

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene der
Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes, Homburg/Saar

**Epidemiologie, Diagnostik und klinische Relevanz
von *Mycobacterium chimaera*
in wasserführenden Medizinprodukten**

Dissertation zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Theoretischen Medizin der Medizinischen Fakultät
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2023

vorgelegt von
Uwe Schlotthauer
geb. am: 17.06.1966 in Homburg/Saar

Tag der Promotion: 23.05.2024

Dekan: Prof. Dr. Michael D. Menger

Erstgutachter: Prof. Dr. Dr. Sören L. Becker

Zweitgutachter: Prof. Dr. Gabriela Krasteva-Christ

Zusammenfassung

Einleitung: Nichttuberkulöse Mykobakterien (NTM) kommen ubiquitär in der Umwelt vor, können jedoch schwere Infektionen des Menschen hervorrufen, insbesondere bei immunsupprimierten Patienten. In die Klasse der NTM gehören auch Bakterien des *Mycobacterium avium-intracellulare* complex (MAC), dessen wichtigste Vertreter *Mycobacterium avium* und *Mycobacterium intracellulare* sind, dem aber auch weitere, nah verwandte Spezies angehören. Im Jahr 2004 wurde *Mycobacterium chimaera* erstmals als MAC-Vertreter beschrieben, ihm wurde aber aus klinischer Sicht initial nur eine geringe Bedeutung beigemessen. Seit 2012 konnten weltweit vermehrt Fälle invasiver Infektionen nach kardiochirurgischen Operationen mit *M. chimaera* in Verbindung gebracht werden. Untersuchungen der Umgebung zeigten schnell einen Zusammenhang mit Heater-Cooler-Units (HCUs), die im Rahmen der Operation als Unterstützung der Herz-Lungen-Maschine benötigt werden. Untersuchungen der Geräte in vielen Krankenhäusern sowie während des Herstellungsprozesses identifizierten die HCUs als Quelle für die Transmission von *M. chimaera*, und es wurden weltweit circa 180 Patientenfälle beschrieben. Neben der HCU, die im operativen Setting eingesetzt wird, kann das Bakterium auch in intensivmedizinisch genutzten Thermoregulatoren auftreten. Die Häufigkeit des tatsächlichen Nachweises von *M. chimaera* in wasserführenden Medizinprodukten wurde jedoch bisher nicht ausreichend systematisch untersucht. Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung von Geräte- und Patientenproben am Universitätsklinikums des Saarlandes (UKS) hinsichtlich des Auftretens von *M. chimaera*.

Material und Methodik:

M. chimaera in HCUs: In einer Baseline-Untersuchung wurden an in herzchirurgischen Operationssälen des UKS genutzten HCUs mikrobiologische Abstriche (eSwab, Copan) entnommen. Zusätzlich erfolgte eine Luftkeimsammlung in räumlicher Nähe zur HCU, bei welcher 1000 Liter Luft über ein Selektivmedium geleitet wurden. Weiterhin wurden prospektiv Wasserproben (250 ml) aus den Tanks der HCUs über einen Zeitraum von 42 Monaten auf das Vorhandensein von NTM untersucht.

Intensivmedizinische Thermoregulatoren: An Geräten, die zum Betrieb einer extrakorporalen Membranoxygenierung (ECMO) am UKS eingesetzt werden, wurden 100-250 ml Wasser aus den Tanks entnommen sowie mikrobiologische Abstriche von verschiedenen Lokalisationen auf NTM untersucht. Zusätzlich erfolgten Raumluftuntersuchungen.

Retrospektive Analyse von Patientenproben: Bei allen UKS-Patienten mit Nachweis von MAC im Zeitraum von 2010 bis 2018 erfolgte eine retrospektive Analyse mit Hilfe der mikrobiologischen Laborsoftware M/Lab und der digitalisierten Patientenakte im Klinikinformationssystem. In Fällen mit *M. intracellulare*-Nachweis erfolgte eine Wiederanzucht des Pathogens zur exakten Speziesidentifizierung mittels PCR (GenoType® NTM-DR), um etwaige *M. chimaera*-Fälle als solche zu identifizieren.

Mikrobiologische Analytik: Zum Nachweis von Mykobakterien wurden 50 ml der Wasserproben in ein Flüssigmedium (Middlebrook 7H11) gegeben und in einem MGIT 960-System inkubiert. Weitere 0,5 ml der Wasserprobe wurden dann auf ein Löwenstein-Jensen Festmedium ausplattiert. Die Bebrütung der Flüssig- und der Festmedien erfolgte über 6-8 Wochen bei einer Temperatur von $36 \pm 2^\circ\text{C}$. Im Falle kulturellen Wachstums erfolgte eine Differenzierung mittels PCR.

Ergebnisse:

M. chimaera in HCUs: Bei 154 durchgeführten technischen Proben an HCUs konnte in 78 Proben ein Wachstum von insgesamt 83 Mykobakterien-Stämmen festgestellt werden. Den größten Anteil stellte *M. chimaera* mit 92,8% (n=77) dar. Über den gesamten Testzeitraum von 42 Monaten zeigte sich, dass kontaminierte Geräte auch durch eine intensivierete Aufbereitung nicht dauerhaft und gänzlich von Mykobakterien befreit werden konnten.

M. chimaera in intensivmedizinischen Thermoregulatoren: Bei der Hälfte der Proben (9 von 18) konnte *M. chimaera* kulturell nachgewiesen werden. Sieben der 10 zur Verfügung stehenden Geräte waren von diesen *M. chimaera*-Nachweisen betroffen. Bei drei mit dem Einsatz der Geräte in Verbindung stehenden, intensivmedizinisch

behandelten Patienten konnte *M. chimaera* transient in klinischen Materialien nachgewiesen (Bronchialaspirate) werden. Ein kausaler Transmissionszusammenhang ließ sich nicht belegen.

Retrospektive Analyse von mikrobiologischen MAC-Nachweisen in Patientenproben:

Bei 93 am UKS behandelten Patienten wurde im Zeitraum von 2010 bis 2018 ein Mykobakterium der MAC-Gruppe gefunden, dabei handelte es sich in 21 Fällen um *M. chimaera* (22,6%). In 3 Proben konnte durch die erneute Untersuchung ein vormals als *M. intracellulare* beschriebenes Pathogen mittels PCR korrekt als *M. chimaera* identifiziert werden. Mehr als die Hälfte (n=56) der von MAC betroffenen Patienten war männlich und der Altersmedian lag bei 63 Jahren. Als häufigste Hauptdiagnose konnte bei 32 Patienten eine pulmonale Vorerkrankung (z.B. Mukoviszidose oder COPD) identifiziert werden.

Diskussion: Wasserführende Medizinprodukte stellen in kritischen medizinischen Bereichen ein relevantes Infektionsrisiko dar. Aufgrund der langen Latenz zwischen Aufnahme des Erregers und dem Auftreten einer klinischen Symptomatik und der vielerorts fehlenden mikrobiologischen Surveillance ist davon auszugehen, dass nicht alle Fälle von geräteassoziierten *M. chimaera*-Infektionen im Rahmen des globalen Ausbruchsgeschehens erkannt wurden. Es sollte immer kritisch geprüft werden, ob der Einsatz eines wasserführenden Medizinproduktes notwendig ist. Die Hersteller sollten entsprechende Alternativen entwickeln bzw. Maßnahmen ergreifen, damit das Infektionsrisiko weiter minimiert wird.

Abstract

Introduction: Nontuberculous mycobacteria (NTM) occur ubiquitously in the environment, but can cause serious human infections, particularly in immunocompromised patients. The class of NTM also includes bacteria of the *Mycobacterium avium-intracellulare* complex (MAC). *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare* are the most important MAC pathogens, but this complex also includes other closely related species. In 2004, *Mycobacterium chimaera* was described for the first time as a representative of MAC, but was initially considered to be of minor clinical relevance. Since 2012, however, an increasing number of cases of invasive infections after cardiac surgery have been associated worldwide with *M. chimaera*. Investigations of the surroundings quickly showed a connection with Heater-Cooler-Units (HCUs), which are required as part of cardiothoracic surgeries to run heart-lung machines. Evaluation of the HCUs in many hospitals and during the manufacturing process identified these devices as a source of transmission for *M. chimaera*. Indeed, approximately 180 patient cases have been described thus far. In addition to the HCU, which is used in the surgical setting, the bacterium can also occur in thermoregulators used in intensive care medicine. However, the frequency of the actual detection of *M. chimaera* in water-carrying medical devices has not yet been systematically investigated. Hence, the overall goal of the present thesis was to examine devices and patient samples at the Saarland University Medical Center (UKS) with regard to the occurrence of *M. chimaera*.

Material and methods:

M. chimaera in HCUs: In a baseline study, microbiological swabs (eSwab, Copan) were taken from HCUs used in cardiac surgery operating theaters at the UKS. In addition, air sampling was carried out in close proximity to the HCU, in which 1000 liters of air were passed onto a selective medium. Furthermore, water samples (250 ml) from the tanks of the HCUs were prospectively tested for the presence of NTM over a period of 42 months.

Intensive care thermoregulators: 100-250 ml of water were taken from the tanks of devices that are used to operate an extracorporeal membrane oxygenation (ECMO)

at the UKS, and microbiological swabs from various locations were examined for NTM. In addition, room air sampling tests were carried out.

Retrospective analysis of patient samples: All UKS patients with detection of MAC between 2010 and 2018 were retrospectively analyzed using the microbiological laboratory software M/Lab and the digitized patient file in the hospital information system. In cases with *M. intracellulare* detection, the pathogen was re-cultured for exact species identification using PCR (GenoType® NTM-DR) to identify any *M. chimaera* cases as such.

Microbiological analysis: To detect mycobacteria, 50 ml of the water samples were placed in a liquid medium (Middlebrook 7H11) and incubated in an MGIT 960 system. A further 0.5 ml of the water sample was then plated onto a Löwenstein-Jensen solid medium. The liquid and solid media were incubated for 6-8 weeks at a temperature of $36 \pm 2^\circ\text{C}$. In the case of cultural growth, species differentiation was carried out using PCR.

Results:

M. chimaera in HCUs: In 154 technical tests carried out on HCUs, growth of a total of 83 mycobacterial strains was detected in 78 samples. *M. chimaera* represented the largest proportion with 92.8% (n=77). Over the entire test period of 42 months, it was shown that contaminated devices could not be permanently and completely freed from mycobacteria, despite intensified cleaning and disinfection procedures.

M. chimaera in intensive care thermoregulators: *M. chimaera* was detected in half of the samples (9 out of 18). Seven of the 10 available devices were found to be colonized by *M. chimaera*. The bacterium was also detected in clinical materials (bronchial aspirates) stemming from three intensive care patients, with a direct temporal link to the use of contaminated devices. Yet, a causal transmission connection could not be shown.

Retrospective analysis of microbiological evidence of MAC in patient samples: A mycobacterium of the MAC group was found in 93 patients treated at the UKS between

2010 and 2018, 21 of which were *M. chimaera* (22.6%). In 3 samples, a pathogen previously described as *M. intracellulare* could be correctly identified as *M. chimaera* by means of PCR by re-examination. More than half (n=56) of the patients affected by MAC were male and the median age was 63 years. A previous pulmonary disease (e.g. cystic fibrosis or COPD) was identified as the most common main diagnosis in 32 patients.

Discussion: Water-carrying medical devices pose a relevant risk of infection in critical medical areas. Due to the long latency period between exposure to the pathogen and the subsequent occurrence of clinical symptoms as well as the lack of microbiological surveillance in many places, it is likely that not all global outbreak cases of device-associated *M. chimaera* infections have been detected. There is a need to critically examine whether the use of specific water-carrying medical devices is necessary. Manufacturers should develop appropriate alternatives and take measures to minimize the risk of infection.

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	I
Abstract	IV
Abkürzungsverzeichnis	IX
Abbildungsverzeichnis	X
Tabellenverzeichnis	X
1 Einleitung	1
1.1 Mikrobiologische Charakteristika von Mykobakterien	1
1.2 Weltweites Ausbruchsgeschehen durch <i>Mycobacterium chimaera</i>	5
1.3 Extrakorporale Kreislaufunterstützung	8
1.3.1 Herz-Lungen-Maschine	9
1.3.2 Oxygenator	9
1.3.3 Hypo- / Hyperthermiegeräte und Umgang mit den Geräten	11
1.3.4 Extracorporale Membranoxygenierung (ECMO)	12
1.4 Wege der Transmission	13
2 Ziel der Arbeit	17
3 Material und Methoden	18
3.1 Gewinnung klinischer Proben	18
3.2 Probengewinnung technischer Analyten	19
3.2.1 Probengewinnung an Heater-Cooling Unit 3T und 1T (Sorin)	19
3.2.2 Probengewinnung an ECMO-Wärmetauschern	21
3.2.3 Kontrolle der Patientennachweise	23
3.3 Mikrobiologische Umgebungsuntersuchung	24
3.3.1 Abstriche an HCU und Thermoregulator	24
3.3.2 Luftkeimsammlung auf der Intensivstation	24
3.3.3 Untersuchung von Trinkwasser aus der Hausinstallation	25
3.4 Laboranalytik	26
3.5 Retrospektive Analyse von Patientenproben	28
4 Ergebnisse	30
4.1 Klinische Fälle von <i>Mycobacterium chimaera</i> -Infektionen am UKS	30
4.1.1 Klinischer Fall einer Spondylodiszitis	30
4.1.2 Infektion an einer LVAD Driveline	31

4.2	Retrospektive Patientenanalyse am UKS	33
4.2.1	Ergebnisse der Auswertung der klinischen Isolate	33
4.3	Monitoring technischer Proben	37
4.3.1	Monitoring der HCU	37
4.3.1.1	Ergebnisse der Wasseruntersuchungen der HCU	37
4.3.1.2	Ergebnisse der Abstrichuntersuchungen	42
4.3.1.3	Luftkeimuntersuchungen im OP-Trakt	43
4.3.2	Ergebnisse der ECMO-Untersuchungen	43
4.3.3	Luftkeimsammlung	44
4.3.4	Ergebnisse aus der Umgebung und den Thermoregulatoren	45
4.3.5	Untersuchung der Trinkwasserhausinstallation	45
4.3.6	Nachweise bei der Patientenuntersuchung	45
5	Diskussion	47
	<i>M. chimaera</i> -Nachweise in HCUs	47
	<i>M. chimaera</i> -Nachweise in ECMO-Thermoregulatoren	53
	Klinische Fälle	54
	Limitationen	55
	Fazit	57
	Schlussfolgerung	58
6	Literaturverzeichnis	59
7	Publikationen	64
8	Lebenslauf	67

Abkürzungsverzeichnis

ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome (akutes Atemnotsyndrom)
BAL	bronchoalveoläre Lavage
BfArM	Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte
BMG	Bundesministerium für Gesundheit
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CF	Cystische Fibrose
COPD	Chronic obstructive pulmonary disease
CPC	Cetylpyridiniumchlorid
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control
ECMO	Extrakorporale Membranoxygenierung
EU	Europäische Union
HCU	Heater Cooler Unit
HLM	Herz-Lungen-Maschine
IfSG	Infektionsschutzgesetz
IMMH	Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene am Universitätsklinikum des Saarlandes
KHK	Koronare Herzkrankheit
KRINKO	Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention
LVAD	Left Ventricular Assist Device
MAC	Mycobacterium avium Complex
MGIT	Mycobacteria Growth Indicator Tube
NRZ	Nationales Referenzzentrum
NTM	Nichttuberkulöse Mykobakterien
PCR	Polymerasekettenreaktion
RKI	Robert Koch-Institut
UKS	Universitätsklinikum des Saarlandes
va-ECMO	Venoarterielle Extrakorporale Membranoxygenierung
vv-ECMO	Venovenöse Extrakorporale Membranoxygenierung
WGS	Whole Genome Sequenzierung
WHO	World Health Organisation

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Komponenten der Herz-Lungen-Maschine (Schmid, Philipp, 2011 b, S.43)	8
Abbildung 2: Stöckert/Sorin Heater-Cooling Unit 3T. (Bildquelle https://www.dicardiology.com/content/livanova-warns-potential-infection-risks-3t-heater-cooler-systems).....	11
Abbildung 3: Aufbau einer ECMO-Behandlungseinheit mit Thermoregulator in einer Intensivstation (Trudzinski et al. 2016)	13
Abbildung 4: Visualisierung des Aerosoleintrages in das OP-Feld (Sommerstein et al. 2016)	14
Abbildung 5: Offene HCU mit Sicht auf die Abdeckplatte des Wassertanks. Die blauen Pfeile zeigen auf eine Leckage und die Anschlüsse. (Quelle: Walker et al. 2017a)	15
Abbildung 6: Schematische Darstellung der Intensivstation und Probenahmestellen im Rahmen der Wasser- und Umgebungsuntersuchungen (Trudzinski et al., 2016)	23
Abbildung 7: Verteilung der Untersuchungsergebnisse in den jeweiligen HCU des UKS, nach Schlotthauer et al. 2022	39
Abbildung 8: installiertes Vakuum-Sealing System an einer HCU (Schlotthauer et al. 2022)	42
Abbildung 9: Ausrichtung der HCU bei der Operation (Quelle: LivaNova Heater-Cooling System 3T, Operating Instructions, Version 02-2020).....	52

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Sequenzergebnisse der HCU-Isolate und des Patientenisolats der Driveline	31
Tabelle 2: Klassifizierung der gefundenen nichttuberkulösen Mykobakterien von 2010 bis 2018	33
Tabelle 3: Verteilung der MAC-Nachweise aufgeschlüsselt nach Nachweisjahr, Anzahl der Nachweise und ihrem prozentualen Anteil	34
Tabelle 4: Altersverteilung zum Zeitpunkt des MAC-Nachweises	35
Tabelle 5: Verteilung der Mykobakterien nach ihrer Häufigkeit in den Proben als Einzelnachweise ...	37
Tabelle 6: Mikrobiologische Untersuchungen des Wassers aus HCU für Herz-Thorax Operationen am UKS von 2015 bis 2018, nach Schlotthauer et al. 2022	41
Tabelle 7: Darstellung der mikrobiologischen Untersuchungen Ergebnisse in Thermoregulatoren (2015 - 2016) nach Trudzinski et al. 2016	44

1 Einleitung

1.1 Mikrobiologische Charakteristika von Mykobakterien

Mykobakterien sind in der Umwelt weit verbreitet und kommen auch bei vielen Tierarten vor. In der Umwelt können sie z.B. im Boden, im Staub oder in Säge- bzw. Hobelspänen nachgewiesen werden. Schätzungsweise ist je Gramm Boden von etwa zehn bis 10.000 Mykobakterien unterschiedlichster Spezies auszugehen. Das Vorkommen von bestimmten Mykobakterien kann daher sowohl im Boden als auch in Oberflächenwasser und Abwasser durchaus normal sein (BUNDESINSTITUT FÜR RISIKOBEWERTUNG, 2020). Ein Großteil der Mykobakterien ist lediglich fakultativ pathogen, d.h. dass nur unter bestimmten Bedingungen (z.B. hohe Infektionsmenge und immunsupprimierter Wirt) überhaupt ein krankmachendes Potential besteht.

Klassischerweise werden Mykobakterien nach ihrer klinischen Bedeutung als Krankheitserreger bei Mensch und Tier in sogenannte tuberkulöse und nicht-tuberkulöse Mykobakterien (NTM) eingeteilt. Human- und veterinärmedizinisch bedeutsame Mykobakterien sind in erster Linie Mykobakterien des *Mycobacterium tuberculosis* complex, zu denen z.B. *Mycobacterium tuberculosis* und *Mycobacterium microti* gehören – die Tuberkulose ist die weltweit bedeutsamste Mykobakteriose (BUNDESINSTITUT FÜR RISIKOBEWERTUNG, 2020).

Mikrobiologisch lassen sich Mykobakterien als unbewegliche, kurze bis kokkoide (länglich-runde) Stäbchen charakterisieren, die sich teilweise auch mit einer Gram-Färbung darstellen lassen. Typischerweise werden jedoch andere Färbungen eingesetzt, die sich den hohen Wachs- und Mykolsäuregehalt der mykobakteriellen Zellwand zunutze machen, wie beispielsweise die Ziehl-Neelsen- oder die Kinyoun-Färbung. Dabei werden die Erreger gefärbt und anschließend erfolgt eine Behandlung mit einem Säuren-Alkohol-Gemisch, die bei anderen Bakterien zu einer Entfärbung führt – lediglich bei Mykobakterien und verwandten Arten (z.B. Nokardien) kann der Farbstoff aufgrund der speziellen Wandeigenschaften auch durch Säurebehandlung nicht mehr ausgewaschen werden – daher bezeichnet man die Mykobakterien auch im klinisch-diagnostischen Alltag als „säurefeste Stäbchen“.

Neben den säurefesten Färbungen können zur Diagnostik von Mykobakterien auch Fluoreszenz-basierte Färbungen (z.B. Auramin-Färbung) eingesetzt werden. Der kulturelle Nachweis erfolgt auf festen Agarmedien sowie in Flüssigkulturen, wobei dieser mehrere Wochen bis hin zu einigen Monaten dauern kann, da Mykobakterien eine deutlich längere Generationszeit als die meisten Bakterien haben. Basierend auf diesem kulturellen Wachstum von Mykobakterien-Spezies kann eine Einteilung in schnell und langsam wachsende Mykobakterien vorgenommen werden. Es bleibt jedoch als diagnostisches Problem, dass einige Spezies kulturell sehr anspruchsvoll sind und daher nur schwer oder gar nicht kultivierbar sind – hierzu gehört beispielsweise auch *Mycobacterium leprae*, der Erreger der Lepra. Vor dem Hintergrund der langen Generationszeit von Mykobakterien, erfolgt eine kulturelle Anzucht von tuberkulösen Mykobakterien über einen Zeitraum von mindestens vier bis acht Wochen (BANGE et al., 2016). Innerhalb der Gruppe der nichttuberkulösen Mykobakterien erfolgt dann noch eine weitere Unterscheidung zwischen schnell wachsenden Mykobakterien (sichtbares Wachstum auf Kulturmedien kleiner sieben Tage) und langsam wachsenden Mykobakterien (Wachstum auf Kulturmedien länger als sieben Tage). Der grundsätzliche morphologische Aufbau von nichttuberkulösen Mykobakterien und *M. tuberculosis* ist ähnlich (SCHONFELD et al., 2013).

Mykobakterien des *M. tuberculosis* complex verursachen die Tuberkulose („Schwindsucht“). Bereits Hippokrates prägte den Begriff Schwindsucht (Phthisis), um damit eine Krankheit zu kennzeichnen, die mit einem allgemeinen körperlichen Verfall einhergeht. Später im 17. Jahrhundert verwendete dann der Arzt Thomas G. Morton für die charakteristischen Läsionen der Lungenschwindsucht den Begriff „Tuberkel“, was in etwa als Höcker oder Knötchen interpretiert werden kann. Johann Lucas Schönlein leitete zu Beginn des 19. Jahrhunderts von diesem Begriff dann „Tuberkulose“ ab. Etwa ein Viertel aller Todesfälle bei Erwachsenen in Europa konnten 16. und 17. Jahrhundert auf die Tuberkulose zurückgeführt werden. Insbesondere als eine Folge der Urbanisierungen im Rahmen des industriellen Fortschritts breitete sich die Krankheit im 19. Jahrhundert aus. Als die „Weiße Pest“ war sie zu diesem Zeitpunkt die häufigste Todesursache in Europa.

Der deutsche Arzt und Epidemiologe Robert Koch ist mit der Entdeckung des Tuberkulose-Erregers untrennbar verbunden (BANGE et al., 2016). Koch ist es 1882 gelungen, durch den Einsatz von spezifischen Färbetechniken, speziellen Nährböden und geänderten Kulturbedingungen, die kulturelle Anzucht von Mykobakterien zu etablieren. Damit verbunden ist letztendlich auch die mikrobiologische Entdeckung des Tuberkelbazillus. Für diese Entdeckung wurde Koch 1905 mit dem Medizin-Nobelpreis geehrt (ROBERT-KOCH-INSTITUT (RKI), 2020). Ebenfalls konnte Koch nachweisen, dass die Tuberkulose primär als Tröpfcheninfektion übertragen wird. Bis zu diesem Nachweis von Koch ging man davon aus, dass die Schwindsucht durch Miasmen, also durch „schlechte Dämpfe“ übertragen wird. Durch diese Beschreibung des Übertragungsmechanismus legte Robert Koch einen der entscheidenden Grundsteine für die moderne Infektionsmedizin.

Im Gegensatz zu den Tuberkulose-Erregern subsummiert der Begriff der nichttuberkulösen Mykobakterien eine Reihe von Bakterien, die zwar in die Gattung der Mykobakterien gehören, jedoch nicht das klassische Erkrankungsbild einer Lungen- oder sonstigen Organtuberkulose hervorrufen. In diese Klassifizierung fallen auch die Mykobakterien des *Mycobacterium avium-intracellulare* complex, zu welchem neben den Spezies *Mycobacterium avium* und *Mycobacterium intracellulare* unter anderem auch *Mycobacterium chimaera* gehört, welches im Fokus der nachfolgenden Arbeit steht.

M. chimaera ist ein relativ „junges“ Mykobakterium, dessen Erstbeschreibung weniger als 20 Jahre zurückliegt. Eine Forschergruppe aus Italien beschrieb 2004 ein Cluster von 12 isolierten Stämmen aus respiratorischen Proben älterer Menschen. Die Stämme schienen zusammengehörig oder eng verwandt mit *M. intracellulare* zu sein (TORTOLI et al., 2004). Bei genauerer Analyse dieser Isolate zeigten sich jedoch verschiedene epidemiologische und phänotypische Merkmale, die sich von *M. intracellulare* unterschieden. Durch weitergehende molekulardiagnostische Differenzierung wurden drei Unterschiede in den Hauptzweigen gegenüber *M. intracellulare* identifiziert. Es zeigte sich, dass dieses Bakterium klassische Charakteristika verschiedener bekannter Mykobakterien in sich vereint, ohne selbst einer der Spe-

zies zuzuordnen zu sein. Es handelt sich also in gewisser Weise um eine Art „Mischspezies“, was die Forscher auch bei der taxonomischen Bezeichnung berücksichtigten. Bei der Benennung orientierten sie sich an einem mythischen Wesen, der sogenannten „Chimäre“, die aus Teilen von drei unterschiedlichen Tieren bestand, und benannten das Bakterium als *M. chimaera*.

Die klinische Bedeutung der Stämme in der Erstbeschreibung von sieben Patienten schien auf eine erhöhte Virulenz dieser Mykobakterien hinzudeuten (TORTOLI et al., 2004). Dennoch kam es in den Folgejahren nur vereinzelt zu Berichten über humanmedizinisch relevante Erkrankungen durch *M. chimaera*, sodass dem Bakterium lediglich eine geringe, fakultativ pathogene Bedeutung zuerkannt wurde. Cohen-Bacrie und Kollegen waren 2011 jedoch schon der Auffassung, dass *M. chimaera* als neu auftretender opportunistischer Erreger der Atemwege bei Patienten mit Mukoviszidose anzusehen sei (COHEN-BACRIE et al., 2011).

1.2 Weltweites Ausbruchsgeschehen durch *Mycobacterium chimaera*

Zu einer plötzlichen Veränderung der klinischen Wichtigkeit von *M. chimaera* kam es, als 2015 eine Serie invasiver *M. chimaera*-Infektionen in engem zeitlichem Zusammenhang in einer schweizerischen Klinik beschrieben wurden (SAX et al., 2015). Bereits im Jahr 2012 sind im Universitätsspital Zürich zwei Patienten aufgefallen, welche an Blutstrom- bzw. Herzklappeninfektionen mit Nachweis von *M. chimaera* litten (ACHERMANN et al., 2013). Die Tatsache, dass der in diesem Zusammenhang ungewöhnliche Erreger in beiden Fällen molekulargenetisch nahezu identisch war, legte eine gemeinsame Infektionsquelle in der Umgebung der Patienten nahe. Im Rahmen der initiierten Ausbruchsuntersuchungen konnten dann vier weitere Patienten mit *M. chimaera*-Infektionen identifiziert werden. Bei allen infizierten Patienten war in der Vorgeschichte eine herzchirurgische Operation unter Einsatz einer Herz-Lungen-Maschine (HLM) durchgeführt worden. Zur Anpassung an die thermischen Bedingungen des Blutkreislaufes wird während solcher Operationen ein sogenanntes Hypothermiegerät (englisch: Heater-Cooling Unit, HCU) an die Herz-Lungen-Maschine angeschlossen. Die weiteren Untersuchungen im Umfeld des Ausbruchsgeschehens identifizierten dann diese HCUs als gemeinsame Infektionsquelle. Auch in den Wassertanks, welche in den HCUs verbaut sind, wurde ein molekulargenetisch identischer *M. chimaera*-Stamm zu den Patientenisolaten nachgewiesen (SAX et al., 2015). In verschiedenen medizinischen Fachgesellschaften fand diese Publikation schnell große Beachtung. Auch in Deutschland wurden in der Folge rasch entsprechende Infektionen gefunden, wenngleich auch nur in einer geringen Anzahl (ROBERT-KOCH-INSTITUT (RKI), 2015).

Nachdem die HCUs als wahrscheinliche Quelle des Ausbruchsgeschehens identifiziert wurden, erfolgte in Deutschland eine umfängliche Untersuchung an der Produktionsstelle der herstellenden Firma (Sorin, München) durch das bayrische Landesuntersuchungsamt, gemeinsam mit dem Robert Koch-Institut. Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigten, dass die Kontamination der Geräte mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit herstellerseitig während eines spezifischen Schritts im Produktionsprozess entstand (HALLER et al., 2016). Diese Annahme wurde durch eine weitere Studie bekräftigt, in der 250 *M. chimaera*-Isolate aus Europa einer Ganzgenomsequen-

zierung (Whole Genome Sequencing, WGS) unterzogen werden. Hierbei wurden sowohl Isolate von Patienten als auch Isolate aus der Patientenumgebung, insbesondere aus HCUs, aus unterschiedlichen Ländern untersucht. Die Ergebnisse zeigten eine eindeutige Übereinstimmung oder sehr enge Verwandtschaft der allermeisten *M. chimaera*-Isolaten. Diese Untersuchung bewies eindrucksvoll den oben genannten Verdacht einer Kontamination im Bereich der Pumpenanlage bei der Produktion der HCUs im Herstellungsbetrieb (VAN INGEN et al., 2017). Die Übertragung auf den Patienten erfolgte dann über Aerosole, die in den HCUs entstanden und in die Raumluft abgegeben wurden. Da jedoch die HCUs im direkten Operationsumfeld aufgestellt wurden und eine weitere Freisetzung von *M. chimaera* aufgrund des nach außen halboffenen Charakters der Geräte nicht ausgeschlossen werden konnte, empfahlen viele Wissenschaftler, an HCUs technische oder bauliche Maßnahmen zu ergreifen, um eine Verbreitung von *M. chimaera* im Operationssaal zu vermeiden, oder die HCUs außerhalb des Operationssaales in einem Nebenraum aufzustellen (GÖTTING, EBNER, 2016; SOMMERSTEIN et al., 2016).

In der Folge dieser Untersuchungen wurden weltweit vermehrt Fälle identifiziert, die in einem Zusammenhang mit dem Einsatz von HCUs standen (CHAND et al., 2017; SCRIVEN et al., 2018). Bis Ende 2018 konnten bereits etwa 120 Fälle invasiver *M. chimaera*-Fälle weltweit mit einer vorangegangenen kardiochirurgischen Behandlung in Verbindung gebracht werden (BECKER et al., 2019). Aufgrund der langen Latenzzeit zwischen der Intervention/Erregerübertragung und dem Auftreten erster infekti-onsassoziierter Krankheitszeichen, die bei den berichteten Patienten im Mittel bei etwa 5 Jahren lag, und der häufig verzögerten Diagnosestellung werden auch jetzt immer noch neue Fälle beschrieben (INOJOSA et al., 2020; STOKES et al., 2020; TRAUTMAN et al., 2020). Eine aktuelle systematische Übersichtsarbeit von Wetzstein et al. beschreibt nun 180 Fälle, die in einem Zusammenhang mit herzchirurgischen Eingriffen und dem Einsatz von HCU stehen (WETZSTEIN et al., 2023). Auch wenn die Dynamik neu beschriebener Fälle zurückgegangen ist, kann davon ausgegangen werden, dass nach wie vor nicht alle Fälle als solche erkannt und auch dementsprechend diagnostiziert wurden.

Da der Einsatz einer HCU im Rahmen verschiedener Herz-Thoraxoperationen von höchster Wichtigkeit ist und andererseits im *M. chimaera*-Ausbruchsgeschehen eine Schlüsselrolle einnimmt, wird nachfolgend die extrakorporale Zirkulation und die Unterstützung durch die HCU näher beschrieben.

1.3 Extrakorporale Kreislaufunterstützung

Der Einsatz einer extrakorporalen Zirkulation ermöglicht die Aufrechterhaltung der Herzkreislauffunktion im Rahmen einer Herzoperation beziehungsweise bei einem kardialen oder pulmonalen Versagen. Hierbei kann eine Optimierung und Adjustierung des Pumpenflusses durch eine Herz-Lungen-Maschine erfolgen, während ein Oxygenerator den Gasaustausch im Blut regelt. Zudem muss im Rahmen einer Herzoperation eine Normothermie, leichte Hypothermie (32°- 35°C) oder eine Moderate Hypothermie (26°-31°C) erreicht werden. Diese Funktion wird von einem Wärmetauscher (der zuvor schon erwähnten Heater-Cooling Unit, HCU) übernommen (SCHMID, PHILIPP, 2011b).

Die folgende Abbildung zeigt den Aufbau und die Komponenten, die im Rahmen eines Einsatzes einer Herz-Lungen-Maschine erforderlich sind.

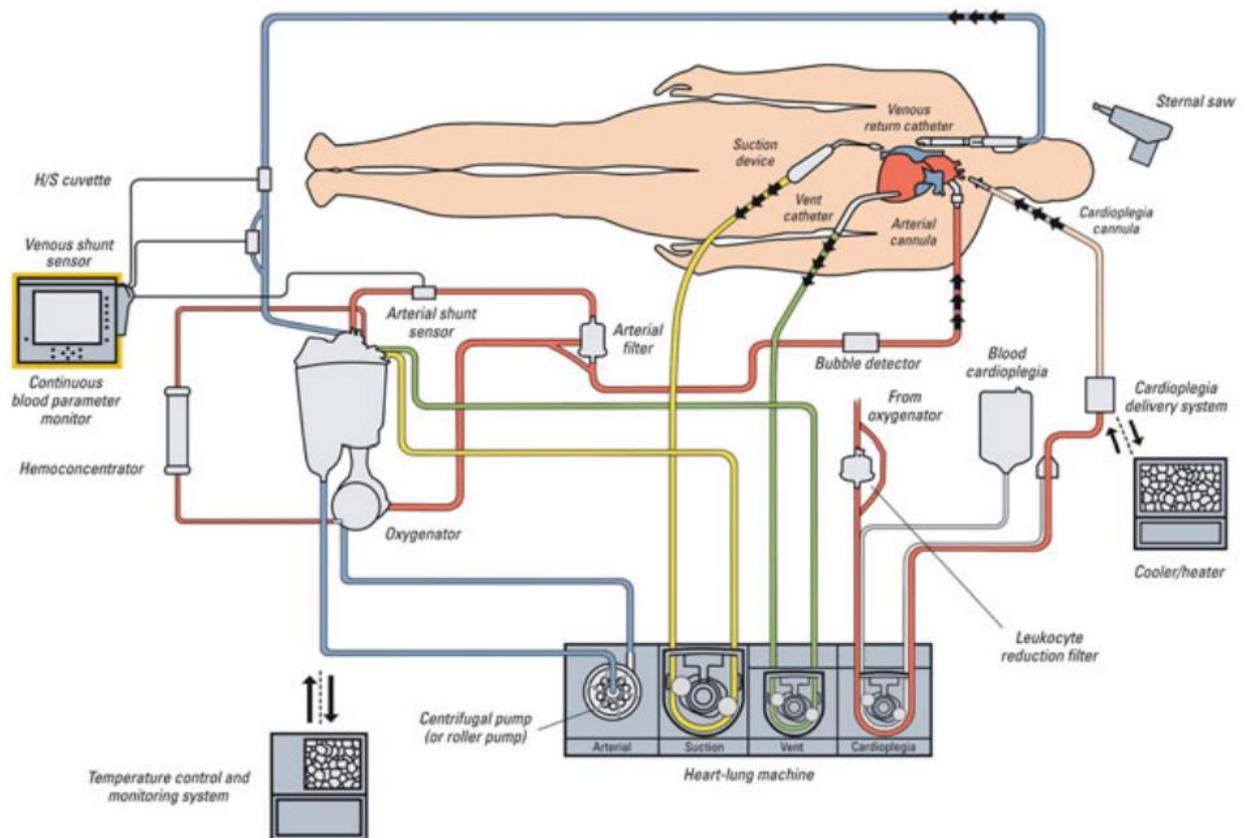


Abbildung 1: Komponenten der Herz-Lungen-Maschine (Schmid, Philipp, 2011 b, S.43)

1.3.1 Herz-Lungen-Maschine

Eine Herz-Lungen-Maschine (HLM) erhält die Körperperfusion bei einer Operation am stillstehenden Herzen aufrecht. Beim Einsatz der Herz-Lungen-Maschine wird das venöse Blut über Hohlvenen oder den rechten Vorhof drainiert und in einem Reservoir gesammelt. Aus dem Reservoir wird mittels einer Pumpe das Blut dann durch den Oxygenator zurück in die Aorta geleitet. Bevor das Blut wieder in die Aorta gepumpt wird, wird es noch durch eine arterielle Filtereinheit geleitet, um Mikropartikel und Luftbläschen zu entfernen und um die Entstehung systemischer Embolien zu vermindern (SCHMID, PHILIPP, 2011b).

1.3.2 Oxygenator

Es ist die Aufgabe des Oxygenators, das venöse Blut mit Sauerstoff (O_2) anzureichern, während gleichzeitig Kohlenstoffdioxid (CO_2) auf eine schonende Art und Weise entfernt werden soll. Im Laufe der Entwicklung der Herz-Lungen-Maschinen haben sich zwei Arten von Oxygenatoren etabliert. **Bubbleoxygenatoren** bestehen aus einem Oxygenierungsteil, einem Entschäumer und einem arteriellen Filter. Bei Bubbleoxygenatoren wird zuerst Sauerstoff eingeperlt, wobei die Größe der Sauerstoffbläschen abhängig von der Größe der verwendeten Diffusorplatte, vom Gasfluss der Viskosität des Blutes und letztlich auch der Oberflächenspannung des Blutes ist. Der eigentliche Gasaustausch findet dann an der Oberfläche der Gasbläschen statt. Je kleiner dabei die Gasbläschen sind, umso größer ist die Gasaustauschfläche. Kleine Gasbläschen sind jedoch schwieriger aus dem Blut zu entfernen, was als ein Nachteil angesehen werden kann. Diese Entfernung der Gasbläschen erfolgt dann im Entschäumerteil. Hier werden noch bestehende Luftbläschen zerstört und im arteriellen Filter (zwischen 125 und 175 μm) zurückgehalten. Nachteilig für Bubbleoxygenatoren ist, dass die Möglichkeit fehlt, Stickstoff (N) in der Gasphase dem Blut zuzuführen, weshalb mit erheblichen Stickstoffverlusten während der Operation zu rechnen ist. Die Nutzungsdauer von Bubbleoxygenatoren ist auf 6 bis 8 Stunden limitiert (SCHMID, PHILIPP, 2011b).

Eine weitere Variante der Oxygenierung wird mit sogenannten **Membranoxygeneratoren** erreicht. Hier wird ein dünner Blutfilm erzeugt, indem das Blut zwischen zahlreiche Kapillaren gepresst wird. Während früher die Membran aus Zellulose Polytetrafluorethylen und Polyethylen bestand, werden heute nur noch zwei Membranarten

eingesetzt. Bei diesen beiden Arten handelt es sich zum einen um einen mikroporöse Kapillarmembran und zum anderen um eine Diffusionskapillarmembran. Bei der mikroporösen Membranoxygenierung wird meist eine Polypropylenmembran mit einer Porengröße zwischen 0,03 und 0,07 μm eingesetzt. Hierbei sind dann etwa 50% der Membranoberfläche mit Poren durchsetzt. Der Gastransport kann in freier Diffusion durch die Poren erfolgen und somit kann ein direkter Kontakt zwischen Blut und Gas hergestellt werden. Diese Oxygenatoren weisen einen niedrigen Diffusionswiderstand auf und gewährleisten einen guten CO_2 Austausch, ohne dass eine Membranoberflächenvergrößerung erfolgen muss. Bei Diffusionskapillarmembranoxygenatoren sind die Kapillaren noch mit einer dünnen Haut ($<1 \mu\text{m}$) überzogen und verhindern damit einen Plasmaübertritt. Auch hier erfolgt der Gasübertritt durch eine freie Diffusion (SCHMID, PHILIPP, 2011b). Da die Art der Membranoxygenierung der Wirkungsweise der Lunge besser entspricht, wird sie häufiger verwendet als die Bubbleoxygenierung. Zudem wird der Membranoxygenierung eine höhere Sicherheit zugesprochen als der Bubbleoxygenierung, da sie weniger Embolien erzeugt und die Regulierung des Gasaustausches einfacher ist (SCHMID, PHILIPP, 2011b).

Das Universitätsklinikum des Saarlandes (UKS) verwendet bereits seit Jahren Oxygenatoren mit mikroporöser Kapillarmembran von unterschiedlichen Herstellern. Eine Verwendung der Bubbleoxygenerung erfolgte bisher nicht.

1.3.3 Hypo- / Hyperthermiegeräte und Umgang mit den Geräten

Während einer offenen kardiochirurgischen Operation übernimmt das Hypothermiegerät/HCU die Erwärmung bzw. das Abkühlen des Blutkreislaufes.



Abbildung 2: Stöckert/Sorin Heater-Cooling Unit 3T. (Bildquelle <https://www.dicardiology.com/content/livanova-warns-potential-infection-risks-3t-heater-cooler-systems>)

Bezüglich des Aufbaus handelt es sich bei HCUs um Geräte, die über Wassertanks ein Schlauchsystem mit erwärmtem oder gekühltem Wasser versorgen. Das Schlauchsystem der HCUs ist mit der HLM verbunden und sorgt somit für die Erwärmung oder die Kühlung des Patientenbluts, das während der Operation extrakorporal durch die HLM zirkuliert. In aller Regel wird das notwendige Wasserreservoir dieser Geräte mit steril filtriertem Wasser aus der Trinkwasserhausinstallation befüllt (LIVANOVA DEUTSCHLAND GMBH, 2017). Ein Kontakt des im System befindlichen Wassers mit dem Patientenblut findet dabei **nicht** statt, da der technische Aufbau in der HLM und der HCU derart gestaltet ist, dass es sich um zwei physisch voneinander getrennte Kreisläufe handelt. Zum Zeitpunkt, als die ersten Fälle beschrieben wurden, bestand aufgrund der Gerätebeschaffenheit die Möglichkeit, dass ein Aerosol aus der HCU in die Umgebung freigesetzt wurde (vgl. Abbildung 5, Seite 14). Wie bereits oben erwähnt, befindet sich die HCU während der Operation unmittelbar neben der HLM und somit auch in unmittelbarer Nachbarschaft zu dem Operationsfeld.

1.3.4 Extracorporale Membranoxygenierung (ECMO)

Eine ähnliche Funktionsweise wie die HCU – jedoch deutlich kleiner und nur mit einem Kreislauf ausgestattet – wird im Rahmen der extracorporalen Membranoxygenierung (ECMO) als therapeutische Option überwiegend in der Intensivmedizin eingesetzt.

Die ECMO besteht mindestens aus einer Pumpe und einem Oxygenator, also den Basiselementen, mit denen auch eine Herz-Lungen-Maschine ausgestattet ist. Die häufigsten Arten der Anlage einer ECMO finden sich in der venösen (vv-ECMO) und eine venoarteriellen (va-ECMO) Unterstützung. Die Art der Anlage der ECMO steht dabei in Abhängigkeit der medizinischen Indikation der Unterstützung. Während die vv-ECMO zur Unterstützung bzw. Entlastung der Lunge dient, z.B. als Bridging bis zu einer geplanten Lungentransplantation, kann die va-ECMO sowohl zur kardialen als auch zur pulmonalen Entlastung eingesetzt werden (SCHMID, PHILIPP, 2011a).

Die Aufgabe des Anwärmens des Blutes übernimmt bei der ECMO ein Thermoregulator (Wärmetauscher). Dieser Thermoregulator erwärmt dabei ein Wasserreservoir auf eine einstellbare Temperatur und zirkuliert dieses Wasser dann in einem Kreislauf am Oxygenator vorbei, wodurch das ebenfalls am Oxygenator vorbeifließende Blut erwärmt bzw. gekühlt wird. Im Gegensatz zur HCU an der Herz-Lungen-Maschine hat der Thermoregulator der ECMO nur einen begrenzten Spielraum, um die Erwärmung bzw. die Kühlung des Blutkreislaufes zu realisieren. Meist kann die Temperatur nur um wenige Grad angepasst werden.

Da die Funktionsweise der ECMO der einer HCU sehr ähnelt, entwickelte sich die Hypothese, dass auch es auch bei der ECMO zur Übertragung wasserassoziierter Pathogene kommen könnte. Patienten, die wegen Atemversagens mit ECMO behandelt werden, haben zwar geringere potenzielle Eintrittsstellen für Krankheitserreger als Patienten, die sich einer Operation am offenen Brustkorb unterziehen, sie sind jedoch kritisch krank und stark immunsupprimiert und daher anfällig für opportunistische Infektionen. Da jedoch solche Patienten teilweise über viele Wochen bis hin zu mehreren Monaten mittels ECMO behandelt werden, kann eine potentielle Gefährdung durch die Exposition gegenüber wasserassozierten Pathogene, wie z.B. *M. chimaera*, durchaus bestehen.

Im UKS kommen Thermoregulatoren als Gerätevarianten von drei unterschiedlichen Herstellern, NovaTherm (NovaLung), Maquet (HU 35) und Medos (Deltastream HC) zum Einsatz. Die ECMO-Oxygeneratoren werden im UKS mit Diffusionskapillarmembranen aus Polypropylen betrieben.

In der Abbildung 3 ist der typische Aufbau einer ECMO-Behandlungseinheit im Setting einer Intensivstation dargestellt. Hierbei sind die Komponenten (A) die eigentliche ECMO-Einheit und (B) der angeschlossene Thermoregulator (hier Deltastream HC (Medos)).

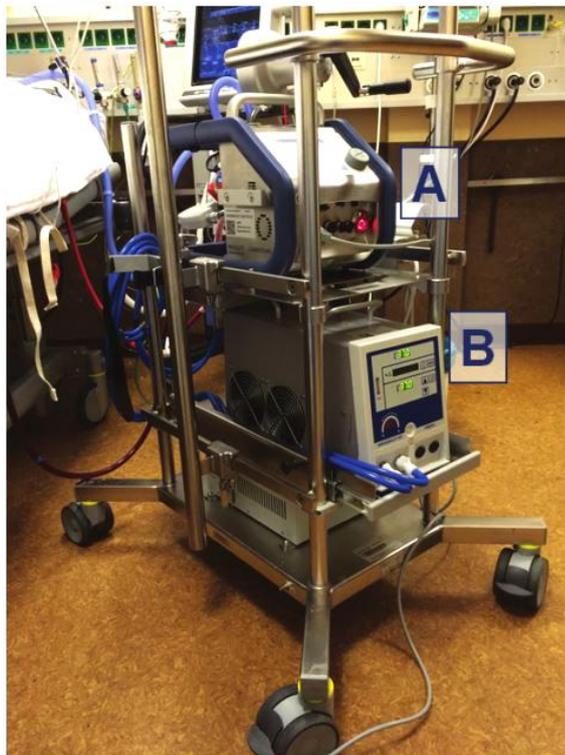


Abbildung 3: Aufbau einer ECMO-Behandlungseinheit mit Thermoregulator in einer Intensivstation (Trudzinski et al. 2016)

1.4 Wege der Transmission

Üblicherweise befindet sich die HCU im Rahmen einer Herzoperation in etwa zwei Meter Entfernung zum eigentlichen Operationsfeld, also dem geöffneten Thorax. Dieser relativ geringe Abstand zum Operationsfeld ergibt sich aus der erforderlichen Nähe zur Herz-Lungen-Maschine und der Länge des eingesetzten Schlauchmaterials. Die Ausrichtung der HCU war vor dem *M. chimaera*-assoziierten Ausbruchsgeschehen nicht näher definiert und konnte daher vom eingesetzten Kardiotechniker

selbst gewählt werden. Es war daher prinzipiell möglich, dass versehentlich die Ausrichtung so gewählt wurde, dass der Gerätelüfter in Richtung des Operationstisches zeigte. In einem Praxisversuch von Sommerstein et al. wurde der Nachweis erbracht, dass es bei einer ungünstig gewählten Ausrichtung der HCU möglich ist, Aerosol in direkt in das Operationsfeld zu transportieren. Um dieses zu visualisieren, hat die Arbeitsgruppe Rauch in der Nähe der betriebenen HCU freigesetzt.



Abbildung 4: Visualisierung des Aerosoleintrages in das OP-Feld (Sommerstein et al. 2016)

Es ist deutlich erkennbar, dass der Rauch die Luftströmung der TAV Decke (turbulenzarme Verdrängungsströmung) überwindet und direkt in das Operationsfeld getragen wird (SOMMERSTEIN et al., 2016). Somit kann bei einer Freisetzung von *M. chimaera* aus einer HCU die Transmission über die Luft in das Operationsfeld ebenfalls nicht ausgeschlossen werden. Diese Annahme kann durch eine Untersuchung von Walker et al. gestärkt werden. Die Autoren haben hierzu die obere Verkleidung der HCU entfernt und ermöglichen so den Blick auf die darunterliegende Elektronikeinheit. Die Trägerplatte der Elektronik dient gleichzeitig als Abdeckung des darunterliegenden Wassertanks. In der Abbildung 5 ist zu sehen, dass es produktionsbedingte Leckagen an der Abdeckung des Wasserreservoirs gibt (blaue Pfeile). Diese Leckagen sind besonders deutlich an den Übergängen der Anschlussleitungen in den Wasservorrat zu erkennen. Vorbeiströmende Luft kann daher Aero-

sol mit freigesetzten Mykobakterien aufnehmen und dieses in die Luft des Operationssaales abgeben. Begünstigt wird dies durch die Sogwirkung eines Lüfters, der sich horizontal in der HCU-Rückseite befindet und einen Wärmestau in der Elektronik-Einheit vermeiden soll (WALKER et al., 2017a; WALKER et al., 2017b).



Abbildung 5: Offene HCU mit Sicht auf die Abdeckplatte des Wassertanks. Die blauen Pfeile zeigen auf eine Leckage und die Anschlüsse. (Quelle: Walker et al. 2017a)

Es gibt darüber hinaus andere denkbare Übertragungswege. In einer 2020 veröffentlichten Empfehlung weist beispielsweise die amerikanische Food & Drug Administration (FDA) darauf hin, dass Tröpfchen, die mit *M. chimaera* kontaminiert sind, nach einer luftgetragenen Passage auf bereits für die Operation gerichtetem Sterilgut kondensieren können und somit im Laufe der Operation in den Patienten eingebracht werden (FDA U.S. FOOD & DRUG ADMINISTRATION, 2020). In den Vereinigten Staaten von Amerika wurden 2017 zwei Patienten beschrieben, bei denen es, jeweils nach ihrer Thoraxoperation, zu einer Infektion eines linksventrikulären Unterstützungssystems (Left Ventricular Assist Device, LVAD) durch *M. chimaera* gekommen

war. Hier wird die Quelle in der HCU gesehen, die nach Auffassung der Autoren während der Operation so ausgerichtet war, dass der Abluftstrom in Richtung des Operationstisches geleitet wurde (BALSAM et al., 2017).

2 Ziel der Arbeit

Die oben beschriebenen Umstände zeigen, dass *M. chimaera* ein noch relativ neues, gleichwohl klinisch-infektiologisch und hygienisch bedeutsames Pathogen ist, wobei insbesondere der Interaktion zwischen kardiochirurgischen Eingriffen, wasserführenden Thermoregulationsgeräten in der Chirurgie und der Intensivmedizin sowie assoziierten Infektionsfällen mit *M. chimaera* eine besondere Bedeutung zukommt.

Die vorliegende Arbeit verfolgt die nachfolgend aufgeführten Ziele:

- 1) Darstellung klinischer Fälle in Zusammenhang mit *M. chimaera* am UKS mit besonderer Beachtung des mutmaßlichen Infektionsweges und des resultierenden Transmissionsrisikos
- 2) Retrospektive Untersuchung der Nachweise von *M. intracellulare* und *M. avium* aus klinischen Proben am UKS im Zeitraum von 2010 bis 2018 und Analyse der klinischen Charakteristika sowie mikrobiologische Nachuntersuchung, ob es sich dabei möglicherweise um *M. chimaera* gehandelt hat
- 3) Longitudinale Analyse des Vorkommens von *M. chimaera* in wasserführenden Medizinprodukten wie Hypothermiegeräten bei kardiochirurgischen Eingriffen sowie bei thermoregulatorischen Geräten, die im Zusammenhang mit einer ECMO-Therapie eingesetzt werden
- 4) Entwicklung von Hygienemaßnahmen im Umgang mit wasserführenden Medizinprodukten zur Risikominimierung einer fortgesetzten Transmission von *M. chimaera*

Diese Analysen sollen ein verbessertes Verständnis der epidemiologischen, klinischen und gerätehygienischen Relevanz von *M. chimaera* ermöglichen.

3 Material und Methodik

Um die vorhergehenden Kapitel benannten Ziele zu erreichen, sind unterschiedliche konzeptionelle Ansätze erforderlich. Die folgenden Punkte beschreiben die Methodik dieser einzelnen Ansätze.

3.1 Gewinnung klinischer Proben

Klinische Proben und Umgebungsproben müssen unterschiedlich vorbehandelt werden. Dies ist den Tatsachen geschuldet, dass a) eine zu erwartende Begleitflora bei technischen Proben eine größere Gefahr birgt, das Ergebnis der Untersuchung zu beeinflussen, und b) die Probennahme bei klinischen Proben zwar definierten Standards unterliegen, aufgrund der personellen Vielfalt der Probenehmer bzw. des Stationspersonals jedoch immer einer gewissen Variabilität unterliegt. Die Gewinnung der Patientenproben erfolgte über die behandelnden Kliniker, die nach der Probegewinnung an das Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene (IMMH) zur weiteren Diagnostik übersandt wurden.

Da es sich bei der Auswertung der klinischen Untersuchungen um Daten der Laborsoftware handelte, war die Etablierung eines Protokolls zur standardmäßigen Normung der Probennahme retrospektiv nicht mehr möglich.

Im Rahmen der vorliegenden Analyse von Labornachweisen ist eine retrospektive Sichtung der für den Zeitraum von 2010 bis einschließlich Dezember 2018 identifizierten MAC-Nachweise erfolgt. Vorteilhaft für die Analyse erweist sich der Umstand, dass bereits seit 2009 eine Kryobank zum Einfrieren von Isolaten bei -80°C im IMMH eingerichtet ist. Wie bereits oben beschrieben, erfolgte diese zeitliche Einschränkung aufgrund der Einführung, Anpassung und Inbetriebnahme der Laborsoftware m/Lab (Dorner GmbH) im Jahre 2009, sodass erst ab diesem Jahr eine digitale Archivierung der Befunde vorgenommen werden konnte. Aufgrund der bis zum aktuellen Ausbruchsgeschehen unbekanntem speziellen klinischen Relevanz von *M. chimaera* erfolgte in früheren Jahren im IMMH meist keine eindeutige Spezies-Identifizierung innerhalb des MAC, sodass hierfür eine weiterführende Untersuchung der eingefrorenen Isolate erforderlich war. Dies galt insbesondere für als „*M. intracellulare*“ identifizierte Stämme, deren Abgrenzung zu *M. chimaera* weiterer Untersuchungen be-

durfte. Im Unterschied dazu war aus mikrobiologischer Sicht bei *M. avium* die Spezies-Identifikation eindeutig, sodass keine weiterführende Untersuchung erforderlich war.

3.2 Probengewinnung technischer Analyten

3.2.1 Probengewinnung an Heater-Cooling Unit 3T und 1T (Sorin)

Am UKS wurden zum Untersuchungszeitpunkt insgesamt fünf HCUs des Typs Stöckert 3T und zwei der Geräte des Typs Stöckert 1T, der Firma Sorin (jetzt LivaNova) betrieben. Sorin war in weiten Teilen der Welt Marktführer, und so machten beispielsweise alleine in den Vereinigten Staaten Sorin-HCUs über lange Zeit etwa 60% der eingesetzten Geräte aus (VOELKER, 2016). Andere Publikationen sprachen dem Unternehmen weltweit einen Marktanteil von 70 % zu (HASSE et al., 2020). Vier der im UKS verwendeten Geräte befinden sich innerhalb des zentralen Operationskomplexes im Gebäude der Chirurgischen Kliniken (Gebäude 57). Ein weiteres Gerät befindet sich seit 2017 im Operationssaal der Kinderkardiologie (Gebäude 09) des UKS. Der Betrieb sowie die Aufbereitung der Geräte liegen in der Verantwortung der Abteilung Kardiotechnik. In der Vergangenheit ist mindestens einmal jährlich eine „große“ Wartung durch den Hersteller erfolgt. Die regelmäßige Aufbereitung wurde vor dem Bekanntwerden der Problematik nicht spezifisch empfohlen und ist nur in unregelmäßigem Abstand erfolgt. Das im System befindliche Wasser wurde jedoch mindestens einmal monatlich gewechselt.

Seit dem Bekanntwerden der Problematik rund um die HCUs, erfolgte auch am UKS eine Umstellung der Aufbereitung. Die Geräte wurden nun einmal wöchentlich mit Peresal™ (Ecolab Deutschland GmbH, Düsseldorf), einem Instrumentendesinfektionsmittel auf der Basis von Peressigsäure, in einer aufwendigen Prozedur komplett aufbereitet. Der Wechsel des im Tank befindlichen Wassers erfolgte häufiger und dabei wurde das Füllwasser immer mit 3% Wasserstoffperoxid (H₂O₂) versetzt. Hier richtete sich das Wechselintervall nach der täglichen Kontrolle des H₂O₂-Gehalts. Sank dieser unter 3%, so musste ein Wasserwechsel durchgeführt werden (LIVANOVA DEUTSCHLAND GMBH, 2017). Weiterhin erfolgte die jährliche „große“ Wartung durch die Herstellerfirma.

Seitdem die Umstellung der Desinfektionslösung auf Peressigsäure erfolgt ist, wurden vermehrt Beschädigungen, insbesondere an Kunststoffteilen, durch die Kardio-techniker berichtet. Zusätzlich wurde, als eine interne Qualitätssicherungsmaßnahme, die Dokumentation über den Einsatz der HCUs bei Operationen etabliert, so dass jeweils im Operationsbericht die Angabe der Seriennummer des verwendeten HCU-Gerätes eingefügt wurde.

Zur Analytik wurden Wasserproben aus den entsprechenden Geräten entnommen und unmittelbar in das Labor des IMMH gebracht. Da eine Probenahme Vorrichtung an der HCU nicht vorhanden ist, erfolgte die Probenahme über die Entleerung des Wasservorratstanks an der Rückseite des Gerätes. Hierfür wurden 250 ml Wasser in einem sterilen Probenahmegefäß (250 ml Kunststoffflasche, 20 mg/l Thiosulfat; LP Italia spa) aufgefangen.

Alle zur Probenahme verwendete Gefäße waren mit 20 mg/l Natriumthiosulfat vorgelegt, um eventuell in der Flüssigkeit vorhandene oxidierende Desinfektionsmittel zu neutralisieren. Eine in einem belgischen Krankenhaus durchgeführte Studie belegte, dass Natriumthiosulfat bei der Probenahme keinen Einfluss auf das spätere Proben-ergebnis und das Wachstum von Mykobakterien in der Probe hat (MAK et al., 2020). Die Probenahmegefäße wurden im Rahmen des Herstellungsprozesses einer Sterilisation mit Gammastrahlen unterzogen. Die Sterilität der eingesetzten Chargen wurde im IMMH, im Rahmen der Qualitätssicherung, nach DIN EN ISO 11133 (DEUTSCHES INSTITUT FÜR NORMUNG E.V., 2018) überprüft.

Eine Desinfektion der Entnahmestelle war nicht notwendig, da eine retrograde Kontamination der Entnahmestelle keinen Einfluss auf das Untersuchungsergebnis hat. Untersucht wurde in den Proben ausschließlich das qualitative Vorkommens von Mykobakterien. Ein positiver Befund wurde unverzüglich mit der Fachabteilung, in der die HCU eingesetzt wird, besprochen und hatte in der Regel eine erneute Aufbereitung der HCU zur Folge. Da sich in initialen Voruntersuchungen zeigte, dass keine oder nur eine sehr geringe bakterielle Begleitflora vorhanden war, konnte bei den genannten Untersuchungen auf die Zugabe von Cetylpyridiniumchlorid (quartäre Ammoniumverbindung, CPC) zur Unterdrückung einer eventuell vorhandenen Begleitflora verzichtet werden, was eine geringe Abweichung von einem hierfür entwickelten

Protokoll des European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) entsprach (EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2015).

Alle zum Untersuchungszeitpunkt betriebenen Geräte waren Stöckert 3T der Firma LivaNova. Zwei Geräte des Typs 1T waren zu Beginn der Untersuchungen noch in Betrieb, wurden aber aufgrund von zunehmenden Defekten im Verlauf der Untersuchungen ausgesondert. Der wesentliche Unterschied dieser beiden Gerätetypen liegt im Aufbau der Kreisläufe. Während Geräte des Typs 1T lediglich über einen Patientenkreislauf verfügen, haben Geräte des Typs 3 T zwei Patientenkreisläufe und einen zusätzlichen Kardioplegie-Kreislauf. Alle im UKS befindlichen HCU wurden umgehend nach dem Bekanntwerden des ersten Falles beprobt. Bei der Erstuntersuchung sind Wasseruntersuchungen an den folgenden Stellen mittels steriler Flaschen entnommen worden:

- Kreislauf 1 (aus dem Schlauchsystem mittels eines Drei-Wege-Hahns)
- Kreislauf 2 (aus dem Schlauchsystem mittels eines Drei-Wege-Hahns)
- Restentleerung des Geräts

Die Analytik der gewonnenen Proben erfolgte unmittelbar im Anschluss an die Probenahme im IMMH.

Nach dieser Initialuntersuchung werden an den HCUs jeweils nur noch eine Probe an der Restentleerung entnommen.

3.2.2 Probengewinnung an ECMO-Wärmetauschern

Aus den Thermoregulatoren erfolgte in jedem Untersuchungszyklus eine Probenahme von 100 – 250 ml Flüssigkeit aus dem Tank. Zur Probenentnahme wurde dabei jeweils eine sterile Spritze verwendet. Da der Tank der Thermoregulatoren nur über eine kleine Füllöffnung zu erreichen ist und eine sterile Probenahme gewahrt werden muss, erfolgt die Probenahme unter der Zuhilfenahme einer sog. Heidelberger Verlängerung. Die so gewonnene Probe wurde dann, ebenfalls unter Wahrung der Sterilität, in eine sterile Einwegprobenflasche überführt (SCHLOTTHAUER et al., 2017).

Alle Proben wurden anschließend im Labor der Schutzstufe 3 des IMMH in Anlehnung an das Protokoll des ECDC angelegt und analysiert (EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2015).

In der untenstehenden Abbildung 6 ist die beprobte Intensivstation (Pneumologische Intensivstation M5-01 des UKS) schematisch dargestellt und die Stellen der Probenahmen sind mit den Buchstaben A bis C und den Zahlen 1 bis 3 eingezeichnet. Dabei sind die alphabetischen Probestellen (A, B und C) die Stellen, an denen Luftkeimsammlungen (Beschreibung in Kapitel 3.4.1) durchgeführt wurden (A= direkt hinter der ECMO, B= in direkter Umgebung zum Patienten und C= in einer Entfernung von 2 - 3 Meter vom Patientenbett). Bei der mit 1 gekennzeichneten Stelle handelt es sich um das Waschbecken, an welchem die Wasserentnahme für die Befüllung der Thermoregulatoren erfolgte. Um das Wasser der Hausinstallation zu filtern und eine Kontamination der aus der Trinkwasserhausinstallation zu vermeiden, sind an den Stellen, an denen das Wasser für die Befüllung der Thermoregulatoren entnommen wird, Filter der Firma Pall (Aquasafe AQ31F1S, Pall GmbH, Dreieich, Deutschland) verbaut. In diesen endständigen Filterelementen wird das Wasser über eine Membran mit einer Durchlässigkeit von 0,2 µm gefiltert. Die Porengröße der Membran gewährleistet, dass neben Legionellen auch Pseudomonaden zuverlässig zurückgehalten werden. Eventuell im Wasser vorhandene Mykobakterien werden ebenfalls aus dem Wasser gefiltert, da sie größer als Legionellen oder Pseudomonaden sind. Der Punkt 2 markiert die Stelle, an denen die Thermoregulatoren in der Praxis befüllt werden. Es handelt sich dabei um eine Ablagefläche im Flur der Intensivstation. Mit Punkt 3 ist der eigentliche Standort der EMCO-Einheit (also ECMO mit Thermoregulator) gekennzeichnet.

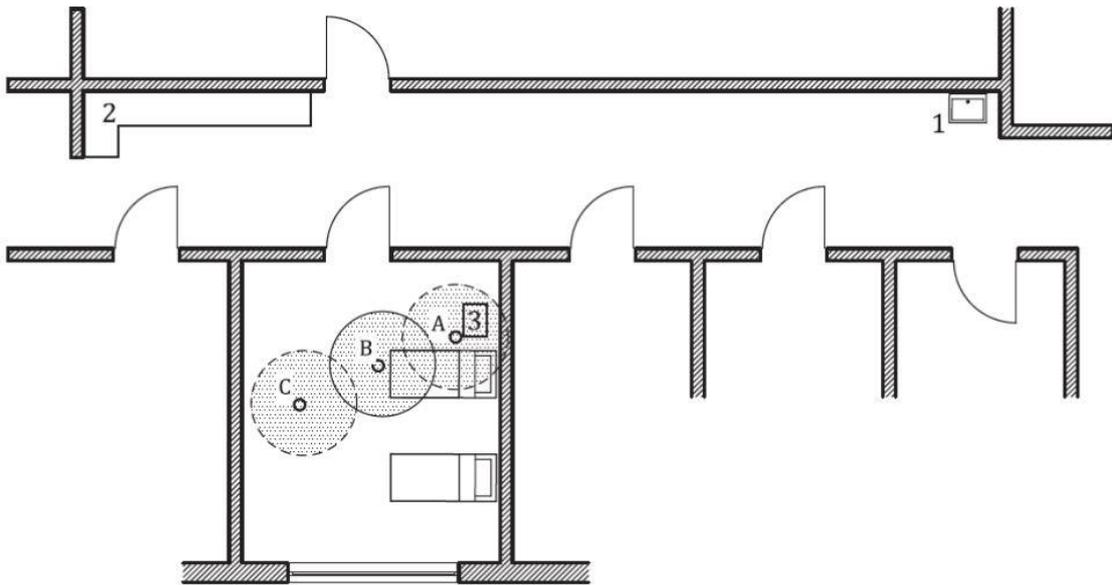


Abbildung 6: Schematische Darstellung der Intensivstation und Probenahmestellen im Rahmen der Wasser- und Umgebungsuntersuchungen (Trudzinski et al., 2016)

Da das Flüssigkeitsreservoir in einem Thermoregulator deutlich geringer ist als in einer HCU und eine Probenahme mit Konsequenzen für den Patienten einhergehen könnte, wurden die Probenahmen immer vorher mit der Station abgestimmt. Die entnommene Probenmenge aus dem Thermoregulator wurde direkt nach der Probenahme wieder aufgefüllt.

Eine Beschreibung der laboranalytischen Verfahren und der dafür verwendeten Nährmedien erfolgt im Kapitel 3.4.

3.2.3 Kontrolle der Patientennachweise

Mit der im Klinikum eingeführten elektronischen Patienten-Datenbank (SAP ISH*MED) konnten alle Patienten zwischen 2010 und 2016 aufgefunden werden. Entsprechend war bei allen Patienten, die eine ECMO-Behandlung erhalten hatten, diese auch in der Patientenakte dokumentiert. Sofern eine klinische Symptomatik einer respiratorischen Infektion oder dem Verdacht darauf vorlag, wurden entsprechende respiratorische Proben an das Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene gesandt.

3.3 Mikrobiologische Umgebungsuntersuchung

3.3.1 Abstriche an HCU und Thermoregulator

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden auch Abstriche an verschiedenen Stellen der HCU und der Thermoregulatoren genommen. Warnke et al. zeigten in klinischen Studien, dass die Detektionsrate von Mikroorganismen beim Einsatz von Abstrichtupfern des sogenannten „eSwab“-Modells am größten ist. Hierbei handelt es sich um einen nylonbeflockten Tupfer mit Liquid Amies Elution als Flüssigmedium (WARNKE et al., 2014). Da diese Abstrichtupfer im UKS für unterschiedliche klinische Zwecke im Einsatz sind, wurde die Entnahme der Abstrichuntersuchungen mit diesen eSwabs durchgeführt (MAST Diganostica, Reinfeld Deutschland). Oberflächenabstriche wurden auf einer Fläche von 5 x 5 cm in einer Drehbewegung des Abstrichtupfers mit leichtem Druck durchgeführt.

Bei der Probennahme in Öffnungen, wie z.B. den Befüllungen, wurde in kreisenden Bewegungen mit dem Tupfer die Innenseite der Öffnung abgestrichen. Hierbei wurde darauf geachtet, dass der Abstrichtupfer ständig Kontakt zu den Außenwänden der Öffnung hatte. Direkt im Anschluss an die Probenahme erfolgte die Überführung der Tupfer in die Nährlösung.

3.3.2 Luftkeimsammlung auf der Intensivstation

Um Luftkeimsammlungen in verschiedenen Settings durchzuführen, steht der Abteilung Krankenhaushygiene im IMMH ein sogenannter Impaktor zur Verfügung. Beim Impaktionsverfahren wird eine definierte Menge der Umgebungsluft angesaugt und dabei über ein eingesetztes Nährmedium geleitet. Evtl. in der angesaugten Luft vorhandene Erreger sammeln sich dabei auf dem Nährmedium und können anschließend kultiviert werden. Um vergleichbare Ergebnisse erzielen zu können, ist es wichtig, dass bei den Untersuchungen immer die gleiche Luftmenge angesaugt wird. Dies wird durch eine jährlich durchzuführende Kalibrierung des Impaktors sichergestellt. Für die Untersuchungen wurde ein Impaktor der Umweltanalytik Holbach GmbH, Typ MBASS 30 eingesetzt und die angesaugte Luftmenge im Rahmen der Untersuchungen betrug 200 Liter Raumluft. Die Luftuntersuchung erfolgte am 24.06.2015 auf der pneumologischen Intensivstation M5-01 im Gebäude 91 des UKS. Um Einflüsse auf

die Luftsammlung von weiteren Personen zu vermeiden, sind lediglich der Probennehmer und die Patienten während der Probennahme im Zimmer. Die Fenster waren verschlossen und die Türen zum Stationsflur geöffnet.

3.3.3 Untersuchung von Trinkwasser aus der Hausinstallation

Die Thermoregulatoren werden mit filtriertem Wasser aus der Trinkwasserhausinstallation befüllt. Zu diesem Zweck werden endständige Wasserfilter mit einer Porengröße von 0,2 µm eingesetzt. Um eine Kontamination bereits beim Befüllen des Thermoregulators auszuschließen, wurden zusätzliche Proben dieses filtrierten Wassers entnommen. Die Probennahme dieser Wasserproben aus der Trinkwasserhausinstallation erfolgten nach Zweck C der DIN EN ISO 19458. Dies bedeutet, dass die Proben ohne vorherige Desinfektion der Entnahmestelle und ohne vorheriges Ablassen von Wasser entnommen werden (DIN EN ISO 19458, 2006).

Die Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch -Trinkwasserverordnung (TrinkwV) - enthält keine Angaben über eine regelhafte Untersuchung und daher auch keine Grenzwerte für Mykobakterien in Trinkwasser. Somit ist, entgegen anderen mikrobiologischen Parametern, auch kein Untersuchungsverfahren zur Auffindung für Mykobakterien in der Trinkwasserverordnung festgelegt (BUNDESMINISTERIUM FÜR GESUNDHEIT, 2019). Es musste daher ein geeignetes Verfahren für die Auffindung von Mykobakterien in Trinkwässern gesucht werden. Da das Verfahren der Untersuchung in Wässern der HCU bereits etabliert war und verlässliche Ergebnisse lieferte, wurde das zu untersuchende Trinkwasser in Analogie zu diesem Verfahren untersucht.

3.4 Laboranalytik

Die diagnostische Probenbearbeitung erfolgte im klinikeigenen mikrobiologischen Labor der Schutzstufe 3 des IMMH.

Nach vorherigem Vortexen (maschinelles Aufschütteln) aller technischer Proben wurde ein Auramin-Präparat angefertigt und bei einer 1000-fachen Vergrößerung mikroskopiert. Von jeder Probe wurden 0,5 ml auf einem Löwenstein-Jensen Selektivagar (Becton, Dickinson and Company, Sparks USA) ausplattiert und für 8 Wochen bei einer Temperatur von $36 \pm 2^\circ\text{C}$ inkubiert. Um die inkubierten Platten vor einem Austrocknen während der langen Bebrütungszeit zu schützen, wurden alle Platten zugeklebt.

Zusätzlich wurden 50 ml der Probe in Middlebrook 7H11 Flüssigmedium (Seven Eleven, Becton Dickinson and Company, Sparks, USA) gegeben und für 6 – 8 Wochen bei $36 \pm 2^\circ\text{C}$ inkubiert. Die Bebrütung der Flüssigproben erfolgte mittels MGIT 960 (Becton-Dickinson, Heidelberg Germany) ebenfalls über 8 Wochen bei einer Temperatur von $36 \pm 2^\circ\text{C}$.

Bei MGIT (**M**ycobacteria **G**rowth **I**ndicator **T**ube) handelt es sich um ein Verfahren, das auf der Basis einer Fluoreszenzlöschung (Abnahme der Intensität der Fluoreszenz) basierenden Sauerstoffsensoren, der in den Boden des Röhrchens eingebettet ist, funktioniert. Die Fluoreszenz, die vom Röhrchen abgegeben wird, entspricht der Menge an Sauerstoff, die von den Organismen im Röhrchen verbraucht werden und ist proportional zur Anzahl der vorhandenen Bakterien.

Sobald ein positives MGIT-Ergebnis vorliegt, erfolgt eine Bestätigung mit einem Streifenhybridisierungstest. Dieser Test basiert auf einer Polymerasenkettenreaktion (PCR), die durch eine anschließende Hybridisierung auf einem Nitrozellulosestreifen ergänzt wird. Anhand charakteristischer Bandenmuster kann dann eine Identifizierung der gefundenen Mykobakterienspezies erfolgen (MIKROBIOLOGISCH-INFEKTIOLOGISCHE QUALITÄTSSTANDARDS (MIQ), 2010). Das Verfahren, welches hierzu im IMMH verwendet wird, ist GenoType® NTM-DR (Hain Lifescience GmbH, Nehren, Deutschland).

Das Ziel all dieser Untersuchungsschritte ist der qualitative und semi-quantitative Nachweis von *M. chimaera* bzw. *M. intracellulare* in Patienten- und Umweltproben.

Da *M. chimaera* bis 2015 nicht klinisch bedeutsam erschien, war auch keine weitere Unterscheidung gegenüber anderen nichttuberkulösen Mykobakterien – insbesondere gegenüber *M. intracellulare* – erfolgt. Um einen Vergleich der eigenen Isolate aus Infektionsprozessen mit dem internationalen Ausbruchsgeschehen herzustellen, erfolgt die Weiterleitung von positiven Nachweisen aus technischen Proben und auch von Patientenisolaten an das Nationale Referenzzentrum für Mykobakterien in Bors-
tel (Schleswig-Holstein).

3.5 Retrospektive Analyse von Patientenproben

Nachdem in internationalen Publikationen auf eine *M. chimaera*-Problematik hingewiesen wurde, erfolgte auch im IMMH am UKS eine entsprechende Anpassung der Testverfahren (siehe Kapitel 3.4). Diese Umstellung und Erweiterung der diagnostischen Verfahren ist seit 2015 umgesetzt, sodass bei klinischen Proben, die vor dem Jahr 2015 untersucht wurden und einen Nachweis von *M. intracellulare* ergaben, unsicher war, ob es sich möglicherweise auch um den Nachweis von *M. chimaera* handeln könne. Es erfolgte daher eine retrospektive Sichtung aller Nachweise in der Laborsoftware M/Lab (Dorner) auf die Erreger *M. intracellulare*, *M. chimaera* und die nah verwandte Spezies *M. avium*.

Diese Suche ist auf die Nachweise zwischen 2010 und 2018 eingeschränkt. Der Startpunkt für die Suche ergibt sich aus der Tatsache, dass die Laborsoftware M/Lab erst im Jahr 2009 im IMMH eingeführt wird. Erst mit der Einführung dieser Software war es möglich, alle Untersuchungsschritte und Zusatzinformationen zu bakteriellen Untersuchungen eindeutig digital zu dokumentieren. Um evtl. Schwierigkeiten im Handling bei der Einführung der Software auszuschließen, erfolgt der Ausschluss des Jahres 2009 aus der Analyse. Eine weitere Einschränkung ist dahingehend vorgenommen, dass nur klinische Materialien in die Auswertung mit einbezogen wurden. Der Endpunkt für die Analyse der klinischen Isolate wurde auf den 31.12.2018 festgesetzt. In Anschluss erfolgte die Auswertung der Probenergebnisse, sowie die Sichtung der elektronischen Patientenakten zur weiteren Analyse.

Auswertung eigener Untersuchungsbefunde mit den Ergebnissen *M. chimaera*, *M. intracellulare* und *M. avium*

Bei allen Nachweisen der oben genannten Spezies im zuvor beschriebenen Zeitraum wurde überprüft, ob Materialien oder Isolate in die Kryobank des Instituts überführt wurden. Waren Isolate vorhanden, erfolgte das Auftauen und eine erneute Anzucht des Erregers auf einem selektiven Nährmedium (Sabouraud-Dextrose Agar, Becton Dickinson and Company, Sparks USA). Anschließend wurden die Isolate mittels MGIT und Middlebrook 7H11 Agar bebrütet und ihre Subspezies mit GenExpert® NTM DR (Hain Lifescience GmbH, Nehren, Deutschland), erneut bestimmt.

Zusätzlich erfolgte bei allen Patienten, bei denen ein *M. chimaera* oder ein *M. intracellulare* Nachweis geführt wurde, im Anschluss eine intensive Sichtung der elektronischen Patientenakte in SAP IS-H*MED, um die klinische Relevanz des mikrobiologischen Nachweises besser einordnen zu können. Alle oben beschriebenen klinischen Proben von *M. intracellulare* und *M. chimaera* wurden anschließend auf ihre klinische Plausibilität hin überprüft. Dabei wurden die Arztbriefe der Patienten nach Auffälligkeiten durchsucht. Relevante Punkte waren z.B.:

- Unklarer oder pulmonaler Infekt
- Operation am offenen Thorax in der Vorgeschichte (z.B. Herz-Op, Bypass-Op, Operationen an der Lunge)
- Hauptdiagnose bzw. Grund der Aufnahme in das Krankenhaus
- Geschlecht
- Alter zum Zeitpunkt des Nachweises
- Ort der Besiedelung bzw. Art des klinischen Materials
- Outcome (Überleben, Transplantation, usw.)

4 Ergebnisse

4.1 Klinische Fälle von *Mycobacterium chimaera*-Infektionen am UKS

4.1.1 Klinischer Fall einer Spondylodiszitis

Ende März 2015 erfolgte die Zuverlegung eines, zu diesem Zeitpunkt 75-Jährigen, männlichen Patienten. Im benachbarten Krankenhaus wurde der Verdacht einer Spondylodiszitis diagnostiziert. Anamnestisch lagen bei dem Patienten bereits verschiedene Erkrankungen des Herzes vor und bei ihm erfolgte in einem externen Krankenhaus 2010 eine Mitralklappenrekonstruktion. Die Operation wurde unter der Verwendung von HLM und HCU durchgeführt. Aufgrund der räumlichen Enge im Operationssaal war die HCU dabei in unmittelbarer Nähe der HLM platziert. Die Zuverlegung in das UKS erfolgte, da neben dem Verdacht der Spondylodiszitis auch eine Fraktur des Brustwirbelkörpers 9 bei dem Patienten vorlag. In Homburg erfolgte dann die chirurgische Versorgung dieser Fraktur und es wurde eine Gewebeprobe zur mikrobiologischen Diagnostik entnommen. Rasch konnten mikroskopisch Mykobakterien nachgewiesen werden, die dann weiter differenziert und als *M. chimaera* identifiziert wurden. In Zusammenarbeit mit dem Nationalen Referenzzentrum für Mykobakterien in Borstel (Schleswig-Holstein) wurde eine sehr enge genetische Übereinstimmung mit dem in Europa zirkulierenden Ausbruchsstamm diagnostiziert, sodass von einer gemeinsamen Kontaminationsquelle auszugehen war.

4.1.2 Infektion an einer LVAD Driveline

Im Oktober 2015 stellte sich am UKS ein 77-jähriger männlicher Patient mit einer therapierefraktären kardialen Dekompensation bei schwerer ischämischer Kardiomyopathie mit hochgradig eingeschränkter systolischer Funktion (ejection fraction: 20%) vor. In der Folge wurde eine Bypass-Operation notwendig. Nach einem kurzen stationären Aufenthalt konnte der Patient wieder entlassen werden. Im Juli 2017 musste der Patient jedoch erneut operiert werden und ihm wurde ein linksventrikuläres Unterstützungssystem (left ventricular assist device, LVAD) implantiert. Während der LVAD-Operation musste die eingesetzte HLM gegen eine andere ausgetauscht werden. Da die HLM und die HCU über Schlauchleitungen miteinander verbunden sind, musste die Diskonnektion der Geräte erfolgen. Es ist bei diesem Vorgang technisch unvermeidlich, dass eine kleine Restmenge Wasser in den Konnektoren verbleibt und in die Umgebung verspritzt werden kann. Nach der Operation stellt sich eine problemlose Rekonvaleszenz des Patienten ein. Zwei Jahre nach der Operation wurde jedoch ein Abszess an der Haut im Bereich der Austrittsstelle der Driveline diagnostiziert und dem IMMH zur mikrobiologischen Diagnostik übersandt. Hier wurde *M. chimaera* nachgewiesen.

Um einen möglichen Vergleich zum internationalen Ausbruchsstamm herzustellen, wurde das Isolat des Gewebes an das Nationale Referenzzentrum (NRZ) für Mykobakterien in Bostel gesandt. Zusätzlich wurden auch zwei asservierte *M. chimaera* Isolate aus dem Wasser der eingesetzten HCU nach Borstel geschickt. Eines der Isolate stammt aus der HCU von einem Monat vor der Operation, das weitere Isolat aus dem gleichen Gerät etwa 3 Monate nach der Operation des Patienten. Das Ergebnis der Sequenzierung ist in der folgenden Tabelle dargestellt und zeigt, dass alle eingesandten Isolate gleichen Ursprungs sind.

Herkunft des Isolats	Gruppe	Sub lineage
Patienten Isolat Driveline	Group_1	Group_1.1
HCU 1 Monat vor OP	Group_1	Group_1.1
HCU 3 Monate nach OP	Group_1	Group_1.1

Tabelle 1: Sequenzerggebnisse der HCU-Isolate und des Patientenisolats der Driveline

In Anlehnung an die Veröffentlichung von van Ingen et al. erfolgte vom NRZ die Eingruppierung in die Gruppe und Subgruppe für *M. chimaera*. Dabei wurden von der

Arbeitsgruppe alle Isolate von herzchirurgischen Patienten der Gruppe 1 zugeordnet. Die Subgruppe 1.1 enthielt im Ganzgenomvergleich sowohl Patienten- als auch Umweltisolate und wies einen paarweisen medianen Abstand von vier SNP (Single nucleotide polymorphisms) zum Ausbruchstamm auf, was auf eine sehr hohe genetische Verwandtschaft schließen ließ (VAN INGEN et al., 2017). Dass im vorliegenden konkreten Fall eine Transmission aus dem Wasser der HCU auf die Driveline im Rahmen des Wechsels der HLM stattgefunden hat, konnte somit nicht ausgeschlossen werden, da ein eindeutiger genetischer Zusammenhang zwischen den Isolaten aus der HCU und dem Isolat aus der Driveline des Patienten nachgewiesen wurde.

4.2 Retrospektive Patientenanalyse am UKS

4.2.1 Ergebnisse der Auswertung der klinischen Isolate

Um die Rolle und potentielle klinische Relevanz von *M. chimaera* zu eruieren, wurden die *M. intracellulare*-Isolate der Jahre 2010 bis 2018 am UKS einer erneuten Sichtung unterzogen, da damals keine routinemäßige Speziesidentifizierung hinsichtlich *M. chimaera* durchgeführt wurde. In diesem Zeitraum kam es zu 93 Nachweisen der genannten Mykobakterien, wobei diese zu 96,8 % aus tiefen respiratorischen Materialien stammten (Bronchialaspirat oder bronchoalveoläre Lavage (BAL)). Die verbleibenden Nachweise verteilten sich auf intraoperative Abstriche (n=1), Wundabstriche (n=1) und Gewebeproben (n=1).

Mit Ausnahme von drei intraoperativen Proben erfolgten alle Probeneinsendungen von den Intensivstationen der Pneumologie, der Kardiologie, der Herz-Thoraxchirurgie sowie der Transplantationsambulanz. Eine erste Auswertung des oben genannten Zeitraumes ergab 18 Nachweise von *M. chimaera*, 39 *M. intracellulare* Nachweise und weitere 36 *M. avium* Nachweise, die in weitere Auswertung mit aufgenommen werden konnten.

Aufgrund der unter 3.5 beschriebenen Verfahrensweise und der Sichtung von Patientenakten ergaben sich bei sechs *M. intracellulare* Isolaten von Patienten Anhaltspunkte, die eine weitergehende mikrobiologische Testung anstießen.

In den Nachtestungen werden zwei *M. intracellulare* Nachweise bestätigt, wohingegen drei Isolate nun als *M. chimaera* klassifiziert wurden. Bei einem Isolat aus dem Jahre 2010 konnte aus labortechnischen Gründen kein Mykobakterium mehr kulturell angezüchtet werden, um eine weitere Differenzierung durchzuführen.

Nach der Überprüfung und der Neuvalidierung der beschriebenen Nachweise ergibt sich die Verteilung der Mykobakterien, wie in der nachfolgenden Tabelle dargestellt.

<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	<i>Mycobacterium chimaera</i>
36 Nachweise (38,7%)	36 Nachweise (38,7%)	21 Nachweise (22,6%)

Tabelle 2: Klassifizierung der gefundenen nichttuberkulösen Mykobakterien von 2010 bis 2018

In der Aufschlüsselung der Nachweishäufigkeit der nichttuberkulösen Mykobakterien über den gesamten Beobachtungszeitraum von 9 Jahren zeigt sich ein höherer Anteil in den Jahren 2015 und 2016. In diesen beiden Jahren konnten mehr als einem Drit-

tel aller Gesamtnachweise festgestellt werden. Eine gesteigerte ‚Awareness‘ der Kliniker, insbesondere der Herz-Thorax Chirurgen und der Pneumologen gegenüber unklaren Infekten nach einer Thorax Operation und eine damit verbundene Erhöhung der mikrobiologischen Diagnostik-Untersuchungen, könnten diese Fallzahlen jedoch erklären.

Die Tabelle 3 zeigt Gesamtverteilung der oben beschriebenen 93 Nachweise des *M. avium-intracellulare* complex (MAC) aus den Jahren 2010 bis einschließlich 2018. Dabei erfolgt die Aufschlüsselung nach Nachweisjahr, Häufigkeit und prozentualem Anteil an MAC.

Nachweisjahr	Häufigkeit	Prozentualer Anteil
2010	5	5,4%
2011	11	11,8%
2012	6	6,5%
2013	9	9,7%
2014	10	10,8%
2015	18	19,4%
2016	14	15,1%
2017	10	10,8%
2018	10	10,8%
Gesamt	93	100%

Tabelle 3: Verteilung der MAC-Nachweise aufgeschlüsselt nach Nachweisjahr, Anzahl der Nachweise und ihrem prozentualen Anteil

Innerhalb der Geschlechtergruppen nimmt bei den Nachweisen der nichttuberkulösen Mykobakterien die Gruppe der männlichen Patienten mit 56 Nachweisen die deutlich größere Patientengruppe ein.

Wenngleich in allen Altersgruppen der betrachteten Patientengruppe Nachweise von MAC zu vorzufinden sind, finden sich kumulativ die meisten Nachweise in den Altersgruppen über 60 Jahre. Infolge dessen liegt das Durchschnittsalter (Mittelwert) der gefundenen MAC-Nachweise bei 58,9 Jahren und der Altersmedian der Nachweise bei 63 Jahren. Die Verteilung der Nachweise und des Alters zum Zeitpunkt des MAC-Nachweises ist in der nachfolgenden Tabelle 4 dargestellt.

Alter in Jahren zum Zeitpunkt des Nachweises	Anzahl		Alter in Jahren zum Zeitpunkt des Nachweises	Anzahl
1	1		61	2
2	4		62	3
5	1		63	4
14	1		64	2
16	1		65	3
28	1		66	1
34	1		67	1
35	1		68	1
38	1		70	2
39	1		71	3
41	1		72	2
44	1		73	2
46	1		74	4
48	2		75	6
49	2		76	4
50	3		77	2
52	2		78	2
55	3		79	1
56	2		81	2
57	1		82	3
59	4		84	4
60	3		85	1

Tabelle 4: Altersverteilung zum Zeitpunkt des MAC-Nachweises

Zum Zeitpunkt der Auswertungen der Patientenakten im Dezember 2018 konnte lediglich bei 44 Personen nachvollzogen werden, ob sie bereits verstorben waren. Zu 49 Personen konnten keine Angaben zum Überleben in den Patientenakten nachverfolgt werden. Dieses kann unterschiedliche Gründe haben. Zum einen stammten nicht alle Patienten aus der direkten Umgebung des Universitätsklinikums des Saarlandes, was eine Nachverfolgbarkeit schwierig gestaltet, zum anderen erfolgt eine Nachbehandlung auch in anderen Krankenhäusern der Umgebung bzw. in der ambulanten Versorgung des niedergelassenen Sektors. Von den oben genannten 44 Personen, zu denen ein Status ermittelbar ist, sind 25 Patienten – meist als Folge ihres Grundleidens – verstorben.

Die häufigsten Hauptdiagnosen, die im Rahmen der Sichtung der Patienten gefunden wurden, waren mit einem Drittel aller Patienten (n=32) Erkrankungen der Atemwege (CF, COPD, sonstige Lungenerkrankungen). Diesem hohen Anteil folgten koronare Herzkrankheiten (KHK) und Krebserkrankungen mit jeweils 10 Nennungen als Hauptdiagnose. Andere Erkrankungsbilder wie z.B. Morbus Wegener wurden nur vereinzelt als Hauptdiagnosen angeführt.

4.3 Monitoring technischer Proben

4.3.1 Monitoring der HCU

Die nachfolgend dargestellten Ergebnisse wurden in folgender Fachzeitschrift publiziert:

Schlotthauer U, Hennemann K, Gärtner BC, Schäfers HJ, Becker SL. Microbiological Surveillance of Heater-Cooler Units Used in Cardiothoracic Surgery for Detection of *Mycobacterium chimaera*. *Thorac Cardiovasc Surg.* 2022 Sep 27. doi: 10.1055/s-0042-1756630.

4.3.1.1 Ergebnisse der Wasseruntersuchungen der HCU

Die Gesamtstudie lief über 42 Monate und umfasste Proben aus sieben HCU. Die HCU 1 und die HCU 5 -beides 1T Geräte- mussten im Verlauf der Studie aus technischen Gründen stillgelegt werden. Da von beiden Geräten jedoch Ergebnisse aus sieben bzw. neun Quartalen vorlagen, wurden sie mit in die Studie aufgenommen.

Initial wurden die Proben vom Ersteller dieser Arbeit selbst entnommen und im Follow-up erfolgte die Probenahme durch den leitenden Kardiotechniker.

Insgesamt standen für den Zeitraum von 2015 bis 2018, 154 Probenergebnisse aus Wasseruntersuchungen der HCU unserer Auswertung zur Verfügung.

In allen Wasserproben konnten 83 Nachweise von Mykobakterien festgestellt werden. Hierin enthalten sind neben den Einzelnachweisen eines Mykobakteriums in der Probe auch Nachweise mehrerer Mykobakterienspezies in einer Probe. Die Häufigkeit der Nachweise und ihren Anteil an den Gesamtnachweisen ist in der folgenden Tabelle 6 dargestellt.

Spezies	Häufigkeit	Verteilung
<i>M. chimaera</i>	77	92,77 %
<i>M. chimaera und M. gordonae</i>	4	4,81 %
<i>M. chimaera und M. malmoense</i>	1	1,21 %
<i>M. chimaera und M. abscessus</i>	1	1,21 %

Tabelle 5: Verteilung der Mykobakterien nach ihrer Häufigkeit in den Proben als Einzelnachweise

In der folgenden Abbildung 7 wird die Verteilung der Nachweise in den jeweiligen HCU des UKS visualisiert. Sie zeigt, dass mit Ausnahme der HCU 7 in allen Geräten

immer Nachweise von nichttuberkulösen Mykobakterien geführt werden können. Bei der nicht belasteten HCU 7 handelt es sich um ein neues Gerät das für den Operationssaal der Kinderherzchirurgie angeschafft wurde.

	2015			2016				2017				2018		
	Quartal 2	Quartal 3	Quartal 4	Quartal 1	Quartal 2	Quartal 3	Quartal 4	Quartal 1	Quartal 2	Quartal 3	Quartal 4	Quartal 1	Quartal 2	Quartal 3
HCU 1	Keine Mykobakterien nachweisbar	Keine Untersuchung												
HCU 2	Keine Mykobakterien nachweisbar	M. chimaera/M. gordonae	Keine Mykobakterien nachweisbar	M. chimaera/M. gordonae	Keine Mykobakterien nachweisbar	Keine Mykobakterien nachweisbar	M. chimaera/M. absessus	Keine Mykobakterien nachweisbar	Keine Mykobakterien nachweisbar	Keine Untersuchung	Keine Mykobakterien nachweisbar	Keine Mykobakterien nachweisbar	Keine Untersuchung	Keine Mykobakterien nachweisbar
HCU 3	Keine Mykobakterien nachweisbar	Keine Mykobakterien nachweisbar	Keine Mykobakterien nachweisbar	Keine Mykobakterien nachweisbar	M. gordonae	Keine Mykobakterien nachweisbar	Keine Mykobakterien nachweisbar	Keine Mykobakterien nachweisbar	Keine Mykobakterien nachweisbar	Keine Untersuchung	Keine Mykobakterien nachweisbar	Keine Untersuchung	Keine Untersuchung	Keine Untersuchung
HCU 4	Keine Untersuchung	Keine Mykobakterien nachweisbar	Keine Mykobakterien nachweisbar	Keine Untersuchung	Keine Mykobakterien nachweisbar	M. chimaera/M. malmoense	Keine Untersuchung	Keine Mykobakterien nachweisbar						
HCU 5	Keine Mykobakterien nachweisbar	Keine Mykobakterien nachweisbar	Keine Mykobakterien nachweisbar	M. chimaera/M. gordonae	Keine Mykobakterien nachweisbar	Keine Untersuchung								
HCU 6	Keine Mykobakterien nachweisbar	Keine Mykobakterien nachweisbar	Keine Mykobakterien nachweisbar	Keine Untersuchung	Keine Mykobakterien nachweisbar									
HCU 7	Keine Untersuchung	Keine Mykobakterien nachweisbar	Keine Mykobakterien nachweisbar	Keine Untersuchung	Keine Mykobakterien nachweisbar									

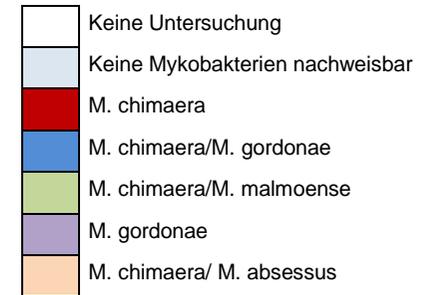


Abbildung 7: Verteilung der Untersuchungsergebnisse in den jeweiligen HCU des UKS, nach Schlotthauer et al. 2022 (Schlotthauer et al. 2022)

Die nachfolgende Tabelle 6 listet die Ergebnisse der intensivierten Surveillance der HCUs, eingeteilt in aufeinander folgende Jahresquartale, auf. Hier sind neben der Anzahl der jeweils untersuchten HCU auch die Anzahl der entnommenen Proben aufgelistet. Der Tabelle kann entnommen werden, dass über den gesamten Untersuchungszeitraum NTM und insbesondere *M. chimaera* in den HCU des UKS nachweisbar waren. Besonders deutlich zeigten sich hohe Nachweiszahlen in den Quartalen 2015 und im ersten Quartal 2016. Dieser Zeitraum beschreibt neben dem Beginn unserer Untersuchungen auch die Etablierung der neuen Desinfektionsmaßnahmen durch den Hersteller.

In den Untersuchungen der Jahre 2017 und 2018 zeigte sich, dass die Anzahl der positiven Nachweise von anderen nichttuberkulösen Mykobakterien außer *M. chimera* rückläufig sind.

	2015			2016				2017				2018			total
	Quartal 2	Quartal 3	Quartal 4	Quartal 1	Quartal 2	Quartal 3	Quartal 4	Quartal 1	Quartal 2	Quartal 3	Quartal 4	Quartal 1	Quartal 2	Quartal 3	
Anzahl der Untersuchungen	5	5	5	4	6	6	6	5	5	1	5	4	1	4	
Anzahl Wasserproben	19	7	11	12	16	19	20	14	6	1	11	13	1	4	154
Positive HCU (%)	100% (5)	80% (4)	80% (4)	100 % (4)	67% (4)	50% (3)	50% (3)	40 % (2)	60 % (3)	0	60 % (3)	50 % (2)	0	75 % (3)	
Positive Wasseruntersuchungen(%)	42% (8)	71% (5)	64% (7)	75% (9)	63% (10)	37% (7)	35% (7)	36% (5)	50 % (3)	0	55% (6)	62% (8)	0	75 % (3)	
Speziesidentifikation der Mykobakterien	<i>M. chimaera</i> (8)	<i>M. chimaera</i> (5); <i>M. gordonae</i> (1)	<i>M. chimaera</i> (7)	<i>M. chimaera</i> (9); <i>M. gordonae</i> (2)	<i>M. chimaera</i> (10); <i>M. gordonae</i> (1)	<i>M. chimaera</i> (7)	<i>M. chimaera</i> (7); <i>M. abscessus</i> (1)	<i>M. chimaera</i> (5)	<i>M. chimaera</i> (3)		<i>M. chimaera</i> (6)	<i>M. chimaera</i> (7); <i>M. malmoense</i> (1)		<i>M. chimaera</i> (3)	83

Tabelle 6: Mikrobiologische Untersuchungen des Wassers aus HCU für Herz-Thorax Operationen am UKS von 2015 bis 2018, nach Schlotthauer et al. 2022 (Schlotthauer et al. 2022)

4.3.1.2 Ergebnisse der Abstrichuntersuchungen

Zu Beginn der Untersuchungsreihe 2015 erfolgten Abstriche an allen fünf betriebenen HCU. Hier wurden alle Überläufe und die Konnektionsstellen der Patientenkreisläufe abgestrichen. Insgesamt konnten in den Untersuchungsreihen 19 Abstriche gewonnen und untersucht werden. In 21% (n=4) der Abstriche konnte dabei der Nachweis auf *M. chimaera* geführt werden. Andere nichttuberkulöse Mykobakterien wurden in diesen Untersuchungen nicht gefunden.

Nachdem im Herbst / Winter 2017 die vorhandenen HCU auf ein *Aerosol Collection Set* umgebaut wurden, erfolgten im Januar und Juli 2018 zwei zerstörerische Untersuchungen des Vakuumsystems (vgl. Abbildung 8) nach ihrem Einsatz an der HCU. Bei diesen Abstrichuntersuchungen wurden zusätzlich 11 Abstriche von der Restentleerung (oberer Pfeil) und von dem Auffangbehälter (unterer Pfeil) gewonnen. Bei drei der Abstriche konnten im Auffangbehälter (Container mit rotem Deckel), vor der Filtration der angesaugten Luft, *M. chimaera* gefunden werden. Hinter dem Filter wurden keine Nachweise auf nichttuberkulöse Mykobakterien gefunden.

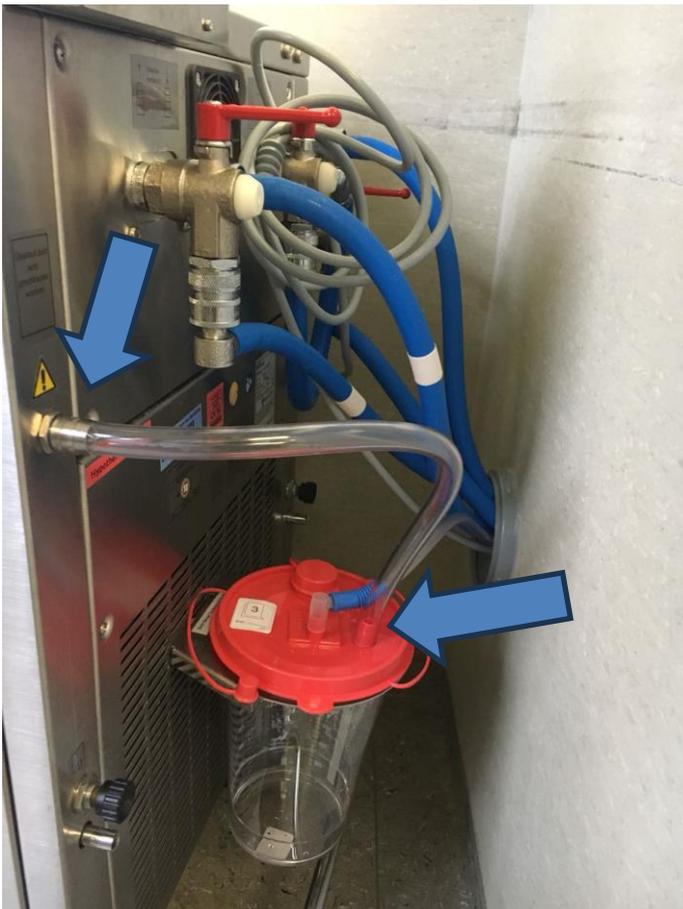


Abbildung 8: installiertes Vakuum-Sealing System an einer HCU (Schlotthauer et al. 2022)

4.3.1.3 Luftkeimuntersuchungen im OP-Trakt

Zu Beginn der Studie wurden auch im Operationstrakt in Gebäude 57 Luftkeimsammlungen durchgeführt. Um das deutlich größere Raumvolumen abzubilden, wurde die angesaugte Luftmenge von 200 Liter auf 1000 Liter erhöht.

Bei dieser Untersuchung konnten keine Mykobakterien in der Raumluft festgestellt werden.

4.3.2 Ergebnisse der ECMO-Untersuchungen

Die nachfolgend dargestellten Ergebnisse wurden in folgender Fachzeitschrift publiziert:

Trudzinski FC, Schlotthauer U, Kamp A, Hennemann K, Muellenbach RM, Reischl U, Gärtner B, Wilkens H, Bals R, Herrmann M, Lepper PM, Becker SL. Clinical implications of *Mycobacterium chimaera* detection in thermoregulatory devices used for extracorporeal membrane oxygenation (ECMO), Germany, 2015 to 2016. *Euro Surveill.* 2016 Nov 17;21(46):30398. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.46.30398.

Im Untersuchungszeitraum zwischen 2015 und 2016 konnten aus 10 unterschiedlichen Thermoregulatoren insgesamt 18 Proben gewonnen werden. In diesen Proben wurde neun Mal *M. chimaera* und in einer Probe zusätzlich auch *M. gordonae* nachgewiesen. Lediglich die beiden Geräte der Firma Maquet und eines der Deltastream Geräte von Medos wiesen keine Kontaminationen auf. In der folgenden Tabelle (Tabelle 7) sind die Einzelergebnisse aller mikrobiologischen Untersuchungen der Thermoregulatoren dargestellt.

Patient (n = 18)	Thermoregulator Gerät (n = 10)	Geräte Modell (Hersteller)	Proben-datum	Mikrosko-pie	Kultur	Detektierte Mykobakterien
1	1	Deltastream HC (Medos)	August 2015	Positiv (+ + +)	Positiv	<i>M. chimaera</i>
2	2	Deltastream HC (Medos)	August 2015	Negativ	Positiv	<i>M. chimaera</i>
3	3	HU35 (Maquet)	Dezember 2015	Negativ	Negativ	–
4	4	Deltastream HC (Medos)	Januar 2016	Negativ	Negativ	–
5	5	Deltastream HC (Medos)	Januar 2016	Positiv (+)	Positiv	<i>M. chimaera</i>
6	4	Deltastream HC (Medos)	Januar 2016	Negativ	Positiv	<i>M. chimaera</i>
7	6	Deltastream HC (Medos)	Januar 2016	Negativ	Negativ	–
8	7	HU35 (Maquet)	Januar 2016	Negativ	Negativ	–
9	4	Deltastream HC (Medos)	March 2016	Positiv (+)	Positiv	<i>M. chimaera</i> und <i>M. gordonae</i>
10	8	NovaTherm (NovaLung)	März 2016	Negativ	Negativ	–
11	9	Deltastream HC (Medos)	März 2016	Negativ	Negativ	–
12	4	Deltastream HC (Medos)	März 2016	Positiv (+ + +)	Positiv	<i>M. chimaera</i>
13	6	Deltastream HC (Medos)	März 2016	Negativ	Negativ	–
14	9	Deltastream HC (Medos)	April 2016	Negativ	Negativ	–
15	6	Deltastream HC (Medos)	April 2016	Negativ	Positiv	<i>M. chimaera</i>
16	8	NovaTherm (NovaLung)	April 2016	Negativ	Positiv	<i>M. chimaera</i>
17	9	Deltastream HC (Medos)	August 2016	Positive (+ +)	Positive	<i>M. chimaera</i>
18	10	Deltastream HC (Medos)	August 2016	Negativ	Negativ	–

Tabelle 7: Darstellung der mikrobiologischen Untersuchungen Ergebnisse in Thermoregulatoren (2015 - 2016) nach Trudzinski et al. 2016

4.3.3 Luftkeimsammlung

An drei unterschiedlichen Stellen der Intensivstation wurde eine Luftkeimsammlung durchgeführt. In keiner dieser Raumluftproben wurden nichttuberkulöse Mykobakterien nachgewiesen.

4.3.4 Ergebnisse aus der Umgebung und den Thermoregulatoren

Ebenso ergaben zwölf Abstrichuntersuchungen von der Oberfläche der Thermoregulatoren keinen Nachweis von *M. chimaera* oder andere nichttuberkulösen Mykobakterien.

4.3.5 Untersuchung der Trinkwasserhausinstallation

In drei Untersuchungsreihen wurden mikrobiologischen Untersuchungen des filtrierten Trinkwassers aus der Hausinstallation durchgeführt. Nichttuberkulöse Mykobakterien oder andere pathogene Erreger konnten dabei nicht in der Trinkwasserinstallation identifiziert werden.

4.3.6 Nachweise bei der Patientenuntersuchung

Von insgesamt 118 Patienten, die im Zeitraum zwischen April 2010 bis Juni 2016 eine ECMO-Behandlung erhielten, wurde bei 79 Patienten (67,0%) eine Untersuchung auf Mykobakterien in respiratorischen Materialien durchgeführt. Von männlichen Patienten stammten 40,5 % (n=32) und das durchschnittliche Alter aller Patienten lag bei 46,8 Jahren mit einer ermittelten Standardabweichung von $\pm 16,7$ Jahren. Im arithmetischen Mittel erfolgte die erforderliche ECMO-Therapie über 20,2 Tage, wobei die ECMO-Dauer von wenigen Tagen bis zu über 113 ECMO-Tagen lag.

Bei drei der vorgenannten 79 Patienten waren die mykobakteriellen Kulturen mit anderen Keimen kontaminiert, sodass die Proben in der Folge nicht weiter analysiert werden konnten. In einer weiteren der verbleibenden 76 Patientenproben fand sich *M. malmoense* und in drei Proben konnte *M. chimaera* identifiziert werden.

In der Folge werden diese drei Patienten näher dargestellt:

Bei dem ersten Patienten handelte es sich um einen männlichen Patienten Mitte 70 Jahre. In der Vorgeschichte war eine Bypass Operation bei einer koronaren Herzerkrankung (KHK) beschrieben. Aufgrund eines respiratorischen Krankheitssyndroms (ARDS) wurde er auf die pulmologische Intensivstation aufgenommen. Eine Untersuchung von respiratorischem Material, acht Tage bevor der Patient an die ECMO an-

geschlossen wurde, ergab keinen Nachweis von Mykobakterien. Im stationären Verlauf verschlechterte sich der Zustand des Patienten derart, dass eine ECMO-Therapie indiziert ist. Am fünften ECMO-Tag ist eine neuerliche BAL an das IMMH des Patienten eingesandt worden und in dieser Probe findet sich *M. chimaera*. Der Gesundheitszustand des Patienten verschlechterte sich auch unter der ECMO-Therapie weiter und er verstarb am 48ten ECMO-Tag.

Auch bei dem zweiten Patienten handelte es sich um einen jungen (Ende 20 Jahre) männlichen Patienten. Als Grundleiden wurde anamnestisch eine Leukämie diagnostiziert und eine Stammzellenspende erfolgte bereits. Ein zusätzliches Lungenleiden machte eine Lungentransplantation erforderlich und der Patient erhielt eine ECMO-Therapie als Bridging bis zur Transplantation. Initial lagen keine respiratorischen Vorfunde vor, die auf nichttuberkulöse Mykobakterien schließen lassen. Am sechsten ECMO-Tag erfolgte dann positiver Nachweis von *M. chimaera* in einem Bronchialaspirat. In der Folge wurden dem IMMH immer wieder Bronchialaspirate des Patienten eingesandt und in diesen Proben konnten dann keine Mykobakterien mehr festgestellt werden. Aufgrund seiner schlechten körperlichen Verfassung und eines fehlenden Spenderorgans verstirbt der Patient am 113 Tag unter einer fortgeführten ECMO-Therapie.

Bei dem dritten Patienten handelte es sich um eine weibliche Patientin im Alter von knapp über 30 Jahren. Die Patientin leidet unter einer Cystischen Fibrose (CF) und hat bereits eine Lungentransplantation erhalten. Sie wurde wegen einer bevorstehenden Re-Transplantation der Lunge auf die pneumologische Intensivstation aufgenommen. Ein Bronchialaspirat 11 Tage vor der ECMO-Therapie enthielt keine nichttuberkulösen Mykobakterien. Die Patientin verbrachte 40 Tage unter der ECMO-Therapie bis zur Transplantation. Im Rahmen einer Nachsorgeuntersuchung 250 Tage nach der ECMO-Therapie erfolgte der Patientin erneut eine Entnahme eines Bronchialaspirats. In dieser Probe ergibt sich dann ein positiver Nachweis auf *M. chimaera*.

Bei allen drei Patienten konnte nicht festgestellt werden, ob *M. chimaera* eine kausale Rolle im Krankheitsverlauf gespielt hat.

5 Diskussion

***M. chimaera*-Nachweise in HCUs**

Die Ergebnisse dieser Arbeit bestätigen, aufgrund der wiederholten Nachweise von *M. chimaera*, dass Mykobakterien in der Lage sind, einen Biofilm zu bilden und prolongiert auf Fremdkörperoberflächen nachweisbar zu bleiben. Auch wenn die Einsatzzeit einer HCU im Rahmen einer kardiochirurgischen Operation in der Regel mehrere Stunden beträgt, schließt daran meist eine lange Zeit der Stagnation an. Innerhalb dieser Stagnationszeit können evtl. in der HCU vorhandene Mykobakterien weiter einen Biofilm ausbilden und so über lange Zeiträume persistieren.

Oberstes Ziel einer Desinfektionsmaßnahme muss es daher sein, den Biofilm in den Geräten zu minimieren und bestenfalls komplett aufzulösen. Die eingesetzten Desinfektionsmaßnahmen müssen daher so gewählt werden, dass sie, neben den abgelösten, auch die Mykobakterien im Biofilm erreichen können. Um dieses zu erreichen müssen die eingesetzten Wirkstoffe jedoch auch Konzentrationen eingesetzt werden, die unter Umständen die Materialien in den Geräten schneller altern lassen. Dieser beschleunigte Alterungsprozess betrifft besonders Kunststoffe und Gummidichtungen, da dort Weichmacher durch die Desinfektionslösungen herausgelöst werden können. Das Material wird spröder, bricht schneller und sorgt damit für Defekte und auch für Ausfälle der HCU.

Eine Aufbereitung von wasserführenden Medizinprodukten, insbesondere Thermoregulatoren, gestaltet sich schwierig und ist zeitintensiv (SCHLOTTHAUER et al., 2017). Möglicherweise haben die Hersteller und Anwender von wasserführenden Medizinprodukten in der Vergangenheit das Potential einer Infektion durch solche Medizinprodukte als zu gering, bzw. auch als nicht vorhanden eingestuft.

Die Herstellerhinweise zur Aufbereitung von HCU sind seit Bekanntwerden des internationalen Ausbruchs 2015 mehrfach inhaltlich angepasst worden. Letztlich konnte durch den Umbau der HCU und Einbau eines Vacuum & Sealing Upgrades ein Stand erreicht werden, der ermöglicht, dass die Verwendung im Operationssaal von der US-amerikanischen FDA nicht mehr als kritisch angesehen wird (FDA U.S. FOOD & DRUG ADMINISTRATION, 2018).

Ungeachtet dessen wurden, von einer italienischen Arbeitsgruppe, die folgend aufgeführten Sicherheitsmaßnahmen für Stöckert 3T Geräte empfohlen:

- Vor der ersten Operation, zu der die HCU eingesetzt wird, sind alle Oberflächen und Schläuche zu desinfizieren
- Nach Beendigung einer jeden Operation muss eine Desinfektion aller Oberflächen erfolgen
- Arbeitstäglich ist die Kontrolle der Wasserstoffperoxid Konzentration im Tank durchzuführen und ggf. ist der Wasserstoffperoxidgehalt anzupassen
- Alle sieben Tage muss ein Wasserwechsel des Gerätes durchgeführt werden und eine Neubefüllung des Tanks mit einem Wasser / Wasserstoffperoxid Gemisch erfolgen
- Ebenfalls alle sieben Tage erfolgt eine Desinfektion der an den Überlauf angeschlossenen Flasche
- Alle 14 Tage Desinfektion des gesamten Wasserkreislaufes
- Jährlich Wechsel aller Schlauchsysteme
- Bei einem Nachweis von *M. chimaera* muss eine sofortige umfangreiche Desinfektion des gesamten Systems erfolgen

(DITOMMASO et al., 2020)

Nichttuberkulöse Mykobakterien wie *M. avium* oder *M. intracellulare* sind in der Lage, sich auch an glatten Oberflächen wie Edelstahl, Glas oder Kupferbeschichtungen anzuhängen und einen Biofilm auszubilden. Die im Biofilm anwesenden Mykobakterien zeigen dann auch eine erhöhte Resistenz gegen eingesetzte Desinfektionslösungen auf Chlorbasis. Diese erhöhte Resistenz verlieren die Mykobakterien jedoch, sobald sie aus dem Biofilm herausgelöst werden und sich in der Desinfektionslösung befinden. In den Versuchen von Steed und Falkinham wird diese Zeit mit etwa einem Tag beschrieben (STEED, FALKINHAM, 2006).

In Abhängigkeit der Oberfläche eines eingesetzten Werkstoffs, ändert sich auch seine Neigung einen Biofilm auszubilden. So beschreiben Schulze-Röbbecke und Fischeder den Nachweis verschiedener Mykobakterien (*M. kansasii*, und *M. flavescens*) in Wasserleitungen aus Silikon (SCHULZE-ROBBECKE, FISCHEDER, 1989).

Von der Arbeitsgruppe Walker und Marsh werden Biofilmbildungen in zahnärztlichen Behandlungseinrichtungen beschrieben. In diesen Einrichtungen sind überwiegend Materialien aus Kunststoffen verbaut, die eine große Oberfläche zur Ansiedlung

eines Biofilms bieten (WALKER, MARSH, 2007). Hat sich einmal ein Biofilm gebildet, so ist dieser nur schwer vollständig zu beseitigen.

Als einen effektiven Weg, um die pathogenen Erreger aus dem Gerät zu eliminieren, werden die Demontage der HCU, der komplette Austausch aller kontaminierten Schlauchleitungen und die gründliche Desinfektion empfohlen (CHAN et al., 2019; GARVEY et al., 2016). Das Ziel bei allen Desinfektions- und Aufbereitungsmaßnahmen muss es daher sein, die Bildung eines Biofilmes durch Mykobakterien zu vermeiden bzw. zu mindern.

Auch die Hersteller von Thermoregulatoren haben Anpassungen bei ihren Produkten vorgenommen. So wird jetzt bei einem Hersteller von der Notwendigkeit einer hochwirksamen Desinfektion beim Nachweis von atypischen Mykobakterien gesprochen. Während die routinemäßige Desinfektion unter Einsatz einer 2% Chloramin-T-Lösung erfolgt, muss bei der hochwirksamen Desinfektion die Chloramin-T-Lösung auf 5% erhöht werden. Zusätzlich zur 2,5-fachen Erhöhung der Desinfektionslösung hat der Hersteller auch die Einwirkzeit der Lösung deutlich erhöht. Nimmt eine routinemäßige Desinfektion eines Thermoregulators eine Zeit von etwa 1 bis 1 ½ Stunden in Anspruch, sind es bei einer hochwirksamen etwa 26 bis 28 Stunden. Eine solche Desinfektion lässt sich im klinischen Alltag nur bewältigen, wenn ausreichend Backup-Geräte zur Patientenversorgung zur Verfügung stehen. Ob diese deutliche Erhöhung der Desinfektionsleistung und die dabei lange Einwirkzeit Auswirkungen auf die Materialien der Geräte hat, ist noch nicht ausreichend untersucht (SCHLOTTHAUER et al., 2017).

Ditomaso et al. zeigen in einer Untersuchung, dass auch bei Einhaltung der Herstellerangaben nur eine Reduktion der Mykobakterien in der HCU erfolgt, jedoch keine vollständige Eradikation. In die Studie sind 29 HCU von zwei Herstellern (17 Stöckert 3T und 12 Maquet HCU 40) eingeschlossen. Bereits vor einer Desinfektion zeigen 50,9% der Proben einen positiven Nachweis auf NTM (81 von 154) und nach einer Desinfektion fanden sich immer noch in 78 von 140 Proben Nachweise von NTM.

Zusammenfassend weisen die Autoren darauf hin, dass bei wirksamen Desinfektionsprotokollen die einzige wirksame Methode zur Minimierung des Risikos einer NTM-Kontamination darin besteht, die Wasserqualität in der HCU genau zu überwachen und die HCU so sauber wie möglich zu halten. Ein regelmäßiger Wasserwechsel in der HCU und eine periodische Reinigung des Geräts mit einem chemischen Desinfektionsmittel gemäß den Anweisungen des Herstellers tragen dazu bei, die Wasserqualität zu verbessern und das Risiko einer Kontamination durch Aerosole zu verringern (DITOMMASO et al., 2020). In ähnlicher Weise beschreiben auch Quintas Viqueira et al. in einer Untersuchung, der 320 Wasseruntersuchungen aus HCU's zu Grunde liegen, dass die Desinfektion der Geräte nicht immer den Erfolg einer vollständigen Eliminierung von Mykobakterien erreicht hat. Die Autoren empfehlen, als eine sichere Möglichkeit eine Übertragung von Mykobakterien über die Luft zu verhindern, die Aufstellung der Geräte außerhalb des Operationssaals (QUINTAS VIQUEIRA et al., 2021).

Auch die in dieser Arbeit vorliegenden Untersuchungsergebnisse unterstreichen, dass die Desinfektionsmaßnahmen nur einen temporären Erfolg zeigen. Über den Zeitraum von 42 Monaten konnten trotz intensiver Desinfektionsmaßnahmen, nur vereinzelte negative Nachweise in den HCU geführt werden. Eine effektive Risikominimierung konnte an unserem Klinikum jedoch darüber erzielt werden, dass alle HCU durch die Modifikation des Herstellers abgedichtet und die HCUs außerhalb der OP-Säle platziert wurden (SCHLOTTHAUER et al., 2022).

Infektionsausbrüche mit nichttuberkulösen Mykobakterien – gerade auch im Zusammenhang mit Implantaten oder sonstigen Fremdkörpern – wurden auch schon vor der Veröffentlichung von Sax *et al.* beschrieben. Hier sind sowohl Einzelinfektionen im Rahmen von Organtransplantationen (PIERSIMONI, 2012), aber auch vermehrte Nachweise im Sputum von immunsupprimierten Patienten beispielhaft zu nennen (BABALIK et al., 2012). Hoffman et al. beschreiben bereits 1981 zwei postoperative Ausbrüche durch Mykobakterien. In einem Ausbruch entwickelten 19 von 80 Patienten eine Sternum-Infektion in Folge von kardiologischen Operationen. Als Agens der Infektion konnte dabei *M. chelonae* (jetzt taxonomisch *M. chelonae*) identifiziert wer-

den. Der zweite Ausbruch, den die Autoren beschreiben ist durch *M. fortuitum* verursacht und auch hier liegt die kardiologische Operation zugrunde. Für beide Ausbrüche beschreiben die Autoren, dass die Quelle der Ausbrüche nicht identifiziert werden konnte (HOFFMAN et al., 1981).

Die Untersuchung von nichttuberkulösen Mykobakterien in technischen Geräten, die in operativen oder in intensivmedizinischen Abteilungen eingesetzt werden, wurden lange Zeit unterschätzt bzw. nicht wahrgenommen. Eine rechtliche Vorgabe mit der Forderung, wasserführende medizinische Geräte auf nichttuberkulöse Mykobakterien regelmäßig zu untersuchen, fehlt in Deutschland gänzlich. Wie oben beschrieben hat sich die Aufmerksamkeit in Bezug auf *M. chimaera* erst durch die Nachweise im Rahmen des HCU-assoziierten Ausbruchsgeschehens in der Schweiz erhöht (SAX et al., 2015). Die schnell entdeckte Quelle für die Infektionen in der HCU und die durchgeführten Untersuchungen im Herstellungsbetrieb für HCUs durch Haller et al. haben gezeigt, dass diese Aufmerksamkeit begründet war (HALLER et al., 2016). Als primäres Vehikel der Transmission haben verschiedene Arbeitsgruppen die Übertragung über Aerosole und Tröpfchen identifiziert und beschrieben (GOTTING et al., 2016; SOMMERSTEIN et al., 2016).

In weiteren Ländern innerhalb und außerhalb Europas konnten tiefe Infektionen durch *M. chimaera* nach Operationen am geöffneten Thorax festgestellt werden (BURSLE et al., 2017; HAMAD et al., 2017; SCRIVEN et al., 2018; SOETAERT et al., 2016).

Als Folge dieser vermehrten Nachweise und dem internationalen Ausbruchsgeschehen mit *M. chimaera* in HCUs, haben die Hersteller solcher Geräte eine regelhafte Untersuchung empfohlen und die Aufbereitungshinweise wurden entsprechend angepasst (LIVANOVA, 2018). Zudem hat der Marktführer LivaNova seine Geräte grundlegend überarbeitet. Die Metallplatte oberhalb des Wassertanks konnte komplett abgedichtet werden, der obere Lüfter wurde funktionslos geschaltet und das gesamte System wurde mit einem Bakterienfiltersystem ausgestattet. Aufgrund dieser Änderungen erfolgte die Freigabe durch die FDA und die Geräte können seit dem wieder im Operationssaal verwendet werden (FDA U.S. FOOD & DRUG

ADMINISTRATION, 2018). Zusätzlich erfolgte von LivaNova ein ausdrücklicher Hinweis auf die Positionierung bzw. Ausrichtung der Geräte hin (vgl. Abbildung 9) (LIVANOVA USA INC., 2020). Sowohl Walker et al. als auch Sommerstein et al. hatten bereits vor der Veröffentlichung dieser Herstellerhinweise darauf hingewiesen, dass der Laminare Flow von Operationsdecken insuffizient ist, wenn eine HCU so ausgerichtet ist, dass die Abluft direkt in Richtung des Operationstisches strömt (SOMMERSTEIN et al., 2016; WALKER et al., 2017b).

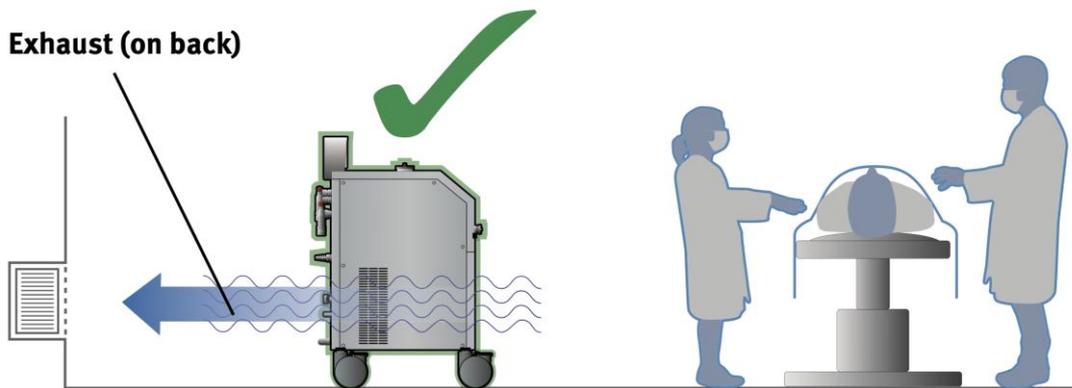


Abbildung 9: Ausrichtung der HCU bei der Operation (Quelle: LivaNova Heater-Cooling System 3T, Operating Instructions, Version 02-2020)

Die Untersuchungen von Haller et al. konnten zeigen, dass die Kontamination der HCU bereits im Rahmen der Produktion der Geräte stattfindet (HALLER et al., 2016). Da Mykobakterien Biofilme ausbilden und sich darin ansiedeln können (WALKER et al., 2017a), kann eine Eliminierung von Mykobakterien nur durch eine wirksame Desinfektion der Geräte erfolgen. Die Desinfektion der im Gerät befindlichen Flüssigkeiten kann aber nur Mykobakterien eliminieren, die sich a) in der Flüssigkeit selbst befinden, b) im Biofilm nur in der Höhe befinden, die auch von der Desinfektionsflüssigkeit erreicht wird c) wenn das wasserführende Schlauchsystem mit in die Desinfektionsmaßnahme eingebunden ist. Mykobakterien die sich oberhalb des Niveaus der Desinfektionslösung im Biofilm befinden werden nicht erreicht. Zudem könnten sich auch Mykobakterien in Dichtungen ansiedeln. Im Rahmen unserer Surveillance konnten wir sehen, dass verschiedene HCU mit nichttuberkulösen Mykobakterien kolonisiert bleiben. Auch die Umstellung auf die intensivierete Aufbereitung der Geräte zeigte keinen dauerhaften Erfolg. Diese Feststellung wird durch eine longitudinale Untersuchung von Schreiber et al. unterstützt. Die Autoren stellen fest, dass War-

tungsintervalle, die auf der regelmäßigen Anwendung von chemischen Desinfektionsmitteln beruhen, nicht ausreichend sind, um die Vermehrung von Mykobakterien in den HCU zu vermeiden. Sie empfehlen daher, neue Wartungs- und Desinfektionsprotokolle zu etablieren und diese auf ihre Wirksamkeit hin zu überprüfen (SCHREIBER et al., 2022).

Als eine der effektivsten Maßnahmen zur Vermeidung von tiefen Infektionen durch Mykobakterien bei Thoraxoperationen hat sich die Standortwahl für die HCU außerhalb des Operationsraumes erwiesen (GÖTTING, EBNER, 2016). Dieser Ansatz wurde auch in unserem Klinikum gewählt. Auch wenn hierdurch eine verbesserte Infektionskontrolle erzielt werden kann, so kommt es im Zuge dessen doch zu vermehrten technischen Problemen an den Geräten. Verlängerte Schlauchleitungen führen dazu, dass das Wasser auf dem Weg zur Herz-Lungen-Maschine schneller auskühlt. Diesen physikalischen Einfluss muss die HCU durch die Produktion höherer Temperaturen kompensieren, was dazu führt, dass die Geräte dauerhaft unter Volllast arbeiten.

***M. chimaera*-Nachweise in ECMO-Thermoregulatoren**

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass die Möglichkeit einer Übertragung von Thermoregulatoren, die mit *M. chimaera* kontaminiert sind, auf den Patienten zumindest theoretisch gegeben ist. Besonders bei Patienten die unter einer Immunsuppression leiden, sind für eine Besiedelung mit *M. chimaera*, wenn auch nur temporär, prädisponiert. Eine tatsächlich erfolgte Übertragung bzw. der eigentliche Transmissionsweg konnte in unserer Studie jedoch nicht detailliert untersucht werden. Eine Arbeitsgruppe aus Birmingham hatte 2017 ebenfalls Untersuchungen an Thermoregulatoren durchgeführt. Neben dem Nachweis von gramnegativen Erregern und Nonfermentern (*Pseudomonas* spp.) erfolgte auch dort der Nachweis von *M. chimaera*. Die Arbeitsgruppe unterstrich jedoch, dass das Risiko der Übertragung auf den Patienten gering ist. Im weiteren wiesen sie jedoch darauf hin, dass eine Dekontamination der Thermoregulatoren essentiell ist um das mögliche Risiko zu minimieren (GARVEY et al., 2017). Weitere Studien, die den Fokus auf die Transmission von *M. chimaera* bei Thermoregulator legen, sind erforderlich, um das Risiko für ECMO-Patienten gering zu halten.

Auch Hersteller von Thermoregulatoren, wie die Firma Getinge (Maquet), haben ihre Aufbereitungshinweise zwischenzeitlich derart angepasst, dass bei einem Nachweis von nichttuberkulösen Mykobakterien eine besondere Aufbereitung erfolgen muss. Diese Aufbereitung dauert dann bis zu 28 Stunden und somit etwa 25 Stunden länger als bei Geräten, in denen keine nichttuberkulösen Mykobakterien nachgewiesen wurden. Diese Empfehlung wurde gegeben, obwohl eine Empfehlung zur Untersuchung auf nichttuberkulöse Mykobakterien vom Hersteller nicht explizit ausgesprochen wird (MAQUET, 2019). Somit liegt die Verantwortung, ob auf nichttuberkulöse Mykobakterien untersucht wird, alleinig beim Anwender des Thermoregulators. Die Betreiber von Medizinprodukten (die Geräte fallen unter das Medizinproduktegesetz und somit unter die Medizinproduktebetreiber-Verordnung) sind jedoch verpflichtet, die Vorgaben der Hersteller zur Aufbereitung der Geräte einzuhalten (BUNDESMINISTERIUM FÜR GESUNDHEIT, 2018).

Die technischen Herausforderungen, in der korrekten Aufarbeitung, wurden auch durch den Ersteller dieser Dissertation in einer spezifisch krankenhaushygienischen Publikation detailliert dargestellt (SCHLOTTHAUER et al., 2017).

Klinische Fälle

Für Deutschland weist das Robert Koch-Institut in Berlin elf bestätigte Fälle bis 2018 von *M. chimaera* Infektionen aus (ROBERT KOCH-INSTITUT (RKI), 2019). Dieser Datenstand zeigt zum einen, dass die Dynamik in diesem Infektionsgeschehen zumindest in Deutschland nachgelassen zu haben scheint. Zum anderen lässt es aber auch vermuten, dass nicht alle Fälle immer in einen Kontext mit dem Ausbruchsgeschehen gebracht wurden. Somit scheint eine Untererfassung von *M. chimaera* Infektionen in Deutschland wahrscheinlich. In der internationalen Literatur werden aktuell immer noch regelmäßig neue *M. chimaera* Nachweise berichtet, sodass davon ausgegangen werden kann, dass immer noch Übertragungen stattfinden bzw. in der näheren Vergangenheit stattgefunden haben.

Schönfeld et al. vermutet 2013, dass das männliche Geschlecht als ein prädisponierender Faktor für den Erwerb einer nichttuberkulösen Mykobakteriose angesehen

werden kann. Als weitere beeinflussende Faktoren werden vorbestehenden Lungenerkrankungen, systemische Abwehrschwächen und genetisch bedingte erhöhte Empfänglichkeiten beschrieben (SCHONFELD et al., 2013).

Die Übersichtsarbeit von Wetzstein et al. beschreibt aktuell 180 beschriebene Infektionsfälle mit *M. chimaera* weltweit, die im Zusammenhang mit dem Einsatz von HCUs stehen. Als mittlerer Zeitraum zwischen der Operation und den ersten Symptomen werden 17 Monate, bei einem Interquartilsabstand von 13 bis 26 Monaten, ermittelt. Die Gesamtmortalität bei den Infektionen mit *M. chimaera* liegt demnach bei 45,5 % mit einer medianen Überlebenszeit von 24 Monaten nach Beginn der antimykobakteriellen Therapie oder Diagnose (WETZSTEIN et al., 2023).

Limitationen

Unsere Untersuchungen unterliegen dokumentarischen und biologischen Limitationen, die in der Folge näher dargestellt werden.

Die retrospektive Analyse von bereits vorhanden Daten birgt immer ein Risikopotential, da die ursprüngliche Datenerhebung keinem standardisierten Protokoll gefolgt ist. Daher ist es auch nicht möglich, im Rahmen retrospektiver Arbeiten Kausalzusammenhänge abzuleiten. In der hier vorliegenden Arbeit war beispielsweise nicht immer aus der Patientendokumentation ersichtlich, ob ein Patient bereits verstorben war. Nur wenn der betreffende Patient im UKS verstorben war, wurde der Status entsprechend in die elektronische Patientenakte übernommen. Teilweise können dem Klinikum hierzu auch keine Informationen vorliegen, da die Patientenwohnorte der Beobachtungsgruppe aus ganz Deutschland stammen und bei den Patienten nach ihrer Operation die Nachsorge in Wohnortnähe erfolgt.

Zu Beginn unserer technischen Untersuchungen gab es kein kommerziell angebotenes Fertignährmedium. Die Beschaffung eines Trockensubstrates gestaltete sich schwierig und eine eigene Qualitätssicherung für dieses Nähmedium musste erst erarbeitet werden.

Nachdem bereits erste technische Untersuchungen am UKS durchgeführt wurden, erfolgte von der europäischen Gesundheitsbehörde ECDC die Publikation eines Protokolls für die Untersuchung von Wasserproben aus HCU. Das Protokoll des ECDC

empfiehlt zur Untersuchung die Verwendung von 1000 ml Wasser aus dem Vorrats-tank der HCU. Infolge einer internen Abwägung hatten wir uns, aus pragmatischen Gesichtspunkten, dazu entschlossen, von der empfohlenen Entnahmemenge abzuweichen. Unsere Nachweise stammen alle aus einem Probevolumen von 250 ml Wasser.

Zwei Thermoregulatoren (ein Gerät Maquet HU 35 und ein Gerät der Marke Del-tastream) konnten nur einmalig getestet werden, da es sich um geliehene Geräte handelte. Daher lagen hierzu keine Follow-Up Ergebnisse vor, die für oder gegen einen Desinfektionserfolg sprachen.

Abschließend konnte bei der retrospektiven mikrobiologischen Aufarbeitung von Nachweisen des *M. avium-intracellulare* complex nicht jedes mykobakterielle Isolat erneut angezüchtet werden, da eine neuerliche Anzucht nach jahrelanger Lagerung in einem Kryomedium bei -80°C nicht immer erfolgreich war.

Fazit

Kontaminationen mit *M. chimaera* konnten sowohl bei HCU als auch bei ECMO-Thermoregulatoren regelhaft nachgewiesen werden, auch wenn nicht jeder Nachweis direkt mit einer Patientengefährdung einhergeht. Bei Thermoregulatoren liegen bisher keine wissenschaftlichen Arbeiten vor, die den Ort der Kontamination eindeutig belegen. Daher scheint die Möglichkeit gegeben, dass die Kontamination im Rahmen von beispielsweise insuffizienten Aufbereitungen der Thermoregulatoren stattgefunden haben könnten. Gerade hier müssen weitere Studien erfolgen, um Belege für oder gegen eine stattgefundene Transmission zwischen einem mit NTM kontaminierten Thermoregulator und einer Besiedlung oder Infektion des Patienten zu finden. Dies könnte dann im Rahmen prospektiver Untersuchungen erfolgen, bei der alle Prozesse und Prozeduren, die der Patient während seines stationären Aufenthaltes durchläuft, mit gezielten mikrobiologischen Untersuchungen begleitet wird.

Die Weiterentwicklung und der Einsatz sowohl der Desinfektion bereits vorhandener Verfahren der Hypothermiegeräte als auch neuer Verfahren zur Gewährleistung der Hypothermie bei der Operation am geöffneten Thorax, sollte aus mikrobiologischer Sicht weiterhin engmaschig begleitet werden. Hier muss der Fokus auch auf der Weiterentwicklung von methodischen Untersuchungsansätzen liegen, um Ergebnisse z.B. aus Proben des Wassers von HCU, zeitnaher zu liefern, um somit auch ein Transmissionsrisiko zu reduzieren.

Auch wenn durch die technische Umgestaltung der HCU die Möglichkeit der aerogenen Transmission minimiert wurde, kann die Freisetzung von *M. chimaera* aus der HCU nie ganz ausgeschlossen werden. Es muss daher nach der Möglichkeit gesucht werden, grundsätzlich in Operationssälen und anderen Risikobereichen mit besonders vulnerablen Patienten (z.B. Intensivstationen), auf wasserführende Medizinprodukte zu verzichten.

Schlussfolgerung

Wasserführende Medizinprodukte in Operationseinheiten oder im Einsatz auf Intensivstationen können ein Risiko für Infektionen darstellen. Regelmäßige Untersuchungen auf NTM sind von den Herstellern nicht gefordert und liegen daher in der Eigenverantwortung des Betreibers. Gerade vor dem Hintergrund, dass Infektionen durch NTM mit einer langen Inkubationszeit einhergehen und daher oft unentdeckt bleiben, sollten vom Gesetzgeber einheitliche Vorgaben für wasserführende Geräte in diesen kritischen Bereichen erlassen werden. Neben der Untersuchungsfrequenz müssen dabei auch Angaben zur einheitlichen Methodik der Untersuchungsverfahren getroffen werden. Um ein Infektionsrisiko weiter zu minimieren, sind die Hersteller aufgefordert nach alternativen Lösungen zu suchen. Hier sollten im Besonderen Ansätze verfolgt werden, die auf den Einsatz von Wasser mit langen Standzeiten in den Geräten verzichten.

6 Literaturverzeichnis

1. Achermann Y, Rossle M, Hoffmann M, Deggim V, Kuster S, Zimmermann DR, Bloemberg G, Hombach M, Hasse B (2013) Prosthetic valve endocarditis and bloodstream infection due to *Mycobacterium chimaera*. J Clin Microbiol 51:1769-1773
2. Babalik A, Kuyucu T, Ordu EN, Ernam D, Partal M, Koksalan K (2012) Non-tuberculous mycobacteria infection: 75 cases. Tuberk Toraks 60:20-31
3. Balsam LB, Louie E, Hill F, Levine J, Phillips MS (2017) *Mycobacterium chimaera* left ventricular assist device infections. J Card Surg 32:402-404
4. Bange FC, Hahn H, Kaufmann SHE, Ulrichs T (2016). Mykobakterien. In Suerbaum S., Burchard GD., Kaufmann S., Schulz T. (eds) Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie (Springer, Berlin, Heidelberg), pp. 337 - 350.
5. Becker SL, Schlotthauer U, Schafers HJ, Bals R, Trudzinski FC (2019) Epidemiology, Clinical Presentation, Diagnosis and Treatment of Infections Caused by *Mycobacterium chimaera*. Pneumologie
6. Bundesinstitut für Risikobewertung (2020). Mykobakterien (<https://www.bfr.bund.de/de/mykobakterien-54358.html>, Bundesinstitut für Risikobewertung)
7. Bundesministerium für Gesundheit (2018). Verordnung über das Errichten, Betreiben und Anwenden von Medizinprodukten (Medizinprodukte-Betreiberverordnung - MPBetreibV) (<https://www.gesetze-im-internet.de/mpbetreibv/MPBetreibV.pdf>, Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz)
8. Bundesministerium für Gesundheit (2019). Trinkwasserverordnung in der Fassung der Bekanntmachung vom 10.März 2016, zuletzt geändert durch Artikel 1 der Verordnung vom 20. Dezember 2019
9. Bursle E, Playford EG, Coulter C, Griffin P (2017) First Australian case of disseminated *Mycobacterium chimaera* infection post-cardiothoracic surgery. Infection, Disease & Health 22:1-5
10. Chan T, Ling ML, Teng SY, Chiu KY, James EM (2019) Microbiological monitoring of heater-cooler unit to keep free of *Mycobacterium chimaera* infection. Perfusion 34:9-14
11. Chand M, Lamagni T, Kranzer K, Hedge J, Moore G, Parks S, Collins S, Del Ojo Elias C, Ahmed N, Brown T, Smith EG, Hoffman P, Kirwan P, Mason B, Smith-Palmer A, Veal P, Lalor MK, Bennett A, Walker J, Yeap A, Isidro Carrion Martin A, Dolan G, Bhatt S, Skingsley A, Charlett A, Pearce D, Russell K, Kendall S, Klein AA, Robins S, Schelenz S, Newsholme W, Thomas S, Collyns T, Davies E, McMenamin J, Doherty L, Peto TE, Crook D, Zambon M, Phin N (2017) Insidious Risk of Severe *Mycobacterium chimaera* Infection in Cardiac Surgery Patients. Clin Infect Dis 64:335-342
12. Cohen-Bacrie S, David M, Stremler N, Dubus JC, Rolain JM, Drancourt M (2011) *Mycobacterium chimaera* pulmonary infection complicating cystic fibrosis: a case report. J Med Case Rep 5:473
13. Deutsches Institut für Normung e.V. (2018). DIN EN ISO 11133:2018-07, Mikrobiologie von Lebensmitteln, Futtermitteln und Wasser - Vorbereitung, Herstellung, Lagerung und Leistungsprüfung von Nährmedien (Beuth Verlag, Berlin)

14. DIN EN ISO 19458 (2006). Wasserbeschaffenheit - Probenahme für mikrobiologische Untersuchungen (ISO 19458:2006), e.V. DIfN, ed. (Beuth Verlag GmbH, Deutsches Institut für Normung)
15. Ditommaso S, Giacomuzzi M, Memoli G, Zotti CM (2020) Failure to eradicate non-tuberculous mycobacteria upon disinfection of heater-cooler units: results of a microbiological investigation in northwestern Italy. *J Hosp Infect*
16. European Centre for Disease Prevention and Control (2015). EU protocol for case detection, laboratory diagnosis and environmental testing of *Mycobacterium chimaera* infections potentially associated with heater-cooler units: case definitions and environmental testing methodology, (ECDC) ECfDPaC, ed.
(<https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/EU-protocol-for-M-chimaera.pdf>)
17. FDA U.S. Food & Drug Administration (2018). Update: Availability of Deep-Cleaning Service of Certain LivaNova PLC (formerly Sorin Group Deutschland GmbH) Stöckert 3T Heater-Cooler Systems in the U.S.: FDA Safety Communication (<https://www.fda.gov/medical-devices/safety-communications/update-availability-deep-cleaning-service-certain-livanova-plc-formerly-sorin-group-deutschland-gmbh>, FDA U.S. Food & Drug Administration)
18. FDA U.S. Food & Drug Administration (2020). FDA's Ongoing Evaluation and Continued Monitoring of Reports of Nontuberculous Mycobacteria Infections Associated with Heater-Cooler Devices (<https://www.fda.gov/medical-devices/what-heater-cooler-device/fdas-ongoing-evaluation-and-continued-monitoring-reports-nontuberculous-mycobacteria-infections>, U.S. Food & Drug Administration)
19. Garvey MI, Ashford R, Bradley CW, Bradley CR, Martin TA, Walker J, Jumaa P (2016) Decontamination of heater-cooler units associated with contamination by atypical mycobacteria. *J Hosp Infect* 93:229-234
20. Garvey MI, Phillips N, Bradley CW, Holden E (2017) Decontamination of an Extracorporeal Membrane Oxygenator Contaminated With *Mycobacterium chimaera*. *Infection Control & Hospital Epidemiology* 38:1244-1246
21. Gotting T, Klassen S, Jonas D, Benk C, Serr A, Wagner D, Ebner W (2016) Heater-cooler units: contamination of crucial devices in cardiothoracic surgery. *J Hosp Infect* 93:223-228
22. Götting T, Ebner W (2016) Es (f)liegt was in der Luft – Mykobakterien im Herz-OP. *Krankenhaushygiene update* 11:83-98
23. Haller S, Holler C, Jacobshagen A, Hamouda O, Abu Sin M, Monnet DL, Plachouras D, Eckmanns T (2016) Contamination during production of heater-cooler units by *Mycobacterium chimaera* potential cause for invasive cardiovascular infections: results of an outbreak investigation in Germany, April 2015 to February 2016. *Euro Surveill* 21
24. Hamad R, Noly PE, Perrault LP, Pellerin M, Demers P (2017) *Mycobacterium chimaera* Infection After Cardiac Surgery: First Canadian Outbreak. *Ann Thorac Surg* 104:e43-e45
25. Hasse B, Hannan MM, Keller PM, Maurer FP, Sommerstein R, Mertz D, Wagner D, Fernandez-Hidalgo N, Nomura J, Manfrin V, Bettex D, Hernandez Conte A, Durante-Mangoni E, Tang TH, Stuart RL, Lundgren J, Gordon S, Jarashow MC, Schreiber PW, Niemann S, Kohl TA, Daley CL, Stewardson AJ, Whitener CJ, Perkins K, Plachouras D, Lamagni T, Chand M, Freiburger T,

- Zweifel S, Sander P, Schulthess B, Scriven JE, Sax H, van Ingen J, Mestres CA, Diekema D, Brown-Elliott BA, Wallace RJ, Jr., Baddour LM, Miro JM, Hoen B, and McIl, Committee IE, Athan E, Bayer A, Barsic B, Corey GR, Chu VH, Durack DT, Fortes CQ, Fowler V, Hoen B, Krachmer AW, Durante-Magnoni E, Miro JM, Wilson WR, Infectious Diseases S, Hospital E, Microbiologists, Molecular Typing S, Cardiac Surgeons/ Perfusionists C, Ophthalmology, Anaesthesiologists, Public H (2020) International Society of Cardiovascular Infectious Diseases Guidelines for the Diagnosis, Treatment and Prevention of Disseminated *Mycobacterium chimaera* Infection Following Cardiac Surgery with Cardiopulmonary Bypass. J Hosp Infect 104:214-235
26. Hoffman PC, Fraser DW, Robicsek F, O'Bar PR, Mauney CU (1981) Two outbreaks of sternal wound infection due to organisms of the *Mycobacterium fortuitum* complex. J Infect Dis 143:533-542
 27. Inojosa WO, Minniti G, Scotton PG (2020) Is *Mycobacterium chimaera* Infection After Cardiac Surgery a Risk Factor for Bacterial Prosthetic Valve Endocarditis? Clin Infect Dis 70:991-992
 28. LivaNova (2018). LivaNova implements 3T heater-cooler device modification
 29. LivaNova Deutschland GmbH (2017). Operating Instructions, Heater-Cooler System 3T
 30. LivaNova USA Inc. (2020). Heater-Cooling System 3T Operating Instructions (https://livanovamediaproduct.azureedge.net/livanova-media/livanova-public/media/resources01/cp_ifu_16-xx-xx_usa_021.pdf?ext=.pdf)
 31. Mak E, Sng LH, Meng BLW, Peh JW, Colman RE, Seifert M (2020) The effect of sodium thiosulfate on the recovery of *Mycobacterium chimaera* from heater-cooler unit water samples. J Hosp Infect
 32. Maquet (2019). Gebrauchsanweisung Hyperthermiegerät HU 35 (<https://www.manualslib.com/products/Maquet-Hu-35-9239800.html>, Maquet Cardiopulmonary GmbH, 76437 Rastatt)
 33. Mikrobiologisch-infektiologische Qualitätsstandards (MiQ) (2010). MiQ 5 Tuberkulose Mykobakteriose. In Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik (Elsevier Urban & Fischer, München)
 34. Piersimoni C (2012) Nontuberculous mycobacteria infection in solid organ transplant recipients. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 31:397-403
 35. Quintas Viqueira A, Perez Romero C, Toro Rueda C, Sanchez Calles AM, Blazquez Gonzalez JA, Alejandre Leyva M (2021) *Mycobacterium chimaera* in heater-cooler devices: an experience in a tertiary hospital in Spain. New Microbes New Infect 39:100757
 36. Robert Koch-Institut (RKI) (2019). Informationen zu einem internationalen Ausbruchsgeschehen mit nicht-tuberkulösen Mykobakterien im Zusammenhang mit Temperaturregulierungsgeräten bei Herzoperationen (https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/Aufb_MedProd/Mycobacterium_chimaera.html, Robert Koch Institut (RKI) Berlin)
 37. Robert-Koch-Institut (RKI) (2015). Informationen zu einem internationalen Ausbruchsgeschehen mit nicht-tuberkulösen Mykobakterien im Zusammenhang mit Temperaturregulierungsgeräten bei Herzoperationen. In Epidemiologisches Bulletin (https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2015/Ausgaben/20_15.pdf?__blob=publicationFile), pp. 165
 38. Robert-Koch-Institut (RKI) (2020). Robert Koch: Der Mitbegründer der Mikrobiologie

- (https://www.rki.de/DE/Content/Institut/Geschichte/Robert_Koch.html, Robert-Koch-Institut)
39. Sax H, Bloemberg G, Hasse B, Sommerstein R, Kohler P, Achermann Y, Rossle M, Falk V, Kuster SP, Bottger EC, Weber R (2015) Prolonged Outbreak of *Mycobacterium chimaera* Infection After Open-Chest Heart Surgery. Clin Infect Dis 61:67-75
 40. Schlotthauer U, Trudzinski FC, Gärtner B, Lepper PM, Becker SL, Hennemann K (2017) Desinfizierende Aufbereitung von ECMO-Thermoregulationsgeräten bei Nachweis von *Mycobacterium chimaera*. Hygiene & Medizin 42:D123-D126
 41. Schlotthauer U, Hennemann K, Gartner BC, Schafers HJ, Becker SL (2022) Microbiological Surveillance of Heater-Cooler Units Used in Cardiothoracic Surgery for Detection of *Mycobacterium chimaera*. Thorac Cardiovasc Surg
 42. Schmid C, Philipp A (2011a). Extrakorporale Membranoxygenierung. In Leitfaden extrakorporale Zirkulation, Schmid C, A Philipp, eds. (Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg), pp. 83-95.
 43. Schmid C, Philipp A (2011b) Leitfaden Extrakorporale Zirkulation, Springer, Berlin, Heidelberg).
 44. Schonfeld N, Haas W, Richter E, Bauer TT, Bos L, Castell S, Hauer B, Magdorf K, Matthiessen W, Mauch H, Reuss A, Rusch-Gerdes S, Zabel P, Dalhoff K, Schaberg T, Loddenkemper R (2013) [Recommendations for diagnosis and treatment of nontuberculous mycobacterioses of the German Central Committee against tuberculosis and the German Respiratory Society]. Pneumologie 67:605-633
 45. Schreiber PW, Zihlmann R, Scharer V, Hasse B, Imkamp F, Schulthess B, Sander P, Zingg W (2022) Longitudinal increase in the detection rate of *Mycobacterium chimaera* in heater-cooler device-derived water samples. J Hosp Infect 131:190-193
 46. Schulze-Robbecke R, Fischeider R (1989) Mycobacteria in biofilms. Zentralbl Hyg Umweltmed 188:385-390
 47. Scriven JE, Scobie A, Verlander NQ, Houston A, Collyns T, Cajic V, Kon OM, Mitchell T, Rahama O, Robinson A, Withama S, Wilson P, Maxwell D, Agranoff D, Davies E, Llewelyn M, Soo SS, Sahota A, Cooper M, Hunter M, Tomlins J, Tiberi S, Kendall S, Dediccoat M, Alexander E, Fenech T, Zambon M, Lamagni T, Smith EG, Chand M (2018) *Mycobacterium chimaera* infection following cardiac surgery in the United Kingdom: clinical features and outcome of the first 30 cases. Clin Microbiol Infect
 48. Soetaert K, Vluggen C, Andre E, Vanhoof R, Vanfleteren B, Mathys V (2016) Frequency of *Mycobacterium chimaera* among Belgian patients, 2015. J Med Microbiol 65:1307-1310
 49. Sommerstein R, Ruegg C, Kohler P, Bloemberg G, Kuster SP, Sax H (2016) Transmission of *Mycobacterium chimaera* from Heater-Cooler Units during Cardiac Surgery despite an Ultraclean Air Ventilation System. Emerg Infect Dis 22:1008-1013
 50. Steed KA, Falkinham JO, 3rd (2006) Effect of growth in biofilms on chlorine susceptibility of *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium intracellulare*. Appl Environ Microbiol 72:4007-4011
 51. Stokes G, Overton K, Post JJ (2020) Update on cluster of invasive *Mycobacterium chimaera* infections following cardiac surgery. Intern Med J 50:889-890

52. Tortoli E, Rindi L, Garcia MJ, Chiaradonna P, Dei R, Garzelli C, Kroppenstedt RM, Lari N, Mattei R, Mariottini A, Mazzarelli G, Murcia MI, Nanetti A, Piccoli P, Scarparo C (2004) Proposal to elevate the genetic variant MAC-A, included in the *Mycobacterium avium* complex, to species rank as *Mycobacterium chimaera* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 54:1277-1285
53. Trautman C, Da Costa JR, Cortese C, Aslam N (2020) Prosthetic valve endocarditis from *Mycobacterium chimaera* infection causing granulomatous interstitial nephritis. *IDCases* 20:e00733
54. van Ingen J, Kohl TA, Kranzer K, Hasse B, Keller PM, Katarzyna Szafranska A, Hillemann D, Chand M, Schreiber PW, Sommerstein R, Berger C, Genoni M, Ruegg C, Troillet N, Widmer AF, Becker SL, Herrmann M, Eckmanns T, Haller S, Holler C, Debast SB, Wolfhagen MJ, Hopman J, Kluytmans J, Langelaar M, Notermans DW, Ten Oever J, van den Barselaar P, Vonk ABA, Vos MC, Ahmed N, Brown T, Crook D, Lamagni T, Phin N, Smith EG, Zambon M, Serr A, Gotting T, Ebner W, Thurmer A, Utpatel C, Sproer C, Bunk B, Nubel U, Bloemberg GV, Bottger EC, Niemann S, Wagner D, Sax H (2017) Global outbreak of severe *Mycobacterium chimaera* disease after cardiac surgery: a molecular epidemiological study. *Lancet Infect Dis* 17:1033-1041
55. Voelker R (2016) Heater-Cooler Cautions Updated. *JAMA* 316:2474
56. Walker J, Moore G, Collins S, Parks S, Garvey MI, Lamagni T, Smith G, Dawkin L, Goldenberg S, Chand M (2017a) Microbiological problems and biofilms associated with *Mycobacterium chimaera* in heater-cooler units used for cardiopulmonary bypass. *Journal of Hospital Infection* 96:209-220
57. Walker JT, Marsh PD (2007) Microbial biofilm formation in DUWS and their control using disinfectants. *J Dent* 35:721-730
58. Walker JT, Lamagni T, Chand M (2017b) Evidence that *Mycobacterium chimaera* aerosols penetrate laminar airflow and result in infections at the surgical field. *Lancet Infect Dis* 17:1019
59. Warnke P, Frickmann H, Ottl P, Podbielski A (2014) Nasal screening for MRSA: different swabs--different results! *PLoS One* 9:e111627
60. Wetzstein N, Kohl TA, Diricks M, Mas-Peiro S, Holubec T, Kessel J, Graf C, Koch B, Herrmann E, Vehreschild M, Hogardt M, Niemann S, Stephan C, Wichelhaus TA (2023) Clinical characteristics and outcome of *Mycobacterium chimaera* infections after cardiac surgery: systematic review and meta-analysis of 180 heater-cooler unit-associated cases. *Clin Microbiol Infect*

7 Publikationen

Schlotthauer U, Hennemann K, Gärtner BC, Schäfers HJ, Becker SL. Microbiological Surveillance of Heater-Cooler Units Used in Cardiothoracic Surgery for Detection of Mycobacterium chimaera. *Thorac Cardiovasc Surg.* 2022 Sep 27. doi: 10.1055/s-0042-1756630. Epub ahead of print. PMID: 36167329.

Büchel W, Bulitta C, Herz M, Jurzik L, Knapp S, Külpmann R, Pitten FA, Popp W, **Schlotthauer U**, Tatzel J, Trautmann M, Wille F, Witte P. Leitlinie der DGKH, Hygiene bei Baumaßnahmen in Krankenhäusern und anderen medizinischen Einrichtungen. *Hygiene & Medizin, Infection Control and Healthcare*, 2022; Jg. 47: 185-188/2022 https://www.krankenhaushygiene.de/pdffdata/185_188_DGKH_LL_Bauma%C3%9Fnahmen_HM_9_22.pdf

Büchel W, Bulitta C, Herz M, Jurzik L, Knapp S, Külpmann R, Pitten FA, Popp W, **Schlotthauer U**, Tatzel J, Trautmann M, Wille F, Witte P. Leitlinie der DGKH, Empfehlung zum Einsatz von Verbrühungsschutz in Einrichtungen des Gesundheitswesens. *Hygiene & Medizin, Infection Control and Healthcare*, 2022; Jg. 47: 7-8/2022 https://www.krankenhaushygiene.de/pdffdata/leitlinien/DGKH_LL_Verbr%C3%BChungsschutz_HM_7-8_22.pdf

Büchel W, Bulitta C, Herz M, Jurzik L, Knapp S, Külpmann R, Pitten FA, Popp W, **Schlotthauer U**, Tatzel J, Trautmann M, Wille F, Witte P. Leitlinie der DGKH, Notwendigkeit von Einzelzimmern in Krankenhäusern. *Hygiene & Medizin, Infection Control and Healthcare*, 2022; Jg. 47: 1-6 https://www.krankenhaushygiene.de/pdffdata/2021_04_12_LL-Einzelzimmer%281%29.pdf

Büchel W, Bulitta C, Herz M, Jurzik L, Knapp S, Külpmann R, Pitten FA, Popp W, **Schlotthauer U**, Tatzel J, Trautmann M, Wille F, Witte P. Leitlinie der DGKH, Bauliche und funktionelle Anforderungen an Eingriffsräume. *Hygiene & Medizin, Infection Control and Healthcare*, 2021; Jg. 46 (4): 52–56 https://www.krankenhaushygiene.de/pdffdata/leitlinien/DGKH_LL_Eingriffsräume_HM_4_21.pdf

Büchel W, Bulitta C, Herz M, Jurzik L, Knapp S, Külpmann R, Pitten FA, Popp W, **Schlotthauer U**, Tatzel J, Trautmann M, Wille F, Witte P. Leitlinie der DGKH, Hygieneempfehlungen zu dezentralen Sekundärluftkühlgeräten (Umluftkühlgeräten) *Hygiene & Medizin, Infection Control and Healthcare*, 2021; Jg. 46: 1-4 https://www.krankenhaushygiene.de/pdffdata/leitlinien/DGKH_LL_Sekundärluftkühlgeräte_HM_21_online.pdf

Schneitler S, Jung P, Bub F, Alhussein F, Benthien S, Berger FK, Berkó-Göttel B, Eisenbeis J, Hahn D, Halfmann A, Last K, Linxweiler M, Lohse S, Papan C, Pfuhl T, Rissland J, Roth S, **Schlotthauer U**, Utzinger J, Smola S, Gärtner BC, Becker SL. Simple Questionnaires to Improve Pooling Strategies for SARS-CoV-2 Laboratory Testing. *Ann Glob Health*. 2020 Nov 18;86(1):148. doi: 10.5334/aogh.3126. PMID: 33262937; PMCID: PMC7678556.

Becker SL, **Schlotthauer U**, Schäfers HJ, Bals R, Trudzinski FC. Epidemiologie, Klinik, Diagnostik und Therapie von Infektionen durch *Mycobacterium chimaera* [Epidemiology, Clinical Presentation, Diagnosis and Treatment of Infections Caused by *Mycobacterium chimaera*]. *Pneumologie*. 2019 Aug;73(8):474-481. German. doi: 10.1055/a-0872-8809. Epub 2019 May 10. PMID: 31075795.

Enkelmann J, Böhmer M, Fingerle V, Siffczyk C, Werber D, Littmann M, Merbecks SS, Helmeke C, Schroeder S, Hell S, **Schlotthauer U**, Burckhardt F, Stark K, Schielke A, Wilking H. Incidence of notified Lyme borreliosis in Germany, 2013-2017. *Sci Rep*. 2018 Oct 8;8(1):14976. doi: 10.1038/s41598-018-33136-0. PMID: 30297731.

Schlotthauer U, Schulze-Röbbecke R. Vertikale und horizontale Präventionsstrategien. *Krankenhausthygiene up2date* 2017; 12(4):1-16; DOI:10.1055/s-0043-118951; Georg Thieme Verlag

Schlotthauer U, Trudzinski F C, Gärtner B, Lepper PM, Becker SL, Hennemann K. Desinfizierende Aufbereitung von ECMO-Thermoregulationsgeräten bei Nachweis von *Mycobacterium chimaera*. *Hygiene & Medizin, Infection Control and Healthcare*, 2017; Jg. 42(9): D123–D126.

Furtwängler R, **Schlotthauer U**, Gärtner B, Graf N, Simon A. Nosocomial legionellosis and invasive aspergillosis in a child with T-lymphoblastic leukemia. *Int J Hyg Environ Health*. 2017 Jul; 220(5):900-905. doi: 10.1016/j.ijheh.2017.05.002. Epub 2017 May 13. PMID: 28529020; PMCID: PMC7106519.

Trudzinski FC, **Schlotthauer U**, Kamp A, Hennemann K, Muellenbach RM, Reischl U, Gärtner B, Wilkens H, Bals R, Herrmann M, Lepper PM, Becker SL. Clinical implications of *Mycobacterium chimaera* detection in thermoregulatory devices used for extracorporeal membrane oxygenation (ECMO), Germany, 2015 to 2016. *Euro Surveill*. 2016 Nov 17;21(46):30398. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.46.30398. PMID: 27918254; PMCID: PMC5144944.

Ziech P, Weinig OG, Bokting T, **Schlotthauer U**, Neugebauer J, Knödel M. Akademische Weiterbildung für Hygienekontrolleure. *Der Hygieneinspektor*, 01/2016, Jg. 18; S. 52- 58, www.bundesverband-hygieneinspektoren.de

Nillius D, Pieroth D, Dawson A, von Müller L, Gärtner B, **Schlotthauer U**, Thieme-Ruffing s, Meyer C, Rech J, Hennefeld V, Spinath F, Walther P, Ullrich C, Igel C, R. Klein, Mischler D, Heudorf U, Herrmann M. Seit fünf Jahren gemeinsam auf dem Weg: das MRE-Netzwerk Hessen-Saarland. *Hygiene & Medizin, Infection Control and Healthcare*, 12/2014, Jg. 39, S. 496 – 503, mhp-Verlag GmbH

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich all jenen danken, die durch ihre fachliche und persönliche Unterstützung zum Gelingen dieser Dissertation beigetragen haben.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. Sören L. Becker für das Bereitstellen dieses interessanten Themas sowie für die freundliche und hilfsbereite Betreuung während der Erstellung der Arbeit.

Ebenso danke ich den klinischen Kolleginnen und Kollegen (Prof. Dr. Hans-Joachim Schäfers, Prof. Dr. Dr. Robert Bals, Prof. Dr. Philipp M. Lepper, PD Dr. Franziska Christina Trudzinski, Kai Hennemann) für die konstruktive und professionelle Zusammenarbeit bei den durchgeführten Studien.

Ich danke allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Institutes für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene des Universitätsklinikums des Saarlandes. Insbesondere dem Team des S3 Labors (Theresa Slomka, Richard Schaum, Diana Velten, Isabel Fränken, Sabine Freis) sowie dem Team des PCR Labors (Martina Birke, Anika Berndt, Lena Margardt), ohne die eine Analytik nicht durchführbar gewesen wäre.

Mein besonderer Dank gilt meiner Familie und hier ganz besonders meiner Ehefrau Marion Schlotthauer. Sie hat mir die Kraft, die Ausdauer und die Unterstützung gegeben und mich immer wieder ermutigt, sowohl das Studium und auch die Promotion umzusetzen.

8 Lebenslauf

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht.