
Koagulase negative Staphylokokken	15-76	(Jousimies-Somer, Savolainen, and Ylikoski 1989, 2736-2743)(Konno et al. 2006, 83-96)(Larson et al. 1986, 604-608)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	79-100	(Savolainen, Ylikoski, and Jousimies-Somer 1986, 249-255)(Konno et al. 2006, 83-96)(Uehara et al. 2000, 127-133)(Rasmussen et al. 2000, 663-675)
Methicillin-resistenter	33	{{;137 Kitao,T. 2010 }}

<i>Staphylococcus epidermidis</i>		
<i>Staphylococcus capitis</i>	6-20	(Konno et al. 2006, 83-96)(Rasmussen et al. 2000, 663-675)
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	4-20	(Konno et al. 2006, 83-96)(Rasmussen et al. 2000, 663-675)
<i>Staphylococcus hominis</i>	4-20	(Konno et al. 2006, 83-96)(Rasmussen et al. 2000, 663-675)
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	2-30	(Konno et al. 2006, 83-96)(Rasmussen et al. 2000, 663-675)
<i>Staphylococcus warneri</i>	4-20	(Konno et al. 2006, 83-96)
<i>Staphylococcus cohnii</i>	1	(Konno et al. 2006, 83-96)
<i>Staphylococcus auricularis</i>	<1	(Konno et al. 2006, 83-96)
<i>Streptococcus</i> ssp.	<1-80	(Hartog et al. 1995, 672-677)(Jousimies-Somer, Savolainen, and Ylikoski 1989, 2736-2743)(Konno et al. 2006, 83-96)(Lina et al. 2003, 18-23)(Rasmussen et al. 2000, 663-675)
Viridans-Streptokokken (alpha-haemolysierende Streptokokken)	10-20	(Jousimies-Somer, Savolainen, and Ylikoski 1989, 2736-2743)(Konno et al. 2006, 83-96)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1-25	(Savolainen, Ylikoski, and Jousimies-Somer 1986, 249-255)(Jousimies-Somer, Savolainen, and Ylikoski 1989, 2736-2743)(Konno et al. 2006, 83-96)(Rasmussen et al. 2000, 663-675)(Altuzarra et al. 2007, 160-166)(Chen et al. 2007, 265-269)
<i>Streptococcus mitis</i>	30	(Rasmussen et al. 2000, 663-675)
<i>Streptococcus parasanguis</i>	10	(Rasmussen et al. 2000, 663-675)
<i>Streptococcus gordonii</i>	10	(Rasmussen et al. 2000, 663-675)
<i>Streptococcus constellatus</i>	20	(Rasmussen et al. 2000, 663-675)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0-6	(Jousimies-Somer, Savolainen, and Ylikoski 1989, 2736-2743)(Konno et al. 2006, 83-96)
<i>Corynebacterium</i> ssp.	15-100	(Savolainen, Ylikoski, and Jousimies-Somer 1986, 249-255)(Jousimies-Somer, Savolainen, and Ylikoski 1989, 2736-2743)(Konno et al. 2006, 83-96)(Lina et al. 2003, 18-23)(Uehara et al. 2000, 127-133)(Rasmussen et al. 2000, 663-675)(Bergamini et al. 2000, 105-112)
<i>Corynebacterium accolens</i>	60	(Rasmussen et al. 2000, 663-675)
<i>Corynebacterium propinquum</i>	1	(Rasmussen et al. 2000, 663-675)
<i>Corynebacterium xerosis</i>	26	(Bergamini et al. 2000, 105-112)
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	11	(Bergamini et al. 2000, 105-112)

<i>Corynebacterium urealyticum</i>	10	(Bergamini et al. 2000, 105-112)
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	17-50	(Rasmussen et al. 2000, 663-675)(Bergamini et al. 2000, 105-112)
<i>Corynebacterium striatum</i>	2-11	(Rasmussen et al. 2000, 663-675)(Bergamini et al. 2000, 105-112)
gramnegative Stäbchen	9-18	(Hartog et al. 1995, 672-677)(Konno et al. 2006, 83-96)(Larson et al. 1986, 604-608)
<i>Enterobacteriaceae</i>	6-13	(Jousimies-Somer, Savolainen, and Ylikoski 1989, 2736-2743)(Konno et al. 2006, 83-96)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	10	(Rasmussen et al. 2000, 663-675)
<i>Escherichia coli</i>	10	(Rasmussen et al. 2000, 663-675)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<1-1	(Konno et al. 2006, 83-96)
<i>Propionibacterium</i> spp.	0-18	(Hartog et al. 1995, 672-677)
<i>Propionibacterium acnes</i>	46-75	(Savolainen, Ylikoski, and Jousimies-Somer 1986, 249-255)(Jousimies-Somer, Savolainen, and Ylikoski 1989, 2736-2743)
<i>Micrococcus</i> spp.	1	(Lina et al. 2003, 18-23)
<i>Micrococcus luteus</i>	10	(Rasmussen et al. 2000, 663-675)
<i>Gemella</i> spp.	10	(Rasmussen et al. 2000, 663-675)
<i>Bacillus</i> spp.	10	(Rasmussen et al. 2000, 663-675)
Pilze	1-42	(Konno et al. 2006, 83-96)(Sellart-Altisent et al. 2007, 125-130)
<i>Aspergillus</i> spp.	2-21	(Sellart-Altisent et al. 2007, 125-130)
<i>Cladosporium</i> spp.	24	(Sellart-Altisent et al. 2007, 125-130)
Sprosspilze (Hefen)	<1-68	(Bonassoli and Svidzinski 2002, 311-313)(Bonassoli and Svidzinski 2002, 311-313)
kein Wachstum in der Kultur	10-21	(Hartog et al. 1995, 672-677) (Konno et al. 2006, 83-96)(Linoli, Marconi, and Garaffa 1981, 151-161)

Die weite Spannbreite der Werte lässt sich durch unterschiedliche Studiendesigns beim Einsatz kulturbasierter Methodik erklären. Die Bakterien wurden dabei je nach Design in aerobe und anaerobe Bakterien, grampositiv oder gramnegativ, Methicillin-resistenten und nicht Methicillin-resistenten Bakterien aufgeteilt. Die Studien listeten die Bakterien und Pilze nach ihrer Taxonomie auf oder grenzen die Untersuchungen auf pathogene Spezies ein. Es wurden Kohorten von kranken und gesunden Probanden gebildet und es wurde die Nase in unterschiedliche Areale unterteilt und untersucht.

Die nasale Mikrobiota unterscheidet sich interindividuell in der Dichte der Besiedlung und grundsätzlich von der Besiedlung des Pharynx (Rasmussen et al. 2000, 663-675). Gramnegative Bakterien sind beispielhaft dafür.

Die Nasenhöhle ist ein Habitat für verschiedene diphteroide Spezies, die als pathogene Opportunisten gelten. Unter bestimmten Bedingungen können einzelne Bakterien in begrenzten Arealen der Nasenmucosa überwiegen. Eingeschlossen sind damit auch IgA1-Protease produzierende Bakterien.

Pathogene Bakterien, die eine Sinusitis hervorrufen können, werden bei gesunden Probanden nur selten gefunden (Jousimies-Somer, Savolainen, and Ylikoski 1989, 2736-2743; Konno et al. 2006, 83-96). Unter ihnen sind *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Branhamella catarrhalis* und *Streptococcus pyogenes*. Bei Erkrankten mit akuter Sinusitis steigt ihr Anteil um ein Vielfaches an, während sich die physiologische Mikrobiota verringert (Konno et al. 2006, 83-96). Unter ihnen sind Corynebakterien, Koagulase-negative Staphylokokken, *Propionibacterium acnes* und *Staphylococcus aureus*.

In jüngster Vergangenheit konnten erste Studien unter Verwendung nichtkulturbasierter, molekulare Methodik die Beschränkung der bisherigen Methodik auf in vitro-kultivierbare Mikroorganismen überwinden. In einem metagenomischen Ansatz konnte ein neues Bild der Mikrobiota der vorderen Nasenhöhle erstellt werden (Wos-Oxley et al. 2010, 839-851). Die nachgewiesenen Bakterien wurden nach ihrer Einteilung in Familien und Gattungen mit ihren relativen Häufigkeiten in Diagrammen dargestellt.

1.1.3 Anatomie der Nase

Die Nase kann anatomisch in Nasenvorhof (*Vestibulum nasi*) und Nasenhöhle (*Cavitas nasi*) unterteilt werden. Die Grenze wird von einer bogenförmigen Leiste (*Limen nasi*) geformt. Die Nase ist paarig angelegt, unterteilt vom Nasenseptum (*Septum nasi*). Das Vestibulum steht über die Nasenlöcher (*Nares*) als Eingang in den Respirationstrakt im engen Kontakt mit der äußeren

Körperoberfläche. Die Choanen bilden dorsal den Übergang in die Pars nasalis pharyngis des Nasen-Rachen-Raumes. Seitlich ist die Nasenhöhle mit den Nasennebenhöhlen (*Sinus paranasales*) verbunden.

Das Vestibulum ist mit einem mehrschichtigen verhornenden Plattenepithel ausgekleidet. In der Tunica mucosa befinden sich apokrine Drüsen (*Glandulae vestibulares*) und kräftige Haare (*Vibrissae*). Am Übergang vom Vestibulum zur Cavitas nasi befindet sich innen eine bogenförmige Leiste (Limen nasi) und ein etwa 1,5 mm breiter Schleimhautbezirk mit ausgeprägtem Kapillargeflecht (Locus Kiesselbachii). Die Nasenhöhle kann über diesen Bezirk hinaus nur mit Hilfsmitteln erreicht werden. Die Cavitas nasi ist zum größten Teil mit einem respiratorischen Epithel ausgekleidet. Dieses Epithel ist ein mehrreihiges Flimmerepithel, versetzt mit Becherzellen, um Partikel aus der Atemluft nach dorsal zu befördern. Drüsen in der Schleimhaut (*Glandulae nasales*) sorgen für eine Befeuchtung.

Die Nasenhöhle ist pyramidenförmig mit der Verbreiterung nach kaudal. Drei Nasenmuscheln (*Conchae nasales*) und der Gaumen bilden die Begrenzungen für drei übereinander liegende Nasengänge (*Meatus nasi*). Im vorderen Teil des unteren Nasenganges (*Meatus nasi inferior*) liegt die Mündung des Tränennasenkanals (*Apertura ductus nasolacrimalis*). Im mittleren Nasengang (*Meatus nasi medius*) liegen die Öffnungen zu den Sinus maxillaris, Sinus frontalis und den vorderen und mittleren Siebbeinzellen. Im oberen Nasengang liegen die Öffnungen zu den hinteren Siebbeinzellen. Im Recessus sphenoidalalis liegt die Öffnung zur Keilbeinhöhle (*Apertura sinus sphenoidalalis*). Am Boden der Nasenhöhle befindet sich im vorderen Drittel eine Vertiefung (*Fossa incisiva*), die über einen Kanal (*Canales incisivi*) mit der Mundhöhle in Verbindung steht. Die Kanäle aus beiden Nasenhöhlen vereinigen sich nach kaudal und münden im Dach der Mundhöhle (*Foramen incisivum*).

Im Nasenvorhof und in der Nasenhöhle kann sich die Mikrobiota auf Grund des ungleichen Aufbaus der Epithelien unterscheiden. Bei etwa 30% der potentiell pathogenen Bakterien wurden zudem Unterschiede in der rechten und linken

Nasenhöhle gefunden. Etwa 20% der potentiell pathogenen Bakterien wurden nur im Nasenvorhof gefunden, 10% nur in der Nasenhöhle (Gluck and Gebbers 2000, 426-428).

1.1.4 Die Interaktion von Bakterienspezies untereinander

Die Mikroorganismen interagieren untereinander. Wachstumsregulation erfolgt durch Konkurrenz um Substrate, Metabolithemmung (bei der Abfallprodukte einer Spezies toxisch für andere Spezies sind) und die aktive Bildung von Bakteriocinen (um antibiotisch gegen artverwandte Bakterien zu wirken) (Nakamura et al. 1983, 609-614, Brook 2005, 139-146). Um den potenten Zellgiften der O₂-Folgeprodukten zu entgehen, besetzen die Anaerobier die ökologische Nische unterhalb der luftnahen Schicht, in der aerobe Bakterien oxidativ tätig sind: ein tiefes Eindringen des Sauerstoffs wird verhindert.

Ein anderer Mechanismus für die Interaktion ist der Wettbewerb der Bakterien um die Anbindung an epithelialen Zellen (Bibel et al. 1983, 700-703). *Corynebacterium* spp. haben dabei eine höhere Affinität für Schleimhaut als *Staphylococcus aureus* und *Staphylococcus aureus* mehr als *Staphylococcus epidermidis* (Uehara et al. 2000, 127-133).

Durch synergistische Effekte verschaffen sich die beteiligten Arten einen Überlebensvorteil. Bei der mikrobiellen Sukzession zum Beispiel findet eine Mineralisierung über den stufenweisen Abbau eines Substrates durch verschiedene Arten statt.

Die Besiedlung des Menschen mit Mikroorganismen hat auch eine Schutzfunktion. Die physiologische Mikrobiota übernimmt die Funktion eines Platzhalters. Sie verhindert, dass andere potenziell pathogene Bakterien und Pilze sich zu stark vermehren können. Die Besiedlung leistet damit einen wichtigen Beitrag zur Abwehr pathogener Bakterien und Pilze (Brook 2005, 139-146).

Bestimmte Bakterien sind gehäuft zeitgleich zu finden (Lina et al. 2003, 18-23). Das Auftreten von *Staphylococcus aureus* korrelierte negativ mit dem Auftreten von *Corynebacterium* ssp. und anderen Staphylokokken, speziell

Staphylococcus epidermidis. Die meisten Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA) Stämme trugen das agr-1_{SA} Gen (van Leeuwen et al. 2000, 5721-5729). Diese sind assoziiert mit einer niedrigen Rate von *Corynebacterium* spp. und agr-3_{SE} *Staphylococcus epidermidis* (Lina et al. 2003, 18-23). Mittels Metagenomik-Methodik konnte in der Arbeit von Wos-Oxley et al. (Wos-Oxley et al. 2010, 839-851) zum ersten Mal die Häufigkeitsverteilung von Corynebakterien nachgewiesen werden. *Corynebacterium accolens* konnte ubiquitär nachgewiesen werden; *Corynebacterium macginleyi*, *Corynebacterium propinquum*, *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* und *Corynebacterium tuberculostearicum* wurden häufig nachgewiesen.

Eine positive Korrelation zwischen dem Vorkommen von *Staphylococcus aureus* und *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* konnte nachgewiesen werden. Der Nachweis von *Corynebacterium accolens* korrelierte negativ mit dem Nachweis von *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes* und *Staphylococcus epidermidis*. Weiterhin konnte eine negative Korrelation zwischen *Staphylococcus aureus* und *F. magna* gefunden werden.

1.2 Infektion

Die Begriffe der Besiedlung oder Kolonisierung sind vom Begriff der Infektion mit einem Krankheitserreger zu trennen. Unter einem Krankheitserreger versteht man „was Krankheit verursacht“ (INM and Joanneum Research 2003). Die Besiedlung bzw. Kolonisierung ist zunächst nicht als krankmachend zu verstehen.

Die Besiedlung kann jedoch Quelle von Infektionserregern sein (endogene Infektion). Dies kann auftreten, wenn Patienten im Rahmen einer Therapie oder in Folge von Krankheit immunsupprimiert sind oder die Barrieren zu sonst sterilen Bereichen des Körpers durch Schädigung beeinträchtigt sind, zum

Beispiel bei offenen Wunden, Verbrennungen oder iatrogenen Behandlung (Venenverweilkanüle, zentralen Venenkatheter).

Weiter gibt es nosokomiale ([zu gr. = Krankenhaus]: zu einem Krankenhaus gehörend, Krankenhaus..., in einem Krankenhaus erfolgend (INM and Joanneum Research 2003)) Infektionen. Eine nosokomiale Infektion ist: „Eine Infektion mit lokalen oder systemischen Infektionszeichen als Reaktion auf das Vorhandensein von Erregern oder ihrer Toxine, die im zeitlichen Zusammenhang mit einer stationären oder einer ambulanten medizinischen Maßnahme steht, soweit die Infektion nicht bereits vorher bestand.“ (§ 2 IfSG). Als zeitlicher Zusammenhang wird im Allgemeinen eine stationäre Aufnahme von länger als 48h angenommen.

Die nasale Besiedlung mit *Staphylococcus aureus* konnte als endogene Quelle und Risikofaktor für nachfolgende Infektionen mit dem Erreger gezeigt werden (siehe Abschnitt 1.4.1).

1.3 Die Kolonisierung der Nasenhöhle bei Funktionsstörung

Die Nase dient der Erwärmung, Anfeuchtung und Reinigung der Luft, bevor diese in die Lunge gelangt. Wird die Nase nicht mehr von Luft durchströmt, wie zum Beispiel durch eine Laryngektomie mit permanentem Tracheostoma (Cvetnic, Skrlin, and Rak 1996, 26-28) oder bei einer Obstruktion durch eine chronische Sinusitis (Brook and Frazier 2005, 595-597), entwickelt sich die Besiedlung gänzlich anders.

Die Frequenz der Zilienbewegung als wichtige Funktion zur Reinigung der Schleimhaut ist direkt nach der Laryngektomie erhöht, normalisiert sich dann aber im Verlauf (Fisher, Lund, and Rutman 1992, 5-10). Ein Jahr nach Laryngektomie ist die Nase entweder steril (53%), mit physiologischer Mikrobiota besiedelt (27%) oder mit *Candida* spp. kolonisiert (20%) (Cvetnic, Skrlin, and Rak 1996, 26-28).

Bei der chronischen Sinusitis sind nur wenige Nasenhöhlen steril (4%). Die Mikrobiota besteht aus aeroben und anaeroben Bakterien (48%), ausschließlich aerobe wurden bei 13% der Patienten gefunden, ausschließlich anaerobe bei 39%. Unter den aeroben Bakterien waren *S. aureus*, *Streptokokken*, *Haemophilus influenzae* und *Moraxella catarrhalis* dominant, unter den anaeroben Bakterien waren es *Peptostreptococcus spp.*, *Prevotella spp.*, *Porphyromonas asaccharolytica* und *Fusobacterium spp.* (Brook and Frazier 2005, 595-597).

1.4 Beschreibung der Bakterien und Pilze

Zu den grampositiven Bakterien, die wichtig für eine Untersuchung der nasalen Mikrobiota sind, zählen *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Micrococcus* und *Kocuria* sowie *Propionibacterium*.

Zu den wichtigen gramnegativen Stäbchenbakterien zählen *Enterobacteriaceae* und die Gruppe der Nonfermenter.

1.4.1 Staphylokokken

Staphylokokken wurden zuerst von Pasteur und Koch beobachtet und kultiviert, die ersten Studien wurden jedoch von Ogston (1881), der ihnen auch den Namen gab, und Rosenbach (1884) durchgeführt. Rosenbach konnte *S. aureus* bei Wundinfektionen und Furunkulose nachweisen. *S. epidermidis* teilte er der physiologischen Mikrobiota der Haut zu (Fluit and Schmitz 2003).

Bakterien der Gattung *Staphylococcus* (aus gr. *σταφυλή* = Weintraube und von gr. *κόκκος* = Kern; Beere (INM and Joanneum Research 2003)) sind grampositive Kokken mit einem Durchmesser von 0,5-1,5 μm , die einzeln, paarig, in Tetraden, kurzen Ketten (3-4 Zellen) oder irregulär gehäuft, traubenförmig vorkommen. Sie sind unbeweglich, nicht Sporen bildend und Katalase positiv, bis auf *S. saccharolyticus* und *S. aureus ssp. anaerobius* (Balows et al. 1991; Balows et al. 1991). Zunächst wurden die Staphylokokken

zur Familie der *Micrococcaceae* gerechnet. Zurzeit werden sie der neu vorgeschlagenen Familie der „*Staphylococcaceae*“ zugeordnet (Garrity, Bell, and Lilburn 2004).

Natürliche Habitate der Staphylokokken umfassen die Haut und Schleimhäute des Menschen und die Umwelt, einschließlich Lebensmittel.

Eingeteilt werden die Staphylokokken mit Hilfe der Koagulasereaktion in positiv und negativ. Bei der Koagulasereaktion wird die Verklumpung eines Gemisches aus den zu testenden Bakterien, einer physiologischen Kochsalzlösung und Citratplasma getestet. Zu den Koagulase-positiven Staphylokokken zählt als humanmedizinisch klinisch bedeutendster Vertreter *S. aureus*.

Sinnvoll ist die Abgrenzung zu den Koagulase-negativen Staphylokokken wegen der Krankheitsbilder, die sich in Pathogenese, Klinik, Diagnostik und Therapie unterscheiden. *S. aureus* als Vertreter der Koagulase-positiven Staphylokokken ist in erster Linie für Lokalinfektionen (oberflächlich eitrig oder tief invasiv), Endokarditis, Sepsis, und toxinbedingte Syndrome (Staphylococcal-Scalded-Skin-Syndrom, Toxic-Shock-Syndrom, Nahrungsmittelintoxikation) verantwortlich. Koagulase-negative Staphylokokken kann man anhand der klinischen Entitäten, die sie erzeugen, in die *S. epidermidis*-Gruppe und *S. saprophyticus*-Gruppe unterteilen. Zur ersten, die vor allem Fremdkörper-assoziierte Infektionen („Endoplastitis“), Sepsis und Peritonitis hervorruft, gehören *S. epidermidis*, *S. hominis*, *S. warneri* und *S. capitis*. Zur zweiten, die vor allem Harnwegsinfektionen hervorruft, gehören *S. saprophyticus*, *S. xylosus* und *S. cohnii*.

Becker et al. und Mellmann et al. entwickelten eine Referenz-Datenbank für Staphylokokken-Spezies und Subspezies (Mellmann et al. 2006). Es konnten 55 Isolate identifiziert werden. Als Methode zur Unterscheidung wurde die Sequenzierung der RNA Polymerase B (*rpoB*; Nukleotide 1444-1928) durchgeführt. Diese Methode zeigte sich gegenüber der Unterscheidung mittels Phänotypisierung überlegen. Die Autoren schlagen vor bei unbekanntem Organismen 16S rDNA zu sequenzieren, da universale Primer für diese Methode gut verfügbar sind. Jedoch sollte bei Bekanntheit des Genus eine

Sequenzierung der RNA Polymerase B durchgeführt werden, da diese Methode im Vergleich bessere Ergebnisse zeigte.

Mikroorganismen können durch niedermolekulare Stoffwechselprodukte von Pilzen oder Bakterien oder chemisch hergestellten Produkten in ihrem Wachstum gehemmt oder abgetötet werden. Diese Erkenntnis konnte seit Anfang des 20. Jahrhunderts genutzt werden, indem es gelang, Antibiotika in größeren Mengen herzustellen. Das erste Antibiotikum war Salvarasan (Paul Ehrlich 1910) gegen Spirochäten. Später kam Sulfonamid auf den Markt (Gerhard Domagk 1935), welches ein erweitertes Wirkungsspektrum aufweist, indem es in den Folsäurestoffwechsel von Mikroorganismen eingreift. Anfang der 1940er Jahre gelang es, das schon 1928 von Alexander Flemming entdeckte Penicillin großtechnisch herzustellen. Damit schien der Kampf gegen Mikroorganismen gewonnen. Aber schon 1944 entwickelte *S. aureus* eine Resistenz (Kirby 1944, 452-453) gegen Penicillin. Das seit 1960 produzierte Antibiotikum Methicillin war auch wirksam gegen Penicillin-resistente Bakterien (Brumfitt and Hamilton-Miller 1994, 215-224). Aber auch hier entwickelte *S. aureus* eine Resistenz gegen Methicillin (Barber 1961, 385-393). *S. aureus* Stämme mit der Fähigkeit zur Synthetisierung eines Penicillin-Bindeproteins, das vom *mecA*-Gen kodiert wird, werden seitdem in der Gruppe MRSA (Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*) zusammengefasst.

Das Resistenzgen *mecA* kodiert für ein modifiziertes Penicillin-Bindeprotein (PBP2a). Transpeptidasen sind für die Verknüpfung der Zellwandbestandteile verantwortlich. β -Lactam-Antibiotika binden irreversibel an diese Transpeptidasen und inaktivieren sie, die Zellwand kann nicht mehr korrekt synthetisiert werden. Die modifizierten Penicillin-Bindeproteine bauen keine β -Lactam-Antibiotika in die Zellwand ein, das Bakterium ist resistent. Ein weiterer Resistenzmechanismus ist die Bildung eines Enzyms, welches β -Lactam-Antibiotika abbauen kann (Betalactamase).

In der Arbeit von van Belkum et al. (van Belkum et al. 2009, 1820-1826) wurde vorgeschlagen, persistente Träger von *S. aureus* in der Nase von nicht persistenten Trägern zu unterscheiden. Interaktionen zwischen *S. aureus* und

Trägern zeigten sich hochspezifisch durch die Rekolonisierung mit autologer Besiedlung bei persistenten Trägern. Intermittierende und nicht-Träger zeigten ähnliche Kinetik der Elimination und ähnliche Antikörper Konstellationen. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die mittlere Anzahl von Kolonie formenden Einheiten nach künstlicher Inokulation bei nicht-Trägern und intermittierenden Trägern deutlich geringer war als bei persistenten Trägern. Nouwen et al. (Nouwen et al. 2004, 6685-6688) inokulierten Freiwillige mit verschiedenen Stämmen von *S. aureus* und fanden heraus, dass nicht-Träger das Bakterium schnell eliminierten, wohingegen die meisten Träger den original residenten Stamm selektierten. Daraus schlossen Nouwen et al, dass Charakteristiken des Wirtes die Kolonisierung mit *S. aureus* substantziell co-determinieren.

Die Besiedlung der Nase mit *S. aureus* als Quelle für endogene Infektionen konnten von Eiff et al. nachweisen (von Eiff et al. 2001, 11-16). Isolate aus Proben bei Bakteriämien zeigten sich in 82% der untersuchten Patienten identisch mit Proben aus dem Vestibulum der Nase des Erkrankten.

Die Studie von Bode et al. verfolgte die Frage, ob es sinnvoll ist durch Screeningverfahren eine Infektion mit *S. aureus* zu verhindern. Sie kam zu dem Schluss, dass die Zahl der nosokomialen Infektionen reduziert werden kann, wenn *S. aureus* schon bei Aufnahme identifiziert und eradiziert wird (Bode et al. 2010, 9-17).

S. aureus kolonisiert am häufigsten die Nase. Andere Körperstellen, an denen das Bakterium nachgewiesen werden konnte, sind Haut, Perineum und Pharynx, seltener der Gastrointestinaltrakt, Vagina und Axilla (Williams 1963, 56-71). In der allgemeinen Population sind 27% der Probanden in der Nase und 27% an der Hand kolonisiert (Wertheim et al. 2005, 751-762). Persistente Träger sind zu 100% in der Nase kolonisiert und zu 90% an der Hand.

Wertheim et al. (Wertheim et al. 2005, 751-762) propagieren vier Punkte, die zur Kolonisierung der Nase mit *S. aureus* führen: 1. die Nase muss in Kontakt mit *S. aureus* kommen, 2. *S. aureus* muss sich an bestimmte Rezeptoren

haften können, 3. *S. aureus* muss die Abwehr des Wirtes überwinden können, und 4. *S. aureus* muss in der Lage sein sich vermehren zu können.

1.4.2 *Corynebacterium*

Die Gattung *Corynebacterium* ist seit Ende des 19. Jahrhunderts bekannt (Kruse 1886 und Lehmann/Neumann 1896). Ende des 20. Jahrhunderts wurden die Spezies der Gattung näher klassifiziert (Garrity, Bell, and Lilburn 2004; Funke et al. 1997, 125-159). Es handelt sich um grampositive keulenförmige Bakterien (griechisch: *κορύνη* = Keule, Kolben (INM and Joanneum Research 2003)). Sie sind unbeweglich und bilden weder Kapsel noch Sporen. Unter dem Mikroskop kann man bei Gramfärbung die Anlagerung der Bakterien aneinander in V- und Y-Formen (wie Pinselstriche) beobachten. Die Gattung ist nicht säurefest, aerob oder fakultativ anaerob und Katalase positiv. Die das Diphtherietoxin produzierende pathogene Spezies *C. diphtheriae* kommt seit dem Ende des Zweiten Weltkriegs in industrialisierten Staaten selten vor (Balows et al. 1991). Das natürliche Habitat von *Corynebacterium* sind Menschen und Tiere, die in seiner unmittelbaren Umwelt leben (Pferde, Schafe, Nagetiere, Rinder). Gefunden wurden diese Bakterien beim Menschen in intertriginösen Arealen, in den Achselhöhlen, in den vorderen Nasenlöchern und im Rachen (Larson et al. 1986, 604-608; Aly and Maibach 1977, 97-100; von Graevenitz et al. 1998, 2087-2088)

Corynebakterien können sowohl in der Luft als auch an unbelebten Oberflächen von Wohnräumen überleben (Quinn et al. 1984, 668-671; Telander et al. 1988, 55-61).

Die Gattung *Corynebacterium* lässt sich unterteilen in

- nicht lipophil, fermentierend,
- nicht lipophil, nicht fermentierende und
- lipophil.

Zur ersten Gruppe gehören *C. xerosis*, *C. striatum*, *C. amycolatum* und *C. argentoratense*; zur zweiten gehören *C. afermentans*, *C. pseudodiphtheriticum*

und *C. propinquum*; zur dritten *C. jeikeium*, *C. urealyticum*, *C. afermentans*, *C. accolens* und *C. macginleyi* (Funke et al. 1997, 125-159).

In der nasalen Mikrobiota wurde bei 13% - 18,6% der Probanden (Gordts et al. 2000, 184-188; Bergamini et al. 2000, 105-112) *Corynebacterium* gefunden. *C. xerosis* ist die häufigste Spezies (25,8%), gefolgt von *C. pseudodiphtheriticum* (16,1%), *C. jeikeium* und *C. striatum* (beide 10,8%) und *C. urealyticum* (9,7%). Bei älteren männlichen Probanden stieg die Wahrscheinlichkeit Corynebakterien zu finden. Bergamini et al. vermuten einen Zusammenhang zwischen der Kolonisierung von *Corynebacterium* und einer niedrigen Anti-Diphtheria Toxin Immunantwort (Bergamini et al. 2000, 105-112).

Wichtigstes pathogenes Bakterium dieser Gattung ist *Corynebacterium diphtheriae*. Es erzeugt nach Infektion mit einem Phagen Diphtherietoxin, welches die Proteinsynthese in Zellen hemmt. Es zeigt sich das Krankheitsbild der Diphtherie mit typischem Foeter ex ore, bellendem Husten, Heiserkeit, Abgeschlagenheit und Schwierigkeiten beim Atmen mit Stridor.

1.4.3 Streptococcus

Streptokokken wurden am Ende des 19. Jahrhunderts beschrieben (Rosenbach 1884, Billroth, Ehrlich). Morphologisch sind sie 0,5-1 μm groß, rund, sphärisch oder eiförmig und grampositiv. Streptokokken sind eine heterogene Gruppe. Sie ordnen sich auf charakteristische Weise bevorzugt in Paaren oder Ketten an (griechisch gr. *στρεπτός* = gedreht, geflochten; Halsband, Halskette (INM and Joanneum Research 2003)). Sie sind unbeweglich, wachsen fakultativ anaerob und sind Katalase negativ.

Zur Klassifizierung der Gattung *Streptococcus* werden mehrere Systeme verwendet. Es wird nach Hämolyseverhalten auf Blutagar (alpha-Hämolyse (vergrünend), beta-Hämolyse (komplette Hämolyse) und gamma-„Hämolyse“ (keine Hämolyse)), Antigen-Reaktion bei gruppenspezifischen Zellwandproteinen nach Lancefield und biochemischen Reaktionen unterschieden.

Bei der beta-Hämolyse werden keine intakten Erythrozyten innerhalb des Hämolysehofes gefunden. Vergrünende Streptokokken sezernieren H_2O_2 , welches Fe^{2+} zu Fe^{3+} oxidiert. Es entsteht innerhalb des Hämolysehofes ein Biliverdin ähnliches Abbauprodukt. Das Hämolyseverhalten (Schottmüller 1903) ist von klinischer Relevanz, da vergrünende Streptokokken zur physiologischen Mikrobiota gehören, mit Ausnahme von *S. pneumoniae*. Sie können als Opportunisten Krankheiten auslösen. Beta-hämolysierende Streptokokken gelten obligat als pathogene Krankheitserreger. Diese können anhand des C-Polysaccharids weiter in Serogruppen nach Lancefield eingeteilt werden. Streptokokken können in der Mundhöhle, im Pharynx und im weiblichen Genitaltrakt (Balows et al. 1991; Hohwy, Reinholdt, and Kilian 2001, 6055-6063) nachgewiesen werden. Die Besiedlung der Nase nimmt mit zunehmenden Alter ab (Ciftci et al. 2007, 1043-1046), während sie bei deutlich älteren Probanden (>60a) wieder zunimmt (Altuzarra et al. 2007, 160-166).

Streptokokken können Krankheiten des Respirationstraktes und Ohres auslösen, wie Streptokokkenpharyngitis (mit der Sonderform Scharlach), Lobärpneumonie oder Otitis media, aber auch Infektionen der Haut, wie Impetigo contagiosa, Erysipel oder Phlegmone. Gefürchtet sind nach hämatogener Streuung die Pneumokokkenmeningitis und die Endocarditis lenta bei rheumatisch vorgeschädigter Herzklappe.

1.4.4 Enterokokken

Bis Mitte der 1980er Jahre wurden die Enterokokken den Streptokokken als Gruppe D zugeordnet. Seither bilden sie eine eigene Gattung (Ludwig et al. 1985, 543-551; Schleifer and Kilpper-Bälz 1984, 31). *E. faecalis* und *E. faecium* sind medizinisch bedeutsame Spezies. Als typische Vertreter der physiologischen Darmflora werden sie hauptsächlich im Darm gefunden. Sie dienen als Indikator für die Verschmutzung von Wasser (Jin et al. 2004, 245-255).

Enterokokken sind oft bei mikrobiell ausgelösten Harnwegsinfektionen nachweisbar.

1.4.5 *Enterobacteriaceae*

Zu dieser Familie werden zahlreiche gramnegative Stäbchenbakterien geordnet. Zu den wichtigsten humanmedizinisch relevanten Gattungen zählen: *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia*, *Yersinia*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* und *Proteus*. Ihnen ist gemein, dass sie sich in vitro sowohl aerob als auch anaerob vermehren und Glukose sowie andere Zucker oxidativ und fermentativ spalten können. Sie sind fakultativ pathogen. Im Darm (griechisch: *ἔντερον* =Darm (INM and Joanneum Research 2003)) gehören sie zur physiologische Mikrobiota. Ihr natürliches Habitat umfasst neben dem Darm Pflanzen, Erde und Wasser. Teilweise sind sie peritrich mit Flagellen versehen und können sich damit selbstständig fortbewegen. Die Länge variiert zwischen 1 und 5 μm .

Krankheiten, die von Bakterien der Familie *Enterobacteriaceae* ausgelöst werden, sind Harnwegsinfekte, Sepsis, Meningitis, Enteritis, Atemwegsinfektionen und Wundinfektionen.

1.4.6 Nonfermenter

Nonfermenter sind Bakterien, die Kohlenhydrate nicht fermentativ, sondern ausschließlich oxidativ verstoffwechseln. Sie wachsen anspruchslos bei hoher Umweltresistenz ubiquitär besonders in Feuchträumen (Waschbecken, Schwimmbad).

Pseudomonas aeruginosa, *Stenotrophomonas maltophilia* und *Acinetobacter baumannii* kommen an unterschiedlichen Körperstellen vor (Fass et al. 1996, 1412-1418).

Moraxella catarrhalis kann häufig in Nasenabstrichen gefunden werden. Es ist kugelförmig, gramnegativ, aerob, und Oxidase positiv. Mikroskopisch lässt sich gut die Aneinanderlagerung von je zwei Bakterien so genannten Diplokokken beobachten. *Moraxella* konnte bisher ausschließlich beim Menschen gefunden werden. Bei 1-5% der Erwachsenen ist der Respirationstrakt kolonisiert. Bei Kindern liegt die Rate bei 60-100%.

Nonfermenter sind als Erreger nosokomialer Infektionen gefürchtet, u. a. Pneumonien, Sepsis, Meningitis, Wundinfektionen und Harnwegsinfektionen. Chronische Infektionszustände mit Nonfermentern sind insbesondere bei Patienten mit zystischer Fibrose bekannt und wirken sich negativ auf den weiteren Krankheitsverlauf aus.

1.4.7 Weitere Bakterien

Bakterien, die nicht den schon genannten Gattungen und Familien zugeordnet werden können, werden in der vorliegenden Arbeit in einer Gruppe weiterer Bakterien zusammengefasst.

1.4.7.1 *Alloiococcus*

1989 wurde ein unbekanntes Bakterium in Abstrichen von Kindern mit Otitis media entdeckt (Faden and Dryja 1989, 2488-2491). Eingeordnet wurde es zunächst in die Taxonomie als *Alloiococcus otitis* (Aguirre and Collins 1992, 79-83). Später wurde die grammatikalisch richtige Speziesbezeichnung *A. otitidis* vorgeschlagen, die aber taxonomisch noch nicht anerkannt ist. In der Literatur finden sich beide Schreibweisen. In der vorliegenden Arbeit wird die Schreibweise nach der Auflistung in Bergeys Outline (Garrity, Bell, and Lilburn 2004) benutzt. Das Bakterium ist grampositiv, aerob und legt sich in Clustern an, ähnlich wie Staphylokokken. In Abstrichen aus der Nase von Kindern wurden in 8-10,6% der Fälle *A. otitis* gefunden (Durmaz et al. 2002, 265-268; Harimaya et al. 2006, 1009-1014), bei gesunden Probanden gar nicht und bei Sinusitis in 7,4% der Fälle (Kalcioğlu et al. 2003, 143-147). Das natürliche Habitat scheint der Nasopharynx und das äußere Ohr zu sein (Durmaz et al. 2002, 265-268). Untersuchungen zur Kolonisierung der Nase von Erwachsenen liegen nicht vor.

1.4.7.2 *Granulicatella*

Granulicatella, deren Vertreter früher u. a. als Satelliten-Streptokokken bezeichnet wurden, wurde 2000 taxonomisch neu eingeordnet (Collins and

Lawson 2000, 365-369). Das Bakterium ist grampositiv, kugelförmig, nicht beweglich, nicht Sporen bildend, Katalase und Oxidase negativ. Es ist fakultativ anaerob und lässt sich schlecht anzüchten. Es wächst als Satellitenkolonie angrenzend an Staphylokokken (englisch: adjacent=angrenzend). Es bildet auf Schafblutagar eine alpha-Hämolyse.

Granulicatella kann im Mundraum, in der Nase, im Urin und im Blut nachgewiesen werden (Collins and Lawson 2000, 365-369; Paju et al. 2003, 591-597; Aas et al. 2005, 5721-5732; Ohara-Nemoto et al. 2008, 95-99). Das natürliche Habitat ist unbekannt.

1.4.7.3 *Micrococcus* und Verwandte

Die Gattung *Micrococcus* wurde vor mehr als 125 Jahren erstmals beschrieben (Schroeter 1875, Cohn 1872). Es sind grampositive Katalase-positive Kokken. Auf Grund von DNA-Vergleichen musste die Gattung neu geordnet werden (Stackebrandt et al. 1995, 682-692). Stackebrandt unterscheidet die Genera *Kocuria*, *Nesterenkonia*, *Kytococcus* und *Dermacoccus*.

Zur Gattung *Kytococcus* konnte Becker et al. die Spezies *K. schroeteri* hinzufügen (Becker et al. 2002, 1609-1614). Dieses Bakterium konnte u.a. bei einer Endocarditis bei künstlicher Herzklappe nachgewiesen werden (Becker et al. 2003, 1493-1495).

M. luteus und *M. lylae* wachsen aerob und sind nicht beweglich oder Sporen bildend. Beim Menschen wurde *M. luteus* etwa doppelt so häufig (26,2%) wie *M. lylae* (12,2%) gefunden (Szczërba 2003, 67-74). Ihr primäres Habitat ist die Haut von Mensch und Tier. Von diesen wurde die Gattung *Kocuria* getrennt. *Kocuria* spp. sind 0,7-1,5 μm groß und legen sich in paarig, in Tetraden oder Clustern zusammen. Das natürliche Habitat ist Wasser, Boden und die Haut von Mensch und Tier. Kolonien sind bei *K. rosea* pink bis rosa, bei *K. varians* gelb und bei *K. kristinae* weißlich bis leicht orange. *K. rhizophila* wurde zunächst in Flussuferfauna nachgewiesen. Das Bakterium konnte später auch

bei Infektionen beim Menschen nachgewiesen werden (Becker et al. 2008, 3537-3539).

K. varians kommt auf der Haut und auf Schleimhäuten am häufigsten vor (16,4%), gefolgt von *K. kristinae* (7,3%) und *K. rosea* (0,3%) (Szczerba 2003, 67-74).

Die Klassifizierung von *Micrococcus* und Verwandten ist nicht abgeschlossen, *K. varians* wurde 2005 zu *K. carniphila* reklassifiziert (Tvrzova et al. 2005, 139-142), *M. luteus* zu *K. rhizophila* (Tang and Gillevet 2003, 995-997). In der vorliegenden Arbeit wurde die Bezeichnung aus dem automatisch erstellten Befund übernommen, um die Ergebnisse nachvollziehen zu können.

Einen guten Überblick über die umfangreichen taxonomischen Wandlungen in den letzten Jahren zeigt die Arbeit von Becker (K. Becker „Mikrokokken“ – Mikrobiologie und Bedeutung, Mikrobiologe (im Druck)).

Zu den klinisch wichtigen Erkrankungen mit Nachweis von *Micrococcus* und Verwandten zählen u. a. Endokarditis, Pneumonie, Sepsis und Fremdkörper-assoziierte Infektionen, vor allem bei immunsupprimierten Patienten.

1.4.7.4 Propionibacterium

Propionibacterium ist seit der vorletzten Jahrhundertwende bekannt (Gilchrist 1900). Bakterien der Gattung *Propionibacterium* sind grampositive, obligat anaerob bis aerotolerant und nicht Sporen bildende Stäbchen. Im mikroskopischen Präparat erscheinen sie als gebogene Stäbchen. Sie bilden den überwiegenden Teil der Hautflora.

Die Resistenz gegen Antibiotika ist in der vergangenen Dekade gestiegen (Coates et al. 2002, 840-848). Eine Kolonisierung mit *Propionibacterium* vermindert sich bei Anwesenheit von *S. aureus* (Heczko et al. 1981, 233-241).

Propionibakterien sind an der Entstehung von Akne, Komedonen und Abszessen beteiligt.

1.4.8 Pilze

Pilze sind ubiquitär in der Umwelt zu finden. Sie leben auf oder in organischem Material wie zum Beispiel Obst, Gemüse oder den Körpern von Menschen und Tieren. Hefepilze sind auf der Haut und den Schleimhäuten des Menschen Opportunisten, dessen vermehrtes Auftreten auf ein Ungleichgewicht der Hormone, Immunsuppression oder einen übermäßigen Gebrauch von Antibiotika hindeuten kann (Drakos et al. 1993, 203-208). Dermatophyten und *Candida* werden von Mensch zu Mensch durch Schmierinfektion weiter gegeben. Schon in den ersten Tagen nach der Geburt können Pilze in Abstrichen der nasalen Schleimhaut nachgewiesen werden. Nach vier Monaten sind bei nahezu jedem Kind Pilze in der nasalen Schleimhaut nachweisbar (Lackner et al. 2005, 125-129). In der Nase können bis zu neun verschiedene Pilzspezies gefunden werden, der Durchschnitt liegt bei 2,7 (Buzina et al. 2003, 149-161). Die Kolonisierung mit einem Pilz an Haut, Haaren oder Nägeln kann chronisch verlaufen ohne den Menschen in seinem Wohlbefinden zu beeinträchtigen.

Unter den Hefepilzen werden im oberen Respirationstrakt von Kindern und Erwachsenen am häufigsten Pilze der Gattung *Candida* gefunden (Bonassoli and Svidzinski 2002, 311-313; Ejdys 2003, 363-374; Darwazeh, Al-Dosari, and Al-bagieh 2002, 273-277).

Candida albicans ist Teil der Mikrobiota von Schleimhäuten des Respirationstraktes, des Gastrointestinaltraktes und des weiblichen Genitaltraktes. Wegen der Empfindlichkeit gegen Austrocknung ist *C. albicans* nur in feuchter Umgebung nachweisbar.

Typische Erkrankungen mit Pilzen sind mukokutane Formen, wie Haut- und Nagelinfektionen, Soor und gastrointestinale Infektionen und systemischer Befall bei Pneumonie, Meningitis, Perikarditis, Arthritis und Osteomyelitis. Ein großes Problem stellen die Pilzinfektionen bei immunsupprimierten Patienten (Chemotherapie, AIDS) dar.

1.5 Fragestellung

Die nasale Mikrobiota wurde in den letzten Jahrzehnten unter verschiedenen Gesichtspunkten beschrieben. Jedoch fehlt eine aktuelle Erfassung, die den rezenten Veränderungen der Patientenstrukturen, Therapiestrategien und Hygienemaßnahmen im stationären Bereich Rechnung trägt. Die vorliegende Untersuchung geht der Frage nach, inwieweit eine Dynamik der Mikrobiota in der Nase in Bezug auf einen Krankenhausaufenthalt festzustellen ist.

- Mit welchen Bakterien und/oder Pilzen sind die Patienten bei Aufnahme kolonisiert?
- wie wirkt sich der Aufenthalt auf die Mikrobiota aus,
 - d.h. welche Bakterien oder Pilze lassen sich im Verlauf nicht mehr nachweisen?
 - welche treten neu auf?
- Wie entwickelt sich die Mikrobiota nach Entlassung:
 - Lassen sich die neu aufgetretenen Bakterien oder Pilze im Verlauf nicht nachweisen?
 - oder persistieren sie?

Dabei sollen nicht nur die potenziell pathogenen Bakterien und Pilze erfasst werden, sondern bis auf Speziesebene möglichst umfassend alle, die mit Hilfe der Methoden eines modernen mikrobiologischen Routinelabors erfassbar sind.

2 Material und Methoden

2.1 Abstriche

Den Patienten wurde mit einem Wattestäbchen ein Probeabstrich aus dem vorderen Bereich der Nase entnommen. Dazu wurde das Wattestäbchen in den vorderen Teil der Nase eingeführt und das Ende des Wattestäbchens mit einer Wischbewegung gegen die innere Wand der Nase geführt.

2.2 Differenzierung

Von der Direktanlage wurden Isolierungen auf Platten mit Columbia-Agar mit 5% Schafblut (Rezept s. Anhang) und CHROMagar® MRSA-Platte (Fa. CHROMagar® Microbiology, Paris, Frankreich) angelegt. Zur Anreicherung wurde in Zweifelsfällen eine Columbia-Bouillon (Rezept s. Anhang) angelegt und diese nach Bebrütung auf Columbia-Agar-Platte ausgestrichen und bebrütet. Die unterschiedlichen Kulturen wurden mit visueller Kontrolle von der Platte abgenommen und zur Identifizierung weitergeleitet.

2.3 Identifizierung

Zur Identifizierung der Bakterien und Hefen wurden sowohl morphologische Merkmale als auch physiologische Methoden herangezogen. Zunächst wurden die Bakterien und Hefen auf ihre mikroskopische und/oder kulturelle Morphologie hin untersucht. Die physiologische Identifizierung erfolgte dann automatisiert.

2.3.1 Morphologische Identifizierung

2.3.1.1 Hefen

Hefen wurden auf Chromagar (Fa. CHROMagar® Microbiology, Paris, Frankreich) ausgestrichen und nach der Anzucht zur Identifizierung frisch in das

VITEK® 2-System (Fa. bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) gegeben. Als Kontrolle diente die Farbe der Kolonie auf dem Chromagar.

Laborgeräte und Hilfsmittel zur Identifizierung der Hefen siehe Anhang.

2.3.1.1.1 Aufbau und Durchführung

Die Platten mit Chromagar werden im Drei-Ösen-Ausstrich beimpft und 24h bebrütet.

2.3.1.1.2 Art der Auswertung und Interpretation der Ergebnisse

Typische Koloniemorphologie:

- *C. albicans* -grün
- *C. tropicalis* -blau-metallisch
- *C. krusei* -rosa, rau
- andere Arten -weiß bis malvenfarben (rosa-violett)

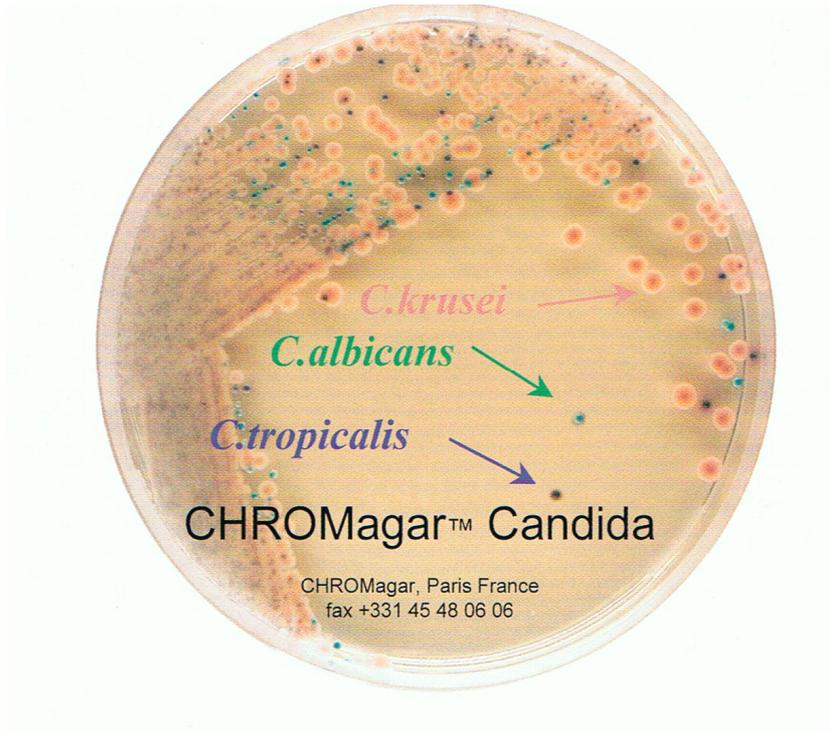


Abb.1: Typische Koloniemorphologie von Hefen auf Chromagar

2.3.1.2 Bakterien

Bakterien wurden auf Columbia-Agar mit 5% Schafblut ausgestrichen und bis zu 48h bebrütet, um dann frisch in die in Frage kommenden Systeme (VITEK® 2, API CORYNE®, ID 32 STAPH®, API 20 NE®, API NH® (Fa. bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) zur Identifizierung überimpft zu werden. Im Zweifelsfall wurden Bakterien mikroskopiert, um sie zunächst durch Färbeverhalten und Form grob zu klassifizieren und dann dem richtigen Testsystem zuzuordnen.

Laborgeräte und Hilfsmittel zur Anzucht der Bakterien auf Columbia-Agar und Columbia-Bouillon siehe Anhang.

2.3.1.2.1 *Aufbau und Durchführung*

Die Platten mit Columbia-Agar werden mit den zu untersuchenden Bakterien beimpft und bis zu 48 h bebrütet.

2.3.1.2.2 *Art der Auswertung und Interpretation der Ergebnisse*

Um Erfahrung in der morphologischen Identifizierung von Bakterien zu sammeln, wurden die Kolonien der Bakterien, die auf Platten mit Columbia-Agar gewachsen sind, untereinander verglichen.

Als Kontrolle diente:

- Aussehen der Kolonien
- Größe der Kolonien
- Farbe der Kolonien
- Geruch
- verschiedene Hämolysetypen
- Art der Schaumbildung im Katalase-Test
- angelegte Kontrollplatten

Die angelegten Kontrollplatten waren mit folgenden Bakterien mindestens ausgezeichnet (95%) identifiziert:

Tabelle 2: Bakterien der Kontrollplatten mit Labornummer

WS 445	<i>Enterobacter amnigenus 1</i>
WS 463	<i>Aerococcus viridans</i>
WS 523	<i>Enterobacter aerogenes</i>
WS 446	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
WS 310	<i>Brevundimonas diminuta/vesicularis</i>
WS 344	<i>Granulicatella elegans</i>
WS 245	<i>Alloiococcus otitis</i>
WS 412	<i>Acinetobacter baumannii</i>
WS 351	<i>Citrobacter koseri</i>
WS 450	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
WS 518	<i>Enterococcus avium</i>
WS 267	<i>Ochrobactrum anthropi</i>
WS 420	<i>Klebsiella oxytoca</i>
WS 490	<i>Aeromonas salmonicida</i>
WS 445	<i>Raoultella ornithinolytica</i>
WS 475	<i>Enterococcus casseliflavus</i>
WS 250	<i>Corynebacterium afermentans/coyleae</i>
WS 119	<i>Corynebacterium amycolatum</i>
WS 219	<i>Corynebacterium argentoratense</i>

WS 144	<i>Corynebacterium group G</i>
WS 77	<i>Corynebacterium jeikeium</i>
WS 287	<i>Corynebacterium macginleyi</i>
WS 390	<i>Corynebacterium propinquum</i>
WS 140	<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>
WS 18	<i>Corynebacterium striatum</i>
WS 645	<i>Corynebacterium urealyticum</i>

2.3.2 Physiologische Identifizierung

Die in der morphologischen Identifizierung gefundenen grampositiven Stäbchen wurden mit Hilfe des API Coryne® identifiziert. Die in der morphologischen Identifizierung gefundenen grampositiven Kokken wurden mit dem GenoType® *Staphylococcus*-Test (Fa. Hain Lifescience, Nehren, Deutschland) identifiziert. Bei Staphylokokken mit der Fähigkeit zur Synthese des zusätzlichen Penicillin-Bindeproteins PBP2a, das vom *mecA*-Gen kodiert wird (= sog. Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus*, MRSA bzw. Methicillin-resistente non-aureus Staphylokokkenspezies; im Text, in den Tabellen und Diagrammen mit MR gekennzeichnet), wurden nur die Abstriche mit einbezogen, die mit dem GenoType® *Staphylococcus*-Test getestet wurden.

Bakterien, die beim GenoType® *Staphylococcus*-Test keine Ergebnisse erbrachten, wurden wie gramnegative Kokken und gramnegative Stäbchen mit dem VITEK® 2 System identifiziert.

2.3.2.1 API Coryne® (Fa. bioMérieux, Marcy l'Etoile, France)

Erforderliche Laborgeräte und Hilfsmittel siehe Anhang

2.3.2.1.1

Aufbau

CE 12136 A

REF : _____ / ____ / ____ / ____

Origine / Source / Herkunft / Origen / Origen / Προέλευση / Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :

API Coryne

BIOMÉRIEUX

1 2 4 1 2 4 1 2 4 1 2 4 1 2 4 1 2 4 1 2 4

NIT PYZ PyrA PAL β GUR β GAL α GLU β NAG ESC URE GEL O GLU RIB XYL MAN MAL LAC SAC GLYG CAT

Autres tests / Other tests / Andere Tests / Otras pruebas / Altri test / Outros testes / Άλλες εξετάσεις / Andra tester / Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση :

Imprimé en France / Printed in France

Abb. 2 Zettel zur Auswertung des API Coryne® (Fa. bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) Teststreifens

API Coryne® ist ein standardisiertes System für die Identifizierung von coryneformen Bakterien innerhalb 24 h, welches miniaturisierte Tests und eine speziell adaptierte Datenbank benutzt. Auf dem API Coryne® Teststreifen befinden sich 20 Vertiefungen, in denen sich dehydrierte Substrate für die Demonstration der enzymatischen Aktivität oder Fermentation von verschiedenen Zuckern befinden (siehe Ablesetabelle API Coryne® im Anhang).

2.3.2.1.2

Durchführung

Die enzymatischen Tests werden mit einer Suspension der zu testenden Bakterien beimpft, welches die enzymatischen Substrate wiederherstellt. Während der Inkubation führt die Metabolisierung zu spontanen oder sich erst nach Zugabe von Reagenzien entwickelnden Farbänderungen.

Die Tests zur Fermentation werden mit einem angereicherten Medium beimpft, welches einen pH-Indikator beinhaltet und die einzelnen Zuckersubstrate in den

Vertiefungen auflöst. Die stattgefundenene Fermentation kann anhand des Farbumschlages bei sinkendem pH-Wert abgelesen werden.

Das Bakterium muss als grampositiv, nicht Sporen bildendes, fakultativ aerob-anaerobes und Katalase positives Stäbchen isoliert worden sein. Um ausreichend frische Bakterien für die Identifizierung zur Verfügung zu haben, werden einige Kolonien auf eine Blutagarplatte ausgestrichen und bei 36° C 24-48 h bebrütet.

Nachdem genug Bakterien für die Testung gewachsen sind, wird eine Inkubationswanne mit etwa fünf ml destilliertem Wasser vorbereitet, um eine feuchte Atmosphäre zu schaffen. Der Teststreifen wird in die Wanne gelegt.

Mit einem sterilisierten Wattestäbchen werden so viele Bakterien ins API Suspension Medium eingebracht, bis mindesten ein McFarland von sechs eingestellt wurde. Die Suspension wird direkt weiter verarbeitet, indem der Teststreifen beimpft wird. Dazu werden mit Hilfe einer Einmalpipette in die ersten elf Vertiefungen etwa 100-150 μ l der Suspension gefüllt. Dabei muss darauf geachtet werden, dass sich keine Blasen bilden. Beim URE-Test wird nur die Tasche gefüllt.

Um die übrigen neun Tests zu befüllen, wird der Rest der Suspension mit Hilfe einer Einmalpipette in API GP Medium eingebracht und gemischt. Auch hier werden zunächst nur die Taschen gefüllt. Durch langsames Einfüllen sollen sich die Zuckersubstrate gut lösen und Blasen vermieden werden. Der Kelch dieser Tests wird ebenso wie der des URE-Testes bis zu einem konvexen Spiegel mit Paraffinöl aufgefüllt.

Mit Deckel versehen wird der Teststreifen für 24 h bei 36° C aerob bebrütet.

Nach der Bebrütung werden folgende Reagenzien zu einzelnen Tests zugefügt:

- NIT-Test: je ein Tropfen NIT 1 und NIT 2
- PYZ-Test: 1 Tropfen PYZ
- PyrA, PAL, β GUR, β GAL, alphaGLU, β NAG-Tests: je ein Tropfen ZYM A und ZYM B

Nach 10 min werden die positiven oder negativen Farbumschläge nach der Tabelle (siehe Anhang: Ablesetabelle API Coryne®) im Programm des miniAPI® eingegeben.

2.3.2.1.3 Art der Auswertung und Interpretation der Ergebnisse

Mit Hilfe einer Software kann am miniAPI® das Bakterium identifiziert werden. Die Software basiert auf der Identifizierungstabelle API Coryne® (siehe Anhang)

2.3.2.2 GenoType® Staphylococcus-Test (Hain Lifescience GmbH, Nehren, Deutschland)

Der GenoType® *Staphylococcus*-Test erlaubt die molekulargenetische Identifizierung der Staphylokokken Spezies *S. aureus*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis*, *S. hominis*, *S. warneri* und *S. simulans*. Zwischenzeitlich wurde der Test um den Nachweis von *S. lugdunensis* ergänzt. Gleichzeitig kann das Methicillinresistenz-vermittelnde *mecA*-Gen sowie der Zweikomponenten-Cytotoxin-Virulenzfaktor PVL (Panton-Valentin-Leukozidin) detektiert werden. Der gesamte Testablauf unterteilt sich in folgende drei Phasen:

- DNA-Isolierung aus Kulturproben
- Multiplex-Amplifikation mit Biotin-markierten Primern
- reverse Hybridisierung

Die Hybridisierung gliedert sich in folgende Arbeitsschritte:

- chemische Denaturierung der Amplifikationsprodukte
- Hybridisierung der Biotin-markierten, einzelsträngigen Amplifikate an membrangebundene Sonden
- Entfernen aller unspezifisch gebundenen Amplifikate
- Zugabe eines Streptavidin/Alkalische Phosphatase (AP)-Komplexes und AP-vermittelte Farbreaktion.

Erforderliche Laborgeräte und Hilfsmittel siehe Anhang

2.3.2.2.1 Durchführung

DNA-Isolierung aus Kulturproben

Es werden bis zu 5 Kolonien des zu testenden Bakteriums mit einer Impföse abgenommen und in 150 μl Wasser suspendiert. Die Bakteriensuspension wird für 10 min bei 95°C im Thermoblock inkubiert. Anschließend wird die Probe für 15 min im Ultraschallbad beschallt. Zuletzt wird die Probe für 5 min bei maximaler Umdrehung zentrifugiert. Direkt nach dem Stopp der Zentrifuge werden 5 μl des Überstandes zur PCR angesetzt.

Multiplex-Amplifikation mit Biotin-markierten Primern

Pro Ansatz werden benötigt:

- 35 μl PNM
- 5 μl 10-fach Polymerase-Puffer
- x μl MgCl₂-Lösung (Je nach eingesetztem Enzym/Puffersystem liegt die optimale MgCl₂-Endkonzentration zwischen 1,5 und 2,5 mM.)
- 1-2 Unit(s) thermostabile DNA-Polymerase (Angaben des Herstellers beachten)
- y μl Wasser zum Auffüllen auf 45 μl (ohne Berücksichtigung des Enzymvolumens)
- 5 μl frisch isolierte DNA-Lösung (20-100 ng DNA) zugeben. Dies ergibt ein Endvolumen von 50 μl (ohne Berücksichtigung des Enzymvolumens)

Einer Kontaminationskontrolle wird statt DAN-Lösung Wasser zugesetzt. Es wird ein Master-Mix erstellt, der bis auf die DNA-Lösung sämtliche zur Amplifikation benötigten Reagenzien enthält. Dieser wird gut gemischt (nicht vortexen).

Tabelle 3: Programmierungsprotokoll für Thermocycler

5 min 95°C	1 Zyklus
30 sec 95°C, dann 2 min 58°C	10 Zyklen
25 sec 95°C, dann 40 sec 53°C, dann 40 sec 70°C	20 Zyklen
8 min 70°C	1 Zyklus

reverse Hybridisierung:

Vorbereitung:

Schüttelwasserbad/TwinCubator® auf 45 °C vorwärmen; die maximal zulässige Abweichung von der Solltemperatur beträgt $\pm 1^{\circ}\text{C}$. Lösungen HYB und STR vor Gebrauch auf 37-45°C erwärmen. Auf Präzipitatzfreiheit achten und gegebenenfalls vorsichtig schütteln. Alle anderen Reagenzien (außer CON-C und SUB-C) auf Raumtemperatur temperieren. Lösung CON-D weist eine leichte Trübung auf. Konjugat-Konzentrat (CON-C, orange) und Substrat-Konzentrat (SUB-C, gelb) werden in geeigneten Gefäßen in der benötigten Menge im Verhältnis 1:100 mit dem zugehörigen Puffer verdünnt (CON-C mit CON-D, SUB-C mit SUB-D), gut gemischt und auf Raumtemperatur temperiert. Pro Membranstreifen werden je 10 µl Konzentrat mit je 1 ml des entsprechenden Puffers verdünnt.

Nach der Vorbereitung wird folgendes Versuchsprotokoll angewandt:

1. Für jede zu untersuchende Probe in die untere Ecke einer Wannenkavität 20 µl Denaturierungsreagenz (DEN, blau) pipettieren.
2. Je 5-20 µl Amplifikat zugeben, durch Auf- und Abpipettieren gut mischen und 5 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
Währenddessen Membranstreifen (STRIPS) mit einer Pinzette aus dem Röhrchen nehmen und mit einem Bleistift unter der Farbmarkierung beschriften. Membranstreifen nur mit Handschuhen berühren.
3. Jeweils 1 ml vorgewärmten und gemischten Hybridisierungspuffer (HYB, grün) zugeben. Die Wanne auf einer Unterlage so lange vorsichtig schwenken, bis die Lösung eine homogene Färbung aufweist.

Darauf achten, dass keine Lösung in benachbarte Kavitäten gelangt.

4. In jede benutzte Kavität einen Membranstreifen legen.

Die Membranstreifen müssen dabei vollständig mit Flüssigkeit bedeckt sein und die beschichtete Seite (kenntlich durch die Farbmarkierung) muss nach oben weisen. Membranstreifen, die sich wenden, mit einer Pinzette zurückdrehen. Zur Vermeidung von Kontaminationen die Pinzette nach jeder Benutzung reinigen.

Dies gilt auch für alle nachfolgenden Inkubations- und Waschschrirte.

5. Wanne für 30 Minuten bei 45°C im Schüttelwasserbad/TwinCubator® inkubieren.

Schüttelfrequenz des Wasserbads so wählen, dass eine stetige Durchmischung der Flüssigkeit erreicht wird, aber eine Kontamination benachbarter Kavitäten durch Spritzen vermieden wird. Um eine gute Wärmeübertragung sicherzustellen, muss die Wanne mindestens zu einem Drittel in Wasser eingetaucht sein.

6. Hybridisierungspuffer vollständig entfernen.

Hierzu z. B. eine mit einer Vakuumpumpe verbundene Pasteurpipette verwenden.

7. Jeweils 1 ml vorgewärmte Stringent-Waschlösung (STR, rot) zugeben und Wanne 15 Minuten bei 45°C im Wasserbad/TwinCubator® unter leichtem Schütteln inkubieren.

8. Von diesem Schritt an bei Raumtemperatur arbeiten. Stringent-Waschlösung vollständig entfernen.

Anschließend Flüssigkeitsreste durch Abklopfen der Wanne auf einer saugfähigen Unterlage entfernen. Dies gilt auch für alle anderen Waschschrirte.

9. Membranstreifen einmal 1 Minute mit 1 ml Rinse-Lösung (RIN) unter stetiger Bewegung auf Horizontalschüttler/TwinCubator® waschen (RIN nach Inkubation abschütten).

10. 1 ml verdünntes Konjugat (s. o.) zu jedem Membranstreifen geben und 30 Minuten auf Horizontalschüttler/TwinCubator® inkubieren.

11. Lösung abschütten und jeden Membranstreifen zweimal je 1 Minute mit 1 ml

Rinse-Lösung (RIN) und einmal mit ca. 1 ml destilliertem Wasser (z. B. Spritzflasche verwenden) auf Horizontalschüttler/TwinCubator® waschen (Lösung jeweils abschütten).

Nach dem letzten Waschschrift Wasser möglichst vollständig entfernen.

12. Je 1 ml verdünntes Substrat (s. o.) zu jedem Membranstreifen geben und lichtgeschützt ohne Schütteln inkubieren. In Abhängigkeit von den Testbedingungen (z. B. der Raumtemperatur) kann die Substratinkubationszeit zwischen 3 und 20 Minuten variieren. Eine zu lang andauernde Substratinkubation führt zu einer Verstärkung der Hintergrundfärbung und kann die Interpretation der Ergebnisse beeinträchtigen.

13. Substratreaktion durch zweimaliges kurzes Waschen mit destilliertem Wasser stoppen.

14. Membranstreifen mit einer Pinzette aus den Kavitäten nehmen und zum Trocknen auf saugfähiges Papier legen.

2.3.2.2 Art der Auswertung und Interpretation der Ergebnisse

Die Membranstreifen werden nach dem Trocknen auf einen Auswertungsbogen geklebt. Mit Hilfe einer Schablone, die dem Kit beiliegt, wird das Bakterium ermittelt. Die auf dem Membranstreifen zusätzlich vorhandenen Reaktionszonen Konjugatkontrolle (CC) und Universalkontrolle (UC) dienen der Kontrolle.

Konjugatkontrolle (CC):

Diese Reaktionszone dokumentiert die Effizienz von Konjugatbindung und Substratreaktion und muss immer entwickelt sein.

Universalkontrolle (UC):

Diese Sonde ist gegen einen hochkonservativen, in allen bisher untersuchten Bakterien-Arten vorkommenden DNA-Abschnitt gerichtet. Sie zeigt damit das Vorhandensein bakterieller DNA sowie die korrekte Durchführung der DNA-

Isolierung und -Amplifikation an. Da als Ausgangsmaterial für diesen Test eine Bakterienkultur eingesetzt wird, sollte diese Reaktionszone entwickelt sein. Die Amplifikation der Kontrollsequenz kann jedoch durch die Amplifikation der spezifischen Sequenz(en) verdrängt werden.

Ist keine der weiteren Banden entwickelt, müssen die Kontrollzonen nach der Testdurchführung ein positives Signal zeigen. In diesem Fall wird das Bakterium der Identifizierung durch das VITEK® 2 System zugeführt.

VITEK® 2 (Fa. bioMérieux, Marcy l'Etoile, France)

Das VITEK® 2-System benutzt 41-47 biochemische Fluoreszenztests zum Nachweis von Enzymen und Stoffwechselprodukten.

Der Identifizierungsprozess gestaltet sich folgendermaßen:

Während der Identifizierung liefert das Gerät Rohdaten. Diese Rohdaten werden bei der 1. Stufe der Interpretation in ein biochemisches Profil umgewandelt. Das biochemische Profil wird während der 2. Stufe der Interpretation analysiert, um ein endgültiges Identifizierungsergebnis zu liefern.

Drei verschiedene Karten kamen im Rahmen der Untersuchung zur Anwendung:

- VITEK® 2 ID-GNB
- VITEK® 2 ID-GPC
- VITEK® 2 ID-YST

2.3.2.3 VITEK® 2 ID-GNB

Die Testkarte dient der Identifizierung gramnegativer Stäbchen.

Es können 101 verschiedene Spezies unterschieden werden:

- 59 *Enterobacteriaceae*
- 17 *Vibrionaceae/Pasteurella*
- 25 Nonfermenter

Die VITEK® 2 gramnegative Identifizierungskarte (ID-GNB) wird zusammen mit dem VITEK® 2 –System (Fa. bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) zur

automatischen Identifizierung von klinisch bedeutsamen, Glucose fermentierenden, gramnegativen Bakterien und Non-Fermentern eingesetzt.

Erforderliche Laborgeräte und Hilfsmittel siehe Anhang

2.3.2.3.1 *Aufbau*

Die Testkarte enthält 41 biochemische Testsf und 2 Testnäpfchen für die Negativkontrollen. Eine Auflistung der Tests findet sich in der Tabelle Testnäpfchen VITEK® 2 ID-GNB im Anhang.

2.3.2.3.2 *Durchführung*

3,0 ml der sterilen Kochsalzlösung werden in das Kunststoff-Teströhrchen gegeben.

Einzelne Kolonien werden von der Agarplatte mit Hilfe einer Impföse abgenommen.

Mit Hilfe des DensiChecks (Fa. bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) wird eine Suspension mit einem McFarland von 0,50-0,63 erstellt.

Der Barcode der Testkarte wird eingelesen.

Das Röhrchen wird zusammen mit der Karte in den Carrier gestellt.

Der Carrier wird in das Gerät VITEK® 2 gestellt. Eine chromatische Tonfolge zeigt das richtige Einsetzen an.

2.3.2.3.3 *Art der Auswertung und Interpretation der Ergebnisse*

Im VITEK® 2-System wird zur Identifizierung eine Methode angewendet, die erstens auf den speziellen Merkmalen der Daten und dem Wissen über die Bakterien und Pilze und zweitens auf den analysierten biochemischen Reaktionen beruht. Von einer großen Zahl bekannter Stämme wurde eine Datensammlung angelegt, die die typische Reaktion der betreffenden Spezies

auf eine aussagekräftige Auswahl biochemischer Substrate enthält. Wenn ein Identifizierungsmuster einer Spezies nicht eindeutig zugeordnet werden kann, wird entweder eine Liste mit Vorschlägen ausgegeben oder die Anmerkung, dass der Stamm sich nicht innerhalb der vorhandenen Datenbasis abbilden lässt. Außerdem werden durch das Expert-System Zusatztests vorgeschlagen, um eine endgültige Identifizierung zu ermöglichen.

2.3.2.4 VITEK® 2 ID-GPC

Die Testkarte dient der Identifizierung grampositiver Kokken.

Es können 53 verschiedene Spezies unterschieden werden: 21 Streptokokken, 20 Staphylokokken, 7 Enterokokken, 2 *Kocuriae*, 1 Microkokken, 1 *Gemella*

Erforderliche Laborgerät & Hilfsmittel:

Siehe erforderliche Laborgeräte & Hilfsmittel VITEK® 2 ID-GNB

2.3.2.4.1 Durchführung

Siehe Durchführung VITEK® 2 ID-GNB

2.3.2.4.2 Art der Auswertung und Interpretation der Ergebnisse

Siehe Art der Auswertung und Interpretation der Ergebnisse VITEK® 2 ID-GNB

2.3.2.5 VITEK® 2 ID-YST

Die Testkarte dient der Identifizierung von Pilzen.

Es können 51 verschiedene Spezies unterschieden werden: 29 *Candida*, 5 Cryptokokken, 2 *Geotrichum*, 3 *Trichosporum*, 2 *Kloeckera*, 2 *Malassezia*, 2 *Pichia*, 2 *Prothotheca*, 3 *Rhodoturula*, 1 *Sporobolomyce*

Erforderliche Laborgeräte & Hilfsmittel:

Siehe erforderliche Laborgeräte & Hilfsmittel VITEK® 2 ID-GNB

Als geeignetes Agarmedium wurde abweichend Chrom-Agar verwendet (Rezept siehe Anhang).

2.3.2.5.1 Durchführung

Siehe Durchführung VITEK® 2 ID-GNB.

Abweichend wurde ein McFarland von 2,0-2,5 in 2,5 ml NaCl 0,45% eingestellt.

2.3.2.5.2 Art der Auswertung und Interpretation der Ergebnisse

Siehe Art der Auswertung und Interpretation VITEK® 2 ID-GNB

2.3.2.6 ID 32 STAPH® (Fa. bioMérieux, Marcy l'Etoile, France)

Erforderliche Laborgeräte und Hilfsmittel siehe Anhang

ID 32 STAPH® ist ein standardisierter Test zur Identifizierung von *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Rothia* und *Aerococcus* anhand von 26 miniaturisierten biochemischen Reaktionen und einer spezifischen Datenbasis.

Der Teststreifen besteht aus 32 Vertiefungen. 26 Vertiefungen enthalten dehydrierte Substrate (siehe Ablesetabelle ID 32 STAPH® im Anhang).

2.3.2.6.1 Durchführung

Nach der Isolierung des zu untersuchenden Bakteriums auf Columbia-Agar wurden möglichst einzelne junge Kolonien von der Platte abgenommen. Es

wurde mit den Bakterien eine Suspension in einem API Suspensionsmedium mit einer Trübung entsprechend dem McFarland 0,5 hergestellt. Die Trübung wurde mit dem DENSIOMAT® geprüft. Der Teststreifen wurde dann manuell mit Hilfe der elektronischen ATB Pipette zu je 55 µl pro Vertiefung beimpft. Die Tests URE, ADH und ODC wurden mit Paraffinöl überschichtet. Abgedeckt wurde der Teststreifen 24 h bebrütet.

Nach 24 h wurden für den Nachweis der Reaktionen je ein Tropfen folgender Reagenzien hinzugefügt:

Tabelle 4: Reagenzien zur Anwendung nach 24h beim ID 32 STAPH®

NIT	NIT1 und NIT2
VP	VP A und VP B
ßGAL bis PyrA	FB

Nach 10 min wurde abgelesen (siehe Ablesetabelle ID 32 STAPH® im Anhang).

2.3.2.6.2 Art der Auswertung und Interpretation der Ergebnisse

Die Ablesung wurde automatisch anhand des miniAPI® vorgenommen. Die Identifizierung erfolgte anhand der Ablesetabelle und Identifizierungstabelle ID 32 STAPH® (siehe Anhang) des miniAPI®. Wenn die Ergebnisse der automatischen Ablesung der vorgeschlagenen Identifizierung widersprach, wurde der Streifen visuell geprüft. Bei abweichenden Reaktionen wurde das Profil über die Tastatur manuell eingegeben.

2.3.2.7 API NH® (Fa. bioMérieux, Marcy l'Etoile, France)

Erforderliche Laborgeräte und Hilfsmittel siehe Anhang

2.3.2.7.1

Aufbau

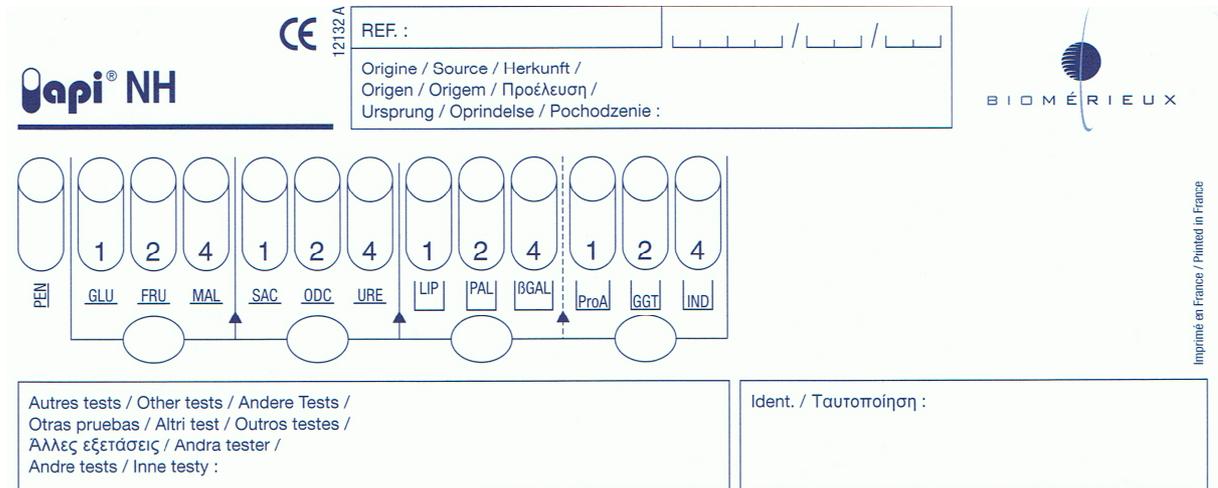


Abb. 3 Zettel zur Auswertung des API NH® (Fa. bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) Teststreifens

API NH® ist ein standardisiertes System zur Identifizierung von *Neisseria*, *Haemophilus* und *Moraxella catarrhalis* anhand von miniaturisierten biochemischen Reaktionen und einer Datenbasis. Der API NH® Streifen besteht aus zehn Mikroröhrchen, die dehydrierte Substrate enthalten. Sie ermöglichen die Durchführung von 12 Identifizierungsreaktionen zur Enzymaktivität und Kohlenhydratfermentation. Die Stoffwechselprodukte, die während der Inkubation entstehen, bewirken Farbumschläge, entweder direkt oder nach Zugabe der Reagenzien.

2.3.2.7.2

Durchführung

Nach der Isolierung des zu untersuchenden Bakteriums auf Columbia-Agar wurden möglichst einzelne junge Kolonien von der Platte abgenommen. Es wurde mit den Bakterien eine Suspension in einem Reagenzglas mit NaCl 0,85% mit einer Trübung entsprechend dem McFarland vier hergestellt. Die Trübung wurde mit dem DENSIOMAT® geprüft.

Der Teststreifen wurde in die befeuchtete Inkubationswanne gelegt.

Mit einer Einmal-Pipette wurden die Mikroröhrchen des Teststreifens mit der gut homogenisierten Suspension beschickt. Dabei wurden bei den ersten sieben Reaktionen nur die Taschen befüllt. Die drei verbliebenen Reaktionen wurden bis zum Kelch befüllt, so dass sich ein konvexer Meniskus bildete. Abgedeckt wurde der Teststreifen 2 h bei 36° C bebrütet.

Nach 2 h wurden die Spontanreaktionen anhand der Ablesetabelle API NH® (siehe Anhang) notiert. Zusätzlich wurden zu den letzten drei Reaktionen je ein Tropfen der folgenden Reagenzien gegeben:

- ZYM B zur Reaktionen 8 und 9
- JAMES zur Reaktion 10

Nach 3 min wurden auch diese drei Reaktionen anhand der Ablesetabelle API NH® (siehe Anhang) notiert.

2.3.2.7.3 *Art der Auswertung und Interpretation der Ergebnisse*

Mit Hilfe einer Software kann am miniAPI® das Bakterium identifiziert werden. Die Software basiert auf der Ablesetabelle und Identifizierungstabelle API NH® (siehe Anhang).

2.3.2.8 API 20 NE® (Fa. bioMérieux, Marcy l'Etoile, France)

Erforderliche Laborgeräte und Hilfsmittel siehe Anhang

2.3.2.8.1 *Aufbau*





REF : _____ / _____ / _____

Origine / Source / Herkunft /
 Origen / Origem / Προέλευση /
 Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :

	NO ₂ NO ₃	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNG	GLU	[ARA]	[MNE]	[MAN]	[NAG]	[MAL]	[GNT]	[CAP]	[ADJ]	[MLT]	[CIT]	[PAC]	OX
24 h	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
48 h																					

Autres tests / Other tests / Andere Tests /
 Otras pruebas / Altri test / Outros testes /
 Άλλες εξετάσεις / Andra tester /
 Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση :

Imprimé en France / Printed in France

Abb. 4: Zettel zur Auswertung des API 20 NE® Teststreifens (Fa. bioMérieux, Marcy l'Etoile, France)

API 20 NE® ist ein standardisiertes System zur Identifizierung von gramnegativen Stäbchen, die nicht zu den *Enterobacteriaceae* gehören, anhand von acht konventionellen Reaktionen, 12 Assimilationsreaktionen und einer Datenbasis. Der Teststreifen besteht aus 20 Mikroröhrchen, die dehydrierte Substrate enthalten (siehe Ablesetabelle API 20 NE® im Anhang). Die Röhrchen mit den konventionellen Tests wurden mit einer Suspension beimpft, welche die Substrate löst. Die Stoffwechselprodukte, die während der Inkubation entstehen, bewirken einen Farbumschlag, entweder direkt oder nach Zugabe von Reagenzien.

Die Röhrchen für die Assimilationsreaktionen wurden mit einem Minimalmedium beimpft. Die entsprechenden Bakterien wachsen nur dann, wenn sie das entsprechende Substrat verwerten können.

2.3.2.8.2 Durchführung

Zunächst wurde Oxidase auf die Columbia-Agar Platte des untersuchenden Bakteriums getropft. Nur bei positivem Resultat (es entwickelt sich sehr schnell eine Blaufärbung) wurde das Bakterium mit API 20 NE® getestet. Es wurden möglichst einzelne junge Kolonien von der Platte abgenommen.

Der Teststreifen wurde in die befeuchtete Inkubationswanne gelegt.

Mit einem Wattetupfer wurden einige frische Kolonien von der Platte genommen und in die Reagenzgläser mit NaCl 0,85% gegeben, bis eine Suspension entsprechend dem Trübungsstandard McFarland 0,5 erreicht wurde. Die Trübung wurde mit dem DENSIOMAT® geprüft.

Diese Suspension wurde in die Taschen der ersten acht Reaktionen gefüllt. Ca. 200 µl der Suspension wurden dann in die Ampulle API AUX Medium pipettiert. Mit dieser neuen Suspension wurden die restlichen 12 Taschen und Kelche gefüllt, so dass sich ein konvexer Meniskus bildete. Die drei Reaktionen GLU, ADH und URE wurden mit Paraffinöl überschichtet.

Abgedeckt wurde der Teststreifen 24 h bei 29° C inkubiert.

Die Ablesung der Reaktionen erfolgt anhand der Ablesetabelle API 20 NE® (siehe Anhang).

Die Ergebnisse der Spontanreaktionen der 3. bis 8. Reaktion (GLU, ADH, URE, ESC, GEL, PNG) wurden notiert.

Zur NO₃ –Reaktion wurde je ein Tropfen NIT1 und NIT2 gegeben, 5 min abgewartet und das Ergebnis notiert. Eine rote Färbung zeigt ein positives Ergebnis an. Bei negativem Ergebnis wurde etwas Zn-Pulver hinzugegeben, um eventuell vorhandene Nitrate durch Zink zu Nitrit zu reduzieren. Es zeigt sich eine rosarote Färbung. Bei positivem Ergebnis bleibt die Reaktion nach Zugabe von Zink farblos. Dann hat sich NO₃ oder N₂ gebildet.

Zur Trip-Reaktion wurde 1 Tropfen JAMES gegeben. Der Farbumschlag nach rosa für eine positive Reaktion erfolgt unmittelbar.

Nach dem Ablesen der konventionellen Tests wurden die ersten beiden Röhrchen geleert, mit Paraffinöl wieder aufgefüllt und der Teststreifen erneut für 24 h bei 29° C bebrütet.

Nach diesen 24 h wurden die Assimilationsreaktionen abgelesen (siehe Ablesetabelle API 20 NE® im Anhang). Eine Trübung zeigte ein Wachstum an.

2.3.2.8.3 Art der Auswertung und Interpretation der Ergebnisse

Die Identifizierung erfolgt mit der Identifizierungssoftware des miniAPI®. Die Software basiert auf der Ablesetabelle und Identifizierungstabelle des API 20 NE® (siehe Anhang).

2.3.2.9 rapid ID 32 STREP® (Fa. bioMérieux, Marcy l'Etoile, France)

Erforderliche Laborgeräte und Hilfsmittel siehe Anhang

2.3.2.9.1 Aufbau

Rapid ID 32 STREP® ist ein standardisiertes System zur Identifizierung von Streptokokken, Enterokokken und den häufigsten verwandten Bakterien in 4 h anhand von 32 miniaturisierten enzymatischen Reaktionen und einer spezifischen Datenbasis. Die Ablesung und Interpretation erfolgt automatisch oder manuell. Der rapid ID 32 STREP® Streifen besteht aus 32 Vertiefungen, die dehydrierte Substrate enthalten (siehe Ablesetabelle rapid ID 32 STREP® im Anhang).

2.3.2.9.2 Durchführung

Die Zugehörigkeit des Bakteriums zur Familie der *Streptococcaceae* wird überprüft anhand der Gramfärbung, Katalasereaktion, Hämolyse und Pigmentbildung. Einige wenige Kolonien werden über 24-48 h bei 37° C auf Columbia-Agar angezüchtet und frisch weiterverarbeitet.

Mit einem sterilen Wattetupfer werden einige Kolonien vom Agar abgenommen.

Es wird eine Suspension im Reagenzglas mit NaCl 0,85%

hergestellt, deren Trübung dem McFarland Standard vier im DENSIMAT® entspricht. Mit der elektronischen ATP Pipette werden in jede Vertiefung des Teststreifens 55 µl der Suspension gegeben. Der Teststreifen wird bedeckt und 4-4 ½ h bei 37° C aerob inkubiert.

Nach der Inkubation werden den Reaktionen in Reihe 1 Reagenzien zugegeben:

Tabelle 5: Reagenzien zur Anwendung nach 24h beim rapid ID 32 STREP®

Reaktion VP	<ul style="list-style-type: none"> • 1 Tropfen VP A Reagenz • 1 Tropfen VP B Reagenz
Reaktion APPA, βGAL, PyrA, βNAG und GTA	<ul style="list-style-type: none"> • 1 Tropfen FB Reagenz
Reaktion HIP	<ul style="list-style-type: none"> • 1 Tropfen NIN Reagenz

2.3.2.9.3 *Art der Auswertung und Interpretation der Ergebnisse*

Die Identifizierung erfolgt nach 5-10 min mit der Identifizierungssoftware des miniAPI®. Die Software basiert auf der Ablesetabelle und Identifizierungstabelle des rapid ID 32 STREP® (siehe Anhang).

2.3.2.10 Prinzip der numerischen Identifizierung und Beurteilung Software des miniAPI®

Die numerische Identifizierung eines Profils für die Tests API Coryne®, API 20 NE®, API NH® und ID 32 STAPH® beruht auf folgenden Berechnungen:

- % id: Relative Annäherung zu den unterschiedlichen Taxa der Datenbank
- T-Wert: Annäherung an das typischste Profil eines Bakteriums (Taxon)

Anhand der Klassifizierung der Taxa kann anschließend ein Identifizierungsergebnis vorgeschlagen werden.

Folgende Schritte werden von der Software berechnet:

1. Die Datenbank besteht aus den Prozentwerten (P) der positiven Reaktionen jedes einzelnen Tests (siehe Identifikationstabellen im Anhang)

2. Die Erscheinungsfrequenz der erkannten Reaktionen F_+ und F_-
- Wird aus den Prozentwerten der positiven oder negativen Reaktionen abgeleitet (siehe Ablesetabelle und Identifikationstabelle im Anhang):

$$P_+ = P/100$$

$$P_- = 1 - (P/100)$$
 - Berücksichtigt die möglichen Ablesefehler:
 a_+ positive Ablesung
 a_- negative Ablesung

Berechnungsformeln:

Für positiv gelesene Reaktion: $F_+ = P_+(1 - a_+) + (a_+ \times P_-)$

Für negativ gelesene Reaktion: $F_- = P_-(1 - a_-) + (a_- \times P_+)$

3. Die Erscheinungsfrequenz des validierten Profils (P_o) eines jeden Taxons entspricht der gesamten Erscheinungsfrequenz der im Taxon erkannten Reaktionen.

Die Erscheinungsfrequenz des typischsten Profils (P_t) wird gleichzeitig berechnet und entspricht der Erscheinungsfrequenz der Reaktionen des typischsten Profils.

4. Die Frequenz wird anschließend genormt, indem jede durch ihre Gesamtsumme geteilt und anschließend mit 100 multipliziert wird, was den Identifikationsprozentwert ($id\%$) ergibt.

Für jedes Taxon wird gleichzeitig eine modale Frequenz (F_m) anhand der typischsten Reaktionen berechnet.

Formel zur Berechnung der modalen Frequenz:

$$F_m = P_o / P_t$$

5. Anschließend werden die Taxa in absteigender Reihenfolge der $\% id$ -Werte klassifiziert. Für die ersten 4 Taxa wird das Verhältnis ihres $\% id$ -Wertes zum nächsten Taxon berechnet. Eines dieser Verhältnisse entspricht dem Höchstwert. Für die Identifizierung wird das Taxon mit

dem Höchstwert angegeben. Anhand der modalen Frequenz wird der T-Wert berechnet.

Formel zur Berechnung des T-Wertes:

$$T = (\log F_m - \log S) / -\log S$$

Der Wert S hängt von der Anzahl der Tests ab.

6. Identifizierung:

Falls nur ein Taxon verbleibt, und sein % id > 80 ist, wird es für die Identifizierung vorgeschlagen. Die Beurteilung wird anhand des % id-Wertes und des T-Wertes ermittelt.

Falls mehrere Taxa verbleiben und der % id-Wert > 80 ist, werden sie für die Identifizierung vorgeschlagen. Die Beurteilung ergibt sich aus % id-Summe und des T-Wert-Durchschnitts.

3 Ergebnisse

3.1 Zusammenfassung der Daten

Es wurden 905 Abstriche vom vorderen Nasenvorhof von 492 Patienten der Universitätsklinik Münster im Zeitraum vom 1. Dezember 2006 bis 3. September 2007 auf ihre Mikrobiota (physiologische bakterielle Flora) untersucht. 68% der Probanden waren Männer, 32% Frauen. Das Alter der Probanden lag zwischen 16 und 95 Jahren, der Durchschnitt lag bei 63 Jahren, der Median bei 67 Jahren.

Von 272 der 492 (55%) Patienten wurde nur zu einem Zeitpunkt ein Abstrich genommen. Dieser wurde nur auf Bakterien der Gattung *Staphylococcus* untersucht.

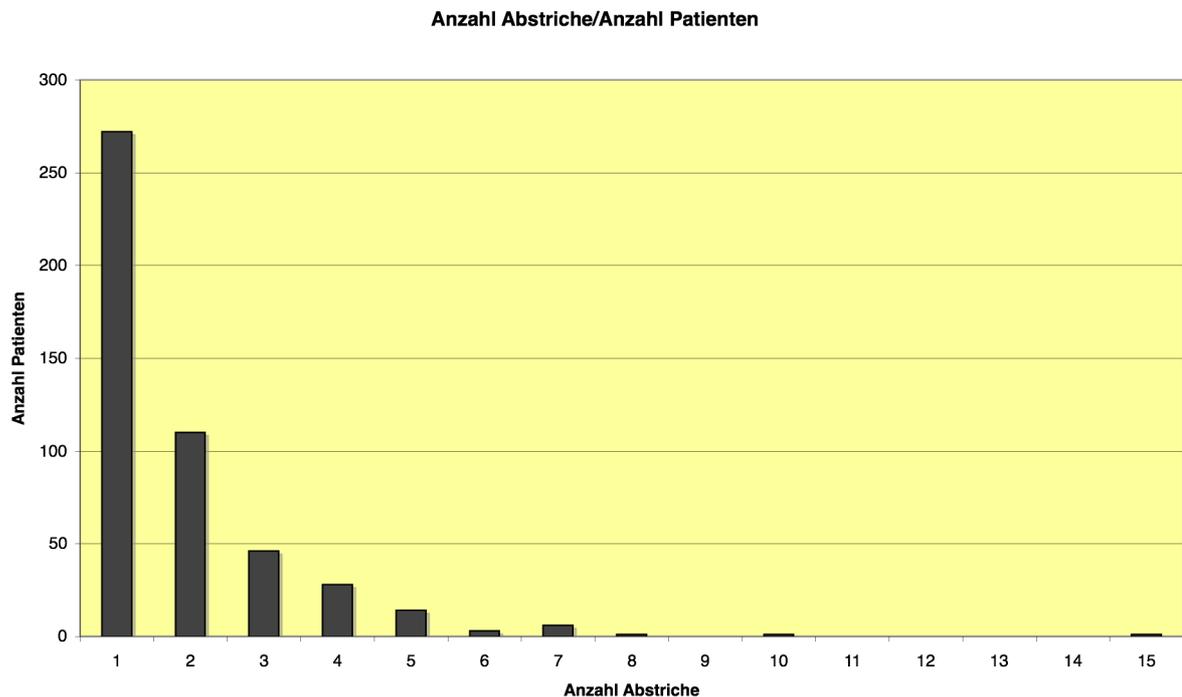


Abb. 3: Anzahl der Abstriche aus der Nase von Patienten im Verhältnis zur Anzahl der Patienten. Untersucht wurden insgesamt 633 Abstriche.

Von 210 Patienten wurde mehr als ein Abstrich untersucht. Bei längerem stationärem Aufenthalt konnten Abstriche im wöchentlichen Turnus entnommen werden.

Bei 35 Patienten wurden zusätzlich Abstriche zwei Wochen und zwei Monate nach Entlassung entnommen.

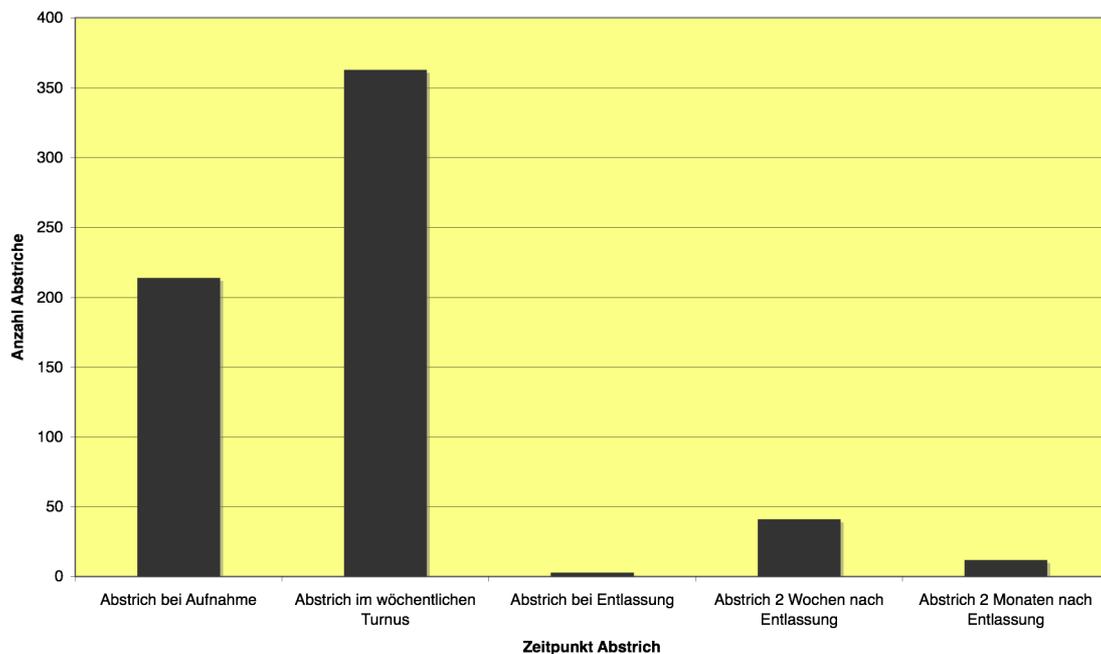


Abb. 4: Zeitpunkt der Probenentnahme aus der Nase von 210 Patienten im Verhältnis zur Anzahl der Abstriche

Zunächst wurde eine Urtablelle mit der Erfassung der Identifikationsgrößen der einzelnen Beobachtungseinheiten (Patientennummer, Labornummer, Name, Vorname, Geburtsdatum, Entnahmedatum der Probe und Abnahmezeitpunkt (bei Aufnahme, wöchentlich, bei Entlassung, zwei Wochen nach Entlassung, zwei Monate nach Entlassung)) und die Ergebnisse der unterschiedlichen Tests, wenn möglich mit Validitäts-Beurteilungen (Validitäts-Beurteilung, id%, T-Wert), angelegt.

