

# Molekulare und serologische Aspekte bei CAP (Community Acquired Pneumonia)



**INSTITUT FÜR KRANKENHAUSHYGIENE &  
MIKROBIOLOGIE, GRAZ  
DR. ANITA LASSACHER  
DR. EVA RATSCHKEK**

# CAP

= **community acquired pneumonia**



- Als **Community Acquired Pneumonia (CAP, AEP)** bezeichnet man jede Lungenentzündungen eines nicht abwehrgeschwächten (immun-kompetenten) Patienten, deren Erreger im privaten oder beruflichen Umfeld erworben wurde (auch in Alten- und Pflegeheimen).
- Auch Pneumonien, die innerhalb der ersten 2 Tage eines Krankenhausaufenthaltes erstmals diagnostiziert werden, zählt man zu **CAP**.

# CAP



- Für die Mehrzahl der ambulant erworbenen Pneumonien sind **Bakterien** verantwortlich, in 10-25 % der Fälle sind es **Viren**.
- Inzidenz ca 200-500 Erkrankungen/100 000 Einwohner pro Jahr
- Altersverteilung: Kinder bis 10 Jahre und Erwachsene zwischen 60. und 90. Lebensjahr

# Definition Pneumonie



- neues Infiltrat im Röntgen
- Fieber  $> 38^{\circ}\text{C}$
- und eines dieser Zeichen:
  - Husten
  - purulenter Auswurf
  - auskultatorischer Befund: ohrnahe feinblasige RG's
- erhöhte Entzündungsparameter: CRP, Leukozytose

# Arten der Pneumonie



- **Typische Lobärpneumonie:** meist auf einen Lungenlappen beschränkt; Entzündung befindet sich in den Alveolen; häufigster Erreger sind Pneumokokken
- **Atypische, interstitielle Pneumonie:** die Entzündung befindet sich im Interstitium (zwischen Alveolen); Erreger z.B. Viren, Mykoplasmen, Chlamydien, Legionellen



# Symptome CAP

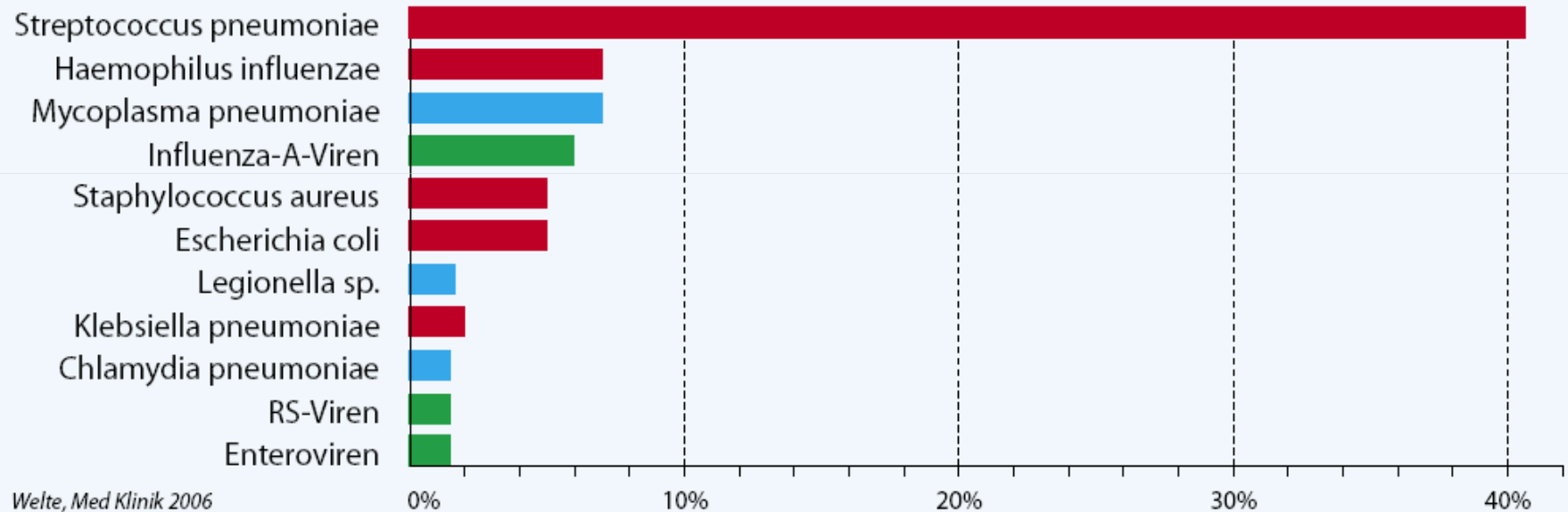


- Husten
- Purulenter Auswurf
- Krankheitsgefühl
- Fieber
- Dyspnoe
- Grippale Symptome: Myalgien, Arthralgien, Cephalea

# Häufigste Erreger einer CAP



**Abb. 1: Ätiologie der CAP**



In 20-25% Erreger ungeklärt

# schwere CAP



- sCAP (severe CAP) ist eine besonders schwer verlaufende CAP, wobei die zuerst nur in der Lunge lokalisierte Infektion systemisch wird und zu Sepsis, septischem Schock und Organversagen führen kann.
- Die Letalität an einer sCAP ist sehr hoch und bedarf intensivmedizinischer Betreuung und u.U einer künstl. Beatmung.



# Erreger-Diagnostik



- Beim ambulanten Patienten Erregerdiagnostik nicht nötig
- Bei stationären Patienten mit Risikofaktoren (Aspiration, Cortison, Grundkrankheit)
- Bei Patienten auf Intensivstation
- Blutkulturen nur in 20% der Fälle positiv, dann aber beweisend
- Patient hat noch kein Antibiotikum bekommen
- Ergebnis hat Auswirkung auf Patientenmanagement
- Rascher Probentransport möglich

# Diagnostik



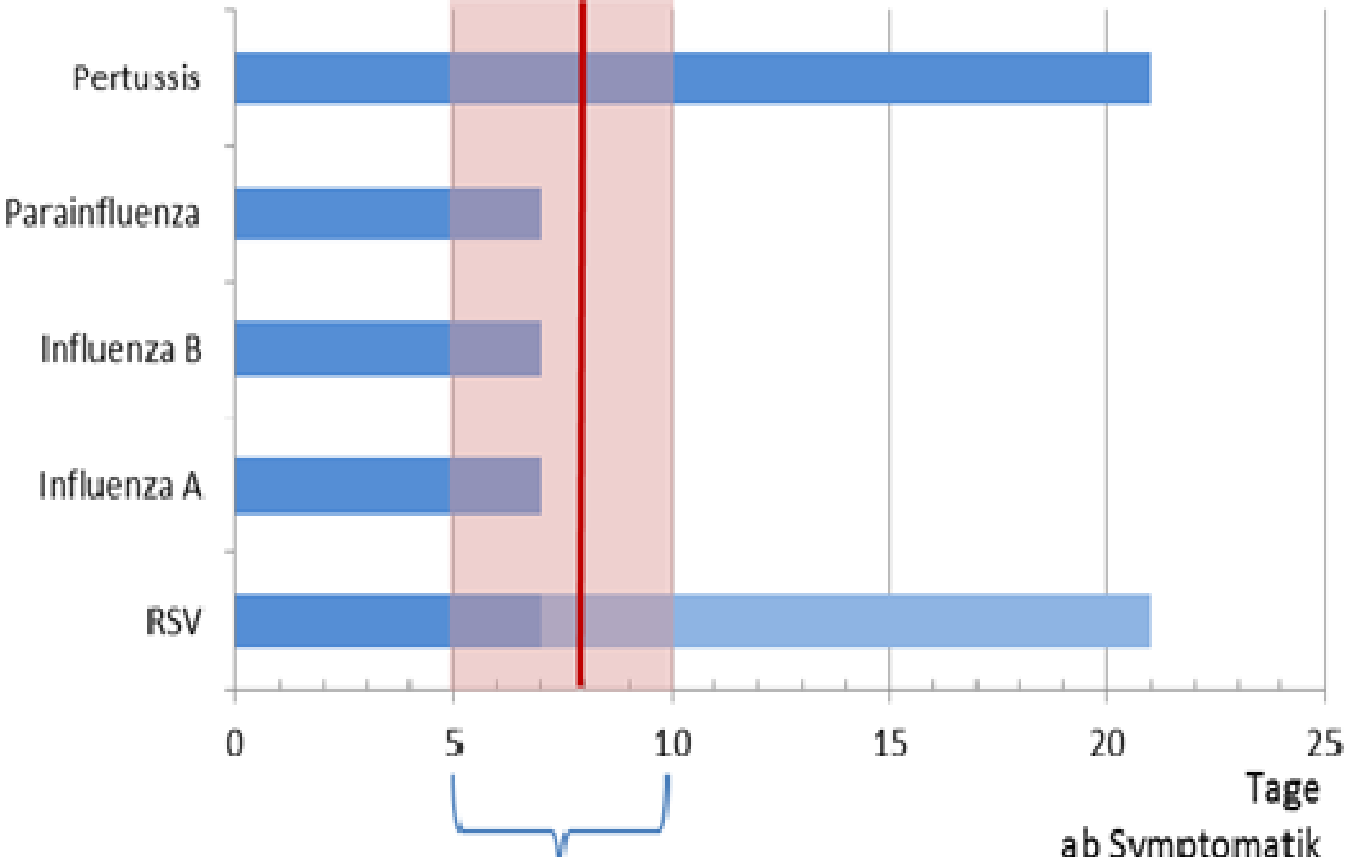
- **Klinik:** Anamnese, Thorax-Röntgen, Entzündungszeichen, Auskultation, ...
- **Indirekter Erregernachweis:** serologischer AK-NW mittels KBR oder ELISA (serologisches Fenster)
- **Direkter Erregernachweis:** → Antigen aus dem Harn: zB. Legionellen (nur SG 1), Pneumokokken; → Anzucht aus Blutkultur oder Pleurapunktat (Pneumokokken); → Sputumkultur (Nachteil: Rachenflora, schwer anzüchtbare Keime)
- **Molekularbiologischer Direktnachweis** aus dem Sputum, Lavage, Pleurapunktion, Nasen-Rachenabstrich

