

Diplomarbeit

Mikrobiomdynamik auf der Intensivstation

**Interaktion des Mikrobioms von Intensiv-Patient*innen mit der
Umgebung bezogen auf die Dauer des Aufenthalts**

eingereicht von

Marlene Reithofer

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor(in) der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt am

**Diagnostik und Forschungsinstitut für Hygiene, Mikrobiologie und
Umweltmedizin der Medizinischen Universität Graz**

unter der Anleitung von

Univ.-Prof.ⁱⁿ Dr.ⁱⁿhabil.rer.nat. Christine Moissl-Eichinger
Dr. techn. Alexander Mahnert, MSc

Graz, 16.08.2023

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 16.08.2023

Marlene Reithofer (e.h.)

Danksagungen

Zuerst möchte ich mich bei meiner Diplomarbeitsbetreuerin Univ.-Prof.in Dr.in Christine Moissl-Eichinger für die ständige Unterstützung, die zahlreichen Hilfestellungen während des Verfassens der Arbeit und die Geduld bedanken.

Des Weiteren möchte ich gerne dem gesamten Laborteam von Univ.-Prof.in Dr.in Christine Moissl-Eichinger danken, ohne dessen Hilfe ich diese Arbeit nicht schreiben hätte können. Hierbei möchte ich besonders Bsc Lisa Wink und Kerstin Kalt hervorheben, die mir bei der Laborarbeit große Hilfe leisteten.

Zusätzlich möchte ich einen Dank an PhD Christina Kumpitsch aussprechen, welche mich bei der Auswertung unterstützt hat, sowie an Univ.-Prof. Dr. Robert Krause, von der Abteilung für Innere Medizin des LKH Graz, welcher mir netterweise die klinischen Daten der Patient*innen zur Verfügung gestellt hat.

Abschließend gilt ein großes Dankeschön meiner Familie und meinen Studienfreund*innen bzw. Kolleg*innen für die Unterstützung, sowie die schöne gemeinsame Studienzeit.

Inhaltsverzeichnis

Danksagungen	1
Inhaltsverzeichnis	2
Abkürzungen und deren Erklärung.....	4
Abbildungsverzeichnis	5
Tabellenverzeichnis	6
Zusammenfassung	7
Abstract.....	9
1 Einleitung.....	11
1.1 Allgemeines (menschliches Mikrobiom, Bedeutung des Mikrobioms, mikrobielle Forschung)	11
1.2 Die mikrobielle Besiedelung des menschlichen Körpers	13
1.2.1 Das Mikrobiom der Haut	13
1.2.2 Das Mikrobiom des Darms	15
1.2.3 Das orale Mikrobiom	16
1.2.4 Das Mikrobiom der Lunge	16
1.3 Das Mikrobiom von Intensivpatient*innen	18
1.4 Aktualität des Themas	22
1.5 Healthcare-Associated-Infection (HAI)	23
1.6 Mikrobiom Diagnostik und Therapie	24
1.7 Umgebungsmikrobiom	27
1.8 Krankenhausmikrobiom	28
1.9 Zielsetzung der Diplomarbeit	30
2 Material und Methoden	31
2.1 Probennahme	31
2.2 Datenschutz und Einhaltung von forschungsethischen Standards	31
2.3 DNA-Extraktion	31
2.4 Polymerase Kettenreaktion	32

2.5	Gelelektrophorese	33
2.6	Sequenzierung	33
2.7	Auswertung.....	34
3	Ergebnisse.....	35
3.1	Mikroorganismen, die in der Patient*innenumgebung und in den menschlichen Proben zu finden sind	35
3.2	Das Vorkommen von pathogenen Mikroorganismen.....	42
3.3	Die mikrobielle Übertragung zwischen den Patient*innen und der Patient*innenumgebung	43
3.4	Die Alpha-Diversitäten des menschlichen Mikrobioms und des Umweltmikrobioms	45
3.5	Mikroorganismen, die in der Patient*innenumgebung länger überdauern.....	48
3.6	Die Beta-Diversität	50
3.7	Klinische Daten der Patient*innen	52
4	Diskussion	54
5	Literaturverzeichnis	57
6	Anhang.....	60

Abkürzungen und deren Erklärung

LKH	Landeskrankenhaus
DNA	Desoxyribonukleinsäure
PCR	Polymerase Chain Reaction
NGS	Next-Generation Sequencing
ca.	circa
z.B.	zum Beispiel
v.a.	vor allem
spp.	<i>species pluralis</i>
bzgl.	bezüglich
usw.	und so weiter
u.a.	und andere
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome
HAI	Healthcare-Associated-Infection
OP	Operation
rRNA	ribosomale Ribonukleinsäure
IgA	Immunglobulin A
FMT	Fäkaler Mikrobiota-Transfer
C. difficile	<i>Clostridioides difficile</i>
ICU	Intensive Care Unit (Intensivstation)

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Die Unterschiede in der mikrobiellen Besiedelung je nach Hautareal (Quelle: Byrd AL, Belkaid Y, Segre JA. The human skin microbiome. Nat Rev Microbiol. März 2018;16(3):143–55.).....	14
Abbildung 2: Die Bakterielle Besiedelung je nach Darmabschnitt (modifiziert, Quelle: O’Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. EMBO Rep. Juli 2006;7(7):688–93.).....	15
Abbildung 3: Übertragungswege von Mikroorganismen auf den Menschen und vice versa (Quelle: Gilbert JA, Stephens B. Microbiology of the built environment. Nat Rev Microbiol. November 2018;16(11):661–70.)	27
Abbildung 4: Verteilung der mikrobiellen Merkmale (Features) aller Proben	35
Abbildung 5: Verteilung der Reads aller Proben.....	36
Abbildung 6: Übersicht über die Schritte der Datenauswertung.....	37
Abbildung 7: Verteilung der Features und Reads aller Proben	38
Abbildung 8: Die Top 10 der häufigsten Gattungen je nach Kategorien	39
Abbildung 9: Das Vorkommen der Gattung Pseudomonas je nach Patient*in.	40
Abbildung 10: Die Top 10 der häufigsten Gattungen je nach Patient*in und Kategorie	41
Abbildung 11: Die Top 10 der häufigsten pathogenen Gattungen je nach Kategorie und Patient*in	42
Abbildung 12: Veranschaulichung der mikrobiellen Übertragungen zwischen Mensch und Umwelt	43
Abbildung 13: Veranschaulichung der mikrobiellen Übertragungen zwischen Umwelt und Mensch.....	44
Abbildung 14: Shannon-Diversität (links) und Richness (rechts) je nach Lokalisation	45
Abbildung 15: Die Shannon-Diversität im Verlauf der Wochen je nach Patient*in und Kategorie	47
Abbildung 16: Die Top 15 häufigsten Gattungen je nach Patient*in und im Verlauf des Aufenthalts (links) und jeweils eine Gattung der Patientin/des Patienten im Detail (rechts).....	49
Abbildung 17: Die Bray-Diversität der menschlichen Proben.....	50
Abbildung 18: Die Bray-Diversität der Umweltproben	51

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Gensequenz des Vorwärts-bzw. Rückwärtsprimers	32
--	----

Zusammenfassung

Einleitung

Auf Grund der Tatsache, dass Sepsis zu einer der weitverbreitetsten Todesursachen zählt und nosokomiale Infektionen zu drastischen Krankheitszuständen führen können, sowie hohe Kosten im Gesundheitssystem verursachen, ist die kontinuierliche Forschung am menschlichen Mikrobiom unbedingt notwendig. Eine genaue Charakterisierung der Veränderungen des Mikrobioms von Intensiv-Patient*innen könnte einen wichtigen Schritt in der Entwicklung der Diagnostik und Therapie dieser Patient*innen darstellen. (1) Ziel dieser Arbeit ist es, die Interaktionen des Mikrobioms von fünf ausgewählten Intensiv-Patient*innen über eine Dauer von bis zu 14 Tagen mit der Umgebung nachzuweisen.

Methoden

Im Rahmen einer ausführlichen Beprobung von 19 Intensivpatient*innen und ihrer direkten Umgebung auf der Intensivstation des LKH Graz wurden über 1000 Einzelproben genommen. Die Probenahme fand über mehrere Tage statt. Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurden nun Proben von fünf Patient*innen exemplarisch genauer untersucht. Zur Beantwortung der Forschungsfragen kamen folgende Methoden zum Einsatz: DNA-Extraktion, Amplifizierung der Gensequenzen des Mikrobioms mittels PCR, PCR Produkt Überprüfung mittels Gelelektrophorese, NGS, Prozessierung der Raw Reads mittels Pipeline, Assemblierung und Klassifizierung der Raw Reads, Mikrobiomanalyse mittels Microbiome Explorer und R. All diese Methoden sind bereits in der Arbeitsgruppe Moissl-Eichinger etabliert und erprobt.

Ergebnisse

In der Studie konnte nachgewiesen werden, dass es bei den Patient*innen zu pathobiotischen bzw. dysbiotischen Zuständen des Mikrobioms kommt. Außerdem wurde gezeigt, dass es zu Interaktionen zwischen dem menschlichen und dem Umgebungsmikrobiom kommt. Eine Abnahme der Alpha-Diversität im Verlauf der Zeit konnte bei zwei Patient*innen rein graphisch gezeigt werden. Eine statistische Prüfung zeigte jedoch keine Signifikanz.

Diskussion

Diese Arbeit liefert erste wichtige Ergebnisse über die 2015 auf der Intensivstation des LKH Graz gesammelten Proben. Eine weitere Auswertung der restlichen Proben ist

notwendig, um allgemeinere Aussagen über die Zustände auf der Intensivstation machen zu können. Die verwendeten Methoden eignen sich für diese Art von Forschungsarbeiten optimal. In Zukunft könnten diese Methoden auch direkt am Bett der Patient*innen Anwendung finden. Die Kenntnisse über mikrobielle Dynamiken auf einer Intensivstation dienen als Ausgangspunkt für weitere Forschungsarbeiten über therapeutische Möglichkeiten das Mikrobiom von Intensivpatient*innen positiv beeinflussen zu können.

Abstract

Introduction

Due to the fact that sepsis is one of the most widespread causes of death and nosocomial infections can lead to drastic diseases as well as cause high costs in the health care system, continuous research on the human microbiome is absolutely necessary. Accurate characterization of the changes in the microbiome of ICU patients could be an important step in the development of diagnostics and therapy for these patients. (1) The aim of this work is to demonstrate the interactions of the microbiome of five selected intensive care patients with the environment over a period of up to 14 days.

Methods

During an extensive sampling of 19 intensive care patients and their immediate environment in the Intensive Care Unit of the LKH Graz more than 1000 samples were taken. The sampling took place over several days. Within this diploma thesis, samples from five patients were examined in more detail. The following methods were used to answer the research questions: DNA extraction, amplification of the gene sequences of the microbiome by PCR, PCR product verification by gel electrophoresis, NGS, processing of the raw reads by pipeline, assembly and classification of the raw reads, microbiome analysis by Microbiome Explorer and R. All these methods have already been established and tested in the Moissl-Eichinger working group.

Results

In the study, it could be revealed that pathobiotic or dysbiotic states of the microbiome occur in the patients. Furthermore, it was shown that interactions between the human and the environmental microbiome occur. A decrease in alpha diversity over time was shown only graphically in two patients. However, a statistical test showed no significance.

Discussion

This work provides first important insights into the samples collected in 2015 at the ICU of the LKH Graz. Further evaluation of the remaining samples is necessary to make more general statements about the conditions in the ICU. The methods used are ideally suited for this type of research. In the future, these methods could also be applied directly at the patient's bedside. The knowledge about microbial dynamics in an intensive care unit serves

as a starting point for further research on therapeutic possibilities to positively influence the microbiome of intensive care patients.

1 Einleitung

1.1 Allgemeines (menschliches Mikrobiom, Bedeutung des Mikrobioms, mikrobielle Forschung)

Das Mikrobiom wird auf viele verschiedene Arten definiert. Die aktuell umfassendste Erklärung des Begriffs ist die 1988 herausgebrachte erste und originale Definition von Whipps und seinen Kollegen. Der Begriff „Mikrobiom“ wird hierbei als „mikro“ und „biom“ getrennt betrachtet. „Mikro“ bezieht sich auf die „charakteristische mikrobielle Einheit“ und „Biom“ bezeichnet einen genau definierten Lebensraum mit speziellen physikalisch-chemischen Eigenschaften in dem die mikrobielle Einheit wirkt. In dieser Definition werden auch die Eigenschaften und Funktionen der mikrobiellen Einheit, sowie deren Interaktionen mit ihrer Umwelt berücksichtigt. (2)

Zu den vorhandenen Mikroorganismen zählen Bakterien, Archaeen und Eukaryoten. Die meisten Studien, die bis jetzt durchgeführt wurden, betrachten, auf Grund der hohen Dichte dieser Mikroorganismen und deren großer Variabilität, das bakterielle Mikrobiom. (3) Es befinden sich Billionen von Bakterien auf unserer Haut, in den Atemwegen, im Urogenitaltrakt und im Verdauungstrakt. (4) Die größte Menge an Bakterien befindet sich im Dickdarm mit einer Schätzung von 10^{14} , gefolgt von der Haut, die von ca. 10^{12} Bakterien bewohnt wird. Aktuell geht man davon aus, dass die Anzahl der menschlichen Zellen $3,0 \cdot 10^{13}$ und die der bakteriellen Zellen $3,8 \cdot 10^{13}$ beträgt. Diese Zahlen ergeben ein Verhältnis der menschlichen Zellen zu den bakteriellen Zellen von 1:1,3. Dies kann mit einer Unsicherheit von 25% und einer Schwankung von 53% in einem 70kg schweren Durchschnittsmann angegeben werden. (5)

Dem menschlichen Mikrobiom ist große Bedeutung zuzuschreiben. Es spielt eine wichtige Rolle im Stoffwechsel, im Schutz gegen Infektionen, in der Arzneimitteleffektivität, in der Synthese von Vitaminen, sowie in der Bekämpfung von Krankheiten durch die Interaktion mit dem Immunsystem. (6) Die Beziehung zwischen dem Menschen als Wirt und seiner riesigen mikrobiellen Besiedelung ist dynamisch und symbiotisch. (4) Das bedeutet, das Mikrobiom unterliegt ständigen Veränderungen. Der Austausch zwischen menschlichen und mikrobiellen Zellen ist ein komplexer Prozess, der für das Gleichgewicht beider wichtig ist. (4) Die Kenntnis dieser mikrobiellen Dynamiken kann von großem therapeutischem und diagnostischem Nutzen sein.

Viele verschiedene Faktoren beeinflussen auf direktem oder indirektem Weg das menschliche Mikrobiom. Dazu zählen intrinsische Faktoren, wie z.B. Alter und Genetik des Menschen, auf die keinen Einfluss genommen werden kann, und äußere Faktoren. Äußere Faktoren können entweder vom Menschen selbst gesteuert werden, oder im Falle einer Intensivpatientin/eines Intensivpatienten vom medizinischen Personal beeinflusst werden (Ernährung, Arzneimitteltherapie, Umwelteinflüsse, ...). (4)

Die Frage, wodurch ein „gesundes“ Mikrobiom genau charakterisiert ist, wurde, da es von zahlreichen Faktoren (Geschlecht, Alter, Genetik, ...) abhängt, noch nicht ausreichend geklärt. Man vermutet jedoch, dass die Resilienz des Mikrobioms ausschlaggebend dafür ist, ob das Mikrobiom nach einer Störung wieder in den ursprünglichen Zustand zurückkehren kann oder in eine veränderte Form übergeht. (7)

1.2 Die mikrobielle Besiedelung des menschlichen Körpers

Der menschliche Körper ist zu jedem Zeitpunkt von schätzungsweise 500-1000 Bakterienarten besiedelt. Jeder dieser Bakterien besitzt wiederum ein Genom mit Tausenden von Genen und bietet damit insgesamt eine wesentlich größere genetische Vielfalt und Flexibilität als das menschliche Genom. (8)

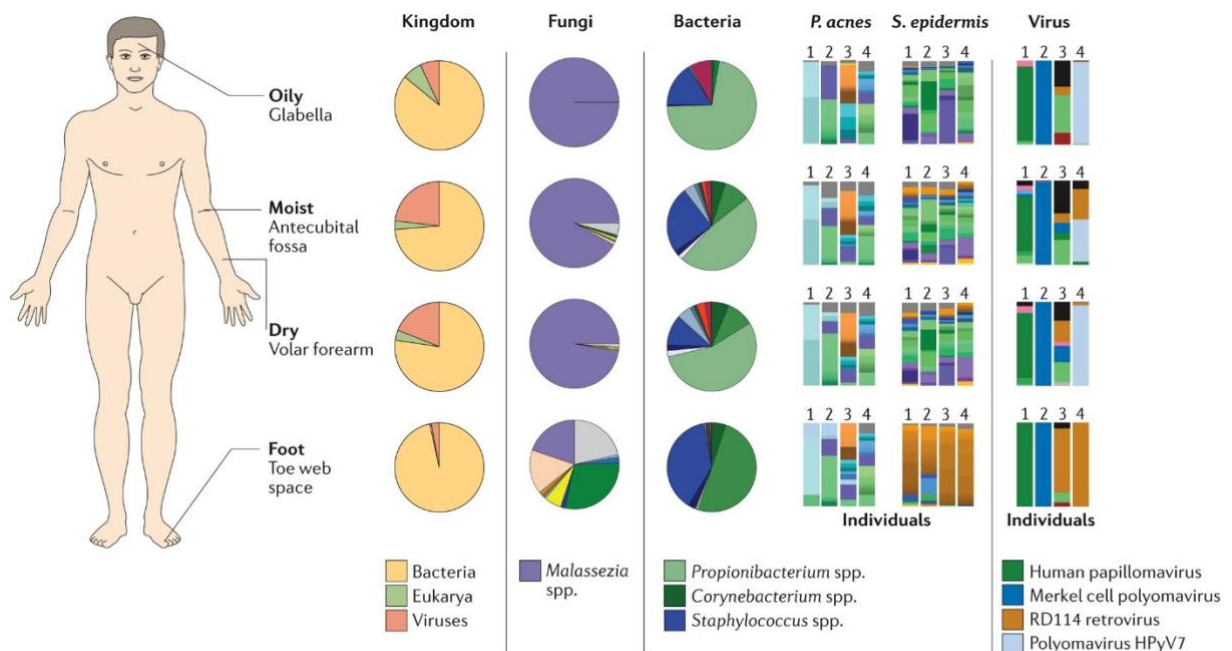
Im Laufe der menschlichen Entwicklung folgt auch das menschliche Mikrobiom körperstellenspezifischen Bahnen. Dies führt dazu, dass die einzelnen Stellen des Körpers eine spezifische Biogeografie entwickeln. (8)

1.2.1 Das Mikrobiom der Haut

Das Organ Haut weist je nach Stelle große Unterschiede in der Zusammensetzung und Struktur des Mikrobioms auf. Abhängig von den physikalischen und topographischen Merkmalen der Haut wird die mikrobielle Gemeinschaft unterschiedlich gestaltet. Jede Person besitzt ihre eigene einzigartige Zusammensetzung des Mikrobioms an der Haut. (8)

Zu den wichtigsten Phyla des Hautmikrobioms zählen Actinobacteria (51,8%), Firmicutes (24,4%), Proteobacteria (16,5%) und Bacteroidetes (6,3%). Auf der Gattungsebene kommen *Corynebacterium*, *Propionibacterium* (mittlerweile *Cutibacterium* genannt) und *Staphylococcus* am häufigsten vor. (9)

Die relative Häufigkeit der jeweiligen Bakterientaxonomie unterscheidet sich abhängig davon, ob es sich um eine feuchte, trockene oder talgig/ölige Mikorumwelt handelt (Abbildung 1). Lipophile *Propionibacterium* (*Cutibacterium*)-Spezies kommen gehäuft an talgigen Stellen vor, während *Staphylococcus*- und *Corynebacterium*-Spezies bevorzugt in feuchten Bereichen zu finden sind. Auf der Stammebene wurde herausgefunden, dass gesunde Individuen je nach Körperstelle von unterschiedlichen multi-phyletischen Gemeinschaften von *Propionibacterium acnes*- und *Staphylococcus epidermidis*-Stämmen besiedelt werden. (10)



Nature Reviews | Microbiology

Abbildung 1: Die Unterschiede in der mikrobiellen Besiedelung je nach Hautareal (Quelle: Byrd AL, Belkaid Y, Segre JA. The human skin microbiome. Nat Rev Microbiol. März 2018;16(3):143–55.)

Verglichen mit dem Darm besitzt die Haut eine geringere mikrobielle Masse und ihr fehlen einige, über die grundlegenden Proteine und Lipide hinausgehende, Nährstoffe. Um in dieser Umgebung trotzdem überleben zu können, haben sich die mikrobiotischen Bakterien angepasst und nutzen die Ressourcen des Schweißes, des Talgs und der Hornschicht für sich. (10)

Die mikrobielle Besiedelung der Haut ist auch vom Lebenszeitpunkt abhängig. Bei Neugeborenen bestimmt der Geburtsweg, welche Bakterien auf der Haut des Kindes ansässig sind. Wurde das Kind vaginal geboren, so sind vaginale Bakterien der Mutter vorhanden. Bei einem Kaiserschnitt hingegen erwerben die Kinder v.a. Haut-assoziierte Mikroorganismen der Mutter bzw. der Kontaktpersonen. (10)

Im Laufe des Lebens kann es zu Populationsverschiebungen innerhalb des Mikrobioms kommen. Die mikrobielle Besiedelung des Darms stabilisiert sich bereits im Alter von drei Jahren. Bei der Haut jedoch kommt es im Rahmen der Pubertät auf Grund der hormonellen Änderungen und der erhöhten Produktion an Talg erneut zu einer bakteriellen Verschiebung. Die postpubertäre Haut begünstigt das Wachstum der lipophilen Mikroorganismen, wie *Propionibacterium spp.* und *Corynebacterium spp.* Vor Eintritt der Pubertät befinden sich größere Mengen an Firmicutes, Bacteroidetes und Proteobacteria

auf der Haut. Kenntnisse über diese mikrobiellen Entwicklungen sind von Bedeutung, da viele Hautkrankheiten in einem gewissen Alter gehäuft auftreten. (10)

1.2.2 Das Mikrobiom des Darms

Das Mikrobiom des Darms ist äußerst vielfältig und besteht aus Billionen von Mikroorganismen, welche den menschlichen Verdauungstrakt bewohnen. Der Darm weist im Vergleich zum restlichen Körper die größte Menge an vorherrschenden Mikroorganismen auf. (11)

Zu den dominierenden Phyla im Darm zählen Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria, Fusobacteria, Tenericutes, Actinobacteria und Verrucomicrobia. Diese machen generell bis zu 90% des Mikrobioms im menschlichen Körper aus. Auf Gattungsebene zählen *Bacteroides*, *Clostridium*, *Peptococcus*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Ruminococcus*, *Faecalibacterium* und *Peptostreptococcus* zu den häufigsten. Es gibt einige Faktoren, welche die Zusammensetzung der mikrobiellen Besiedelung des Darms verändern. Dazu gehören Faktoren wie Genetik des Wirts, die Ernährung, das Alter, die Art der Geburt und der Einsatz von Antibiotika. Dem Darmmikrobiom werden viele wichtige Aufgaben im Bereich der Immunabwehr, Verdauung und des Stoffwechsels zugeschrieben. Je nach Darmabschnitt kommt es zu Unterschieden in der bakteriellen Zusammensetzung. (Abbildung 2) Im Magen und Dünndarm sind nur wenige Bakterienarten vorhanden, im Dickdarm hingegen befindet sich ein dicht besiedeltes Ökosystem (bis zu 10^{12} Zellen pro Gramm intestinaler Substanz). (11)

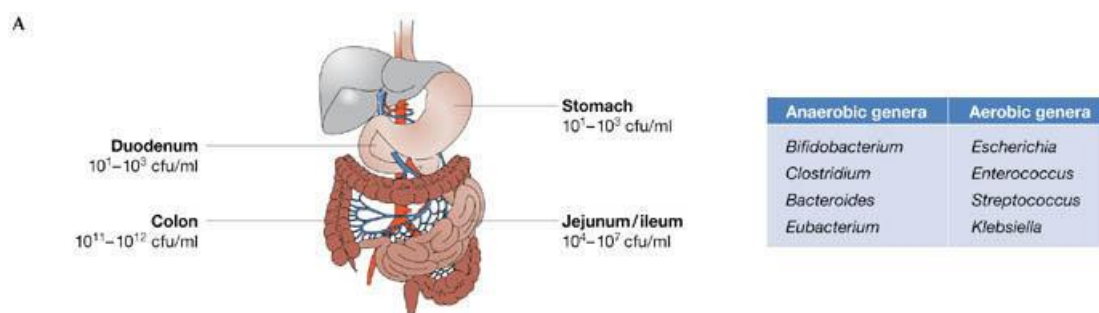


Abbildung 2: Die Bakterielle Besiedelung je nach Darmabschnitt (modifiziert, Quelle: O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. EMBO Rep. Juli 2006;7(7):688–93.)

Sind Personen bereits genetisch vorbelastet können einige Bestandteile des Mikrobioms zu einer Belastung führen und dadurch zur Entstehung von diversen Darmerkrankungen, wie z.B. entzündliche Darmerkrankungen, beitragen. (12)

1.2.3 Das orale Mikrobiom

Die Mundhöhle wird von der zweitgrößten Menge an Mikroorganismen besiedelt. Zu den sechs dominierenden Phyla gehören hierbei Firmicutes, Actinobacteria, Proteobacteria, Fusobacteria, Bacteroidetes und Spirochaetes. Diesen Mikroorganismen wird eine große Bedeutung in Bezug auf menschliche Gesundheit, Stoffwechsel und Immunantwort des Wirts, zugeschrieben. Bei einigen Erkrankungen wie z.B. Diabetes, Bakteriämie, Endokarditis usw. wurde ein verändertes orales Mikrobiom festgestellt. Aus diesem Grund ist es wichtig, die mikrobielle Gemeinschaft im Mund zu kennen und zu wissen, wie sich die Zusammensetzung unter gewissen Bedingungen verändern. (13)

1.2.4 Das Mikrobiom der Lunge

Lange Zeit wurde angenommen, dass die gesunde Lunge steril ist. In den letzten Jahren wurde jedoch auch in gesunden Lungen geringe Mengen an Bakterien nachgewiesen. Die in der Lunge befindlichen Mikroorganismen stammen weitgehend aus den oberen Atemwegen und werden durch Mikroaspiration in die Lunge befördert. Durch die mechanische und immunologische Clearance der Lunge wird dieser Prozess ausgeglichen. Bei vielen Lungenkrankheiten konnten abweichende Besiedelungen (Dysbiose) der Lunge aufgezeigt werden. (14)

Um das Mikrobiom der Lunge untersuchen zu können werden meistens Sputum oder bronchoalveoläre Lavage verwendet, wobei diese jeweils gewisse Ungenauigkeiten, bzgl. der Beurteilung der bakteriellen Besiedelung der Lunge, aufweisen. Das Sputum spiegelt die mikrobielle Besiedelung der oberen und unteren Atemwege dar. Diese Vermischung ist besonders heikel, wenn die Lunge nur in geringem Ausmaß von Bakterien besiedelt ist. Der Nachteil einer bronchoalveolären Lavage ist, dass es sich hierbei um ein invasives Verfahren handelt, dafür ist die Kontamination geringer. Als weitere Entnahmeoption gilt die endotracheale Aspiration, welche häufig bei intubierten Patient*innen angewendet wird. (14)

Studien haben gezeigt, dass die mikrobielle Zusammensetzung in der Lunge weitgehend den oberen Atemwegen gleicht, jedoch ist die Menge der bakteriellen Besiedelung weitaus geringer. Zu den häufigsten Phyla zählen Firmicutes und Bacteroidetes. Auf Gattungsebene kommen *Prevotella*, *Streptococcus* und *Veillonella* am häufigsten vor. (14)

Eine Störung der Zusammensetzung des Mikrobioms in der Lunge kann mehrere Ursachen haben. Dazu zählen eine Störung des Eintritts oder Austritt von Bakterien, sowie eine Beeinträchtigung der lokalen Replikation. Durch eine verstärkte Aspiration kann es zu einer mikrobiellen Vermehrung kommen. Eine Dysbiose in den oberen Atemwegen kann sich auch auf die unteren Atemwege ausweiten. Es ist bekannt, dass bei einer Lungenentzündung häufig bereits zuvor eine Besiedelung der oberen Atemwege mit Pathogenen, welche eine Lungenentzündung auslösen können (z.B. *Streptococcus pneumoniae*), vorhanden ist. Die Fähigkeit zur Beseitigung von gewissen Bakterien (Clearance) kann durch z.B. Immunstörungen, Sputumdefekte, Hustendefekte, usw. herabgesetzt sein. Die lokale Replikation wird durch erhöhte Nährstoffzufuhr, z.B. im Rahmen eines Ödems, erhöht. (14)

Eine mikrobielle Dysbiose wurde bereits bei vielen Lungenkrankheiten nachgewiesen. Es muss jedoch noch weiter erforscht werden, ob diese gestörte Zusammensetzung die Erkrankungen auslöst, aufrechterhält oder ob sie eine Folge der Erkrankung ist. (14)

1.3 Das Mikrobiom von Intensivpatient*innen

Der stationäre Aufenthalt auf einer Intensivstation geht mit vielen therapeutischen Interventionen einher, welche möglicherweise einen Einfluss auf das Mikrobiom der Patient*innen haben. Zu diesen Interventionen zählen unter anderem die Verabreichung von Opioiden, vasoaktiven Substanzen, Mittel zur gastrointestinalen Prophylaxe, und vor allem der (liberale) Einsatz von Antibiotika. (15) Die häufig eingesetzten Antibiotika töten nicht nur Pathogene ab, sondern auch „gesundheitsfördernde“ Mikroben. Es wurde herausgefunden, dass bis zu 37% der verabreichten Antibiotika nicht notwendig sind bzw. nicht entsprechend geltenden Standards verwendet werden. (6) Auch andere Interventionen wie z.B. endotracheale Beatmung oder intravasale Katheter beeinflussen das Mikrobiom. Diese Eingriffe können die natürliche Schutzbarriere des Körpers beeinträchtigen und dadurch den Eintritt von Bakterien begünstigen. (16) Ein weiterer wichtiger Faktor ist die Ernährung der Patient*innen. Geringere oder gar keine Nahrungszufuhr führt zu einem Nährstoffmangel der Patient*innen. Das bedeutet wiederum, dass auch dem Mikrobiom weniger Nährstoffe (v.a. Ballaststoffe) zur Verfügung stehen, wodurch es zu Veränderungen in dessen Zusammensetzung kommt. (3) Es wurde zum Beispiel herausgefunden, dass parenterale Ernährung bei Mäusen zu einem Anstieg von *Bacteroidetes* und zu einer Beeinträchtigung der Barrierefunktion führt. Bei einer Supplementierung mit 20% enteraler Ernährung wurde dieser Effekt wieder umgekehrt. (4) Dies gibt Hinweise darauf, dass enterale Ernährung bei Patient*innen zu bevorzugen ist. Außerdem spielt auch die Umgebung der Patient*innen auf der Intensivstation eine Rolle. Hierzu zählen Raumboflächen, Geräte oder auch die Hände des Gesundheitspersonals, welche ein potenzielles Reservoir für Mikroben sein können. Lax et al. untersuchten ein Jahr lang die Zusammenhänge zwischen der bakteriellen Besiedelung der Patient*innen, des Personals und der baulichen Oberflächen eines neu erbauten Krankenhauses. Es wurde festgestellt, dass es große bakterielle Ähnlichkeiten zwischen der Haut der Patient*innen und der Umgebung, in der sie sich befanden, gab. (17)

Um feststellen zu können, wie genau all diese Faktoren das menschliche Mikrobiom auf einer Intensivstation beeinflussen benötigt man weitere Forschungsarbeiten. Es wurde herausgefunden, dass all diese Einflüsse zu einer Art Dysbiose des menschlichen Mikrobioms führen. Dysbiose bedeutet Verlust von „gesundheitsfördernden“ Mikroben und eine Überwucherung von pathogenen Bakterien. (1) Wenn man das Mikrobiom als

eigenes „Organ“ betrachtet, welches wichtige Funktionen hat, kann man gut verstehen, dass eine Störung dieses „Organs“, durch einen Funktionsverlust und einen fehlenden Ersatz für die wichtigen Funktionen, dem Körper großen Schaden zuführen kann. (16)

Durch den Verlust von wichtigen Kommensalen, geht auch deren Schutzfunktion vor eindringenden Krankheitserregern verloren. Die Schutzfunktion beruht entweder darauf, dass die Mikroorganismen die Erreger direkt durch antimikrobielle Peptide oder indirekt über gegenseitige Nährstoffkonkurrenz hemmen. Durch eine Störung des Gleichgewichts des Mikrobioms können folglich die neu aufgetretenen Erreger die mikrobielle Gemeinschaft dominieren. (16)

Eine Störung des Mikrobioms kann zu metabolischen, immunologischen und sogar neurokognitiven Beeinträchtigungen bei dem Wirten führen. Betrachtet man zum Beispiel das intestinale Mikrobiom, so ist bekannt, dass Darmmikroben als wichtige Aufgabe die Fermentation von Ballaststoffen zu kurzkettigen Fettsäuren besitzen. Diese kurzkettigen Fettsäuren werden von dem Kolonepithel als Energiequelle gebraucht und stellen die Integrität des Darms sicher. Nimmt die Konzentration der Darmmikroben und folglich auch die der kurzkettigen Fettsäuren ab, zum Beispiel bei septischen Zuständen, schwindet die Schleimbarriere des Epithels, wodurch Krankheitserreger leichter eindringen können. Außerdem führt die Apoptose des Epithels zur Malabsorption von Nährstoffen, Durchfall und Energieverlust. Auf immunologischer Ebene kann eine pathologisch veränderte mikrobielle Gemeinschaft zu exzessiver Entzündung mit Endorganschäden, sowie zur Ermüdung des Immunsystems durch das Auftreten von Superinfektionen, führen. Auch neurologisch können sich pathologisch veränderte Mikroben negativ auswirken. Diverse mikrobielle Produkte können mit menschlichen Hirnrezeptoren interagieren und für Enzephalopathie bei Zirrhotiker*innen, sowie der Entstehung von Delirien verantwortlich sein. Man spricht bei dieser Interaktion von der Darm-Hirn-Achse.(16)

Neben dem Begriff der Dysbiose wird in bereits vorhandenen Forschungsarbeiten zum Thema Mikrobiom auf Intensivstation auch der Begriff des Pathobioms beschrieben. Kritische Erkrankungen sorgen für pathologische Zustände des Mikrobioms. Diese Zustände verschlechtern sich, durch bereits oben genannte Interventionen, bereits nach einigen Stunden auf der Intensivstation, weiter. Das Pathobiom wiederum kann dysregulierte Reaktionen des Wirts vorantreiben und dadurch ein Organversagen verschlimmern. (4)

Studien zu Folge ist das Pathobiom der Intensivpatient*innen durch eine geringe Alpha-Diversität und eine hohe Beta-Diversität gekennzeichnet. Diese Veränderungen nehmen im Laufe des Aufenthalts weiter zu. In einer großen Studie, die 115 ICU Patient*innen und 1242 gesunde Personen einschloss, wurde im Mikrobiom der ICU Patient*innen eine geringe Abundanz an Firmicutes und Bacteroidetes und eine erhöhte Abundanz an Proteobacteria, verglichen mit der gesunden Bevölkerung, nachgewiesen. Außerdem kam es zu einem Anstieg an folgenden mikrobiellen Stämmen: *Escherichia/Shigella*, *Salmonella*, *Enterococcus*, *Clostridioides difficile* oder *Staphylococcus*. Zusätzlich wurde herausgefunden, dass kritische Erkrankungen oft mit einer sehr geringen mikrobiellen Diversität einhergehen. In einer Studie mit 34 ICU Patient*innen, wurde gezeigt, dass bei einem Drittel der Studienteilnehmer*innen ein einziges bakterielles Genus über 50% des intestinalen Mikrobioms ausmacht. (4) *Enterococcus* zählt zu diesen dominierenden Gattungen. (18)

In dem Artikel „The emerging role of the microbiota in the ICU“ werden die Veränderungen des intestinalen Mikrobioms erläutert. Das Mikrobiom einer gesunden Person besteht hauptsächlich aus kommensalen und gesundheitsfördernden Bakterien (*Faecalibacterium*, *Blautia*, *Ruminococcus*) und nur zu einer geringen nicht bedeutenden Menge aus opportunistischen Pathogenen (*Escherichia/Shigella*, *Salmonella*, *Enterococcus*, *C. difficile* oder *Staphylococcus*). Mit fortschreitender Dauer des Aufenthalts auf der Intensivstation nimmt die Diversität, sowie die Menge an kommensalen und gesundheitsfördernden Bakterien ab und opportunistische Pathogene, die ebenfalls Teil des Mikrobioms sind, gewinnen Oberhand. (3)

Neben der Darm-Hirn-Achse, wurde auch ein Zusammenhang zwischen dem Mikrobiom des Darms und der Lunge festgestellt. Gesunde Lungen sind generell einer niedrigeren Besiedelung von Bakterien ausgesetzt als der Darm. Dies ist auf ein für Bakterien unattraktiveres Milieu zurückzuführen. In einer gesunden Lunge finden Bakterien nicht genügend Nährstoffe. Zudem herrschen aerobe Bedingungen und letztlich weist der Antiatektasefaktor in den Alveoli einen bakteriostatischen Effekt auf. Unter physiologischen Umständen ist die Reproduktionsrate von Bakterien niedrig und die Ein- und Auswanderungsrate der Bakterien hoch. Bei kritischen Erkrankungen verringert sich die mukoziliäre Klärleistung und der Hustenreflex. Dadurch können die Bakterien schlechter abtransportiert werden. Außerdem kann mechanische Beatmung Ödeme hervorrufen, wodurch mehr Nährstoffe für die Bakterien vorhanden sind, und der

Sauerstoffgehalt abnimmt. Diese Zustände begünstigen das Bakterienwachstum in der Lunge. In diversen Studien wurde außerdem herausgefunden, dass sich bei septischen Zuständen oder ARDS (Acute Respiratory Distress Syndrome) in Lungen Darm-assoziierte Bakterien befinden können. Die Darm-Lungen-Achse beschreibt den Austausch der Mikrobiome beider Bereiche. Dieser Zusammenhang ist in beide Richtungen beobachtet worden. So haben bakterielle Lungeninfektionen ebenfalls einen Einfluss auf die mikrobielle Besiedelung des Darms.(3)

1.4 Aktualität des Themas

Um auf die Aktualität des Themas hinzuweisen und die mikrobiellen Veränderungen im Rahmen einer Infektion anhand eines Beispiels zu skizzieren, wird in diesem Kapitel auf den Einfluss einer Covid-19-Infektion auf das menschliche Mikrobiom eingegangen. Dies ist für Intensivstationen von großer Relevanz, da immer wieder Patient*innen mit einer schweren Covid-19-Infektion auf einer Intensivstation betreut werden müssen. Weiters ist es auch für scheinbar milde Verläufe bedeutend, da es noch nicht ausreichend erforscht ist, welche Langzeitfolgen eine Infektion haben kann.

Das SARS-Cov2 Virus verursachte die größte globale Pandemie seit dem Influenzavirus 1918. Das Virus verläuft in mehreren Phasen mit typischen Veränderungen. In der frühen Phase zeigen die Patient*innen oft nur geringe Symptome, jedoch eine große Viruslast. Diese Phase geht auch mit gastrointestinalen Symptomen einher. Schwerere Symptome (Respiratorische Probleme, Fieber, ...) entwickeln sich meist erst in der Spätphase. Manche Patient*innen entwickeln schwerwiegende Komplikationen wie Sepsis, Multiorganversagen oder ARDS. Das SARS-Cov2 Virus beeinflusst über die Lungen-Darm-Gehirn-Achse, sowie über Dysbiose das Mikrobiom der Patient*innen. Im Darm werden durch primäre Entzündungsreize mikrobielle Produkte und Zytokine freigesetzt, wodurch es zu einer mikrobiellen Dysbiose kommt und ein entzündliches Milieu entsteht. Die in den Blutkreislauf gelangten Darmzytokine verstärken dann die systemische durch Covid-19 verursachte Entzündung. Zusammenfassend, kann man sagen, dass die körpereigene Entzündungsreaktion auf das Virus dem Körper noch mehr Schaden zufügt als das Virus selbst. Es ist von großer Bedeutung die Zytokinwege und Reaktionen der Darmbakterien auf das Sars-CoV2 Virus zu erforschen, um eventuelle neue Behandlungsmethoden entwickeln zu können. (19) Gerade in Zeiten einer Pandemie wird sichtbar, wie relevant es ist, die Veränderungen durch eine Infektion, welche evtl. auf einer ICU behandelt werden muss, genau zu erforschen und verstehen zu können, um mögliche schlimme Krankheitsverläufe gegebenenfalls positiv beeinflussen zu können.

Patient*innen auf einer Intensivstation weisen auf Grund des geschwächten Allgemeinzustands, der Immunsuppression und einer gestörten physiologischen Barriere eine höhere Neigung für Krankenhaus-assoziierte Infektionen auf als gesunde Personen. Schätzungsweise liegt das Risiko an einer europäischen Intensivstation eine nosokomiale Infektion zu erwerben bei 45%. (20)

1.5 Healthcare-Associated-Infection (HAI)

Infektionen sind ein großes Thema auf Intensivstationen und ein wichtiger Bestandteil der Definition von Sepsis. Heutzutage wird der Begriff „Gesundheitssystem-assoziierte-Infektionen“ (engl. HAI-Healthcare associated Infections) vermehrt verwendet. Zu den sechs am häufigsten vorkommenden HAI's zählen Pneumonie, Infektionen der Blutbahn (einschließlich Endokarditis), Sepsis durch intravaskuläre Katheter, intra-abdominale Infektionen, Urosepsis und Infektionen von OP-Wunden. Die CDC (Centers for Disease Control and Prevention) bezeichnen HAI's als einen lokalen oder systemisch auftretenden Zustand, ausgelöst durch eine Antwort des Körpers auf einen infektiösen Erreger oder dessen Toxin(e). Die Infektion darf zum Zeitpunkt der Aufnahme der Patient*innen noch nicht vorhanden gewesen sein. Die Erreger, die zu diesen Infektionen führen, können endogenen oder exogenen Ursprungs sein. Zu endogenen Erregern zählen Mikroorganismen, die normalerweise den Körper besiedeln. Exogene Erreger können vom Pflegepersonal, Patientenpflegegeräte, Besuchern oder der Umgebung übertragen werden. (21)(22)

1.6 Mikrobiom Diagnostik und Therapie

Im diagnostischen Bereich und im Management von Infektionen im Krankenhaus werden heutzutage Kulturen von biologischen Proben verwendet. Diese Herangehensweise weist aber einige Nachteile auf. Diese Technik ist oft nicht schnell genug, da sie zwischen 48 und 72 Stunden brauchen kann, um zu einem Ergebnis zu kommen. Zusätzlich kann sie in bis zu 40% der Fälle negativ sein, obwohl mit hoher Wahrscheinlichkeit eine Infektion vorliegt. Negative Kulturen treten auf, weil bereits Antibiotika verabreicht wurden, die das Wachstum der Erreger verhindern. Außerdem können manche menschlichen Mikroben mit den in klinischen Laboren verwendeten Materialien nicht kultiviert werden. Verspätete und falsche Ergebnisse können dazu führen, dass eine empirische Breitbandantibiotikatherapie eingesetzt wird. Dies kann wiederum zu Schäden bei den Patient*innen, Antibiotikaresistenzen und höheren Kosten führen. (16) Im Falle einer Sepsis wird häufig davon ausgegangen, dass ein Pathogen allein für diesen Zustand verantwortlich ist. Nun wird aber mehr und mehr ersichtlich, dass Krankheitserreger nicht allein agieren und auch der Ausgangszustand des Mikrobioms der Patient*innen das Infektionsgeschehen beeinflusst. (3) Kultur-unabhängige Sequenzierungsmethoden weisen einige dieser oben genannten Nachteile nicht auf und könnten für die Entwicklung einer personalisierten Therapie nützlich sein. (16)

Durch die nicht-kulturbasierenden, hoch-sensitiven Techniken, wie vor allem die Next Generation Sequencing (NGS) Methode, wurde es möglich, weitere Mikroorganismen (Bakterien und Archaeen), die bisher nicht bekannt waren, zu identifizieren. Die direkte Amplifikation mikrobieller DNA gibt semi-quantitative Auskünfte über die mikrobielle Taxonomie. (16) Dank NGS ist es heutzutage machbar, viele mikrobiellen Proben genau und in der Tiefe zu untersuchen. (15) In Zukunft könnte es sogar möglich sein, diese Techniken zu nutzen, um präzise Auskünfte über Infektionen-verursachende Mikroorganismen zu bekommen, oder um eine Infektion definitiv ausschließen zu können. Das sogenannte „Bedside sequencing“ soll durch tragbare Sequenzierungsgeräte den Einsatz dieser Methoden am Krankenbett ermöglichen. (16) Ein weiterer wichtiger Faktor ist die richtige Auswertung der durch die Sequenzierung erlangten Informationen. Dafür benötigt man bioinformatische Softwares, welche ständig weiterentwickelt werden. Sie dienen dazu, die vorhandenen mikrobiellen Einheiten besser definieren und diverse statistische Methoden anwenden zu können. (15)

Neben der 16S rRNA Gen-basierten Sequenzierungsmethode bestehen weitere Möglichkeiten, um Mikrobiota zu detektieren. Zu diesen Methoden zählen, die quantitative PCR-Methode, um die generelle Häufigkeit an bakterieller 16S rRNA Gene oder einer speziellen Gruppe zu untersuchen, sowie die Metagenomik. Metagenomik gibt nicht nur Auskunft über die taxonomische Verteilung (wie bei der 16S rRNA Gen-Sequenzierungsmethode), sondern liefert auch funktionelle Informationen. Die Methoden unterscheiden sich nicht nur in ihren zur Verfügung stehenden Informationen, sondern auch in den Kosten der Durchführung. Am kostengünstigsten ist die Durchführung einer quantitativen PCR (\$), gefolgt von der 16S rRNA Sequenzierung (\$\$) und der Metagenomik (\$\$\$). (3)

In der Mikrobiom-basierenden Therapie kommen zum jetzigen Zeitpunkt vier verschiedene Therapiemöglichkeiten zum Einsatz: Prebiotika, Probiotika, Synbiotika und FMT (fäkaler Mikrobiota-Transfer). (15)

Unter Prebiotika versteht man Nahrungsbestandteile, die sich positiv auf das Wachstum von begünstigenden Bakterien auswirken und die vom Menschen nicht abgebaut werden können. (15) Sie sollen für die Bakterien Nahrung in Form von komplexen Zuckern liefern, die nach Fermentation als Kohlenhydrate zur Verfügung stehen. Prebiotika können also ein gesundes Mikrobiom zusätzlich stärken. (4)

Probiotika hingegen werden eingesetzt, wenn das Mikrobiom bereits, durch die Einnahme von Antibiotika zum Beispiel, aus dem Gleichgewicht gebracht wurde, oder man damit rechnet, dass es demnächst zu einer Störung kommt. Man versteht unter Probiotika lebende Mikroorganismen, die von außen zugeführt werden, um das Gleichgewicht wieder herstellen zu können. Dabei wird der Darm mit Gattungen angereichert, die eine positive Wirkung auf das Mikrobiom haben. Zu den Wirkmechanismen der Probiotika gehören die Unterdrückung der Darmzytokine, die Stimulation der Produktion einer Schleimschicht und der IgA-Produktion. Zusätzlich sollen sie die Apoptose von Darmzellen verhindern, die Darmbarriere schützen und durch all diese Faktoren ein Überwachsen mit pathogenen Bakterien verhindern. Generell ist jedoch zu erwähnen, dass die Studienlage, die Wirksamkeit von Probiotika betreffend, vor allem bei Erwachsenen noch sehr dünn ist. Besonders die Rolle der Probiotika in der Intensivmedizin ist noch nicht gut genug erforscht, daher gehören sie aktuell nicht zur Standardbehandlung. (4) Einige Studien, die im Zusammenhang mit dem Gebrauch von Probiotika in der Intensivmedizin durchgeführt

wurden, untersuchten z.B., inwieweit diese das Auftreten von einer Beatmungs-assoziierten-Pneumonie (VAP) reduzieren. Diese Studien haben bisher nicht zu eindeutigen Ergebnissen geführt.

Insgesamt kann die Verwendung von (angepassten) Probiotika jedoch durchaus in Betracht gezogen werden. Es müssen aber noch weitere Studien durchgeführt werden, um den positiven Einfluss der Probiotika weiter zu bestätigen, sowie genaue Empfehlungen bzgl. Dosis und Typ des Probiotikums herausgeben zu können. Der Effekt von Probiotika auf die Reduzierung von Antibiotika-assoziiierter Diarrhoe wurde bereits gut erforscht und lieferte bereits vielversprechende Ergebnisse. In einer 2012 durchgeführten Meta-Analyse wurden in 63 Studien mehr als 11800 Patient*innen untersucht. Probiotika konnten das Auftreten von Antibiotika-assoziiierter Diarrhoe um 40% reduzieren. (6)

Unter Synbiotika versteht man eine Kombination von Prebiotika und Probiotika. Also werden hierbei die Mikroorganismen mit ihrer entsprechenden Nahrungsquelle vereint. Die Wirksamkeit von Synbiotika wurde bereits in diversen Studien untersucht. Simakachorn et al. fand in einer Studie heraus, dass durch die enterale Verabreichung von Synbiotika bei kritisch kranken Kindern der Anteil von Bifidobakterien erhöht werden konnten.

Außerdem konnte gleichzeitig die Konzentration von Enterobakterien gesenkt werden. In einer weiteren Studie wurden 35 septische Patient*innen, die eine tägliche Supplementierung mit Synbiotika verabreicht bekamen mit 37 kritisch Kranken ohne diese Supplementierung verglichen. Patient*innen, die Synbiotika erhielten wiesen eine geringere Inzidenz von beatmungsassoziiierter Pneumonie und Enteritis auf. Außerdem wurden im Stuhl höhere Konzentrationen an *Bifidobacterium* und *Lactobacillus*, verglichen mit der Vergleichsgruppe, nachgewiesen. (23)

Bei einem Fäkalen-Mikrobiota-Transfer werden Fäkalien eines Spenders in den Verdauungstrakt eines Empfängers transferiert. (15) Dies soll die mikrobielle Zusammensetzung des Empfängers ändern. FMT wird im Zusammenhang mit *C. difficile* Kolitis eingesetzt. Es wurde bereits eine über 90%ige Wirksamkeit bei der Heilung von *C. difficile* Kolitis nachgewiesen. (6) In der Intensivmedizin jedoch sind erst einzelne Fälle von einer Heilung der *C. difficile* Kolitis bekannt. (4) Auf Grund der gering verfügbaren Daten zur Wirksamkeit des FMT und der Tatsache, dass FMT oft mit einem Infektionsrisiko verbunden ist, sind weitere Forschungsarbeiten notwendig, um dieses Verfahren auch in der Praxis einsetzen zu können. (4)

1.7 Umgebungsmikrobiom

In zahlreichen Studien von Gebäuden und Innenräumen wurde untersucht, welche Mikroorganismen wo vorkommen und woher diese stammen. In Gebäuden wurden einzigartige mikrobielle Zusammensetzungen nachgewiesen, die in der restlichen natürlichen Umgebung so nicht zu finden sind. Auf Grund der häufig in von Menschen gebauten Einrichtungen vorherrschenden, für die Mikroorganismen ungünstigen Bedingungen, kommt es zu einem hohen Selektionsdruck und es kann nur eine Minderheit diese überleben. (24)

Viele dieser Studien ergaben, dass die meisten Mikroorganismen, die an Oberflächen nachgewiesen wurden, von der menschlichen Haut und dem Mund stammen. Die Wechselwirkungen mit der Luft und Oberflächen zwischen Mikroorganismen und dem Wirt wurden vorwiegend mit potenziell krankheitsauslösenden Mikroorganismen untersucht. Gewisse Krankheitserreger können direkt über die Luft übertragen werden wie z.B. *Legionella pneumophila*. Andere wie z.B. *Pseudomonas aeruginosa* werden durch Oberflächenkontakt übertragen. Diese Übertragungswege sind auch auf gutartige Mikrobiota übertragbar. (24)

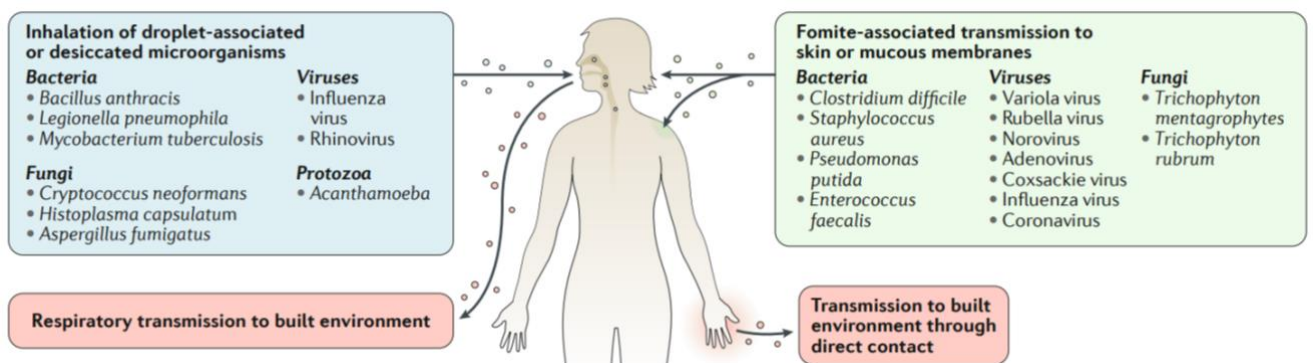


Abbildung 3: Übertragungswege von Mikroorganismen auf den Menschen und vice versa (Quelle: Gilbert JA, Stephens B. Microbiology of the built environment. Nat Rev Microbiol. November 2018;16(11):661–70.)

1.8 Krankenhausmikrobiom

Um die Ausbreitung von Krankenhausinfektionen steuern zu können, ist es von Bedeutung verstehen zu können, welche Faktoren die bakterielle Besiedelung von Krankenhäusern und anderen Einrichtungen des Gesundheitswesens beeinflussen.

Lax et al. untersuchte ein Jahr lang die mit den Patient*innen, dem Personal und den Oberflächen assoziierten Mikrobiota eines neu gebauten Krankenhauses. Es wurde gezeigt, dass, sobald die klinischen Tätigkeiten aufgenommen wurden, es bei den Fußböden und Oberflächen der Pflegestationen zu einer substantiellen Zunahme der relativen Häufigkeit der mit der menschlichen Haut assoziierten Gattungen *Corynebacterium*, *Staphylococcus* und *Streptococcus* kam. Gleichzeitig kam es zu einer Abnahme von *Acinetobacter* und *Pseudomonas*, welche vor der Eröffnung dominierten. Zusätzlich wurde nachgewiesen, dass die Oberflächen der Patient*innenumgebung (besonders des Bettgitters) durchwegs dem Hautmikrobiom des in dem Bett befindlichen Patienten/der Patientin ähnelten. (16)

Besonders intensivmedizinische Stationen gelten als potentiell Reservoir für pathogene Mikroorganismen und damit als Gefahr für den Erwerb von nosokomialen Infektionen. Neben klinisch notwendigen Verfahren spielen auch bauliche Eigenschaften der Krankenhausumgebung und Hygieneverfahren bei dem Infektionsrisiko eine Rolle. Zum Beispiel wurde herausgefunden, dass Patient*innen, die in ein Zimmer verlegt wurden, in dem zuvor ein Träger/eine Trägerin eines multiresistenten Keims untergebracht war, trotz anschließender Reinigung, ein deutlich gesteigertes Risiko bezüglich des Erwerbs eines antibiotikaresistenten Mikroorganismus haben. Dies weist darauf hin, dass die Infektion des vorherigen Zimmerbewohners einen wichtigen Risikofaktor darstellt. Die meisten Krankenhaus-assoziierten Infektionen sollen direkt von Patient*in zu Patient*in übertragen werden. Jedoch ist auch der Übertragungsweg über das medizinische Personal und die klinische Umgebung von Bedeutung. Hierbei sind vor allem die Hände des medizinischen Personals hervorzuheben, die vermutlich für etwa 20-40% der nosokomialen Infektionen verantwortlich sind. Beobachtet wurde außerdem, dass besonders patientennahe Oberflächen am meisten kontaminiert sind. Dort findet man vor allem Darm-, Haar- und Haut-assoziierte Bakterien, wie *Staphylococcus*, *Propionibacterium*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Micrococcus* und *Streptococcus*. Weiter entfernt von den Patient*innen befinden sich überwiegend Mikroorganismen, die ursprünglich aus der natürlichen Umwelt stammen. (20)

Invasive Geräte, aber auch nicht-invasive Geräte, welche schwer zu reinigen sind, gelten als potentielle Infektionsquelle. Besonders wichtig sind auch ordnungsgemäße Waschverfahren der im Krankenhaus verwendeten Textilien, da sie ebenfalls eine Quelle einer nosokomialen Infektion sein können. (20)

Neben pathogenen Bakterien und opportunistischen Pathogenen leben auch harmlose und sogar nützliche Bakterien als Gemeinschaften auf intensivmedizinischen Stationen. Die auf einer ICU gefundenen Bakterien stammen in den meisten Fällen vom Menschen. Insgesamt ist die Quantität der Mikroorganismen dort deutlich reduziert im Vergleich zu anderen Innenräumen, bei denen mehr Personen unkontrolliert Zutritt haben.(20)

Auf Grund der extremen Hygienemaßnahmen auf den Intensivstationen entwickeln die Bakterien häufig Resistenzen. Sie können dadurch trotz reduzierter Nahrungsverfügbarkeit und dem ständigen Einsatz von antimikrobiellen Mitteln in der Reinigung lange auf diversen Oberflächen überleben. (20)

1.9 Zielsetzung der Diplomarbeit

Trotz der einigen bereits durchgeführten Studien zum Thema Mikrobiomveränderungen von Intensivpatient*innen, ist es notwendig, die dysbiotischen Entwicklungen weiter zu charakterisieren. Diese genauere Charakterisierung könnte zur Entwicklung von diagnostischen und therapeutischen Interventionen, basierend auf mikrobiellen Signaturen, nützlich sein. (6)

Ziel, dieser Arbeit ist es die Mikrobiomdynamik von fünf Intensivpatient*innen über eine Dauer von durchschnittlich ca. sechs Tagen aufzuzeigen. Hierbei sollen vor allem die Interaktionen mit der Umgebung der Patient*innen nachgewiesen werden. Die erste Hypothese, die überprüft werden soll, lautet wie folgt: Im Laufe des Aufenthalts auf der Intensivstation findet eine Besiedelung des Menschen durch die Umgebungsmikroben und *vice versa* statt. Um auch den Aufenthaltsbereich der Patient*innen zu berücksichtigen, wurde nicht nur mit Proben des Patienten/der Patientin selbst (Stuhl, Magenaspirat, diverse Abstriche der Haut, Trachealsekret, Mundsekret) gearbeitet, sondern auch mit Abstrichen von der direkten Umgebung der Patient*innen. Das Umfeld der Patient*innen beinhaltet Abstriche von Kissen, Fensterbänken, Waschbecken, Tastaturen und Nachttischen. Es wurde außerdem die Hypothese aufgestellt, dass die Alpha-Diversität des Mikrobioms der Patient*innen im Laufe des Aufenthalts an der ICU abnimmt. Bei der Überprüfung dieser Hypothese sollen auch die klinisch vorhandenen Daten der Patient*innen (Aufenthaltsdauer, Medikation, zusätzliche Interventionen, ...) miteinbezogen werden.

2 Material und Methoden

2.1 Probennahme

Die Probennahme wurde bereits 2015 durchgeführt und die Originalproben wurden für diese Arbeit zur Verfügung gestellt. Insgesamt wurden 19 Intensivpatient*innen in regelmäßigen Abständen über einen Zeitraum von mehreren Tagen beprobt und ca. 1000 Proben erhalten. Insbesondere erhielt man: Abstriche von Haut (Axilla, Leiste), Analabstriche, Mundsekret. Von der Umgebung wurde beprobt: Fensterbank, Tastatur, Bettdecke, Waschbecken, Betttischchen, Bettgestell, Monitortisch.

2.2 Datenschutz und Einhaltung von forschungsethischen Standards

Um eine gendergerechte Sprache zu gewährleisten, wurde in dieser Arbeit die Gendermethode mit einem Stern „*“ gewählt. Um geschlechterunabhängige Ergebnisse zu erhalten, werden im Rahmen dieser Arbeit Abstriche von Frauen und Männern analysiert. Es wurden keine medizinischen Daten erhoben, da es sich um eine Pilotstudie handelt. Primäre Metadaten (Geschlecht, Ort und Stelle der Probenahme, Datum) waren bereits vorhanden. Ebenso bereits vorhanden war ein Ethikkommissionsvotum (ID 19-322 ex 07/08).

2.3 DNA-Extraktion

Die DNA-Extraktion erfolgte mittels dem FastDNA Spin Kit laut Protokoll. Das Protokoll enthielt 17 Schritte und für die Durchführung wurde eine Zeitspanne von drei bis vier Stunden eingeplant.

Nach dem Auftauen der eingefrorenen Proben wurden sie richtig beschriftet und gevortext. Anschließend wurde im ersten Schritt des Protokolls je 200 µl der Proben in Lysing Matrix E Röhrchen pipettiert und je 1000 µl CLS-TC Puffer hinzugefügt. Dieser Puffer ist notwendig, um die aus Lipiden und Proteinen bestehende Zellmembran aufbrechen zu können. Danach wurden die Röhrchen 10 Minuten lang gevortext, um mechanisch das Aufbrechen der Zellmembran zu unterstützen. Anschließend wurden die Proben 10 Minuten lang mit 14.000g zentrifugiert, um die Zellbruchstücke abzutrennen. Anschließend wurde der Überstand (700-800 µl) in 2 ml Röhrchen transferiert und die

gleiche Menge an Binding Matrix hinzugefügt, welche die DNA binden soll. Die bis dahin bereits erfolgten Schritte wurden dann wiederholt, um die gesamte Menge an Probe zu verwenden. In der zweiten Runde der Durchführung wurde, auf Grund des begrenzten Volumens von 2 ml, aber nur 800 µl des Puffers verwendet. Nach der Wiederholung wurde dadurch mit der doppelten Menge an Röhrchen gearbeitet.

Im nächsten Schritt wurden die Proben 5 Minuten lang mit der Hand invertiert. Danach wurden pro Röhrchen 800 µl Flüssigkeit in Spin Filters pipettiert und eine Minute lang zentrifugiert. Hierbei gelangen die löslichen und ungebundenen Zellbestandteile durch den Filter und die DNA wird zurückgehalten. Der Überstand wurde entfernt und die andere Hälfte (800 µl) hinein pipettiert. Nach einer weiteren Zentrifugation für eine Minute wurde der Überstand erneut verworfen. Anschließend wurden je 500 µl SEWS-M Lösung dazu pipettiert und vorsichtig resuspendiert. Diese Lösung besteht aus v.a. Ethanol und soll dadurch die übrigen Stoffe lösen, um nur die gebundene DNA zu erhalten. Die Proben wurden dann erneut für eine Minute zentrifugiert, der Überstand verworfen und noch einmal trocken für zwei Minuten zentrifugiert. Von der einen Hälfte der Proben wurden die Filter in Recovery Röhrchen gesteckt. Zu diesen wurden je 100 µl PCR-grade-Wasser hinzugefügt und erneut vorsichtig resuspendiert. Das Wasser sollte die DNA von dem Trägermaterial lösen. Diese Röhrchen wurden anschließend für 5 Minuten bei 55 Grad Celsius auf den Heizblock gestellt, um den Vorgang der Lösung zu beschleunigen. Nach 5 Minuten wurden die Proben eine Minute lang zentrifugiert und die Filter entfernt. Im weiteren Schritt wurden die Filter der anderen Hälfte der Proben statt der vorherigen Filter in die Recovery Röhrchen gegeben und der Überstand in die Filter pipettiert. Die Röhrchen wurden dann erneut 5 Minuten erwärmt und danach zentrifugiert. Der dabei erhaltene Überstand enthielt die extrahierte DNA und diese wurde bei -20 Grad Celsius aufbewahrt.

2.4 Polymerase Kettenreaktion

Im Anschluss an die DNA-Extraktion erfolgte die Amplifizierung des 16S rRNA Gens mittels PCR. Hierbei wurde der Illu-515F als Vorwärtsprimer und der Illu-806R als Rückwärtsprimer verwendet.

Illu-515FB_2018	fwd	TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGGTGYCAGCMGCCGCGGTAA
Illu-806RB_2018	rev	GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGGACTACNVGGGTWTCTAAT

Tabelle 1: Gensequenz des Vorwärts-bzw. Rückwärtsprimers

Als Template Menge wurden entweder 0,5 µl; 2 µl oder 5 µl eingesetzt. In der Tabelle im Anhang wird die Template Menge der jeweiligen Probe angeführt. Anschließend wurden die Proben mittels Thermocycler und dem „16S Caporaso 35cycles“ Programm amplifiziert. Das Programm lief wie folgt ab: 94°C für 3 Minuten; 35 Durchgänge von 94°C für 45 Sekunden, 50°C für eine Minute und 72°C für 90 Sekunden; dann 72°C für 10 Minuten und abschließend Wartestellung mit 4°C.

2.5 Gelelektrophorese

Zur Kontrolle wurde nach jeder PCR eine Gelelektrophorese durchgeführt. Zur Durchführung wurde ein 1,5% Agarosegel und ein 1x TAE Puffer verwendet. Als Standard wurde der 2,5 µl Standard fast ruler in die Taschen am Rand aufgetragen. Je 3 µl der Probe wurden mit loading dye 5x auf einem Parafilm gemischt und anschließend in die Gelkammern pipettiert.

Die Gelelektrophorese lief für 35 Minuten mit 70V und 400 mA. Zur Auswertung der Banden wurde der Universal Hood II Gel Imager von BioRad verwendet. Das Gel wurde damit fotografiert und anschließend das Ergebnis dokumentiert.

2.6 Sequenzierung

Die Proben, bei denen sich in der Gelelektrophorese Banden zeigten, wurden in Sequenzierungsplatten pipettiert und mittels Next Generation Sequencing (NGS) am Zentrum für Medizinische Forschung (ZMF) sequenziert. In einem ersten Schritt wurden die DNA-Konzentrationen der generierten Amplikons mit einer SequalPrep™-Normalisierungsplatte (Invitrogen) normalisiert und anschließend wurde jede Probe mit einer einzigartigen Barcode-Sequenz durch 8 Zyklen Indexierungs-PCR indiziert. Diese indizierten Proben wurden gepoolt und durch Gelschnitte gereinigt, bevor die Bibliothek auf einem Illumina MiSeq®-Gerät und dem MiSeq® Reagent Kit v3 mit 602 Zyklen (2 x 301 Zyklen) sequenziert wurde.

2.7 Auswertung

Raw Reads wurden mittels einer vorhandenen Pipeline von Christine Moissl-Eichinger prozessiert. Die Pipeline basierte auf Qiime2 Version 2021.11. (25)

Nach dem Import der demultiplexierten FASTQ-Dateien in die QIIME2-Umgebung mit Hilfe einer Manifestdatei wurden die Merkmale der Amplikon-Sequenzvarianten (ASVs) mit DADA2 (26) definiert und nicht verbindbare Reads sowie chimäre Sequenzen entfernt. Die Reads wurden dabei bei Position 220 (forward) und 120 (reverse) trunkiert.

Die resultierenden repräsentativen Sequenzen wurden mit einem vortrainierten Naïve-Bayes-Klassifikator klassifiziert, der auf der kuratierten und getrimmten SILVA138-Datenbank (Referenz Silva Datenbank) trainiert wurde. Die Erkennung und Entfernung potenzieller Verunreinigungen durch Kit-Reagenzien, Probenhandhabung oder PCR-Negativkontrollen erfolgte mit decontam (27), wobei die Prävalenzmethode auf einen Schwellenwert von 0,5 eingestellt wurde.

Die entsprechenden Datensätze wurden exportiert, um weitere Analysen und Visualisierungen des Datensatzes zu ermöglichen.

Biom Tabelle, Taxonomie Information, sowie Metadaten wurden anschließend verwendet, um eine Mikrobiomanalyse mittels MicrobiomeExplorer Version 2022(28) und R durchzuführen. Um die Abnahme der Alpha-Diversitäten über die Zeit auf ihre Signifikanz zu überprüfen, wurde auf Grund der nicht-normalverteilten Werte ein Mann-Whitney-U-Test mittels Social Science Statistics durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde mit 0,05 angegeben.

Mittels Sourcetracking erfolgte die Analyse der Herkunft der bakteriellen Taxa in einer untersuchten Probe. SourceTracker arbeitet mit einem Bayes'schen Ansatz zur Identifizierung von Verunreinigungsquellen und Anteilen dieser Verunreinigungen in metagenomischen Studien. Es wird hierbei eine Probe als „source“ definiert und der Anteil dieser an einer anderen Probe („sink“) abgeschätzt. (29) Die Rarefaction Tiefe wurde mit 500 angegeben, ansonsten wären zu viele der Proben aus der Analyse entfernt worden.

3 Ergebnisse

3.1 Mikroorganismen, die in der Patient*innenumgebung und in den menschlichen Proben zu finden sind

Insgesamt wurden, wie in Abbildung 6 veranschaulicht, 317 Proben inklusive 22 Kontrollen analysiert und sequenziert. Zur Auswertung wurden nur Proben verwendet, welche nicht mit propidium-monoazid (PMA) vorbehandelt wurden. PMA kann verwendet werden, um die Signaturen von frei-liegender DNA zu maskieren. Die ursprüngliche Probenahme inkludierte PMA- und nicht-PMA-Proben. In dieser Arbeit wurden nur nicht-PMA-Proben analysiert. In der anschließenden Auswertung mit dem Microbiome Explorer und R wurden die Kontrollen herausgefiltert. Die minimale Anzahl an Reads liegt dann bei 36 (ICU-217) und die Maximale bei 16.491 (ICU-154). Bei den Features liegt die kleinste Anzahl bei 3 (ICU-227) und die größte Anzahl bei 314 (ICU-296). Die Abbildungen 4, 5 und 7 zeigen die Verteilungen der Features und Reads graphisch.

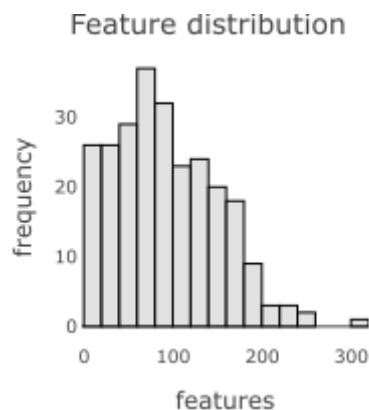


Abbildung 4: Verteilung der mikrobiellen Merkmale (Features) aller Proben

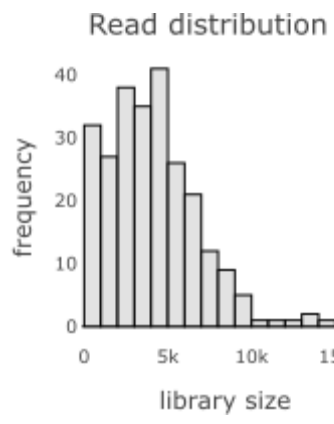
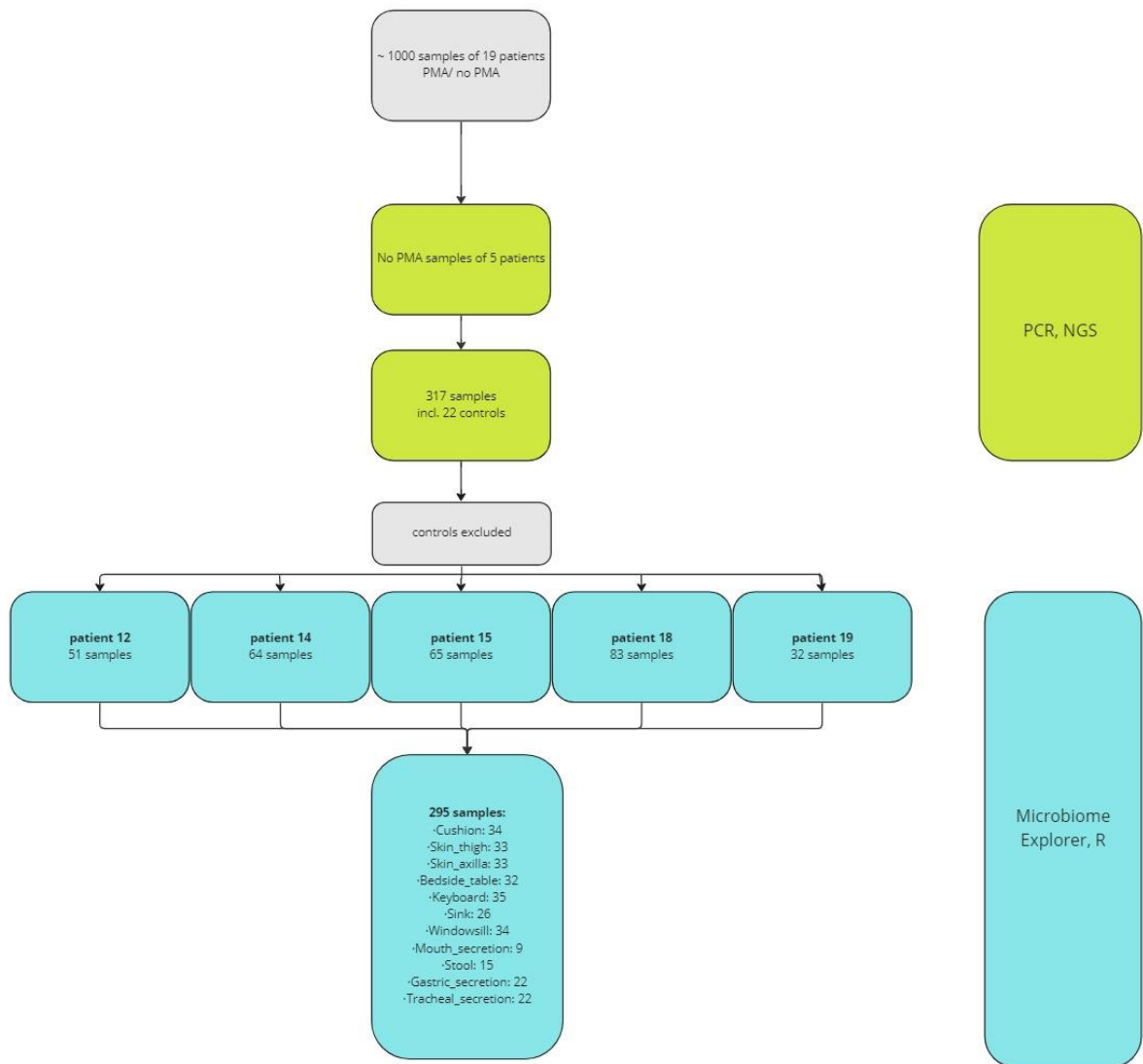


Abbildung 5: Verteilung der Reads aller Proben



miro

Abbildung 6: Übersicht über die Schritte der Datenauswertung

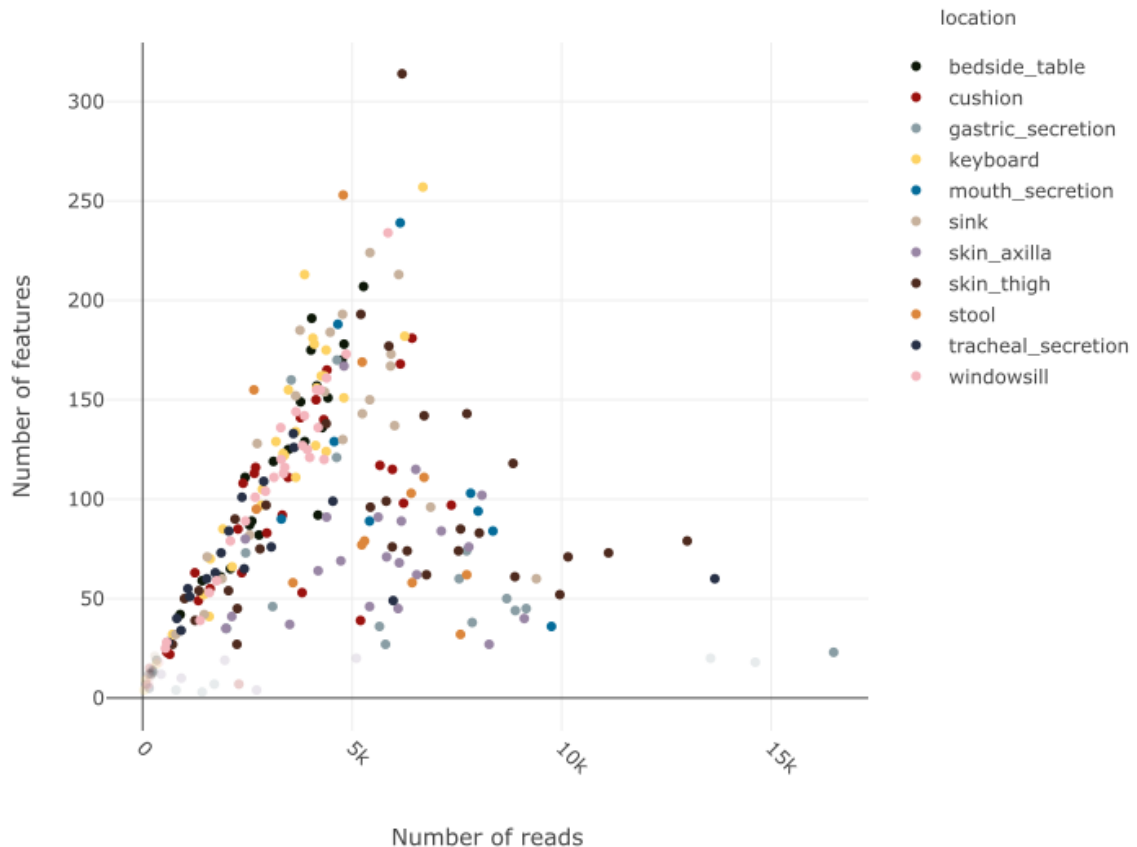


Abbildung 7: Verteilung der Features und Reads aller Proben

Abbildung 8 zeigt die relative Zusammensetzung der 10 am häufigsten vorkommenden Gattungen abhängig davon, ob es sich um humane Proben oder Umweltproben handelt, sowie aufgeschlüsselt nach Lokalisation. Es zeigt sich, dass diese 10 Gattungen bei den überwiegenden Lokalisationen mehr als die Hälfte der überhaupt vorkommenden Gattungen beinhalten.

Auf der Haut (*skin_axilla*, *skin_thigh*) lassen sich vorwiegend Haut-assoziierte Bakterien (*Corynebacterium*) nachweisen. Im Speichel (*mouth_secretion*) sind zu über 50% *Pseudomonas*-Bakterien nachweisbar. Bei *Pseudomonas aeruginosa* handelt es sich um ein Gram-negatives Bakterium, welches besonders bei Menschen mit abgeschwächtem Immunsystem zu einer der wichtigsten Krankheitserregern zählt. Es steht häufig im Zusammenhang mit nosokomialen Krankheiten und kann jede Stelle des Körpers infizieren. (30) Pseudomonaden-Infektionen sind gerade deswegen so gefährlich, weil die Erreger oft gegen die meisten vorhandenen Antibiotika resistent sind. (31) Im Stuhl (*stool*) und im Magenaspirat (*gastric_secretion*) kommen zu ca. 40% *Enterococcus*-Bakterien vor. Enterokokken sind Gram-positive anaerobe Bakterien, welche beim Menschen in der normalen Darmflora zu finden sind. Einige Vertreter

(vorallem *E. faecalis* Stämme) können jedoch, bei abgeschwächtem Immunsystem teils schwerwiegende Infektionen hervorrufen. Enterokokken zählen zu den Hauptverursachern von Infektionen im Gesundheitswesen, da sie sehr widerstandsfähige Bakterien sind und auch unter schwierigen Bedingungen überleben können. (32)

Staphylokokken sind Gram-positive Bakterien, welche auf der Haut und Schleimhaut von Menschen zu finden sind. Sie zählen generell zur gutartigen Besiedelung der Haut. Viele Arten dieser Gattung können jedoch auch als opportunistische Krankheitserreger wirken. Hierbei ist besonders *S. aureus* und *S. epidermidis* zu erwähnen, welche als Hauptverursacher von nosokomialen Krankheiten bekannt sind. (33)

Ralstonia ist eine Bakteriengattung, welche immer häufiger im Zusammenhang mit Infektionen nachgewiesen wird. Diese Gattung kommt in vielen Wasserversorgungssystemen vor, unter anderem auch der Wasserversorgung im Krankenhaus. *Ralstonia* Bakterien können nachweislich Infektionen wie z.B. Meningitis oder Osteomyelitis auslösen. (34)

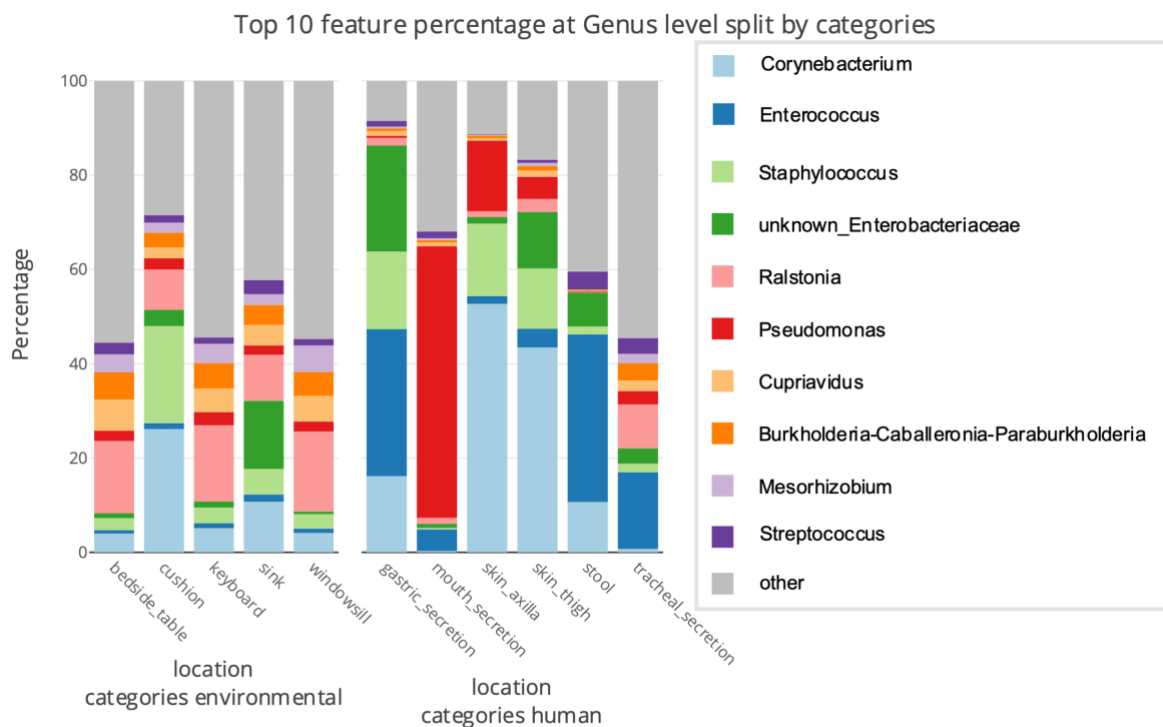


Abbildung 8: Die Top 10 der häufigsten Gattungen je nach Kategorien

Abbildung 9 zeigt die absolute Read-Anzahl (Log transformiert) der Bakteriengattung *Pseudomonas*. Die höchste Anzahl an Reads weist die Mundsekret-Probe vom 8.Tag des ICU-Aufenthalts (ICU-80, 9262 reads) und die Probe des Hautabstrichs der Achsel vom 9.Tag (ICU-124, 7896 reads) des Patienten 14 auf. Abbildung 10 zeigt die Verteilung der 10 häufigsten Gattungsarten je nach Patient*in und Lokalisation. Es ist ersichtlich, dass besonders bei Patient 14 die Bakteriengattung *Pseudomonas* im Speichel aber auch auf der Haut stark vertreten ist.

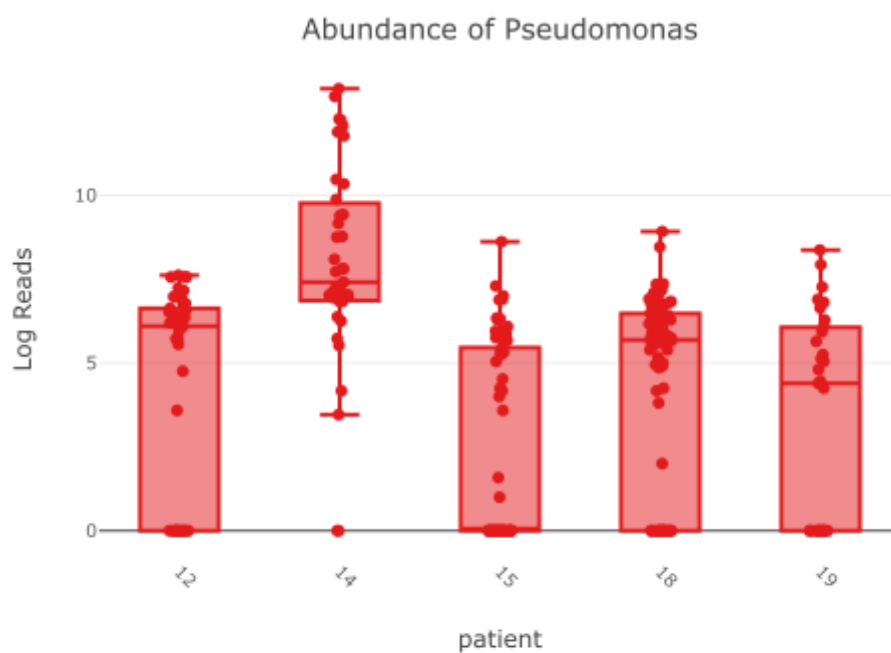


Abbildung 9: Das Vorkommen der Gattung *Pseudomonas* je nach Patient*in.

Top 10 feature percentage at Genus level split by patient

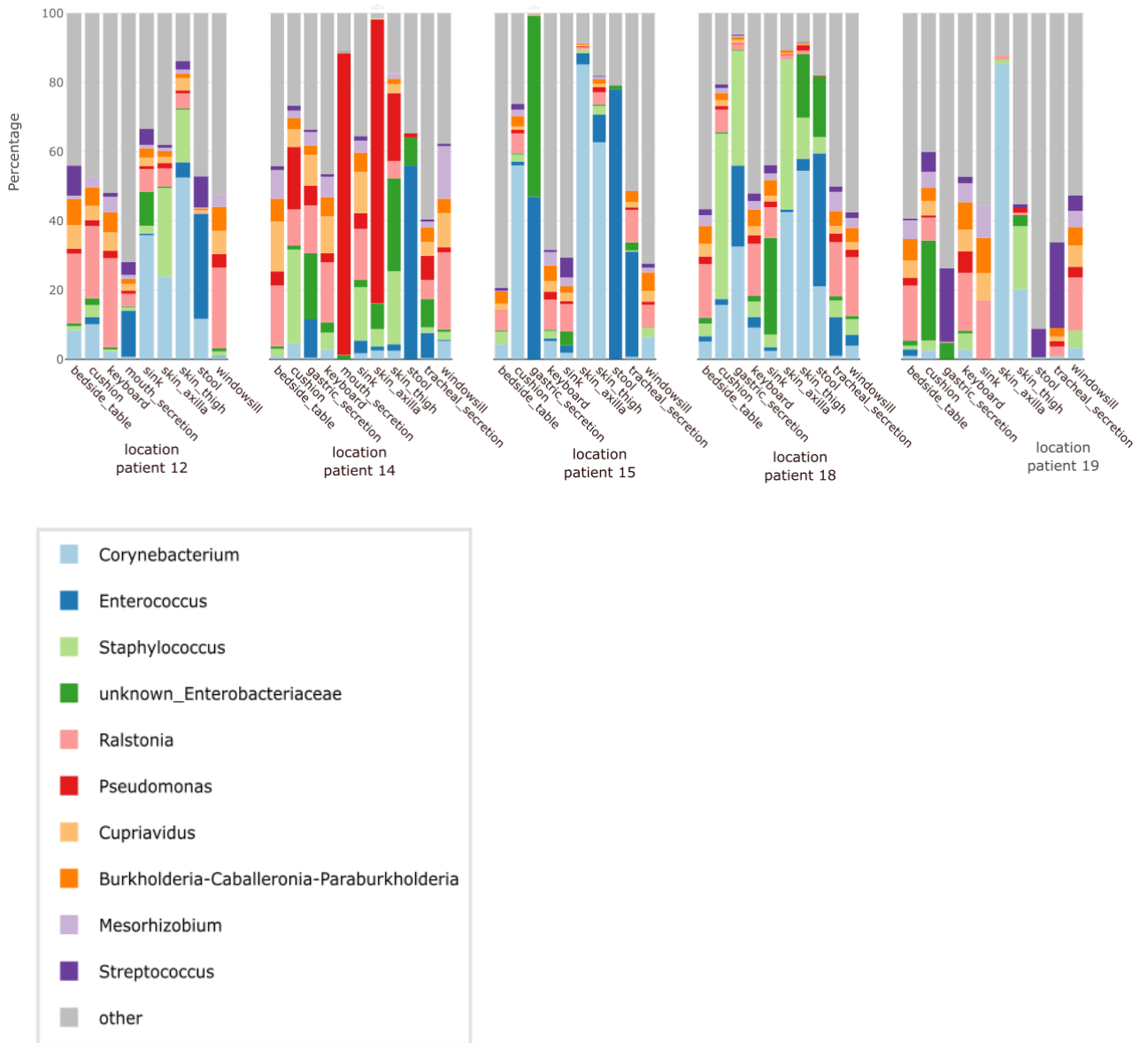


Abbildung 10: Die Top 10 der häufigsten Gattungen je nach Patient*in und Kategorie

3.2 Das Vorkommen von pathogenen Mikroorganismen

Um feststellen zu können, welche pathogenen Mikroorganismen vorkommen, wurde die entsprechende *feature table* bzgl. Risikogruppe 2 Mikroorganismen der biologischen Arbeitsstoffe der Arbeitsinspektion gefiltert. (35) Abbildung 11 zeigt die absolute Anzahl der Reads der 10 am häufigsten vorkommenden pathologischen Gattungen je nach Patient*in, sowie den Vergleich zwischen Umwelt und Patient*in.

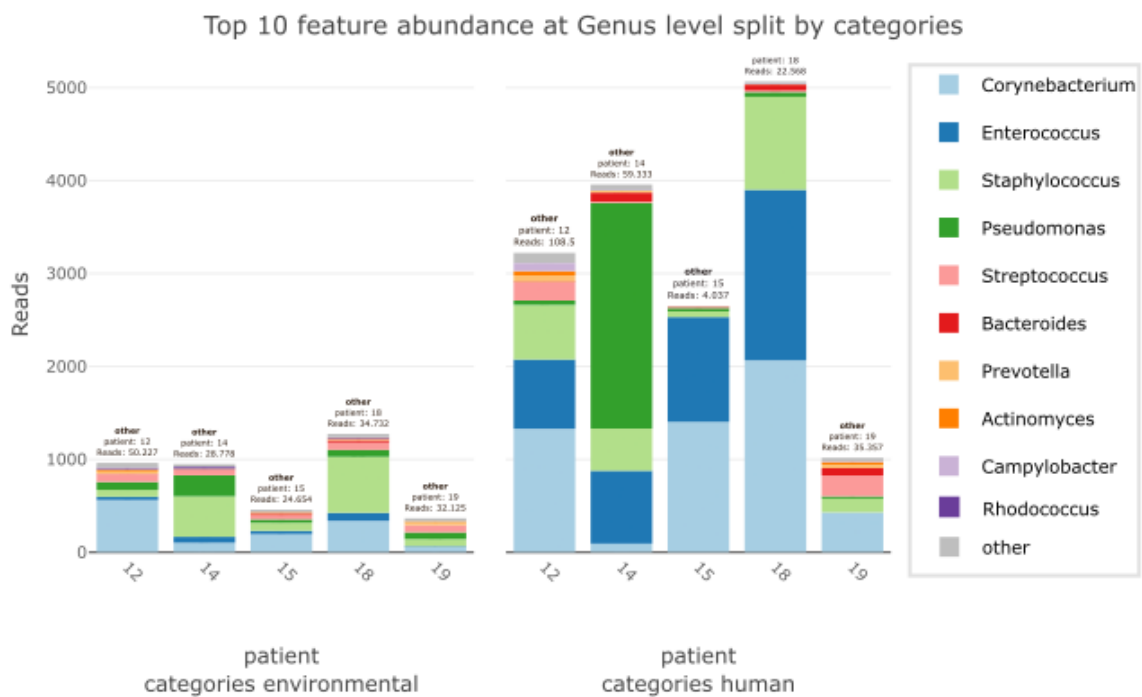


Abbildung 11: Die Top 10 der häufigsten pathogenen Gattungen je nach Kategorie und Patient*in

3.3 Die mikrobielle Übertragung zwischen den Patient*innen und der Patient*innenumgebung

In dieser Arbeit wird ein besonderes Augenmerk daraufgelegt, die Interaktionen der Mikrobiota zwischen den Patient*innen und der Umgebung dieser zu analysieren. Um die mikrobiellen Dynamiken erkennen zu können, wurden die Proben mittels Sourcetracking untersucht. Abbildung 12 zeigt die mikrobielle Übertragung von den Patient*innen auf ihre Umgebung. Ungefähr die Hälfte der in der Umwelt der Patient*innen (cushion, sink, windowsill, bedside_table, keyboard) nachgewiesenen Bakterien stammt von einer unbekanntem Quelle. Die Bakterien des Trachealsekrets übertragen sich auf die gesamte untersuchte Umgebung. Die größte Menge an Bakterien, welche aus dem Trachealsekret stammen, wird mit einem Vorkommen von über 20% auf der Tastatur nachweisen. Auch die Bakterien der Haut des Schenkels (skin_thigh) lassen sich zu einem geringen Prozentsatz in der gesamten Umgebung des Patienten nachweisen. Auffallend ist zudem, dass es zu einer Übertragung von Hautbakterien der Achsel (skin_axilla) und dem Kissen (cushion) kommt.

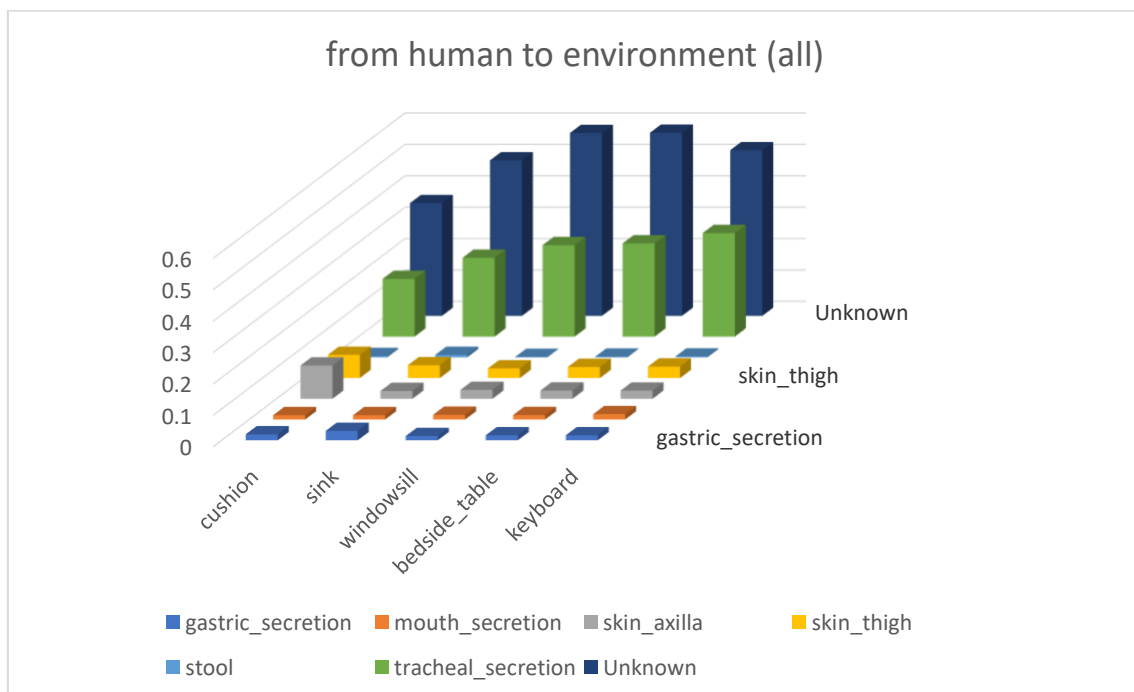


Abbildung 12: Veranschaulichung der mikrobiellen Übertragungen zwischen Mensch und Umwelt

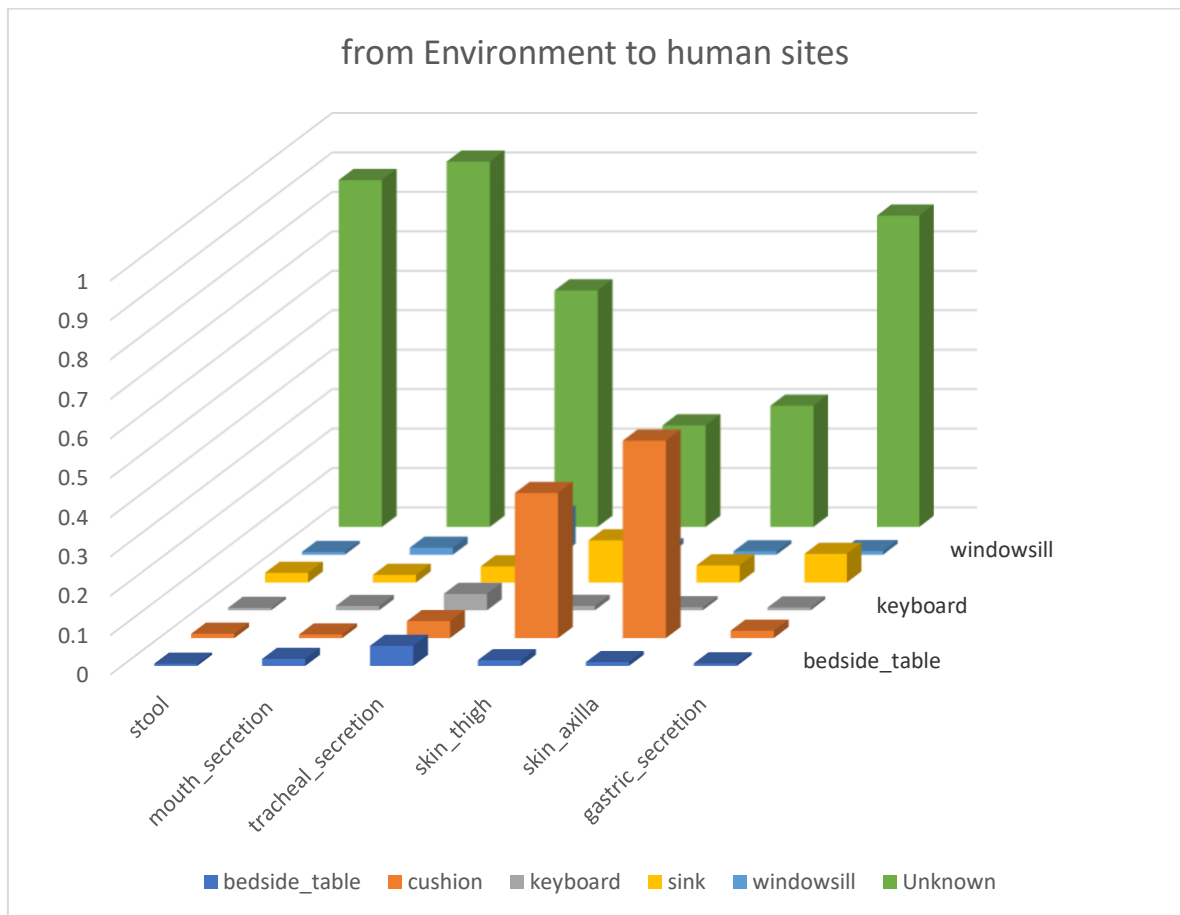


Abbildung 13: Veranschaulichung der mikrobiellen Übertragungen zwischen Umwelt und Mensch

In Abbildung 13 wird umgekehrt die Übertragung der Umgebungsbakterien auf den/die Patient*in aufgezeigt. Hierbei zeigt sich eine deutliche Anhäufung der Hautbakterien (skin_thigh, skin_axilla) am Kissen. Zusätzlich kann eine Übertragung zwischen der Haut des Schenkels (skin_thigh) und dem Magenaspirat (gastric_secretion) mit dem Waschbecken (sink) nachgewiesen werden.

Zusammenfassend lässt sich besonders die Übertragung von Mikroorganismen aus dem Trachealsekret (tracheal_secretion) stammend auf die gesamte Umgebung der Patient*in hervorheben, sowie die Übertragung von Bakterien der Haut auf die direkte Umgebung der Patient*in.

3.4 Die Alpha-Diversitäten des menschlichen Mikrobioms und des Umweltmikrobioms

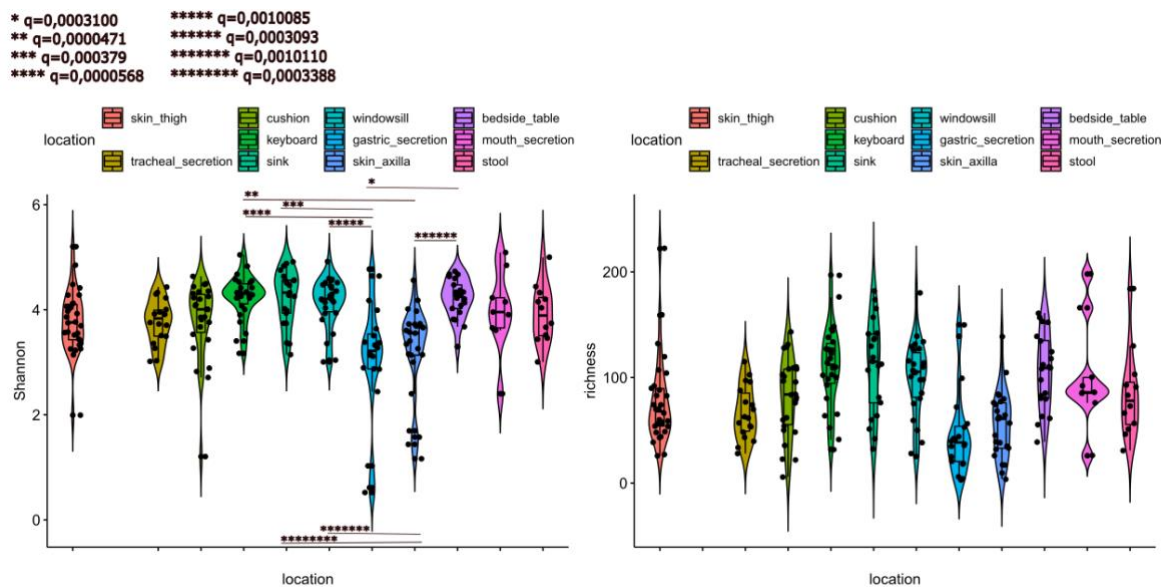


Abbildung 14: Shannon-Diversität (links) und Richness (rechts) je nach Lokalisation

Abbildung 14 zeigt die Shannon-Diversität, sowie die Richness der unterschiedlichen Lokalisationen. Graphisch ist zu erkennen, dass der Median der Shannon-Diversitäten der Umgebungsproben (keyboard, bedside_table, sink, windowsill) höher liegt als bei den menschlichen Proben. Die niedrigste Diversität zeigt sich rein graphisch bei den Magenaspirat-Proben (gastric_secretion) und den Abstrichen der Haut in der Achselhöhle (skin_axilla).

Die höchste Shannon-Diversität weist die Probe „ICU-296“ auf. Bei dieser Probe handelt es sich um einen Abstrich der Haut des Oberschenkels (skin_thigh).

Weiters soll untersucht werden, ob es im Verlauf des Aufenthalts an der Intensivstation zu einer Abnahme der Diversität der menschlichen Proben kommt. Abbildung 15 zeigt die Shannon-Diversität der einzelnen Patient*innen im Verlauf der Wochen des Aufenthalts aufgeteilt auf Umwelt und menschliche Proben.

Es zeigt sich graphisch bei Patient 12 und 14 eine deutliche Abnahme der Diversität der menschlichen Proben. Bei den anderen Patient*innen lässt sich rein graphisch keine eindeutige Tendenz ableiten.

Bei Patient 12 sind zu wenige Werte vorhanden, um die graphisch erkennbare Abnahme zwischen der ersten und zweiten Woche des Aufenthalts statistisch auswerten zu können.

Um zu prüfen, ob die Abnahme der Diversität bei Patient 14 signifikant ist ($p < 0,05$) wurde, aufgrund von nicht normal verteilten Werten, ein Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Der U-Wert ist hierbei 139 und der p-Wert 0,5157. Dies zeigt, dass die Abnahme nicht signifikant ist.

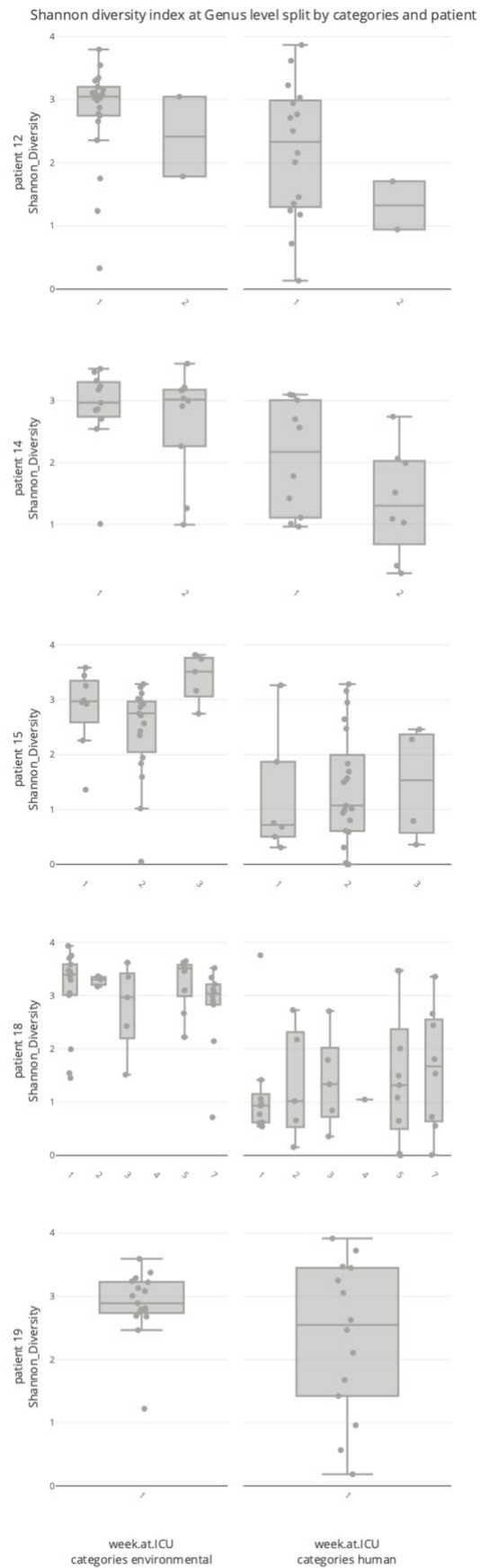


Abbildung 15: Die Shannon-Diversität im Verlauf der Wochen je nach Patient*in und Kategorie

3.5 Mikroorganismen, die in der Patient*innenumgebung länger überdauern

Um die Verteilung bestimmter Mikroorganismen in der Patient*innenumgebung über die Dauer des Aufenthalts genauer zu untersuchen, wurden Gattungen, welche laut Literatur in den Räumlichkeiten von Krankenhäusern vorherrschend sind, mittels Microbiome Explorer longitudinal untersucht.

Zu den untersuchten Gattungen gehören: *Corynebacterium*, *Staphylococcus* und *Acinetobacter*.

Abbildung 16 zeigt auf der linken Seite die 15 häufigsten Gattungen in der jeweiligen Patient*innenumgebung vorkommend im Laufe des Aufenthalts. Anschließend wurde jeweils eine Gattung ausgewählt, dessen Entwicklung über die Zeit auf der rechten Seite dargestellt wird. Von oben nach unten wird bei Patient 12 die Gattung *Corynebacterium*, bei Patient 14 *Staphylococcus*, bei Patient 15 ebenfalls *Corynebacterium*, bei Patient 18 *Staphylococcus* und bei Patientin 19 *Acinetobacter* abgebildet.

Bei der Gattung *Acinetobacter* handelt es sich um eine komplexe Gruppe von Bakterien. Einige von ihnen können eine Reihe von opportunistischen, oft Katheter-bedingten Infektionen auslösen. *Acinetobacter baumannii* zählt zu den wichtigen nosokomialen Krankheitserregern, welche gehäuft mit epidemischen Infektionsausbrüchen verbunden sind und außerhalb der Klinik nur selten zu finden sind. (36) Eine in den Niederlanden in einem Gemeinschaftskrankenhaus durchgeführte Studie fand z.B. heraus, dass sich in den dort verwendeten Federkissen eine hohe Anzahl an *Acinetobacter*-Bakterien befanden. Anschließend wurden die Kissen gegen Synthetische getauscht und das Waschverfahren geändert. Diese Maßnahmen führten dazu, dass weniger *Acinetobacter*-Stämme isoliert werden konnten. (37) Bei den hier untersuchten fünf Intensivpatient*innen kommt *Acinetobacter* in der Umgebung jeweils nur zu einem sehr geringen Prozentsatz und nicht konstant vor.

Es zeigt sich, dass in der Umgebung von Patient 18 *Staphylococcus* konstant über den gesamten Zeitraum des Aufenthalts vorhanden war.

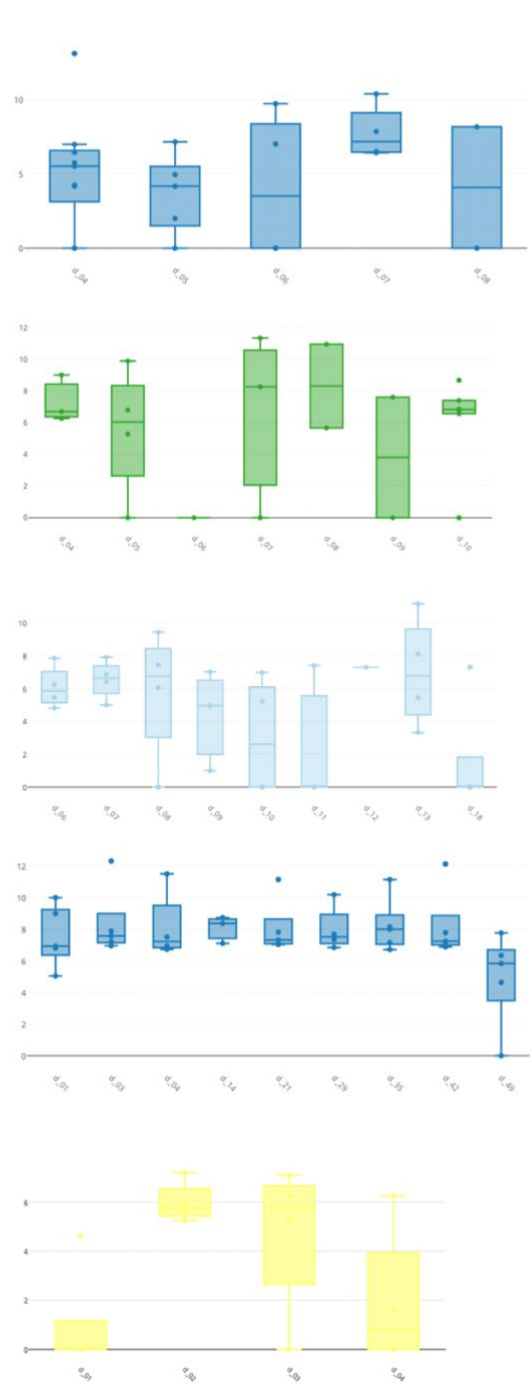
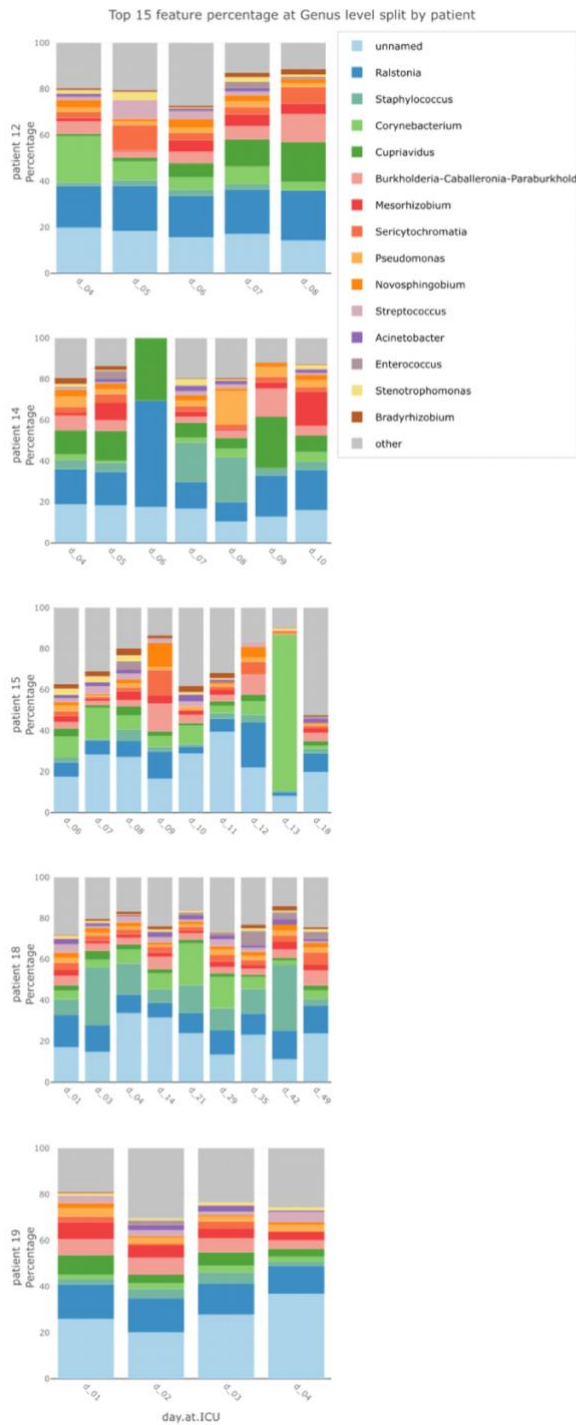


Abbildung 16: Die Top 15 häufigsten Gattungen je nach Patient*in und im Verlauf des Aufenthalts (links) und jeweils eine Gattung der Patientin/des Patienten im Detail (rechts)

3.6 Die Beta-Diversität

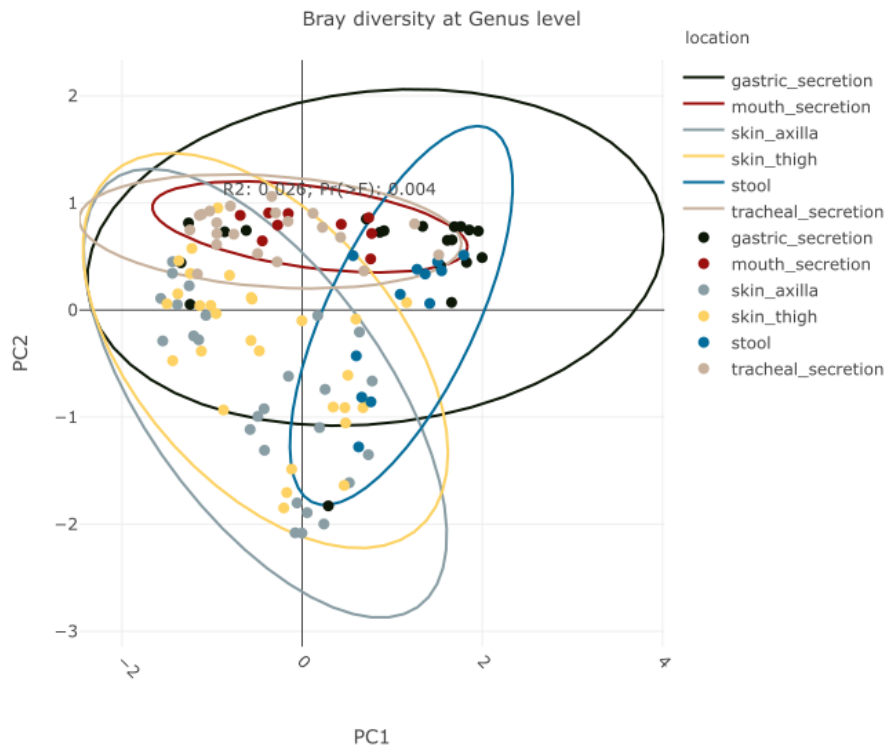


Abbildung 17: Die Bray-Diversität der menschlichen Proben

Die Beta-Diversität gibt an, wie variabel die Zusammensetzung der Taxa zwischen mehreren Proben in einem Gebiet ist. (29) In Abbildung 17 (menschliche Proben) und 18 (Umweltproben) wird die Beta-Diversität auf Grundlage der Bray-Diversität graphisch dargestellt.

Abbildung 17 zeigt, dass die Gattungen, die auf der Haut der Achsel (*skin_axilla*) und des Schenkels (*skin_thigh*) zu finden sind stark überlappen. Zusätzlich kommt es zwischen den Magenaspirat-Proben (*gastric_secretion*), den Stuhlproben (*stool*) und der Trachealsekret-Proben (*tracheal_secretion*) zu starken Überschneidungen.

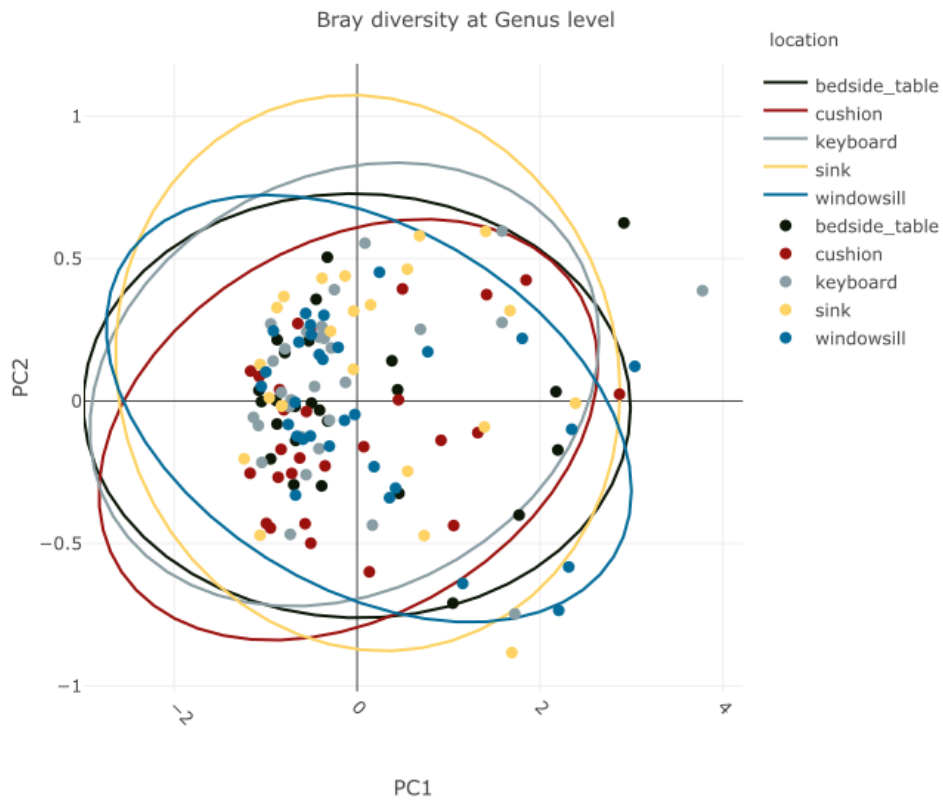


Abbildung 18: Die Bray-Diversität der Umweltproben

In Abbildung 18 ist ersichtlich, dass sich alle Ellipsen der Umwelt-Lokalisationen stark überlappen. Das bedeutet, dass die Umweltproben auf Gattungsebene keine große Variabilität aufweisen.

3.7 Klinische Daten der Patient*innen

Zu drei der untersuchten Patient*innen konnten neben den mikrobiologischen Proben auch klinische Daten retrospektiv zur Analyse herangezogen werden. Zwei von drei der Patient*innen starben während des Aufenthalts. Bei allen Intensivpatient*innen kamen Antibiotika und Protonenpumpen-Inhibitoren zum Einsatz. In den Tabellen im Anhang werden die klinischen Daten der Patient*innen zusammengefasst.

Patient 14, ein 1946-geborener Mann, wies einige Risikofaktoren auf, die zu einer Abnahme der Diversität des menschlichen Mikrobioms führen können. Bei Patient 14 kamen während des gesamten Aufenthalts an der Intensivstation diverse Antibiotika und Protonenpumpen-Inhibitoren zum Einsatz. Der Patient erhielt bereits Ceftriaxon und Flucloxacillin als antibiotische Vortherapie vor dem Aufenthalt an der ICU am LKH Graz. Am Tag der Aufnahme wurde zusätzlich mit Tigecyclin gestartet. Dieses Antibiotikum wurde bis zum 14. Tag des Aufenthalts verabreicht. Vom 14. bis zum 19. Tag kam abschließend Piperacillin/Tazobactam zum Einsatz. Zusätzlich wurde der Patient invasiv beatmet. Diese Intervention beeinflusst ebenfalls das menschliche Mikrobiom.

Bei Patient 18 handelt es sich um einen 1962-geborenen männlichen Patienten, welcher bereits zwei Tage lang auf einer anderen Intensivstation vorbehandelt wurde. Er wurde mit einer Hantavirus-Infektion aufgenommen. Bevor er auf die Intensivstation des LKH Graz übernommen wurde, bekam er bereits eine antibiotische Vorbehandlung mit Piperacillin/Tazobactam. Dieses wurde am 10. Tag des Aufenthalts wieder abgesetzt. Am 11. Tag wurde mit Meropenem gestartet, welches bis zum 54. Tag verabreicht wurde. Vom 19. Tag bis zum 36. Tag wurde zusätzlich Daptomycin verabreicht. Am 20. Tag wurde Tigecyclin eingeleitet. Dieses wurde bis zum 31. Tag angewendet. Außerdem wurde Gentamicin vom 38. bis zum 41. Tag, sowie Colistin vom 42. bis zum 53. Tag verordnet. Erythromycin wurde ebenfalls in der Therapie eingesetzt, jedoch ist hierbei der genaue Verabreichungszeitraum unbekannt. Neben zahlreichen Antibiotika wurden bei diesem Patienten auch zwei verschiedene Antimykotika (Voriconazol, Anidulafungin) zur Anwendung gebracht. Patient 18 wurde ebenfalls invasiv beatmet. Während seines Aufenthalts erkrankte der Patient an einer HAI in Form einer nosokomialen Pneumonie. Der Patient starb während des Aufenthalts auf Grund eines Multiorganversagens.

Bei Patientin 19 handelt es sich um eine 1935-geborene Frau. Bei dieser Patientin kam während des Aufenthalts nur ein Antibiotikum zum Einsatz (Amoxicillin/Clavulansäure), welches am 2. Tag gestartet und bis zum 11. Tag verabreicht wurde. Diese Patientin wurde

ebenfalls invasiv beatmet. Die Patientin verstarb auf der Intensivstation auf Grund eines Herzstillstandes.

4 Diskussion

Das menschliche Mikrobiom ist ein sehr umfassendes und innovatives Forschungsfeld. Die Zunahme an durchgeführten Studien in diesem Bereich, sorgt für ein immer größer werdendes Verständnis des Mikrobioms des Menschen in Bezug auf Gesundheit und Krankheit. (38)

Das Ziel dieser Arbeit war es, die Mikrobiomdynamik von fünf ausgewählten Intensivpatient*innen darzustellen. Als erstes wurde untersucht welche Mikroorganismen generell in den vorhandenen Proben vorkommen. Hierbei konnten einige für bestimmte Bereiche des Körpers typische Bakterien nachgewiesen werden. Wie in der Literatur beschrieben, zeigten sich auch bei den fünf Patient*innen Zustände eines Pathobioms bzw. einer Dysbiose. (4) Es überwiegen pathogene Stämme wie *Corynebacterium*, *Spahylococcus*, *Enterococcus* und *Pseudomonas*. Interessanterweise zeigte sich vor allem bei Patient 14 eine Häufung an *Pseudomonas*.

Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass es zu mikrobiellen Übertragungen zwischen den Patient*innen und der Umgebung kommt. Man kam hierbei zu den Ergebnissen, die bestätigen, dass es tatsächlich zu mikrobiellen „Shifts“ zwischen den Patient*innen und deren Umfeld kommt. Spezifischer konnte nachgewiesen werden, dass v.a. Mikroorganismen des Trachealsekrets in die gesamte Umgebung übertragen wurden. Außerdem wurden Übertragungen zwischen der mit dem Patienten/der Patientin in direktem Kontakt stehender Umwelt (vor allem Kissen) und der Haut des Patienten/der Patientin festgestellt.

Des Weiteren wurde bei den bereits durchgeführten Studien ein Rückgang der mikrobiellen Diversität des Mikrobioms im Verlauf des Aufenthalts im Krankenhaus beschrieben. (4) Diese Hypothese konnte mit den vorhandenen Daten nicht bestätigt werden. Es zeigte sich zwar bei zwei der fünf Patient*innen graphisch eine Abnahme der Diversität, diese war aber nicht statistisch signifikant. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass insgesamt zu wenige Proben vorhanden waren.

Zusätzlich fand man heraus, dass gewisse opportunistisch pathogene Mikroorganismen über einen längeren Zeitraum des Aufenthalts in der Umgebung der Patient*innen bestanden. Zum Beispiel zeigte sich bei Patient 18 über den gesamten Aufenthalt ein erhöhtes Vorkommen von *Staphylococcus*-Bakterien.

Neben der Diversität innerhalb einer Probe wurde auch die Diversität zwischen den Proben anhand der Bray-Diversität untersucht. Hierbei zeigten sich bei den menschlichen Proben

die typischen Gruppierungen je nach Lokalisation. Bei den Umweltproben konnten jedoch keine Cluster nachgewiesen werden.

Abschließend wurden die zu den Patient*innen vorhandenen klinischen Daten bearbeitet. Es konnten nur zu drei der fünf Patient*innen Daten ausgewertet werden. Die Daten zeigten, dass bei allen Patient*innen Maßnahmen eingesetzt wurden, die das Mikrobiom negativ verändern können. Um genauere Zusammenhänge zwischen den klinischen und den mikrobiologischen Daten herstellen zu können, müssten weitere Untersuchungen durchgeführt werden.

Viele andere Studien untersuchten ebenfalls den Zusammenhang zwischen dem Mikrobiom der Umwelt und den Einfluss auf die mikrobielle Besiedelung des Menschen und umgekehrt. In einer ähnlichen Studie z.B. wurde untersucht wie das Darmmikrobiom eines Intensivpatienten/einer Intensivpatientin das Oberflächenmikrobiom in der Umgebung beeinflussen kann. In dieser Studie wurde jedoch besonderes Augenmerk auf Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE) gelegt und nur Rektalabstriche verwendet. Es konnte herausgefunden werden, dass eine Besiedelung mit VRE mit der Oberflächenkontamination assoziiert ist. (39) In einer weiteren Studie wurde der Zusammenhang zwischen dem Schweregrad von Asthma bronchiale und dem Mikrobiom in schulischen Innenräumen beleuchtet. Man kam zu den Ergebnissen, dass es zu einem komplexen Zusammenspiel zwischen Mikroben, den Umwelteigenschaften und den Symptomen des Asthmas kommt. (40)

Die durchgeführte Studie weist einige Limitationen auf. Dazu gehört einerseits die bei der Beprobung und der Verarbeitung der Proben aufgetretene Kontamination. Trotz sorgfältiger Arbeit kann eine Verunreinigung der Proben nie vollständig ausgeschlossen werden. Es erfolgte jedoch eine Verbesserung der Qualität der Sequenzierung mittels decontam.(27) Aufgrund des zeitlichen Umfangs dieser Studie konnten nur fünf Patient*innen untersucht werden. Um allgemeinere Aussagen machen zu können, müssten noch weitere Patient*innen untersucht werden. In vielen Mikrobiom-Studien, wie auch in dieser, erfolgte die Amplifizierung des 16S rRNA Gens mittels PCR. Auch dieses Verfahren weist einige Begrenzungen auf. Zu diesen zählen z.B., die kurzen Leselängen, potenzielle Sequenzierungsfehler, Unterschiede je nach ausgewählter Region und Ungenauigkeiten bei eng verwandten Arten. (41) Eine weitere Schwierigkeit dieser Studie war es, die mikrobiologischen Ergebnisse mit den klinischen Daten der Patient*innen zu verknüpfen. Die vorhandene klinische Datenmenge war hierbei zu gering, um tatsächliche Aussagen über den Zusammenhang machen zu können.

Die Ergebnisse der Studie geben Einsicht in die Mikrobiomdynamiken auf der ICU im LKH Graz. Die verwendete Methode gilt als eine schnelle und effektive Möglichkeit diese Dynamiken darzustellen. Diese Arbeit gilt als Anfang und die Auswertung von den restlichen beprobten Patient*innen könnte weitere interessante Ergebnisse bringen. Die Ergebnisse der mikrobiellen Übertragungen sind besonders interessant in Bezug auf Infektionsschutz. Außerdem zeigen die bei den Patient*innen nachgewiesenen pathobiotischen Zustände, wie wichtig weitere Forschungen in der Entwicklung von therapeutischen Optionen zum Aufbau eines gesundheitsfördernden Mikrobioms sind. In Zukunft könnte es interessant sein, weitere Studien im Bereich der ICU durchzuführen, welche den Einsatz von Prebiotika, Probiotika, Synbiotika und FMT testen. Forschungsarbeiten wie hier beschrieben, könnten dafür als Basis herangezogen werden.

5 Literaturverzeichnis

1. McDonald D, Ackermann G, Khailova L, Baird C, Heyland D, Kozar R, u. a. Extreme Dysbiosis of the Microbiome in Critical Illness. *Green Tringe S*, Herausgeber. *mSphere*. 31. August 2016;1(4):e00199-16.
2. Berg G, Rybakova D, Fischer D, Cernava T, Vergès MCC, Charles T, u. a. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome*. Dezember 2020;8(1):103.
3. Wolff NS, Hugenholtz F, Wiersinga WJ. The emerging role of the microbiota in the ICU. *Crit Care*. Dezember 2018;22(1):78.
4. Oami T, Chihade DB, Coopersmith CM. The microbiome and nutrition in critical illness: *Curr Opin Crit Care*. April 2019;25(2):145–9.
5. Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLOS Biol*. 19. August 2016;14(8):e1002533.
6. Wischmeyer PE, McDonald D, Knight R. Role of the microbiome, probiotics, and ‘dysbiosis therapy’ in critical illness: *Curr Opin Crit Care*. August 2016;22(4):347–53.
7. Dogra SK, Doré J, Damak S. Gut Microbiota Resilience: Definition, Link to Health and Strategies for Intervention. *Front Microbiol*. 15. September 2020;11:572921.
8. Gilbert JA, Blaser MJ, Caporaso JG, Jansson JK, Lynch SV, Knight R. Current understanding of the human microbiome. *Nat Med*. April 2018;24(4):392–400.
9. Schommer NN, Gallo RL. Structure and function of the human skin microbiome. *Trends Microbiol*. Dezember 2013;21(12):660–8.
10. Byrd AL, Belkaid Y, Segre JA. The human skin microbiome. *Nat Rev Microbiol*. März 2018;16(3):143–55.
11. Gomaa EZ. Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review. *Antonie Van Leeuwenhoek*. Dezember 2020;113(12):2019–40.
12. O’Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep*. Juli 2006;7(7):688–93.
13. Verma D, Garg PK, Dubey AK. Insights into the human oral microbiome. *Arch Microbiol*. Mai 2018;200(4):525–40.
14. Whiteside SA, McGinniss JE, Collman RG. The lung microbiome: progress and promise. *J Clin Invest*. 2. August 2021;131(15):e150473.
15. Akrami K, Sweeney DA. The microbiome of the critically ill patient: *Curr Opin Crit Care*. Februar 2018;24(1):49–54.
16. Kitsios GD, Morowitz MJ, Dickson RP, Huffnagle GB, McVerry BJ, Morris A. Dysbiosis in the intensive care unit: Microbiome science coming to the bedside. *J Crit*

- Care. April 2017;38:84–91.
17. Lax S, Sangwan N, Smith D, Larsen P, Handley KM, Richardson M, u. a. Bacterial colonization and succession in a newly opened hospital. *Sci Transl Med.* 24. Mai 2017;9(391):eaah6500.
 18. Lankelma JM, van Vught LA, Belzer C, Schultz MJ, van der Poll T, de Vos WM, u. a. Critically ill patients demonstrate large interpersonal variation in intestinal microbiota dysregulation: a pilot study. *Intensive Care Med.* Januar 2017;43(1):59–68.
 19. Villapol S. Gastrointestinal symptoms associated with COVID-19: impact on the gut microbiome. *Transl Res.* Dezember 2020;226:57–69.
 20. Mora M, Mahnert A, Koskinen K, Pausan MR, Oberauner-Wappis L, Krause R, u. a. Microorganisms in Confined Habitats: Microbial Monitoring and Control of Intensive Care Units, Operating Rooms, Cleanrooms and the International Space Station. *Front Microbiol* [Internet]. 13. Oktober 2016 [zitiert 29. März 2023];7. Verfügbar unter: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2016.01573/full>
 21. Calandra T, Cohen J. The International Sepsis Forum Consensus Conference on Definitions of Infection in the Intensive Care Unit: *Crit Care Med.* Juli 2005;33(7):1538–48.
 22. Horan TC, Andrus M, Dudeck MA. CDC/NHSN surveillance definition of health care–associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control.* Juni 2008;36(5):309–32.
 23. Shimizu K, Yamada T, Ogura H, Mohri T, Kiguchi T, Fujimi S, u. a. Synbiotics modulate gut microbiota and reduce enteritis and ventilator-associated pneumonia in patients with sepsis: a randomized controlled trial. *Crit Care.* Dezember 2018;22(1):239.
 24. Gilbert JA, Stephens B. Microbiology of the built environment. *Nat Rev Microbiol.* November 2018;16(11):661–70.
 25. Bolyen E, Rideout JR, Dillon MR, Bokulich NA, Abnet CC, Al-Ghalith GA, u. a. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nat Biotechnol.* August 2019;37(8):852–7.
 26. Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJA, Holmes SP. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods.* Juli 2016;13(7):581–3.
 27. Davis NM, Proctor DM, Holmes SP, Relman DA, Callahan BJ. Simple statistical identification and removal of contaminant sequences in marker-gene and metagenomics data [Internet]. *Bioinformatics*; 2017 Nov [zitiert 29. März 2023]. Verfügbar unter: <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/221499>
 28. Reeder J, Huang M, Kaminker JS, Paulson JN. MicrobiomeExplorer: an R package for the analysis and visualization of microbial communities. *Bioinforma Oxf Engl.* 9. Juni 2021;37(9):1317–8.

29. Knights D, Kuczynski J, Charlson ES, Zaneveld J, Mozer MC, Collman RG, u. a. Bayesian community-wide culture-independent microbial source tracking. *Nat Methods*. September 2011;8(9):761–3.
30. Sharma G, Rao S, Bansal A, Dang S, Gupta S, Gabrani R. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm: Potential therapeutic targets. *Biologicals*. Januar 2014;42(1):1–7.
31. Pang Z, Raudonis R, Glick BR, Lin TJ, Cheng Z. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnol Adv*. Januar 2019;37(1):177–92.
32. García-Solache M, Rice LB. The Enterococcus: a Model of Adaptability to Its Environment. *Clin Microbiol Rev*. 20. März 2019;32(2):e00058-18.
33. Paharik AE, Horswill AR. The Staphylococcal Biofilm: Adhesins, Regulation, and Host Response. Kudva IT, Nicholson TL, Herausgeber. *Microbiol Spectr*. 25. März 2016;4(2):4.2.06.
34. Ryan MP, Adley CC. *Ralstonia* spp.: emerging global opportunistic pathogens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. März 2014;33(3):291–304.
35. Biologische Arbeitsstoffe - Einstufung, Schutzmaßnahmen, Branchenbeispiele [Internet]. Wien: Bundesministerium für Arbeit; 2020 Apr. Verfügbar unter: https://www.arbeitsinspektion.gv.at/Arbeitsstoffe/Arbeitsstoffe_2/Biologische_Arbeitsstoffe.html
36. Visca P, Seifert H, Towner KJ. *Acinetobacter* infection - an emerging threat to human health. *IUBMB Life*. Dezember 2011;63(12):1048–54.
37. Weernink A, Severin WPJ, Tjernberg I, Dijkshoorn L. Pillows, an unexpected source of *Acinetobacter*. *J Hosp Infect*. März 1995;29(3):189–99.
38. Requena T, Velasco M. The human microbiome in sickness and in health. *Rev Clínica Esp Engl Ed*. April 2021;221(4):233–40.
39. Freedberg DE, Richardson M, Nattakom M, Cheung J, Lynch E, Zachariah P, u. a. Are There Bad ICU Rooms? Temporal Relationship between Patient and ICU Room Microbiome, and Influence on Vancomycin-Resistant *Enterococcus* Colonization. Young VB, Herausgeber. *mSphere*. 23. Februar 2022;7(1):e01007-21.
40. Fu X, Norbäck D, Yuan Q, Li Y, Zhu X, Hashim JH, u. a. Indoor microbiome, environmental characteristics and asthma among junior high school students in Johor Bahru, Malaysia. *Environ Int*. Mai 2020;138:105664.
41. Poretzky R, Rodriguez-R LM, Luo C, Tsementzi D, Konstantinidis KT. Strengths and Limitations of 16S rRNA Gene Amplicon Sequencing in Revealing Temporal Microbial Community Dynamics. Rodriguez-Valera F, Herausgeber. *PLoS ONE*. 8. April 2014;9(4):e93827.

6 Anhang

KLINISCHE DATEN DES PATIENTEN 14

ANTIBIOTIKA	ja
ANZAHL DER ANTIBIOTIKA	2-3 verschiedene Antibiotika
PENICILLIN & CEPHALOSPORIN	pre
AMINOGLYKOSIDE	nein
TETRAZYKLINE	nein
MAKROLIDE	nein
CARBAPENEM	nein
FLUORCHINOLONE	nein
ANDERE ANTIBIOTIKA	ja
ANTIMYKOTIKA	nein
STEROIDE	Keine Angabe möglich
INHALATIVE STEROIDE	Keine Angabe möglich
INVASIVE BEATMUNG	ja
NICHT-INVASIVE BEATMUNG	nein
ANALGOSEDIERUNG	ja
CATECHOLAMINE	ja
PPI	ja
SONDENNAHRUNG	ja
DIALYSE	pre
COOLING	nein
NOSOKOMIALE INFEKTION	ja
NOSOKOMIALE PNEUMONIE	nein
INFEKTION BEI AUFNAHME	nein
GI-VERSAGEN	nein
MODS	nein
DIARRHOE	nein
FIEBER	ja
OUTCOME	lebend
HAUPTDIAGNOSE	Herzstillstand auf Grund von Kammerflimmern
KOMMENTAR	Sepsis mit multi-resistentem Keim

KLINISCHE DATEN DES PATIENTEN 18

ANTIBIOTIKA	ja
ANZAHL DER ANTIBIOTIKA	2-3 Antibiotika
PENICILLIN & CEPHALOSPORIN	nein
AMINOGLYKOSIDE	nein
TETRAZYKLINE	ja
MAKROLIDE	nein
CARBAPENEM	ja
FLUORCHINOLONE	nein
ANDERE ANTIBIOTIKA	ja
ANTIMYKOTIKA	ja
STEROIDE	ja
INHALATIVE STEROIDE	nein
INVASIVE BEATMUNG	ja
NICHT-INVASIVE BEATMUNG	nein
ANALGOSEDIERUNG	ja
CATECHOLAMINE	ja
PPI	ja
SONDENNAHRUNG	ja
DIALYSE	ja
COOLING	nein
NOSOKOMIALE INFEKTION	ja
NOSOKOMIALE PNEUMONIE	ja
INFEKTION BEI AUFNAHME	ja
GI-VERSAGEN	ja
MODS	ja
DIARRHOE	ja
FIEBER	ja
OUTCOME	tot
HAUPTDIAGNOSE	Hantavirus-Erkrankung
KOMMENTAR	MODS

KLINISCHE DATEN DER PATIENTIN 19

ANTIBIOTIKA	ja
ANZAHL DER ANTIBIOTIKA	1
PENICILLIN & CEPHALOSPORIN	ja
AMINOGLYKOSIDE	nein
TETRAZYKLINE	nein
MAKROLIDE	nein
CARBAPENEM	nein
FLUORCHINOLONE	nein
ANDERE ANTIBIOTIKA	nein
ANTIMYKOTIKA	nein
STEROIDE	ja
INHALATIVE STEROIDE	nein
INVASIVE BEATMUNG	ja
NICHT-INVASIVE BEATMUNG	nein
ANALGOSEDIERUNG	ja
CATECHOLAMINE	ja
PPI	ja
SONDENNAHRUNG	ja
DIALYSE	nein
COOLING	ja
NOSOKOMIALE INFEKTION	nein
NOSOKOMIALE PNEUMONIE	nein
INFEKTION BEI AUFNAHME	nein
GI-VERSAGEN	nein
MODS	nein
DIARRHOE	ja
FIEBER	ja
OUTCOME	tot
HAUPTDIAGNOSE	Herzstillstand auf Grund von Kammerflimmern
KOMMENTAR	-

feature id	patient	type	run	time of swab	location	categories	day at ICU	week at ICU
ICU-1	12	ICU_sample	1	03.09.2015	cushion	environmental	d_05	1
ICU-2	12	ICU_sample	1	03.09.2015	skin_thigh	human	d_05	1
ICU-3	12	ICU_sample	1	03.09.2015	bedside_table	environmental	d_05	1
ICU-4	12	ICU_sample	1	03.09.2015	keyboard	environmental	d_05	1
ICU-5	12	ICU_sample	1	03.09.2015	sink	environmental	d_05	1
ICU-6	12	ICU_sample	1	03.09.2015	windowsill	environmental	d_05	1
ICU-7	12	ICU_sample	1	04.09.2015	skin_thigh	human	d_06	1
ICU-8	12	ICU_sample	1	04.09.2015	skin_axilla	human	d_06	1
ICU-9	12	ICU_sample	1	04.09.2015	mouth_secretion	human	d_06	1
ICU-10	0	ICU_control	1	21.04.2021	control	control	d_00	0
ICU-11	12	ICU_sample	1	04.09.2015	cushion	environmental	d_06	1
ICU-12	12	ICU_sample	1	04.09.2015	sink	environmental	d_06	1
ICU-13	12	ICU_sample	1	03.09.2015	mouth_secretion	human	d_05	1
ICU-14	12	ICU_sample	1	04.09.2015	skin_axilla	human	d_06	1
ICU-15	12	ICU_sample	1	04.09.2015	stool	human	d_06	1
ICU-16	14	ICU_sample	1	08.09.2015	sink	environmental	d_05	1
ICU-17	14	ICU_sample	1	08.09.2015	keyboard	environmental	d_05	1
ICU-18	14	ICU_sample	1	08.09.2015	bedside_table	environmental	d_05	1
ICU-19	14	ICU_sample	1	12.09.2015	windowsill	environmental	d_09	2
ICU-20	14	ICU_sample	1	12.09.2015	bedside_table	environmental	d_10	2
ICU-21	0	ICU_control	1	22.04.2021	control	control	d_00	0
ICU-22	12	ICU_sample	1	04.09.2015	windowsill	environmental	d_06	1
ICU-23	12	ICU_sample	1	04.09.2015	stool	human	d_06	1
ICU-24	14	ICU_sample	1	08.09.2015	gastric_secretion	human	d_05	1
ICU-25	14	ICU_sample	1	07.09.2015	bedside_table	environmental	d_04	1
ICU-26	14	ICU_sample	1	07.09.2015	keyboard	environmental	d_04	1
ICU-27	14	ICU_sample	1	07.09.2015	sink	environmental	d_04	1
ICU-28	14	ICU_sample	1	08.09.2015	tracheal_secretion	human	d_05	1
ICU-29	14	ICU_sample	1	08.09.2015	skin_axilla	human	d_05	1
ICU-30	14	ICU_sample	1	08.09.2015	skin_thigh	human	d_05	1
ICU-31	14	ICU_sample	1	08.09.2015	cushion	environmental	d_05	1
ICU-32	14	ICU_sample	1	08.09.2015	windowsill	environmental	d_05	1
ICU-33	14	ICU_sample	1	07.09.2015	stool	human	d_04	1
ICU-34	14	ICU_sample	1	07.09.2015	gastric_secretion	human	d_04	1
ICU-35	14	ICU_sample	1	07.09.2015	tracheal_secretion	human	d_04	1
ICU-36	0	ICU_control	1	23.04.2021	control	control	d_00	0
ICU-37	12	ICU_sample	1	02.09.2015	mouth_secretion	human	d_04	1
ICU-38	12	ICU_sample	1	02.09.2015	sink	environmental	d_04	1
ICU-39	12	ICU_sample	1	02.09.2015	skin_axilla	human	d_04	1
ICU-40	12	ICU_sample	1	02.09.2015	keyboard	environmental	d_04	1
ICU-41	12	ICU_sample	1	02.09.2015	bedside_table	environmental	d_04	1
ICU-42	12	ICU_sample	1	02.09.2015	windowsill	environmental	d_04	1
ICU-43	12	ICU_sample	1	02.09.2015	skin_thigh	human	d_04	1
ICU-44	12	ICU_sample	1	02.09.2015	cushion	environmental	d_04	1

ICU-45	12	ICU_sample	1	01.09.2015	mouth_secretion	human	d_03	1
ICU-46	12	ICU_sample	1	01.09.2015	skin_axilla	human	d_03	1
ICU-47	12	ICU_sample	1	01.09.2015	skin_thigh	human	d_03	1
ICU-48	0	ICU_control	1	29.04.2021	control	control	d_00	0
ICU-49	14	ICU_sample	1	07.09.2015	cushion	environmental	d_04	1
ICU-50	14	ICU_sample	1	07.09.2015	skin_thigh	human	d_04	1
ICU-51	14	ICU_sample	1	07.09.2015	windowsill	environmental	d_04	1
ICU-52	14	ICU_sample	1	07.09.2015	skin_axilla	human	d_04	1
ICU-53	12	ICU_sample	1	06.09.2015	cushion	environmental	d_08	2
ICU-54	12	ICU_sample	1	06.09.2015	skin_thigh	human	d_08	2
ICU-55	12	ICU_sample	1	06.09.2015	skin_axilla	human	d_08	2
ICU-56	12	ICU_sample	1	06.09.2015	mouth_secretion	human	d_08	2
ICU-57	12	ICU_sample	1	05.09.2015	keyboard	environmental	d_07	1
ICU-58	12	ICU_sample	1	06.09.2015	bedside_table	environmental	d_08	2
ICU-59	12	ICU_sample	1	05.09.2015	bedside_table	environmental	d_07	1
ICU-60	12	ICU_sample	1	06.09.2015	windowsill	environmental	d_08	2
ICU-61	12	ICU_sample	1	06.09.2015	sink	environmental	d_08	2
ICU-62	12	ICU_sample	1	06.09.2015	keyboard	environmental	d_08	2
ICU-63	0	ICU_control	1	04.05.2021	control	control	d_00	0
ICU-64	12	ICU_sample	1	01.09.2015	cushion	environmental	d_04	1
ICU-65	12	ICU_sample	1	01.09.2015	windowsill	environmental	d_04	1
ICU-66	12	ICU_sample	1	01.09.2015	sink	environmental	d_04	1
ICU-67	12	ICU_sample	1	01.09.2015	keyboard	environmental	d_04	1
ICU-68	12	ICU_sample	1	01.09.2015	bedside_table	environmental	d_04	1
ICU-69	12	ICU_sample	1	05.09.2015	stool	human	d_07	1
ICU-70	12	ICU_sample	1	05.09.2015	mouth_secretion	human	d_07	1
ICU-71	12	ICU_sample	1	05.09.2015	skin_axilla	human	d_07	1
ICU-72	12	ICU_sample	1	05.09.2015	skin_thigh	human	d_07	1
ICU-73	12	ICU_sample	1	05.09.2015	cushion	environmental	d_07	1
ICU-74	12	ICU_sample	1	05.09.2015	windowsill	environmental	d_07	1
ICU-75	12	ICU_sample	1	05.09.2015	sink	environmental	d_07	1
ICU-76	12	ICU_sample	1	04.09.2015	keyboard	environmental	d_06	1
ICU-77	12	ICU_sample	1	04.09.2015	keyboard	environmental	d_06	1
ICU-78	0	ICU_control	1	05.05.2021	control	control	d_00	0
ICU-79	14	ICU_sample	1	12.09.2015	sink	environmental	d_09	2
ICU-80	14	ICU_sample	1	12.09.2015	mouth_secretion	human	d_09	2
ICU-81	14	ICU_sample	1	12.09.2015	keyboard	environmental	d_09	2
ICU-82	14	ICU_sample	1	12.09.2015	cushion	environmental	d_09	2
ICU-83	14	ICU_sample	1	12.09.2015	skin_thigh	human	d_09	2
ICU-84	14	ICU_sample	1	12.09.2015	skin_axilla	human	d_09	2
ICU-85	14	ICU_sample	1	12.09.2015	stool	human	d_09	2
ICU-86	14	ICU_sample	1	11.09.2015	skin_axilla	human	d_08	2
ICU-87	14	ICU_sample	1	11.09.2015	skin_thigh	human	d_08	2
ICU-88	14	ICU_sample	1	11.09.2015	keyboard	environmental	d_08	2
ICU-89	14	ICU_sample	1	11.09.2015	bedside_table	environmental	d_08	2
ICU-90	14	ICU_sample	1	11.09.2015	tracheal_secretion	human	d_08	2

ICU-91	14	ICU_sample	1	11.09.2015	windowsill	environmental	d_08	2
ICU-92	14	ICU_sample	1	11.09.2015	sink	environmental	d_08	2
ICU-93	0	ICU_control	1	06.05.2021	control	control	d_00	0
ICU-94	14	ICU_sample	1	09.09.2015	stool	human	d_06	1
ICU-95	14	ICU_sample	1	09.09.2015	gastric_secretion	human	d_06	1
ICU-96	14	ICU_sample	1	09.09.2015	tracheal_secretion	human	d_06	1
ICU-97	14	ICU_sample	1	09.09.2015	skin_axilla	human	d_06	1
ICU-98	14	ICU_sample	1	09.09.2015	bedside_table	environmental	d_06	1
ICU-99	14	ICU_sample	1	09.09.2015	cushion	environmental	d_06	1
ICU-100	14	ICU_sample	1	09.09.2015	keyboard	environmental	d_06	1
ICU-101	14	ICU_sample	1	09.09.2015	sink	environmental	d_06	1
ICU-102	14	ICU_sample	1	09.09.2015	windowsill	environmental	d_06	1
ICU-103	14	ICU_sample	1	09.09.2015	skin_thigh	human	d_06	1
ICU-104	14	ICU_sample	1	10.09.2015	skin_thigh	human	d_07	1
ICU-105	14	ICU_sample	1	10.09.2015	skin_axilla	human	d_07	1
ICU-106	14	ICU_sample	1	10.09.2015	cushion	environmental	d_07	1
ICU-107	14	ICU_sample	1	10.09.2015	gastric_secretion	human	d_07	1
ICU-108	0	ICU_control	1	10.05.2021	control	control	d_07	1
ICU-109	14	ICU_sample	1	10.09.2015	tracheal_secretion	human	d_07	1
ICU-110	14	ICU_sample	1	10.09.2015	bedside_table	environmental	d_07	1
ICU-111	14	ICU_sample	1	10.09.2015	keyboard	environmental	d_07	1
ICU-112	14	ICU_sample	1	10.09.2015	sink	environmental	d_07	1
ICU-113	14	ICU_sample	1	10.09.2015	windowsill	environmental	d_07	1
ICU-114	14	ICU_sample	1	11.09.2015	cushion	environmental	d_08	2
ICU-115	18	ICU_sample	1	01.10.2015	gastric_secretion	human	d_03	1
ICU-116	18	ICU_sample	1	01.10.2015	skin_thigh	human	d_03	1
ICU-117	18	ICU_sample	1	01.10.2015	skin_axilla	human	d_03	1
ICU-118	18	ICU_sample	1	01.10.2015	cushion	environmental	d_03	1
ICU-119	18	ICU_sample	1	01.10.2015	keyboard	environmental	d_03	1
ICU-120	18	ICU_sample	1	01.10.2015	bedside_table	environmental	d_03	1
ICU-121	18	ICU_sample	1	01.10.2015	sink	environmental	d_03	1
ICU-122	18	ICU_sample	1	01.10.2015	windowsill	environmental	d_03	1
ICU-123	0	ICU_control	1	11.05.2021	control	control	d_00	0
ICU-124	14	ICU_sample	1	13.09.2015	skin_axilla	human	d_10	2
ICU-125	14	ICU_sample	1	13.09.2015	bedside_table	environmental	d_10	2
ICU-126	14	ICU_sample	1	13.09.2015	sink	environmental	d_10	2
ICU-127	14	ICU_sample	1	13.09.2015	skin_thigh	human	d_10	2
ICU-128	14	ICU_sample	1	14.09.2015	mouth_secretion	human	d_11	2
ICU-129	14	ICU_sample	1	13.09.2015	keyboard	environmental	d_10	2
ICU-130	14	ICU_sample	1	13.09.2015	mouth_secretion	human	d_10	2
ICU-131	14	ICU_sample	1	13.09.2015	cushion	environmental	d_10	2
ICU-132	14	ICU_sample	1	13.09.2015	windowsill	environmental	d_10	2
ICU-133	18	ICU_sample	1	02.10.2015	skin_axilla	human	d_04	1
ICU-134	18	ICU_sample	1	02.10.2015	windowsill	environmental	d_04	1
ICU-135	18	ICU_sample	1	02.10.2015	sink	environmental	d_04	1
ICU-136	18	ICU_sample	1	02.10.2015	bedside_table	environmental	d_04	1

ICU-137	18	ICU_sample	1	02.10.2015	keyboard	environmental	d_04	1
ICU-138	0	ICU_control	1	17.05.2021	control	control	d_00	0
ICU-139	18	ICU_sample	2	02.10.2015	cushion	environmental	d_04	1
ICU-140	18	ICU_sample	2	02.10.2015	skin_thigh	human	d_04	1
ICU-141	18	ICU_sample	2	02.10.2015	gastric_secretion	human	d_04	1
ICU-142	18	ICU_sample	2	19.10.2015	tracheal_secretion	human	d_21	3
ICU-143	18	ICU_sample	2	19.10.2015	skin_axilla	human	d_21	3
ICU-144	18	ICU_sample	2	19.10.2015	bedside_table	environmental	d_21	3
ICU-145	18	ICU_sample	2	19.10.2015	keyboard	environmental	d_21	3
ICU-146	18	ICU_sample	2	19.10.2015	sink	environmental	d_21	3
ICU-147	18	ICU_sample	2	19.10.2015	skin_thigh	human	d_21	3
ICU-148	18	ICU_sample	2	19.10.2015	cushion	environmental	d_21	3
ICU-149	18	ICU_sample	2	19.10.2015	windowsill	environmental	d_21	3
ICU-150	18	ICU_sample	2	19.10.2015	gastric_secretion	human	d_21	3
ICU-151	18	ICU_sample	2	19.10.2015	stool	human	d_21	3
ICU-152	18	ICU_sample	2	27.10.2015	stool	human	d_29	4
ICU-153	0	ICU_control	2	19.05.2021	control	control	d_00	0
ICU-154	18	ICU_sample	2	27.10.2015	gastric_secretion	human	d_29	5
ICU-155	18	ICU_sample	2	27.10.2015	tracheal_secretion	human	d_29	5
ICU-156	18	ICU_sample	2	27.10.2015	skin_thigh	human	d_29	5
ICU-157	18	ICU_sample	2	27.10.2015	skin_axilla	human	d_29	5
ICU-158	18	ICU_sample	2	27.10.2015	cushion	environmental	d_29	5
ICU-159	18	ICU_sample	2	27.10.2015	bedside_table	environmental	d_29	5
ICU-160	18	ICU_sample	2	27.10.2015	keyboard	environmental	d_29	5
ICU-161	18	ICU_sample	2	27.10.2015	sink	environmental	d_29	5
ICU-162	18	ICU_sample	2	27.10.2015	windowsill	environmental	d_29	5
ICU-163	18	ICU_sample	2	29.09.2015	windowsill	environmental	d_01	1
ICU-164	18	ICU_sample	2	29.09.2015	skin_thigh	human	d_01	1
ICU-165	18	ICU_sample	2	29.09.2015	skin_axilla	human	d_01	1
ICU-166	18	ICU_sample	2	29.09.2015	cushion	environmental	d_01	1
ICU-167	18	ICU_sample	2	29.09.2015	bedside_table	environmental	d_01	1
ICU-168	0	ICU_control	2	21.05.2021	control	control	d_00	0
ICU-169	18	ICU_sample	2	29.09.2015	gastric_secretion	human	d_01	1
ICU-170	18	ICU_sample	2	29.09.2015	keyboard	environmental	d_01	1
ICU-171	18	ICU_sample	2	29.09.2015	sink	environmental	d_01	1
ICU-172	18	ICU_sample	2	02.11.2015	stool	human	d_35	5
ICU-173	18	ICU_sample	2	02.11.2015	gastric_secretion	human	d_35	5
ICU-174	18	ICU_sample	2	02.11.2015	tracheal_secretion	human	d_35	5
ICU-175	18	ICU_sample	2	02.11.2015	skin_axilla	human	d_35	5
ICU-176	18	ICU_sample	2	02.11.2015	skin_thigh	human	d_35	5
ICU-177	18	ICU_sample	2	02.11.2015	cushion	environmental	d_35	5
ICU-178	18	ICU_sample	2	02.11.2015	windowsill	environmental	d_35	5
ICU-179	18	ICU_sample	2	02.11.2015	sink	environmental	d_35	5
ICU-180	18	ICU_sample	2	02.11.2015	keyboard	environmental	d_35	5
ICU-181	18	ICU_sample	2	02.11.2015	bedside_table	environmental	d_35	5
ICU-182	18	ICU_sample	2	16.11.2015	windowsill	environmental	d_49	7

ICU-183	0	ICU_control	2	25.05.2021	control	control	d_00	0
ICU-184	18	ICU_sample	2	09.11.2015	stool	human	d_42	7
ICU-185	18	ICU_sample	2	09.11.2015	tracheal_secretion	human	d_42	7
ICU-186	18	ICU_sample	2	09.11.2015	skin_thigh	human	d_42	7
ICU-187	18	ICU_sample	2	09.11.2015	skin_axilla	human	d_42	7
ICU-188	18	ICU_sample	2	09.11.2015	cushion	environmental	d_42	7
ICU-189	18	ICU_sample	2	09.11.2015	bedside_table	environmental	d_42	7
ICU-190	18	ICU_sample	2	09.11.2015	keyboard	environmental	d_42	7
ICU-191	18	ICU_sample	2	09.11.2015	sink	environmental	d_42	7
ICU-192	18	ICU_sample	2	09.11.2015	windowsill	environmental	d_42	7
ICU-193	18	ICU_sample	2	16.11.2015	stool	human	d_49	7
ICU-194	18	ICU_sample	2	16.11.2015	gastric_secretion	human	d_49	7
ICU-195	18	ICU_sample	3	16.11.2015	tracheal_secretion	human	d_49	7
ICU-196	18	ICU_sample	3	16.11.2015	skin_thigh	human	d_49	7
ICU-197	18	ICU_sample	3	16.11.2015	skin_axilla	human	d_49	7
ICU-198	0	ICU_control	3	26.05.2021	control	control	d_00	0
ICU-199	18	ICU_sample	3	16.11.2015	cushion	environmental	d_49	7
ICU-200	18	ICU_sample	3	16.11.2015	bedside_table	environmental	d_49	7
ICU-201	18	ICU_sample	3	16.11.2015	keyboard	environmental	d_49	7
ICU-202	18	ICU_sample	3	16.11.2015	sink	environmental	d_49	7
ICU-203	15	ICU_sample	3	17.09.2015	stool	human	d_09	2
ICU-204	15	ICU_sample	3	17.09.2015	gastric_secretion	human	d_09	2
ICU-205	15	ICU_sample	3	17.09.2015	tracheal_secretion	human	d_09	2
ICU-206	15	ICU_sample	3	17.09.2015	skin_thigh	human	d_09	2
ICU-207	15	ICU_sample	3	17.09.2015	skin_axilla	human	d_09	2
ICU-208	15	ICU_sample	3	17.09.2015	cushion	environmental	d_09	2
ICU-209	15	ICU_sample	3	17.09.2015	keyboard	environmental	d_09	2
ICU-210	15	ICU_sample	3	17.09.2015	windowsill	environmental	d_09	2
ICU-211	15	ICU_sample	3	18.09.2015	gastric_secretion	human	d_10	2
ICU-212	15	ICU_sample	3	18.09.2015	tracheal_secretion	human	d_10	2
ICU-213	0	ICU_control	3	07.07.2021	control	control	d_00	0
ICU-214	15	ICU_sample	3	18.09.2015	skin_thigh	human	d_10	2
ICU-215	15	ICU_sample	3	18.09.2015	skin_axilla	human	d_10	2
ICU-216	15	ICU_sample	3	18.09.2015	cushion	environmental	d_10	2
ICU-217	15	ICU_sample	3	18.09.2015	keyboard	environmental	d_10	2
ICU-218	15	ICU_sample	3	18.09.2015	bedside_table	environmental	d_10	2
ICU-219	15	ICU_sample	3	18.09.2015	windowsill	environmental	d_10	2
ICU-220	15	ICU_sample	3	19.09.2015	gastric_secretion	human	d_11	2
ICU-221	15	ICU_sample	3	19.09.2015	tracheal_secretion	human	d_11	2
ICU-222	15	ICU_sample	3	19.09.2015	skin_thigh	human	d_11	2
ICU-223	15	ICU_sample	3	19.09.2015	skin_axilla	human	d_11	2
ICU-224	15	ICU_sample	3	19.09.2015	keyboard	environmental	d_11	2
ICU-225	15	ICU_sample	3	19.09.2015	bedside_table	environmental	d_11	2
ICU-226	15	ICU_sample	3	19.09.2015	windowsill	environmental	d_11	2
ICU-227	15	ICU_sample	3	20.09.2015	gastric_secretion	human	d_12	2
ICU-228	0	ICU_control	3	30.08.2021	control	control	d_00	0

ICU-229	15	ICU_sample	3	19.09.2015	cushion	environmental	d_12	2
ICU-230	15	ICU_sample	3	20.09.2015	tracheal_secretion	human	d_13	2
ICU-231	15	ICU_sample	3	20.09.2015	skin_thigh	human	d_13	2
ICU-232	15	ICU_sample	3	20.09.2015	skin_axilla	human	d_13	2
ICU-233	15	ICU_sample	3	20.09.2015	cushion	environmental	d_13	2
ICU-234	15	ICU_sample	3	20.09.2015	keyboard	environmental	d_13	2
ICU-235	15	ICU_sample	3	20.09.2015	bedside_table	environmental	d_13	2
ICU-236	15	ICU_sample	3	20.09.2015	windowsill	environmental	d_13	2
ICU-237	15	ICU_sample	3	14.09.2015	gastric_secretion	human	d_06	1
ICU-238	15	ICU_sample	3	14.09.2015	skin_axilla	human	d_06	1
ICU-239	15	ICU_sample	3	14.09.2015	skin_thigh	human	d_06	1
ICU-240	15	ICU_sample	3	14.09.2015	cushion	environmental	d_06	1
ICU-241	15	ICU_sample	3	14.09.2015	keyboard	environmental	d_06	1
ICU-242	15	ICU_sample	3	14.09.2015	bedside_table	environmental	d_06	1
ICU-243	0	ICU_control	3	31.08.2021	control	control	d_00	0
ICU-244	15	ICU_sample	3	14.09.2015	windowsill	environmental	d_06	1
ICU-245	15	ICU_sample	3	14.09.2015	sink	environmental	d_06	1
ICU-246	15	ICU_sample	3	14.09.2015	tracheal_secretion	human	d_06	1
ICU-247	15	ICU_sample	3	15.09.2015	gastric_secretion	human	d_07	1
ICU-248	15	ICU_sample	3	15.09.2015	cushion	environmental	d_07	1
ICU-249	15	ICU_sample	3	15.09.2015	keyboard	environmental	d_07	1
ICU-250	15	ICU_sample	3	15.09.2015	bedside_table	environmental	d_07	1
ICU-251	15	ICU_sample	3	15.09.2015	windowsill	environmental	d_07	1
ICU-252	15	ICU_sample	3	15.09.2015	sink	environmental	d_07	1
ICU-253	15	ICU_sample	3	15.09.2015	tracheal_secretion	human	d_07	1
ICU-254	15	ICU_sample	3	16.09.2015	tracheal_secretion	human	d_08	2
ICU-255	15	ICU_sample	3	16.09.2015	windowsill	environmental	d_08	2
ICU-256	15	ICU_sample	3	16.09.2015	keyboard	environmental	d_08	2
ICU-257	15	ICU_sample	3	16.09.2015	bedside_table	environmental	d_08	2
ICU-258	0	ICU_control	3	01.09.2021	control	control	d_00	0
ICU-259	18	ICU_sample	3	12.10.2015	tracheal_secretion	human	d_14	2
ICU-260	18	ICU_sample	3	12.10.2015	skin_axilla	human	d_14	2
ICU-261	18	ICU_sample	3	12.10.2015	gastric_secretion	human	d_14	2
ICU-262	18	ICU_sample	3	12.10.2015	skin_thigh	human	d_14	2
ICU-263	18	ICU_sample	3	12.10.2015	cushion	environmental	d_14	2
ICU-264	18	ICU_sample	3	12.10.2015	windowsill	environmental	d_14	2
ICU-265	18	ICU_sample	3	12.10.2015	bedside_table	environmental	d_14	2
ICU-266	18	ICU_sample	3	12.10.2015	keyboard	environmental	d_14	2
ICU-267	18	ICU_sample	3	12.10.2015	sink	environmental	d_14	2
ICU-268	15	ICU_sample	3	16.09.2015	skin_thigh	human	d_08	2
ICU-269	15	ICU_sample	3	16.09.2015	skin_axilla	human	d_08	2
ICU-270	15	ICU_sample	3	16.09.2015	cushion	environmental	d_08	2
ICU-271	15	ICU_sample	3	16.09.2015	gastric_secretion	human	d_08	2
ICU-272	15	ICU_sample	3	25.09.2015	windowsill	environmental	d_18	3
ICU-273	0	ICU_control	3	28.09.2021	control	control	d_00	0
ICU-274	15	ICU_sample	3	25.09.2015	sink	environmental	d_18	3

ICU-275	15	ICU_sample	3	25.09.2015	bedside_table	environmental	d_18	3
ICU-276	15	ICU_sample	3	25.09.2015	cushion	environmental	d_18	3
ICU-277	15	ICU_sample	3	25.09.2015	keyboard	environmental	d_18	3
ICU-278	15	ICU_sample	3	25.09.2015	skin_axilla	human	d_18	3
ICU-279	15	ICU_sample	3	25.09.2015	skin_thigh	human	d_18	3
ICU-280	15	ICU_sample	3	25.09.2015	gastric_secretion	human	d_18	3
ICU-281	15	ICU_sample	3	25.09.2015	tracheal_secretion	human	d_18	3
ICU-282	19	ICU_sample	3	29.09.2015	windowsill	environmental	d_01	1
ICU-283	19	ICU_sample	3	29.09.2015	sink	environmental	d_01	1
ICU-284	19	ICU_sample	3	29.09.2015	keyboard	environmental	d_01	1
ICU-285	19	ICU_sample	3	29.09.2015	bedside_table	environmental	d_01	1
ICU-286	19	ICU_sample	3	29.09.2015	cushion	environmental	d_01	1
ICU-287	19	ICU_sample	3	29.09.2015	skin_thigh	human	d_01	1
ICU-288	0	ICU_control	3	30.09.2021	control	control	d_02	1
ICU-289	19	ICU_sample	3	30.09.2015	gastric_secretion	human	d_02	1
ICU-290	19	ICU_sample	3	30.09.2015	tracheal_secretion	human	d_02	1
ICU-291	19	ICU_sample	3	30.09.2015	skin_thigh	human	d_02	1
ICU-292	19	ICU_sample	3	30.09.2015	skin_axilla	human	d_02	1
ICU-293	19	ICU_sample	3	30.09.2015	cushion	environmental	d_02	1
ICU-294	19	ICU_sample	3	30.09.2015	bedside_table	environmental	d_02	1
ICU-295	19	ICU_sample	3	30.09.2015	keyboard	environmental	d_02	1
ICU-296	19	ICU_sample	3	01.10.2015	skin_thigh	human	d_03	1
ICU-297	19	ICU_sample	3	30.09.2015	windowsill	environmental	d_02	1
ICU-298	19	ICU_sample	3	01.10.2015	windowsill	environmental	d_03	1
ICU-299	19	ICU_sample	3	01.10.2015	bedside_table	environmental	d_03	1
ICU-300	19	ICU_sample	3	01.10.2015	keyboard	environmental	d_03	1
ICU-301	19	ICU_sample	3	01.10.2015	cushion	environmental	d_03	1
ICU-302	19	ICU_sample	3	01.10.2015	skin_axilla	human	d_03	1
ICU-303	0	ICU_control	3	11.11.2021	control	control	d_00	0
ICU-304	19	ICU_sample	3	01.10.2015	tracheal_secretion	human	d_03	1
ICU-305	19	ICU_sample	3	01.10.2015	stool	human	d_03	1
ICU-306	19	ICU_sample	3	02.10.2015	gastric_secretion	human	d_04	1
ICU-307	19	ICU_sample	3	02.10.2015	windowsill	environmental	d_04	1
ICU-308	19	ICU_sample	3	02.10.2015	bedside_table	environmental	d_04	1
ICU-309	19	ICU_sample	3	02.10.2015	keyboard	environmental	d_04	1
ICU-310	19	ICU_sample	3	02.10.2015	cushion	environmental	d_04	1
ICU-311	19	ICU_sample	3	02.10.2015	skin_axilla	human	d_04	1
ICU-312	19	ICU_sample	3	02.10.2015	skin_thigh	human	d_04	1
ICU-313	19	ICU_sample	3	02.10.2015	tracheal_secretion	human	d_04	1
ICU-314	19	ICU_sample	3	02.10.2015	stool	human	d_04	1
ICU-315	19	ICU_sample	3	29.09.2015	skin_axilla	human	d_01	1
ICU-316	18	ICU_sample	3	12.10.2015	stool	human	d_14	2
ICU-317	0	ICU_control	3	15.11.2015	control	control	d_00	0
ICU-neg_S124	0	PCR_control	3	01.12.2021	control	control	d_00	0
ICU-neg_S326	0	PCR_control	1	18.05.2021	control	control	d_00	0
ICU-neg2	0	PCR_control	1	18.05.2021	control	control	d_00	0

ICU-neg3	0	PCR_control	1	18.05.2021	control	control	d_00	0
Sample name	material	Sample volume	primer sequences for amplification	Template (µl)	Amplicon size (bp)	Check gel	Total amount of PCR product (µl)	
ICU_1	PCRproduct	20	lllu515F-lllu806R	2,00	292	weak	22,00	
ICU_2	PCRproduct	20	lllu515F-lllu806R	2,00	292	strong	22,00	
ICU_3	PCRproduct	20	lllu515F-lllu806R	2,00	292	weak	22,00	
ICU_4	PCRproduct	20	lllu515F-lllu806R	2,00	292	weak	22,00	
ICU_5	PCRproduct	20	lllu515F-lllu806R	2,00	292	medium	22,00	
ICU_6	PCRproduct	20	lllu515F-lllu806R	2,00	292	weak	22,00	
ICU_7	PCRproduct	20	lllu515F-lllu806R	2,00	292	strong	22,00	
ICU_8	PCRproduct	20	lllu515F-lllu806R	2,00	292	medium	22,00	
ICU_9	PCRproduct	20	lllu515F-lllu806R	2,00	292	medium	22,00	
ICU_10	PCRproduct	20	lllu515F-lllu806R	2,00	292	none	22,00	
ICU_11	PCRproduct	20	lllu515F-lllu806R	2,00	292	weak	22,00	
ICU_12	PCRproduct	20	lllu515F-lllu806R	2,00	292	medium	22,00	
ICU_13	PCRproduct	20	lllu515F-lllu806R	2,00	292	strong	22,00	
ICU_14	PCRproduct	20	lllu515F-lllu806R	2,00	292	medium	22,00	
ICU_15	PCRproduct	20	lllu515F-lllu806R	2,00	292	medium	22,00	
ICU_16	PCRproduct	20	lllu515F-lllu806R	2,00	292	medium	22,00	
ICU_17	PCRproduct	20	lllu515F-lllu806R	2,00	292	medium	22,00	
ICU_18	PCRproduct	20	lllu515F-lllu806R	2,00	292	weak	22,00	
ICU_19	PCRproduct	20	lllu515F-lllu806R	2,00	292	weak	22,00	
ICU_20	PCRproduct	20	lllu515F-lllu806R	2,00	292	weak	22,00	
ICU_21	PCRproduct	20	lllu515F-lllu806R	2,00	292	none	22,00	
ICU_22	PCRproduct	20	lllu515F-lllu806R	2,00	292	medium	22,00	
ICU_23	PCRproduct	20	lllu515F-lllu806R	2,00	292	weak	22,00	

ICU_24	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	medium	22,00
ICU_25	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_26	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	medium	22,00
ICU_27	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	medium	22,00
ICU_28	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_29	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_30	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_31	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	none	22,00
ICU_32	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_33	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_34	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_35	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_36	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	none	22,00
ICU_37	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	medium	22,00
ICU_38	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	medium	22,00
ICU_39	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	medium	22,00
ICU_40	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_41	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	medium	22,00
ICU_42	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_43	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	strong	22,00
ICU_44	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_45	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_46	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_47	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_48	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	none	22,00
ICU_49	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	strong	22,00
ICU_50	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	strong	22,00

ICU_51	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	medium	22,00
ICU_52	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	medium	22,00
ICU_53	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	medium	22,00
ICU_54	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_55	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	medium	22,00
ICU_56	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_57	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	medium	22,00
ICU_58	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	medium	22,00
ICU_59	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_60	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	medium	22,00
ICU_61	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	medium	22,00
ICU_62	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	medium	22,00
ICU_63	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	none	22,00
ICU_64	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_65	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_66	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	medium	22,00
ICU_67	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_68	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	medium	22,00
ICU_69	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	strong	22,00
ICU_70	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_71	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_72	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_73	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	medium	22,00
ICU_74	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	medium	22,00
ICU_75	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	none	22,00
ICU_138	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_77	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00

ICU_78	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	none	22,00
ICU_79	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	strong	22,00
ICU_80	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_81	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	medium	22,00
ICU_82	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	medium	22,00
ICU_83	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	strong	22,00
ICU_84	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	strong	22,00
ICU_85	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	strong	22,00
ICU_86	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_87	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_88	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	medium	22,00
ICU_89	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_90	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	medium	22,00
ICU_91	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_92	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_93	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	none	22,00
ICU_94	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	strong	22,00
ICU_95	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	none	22,00
ICU_96	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	strong	22,00
ICU_97	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	strong	22,00
ICU_98	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	strong	22,00
ICU_99	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	none	22,00
ICU_100	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_101	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	strong	22,00
ICU_102	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	none	22,00
ICU_103	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	medium	22,00
ICU_104	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	strong	22,00

ICU_105	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	strong	22,00
ICU_106	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	strong	22,00
ICU_107	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	strong	22,00
ICU_108	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	none	22,00
ICU_109	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_110	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	none	22,00
ICU_111	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_112	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_113	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_114	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_115	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_116	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_117	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_118	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_119	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_120	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_121	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_122	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	medium	22,00
ICU_123	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	none	22,00
ICU_124	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_125	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_126	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_127	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_128	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_129	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	medium	22,00
ICU_130	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_131	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00

ICU_132	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	none	22,00
ICU_133	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_134	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	none	22,00
ICU_135	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_136	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_137	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_195	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_196	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_197	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_198	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_199	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_200	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_201	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_202	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_203	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_204	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_205	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	medium	22,00
ICU_206	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_207	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_208	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	medium	22,00
ICU_209	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_210	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_211	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_212	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_213	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_214	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,5	292	weak	22,00
ICU_215	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00

ICU_216	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_217	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	none	22,00
ICU_218	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_219	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_220	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	none	22,00
ICU_221	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_222	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_223	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_224	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,5	292	weak	22,00
ICU_225	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_226	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_227	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_228	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	none	22,00
ICU_229	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_230	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_231	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	medium	22,00
ICU_232	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_233	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_234	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_235	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_236	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_237	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_238	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_239	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	medium	22,00
ICU_240	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	medium	22,00
ICU_241	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	medium	22,00
ICU_242	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	none	22,00

ICU_243	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	none	22,00
ICU_244	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_245	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_246	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	strong	22,00
ICU_247	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_248	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	medium	22,00
ICU_249	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_250	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_251	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_252	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_253	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_254	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_255	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_256	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	strong	22,00
ICU_257	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_258	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	none	22,00
ICU_259	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	strong	22,00
ICU_260	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	strong	22,00
ICU_261	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	strong	22,00
ICU_262	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_263	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_264	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_265	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_266	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_267	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_268	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_269	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00

ICU_270	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_271	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	strong	22,00
ICU_272	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_273	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	none	22,00
ICU_274	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_275	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	strong	22,00
ICU_276	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_277	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_278	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_279	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_280	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_281	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_282	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_283	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_284	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_285	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_286	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_287	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	strong	22,00
ICU_288	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	none	22,00
ICU_289	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_290	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_291	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_292	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	strong	22,00
ICU_293	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_294	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	medium	22,00
ICU_295	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	medium	22,00
ICU_296	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	medium	22,00

ICU_297	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	medium	22,00
ICU_298	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	medium	22,00
ICU_299	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	medium	22,00
ICU_300	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_301	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	none	22,00
ICU_302	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_303	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	none	22,00
ICU_304	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_305	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	strong	22,00
ICU_306	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	strong	22,00
ICU_307	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_308	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_309	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	weak	22,00
ICU_310	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	weak	22,00
ICU_311	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_312	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_313	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_314	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	0,50	292	strong	22,00
ICU_315	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	medium	22,00
ICU_316	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	strong	22,00
ICU_317	PCRproduct	20	IIIu515F-IIIu806R	2,00	292	none	22,00