Die Bakterien wurden in dieser Urtablelle innerhalb ihrer Gattung (bei *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus*) oder innerhalb einer Gruppe (bei Pilzen, *Enterobacteriaceae*, Nonfermenter, weitere Bakterien) zusammengefasst.

Zur Untersuchung der beiden Merkmale positiver Befund und zeitlicher Zusammenhang mit einem Krankenhausaufenthalt wurden zwei Tabellen zur Häufigkeitsverteilung erstellt. Die erste Tabelle enthält Absolutzahlen, die zweite Relationen. Aus der zweiten Tabelle wurde ein Diagramm zur Übersicht mit den häufigsten Bakterien bzw. Pilze erstellt.

Weiterhin wurde untersucht, inwieweit Bakterien während der Studienperiode permanent oder intermittierend nachgewiesen werden konnten bzw. als während des Krankenhausaufenthaltes erworben (nosokomial) einzustufen sind.

Es wurden insgesamt 110 verschiedene Spezies von Bakterien und Hefen identifiziert.

3.2 Staphylokokken

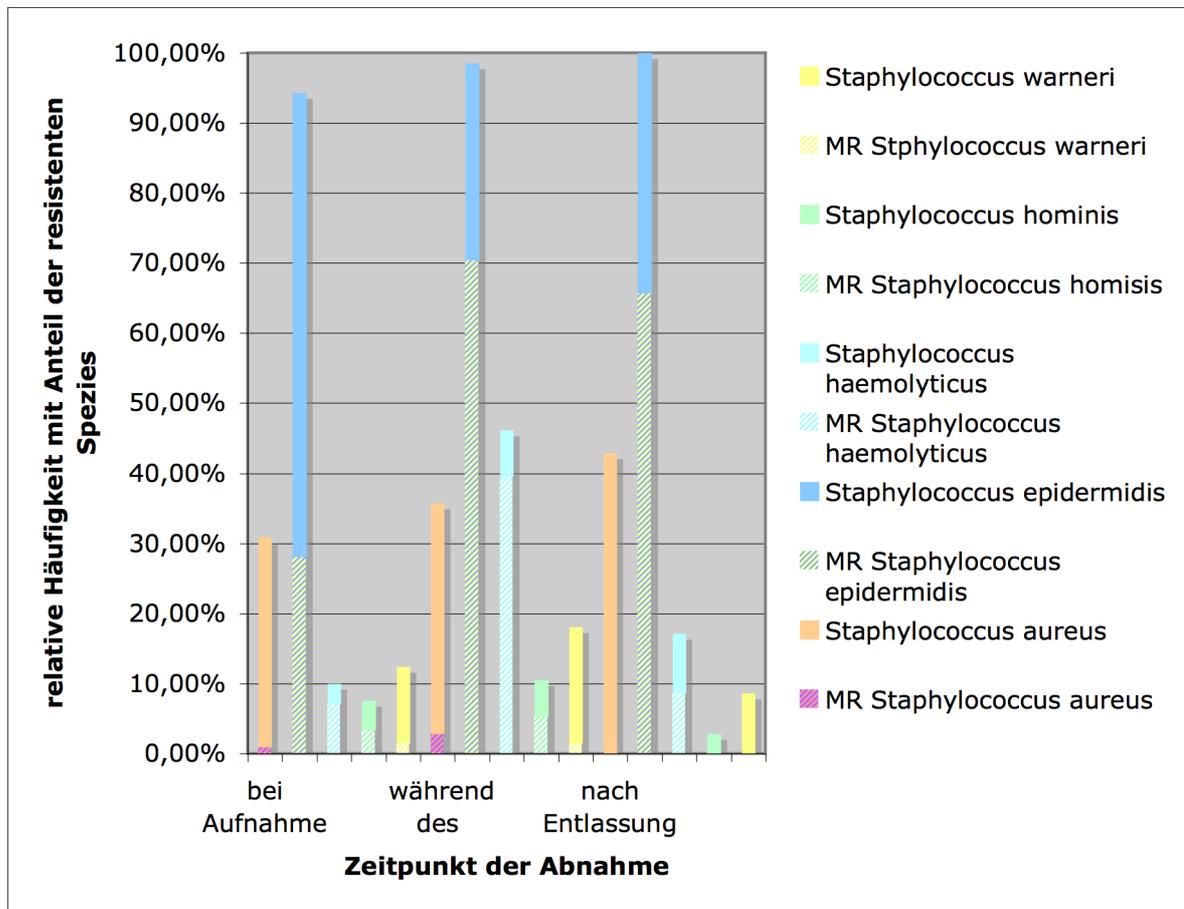


Abb. 5: Diagramm zur Darstellung der relativen Häufigkeiten von Staphylokokken bei der Untersuchung von 210 Patienten im Zusammenhang mit einem Krankenhausaufenthalt. Abkürzung MR kennzeichnet Methicillin-resistente Staphylokokken, die schraffierte Fläche den Anteil der MR-Staphylokokken.

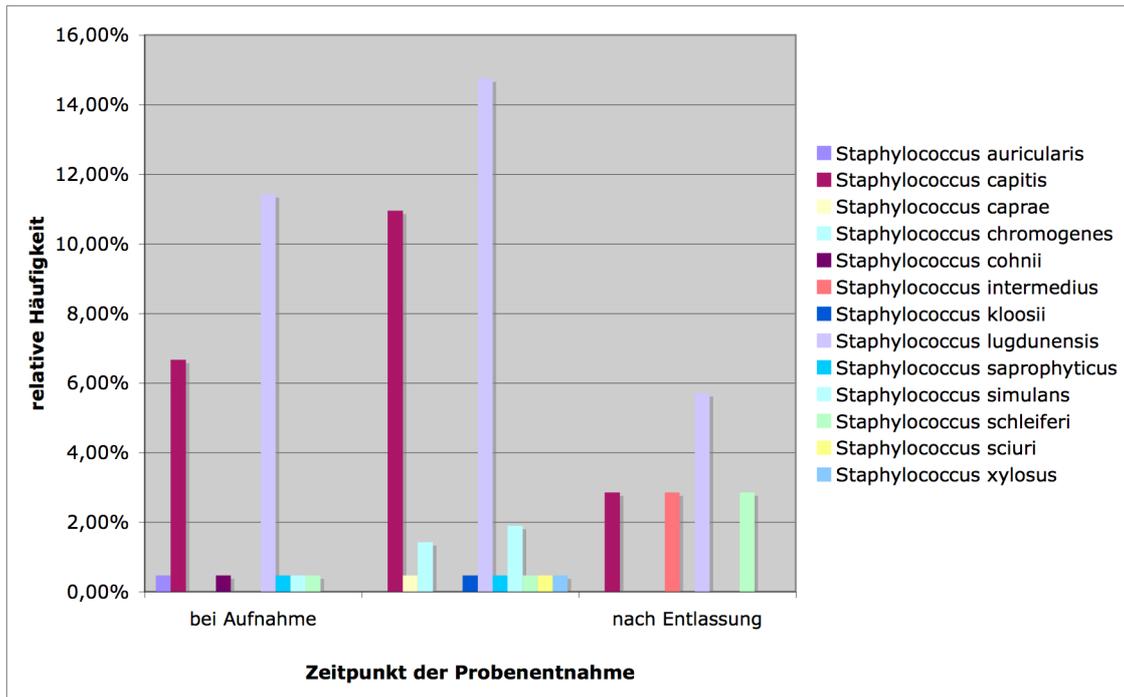


Abb. 6: Diagramm zur Darstellung der relativen Häufigkeiten von Staphylokokken bei der Untersuchung von 210 Patienten im Zusammenhang mit einem Krankenhausaufenthalt.

Insgesamt wurden 18 verschiedene Staphylokokken-Spezies nachgewiesen. Hierbei stellten sich *Staphylococcus epidermidis* (max. 100% nach Entlassung), *Staphylococcus haemolyticus* (max. 46% während des Krankenhausaufenthaltes) und *Staphylococcus aureus* (max. 43% nach Entlassung) als häufigste in der vorderen Nasehöhle vertretene Spezies dar. Hiervon erwiesen sich 3% als Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus*, 70% als Methicillin-resistenter *Staphylococcus epidermidis*, sowie 40% Methicillin-resistenter *Staphylococcus haemolyticus* während des Krankenhausaufenthaltes.

Alle untersuchten Patienten waren mit Bakterien der Gattung *Staphylococcus* in der Nase besiedelt (*S. aureus* 36%, 3% MR-*S. aureus*; *S. epidermidis* 99%, 11% MR-*S. epidermidis*; *S. haemolyticus* 46%, 41% MR-*S. haemolyticus*).

Mehr als zehnmals nachgewiesene Methicillin-empfindlichen Staphylokokken-Vertreter wurden häufiger ausschließlich bei Aufnahme als ausschließlich während des Krankenhausaufenthaltes erworben identifiziert (*S. aureus* 53% bei Aufnahme, 17% während des Krankenhausaufenthaltes erworben; *S.*

epidermidis 11% bei Aufnahme, 9% während des Krankenhausaufenthaltes erworben). Eine Ausnahme bildet *S. haemolyticus*, hier 10% bei Aufnahme und 77% während des Krankenhausaufenthaltes erworben.

Methicillin-resistente Staphylokokken-Vertreter wurden häufiger während des stationären Aufenthaltes nachgewiesen (MRSA 67% der Proben, MR-*S. epidermidis* 61% der Proben). Ausnahme ist hier der MR-*S. warneri*, der nur bei Aufnahme nachgewiesen werden konnte.

S. epidermidis war bei Aufnahme und im wöchentlichen Abstrich zu 80% nachweisbar. Alle anderen Bakterien wurden bei weit weniger als der Hälfte der Patienten in beiden Abstrichen gefunden, bei *S. aureus* in 29% der Fälle.

S. epidermidis war im Vergleich mit allen anderen Bakterien die einzige Spezies, die zu einem hohen Prozentsatz permanent die Nasen der Patienten kolonisierte (83%). Bei *S. aureus* belief sich dieser Prozentsatz auf 9%.

3.3 Pilze

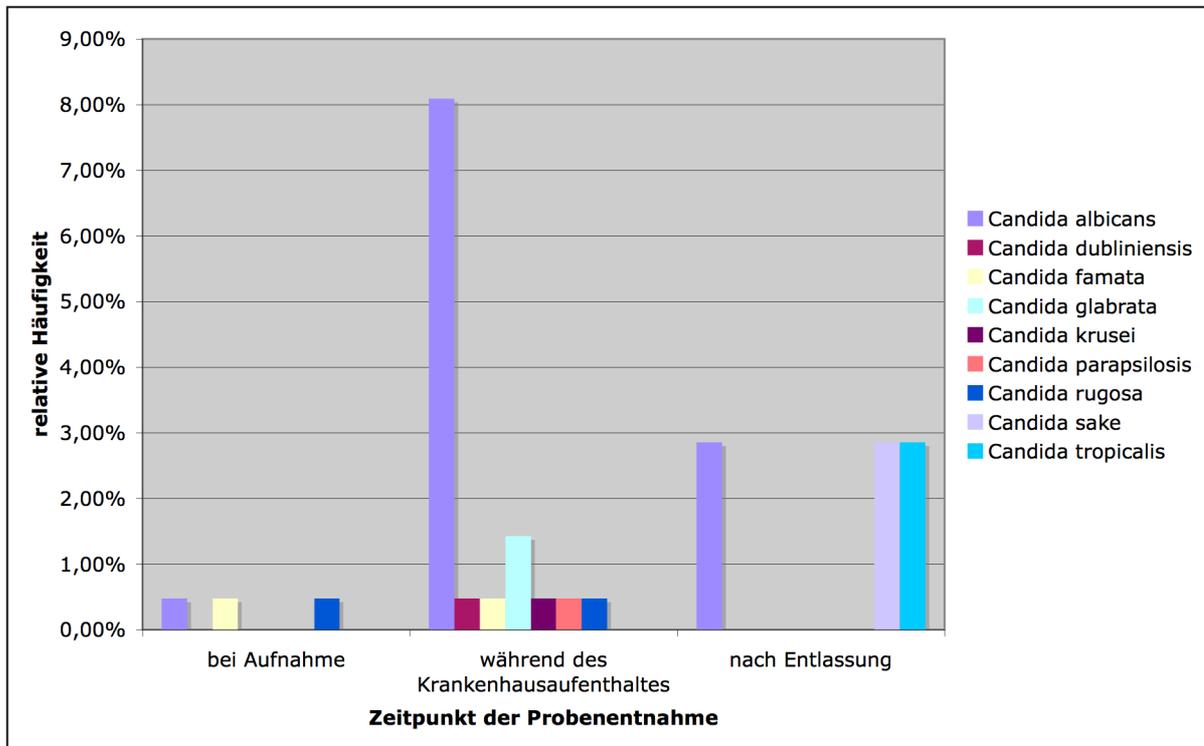


Abb. 7: Diagramm zur Darstellung der relativen Häufigkeiten der Anzahl der Patienten mit positivem Befund bei unterschiedlichen Pilzen bei der Untersuchung von 210 Patienten im Zusammenhang mit einem Krankenhausaufenthalt

Die vorliegende Studie konnte zeigen, dass die meisten untersuchten Patienten (88%) während des Krankenhausaufenthaltes nicht mit Pilzen kolonisiert waren. Die Pilze, die nachgewiesen werden konnten, erwarben die Patienten im Überwiegenden nosokomial. *Candida albicans* (6%) wurde am häufigsten identifiziert.

Es wurden bei vier Patienten zwei Besiedlungen mit Pilzen zwei Wochen nach Entlassung und zwei Besiedlungen mit Pilzen zwei Monate nach Entlassung nachgewiesen. Bei diesen Probanden konnte während des Krankenhausaufenthaltes keine Kolonisierung mit Pilzen nachgewiesen werden.

3.4 Corynebakterien

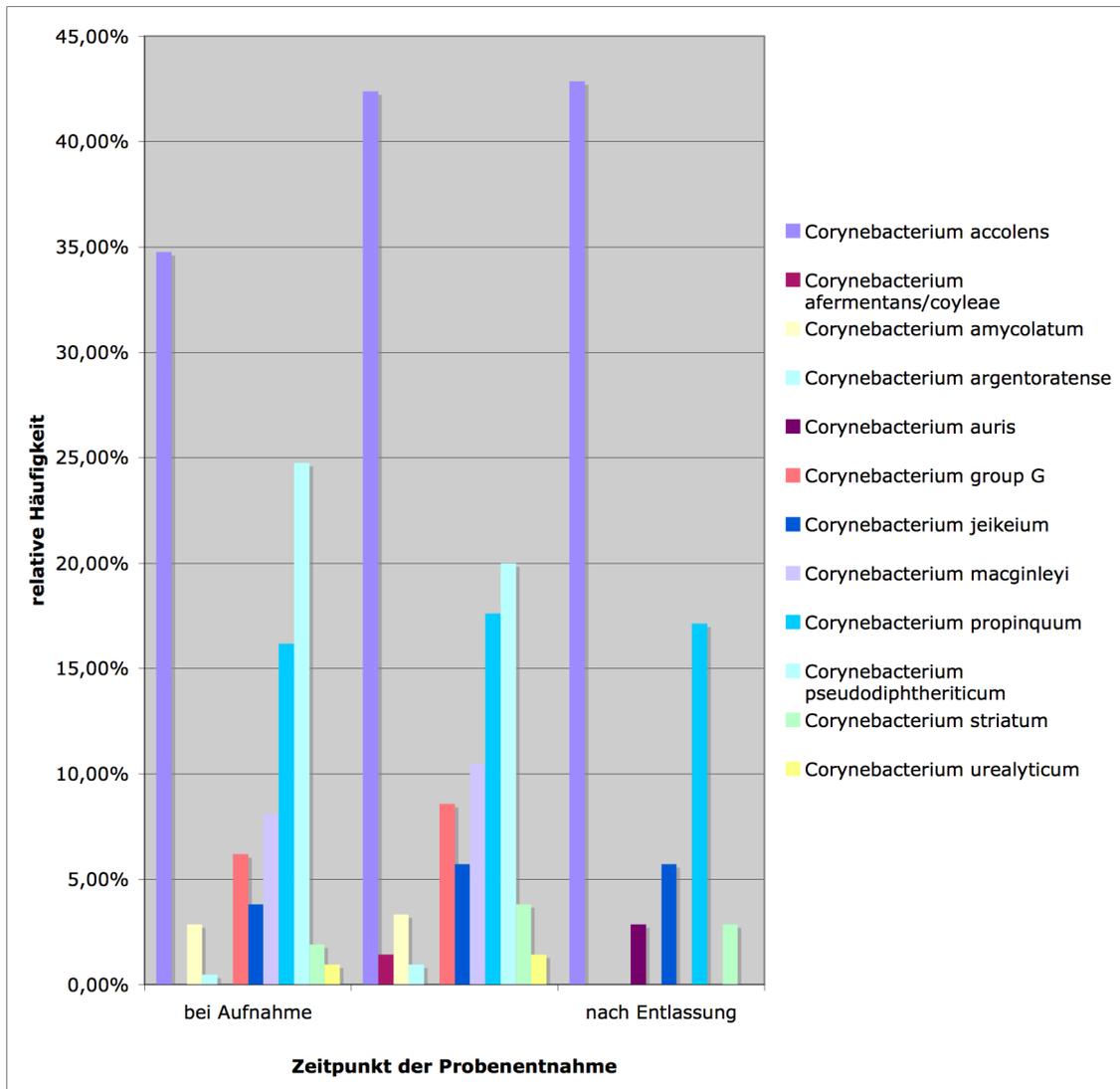


Abb. 8: Diagramm zur Darstellung der relativen Häufigkeiten von Corynebakterien bei der Untersuchung von 210 Patienten im Zusammenhang mit einem Krankenhausaufenthalt

80% der Probanden waren mit einer Spezies Corynebakterien kolonisiert. Nur ein kleiner Teil der Patienten, die kolonisiert waren, wurde nosokomial mit Corynebakterien besiedelt (12%), der größere Teil war schon bei Aufnahme kolonisiert (51%).

Persistent nach dem Krankenhausaufenthalt und permanent in allen Abstrichen ist zu einem geringen Anteil nur *Corynebacterium accolens* (11%) zu finden.

3.5 Streptokokken

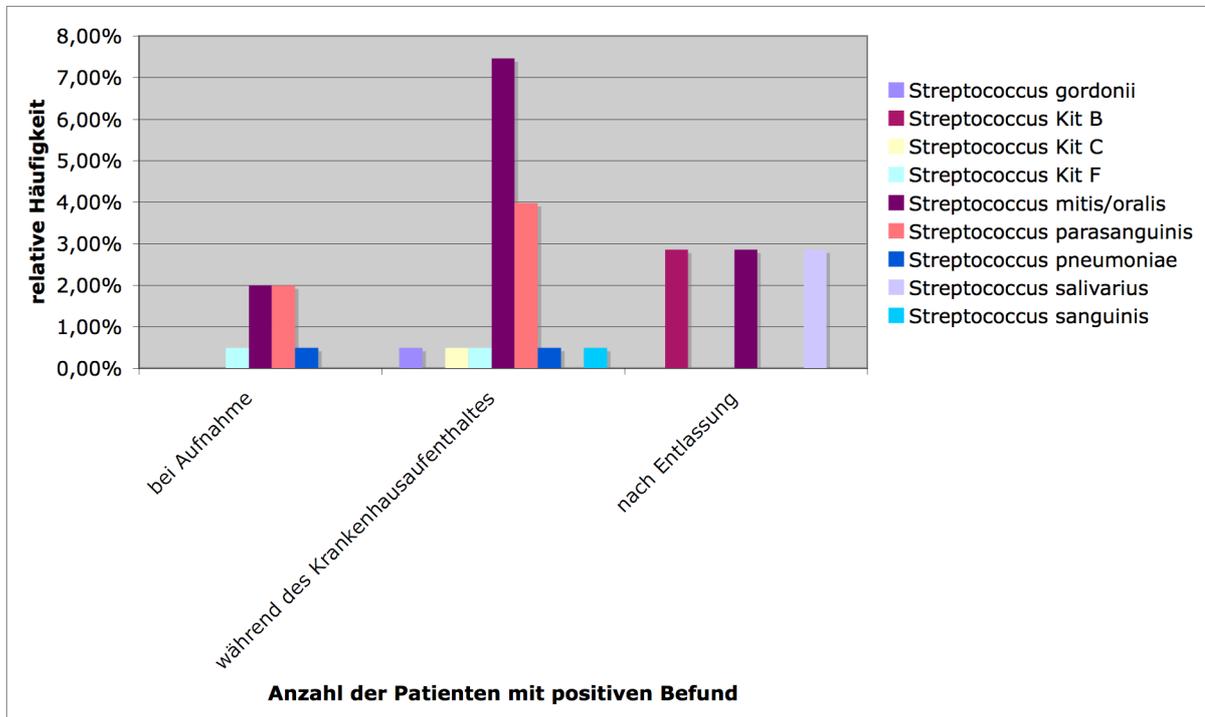


Abb. 9: Diagramm zur Darstellung der relativen Häufigkeiten von Streptokokken bei der Untersuchung von 210 Patienten im Zusammenhang mit einem Krankenhausaufenthalt

Die vorliegende Studie konnte zeigen, dass die meisten Patienten (87%) nicht mit Streptokokken kolonisiert waren. 63% der Kolonisierungen wurden nosokomial erworben.

Am häufigsten konnte *Streptococcus mitis/oralis* (7,5% während des Krankenhausaufenthaltes) und *Streptococcus parasanguinis* (4% während des Krankenhausaufenthaltes) nachgewiesen werden. Bei keinem der Patienten konnte, wenn eine Besiedlung während des Krankenhausaufenthaltes nachgewiesen wurde, eine Kolonisierung auch nach Entlassung nachgewiesen werden.

3.6 Enterokokken

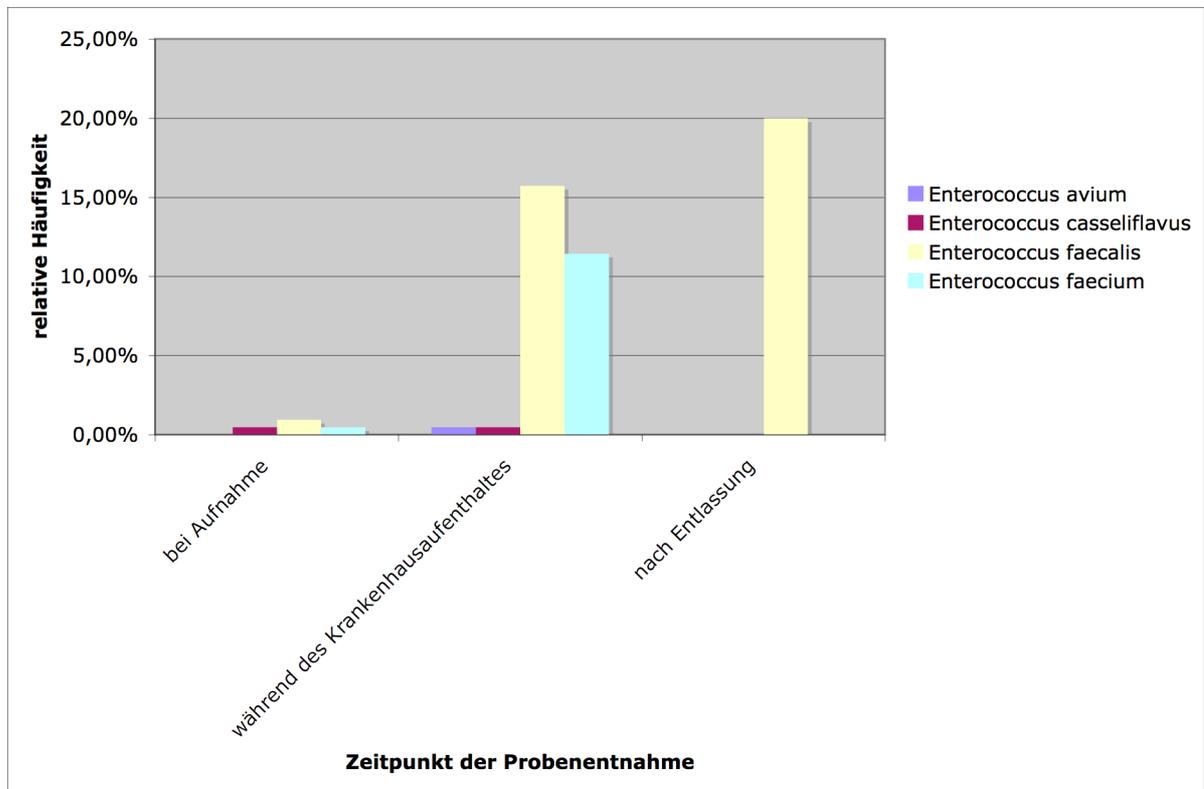


Abb. 10: Diagramm zur Darstellung der relativen Häufigkeiten von Enterokokken bei der Untersuchung von 210 Patienten im Zusammenhang mit einem Krankenhausaufenthalt

Die vorliegende Studie zeigt, dass die meisten der untersuchten Patienten (98,1%) bei Aufnahme nicht mit Enterokokken kolonisiert waren. Eine Neubesiedlung mit Enterokokken fand nahezu ausschließlich nosokomial statt (bei 28,1% der Patienten), davon 15,7% mit *Enterococcus faecalis* und 11,4% mit *Enterococcus faecium*. Die Anzahl der Patienten, die nach dem Krankenhausaufenthalt mit *E. faecalis* kolonisiert waren (20%), übersteigt die Anzahl der Patienten, die bei Aufnahme kolonisiert waren (1%), um ein Vielfaches.

Kein Patient war permanent mit Enterokokken besiedelt.

3.7 Enterobacteriaceae

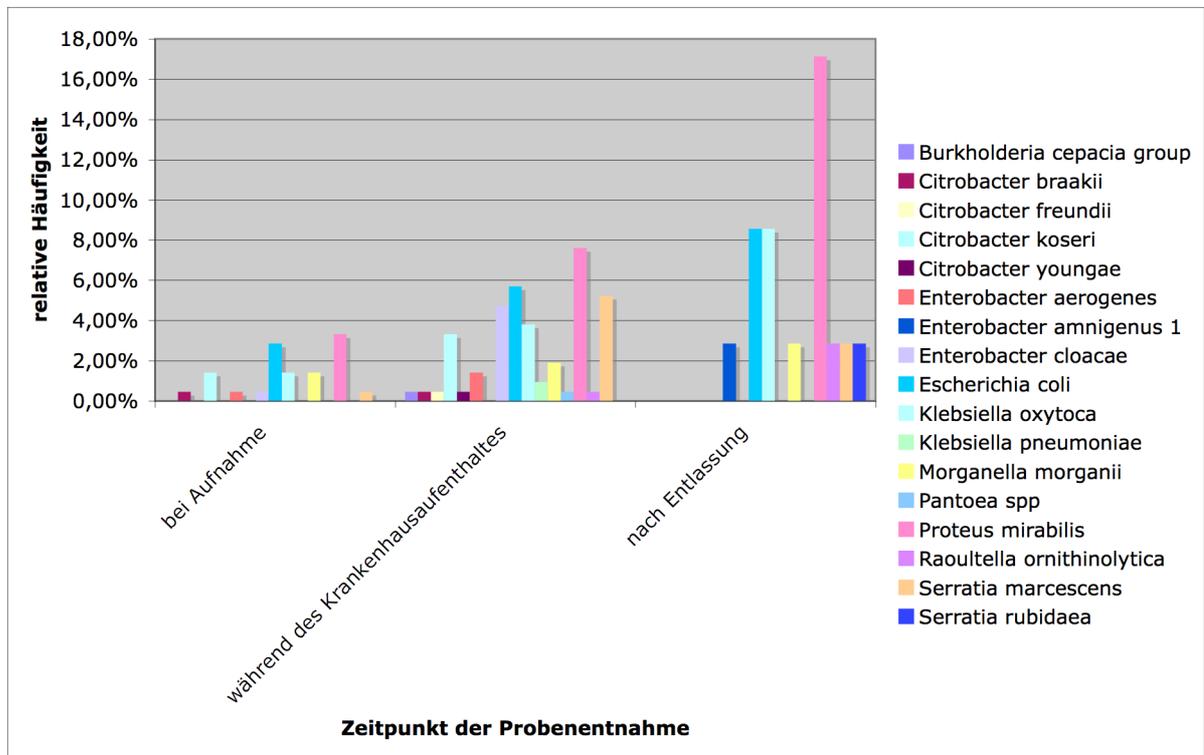


Abb. 11: Diagramm zur Darstellung der relativen Häufigkeiten von *Enterobacteriaceae* bei der Untersuchung von 210 Patienten im Zusammenhang mit einem Krankenhausaufenthalt

28% der Nasen der untersuchten Patienten waren mit *Enterobacteriaceae* besiedelt. 57% der positiven Befunde wurden nosokomial nachgewiesen.

Enterobacter cloacae kolonisierte die Nase der Probanden zu einem hohen Prozentsatz nosokomial (90%).

Mit *Escherichia coli* wurden Patienten, wenn der Nachweis positiv war, zu 50% nosokomial kolonisiert. Bei 33% der Patienten, die positiv getestet wurden, konnte der Erreger nur bei Aufnahme nachgewiesen werden.

Proteus mirabilis wurde von der Familie der *Enterobacteriaceae* am häufigsten gefunden. Die Hälfte (50%) der Kolonisierungen mit *P. mirabilis* erfolgte nosokomial.

Patienten wurden mit *Serratia marcescens* nahezu ausschließlich nosokomial besiedelt. Von den Patienten, die auch nach dem Krankenhausaufenthalt untersucht wurden, waren 3% permanent mit *Morganella morganii* kolonisiert.

3.8 Nonfermenter

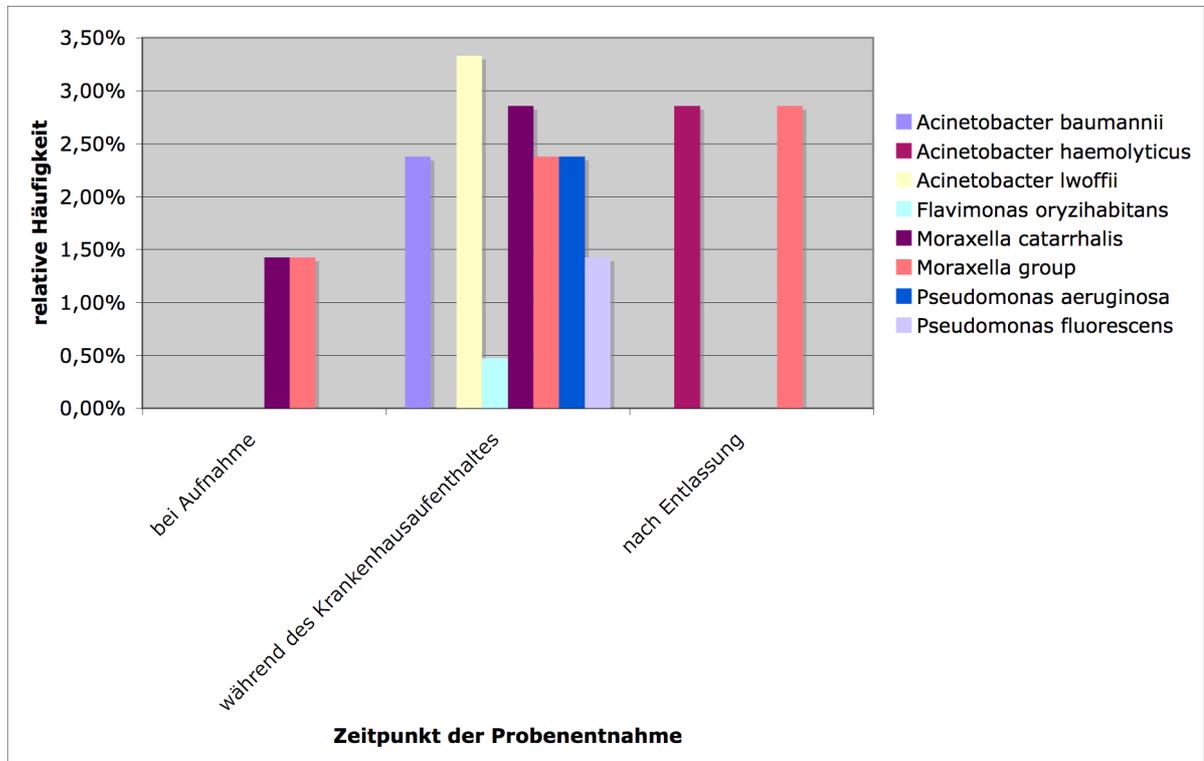


Abb. 12: Diagramm zur Darstellung der relativen Häufigkeiten von Nonfermentern bei der Untersuchung von 210 Patienten im Zusammenhang mit einem Krankenhausaufenthalt

Die vorliegende Studie zeigt, dass sich bei den meisten Patienten keine Nonfermenter im Nasenabstrich nachweisen lassen (86%). Die Patienten, bei denen Nonfermenter gefunden wurden, wurden zu 80% nosokomial besiedelt. Die Erreger der Gattung *Moraxella* bildeten eine Ausnahme, 60% der Kolonisierungen konnten bei Aufnahme nachgewiesen werden. *Acinetobacter* und *Pseudomonas* kamen ausschließlich nosokomial vor.

3.9 Weitere Bakterien

Neben den bereits erwähnten Bakterien fand sich ein Pool von Bakterien, die nicht in eine der vorherigen Gruppen einsortiert werden konnten.

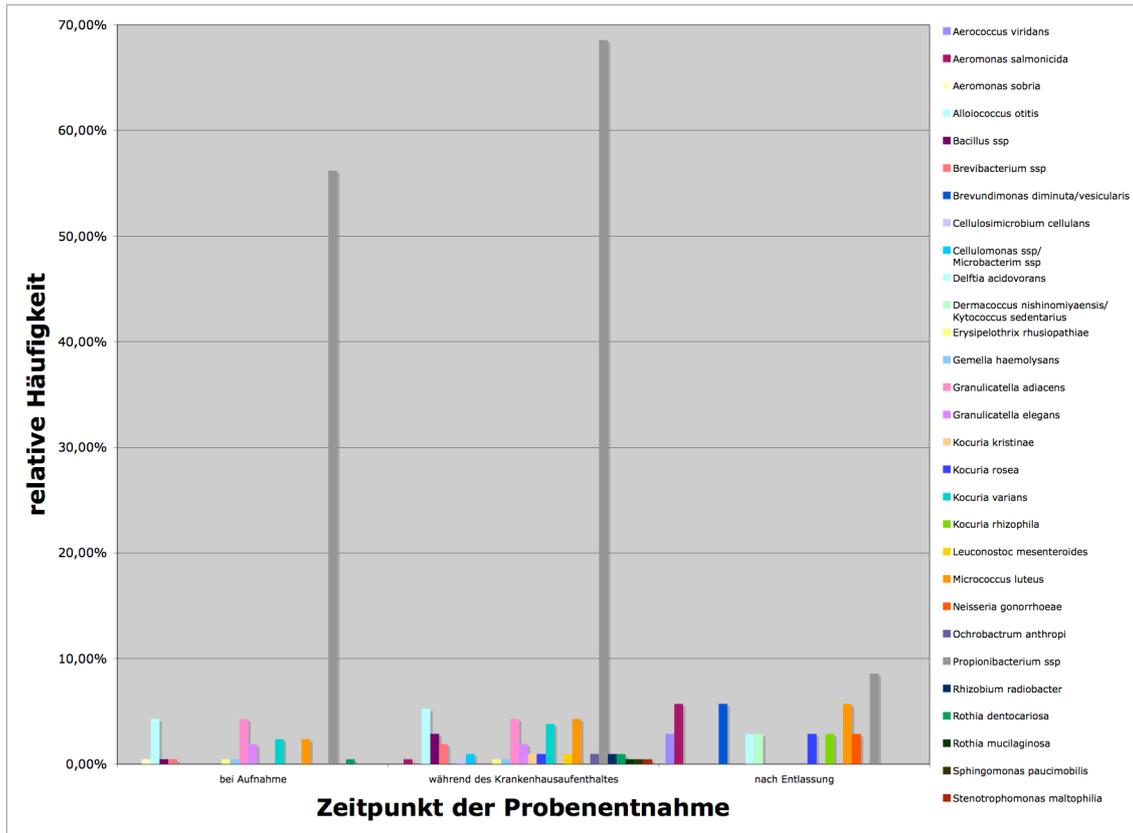


Abb. 13: Diagramm zur Darstellung der relativen Häufigkeiten von unterschiedlichen Bakterien, die nicht den Staphylokokken, Enterokokken, Streptokokken, Nonfermenter und *Enterobacteriaceae* zugeteilt werden können, bei der Untersuchung von 210 Patienten im Zusammenhang mit einem Krankenhausaufenthalt

Alloicoccus otitis, *Granulicatella adiacens*, *Granulicatella elegans*, *Kocuria varians* und *Propionibacterium ssp* wurden während des Krankenhausaufenthaltes seltener nachgewiesen als bei Aufnahme.

Die Gattung *Granulicatella* fand sich ausschließlich bei Aufnahme.

Propionibakterien konnten sowohl bei Aufnahme (56,2%) als auch während des Krankenhausaufenthaltes (68,6%) häufig nachgewiesen werden, nach Entlassung fiel der Wert auf unter 10%.

3.10 Testreliabilität

Die Tests, die automatisiert durchgeführt wurden, wiesen eine sehr gute Wahrscheinlichkeit bezüglich des Ergebnisses auf.

Alle Staphylokokken, die mit dem VITEK® 2 (n=247) oder ID 32 STAPH® (n=7) untersucht wurden, hatten mit nur einer Ausnahme ausgezeichnete, sehr gute oder gute Identifizierungen. Der Identifikationsprozentwert belief sich im Mittelwert auf 97,7.

Fünf Spezies wurden phänotypisch identifiziert, vier davon waren *S. hominis*.

Bei den Pilzen ergab sich ein ähnlich gutes Bild. Alle Pilze, die mit VITEK® (n=39) untersucht wurden, hatten, mit nur einer Ausnahme, ausgezeichnete, sehr gute oder gute Identifizierungen. Der Identifikationsprozentwert belief sich im Mittelwert auf 97,2.

Sechs Pilze wurden im Pilzlabor des Institutes untersucht, von diesen liegen keine Beurteilungen vor.

Corynebakterien (n=436) wurden mit API Coryne® (n=405) und nach Phänotyp (n=31) identifiziert.

235 (58%) Tests hatten eine ausgezeichnete, sehr gute oder gute Identifizierung.

148 (37%) Tests hatten eine ausgezeichnete, sehr gute oder gute Identifizierung auf Genusebene.

Sechs (1,4%) Tests hatten eine akzeptierbare Identifizierung.

Damit sind mit diesem Testverfahren mehr als die Hälfte der Corynebakterien mindestens gut auf Speziesebene identifiziert und nahezu alle mindestens gut auf Genus-Ebene eingestuft. Der Mittelwert des Identifikationsprozentwertes (id%) belief sich auf 91,6%.

30 Streptokokken wurden identifiziert. Davon wurden 24 mit dem VITEK® 2 System durchgeführt, zwei mit rapid ID 32 STREP®, einer phänotypisch und drei mit Kit nach Lancefield. 19 Testergebnisse wurden von der Software als ausgezeichnete, sehr gute oder gute Identifizierung gewertet. Zwei Testergebnisse (*S. parasanguinis*) wertete die Software als zweifelhaftes Profil. Nach phänotypischer Kontrolle wurden diese in die Untersuchung mit eingeschlossen. Der Identifikationsprozentwert belief sich im Mittel auf 91,8%.

95 Enterokokken wurden ausschließlich mit dem VITEK® 2 System identifiziert. Alle Ergebnisse wurden ohne Ausnahme mit ausgezeichneter, sehr guter oder guter Identifizierung bewertet. 90 Ergebnisse wurden ausgezeichnet gewertet. Der Mittelwert für den Identifikationsprozentwert belief sich auf 98,3%.

109 *Enterobacteriaceae* wurden ausschließlich mit dem VITEK® 2 System identifiziert. Alle Ergebnisse wurden ohne Ausnahme mit ausgezeichneter, sehr guter oder guter Identifizierung bewertet. 103 Ergebnisse wurden ausgezeichnet gewertet. Der Mittelwert für den Identifikationsprozentwert belief sich auf 98,6%.

38 Nonfermenter wurden identifiziert: 22 mit dem VITEK® 2 System, zwei mit API 20 NE®, sieben phänotypisch und sieben mit API NH®. Alle mit dem VITEK® 2 System identifizierten wurden mit ausgezeichneter Identifizierung gewertet. Die anderen Testergebnisse wurden nur in zwei Fällen nicht ausgezeichnet gewertet: einmal sehr gute Identifizierung und einmal akzeptierbares Profil. Der Mittelwert für den Identifikationsprozentwert belief sich auf 98,6%.

Für die Identifizierung der weiteren Bakterien wurden verschiedene Tests benötigt.

Tabelle 6: Auflistung der Tests, die zur Identifizierung der weiteren Bakterien genutzt wurden mit Anzahl

Test	Anzahl der Tests
VITEK®	50
API Coryne®	8
ID 32 STAPH®	4
API 20 NE®	0
rapid ID 32 STREP®	1
phänotypisch	212
API NH®	1

Die Software der automatisierten Tests gibt im Mittel einen Identifikationsprozentswert von 93,8% an.

Um eine Übersicht über die Beurteilungen der einzelnen Testergebnisse darzustellen dienen folgende Diagramme:

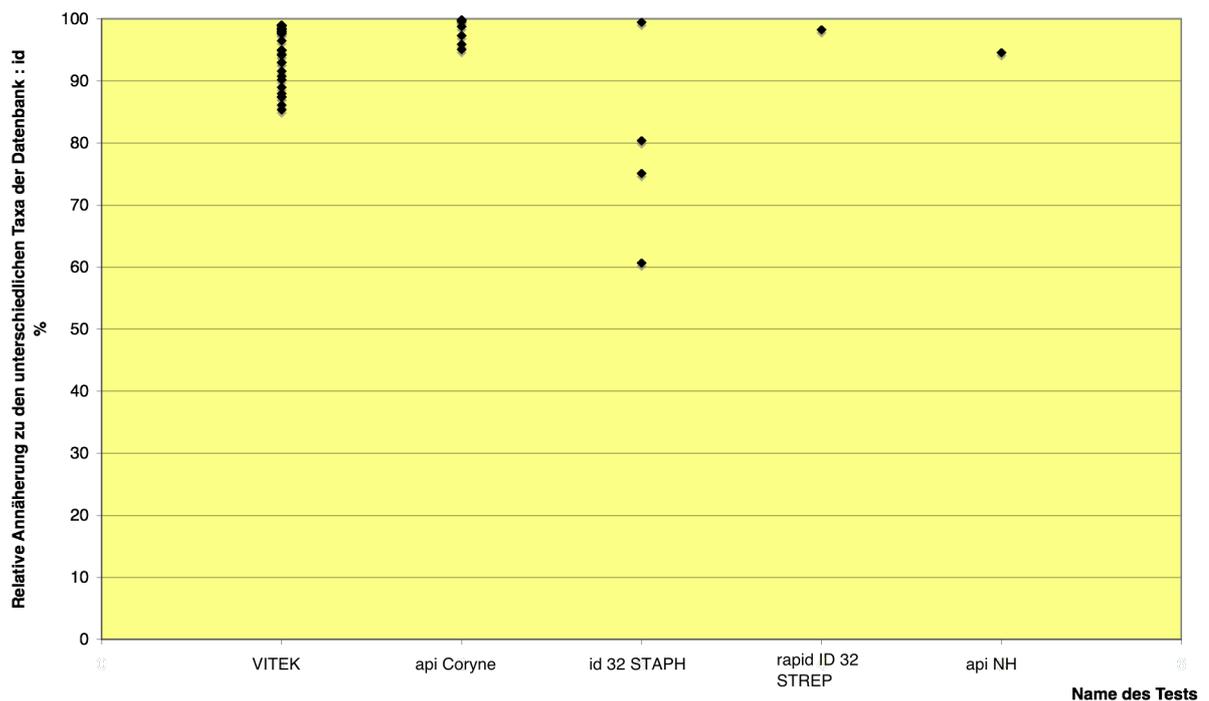


Abb. 14: Prozentwert der relativen Annäherung zu den unterschiedlichen Taxa der Datenbank bei unterschiedlichen automatisierten Tests zur Identifizierung von Bakterien in einer Studie mit 210 Patienten im Zusammenhang mit einem Krankenhausaufenthalt.

An diesem Diagramm kann man erkennen, dass alle Untersuchungen, die mit dem VITEK® 2 System und mit API Coryne® gemacht wurden, mit einer Wahrscheinlichkeit über 80% liegen. ID 32 STAPH® fällt nicht so gut aus, hier liegen die Testergebniswahrscheinlichkeiten über 60%.

In der Beurteilung zeigt sich ein ähnliches Bild. Fast alle Identifizierungen werden ausgezeichnet, sehr gut oder gut bewertet.

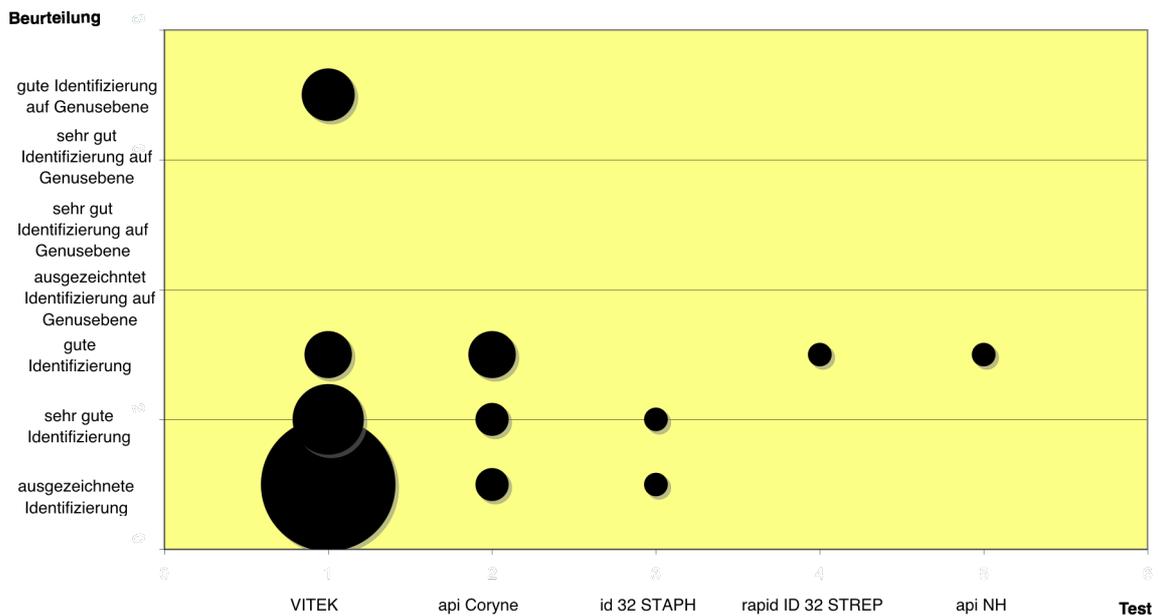


Abb. 15: nicht-metrische multi-dimensionale Abbildung der Beurteilung von automatisierten Tests im Rahmen einer Studie zur Untersuchung der Mikrobiota in der Nase von 210 Patienten im Zusammenhang mit einem Krankenhausaufenthalt. Die Größe der Kreise gibt die Menge an Tests in Mengenverhältnissen an.

4 Diskussion

Zur Diskussion wurden Studien herangezogen, die die Kolonisierung oder Infektion mit den in dieser Studie gefundenen Bakterien untersuchten, nach Möglichkeit mit der Einbeziehung einer Dynamik im Zusammenhang mit einer medizinischen Einrichtung.

4.1 Staphylokokken

Fazit aus dieser Studie:

Staphylokokken lassen sich in allen Abstrichen finden. Mit Methicillin-resistenten Staphylokokken wurden Patienten im Krankenhaus kolonisiert. Nur *S. epidermidis*, Methicillin-resistent oder nicht, zeigte sich im zeitlichen Verlauf persistent.

Vergleich mit anderen Studien:

Andere Studien berichten von einer geringeren Prävalenz von gefundenen Staphylokokken (42%) bei Sinusitis (Hartog et al. 1995, 672-677) und bis zu 100% (Uehara et al. 2000, 127-133) in den Abstrichen der Probanden. Die Zahlen zu den einzelnen Spezies decken sich in der Größenordnung mit der Datenlage vergleichbarer Studien (s. Einleitung).

In der Interaktion mit *Corynebacterium* konnte nachgewiesen werden, dass die artifizielle Implantation von *Corynebacterium* in 71% eine Eradikation von *S. aureus* nach sich zog (Uehara et al. 2000, 127-133).

Die persistente Kolonisierung von Probanden mit MRSA ist 4mal wahrscheinlicher als mit gramnegativen Bakterien (Pacio et al. 2003, 246-250). Die gramnegativen Bakterien zeigten sich in der Auswertung der vorliegenden Arbeit weniger persistent als die Staphylokokken, auf Speziesebene der Staphylokokken in der vorliegenden Arbeit jedoch deutlich bei *S. epidermidis* und nicht bei *S. aureus*.

In einer Untersuchung zur Dynamik der nasalen Kolonisierung von MRSA auf einer Intensivstation konnte nachgewiesen werden, dass 24% bei der Aufnahme kolonisiert waren und 38% während des Aufenthaltes kolonisiert wurden (Mounier et al. 1995, 329-335). Die Tatsache, dass sich Patienten zu einem großen Teil im Krankenhaus mit Staphylokokken anstecken, ist auch in der vorliegenden Auswertung nachweisbar.

4.2 Pilze

Fazit aus dieser Studie:

Die untersuchten Patienten wurden mit Pilzen hauptsächlich nosokomial kolonisiert. Nach dem Krankenhausaufenthalt konnten Pilze nicht nachgewiesen werden.

Vergleich mit anderen Studien:

Bei Studien, die vergleichend hinzugezogen werden können, wurden öfter und mehr verschiedene Pilze gefunden (Bonassoli and Svidzinski 2002, 311-313; Fanello et al. 2006, 223-228), wobei auch da *C. albicans* in der Mehrzahl der Isolate gefunden wurde. In der vorliegenden Studie ebenso wie in den verglichenen nahm die Kolonisierung während eines mehrwöchigen Krankenhausaufenthaltes zu.

4.3 Corynebacterium

Fazit aus dieser Studie:

Corynebakterien besiedeln oft die Nase, auch im Krankenhausmilieu, lassen sich aber nur transient nachweisen. Für Corynebakterien ist der nosokomiale Übertragungsweg nicht typisch.

Vergleich mit anderen Studien:

Im Vergleich mit Studien zur Gattung *Corynebacterium* fällt auf, dass *C. propinquum* in der vorliegenden Studie sehr viel häufiger gefunden wurde (Rasmussen et al. 2000, 663-675).

C. macginleyi wurde ausschließlich aus Probenmaterial des Auges identifiziert (Joussen et al. 2000, 1420-1422). Eine Kolonisierung durch Tränenfluss durch die *Canaliculi lacrimales* ist denkbar.

Untersuchungen zum Übertragungsweg von *C. striatum* führten zu dem Schluss, dass diese Spezies von Patient zu Patient via Hände des Personals übertragen wird, die transient kontaminiert wurden (Brandenburg et al. 1996, 2089-2094). Es wurden keine Langzeitträger unter dem Krankenhauspersonal gefunden, so dass nur eine transiente Kolonisierung in Frage kommt.

Coryneforme Bakterien auf der Haut stehen in einem dynamischen Gleichgewicht mit Koagulase-negativen Staphylokokken. Sie machen 4,7% der residenten aeroben Flora aus. Am häufigsten konnte *C. jeikeium* (31%) nachgewiesen werden (Kazmierczak, Szarapinska-Kwaszewska, and Szewczyk 2005, 27-35). Damit könnte die Haut ein Reservoir für die Besiedlung der Nase sein.

4.4 Streptokokken

Fazit aus dieser Studie:

Streptokokken werden zum größeren Teil nosokomial erworben. Nach dem Krankenhausaufenthalt lassen sie sich nur selten nachweisen, permanent gar nicht.

Vergleich mit anderen Studien:

In einer Studie zu Prophylaxe vor Infektion und Sepsis mit Streptokokken bei Verbrennungen wurde bei 1% der Patienten eine nosokomiale Infektion nachgewiesen (Bang et al. 1999, 242-246). Dies bestätigt die niedrige Zahl der gefundenen Streptokokken bei der vorliegenden Studie.

4.5 Enterokokken

Fazit aus dieser Studie:

Enterokokken werden fast ausschließlich im Krankenhaus erworben. Nach dem Krankenhausaufenthalt lässt sich das Bakterium nur noch selten nachweisen.

Vergleich mit anderen Studien:

Es finden sich vor allem Studien zu den klinisch bedeutsamen Vancomycin-resistenten Enterokokken (VRE). 41% der beatmeten Patienten einer Intensivstation, die bei Aufnahme nicht kolonisiert waren, wurden während des Aufenthaltes besiedelt. 85% wurden durch Kreuzinfektion kolonisiert. 23% der Patienten steckten sich in kontaminierten Räumen an. Die Autoren schließen daraus, dass die VRE im Gastrointestinaltrakt, auf der Haut und die Kontamination der Umwelt zur Ausbreitung von VRE beitragen (Bonten et al. 1996, 1615-1619).

4.6 Enterobacteriaceae

Fazit aus dieser Studie:

Mit *Enterobacteriaceae* wurden Patienten, wenn sie kolonisiert wurden, etwa zur Hälfte nosokomial kolonisiert. Bei *E. cloacae* fällt die fast ausschließlich nosokomiale Übertragung auf. Die Anzahl der Patienten, die permanent mit *Enterobacteriaceae* besiedelt sind, ist gering.

Vergleich mit anderen Studien:

31% der Patienten auf einer Neugeborenen Intensivstation waren mit *Enterobacter* ssp. besiedelt, 86% davon mit *E. cloacae*. Dies war assoziiert mit dem Gebrauch von Antibiotika, Intubation, Verweildauer von intravenösen Zugängen, Dauer des Krankenhausaufenthaltes und Apgar-score <7 nach einer Minute. Im Verlauf waren nach einem Monat noch 13% der Patienten, die vorher besiedelt waren, kolonisiert. Der gleiche Genotyp ließ sich nur bei einem Patienten nachweisen (van Rossem et al. 2007, 142-148). Dies bestätigt das Ergebnis der vorliegenden Studie, dass Patienten selten permanent (3%) und zu 1/3 transient mit *Enterobacteriaceae* kolonisiert sind. Auch dass *E. cloacae* auffällig oft nosokomial nachgewiesen werden konnte, bestätigt sich. Es darf aber nicht die nosokomiale Rate verglichen mit der Rate bei Aufnahme verwechselt werden mit dem Anteil an der Gesamtmenge der gefundenen *Enterobacteriaceae*. Hier unterscheiden sich die beiden Studien im Design.

4.7 Nonfermenter

Fazit aus dieser Studie:

Nonfermenter werden zu einem hohen Anteil im Krankenhaus erworben, nach dem Krankenhausaufenthalt lassen sie sich nur selten nachweisen. Mit Bakterien der Gattung *Moraxella* sind Patienten zu etwa gleichen Teilen bei Aufnahme kolonisiert oder werden es erst während des Aufenthaltes.

Vergleich mit anderen Studien:

26% der Patienten waren bei Aufnahme auf eine Intensivstation kolonisiert und 74% wurden während des Krankenhausaufenthaltes besiedelt. Von 184 Patienten mit mindestens einer positiven Kultur, die auf der Intensivstation erworben wurde, hatten 104 den gleichen Genotyp, der vorher identifiziert wurde. Etwa 50% steckten sich durch Kreuzinfektion an (Bertrand et al. 2001, 1263-1268).

Bei 27% der Patienten einer Intensivstation konnte die Kolonisierung mit *M. baumannii* während des Aufenthaltes von mindesten sieben Tagen nachgewiesen werden. Diese war assoziiert mit SAPSII, längerer Beatmung und längerer Lage des Zentralen Venenkatheters (Pasdeloup et al. 2000, 533-540). 33% der Nasen der untersuchten Patienten sind mit *Acinetobacter spp.* besiedelt (Seifert et al. 1997, 2819-2825). Die häufigste Spezies in der gesamten Studie war *A. Iwoffii*, *A. baumannii* wurde nur selten auf der Haut gefunden (<1%). Die Rate der Kolonisierung stieg während des Krankenhausaufenthaltes an. Seifert et al. verglich dabei die Dauer des Aufenthaltes verschiedener Patienten zum Zeitpunkt der Probenentnahme. In der vorliegenden Studie wurde dieser Aspekt nicht weiter untersucht.

Die Praevalenz von *Moraxella spp.* bei gesunden Probanden fällt mit zunehmendem Alter auf 2% (Gunnarsson, Holm, and Soderstrom 1998, 13-17).

Die höheren Zahlen der verglichenen Studien lassen sich am ehesten darauf zurückführen, dass hier Patienten einer Intensivstation untersucht und auch Proben anderer Körperregionen mit einbezogen wurden. Die Tendenz aber,

dass Nonfermenter eher nosokomial nachgewiesen werden konnten, als bei Aufnahme, wird durch die verglichenen Studien bestätigt.

4.8 Weitere Bakterien

Fazit aus dieser Studie:

Das Vorkommen der Bakterien, die nicht zu den Staphylokokken, Corynebakterien, Streptokokken, Enterokokken, *Enterobacteriaceae* oder Nonfermentern sortiert werden können, verringerte sich während des Krankenhausaufenthaltes.

Vergleich mit anderen Studien:

Wenn bei der Untersuchung zu Otitis media die Kultur-Methode Anwendung fand, um das Bakterium *Alloiococcus otitis* zu identifizieren, fielen die Zahlen signifikant niedriger aus, als wenn die Methode mit PCR gewählt wurde (Leskinen et al. 2004, 51-56). Wenn man diesen Aspekt in Betracht zieht, wären auch bei der vorliegenden Arbeit höhere Ergebnisse zu erwarten. In einer anderen Studie konnte in der Kontrollgruppe mit PCR Methode kein *A. otitis* nachgewiesen werden (Kalcioğlu et al. 2003, 143-147). Diese Studie untersuchte den Nasopharynx der Probanden, jene das Ohr; sie sind somit im Hinblick auf absolute Fallzahlen nicht vergleichbar. Dass *A. otitis* auch mit PCR Methode nicht im Nasopharynx von Probanden nachgewiesen werden konnte, widerspricht der vorliegenden Arbeit. Das natürliche Habitat für *A. otitis* ist im äußeren Gehörgang und im Nasopharynx zu suchen (Durmaz et al. 2002, 265-268). Hier liegt die Rate der Kolonisierung im Nasopharynx bei 8%, welche in der Größenordnung der vorliegenden Studie liegt (5%).

Die Gattung *Granulicatella* wird in der Literatur als typisches Bakterium aus der Mundhöhle beschrieben (siehe Einleitung).

Kucuria varians und *Micrococcus luteus* wurden von der jeweiligen Gattung in der vorliegenden Arbeit am häufigsten gefunden. Dies entspricht dem Ergebnis von Szczerba (Szczerba 2003, 67-74). Die Fallzahlen liegen in der vorliegenden Arbeit jedoch niedriger. In die Berechnungen der verglichenen Studie flossen die Fallzahlen verschiedener Körperoberflächen und der Mundhöhle mit ein.

Die niedrigste Rate hatte dabei die Nasenhöhle (26%). Dies in Betracht gezogen entsprechen die Größenordnungen der Ergebnisse denen der verglichenen Studie.

4.9 Studien zur Dynamik nosokomialer Infektionen

Studien zu nosokomialen Infektionen betrachten in erster Linie Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA), Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE) und extended-spectrum-beta-lactamase bei *Enterobacteriaceae* (ESBL). Studien, die die gesamte Begleitflora in ihrer Dynamik abhandeln, konnten nicht eruiert werden. Wünschenswert wäre hier ein Vergleich mit einer Studie, die wie diese die Dynamik der Mikrobiota einer anderen Körperhöhle, der Haut oder der Schleimhäute untersucht.

Studien zur Kolonisierung während und nach eines Krankenhausaufenthaltes konnten nicht vergleichend hinzugezogen werden. Dieser Aspekt ist dennoch wichtig in Bezug auf die Frage, bei welchen Spezies es nicht sinnvoll erscheint, eine Sanierung durchzuführen, weil eine fortdauernde Kolonisierung nicht nachgewiesen werden konnte. So konnten exemplarisch nur Studien vergleichend hinzugezogen werden, die einzelne Gattungen oder Spezies untersuchten. Die Unterschiede bei den Studiendesigns lassen einen Vergleich wegen ihrer Diversität nur bedingt zu.

4.10 Übertragungswege

Die Besiedlung der Nase kann aus dem endogenen mikrobiellen Reservoir des Patienten stammen oder aus der unmittelbaren Umgebung exogen erworben sein. Das endogene mikrobielle Reservoir umfasst unter anderem die Mikrobiota der Haut, des Darmes und des Mund- und Rachenraums. Mit diesen Bakterien und Pilzen ist der Patient schon bei Aufnahme kolonisiert, oder

erwirbt sie während des Krankenhausaufenthaltes durch Kontakt mit Patienten, dem medizinischem Personal oder Besuchern (Kreuzinfektion). Durch diese Bakterien und Pilze kann es zu einer Autobesiedlung kommen. Das exogene Reservoir umfasst Nahrung, Luft, Staub, Klimaanlage, Wasser und kontaminierte Gegenstände, wie WC-Schüsseln, Bettpfannen, Flächen, Türgriffe etc. Die meisten nosokomial übertragenen pathogenen Bakterien können auf nicht belebten Oberflächen für Monate persistieren und deshalb eine kontinuierliche Quelle der Ansteckung sein, wenn nicht regulär präventive Oberflächendesinfektion durchgeführt wird (Kramer, Schwebke, and Kampf 2006, 130).

Wie in der Einleitung dargelegt, unterliegt die Besiedlung der Nase dem Einfluss der näheren Umgebung des Probanden (siehe Kolonisierung der Nase bei Neugeborenen und Kolonisierung der Nase bei Funktionsstörung). Bakterien und Pilze, die nicht bei Aufnahme, sondern erst im wöchentlichen Abstrich gefunden werden konnten, lassen in ihrem Ansteckungsweg auf eine Quelle im Krankenhaus schließen. Dafür kommen das medizinische Personal, die Reinigungskräfte, die Besucher und Mitpatienten in Betracht. Als Übertragungswege kommen die Schmierinfektionen im Sinne der direkten und indirekten Kontaktinfektion und die Tröpfcheninfektion infrage. Inwieweit die Manipulation des Probanden an der Nase mit dem eigenen Finger eine Rolle spielt („Nasebohren“), muss Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

4.11 Limitationen der Studie und Ausblick

Zunächst sind Fehlerquellen bei der Probengewinnung und dem Probentransport zu berücksichtigen. Durch eine unterschiedliche Technik in der Probengewinnung und unterschiedliche Bedingungen beim Transport, wie Temperatur, Feuchtigkeit, Kontamination und Lagerung bis zur Weiterverarbeitung, könnten Proben soweit verändert worden sein, dass das Ergebnis nicht mit der tatsächlichen Kolonisierung übereinstimmt (z.B. durch Absterben empfindlicher Mikroorganismen).

Neben der Beurteilung der Tests, die im Rahmen der Durchführung in Zahlenwerten (id%, T, Wahrscheinlichkeit) festgehalten wurden, enthält die Untersuchung weitere Limitationen, die ihre Aussagekraft einschränken kann.

Im Besonderen sei hier die Beurteilung von Farbumschlägen beim API ID STAPH® hervorgehoben. Kann die Software kein eindeutiges Ergebnis erkennen, muss die den Test ausführende Person den Farbumschlag selbst einschätzen. Nicht immer lassen sich die Farbumschläge sicher abgrenzen und führen zu einem eindeutigen Ergebnis. Die Beurteilung ist stets dem subjektiven Beurteilen des Untersuchers unterworfen. Ein hieraus gewonnenes Ergebnis kann bei Eingabe in die Software Fehler verursachen, die in die automatische Beurteilung nicht einfließen. In einer Studie, bei der das automatische Einlesen mit der visuellen Interpretation verglichen wurde, konnte jedoch eine Übereinstimmung von 99,5% nachgewiesen werden (Lo-Ten-Foe, Ververs, and Buiting 2007, 443-444)

Ein Problem der Auswertung bestand darin, dass die mikrobiologische Diagnostik eines Instituts für medizinische Mikrobiologie primär darauf ausgelegt ist, solche Bakterien, Pilze und andere Mikroorganismen zu identifizieren, die Krankheiten beim Menschen hervorrufen. Viele Bakterien, die zur physiologischen Mikrobiota gezählt werden und im klinischen Alltag keine Rolle spielen, werden nur selten differenziert. Die Laborausstattung und das Personal sind im täglichen Arbeitsablauf vor allem auf häufig vorkommende pathogene Bakterien ausgelegt.

In dieser Studie wurden die Bakterien und Pilze bis auf die Speziesebene untersucht. Um nachzuweisen, ob dasselbe Bakterium im zeitlichen Verlauf wiedergefunden wurde, wäre eine Genotypisierung zur Stammidentifizierung einzusetzen. So ließen sich auch die Wege der Kolonisierung konkret nachvollziehen. Im Rahmen der vorgelegten Studie konnte nur die Persistenz bis auf Speziesebene analysiert werden.

Studien, die die PCR-Amplifikation von bakteriellen small-subunit rDNA als Methode zur Identifizierung benutzen, gehen davon aus, dass 40% der Klone der Mundhöhle (Paster et al. 2001, 3770-3783) und etwa 70% der Klone des

Darms (Suau et al. 1999, 4799-4807; Wilson and Blitchington 1996, 2273-2278) nicht mit bekannten Organismen übereinstimmen, und somit neuartig und wahrscheinlich nicht anzüchtbar sind. Eine Studie fand heraus, dass die PCR-Methode effizienter arbeitet als die Kultur-Methode zur Identifizierung aerober Bakterien bei chronischer Sinusitis; diese Bakterien wurden in 62% der mit PCR getesteten Fälle gefunden, verglichen mit 50% beim Gebrauch der Kultur-Methode (Keech, Ramadan, and Mathers 2000, 363-367, Wos-Oxley et al. 2010, 839-851).

Breitkopf et al. vergleichen in ihrer Studie die Kultur-Methode mit der direkten Sequenzierung mit Hilfe der PCR-Methode und der Untersuchung mit Hilfe der Gram-Färbung. Als Untersuchungsmaterial dienten Herzklappen. Dabei verbesserte die molekulare Methode das diagnostische Ergebnis der mikrobiologischen Untersuchung nicht nur bei Bakterien, die anspruchsvoll, langsam wachsend und/oder nicht angezüchtet werden können, sondern auch bei Bakterien, deren Kultivierung einfach zu handhaben ist, wie bei Streptokokken und Staphylokokken (Breitkopf 2005, 1415) .

Ähnliche Resultate sind bei der Untersuchung in der Nasenhöhle zu erwarten. Vergleicht man die Ergebnisse zur Differenzierung auf molekularer Ebene, wie sie bei der ribosomalen Differenzierung des Ribosomal Differentiation of Microorganisms (RIDOM) Projekt erarbeitet werden, mit Ergebnissen, die auf biochemischen Reaktionen beruhen, wie sie beim ID 32 Staph (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) und VITEK 2 (bioMérieux) erarbeitet wurden, muss man zu dem Ergebnis kommen, dass erstere Methode sehr viel genauer auf Speziesebene arbeitet. Die Studie von Becker et al., die diese beiden Methoden verglich, konnte nachweisen, dass 23,6% beim ID 32 Staph (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) und 34,5% beim VITEK 2 (bioMérieux) die gesuchten Staphylokokken auf Speziesebene nicht identifizieren konnten, sei es wegen inkorrekt identifizierung und/oder einer Kategorisierung unterhalb akzeptabler Werte (Becker 2004, 4988). Bei der Methode, die rDNA zur Identifizierung benutzt, konnten bei 98,2% der Isolate ein ähnlicher Wert oberhalb des Schwellenwertes zur eindeutigen Identifizierung, wie er bei der Datenbank des

RIDOM Projektes festgelegt ist, nachgewiesen werden. Die vorliegende Arbeit konnte nur mit Methoden arbeiten, die Bakterien und Pilze mit Hilfe biochemischer Reaktionen identifizieren. Methoden auf molekularer Ebene wären wünschenswert gewesen.

Limitierend wirkt sich auch die, das heutige hohe Ausmaß von Patientenfluktuation und kurzen Liegezeiten reflektierende, relativ hohe Drop-out-Rate aus. So konnten bei nur 35 Probanden über den gesamten Zeitraum von Aufnahme über stationären Aufenthalt bis nach dem Krankenhausaufenthalt Proben entnommen werden.

Insgesamt konnte jedoch mit der vorliegenden Arbeit eine repräsentative Übersicht über die zeitliche Dynamik der Kolonisierung der humanen vorderen Nasenhöhle mit Mikroorganismen von Patienten während ihres stationären Aufenthalts an einem Universitätsklinikum gewonnen werden.

5 Lebenslauf

5.1 Persönliche Daten

Name: Iring Maria Bromisch

6 Danksagung

Herrn Prof. Dr. Georg Peters möchte ich danken für die Möglichkeit, diese Arbeit am Mikrobiologischen Instituts der Universität Münster, welches unter seiner Leitung steht, zu schreiben.

Für die Überlassung des Themas, die freundliche und prompte Hilfestellung, die fachlichen Ratschläge und die konstruktive Kritik möchte ich herzlich Herrn Prof. Dr. Karsten Becker Dank sagen.

Bei Herrn Prof. Dr. Christof von Eiff möchte ich mich für die aufmunternden Worte und Hilfe bei den ersten Schritten gerade zu Beginn der Arbeit bedanken.

Mein besonderer Dank gilt dem Personal des PCR-Labors, der Varia und der Abteilung zur Identifizierung von Pilzen des Instituts, namentlich Brigitte Schuhen, Martina Schulte, Svenja Edelman, Anja Hassing, Cordula, Julia, Barbara, Angela Eggemann für die unschätzbare Unterstützung in allen Kleinigkeiten und Fragen der Durchführung, ohne die ich diese Arbeit nicht hätte leisten können.

Darüber hinaus möchte ich mich bei meinem hochgeschätzten Kollegen Dr. Thomas Kaiser bedanken, für die mehrmalige Durchsicht und die tatkräftige Unterstützung zu jeder Zeit und jedem Ort, sei es in Fragen der Form oder des Inhaltes.

Als letztes möchte ich mich bei meiner Familie bedanken, über dessen Interessen ich zu oft hinweggehen musste, um diese Arbeit zu beenden.

Ich möchte diese Arbeit in tiefer Dankbarkeit den Menschen widmen, die mir am nächsten am Herzen liegen, meinen Eltern, meiner Frau und meinen Kindern.

7 Anhang

Tabelle 7: Abkürzungstabelle

A. baumannii	Acinetobacter baumannii
A. haemolyticus	Acinetobacter haemolyticus
A. Iwoffii	Acinetobacter Iwoffii
A. viridans	Aerococcus viridans
A. salmonicida	Aeromonas salmonicida
A. sobria	Aeromonas sobria
A. xylooxidans	Alcaligenes xylooxidans
A. otitis	Alloiococcus otitis
Bacillus ssp	Bacillus ssp
Brevibacterium ssp	Brevibacterium ssp
Brevundimonas diminuta/vesicularis	Brevundimonas diminuta/vesicularis
Burkholderia cepacia group	Burkholderia cepacia group
C. albicans	Candida albicans
C. dubliniensis	Candida dubliniensis
C. famata	Candida famata
C. glabrata	Candida glabrata
C. krusei	Candida krusei
C. parapsilosis	Candida parapsilosis
C. rugosa	Candida rugosa
C. sake	Candida sake
C. tropicalis	Candida tropicalis
C. cellulans	Cellulosimicrobium cellulans
Cellulomonas ssp/Microbacterim ssp	Cellulomonas ssp/Microbacterim ssp
C. braakii	Citrobacter braakii
C. freundii	Citrobacter freundii
C. koseri	Citrobacter koseri
C. youngae	Citrobacter youngae
C. accolens	Corynebacterium accolens
C. afermentans/coyleae	Corynebacterium afermentans/coyleae
C. amycolatum	Corynebacterium amycolatum
C. argentoratense	Corynebacterium argentoratense
C. auris	Corynebacterium auris
C. group G	Corynebacterium group G
C. jeikeium	Corynebacterium jeikeium
C. macginleyi	Corynebacterium macginleyi
C. propinquum	Corynebacterium propinquum
C. pseudodiphtheriticum	Corynebacterium pseudodiphtheriticum
C. striatum	Corynebacterium striatum
C. urealyticum	Corynebacterium urealyticum
D. acidovorans	Delftia acidovorans
D. nishinomiyaensis/K. sedentarius	Dermacoccus nishinomiyaensis/Kytococcus sedentarius
E. aerogenes	Enterobacter aerogenes
E. amnigenus 1	Enterobacter amnigenus 1
E. cloacae	Enterobacter cloacae

E. avium	Enterococcus avium
E. casseliflavus	Enterococcus casseliflavus
E. faecalis	Enterococcus faecalis
E. faecium	Enterococcus faecium
E. rhusiopathiae	Erysipelothrix rhusiopathiae
E. coli	Escherichia coli
F. oryzihabitans	Flavimonas oryzihabitans
G. haemolysans	Gemella haemolysans
G. adiacens	Granulicatella adiacens
G. elegans	Granulicatella elegans
K. oxytoca	Klebsiella oxytoca
K. pneumoniae	Klebsiella pneumoniae
K. kristinae	Kocuria kristinae
K. rosea	Kocuria rosea
K. varians	Kocuria varians
K. rhizophila	Kocuria rhizophila
L. mesenteroides	Leuconostoc mesenteroides
M. luteus	Micrococcus luteus
M. catarrhalis	Moraxella catarrhalis
Moraxella group	Moraxella group
M. morganii	Morganella morganii
N. gonorrhoeae	Neisseria gonorrhoeae
O. anthropi	Ochrobactrum anthropi
Pantoea spp	Pantoea spp
Propionibacterium ssp	Propionibacterium ssp
P. mirabilis	Proteus mirabilis
P. aeruginosa	Pseudomonas aeruginosa
P. fluorescens	Pseudomonas fluorescens
R. ornithinolytica	Raoultella ornithinolytica
R. radiobacter	Rhizobium radiobacter
R. dentocariosa	Rothia dentocariosa
R. mucilaginoso	Rothia mucilaginoso
Schimmelpilz	Schimmelpilz
S. marcescens	Serratia marcescens
S. rubidaea	Serratia rubidaea
S. paucimobilis	Sphingomonas paucimobilis
S. aureus	Staphylococcus aureus
S. auricularis	Staphylococcus auricularis
S. capitis	Staphylococcus capitis
S. caprae	Staphylococcus caprae
S. chromogenes	Staphylococcus chromogenes
S. cohnii	Staphylococcus cohnii
S. epidermidis	Staphylococcus epidermidis
S. haemolyticus	Staphylococcus haemolyticus
S. hominis	Staphylococcus hominis
S. intermedius	Staphylococcus intermedius
S. kloosii	Staphylococcus kloosii
S. lugdunensis	Staphylococcus lugdunensis
S. saprophyticus	Staphylococcus saprophyticus

S. schleiferi	Staphylococcus schleiferi
S. sciuri	Staphylococcus sciuri
S. warneri	Staphylococcus warneri
S. xylosus	Staphylococcus xylosus
S. maltophilia	Stenotrophomonas maltophilia
S. gordonii	Streptococcus gordonii
Streptococcus Kit B	Streptococcus Kit B
Streptococcus Kit C	Streptococcus Kit C
Streptococcus Kit F	Streptococcus Kit F
S. mitis/oralis	Streptococcus mitis/oralis
S. parasanguinis	Streptococcus parasanguinis
S. pneumoniae	Streptococcus pneumoniae
S. salivarius	Streptococcus salivarius
S. sanguinis	Streptococcus sanguinis

Tabelle 8: VITEK® 2 ID-GNB Testnäpfchen

Nr.	Test	Abkürzung	Menge in mg
2	Kohlenhydrat-Negativkontrolle	OACI	entfällt
3	Decarboxylase-Negativkontrolle	ODEC	entfällt
4	Adonitol	ADO	0,28
5	L-Arabinose	IARA	0,056
7	D-Cellobiose	dCEL	0,28
10	D-Galakturonate	dGAT	0,028
11	D-Glukose	dGLU	0,28
12	Glukose-1-Phosphat	G1P	0,028
13	D-Glukuronat	dGRT	0,14
14	myo-Inositol	INO	0,14
15	5-Keto-d-Glukonat	5KG	0,14
18	D-Maltose	dMAL	0,056
19	D-Mannitol	dMAN	0,14
20	D-Melibiose	dMEL	0,28
21	Palatinose	PLE	0,056
22	D-Raffinose	dRAF	0,148
23	L-Rhamnose	IRHA	0,28
26	Saccharose/Sucrose	SAC	0,28
27	D-Sorbit	dSOR	0,28
28	D-Trehalose	dTRE	0,14
29	Lysine Decarboxylase	LDC	0,336
30	Ornithin-Decarboxylase	ODC	0,168
31	Urease	URE	0,336
35	Malonat	MNT	0,092
36	Tryptophan Deaminase	TDA	0,14
37	Alpha-Arabinosidase	AARA	0,017
38	Alpha-Galaktosidase	AGAL	0,009
39	Alpha-Glutamat	AGLTA	0,426
42	β -Cellobiosidase	BCEL	0,07
43	β -Galagtosidase	BGAL	0,005
44	β -Glukosidase	BGLU	0,005
45	β -Glukuronidase	BGUR	0,01
46	β -Mannosidase	BMAN	0,002

47	β-N-Acetyl-Glukosaminidase	BNAG	0,005
50	β-N-Acetyl-Galaktosaminidase	BNAGA	0,004
51	β-Xylosidase	BXYL	0,004
52	Glu-Gly-arg-Arylamidase	GGAA	0,006
53	gamma-Glutamyl-Transferase	GGT	0,426
54	L-Lysin-Arylamidase	LysA	0,002
55	Phosphatase	PHOS	0,001
58	L-Prolin-Arylamidase	ProA	0,002
59	L-Pyrrolidonyl-Arylamidase	PyrA	0,002
62	CBZ-Arginin-Arylamidase	zArgA	0,001

Tabelle 9: VITEK® 2 ID-GPC Testnöpfchen

Nr.	Test	Abkürzung	Menge
2	Alpha-L-Arabinofuranosidase	AARAF	4,3 µg
3	D-Raffinose	dRAF	0,279 mg
4	Alpha-Galaktosidase	AGAL	18,9 µg
5	Alpha-Glucosidase	ADLU	9,5 µg
6	Alanin-Arylamidase	AlaA	2,5 µg
7	Alpha-D-N-Acetylneuraminidase	ANANE	1,4 µg
10	Arginin-Arylamidase	ArgA	5,6 µg
11	Aurease	AUR	7,5 µg
12	β-Glaktosidase	BGAL	4,7 µg
13	β-Glukosidase	BGLU	4,7 µg
14	β-Glukuronidase	BGUR	19,7 µg
15	Histidin-Arylamidase	HisA	2,4 µg
18	β-Mannosidase	BMAN	9,5 µg
19	β-N-Acetyl-Glukosaminidase	BNAG	10,6 µg
20	Glutaminsäure-Arylamidase	GitA	0,9 µg
21	Threonin-Arylamidase	ThrA	4,4 µg
22	Leucin-Arylamidase	LeuA	4,5 µg
23	L-Lysin-Arylamidase	LysA	5,0 µg
26	Optochin-Resistenz	OPTO	0,6 µg
27	Phenylalanin-Arylamidase	PheA	6,1 µg
28	Phosphatase	PHOS	1,4 µg
29	L-Prolin-Arylamidase	ProA	10,2 µg
30	L-Pyrrolidonyl-Arylamidase	PyrA	2,9 µg
31	Tyrosin-Arylamidase	TyrA	3,6 µg
34	Kohlehydrat-Negativkontrolle	OACI	entfällt
35	D-Amygdalin	AMY	0,279 mg
36	Arbutin	ARB	0,279 mg
37	D-Galaktose	dGAL	0,279 mg
38	Glycerol	GLYL	0,279 mg
39	D-Glukose	dGLU	0,279 mg
42	L-Arabinose	IARA	0,279 mg
43	Laktose	LAC	0,279 mg
44	D-Maltose	dMAL	0,279 mg
45	D-Mannitol	dMAN	0,279 mg
46	N-Acetyl-D-Glukosamin	NAG	0,279 mg
47	Kultur in 6,5% NaCl	NaCl 6,5%	1,22 mg
50	Pyruvat	PVATE	0,0279 mg
51	Salizin	SAL	0,279 mg

52	D-Sorbit	dSOR	0,279 mg
53	D-Trehalose	dTRE	0,279 mg
54	D-Melibiose	dMEL	0,279 mg
55	D-Xylose	dXYL	0,279 mg
58	Decarboxylase Negativkontrolle	ODEC	entfällt
59	Arginin-Dehydrolase	ADH	0,11 mg
60	Ornitin-Decarboxylase	ODC	0,279 mg
61	Novobiocin-Resistenz	NOVO	0,4 µg
62	Urease	URE	0,14 mg
63	Polymyxin-B-Resistenz	POLYB	15,0 µg
64	β-Laktamase	BLA	3,3 µg

Tabelle 10: VITEK® 2 ID-YST Testnapfchen

Nr.	Test	Abkürzung	Menge
2	Acidione/Cycloheximide (Resistenz) Assimilation	ACTa	2,8 µg
3	Adonit-Assimilation	ADOa	0,168 mg
4	D-Trehalose-Assimilation	dTREa	0,168 mg
5	N-Acetyl-Glucosamin-Assimilation	NAGa	0,168 mg
6	D-Cellobiose-Assimilation	dCELa	0,168 mg
7	Dulcit-Assimilation	DULa	0,168 mg
10	D-Galaktose-Assimilation	dGALa	0,168 mg
12	D-Glucose-Assimilation	dGLUa	0,168 mg
13	Laktose-Assimilation	LACa	0,168 mg
14	Methyl-A-D-Glukopyranosid-Assimilation	MAdGa	0,168 mg
15	D-Maltose-Assimilation	dMALa	0,168 mg
18	D-Mannitol-Assimilation	dMANa	0,168 mg
19	D-Melibiose-Assimilation	dMELa	0,168 mg
20	D-Melezitose-Assimilation	dMLZa	0,168 mg
21	Palatinose-Assimilation	PLEa	0,168 mg
22	D-Raffinose-Assimilation	dRAFa	0,168 mg
23	L-Rhamnose	IRHAa	0,168 mg
26	Saccharose/Sucrose-Assimilation	SACa	0,168 mg
27	Salizin-Assimilation	SALa	0,168 mg
28	L-Sorbose-Assimilation	ISBEa	0,168 mg
29	D-Sorbit-Assimilation	dSORa	0,168 mg
30	Nitrat-Assimilation	NO3a	0,168 mg
31	Glycin-Arylamidase	GlyA	0,168 mg
34	Citrat-(Natrium)-Assimilation	CITa	0,168 mg
35	D-Galakturonat-Assimilation	dGATa	0,168 mg
36	D-Glukonat-Assimilation	dGNTa	0,168 mg
37	Trans-4-Hydroxy-L-Prolin-Arylamidase	HypA	0,168 mg
38	DL-Laktat-Assimilation	LATa	0,168 mg
39	Mono-Methyl-Ester-Succinat-Assimilation	MMESa	0,168 mg
42	Succinat-Assimilation	SUCTa	0,168 mg
43	Alpha-Galaktosidase	AGAL	9,5 µg
44	Alpha-Glukosidase	AGLU	9,5 µg
45	Alpha-Mannosidase	AMAN	9,5 µg
46	β-Galaktosidase	BGAL	4,7 µg
47	β-Glukosidase	BGLU	9,5 µg
50	β-Glukuronidase	BGUR	9,5 µg
51	β-N-Acetyl-Glukosaminidase	BNAG	5,3 µg
52	H-Lys-Ala-Arylamidase	LAA	2,9 µg

53	β -Xylosidase	BXYL	8,6 μ g
54	Phosphatase	PHOS	0,7 μ g
55	Gamma-Glutamyl-Transferase	GGT	0,7 μ g
59	Histidin-Arylamidase	HisA	4,7 μ g
60	Isoleucin-Arylamidase	IleA	11,3 μ g
61	L-Prolin-Arylamidase	ProA	1,0 μ g
62	H-Valin-Arylamidase	ValA	5,6 μ g
63	Urease	URE	0,337 mg

Tabelle 11: Ablesetabelle API Coryne® (Fa. bioMérieux)

Tests	aktive Komponenten	Menge in mg	Reaktionen/ Enzyme	Ergebnis, wenn positiv	Ergebnis, wenn negativ
NIT	Kaliumnitrat	0,136	Reduktion des Nitrates	farblos, hell-rosa	kräftiges rosa, rot
PYZ	Pyrazincorboxamid	0,56	Pyrazinamidase	farblos, sehr helles braun, sehr helles orange	braun, orange
PYRA	Pyroglutaminsäure- β -naphtylamid	0,0256	Pyrolidonyl Arylamidase	farblos, helles orange	orange
PAL	2-Naphtylphosphat	0,0244	alkalische Phosphatase	farblos, beige, hellpurpur, helles orange	purpur
βGUR	Naphtho ASBI-Glucuronsäure	0,0548	β -Glucuronidase	farblos, hellgrau, hellbeige	blau
βGAL	2-Naphtyl- β D-galactopyranosid	0,0312	β -Galaktosidase	farblos, beige, hellpurpur	purpur
alphaGLU	2-Naphtyl-alphaD-glucopyranosid	0,0308	alpha-Glucosidase	farblos, beige, hellpurpur, hellgrün	purpur
BNAG	1-Naphtyl-N-acetyl- β D-glucosaminid	0,0348	N-Acetyl- β -Glucosaminidase	farblos, beige, hellpurpur, hellbraun, hellgrau	braun
ESC	Esculin Eisencitrat	0,546 0,078	β -Glucosidase	farblos, grau	schwarz
URE	Harnstoff	0,76	Urease	gelb, orange	rot, rosa
GEL	bovine Gelatine	0,6	Hydrolyse	keine Diffusion des Pigments	Diffusion des Pigments
O	Kontrolle	-	Fermentation	rot, orange	gelb, gelb-orange
GLU	D-Glukose	1,56	Fermentation	rot, orange	gelb, gelb-orange
RIB	D-Ribose	1,4	Fermentation	rot, orange	gelb, gelb-orange

XYL	D-Xylose	1,4	Fermentation	rot, orange	gelb, gelb-orange
MAN	D-Mannitol	1,36	Fermentation	rot, orange	gelb, gelb-orange
MAL	D-Maltose	1,4	Fermentation	rot, orange	gelb, gelb-orange
LAC	D-Lactose	1,4	Fermentation	rot, orange	gelb, gelb-orange
SAC	D-Saccharose	1,32	Fermentation	rot, orange	gelb, gelb-orange
GLYG	Glykogen	1,28	Fermentation	rot, orange	gelb, gelb-orange
CAT	H ₂ O ₂ (3%) / 1 min		Katalase	keine Blasenbildung	Blasenbildung

Identifizierungstabellen API Coryne® (Fa. bioMérieux)

Tabelle 12: Identifizierungstabelle API Coryne® (Fa. bioMérieux) Substrate

API CORYNE®	NIT	PYZ	PYRA	PAL	βGUR	βGAL	AGLU	βNAG	ESC	URE	GEL
<i>Brevibacterium ssp</i>	25	70	70	92	0	20	62	20	20	0	66
<i>Cellulomonas ssp/Microbacterim ssp</i>	42	100	31	22	1	82	100	68	98	0	25
<i>Cellulosimicrobium cellulans</i>	98	100	90	98	1	98	100	90	100	0	95
<i>Corynebacterium accolens</i>	100	50	42	0	0	0	0	1	0	0	0
<i>Corynebacterium afermentans/coyleae</i>	0	100	76	100	0	0	0	0	0	0	0
<i>Corynebacterium amycolatum</i>	57	97	15	97	0	0	1	0	2	13	0
<i>Corynebacterium argentoratense</i>	0	100	0	55	0	0	0	0	0	0	0
<i>Corynebacterium auris</i>	0	100	0	100	0	0	0	0	0	0	0
<i>Corynebacterium group G</i>	17	99	42	99	0	0	0	0	1	0	0
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	3	89	5	100	0	0	0	0	1	1	0
<i>Corynebacterium macginleyi</i>	93	0	38	99	0	0	1	0	0	3	0
<i>Corynebacterium propinquum</i>	71	71	35	60	0	0	0	0	0	0	0

<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	98	93	58	53	0	0	1	0	1	92	0
<i>Corynebacterium striatum</i>	57	97	15	97	0	0	1	0	2	13	0
<i>Corynebacterium urealyticum</i>	1	98	0	50	0	1	1	0	4	100	0
<i>Rothia dentocariosa</i>	100	100	99	21	0	0	100	0	99	0	2

Tabelle 13: Identifizierungstabelle API Coryne® (Fa. bioMérieux) Zucker und Katalase

API CORYNE®	GEL	GLU	RIB	XYL	MAN	MAL	LAC	SAC	GLYG	CAT
<i>Brevibacterium ssp</i>	66	25	20	7	0	25	20	20	0	100
<i>Cellulomonas ssp/Microbacterim ssp</i>	25	100	22	68	65	98	31	98	20	100
<i>Cellulosimicrobium cellulans</i>	95	98	98	95	0	98	33	98	76	100
<i>Corynebacterium accolens</i>	0	100	98	0	7	1	0	28	0	100
<i>Corynebacterium afermentans/coyleae</i>	0	6	0	0	0	0	0	0	0	100
<i>Corynebacterium amycolatum</i>	0	100	45	0	1	71	0	69	1	100
<i>Corynebacterium argentoratense</i>	0	100	0	0	0	0	0	0	0	100
<i>Corynebacterium auris</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
<i>Corynebacterium group G</i>	0	100	100	0	1	50	0	92	0	100
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	0	98	83	0	0	21	0	1	1	99
<i>Corynebacterium macginleyi</i>	0	100	87	0	3	6	1	93	1	99
<i>Corynebacterium propinquum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	0	1	0	0	0	0	0	1	0	100
<i>Corynebacterium striatum</i>	0	100	45	0	1	71	0	69	1	100
<i>Corynebacterium urealyticum</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	100

<i>Rothia dentocariosa</i>	2	100	0	0	0	100	0	100	0	100
----------------------------	---	-----	---	---	---	-----	---	-----	---	-----

Tabelle 14: Ablesetabelle API NH® (Fa. bioMérieux)

Tests	Aktive Bestandteile	Menge in mg/Vertiefung	Reaktion	Ergebnis, wenn positiv	Ergebnis, wenn negativ
GLU	D-Glukose	0,5	Säurebildung	rot, rot-orange	gelb, orange
FRU	D-Fruktose	0,1	Säurebildung	rot, rot-orange	gelb, orange
MAL	D-Maltose	0,1	Säurebildung	rot, rot-orange	gelb, orange
SAC	D-Saccharose	0,5	Säurebildung	rot, rot-orange	gelb, orange
ODC	L-Ornithin	0,552	Ornithin Decarboxylase	gelb-grün, grau-grün	blau
URE	Harnstoff	0,41	Urease	gelb	rosa-violett
LIP	5-Brom-3-indoxyl-caprat	0,033	Lipase	farblos, hellgrau	blau mit Niederschlag
PAL	4-Nitrophenylphosphat 2CHA	0,038	Alkalische Phosphatase	farblos, hellgelb	gelb
βGAL	4-Nitrophenyl-βD-Galaktopyranosid	0,04	βGalktosidase	farblos	gelb
ProA	L-Prolin-4-methoxy-β-Naphtylamid	0,056	Prolin Arylamidase wenn LIP+, ist ProA immer -	gelb, hellorange (braun, wenn LIP+)	orange
GGT	Gamma-Glutamyl-4-methoxy-β-Naphtylamid	0,049	Gamma Glutamyl Transferase	gelb, hellorange (braun, wenn PAL+)	orange
IND	L-Tryptophan	0,036	indol	farblos	rosa

Tabelle 15: Identifizierungstabelle API NH® (Fa. bioMérieux)

API NH®	GLU	FRU	MAL	SAC	ODC	URE	LIP	PAL	βGAL	PRO	GGT	IND
<i>Moraxella catarrhalis</i>	10	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	97	0	0	0	0	0	0	0	0	99	0	0

Tabelle 16: Ablesetabelle API 20 NE® (Fa. bioMérieux)

Tests	Aktive Bestandteile	Menge in mg	Reaktion/Enzyme	Ergebnis, wenn negativ	Ergebnis, wenn positiv
NO₃	Kaliumnitrat	0,136	Nitratreduktion zu Nitrit	farblos	rosa-rot
			Nitratreduktion zu Stickstoff	rosa	farblos
TRP	L-Tryptophan	0,2	Indolbildung	farblos, hellgrün, gelb	rosa
GLU	D-Glukose	1,92	Fermentation	blau bis grün	gelb
ADH	L-Arginin	1,92	Arginindihydrolase	gelb	orange, rosa, rot
URE	Harnstoff	0,76	Urease	gelb	orange, rosa, rot
ESC	Aesculin & Eisencitrat	0,56 0,072	Hydrolyse (β-Glucosidase) (Aesculin)	gelb	grau, braun, schwarz
GEL	Gelatine bovinen Ursprungs	0,6	Hydrolyse (Protease) (Gelatine)	keine Diffusion des Pigments	Diffusion
PNG	4-Nitrophenyl-βD-Galactopyranosid	0,22	β-Galaktosidase	farblos	gelb
GLU	D-Glukose	1,56	Assimilation	transparent	trüb
ARA	L-Arabinose	1,4	Assimilation	transparent	trüb
MNE	D-Mannose	1,4	Assimilation	transparent	trüb
MAN	D-Mannitol	1,36	Assimilation	transparent	trüb
NAG	N-Acetylglukosamin	1,28	Assimilation	transparent	trüb
MAL	D-Maltose	1,4	Assimilation	transparent	trüb
GNT	Kaliumgluconat	1,84	Assimilation	transparent	trüb
CAP	Caprinsäure	0,78	Assimilation	transparent	trüb
ADI	Adipinsäure	1,12	Assimilation	transparent	trüb
MLT	Apfelsäure	1,56	Assimilation	transparent	trüb
CIT	Trinatriumcitrat	2,28	Assimilation	transparent	trüb
PAC	Phenylacetat	0,8	Assimilation	transparent	trüb
OX	Oxydase				

Tabelle 17: Identifizierungstabelle API 20 NH (Fa. bioMérieux)

API 20 NH	GLU	FRU	MAL	SAC	ODC	URE	LIP	PAL	βGAL	PRO	GGT	IND
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	97	0	0	0	0	0	0	0	0	99	0	0

Tabelle 18: Ablesetabelle ID 32 STAPH® (Fa. bioMérieux)

Tests	aktive Bestandteile	Menge in mg	Reaktionen/Enzyme	Ergebnis, wenn negativ	Ergebnis, wenn positiv
URE	Harnstoff	1,12	Urease	gelb	orange, rot-violett
ADH	L-Arginin	0,76	Arginindehydrolase	gelb	orange-rot
ODC	L-Ornithin	0,76	Ornithin-Decarboxylase	farblos, hellgrau	braun-schwarz
ESC	Aesculin Eisencitrat	0,224 0,032	Hydrolyse	rot, rot-orange	gelb, gelb-orange
GLU	D-Glukose	0,56	Fermentation	rot, rot-orange	gelb, gelb-orange
FRU	D-Fructose	0,56	Fermentation	rot, rot-orange	gelb, gelb-orange
MNE	D-Mannose	0,56	Fermentation	rot, rot-orange	gelb, gelb-orange
MAL	D-Maltose	0,56	Fermentation	rot, rot-orange	gelb, gelb-orange
LAC	D-Lactose	0,56	Fermentation	rot, rot-orange	gelb, gelb-orange
TRE	D-Trehalose	0,56	Fermentation	rot, rot-orange	gelb, gelb-orange
MAN	D-Mannitol	0,56	Fermentation	rot, rot-orange	gelb, gelb-orange
RAF	D-Raffinose	0,56	Fermentation	rot, rot-orange	gelb, gelb-orange
RIB	D-Ribose	0,56	Fermentation	rot, rot-orange	gelb, gelb-orange
CEL	D-Cellobiose	0,56	Fermentation	rot, rot-orange	gelb, gelb-orange
NIT	Kaliumnitrat	0,054	Reduktion	farblos	rosa-purpur
VP	Natriumpyruvat	0,475	Acetoinbildung	farblos	rosa-rot
βGAL	2-Naphtyl-βD-galactopyranosid	0,0364	β-Galactosidase	farblos, helles purpur, hellorange	purpur
ArgA	L-Arginin-β-naphtylamid	0,0172	Argininarylamidase	farblos, hellorange	orange
PAL	2-Naphtylphosphat	0,0123	alkalische Phosphatase	farblos, helles purpur, hellorange	purpur
PyrA	Pyroglutaminsäure-β-naphtylamid	0,0128	Pyrrolidonylarylamidas e	farblos, hellorange	orange
NOVO	Novobiocin	0,0018	Resistenz	rot, rot-orange	gelb, gelb-orange
SAC	D-Saccharose	0,056	Fermentation	rot, rot-orange	gelb, gelb-orange
NAG	N-Acetylglucosamin	0,056	Fermentation	rot, rot-orange	gelb, gelb-orange

TUR	D-Turanose	0,056	Fermentation	rot, rot-orange	gelb, gelb-orange
ARA	L-Arabinose	0,056	Fermentation	rot, rot-orange	gelb, gelb-orange
BGUR	4-Nitrophenyl- β D-glucuronid	0,0158	β -Glucuronidase	farblos	gelb

Identifizierungstabellen ID 32 STAPH® (Fa. bioMérieux)

Tabelle 19: Identifizierungstabelle ID 32 STAPH® Substrate (Fa. bioMérieux)

ID 32 STAPH®	UR E	ADH	ODC	ESC	NIT	VP	β GAL	ArgA	PAL	PYR	NOVO	TUR	ARA	BGUR
<i>Staphylococcus aureus</i>	74	82	0	0	96	97	1	1	99	35	1	84	3	0
<i>Staphylococcus auricularis</i>	0	40	0	0	74	0	0	100	0	12	0	1	0	0
<i>Staphylococcus capitis</i>	10	53	0	0	88	81	0	1	5	3	7	0	0	0
<i>Staphylococcus caprae</i>	70	99	0	0	99	87	0	0	91	67	0	1	0	0
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	92	99	0	0	100	1	14	0	88	26	0	11	0	0
<i>Staphylococcus cohnii</i>	1	0	0	0	1	67	1	0	20	1	92	1	0	5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	86	20	1	1	74	95	1	0	6	1	1	53	0	0
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	91	0	1	89	95	1	0	3	98	1	45	1	29
<i>Staphylococcus hominis</i>	81	6	0	1	92	93	0	0	1	1	5	93	1	0
<i>Staphylococcus intermedius</i>	99	74	0	0	99	18	99	1	99	88	1	3	1	0
<i>Staphylococcus kloosii</i>	50	0	0	1	0	44	33	0	56	56	98	0	33	44
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	65	1	100	0	99	99	1	0	1	99	1	1	0	0
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	97	0	0	0	4	99	93	0	4	29	93	85	0	1
<i>Staphylococcus schleiferi</i>	0	97	0	0	89	97	26	0	100	49	0	0	0	0
<i>Staphylococcus sciuri</i>	0	0	0	100	99	1	1	0	74	0	43	75	60	39
<i>Staphylococcus warneri</i>	94	30	0	0	33	92	0	0	0	1	4	26	0	67
<i>Staphylococcus xylosus</i>	85	0	0	26	89	26	88	0	83	60	85	37	50	89
<i>Rothia mucilaginosa</i>	8	0	0	67	100	100	25	92	33	75	8	92	8	0
<i>Dermaococcus nishinomiyaensis</i>	0	10	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

<i>Kocuria kristinae</i>	0	0	0	0	0	13	20	7	7	93	7	27	7	0
<i>Kocuria rosea</i>	33	0	0	0	100	0	1	67	0	0	0	0	0	33
<i>Kocuria varians</i>	100	0	0	0	80	0	90	0	0	10	0	0	0	0
<i>Micrococcus luteus</i>	38	0	0	0	5	0	1	92	10	74	0	0	0	0
<i>Micrococcus lylae</i>	0	11	0	1	11	0	1	44	0	44	0	11	0	0

Tabelle 20: Identifizierungstabelle ID 32 STAPH® (Fa. bioMérieux) Zucker

ID 32 STAPH®	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	RAF	SAC	TUR	ARA	RIB	CEL
<i>Staphylococcus aureus</i>	100	100	100	100	95	99	94	2	98	84	3	1	0
<i>Staphylococcus auricularis</i>	100	100	0	30	0	40	0	0	40	1	0	0	0
<i>Staphylococcus capitis</i>	97	100	86	47	26	0	30	1	72	0	0	7	0
<i>Staphylococcus caprae</i>	100	99	100	29	83	75	26	0	0	1	0	0	0
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	99	100	99	65	95	95	11	1	99	11	0	84	0
<i>Staphylococcus cohnii</i>	97	100	21	83	1	90	75	0	0	1	0	1	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	100	99	39	100	46	0	0	0	98	53	0	1	1
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	100	77	1	100	80	97	64	0	99	45	1	18	0
<i>Staphylococcus hominis</i>	100	99	1	100	45	89	1	0	91	93	1	6	0
<i>Staphylococcus intermedius</i>	100	100	100	100	99	94	47	0	99	3	1	99	0
<i>Staphylococcus kloosii</i>	99	100	0	50	50	89	96	5	5	0	33	56	0
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	100	99	94	88	74	94	1	0	100	1	0	1	0
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	99	99	0	100	93	100	84	0	99	85	0	0	1
<i>Staphylococcus schleiferi</i>	100	80	100	0	3	66	0	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus sciuri</i>	100	100	100	99	73	95	100	0	86	75	60	60	75
<i>Staphylococcus warneri</i>	99	99	14	98	19	93	70	0	100	26	0	16	0
<i>Staphylococcus xylosus</i>	100	100	76	90	88	90	89	1	99	37	50	19	10
<i>Rothia mucilaginosa</i>	92	100	100	100	1	92	0	0	92	92	8	8	0
<i>Dermaococcus nishinomiyaensis</i>	10	0	0	0	10	1	0	0	10	0	0	0	0
<i>Kocuria kristinae</i>	100	100	100	87	20	99	0	0	100	27	7	7	0

<i>Kocuria rosea</i>	1	33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Kocuria varians</i>	100	40	0	0	74	20	0	0	1	0	0	0	0
<i>Micrococcus luteus</i>	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0
<i>Micrococcus lylae</i>	0	11	0	0	0	1	0	0	0	11	0	0	0

Tabelle 21: Ablesetabelle rapid ID 32 STREP® (Fa. bioMérieux)

Test	Aktive Bestandteile	Menge in mg/Vertiefung	Reaktionen/Enzyme	Ergebnis negativ	Ergebnis positiv
ADH	L-Arginin	0,76	Arginindihydrolase	gelb	rot rot-orange
BGLU	Resorufin-βD-galactopyranosid	0,0032	β-Glucosidase	hellorange	rosa-fluoresz. rot-orange
BGAL	Resorufin-βD-galactopyranosid	0,0032	β-Galactosidase	orange	rosa-fluoresz. rot-orange
BGUR	Resorufin-βD-glucuronid	0,0032	β-Glucuronidase	farblos	gelb
alphaGAL	4-Nitrophenyl-alphaD-galactopyranosid	0,096	alpha-Galactosidase	farblos sehr helles gelb	gelb
PAL	4-Nitrophenyl-alphaD-galactopyranosid-2-CHA	0,084	alkalische Phosphatase	rot rot-orange	gelb orange
RIP	D-Ribose	0,55	Säurebildung	rot rot-orange	gelb orange
MAN	D-Mannitol	0,55	Säurebildung	rot rot-orange	gelb orange
SOR	D-Sorbitol	0,55	Säurebildung	rot rot-orange	gelb orange
LAC	D-Lactose (bovine)	0,55	Säurebildung	rot rot-orange	gelb orange
TRE	D-Trehalose	0,55	Säurebildung	rot rot-orange	gelb orange
RAF	D-Raffinose	0,55	Säurebildung	rot rot-orange	gelb orange
SAC	D-Saccharose	0,55	Säurebildung	rot rot-orange	gelb orange
LARA	L-Arabinose	0,55	Säurebildung	rot rot-orange	gelb orange
DARL	D-Arabitol	0,55	Säurebildung	rot rot-orange	gelb orange
CDEX	alpha-Cyclodextrin	0,275	Säurebildung	rot rot-orange	gelb orange
VP	Natriumpyruvat	0,19	Acetoinbildung	farblos	rosa
APPA	L-Alanin-L-phenylalanyl-L-	0,049	Alanyl-Phenylalanyl-Prolin-Arylamidase	farblos hellorange	orange

	prolin- β -naphtylamid				
BGAL	2-Naphtyl- β D-galactopyranosid	0,038	β -Galactosidase	farblos hellorange hellpurpur	purpur
PyrA	Pyroglutaminsäure- β -naphtylamid	0,0254	Pyroglutaminsäure-Arylamidase	farblos hellorange	orange
BNAG	6-Brom-2-naphtyl-N-acetyl- β D-glucosaminid	0,043	N-Acetyl- β -Glucosaminidase	farblos hellorange hellpurpur	purpur
GTA	L-Glycyl-L-tryptophan- β -naphtylamid	0,05	Glycyl-Tryptophan-Arylamidase	farblos hellorange	orange
HIP	Natriumhippurat	1,5	Hydrolyse von Hippurat	farblos bläulich-grau	blau
GLYG	Glycogen	0,55	Säurebildung	rot rot-orange	gelb orange
PUL	Pullulan	0,55	Säurebildung	rot rot-orange	gelb orange
MAL	D-Maltose	0,55	Säurebildung	rot rot-orange	gelb orange
MEL	D-Melibiose	0,55	Säurebildung	rot rot-orange	gelb orange
MLZ	D-Melezitose	0,55	Säurebildung	rot rot-orange	gelb orange
MBDG	Methyl- β D-glucopyranosid	0,55	Säurebildung	rot rot-orange	gelb orange
TAG	D-Tagatose	0,55	Säurebildung	rot rot-orange	gelb orange
BMAN	4-Nitrophenyl- β D-mannopyranosid	0,03	β -Mannosidase	farblos	gelb
URE	Harnstoff	0,448	Urease	gelb	rosa rot-violett

Tabelle 22: Identifizierungstabelle rapid ID 32 STREP® (Fa. bioMérieux)

rapid ID 32 STREP®	Gemella haemolysans	Streptococcus mitis 1	Streptococcus mitis 2	Streptococcus oralis 1	Streptococcus oralis 2	Streptococcus oralis 3
ADH	0	1	14	2	1	0
BGLU	0	0	1	4	1	0
BGAL	0	65	20	98	89	89
BGUR	0	0	0	0	0	0
alphaGAL	0	10	24	93	8	6
PAL	55	39	8	93	62	11
RIP	0	17	1	0	1	5
MAN	15	0	0	1	1	0
SOR	5	1	1	1	1	0
LAC	0	97	60	99	97	68

TRE	0	9	45	40	26	13
RAF	0	11	60	93	40	68
VP	10	4	9	3	22	7
APPA	10	99	100	100	100	100
BGAL	0	1	1	23	17	0
PYRA	70	1	0	1	0	0
BNAG	0	1	0	26	9	0
GTA	10	30	28	99	70	0
HIP	0	1	0	1	0	0
GLYG	0	0	0	3	0	0
PUL	0	98	34	99	90	0
MAL	95	99	70	100	99	24
MEL	0	5	0	80	7	0
MLZ	0	0	0	0	0	0
SAC	44	100	89	100	100	47
LARA	0	0	0	0	0	6
DARL	0	0	0	0	0	0
MBDG	0	0	1	1	0	0
TAG	0	1	3	40	27	6
BMAN	0	0	0	5	6	0
CDEX	0	1	0	3	1	0
URE	0	0	0	0	0	0

Tabelle 23: Auflistung der Anzahl der identifizierten Staphylokokken im Zusammenhang mit einem Krankenhausaufenthalt in Absolutzahlen

Staphylokokken	total	alle einzelne gefundene					Bei Aufnahme	pro Patient während des Krankenhausaufenthaltes	ausschließlich bei Aufnahme	nosokomial	Bei Aufnahme und im wöchentlichen Abstrich	Negativer Befund bei Aufnahme, im wöchentlichen Abstrich und bei Entlassung	Im wöchentlichen Abstrich	Bei Entlassung	2 Wochen nach Entlassung	2 Monate nach Entlassung	im wöchentlichen Abstrich, bei Entlassung und 2 Wochen nach Entlassung	Entlassung, zwöchen und 2 Monate nach Entlassung
		alle einzelne gefundene	mit 2 gleichzeitig gefundenen	mit 3 gleichzeitig gefundenen	mit 4 gleichzeitig gefundenen	mit 5 gleichzeitig gefundenen												
Staphylokokken total	995	328	246	50	5	1	219	210	0	0	210	0	350	3	41	9	35	35
<i>Staphylococcus aureus</i>	123	21	69	28	4	1	65	75	40	13	22	135	42	0	10	5	3	3
<i>Staphylococcus aureus</i> R	6	2	2	2	0	0	2	6	2	4	0	191	4	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus auricularis</i>	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	210	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus capitis</i>	24	0	0	0	0	0	14	23	14	9	0	187	9	0	1	0	0	0
<i>Staphylococcus caprae</i>	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	209	1	0	0	0	0	0

<i>Staphylococcus chromogenes</i>	3	0	4	3	0	0	0	3	1	2	0	207	2	0	0	0	0
<i>Staphylococcus cohnii</i>	2	0	0	6	0	0	1	0	1	0	0	209	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	538	251	234	47	5	1	198	207	23	18	166	3	286	2	36	7	29
<i>Staphylococcus epidermidisR</i>	298	153	122	20	2	1	59	148	13	90	45	19	212	1	20	3	10
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	152	31	102	14	4	1	21	97	10	75	12	113	123	1	4	2	1
<i>Staphylococcus haemolyticusR</i>	126	29	81	12	3	1	15	83	7	68	8	119	106	1	2	1	0
<i>Staphylococcus hominis</i>	26	3	16	6	1	0	16	22	13	7	2	188	9	0	0	1	0
<i>Staphylococcus hominisR</i>	12	2	8	2	0	0	7	11	6	4	1	187	5	0	0	0	0
<i>Staphylococcus intermedius</i>	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	210	0	0	0	1	0
<i>Staphylococcus kloosii</i>	1	0	2	0	0	0	0	1	0	1	0	209	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	40	0	0	0	0	0	24	31	19	8	4	179	4	0	1	1	0
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	209	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus simulans</i>	4	1	2	1	0	0	1	4	1	3	0	206	2	1	0	0	0
<i>Staphylococcus schleiferi</i>	2	0	2	3	0	0	1	1	1	0	0	209	0	0	1	0	0
<i>Staphylococcus sciuri</i>	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	209	1	0	0	0	0
<i>Staphylococcus warneri</i>	44	2	22	16	4	0	26	38	26	12	0	172	13	0	2	1	0
<i>Staphylococcus warneriR</i>	3	0	2	1	0	0	3	3	3	0	0	201	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus xylosus</i>	1	0	2	0	0	0	0	1	0	1	0	209	1	0	0	0	0

Tabelle 24: Auflistung der Anzahl der identifizierten Pilze im Zusammenhang mit einem Krankenhausaufenthalt in Absolutzahlen

Pilze	Abstriche total	Bei Aufnahme	Anzahl der Patienten mit positiven Befund während des Krankenhausaufenthaltes	Ausschließlich bei Aufnahme	nosokomial	Bei Aufnahme und im wöchentlichen Abstrich pro Patient	Negative Befunde	Im wöchentlichen Abstrich	Bei Entlassung	2 Wochen nach Entlassung	2 Monate nach Entlassung	in wöchentlichen Abstrich, bei Entlassung und 2 Wochen danach	permanent
total	46	3	25	2	21	1	186	26	0	2	2	0	0
<i>Candida albicans</i>	34	1	17	0	16	1	193	32	0	1	0	0	0
<i>Candida dubliniensis</i>	1	0	1	0	1	0	209	1	0	0	0	0	0
<i>Candida famata</i>	2	1	1	1	0	0	209	0	0	0	0	0	0
<i>Candida glabrata</i>	3	0	3	0	3	0	207	3	0	0	0	0	0
<i>Candida krusei</i>	1	0	1	0	1	0	209	1	0	0	0	0	0
<i>Candida parapsilosis</i>	1	0	1	0	1	0	209	1	0	0	0	0	0
<i>Candida rugosa</i>	1	1	1	1	0	0	209	0	0	0	0	0	0

<i>Candida sake</i>	1	0	0	0	0	0	210	0	0	0	1	0	0
<i>Candida tropicalis</i>	1	0	0	0	0	0	210	0	0	0	1	0	0
Schimmelpilz	1	0	0	0	0	0	210	0	0	0	0	0	0

Tabelle 25: Auflistung der Anzahl der identifizierten Corynebakterien im Zusammenhang mit einem Krankenhausaufenthalt in Absolutzahlen

	total	Bei Aufnahme	Anzahl der Patienten während des Krankenhausaufenthaltes	Ausschließlich bei Aufnahme	nosokomial	Bei Aufnahme und im wöchentlichen Abstrich	Negative Befunde	Im wöchentlichen Abstrich	Bei Entlassung	2 Wochen nach Entlassung	2 Monate nach Entlassung	Im wöchentlichen Abstrich, bei Entlassung und 2 Wochen nach Entlassung	Bei Aufnahme, im wöchentlichen Abstrich, bei Entlassung, 2 Wochen und 2 Monate nach Entlassung
Corynebakterien													
total	330	148	170	62	21	86	41	153	2	16	3	7	7
<i>Corynebacterium accolens</i>	138	73	88	31	4	42	133	45	1	13	2	4	4
<i>Corynebacterium afermentans/coyleae</i>	5	0	3	0	3	0	207	5	0	0	0	0	0
<i>Corynebacterium amycolatum</i>	21	6	7	2	2	3	203	15	0	0	0	0	0
<i>Corynebacterium argentoratense</i>	2	1	2	1	1	0	208	1	0	0	0	0	0
<i>Corynebacterium auris</i>	1	0	0	0	0	0	210	0	0	0	1	0	0
<i>Corynebacterium group G</i>	35	13	18	10	4	3	193	22	0	0	0	0	0
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	29	8	12	3	4	5	198	19	0	2	0	0	0
<i>Corynebacterium macginleyi</i>	52	17	22	7	6	9	188	34	0	0	0	0	0
<i>Corynebacterium propinquum</i>	61	34	36	12	3	18	177	0	1	5	1	0	0
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	71	52	42	14	1	27	168	16	0	0	0	0	0
<i>Corynebacterium striatum</i>	16	4	8	2	4	1	203	11	0	1	0	0	0
<i>Corynebacterium urealyticum</i>	3	2	3	2	1	0	207	1	0	0	0	0	0

Tabelle 26: Auflistung der Anzahl der identifizierten Streptokokken im Zusammenhang mit einem Krankenhausaufenthalt in Absolutzahlen

Streptokokken	total	Bei Aufnahme	total pro Patient während des Krankenhausaufenthaltes	Ausschließlich bei Aufnahme	nosokomial	Bei Aufnahme und im wöchentlichen Abstrich pro Patient	Negative Befunde während des Krankenhausaufenthaltes	Im wöchentlichen Abstrich	Bei Entlassung	2 Wochen nach Entlassung	2 Monate nach Entlassung	Im wöchentlichen Abstrich, bei Entlassung und 2 Wochen nach Entlassung	Bei Aufnahme, im wöchentlichen Abstrich, bei Entlassung und 2 Wochen bzw. 2 Monate nach Entlassung
total	32	10	27	8	17	1	184	19	0	3	0	0	0
<i>Streptococcus gordonii</i>	1	0	1	0	1	0	209	1	0	0	0	0	0
<i>Streptococcus Kit B</i>	1	0	0	0	0	0	210	0	0	1	0	0	0
<i>Streptococcus Kit C</i>	1	0	1	0	1	0	209	1	0	0	0	0	0
<i>Streptococcus Kit F</i>	1	1	1	1	0	0	209	0	0	0	0	0	0
<i>Streptococcus mitis/oralis</i>	17	4	15	3	11	1	195	12	0	1	0	0	0
<i>Streptococcus parasanguinis</i>	8	4	8	4	4	0	202	4	0	0	0	0	0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1	1	1	1	0	0	209	0	0	0	0	0	0
<i>Streptococcus salivarius</i>	1	0	0	0	0	0	210	0	0	1	0	0	0
<i>Streptococcus sanguinis</i>	1	0	1	0	1	0	209	1	0	0	0	0	0

Tabelle 27: Auflistung der Anzahl der identifizierten Enterokokken im Zusammenhang mit einem Krankenhausaufenthalt in Absolutzahlen

Enterokokken	total	Bei Aufnahme	Total der gefundenen Bakterien pro Patient während des Krankenhausaufenthaltes	Ausschließlich bei Aufnahme	nosokomial	Bei Aufnahme und im wöchentlichen Abstrich pro Patient	Negativer Befund	Im wöchentlichen Abstrich	Bei Entlassung	2 Wochen nach Entlassung	2 Monate nach Entlassung	Im wöchentlichen Abstrich, bei Entlassung und 2 Wochen nach Entlassung	Bei Aufnahme, im wöchentlichen Abstrich, bei Entlassung, 2 Wochen und 2 Monate nach Entlassung
total	95	4	54	2	51	1	156	83	0	6	1	3	0
<i>Enterococcus avium</i>	1	0	1	0	1	0	209	1	0	0	0	0	0
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	1	1	1	1	0	0	209	0	0	0	0	0	0
<i>Enterococcus faecalis</i>	55	2	33	1	31	1	177	45	1	6	1	3	0

<i>Enterococcus faecium</i>	38	1	24	1	23	0	186	37	0	0	0	0	0
-----------------------------	----	---	----	---	----	---	-----	----	---	---	---	---	---

Tabelle 28: Auflistung der Anzahl der identifizierten *Enterobacteriaceae* im Zusammenhang mit einem Krankenhausaufenthalt in Absolutzahlen

Enterobacteriaceae	total	Anzahl bei Aufnahme	total pro Patient während des Krankenhausaufenthaltes	Total ausschließlich bei Aufnahme	nosokomial	Total bei Aufnahme und im wöchentlichen Abstrich pro Patient	Anzahl der Proben mit Enterobacteriaceae weder bei Aufnahme, noch im wöchentlichen Abstrich noch bei Entlassung	Im wöchentlichen Abstrich	Bei Entlassung	2 Wochen nach Entlassung	2 Monate nach Entlassung	Im wöchentlichen Abstrich, bei Entlassung und/oder 2 Wochen nach Entlassung	Bei Aufnahme und im wöchentlichen Abstrich oder bei Entlassung und 2 Wochen oder 2 Monate nach Entlassung
total	108	24	68	12	39	7	152	62	1	12	2	4	1
<i>Burkholderia cepacia group</i>	1	0	1	0	1	0	209	1	0	0	0	0	0
<i>Citrobacter braakii</i>	1	1	1	1	0	0	209	0	0	0	0	0	0
<i>Citrobacter freundii</i>	1	0	1	0	1	0	209	1	0	0	0	0	0
<i>Citrobacter koseri</i>	7	3	7	3	4	0	203	4	0	0	0	0	0
<i>Citrobacter youngae</i>	1	0	1	0	1	0	209	1	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter aerogenes</i>	3	1	3	0	2	0	207	2	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter amnigenus 1</i>	1	0	0	0	0	0	210	0	0	1	0	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	12	1	10	1	9	0	200	11	0	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i>	17	6	12	4	6	1	199	8	0	2	1	0	0
<i>Klebsiella oxytoca</i>	8	3	8	3	2	0	205	2	0	3	0	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	0	2	0	2	0	208	2	0	0	0	0	0
<i>Morganella morganii</i>	6	3	4	2	1	1	206	2	0	1	0	1	1
<i>Pantoea spp</i>	1	0	1	0	1	0	209	1	0	0	0	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	28	7	16	4	8	3	195	14	1	6	0	2	0
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	2	0	1	0	1	1	208	0	0	1	0	0	0
<i>Serratia marcescens</i>	16	1	11	1	11	0	198	14	0	1	0	1	0
<i>Serratia rubidaea</i>	1	0	0	0	0	0	210	0	0	0	1	0	0

Tabelle 29: Auflistung der Anzahl der identifizierten Nonfermenter im Zusammenhang mit einem Krankenhausaufenthalt in Absolutzahlen

Nonfermenter	total	Anzahl der positiven Befunde bei Aufnahme	Kolonisierte Patienten während des Krankenhausaufenthaltes	Ausschließlich bei Aufnahme	nosokomial	Anzahl der positiven Befunde bei Aufnahme und im wöchentlichen Abstrich pro Patient	Anzahl der negativen Befunde bei Aufnahme, im wöchentlichen Abstrich und bei Entlassung.	Anzahl der positiven Befunde im wöchentlichen Abstrich	Anzahl der positiven Befunde bei Entlassung	Anzahl der positiven Befunde 2 Wochen nach Entlassung	Anzahl der positiven Befunde 2 Monate nach Entlassung	Anzahl der positiven Befunde bei Entlassung, 2 Wochen und 2 Monate nach Entlassung	Anzahl der permanent kolonisierten Patienten
gesamt	38	6	30	4	24	1	181	26	1	2	2	0	0

<i>Acinetobacter baumannii</i>	5	0	5	0	5	0	205	5	0	0	0	0	0
<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	1	0	0	0	0	0	210	0	0	0	1	0	0
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	9	0	7	0	7	0	203	7	0	0	0	0	0
<i>Flavimonas oryzihabitans</i>	1	0	1	0	1	0	209	1	0	0	0	0	0
<i>Moraxella catarrhalis</i>	7	3	6	2	3	0	205	3	0	0	0	0	0
<i>Moraxella group</i>	6	3	5	3	2	0	205	2	0	1	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6	0	5	0	5	0	205	6	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	3	0	3	0	3	0	207	2	1	0	0	0	0

Tabelle 30: Auflistung der Anzahl der identifizierten weiteren Bakterien im Zusammenhang mit einem Krankenhausaufenthalt in Absolutzahlen

weitere Bakterien	Total	Anzahl der positiven Befunde bei Aufnahme	Total pro Patient während des Krankenhausaufenthaltes	Anzahl der positiven Befunde ausschließlich bei Aufnahme	nosokomial	Anzahl der positiven Befunde bei Aufnahme und im wöchentlichen Abstrich pro Patient	Anzahl der negativen Befunde in Abstrichen während des Krankenhausaufenthaltes	Anzahl der positiven Befunde im wöchentlichen Abstrich	Anzahl der positiven Befunde bei Entlassung	Anzahl der positiven Befunde 2 Wochen nach Entlassung	Anzahl der positiven Befunde 2 Monate nach Entlassung	Anzahl der positiven Befunde im wöchentlichen Abstrich, bei Entlassung und 2 Wochen nach Entlassung	Anzahl der positiven Befunde der permanent kolonisierten Patienten
gesamt	250	139	178	98	36	43	33	96	0	10	2	3	2
<i>Aerococcus viridans</i>	1	0	0	0	0	0	210	0	0	1	0	0	0
<i>Aeromonas salmonicida</i>	3	0	1	0	1	0	209	1	0	2	0	0	0
<i>Aeromonas sobria</i>	1	1	0	1	0	0	209	0	0	0	0	0	0
<i>Alloiococcus otitis</i>	11	9	11	9	2	0	199	2	0	0	0	0	0
<i>Bacillus ssp</i>	6	1	6	1	4	0	205	4	0	0	0	0	0
<i>Brevibacterium ssp</i>	4	1	4	1	3	0	206	0	0	0	0	0	0
<i>Brevundimonas diminuta/vesicularis</i>	2	0	0	0	0	0	210	0	0	1	1	0	0
<i>Cellulosimicrobium cellulans</i>	1	0	1	0	1	0	209	1	0	0	0	0	0
<i>Cellulomonas ssp/ Microbacterim ssp</i>	2	0	2	0	2	0	208	2	0	0	0	0	0
<i>Delftia acidovorans</i>	1	0	0	0	0	0	210	0	0	1	0	0	0
<i>Dermacoccus nishinomiyaensis/ Kytococcus sedentarius</i>	1	0	0	0	0	0	210	0	0	0	1	0	0

<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	1	1	1	1	0	0	209	0	0	0	0	0	0
<i>Gemella haemolysans</i>	1	1	1	1	0	0	209	0	0	0	0	0	0
<i>Granulicatella adiacens</i>	9	9	9	9	0	0	201	0	0	0	0	0	0
<i>Granulicatella elegans</i>	4	4	4	4	0	0	206	0	0	0	0	0	0
<i>Kocuria kristinae</i>	3	0	2	0	1	0	208	1	0	0	0	0	0
<i>Kocuria rosea</i>	3	0	2	0	2	0	208	0	0	0	1	0	0
<i>Kocuria varians</i>	9	5	8	5	3	0	202	3	0	0	0	0	0
<i>Kocuria rhizophila</i>	1	0	0	0	0	0	210	0	0	1	0	0	0
<i>Leuconostocf mesenteroides</i>	2	0	2	0	1	0	208	1	0	0	0	0	0
<i>Micrococcus luteus</i>	13	5	9	4	4	1	201	6	0	2	0	1	0
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1	0	0	0	0	0	210	0	0	1	0	0	0
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	2	0	2	0	2	0	208	2	0	0	0	0	0
<i>Propionibacterium ssp</i>	189	118	144	86	27	0	97	66	0	2	1	2	2
<i>Rhizobium radiobacter</i>	2	0	2	0	2	0	208	2	0	0	0	0	0
<i>Rothia dentocariosa</i>	2	1	2	1	1	0	208	1	0	0	0	0	0
<i>Rothia mucilaginoso</i>	1	0	1	0	1	0	209	1	0	0	0	0	0
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1	0	1	0	1	0	209	1	0	0	0	0	0
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	3	0	1	0	1	0	209	3	0	0	0	0	0

Tabelle 31: Laborgeräte zur Anzucht der Bakterien auf Columbia-Agar und Columbia-Bouillon

Erforderliche Laborgeräte und Hilfsmittel	<ul style="list-style-type: none"> • Impfösen • Einmalhandschuhe • Columbia-Agar mit 5% Schafblut
Zusammensetzung Columbia-Agar	<ul style="list-style-type: none"> • Pankreatisch abgebautes Casein 12,0 g/l Wasser • Peptisch abgebautes Tiergewebe 5,0 g/l Wasser • Hefeextrakt 3,0 g/l Wasser • Rindfleischextrakt 3,0 g/l Wasser • Maisstärke 1,0 g/l Wasser • Natriumchlorid 5,0 g/l Wasser • Agar 13,5 g/l Wasser • pH-Wert 7,3 +/- 0,2

Zusammensetzung Columbia-Bouillon	<ul style="list-style-type: none"> • Pankreatisch abgebautes Casein 10,0 g • Peptisch abgebautes Tiergewebe 8,0 g • Hefeextrakt 5,0 g • Natriumchlorid 5,0 g • Glucose 2,5 g • L-Cystein-HCl 0,1 g • Magnesiumsulfat 0,05 g • Eisen(II)-sulfat 0,012 g • Tris(hydroxymethyl)amniometan 0,83 g • Tris(hydroxymethyl)amniometan-HCl 2,86 g • Natriumcitrat 0,1 g • pH-Wert 7,4 +/-0,2
--	---

Tabelle 32: Laborgeräte zur Identifizierung der Bakterien mit API Coryne®

Erforderliche Laborgeräte und Hilfsmittel	<ul style="list-style-type: none"> • Brutschrank • Einmal-Handschuhe • Einmal-Pipetten • DENSIOMAT® • Blutagar • sterilisierte Wattestäbchen • Impfösen • Paraffinöl • miniAPI® • API Coryne® Testset • API GP Medium • API Suspension Medium • Reagenzien (siehe Tabelle Zusammensetzung der Reagenzien im Anhang)
API Coryne® Testset bestehend aus	<ul style="list-style-type: none"> • Inkubationswanne und Deckel • Teststreifen
API Suspension Medium	<ul style="list-style-type: none"> • entmineralisiertes Wasser
API GP Medium	<ul style="list-style-type: none"> • L-cystin 0,5 g • Trypton(von Kuh/Schwein) 20 g

	<ul style="list-style-type: none"> • NaCl 5 g • Phenolrot 0,17 g • mit entmineralisiertem Wasser auf 1000 ml auffüllen
Reagenzien	<ul style="list-style-type: none"> • NIT 1 • NIT 2 • ZYM A • ZYM B • PYZ

Tabelle 33: Laborgeräte zur Identifizierung der Bakterien mit GenoType® Staphylococcus-Test

Erforderliche Laborgeräte & Hilfsmittel	<ul style="list-style-type: none"> • Einmal-Handschuhe • Horizontalschüttler/TwinCubator® • Messzylinder • Paraffinöl • PCR-Reaktionsgefäße, DNase- und RNase-frei • Pinzette • Pipetten (variabel im Bereich bis 10, 20, 200 und 1000 µl) • Reagenzien zur DNA-Isolierung für Amplifikationsanwendungen sowie hierfür notwendige Geräte • Saugpapier • Schüttelwasserbad/TwinCubator® • Sterile Pipettenspitzen mit Filter • Thermocycler (Heizrate: 3°C/sec, Kühlrate: 2°C/sec, Regelgenauigkeit: +/-0,2°C) • Thermometer, kalibriert • Thermostabile DNA-Polymerase inkl. Puffer (Empfehlung: „Hot Start“-Enzym, Extensionsrate: 2-4 kb/min bei 72°C, Halbwertszeit: 10 min bei 97°C, 60 min bei 94°C, Amplifikationseffizienz: >105fach) • Wasser (molecular biology grade) • Zeitmesser
Das Kit des GenoType®	

Staphylococcus-Test bestehend aus	<ul style="list-style-type: none"> • Membranstreifen beschichtet mit spezifischen Gensonden (STRIPS) • Primer-Nukleotid-Mix (PNM) enthält spezifische Primer, Nukleotide, Farbstoff • Denaturierungsreagenz (DEN) gebrauchsfertig enthält <2% NaOH, Farbstoff • Hybridisierungspuffer (HYB) gebrauchsfertig enthält 8-10% anionisches Tensid, Farbstoff • Stringent-Waschlösung (STR) gebrauchsfertig enthält >25% einer quartären Ammoniumverbindung, <1% anionisches Tensid, Farbstoff • Rinse-Lösung (RIN) gebrauchsfertig enthält Puffersubstanz, <1% NaCl, <1% anionisches Tensid • Konjugat-Konzentrat (CON-C) Konzentrat enthält Streptavidin-konjugierte Alkalische Phosphatase, Farbstoff • Konjugat-Puffer (CON-D) enthält Puffersubstanz, 1% Blocking-Reagenz, <1% NaCl • Substrat-Konzentrat (SUB-C) Konzentrat enthält Dimethylsulfoxid, Substratlösung • Substrat-Puffer (SUB-D) enthält Puffersubstanz, <1% MgCl₂, <1%NaCl • Inkubationswanne, Auswertungsbogen • Arbeitsanleitung, Schablone
--	---

Tabelle 34: Laborgeräte zur Identifizierung der Bakterien und Hefen mit VITEK® 2 System (Fa. bioMérieux, Marcy l'Etoile, France)

Erforderliche Laborgeräte & Hilfsmittel	<ul style="list-style-type: none"> • VITEK® 2 • Barcode Lesegerät • VITEK® 2-DensiCheck-Kit • VITEK® 2-Carrier • 0,45-0,5% sterile Kochsalzlösung, pH 5,0-7,2 • 12 x 75 mm Einmalteströhrchen aus
--	---

	<p>Polysterol</p> <ul style="list-style-type: none"> • sterile Impfösen • Einmal-Handschuhe • geeignetes Agarmedium, verwendet wurde Columbia-Agar (Rezept siehe oben) • Computer zum Anzeigen der Software • Drucker zum Ausdrucken der Ergebnisse
--	--

Tabelle 35: Laborgeräte zur Identifizierung der Bakterien mit ID 32 STAPH® (Fa. bioMérieux, Marcy l'Etoile, France)

Erforderliche Laborgeräte & Hilfsmittel	<ul style="list-style-type: none"> • Paraffinöl • DENSIMAT® • Elektronischer ATB Pipette • miniAPI® • Brutschrank • Einmal-Handschuhe • Columbia-Agar • sterilisierte Wattestäbchen • Impfösen • ID 32 STAPH® Testkit • API Suspensionsmedium • Reagenzien (siehe Tabelle Zusammensetzung der Reagenzien im Anhang):
ID 32 STAPH® Testkit bestehend aus	<ul style="list-style-type: none"> • ID 32 STAPH® Teststreifen • Deckel
API Suspensionsmedium	<ul style="list-style-type: none"> • entmineralisiertes Wasser
Reagenzien	<ul style="list-style-type: none"> • VP A • VP B • NIT 1 • NIT 2 • FB

Tabelle 36: Laborgeräte zur Identifizierung der Bakterien mit API NH® (Fa. bioMérieux, Marcy l'Etoile, France)

Erforderliche Laborgeräte & Hilfsmittel	<ul style="list-style-type: none"> • Paraffinöl • DENSIMAT® • miniAPI® • Brutschrank • Wattetupfer • Einmal-Handschuhe • Einmal-Pipetten • Columbia-Agar • sterilisierte Wattestäbchen • Impfösen • API NH® Testkit • Reagenzglas mit NaCl 0,85% • Reagenzien (siehe Tabelle Zusammensetzung der Reagenzien im Anhang)
API NH® Testkit bestehend aus	<ul style="list-style-type: none"> • API NH® Teststreifen • Inokulationswanne mit Deckel
Reagenzien	<ul style="list-style-type: none"> • JAMES • ZYM B

Tabelle 37: Laborgeräte zur Identifizierung der Bakterien mit API 20 NE® (Fa. bioMérieux, Marcy l'Etoile, France)

Erforderliche Laborgeräte & Hilfsmittel	<ul style="list-style-type: none"> • Einmal-Handschuhe • Einmal-Pipetten • Brutschrank • Columbia-Agar • Impfösen • Paraffinöl • DENSIMAT® • miniAPI® • sterilisierte Wattestäbchen
--	--

	<ul style="list-style-type: none"> • API 20 NE® Testkit • Ampulle API AUX Medium • Reagenzglas mit NaCl 0,85% • Reagenzien (siehe Tabelle Zusammensetzung der Reagenzien im Anhang)
API 20 NE® Testkit bestehend aus	<ul style="list-style-type: none"> • API 20 NE® Teststreifen • Inkubationswanne und Deckel
Ampulle API AUX Medium	<ul style="list-style-type: none"> • Ammoniumsulfat 2 g • Agar 1,5 g • Vitaminlösung 10,5 ml • Spurenelemente 10 ml • Mononatriumphosphat 6,24 g • Kaliumchlorid 1,5 g • Demineralisiertes Wasser ad 1000 ml • pH-Endwert 7,0-7,2
Reagenzien	<ul style="list-style-type: none"> • JAMES • NIT 1 & NIT 2 • Zn

Tabelle 38: Laborgeräte zur Identifizierung der Bakterien mit rapid ID 32 STREP® (Fa. bioMérieux, Marcy l'Etoile, France)

Erforderliche Laborgeräte & Hilfsmittel	<ul style="list-style-type: none"> • Einmal-Handschuhe • Einmal-Pipetten • Brutschrank • Columbia-Agar • Impfösen • Paraffinöl • DENSIMAT® • miniAPI® • sterilisierte Wattestäbchen • rapid ID 32 STREP® Testkit • Reagenzglas mit NaCl 0,85% • Reagenzien (siehe Tabelle Zusammensetzung der Reagenzien im Anhang)
--	---

rapid ID 32 STREP® Testkit bestehend aus	<ul style="list-style-type: none">• rapid ID 32 STREP® Teststreifen• Inkubationswanne und Deckel
Reagenzien	<ul style="list-style-type: none">• FB• NIN• VP A• VP B

Bibliographie

- Aas, J. A., B. J. Paster, L. N. Stokes, I. Olsen, and F. E. Dewhirst. 2005. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *Journal of Clinical Microbiology* 43, (11) (Nov): 5721-32.
- Aguirre, M., and M. D. Collins. 1992. Phylogenetic analysis of *alloiococcus* otitis gen. nov., sp. nov., an organism from human middle ear fluid. *International Journal of Systematic Bacteriology* 42, (1) (Jan): 79-83.
- Altuzarra, H. R., B. M. T. Valenzuela, A. O. Trucco, S. J. Inostroza, S. P. Granata, and V. J. Fleiderman. 2007. Nasal carriage of streptococcus pneumoniae in elderly subjects according to vaccination status. *Revista Medica De Chile* 135, (2) (Feb): 160-6.
- Aly, R., and H. I. Maibach. 1977. Aerobic microbial flora of intertriginous skin. *Applied and Environmental Microbiology* 33, (1) (Jan): 97-100.
- Balows, A., W. J. Hausler, K. L. Herrmann, H. D. Isenberg, and H. J. Shadomy, eds. 1991. *Manual of clinical microbiology*. 5th Edition ed. Washington, DC: American Society for Microbiology.
- Bang, R. L., R. K. Gang, S. C. Sanyal, E. M. Mokaddas, and A. R. Lari. 1999. Beta-haemolytic streptococcus infection in burns. *Burns : Journal of the International Society for Burn Injuries* 25, (3) (May): 242-6.
- Barber, M. 1961. Methicillin-resistant staphylococci. *Journal of Clinical Pathology* 14, (Jul): 385-93.
- Becker, K., F. Rutsch, A. Uekotter, F. Kipp, J. Konig, T. Marquardt, G. Peters, and C. von Eiff. 2008. *Kocuria rhizophila* adds to the emerging spectrum of micrococcal species involved in human infections. *Journal of Clinical Microbiology* 46 (10) (Oct): 3537-9.

- Becker, K., P. Schumann, J. Wullenweber, M. Schulte, H. P. Weil, E. Stackebrandt, G. Peters, and C. von Eiff. 2002. *Kytococcus schroeteri* sp. nov., a novel gram-positive actinobacterium isolated from a human clinical source. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52 (Pt 5) (Sep): 1609-14.
- Becker, K., J. Wullenweber, H. J. Odenthal, M. Moeller, P. Shumann, G. Peters, and C. von Eiff. 2003. Prosthetic valve endocarditis due to *kytococcus schroeteri*. *Emerging Infectious Diseases* 9 (11) (Nov): 1493-5.
- Becker, K. 2004. Development and evaluation of a quality-controlled ribosomal sequence database for 16S ribosomal DNA-based identification of staphylococcus species. *Journal of Clinical Microbiology* Vol. 42, (No. 11): 4988.
- Bergamini, M., P. Fabrizi, S. Pagani, A. Grilli, R. Severini, and C. Contini. 2000. Evidence of increased carriage of *corynebacterium* spp. in healthy individuals with low antibody titres against diphtheria toxoid. *Epidemiology and Infection* 125, (1) (Aug): 105-12.
- Bertrand, X., M. Thouverez, D. Talon, A. Boillot, G. Capellier, C. Floriot, and J. P. Helias. 2001. Endemicity, molecular diversity and colonisation routes of *pseudomonas aeruginosa* in intensive care units. *Intensive Care Medicine* 27, (8) (Aug): 1263-8.
- Bibel, D. J., R. Aly, C. Bayles, W. G. Strauss, H. R. Shinefield, and H. I. Maibach. 1983. Competitive adherence as a mechanism of bacterial interference. *Canadian Journal of Microbiology* 29, (6) (Jun): 700-3.
- Bode, L. G., J. A. Kluytmans, H. F. Wertheim, D. Bogaers, C. M. Vandenbroucke-Grauls, R. Roosendaal, A. Troelstra, et al. 2010. Preventing surgical-site infections in nasal carriers of staphylococcus aureus. *The New England Journal of Medicine* 362, (1) (Jan 7): 9-17.
- Bonassoli, L. A., and T. I. Svidzinski. 2002. Influence of the hospital environment on yeast colonization in nursing students. *Medical Mycology : Official Publication of the International Society for Human and Animal Mycology* 40, (3) (Jun): 311-3.

- Bonten, M. J., M. K. Hayden, C. Nathan, J. van Voorhis, M. Matushek, S. Slaughter, T. Rice, and R. A. Weinstein. 1996. Epidemiology of colonisation of patients and environment with vancomycin-resistant enterococci. *Lancet* 348, (9042) (Dec 14): 1615-9.
- Brandenburg, A. H., A. van Belkum, C. van Pelt, H. A. Bruining, J. W. Mouton, and H. A. Verbrugh. 1996. Patient-to-patient spread of a single strain of corynebacterium striatum causing infections in a surgical intensive care unit. *Journal of Clinical Microbiology* 34, (9) (Sep): 2089-94.
- Breitkopf, C. 2005. Impact of a molecular approach to improve the microbiological diagnosis of infective heart valve endocarditis. *Circulation*(111): 1415.
- Brook, I. 2005. The role of bacterial interference in otitis, sinusitis and tonsillitis. *Otolaryngology--Head and Neck Surgery : Official Journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery* 133, (1) (Jul): 139-46.
- Brook, I., and E. H. Frazier. 2005. Bacteriology of chronic maxillary sinusitis associated with nasal polyposis. *Journal of Medical Microbiology* 54, (Pt 6) (Jun): 595-7.
- Brumfitt, W., and J. M. Hamilton-Miller. 1994. The challenge of methicillin-resistant staphylococcus aureus. *Drugs Under Experimental and Clinical Research* 20, (6): 215-24.
- Buzina, W., H. Braun, K. Freudenschuss, A. Lackner, W. Habermann, and H. Stammberger. 2003. Fungal biodiversity--as found in nasal mucus. *Medical Mycology : Official Publication of the International Society for Human and Animal Mycology* 41, (2) (Apr): 149-61.
- Chen, C. J., Y. C. Huang, L. H. Su, and T. Y. Lin. 2007. Nasal carriage of streptococcus pneumoniae in healthy children and adults in northern taiwan. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 59, (3) (Nov): 265-9.
- Ciftci, I. H., R. Koken, A. Bukulmez, M. Ozdemir, B. Safak, and Z. Cetinkaya. 2007. Nasal carriage of staphylococcus aureus in 4-6 age groups in healthy

- children in afyonkarahisar, turkey. *Acta Paediatrica (Oslo, Norway : 1992)* 96, (7) (Jul): 1043-6.
- Coates, P., S. Vyaknam, E. A. Eady, C. E. Jones, J. H. Cove, and W. J. Cunliffe. 2002. Prevalence of antibiotic-resistant propionibacteria on the skin of acne patients: 10-year surveillance data and snapshot distribution study. *The British Journal of Dermatology* 146, (5) (May): 840-8.
- Collins, M. D., and P. A. Lawson. 2000. The genus abiotrophia (kawamura et al.) is not monophyletic: Proposal of granulicatella gen. nov., granulicatella adiacens comb. nov., granulicatella elegans comb. nov. and granulicatella balaenopterae comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 50 Pt 1, (Jan): 365-9.
- Cvetnic, V., N. Kucisec-Tepes, I. Seper, and D. Sips. 1991. Bacteriological nasal flora in newborns indicating health and/or development of infection. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology* 22, (2) (Sep): 151-60.
- Cvetnic, V., J. Skrlin, and I. Rak. 1996. Bacterial flora of the nasal cavity in laryngectomized patients. *Infection* 24, (1) (Jan-Feb): 26-8.
- Darwazeh, A. M., A. Al-Dosari, and N. H. Al-bagieh. 2002. Oral candida and nasal aspergillus flora in a group of saudi healthy dentate subjects. *International Dental Journal* 52, (4) (Aug): 273-7.
- Drakos, P. E., A. Nagler, R. Or, E. Naparstek, J. Kapelushnik, D. Engelhard, G. Rahav, D. Ne'emean, and S. Slavin. 1993. Invasive fungal sinusitis in patients undergoing bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 12, (3) (Sep): 203-8.
- Durmaz, R., I. H. Ozerol, M. T. Kalcioğlu, S. Oncel, B. Otlu, S. Direkel, and P. H. Hendolin. 2002. Detection of alloeococcus otitidis in the nasopharynx and in the outer ear canal. *The New Microbiologica : Official Journal of the Italian Society for Medical, Odontoiatric, and Clinical Microbiology (SIMMOC)* 25, (2) (Apr): 265-8.
- Ejdys, E. 2003. Biodiversity of mycocoenoses of oral cavity, throat and nose of children aged 6-15 years. *Wiadomosci Parazytologiczne* 49, (4): 363-74.

- Faden, H., and D. Dryja. 1989. Recovery of a unique bacterial organism in human middle ear fluid and its possible role in chronic otitis media. *Journal of Clinical Microbiology* 27, (11) (Nov): 2488-91.
- Fanello, S., J. P. Bouchara, M. Sauteron, V. Delbos, E. Parot, A. Marot-Leblond, E. Moalic, A. M. Le Flohic, and B. Brangerd. 2006. Predictive value of oral colonization by candida yeasts for the onset of a nosocomial infection in elderly hospitalized patients. *Journal of Medical Microbiology* 55, (Pt 2) (Feb): 223-8.
- Fass, R. J., J. Barnishan, M. C. Solomon, and L. W. Ayers. 1996. In vitro activities of quinolones, beta-lactams, tobramycin, and trimethoprim-sulfamethoxazole against nonfermentative gram-negative bacilli. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 40, (6) (Jun): 1412-8.
- Fisher, E. W., V. J. Lund, and A. Rutman. 1992. The human nasal mucosa after deprivation of airflow: A study of laryngectomy patients. *Rhinology* 30, (1) (Mar): 5-10.
- Fluit, C., and F. J. Schmitz, eds. 2003. *MRSA: Current perspectives*. Utrecht: Caister Academic Press.
- Funke, G., A. von Graevenitz, J. E. Clarridge 3rd, and K. A. Bernard. 1997. Clinical microbiology of coryneform bacteria. *Clinical Microbiology Reviews* 10, (1) (Jan): 125-59.
- Garrity, G. M., J. A. Bell, and T. G. Lilburn, eds. 2004. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. 2nd Edition ed. New York Berlin Heidelberg: .
- Gluck, U., and J. O. Gebbers. 2000. The nose as bacterial reservoir: Important differences between the vestibule and cavity. *The Laryngoscope* 110, (3 Pt 1) (Mar): 426-8.
- Gordts, F., S. Halewyck, D. Pierard, L. Kaufman, and P. A. Clement. 2000. Microbiology of the middle meatus: A comparison between normal adults and children. *The Journal of Laryngology and Otology* 114, (3) (Mar): 184-8.
- Gunnarsson, R. K., S. E. Holm, and M. Soderstrom. 1998. The prevalence of potential pathogenic bacteria in nasopharyngeal samples from healthy

- children and adults. *Scandinavian Journal of Primary Health Care* 16, (1) (Mar): 13-7.
- Harimaya, A., R. Takada, Y. Somekawa, N. Fujii, and T. Himi. 2006. High frequency of *alloiococcus* otitidis in the nasopharynx and in the middle ear cavity of otitis-prone children. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology* 70, (6) (Jun): 1009-14.
- Hartog, B., J. E. Degener, P. P. Van Benthem, and G. J. Hordijk. 1995. Microbiology of chronic maxillary sinusitis in adults: Isolated aerobic and anaerobic bacteria and their susceptibility to twenty antibiotics. *Acta Oto-Laryngologica* 115, (5) (Sep): 672-7.
- Heczko, P. B., U. Hoffler, A. Kasproicz, and G. Pulverer. 1981. Quantitative studies of the flora of the nasal vestibule in relation to nasal carriage of *staphylococcus aureus*. *Journal of Medical Microbiology* 14, (3) (Aug): 233-41.
- Hohwy, J., J. Reinholdt, and M. Kilian. 2001. Population dynamics of *streptococcus mitis* in its natural habitat. *Infection and Immunity* 69, (10) (Oct): 6055-63.
- INM, and Joanneum Research. 2003. *Das wörterbuch der medizinischen fachausdrücke*. Vol. 5.0. Mannheim: .
- Jin, G., H. W. Jeng, H. Bradford, and A. J. Englande. 2004. Comparison of *E. coli*, enterococci, and fecal coliform as indicators for brackish water quality assessment. *Water Environment Research : A Research Publication of the Water Environment Federation* 76, (3) (May-Jun): 245-55.
- Jousimies-Somer, H. R., S. Savolainen, and J. S. Ylikoski. 1989. Comparison of the nasal bacterial floras in two groups of healthy subjects and in patients with acute maxillary sinusitis. *Journal of Clinical Microbiology* 27, (12) (Dec): 2736-43.
- Joussen, A. M., G. Funke, F. Joussen, and G. Herberitz. 2000. *Corynebacterium macginleyi*: A conjunctiva specific pathogen. *The British Journal of Ophthalmology* 84, (12) (Dec): 1420-2.

- Kalcioglu, M. T., B. Durmaz, E. Aktas, O. Ozturan, and R. Durmaz. 2003. Bacteriology of chronic maxillary sinusitis and normal maxillary sinuses: Using culture and multiplex polymerase chain reaction. *American Journal of Rhinology* 17, (3) (May-Jun): 143-7.
- Kazmierczak, A. K., J. K. Szarapinska-Kwaszewska, and E. M. Szewczyk. 2005. Opportunistic coryneform organisms--residents of human skin. *Polish Journal of Microbiology / Polskie Towarzystwo Mikrobiologow = the Polish Society of Microbiologists* 54, (1): 27-35.
- Keech, D. R., H. Ramadan, and P. Mathers. 2000. Analysis of aerobic bacterial strains found in chronic rhinosinusitis using the polymerase chain reaction. *Otolaryngology--Head and Neck Surgery : Official Journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery* 123, (4) (Oct): 363-7.
- Kirby, W. M. 1944. Extraction of a highly potent penicillin inactivator from penicillin resistant staphylococci. *Science* 99, (2579) (Jun 2): 452-3.
- Konno, M., S. Baba, H. Mikawa, K. Hara, F. Matsumoto, K. Kaga, T. Nishimura, et al. 2006. Study of upper respiratory tract bacterial flora: First report. variations in upper respiratory tract bacterial flora in patients with acute upper respiratory tract infection and healthy subjects and variations by subject age. *Journal of Infection and Chemotherapy : Official Journal of the Japan Society of Chemotherapy* 12, (2) (Apr): 83-96.
- Kramer, A., I. Schwebke, and G. Kampf. 2006. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. *BMC Infectious Diseases* 6, (Aug 16): 130.
- Lackner, A., H. Stammberger, W. Buzina, K. Freudenschuss, T. Panzitt, S. Schosteritsch, and H. Braun. 2005. Fungi: A normal content of human nasal mucus. *American Journal of Rhinology* 19, (2) (Mar-Apr): 125-9.
- Larson, E. L., K. J. McGinley, A. R. Foglia, G. H. Talbot, and J. J. Leyden. 1986. Composition and antimicrobial resistance of skin flora in hospitalized and healthy adults. *Journal of Clinical Microbiology* 23, (3) (Mar): 604-8.

- Leskinen, K., P. Hendolin, A. Virolainen-Julkunen, J. Ylikoski, and J. Jero. 2004. *Alloiococcus otitidis* in acute otitis media. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology* 68, (1) (Jan): 51-6.
- Lina, G., F. Boutite, A. Tristan, M. Bes, J. Etienne, and F. Vandenesch. 2003. Bacterial competition for human nasal cavity colonization: Role of staphylococcal agr alleles. *Applied and Environmental Microbiology* 69, (1) (Jan): 18-23.
- Linoli, O., S. Marconi, and M. Garaffa. 1981. Quantitative bacterial ecology of normal nasal mucosa. *Annali Sclavo; Rivista Di Microbiologia e Di Immunologia* 23, (2) (Mar-Apr): 151-61.
- Lo-Ten-Foe, J. R., M. A. Ververs, and A. G. Buiting. 2007. Comparative evaluation of automated reading versus visual interpretation with the BBL crystal enteric/nonfermenter identification system in a clinical setting. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases : Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology* 26, (6) (Jun): 443-4.
- Ludwig, W., E. Seewaldt, R. Kilpper-Balz, K. H. Schleifer, L. Magrum, C. R. Woese, G. E. Fox, and E. Stackebrandt. 1985. The phylogenetic position of streptococcus and enterococcus. *Journal of General Microbiology* 131, (3) (Mar): 543-51.
- Mellmann, A., K. Becker, C. von Eiff, U. Keckevoet, P. Schumann, and D. Harmsen. 2006. Sequencing and staphylococci identification. *Emerging Infectious Diseases*(Vol. 12).
- Mounier, M., M. C. Ploy, B. Francois, L. Delaire, F. Denis, and H. Gastinne. 1995. Dynamics of the nasal colonization by methicillin resistant staphylococcus aureus in patients hospitalized in an intensive care unit. *Pathologie-Biologie* 43, (4) (Apr): 329-35.
- Nakamura, T., N. Yamazaki, H. Taniguchi, and S. Fujimura. 1983. Production, purification, and properties of a bacteriocin from staphylococcus aureus isolated from saliva. *Infection and Immunity* 39, (2) (Feb): 609-14.

- Nouwen, J., H. Boelens, A. van Belkum, and H. Verbrugh. 2004. Human factor in staphylococcus aureus nasal carriage. *Infection and Immunity* 72 (11) (Nov): 6685-8.
- Ohara-Nemoto, Y., H. Haraga, S. Kimura, and T. K. Nemoto. 2008. Occurrence of staphylococci in the oral cavities of healthy adults and nasal oral trafficking of the bacteria. *Journal of Medical Microbiology* 57, (Pt 1) (Jan): 95-9.
- Ostfeld, E., J. Segal, A. Segal, and B. Bogokovski. 1983. Bacterial colonization of the nose and external ear canal in newborn infants. *Israel Journal of Medical Sciences* 19, (12) (Dec): 1046-9.
- Pacio, G. A., P. Visintainer, G. Maguire, G. P. Wormser, J. Raffalli, and M. A. Montecalvo. 2003. Natural history of colonization with vancomycin-resistant enterococci, methicillin-resistant staphylococcus aureus, and resistant gram-negative bacilli among long-term-care facility residents. *Infection Control and Hospital Epidemiology : The Official Journal of the Society of Hospital Epidemiologists of America* 24, (4) (Apr): 246-50.
- Paju, S., J. M. Bernstein, E. M. Haase, and F. A. Scannapieco. 2003. Molecular analysis of bacterial flora associated with chronically inflamed maxillary sinuses. *Journal of Medical Microbiology* 52, (Pt 7) (Jul): 591-7.
- Panhotra, B. R., A. K. Saxena, and A. S. Al Mulhim. 2005. Prevalence of methicillin-resistant and methicillin-sensitive staphylococcus aureus nasal colonization among patients at the time of admission to the hospital. *Annals of Saudi Medicine* 25, (4) (Jul-Aug): 304-8.
- Pant, J., S. K. Rai, A. Singh, B. Lekhak, B. Shakya, and G. Ghimire. 2006. Microbial study of hospital environment and carrier pattern study among staff in nepal medical college teaching hospital. *Nepal Medical College Journal : NMCJ* 8, (3) (Sep): 194-9.
- Pasdeloup, T., F. Caron, S. Soyer, O. Castel, C. Aubenneau, J. L. Fauchere, and R. Robert. 2000. Muco-cutaneous colonization and nosocomial infections caused by methicillin-resistant staphylococcus aureus and

- acinetobacter baumannii in intensive care patients. *Pathologie-Biologie* 48, (6) (Jul): 533-40.
- Paster, B. J., S. K. Boches, J. L. Galvin, R. E. Ericson, C. N. Lau, V. A. Levanos, A. Sahasrabudhe, and F. E. Dewhirst. 2001. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *Journal of Bacteriology* 183, (12) (Jun): 3770-83.
- Quinn, J. P., P. M. Arnow, D. Weil, and J. Rosenbluth. 1984. Outbreak of JK diphtheroid infections associated with environmental contamination. *Journal of Clinical Microbiology* 19, (5) (May): 668-71.
- Rasmussen, T. T., L. P. Kirkeby, K. Poulsen, J. Reinholdt, and M. Kilian. 2000. Resident aerobic microbiota of the adult human nasal cavity. *APMIS : Acta Pathologica, Microbiologica, Et Immunologica Scandinavica* 108, (10) (Oct): 663-75.
- Rim, J. Y., and A. E. Bacon 3rd. 2007. Prevalence of community-acquired methicillin-resistant staphylococcus aureus colonization in a random sample of healthy individuals. *Infection Control and Hospital Epidemiology : The Official Journal of the Society of Hospital Epidemiologists of America* 28, (9) (Sep): 1044-6.
- Savolainen, S., J. Ylikoski, and H. Jousimies-Somer. 1986. The bacterial flora of the nasal cavity in healthy young men. *Rhinology* 24, (4) (Dec): 249-55.
- Schleifer, K. H., and R. Kilpper-Bälz. 1984. Transfer of streptococcus faecalis and streptococcus faecium to the genus enterococcus nom.rev. as enterococcus faecalis comb.nov. and enterococcus faecium comb.nov. *International Journal of Systematic Bacteriology* Vol. 34, (no. 1): 31.
- Seifert, H., L. Dijkshoorn, P. Gerner-Smidt, N. Pelzer, I. Tjernberg, and M. Vaneechoutte. 1997. Distribution of acinetobacter species on human skin: Comparison of phenotypic and genotypic identification methods. *Journal of Clinical Microbiology* 35, (11) (Nov): 2819-25.
- Sellart-Altisent, M., J. M. Torres-Rodriguez, S. Gomez de Ana, and E. Alvarado-Ramirez. 2007. Nasal fungal microbiota in allergic and healthy subjects.

Revista Iberoamericana De Micologia : Organo De La Asociacion Espanola De Especialistas En Micologia 24, (2) (Jun): 125-30.

Stackebrandt, E., C. Koch, O. Gvozdiak, and P. Schumann. 1995. Taxonomic dissection of the genus micrococcus: Kocuria gen. nov., nesterenkonia gen. nov., kytococcus gen. nov., dermacoccus gen. nov., and micrococcus cohn 1872 gen. emend. *International Journal of Systematic Bacteriology* 45, (4) (Oct): 682-92.

Suau, A., R. Bonnet, M. Sutren, J. J. Godon, G. R. Gibson, M. D. Collins, and J. Dore. 1999. Direct analysis of genes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut. *Applied and Environmental Microbiology* 65, (11) (Nov): 4799-807.

Szczerba, I. 2003. Occurrence and number of bacteria from the micrococcus, kocuria, nesterenkonia, kytococcus and dermacoccus genera on skin and mucous membranes in humans. *Medycyna Doswiadczalna i Mikrobiologia* 55, (1): 67-74.

Tang, J. S., and P. M. Gillevet. 2003. Reclassification of ATCC 9341 from micrococcus luteus to kocuria rhizophila. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 53, (Pt 4) (Jul): 995-7.

Telander, B., R. Lerner, J. Palmblad, and O. Ringertz. 1988. Corynebacterium group JK in a hematological ward: Infections, colonization and environmental contamination. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 20, (1): 55-61.

Tvrzova, L., P. Schumann, I. Sedlacek, Z. Pacova, C. Sproer, S. Verbarq, and R. M. Kroppenstedt. 2005. Reclassification of strain CCM 132, previously classified as kocuria varians, as kocuria carniphila sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 55, (Pt 1) (Jan): 139-42.

Uehara, Y., H. Nakama, K. Agematsu, M. Uchida, Y. Kawakami, A. S. Abdul Fattah, and N. Maruchi. 2000. Bacterial interference among nasal inhabitants: Eradication of staphylococcus aureus from nasal cavities by

- artificial implantation of corynebacterium sp. *The Journal of Hospital Infection* 44, (2) (Feb): 127-33.
- van Belkum, A., N. J. Verkaik, C. P. de Vogel, H. A. Boelens, J. Verveer, J. L. Nouwen, H. A. Verbrugh, and H. F. Wertheim. 2009. Reclassification of staphylococcus aureus nasal carriage types. *The Journal of Infectious Diseases* 199 (12) (Jun 15): 1820-6.
- von Eiff, C., K. Becker, K. Machka, H. Stammer, and G. Peters. 2001. Nasal carriage as a source of staphylococcus aureus bacteremia. study group. *The New England Journal of Medicine* 344 (1) (Jan 4): 11-6.
- van Leeuwen, W., W. van Nieuwenhuizen, C. Gijzen, H. Verbrugh, and A. van Belkum. 2000. Population studies of methicillin-resistant and -sensitive staphylococcus aureus strains reveal a lack of variability in the agrD gene, encoding a staphylococcal autoinducer peptide. *Journal of Bacteriology* 182, (20) (Oct): 5721-9.
- van Rossem, M. C., W. J. de Waal, E. J. van Hannen, M. A. Verboon-Maciolek, H. van Wieringen, D. A. Van de Vijver, Y. van Dyk, and S. F. Thijsen. 2007. Enterobacter colonisation in newborn infants: Predictors, follow-up and implications for infection control. *The Journal of Hospital Infection* 67, (2) (Oct): 142-8.
- von Graevenitz, A., V. Punter-Streit, P. Riegel, and G. Funke. 1998. Coryneform bacteria in throat cultures of healthy individuals. *Journal of Clinical Microbiology* 36, (7) (Jul): 2087-8.
- Wertheim, H. F., D. C. Melles, M. C. Vos, W. van Leeuwen, A. van Belkum, H. A. Verbrugh, and J. L. Nouwen. 2005. The role of nasal carriage in staphylococcus aureus infections. *The Lancet Infectious Diseases* 5 (12) (Dec): 751-62.
- Williams, R. E. 1963. Healthy carriage of staphylococcus aureus: Its prevalence and importance. *Bacteriological Reviews* 27 (Mar): 56-71.
- Wilson, K. H., and R. B. Blichington. 1996. Human colonic biota studied by ribosomal DNA sequence analysis. *Applied and Environmental Microbiology* 62, (7) (Jul): 2273-8.

Wos-Oxley, M. L., I. Plumeier, C. von Eiff, S. Taudien, M. Platzner, R. Vilchez-Vargas, K. Becker, and D. H. Pieper. 2010. A poke into the diversity and associations within human anterior nares microbial communities. *The ISME Journal* 4 (7) (Jul): 839-51.