





Medizinische Mikrobiologie

-

Themenblock Atmung Bakterielle Pneumonie Erreger

Prof. Dr. med. Dr. phil. Adrian Egli

Institut für Medizinische Mikrobiologie, Universität Zürich

Email: aegli@imm.uzh.ch

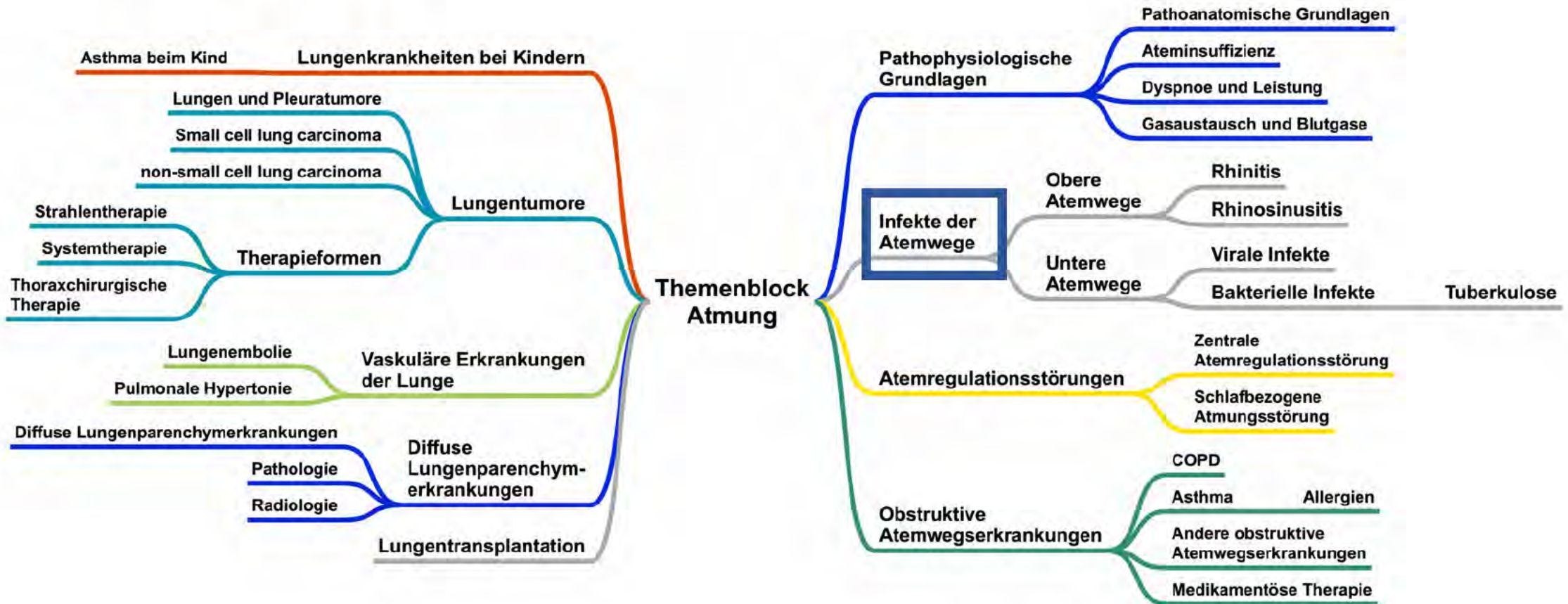
X: @AppliedMicrobi2



**Universität
Zürich** ^{UZH}



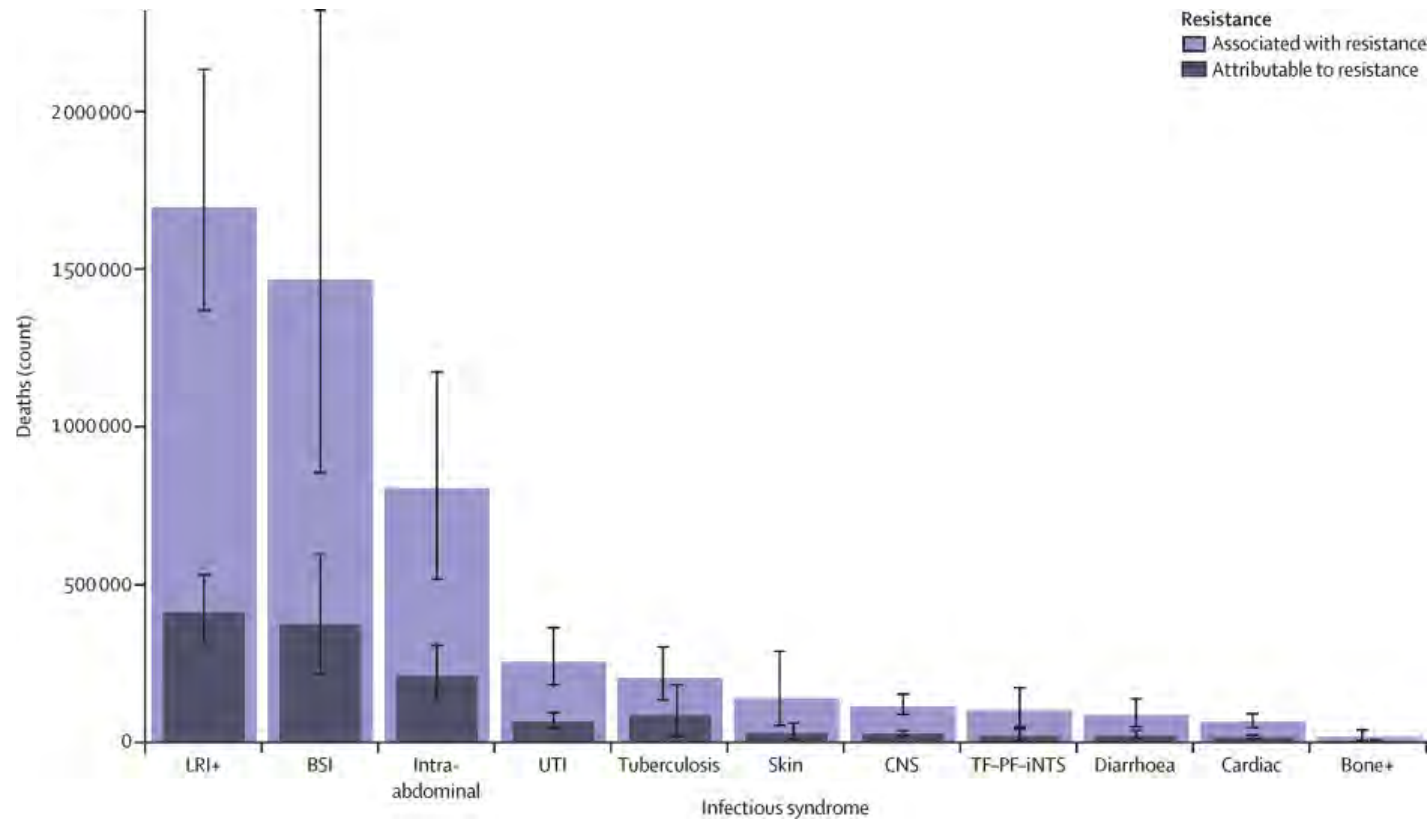
Mindmap



UZH Medizinische Fakultät (CC-BY-NC)

Warum ist das Thema wichtig?

Warum ist das Thema wichtig?



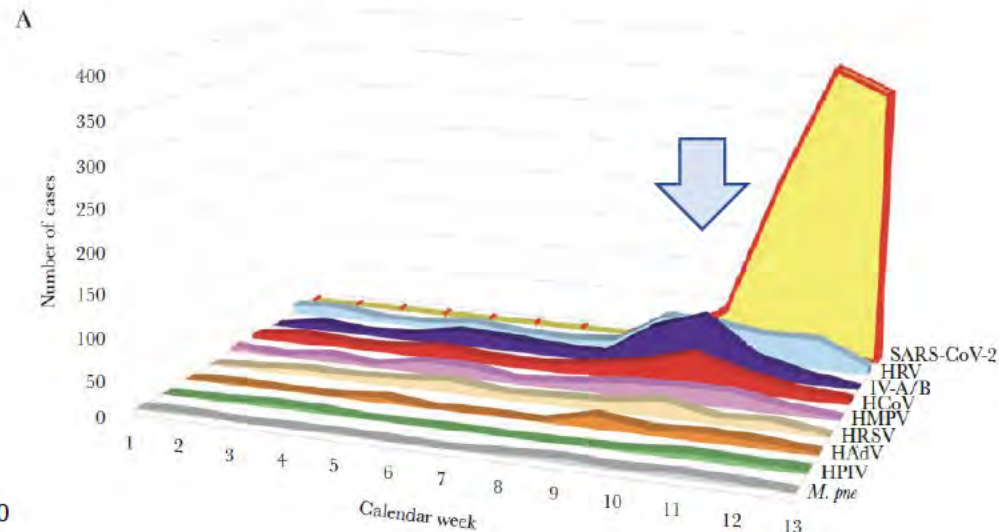
1 Antimicrobial resistance collaborators, Lancet 2022, 399, p629-55; 2 Jim O' Neil report.

Lernziele

- 1. Sie können im Sputum Erreger von Besiedlern unterscheiden
- 2. Sie kennen die wichtigsten **Erreger nosokomialer und ambulant erworbener Pneumonien**
- 3. Sie kennen die Pathomechanismen, Risikofaktoren und die Epidemiologie der wichtigsten Erreger
- 4. Sie können die Diagnostik der häufigsten bakteriellen Erreger wiedergeben
- 5. Sie können die Therapie der häufigsten bakteriellen Erreger aus mikrobiologischer Sicht wiedergeben

Einfluss von SARS-CoV-2 auf die Transmission von anderen respiratorischen Erregern

- Superinfektionen: Im Anschluss an eine virale Erkrankung erfolgt eine bakterielle Pneumonie
- Aber ... Viren sind in Konkurrenz um Wirte. Die Interferon Antwort verhindert die Infektion mit anderen Erregern
- Und natürlich wirken auch die Masken gegen andere Krankheiten.



Leuzinger K, Roloff T, et al. J Infect Dis 2020

Folgen von SARS-CoV-2

- Reduktion der meldepflichtigen Krankheiten
- Weniger Kontakt
- Masken wirken
- Mehr Händehygiene
- Weniger Reisen
- Weniger Sex
- Aber auch schlechtere Gesundheitsversorgung?
= Weniger Diagnostik.

Tabelle 1:

Differenz zwischen erwartetem Wert und den tatsächlichen Fallzahlen im Jahr 2020 für sechzehn in der Schweiz meldepflichtige Infektionskrankheiten, gruppiert nach dem Hauptübertragungsweg

Krankheit	Größenordnung Durchschnitt jährliche Anzahl Fälle 2015–2019	COVID-19-bedingter Rückgang	95%-Konfidenzintervall	
Respiratorische Übertragung				
Haemophilus influenzae, Typ-b-Infektion	100–500	–55%	–68%	–37%
Legionellose	500–1000	–32%	–43%	–19%
Pneumokokken-Infektion	500–1000	–58%	–65%	–48%
Tuberkulose	500–1000	–26%	–37%	–14%
Faeco-orale Übertragung				
Campylobacteriose	5000–10000	–24%	–33%	–13%
EHEC-Infektion*	500–1000	–51%	–57%	–45%
Salmonellose	1000–5000	–27%	–37%	–17%
Shigellose	100–500	–82%	–89%	–72%
Vektor-Übertragung				
Denguefieber	100–500	–90%	–95%	–83%
FSME*	100–500	13%	–11%	43%
Malaria	100–500	–72%	–80%	–61%
Tularämie	100–500	–45%	–60%	–27%
Sexuelle Übertragung				
Chlamydiose	10000–15000	–15%	–20%	–8%
Frühe Syphilis	500–1000	–36%	–46%	–24%
Gonorrhoe	1000–5000	–25%	–31%	–19%
HIV-Infektion*	100–500	–28%	–46%	–4%

* EHEC = Enterohämorrhagische Escherichia coli, FSME = Frühsommer-Meningoenzephalitis, HIV = Human Immunodeficiency Virus

* EHEC = Enterohämorrhagische Escherichia coli, FSME = Frühsommer-Meningoenzephalitis, HIV = Human Immunodeficiency Virus

Normalflora im Mund und Rachen

Nase

Staphylococcus aureus
Streptococcus pneumoniae



Mund, Rachen

Speichel zirka 10^8 /mL

Streptococcus spp.
Viridans-Streptokokken, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*

Eikenella corrodens

Laktobazillen

Treponemen

Haemophilus spp. z.B. *H. influenzae*, *H. parainfluenzae*

Neisseria spp. va. apathogene aber auch *N. meningitidis*

Anaerobier *Fusobacterium* spp., *Actinomyces* spp.

Hefen



Streptococcus spp.
in Ketten



Normalflora

- Haut- und Schleimhäute des Menschen werden von einer Vielzahl von Bakterien, Viren, Bakteriophagen und Pilzen (**Kommensale**).
- Diese ist eine natürliche Flora, (**Normal- oder Standortflora**).
- Lebt auf Kosten des Wirtes, **schädigt** diesen jedoch **nicht**.
- Oft **nützliche Funktionen**:
 - Schutz vor pathogenen Organismen (**Kolonisationsresistenz**)¹
 - Stoffwechselfunktion z.B. Insulinregulation, Vitamine, etc. ^{2,3}
 - Stimulation des Immunsystems⁴
- Typisch für eine Besiedelung: Keine Entzündungszeichen

¹ Ducarmon QR, Zwitterink RD et al. Microbiol Mol Biol Rev 2019; ² Chevalier C, Stojanovic O, et al. Cell 2016; 163 (6), 1360-1374; ³ Pascale A et al. Endocrine 2018, 61(3), 357-71; ⁴ Thaïss CA, Zmora N et al. Nature 2016, 535, 65-74

Infektionen durch Normalflora

Kolonisierende Bakterien können auch Infektionen verursachen, wenn...

- in primär sterile Orte des Körpers gelangen
wie Blut¹, tiefe Gewebe z.B. Muskeln, Körperhöhlen
- sie sich stark vermehren (eine dominierende Spezies)
- bei Immunschwäche, d.h. wenn die Immunität des Wirtes gestört bzw. reduziert ist
→ **Opportunisten**
- Normalflora als Ausgangsherd für Infektionen
→ **endogene Infektionen**

Typische Erreger von respiratorischen Infektionen

- **Normalflora** (Opportunisten, oder endogene Infektionen)
- **Exogene Infektionen** (Ansteckung durch jemanden):
 - ambulant erworben («community acquired») vs. Spitalerworben («hospital acquired»)

Erreger:

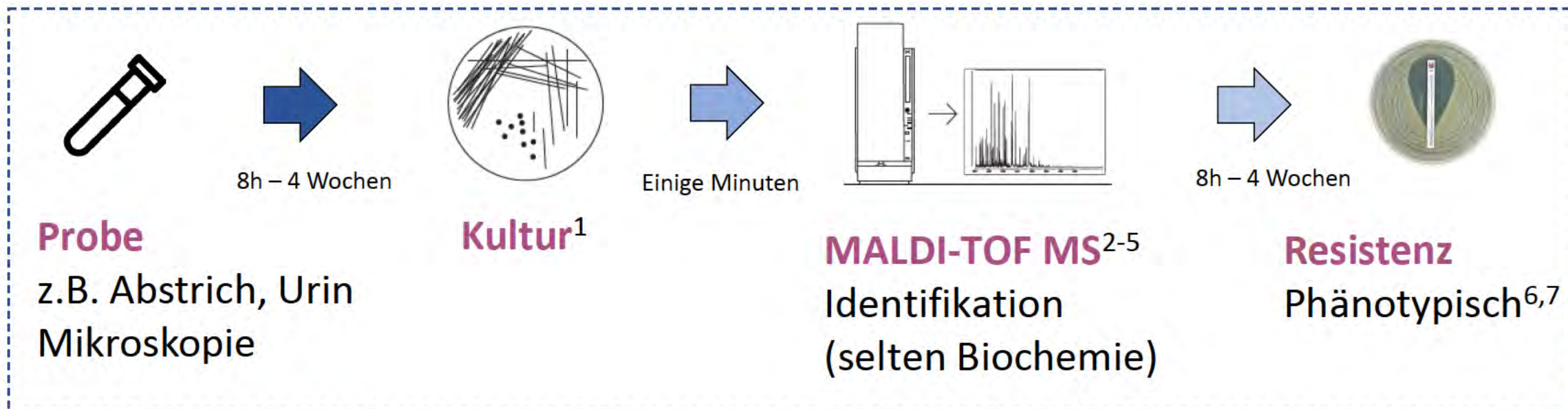
- Oft in Kombination mit Viren: Influenza oder SARS-CoV-2 -> bakterielle oder fungale **Superinfektion**
 - *Haemophilus influenzae*
 - *Moraxella catarrhalis*
 - *Klebsiella pneumoniae*
 - *Streptococcus pneumoniae*
 - *Staphylococcus aureus*
- } Gram-negativ
- } Gram-positiv

Gram-Einteilung von Bakterien

		Grampositiv	Gramnegativ
Kokken	Aerob	Staphylokokken ← Streptokokken ← Enterokokken	Neisseria Moraxella ←
	Anaerob	Peptostreptococcus	Veillonella
Stäbchen	Aerob	Corynebacterium Listeria Bacillus (Sporenbildner)	Enterobakterien (E.coli, Klebsiella, Salmonella u.a.) Pseudomonas ← Haemophilus ← Legionella ← Weitere: siehe sep. Blatt (Kurs)
	Anaerob	Clostridium (Sporenbildner) Cutibacterium acnes Actinomyces	Bacteroides Fusobacterium



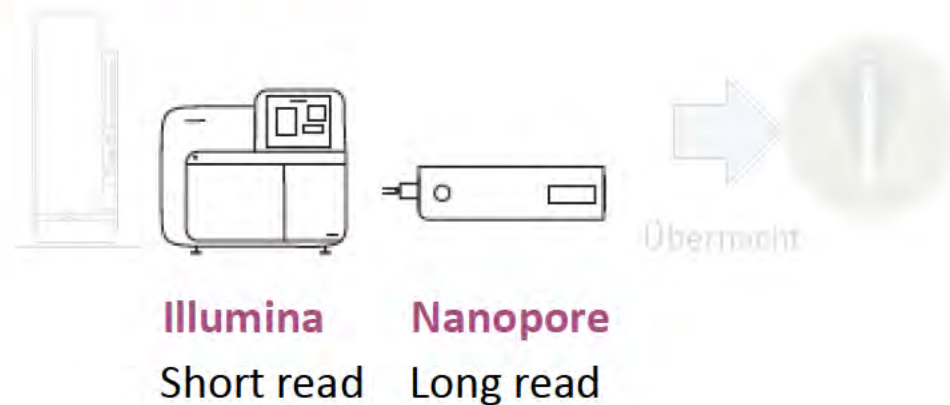
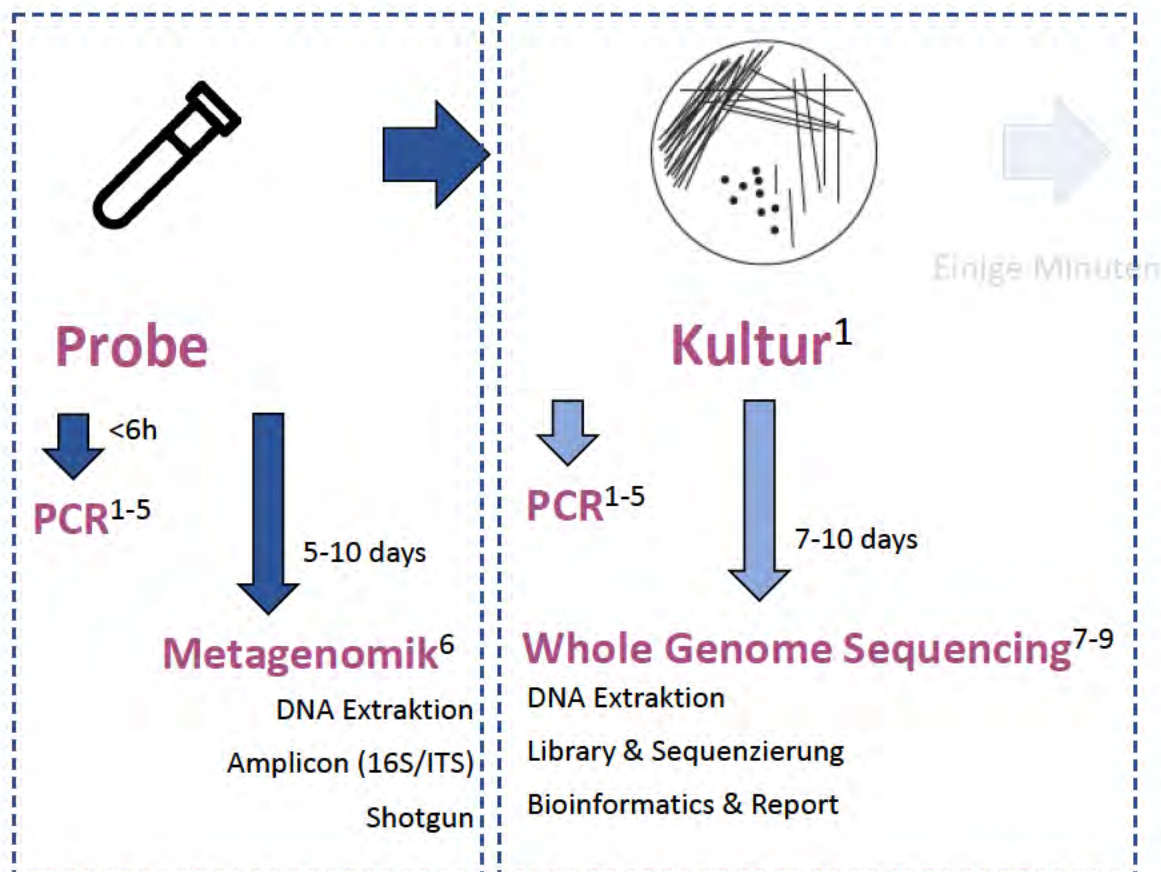
Phänotypische Achse der Diagnostik



¹ Hinc V, Amrein I, ... et Egli A J Micro Met 2017; ² Dierig A, Frei R, Egli A, Ped Infect Dis J 2015 ³ Egli A et al. Transpl Infect Dis 2015; ⁴ Osthoff M, ... et Egli, A. Clin Microbiol Infect 2017; ⁵ Weis C, ... Egli A, Borgwardt K, Bioinformatics 2020; ⁶ Egli A, Schmid H, et al. Clin Microbiol Infect 2017; ⁷ Hinc V, Reist J, Egli A J Microbiol Met 2018



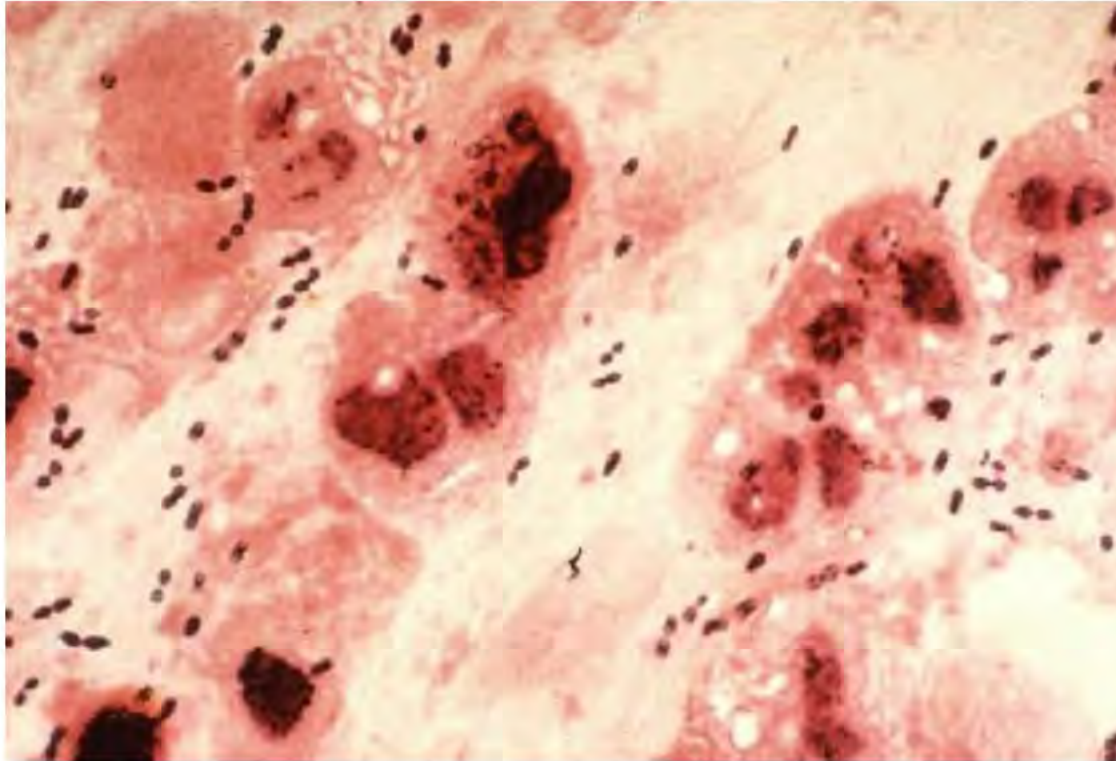
Genotypische Achse der Diagnostik



→ Zwei Sequenzierungstechniken

¹ Hinc V, Amrein I, ... et Egli A J Micro Met 2017; ² Dierig A, Frei R, Egli A, Ped Infect Dis J 2015 ³ Egli A et al. Transpl Infect Dis 2015; ⁴ Osthoff M, ... et Egli, A. Clin Microbiol Infect 2017; ⁵ Weis C, ... Egli A, Borgwardt K, Bioinformatics 2020; ⁶ Egli A, Schmid H, et al. Clin Microbiol Infect 2017; ⁷ Hinc V, Reist J, Egli A J Microbiol Met 2018