# Serologie



- Aufgrund der langen Serokonversionszeit haben serologische Antikörpertests für die schnelle Diagnostik einer CAP eine zunehmend geringere Bedeutung
- AK-NW oft erst bei abklingenden Symptomen positiv
- Daher direkten Erregernachweis bevorzugen

# Infektiosität/Serologie



Frühest möglicher Nachweis  
zw. 5 und 10. Tag  
Durchschnitt am 8. Tag

# Therapie bei bekanntem Erreger

**Tabelle 4: Gezielte Therapie bei Verdacht auf spezifische Erreger**

Erreger	1. Wahl	Alternative
Streptococcus pneumoniae	Penicillin G	Cefuroxim
Mycoplasma pneumoniae	Azithromycin Clarithromycin Josamycin Roxithromycin	Doxycyclin Levofloxacin Moxifloxacin
Legionella pneumophila	Levofloxacin Moxifloxacin	Azithromycin i.v. Clarithromycin i.v.
Pseudomonas aeruginosa	Piperacillin/Tazobactam Ceftazidim Cefepim Cefpirom	Imipenem/Cilastatin Meropenem (Ciprofloxacin)
ESBL-bildende Enterobakterien	Ertapenem	Imipenem Meropenem Tigecyclin
Staphylococcus aureus (MSSA)	Flucloxacillin	Cefazolin
MRSA	Linezolid	Tigecyclin

# Therapieleitlinie CAP



## **Epidemiologie, Diagnostik, antimikrobielle Therapie und Management von erwachsenen Patienten mit ambulant erworbenen unteren Atemwegsinfektionen sowie ambulant erworbener Pneumonie – Update 2009**

S3-Leitlinie der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie, der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin, der Deutschen Gesellschaft für Infektiologie und vom Kompetenznetzwerk CAPNETZ

Epidemiology, Diagnosis, Antimicrobial Therapy and Management of Community-acquired Pneumonia and Lower Respiratory Tract Infections in Adults

Guidelines of the Paul-Ehrlich-Society for Chemotherapy, the German Respiratory Society, the German Society for Infectiology and the Competence Network CAPNETZ Germany

### **Autoren**

**G. Höffken<sup>1</sup>, J. Lorenz<sup>2</sup>, W. Kern<sup>3</sup>, T. Welte<sup>4</sup>, T. Bauer, K. Dalhoff, E. Dietrich, S. Ewig, P. Gastmeier, B. Grabein, E. Halle, M. Kolditz, R. Marre, H. Sitter**

<sup>1</sup> Sprecher für die Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e. V. (federführend)

<sup>2</sup> Sprecher für die Deutsche Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin e. V.

<sup>3</sup> Sprecher für die Deutsche Gesellschaft für Infektiologie e. V.

<sup>4</sup> Sprecher für das Kompetenz-Netzwerk CAPNETZ Deutschland e. V.

# CAP-bakteriell und CAP-viral Nachweis

## • CAP-bakteriell:

- *Streptococcus pneumoniae*
- *Haemophilus Influenzae*
- *Haem. Influenzae Typ B*
- *Moraxella catarrhalis*
- *Chlamydophila pneumoniae*
- *Mycoplasma pneumoniae*
- *Legionella pneumophila*
- *Bordetella pertussis*
- *Bordetella parapertussis*



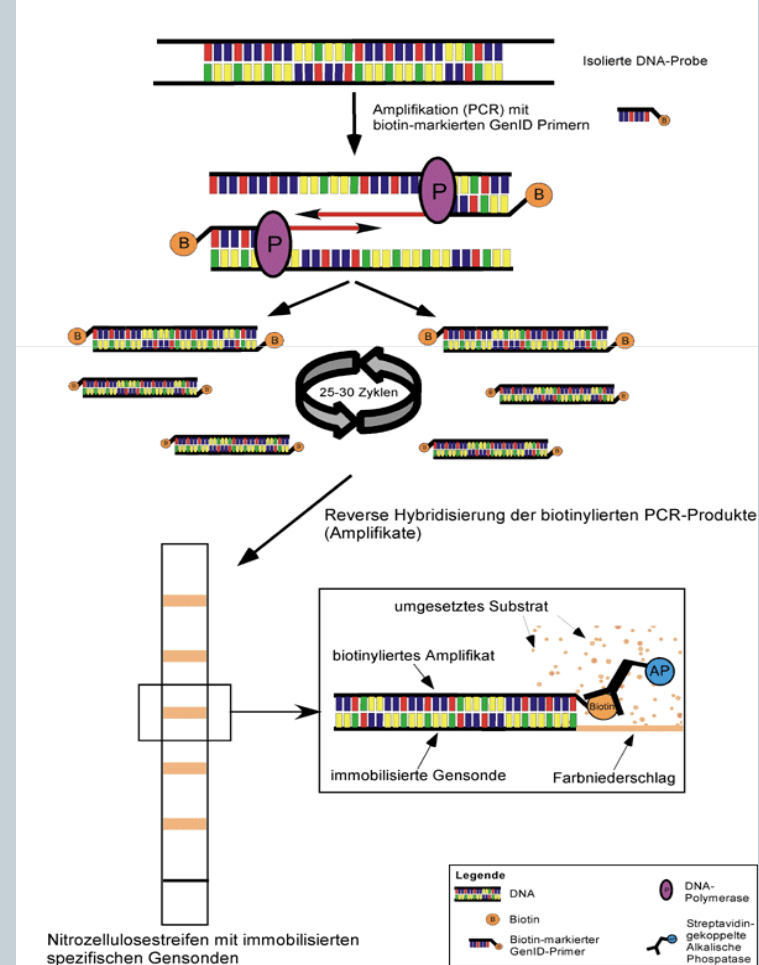
## • CAP-viral:

- *Influenza A und B*
- *Parainfluenza 1-3*
- *Respiratory syncytial Virus (RSV)*
- *Adenoviren* (1, 2, 3, 5, 6, 7, 11, 12, 14, 21, 31, 34, 35, 37)
- *Humanes Metapneumovirus*

# Ablauf PCR und Detektion:



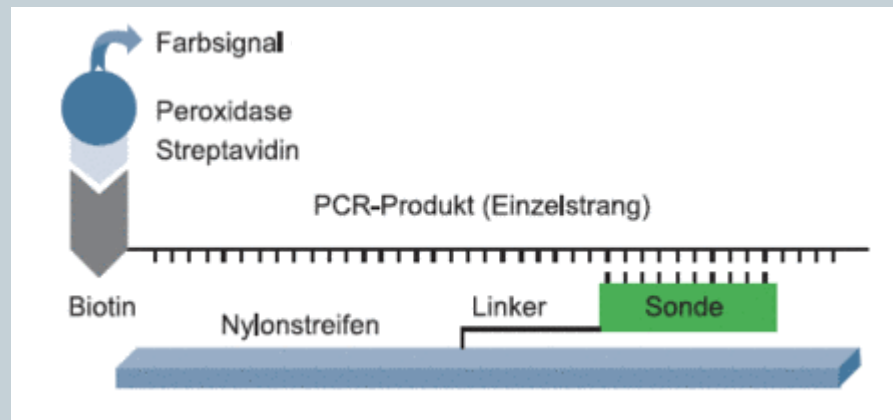
## Das Testprinzip:





# Detektion von PCR-Produkten über reverse Hybridisierung

- Hybridisierung: sequenzspezifische Oligonukleotidsonden – homolog zur amplifizierten Sequenz



# Prinzip Direktnachweis bakterielle CAP-Erreger



- Multiplex-PCR zum Nachweis der häufigsten bakteriellen Erreger einer CAP
- 9 verschiedene Erreger
- Kontrollbanden auf jedem Teststreifen dokumentieren die korrekte DNA-Isolierung, Amplifikation und Hybridisierung

# Erreger einer atypischen Pneumonie



- Ursache von bis zu 40% der CAP-Fälle
- Können schwer mittels üblicher Kulturen nachgewiesen werden
- Klinisch nur schlecht von Infektionen mit anderen Bakterien und Viren unterscheidbar, sie sind jedoch gezielt therapierbar und daher für die Diagnostik von großer Bedeutung.

- ***Mycoplasma pneumoniae***

bei jüngeren Personen (5 - 35 Jahren) ein sehr häufiges Pathogen von langwierigen Lungeninfektionen  
zellwandloses, schwer anzüchtbares Bakterium, Anzucht auf Spezialnährböden dauert mehrere Wochen

- ***Legionella pneumophila***

Mortalität bei ambulant erworbenen Fällen durch *Legionella pneumophila* ist mehr als 15%  
ubiquitär verbreitet; wachsen in warmen Wasser und vermehren sich auch in Wasserleitungen, Whirlpools und Klimaanlage (selten benutzt, ungenügend gewartet)

# CAP-Erreger bakteriell

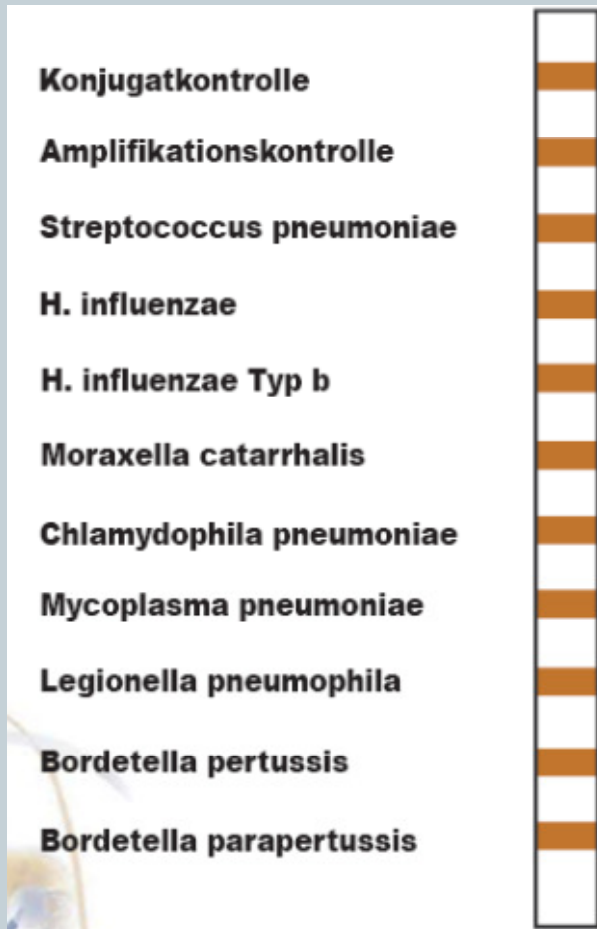
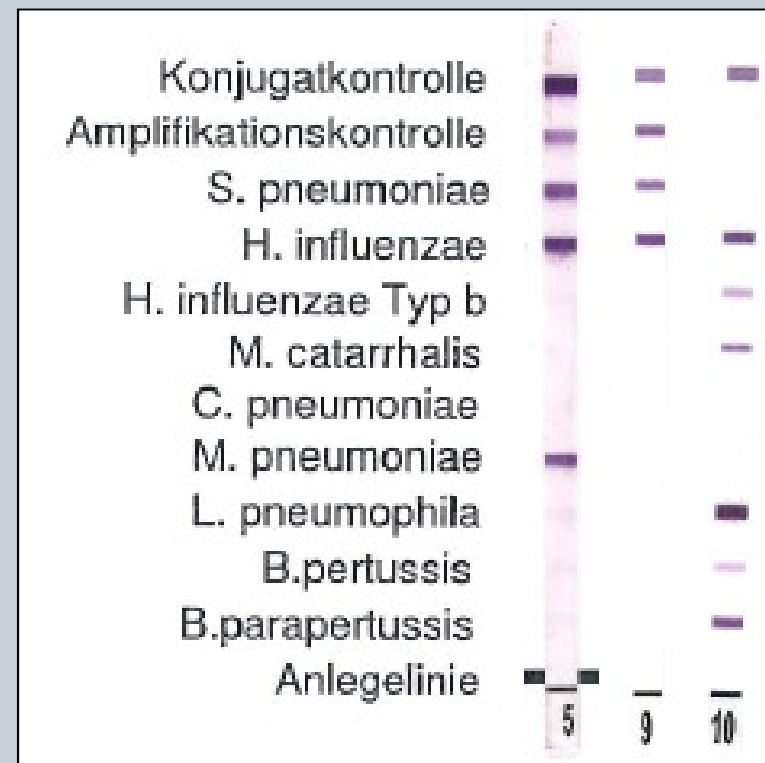


Bild:AID



# Häufigste virale CAP-Erreger



- **Influenza Virus**  
regelmäßig wiederkehrende Epidemien und Pandemien (Spanische Grippe, Vogelgrippe, Schweinegrippe, ...)
- **Parainfluenza Virus**  
Subtypen 1, 2, 3, 4; ubiquitär vorhanden
- **Respiratory Syncytial Virus (RSV)**  
häufigster Erreger kindlicher Atemwegserkrankungen
- **Adenoviren**  
51 humanpathogene Subtypen, respiratorisch pathogene: Subtypen 1-7, 14, 21
- **Humanes Metapneumovirus**  
Genetisch und klinisch nahe mit RSV verwandt; 2001 beschrieben worden

# Prinzip Direktnachweis virale CAP-Erreger



- In 10 - 25% der CAP-Fälle können Viren nachgewiesen werden
- Einzelne PCR-Ansätze
- 5 verschiedene Ansätze möglich (Influenza A und B, Parainfluenza 1-3, RSV, humanes Metapneumovirus, Adenoviren)
- Reverse Hybridisierung auf einem gemeinsamen Nitrozellulosestreifen

# CAP-Erreger viral

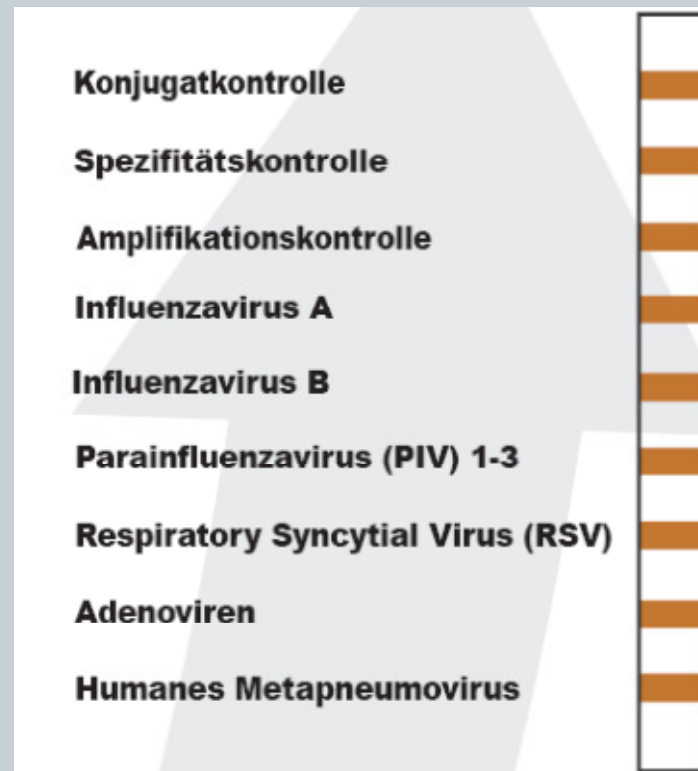
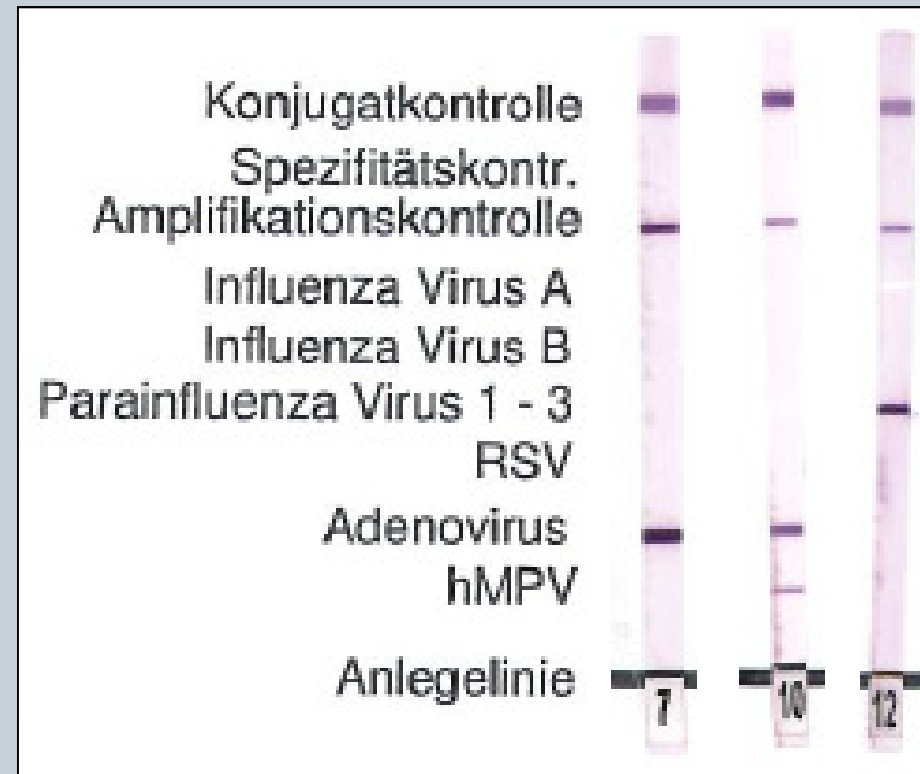


Bild: AID



# Qualitätssicherung



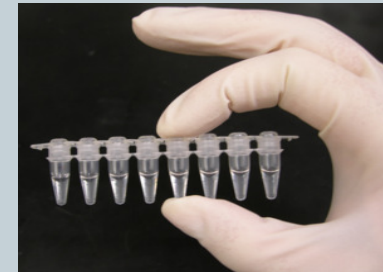
- Zur Überprüfung der korrekten Durchführung:
- Konjugatkontrolle
- Amplifikationskontrolle
- Spezifitätskontrolle
- Mitführen von Positiv- und Negativkontrolle (inkl. Extraktion)
- 2 x jährlich Ringversuchsteilnahme QCMD



# Vorteile CAP-Direktnachweis



- Hohe Sensitivität
- Hohe Spezifität
- Nachweis kulturell schwer anzüchtbarer Keime möglich
- Umgehen des serologischen Fensters
- Durch Einzeldifferenzierung → gezielte, auf den Erreger abgestimmte Therapie möglich



## Zu beachten:

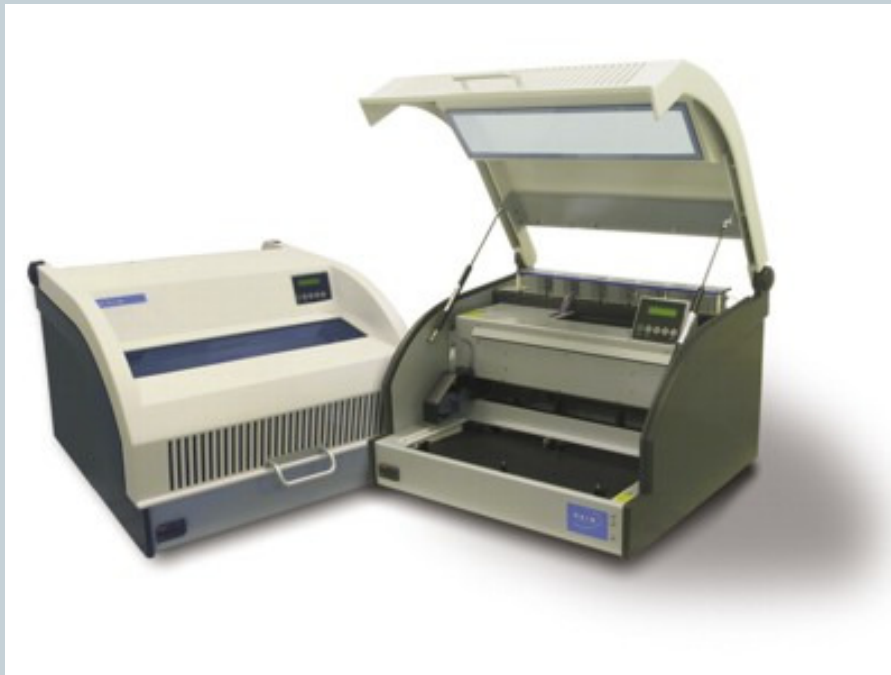


- Probenmaterial häufig sehr mukös (Sputum, BAL)
- Extraktion, Kontrollen
- Hybridisierungstemperatur (Stringenz),  
Waschschritte

# Hybridisierungsautomat



- Vollautomatische Durchführung der Hybridisierungsschritte

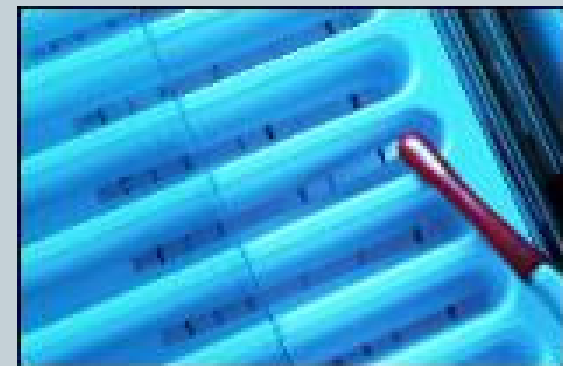


Fotos: Hain lifescience

# Vorteile Hybridisierungsautomat



- Zeitersparnis
- Automatische Durchführung des gesamten Hybridisierungsprotokolls
- Abarbeitung mehrerer Proben gleichzeitig
- Verschleppungsgefahr verringert
- Konstante Temperatur



# Ergebnisinterpretation



- Beachte: Direktnachweis: Keim liegt vor → keine Aussage über Vitalität des Keims
- Klinik soll/muss immer beachtet werden (Krankheitsdauer: abklingend/ansteigend, Symptome? Therapie?)
- Qualitativer Nachweis: keine Aussagekraft über Quantität
- Mehrfachinfektionen



- Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit