

Aus der Universitätsklinik für Pneumologie  
der Medizinischen Fakultät  
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

**Keimbelastung des Personals bei Jet-Ventilation in der  
Bronchoskopie**

und

**Beatmungsinduzierte Lungenschädigung bei Jet-  
Ventilation in der Bronchoskopie**

**Dissertation**

zur Erlangung des Doktorgrades

Dr. med.

(doctor medicinae)

an der Medizinischen Fakultät  
der Otto-von-Guericke Universität Magdeburg

Vorgelegt von      Juliane Brunner

Aus                    Leisnig

Magdeburg         2019

## **Dokumentationsblatt:**

### **Bibliographische Beschreibung:**

Brunner, Juliane:

Keimbelastung des Personals bei Jet-Ventilation in der Bronchoskopie und beatmungsinduzierte Lungenschädigung bei Jet-Ventilation in der Bronchoskopie. – 2019.  
- 56 Bl.: 5 Abb., 3 Tab.

### **Kurzreferat:**

Die vorliegende Dissertation umfasst zwei klinischen Studien, welche die Keimbelastung des Personals bei einer Jet-Ventilation in der starren Bronchoskopie und mögliche beatmungsinduzierte Lungenschädigung bei endobronchialen Ultraschalluntersuchungen unter einer Jet-Ventilation untersuchten.

In den Untersuchungen zur Keimbelastung durch Jet-Ventilation konnte eine erhöhte Luftkeimzahl in der Nähe des Bronchoskopausgangs nachgewiesen werden. Das Expirationsgas entweicht dort ungefiltert in die Raumluft. Die nachgewiesenen Keime zählen nicht als problematische Krankheitserreger, jedoch sollte der möglichen Gefährdung durch Patientenkeime weiteres Augenmerk geschenkt werden.

Beatmungsinduzierte Lungenschädigung, in Form von entzündlichen Reaktionen, auch Biotrauma genannt, wie sie bei anderen Beatmungsverfahren bereits nachgewiesen wurden, konnten unter einer Jet-Ventilation bei endobronchialen Ultraschalluntersuchungen, im Rahmen einer starren Bronchoskopie, nicht nachgewiesen werden. Untersucht wurde die Zusammensetzung der bronchoalveolären Lavage am Anfang und am Ende der Jet-Ventilation bezüglich der Zellzahl und Zellverteilung, sowie die Konzentration der proinflammatorischen Marker IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  und lösliches ICAM. In diesen Parametern fanden sich keine signifikanten Veränderungen, so dass es bei der Jet-Ventilation in Rahmen einer starren Bronchoskopie keine Anhaltspunkte für eine beatmungsassoziierte Lungenschädigung gibt.

**Schlüsselwörter:**

Jet-Ventilation

Hochfrequenzbeatmung

Keimbelastung

Beatmungsinduzierte Lungenschäden

VILI (ventilator induced lung injury), VALI (ventilator associated lung injury)

Biotrauma

Starre Bronchoskopie

EBUS

<b><u>Inhaltsverzeichnis:</u></b>	Seite
Dokumentationsblatt	2
Schlüsselwörter	3
Inhaltsverzeichnis	4
Abkürzungsverzeichnis	6
1. Einführung	
1.1    Definition Jet-Ventilation	7
1.2    Anwendungsbereiche	8
1.3    Vorteile und Nachteile der Jet-Ventilation	9
1.4    Grundlagen der Studien	10
1.4.1    Mikrobiologische Keimbelastung: Messung, Grenzwerte, Keime	10
1.4.2    Beatmungsinduzierte Lungenschäden	15
1.4.3    Bronchoalveoläre Lavage	19
1.5    Fragestellungen	20
2. Material und Methoden	
2.1    Studiendesign	21
2.2    Patienten	21
2.2.1    Mikrobiologische Keimbelastung (Studie 1)	21
2.2.2    Beatmungsinduzierte Lungenschäden (Studie 2)	22
2.3    Untersuchungsablauf	22
2.3.1    Mikrobiologische Keimbelastung (Studie 1)	22
2.3.2    Beatmungsinduzierte Lungenschäden (Studie 2)	25
2.4    Auswertung	26
2.4.1    Mikrobiologische Analyse des Luftkeimsammlers (Studie 1)	26
2.4.2    Immunologische Analyse der BAL (Studie 2)	27
2.5    Statistik	28

2.6	Ethische Aspekte	28
3.	Ergebnisse	
3.1	Mikrobiologische Ergebnisse (Studie 1)	29
3.2	Immunologische Ergebnisse (Studie 2)	34
4.	Diskussion	
4.1	Keimbelastung bei Jet-Ventilation (Studie 1)	40
4.2	Gefährdung für das Personal	42
4.3	Schutzmaßnahmen	42
4.5	Pulmonale inflammatorische Reaktion auf Jet-Ventilation (Studie 2)	43
4.6	Kritik der Methodik und Limitationen	44
4.7	Schlussfolgerungen	45
5.	Zusammenfassung	46
	Abbildungsverzeichnis	47
	Literaturverzeichnis	47
	Danksagung	54
	Ehrenerklärung	55
	Darstellung des Bildungsweges	56

### **Abkürzungsverzeichnis:**

ADH	Antidiuretisches Hormon
ALI	Acute lung injury
ARDS	Acute respiratory distress syndrome
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid
EBUS	Endobronchialer Ultraschall
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FFP	Filtering face piece
ICAM-1	Intercellular Adhesion Molecule 1
IL-1 $\beta$	Interleukin 1 Beta
IL-6	Interleukin 6
KBE	Koloniebildende Einheit
PEEP	Positive end-expiratory pressure
RCS	Reuter centrifugal sampler
Spp.	Species pluralis
TNF $\alpha$	Tumornekrosefaktor Alpha
VALI	Ventilator- associated lung injury
VCAM-1	Vascular Cell Adhesion Molecule 1
VILI	Ventilator-induced lung injury

## 1. Einführung

Die Folgen einer mechanischen Beatmung für den Patienten, die zugehörigen Risiken und auch Auswirkungen auf die Umwelt sind vor allem für die konventionelle Beatmung gut untersucht. Im Bereich der Jet-Ventilation fehlen diesbezüglich Erkenntnisse zu einer möglichen Gefährdung von Patienten, insbesondere das Entstehen einer inflammatorischen Reaktion der Lunge auf die künstliche Beatmung (Biotrauma) betreffend und die Frage, ob diese auch bereits bei kurzer Jet-Ventilation nachzuweisen ist.

Die Gefährdung des Personals durch ein halboffenes System, in dem das Expirationsgas vom Patienten die Raumluft kontaminiert, wurde bisher nicht untersucht. Grundlagen zu gewinnen in diesen zwei Sachverhalten ist der Gegenstand der vorliegenden Arbeit.

### 1.1 Definition Jet-Ventilation

*Jet-Ventilation* ist eine besondere maschinelle Beatmungsform mit Applikation geringer Tidalvolumina bei einer sehr hohen Atemfrequenz, gefolgt von einer passiven Expiration [1, 2, 3].

Dabei wird durch das Beatmungsgerät stoßweise Inspirationsgas über eine englumige Leitung in die nach außen offenen Atemwege des Patienten appliziert. Die Atemfrequenz beträgt meist zwischen 100 und 250 Inspirationsphasen pro Minute. Es werden jedoch auch höhere Atemfrequenzen beschrieben. Die technische Umsetzung erfolgt durch Magnetventile [4]. Die Jet-Ventilation sollte unter Vollnarkose und Muskelrelaxation des Patienten erfolgen.

Es gibt drei weitere Formen der Hochfrequenzbeatmung. Zum einen die Hochfrequenz-Oszillationsventilation (durch eine hochfrequent schwingende Membran), zweitens die Hochfrequenz-Perkussionsventilation und drittens die Hochfrequenz-Ventilation mit positiven Druck (high frequency positive pressure ventilation) [5].

Der adäquate pulmonale Gasaustausch bei Hochfrequenzventilationen scheint auf unterschiedlichen physikalischen Mechanismen zu beruhen, von denen die wichtigsten hier genannt werden sollen.

Proximal gelegene Alveolen werden wie bei der konventionellen Beatmung direkt belüftet. In den Atemwegen verändert sich aufgrund der hohen Atemfrequenz das Strömungsprofil und ermöglicht einen konvektiven Gastransport. Außerdem bildet sich ein Coaxialfluss aus, das heißt, zentral erfolgt der Gasfluss nach distal, wandnah nach proximal. Durch Turbulenzen, die in den größeren Atemwegen entstehen, kommt es zu einer Durchmischung mit Frischgas. Zu den distalen Alveolen erfolgt eine Diffusion der Gase

entlang des Konzentrationsunterschieds. Einen Einfluss spielen auch die kardiogene Oszillation, die Taylor-Dispersion und intraalveoläre Pendelluft [6, 7, 8].

## 1.2 Anwendungsbereiche

In der starren Bronchoskopie wird die Jet-Ventilation aufgrund der besseren Interventionsbedingungen regelhaft verwendet [9]. Die Dauer der Beatmung ist unter dieser Indikation relativ kurz (meist kleiner als zwei Stunden).

Hierzu erfolgt meist eine Vollnarkose mit intravenösen Anästhetika und eine Jet-Ventilation über einen seitlichen Kanal des starren Bronchoskops [9].

In Abbildung 1 sieht man die schematische Darstellung einer starren Bronchoskopie mit Jet-Ventilation.

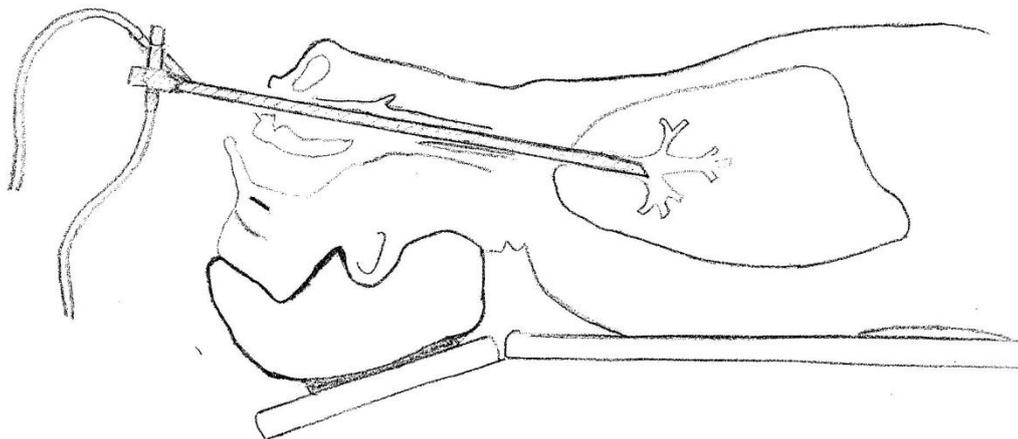


Abbildung 1: schematische Zeichnung: Starre Bronchoskopie mit Jet-Ventilation

Weiterhin optimiert die Jet-Ventilation, durch die minimierte Organbewegung, verschiedenste mikrochirurgische Eingriffe und Bildgebungsverfahren [10, 11, 12].

Daneben gibt es die Langzeitanwendung im Bereich der Intensivmedizin [13]. Aufgrund einer vermeintlichen lungenprotektiven Technik wird die Hochfrequenzbeatmung auch bei Patienten mit schwerer ARDS und ausgeprägten Gasaustauschstörungen als Zweitlinientherapie verwendet. Grundlage der angenommenen Lungenprotektion ist die Vermeidung der zyklischen Überblähung der Alveolen, wie es bei der konventionellen Beatmung der Fall ist. Die geringen Oszillationsvolumina und Druckschwankungen der Hochfrequenz-Beatmung führen zu einer Stabilisierung und Schonung der Alveolen [14].

Bisher konnte dadurch eine Verbesserung der Oxygenierung, jedoch keine Verringerung der Mortalität von ARDS durch hochfrequente Beatmungen gezeigt werden [15, 13].

Weiterhin kann eine Jet-Ventilation auch transtracheal erfolgen, mit geringerer Morbidität im Vergleich zum operativ angelegten Tracheostoma [16]. Bei einer schwierigen Intubation kann somit vorübergehend die Oxygenierung des Patienten sichergestellt werden [17]. Auch bei der flexiblen Bronchoskopie ohne Intubation kann eine Jet-Beatmung zur Behebung einer akuten Hypoxie verwendet werden [18].

### **1.3 Vorteile und Nachteile der Jet-Ventilation**

Im Folgenden sollen die wichtigsten Vor- und Nachteile einer hochfrequenten Jet-Ventilation für Patienten, die sich einem bronchoskopischen, diagnostischen oder therapeutischen Eingriff unterziehen müssen, im Vergleich zu einer konventionellen Beatmung unter Vollnarkose kurz dargestellt werden.

Die Vorteile der Jet-Beatmung aus physiologischer Sicht liegen bei einem geringeren Atemwegsspitzenruck, einem geringeren hämodynamischen Einfluss und einer reduzierten ADH-Produktion mit folgender Wasserretention. Nachteilig muss das potenzielle Risiko eines Barotraumas, der kühlende und trocknende Effekt des Inspirationsgases (hoher Gasfluss), die Unvorhersehbarkeit bezüglich der Effektivität des Gasaustausches, die Multifaktorialität des gelieferten inspiratorischen Sauerstoffanteils und der vergrößerte Totraum durch Pendelluft genannt werden [10].

Aus der chirurgischen Sicht zeigen sich die großen Vorteile der Verbesserung der Sicht und des Zugangs, sowie die geringer ausgeprägte Bewegung der Lunge und somit des Operationsfeldes im Vergleich zu einer Standard-Beatmung [19]. Außerdem kann es nicht zum Entzünden des Endotrachealtubus bei einer Laserbehandlung kommen. Das Risiko einer Aspiration von Blut und anderen Debris ist aufgrund des kontinuierlichen Gasabfluss geringer [2]. Nachteilig ist die Verunreinigung des Expirationsgases mit operativen Abfallprodukten zu nennen [10].

Aus der anästhesiologischer Sicht bestehen die Nachteile, dass inhalative Anästhetika ungeeignet sind beziehungsweise bei ihrer Anwendung die Raumluft kontaminiert wird, nur ein intermittierendes endtidales CO<sub>2</sub>-Monitoring möglich ist, Druckmessungen eventuell unrepräsentativ sind und ein hoher Gasflow, sowie eine kontinuierliche Befeuchtung des Inspirationsgases notwendig sind [10].

Mögliche Komplikationen einer Jet-Ventilation sind ein Barotrauma, ein Pneumothorax, ein Pneumomediastinum, ein Pneumopericard oder Pneumoperitoneum, ein subkutanes

Emphysem, die Dislokation des Katheters, eine Magenüberblähung bis Magenruptur, Herzrhythmusstörungen, eine nekrotisierende Tracheobronchitis und inadäquater Gasaustausch mit Hypoxämie, Hyperkapnie, vor allem bei Patienten mit vorbestehenden (restriktiver) Lungenerkrankungen [10]. Bei Patienten mit obstruktiven Lungenerkrankungen besteht die Gefahr, dass sich ein Auto-PEEP (Gas-Trapping) ausbildet [20]. Dies erhöht wiederum das Risiko für ein Barotrauma und daraus resultierenden Schädigungen. Allerdings ist das Risiko für Auto-PEEP bei COPD-Patienten nicht höher als bei konventioneller Beatmung [21]. Viele Komplikationen können durch eine richtige Verwendung der Jet-Ventilation reduziert werden [22, 2].

#### **1.4 Grundlagen der Studien**

Die Jet-Ventilation erfolgt durch ein halboffenes System. Im Rahmen der passiven Expiration entweicht das Gas über das Endoskop aus der Patientenlunge in die Raumluft. Eine potenzielle Keimbelastung des Expirationsgases ist dabei nicht auszuschließen. Im Folgenden werden die Grundlagen, auf denen eine Untersuchung dieser These beruht, dargestellt. Zunächst wird in die Thematik der Luftkeime eingeführt, sowie deren Nachweis und Grenzwerte erörtert. Anschließend erfolgt ein Überblick über die, im Rahmen der Studie, relevanten Mikroorganismen.

Im zweiten Teil werden die Grundlagen zu beatmungsinduzierten Lungenschäden dargestellt. Detaillierter wird dann auf die inflammatorische Reaktion der Lunge auf eine maschinelle Beatmung eingegangen. Die bisherigen Erkenntnisse stammen vor allem von konservativen Beatmungsformen. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde das sogenannte *Biotrauma* für die Jet-Ventilation im Rahmen einer endobronchialen Ultraschalluntersuchung näher untersucht.

Im dritten Teil folgt ein Abschnitt über die bronchoalveoläre Lavage, die in beiden Studien als Untersuchungsmethode herangezogen wurde.

##### **1.4.1 Mikrobiologische Keimbelastung: Messung, Grenzwerte, Keime**

Unsere Umwelt wird von unzähligen Mikroorganismen belebt. In der Luft sind Keime meist an Partikel gebunden und werden in primäre und sekundäre *Luftkeime* unterteilt. Bei primären Luftkeimen handelt es sich um aerobe oder anaerobe Sporenbildner und Schimmelpilze, die je nach Umgebungsbedingungen ausgehend vom Boden, Wasser oder Pflanzen durch Luftaufwirbelungen, in der Luft nachweisbar sind. Die sekundären Luftkeime stammen hauptsächlich vom Menschen. Ihre Konzentration hängt von der Keimbesiedlung der/des Menschen, ihrer/seiner Bewegungsintensität und der Stärke von natürlichen und künstlichen Luftbewegungen, sowie gegebenenfalls antimikrobiellen Maßnahmen und der

Effektivität dieser Hygiene ab. In bestimmten Bereichen, wie zum Beispiel im Krankenhaus, werden Anforderungen an die Luftreinheit gestellt um Gesundheitsrisiken, die eine Gefährdung von Menschen darstellen können, zu minimieren. Durch raumluftechnische Anlagen wird die Luft gefiltert und so aufbereitet. Hierdurch sollen Luftpartikel sowie Luftkeime reduziert werden [23]. Grenzwerte für mikrobielle Luftkontamination werden nach DIN 1946-4 „Raumluftechnische Anlagen in Krankenhäusern“ und Empfehlungen des Robert Koch-Instituts (Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention) festgelegt. Hier ergeben sich folgende Grenzwerte in KBE/m<sup>3</sup>: in Reinraumklasse A <1, B bei 10, C bei 100 und D bei 200 [24, 25]. Im Operationssaal/Einleitung liegt der Grenzwert bei 10, in Intensiveinheiten bei 200 und auf Allgemeinstationen bei 500 KBE/m<sup>3</sup>.

Die Luftkeimzahlkonzentration kann durch verschiedene Techniken bestimmt werden. Hier kann man Sedimentationsplatten und Luftkeimsammler unterscheiden. Bei Sedimentationsplatten handelt es sich um Petrischalen mit Nährböden, die für mindestens eine Stunde am Messort aufgestellt und daraufhin bebrütet und ausgezählt werden. Bei Luftkeimsammlern unterscheidet man weiterhin Impaktions- und Filtrationsverfahren. Im ersteren werden Bioaerosolkomponenten aus der Luft durch das Gerät auf einen festen Nährboden abgeschieden, indem die Luft aktiv angesaugt wird. Anschließend erfolgt die Bebrütung, Auszählung, Isolierung und Identifizierung. Entsprechend des Sammelvolumens lässt sich eine quantitative Aussage zu den luftgetragenen Mikroorganismen machen [26, 23].

Eines der aktuell am häufigsten benutzten Geräte ist der *RCS-Luftkeimsammler* der Firma Biotest. Durch einen Rotor wird ein im Gerätekopf eingelegter Nähragarstreifen durch die Zentrifugalkraft mit Mikroorganismen aus der Luft beimpft. Die hohe Geschwindigkeit des angesaugten Luftstroms schleudert die Keime auf den Agar [27].

Die Alternative wäre das Filtrationsverfahren, in welchem Luft durch wasserlösliche Gelatinefilter gesaugt wird. Diese müssen anschließend auf einen Nährboden gelegt werden, um sich bei einer Temperatur über 30°C aufzulösen. [23] Im Rahmen der vorliegenden Studie wurde der RCS-Luftkeimsammler verwendet.

Durch die mikrobiologischen Kulturverfahren werden vermehrungsfähige Mikroorganismen nachgewiesen, so kann ein mikrobieller Belastungswert ermittelt werden, der mit dem Untersuchungsstandort, sowie mit Referenzmessungen eingeordnet werden muss. Es handelt sich um eine standardisierte Untersuchungsmethode, sodass Vergleiche möglich sind.

Zusätzlich zur Luftkeimmessung ergeben *Luftstrommessungen* wichtige Informationen über die Verteilung von Keimen in Räumen. Luftströmungsrichtungen werden mittels Rauchröhrchen dargestellt.

Bei Luftkeimmessungen können so gut wie immer Keime nachgewiesen werden. Um das Risiko für eine Infektion zu ermitteln, gilt es zu untersuchen, welche Gattungen und welche Konzentration an Keimen vorliegen.

Bakterien besiedeln die Umwelt und den Menschen. Es gibt unzählige Arten. Um die Gefährdung durch Bakterien zu interpretieren, muss man pathogene, fakultativ pathogene und nicht pathogene Bakterien unterscheiden. Während manche Bakterien, ab einer bestimmten Anzahl an einer bestimmten Stelle im Körper eine Infektion auslösen, wirken andere zum Beispiel nur bei vorliegender Schwäche des Immunsystems, welche aufgrund diverser Ursachen vorliegen kann, pathogen. Wann und wo eine Infektion auftritt, ist schwer vorherzusagen und auch interindividuell verschieden. Der menschliche Körper hat mehrere Abwehrmechanismen für Bakterien entwickelt, die eine pathogene Bakterienbesiedlung beziehungsweise deren Vermehrung verhindern sollen.

Um später eine Aussage zu der Gefährdung des Personals aufgrund von Keimen in der Luft machen zu können, werden hier zunächst die später nachgewiesenen Bakterien, sowie die „normale“ Flora behandelt.

Bakterien werden in Stamm, Klasse, Ordnung, Familie und Genus eingeteilt. Folgende Genera wurden im Rahmen der Studie in der Luft nachgewiesen: Staphylococcus, Micrococcus, Bacillus, Corynebacterium, Streptococcus, Acinetobacter, Methylobacterium, Neisseria, Pseudomonas und Rothia. Außerdem erfolgte der Nachweis von Schimmelpilzen, insbesondere von *Aspergillus fumigatus*. Manche Erreger wurden besonders häufig nachgewiesen (Staphylococcus, Micrococcus und Bacillus), andere nur ein bis siebenmal in 64 Messungen.

*Koagulase-negative Staphylokokken* sind grundsätzlich weniger pathogen als *Staphylococcus aureus*. Sie gehören zur normalen Haut- und Schleimhautflora. Allerdings können sie Biofilme ausbilden und verursachen typische nosokomiale Infektionen, die vor allem Fremdkörper-assoziiert auftreten. Des Weiteren können zum Beispiel auch Endokarditiden durch koagulase-negative Staphylokokken verursacht sein. [28] Folgende der nachgewiesenen Staphylokokkenarten gehören zu den koagulase-negativen Staphylokokken: *S. epidermidis*, *S. hominis*, *S. auricularis*, *S. haemolyticus*, *S. warneri*, *S. cohnii*, *S. capitis*, *S. lugdunensis*, *S. lentus* und *S. carnosus*. *Staphylococcus aureus* gehört sowohl zur kommensalen Flora, als es auch ein wichtiges pathogenes Bakterium darstellt. Es kann Infektionen der Haut, bis zu invasiven Wundinfektionen, Osteomyelitis,

Bakteriämie, mit entsprechenden Komplikationen wie Endokarditiden, und Pneumonien auslösen, außerdem kann es gefährliche Toxine bilden [29].

*Mikrokokken* kommen ubiquitär vor. Die nachgewiesenen Spezies *Micrococcus luteus* und *lylae* gehören außerdem zur normalen Haut- und Schleimhautflora und gelten als nicht krankheitserregend [30].

*Bacilli* haben als aerobe Sporenbildner die Eigenschaft Endosporen zu bilden. Einige *Bacillus*-Spezies können krankheitserregend sein, wie *Bacillus anthracis*, als vermutlich bekanntester Erreger des Genus. Auch bei Lebensmittelinfektionen können *Bacilli* ursächlich sein (Toxine). Ansonsten gehören *Bacillus*-Spezies auch zur normalen Hautflora. *Bacillus pumilus* wurde im Zusammenhang mit Hautinfektionen beschrieben [31]. Für die übrigen nachgewiesenen *Bacillus*-Spezies wurde bisher keine assoziierte Infektion beim Menschen beschrieben [32].

*Corynebakterien* gehören zum Mikrobiom der menschlichen Haut. Ein pathogener Vertreter ist *Corynebacterium diphtheriae*, dessen typische Infektion, die Diphtherie, aufgrund der vorliegenden Impfung in entwickelten Ländern selten ist. *Corynebacterium mucifaciens* wurde einmalig mit einer Pneumonie assoziiert [33].

*Streptokokken* sind unbeweglich, grampositiv und können keine Sporen ausbilden. Sie liegen meistens in Paaren oder Ketten vor. Die wichtigsten humanpathogenen Streptokokken stellen *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *S. agalactiae* dar. Auch die nicht-hämolyisierenden Streptokokken der Mundflora können Infektionen, zum Beispiel der Herzklappen, auslösen. Dafür müssen die Bakterien allerdings zunächst in die Blutlaufbahn gelangen [23].

*Acinetobacter lwoffii* gehört zur normalen Hautflora und kann auch im Oropharynx nachgewiesen werden. Katheter-assoziierte Infektionen können bei immunsupprimierten Patienten verursacht werden [34]. Außerdem zeigte sich ein Fall einer Gastroenteritis [35].

*Methylobacterium mesophilicum* wurde selten als Ursache für eine opportunistische Infektion bei Immunsupprimierten beschrieben [36].

Der Hauptteil der *Neisseria*-Spezies sind Bewohner der oberen Respirationstrakts des Menschen und nicht pathogen. Bei immunsupprimierten Personen können jedoch auch die normalen kommensalen Arten Infektionen verursachen. Als pathogen werden sonst nur *Neisseria gonorrhoeae* und *Neisseria meningitidis* gesehen [37].

*Pseudomonas oryzihabitans* kann Katheter-assoziierte Infektionen verursachen und bei Immunsupprimierten pathogen wirken [38, 39].

*Rothia mucilaginosa* gehört zu der Familie der Micrococcaceae und gehört zur normalen Flora des Oropharynx und des oberen Respirationstrakts. Es ist opportunistisch pathogen und kann Infektionen verursachen, von denen vor allem Immunsupprimierte gefährdet sind [40].

*Aspergillus fumigatus* gehört zu der Gruppe der Schimmelpilze. Sporen, die in die Atemwege gelangen können bei geschwächtem Immunsystem eine Aspergillose auslösen [41].

Der Fokus der ersten Studie sind potenzielle aerogene Infektionserreger, die vom Patienten auf das Personal übertragen werden können, indem Expirationsgas ungefiltert in die Raumluft entweicht, wie es bei einer Jet-Ventilation bei einer starren Bronchoskopie üblich ist. *Aerogene Infektionen* entstehen durch Pathogene, die über die Luft, in Aerosolen oder Staub, übertragen werden. Werden sie inhaliert, können Infektionen der Atemwege entstehen: der Nase und Nasennebenhöhlen, des Rachens und der Lunge. Auch gastrointestinale oder andere Organsystem-betreffende Infektionen können ausgelöst werden. Viele bekannte Infektionen können auf eine aerogene Transmission zurückgeführt werden. Beispiele für schwere Infektionen sind Anthrax und Tuberkulose. Die bisher dargestellten Erreger sind hauptsächlich opportunistisch pathogen, einzelne Subtypen gelten auch für Immunkompetente als pathogen.

Nach den neuen Erkenntnissen im Forschungsbereich *Mikrobiom*, bewohnen einen Menschen zehnmal mehr Bakterien als man Körperzellen hat. Diese finden sich vor allem im Gastrointestinaltrakt, gefolgt vom Mund, der Haut und den Atemwegen [42].

In der Mikrobiom-Forschung erfolgt der Nachweis von Bakterien kulturunabhängig. In einer gesunden Lunge finden sich normalerweise keine kultivierbaren Bakterien. Daher ging man früher davon aus, dass die Lunge steril ist. Heute ist dank Sequenzierungstechniken bekannt, dass mehrere Bakteriengattungen die gesunde Lunge besiedeln [43]. Das konnte mittels der Kultur-unabhängigen Verfahren gezeigt werden. Vor allem die Stämme Proteobacteria, Firmicutes und Bacteroidetes wurden identifiziert. Die häufigsten Genera stellten *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Prevotella*, *Fusobacteria* und *Veillonella* dar, in geringerer Zahl auch die potentiell pathogenen *Haemophilus* und *Neisseria*.

Das Mikrobiom der Lunge enthält laut Erb-Downward 2011 vor allem die Genera *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Haemophilus*, *Veillonella* und *Porphyromonas*. Aber auch *Acinetobacter*, *Corynebacterium* und *Klebsiella* wurden im Rahmen der Studie in der Lunge gefunden [44].

Pilze finden sich unter anderem folgende häufiger in der menschlichen Lunge: *Candida*, *Neosartorya*, *Malassezia* und *Aspergillus* [45].

Eine Studie, die die Bakterien von den oberen und unteren Atemwegen bei gesunden Patienten untersuchte, berichtet, dass deren Zusammensetzung nicht zu unterscheiden sei, in der Lunge jedoch eine geringere Menge an Bakterien vorliegt. Spezifische Sequenzen waren selten und variierten unter den untersuchten gesunden Personen [46]. Hier wurde unter anderen auch noch zusätzliche, in der vorliegenden Studie gefundene, Bakterien nachgewiesen. Insgesamt zeigten sich in den Studien zum Mikrobiom der Lunge gramnegative *Proteobacteria*, wie *Neisseria*, *Haemophilus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* und *Methylobacterium*, gram-positive *Firmicutes*, zu denen die Klasse der Bacilli gehören, zu denen unter anderem die Streptokokken (*Lactobacillales*), als auch die Staphylokokken und Bacilli (*Bacillales*) zählen, aber auch *Actinobacteria* wie *Micrococcaceae* und *Corynebacterineae* [46, 47, 48].

Die Forschung untersucht mittlerweile intensiv mögliche Zusammenhänge zwischen dem Mikrobiom eines Menschen und verschiedensten Krankheiten. Es beschränkt sich dabei nicht mehr auf die klassischen Infektionskrankheiten, hinzukommen zum Beispiel COPD oder Lungenkrebs [49, 50].

Es gibt ausführliche Berichte über die Gefahr von Bronchoskopie-assoziierten Infektionen für Patienten, welche eine Reihe von Präventionsmaßnahmen nach sich ziehen [51]. Nach dem UpToDate-Artikel „Flexible bronchoscopy in adults: Overview“ von 2018 unterliegt auch das Personal während einer Bronchoskopie der Gefahr, infektiösen Organismen ausgesetzt zu sein und sollte sich deshalb mit Kittel, Handschuhen, Maske und Augenschutz während der Bronchoskopie schützen [52]. Dies sei der aktuell empfohlene Standard.

Zum Schutz vor dem Einatmen von schädlichen Aerosolen und Partikeln werden in medizinischen Bereichen meist partikelfiltrierende Halbmasken (FFP) getragen. Sie schützen Mund und Nase. Für diese Atemschutzmasken gibt es eine europäische Norm (EN 149), die sie in 3 Klassen einteilt. Zum einen wird die Leckage berücksichtigt, des Weiteren die Schutzwirkung durch die Masken. Die Masken der Klasse 3 bieten den sichersten Schutz gegen Mikroorganismen.

#### **1.4.2 Beatmungsinduzierte Lungenschäden**

Die mechanische Beatmung von Patienten zeigt viele unerwünschte Nebenwirkungen. Bei der Positivdruck-Beatmung wird unter anderem die Lunge durch Überblähung (Barotrauma) geschädigt, mit zahlreichen möglichen Komplikationen wie Pneumothorax,

Pneumomediastinum oder Pneumoperitoneum, es kommt zu einer Verschlechterung der Hämodynamik, der mukoziliären Motilität, einer Muskelschwächung und Wasserretention [53].

Als *VILI* (*ventilator-induced lung injury*) bezeichnet man eine akute Lungenschädigung, welche unter mechanischer Beatmung entsteht und nachgewiesenermaßen durch diese verursacht ist. *VALI* (*ventilator-associated lung injury*) dahingegen liegt vor, wenn der kausale Zusammenhang nicht gezeigt werden kann [54].

Die alveoläre Überdehnung und zyklische Atelektasenbildung durch Kollaps der Alveolen während der Expiration, werden als die Hauptursachen für beatmungsinduzierte Alveolarschäden bei Positivdruckbeatmung gesehen [55]. Schwere Alveolarverletzungen führen zu einem durch erhöhte Permeabilität bedingten intestinalen und alveolären Ödem, einer alveolären Blutung, zu hyalinen Membranen, Verlust von funktionellem Surfactant und einem alveolären Kollaps [54]. Die relative Bedeutung der alveolären Überdehnung und zyklischen Atelektasenbildung auf die Pathogenese beatmungsassoziierter Lungenschäden ist unbekannt [56].

Dass Ventilations-assoziierte Lungenschädigungen (VALI) bei 24 Prozent der Patienten ohne vorbestehende ALI/ARDS, die eine mechanische Beatmung über fünf Tage erhalten haben, entstehen, zeigt eine Studie mit 332 mechanisch beatmeten Patienten ohne ALI/ARDS [57]. Patienten mit vorgeschädigter Lunge sind besonders prädisponiert für VALI. Weitere Risikofaktoren sind ein hohes Tidalvolumen ( $>6\text{ml}$  pro Kilogramm ideales Körpergewicht), Bluttransfusionen, Azidose ( $\text{pH}<7,35$ ) und restriktive Lungenerkrankungen [57].

In Tierstudien mit Ratten zeigte sich, dass vor allem ein hohes Tidalvolumen Schäden zu verursachen scheint [58]. Neben einem geringen Tidalvolumen werden ein geringer Atemwegsplateaudruck ( $\leq 30\text{ cm H}_2\text{O}$ ) und ein PEEP (positive end expiratory pressure) empfohlen [59].

Die Jet-Ventilation wurde als alternative Beatmungsform ohne zyklische Überblähung der Alveolen als besonders schonend betrachtet. Wie im Unterpunkt „Anwendungsbereiche“ erwähnt wurde, wird sie deshalb unter anderem bei Patienten mit ARDS verwendet. Doch auch unter Jet-Ventilation können Barotraumata der Lunge entstehen (auto-PEEP [20]).

Neben den biophysikalischen Lungenschädigungen durch Baro-, Volumen-, Ateleta- und Scherkräftetrauma bei mechanischer Beatmung existiert noch das sogenannte *Biotrauma* [60]. Hier entsteht durch die mechanische Beatmung ein diffuser Alveolarschaden, der sekundär eine lokale Entzündungsreaktion hervorruft.

Entzündungen entstehen durch eine Aktivierung des Immunsystems. Die potenziellen Ursachen einer Entzündungsreaktion sind vielfältig. Es muss ein Reiz vorliegen, der das physiologische Maß übersteigt. Es kann sich dabei sowohl um physikalische (mechanisch, thermisch, Strahlung) oder chemische Reize, als auch um Allergene und Autoallergene, sowie Krankheitserreger handeln. Beim Biotrauma handelt es sich um eine Mechanotransduktion. Es folgt eine biochemische Reaktion auf einen mechanischen Reiz. Geschädigte Alveolar- und Endothelzellen und insbesondere aktivierte Makrophagen setzen proinflammatorischen Mediatoren wie die Zytokine Interleukin 1 und 6 und Tumornekrose-Faktor alpha, aber auch Leukotriene, Endotoxin und Proteasen frei. Infolgedessen tritt eine biochemische Schädigung der Lunge hervor. Sekundär kann es aufgrund einer Einschwemmung von proinflammatorischen Mediatoren in den Systemkreislauf zu einer systemischen Entzündungsreaktion kommen.

Im Folgenden soll die Entzündungsreaktion überblicksmäßig beschrieben werden: Makrophagen schütten durch die Stimulation inflammatorische Zytokine wie IL-1 $\beta$ , IL-6 und TNF- $\alpha$  aus [61]. Diese induzieren in Endothelzellen eine Zunahme von Selectinen (P- und E-Selectin) auf der Oberfläche. Es kommt zu einer gesteigerten Adhäsion von neutrophilen Granulozyten und Monozyten. Des Weiteren induzieren IL-1 und TNF-alpha unter anderem in Makrophagen und endothelialen Zellen die Produktion von Chemokinen. Aus der Kombination von Selectinen und Chemokinen an der Endotheloberfläche folgt schließlich eine Bindung von neutrophilen Granulozyten und Monozyten über die Integrine an den Endothel-Liganden ICAM-1 (Exprimierung durch TNF- $\alpha$  getriggert). Dann kann es, nach dem Konzentrationsgefälle der lokalen Chemokine, zur Diapedese dieser Leukozyten ins Gewebe kommen. Die Folge ist eine Akkumulation von neutrophilen Granulozyten innerhalb von Stunden bis Tagen am Entzündungsort, von Monozyten innerhalb von Tagen bis Wochen [62].

Um eine Entzündungsreaktion nachzuweisen gibt es verschiedene Möglichkeiten. Lösliche Zytokine lassen sich durch einen Immunoassay in verschiedenen Körperflüssigkeiten oder Geweben nachweisen. Durch einen Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) lassen sich Aussagen zur Konzentration eines Zytokins in einer Probe machen. Des Weiteren soll im Rahmen der Studie die Bestimmung der Zellzahl und Differenzierung der Zellen in der BAL erfolgen.

Bisherige Untersuchungen zum Biotrauma unter mechanischer Beatmung brachten folgende Erkenntnisse:

In zwei Studien zu inflammatorischen Reaktionen bei Ein-Lungenbeatmung an erwachsenen Patienten zeigte sich ein Anstieg von proinflammatorischen Markern wie

TNF- $\alpha$  und lösliches ICAM-1 in der BAL [63, 64]. Im Rahmen der vorliegenden Studie sollen sowohl diese zwei Parameter als auch Interleukin 1 und 6 in BAL-Proben am Anfang und am Ende der Jet-Ventilation quantifiziert werden.

In einer Studie an Hasenlungen wurden Entzündungsmediatoren in der BAL nach konventioneller und hochfrequenter Oszillationsventilation bestimmt und verglichen. Nach vier Stunden waren die neutrophilen Granulozyten, der Plättchen-aktivierenden Faktor und Thromboxan B2 bei der konventionellen Beatmung signifikant höher als bei der Hochfrequenz-Oszillationventilation [65].

An Ratten konnte gezeigt werden, dass TNF- $\alpha$  nach zweistündiger konventioneller Beatmung in der BAL anstieg, vor allem bei Beatmung ohne PEEP [66]. Auch eine Studie an Mäuselungen zeigte sich die Abhängigkeit von den Beatmungsparametern auf die Zytokinentstehung. Hier wurden TNF- $\alpha$  und IL-6 mRNA Erhöhungen nach Hyperventilation festgestellt [67]. In einem in vitro Modell zeigte sich, dass Lungen-Makrophagen, die zyklischer Dehnung unterliegen, inflammatorische Zytokine wie TNF- $\alpha$ , IL-6 und 8 und Matrix-Metallproteinase-9 freisetzen [68].

Ob eine derartige inflammatorische Reaktion auch beim Menschen auftritt, untersuchte eine Studie an Patienten mit ARDS. Es zeigte sich unter anderem ein Anstieg von IL-1  $\beta$ , IL-6 und TNF- $\alpha$  in der BAL, der bei protektiver Beatmungstechnik geringer ausfiel [69]. Ferner konnte gezeigt werden, dass Zytokine, die durch eine mechanische Beatmung freigesetzt wurden und in der BAL nachweisbar waren, innerhalb einer Stunde auch in die Zirkulation der Patienten freigesetzt wurde. Auch unter lungenprotektiver Beatmung stiegen die inflammatorischen Marker in der BAL in dieser Studie weiter an [70].

In Rattenlungen konnte 2001 eine Neutrophileninfiltration nach 40-minütiger Beatmung, sowie eine Aktivierung von Makrophagen nachgewiesen werden. Histologisch fanden sich eine vermehrte Neutrophileninfiltration sowie destruktive Veränderungen der Alveolarwand, vor allem bei der Gruppe mit höherem Beatmungsdruck [71]. Für zwei Stunden beatmete Ratten zeigten einen Anstieg von TNF- $\alpha$  in der BAL im Vergleich zu spontan Atmenden [72].

An Hasen, die eine Stunde hochfrequente Jet-Ventilation erhielten, zeigten sich histopathologisch charakteristische Veränderungen für Inflammation und mechanische Schäden an der Mukosa oberhalb der Öffnung des Endotrachealtubus. Zu den Hauptbronchi hin nahm der Grad der Schädigung ab [73].

Bei acht Neugeborenen, die eine Jet-Ventilation erhielten und anschließend verstarben zeigte sich im Vergleich zur Histologie von der Vergleichsgruppe mit konventioneller

Beatmung, eine vermehrte Schädigung des Lungengewebes im Bereich der Trachea, der Carina und der Hauptbronchien und insgesamt eine vermehrte Inflammation und Zerstörung des Flimmerepithels [74].

Zusammenfassend scheint es eine inflammatorische Reaktion auf künstliche Beatmung auch bei Jet-Ventilation zu geben. Unter anderem konnte diese durch einen Anstieg von TNF- $\alpha$ , IL-1 und 6 und lösliches ICAM-1 in der BAL, sowie eine Neutrophileninfiltration in der Lunge, nachgewiesen werden. Daten zum Biotrauma bei erwachsenen Patienten unter Jet-Ventilation im Rahmen einer Bronchoskopie liegen derzeit nicht vor und sollen Gegenstand der Untersuchungen der vorliegenden Arbeit sein.

### **1.4.3 Bronchoalveoläre Lavage**

Die *bronchoalveoläre Lavage* (BAL) ist eine standardisierte Untersuchungsmethode für Erkrankungen der Lunge. Sie ist sicher und minimalinvasiv und bringt spezifische Ergebnisse zu intestinalen Lungenveränderungen [75]. Es gibt keine absoluten Kontraindikationen für eine BAL, abgesehen von denen, die bereits für eine Bronchoskopie gelten. In der BAL kann neben der Zellzahl eine Zelldifferenzierung, sowie der Nachweis und die Bestimmung der Menge von Zytokinen und Oberflächenmarker erfolgen. Die geringe Morbidität für den Patienten, sowie die größere Probenoberfläche in der Lunge und bessere Vergleichbarkeit, bei zwei in einer Lunge entnommenen BAL-Proben, sind die wesentlichen Vorteile zu einer Lungenbiopsie [75]. Hierzu müssen die BALs an zwei verschiedenen Stellen entnommen werden, um eine potenzielle durch die erste Lavage verursachte Reaktion des Lungengewebes nicht fehlzudeuten. Optimal wäre die Durchführung der Lavage vor einer Intervention in der Lunge des Patienten. Iatrogen verursachte Blutungen können sonst die Konzentration von Zellen und Proteinen verändern.

Die Lavage mit 100ml Volumen ermöglicht eine Untersuchung von rund einer Million Alveolen (1,5 bis 3% der Lunge). Unabhängig von der Lungenseite lässt sich daraus ein repräsentatives Bild von Inflammations- und Immunprozessen in den Alveolen darstellen [76].

Normwerte einer BAL (Institut für Molekulare und Klinische Immunologie der Universität Magdeburg) sind: Epithelzellen < 5 %, Lymphozyten < 13 %, Neutrophile Granulozyten < 3 %, Eosinophile Granulozyten < 1 % und Makrophagen > 84 % der Zellzahl.

Darüber hinaus kann man anhand einer BAL Bakterien in den unteren Atemwegen nachweisen [47]. Hierzu wird im Routineverfahren aus der Probe eine Kultur angelegt, die nach einer entsprechenden Bebrütung dem Keimnachweis dient.

## 1.5 Fragestellungen

In zwei Studien wurden die folgenden Fragestellungen zur Jet-Ventilation untersucht:

- Besteht eine mikrobiologische Keimbelastung für das Personal bei Jet-Ventilation in der Bronchoskopie? (Studie 1)
- Entstehen beatmungsinduzierte inflammatorische Lungenschäden durch Jet-Ventilation während einer EBUS-Bronchoskopie? (Studie 2)

Eine Belastung der in den Raum abströmenden Expirationsluft mit Keimen aus der Patientenlunge, wurde nach den durchgeführten Recherchen bisher noch nicht untersucht. Es muss für möglich gehalten werden, dass die Jet-Ventilation Keime mobilisieren könnte und als erregerhaltiges Aerosol somit eine potenzielle Gefahr für das Personal darstellt.

Beatmungsinduzierte Lungenschäden treten bei herkömmlichen Beatmungsformen in Abhängigkeit von Dauer und Durchführungsparametern (Beatmungsdruck, Beatmungsfrequenz) nachgewiesenermaßen auf [59]. Die Jet-Beatmung gilt als „schonende“ Beatmungsform, die unter anderem bei ARDS-Patienten verwendet wird [13]. Es liegen keine Daten über die Entstehung eines Biotraumas durch Jet-Ventilation bei Erwachsenen vor. Ein Gegenstand dieser Arbeit ist die Untersuchung der Frage, ob während einer kurzen Jet-Ventilation (unter zwei Stunden) im Rahmen einer EBUS-Bronchoskopieuntersuchung eine durch die Jet-Ventilation verursachte inflammatorische Reaktion des Lungengewebes nachweisbar ist.

## **2. Material und Methoden**

Zur Untersuchung der Fragestellungen wurden zwei Studien geplant und mit der im Folgenden beschriebenen Methodik und Gerätetechnik durchgeführt.

### **2.1 Studiendesign**

Es erfolgten zwei klinisch-prospektive Studien im Zeitraum 2012 bis 2014 mit zwanzig beziehungsweise zehn Patienten pro Fragestellung. Die Patienten, bei denen eine Bronchoskopie unter Jet-Ventilation erforderlich war, wurden nach im Unterpunkt „Patienten“ aufgeführten Kriterien für die Studie ausgesucht.

Der Ort der Untersuchungen war die Bronchoskopie-Abteilung der Universitätsklinik für Pneumologie des Universitätsklinikums Magdeburg. Das benutzte Jet-Beatmungsgerät ist ein MONSOON - Universal Jet Ventilator von der Firma Acutronic Medical Systems AG.



Abbildung 2 - MONSOON Jet Ventilator (Acutronic Medical Systems AG)

### **2.2 Patienten**

#### **2.2.1 Mikrobiologische Keimbelastung (Studie 1)**

Die Studie wurde an insgesamt 20 Patienten durchgeführt (n=20), bei denen eine starre Bronchoskopie unter Jet-Ventilation erforderlich war. Die Patienten waren beiderlei Geschlechts (männlich n=9, weiblich n=11), das durchschnittliche Alter betrug 67,85 Jahre.

Für die Auswertung der Ergebnisse wurden vier Datensätze ausgeschlossen. Bei diesen vier Messungen zeigten sich unplausibel hohe Keimzahlen in der Luftkeimmessung, die möglicherweise durch Kontamination (wahrscheinlich am Nähragar) entstanden waren. Diese

Ausreißer waren deutlich von den übrigen Messungen abweichend und hätten zu Verzerrungen der Ergebnisse geführt, weswegen die Auswertung nicht zielführend gewesen wäre.

## **2.2.2 Beatmungsinduzierte Lungenschäden (Studie 2)**

Die Studie wurde mit 10 Patienten beiderlei Geschlechts (männlich n=8, weiblich n=2) durchgeführt.

Die Einschlusskriterien der Studie waren: Patienten im Alter von 18 bis 80 Jahren, bei denen eine Bronchoskopie unter Jet-Beatmung erforderlich war und eine schriftliche Einverständniserklärung zur Studienteilnahme vorlag.

Die Ausschlusskriterien lauteten: Patienten mit einer akuten allergischen Erkrankung; Patienten, die in den letzten 14 Tagen akut erkrankt waren; die Steroidhormone oder andere Immunsuppressiva innerhalb der letzten 14 Tagen vor der Bronchoskopie der Studie angewendet hatten; Patienten, welche die geforderte Nikotinkarenz von über vier Wochen nicht eingehalten haben oder Patienten mit mangelndem Interesse an der Studie und mangelnder Bereitschaft, mit dem Studienpersonal zu kooperieren.

## **2.3 Untersuchungsablauf**

### **2.3.1 Mikrobiologische Keimbelastung (Studie 1)**

Um die mikrobiologische Belastung, welche durch die Jet-Beatmung für das Personal entsteht, zu bestimmen, wurden Luftkeimmessungen durchgeführt.

Zunächst erfolgten jedoch Luftstrommessungen zur Darstellung des Abströmweges des Expirationsgases aus dem starren Bronchoskop während einer Jet-Ventilation.

In Abbildung 3 und 4 wurde versucht, die Ergebnisse der Luftstrommessungen durch Fotos zu visualisieren.

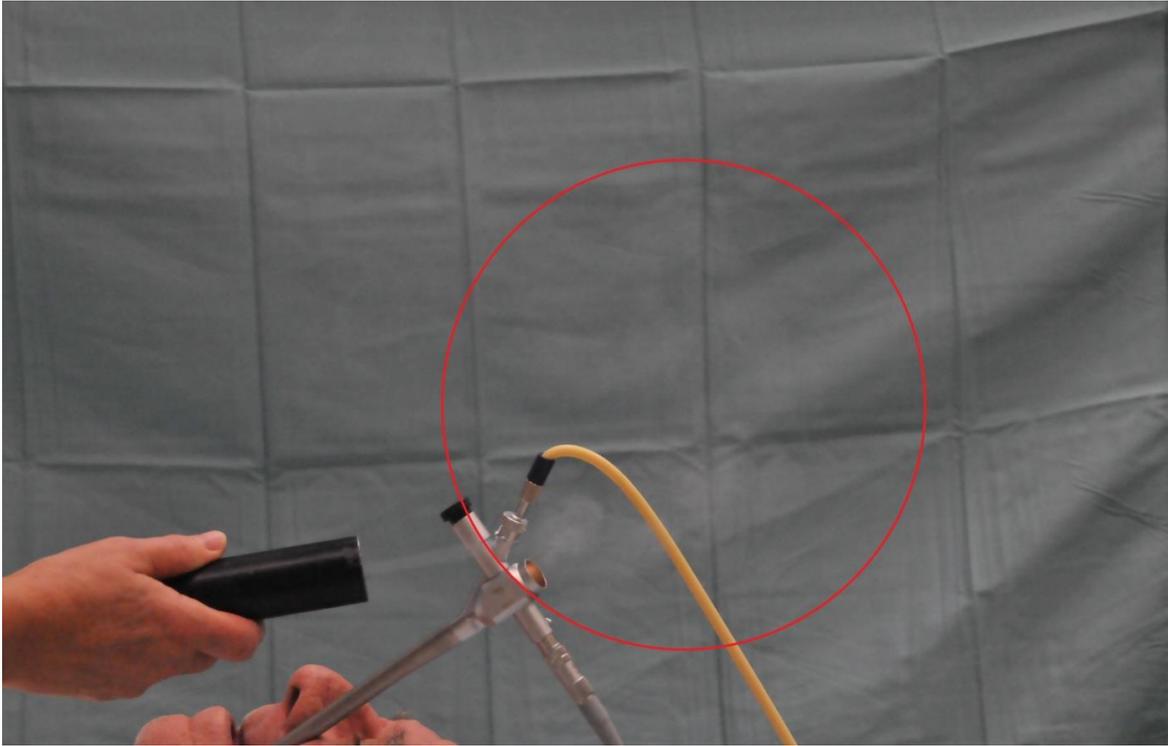


Abbildung 3: Luftstrommessung bei Jet-Ventilation

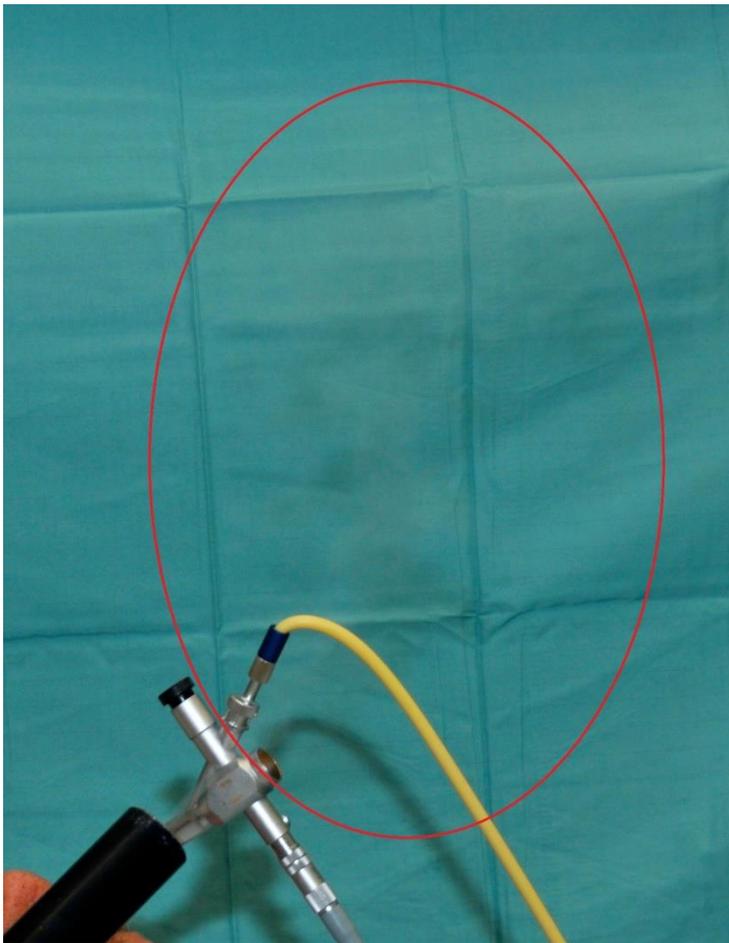


Abbildung 4: Luftstrommessung bei Jet-Ventilation

Bei den Luftstrommessungen zeigte sich ein Aufsteigen des Rauchs direkt hinter dem Bronchoskop. Mit jedem Expirationsstoß wurde Gas im Bereich des Endoskopausgangs gerade von diesem wegführend beschleunigt und hatte zusätzlich die Tendenz aufzusteigen. Ab einer Entfernung von circa 50cm vom Endoskopausgang verteilte sich der Rauch diffus im Raum. Diese Ergebnisse waren die Grundlagen zur Festlegung der optimalen Messorte für die Keimbelastung. Es wurde zunächst der unmittelbare Endoskopausgang als Messort festgelegt, um eine Messung direkt am vermuteten Emissionsort durchzuführen. Die nächste Station aufgrund eines aufsteigenden Rauches bei der Luftstrommessung war der sich durchschnittlich 40cm über dem Endoskopausgang befindende Kopf des Untersuchenden/ Operateurs. Um auch die Gefährdung des weiteren Personals im Raum während der Bronchoskopie unter Jet-Ventilation ermitteln zu können, sowie die Keimzahl zu vergleichen, wurde ein weiterer Messort in zwei Meter Abstand vom Endoskop, auch auf durchschnittlicher Gesichtshöhe (wie bei der Untersucherhöhe), festgelegt. Zur Messung einer Hintergrundkeimbelastung wurde eine Messung am Zuluftauslass des Bronchoskopieraums durchgeführt.

Die Luftkeimmessung erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Institut für Medizinische Mikrobiologie / Bereich Krankenhaushygiene mit einem Luftkeimsammler der Firma Biotest AG der Marke RCS High Flow Biotest HYCON (Seriennummer 32171). Als Nährmedium wurden HYCON Agar Strips TC verwendet. Dies ist ein Allgemein-Nährboden, welcher für ein breites Keimspektrum geeignet ist. Das Gerät wurde entsprechend der Bedienungsanleitung verwendet. Das Messvolumen betrug 200 Liter. Die Probenbezeichnung erfolge mit Identifikationsnummer, Datum, Uhrzeit und Entnahmestelle. Als Probenentnahmestellen wurden die oben beschriebenen vier repräsentativen Messorte folgendermaßen benannt:

- der erste als „Endoskopausgang“ (5cm vor dem Endoskopausgang),
- die zweite als „Untersucherhöhe“ (40cm über dem Endoskopausgang),
- die dritte als „zwei Meter Entfernung“ (zum Patienten gerichtet) und
- die Referenzmessung als „Zuluftauslass“ an der Decke des Raumes.

Es erfolgte anschließend eine Keimzahlbestimmung (in KBE/m<sup>3</sup>) und eine Keimidentifizierung. Zusätzlich erfolgte eine Keimidentifizierung in der BAL des Patienten. Dazu wurde ein BAL durchgeführt und zur Erregerdiagnostik in das Labor des Instituts für Medizinische Mikrobiologie übersandt.

In Abbildung 5 sieht man die Vorbereitung einer Messung mit dem RCS-Luftkeimsammler der Firma Biotest.

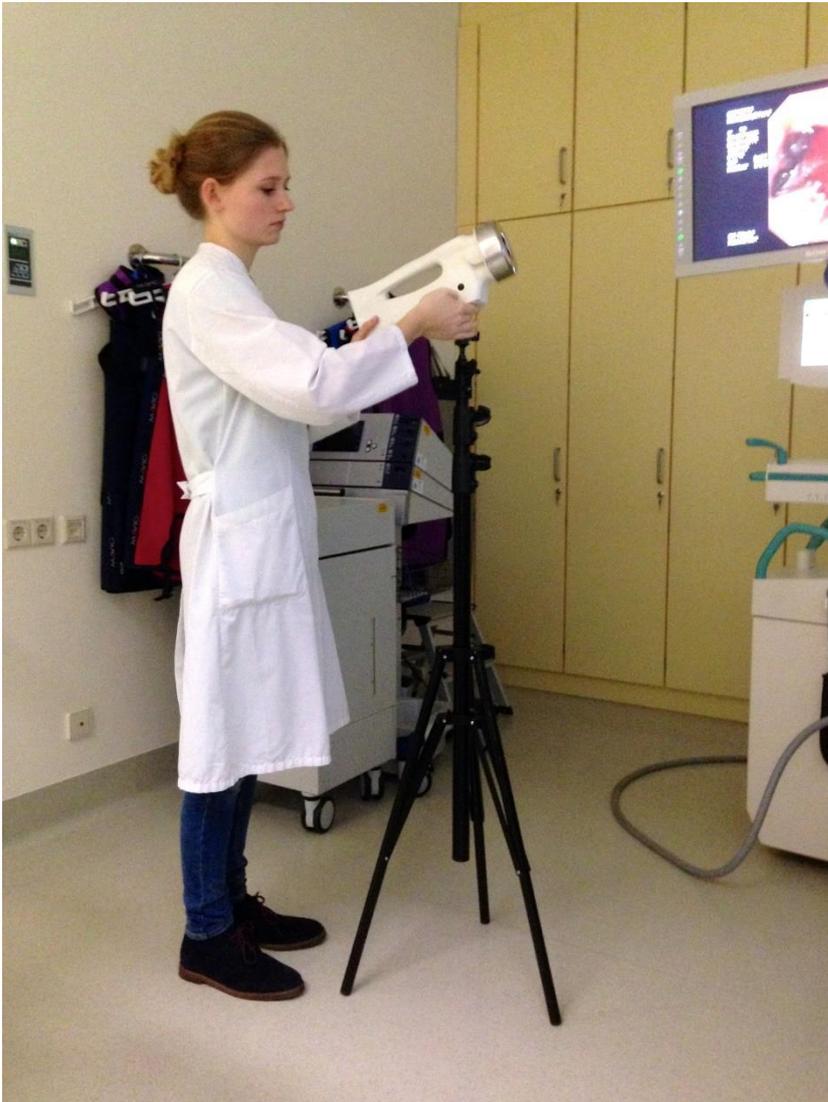


Abbildung 5: Vorbereitung einer Luftkeimmessung mit dem RCS-Luftkeimsammler

### **2.3.2 Beatmungsinduzierte Lungenschäden (Studie 2)**

Am Vortrag der Jet-Beatmung erfolgte eine Aufklärung über die Studie, deren Fragestellung, Durchführung und Nebenwirkungen/Risiken. Nach schriftlicher Einverständniserklärung des Patienten erfolgte (wenn diese noch nicht vorlag) eine Lungenfunktionsuntersuchung.

Die Einleitung der Narkose und das Einführen des starren Bronchoskops zur Vorbereitung der EBUS erfolgte wie üblich. Sofort nach Beatmungsbeginn und am Ende der Jet-Beatmung wurde eine BAL in jeweils verschiedenen Lungenabschnitten durchgeführt. Dazu wurden 100 ml körperwarme, sterile, ungepufferte isotone Kochsalzlösung (0,9% NaCl) in

fünf Dosen von je 20ml über das flexible Bronchoskop in Wedge-Position durch das starre Bronchoskop in einen Lungenabschnitt des Patienten gegeben und jeweils im Anschluss wieder reaspiert. Hierbei sollten insgesamt mindestens 15 ml zurückgewonnen werden (im Durchschnitt 40,6 ml). Die entnommene bronchoalveoläre Lavage-Probe wurde mit Identifikationsnummer, Datum, Uhrzeit und Entnahmestelle bezeichnet. Außerdem wurden Beatmungsparameter, Randbedingungen und Komplikationen dokumentiert. Die BAL-Proben wurden direkt nach Entnahme auf Eis gelegt und umgehend der Untersuchung zugeführt.

## 2.4 Auswertung

Die individuell angepasst eingestellten Beatmungsparameter wurden dokumentiert. Im Durchschnitt ergaben sich folgende Werte:

Tabelle 1: Durchschnittliche Beatmungsparameter der Jet-Ventilation

Parameter	Studie 1	Studie 2
Beatmungsfrequenz	148,3 /min	151 /min
Spitzenarbeitsdruck	1,67 bar	1,62 bar
PIP (Peak Inspiratory Pressure)	22,4 mbar	20 mbar
PP (Plateau Pressure)	15,67 mbar	14,9 mbar
Inspirationsdauer		51 %
Sauerstoffkonzentration		86 %

Die Dauer der Untersuchung im Rahmen der zweiten Studie betrug zwischen 13 und 99 Minuten, im Durchschnitt 39,4 Minuten.

### 2.4.1 Mikrobiologische Analyse des Luftkeimsammlers (Studie 1)

Durch aktives Ansaugen einer definierten Luftmenge mittels des RCS-Luftkeimsammlers und Impaktion auf einem Nährmedium konnte nach Kultivierung eine definierte quantitative Aussage in Bezug auf die Keimbelastung (KBE/m<sup>3</sup>) an den verschiedenen Messorten gemacht werden. Außerdem wurden die auf dem Agar gewachsenen Kolonien Bakterienspezies zugeordnet.

Hier erfolgte die Zusammenarbeit mit dem Institut für Medizinische Mikrobiologie, Bereich Krankenhaushygiene des Universitätsklinikums Magdeburg.

Es wurde ein Messvolumen von 200 Liter an den beschriebenen Messorten untersucht. Das verwendete Nährmedium zur Anzucht der Keime waren HYCON Agar TC Strips 941105 der Firma Merck. Die Bebrütung erfolgte für zwei bis drei Tage bei 30-35°C.

Anschließend wurden alle koloniebildenden Einheiten auf dem Agarstreifen ausgezählt. Je Keimspezies erfolgte eine Isolierung: Für Bakterien wurde ein Columbia Blutagar (Firma BD) verwendet und eine Bebrütung von 18-24 Stunden bei  $35\pm 1^\circ\text{C}$ . Die Erregerdifferenzierung erfolgte im MaldiTof. Bei Schimmelpilzen erfolgte die Isolierung auf SAB Platten (Firma Oxoid) und eine Bebrütung von drei bis fünf Tagen bei  $30-35^\circ\text{C}$ . Die Diagnostik geschah per Mikroskopie eines gefärbten Lactophenolbaumwollblau Abklatschpräparats.

Die Auswertung der BAL erfolgte durch Anlage von Kulturplatten. Je Lavage wurden zwei Präparate für die GRAM beziehungsweise GIEMSA Färbung mit je  $50\mu\text{l}$  Probe ultrazentrifugiert. Jeweils  $100\mu\text{l}$  wurden unverdünnt und mit einer 1:100 Verdünnung auf Columbia Blutagar, McConkey Agar und Kochblut ausgespatelt und 18-24 Stunden bei  $35\pm 1^\circ\text{C}$  bebrütet. Legionellenplatten wurden mit unverdünnten  $100\mu\text{l}$  der Probe ausgespatelt und 14 Tage bei  $35^\circ\text{C}$  im  $\text{CO}_2$ -Schrank bebrütet. Zusätzlich wurden noch  $100\mu\text{l}$  Probenflüssigkeit in eine Thio Bouillon pipettiert und für maximal 48 Stunden bei  $35\pm 1^\circ\text{C}$  bebrütet. Dann erfolgte, falls vorhanden, die Differenzierung der Keime aus der BAL.

#### **2.4.2 Immunologische Analyse der BAL (Studie 2)**

Mit den gewonnenen BAL-Proben erfolgte eine zytologische Untersuchung mit Bestimmung der Zellzahl und Differenzierung der Zellen (Lymphozyten, neutrophile Granulozyten, Makrophagen, eosinophile Granulozyten). Außerdem wurden folgende Parameter in der Lavage bestimmt: IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$ , lösliches ICAM-1.

Hier erfolgte eine Zusammenarbeit mit dem Institut für Molekulare und Klinische Immunologie der Universität Magdeburg.

Die BAL-Proben wurden direkt nach Entnahme gekühlt und umgehend der Untersuchung zugeführt. Dazu wurde das Gesamtvolumen bestimmt und die Probe über ein Zellsieb ( $70\mu\text{m}$ ) gegeben. Von der filtrierten Probe wurden zwei Milliliter abgenommen und für die Bestimmung der Zellzahl und zur Herstellung der Zytospins verwendet. Die Zellzählung erfolgte in der Neubauer-Kammer. Hierfür wurde die filtrierte Zellsuspension 1:2 mit Türks-Reagenz verdünnt. Aus der Berechnung der absoluten Zellzahl der BAL-Probe ergab sich das benötigte Volumen zur Herstellung der Zytospins (ca. 800.000 Zellen pro Zytospin). Zur Differenzierung der Zellen erfolgte eine Zytozentrifugation (Zytospin) auf Objektträgern. Dazu wurde die Zellsuspension mit Hilfe von Reduzierstücken auf die Objektträger zentrifugiert (4 min bei 1400 U/min; Hettich Zentrifuge, zwei Objektträger pro Patient). Der Überstand wurde abgesaugt und die Objektträger getrocknet.

Anschließend erfolgte eine Färbung nach May-Grünwald-Giemsa. Nach erneutem Trocknen wurde die mikroskopische Differenzierung in Lymphozyten, neutrophile Granulozyten, Makrophagen und eosinophile Granulozyten durchgeführt und der Anteil der Zellpopulationen in Prozent angegeben.

Die Quantifizierung der Zytokine IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$  und lösliches ICAM-1 erfolgte nach dem Prinzip des Sandwich-Enzymimmunoassay. Es wurden die ELISA-Kits der Firma R&D Systems verwendet. Die Durchführung erfolgte nach den Vorschriften des Herstellers.

## **2.5 Statistik**

Die Erfassung der Messwerte erfolgte durch die Leiter der Untersuchung. Die Daten wurden anonymisiert elektronisch gespeichert.

Da jeweils abhängige Stichproben vorlagen (Messung gleicher Parameter bei selben Patienten, an verschiedenen Orten, zu verschiedenen Zeitpunkten) erfolgte ein t-Test für abhängige Stichproben. Dieser setzt voraus, dass die Messwerte normalverteilt sind. Deshalb erfolgte zunächst ein Test auf Normalverteilung. Hier wurde der Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest verwendet. Wenn dieser Test eine Signifikanz zeigt, ist die Stichprobe nicht normalverteilt. Bei Nichtnormalverteilung wurde der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test durchgeführt. Die durchgeführten Tests beziehen sich auf ein Signifikanzniveau von  $p < 0,05$ . Die Irrtumswahrscheinlichkeit zwischen  $\alpha \geq 0,05$  und  $\leq 0,1$  wurde als statistischer Trend betrachtet.

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit dem kommerziell verfügbaren Statistikprogramm SPSS. (IBM SPSS Statistics 21) Die graphische Darstellung erfolgte mittels GraphPad Prism (Version 6.01).

## **2.6 Ethische Aspekte**

Bei der ersten Studie erfolgten ausschließlich Messungen der Raumluft. Dadurch wurden die klinisch indizierten Untersuchungen der Patienten nicht beeinflusst.

Das Protokoll der zweiten Studie wurde von der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg als Addendum zu der Studie „Einfluss des Narkoseverfahrens auf immunologische Effekte der Ein-Lungen-Beatmung bei thoraxchirurgischen Patienten“ (Ethikvotum AZ 65/04) geprüft und positiv votiert. Alle Patienten gaben nach ausführlicher mündlicher und schriftlicher Aufklärung ihre schriftliche Einverständniserklärung ab (informed consent), welche auch die Information beinhaltete, jederzeit ohne Angabe von Gründen und ohne Nachteile befürchten zu müssen, die Einwilligung zurückziehen zu können.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Mikrobiologische Ergebnisse (Studie 1)

Durch Luftkeimmessungen mit dem RCS- Luftkeimsammlers wurde nach Bebrütung die Luftkeimzahl in KBE/m<sup>3</sup> bestimmt.

Es ergaben sich folgende Mittelwerte: Am Endoskopausgang betrug die mittlere Luftkeimzahl 135,94, in Untersucherhöhe 114,06, in zwei Meter Entfernung 97,5 und am Zuluftauslass (Referenzmessung) 82,19.

Tabelle 2: Deskriptive Statistik für die Studie 1

Messort	M	SD	Min	Max
Endoskopausgang	135,94	101,44	35	450
Untersucherhöhe	114,06	64,35	35	255
2 m Entfernung	97,5	58,74	30	200
Zuluftauslass	82,19	70,14	25	310

Anmerkung. Einheit: KBE/m<sup>3</sup>, N=16, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung, Min = Minimum, Max = Maximum

Zur Prüfung der Normalverteilung wurde der Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest verwendet. Hier zeigten sich folgende p-Werte: Endoskopausgang: p=0,578; Untersucherhöhe p=0,939; Zwei Meter Entfernung p=0,869; Zuluftauslass p=0,416. Deshalb kann von einer Normalverteilung der Ergebnisse ausgegangen werden. Im t-Test für gepaarte Stichproben wurde anschließend geprüft, ob sich eine signifikante mittlere Differenz der verschiedenen Messorte statistisch zeigen lässt. Hier ergaben sich folgende Ergebnisse:

Zwischen Endoskopausgang und Untersucherhöhe (p=0,378) und Endoskopausgang und zwei Meter Entfernung (p=0,109) konnte kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden.

Für Endoskopausgang und Zuluftauslass ergab sich ein p=0,088. Es handelt sich somit nicht um einen signifikanten Unterschied, jedoch zeigt sich ein statistischer Trend.

Zwischen Untersucherhöhe und zwei Meter Entfernung konnte mit p=0,337 ebenfalls kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden.

Hingegen konnte zwischen den Messorten Untersucherhöhe und Zuluftauslass ein signifikanter Unterschied gezeigt werden (p=0,040).

Zwischen zwei Meter Entfernung und Zuluftauslass ergab sich ein  $p=0,453$  und dementsprechend kein signifikanter Unterschied.

Eine andere Möglichkeit der Darstellung der Messergebnisse ist der prozentuale Ausdruck. 100% entspricht dabei der Luftkeimzahl am Zuluftauslass, der anzunehmenden Hintergrundbelastung. Somit ergibt sich beim Endoskopausgang eine durchschnittliche Keimbelastung von 165,40%, auf Untersucherhöhe von 138,78% und in zwei Meter Entfernung von 118,63%.

Im Diagramm 1 erfolgt die Darstellung der Messergebnisse mittels Boxplots. Es werden die vier Messorte nebeneinander dargestellt, geordnet nach zunehmendem Abstand vom Endoskop.

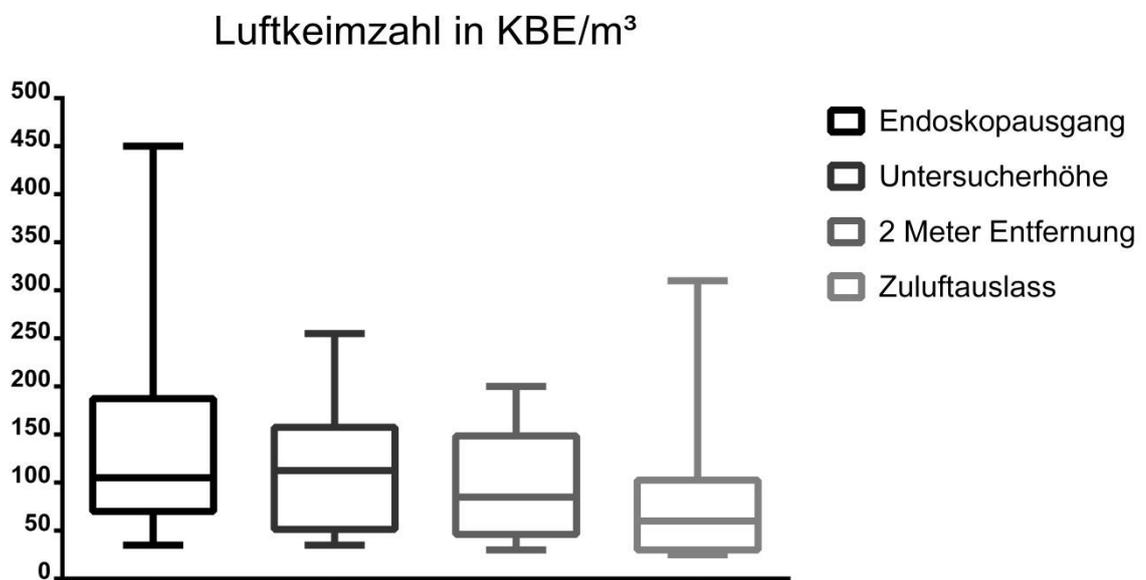


Diagramm 1: Boxplot Luftkeimzahl in KBE/m<sup>3</sup>

Im Diagramm 2 werden die Mittelwerte und Standardabweichung der Luftkeimzahl veranschaulicht. Auch hier zeigt der erste Balken die Keimkonzentration am Endoskopausgang, der zweite auf Untersucherhöhe, der dritte in zwei Meter Entfernung und der vierte Balken den Mittelwert am Zuluftauslass.

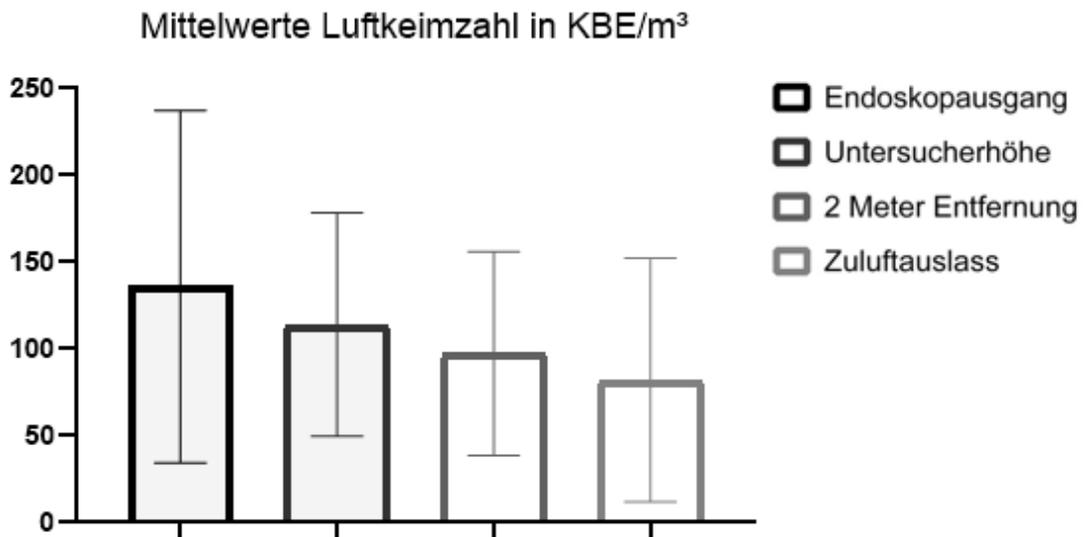


Diagramm 2: Säulendiagramm Mittelwerte + Standardabweichung Luftkeimzahl in KBE/m<sup>3</sup>

Folgende Keime konnten in den Luftkeimmessungen nachgewiesen werden:

- Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus capitis, Staphylococcus aureus, Staphylococcus hominis, Staphylococcus cohnii, Staphylococcus lentus, Staphylococcus haemolyticus, Staphylococcus warneri, Staphylococcus lugdunensis, Staphylococcus auricularis, Staphylococcus carnosus, Staphylococcus spp.,
- Micrococcus luteus, Micrococcus lylae,
- Bacillus pumilus, Bacillus subtilis, Bacillus mycoides, Bacillus spp.,
- Corynebacterium mucifaciens, Corynebacterium spp.,
- Streptokokken spp.,
- Acinetobacter lwoffii,
- Methylobacterium mesophilicum,
- Neisseria spp.,
- Pseudomonas oryzihabitans,
- Rothia mucilaginosa,
- aerobe Sporenbildner,
- Aspergillus fumigatus und
- Schimmelpilze.

In den BAL-Proben konnten folgende Keime nachgewiesen werden:

- Staphylococcus aureus, koagulasenegative Staphylococcus,
- vergrünende Streptokokken, Streptococcus constellatus,
- Enterokokken spp.,
- Escherichia coli,
- Serratia marcescens,
- Klebsiella pneumoniae,
- Neisseria spp.
- Haemophilus spp. und
- Candida albicans.

Nur in vier BAL-Proben konnten Keime angezüchtet werden. Staphylokokken und Streptokokken waren in zwei Messungen positiv. Bei einem Patienten konnten in der BAL Neisseria spp. nachgewiesen werden, die auch in der Luft beim Endoskopausgang und auf Untersucherhöhe gefunden wurden. Dies waren die einzigen Neisseria-Nachweise im Rahmen der Studie. Dieselben Auffälligkeiten zeigten sich bei den Streptokokken (in BAL und Luft bei gleichem Patienten, sonst nie in der Luft nachweisbar), allerdings hier sowohl beim Endoskopausgang, auf Untersucherhöhe, als auch am Zuluftauslass.

Im Diagramm 3 ist die Häufigkeit der nachgewiesenen Keimspezies in den Luftkeimmessungen dargestellt. Man sieht, dass bei 63 von 64 Luftkeimmessungen Staphylokokken nachgewiesen werden konnten. Mikrokokken waren in 48 von 64 Messungen nachweisbar. Die dritthäufigste Spezies war Bacillus, in 18 von 64 Messungen. Darauf folgten Corynebakterien (7/64), Streptokokken (3/64) und Acinetobacter (3/64). Die übrigen Keime wurden nur ein oder zwei Mal in der Luft nachgewiesen.

### Nachweishäufigkeit in Luftkeimmessung

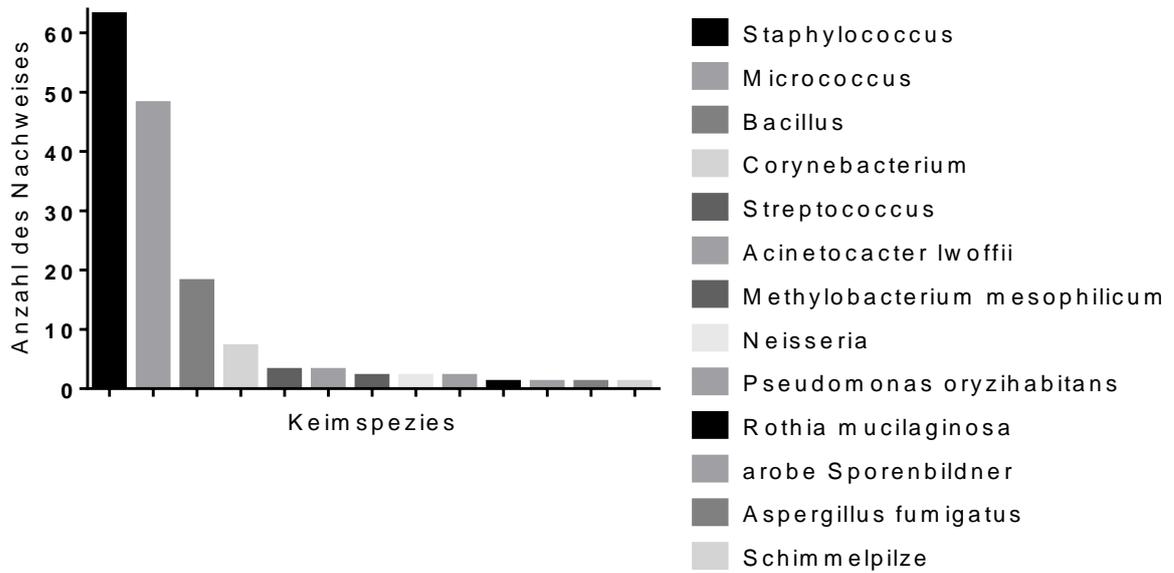


Diagramm 3: Nachweishäufigkeit der Keimspezies in den Luftkeimmessungen (N=64)

Im Diagramm 4 werden die Keimgruppen nach Anzahl ihres Nachweises an den verschiedenen Messorten (Endoskopausgang, Untersucherhöhe, 2m Entfernung und Zuluftauslass) dargestellt.

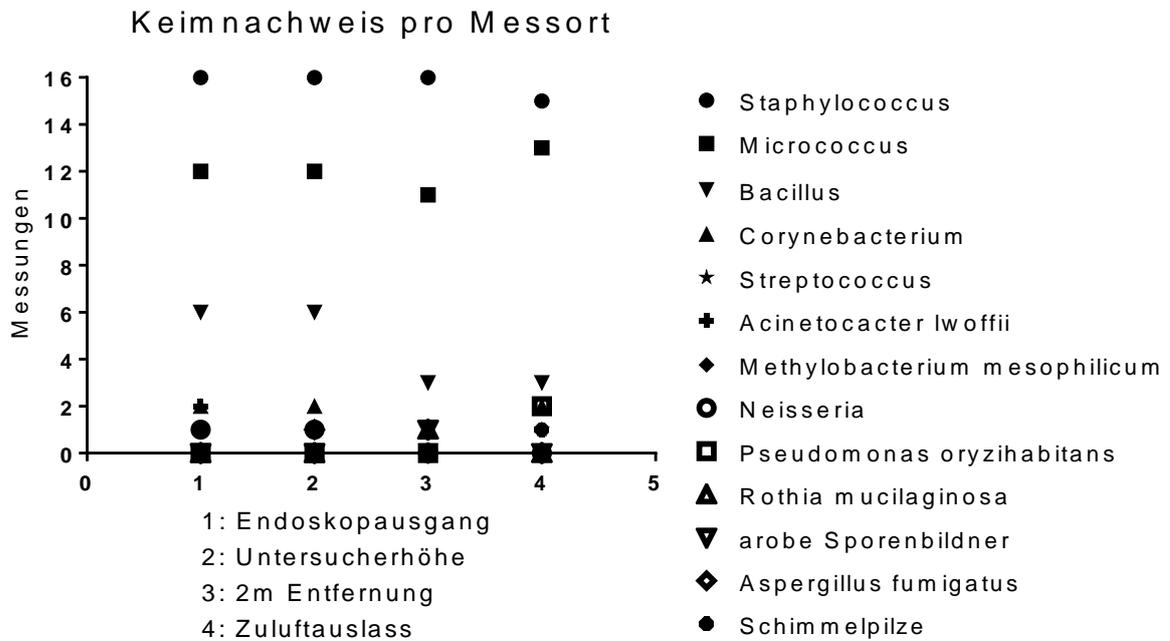


Diagramm 4: Anzahl der nachgewiesenen Keimspezies in Bezug auf den Messort

Eine detaillierte Darstellung der selten aufgetretenen Keime findet sich in Diagramm 5.

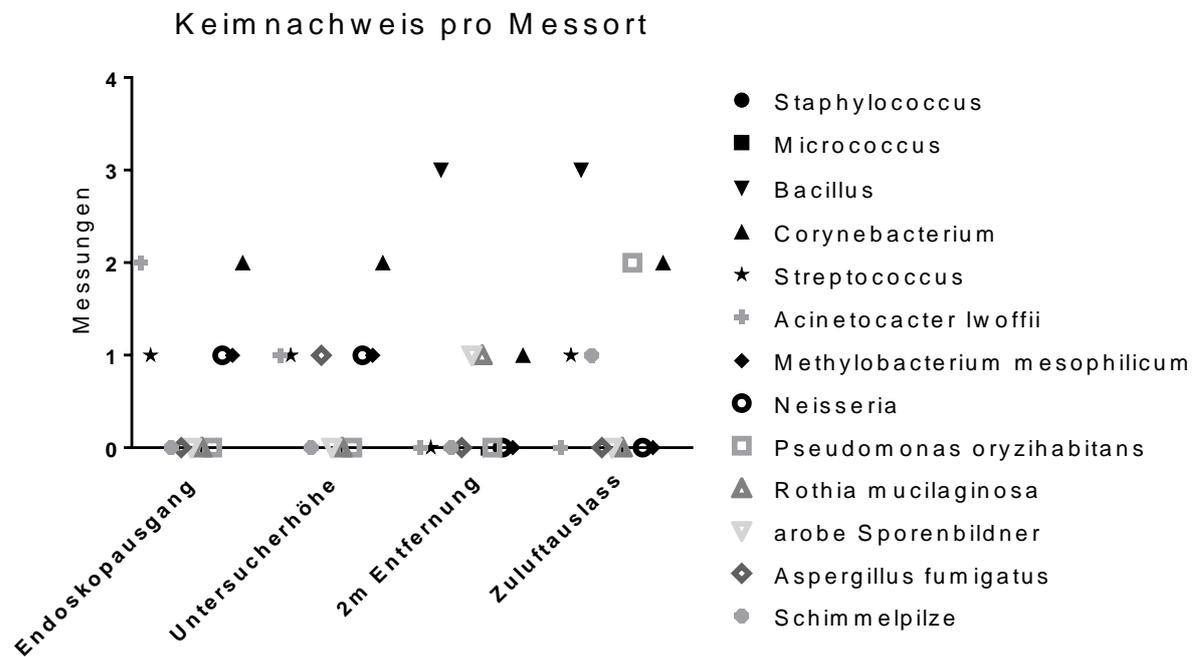


Diagramm 5: Detaildarstellung des unteren Ausschnitts des Diagramms 4 (selten aufgetretene Keime)

### 3.2 Immunologische Ergebnisse (Studie 2)

Zur Überprüfung der Fragestellung, ob beatmungsinduzierte inflammatorische Lungenschäden durch Jet-Ventilation während einer EBUS-Bronchoskopie entstehen, wurden verschiedene BAL-Parameter vor und nach der Jet-Ventilation verglichen. Zur Überprüfung einer signifikanten Veränderung der Parameter vor und nach der Beatmung, wurde der t-Test für abhängige/gepaarte Stichproben verwendet. Für jeden Parameter liegen 10 Messwerte am Anfang (A) und am Ende (E) der Jet-Ventilation vor (n=10).

In der Tabelle 3 wird die deskriptive Statistik dargestellt.

Tabelle 3: Deskriptive Statistik für die Studie 2

Parameter	M	SD	Min	Max
Relative Zellzahl (Mio./100ml) A	370,73	353,41	0,05	1008,00
Relative Zellzahl (Mio./100ml) E	219,24	152,75	0,00	400,00
Lymphozyten (%) A	23,60	19,35	8,00	64,00
Lymphozyten (Mio./100ml) A	85,14	71,89	0,00	184,30
Lymphozyten (%) E	20,80	19,80	0,00	65,00
Lymphozyten (Mio./100ml) E	56,02	65,57	0,00	202,80
Neutrophile Granulozyten (%) A	16,90	16,64	3,00	59,00
Neutrophile Granulozyten (Mio./100ml) A	35,02	36,57	0,03	102,96
Neutrophile Granulozyten (%) E	28,70	23,08	0,00	72,00
Neutrophile Granulozyten (Mio./100ml) E	56,96	59,07	0,00	170,28
Makrophagen (%) A	57,90	23,74	21,00	82,00
Makrophagen (Mio./100ml) A	249,57	288,20	0,01	826,56
Makrophagen (%) E	40,10	26,15	0,00	86,00
Makrophagen (Mio./100ml) E	105,78	97,67	0,00	271,47
Eosinophile Granulozyten (%) A	1,60	3,47	0,00	11,00
Eosinophile Granulozyten (Mio./100ml) A	1,00	2,79	0,00	8,88
Eosinophile Granulozyten (%) E	0,40	0,70	0,00	2,00
Eosinophile Granulozyten (Mio./100ml) E	0,48	1,01	0,00	3,12
IL-1- $\beta$ (pg/ml) A	2,50	3,42	0,00	11,20
IL-1- $\beta$ (pg/ml) E	5,04	11,38	0,00	37,20
IL-6 (pg/ml) A	2,45	3,29	0,10	10,10
IL-6 (pg/ml) E	3,80	4,57	0,30	12,50
TNF $\alpha$ (pg/ml) A	1,00	1,10	0,00	2,90
TNF $\alpha$ (pg/ml) E	1,12	1,42	0,10	4,80
Lösliches ICAM-1 (ng/ml) A	15,18	10,55	3,80	35,90
Lösliches ICAM-1 (ng/ml) E	13,69	11,43	0,30	34,60

Anmerkung. N=10, A= Anfangsmessung, E= Endmessung, M = Mittelwert, SD = Standardabweichung, Min = Minimum, Max = Maximum

Die Zellzahl der BAL wurde zur besseren Vergleichbarkeit auf Zellzahl pro 100ml der Lavage umgerechnet. Bei beiden Datenreihen kann von Normalverteilung ausgegangen werden (Kolmogorov-Smirnov-Test Anfang  $p=0,397$ ; Ende  $p=0,569$ ). Der Mittelwert der Anfangsmessung betrug 370,73 Mio. Zellen/100ml. Der Mittelwert der Endmessung betrug 219,24 Mio. Zellen/100ml. Es erfolgte ein Test auf abhängige/gepaarte Stichproben. Hier zeigte sich kein signifikanter Unterschied ( $p=0,105$ ).

Die Differenzierung der Zellen erfolgte zunächst in Prozent der Gesamtzellzahl. Zusätzlich wurde dann die absolute Zellzahl auf 100ml BAL errechnet.

Bei den Lymphozyten kann bei beiden Datenreihen von Normalverteilung ausgegangen werden (Kolmogorov-Smirnov-Test Anfang  $p=0,627$ ; Ende  $p=0,584$  (absolute Anzahl auf 100ml BAL)). Der Mittelwert der Anfangsmessung betrug 23,60%, beziehungsweise 85,14 Mio. Zellen/100ml. Der Mittelwert der Endmessung betrug 20,80%, beziehungsweise 56,02 Mio. Zellen/100ml. Es erfolgte ein Test auf abhängige/gepaarte Stichproben. Hier zeigte sich weder beim prozentualen Anteil ( $p=0,32$ ), noch bei der absoluten Zellzahl ein signifikanter Unterschied ( $p=0,095$ ).

Auch bei den neutrophilen Granulozyten kann bei beiden Datenreihen von Normalverteilung ausgegangen werden (Kolmogorov-Smirnov-Test Anfang  $p=0,338$ ; Ende  $p=0,619$  (absolute Anzahl auf 100ml BAL)). Der Mittelwert der Anfangsmessung betrug 16,90%, beziehungsweise 35,02 Mio. Zellen/100ml. Der Mittelwert der Endmessung betrug 28,70%, beziehungsweise 56,96 Mio. Zellen/100ml. Es erfolgte ein Test auf abhängige/gepaarte Stichproben. Hier zeigte sich beim prozentualen Anteil kein signifikanter Unterschied ( $p=0,065$ ). Bei der absoluten Granulozytenzahl hingegen zeigte sich ein signifikanter Anstieg der neutrophilen Granulozyten am Ende der Jet-Ventilation im Vergleich zum Ausgangswert am Anfang der Beatmung ( $p=0,042$ ).

Bei beiden Datenreihen der Makrophagen kann ebenfalls von Normalverteilung ausgegangen werden (Kolmogorov-Smirnov-Test Anfang  $p=0,330$ ; Ende  $p=0,789$ ). Der Mittelwert der Anfangsmessung betrug 57,90%, beziehungsweise 249,57 Mio. Zellen/100ml. Der Mittelwert der Endmessung betrug 40,10%, beziehungsweise 105,78 Mio. Zellen/100ml. Im t-Test für abhängige/gepaarte Stichproben zeigte sich beim prozentualen Anteil eine signifikante Verringerung ( $p=0,035$ ), bei der absoluten Zellzahl kein signifikanter Unterschied ( $p=0,104$ ).

Bei den eosinophilen Granulozyten auf 100ml BAL kann nur bei den Werten der Endmessung von Normalverteilung ausgegangen werden (Kolmogorov-Smirnov-Test Anfang  $p=0,042$ ; Ende  $p=0,106$ ). Der Mittelwert der Anfangsmessung betrug 1,60%, beziehungsweise 1,00 Mio. Zellen/100ml. Der Mittelwert der Endmessung betrug 0,40%, beziehungsweise 0,48 Mio. Zellen/100ml. Aufgrund der Nichtnormalverteilung wurde der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test durchgeführt. Hier zeigte sich beim prozentualen Anteil kein signifikanter Unterschied ( $p=0,141$ ) und bei der absoluten Zellzahl ebenso kein signifikanter Unterschied ( $p=0,715$ ).

Es erfolgte die Bestimmung von Interleukin 1 $\beta$  in pg/ml. Bei beiden Datenreihen kann von Normalverteilung ausgegangen werden (Kolmogorov-Smirnov-Test Anfang  $p=0,247$ ; Ende

$p=0,053$ ). Der Mittelwert der Anfangsmessung betrug 2,50 pg/ml. Der Mittelwert der Endmessung betrug 5,04 pg/ml. Es erfolgte ein Test auf abhängige/gepaarte Stichproben. Hier zeigte sich kein signifikanter Unterschied ( $p=0,484$ ).

Auch bei den Daten von Interleukin 6 (in pg/ml) kann von Normalverteilung ausgegangen werden (Kolmogorov-Smirnov-Test Anfang  $p=0,192$ ; Ende  $p=0,548$ ). Der Mittelwert der Anfangsmessung betrug 2,45 pg/ml. Der Mittelwert der Endmessung betrug 3,80 pg/ml. Im t-Test auf abhängige/gepaarte Stichproben zeigte sich kein signifikanter Unterschied ( $p=0,281$ ).

Die Tumornekrosefaktor  $\alpha$  Datenreihen können als normalverteilt erachtet werden (Kolmogorov-Smirnov-Test Anfang  $p=0,847$ ; Ende  $p=0,097$ ). Der Mittelwert der Anfangsmessung betrug 1,00 pg/ml. Der Mittelwert der Endmessung betrug 1,12 pg/ml. Es erfolgte ein Test auf abhängige/gepaarte Stichproben. Hier zeigte sich kein signifikanter Unterschied ( $p=0,625$ ).

Es erfolgte die Bestimmung von löslichen ICAM-1 in ng/ml. Eine Normalverteilung kann angenommen werden (Kolmogorov-Smirnov-Test Anfang  $p=0,628$ ; Ende  $p=0,986$ ). Der Mittelwert der Anfangsmessung betrug 15,18 ng/ml. Der Mittelwert der Endmessung betrug 13,69 ng/ml. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied im Test für abhängige/gepaarte Stichproben ( $p=0,673$ ).

Im Folgenden werden die Ergebnisse von den Anfangs- und Endmessung mittels Boxplots graphisch dargestellt.

Im Diagramm 6 sieht man die relative Gesamtzellzahl in Mio./100ml BAL. Im Diagramm 7 werden die differenzierten Zellen mit Zellzahl in Mio./100ml veranschaulicht. Die übrigen Parameter (Interleukin 1 $\beta$  und 6, TNF $\alpha$  und lösliches ICAM-1) werden mit Anfangs- und Endmessungsdaten im Diagramm 8 abgebildet.

### Zellzahl in Mio./100ml BAL

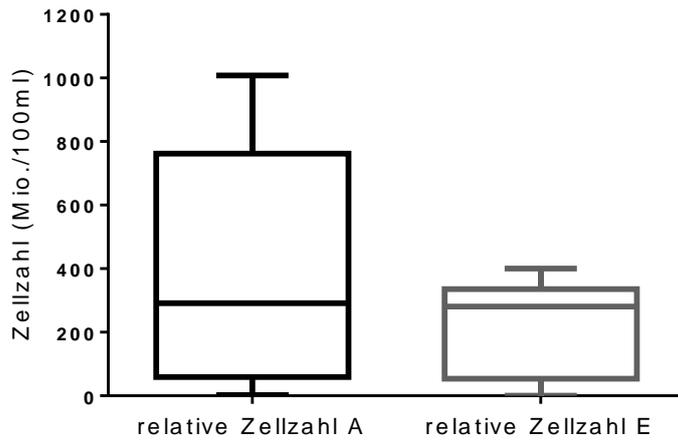


Diagramm 6: Boxplot relative Gesamtzellzahl in Mio./100ml  
A = Anfangsmessung, E= Endmessung; Unterschiede n.s.  $p=0,105$

### Differenzierte Zellzahl in Mio./100ml BAL

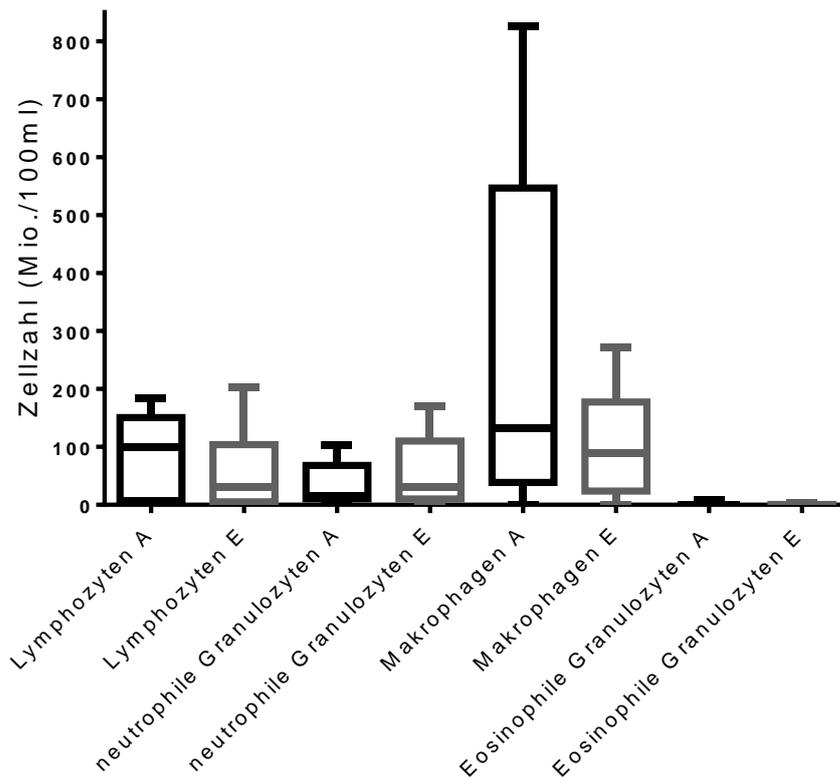


Diagramm 7: Boxplot differenzierte Zellen in Mio./100ml  
A = Anfangsmessung, E= Endmessung  
Unterschiede Lymphozyten n.s.  $p= 0,095$ , neutrophile Granulozyten signifikanter Anstieg  $p=0,042$ , Makrophagen n.s.  $p= 0,104$ , eosinophile Granulozyten n.s.  $p= 0,715$

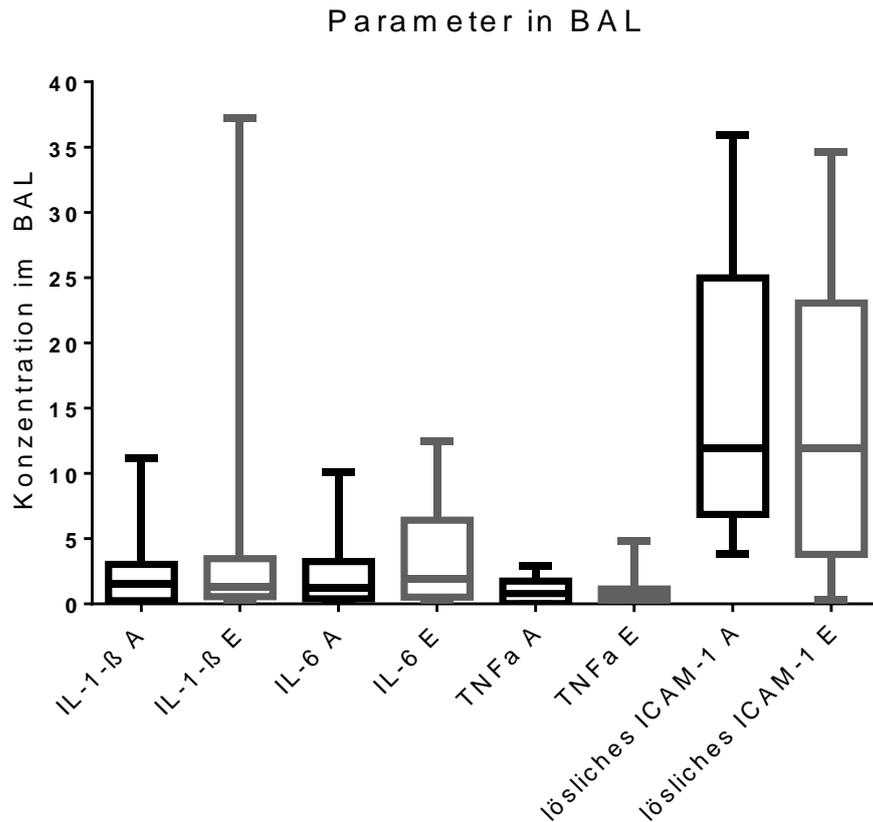


Diagramm 8: Boxplot Parameter in BAL in pg/ml (lösliches ICAM-1 in ng/ml)

A = Anfangsmessung, E= Endmessung

Unterschiede IL-1β n.s. p=0,484, IL-6 n.s. p=0,281, TNFα n.s. p=0,625, lösliches ICAM-1 n.s. p=0,673

Zur Prüfung auf eine Abhängigkeit von der Dauer der Untersuchung auf die Entwicklung der BAL-Parameter, zwischen Anfang und Ende der Jet-Ventilation, wurde eine zweite statistische Untersuchung durchgeführt. Dafür wurden die Patienten in 3 Gruppen eingeteilt: 0 bis 20 Minuten, 21 bis 40 Minuten und 41 bis maximale Untersuchungsdauer mit Jet-Ventilation. Es erfolgte eine einfaktorische Varianzanalyse (ANOVA). Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen mit unterschiedlicher Beatmungsdauer.

## **4. Diskussion**

Gegenstand der durchgeführten Studien war die Untersuchung der mikrobiologischen Keimbelastung während einer Jet-Ventilation in der Bronchoskopie (Studie 1) und beatmungsinduzierter inflammatorischer Lungenschäden (Studie 2) durch die Jet-Ventilation bei Patienten während einer EBUS-Bronchoskopie. Im Folgenden werden die relevanten Ergebnisse der Studie interpretiert und in den wissenschaftlichen Hintergrund eingeordnet.

### **4.1 Keimbelastung bei Jet-Ventilation (Studie 1)**

Die erste Studie unterlag der Fragestellung: Besteht eine mikrobiologische Keimbelastung für das Personal bei Jet-Ventilation in der Bronchoskopie?

Durch die Luftkeimmessung mit dem RCS-Luftkeimsammler wurde die Anzahl, sowie die Art der Keime in der Luft in KBE/m<sup>3</sup> bestimmt. Die quantitative Keimzahl nahm mit der Entfernung zum Endoskop ab:

Am Endoskopausgang betrug die mittlere Luftkeimzahl 135,94 KBE/m<sup>3</sup>, auf Untersucherhöhe 114,06 KBE/m<sup>3</sup>, in zwei Meter Entfernung 97,5 KBE/m<sup>3</sup> und am Zuluftauslass (Referenzmessung) 82,19 KBE/m<sup>3</sup>.

Somit ergibt sich beim Endoskopausgang eine durchschnittliche Keimbelastung von 165,40%, auf Untersucherhöhe von 138,78% und in zwei Meter Entfernung von 118,63% im Vergleich zum Zuluftauslass.

In der statistischen Auswertung konnte zwischen den Messorten Untersucherhöhe und Zuluftauslass ein signifikanter Unterschied gezeigt werden. Die Keimbelastung auf Untersucherhöhe ist somit signifikant höher als die Hintergrundkeimbelastung am Zuluftauslass. Zwischen Endoskopausgang und Zuluftauslass ergab sich ein statistischer Trend ( $p < 0,1$ ).

Anhand der Mittelwerte sieht man die höhere Keimzahl in der Nähe des Endoskops. Mittels der durchgeführten Luftstrommessungen konnte die Bewegung der Expirationsluft aus dem starren Bronchoskopieendoskop dargestellt werden und diese erklärt aufgrund des Aufsteigens die hohe Keimbelastung auch auf Untersucherhöhe. Mit zunehmender Entfernung vom Patienten fällt die Luftkeimzahl ab. Auch das unterstützt die These, der Keimbelastung durch die Jet-Ventilation.

Neben der Keimzahl wurde auch die Spezies der Keime bestimmt und durch eine BAL auch auf eine Keimbesiedlung der Patientenlunge getestet.

In der Luft konnten eine Vielzahl verschiedener Keime nachgewiesen werden. Allerdings traten einige Bakterien-Genera gehäuft auf, während andere nur in ein bis zwei der 64 Messungen identifiziert wurden.

Besonders häufig, in fast allen Messungen, trat *Staphylococcus* auf. Die meisten Arten gehören zur Flora der Haut, des Mundes oder des Respirationstraktes. Mikrokokken, die Zweithäufigsten, liegen ubiquitär vor, unter anderem auch auf der Haut. Aerobe Sporenbildner, die nachgewiesenen *Bacillus*-Spezies und Schimmelpilze gehören zu den primären Luftkeimen. Sowohl *Staphylokokken*, als auch *Mikrokokken* und *Bacilli* wurden in Mikrobiom-Studien auch in der Lunge vorgefunden. *Streptokokken* gibt es auch vor allem im Mund und in der Lunge. *Corynebakterien* gehören zur Hautflora, genauso wie *Acinetobacter lwoffii*, welcher potenziell pathogen sein kann. Die am häufigsten nachgewiesenen Keime können also sowohl von der Haut, der Schleimhaut des Naso-Oro-Pharyngealraumes, als auch aus der Lunge stammen.

Folgende Keime konnten in der BAL mit dem durchgeführten Kultur-Verfahren nachgewiesen werden: *Staphylococcus aureus*, koagulasenegative *Staphylococcus*, *Enterokokken* spp., *Escherichia coli*, vergrünende *Streptokokken*, *Streptococcus constellatus*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae*, *Neisseria* spp. *Haemophilus* spp. und *Candida albicans*. Allerdings waren nur vier von 16 BAL-Proben Keim-positiv. Im Rahmen von Mikrobiomforschungen konnten einige davon kulturunabhängig bei gesunden Patienten in der Lunge gefunden werden. Andere wie zum Beispiel *Escherichia coli* sind nach bisherigen Erkenntnissen nicht typisch für die Lungenflora.

Folgende herauszuhebende Besonderheiten zeigten sich bei den Messungen: Erstens, wurden einmalig *Neisseria* in der Lunge und den korrelierenden Luftmessungen (am Endoskopausgang und auf Untersucherhöhe) gefunden und zweitens zeigten sich *Streptokokken* in den Luftmessungen auch nur in Korrelation zu einem positiven BAL-Befund.

Zusammenfassend zeigt sich am Endoskopausgang sowie auf Untersucherhöhe eine erhöhte durchschnittliche Keimzahl, die mit zunehmender Entfernung abnimmt. Neben primären Luftkeimen wie *Bacillus*, zeigten sich vor allem *Staphylokokken* und *Mikrokokken* in der Luft. *Streptokokken* und *Neisseria* traten nur dann in den Luftkeimmessungen auf, wenn auch die BAL des Patienten diese Keime in der Lunge zeigte. Das spricht für die Hypothese, dass Keime aus der Lunge durch die passive Expiration aus dem Endoskop während der Jet-Ventilation in die Raumluft gelangen. *Staphylokokken* wurden in zwei von vier positiven BAL-Proben der vorliegenden Studie in der Lunge nachgewiesen. Auch *Mikrokokken* und *Bacilli* gehören zur Flora im Respirationstrakt des Menschen [46].

Es ist daher anzunehmen, dass durch die Jet-Ventilation, vor allem in der Nähe des Endoskopausgangs eine erhöhte Keimbelastung für das Personal entsteht.

#### **4.2 Gefährdung für das Personal**

Anhand der Ergebnisse wird eine erhöhte Keimbelastung des Untersuchenden und des restlichen Personals bei einer Jet-Ventilation durch Patientenkeime dargestellt. Jedoch befanden unter den in der vorliegenden Studie nachgewiesenen Keimen keine problematischen Krankheitserreger für immunkompetente Personen. Es handelte sich um Keime, die zur normalen Flora der oberen Atemwege gehören und die vermutlich durch die Jet-Ventilation mobilisiert und mit dem Expirationsgas aus dem Endoskop in den Raum befördert wurden.

Es muss allerdings offen bleiben, ob eine höhere Keimbelastung bei Patienten mit ausgeprägteren Infektionen der Lunge oder anderen Bakterien, zum Beispiel Mykobakterien, besteht.

#### **4.3 Schutzmaßnahmen**

Die bisher vorliegenden Ergebnisse bieten keinen Anlass für besondere individuelle Schutzmaßnahmen für das medizinische Personal oder besondere Absaugmaßnahmen des Expirationsgases. Jedoch kann das Wissen über eine mögliche Kontamination des Expirationsgases für Personal mit erhöhter Anfälligkeit für Infektionen oder bei Patienten mit einer bekannten schweren Infektion in der Lunge, wie zum Beispiel Tuberkulose, entsprechenden Schutzmaßnahmen erforderlich machen.

Die im Rahmen der Einführung beschriebenen Standard-Schutzmaßnahmen bei Bronchoskopien sollten eingehalten werden. Je höher die Klasse der Atemschutzmaske, desto höher der Schutz vor Mikroorganismen.

#### 4.5 Pulmonale inflammatorische Reaktion auf Jet-Ventilation (Studie 2)

Wie in der Einleitung dargestellt, wurde in mehreren Studien gezeigt, dass ein sogenanntes Biotrauma durch mechanische Beatmung ausgelöst wird. Eine inflammatorische Reaktion auf die künstliche Ventilation zeigte sich in anderen Studien an Menschen und Tieren unter anderem durch einen Anstieg von TNF- $\alpha$ , IL-1 und 6 und lösliches ICAM-1 in der BAL, sowie Neutrophileninfiltration in die Lunge. Bezüglich eines Biotraumas bei erwachsenen Patienten unter Jet-Ventilation lagen derzeit keine Daten vor. Tierexperimentelle Untersuchungen lassen dies jedoch möglich erscheinen.

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung wurde in der BAL am Anfang und am Ende einer Jet-Ventilation während einer endobronchialen sonographischen Untersuchung (Dauer im Durchschnitt 39,4 Minuten) die Zellzahl mit Zelldifferenzierung, sowie IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  und lösliches ICAM-1 bestimmt.

In der statistischen Auswertung der durchgeführten Messungen zeigte sich ein signifikanter Anstieg der absoluten Anzahl neutrophiler Granulozyten am Ende der Jet-Ventilation. Neutrophile Granulozyten sind ein potentieller Marker für eine inflammatorische Lungenreaktion im Rahmen der Beatmung. Leider ist zu erwähnen, dass fünf von zehn Messungen aufgrund von Interventionen im Rahmen der EBUS-Bronchoskopie eine blutig tingierte BAL am Ende der Jet-Ventilation hervorbrachten. Da neutrophile Granulozyten den Hauptanteil (über 50%) der Leukozyten im Blut ausmachen, ist eine Kontamination der BAL, die die Zellbestandteile der Lungenalveolen darstellen soll, dadurch wahrscheinlich.

Außerdem zeigt sich bei den untersuchten Zytokinen IL-1, IL-6 und TNF $\alpha$ , sowie bei ICAM-1, kein Anstieg in diesen Messungen. Bei einer inflammatorischen Reaktion der Lunge sollte es zunächst zu einem Anstieg dieser Parameter kommen.

Daher lässt sich schlussfolgern, dass nach diesen Messungen kein Anhalt für inflammatorische Lungenschädigungen durch die Jet- Beatmung während der EBUS-Bronchoskopie nachzuweisen ist.

Der Nachweis von inflammatorischen Reaktionen, die erst nach einer längeren Latenz beziehungsweise längeren Jet-Ventilation auftreten, sollte Gegenstand weiterführender Untersuchungen sein. Anknüpfenden künftigen Studien bleibt dann der Nachweis oder Ausschluss von eventuellen Lungenschädigungen durch eine Jet-Ventilation vorbehalten.

#### 4.6 Kritik der Methodik und Limitationen

Die durchgeführten Untersuchungen weisen Limitationen auf, die für die Interpretation der Ergebnisse, sowie die daraus gezogenen Schlussfolgerungen, Beachtung finden sollten.

In beiden Studien liegt ein geringer Stichprobenumfang (Studie 1: n= 16, Studie 2: n=10) vor. Auch, wenn dies eine statistische Auswertung nicht unmöglich machte und bei fast allen Parametern eine Normalverteilung angenommen werden konnte, ist dies als Limitation zu werten. Dies war vor allem durch die Ein- und Ausschlusskriterien der Studie und die Tatsache, dass nicht alle Patienten der zusätzlichen BAL zustimmten, bedingt.

Da es sich um noch nicht erforschte Fragestellungen handelte, kann die Untersuchung bei dieser Stichprobengröße aber bereits als Grundlage für eine Aussage über das Vorliegen oder Nicht-Vorliegen von einer *mikrobiologischen Keimbelastung* beziehungsweise einer *beatmungsinduzierten inflammatorischen Reaktion* dienen.

In der ersten Studie zur mikrobiologischen Keimbelastung sind weiterhin folgende Limitationen zu nennen: Die gemessenen Luftkeime können natürlich auch vom Personal selbst stammen. Dagegen spricht die hohe Luftkeimzahl am Endoskopausgang, sowie auf Untersucherhöhe. Eine Hintergrundkeimbelastung scheint jedoch in jedem Fall vorzuliegen. Durch die geringe Keimzahl ( $\text{pg}/\text{m}^3$ ) müssen messtechnische Schwankungen erwartet werden. Des Weiteren sind nicht alle Erreger kultivierbar. Über nicht anzüchtbare Keime kann im Rahmen der durchgeführten Untersuchungen keine Aussage gemacht werden, insbesondere nicht über eine eventuelle virale Keimbelastung des Personals. Um weitere Erkenntnisse darüber zu erhalten, bedarf es weiterer Forschung.

Wie bereits auf Seite 21 beschrieben, mussten vier Messungen aufgrund des unverhältnismäßigen Abweichens der Werte von der Auswertung ausgeschlossen werden. Der Grund dieser „Fehlmessungen“ konnte nicht geklärt werden. Vermutlich handelt es sich um eine Kontamination der Nährböden.

Die zweite Studie zeigt ihre Limitationen im methodischen Teil aufgrund von möglichen Artefakten in den Immunoassays. Die Zytokine können durch Proteasen gespalten werden oder sie binden an Rezeptoren von aktivierten Zellen und sind deshalb in der BAL-Probe nicht repräsentativ. Außerdem können sich auch lösliche Rezeptoren in der BAL befinden, die die Zytokine binden oder selbige werden durch Matrixproteine absorbiert. Die möglichen Fehlerquellen sind vielfältig. Insgesamt muss man festhalten, dass Zytokin-Immunoassays von komplexen Flüssigkeiten wie BAL-Proben nur mit Vorsicht zu interpretieren sind. Zweitens sind auch hier noch einmal die blutig tingierten BAL zu erwähnen (siehe Seite 43). Eine derartige Kontamination der BAL-Proben schränkt die Auswertbarkeit relevant ein.

Allerdings sind Probenentnahmen und Interventionen die häufigste Indikation zur Durchführung einer EBUS-Untersuchung. Der Kompromiss zwischen notwendiger Diagnostik und Therapie des Patienten und gleichzeitiger Durchführung einer wissenschaftlichen Studie begrenzen an dieser Stelle die Möglichkeiten.

#### **4.7 Schlussfolgerungen**

Eine Belastung der Raumluft durch eine Jet-Ventilation mit Mikroorganismen aus der Patientenlunge scheint möglich zu sein. Dafür sprechen die erhöhten Luftkeimzahlen in unmittelbarer Nähe des Endoskopausgangs, sowie auf Untersucherhöhe, wo sich das Expirationsgas zuerst hinbewegt. Mittels des verwendeten Kultur-Verfahrens konnte viermal eine Keimbesiedlung der Patientenlunge festgestellt werden. In zwei Fällen waren die in der BAL nachgewiesenen Keime auch in der Luft zu messen. Staphylokokken waren der häufigste Genus der Luftkeimmessungen und auch zweimal in den BAL zu finden. Neben einer Hintergrundkeimbelastung, die am Zuluftauslass zu messen ist, scheint also durch die Jet-Ventilation eine Keimbelastung für das Personal zu entstehen.

Die nachgewiesenen Keime waren jedoch keine problematischen Krankheitserreger und stellten damit keine akute Gefährdung für das Personal dar. Deshalb sind zurzeit über das normale Maß hinausgehenden Schutzmaßnahmen nicht zwingend als notwendig zu erachten.

Dass eine mechanische Beatmung die Lunge schädigen kann, wurde für die konventionelle Beatmung mehrfach gezeigt. Anhand der Vergleichsuntersuchungen, vor und nach einer Jet-Ventilation, mittels einer bronchoalveolären Lavage, konnten keine eindeutigen Zeichen für eine Schädigung nachgewiesen werden. Die inflammatorischen Marker stiegen während der kurzen Beatmungsdauer im Rahmen einer EBUS-Untersuchung der Patienten (im Durchschnitt 39,4 Minuten) nicht signifikant an.

## **5. Zusammenfassung**

In zwei Studien wurde zum einen die mikrobiologische Keimbelastung für das Personal während einer Jet-Ventilation in der Bronchoskopie und zum anderen mögliche beatmungsinduzierte inflammatorische Lungenschäden durch die Jet-Ventilation bei Patienten während einer EBUS-Bronchoskopie untersucht.

In der ersten Studie wurde während 16 starren Bronchoskopien mit Jet-Ventilation eine Luftkeimmessung mit einem RCS-Luftkeimsammler direkt am Endoskopausgang, auf Untersucherhöhe (40 cm über dem Endoskopausgang), in zwei Meter Abstand vom Endoskop im Raum und am Zuluftauslass durchgeführt und anschließend die Anzahl, sowie die Art der Keime bestimmt. Zusätzlich erfolgte eine Keimbestimmung in einer bronchoalveolären Lavage der Patientenlunge.

Es zeigte sich in der Nähe des Bronchoskopausgangs (Endoskopausgang und Untersucherhöhe) eine erhöhte Erregerdichte (135,94 und 114,06 KBE/m<sup>3</sup>), die mit zunehmendem Abstand vom Endoskop abnahm (zwei Meter Entfernung 97,5 und Zuluftauslass 82,19 KBE/m<sup>2</sup>). Die häufigsten nachgewiesenen Keime waren Staphylokokken, Mikrokokken und Bacillus. In den Patientenlungen konnte nur in vier von 16 Messungen Keime angezüchtet werden. In zwei Fällen konnte dabei eine direkte Korrelation zwischen BAL-Keimen und Luftkeimen hergestellt werden. Die nachgewiesenen Keime stellen keine problematischen Krankheitserreger dar und erzwingen daher keine erhöhten Schutzvorkehrungen. Jedoch ist denkbar, dass auch pathogene Keime aus der Patientenlunge in den Raum gelangen können und eine Gefahr für das Personal darstellen.

In Rahmen der zweiten Studie erfolgte bei Patienten, die eine endobronchiale Ultraschalluntersuchung unter Jet-Ventilation erhielten, eine Bestimmung von Inflammationsmarkern in der BAL am Anfang und am Ende der Jet-Beatmung. Untersucht wurden die Zellzahl und die Konzentration der verschiedenen Zellarten, sowie IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  und lösliches ICAM. Es zeigte sich ein Anstieg der Neutrophilenzahl, allerdings nur bei BAL-Proben, die durch Interventionen blutig kontaminiert wurden. Die übrigen Parameter zeigten keinen Hinweis auf eine inflammatorische Reaktion. Es lässt sich daraufhin schlussfolgern, dass nach kurzzeitiger perioperativer Jet-Ventilation kein Biotrauma der Lunge entsteht.

### **Abbildungsverzeichnis:**

Abbildung 1: *schematische Zeichnung: Starre Bronchoskopie mit Jet-Ventilation*  
Nach [9]

Abbildung 2: *MONSOON Jet Ventilator (Acutronic Medical Systems AG)*  
ACUTRONIC Medical Systems AG, Gebrauchsanweisung-MONSOON V5.8d, 2012

Abbildung 3,4: *Luftstrommessung bei Jet-Ventilation*  
Foto, Bronchoskopie Universitätsklinikum Magdeburg, 2012, Bearbeitung mit Paint  
Version 6.1, Microsoft Windows 2009

Abbildung 5: *Vorbereitung einer Luftkeimmessung mit dem RCS-Luftkeimsammler*  
Foto, Bronchoskopie Universitätsklinikum Magdeburg, 2012

### **Literaturverzeichnis:**

- [1] R. B. Smith und M. Klain, „Experimental high frequency jet ventilation,“ *International Anesthesiology Clinics*, pp. 21(3):33-50, 1983.
- [2] G. Ihra, G. Glockner, A. Kashanipour und A. Aloy, „High-frequency jet ventilation in European and North American institutions: developments and clinical practice,“ *European Journal of Anaesthesiology*, pp. 17:418-30, 2000.
- [3] D. Janjević und R. Jović, „High Frequency Jet Ventilation and laryngeal surgery, clinical practice,“ *Med Pregl.*, pp. 2:57-61, 2008.
- [4] W. Oczenski, „Hochfrequenzbeatmung (High Frequency Ventilation - HFV),“ in *Atmen - Atemhilfen (9. Auflage)*, Stuttgart, Thieme, 2012, p. 637.
- [5] N. Mutz und M. Baum, „Hochfrequenzbeatmung,“ in *Grundzüge der Beatmung*, 2. Auflage Hrsg., Berlin, Springer, 1994, pp. 395-403.
- [6] H. K. Chang, „Mechanisms of gas transport during ventilation by high-frequency oscillation,“ *J Appl Physiol*, pp. 56:553-563, 1984.
- [7] A. S. Slutsky und J. M. Drazen, „Ventilation with small tidal volumes.,“ *N Engl J Med* 347, pp. 347:630-1, 2002.
- [8] J. Pillow, „High-frequency oscillatory ventilation: mechanisms of gas exchange and lung mechanics.,“ *Crit Care Med.*, pp. 33:135-41, 2005.
- [9] A. S. Dincq, M. Gourdin, E. Collard, S. Ocak, J. P. D'Odémont, C. Dahlgvist, D. Lacrosse und L. Putz, „Anesthesia for adult rigid bronchoscopy,“ *Acta Anaesthesiol Belg*, pp. 65(3):95-103, 2014.

- [10] E. Evans, P. Biro und N. Bedforth, „Jet ventilation,“ *Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain*, pp. 7:2-5, 2007.
- [11] T. Buchan, M. Walkden, K. Jenkins, P. Sultan und S. Bandula, „High-Frequency Jet Ventilation During Cryoablation of Small Renal Tumours,“ *Cardiovasc Intervent Radiol*, pp. 41(7):1067-73, 2018.
- [12] J. Raiten, N. Elkassabany und J. E. Mandel, „The use of high-frequency jet ventilation for out of operating room anesthesia,“ *Curr Opin Anaesthesiol*, pp. 25(4):482-5, 2012.
- [13] G. Carlon, W. Howland, C. Ray, S. Miodownik, J. Griffin und J. Groeger, „High-frequency jet ventilation. A prospective randomized evaluation.,“ *Chest*, pp. 84:551-9, 1983.
- [14] S. P. Stawicki, M. Goyal und B. Sarani, „High-frequency oscillatory ventilation (HFOV) and airway pressure release ventilation (APRV): a practical guide,“ *J Intensive Care Med*, pp. 24: 215-229, 2009.
- [15] S. Maitra, S. Bhattacharjee, P. Khanna und D. Baidya, „High-frequency ventilation does not provide mortality in comparison with conventional lung-protective ventilation in acute respiratory distress syndrome: a meta-analysis of the randomized controlled trials,“ *Anesthesiology*, pp. 122(4):841-51, 2015.
- [16] D. J. Ross-Anderson, C. Ferguson und A. Patel, „Transtracheal jet ventilation in 50 patients with severe airway compromise and stridor.,“ *Br J Anaeth*, pp. 106:140-4, 2011.
- [17] G. Bouroche, C. Motamed, J. de Guibert, D. Hartl und J. L. Borgain, „Rescue transtracheal jet ventilation during difficult intubation in patients with upper airway cancer,“ *Anaesth Crit Care Pain Med*, pp. 37(6):539-544, 2018.
- [18] A. Abendini, A. Kiani, K. Taghavi, A. Khalili, A. J. Fard, L. Fadaizadeh, A. Salimi, T. Parsa, A. Aarabi, B. Farzanegan und M. P. Tootkaboni, „High-Frequency Jet Ventilation in Nonintubated Patients,“ *Turk Thorac J*, pp. 19(3):127-131, 2018.
- [19] A. Aloy, M. Schachner, C. Spiss und W. Cancura, „Tube-free translaryngeal superposed jet ventilation,“ *Anaesthesist*, pp. 39(10):493-8, 1990.
- [20] W. Beamer, D. Prough, R. Royster, W. Johnston und J. Johnson, „High-frequency jet ventilation produces auto-PEEP.,“ *Crit Care Med*, pp. 12:734-7, 1984.
- [21] G. Conti, M. Bufi, M. Rocco, E. Calzecchi, R. De Blasi, M. Antonelli, P. Pelaia und A. Gasparetto, „Auto-PEEP and dynamic hyperinflation in COPD patients during controlled mechanical ventilation and high frequency jet ventilation.,“ *Intensive Care Med*, pp. 16:81-4, 1990.
- [22] M. Shikowitz, A. Abramson und L. Liberatore, „Endolaryngeal jet ventilation: a 10-year review,“ *Laryngoscope*, pp. 101:455-461, 1991.

- [23] C. Wendt, B. Neumeister, H. K. Geiss, R. W. Braun und P. Kimmig, „Hygienisch-mikrobiologische Untersuchungen,“ in *Mikrobiologische Diagnostik, Bakteriologie - Mykologie - Virologie - Parasitologie*, Stuttgart, Thieme Verlag KG, 2009, pp. 297-99.
- [24] „DIN 1946-4:2008-12 Raumluftechnik Teil 4: Raumluftechnische Anlagen in Gebäuden und Räumen des Gesundheitswesens,“ Beuth, 2008.
- [25] M. Hansis, B. Christiansen, U. Jürs, K. D. Zastrow und G. Unger, „Anforderungen der Hygiene bei Operationen und anderen invasiven Eingriffen,“ *Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz*, pp. 43:644-648, 2000.
- [26] R. R. Davies, „Air Sampling for Fungi, Pollens and Bacteria,“ in *Methods in Microbiology, Band 4*, London and New York, Elsevier, 1971, pp. 368-70.
- [27] Anleitung RCS Standard, „www.biotest.de,“ 2016. [Online]. Available: [www.biotest.de/shared/data/pdf/anleitung\\_rcs\\_standard.pdf](http://www.biotest.de/shared/data/pdf/anleitung_rcs_standard.pdf). [Zugriff am 26 04 2016].
- [28] J. Huebner und D. Goldmann, „Coagulase-negative staphylococci: role as pathogens,“ *Annu Rev Med*, pp. 50:223-36, 1999.
- [29] S. Tong, J. Davis, E. Eichenberger, T. Holland und V. Fowler, „Staphylococcus aureus Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management,“ *Clin Microbiol Rev*, pp. 28:603-661, 2015.
- [30] W. Kloos, T. Tornabene und K. Schleifer, „Isolation and Characterization of Micrococci From Human Skin, Including Two New Species: *Micrococcus lylae* and *Micrococcus kristinae*,“ *International Journal of Systematic Bacteriology*, pp. 24:79-101, 1974.
- [31] D. Tena, J. Martinez-Torres, M. Perez-Pomata, J. Saez-Nieto, V. Rubio und J. Bisquert, „Cutaneous infection due to *Bacillus pumilus*: Report of 3 cases,“ *Clinical Infectious Diseases*, pp. 44:40-2, 2007.
- [32] M. Ucar, „*Bacillus subtilis*,“ 2015. [Online]. Available: [https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Bacillus\\_subtilis](https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Bacillus_subtilis). [Zugriff am 21 08 2016].
- [33] F. Djossou, M.-C. Bézian, D. Moynet, A. Le Flèche-Matéos und D. Malvy, „*Corynebacterium mucifaciens* in an immunocompetent patient with cavitary pneumonia,“ *BMC Infect Dis*, p. 10:355, 2010.
- [34] S. Ku, P. Hsueh, P. Yang und K. Luh, „Clinical and microbiological characteristics of bacteremia caused by *Acinetobacter lwoffii*,“ *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, pp. 19:501-5, 2000.
- [35] N. Regalado, G. Martin und S. Antony, „*Acinetobacter lwoffii*: bacteremia associated with acute gastroenteritis,“ *Travel medicine and infectious disease*, pp. 7:316-7, 2009.

- [36] K. Kaye, A. Macone und H. Powel, „Catheter infection caused by *Methylobacterium* in immunocompromised hosts: report of three cases and review of the literature,“ *Clin Infect Dis*, pp. 14:1010-4, 1992.
- [37] W. Janda und C. Gaydos, „*Neisseria*,“ in *Manual of Clinical Microbiology* (9. Ausgabe), Washington DC, ASM Press, 2007, pp. 601-20.
- [38] C. Decker, G. Simon und J. Keiser, „*Flavimonas oryzihabitans* (*Pseudomonas oryzihabitans*; CDC group Ve-2) bacteremia in the immunocompromised host,“ *Arch Intern Med*, pp. 151:603-4, 1991.
- [39] M. Marín, D. Garca de Viedma, P. Martn-Rabadn, M. Rodrguez-Crixems und E. Bouza, „Infection of hickman catheter by *Pseudomonas* (formerly *Flavimonas*) *oryzihabitans* traced to a synthetic bath sponge,“ *J Clin Microbiol*, pp. 38:4577-9, 2000.
- [40] P. Ramanan, J. Barreto, D. Osmon und P. Tosh, „*Rothia* bacteremia: a 10-year experience at Mayo Clinic, Rochester, Minnesota,“ *J Clin Microbiol*, pp. 52:3184-9, 2014.
- [41] T. Patterson, W. Kirkpatrick, M. White, J. Hiemenz, J. Wingard, B. Dupont, M. Rinaldi, D. Stevens und J. Graybill, „Invasive *Aspergillosis*, Disease Spectrum, Treatment Practices and Outcomes,“ *Medicine (Baltimore)*, pp. 79:250-60, 2000.
- [42] The NIH HMP Working Group, J. Peterson, S. Garges, M. Giovanni, P. McInnes, L. Wang, J. A. Schloss, V. Bonazzi, J. E. McEwen, K. A. Wetterstrand und e. al., „The NIH Human Microbiome Project,“ *Genome Res.*, p. 19: 2317–23, 2009.
- [43] J. Beck, V. Young und G. Huffnagle, „The microbiome of the lung,“ *The Journal Of Laboratory & Clinical Medicine*, pp. 160(4):258-66, 2012.
- [44] J. Erb-Downward, D. Thompson, M. Han, C. Freeman, L. McCloskey, L. Schmidt, V. Young, G. Toews, J. Curtis, B. Sundaram, F. Martinez und G. Huffnagle, „Analysis of the lung microbiome in the "healthy" smoker and in COPD,“ *PLoS One*, p. 6(2):e16384, 2011.
- [45] L. Cui, A. Morris und E. Ghedin, „The human mycobiome in health and disease,“ *Genome Med*, p. 5(7):63, 2013.
- [46] E. Charlson, K. Bittinger, A. Haas, A. Fitzgerald, I. Frank, A. Yadav, F. Bushman und R. Collman, „Topographical Continuity of Bacterial Populations in the Healthy Human Respiratory Tract,“ *Am J Respir Crit Care Med*, p. 184:957–963, 2011.
- [47] R. P. Dickson, J. R. Erb-Downward, C. M. Freeman, L. McCloskey, N. R. Falkowski, G. B. Huffnagle und J. L. Curtis, „Bacterial Topography of the Healthy Human Lower Respiratory Tract,“ *mBio*, pp. 8(1): e02287-16, 2017.
- [48] „Hierarchical classification of prokaryotes,“ 19 07 2018. [Online]. Available: [bacterio.net](http://bacterio.net). [Zugriff am 20 03 2019].

- [49] A. Maddi, A. Sabharwal, T. Violante, S. Manuballa, R. Genco, S. Patnaik und S. Yendamuri, „The microbiome and lung cancer,“ *J Thorac Dis*, pp. 11(1):280-291, 2019.
- [50] M. J. Mammen und S. Sethi, „COPD and the microbiome,“ *Respirology*, pp. 21(4):590-9, 2016.
- [51] A. C. Mehta, U. B. Prakash, R. Garland, E. Haponik, L. Moses, W. Schaffner und G. Silvestri, „American College of Chest Physicians and American Association for Bronchology Consensus Statement: Prevention of Flexible Bronchoscopy-Associated Infections,“ *Chest*, pp. 128:1742-1755, 2005.
- [52] S. Islam, „Flexible bronchoscopy in adults: Overview,“ 2018. [Online]. Available: UpToDate. [Zugriff am 25 03 2019].
- [53] R. C. Hyzy, „Physiologic and pathophysiologic consequences of mechanical ventilation,“ 2018. [Online]. Available: UpToDate. [Zugriff am 01 04 2019].
- [54] „International consensus conferences in intensive care medicine: Ventilator-associated Lung Injury in ARDS,“ *Am J Respir Crit Care Med*, pp. 160(6):2118-24, 1999.
- [55] A. Slutsky und V. Ranieri, „Ventilator-induced lung injury,“ *N Engl J Med*, p. 369:2126, 2013.
- [56] J. Rouby und L. Brochard, „Tidal recruitment and overinflation in acute respiratory distress syndrome: yin and yang,“ *Am J Respir Crit Care Med*, pp. 175:104-6, 2007.
- [57] O. Gajic, S. Dara, J. Mendez, A. Adesanya, E. Festic, S. Caples, R. Rana, J. St Sauver, J. Lymp, B. Afessa und R. Hubmayr, „Ventilator-associated lung injury in patients without acute lung injury at the onset of mechanical ventilation,“ *Crit Care Med*, p. 32:1817, 2004.
- [58] D. Dreyfuss, P. Soler und G. Saumon, „Mechanical ventilation-induced pulmonary edema. Interaction with previous lung alterations.,“ *Am Respir Crit Care Med*, p. 151:1568, 1995.
- [59] R. C. Hyzy und A. S. Slutsky, „Ventilator-associated lung injury,“ 2018. [Online]. Available: UpToDate. [Zugriff am 01 04 2019].
- [60] L. Tremblay und A. Slutsky, „Ventilator-induced injury: from barotrauma to biotrauma,“ *Proc Assoc Am Physicians*, p. 110:482, 1998.
- [61] Y. Sibille, G. Naegel, W. Merrill, K. J. Young, R. Care und H. Reynolds, „Neutrophil chemotactic activity produced by normal and activated human bronchoalveolar lavage cells.,“ *J Lab Clin Med*, pp. 110(5):624-33, 1987.

- [62] K. Murphy, P. Travers und M. Walport, „Grundlagen der angeborenen Immunität,“ in *Janeway Immunologie, 7. Auflage*, Heidelberg, Spektrum Akademischer Verlag, 2009, pp. 7-15.
- [63] T. Schilling, A. Kozian, C. Huth, F. Bühling, M. Kretzschmar, T. Welte und T. Hachenberg, „The pulmonary immune effects of mechanical ventilation in patients undergoing thoracic surgery.,“ *Anesth Analg.*, pp. 101(4):957-65, 2005.
- [64] T. Schilling, A. Kozian, M. Kretzschmar, C. Huth, T. Welte, F. Bühling, G. Hedenstierna und T. Hachenberg, „Effects of propofol and desflurane anaesthesia on the alveolar inflammatory response to one-lung-ventilation.,“ *Br J Anaesth.*, pp. 99(3):368-75, 2007.
- [65] Y. Imai, T. Kawano, K. Miyasaka, M. Takata, T. Imai und K. Okuyama, „Inflammatory chemical mediators during conventional ventilation and during high frequency oscillatory ventilation,“ *Am J Respir Crit Care Med*, pp. 150:1550-4, 1994.
- [66] L. Tremblay, F. Valenza, S. Ribeiro, J. Li und A. Slutsky, „Injurious ventilatory strategies increase cytokines and c-fos m-RNA expression in an isolated rat lung model,“ *J Clin Invest*, pp. 99:944-52, 1997.
- [67] A. von Bethmann, F. Brasch, R. Nüsing, K. Vogt, H. Volk, K. Müller, A. Wendel und S. Uhlig, „Hyperventilation induces release of cytokines from perfused mouse lung,“ *Am J Respir Crit Care Med*, pp. 157:263-72, 1998.
- [68] J. Pugin, I. Dunn, P. Jolliet, D. Tassaux, J. Magnenat, L. Nicod und J. Chevrolet, „Activation of human macrophages by mechanical ventilation in vitro,“ *Am J Physiol*, pp. 275:L1040-50, 1998.
- [69] V. Ranieri, P. Suter, C. Tortorella, R. De Tullio, J. Dayer, A. Brienza, F. Bruno und A. Slutsky, „Effect of mechanical ventilation on inflammatory mediators in patients with acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial,“ *JAMA*, pp. 282:54-61, 1999.
- [70] F. Stüber, H. Wrigge, S. Schroeder, S. Wetegrove, J. Zinserling, A. Hoeft und C. Putensen, „Kinetic and reversibility of mechanical ventilation-associated pulmonary and systemic inflammatory response in patients with acute lung injury,“ *Intensive Care Med*, pp. 28:834-41, 2002.
- [71] H. Imanaka, M. Shimaoka, N. Matsuura, M. Nishimura, N. Ohta und H. Kiyono, „Ventilator-induced lung injury is associated with neutrophil infiltration, macrophage activation, and TGF-beta 1 mRNA upregulation in rat lungs,“ *Anesth Analg*, pp. 92:428-36, 2001.
- [72] N. Kotani, S. Takahashi, D. Sessler, E. Hashiba, T. Kubota, H. Hashimoto und A. Matsuki, „Volatile anesthetics augment expression of proinflammatory cytokines in rat alveolar macrophages during mechanical ventilation,“ *Anesthesiology*, pp. 91:187-97, 1999.

- [73] K. Javorka, L. Plank, K. Adamicova und V. Kulisek, „Does short-term high-frequency jet ventilation damage the tracheobronchial mucosa,“ *Bratisl Lek Listy*, pp. 94:94-8, 1993.
- [74] S. Boros, M. Mammel, P. Lewallen, J. Coleman, M. Gordon und J. Ophoven, „Necrotizing tracheobronchitis: a complication of high-frequency ventilation,“ *J Perinatol*, pp. 31:104-11, 2011.
- [75] U. Costabel und J. Guzman, „Bronchoalveolar lavage in interstitial lung disease,“ *Current Opinion in Pulmonary Medicine*, pp. 95:781-6, 2001.
- [76] R. Helmers, C. Dayton, C. Floerchinger und G. Hunninghake, „Bronchoalveolar lavage in interstitial lung disease: effect of volume of fluid infused,“ *J Appl Physiol*, pp. 67:1443-6, 1989.

## **Danksagungen:**

Mein besonderer Dank gilt in erster Linie Professor Dr. med. habil. Jens Schreiber für die Überlassung des Themas und seine Unterstützung während allen Phasen der Planung, Durchführung und Fertigstellung der vorliegenden Arbeit.

Außerdem danke ich meiner Familie und vor allem meinen Eltern Anne-Kathrin und Stefan Lorenz, die mir auf meinem bisherigen Lebensweg alles ermöglicht und mich in allem unterstützt haben.

Insbesondere danke ich weiterhin meinem Opa, Prof. Dr. Peter Lorenz, der mit seinem beharrlichen Ansporn bezüglich der Doktorarbeit mein Durchhaltevermögen bestärkt hat und der mir als Vorbild auf dem Weg zu meinem akademischen Abschluss diente. Überdies las er Korrektur und gab mir viele hilfreiche Tipps zum Inhalt und Ausdruck einer Dissertation.

Michael Brunner half mir bei der statistischen Auswertung der Daten, sowie beim Design der Dissertation und war weiterhin ein starker emotionaler Rückhalt bis zur Fertigstellung der Arbeit. Vielen Dank dafür.

Ich möchte auch meinen Freunden, die mich während des Studiums und bis heute begleiten, für ihre Unterstützung bedanken.

Mein besonderer Dank gilt den Patienten, die an diesen Untersuchungen teilgenommen haben.

Abschließend möchte ich mich vielmals bei dem Team der Bronchoskopie, namentlich Schwester Nannette Schröder und Schwester Ilona Skupin, der Abteilung für Krankenhaushygiene und dem Institut für Molekulare und Klinische Immunologie des Universitätsklinikums Magdeburg für deren Unterstützung bei der Planung und Durchführung der Studien bedanken.

Juliane Brunner

**Ehrenerklärung:**

Ich erkläre, dass ich die der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität zur Promotion eingereichte Dissertation mit dem Titel

**Keimbelastung des Personals bei Jet-Ventilation in der Bronchoskopie**

**und**

**Beatmungsinduzierte Lungenschädigung bei Jet-Ventilation  
in der Bronchoskopie**

in der Universitätsklinik für

**Pneumologie**

mit Unterstützung durch

**Prof. Dr. med. Jens Schreiber**

ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Dissertation keine anderen als die dort aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Bei der Abfassung der Dissertation sind Rechte Dritter nicht verletzt worden. Ich habe diese Dissertation bisher an keiner in- oder ausländischen Hochschule zur Promotion eingereicht. Ich übertrage der Medizinischen Fakultät das Recht, weitere Kopien meiner Dissertation herzustellen und zu vertreiben.

Magdeburg, den 08.04.2019

Juliane Brunner

**Darstellung des Bildungsweges:**

Der Lebenslauf ist in der Version aus Datenschutzgründen nicht enthalten.