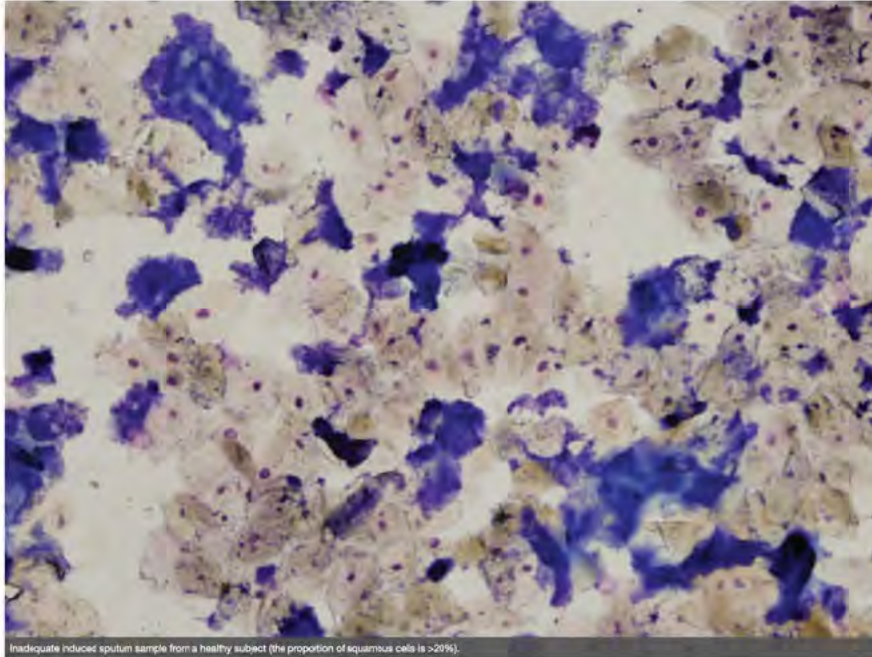
Vorteile der Mikroskopie aus Sputum



Weiszhar Z et Horvath I, Breath 2013

- Einfach und günstig.
- Normalflora kann Besiedelung mit pathogenen Keimen verhindern oder diese hemmen.
- Bei Sputum kann man im Mikroskop beurteilen, ob Material aus Mund- / Rachenbereich oder von den Bronchien / vom Lungenparenchym kommt.
- Achtung relativ tiefe Sensitivität -> es werden 10^4 /mL Bakterien benötigt.

Qualität des respiratorischen Material ist entscheidend für die Aussagekraft



- Gram-Präparat Sputum >25 Epithelzellen im 100er Gesichtsfeld.
- Probe nicht verwertbar für allgemeine Bakteriologie.
- Für Suche nach *Mycobacterium tuberculosis* Sputum immer akzeptieren, allenfalls kann auch eine PCR gemacht werden.
- Bakterien aus dem Sputum, aber auch von Trachealsekret können nur Besiedler sein; Abgrenzung von Erregern nicht immer einfach. Der klinische Kontext ist entscheidend.

Wieviele Fälle von ...

- Mycobakterium tuberculosis in der Schweiz?
- Invasive Pneumokokken?
- Wie findet man das raus?

BAG-Meldungen

Respiratorischen Erreger sind
z.T. meldepflichtig:

- Invasive Erkrankungen von *H. influenzae* und *S. pneumoniae*
- *B. pertussis*
- *Legionella pneumophila*
- Influenza
- *Mycobacterium tuberculosis*
- Invasiv bedeutet Nachweis in primär sterilen Orten.

BAG Bulletin vom BAG
<https://www.bag.admin.ch/bag>

Stand am Ende der 27. Woche (12.07.2022) ^a

	Woche 27			letzte 4 Wochen			letzte 52 Wochen			seit Jahresbeginn		
	2022	2021	2020	2022	2021	2020	2022	2021	2020	2022	2021	2020
Respiratorische Übertragung												
Haemophilus influenzae: invasive Erkrankung	3	1		6	8	1	107	63	94	61	36	52
	1.80	0.60		0.90	1.20	0.20	1.20	0.70	1.10	1.40	0.80	1.20
Influenzavirus-Infektion, saisonale Typen und Subtypen ^b	10			44	1	3	11791	47	11803	11353	29	11328
	6.00			6.60	0.20	0.40	135.40	0.50	135.50	251.00	0.60	250.50
Legionellose	29	18	19	93	57	46	751	495	524	289	216	183
	17.30	10.80	11.30	13.90	8.50	6.90	8.60	5.70	6.00	6.40	4.80	4.00
Masern							1		53	1		37
							0.01		0.60	0.02		0.80
Meningokokken: invasive Erkrankung				1	1	2	10	9	37	6	4	15
				0.20	0.20	0.30	0.10	0.10	0.40	0.10	0.09	0.30
Pneumokokken: invasive Erkrankung	7	6	9	40	34	24	643	390	676	378	234	395
	4.20	3.60	5.40	6.00	5.10	3.60	7.40	4.50	7.80	8.40	5.20	8.70
Röteln ^c												
Röteln, materno-foetal ^d												
Tuberkulose		10	9	27	30	33	350	351	398	193	204	211
		6.00	5.40	4.00	4.50	4.90	4.00	4.00	4.60	4.30	4.50	4.70

Lungenblock – Pneumonie Erreger

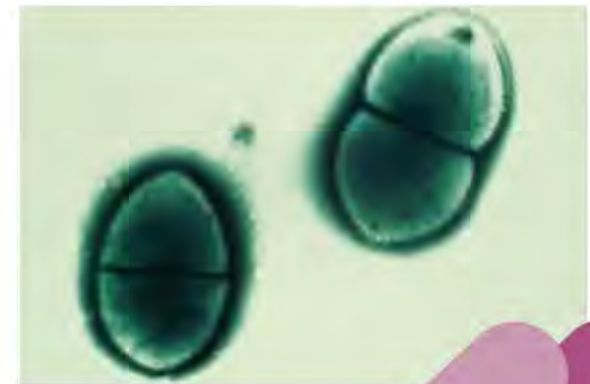
Prof. Dr. Dr. Adrian Egli, Universität Zürich

Nennen Sie mir bitte ein paar Bakterien,
welche eine Lungenentzündung auslösen

Streptococcus pneumoniae

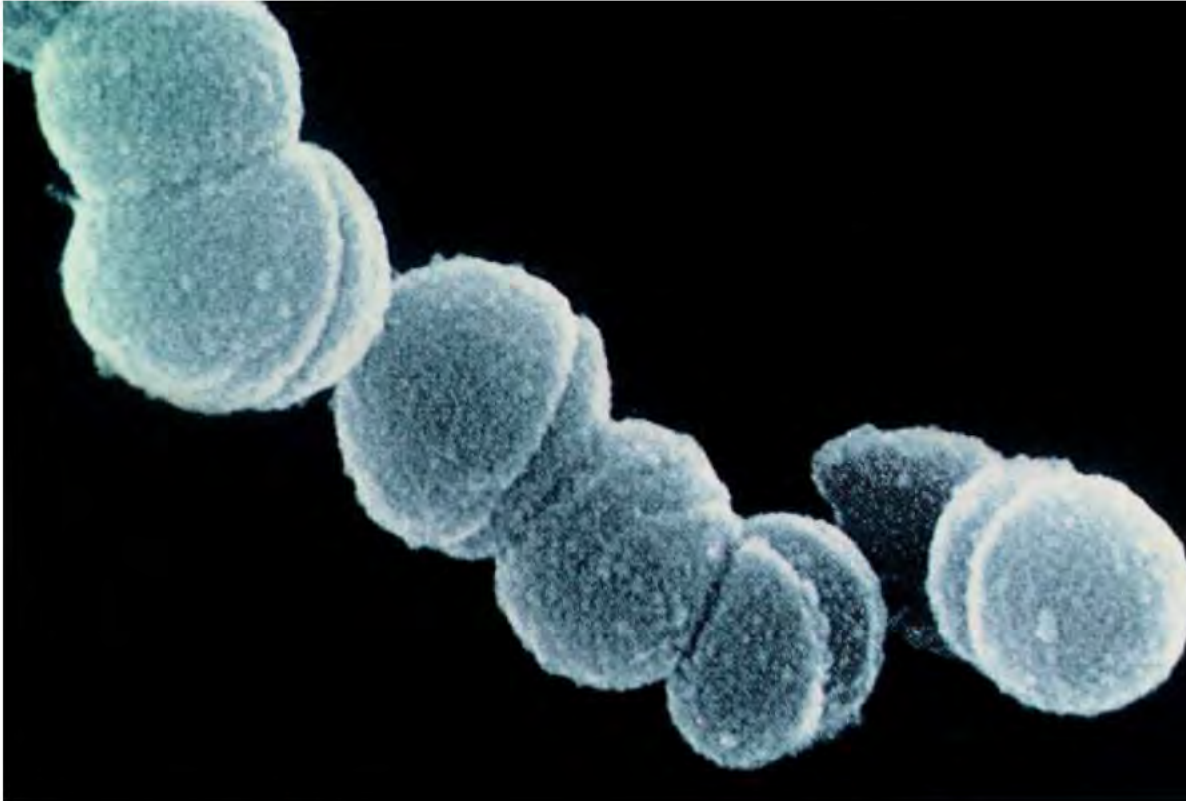
Pneumokokken

- Grampositive Diplokokken, meist mit Kapsel
- Kolonisation des oberen Respirationstrakts bei Kindern (20-40%) und Erwachsenen (5-10%)¹
- Infekte besonders bei Älteren, Abwehrgeschwächten, Diabetes, Komplementdefekten, nach Splenektomie (OP oder funktionell), vorausgegangenen Infekten (z.B. Influenza)
- Lobärpneumonie, Bronchopneumonie
Sinusitis, Otitis media, Bronchitis,
Meningitis +/- Sepsis
- **Cave:** Penicillin resistente Pneumokokken
- Impfung gegen häufigste Typen

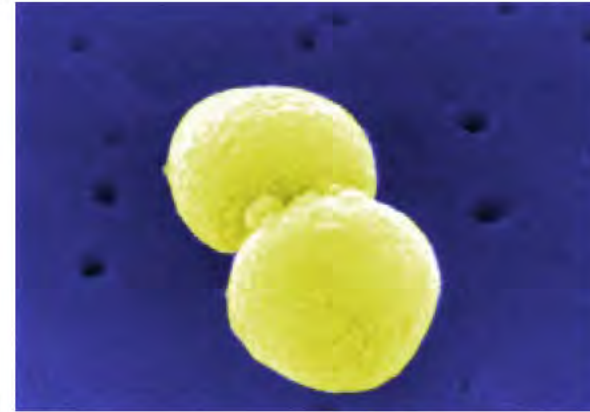


¹ Bogaert D et al. Lancet Inf Dis 2004

Pneumokokken



Rasterelektronenmikroskop



Lungenblock – Pneumonie Erreger

Prof. Dr. Dr. Adrian Egli, Universität Zürich

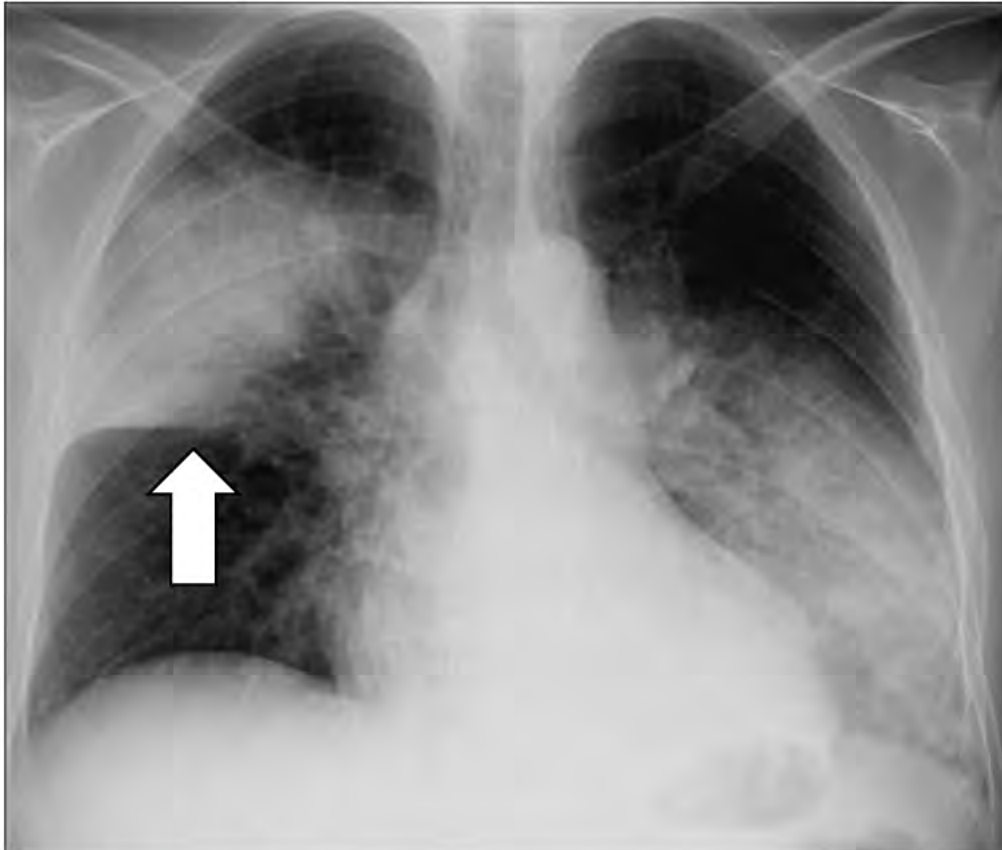
Epidemiologie und Risikofaktoren

- Pneumokokken sind:
 - die häufigsten Erreger einer ambulant erworbenen Pneumonie
 - Kindern < 2 Jahren die häufigste Ursache einer akuten Hirnhautentzündung
 - Insgesamt 80 Todesfälle pro Jahr bei Patienten > 65
- Risikofaktoren
 - Störungen des Immunsystems; Neoplasien, Transplantation
 - Chronische Krankheiten – Herz/Lunge, Niere, Leberzirrhose, Innenohrimplantat; bei älteren Personen (COPD); Personen ohne Milz
- Problem: Zunehmende Antibiotikaresistenz
 - Falsche empirische Therapie
 - In Ländern hohe Resistenz gegen Penicillin, auch gegen Ceftriaxon

Virulenz

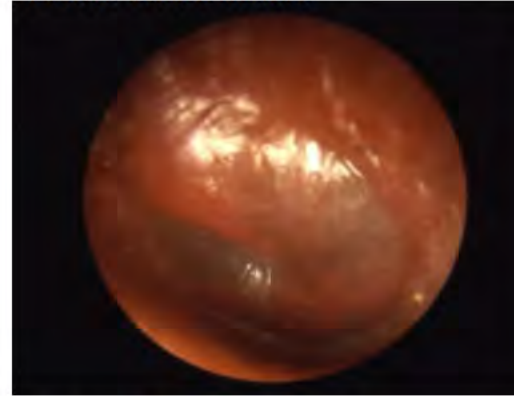
- **Kapselbildung**
 - Wirkung gegen Opsonisierung (Markierung durch Antikörper) und Schutz vor Phagocytose
- **Pneumolysin**
 - Wichtiger Virulenzfaktor
 - Zytotoxisches und .plasmatisches Protein
 - Vermindert Phagozytose
- **LytA**
 - Autolysin
 - Degradierung der Peptidoglycanschicht
 - Freisetzung des zytoplasmatischen Pneumolysins und der Entzündungsfaktoren

Erkrankungen durch Pneumokokken



Lobärpneumonie

Akute Otitis media



Normales Trommelfell



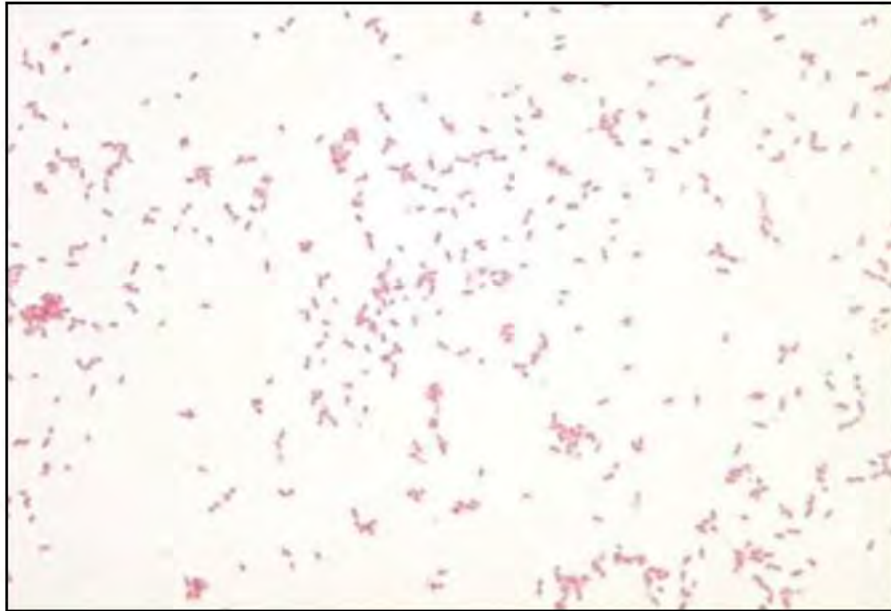
Antibiotika Resistenz bei Pneumokokken

- **Penicillin-Resistenz** wegen veränderten Penicillin-bindenden Proteinen (PBP)
- Keine Beta-Laktamase
- 1967 erstes Isolat mit MHK für Penicillin 0.5 mg/L (Papua-Neuguinea)
- 1977 MHK > 2 mg/L (Südafrika) und weltweite Ausbreitung
- Barcelona bereits 1990 40% vermindert empfindlich oder resistent
- volle Resistenz gegen Penicillin MHK >1 mg/L
- Sentinella: Altersklasse < 2 Jahre ca. 1-2%
- Penicillin vermindert empfindliche Pneumokokken in der Schweiz ca. 10%
- (MHK > 0.06 mg/L, aber MHK <1mg/L)
- **Makrolid-Resistenz** bei ca.15%, Levofloxacin bei ca. 1 % Resistenz

Haemophilus

- Wichtigste Spezies: *H. influenzae*, *H. parainfluenzae*
- Kleine, feine, z.T. **kokkoide Stäbchen**, oft bekapselt
- Kapsel-AG: Serovare a-f, klin. bedeutendster ist **b**
- **Anspruchsvolle, hämophile Bakterien** →
- benötigen Wachstumsfaktoren, die im Blut vorkommen:
X (Hämin) und V (NAD/P)
→ von *S. aureus* produziert → **Satelliten-/Ammonphenomen**
- Wachstum auf Kochblutagar = erhitzter Blutagar → X und V aus Erythrozyten freigesetzt

Haemophilus: anspruchsvolle Kultur



Gram Färbung: *Haemophilus influenzae*



Fig. 18-6. Example of *Haemophilus influenzae* growing on chocolate agar. Notice the tan mucoid colonies characteristic of encapsulated strains.

Copyright © 2011, 2007 by Saunders, an imprint of Elsevier Inc.

Kochblut Platte, «Schoggi Platte»

Haemophilus – das Ammenphänomen



→ Freisetzung von wichtigen Nährstoffen
Aus dem Agar durch die *Staphylococcus aureus*
Vermittelte Hämolyse. Diese erlaubt dem *H. influenzae*
zu wachsen.

Haemophilus



Essentielle Faktoren für das Wachstum:
X und V- Faktor

Haemophilus influenzae

- Kolonisation der oberen Luftwege: 30-50% der Gesunden, meist mit unbekapselten Stämmen
- Infektionen gehäuft im Alter von **6 Monaten – 4 Jahre**
- **Meningitis, Sepsis**
- **Epiglottitis, Pneumonie, Otitis media, Sinusitis u.a.**
- Sehr wirksame Impfung ab 2. Lebensmonat gegen Typ b (Konjugat-Impfstoff)
- **Beim Erwachsenen**
bei Grunderkrankungen und Abwehrschwäche
 - Akute Exazerbation bei chron. Bronchitis
 - Pneumonie, evtl. als Superinfekt nach Influenza

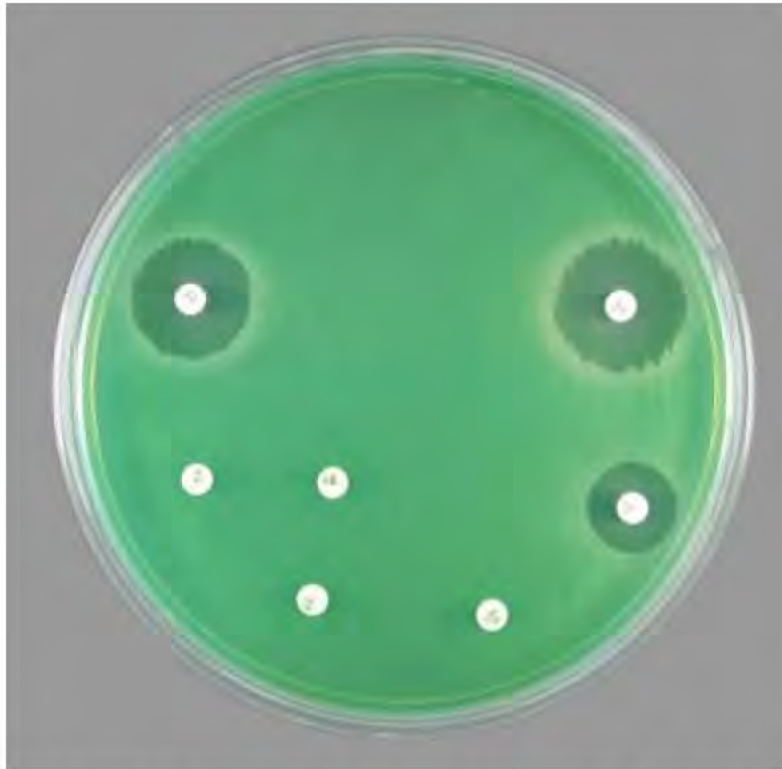
Nicht fermentierende Bakterien (non-fermenter)

- Fermentierung = Gärung. Form von enzymatischer Umwandlung von organischen Stoffen (Glucose) als Energiequelle.
- Diese Gruppe von Bakterien kann keine Fermentierung durchführen
- Beispiele
 - *Acinetobacter spp.* (z.B. *A. baumannii* -> sehr resistent)
 - *Bordetella spp.*
 - *Burkholderia spp.*
 - *Legionella spp.*
 - *Moraxella spp.*
 - *Pseudomonas spp.*
 - *Stenotrophomonas spp.*

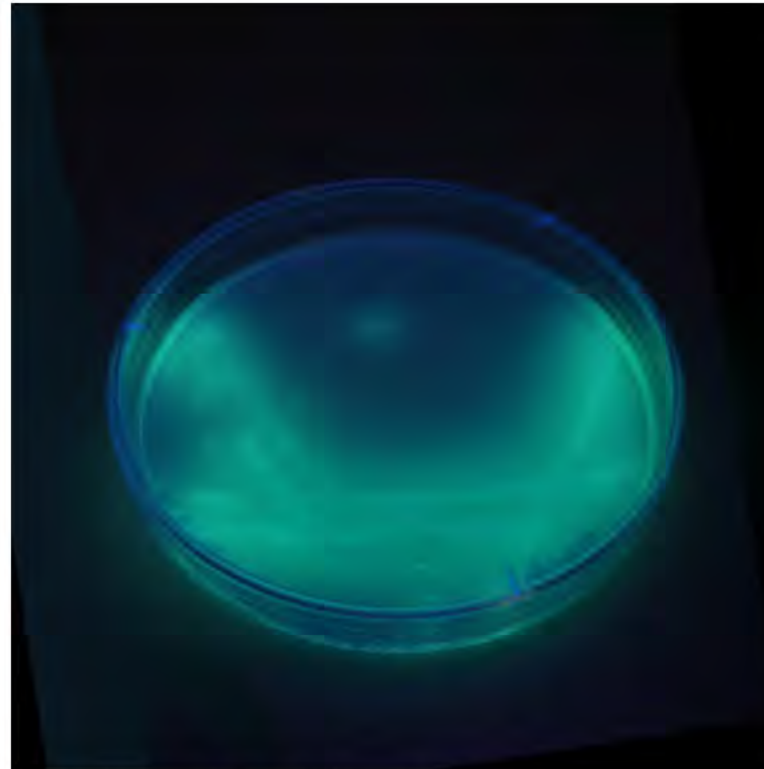
Nicht fermentierende *Pseudomonas aeruginosa*

- Nicht fermentierende Bakterien.
- **Nosokomiale Infekte** (z.B. Pneumonie auf Intensivpflegestation)
- Infektion von Brandwunden
- Otitis externa (Entzündung des äusseren Gehörganges)
- Aerobier
- **Grüner Eiter**
- Nass-/Wasserkeim
- Antibiotikaresistent, z.T. sehr multiresistent

Pseudomonas aeruginosa



Oftmals grünlich – metallische Farbe



UV induzierte Fluoreszenz
(durch Siderophoren)

Die Legionärskrankheit

The New England Journal of Medicine

©Copyright, 1977, by the Massachusetts Medical Society

Volume 297

DECEMBER 1, 1977

Number 22

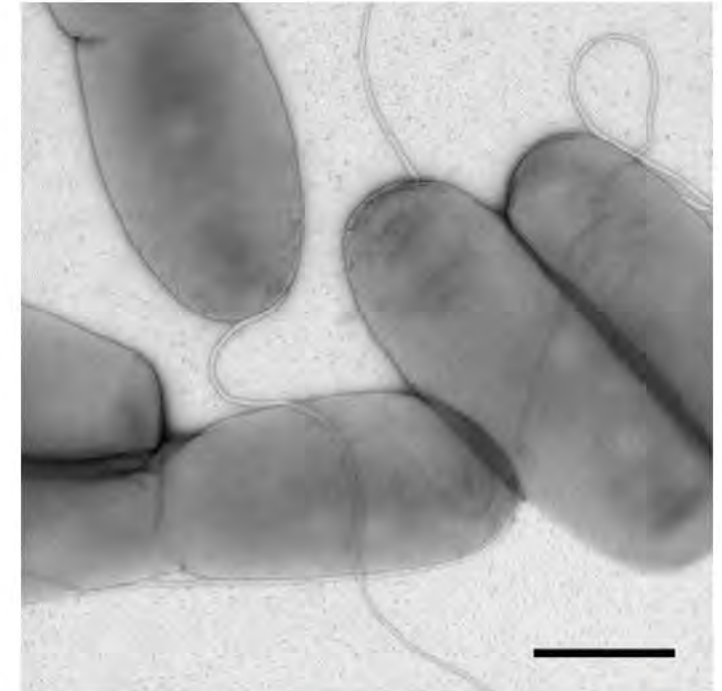
LEGIONNAIRES' DISEASE

Description of an Epidemic of Pneumonia

DAVID W. FRASER, M.D., THEODORE R. TSAI, M.D., WALTER ORENSTEIN, M.D.,
WILLIAM E. PARKIN, D.V.M., DR. P.H., H. JAMES BEECHAM, M.D., ROBERT G. SHARRAR, M.D.,
JOHN HARRIS, M.D., GEORGE F. MALLISON, M.P.H., STANLEY M. MARTIN, M.S.,
JOSEPH E. MCDADE, PH.D., CHARLES C. SHEPARD, M.D., PHILIP S. BRACHMAN, M.D.,
AND THE FIELD INVESTIGATION TEAM*

Abstract An explosive, common-source outbreak of pneumonia caused by a previously unrecognized bacterium affected primarily persons attending an American Legion convention in Philadelphia in July, 1976. Twenty-nine of 182 cases were fatal. Spread of the bacterium appeared to be air borne. The source of the bacterium was not found, but epidemiologic analysis suggested that exposure

may have occurred in the lobby of the headquarters hotel or in the area immediately surrounding the hotel. Person-to-person spread seemed not to have occurred. Many hotel employees appeared to be immune, suggesting that the agent may have been present in the vicinity, perhaps intermittently, for two or more years. (N Engl J Med 297:1189-1197, 1977)

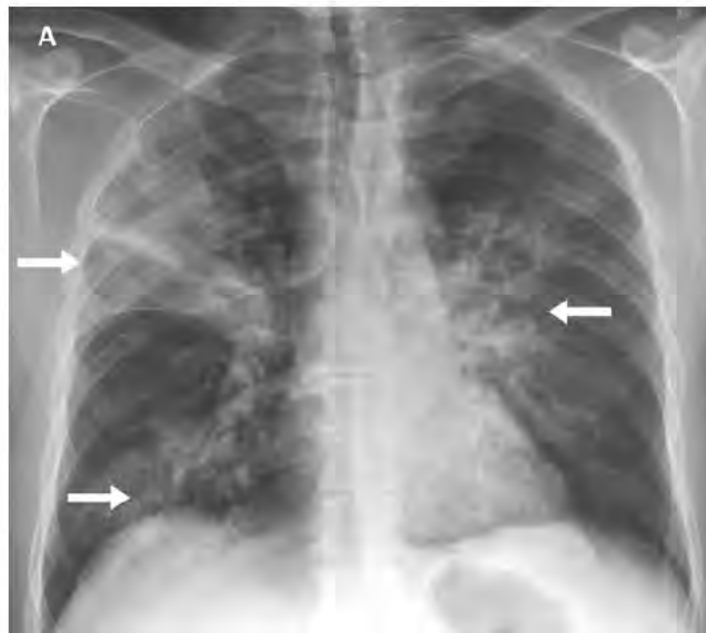


EM Aufnahme, Robert Koch Institut

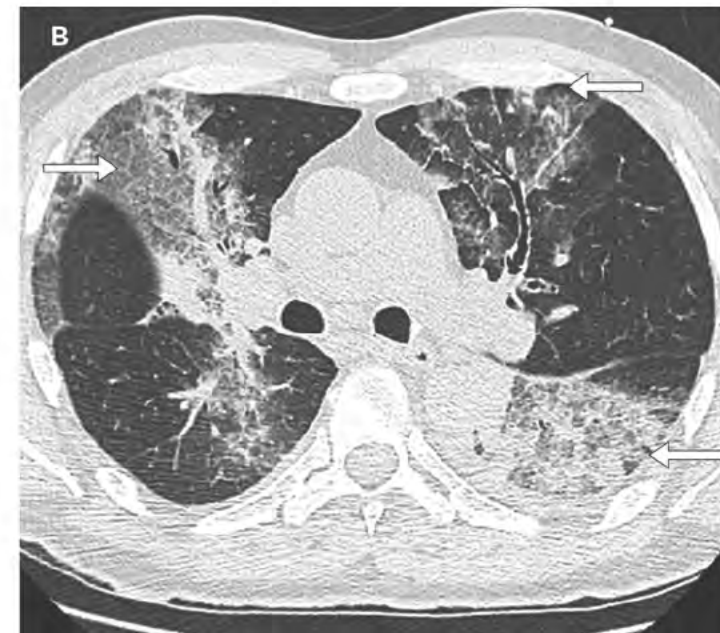


Legionellen

- Gram-negative, aerobe Stäbchenbakterien
 - mehr als 30 humanpathogene Arten sind beschrieben
 - *Legionella pneumophila* ist der wichtigste Vertreter:
 - Erreger des Pontiac Fieber
 - Erreger der Legionärskrankheit¹
- (atypische Pneumonie)**



Bilaterale und multilobuläre Lungeninfiltrate



¹ Tulbu A, Bally F, Christen G, Swiss Med Forum 2020

Legionellen

- **Natürliches Habitat:**

- Feuchtbiotope, z.B. Warm-und Kühlwassersysteme (v.a. Duschköpfe, Luftbefeuchter, Inhalationskammern, Klimaanlage, Kühltürme).
- Legionellen können Wassertemperaturen bis 50°C tolerieren; Abtötung nur durch kurzzeitige Erhitzung auf 70°C.

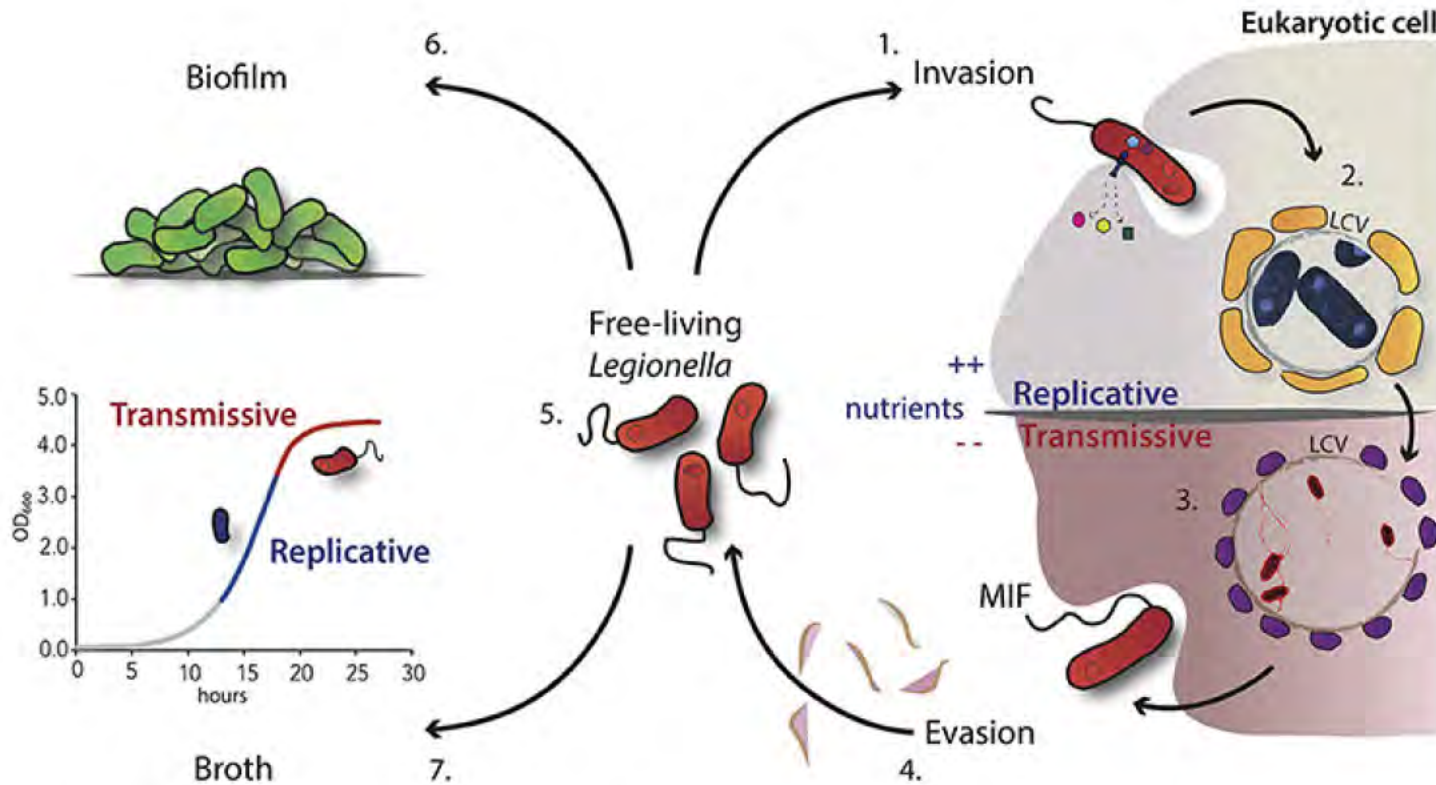
- **Natürlicher Wirt:**

- freilebende Amöben (in den Zysten der Amöben entziehen sich die Legionellen der Chloreinwirkung).
- Keine Übertragung von Mensch zu Mensch.

Intrazelluläre Bakterien!

Lebenszyklus von Legionellen

Schematischer Überblick über die morphologischen Zustände von *L. pneumophila* während seines Wachstumszyklus.



1. Aufnahme von virulentem *L. pneumophila* durch Wirtszelle, z. B. Protozoen oder Makrophagen, durch Phagozytose (Konvention oder Coiling).
2. Nach Internalisierung entgehen Bakterien der Phagosomen-Lysosomen-Fusion und beginnen mit der intrazellulären Vermehrung innerhalb des LCV.
3. Nährstoffmangel löst die Aktivierung der stringenten Reaktion und morphologische Veränderungen aus. Die Bakterien zeigen transmissive Eigenschaften wie Motilität (Geißeln) und werden zytotoxisch.
4. Diese infektiösen Bakterien sind in der Lage, die Vakuolenmembran zu lysieren und werden freigesetzt.
5. Frei lebende, übertragbare Bakterien können einen neuen Zyklus beginnen oder als planktonische Form in der extrazellulären Umgebung verbleiben.
6. Alternativ kann *L. pneumophila* in Biofilmen assoziiert sein, in Süßwasserhabitaten.
7. In Brühkulturen zeigt *L. pneumophila* ebenfalls einen biphasischen Lebenszyklus, der den replikativen und transmissiven intrazellulären Formen sehr ähnlich ist.

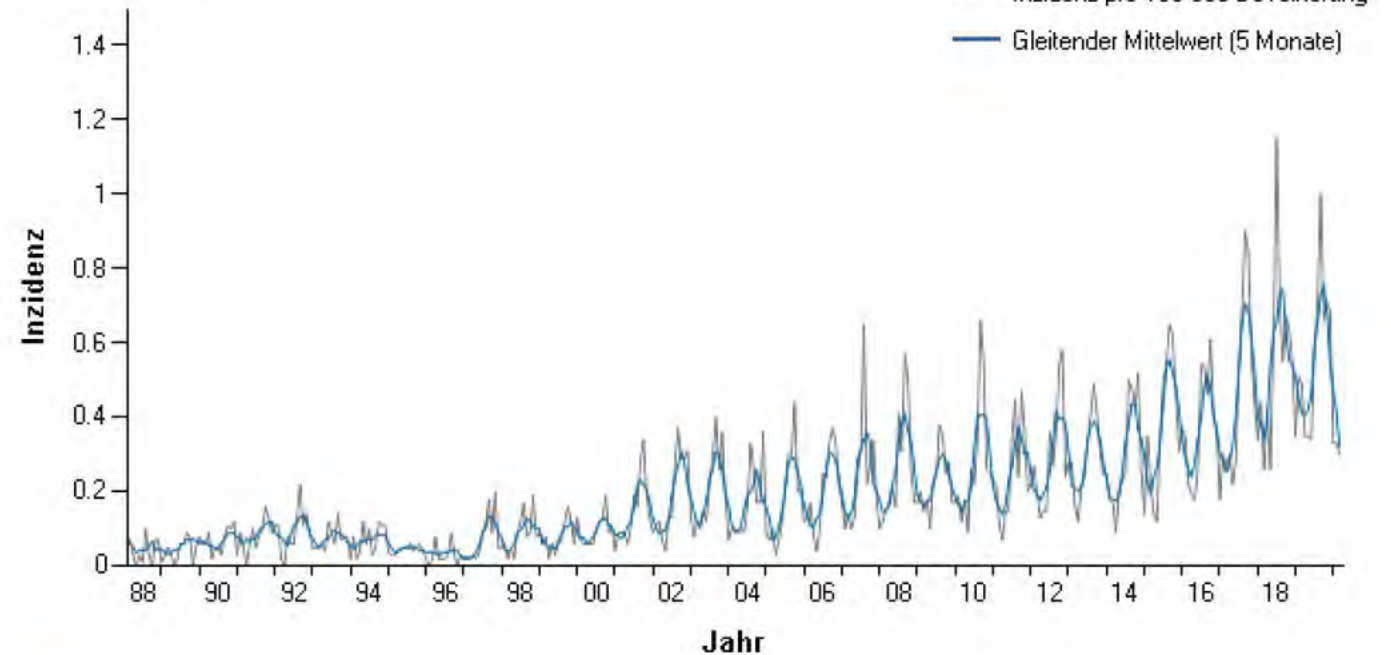
LCV Legionella containing vacuole

Olivia G, et al. Front Cell Infection Microbiology 2018

Epidemiologie

- Infektion über Aerosole
 - Keine humane Transmission
- Risikofaktoren: Alter, Immunsuppression, chronische Lungenerkrankungen, Chemotherapie

Legionellose



 BAG OFSP UFSP SFOPH

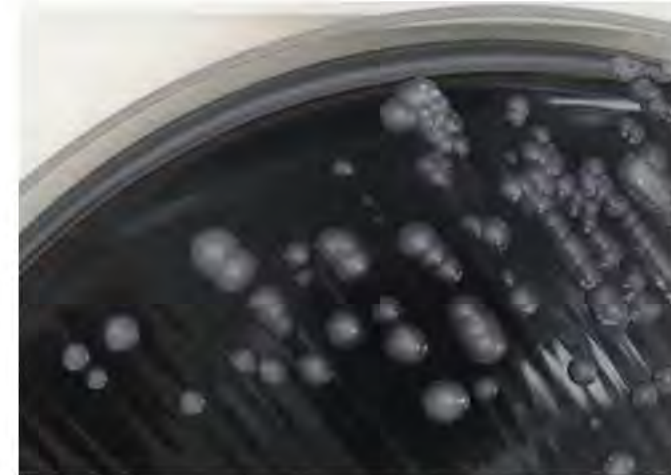
Stand 18.02.2020

Diagnostik

- Antigennachweis im Urin (verlässlich nur für *L. pneumophila*, als Screening)
 - Sensitivität 70-80%; Spezifität >99%
 - Sehr schnell und einfach durchgeführt
- PCR
 - Sensitivität 83-90%, Spezifität >99%
- (Direkte Immunfluoreszenz)
- Kultur (Spezialmedien), sollte immer versucht werden
 - Sensitivität 10-80%; Spezifität 100%



Antigen Schnelltest direkt aus dem Urin



BCYE Agarmedium



Take home message

- SARS-CoV-2 Pandemie hat die Wahrnehmung geändert
- Normalflora kann eine Quelle einer Infektion sein (**endogen**), aber viele respiratorische Infektionen werden übertragen (exogen)
- Die **Kultur-basierte Diagnostik braucht Zeit**, wenn es schnell gehen soll verwenden Sie eine PCR!
- **Was häufig ist, ist häufig:** *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*
- Nicht-fermentierende Bakterien sind oft sehr resistent und kommen auf Intensivstationen vor.
- Legionellen sind selten, betreffen fast nur ältere Leute und sind virulent...

DANKE für Ihre Aufmerksamkeit

- Kontakt:

Prof. Dr. Dr. Adrian Egli, Institut für Medizinische Mikrobiologie, Universität Zürich

- Email: aegli@imm.uzh.ch

- X: @AppliedMicrobi2
(follow me 😊)



Universität
Zürich ^{UZH}