

Diagnostic Stewardship: Prozessintegrierte mikrobiologische Analytik zur Diagnose von Infektionserkrankungen

Autoren:

PD Dr. Moritz Hentschke, MHBA

Labor Dr. Fenner und Kollegen

Medizinisches Versorgungszentrum für Labormedizin und

Humangenetik GmbH

Hamburg

Interessenkonflikte: keine

Dr. Anna Both

Institut für Medizinische Mikrobiologie, Virologie und Hygiene

Hamburg

Interessenkonflikte: keine

Prof. Dr. Holger Rohde

Institut für Medizinische Mikrobiologie, Virologie und Hygiene

Hamburg

Vortragstätigkeit Accelerate Diagnostics, Correvio, MSD, Pfizer, Infectopharm;

Beratertätigkeit Pfizer, MSD, Shionogi

1. Therapie von Infektionserkrankungen auf empirischer Basis: Folgen

Der Alltag der klinischen Infektiologie ist wesentlich geprägt durch empirische Therapieentscheidungen. Die Indikation zur Antibiotikatherapie wird hierbei getroffen, ohne dass immer die Diagnose einer Infektion abschließend gesichert ist, noch das kausale Pathogen identifiziert und charakterisiert wurde. Die Behandlungsstrategie der Therapie ohne definierte Diagnose wurde gefördert durch die Verfügbarkeit breit wirksamer Substanzen, mit deren Hilfe alle in Frage kommenden Erreger einer klinischen Entität sicher behandelt werden konnten. Diese Problematik scheint durch die aktuelle COVID-19 Pandemie zusätzlich verstärkt. Daten aus dem Vereinigten Königreich zeigten eine empirische antibiotische Therapie bei über 85 % der im Krankenhaus behandelten Patienten mit SARS-CoV-2 Pneumonie, insbesondere mit Breitspektrum-Antibiotika. Hingegen wurde nur bei 2,2 % der Patienten ein relevanter bakteriologischer Befund im Verlauf festgestellt.¹

Darüber hinaus ist eine langjährige Wahrnehmung im klinischen Kontext, dass resistente Erreger lokal kein relevantes Problem darstellen, der Erregernachweis zur Empfindlichkeitsprüfung dementsprechend nicht relevant ist. Zusätzlich erscheint im Kontext klinischer Behandlungspfade die Initiierung mikrobiologischer Diagnostik häufig ineffektiv, da die Zeit bis zum Vorliegen eines Ergebnisses als zu lang empfunden wird und wegweisende therapeutische Entscheidungen bis zum Eintreffen mikrobiologischer Befunde in der Regel schon getroffen sind.²

Der Kontext, in welchem wie oben beschrieben empirische Therapieentscheidungen getroffen werden, hat sich jedoch innerhalb der vergangenen 20 Jahre grundlegend geändert.³

- Multi-resistente Erreger haben sich ausgebreitet. Kalkulierte Initialtherapien sind möglicherweise unwirksam, Erreger mit erworbenen Resistenzmerkmalen müssen unter Umständen in kalkulierte Strategien integriert werden. Dies wiederum hat zur Folge, dass selbst bei nicht unmittelbar lebensbedrohlichen Situationen immer häufiger Breitspektrumantibiotika wie auch Carbapeneme in großem Umfang eingesetzt werden.
- Die heute zu versorgende Patientenpopulation ist gekennzeichnet durch ein höheres Lebensalter, Multimorbidität und eine stetig anwachsende Zahl immunsuppressiver Therapien. Dies hat Änderungen der Erregerepidemiologie zur Folge, und kalkulierte Initialtherapien müssen nicht notwendigerweise wirksam sein.

- Die Zahl zugelassener, neuartiger Wirkstoffe ist in den vergangenen Dekaden signifikant zurückgegangen. In diesem Zuge muss mehr denn je der Tatsache Rechnung getragen werden, dass ein unkritischer Einsatz breit wirksamer Substanzen deren zukünftige klinische Nutzbarkeit durch Induktion von Resistenzmechanismen gefährdet. Es kann nicht überbetont werden, dass sich dieses Problem sowohl auf Populations-, jedoch auch unmittelbar auf individueller Patientenebene manifestiert.

Vor diesem Hintergrund ist offensichtlich, dass mikrobiologische Analytik eine zentrale Basis für ein adäquates Management von Patienten mit Infektionserkrankungen darstellt. Dem Kliniker eröffnen sich hierfür eine Vielzahl von Optionen, gerade auf Seiten neuartiger Methoden zur Erregerdetektion in klinischen Materialien. Der Einsatz dieser Verfahren ist jedoch nicht ohne Risiko, denn hohe Kosten sind die Folge, ebenso wie die Möglichkeit von Fehlinterpretation und therapeutischen Fehlentscheidungen. Insofern sind dezidierte Einblicke in die Leistungsfähigkeit mikrobiologischer Methoden notwendige Voraussetzungen für deren sicheren Einsatz im klinischen Alltag.²

2 Methodenrevolution im Medizinisch-Mikrobiologischen Labor: Möglichkeiten einer optimierten Patientenversorgung

Die Medizinische Mikrobiologie hat in den vergangenen Jahren einen grundlegenden Wandel durchlaufen. Die zur Verfügung stehenden Methoden machen es möglich, die Analytik zu beschleunigen und die Zahl der falsch-negativen Ergebnisse und damit die Zahl der fehlerhaften Diagnosen zu reduzieren.

2.1 Erregerdetektion in menschlichem Untersuchungsmaterial

Traditionell beruht die Detektion von Erregern in klinischen Materialien auf deren kulturellen Nachweis. Die Sensitivität dieses Ansatzes ist wesentlich abhängig von der Auswahl von Kulturmedien (zum Beispiel Anlage von anaeroben Kulturen). Gleichzeitig beeinflussen aber auch präanalytische Faktoren signifikant die Wiederfindungsrate in menschlichen Materialien. So können sich Fehler im Probentransport (zum Beispiel fehlerhafte Temperatur, lange Transportzeiten) oder aber die Anwesenheit von antimikrobiellen Substanzen im Probenmaterial die Erregeranzucht behindern oder sogar unmöglich machen. Neben der zum Teil problematischen Sensitivität kultureller Methoden ist auch die Geschwindigkeit des kulturellen Erregernachweises zum Teil als Nachteil zu betrachten. Vor allem im Kontext akuter, lebensbedrohlicher Infektionen erscheint die üblicherweise notwendige Zeit zur Erregerdetektion von mindestens 24, häufig sogar 48 h als zu lang. Vor diesem Hintergrund ist die mögliche Nutzung kulturunabhängiger, Nukleinsäureamplifikations-basierter Verfahren (NAAT) als Chance für einen sensitiven und schnellen Erregernachweis zu sehen. Dieser kann in Kombination mit dem Nachweis von Resistenzdeterminanten sogar genutzt werden, um kulturunabhängig Aussagen zur antibiotischen Empfindlichkeit zu machen.

2.2 Erregerdifferenzierung

Die Differenzierung von Mikroorganismen nach kultureller Anzucht wurde in der Vergangenheit durch spezifisch auf definierte Erregergruppen abgestimmte Testsysteme ermöglicht. Deren Einsatz machte regelhaft eine Übernachtinkubation bis zum Vorliegen entsprechender Ergebnisse notwendig. Heute ist durch den Einsatz der Massenspektrometrie eine universelle Methodik verfügbar, die mit hoher Spezifität Mikroorganismen (Bakterien und Pilze) differenzieren kann. Hierbei liegen Ergebnisse innerhalb kurzer Zeit vor – die Messung selbst dauert nur wenige Minuten.

Beide Aspekte haben somit unmittelbare Konsequenzen für die Qualität der Patientenversorgung, und sie sind ein starkes Argument für die systematische Nutzung moderner mikrobiologischer Verfahren.^{4,5}

Folgen für das klinische Infektionsmanagement:

Die Nutzung von zum Beispiel PCR-basierten Assays zum Erregerdirektnachweis ermöglicht es, bakterielle Pathogene in menschlichem Untersuchungsmaterial schnell und sensitiv nachzuweisen. Durch Auswahl der Primer (Spezies-spezifische versus 16S-/18S-rDNA Primer) können die Testcharakteristika hinsichtlich der Breite der nachgewiesenen Pathogene und der Sensitivität variiert werden. Der Einsatz von konfektionierten Multiplexassays (sogenannte Paneldiagnostik/Syndrom-orientierte Analytik) ermöglicht die parallele Analyse mehrerer relevanter bakterieller, viraler oder fungaler Erreger eines klinischen Kontextes. Die Bereitstellung der Assays in Kartuschenformaten macht eine rasche Abarbeitung von Probenmaterial auch außerhalb von ausgewiesenen molekularbiologischen Laboren möglich. Einsatzgebiete dieser Assays sind die Diagnostik von Infektionen des ZNS, des Urogenitaltrakts, des Gastro-Intestinaltrakts und der Atemwege.

Folgen für das klinische Infektionsmanagement:

Speziesidentifikationen werden heute bis zu 24h früher erreicht als zur Zeit der biochemischen Erregerdifferenzierung. Die Erregerdifferenzierung ermöglicht es, in Kenntnis natürlicher Resistenzmuster das Empfindlichkeitsprofil eines Erregers vorherzusagen. Beispiele hierfür sind die Ampicillinresistenz bei *E. faecium*, die Amino- und Ureidopenicillinresistenz bei *K. pneumoniae*, die unsichere Wirksamkeit von Cephalosporinen bei AmpC-tragenden Enterobacterales (z. B. *E. cloacae*, *M. morgani*, *C. freundii*) und die Carbapenemresistenz bei *Stenotrophomonas maltophilia* (Tabelle 1). Im Kontext der Sepsisdiagnostik bedeutet dies zum Beispiel, dass bereits am Tag der Positivität einer Blutkultur über das Gramfärbeverhalten hinaus die Spezies identifiziert werden kann und hieraus unmittelbar therapeutische Konsequenzen abgeleitet werden können.

Tabelle 1: Aus der Speziesidentifikation ableitbare Vorhersagen der Antibiotikaempfindlichkeit (Beispiele)

Erreger	Resistenzdeterminante	Resistenz
Gramnegative Erreger		
<i>Klebsiella spp.</i> , <i>C. koseri</i> , <i>E. hermannii</i>	SHV, OXY u. a. Betalaktamasen	Aminopenicilline Ureidopenicilline
<i>Enterobacter spp.</i> , <i>Morganella spp.</i> , <i>C. freundii</i>	AmpC-Betalaktamase	Aminopenicilline Ureidopenicilline ¹ Cephalosporine ¹
<i>P. vulgaris</i> , <i>P. penneri</i>	Cefuroximase	Cefuroxim
Grampositive Erreger		
<i>E. faecium</i>	PBP5	Aminopenicilline Cephalosporine
<i>L. monocytogenes</i>	PBP4	Cephalosporine

¹ Aufgrund der konstitutiven Expression der AmpC Betalaktamase ist es möglich, dass bei den entsprechenden Spezies Ureidopenicilline und Cephalosporine empfindlich getestet werden. Ihr Einsatz sollte jedoch auf nicht lebensbedrohliche Infektionen beschränkt bleiben, da eine *in-vivo* Selektion einer AmpC-Überexpression und einhergehender Ureidopenicillin-/Cephalosporin-Resistenz häufig zu beobachten ist.

2.3 Bewertung der antimikrobiellen Empfindlichkeit

Die Sicherheit einer Vorhersage von antimikrobieller Empfindlichkeit auf der Basis der Speziesidentifikation allein ist im Hinblick auf die Ausbreitung von Erregern mit erworbenen Resistenzen kritisch. Aus diesem Grund ist es notwendig, die schnelle Speziesidentifikation mit Methoden zur sicheren Detektion erworbener Resistenzdeterminanten zu koppeln. So muss beim Nachweis eines *S. aureus* für den sicheren Einsatz eines Penicillinase-festen Penicillins das Vorliegen einer Methicillinresistenz ausgeschlossen werden. Bei Enterokokken ist der Ausschluss einer Vancomycinresistenz für den sicheren Einsatz von Glykopeptiden notwendig. Diese Ziele können durch den molekularen Nachweis von *mecA* (*S. aureus*) beziehungsweise *vanA* oder *vanB* (*E. faecalis*, *E. faecium*) erreicht werden. Für beide Spezies stehen konfektionierte Kartuschensysteme zur Verfügung, die den entsprechenden Nachweis auch aus Kulturmaterial positiver Blutkulturflaschen ermöglichen.

Die Mechanismen der erworbenen Resistenz bei gramnegativen Stäbchenbakterien aus der Taxon *Enterobacterales* und der Gruppe der Non-Fermenter (insbesondere *Pseudomonas aeruginosa*) sind ausgesprochen heterogen. So basiert die Resistenz gegenüber Beta-Laktam-Antibiotika auf der Expression funktionell sehr unterschiedlicher, genetisch heterogener Beta-Laktamasen. Beispielhaft sei hier die Resistenz gegenüber Carbapenemen genannt, die durch Produktion von Carbapenemasen aus vier unterschiedlichen Gruppen (Ambler A–D) entstehen kann. Zusätzlich erschwert wird die genetische Vorhersage einer Beta-Laktam-Resistenz durch den Umstand, dass Resistenz auch durch die Überlagerung unterschiedlicher Mechanismen (z. B. Porindeletion und/oder Aktivierung von Effluxpumpen) ent-

stehen kann (siehe CME Modul "Bakterielle Resistenzmechanismen – multiresistente Erreger (MRE)"). Folglich sind PCR-basierte Verfahren derzeit nicht in der Lage, eine Beta-Laktamempfindlichkeit sicher vorherzusagen. Hierfür sind phänotypische Methoden der Empfindlichkeitsprüfung weiterhin notwendig. Es zeigt sich jedoch, dass für eine phänotypische Empfindlichkeitsprüfung keinesfalls, wie bei Anwendung konventioneller Verfahren, eine Inkubation über Nacht notwendig ist. Neue Verfahren sind in der Lage, bereits nach 6 Stunden eine valide Bewertung der phänotypischen Empfindlichkeit zu gewährleisten. Anfang 2019 hat die EUCAST Grenzwerte zur Bewertung der Empfindlichkeit von ausgewählten Bakterienspezies (u. a. *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*) aus Blutkulturen festgelegt. Hierbei ist eine Bewertung 4–8 h nach Entnahme von Material aus einer positiven Blutkulturflasche und Durchführung einer Agardiffusionstestung möglich (Tabelle 2).

Folgen für das klinische Infektionsmanagement:

Durch den Einsatz molekularer Verfahren und beschleunigte Methoden der phänotypischen Empfindlichkeitstestung ist es möglich, innerhalb eines Arbeitstags die Wirksamkeit von Leitsubstanzen der antimikrobiellen Therapie zu bewerten. Sie ermöglichen somit eine mindestens 24 h frühere Optimierung empirischer Antibiotikaregime.^{6,7}

Die Entwicklung beschleunigter Verfahren zur phänotypischen Empfindlichkeitsprüfung ist weit vorangeschritten. Die Systeme werden zur Bereitstellung von Resistenzdaten innerhalb weniger Stunden führen.

2.4 Einfluss beschleunigter Erregerdifferenzierung auf das Infektionsmanagement: klinische Evidenz

Der Einfluss beschleunigter Erregediagnostik auf das Infektions-Management ist vor allem im Kontext der Sepsisdiagnostik wissenschaftlich untersucht worden (Tabelle 2). Eine Meta-Analyse verschiedener Studien zeigte, dass durch den Einsatz solcher Methoden die Mortalität von Patienten signifikant verbessert werden kann. Von besonderer Bedeutung ist

hierbei die Feststellung, dass diese Effekte nur dann gesehen werden konnten, wenn die beschleunigte Diagnostik in ein *Antimicrobial Stewardship* Programm integriert war, über welches die gezielte Kommunikation der Ergebnisse und notwendige Konsequenzen für die klinische Versorgung des jeweiligen Patienten erfolgte.⁷

Tabelle 2: Einfluss beschleunigter Erregeranalytik auf das Patientenmanagement im Kontext der bakteriellen Sepsis.

Untersuchungsmaterial	Untersuchter Parameter	Ergebnis	Referenz
Positive Blutkulturen	Speziesdifferenzierung: Differenzierung von KNS und <i>S. aureus</i>	Reduktion nicht indizierter Antibiotikatherapien	8
	Differenzierung von MRSA und MSSA durch Nachweis von <i>mecA</i>	Reduktion der Zahl nicht indizierter Glykopeptid-Therapien	9
	Differenzierung aus positiven BK Flaschen durch Multiplex PCR	Reduktion der Zeit zur ersten Therapie-Deeskalation und -Eskalation	6
	Beschleunigte phänotypische Empfindlichkeitstestung	Verkürzte Zeit bis zur optimalen Therapie	10

3 Probleme der Implementierung moderner Erregerdiagnostik

3.1 Fehldiagnose durch Fehlinterpretation: Überdiagnose / Unterdiagnose

Der Einsatz moderner Methoden der Mikrobiologie eröffnet eine Vielzahl von Chancen. Eine wesentliche Gefahr ist jedoch, dass es aufgrund von Unkenntnis der Testcharakteristika zu Fehlinterpretationen von Ergebnissen und damit zu Fehldiagnosen kommt. So ist ein häufig nicht beachteter Aspekt der Zusammenhang von Sensitivität, Prävalenz des gesuchten Merkmals (zum Beispiel des gesuchten Erregers) und dem positiv und negativ prädikativen Wert (PPV beziehungsweise NPV). Der Einsatz von hoch-sensitiver Analytik macht es möglich, dass es zu falsch positiven Ergebnissen kommt. Dies wird insbesondere dann problematisch, wenn ein sensitiver Test eingesetzt wird, um nach einem mit nur geringer Wahrscheinlichkeit in einer Probe enthaltenen Erreger zu suchen. Hierbei steigt die Wahrscheinlichkeit des Vorliegens eines falsch-positiven Befundes, und der Test verliert an positiver Vorhersagekraft. Aus diesem Grund kann bei nur geringem klinischem Verdacht auf das Vorliegen einer Erkrankung die Durchführung des Testes nicht empfohlen werden. Hierzu ist es notwendig, durch Selektion der zu untersuchenden Patienten die Wahrscheinlichkeit des entsprechenden Erregernachweises zu erhöhen. Beispiele hierfür sind die Nutzung von PCR-Assays zum MRSA-Nachweis in einer nicht mit einem erhöhten MRSA-Risiko assoziierten Patientenpopulation. Auch zeigte sich bei der unselektiven Analyse von Liquorproben mittels eines multiplex PCR Panels eine vergleichsweise hohe Rate an falsch-positiven Befunden¹¹ und damit einhergehend einem entsprechend niedrigen PPV.

Diese Ergebnisse machen deutlich, dass neuartige mikrobiologische Testverfahren nicht notwendigerweise konventionellen Methoden überlegen sind und diese ersetzen können/sollen. Vielmehr ist es notwendig, den für die jeweilige klinische Frage-

stellung optimierten diagnostischen Weg zu beschreiben. Dieser kann alleine auf traditionellen Methoden der Analytik beruhen (z.B. Screening auf multiresistente gramnegative Erreger), aus der Kombination traditioneller und moderner Methoden bestehen (z.B. Blutkulturanalytik, Liquoranalytik, Analytik von Gelenkinfektionen) oder vollständig auf moderne (kulturfreie) Methoden umgestellt werden (z.B. Diarrhoe-Analytik). So kann es gelingen, die Zahl der fehlindizierten oder aber unterlassenen diagnostischen Maßnahmen zu reduzieren, um hierdurch Fehldiagnosen zu vermeiden. Im Rahmen des MRSA Screenings bedeutet dies, ein molekulares Screening nur für Personen mit einem dokumentiert erhöhten Risiko für eine MRSA Kolonisation vorzusehen, und vor allem den starken negativ prädikativen Wert dieser Tests für klinische Entscheidungen zu nutzen. Für die Liquoranalytik mittels molekularer multiplex Assays zeigt sich, dass diese vor allem zur Anwendung kommen sollten, wenn eine hohe Prätest-Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer Meningitis/Encephalitis vorliegt. Neben klinischen Parametern kann für die Identifikation entsprechend geeigneter Proben die Zellzahl im Liquor als Surrogatmarker für ein infektiöses Geschehen genutzt werden.¹² Eine wichtige Limitierung von molekularen Paneltesten stellt naturgemäß die Limitierung der Zahl nachgewiesener Erreger dar. Solche Pathogene, die nicht im jeweiligen Panel repräsentiert sind, werden nicht erkannt. Bei alleinigem Einsatz besteht die Gefahr einer Fehldiagnose und damit auch einer Fehltherapie. Auch hier wird deutlich, dass ein Ersatz der konventionellen mikrobiologischen Analytik durch molekulare Tests derzeit nicht angemessen ist. Sie stellen fast immer eine zusätzliche Methodik im Rahmen der Probenprozessierung dar.

3.2 Kosten

Das Verlassen traditioneller Pfade der mikrobiologischen (Kultur-basierten) Analytik kann auf einer Reihe von Ebenen zusätzliche Kosten produzieren. Gerade der Einsatz kommerzieller Testsysteme (multiplex Panel Assays, beschleunigte Empfindlichkeitsprüfung) erzeugen unmittelbare Zusatzkosten durch hohe Reagenzienpreise. Gleichzeitig bedeutet die Implementierung von Systemen zur beschleunigten Analytik massive Einschnitte in das Management eines mikrobiologischen Labors. So müssen Mitarbeiter für die flexible Durchführung der Analysen abgestellt werden, und Prozesse des Materialflusses im

Labor erfordern eine Anpassung (Abkehr von der reinen Fokussierung auf die Abarbeitung von großen Serien [Batch-Abarbeitung], Integration von Prozessen zur Bearbeitung einzelner Proben). Aus wirtschaftlichen und strukturellen Erwägungen heraus ist daher die ungesteuerte Implementierung neuartiger Technologien zur Beschleunigung der Analytik nicht ohne eine grundsätzliche Umorientierung der Strategie infektiologischer Diagnostik möglich.

4 Prozess- und zielorientierte Strukturierung diagnostischer Maßnahmen: Steuerebenen und Interventionspotential des Diagnostic Stewardship

Aus inhaltlichen Erwägungen heraus ist offensichtlich, dass die Implementierung beschleunigter Analytik Outcome-relevant sein kann und daher notwendig für ein optimales Patientenmanagement ist. In dieser Betrachtung sind weniger die Effizienz der Analytik im Sinne niedriger Kosten relevant, sondern vielmehr die Effektivität der Untersuchung, also die Betrachtung der Frage, ob der jeweilige Test in der Lage ist, im gegebenen Setting den Verlauf der Infektion zu beeinflussen. Diese Betrachtung gilt jedoch keinesfalls nur für kostenintensive, neuartige Technologien. Vielmehr wird deutlich, dass mehr denn je die Frage nach der Effektivität mikrobiologischer Analytik im Allgemeinen betrachtet werden muss – ein in der Vergangenheit zu wenig beachteter Aspekt. Eine klarere Fokussierung auf die Effektivität mikrobiologischer

Analytik als relevanter Baustein zur qualitativ hochwertigen Versorgung infektiologischer Patienten ist als Beitrag für die notwendige Individualisierung therapeutischer Maßnahmen zu betrachten. Die Steigerung der Effektivität kann hierbei auf verschiedenen Ebenen des diagnostischen Prozesses erreicht werden. Hierbei ist nicht nur spezifisch die Auswahl des Testes relevant, sondern vielmehr die Frage, in welcher Geschwindigkeit die Analytik verfügbar ist und durchgeführt werden kann, und ob die zu erwartenden Ergebnisse in diesen Rahmenbedingungen helfen können, die Therapie des Patienten zu optimieren (Tabelle 3). Maßnahmen, die eine integrierte diagnostische Versorgung des infektiologischen Patienten ermöglichen sollen, werden in Diagnostic Stewardship Programmen (DSP) zusammengefasst.

Tabelle 3: Strategische Ziele einer hinsichtlich Effektivität optimierten mikrobiologischen Analytik (nach¹³)

Strategisches Ziel	Kernfrage	Kernüberlegungen und potentielle Strategien zur Optimierung
Der richtige Test	Ist der Test geeignet, im spezifischen Kontext relevante Fragen zu beantworten?	Sensitivität / Spezifität Vorhersagekraft Verfügbarkeit Klinischer Impact
Der richtige Patient	Ist zu erwarten, dass das Testergebnis die Behandlung des Patienten verändern wird?	Elektronisch unterstütztes Order-entry System (computerized order entry, CPOE) Festlegung von klinischen Indikationen Labor-Reflexteste Gezielte Freischaltung der Anforderung nach Rücksprache
Zum richtigen Zeitpunkt	Ist ein Ergebnis innerhalb des Zeitrahmens verfügbar, der eine optimale Versorgung möglich macht?	Transportzeit Krankenbett – Labor Laborarbeitszeiten Zentralisierte Testung vs. Point of care (POC) Einzelprobenmessung vs. Batch-Analysen Zeitpunkt des Befundberichts

Im Folgenden Beispiele, wie eine auf Effektivität ausgerichtete Analytik auf den Ebenen der Diagnostik (präanalytische, analytische und post-analytische Phase) im Alltag umgesetzt werden kann.

4.1 Phase der Präanalytik

- Unterstützung des Anforderers bei der Auswahl des im klinischen Kontext korrekten Assays mittels computerunterstützter Order-Entry Systeme: Hierbei wird nicht nur eine einfache Liste der möglichen Analysen dargestellt, sondern eine Führung zu den optimalen Materialien und Assaysystemen entlang der Abfrage des klinischen Kontextes ermöglicht. Beispiel hierfür wäre die Möglichkeit, dass nach Eingabe der Differentialdiagnose „ambulant erworbene Pneumonie“ in eine Liste geführt wird, in der sinnvoll zu gewinnende Materialien (Blutkulturen, tiefes Atemwegsmaterial, Urin) und die hieraus anzufordernden Analyten (Erregeranzucht, molekulare Tests für den Nachweis viraler und atypischer Erreger, Antigenbestimmungen) vorgeschlagen werden. Die Zusammensetzung dieser Tests sollte durch ein interdisziplinäres Team (Kliniker, Mikrobiologen, ABS-Team) abgestimmt werden.¹⁴
- Gezielte Nutzung von POC Analytik: Molekulare Schnelltests sind eine effektive Methode, um innerhalb kurzer Zeit klinisch relevante Erkenntnisse zu Infektionserregern zu gewinnen. Die Durchführung ist jedoch nur sinnvoll, wenn der Zeitgewinn nicht zum Beispiel durch lange Transportwege aufzehrt wird. In einem solchen Fall kann die Installation von Systemen zur schnellen Analytik dezentral und außerhalb des mikrobiologischen Labors erwogen werden. Optimaler Weise wird der Test dann durch ein lokales klinisch-chemisches Labor abgearbeitet. Eine solche Organisation kann sinnvoll sein bei der Analyse von Atemwegsproben (Frage nach viralen Erregern mit krankenhaushygienischen Implikationen, z.B. Influenza) oder für eine beschleunigte Diagnostik (Erregeridentifikation, Leitresistenzen) von positiven Blutkulturen, deren Weiterverarbeitung ansonsten in einem entfernten, zentralen Labor vorgenommen werden muss.
- Ablehnung von Untersuchungen bei ungeeignetem Material: Fehldiagnosen und daraus abgeleitete, nicht-indizierte Antibiotikatherapien resultieren auch aus der Durchführung diagnostischer Maßnahmen aus ungeeignetem Material. Eine rigorose Stornierungspolitik ist daher eine wirkungsvolle Strategie, um diesem Problem zu begegnen. Beispiele hierfür sind die Ablehnung von Analysen aus nicht durchgängigem Stuhl (insbesondere *C. difficile*), von Urinen ohne Leukozyten (bei ambulant erworbenen Harnwegsinfektionen) oder von Abstrichen aus chronischen / besiedelten Wunden.

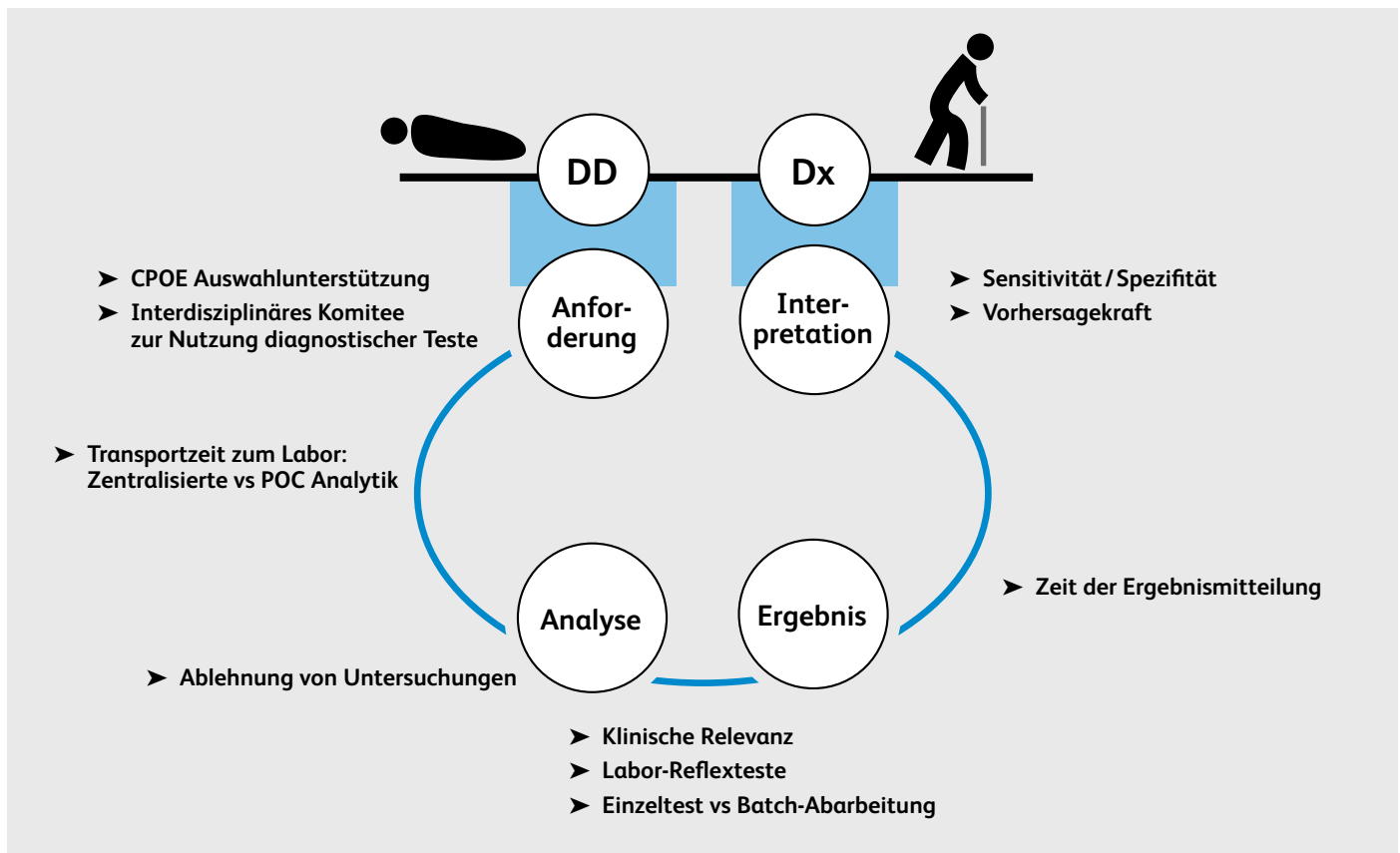


Abbildung 1: Darstellung der Interventionsmöglichkeiten zur Optimierung diagnostischer Prozesse auf den verschiedenen Ebenen des Gangs der Untersuchung von der Differentialdiagnose (DD), über die Anforderung der Analytik, die Auswahl des Testes, die Befundkommunikation und Interpretation bis hin zur Diagnose (Dx) und Therapieeinleitung. Erläuterungen zu den einzelnen Punkten finden sich im Text. In Anlehnung an Luz und Sinah (persönliche Kommunikation) und¹³.

4.2 Phase der mikrobiologischen Analytik

- Priorisierung von Proben im Lauf der Abarbeitung: entlang interdisziplinär abgestimmter Pfade ist es möglich, eine Proben-Priorisierung im Gang der Probenabarbeitung vorzunehmen und Diagnostik hierdurch zu beschleunigen. Die Priorisierung kann auch bedeuten, dass in Fällen hoher Priorität ein erweitertes (auch kostenintensives) Spektrum der Analysen im Labor festgelegt wird. Ein Beispiel hierfür ist die Sepsisdiagnostik.¹¹⁶ Hier kann durch die Priorisierung von Proben mit einer *time-to-positivity* von unter 24 h der Einsatz erweiterter Analysemaßnahmen angestoßen werden (Schnell-Identifikation mittels PCR, schnelle Resistenztestung).
- Einzeltest vs. Batchabarbeitung: Eine Abarbeitung von Proben in großen Serien („Batches“) erleichtert es dem Labor, Arbeitsgänge zu strukturieren. Hierdurch ist es jedoch möglich, dass sich die Abarbeitung einer Probe verzögert, da Proben für einen Test gesammelt werden. Ebenfalls in Abstimmung mit den vorsorgenden Kliniken ist es daher sinnvoll, für bestimmte Parameter auch eine gezielte Einzeltestdurchführung vorzusehen (z. B. Galaktomannan aus BAL im Rahmen der Pneumonieabklärung bei Hochrisiko-Patienten).

4.3 Phase der Postanalytik

- Strukturierte Befundkommunikation über definierte Wege: Es ist offensichtlich, dass die einfache Freigabe eines Befundes im Labor häufig erst mit erheblicher Verzögerung eine klinische Maßnahme zur Folge hat. Diese Verzögerung erscheint zum Beispiel bei der Blutkulturanalytik problematisch. Die telefonische Kommunikation des Befundes an die Station ist eine mögliche und übliche Maßnahme, jedoch besteht hierbei die Gefahr, dass Befunde an nicht für Änderungen der Therapie autorisierte Personen weitergegeben werden. Durch definierte Kommunikationswege unter Nutzung elektronischer Benachrichtigung von Entscheidungsträgern und Festlegung definierter, am mikrobiologischen Befund aufgehängter therapeutischer Maßnahmen zur Initiierung von Änderungen der Antibiotikatherapie auch ohne vorherige Rücksprache, kann dieses Problem adressiert werden.
- Befundinterpretation: Die Interpretation eines mikrobiologischen Befunds ist im klinischen Kontext ohne Kenntnis der Testcharakteristika (Sensitivität / Spezifität) nicht sinnvoll möglich. Wie oben beschrieben ist auch die Kenntnis von PPV und NPV von ausschlaggebender Bedeutung. Diese Aspekte können im schriftlichen Befund berücksichtigt werden. Um Ergebnisse in klinische Handlungspfade zu integrieren, ist es jedoch sinnvoll, Protokolle zur definierten Umsetzung von Maßnahmen in Abhängigkeit von mikrobiologischen Ergebnissen vorzugeben. Solche Protokolle berücksichtigen die Testcharakteristika und helfen, Fehlinterpretation und Fehltherapie zu vermeiden. Beispiele hierfür sind der β -D-Glukan Test (Nutzung des hohen negativ prädiktiven Wertes zur Steuerung empirischer antifungaler Therapien, keine spezifische Reaktion auf positive Befunde) und die ungezielte Analyse explantierter Katheterspitzen (niedrig positiv-prädiktiver Wert kultureller Nachweise von Koagulase-negativen Staphylokokken).

5 Wege zur effektiven mikrobiologischen Diagnostik – Prozessoptimierung zur optimierten Ressourcennutzung und Verbesserung der diagnostischen Qualität

Die Implementierung einer auf Effektivität ausgerichteten mikrobiologischen Diagnostik macht Optimierungen auf jeder Ebene des Prozesses notwendig.¹⁵ Optimierungspotential

soll hier am Beispiel der Blutkulturanalytik, der Diagnostik bei Atemwegs- und Darm-Infektionen konkret beschrieben werden.

5.1 Blutkultur-Diagnostik

Die Blutkultur-Diagnostik ist eine der bedeutendsten mikrobiologischen Untersuchungen. Der Nachweis von Mikroorganismen im Blutstrom kennzeichnet lebensbedrohliche Infektionen, welche eine unmittelbare Behandlung erfordern. Zahlreiche Untersuchungen haben gezeigt, dass die Prognose von Sepsis-Patienten unmittelbar von der Dauer der Diagnosestellung bis zur Gabe wirksamer Antibiotika abhängt.^{16,17} Es ist somit essentiell, die Zeitdauer von der Probenentnahme bis zur Befunderstellung zu optimieren und gleichzeitig dem behandelnden einsendenden Arzt regelmäßig aussagekräftige Zwischenergebnisse mitzuteilen. Hierfür muss die Probenlogistik, die Abarbeitung im Labor und die Auswahl der zum Einsatz kommenden Verfahren optimiert werden. Auf Seiten des klinisch tätigen Arztes muss bekannt sein, wie die korrekte Probenentnahme zu erfolgen hat, um eine ausreichende Sensitivität und Spezifität zu erreichen. Daneben muss eine Überdiag-

nostik vermieden werden, in dem Sinne, dass Kriterien festgelegt werden sollten, bei welchen Patienten Hinweise auf eine Blutstrominfektion vorliegen und bei welchen nicht. Im Hinblick auf die Tatsache, dass bis über 50 % aller Blutkulturen mit Keimen der Hautoberfläche kontaminiert sind,¹⁸ kommt der Ergebnisinterpretation eine zentrale Aufgabe zu. Dies erfolgt zum einen unter Kostengesichtspunkten. Eine resultierende Übertherapie stellt auch eine Gefährdung des Patienten dar. Bis zur Hälfte aller Patienten mit falsch-positiven Blutkulturen werden mit Antibiotika wie etwa Vancomycin behandelt¹⁹ und sind den Risiken einer Hospitalisierung und parenteralen Antibiotika-Gabe ausgesetzt.²⁰

5.1.1 Indikationsstellung zur Blutkulturdiagnostik

Entscheidend für den sinnvollen Einsatz der Blutkultur-Diagnostik ist die korrekte Indikationsstellung. Bis zu 20 % aller stationären Patienten, gemittelt über alle Fachabteilungen, erfahren eine Blutkultur-Diagnostik,¹⁹ von denen bis zu 56 % falsch positiv sind, meist mit Methicillin-resistenten Koagulase-negativen Staphylokokken.¹⁸

Es sind eine Reihe von Scoring-Systemen entwickelt worden, welche die Entscheidung rationalisieren sollen.¹⁸ Die Einführung eines einfachen Entscheidungs-Algorithmus konnte in einzelnen Zentren bis zu 50 % aller Blutkulturen einsparen und damit auf den entsprechenden Stationen auch den Antibiotika-Verbrauch senken,^{21,22} ohne dass es zu einer Verschlechterung des Behandlungsergebnisses gekommen wäre. Einschränkend muss angemerkt werden, dass es sich ausschließlich um pädiatrische Patienten handelte. Eine neuere Studie mit nicht-neutropenen, erwachsenen Patienten nutzte einen Entscheidungsalgorithmus, welcher sich stark an der Prätestwahrscheinlichkeit für eine Bakteriämie orientierte.²³ Hier wurden moderatere aber dennoch signifikante Reduktionen der ent-

nommenen Blutkulturen bei gleichbleibendem Outcome der Patienten beobachtet. Grundsätzlich ließe sich die Abfrage einiger weniger Fragen zur Indikation in die EDV-Anforderungsmaske integrieren, um auf diesem Weg die Blutkultur-anfordernde Person zu sensibilisieren.

Es muss jedoch betont werden, dass diese Scoring Systeme mit großen Unsicherheiten behaftet sind, die den potentiell lebensbedrohlichen Konsequenzen von Blutstrominfektionen nicht gerecht werden. Nicht wenige Infektionen werden trotz ihrer zum Teil fatalen Konsequenzen von diesen Systemen nicht erfasst und keiner der in einer Meta-Analyse untersuchten Algorithmen ist im Routinebetrieb tatsächlich umgesetzt worden.²⁴

5.1.2 Entnahmetechnik

Zur Entnahme von Blut für Blutkulturen muss man typischerweise die unsterile Hautbarriere durchbrechen. Dies führt häufig zu Kontaminationen der Blutkulturen mit Mikroorganismen, die auf der Hautoberfläche siedeln. Viel seltener treten Kontaminationen während des Beimpfens der Blutprobe in die Flasche oder während des Bearbeitungsprozesses auf. Eine korrekte Hautantiseptik ist hier von herausragender Bedeutung. Alle Daten weisen darauf hin, dass die effektivste Hautantiseptik mit alkoholischen Desinfektionsmitteln möglich ist.²⁰ Andere Desinfektionsmittel sollte das ABS/DSP Team eines Hauses den Mitarbeitern nicht zur Verfügung stellen. Ausreichende Einwirkzeit und unterlassene anschließende Palpierung der Vene sind selbstverständlich und müssen in jede Verfahrensanweisung mit aufgenommen werden. Dennoch muss betont werden, dass auch eine optimale Antiseptik keine sterilen Verhältnisse an der Punktionsstelle schafft und bis zu 20 % der Hautkeime überleben.²⁵ Kontaminationen sind der Blutkulturdiagnostik immanent und müssen bei der Interpretation der Kulturergebnisse immer berücksichtigt werden.

Der bevorzugte Ort der Blutentnahme ist die periphere Vene, obwohl hierbei die Haut penetriert werden muss. Blutkulturen aus liegenden zentralen Venenkathetern führen mindestens zu einer Verdopplung der Kontaminationsraten.²⁶ Interessanterweise gilt das auch für die Gewinnung von Blutkulturen während des Legens eines neuen ZVK. Entgegen der Annahme vieler Kliniker, dass es sich hierbei um eine besonders aseptisch erfolgende Blutentnahme handelt, ist auch hier die Kontaminationsrate trotz weitgehend steriler Bedingungen im Vergleich zur peripheren Blutentnahme erhöht. Die Entnahme von Blutkulturen aus ZVKs ist einzig zur Diagnostik bei Verdacht auf Katheter-Infektion zulässig. Dieser diagnostische Prozess kann durch eine angepasste EDV-Anforderung sinnvoll unterstützt

5.1.3 Anzahl der Blutkulturen

Ein früher Ansatz des Diagnostic Stewardship war die Reduktion von Überdiagnostik erstens zur Einsparung von Kosten und zweitens zur Vermeidung von Übertherapie aufgrund falsch-positiver Testergebnisse.³⁴ Bei Blutkulturen muss das Diagnostic Stewardship einen entgegengesetzten Weg gehen. Vielfach werden zu wenige Blutkulturflaschen entnommen,³⁵ um eine ausreichende Sensitivität zu erreichen, beziehungsweise um die kulturellen Ergebnisse sinnvoll interpretieren zu können.

- Einige Schätzungen besagen, dass die durchschnittliche Keimlast im Blut von erwachsenen Patienten nur bei etwa 0,25 CFU pro Milliliter liegt.³⁶ Eine Reihe experimenteller Studien zeigte, dass in etwa einem Drittel der Fälle unter einem CFU/ml Bakterien oder Hefepilze im Blut zu finden waren.¹⁸ Dazu passend fanden Studien, dass erst ab drei Blutkultur-Sets (jeweils bestehend aus einer aeroben und ei-

werden. Bei Angabe ZVK als Lokalisation der Blutentnahme sollte ein Hinweis auf eine erhöhte Kontaminationsrate erscheinen und die Diagnose ZVK-Infektion gefordert werden. In einer Studie konnte durch Schulungsmaßnahmen eine deutliche Reduktion der aus ZVKs entnommenen Blutkulturen und damit eine signifikante Reduktion der Kontaminationen erreicht werden.²⁵

Ein großer Teil der Kontaminationen von Blutkulturen mit Keimen der Hautflora wird offenbar durch Verschleppung von Hautfragmenten in der initialen Portion Blut verursacht. Das Verwerfen der ersten wenigen Milliliter – entweder mit einer speziellen Abnahmevorrichtung²⁸ oder durch Verwendung eines einfachen Blutentnahmeröhrchens²⁹ – vor dem Beimpfen der Blutkulturflaschen, führte zu einer deutlichen Reduktion um 66 % bzw. 87 % der kontaminierten Flaschen. Auch unter ökonomischen Gesichtspunkten sollte dieses bislang wenig etablierte Vorgehen weitere Verbreitung finden.³⁰

Immer wieder wird in der amerikanischen Literatur darauf hingewiesen, dass spezialisierte sogenannte Phlebotomie-Teams, welche abteilungsübergreifend die Blutentnahmen eines Hauses durchführen, die Kontaminationsraten senken können.³¹ Die Einrichtung solcher Teams erleichtert sicher die Standardisierung und Umsetzung optimierender Maßnahmen, ist aber in deutschen Krankenhausstrukturen organisatorisch derzeit kaum vorgesehen.

Die Internationale Sepsis Leitlinie empfiehlt die Entnahme aller Blutkulturen auf einmal.³² Studien belegen, dass der Zeitpunkt der Entnahme auch im Hinblick auf die Symptomatik des Patienten irrelevant ist.³³

ner anaeroben Flasche) – befüllt mit jeweils 10 ml Blut – mit Sensitivitäten oberhalb von 95 % und erst ab vier Blutkultur-Sets Sensitivitäten oberhalb von 99 % erreicht werden.³⁷ Insbesondere Hefepilze, Gram-negative Erreger, Enterokokken und Streptokokken wurden selbst bei der Entnahme von zwei Sets nur mit einer Sensitivität zwischen 80 und 90 % detektiert. Das ist bei der hohen Mortalität von Blutstrominfektionen nicht vertretbar.³⁸ In diesem Sinne muss auch die vielfach in Leitlinien propagierte Empfehlung der Abnahme von 2–3 Blutkulturen hinterfragt werden.¹⁸ Kindern können dagegen abhängig von ihrem Alter oftmals nur geringere Blut-Volumina entnommen werden,³⁹ bevor die 4 %-Grenze des Gesamtblutvolumens überschritten wird, welche durch Blutneubildung kompensiert werden kann. Die frühere Vorstellung, dass eine höhere Keimlast bei Kindern dies ausgleiche, kann jedoch nicht mehr durchgängig aufrechterhalten werden. Es wurden verschiedene Alters- und Gewichtsab-

hängige Schemata vorgeschlagen. Ein einfaches, häufig verwendetes Vorgehen empfiehlt die Entnahme von 1 ml für Kinder unter 2 kg, 2 ml für Kinder unter 11 kg und 7,5 ml für Kinder unter 17 kg.³⁹

Die Abnahme zu weniger Blutkulturen führt jedoch nicht nur zu niedrigen Sensitivitäten. Auch die Befundinterpretation kann erschwert werden. Der Anteil der positiven Blutkulturen mit identischem Erreger an allen entnommenen Blutkulturen gibt wichtige Hinweise, ob es sich um eine Kontamination oder um eine echte Blutstrominfektion handelt. So sinkt der positiv prädiktive Wert einer bewachsenen Blutkultur von 55 %, wenn nur eine Blutkultur entnommen wurde, auf 5 %, wenn drei Blutkulturen entnommen wurden, von denen zwei negativ blieben.²⁵ In speziellen Patientenklientel, wo naturgemäß nur geringe Blutvolumina entnommen werden können, wie Neugeborenen und

5.1.4 Organisation der Probenlogistik

Nur große Krankenhäuser betreiben in Deutschland noch im Hause eigene mikrobiologische Labore und auch diese sind meist nicht 24 Stunden besetzt.⁴¹ In vielen Fällen finden sich in peripheren Häusern nur kleine Satelliten-Labore für Notfallparameter, während die mikrobiologischen Materialien in unterschiedlich langen Intervallen (z. T. bis zu 24 Stunden) zur Bearbeitung in ein Zentrallabor versandt werden.³⁵ Um dieses logistische Problem wenigstens teilweise zu umgehen, wurde vorgeschlagen, automatisierte Bebrütungssysteme für Blutkulturflaschen vor Ort peripher aufzustellen, die jederzeit vom 24h-Personal be- und, im Falle, dass Wachstum angezeigt wird, entladen werden können. Es gibt Hinweise darauf, dass dieses Vorgehen möglicherweise die Zeit bis zum Anzeigen von Wachstum in automatisierten Blutkultur-Systemen beschleunigt und insbesondere den Nachweis empfindlicher Keime verbessert.⁴² Eine Studie zeigte, dass es durch dezentrale Bebrütung von Blutkulturen in der Tat zu einer deutlichen Verkürzung

5.1.5 Identifizierung und Differenzierung im Labor

Neben der Organisation des Probentransportes hat die Bearbeitung im Labor den größten Einfluss darauf, wie schnell dem behandelnden Arzt klinisch-therapeutisch relevante Informationen zur Verfügung stehen. Nachdem eine Blutkulturflasche von dem automatisierten Bebrütungssystem als positiv gemeldet, ein Grampräparat angefertigt und dem Kliniker mitgeteilt wurde, stehen dem Labor grundsätzlich zwei Wege zur Identifizierung des gewachsenen Erregers offen. Zum einen kann der Erreger zunächst auf festen Kulturmedien subkultiviert werden. Die Anzucht auf Festmedien erlaubt dann eine umfassende und abschließende Identifizierung und Resistenztestung unter standardisierten Bedingungen, verzögert jedoch eine Befunderstellung um die Dauer, die das Wachstum auf Festmedien erfordert – häufig eine Nacht. Nur über die Subkultur können valide Resistenztestungen erfolgen, Mischkulturen erkannt

kleinen Kindern, und regelhaft nur eine Blutkulturflasche an das Labor gesandt wird, fällt es schwer, die Bedeutung bestimmter Bakterien, welche typische Kontaminanten darstellen, z. B. Koagulase-negative Staphylokokken, für ganze Krankheitsbilder zu bestimmen.⁴⁰

Nur wenige Kliniker schicken regelhaft drei oder mehr Blutkultur-Sets ein.³⁵ Neben Schulungsmaßnahmen scheinen hier EDV-basierte Unterstützungsangebote besonders geeignet. Jede Blutkulturflasche sollte mit einer eigenen Probennummer versehen werden müssen, um die Anzahl der positiven Flaschen bestimmen zu können. Bei der Anforderung könnten entsprechende Systeme den Anforderer darüber informieren, dass etwa eine zu geringe Probenzahl angefordert wurde.

der Bearbeitungszeit und der Zeit bis zur Anpassung einer antibiotischen Therapie kommt,⁴³ ohne dass allerdings ein Einfluss auf Letalität oder Dauer des Krankenhausaufenthaltes gezeigt werden konnte.

Das wichtigste Problem kann jedoch auch eine dezentralisierte Bebrütung nicht lösen. Der größte Zeitverlust entsteht durch den verzögerten Transport aus den peripheren Laboren in das mikrobiologische Zentrallabor, wo die weiteren Differenzierungen und die Erstellung des Antibiotogramms stattfinden bzw. in der verzögerten Bearbeitung positiver Blutkultur-Flaschen, da bakteriologische Abteilungen meist nicht 24 Stunden besetzt sind.⁴¹ Abhilfe könnte eine vorläufige Bearbeitung positiver gemeldeter Flaschen vor Ort mit einfachen, wenig arbeitsaufwendigen Maßnahmen schaffen, welche weiter unten besprochen werden.

werden, und schwierig zu differenzierende Keime bestimmt werden. Eine Subkultivierung ist in jedem Fall notwendig, an die sich dann die Resistenztestung anschließt.

Daneben etablieren sich aber auch zunehmend Verfahren, welche die bereits in der Flüssigkultur angereicherten Pathogene direkt differenzieren. Hier kommen aktuell im Wesentlichen zwei Verfahren zum Einsatz: MALDI-ToF-basierte und PCR-basierte. Für die MALDI-ToF Analyse werden die Bakterien durch Zentrifugations- und Lysisschritte vom Blut und vom Flüssigmedium abgetrennt und dann massenspektrometrisch untersucht. Hierfür stehen sowohl kommerzielle als auch publizierte und validierte in-house Verfahren zur Verfügung,⁴⁴ welche vielfach gute Identifizierungsraten gezeigt haben. Allerdings sind die Verfahren relativ arbeitsaufwendig und vielschrittig und/

oder bringen relativ hohe Reagenzkosten mit sich. In Studien konnte für die direkte Identifizierung des Blutstrominfektionserregers eine kürzere Dauer der Therapie, eine Verkürzung des Aufenthaltes, eine seltenere Verlegung auf eine Intensivstation, seltenere und kürzere Behandlung von Kontaminationen und zum Teil auch eine Senkung der Mortalität gezeigt werden,⁴⁵ wobei diese Effekte insbesondere durch eine Kombination mit proaktiven Antibiotic-Stewardship Programmen zum Tragen kamen.⁴⁶ Der apparative und personelle Aufwand für diese Analysen ist jedoch verhältnismäßig hoch, so dass eine Realisierung in einem Satelliten- bzw. Basislabor direkt vor Ort kaum durchsetzbar scheint und damit eher in großen Krankenhäusern mit eigenem mikrobiologischen Labor Anwendung findet.

Neben der Direktidentifizierung ermöglicht die MALDI-ToF Technologie aber auch die Diagnostik mittels sogenannter Kurzzeitkulturen.⁴⁷ So konnten in einer Studie im Durchschnitt ca. 3 Stunden (Gram-positive Erreger ca. 4 Stunden, Gram-negative Erreger ca. 2,5 Stunden) nach der Positivmeldung einer Blutkultur die Ergebnisse der Differenzierung zugänglich gemacht werden.⁴⁸ Bei Kombination mit automatisierten Resistenztestungsverfahren von der Kurzzeitkultur konnte bei einem großen Teil der Blutkulturen noch am gleichen Tag eine vollständige Differenzierung und Empfindlichkeitstestung fertiggestellt werden.⁴⁹ Zieht man die Hands-on-time und die Bearbeitungszeit der oben beschriebenen Direktidentifizierung ab, liefert das Kurzzeitkulturverfahren mit nur einem sehr geringen Zeitverlust kostengünstige, verlässliche Ergebnisse. Eine beschleunigte Diagnostik über Kurzzeitkulturen lässt sich auch in einem Satellitenlabor-Konzept realisieren. Mit nur niedrigem apparativem und personellem Aufwand, können 24 Stunden positiv-gemeldete Blutkulturen auch in kleinen Notfalllaboren vor Ort ausgetrichen und begonnen werden zu bebrüten. Nach Transport in ein Zentrallabor mit mikrobiologischer Abteilung erfolgt dann eine Differenzierung mittels MALDI-ToF und eine Resistenztestung.

Neben der Direktidentifizierung mittels MALDI-ToF stehen auch kommerzielle PCR-Verfahren wie etwa das Filmarray System zur Schnell-Differenzierung zu Verfügung. Diese erfordern zum Teil sehr geringe Hands-on Zeit und nur wenig spezifisch mikrobiologische Expertise. Etwa 90% aller Keime in positiven Blutkulturen können mit diesem System identifiziert werden. Sie eignen sich insbesondere für eine zeitnahe Identifizierung⁵⁰ in peripheren Satellitenlaboren. Trotz der zusätzlich benötigten apparativen Ausstattung und der relativ hohen Reagenzkosten verweisen Analysen auf die eingesparten Gesamtkosten durch unnötige Antibiotika-Therapien, Verlängerung des Aufenthaltes und Therapie-assoziierte Morbidität.^{46,50} Bis auf einige Resistenzgene (mecA/C, vanAB, ctx-m, mehrere Carbapenemase Gene) kann jedoch keine Aussage bezüglich der Antibiotika-Empfindlichkeit gemacht werden, so dass weiterhin eine Anzucht und phänotypische Resistenzbestimmung erfolgen muss. Da viele klinisch tätige Ärzte aus der reinen Identifizierung der Keime noch nicht unbedingt typischerwei-

se resistente bzw. empfindliche Antibiotika ableiten können,⁵² muss dieser Laborservice von beratenden Maßnahmen oder von Standardkommentaren auf dem Zwischenbefund begleitet sein, um sinnvoll empirische Antibiotika-Therapie beeinflussen zu können. Dann allerdings ist diese Diagnostik in der Lage, die Zeit bis zur optimalen Antibiotika-Therapie deutlich zu reduzieren.^{6,53}

Neben einer beschleunigten Identifizierung der Erreger wurde auch ein Verfahren zur beschleunigten Resistenztestung von Bakterien aus Blutkulturen von der EUCAST etabliert und validiert.⁵⁴ Hierfür werden direkt die in der Blutkultur angereicherten Keime für eine Agardiffusionstestung eingesetzt und können bereits nach 4, 6 und 8 Stunden abgelesen werden. Dies ermöglicht in vielen Fällen eine taggleiche Empfindlichkeitsprüfung mit einer hohen Übereinstimmung mit den Verfahren, welche eine Übernachtbebrütung benötigen. Allerdings können noch nicht alle Bakterienspezies und bislang nur eine Auswahl an relevanten Antibiotika abgebildet werden.

Zusätzlich zu den molekulargenetischen Nachweisverfahren einzelner Resistenzgene haben auch immunologische Tests, welche die entsprechenden Genprodukte direkt in positiven Blutkulturflaschen detektieren, Eingang in die Schnelldiagnostik gefunden. So existieren zuverlässige Verfahren zum Nachweis des PBP2A-Proteins,⁵⁵ welches kennzeichnend für den MRSA-Phänotyp von *Staphylococcus aureus* ist. Auch eine größere Bandbreite relevanter Carbapenemasen können mittels verschiedener erhältlicher Tests zum überwiegenden Teil erkannt werden.^{56,57} Diese Verfahren sind sehr einfach und ohne zusätzliche apparative Ausstattung vor Ort durchführbar. Jedoch können die immunologischen Tests wie auch die PCR-basierten Nachweise zwar Einfluss nehmen auf die initiale Auswahl einer empirischen Antibiotikatherapie, ersetzen jedoch ebenfalls keine vollständige Resistenztestung.

Jede Beschleunigung in der Diagnostik läuft ins Leere, wenn der Befund nicht zeitnah wahrgenommen wird oder wenn nicht die richtigen Schlüsse daraus gezogen werden. Alle Studien zeigen, dass Schnelldiagnostik von ABS-Maßnahmen und persönlichen Befundmitteilungen flankiert werden müssen, um effektiv zu sein.⁶ Neben einer entsprechenden personellen und apparativen Ausstattung der Labore für einen 24 Stunden Service mit entsprechenden Möglichkeiten müssen also auch auf der Behandler-Seite entsprechende Ressourcen zur Verfügung stehen, um die schnellere Befunderstellung auch nutzen zu können. Eine umfassende Kosten-Nutzen-Analyse verschiedener Verfahren der beschleunigten Diagnostik konnte dennoch auf der Basis der hierzu bislang veröffentlichten Studien zeigen, dass diese Maßnahmen eine Senkung der Gesamtbehandlungskosten und eine Verbesserung des Behandlungsergebnisses ermöglichen.⁴⁶

5.1.6 Interpretation des Ergebnisses

Neben der schnellen Übermittlung des Befundes ist auch die Interpretation des Ergebnisses der Untersuchung eine zentrale Aufgabe aller Diagnostik-begleitenden ABS- und DSP-Maßnahmen. Diese Aufgabe muss im persönlichen Kontakt möglichst über automatische Miteinbeziehung eines multidisziplinären Teams erfolgen.⁵⁸

Die erste Interpretationsebene muss, wenn möglich, klären, ob ein Ergebnis glaubhaft ist, oder ob es sich um einen falsch-positiven bzw. falsch-negativen Befund handelt. So schließt der fehlende Nachweis von Krankheitserregern eine Infektion, ja noch nicht einmal eine Blutstrominfektion aus. Ein DSP muss mit dem behandelnden Arzt in solchen Fällen Fragen diskutieren, wie:

- Wieviel Prozent der Infektionen an einer bestimmten Lokalisation laufen bakteriämisch ab?⁵⁹ Ist die Blutkultur hier das probate Material?
- Wurden Blutkulturen in ausreichender Menge entnommen um eine genügend hohe Sensitivität zu erreichen?
- Ist der Patient antibiotisch vorbehandelt, wie etwa in der Mehrzahl der Blutkultur-negativen Endokarditiden?⁶⁰
- Kommen als Erreger auch nicht oder nur schwer anzüchtbare Erreger in Frage (z.B. *Coxiella burnetii*, Mycoplasmen etc. bei Endokarditiden), welche eine andere Diagnostik wie serologische oder PCR-Verfahren erfordern?

Mindestens ebenso wichtig ist die kritische Interpretation positiver Blutkulturen. Blutkulturen sind in bis zu 56 % aller Fälle falsch positiv,¹⁸ womit die erste Aufgabe darin besteht, zu entscheiden, ob auf den Keimnachweis überhaupt mit einer antibiotischen Therapie reagiert werden soll oder nicht. Der wichtigste Parameter hierbei ist die gemeinsame Interpretation des nachgewiesenen Keims mit der vermuteten Lokalisation der Infektion. Einige Bakterien stellen fast immer eine Kontamination dar und bedürfen meist keiner gezielten Behandlung. Zu diesen gehören Corynebakterien, *Bacillus spp.*, Cutibakterien und Mikrokokken.^{20,25} Ausnahmen stellen nur der wiederholte Nachweis in mehreren Blutkulturen dar insbesondere in Verbindung mit den Verdachtsdiagnosen Endokarditis oder Infektion intravasaler Devices (z.B. ZVK, Port etc.). Andere Bakterien dagegen sind kaum jemals eine Kontamination und sollten auch bei oligosymptomatischen Patienten beachtet werden. Diese umfassen: *Staphylococcus aureus*, beta-hämolisierende Streptokokken, Enterobakterien, *P. aeruginosa*, *A.-baumannii*-Komplex, Meningokokken, Pneumokokken, Listerien, Hefepilze, *H. influenzae* und Gram-negative Anaerobier.^{20,25} Schwieriger ist die Bedeutung von vergründenden Streptokokken und Enterokokken in Blutkulturen einzuschätzen, die in einer Studie in nur 38 % bzw. 70 % der Bakte-

riämie-Episoden als pathogener Erreger eingeschätzt wurden.⁶¹ Beide sind jedoch auch typische Erreger von ernstzunehmenden Infektionen wie z.B. Endokarditiden, die eine konsequente leitliniengerechte Therapie erfordern. Jeder Nachweis einer Streptokokken- oder Enterokokkenbakteriämie erfordert daher im Anschluss eine umfassende Diagnostik insbesondere bezüglich Endokarditiden. Einige Streptokokken, besonders *S. gallolyticus*, sind mit einem erhöhten Risiko von Colon-Adenomen und -Karzinomen assoziiert, so dass eine Koloskopie angezeigt sein kann.⁶² Ein DSP muss sicherstellen, dass die behandelnden Ärzte auf diese Umstände hingewiesen werden. Dies kann geschehen über Standardkommentare auf den Befunden oder auch über die routinemäßige Vorstellung dieser Patienten in interdisziplinären Infektionsrunden.

Die größten Schwierigkeiten bei der Interpretation machen in Blutkulturen nachgewiesene Koagulase-negative Staphylokokken (KNS). Einzelne Studien fanden in über 40 % aller Blutkulturen KNS, von denen allerdings aufgrund klinischer Einschätzung über 80 % als Kontamination eingestuft wurden.⁶¹ Aufgrund der Unsicherheit bezüglich der Bewertung von KNS in Blutkulturen werden Patienten häufig antibiotisch behandelt und dann aufgrund der regelhaften Methicillin-Resistenz von KNS oft mit Vancomycin.¹⁹ Das wichtigste Kriterium bei der Bewertung der Bedeutung von KNS in Blutkulturen ist der vermutete Infektionsfokus. KNS spielen bei Erwachsenen eine herausragende Bedeutung als Erreger von Fremdkörperinfekten.⁴⁰ Insbesondere intravasal gelegene Fremdkörper gehen bei Besiedlung mit KNS dann häufig mit einer Bakteriämie einher. Hierzu zählen ZVK-Infektionen, Portinfektionen, Schrittmachersondeninfektionen und Herzklappenprotheseninfektionen. Nicht-Fremdkörper-assoziierte Infektionen sind eher selten und dann oft sekundär die Folge einer Fremdkörperinfektions-assoziierten Bakteriämie mit septischer Metastasierung, wie z.B. Wirbelkörperosteomyelitiden. Weitere Risikopatienten für primäre KNS-Infektionen sind neutropenische Patienten, die allerdings häufig mit ZVK versorgt sind, und Neugeborene. Bei Patienten mit nachgewiesener KNS-Bakteriämie muss also stets zunächst überprüft werden, ob der nachgewiesene Erreger überhaupt zum vermuteten Infektionsfokus passt.

Ebenfalls wichtig zur Beurteilung der klinischen Relevanz von KNS-Bakteriämien ist die Anzahl der positiven Blutkulturflaschen. Kontaminationen von der Hautoberfläche lassen sich nicht völlig vermeiden. Häufig werden hierbei nur die erste oder die ersten Flaschen mehrerer Sets kontaminiert. Je niedriger der Anteil der positiven Blutkulturflaschen an der Gesamtmenge aller abgenommenen Flaschen, umso niedriger ist der positiv-prädiktive Wert des Untersuchungsergebnisses.⁶³ Allerdings gilt dies nur für Erreger mit zweifelhafter klinischer Bedeutung. Bei Nachweis der oben aufgeführten obligat pathogenen Erreger ist jeder Nachweis in einer Blutkultur beweisend für eine Blutstrominfektion.

5.2 Stuhldiagnostik

Mit zwei Milliarden Erkrankungen jährlich gehören gastrointestinale Infektionen zu den häufigsten Infektionen weltweit.⁶⁴ In Deutschland ist die Norovirusinfektion die häufigste meldepflichtige Erkrankung, die Campylobacter-Enteritis die am häufigsten gemeldete bakterielle Infektion mit 60–90 diagnostizierten Fällen pro 100 000 Einwohnern.⁶⁵ Während die Mortalität in Entwicklungsländern insbesondere bei Kindern hoch ist, sind Todesfälle in den Industrienationen eine abso-

lute Seltenheit.⁶⁶ Die Infektion erfolgt über direkte Mensch-zu-Mensch Übertragung oder durch die Aufnahme kontaminierter Lebensmittel. Insbesondere bei Reiserückkehrern muss mit einem breiteren Spektrum an möglichen gastrointestinalen Pathogenen gerechnet werden. Das Risiko, an einer infektiösen Diarrhöe bei einem zweiwöchigen Aufenthalt in einem Land mit niedrigerem mittleren Einkommen zu erkranken, liegt je nach Ort zwischen acht und 20%.⁶⁷

5.2.1 Moderne Diagnostik von Durchfallerregern

Klassischerweise erfolgte die Diagnostik von Stuhlpathogenen mittels Kultur (bakterielle Pathogene), Antigennachweis (bakterielle Pathogene, Parasiten), Mikroskopie (Parasiten) oder PCR (Viren). Insbesondere die Kultur und Stuhlmikroskopie sind zeit- und arbeitsaufwendig und benötigen hochqualifiziertes Personal. Typischerweise liegen mehrere Tage zwischen der Einsendung eines Stuhls und dem kulturellen Ergebnis. Dieser zeitliche Verzug und der hohe Aufwand machen die kulturelle und mikroskopische Diagnostik zum Teil wenig hilfreich in der akuten Patientenversorgung. Auch aus seuchenhygienischer Sicht kann eine längere Wartezeit bis zum Vorliegen einer Erregeridentifizierung gegebenenfalls die Identifizierung der Infektionsquelle und somit die Kontrolle erschweren.

Aufgrund dieser Problematik wurden in vielen Labors PCR-Panels zum schnellen Erregernachweis aus Stuhl implementiert, diese werden zum Teil von den jeweiligen mikrobiologischen Laboren selbst entwickelt und zum Teil von kommerziellen Anbietern vertrieben. Neben klassischen PCRs treten zunehmend geschlossene diagnostische Kartuschensysteme, wie zum Beispiel Luminex, BioFire oder Verigene in den Vordergrund. Diese Analyseplattformen setzen sich aus dem jeweils passenden Analysegerät und einer Kartusche zusammen, welche Syndrom-basierte Assays zum Nukleinsäurenachweis enthält. Zwischen neun und 22 Zielorganismen können durch diese Plattformen mit hoher Sensitivität nachgewiesen werden.⁶⁸ Die Testdauer beträgt wenige Stunden.

Eine Vielzahl von Studien vergleicht die Performance der kommerziellen Panels mit der herkömmlichen Diagnostik. Beispielsweise wurden in einer multi-center Studie in den USA das Biofire GI panel mit konventioneller Stuhldiagnostik bei 1556 Stuhlproben verglichen. Das Biofire GI panel erreichte eine Sensitivität von 100 % für 12 der 22 Targets und ca. 95 % für weitere sieben Targets, sowie eine Spezifität von 97,1 %. Insgesamt wies das Biofire Panel mehr potentielle Erreger im Stuhl nach als konventionelle Methoden. Interessanterweise wurden in 39 % der Stuhlproben mehr als ein Pathogen nachgewiesen.⁶⁹ Die neuen diagnostischen Methoden liefern nicht immer einfach zu interpretierende Resultate. Die Bedeutung des Nachweises mehrerer Stuhlpathogene in einer Probe ist nicht geklärt. Einerseits kann durch die erhöhte Nachweisrate von Pathogenen im Vergleich zur Kultur häufiger eine Diagnose gestellt werden, je-

doch ist unklar, ob es sich gerade bei den Nachweisen, welche Diskrepanzen zur konventionellen Diagnostik aufweisen, um echte Infektionen oder um asymptomatische Besiedelungen handelt. Insbesondere beim Nachweis von Enteropathogenem *E. coli* (EPEC) und Enteroaggregativem *E. coli* (EAEC) ist die Relevanz im Kontext der klinischen Präsentation und möglicher alternativer Ätiologien kritisch zu hinterfragen.^{70–72} Diese Erreger wurden bislang bei der Kultur-basierten Diagnostik in der Regel nicht nachgewiesen. Der vermehrte Nachweis durch die neuen Techniken könnte zu einer Übertherapie führen.

Die Kosten für die Stuhldiagnostik sind verhältnismäßig hoch. Im Sinne einer rationalen Verwendung diagnostischer Ressourcen ist es essentiell, eine sorgfältige Analyse vorzunehmen, bei welchen Patienten eine Testung durchgeführt werden sollte. Bei den gastrointestinalen Infektionen in Deutschland handelt es sich in der Regel um selbstlimitierende Erkrankungen mit einer mittleren Beschwerdedauer von 3,8 Tagen. In nur 3–4 % der Fälle wird eine Hospitalisierung notwendig.⁷³ Für die Mehrzahl der Patienten wird keine spezifische Therapie der GI-Infektion empfohlen; somit hat der Erregernachweis bei sonst gesunden Patienten mit in Deutschland erworbener GI-Infektion in der Regel keine Konsequenz und wird nicht empfohlen.

In besonderen Patientenkollektiven ist die Erregerdiagnostik jedoch indiziert. Dazu gehören patienteneigene Faktoren: Nachweis einer blutigen Diarrhöe, schwere Verläufe oder Hospitalisation auf Grund der Symptomatik, nosokomial erworbene GI-Infektionen, Patienten mit Immunsuppression oder anderen schweren Komorbiditäten sowie eine stattgehabte Antibiotikatherapie in den letzten drei Monaten, als Risikofaktor für eine *Clostridioides difficile* Infektion (siehe unten). Auf Grund von seuchenhygienischen Gesichtspunkten besteht ebenfalls eine Indikation zur Diagnostik bei Patienten, welche in lebensmittelverarbeitenden Berufen oder Gemeinschaftseinrichtungen tätig sind und im Fall von epidemiologischen Häufungen.⁷⁴

Ein rationales Vorgehen bei der mikrobiologischen Diagnostik der Gastroenteritis ist in der Lage, deutliche Kostenersparnisse zu generieren. So konnte in einer retrospektiven Analyse der Stuhlproben eines Labors in den USA gezeigt werden, dass keine der auf klassische stuhlpathogene Bakterien (ausgenommen *C. difficile*) oder Parasiten positiven Proben von Patienten

stammte, die länger als drei Tage hospitalisiert waren, sondern alleine von ambulanten und kürzlich aufgenommenen Patienten, obwohl fast die Hälfte der eingesendeten Proben aus diesem Kollektiv stammte.⁷⁵

Sinnvoll ist es in jedem Fall, bei der Anforderung der Stuhluntersuchung Angaben zu relevanten anamnestischen Faktoren wie beispielsweise der Dauer der Symptomatik, nosokomial- oder

5.2.2 *Clostridioides difficile*

Ein gesondertes Vorgehen ist bei der Diagnostik von *Clostridioides difficile*-Infektionen (CDI) gefordert. *Clostridioides difficile* (ehemals *Clostridium difficile*), ist ein Gram-positives, obligat anaerobes und sporenbildendes Stäbchenbakterium, welches als Erreger von verhältnismäßig milder Diarrhöe, bis hin zur schwerer pseudomembranöser Kolitis, Ileus und Megakolon auftreten kann. Die CDI wird durch die Produktion der Toxine A (TcdA) und B (TcdB) vermittelt. Nicht alle *C. difficile* Stämme sind Träger dieser Pathogenitätsfaktoren und somit in der Lage, eine CDI auszulösen. TcdA wird als Enterotoxin bezeichnet, hat jedoch ebenfalls einen cytopathologischen Effekt und Toxin B ist ein Cytotoxin.⁷⁷ Wichtige Risikofaktoren für eine CDI sind ein höheres Lebensalter und eine vermehrte Exposition zum Gesundheitssystem. Eine Antibiotikatherapie, insbesondere mit Fluorchinolonen, Clindamycin oder Cephalosporinen, erhöht das Risiko einer CDI um das sieben- bis zehnfache.⁷⁸ Interessanterweise wurde jedoch in den letzten Jahren eine deutliche Zunahme von CDI auch bei ambulanten Patienten ohne signifikante Antibiotikaexposition beobachtet.^{79,80}

C. difficile ist nicht obligat pathogen, sondern in vielen Fällen Bestandteil der normalen gastrointestinalen Flora. In einem gesunden Erwachsenenkollektiv sind ca. 4–15 % besiedelt, jedoch kann die Kolonisationsrate, je nach Patientenkollektiv, stark abweichen.⁸¹ Bei onkologisch-hämatologischen Patienten kann die Rate auf bis zu 33 % steigen, für Patienten die an chronisch inflammatorischen Darmerkrankungen leiden, sind ca. 8 % besiedelt.^{82,83} Kinder unter zwei Jahren tragen zu ca. 15–30 % *C. difficile* im Darm, während diese Rate bei älteren Kindern stark abnimmt.^{84,85}

Die Differenzierung zwischen Kolonisation und Infektion ist komplex und kann nur durch sorgfältige klinische Evaluation der Patienten in Kombination mit einer rationalen mehrstufigen Diagnostik erreicht werden. Die Diagnose einer CDI kann bei passender Klinik und dem Nachweis des Erregers sowie seiner Toxine im Stuhl gestellt werden. Daten aus der Literatur weisen darauf hin, dass die Wahrscheinlichkeit eines Patienten, welcher auf *C. difficile* im Stuhl getestet wird, tatsächlich an einer Infektion mit diesem Erreger zu leiden, bei ca. 10 % liegt.⁸⁶ Dieser Anteil ist verhältnismäßig gering und führt dazu, dass die einzelnen Tests, trotz guter Spezifität, einen nur mäßigen Positiv-Prädiktiven-Wert (PPV) von ca. 80 % aufweisen.⁸⁷ Um die

ambulant-erworbene GI-Infektion, sowie möglicherweise Auslandsaufenthalten zu machen, da viele Labore ein stufenweises Vorgehen bei der Diagnostik implementiert haben und primär nur die in Industrieländern relevantesten Erreger (*Campylobacter*, *Salmonella*, *Norovirus*) und *Shigella*, als häufiger Erreger von Gastroenteritis bei Reiserückkehrern, nachweisen.^{74,76}

falsch-positiv Rate dieser Test, und somit die Überdiagnose und Übertherapie der CDI möglichst gering zu halten, gilt die Empfehlung, nur flüssige Stühle, welche keine andere offensichtliche Ätiologie, wie zum Beispiel Sondenkost, haben, auf *C. difficile* zu testen. Im Fall eines Ileus, wo kein flüssiger Stuhl gewonnen werden kann, ist ebenfalls ein Rektalabstrich geeignet.^{74,87}

Es gibt viele laborchemische Untersuchungen zur Diagnostik der CDI und ein optimales Vorgehen ist bislang nicht definiert. Goldstandard sind der Cytotoxizitäts-Assay und die toxigene Kultur. Beide sind auf Grund des hohen zeitlichen Aufwands für die Routinediagnostik ungeeignet und somit müssen alternative Tests durchgeführt werden. Die besten Studiendaten liegen zu einer Kombination von zwei oder drei Tests vor.⁸⁷ Ein sensitiver Suchtest, mit hohem Negativ-Prädiktivem-Wert (NPV) schließt im Fall eines negativen Ergebnisses eine CDI mit hoher Sicherheit aus. Dieser erste Test kann ein Enzymimmunoassay (EIA, Antigennachweis) zum Nachweis der bakteriellen Glutamatdehydrogenase oder alternativ ein Nukleinsäurenachweis der Toxingene sein. Erneute Testungen sollten nur in Ausnahmefällen durchgeführt werden. Im Fall eines positiven Ergebnisses sollte als Reflextest ein spezifischer Assay mit hohem Positiv-Prädiktivem-Wert folgen. Am besten geeignet hierfür scheint ein Toxin A/B EIA zu sein.⁸⁷ Wenn sowohl der erste als auch der zweite Test positiv sind, kann die Diagnose einer CDI gestellt werden. Falls jedoch nur der erste Test positiv ausfällt und der zweite Test negativ, ist die Wahrscheinlichkeit einer Infektion deutlich geringer und die Interpretation erfordert eine besonders sorgfältige Evaluation der Klinik des Patienten und sollte alternative Diagnosen in den Fokus rücken. Viele Labore, welche als ersten Test einen GDH-EIA nutzen, führen im Fall eines positiven ersten Tests und negativen zweiten Tests (Toxin A/B EIA), als dritten Test eine PCR zum Nachweis der Toxingene im Stuhl nach. Bei diesem Vorgehen muss jedoch deutlich werden, dass der Gennachweis allein nicht gleichbedeutend mit einer tatsächlichen Produktion der Toxine durch das Bakterium ist, sondern allein die Anwesenheit eines toxigenen *C. difficile* Stamms im Darm des Patienten nachweist. So konnte gezeigt werden, dass bei circa 40 % der Stuhlproben, welche mittels PCR den Nachweis eines toxigenen *C. difficile* Stamms zeigten, kein Toxin mittels Goldstandard Cytotoxizitäts-Assay nachgewiesen werden konnte.⁸⁸

Andererseits weisen einzelne Studien darauf hin, dass *C. difficile* Diarrhöen in vielen Fällen undiagnostiziert bleiben. So konnte beispielsweise in einer Studie die Rate an *C. difficile* positiven Stuhlproben um fast 30% erhöht werden, indem alle Stuhlproben, welche auf Grund einer Diarrhöe in einem mikrobiologischen Labor untersucht wurden, auf *C. difficile* getestet wurden.⁸⁶

5.3 Atemwegs-Diagnostik

Die SARS-CoV-2 Pandemie hat die schnelle Virusdiagnostik aus Atemwegsmaterial zweifelsohne in den Mittelpunkt der medizinisch-mikrobiologischen Diagnostik gestellt und der immense klinische Bedarf nach möglichst schneller und verlässlicher Testung hat die Entwicklung von Antigen- und NAT-abhängiger Diagnostik beflügelt.

Aber auch über die aktuelle Pandemie hinaus stellt die Diagnostik von Atemwegsinfektionen eine Herausforderung dar. Eine Vielzahl unterschiedlicher Viren, Bakterien und Pilze kann ähnliche Symptome hervorrufen, die von einfachen Infektionen der oberen Atemwege bis hin zu schweren Pneumonien ausgeprägt sein können. Der Schweregrad der Pneumoniesymptomatik sowie das Risikoprofil des Patienten sind ausschlaggebend für die anzustrebende mikrobiologische Diagnostik.

- Bei leichtgradigen ambulant-behandelbaren Pneumonien ist es im Regelfall nicht empfohlen, Diagnostik durchzuführen, da keine Konsequenzen zu erwarten sind.⁸⁹ Ausnahmen stellen Ausbruchssituationen da, wo aus epidemiologischen Gesichtspunkten eine Erregeridentifizierung erforderlich ist oder eine persistierende Symptomatik auf einen komplizierten Verlauf schließen lässt.
- Bei mittelschweren und schweren ambulant erworbenen Pneumonien, welche eine Hospitalisierung der Patienten erforderlich machen, empfiehlt die S3-Leitlinie der AWMF (*Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V.*), mikrobiologische Diagnostik durchzuführen. Empfohlen wird eine bakteriologische Sputumuntersuchung, die Abnahme von zwei Paar Blutkulturen, sowie die Testung des Urins auf Legionella-Antigen.⁸⁹
- Auf Grund der sich regelmäßig anpassenden Empfehlungen zur Diagnostik der SARS-CoV-2-Infektion wird auf die aktuellen Empfehlungen des Robert Koch-Instituts verwiesen und hier nur generelle Testprinzipien erläutert.

Die aktuelle Datenlage bringt die European Society of Clinical Microbiology and Infectious Disease (ESCMID) zu der Laborempfehlung, unabhängig von der Anforderung jede flüssige Stuhlprobe von Patienten über drei Jahren auf *C. difficile* zu testen.⁸⁷ Auch wenn eine Zunahme von positiven Ergebnissen gezeigt werden konnte, liegen bisher keine Daten vor, die eine Abnahme von Morbidität, Mortalität oder Übertragungen des Bakteriums nachweisen. Auch eine weitere Zunahme falsch positiver Ergebnisse ist zu befürchten.

Aktuell verwendete Verfahren zum Nachweis von SARS-CoV-2

Der Nachweis der SARS-CoV-2-RNA mittels PCR-basierter Verfahren stellt den Goldstandard der Diagnostik dar (RKI). Dabei sollte eine Quantifizierung anhand von externen Standards erfolgen und eine Viruslast mit dem Befund kommuniziert werden. Die Viruslast in den oberen Atemwegen nimmt zu Beginn der Erkrankung zu und erreicht sein Maximum noch in der ersten Woche nach Symptombeginn. Dies passt zu der epidemiologischen Beobachtung, dass die meisten Ansteckungen ein paar Tage vor und bis zu fünf Tage nach Symptombeginn stattfinden.⁹⁰ Obwohl in Studien bis zu 83 Tage RNA in Materialien des oberen Respirationstrakts nachgewiesen wurde, kann vermehrungsfähiges Virus im Mittel nur bis sechs oder acht Tage nach Beginn der Erkrankung angezüchtet werden.⁹¹ Die Zeit bis zur Kulturkonversion hängt u.a. von der Virusvariante und dem Impfstatus des Patienten ab.^{91,99} Mehrere Studien legen einen Zusammenhang der Viruslast und der Wahrscheinlichkeit einer Anzüchtbarkeit (und somit Ansteckungsfähigkeit) des Virus nahe.^{92,93} Hier ist allerdings zu beachten, dass die Entnahmetechnik ganz entscheidend bei der orientierenden Bestimmung der Viruslast ist. Ein durch geschultes Personal durchgeführter Nasopharynx- oder Rachenabstrich ist hier in der frühen Phase der Infektion der Goldstandard. Bei Verdacht auf eine Superinfektion oder anhaltendem Verdacht auf eine SARS-CoV-2 Infektion bei PCR-negativem Nasopharynxabstrich kann eine PCR-Testung aus tiefen Atemwegsmaterialien, wie der Bronchioalveolären Lavage (BAL), sinnvoll sein, sie ist jedoch in der Regel nicht für die Diagnose einer SARS-CoV-2 Infektion notwendig.¹⁰⁰ Alternative Entnahmeorte und -methoden können geringere Viruslasten aufweisen. Daraus ergibt sich, dass die Ansteckungsfähigkeit eines Patienten nicht aus der durch quantitative real-time-PCR ermittelten Viruslast alleine abgeleitet werden kann, sondern auch klinische Variablen wie die Dauer der Erkrankung und Impfanamnese, sowie die aktuell vorherrschende Virusvariante einfließen müssen.⁹⁴

Der Bedarf an schneller und zugänglicher Diagnostik im ambulanten Setting führt zur weitverbreiteten Nutzung von Antigen-Testen. Diese beruhen auf dem Nachweis viraler Pro-

teine. Die Sensitivität liegt deutlich unter der PCR-basierter Verfahren. Eine Vielzahl unterschiedlicher Anbieter bieten Point-of-Care Antigen-Tests an, welche in der Regel auf dem Lateral-Flow-Verfahren beruhen. Die erzielte Sensitivität und Spezifität unterscheiden sich von Produkt zu Produkt stark. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass sich die Sensitivität der Tests zwischen den Virusvarianten unterscheidet und somit die Performance für jede neue Variante evaluiert werden muss.⁹⁵

Der Gesundheitssicherheitsausschuss der EU führt eine gemeinsame Liste von Corona-Antigen-Schnelltests. Um Aufnahme in diese Liste zu finden, wird u.a. eine Sensitivität von mindestens 80 % in symptomatischen Patienten und >90 % in Patienten mit hoher Viruslast gefordert.⁹⁶

Insbesondere im Bereich von Notaufnahmen und ähnlichen Einrichtungen ist der Bedarf an schneller und verlässlicher Diagnostik groß. Der PCR-basierte Nachweis in zentralorganisierten Laboren ist oft verhältnismäßig zeitintensiv auf Grund von Transportzeiten und einem hohen Probendurchsatz im Labor. Antigenteste bieten jedoch oft insbesondere in Hochrisikobereichen keine ausreichende diagnostische Sicherheit. Point-of-Care Nukleinsäureamplifikations-basierte Nachweisverfahren (PoC-NAT-Test) ermöglichen eine Durchführung vor Ort und Auswertung durch geschultes medizinisches Personal ohne labormedizinischen Hintergrund. Die Sensitivität und Spezifität sind meist ähnlich gut wie die Labor-basierte real-time PCR, können jedoch von Hersteller zu Hersteller variieren.⁹⁷

Der Antikörpernachweis spielt in der Diagnostik der akuten Infektion keine Rolle, ist jedoch für epidemiologische Untersuchungen unerlässlich. Der Titer der anti-Spike Protein Antikörper korreliert mit dem Risiko einer Durchbruchinfektion mit der Delta-Variante. Jedoch kann kein konkreter Grenzwert, oberhalb dessen ein Schutz vor der Infektion gesichert ist, angegeben werden. Der Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Durchbruchinfektionen und dem Antikörpertiter scheint bei der Omikron-Variante nicht gegeben zu sein.⁹⁸ Somit ist die Antikörperbestimmung zur Ermittlung des individuellen Schutzes vor der Infektion ungeeignet.

Der Nachweis klassischer Pneumonieerreger

Als nicht-invasiv gewonnenes Atemwegsmaterial ist die Sputumuntersuchung leicht verfügbar; die Problematik besteht darin, dass nur Materialien, die den qualitativen Ansprüchen genügen, eine Interpretation der Ergebnisse zulassen. Erstens muss eine adäquate Sputumproduktion gegeben sein, was insbesondere bei älteren oder geschwächten Patienten problematisch sein kann. Eine Durchmischung der Expektoration mit Speichel jedoch verfälscht das Ergebnis, da Kolonisationsflora des Rachens in der Regel fakultative Pathogene enthält. So ist die Punktprävalenz einer *S. aureus* Kolonisation der Nase und des Rachens in der Bevölkerung bei ca. 30%,¹⁰¹ während die Kolonisation von gesunden Erwachsenen mit *S. pneumo-*

niae und *H. influenzae* deutlich geringer bei ca. 2–4 % liegt,¹⁰² jedoch auch zu falsch positiven mikrobiologischen Befunden führen kann. Diese Besiedlungsraten können jedoch bei Patienten, welche unter Grunderkrankungen, wie COPD oder Immundefizienzen leiden, deutlich höher ausfallen.^{103,104} Um eine aussagekräftige Diagnostik zu ermöglichen, wird einerseits gefordert, das zu untersuchende Sputum innerhalb von zwei bis vier Stunden im Labor zu verarbeiten, da es sonst zu starker sekundärer Erregervermehrung kommt. Des Weiteren wird vom mikrobiologischen Labor gefordert, die zellulären Bestandteile des Sputums zu untersuchen und als Qualitätskriterium anzulegen. Über 25 Granulozyten und unter zehn Plattenepithelzellen pro High Power Field (HPF) ermöglichen in der Regel eine Abgrenzung eines korrekt gewonnenen Sputums von einer stark Speichel-kontaminierten Probe.¹⁰⁵

Die Abnahme von zwei Paar Blutkulturen erbringt nur in ca. 10 % der mittelschweren und schweren ambulant erworbenen Pneumonien ein positives Ergebnis.^{106–108} Allerdings sind im Fall von Pneumonien ausgelöst durch Pneumokokken und Gram-negative Erreger höhere Positivitätsraten zu erwarten und können so zu einer sicheren Diagnose und ggf. Anpassung der Therapie beitragen. Bislang ist nicht zweifelsfrei geklärt, ob positive Blutkulturen einen Prognostischen Faktor bei Pneumonien darstellen.¹⁰⁹

Klassischerweise erfolgt der Nachweis bakterieller und fungaler Pathogene mittels spezialisierter Kultur, außerdem stehen Antigennachweise zur Diagnostik von Pneumokokken- und Legionelleninfektionen, *Pneumocystis jirovecii* und *Aspergillus spp.* zur Verfügung. Virale Erreger wurden historisch mittels Kultur auf eukaryoten Zelllinien oder mittels Antigennachweis identifiziert. Seit dem Beginn der 2000er Jahre jedoch wird die PCR immer bedeutender in der Diagnostik von Atemwegsinfektionen. Virale Erreger, *Pneumocystis jirovecii* und schwer anzüchtbare bakterielle Erreger werden nunmehr regelhaft mittels PCR nachgewiesen. In den letzten Jahren finden immer mehr kommerzielle Multiplex-Panels Verbreitung und auch die Schimmelpilz-Diagnostik wird zunehmend PCR-basiert.

Bei der Interpretation der Diagnostik muss man sich bewusst machen, dass der Nachweis der meisten potentiellen Erreger von Atemwegsinfektionen nicht gleichbedeutend mit einer Infektion ist. Sowohl bei Bakterien, Pilzen und Viren ist eine asymptomatische Kolonisation der Atemwege möglich. Obligate pathogene Erreger sind bei Atemwegsinfektion in Europa die absolute Ausnahme. Die Interpretation kann durch die Einsendung tiefer Atemwegsmaterialien, welche weniger bakterielle Flora enthalten, erleichtert werden. So führten invasiv gewonnene Atemwegsmaterialien (z. B. Bronchioalveoläre Lavage) bei nosokomial erworbener bakterieller Pneumonie häufiger zu einer mikrobiologischen Diagnosestellung.¹¹⁰ Andererseits sind beispielsweise bei Influenza Nasopharynxabstriche ausreichend. So kann ein auf das individuelle Patientenrisiko abgestimmtes, gegebenenfalls mehrstufiges Vorgehen sinnvoll sein.

5.3.2 DNA/RNA-basierte Schnelltests in der Diagnostik von Atemwegsinfektionen

Während der Influenzasaison kann die Durchführung von Influenza-Schnelltests mittels NAAT-basierter Verfahren sinnvoll sein. So konnte schlüssig gezeigt werden, dass eine frühzeitige Influenza-Diagnose die Verschreibung von Antibiotika reduzieren kann. Positive Effekte, wie verkürzte Liegedauer der Patienten, weniger Krankenhausaufnahmen, weniger Thoraxröntgen, verbesserte Hygienemaßnahmen oder vermehrter Gebrauch antiviraler Präparate, konnten ebenfalls nachgewiesen werden.^{111–113}

In den letzten Jahren wurden die erhältlichen Nukleinsäure-nachweis-basierten Tests stark erweitert. Neben Kartuschen-systemen, die gezielt für die Influenzadiagnostik verwendet werden können, werden zunehmend Systeme vermarktet, welche eine ganze Bandbreite an potentiellen Pneumonieerregern innerhalb weniger Stunden aus Abstrichproben aus dem Nasopharynx nachweisen können. Bei diesen Panels liegt der Fokus klar auf den viralen Erregern und nur wenige bakterielle Erreger können nachgewiesen werden (Luminex NxTAG Respiratory Pathogen Panel, FilmArray Respiratory Panel 2 Plus, Verigene Respiratory Flex Test). So können viele hoch relevante bakterielle Pneumonieerreger wie *S. pneumoniae*, *H. influenzae* oder *Legionella pneumophila* mittels der Panels nicht erkannt werden. Typische nosokomiale Pneumonieerreger aus dem Gram-negativen Spektrum werden durch die gängigen Tests gar nicht erfasst. Darüber hinaus ist zu bedenken, dass der Nachweis eines Virus im Abstrichmaterial auch eine virale Besiedlung darstellen kann und nicht unbedingt das kausale Pathogen in einer Pneumonie darstellt. In schweren Fällen sollte daher nicht auf die Gewinnung einer Probe aus den tiefen Atemwegen verzichtet werden.

Die angebotene Panel-Diagnostik ist also nur für ambulant erworbene Pneumonien denkbar und kann dort bei ausgeprägter Klinik nicht als einziger Test verwendet werden. Der kulturelle Erregernachweis, zum Erregernachweis und zur Resistenztestung, beziehungsweise der Nachweis von Legionella-Antigen aus dem Urin, muss weiterhin angestrebt werden.

Einige Publikationen konnten einen positiven klinischen und ökonomischen Effekt der Panel-Diagnostik nachweisen;^{113–115} so wurden weniger Antibiotika verabreicht und die Verweildauer der Patienten im Krankenhaus reduziert. Ob dieser Effekt nur durch den Influenza-Nachweis entsteht oder die Testung eines sehr breiten viralen Panels notwendig ist, ist bislang ungeklärt; auch ist die Übertragbarkeit auf die jeweiligen lokalen Verhältnisse unklar. Abgesehen vom Influenza-Nachweis ergibt sich aus den viralen Erregernachweisen keine direkte Konsequenz. In Anbetracht der hohen Kosten für die Durchführung eines kommerziellen Kartuschen-Tests, muss eine sorgfältige Kosten-Nutzen-Abwägung getroffen werden und es kann aktuell keine allgemeine Empfehlung für die Implementierung gegeben werden.

6 Zusammenfassung

Mikrobiologische Diagnostik ist ein komplexer Prozess, welcher umfassende interdisziplinär festgelegte Strukturierung erfordert, um eine korrekte und zeitgerechte Hilfestellung bei der Therapie der Patienten zu liefern. Diagnostic Stewardship Programmen bieten sich eine Vielzahl von Ansatzpunkten, um diesen diagnostischen Prozess medizinisch und ökonomisch zu optimieren. Wesentlich für den Erfolg ist eine Integration aller an der Strukturierung diagnostischer Prozesse beteiligten Personen, der Entscheidungsträger am Krankenbett, der Mitglieder des ABS Teams und kaufmännischer Vertreter. Ist eine solche Zusammenarbeit gewährleistet, kann unter Nutzung aller Möglichkeiten der modernen Mikrobiologie ein optimales, ressourceneffektives Management von infektiologischen Patienten erreicht werden.

Literatur

1. Russell CD, Fairfield CJ, Drake TM, Turtle L, Seaton RA, Wootton DG, et al. Co-infections, secondary infections, and antimicrobial use in patients hospitalised with COVID-19 during the first pandemic wave from the ISARIC WHO CCP-UK study: a multicentre, prospective cohort study. *The Lancet Microbe*. 2021;2: e354–e365. doi:10.1016/S2666-5247(21)00090-2/ATTACHMENT/32FE8F58-B397-4952-8E63-20127C2D755C/MMC1.PDF
2. Patel R, Fang FC. Diagnostic Stewardship: Opportunity for a Laboratory-Infectious Diseases Partnership. *Clin Infect Dis*. 2018;67: 799–801. doi:10.1093/cid/ciy077
3. Casadevall A. Crisis in Infectious Diseases: 2 Decades Later. *Clin Infect Dis*. 2017;64: 823–828. doi:10.1093/cid/cix067
4. Maurer FP, Christner M, Hentschke M, Rohde H. Advances in rapid identification and susceptibility testing of bacteria in the clinical microbiology laboratory: implications for patient care and antimicrobial stewardship programs. *Infect Dis Rep*. 2017;9: 6839. doi:10.4081/idr.2017.6839
5. Morgan DJ, Malani P, Diekema DJ. Diagnostic stewardship - leveraging the laboratory to improve antimicrobial use. *JAMA - Journal of the American Medical Association*. American Medical Association; 2017. pp. 607–608. doi:10.1001/jama.2017.8531
6. Banerjee R, Teng CB, Cunningham SA, Ihde SM, Steckelberg JM, Moriarty JP, et al. Randomized Trial of Rapid Multiplex Polymerase Chain Reaction–Based Blood Culture Identification and Susceptibility Testing. *Clin Infect Dis*. 2015;61: 1071–1080. doi:10.1093/cid/civ447
7. Timbrook TT, Morton JB, McConeghy KW, Caffrey AR, Mylonakis E, LaPlante KL. The Effect of Molecular Rapid Diagnostic Testing on Clinical Outcomes in Bloodstream Infections: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2017;64: 15–23. doi:10.1093/cid/ciw649
8. Nagel JL, Huang AM, Kunapuli A, Gandhi TN, Washer LL, Lassiter J, et al. Impact of antimicrobial stewardship intervention on coagulase-negative Staphylococcus blood cultures in conjunction with rapid diagnostic testing. *J Clin Microbiol*. 2014;52: 2849–2854. doi:10.1128/JCM.00682-14
9. Clerc O, Prod'homme G, Senn L, Jatton K, Zanetti G, Calandra T, et al. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry and PCR-based rapid diagnosis of Staphylococcus aureus bacteraemia. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20: 355–360. doi:10.1111/1469-0691.12329
10. Ehren K, Meißner A, Jazmati N, Wille J, Jung N, Vehreschild JJ, et al. Clinical Impact of Rapid Species Identification From Positive Blood Cultures With Same-day Phenotypic Antimicrobial Susceptibility Testing on the Management and Outcome of Bloodstream Infections. *Clin Infect Dis*. 2019. doi:10.1093/cid/ciz406
11. Leber A, Everhart K, Demogines A, Fouch S, Barney T, Daly JA, et al. Multi-Center Clinical Evaluation of a Multiplex Meningitis/Encephalitis PCR Panel for Simultaneous Detection of Bacteria, Yeast, and Viruses in Cerebrospinal Fluid Specimens. *J Clin Microbiol*. 2015;54: 2251–2261. doi:10.1128/JCM.00730-16.Editor
12. Hanson KE, Couturier MR. Multiplexed Molecular Diagnostics for Respiratory, Gastrointestinal, and Central Nervous System Infections. *Clin Infect Dis*. 2016;63: 1361–1367. doi:10.1093/cid/ciw494
13. Messacar K, Parker SK, Todd JK, Dominguez SR. Implementation of Rapid Molecular Infectious Disease Diagnostics: the Role of Diagnostic and Antimicrobial Stewardship. Kraft CS, editor. *J Clin Microbiol*. 2017;55: 715–723. doi:10.1128/JCM.02264-16
14. Dickerson JA, Fletcher AH, Procop G, Keren DF, Singh IR, Garcia JJ, et al. Transforming Laboratory Utilization Review into Laboratory Stewardship: Guidelines by the PLUGS National Committee for Laboratory Stewardship. *J Appl Lab Med An AACC Publ*. 2017;2: 259–268. doi:10.1373/jalm.2017.023606
15. Dik JH, Poelman R, Friedrich AW, Niesters HGM, Rossen JWA, Sinha B. Integrated Stewardship Model Comprising Antimicrobial, Infection Prevention, and Diagnostic Stewardship (AID Stewardship). McAdam AJ, editor. *J Clin Microbiol*. 2017;55: 3306–3307. doi:10.1128/JCM.01283-17
16. Garey KW, Rege M, Pai MP, Mingo DE, Suda KJ, Turpin RS, et al. Time to initiation of fluconazole therapy impacts mortality in patients with candidemia: a multi-institutional study. *Clin Infect Dis*. 2006;43: 25–31. doi:10.1086/504810
17. Ryoo SM, Won Young K, Sohn CH, Dong Woo S, Koh Woong J, Bum Jin O, et al. Prognostic Value of Timing of Antibiotic Administration in Patients With Septic Shock Treated With Early. *Crit Care Med*. 2015;42: 328–333. doi:10.1097/01.CCM.0000217961.75225.E9
18. Lamy B, Dargère S, Arendrup MC, Parienti JJ, Tattevin P. How to optimize the use of blood cultures for the diagnosis of bloodstream infections? A state-of-the-art. *Frontiers in Microbiology*. Frontiers Media S.A.; 2016. doi:10.3389/fmicb.2016.00697
19. Souvenir D, Anderson DE, Palpant S, Mroch H, Askin S, Anderson J, et al. Blood cultures positive for coagulase-negative staphylococci: Antisepsis, pseudobacteremia, and therapy of patients. *J Clin Microbiol*. 1998;36: 1923–1926.
20. Doern G V, Carroll KC, Diekema DJ, Garey KW, Rupp ME, Weinstein MP, et al. A Comprehensive Update on the Problem of Blood Culture Contamination and a Discussion of Methods for Addressing the Problem. *Clin Microbiol Rev*. 2019;33. doi:10.1128/CMR.00009-19

21. Woods-Hill CZ, Lee L, Xie A, King AF, Voskertchian A, Klaus SA, et al. Dissemination of a Novel Framework to Improve Blood Culture Use in Pediatric Critical Care. *Pediatr Qual Saf.* 3: e112. doi:10.1097/pq9.000000000000112
22. Woods-Hill CZ, Fackler J, Nelson McMillan K, Ascenzi J, Martinez DA, Toerper MF, et al. Association of a Clinical Practice Guideline With Blood Culture Use in Critically Ill Children. *JAMA Pediatr.* 2017;171: 157–164. doi:10.1001/jamapediatrics.2016.3153
23. Fabre V, Klein E, Salinas AB, Jones G, Carroll KC, Milstone AM, et al. A Diagnostic Stewardship Intervention To Improve Blood Culture Use among Adult Nonneutropenic Inpatients: the DISTRIBUTE Study. *J Clin Microbiol.* 2020;58. doi:10.1128/JCM.01053-20
24. Eliakim-Raz N, Bates DW, Leibovici L. Predicting bacteraemia in validated models--a systematic review. *Clin Microbiol Infect.* 2015;21: 295–301. doi:10.1016/j.cmi.2015.01.023
25. Hall KK, Lyman JA. Updated review of blood culture contamination. *Clin Microbiol Rev.* 2006;19: 788–802. doi:10.1128/CMR.00062-05
26. Snyder SR, Favoretto AM, Baetz RA, Derzon JH, Madison BM, Mass D, et al. Effectiveness of practices to reduce blood culture contamination: a Laboratory Medicine Best Practices systematic review and meta-analysis. *Clin Biochem.* 2012;45: 999–1011. doi:10.1016/j.clinbiochem.2012.06.007
27. Boyce JM, Nadeau J, Dumigan D, Miller D, Dubowsky C, Reilly L, et al. Obtaining blood cultures by venipuncture versus from central lines: impact on blood culture contamination rates and potential effect on central line-associated bloodstream infection reporting. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2013;34: 1042–7. doi:10.1086/673142
28. Rupp ME, Cavalieri RJ, Marolf C, Lyden E. Reduction in Blood Culture Contamination Through Use of Initial Specimen Diversion Device. *Clin Infect Dis.* 2017;65: 201–205. doi:10.1093/CID/CIX304
29. Lalezari A, Cohen MJ, Svinik O, Tel-Zur O, Sinvani S, Al-Dayem YA, et al. A simplified blood culture sampling protocol for reducing contamination and costs: a randomized controlled trial. *Clin Microbiol Infect.* 2020;26: 470–474. doi:10.1016/J.CMI.2019.09.005
30. Skoglund E, Dempsey CJ, Chen H, Garey KW. Estimated Clinical and Economic Impact through Use of a Novel Blood Collection Device To Reduce Blood Culture Contamination in the Emergency Department: a Cost-Benefit Analysis. *J Clin Microbiol.* 2019;57. doi:10.1128/JCM.01015-18
31. Prävention von Infektionen, die von Gefäßkathetern ausgehen : Hinweise zur Blutkulturdiagnostik. Informativer Anhang 1 zur Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz.* 2017;60: 216–230. doi:10.1007/s00103-016-2485-6
32. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Critical Care Medicine.* 2017. doi:10.1097/CCM.0000000000002255
33. Li J, Plorde JJ, Carlson LG. Effects of volume and periodicity on blood cultures. *Journal of Clinical Microbiology.* 1994. pp. 2829–2831.
34. Morgan DJ, Malani P, Diekema DJ. Diagnostic Stewardship-Leveraging the Laboratory to Improve Antimicrobial Use. *JAMA.* 2017;318: 607–608. doi:10.1001/jama.2017.8531
35. Schmitz RPH, Keller PM, Baier M, Hagel S, Pletz MW, Brunkhorst FM. Quality of blood culture testing - a survey in intensive care units and microbiological laboratories across four European countries. *Crit Care.* 2013;17: R248. doi:10.1186/cc13074
36. Arpi M, Bentzon MW, Jensen J, Frederiksen W. Importance of blood volume cultured in the detection of bacteremia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1989;8: 838–842. doi:10.1007/BF02185857
37. Lee A, Mirrett S, Reller LB, Weinstein MP. Detection of bloodstream infections in adults: How many blood cultures are needed? *J Clin Microbiol.* 2007;45: 3546–3548. doi:10.1128/JCM.01555-07
38. Goto M, Al-Hasan MN. Overall burden of bloodstream infection and nosocomial bloodstream infection in North America and Europe. *Clinical Microbiology and Infection.* Blackwell Publishing Ltd; 2013. pp. 501–509. doi:10.1111/1469-0691.12195
39. Huber S, Hetzer B, Crazzolara R, Orth-Höller D. The correct blood volume for paediatric blood cultures: a conundrum? *Clin Microbiol Infect.* 2020;26: 168–173. doi:10.1016/J.CMI.2019.10.006
40. Becker K, Heilmann C, Peters G. Coagulase-negative staphylococci. *Clin Microbiol Rev.* 2014;27: 870–926. doi:10.1128/CMR.00109-13
41. Idelevich EA, Seifert H, Sundqvist M, Scudeller L, Amit S, Balode A, et al. Microbiological diagnostics of bloodstream infections in Europe-an ESGBIES survey. *Clin Microbiol Infect.* 2019;25: 1399–1407. doi:10.1016/j.cmi.2019.03.024
42. Venturelli C, Righi E, Borsari L, Aggazzotti G, Busani S, Mussini C, et al. Impact of Pre-Analytical Time on the Recovery of Pathogens from Blood Cultures: Results from a Large Retrospective Survey. *PLoS One.* 2017;12: e0169466. doi:10.1371/journal.pone.0169466
43. Kerremans JJ, van der Bij AK, Goessens W, Verbrugh HA, Vos MC. Immediate incubation of blood cultures outside routine laboratory hours of operation accelerates antibiotic switching. *J Clin Microbiol.* 2009;47: 3520–3. doi:10.1128/JCM.01092-09
44. Faron ML, Buchan BW, Ledebner NA. Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry for Use with Positive Blood Cultures: Methodology, Performance, and Optimization. *J Clin Microbiol.* 2017;55: 3328–3338. doi:10.1128/JCM.00868-17

45. Osthoff M, Gürtler N, Bassetti S, Balestra G, Marsch S, Pargger H, et al. Impact of MALDI-TOF-MS-based identification directly from positive blood cultures on patient management: a controlled clinical trial. *Clin Microbiol Infect.* 2017;23: 78–85. doi:10.1016/j.cmi.2016.08.009
46. Pliakos EE, Andreatos N, Shehadeh F, Ziakas PD, Mylonakis E. The Cost-Effectiveness of Rapid Diagnostic Testing for the Diagnosis of Bloodstream Infections with or without Antimicrobial Stewardship. *Clin Microbiol Rev.* 2018;31. doi:10.1128/CMR.00095-17
47. Idelevich EA, Schüle I, Grünastel B, Wüllenweber J, Peters G, Becker K. Rapid identification of microorganisms from positive blood cultures by MALDI-TOF mass spectrometry subsequent to very short-term incubation on solid medium. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20: 1001–6. doi:10.1111/1469-0691.12640
48. Köck R, Wüllenweber J, Horn D, Lanckohr C, Becker K, Idelevich EA. Implementation of short incubation MALDI-TOF MS identification from positive blood cultures in routine diagnostics and effects on empiric antimicrobial therapy. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2017;6: 12. doi:10.1186/s13756-017-0173-4
49. Ha J, Hong SK, Han GH, Kim M, Yong D, Lee K. Same-Day Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of Bacteria in Positive Blood Culture Broths Using Short-Term Incubation on Solid Medium with the MicroFlex LT, Vitek-MS, and Vitek2 Systems. *Ann Lab Med.* 2018;38: 235–241. doi:10.3343/alm.2018.38.3.235
50. Salimnia H, Fairfax MR, Lephart PR, Schreckenberger P, DesJarlais SM, Johnson JK, et al. Evaluation of the FilmArray Blood Culture Identification Panel: Results of a Multicenter Controlled Trial. *J Clin Microbiol.* 2016;54: 687–698. doi:10.1128/JCM.01679-15
51. Pardo J, Klinker KP, Borgert SJ, Butler BM, Giglio PG, Rand KH. Clinical and economic impact of antimicrobial stewardship interventions with the FilmArray blood culture identification panel. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2016;84: 159–64. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2015.10.023
52. Donner LM, Campbell WS, Lyden E, Van Schooneveld TC. Assessment of Rapid-Blood-Culture-Identification Result Interpretation and Antibiotic Prescribing Practices. *J Clin Microbiol.* 2017;55: 1496–1507. doi:10.1128/JCM.02395-16
53. Verroken A, Despas N, Rodriguez-Villalobos H, Laterre P-F. The impact of a rapid molecular identification test on positive blood cultures from critically ill with bacteremia: A pre-post intervention study. *PLoS One.* 2019;14: e0223122. doi:10.1371/journal.pone.0223122
54. Åkerlund A, Jonasson E, Matuschek E, Serrander L, Sundqvist M, Kahlmeter G, et al. EUCAST rapid antimicrobial susceptibility testing (RAST) in blood cultures: Validation in 55 european laboratories. *J Antimicrob Chemother.* 2020;75: 3230–3238. doi:10.1093/jac/dkaa333
55. Heraud S, Freydiere AM, Doleans-Jordheim A, Bes M, Tristan A, Vandenesch F, et al. Direct Identification of *Staphylococcus aureus* and Determination of Methicillin Susceptibility From Positive Blood-Culture Bottles in a Bact/ALERT System Using Binax Now *S. aureus* and PBP2a Tests. *Ann Lab Med.* 2015;35: 454–457. doi:10.3343/ALM.2015.35.4.454
56. Giordano L, Fiori B, D’Inzeo T, Parisi G, Liotti FM, Menchinelli G, et al. Simplified Testing Method for Direct Detection of Carbapenemase-Producing Organisms from Positive Blood Cultures Using the NG-Test Carba 5 Assay. *Antimicrob Agents Chemother.* 2019;63. doi:10.1128/AAC.00550-19
57. Roth S, Berger FK, Link A, Nimmessgern A, Lepper PM, Murawski N, et al. Application and clinical impact of the RESIST-4 O.K.N.V. rapid diagnostic test for carbapenemase detection in blood cultures and clinical samples. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2021;40: 423–428. doi:10.1007/s10096-020-04021-4
58. Dik JH, Poelman R, Friedrich AW, Niesters HGM, Rossen JWA, Sinha B. Integrated Stewardship Model Comprising Antimicrobial, Infection Prevention, and Diagnostic Stewardship (AID Stewardship). *J Clin Microbiol.* 2017;55: 3306–3307. doi:10.1128/JCM.01283-17
59. Brunkhorst FM, Seifert H, Kaasch A, Welte T. Shortfalls in the application of blood culture testing in ICU patients with suspected sepsis. *DIVI 1.* 2010; 23. Available: <https://www.online-divi.de/default.asp?pagekey=artikel-wissenschaft&id=155>
60. Habib G, Lancellotti P, Antunes MJ, Bongiorni MG, Casalta JP, Zotti F Del, et al. 2015 ESC guidelines for the management of infective endocarditis: The task force for the management of infective endocarditis of the European society of cardiology (ESC): Endorsed by: European association for cardio-thoracic surgery (EACTS), the European association of nuclear medicine (EANM). *Russian Journal of Cardiology.* Silicea-Poligraf; 2016. pp. 65–116. doi:10.15829/1560-4071-2016-5-65-116
61. Weinstein MP, Towns ML, Quartey SM, Mirrett S, Reimer LG, Parmigiani G, et al. The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: A prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of bacteremia and fungemia in adults. *Clin Infect Dis.* 1997;24: 584–602. doi:10.1093/clind/24.4.584
62. Boleij A, van Gelder MMHJ, Swinkels DW, Tjalsma H. Clinical Importance of *Streptococcus gallolyticus* infection among colorectal cancer patients: systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis.* 2011;53: 870–8. doi:10.1093/cid/cir609
63. Tokars JI. Predictive value of blood cultures positive for coagulase-negative staphylococci: implications for patient care and health care quality assurance. *Clin Infect Dis.* 2004;39: 333–41. doi:10.1086/421941

64. Farthing M, Salam MA, Lindberg G, Dite P, Khalif I, Salazar-Lindo E, et al. Acute diarrhea in adults and children: A global perspective. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2013. pp. 12–20. doi:10.1097/MCG.0b013e31826df662
65. RKI-Ratgeber *Campylobacter-Enteritis*. 2018. Available: www.rki.de/epidbull
66. Ramanan P, Bryson AL, Binnicker MJ, Pritt BS, Patel R. Syndromic Panel-Based Testing in Clinical Microbiology. *Clin Microbiol Rev*. 2018;31. doi:10.1128/CMR.00024-17
67. Steffen R, Hill DR, DuPont HL. Traveler's diarrhea a clinical review. *JAMA - Journal of the American Medical Association*. American Medical Association; 2015. pp. 71–80. doi:10.1001/jama.2014.17006
68. Ramanan P, Bryson AL, Binnicker MJ, Pritt BS, Patel R. Syndromic panel-based testing in clinical microbiology. *Clinical Microbiology Reviews*. American Society for Microbiology; 2018. doi:10.1128/CMR.00024-17
69. Buss SN, Leber A, Chapin K, Fey PD, Bankowski MJ, Jones MK, et al. Multicenter evaluation of the BioFire FilmArray gastrointestinal panel for etiologic diagnosis of infectious gastroenteritis. *J Clin Microbiol*. 2015;53: 915–925. doi:10.1128/JCM.02674-14
70. Berdal J-E, Follin-Arbelet B, Bjørnholt JV. Experiences from multiplex PCR diagnostics of faeces in hospitalised patients: clinical significance of Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) and culture negative campylobacter. *BMC Infect Dis*. 2019;19. doi:10.1186/s12879-019-4271-1
71. Hu J, Torres AG. Enteropathogenic *Escherichia coli*: Foe or innocent bystander? *Clinical Microbiology and Infection*. Elsevier; 2015. pp. 729–734. doi:10.1016/j.cmi.2015.01.015
72. Jenkins C. Enteropathogenic *Escherichia coli*. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. Springer Verlag; 2018. pp. 27–50. doi:10.1007/82_2018_105
73. Wilking H, Spitznagel H, Werber D, Lange C, Jansen A, Stark K. Acute gastrointestinal illness in adults in Germany: a population-based telephone survey. *Epidemiol Infect*. 2013;141: 2365–75. doi:10.1017/S0950268813000046
74. S2k-Leitlinie Gastrointestinale Infektionen und Morbus Whipple. *Z Gastroenterol*. 2015;53: 418–459. doi:10.1055/s-0034-1399337
75. Siegel DL, Edelstein PH, Nachamkin I. Inappropriate Testing for Diarrheal Diseases in the Hospital. *JAMA J Am Med Assoc*. 1990;263: 979–982. doi:10.1001/jama.1990.03440070067034
76. Jansen A, Stark K, Kunkel J, Schreier E, Ignatius R, Liesenfeld O, et al. Aetiology of community-acquired, acute gastroenteritis in hospitalised adults: a prospective cohort study. *BMC Infect Dis*. 2008;8: 143. doi:10.1186/1471-2334-8-143
77. Abt MC, McKenney PT, Pamer EG. *Clostridium difficile* colitis: Pathogenesis and host defence. *Nature Reviews Microbiology*. Nature Publishing Group; 2016. pp. 609–620. doi:10.1038/nrmicro.2016.108
78. Hensgens MPM, Goorhuis A, Dekkers OM, Kuijper EJ. Time interval of increased risk for *Clostridium difficile* infection after exposure to antibiotics. *J Antimicrob Chemother*. 2012;67: 742–748. doi:10.1093/jac/dkr508
79. Schäffler H, Breitrück A. *Clostridium difficile* - From Colonization to Infection. *Front Microbiol*. 2018;9: 646. doi:10.3389/fmicb.2018.00646
80. Rupnik M, Wilcox MH, Gerding DN. *Clostridium difficile* infection: new developments in epidemiology and pathogenesis. *Nat Rev Microbiol*. 2009;7: 526–36. doi:10.1038/nrmicro2164
81. Crobach MJT, Vernon JJ, Loo VG, Kong LY, Péchiné S, Wilcox MH, et al. Understanding *Clostridium difficile* Colonization. *Clin Microbiol Rev*. 2018;31. doi:10.1128/CMR.00021-17
82. Revolinski SL, Munoz-Price LS. *Clostridium difficile* in Immunocompromised Hosts: A Review of Epidemiology, Risk Factors, Treatment, and Prevention. *Clin Infect Dis*. 2019;68: 2144–2153. doi:10.1093/cid/ciy845
83. Clayton EM, Rea MC, Shanahan F, Quigley EMM, Kiely B, Hill C, et al. The vexed relationship between *Clostridium difficile* and inflammatory bowel disease: an assessment of carriage in an outpatient setting among patients in remission. *Am J Gastroenterol*. 2009;104: 1162–9. doi:10.1038/ajg.2009.4
84. Enoch DA, Butler MJ, Pai S, Aliyu SH, Karas JA. *Clostridium difficile* in children: Colonisation and disease. *Journal of Infection*. 2011. pp. 105–113. doi:10.1016/j.jinf.2011.05.016
85. Bolton RP, Tait SK, Dear PR, Losowsky MS. Asymptomatic neonatal colonisation by *Clostridium difficile*. *Arch Dis Child*. 1984;59: 466–72. doi:10.1136/ad.59.5.466
86. Davies KA, Longshaw CM, Davis GL, Bouza E, Barbut F, Barna Z, et al. Underdiagnosis of *Clostridium difficile* across Europe: the European, multicentre, prospective, biannual, point-prevalence study of *Clostridium difficile* infection in hospitalised patients with diarrhoea (EUCLID). *Lancet Infect Dis*. 2014;14: 1208–19. doi:10.1016/S1473-3099(14)70991-0
87. Crobach MJT, Planche T, Eckert C, Barbut F, Terveer EM, Dekkers OM, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the diagnostic guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clin Microbiol Infect*. 2016;22: S63–S81. doi:10.1016/j.cmi.2016.03.010
88. Polage CR, Gyorke CE, Kennedy MA, Leslie JL, Chin DL, Wang S, et al. Overdiagnosis of *Clostridium difficile* Infection in the Molecular Test Era. *JAMA Intern Med*. 2015;175: 1792–801. doi:10.1001/jamainternmed.2015.4114
89. Ewig S, Höffken G, Kern W V., Rohde G, Flick H, Krause R, et al. Management of Adult Community-acquired Pneumonia and Prevention - Update 2016. *Pneumologie*. 2016;70: 151–200. doi:10.1055/s-0042-101873

90. Cheng HY, Jian SW, Liu DP, Ng TC, Huang WT, Lin HH. Contact Tracing Assessment of COVID-19 Transmission Dynamics in Taiwan and Risk at Different Exposure Periods Before and After Symptom Onset. *JAMA Intern Med.* 2020;180: 1156–1163. doi:10.1001/JAMAINTERNMED.2020.2020
91. Boucau J, Marino C, Regan J, Uddin R, Choudary MC, Flynn JP et al. Duration of Shedding of Culturable Virus in SARS-CoV-2 Omicron (BA.1) Infection. *N Engl J Med.* 2022 Jul 21;387(3):275-277. doi: 10.1056/NEJM20202092
92. Singanayagam A, Patel M, Charlett A, Bernal JL, Saliba V, Ellis J, et al. Duration of infectiousness and correlation with RT-PCR cycle threshold values in cases of COVID-19, England, January to May 2020. *Eurosurveillance.* 2020;25: 2001483. doi:10.2807/1560-7917.ES.2020.25.32.2001483/CITE/PLAINTEXT
93. Perera RAPM, Tso E, Tsang OTY, Tsang DNC, Fung K, Leung YWY, et al. SARS-CoV-2 Virus Culture and Subgenomic RNA for Respiratory Specimens from Patients with Mild Coronavirus Disease. *Emerg Infect Dis.* 2020;26: 2701. doi:10.3201/EID2611.203219
94. Puhach O, Adea K, Hulo N, Sattonet P, Genecand C, Iten A et al. Infectious viral load in unvaccinated and vaccinated individuals infected with ancestral, Delta or Omicron SARS-CoV-2. *Nat Med* 28, 1491–1500 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41591-022-01816-0>
95. Bayart JL, Degosserie J, Favresse J, Gillot C, Didembourg M, Djokoto HP, et al. Analytical Sensitivity of Six SARS-CoV-2 Rapid Antigen Tests for Omicron versus Delta Variant. *Viruses.* 2022 Mar 22;14(4):654. doi: 10.3390/v14040654. PMID: 35458384; PMCID: PMC9031584.
96. EU Common list of COVID-19 antigen tests, EUROPEAN COMMISSION DIRECTORATE-GENERAL FOR HEALTH AND FOOD SAFETY, last updated 11.11.2022
97. Lee J, Song JU. Diagnostic accuracy of the Cepheid Xpert Xpress and the Abbott ID NOW assay for rapid detection of SARS-CoV-2: A systematic review and meta-analysis. *J Med Virol.* 2021 Jul;93(7):4523-4531. doi: 10.1002/jmv.26994. Epub 2021 May 3.
98. Stærke, N.B., Reekie, J., Nielsen, H. et al. Levels of SARS-CoV-2 antibodies among fully vaccinated individuals with Delta or Omicron variant breakthrough infections. *Nat Commun* 13, 4466 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41467-022-32254-8>
99. Bouton TC, Atarere J, Turcinovic J, Seitz S, Sher-Jan C, Gilbert M et al. Viral dynamics of Omicron and Delta SARS-CoV-2 variants with implications for timing of release from isolation: a longitudinal cohort study. *Clin Infect Dis.* 2022 Jun 23;ciac510. doi: 10.1093/cid/ciac5
100. Gao CA, Cuttica MJ, Malsin ES, Argento AC, Wunderink RG, Smith SB et al. Comparing Nasopharyngeal and BAL SARS-CoV-2 Assays in Respiratory Failure. *Am J Respir Crit Care Med.* 2021 Jan 1;203(1):127-129. doi: 10.1164/rccm.202008-3137LE
101. Krismer B, Weidenmaier C, Zipperer A, Peschel A. The commensal lifestyle of *Staphylococcus aureus* and its interactions with the nasal microbiota. *Nature Reviews Microbiology.* Nature Publishing Group; 2017. pp. 675–687. doi:10.1038/nrmicro.2017.104
102. Zanella RC, Brandileone MC de C, Almeida SCG, de Lemos APS, Sacchi CT, Gonçalves CR, et al. Nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Staphylococcus aureus* in a Brazilian elderly cohort. *PLoS One.* 2019;14: e0221525. doi:10.1371/journal.pone.0221525
103. Rosell A, Monsó E, Soler N, Torres F, Angrill J, Riise G, et al. Microbiologic determinants of exacerbation in chronic obstructive pulmonary disease. *Arch Intern Med.* 2005;165: 891–7. doi:10.1001/archinte.165.8.891
104. Pulvirenti F, Camilli R, Giufrè M, Milito C, Pimentel de Araujo F, Mancini F, et al. Risk factors for *Haemophilus influenzae* and pneumococcal respiratory tract colonization in COVID. *J Allergy Clin Immunol.* 2018;142: 1999-2002.e3. doi:10.1016/j.jaci.2018.08.014
105. Herrmann. MiQ: Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik, Heft 18-19. Rüssmann H, editor. 2017.
106. Falguera M, Trujillano J, Caro S, Menéndez R, Carratalà J, Ruiz-González A, et al. A prediction rule for estimating the risk of bacteremia in patients with community-acquired pneumonia. *Clin Infect Dis.* 2009;49: 409–16. doi:10.1086/600291
107. van Werkhoven CH, Huijts SM, Postma DF, Oosterheert JJ, Bonten MJM. Predictors of Bacteraemia in Patients with Suspected Community-Acquired Pneumonia. *PLoS One.* 2015;10: e0143817. doi:10.1371/journal.pone.0143817
108. Corbo J, Friedman B, Bijur P, Gallagher EJ. Limited usefulness of initial blood cultures in community acquired pneumonia. *Emerg Med J.* 2004;21: 446–8. Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15208227>
109. Amaro R, Liapikou A, Cilloniz C, Gabarrus A, Marco F, Sellares J, et al. Predictive and prognostic factors in patients with blood-culture-positive community-acquired pneumococcal pneumonia. *Eur Respir J.* 2016;48: 797–807. doi:10.1183/13993003.00039-2016
110. Ranzani OT, Senussi T, Idone F, Ceccato A, Li Bassi G, Ferrer M, et al. Invasive and non-invasive diagnostic approaches for microbiological diagnosis of hospital-acquired pneumonia. *Crit Care.* 2019;23: 51. doi:10.1186/s13054-019-2348-2
111. Bonner AB, Monroe KW, Talley LI, Klasner AE, Kimberlin DW. Impact of the rapid diagnosis of influenza on physician decision-making and patient management in the pediatric emergency department: results of a randomized, prospective, controlled trial. *Pediatrics.* 2003;112: 363–7. doi:10.1542/peds.112.2.363
112. Falsey AR, Murata Y, Walsh EE. Impact of rapid diagnosis on management of adults hospitalized with influenza. *Arch Intern Med.* 2007;167: 354–60. doi:10.1001/archinte.167.4.354

113. Rappo U, Schuetz AN, Jenkins SG, Calfee DP, Walsh TJ, Wells MT, et al. Impact of Early Detection of Respiratory Viruses by Multiplex PCR Assay on Clinical Outcomes in Adult Patients. *J Clin Microbiol.* 2016;54: 2096–103. doi:10.1128/JCM.00549-16
114. Rogers BB, Shankar P, Jerris RC, Kotzbauer D, Anderson EJ, Watson JR, et al. Impact of a Rapid Respiratory Panel Test on Patient Outcomes. *Arch Pathol Lab Med.* 2015;139: 636–641. doi:10.5858/arpa.2014-0257-OA
115. Weiss ZF, Cunha CB, Chambers AB, Carr A V., Rochat C, Raglow-Defranco M, et al. Opportunities Revealed for Antimicrobial Stewardship and Clinical Practice with Implementation of a Rapid Respiratory Multiplex Assay. *J Clin Microbiol.* 2019;57. doi:10.1128/jcm.00861-19
116. Mangioni D, Viaggi B, Giani T, Arena F, D'Arienzo S, Forni S et al. Diagnostic stewardship for sepsis: the need for risk stratification to triage patients for fast microbiology workflows. *Future Microbiol.* 2019 Feb;14:169-174. doi: 10.2217/fmb-2018-0329