

Erregernachweis bei CF



Patienten-Ratgeber
Mukoviszidose

Das Familienunternehmen InfectoPharm gehört zu den führenden Herstellern von Medikamenten und Gesundheitsprodukten, insbesondere für Kinder.

Für Groß und Klein entwickeln wir qualitativ hochwertige und innovative Präparate, um Ihnen die Therapie zu erleichtern und damit den Therapieerfolg zu verbessern.

Ärzte, Hebammen und Apotheker vertrauen auf die Qualität und Wirksamkeit unserer Präparate und schätzen unsere langjährige Erfahrung. Darum wird auch das umfangreiche Angebot unserer leicht verständlichen Service- und Informationsmaterialien für Patienten gerne genutzt.

Wir freuen uns sehr, wenn wir auch Sie und Ihre Familie mit diesem Ratgeber in der gegenwärtigen Situation unterstützen können und wünschen gute Besserung!

Ihre



Familie Zöllner

Liebe Patienten, liebe Eltern,

Mukoviszidose zählt zu den häufigsten angeborenen Stoffwechselerkrankungen in Europa. Eine Erkrankung, die für Patienten und deren Angehörige eine enorme Belastung darstellen kann. Glücklicherweise gelingt es der Medizin durch neue Entdeckungen und ständige Weiterentwicklungen, die Behandlungsmöglichkeiten stets weiter zu verbessern. Doch neben wirksamen Substanzen ist für den Therapieerfolg auch die Mitarbeit des Patienten entscheidend. Dazu gilt es zu verstehen, was sich hinter „Pseudomonaden“ verbirgt und warum es wichtig ist, „Antibiotika zu inhalieren“.

Um Ihnen bei diesen Fragen eine Hilfestellung zu leisten, haben wir unsere Patientenbroschüren-Serie ins Leben gerufen. Hier finden Sie fundiertes und verständlich aufbereitetes Wissen zu Erregern, welche bei Mukoviszidose häufig Beschwerden verursachen, sowie Hintergrundinformationen zum Erregernachweis und der Antibiotika-Behandlung bei Mukoviszidose.

Ihr Team von



Autorin: Prof. Dr. Gratiana Steinkamp

Redaktion: Jannis Ludwig

1. Warum wird regelmäßig nach Krankheitserregern gesucht?

Bei praktisch allen Menschen mit Mukoviszidose treten in den Atemwegen Infektionen mit Bakterien auf, welche die Lunge schädigen können. Die beiden häufigsten Erreger sind *Staphylococcus aureus* und *Pseudomonas aeruginosa*. Mukoviszidosepatienten sind besonders gefährdet, weil sie mehr Schleim in den Atemwegen bilden als gesunde Personen.



Pseudomonas aeruginosa besiedelte Lunge (3D-Animation)

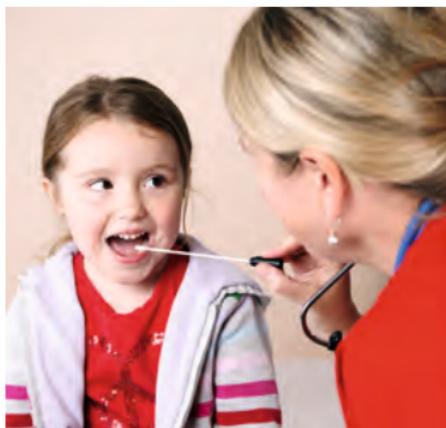
Jeder Mensch atmet regelmäßig Bakterien ein, normalerweise ohne negative Folgen für die Gesundheit. Bei Mukoviszidose jedoch arbeitet der körpereigene Reinigungsmechanismus wegen des zähen Schleims nicht effektiv genug. Daher siedeln

sich Bakterien leichter in der Lunge an, manche sogar dauerhaft über Jahre, vor allem *P. aeruginosa*.

Wenn der Arzt regelmäßig nach Krankheitserregern fahndet, kann er Infektionen früh erkennen und gezielt mit Antibiotika behandeln. Dies wirkt der Schädigung der Lunge durch bakterielle Krankheitserreger entgegen.

2. Welche Proben aus den Atemwegen werden untersucht und wie häufig sollte dies geschehen?

Sputum wird untersucht, wenn ein Patient Schleim aus den Bronchien abhusten kann, entweder spontan oder nach der Physiotherapie. Manchmal gelingt dies erst nach dem Inhalieren einer zum Beispiel 6%igen hypertonen Kochsalzlösung (induziertes Sputum). Bei Babys und Kleinkindern erfolgt ein



Rachenabstrich bei einem Kleinkind

Rachenabstrich. Dazu wird ein steriler Watte-träger tief in den Rachen eingeführt, bis das Kind hustet.

Im Einzelfall entnimmt man bei einem Patienten auch Proben im Rahmen einer Spiegelung der Bronchien (Bronchoskopie).

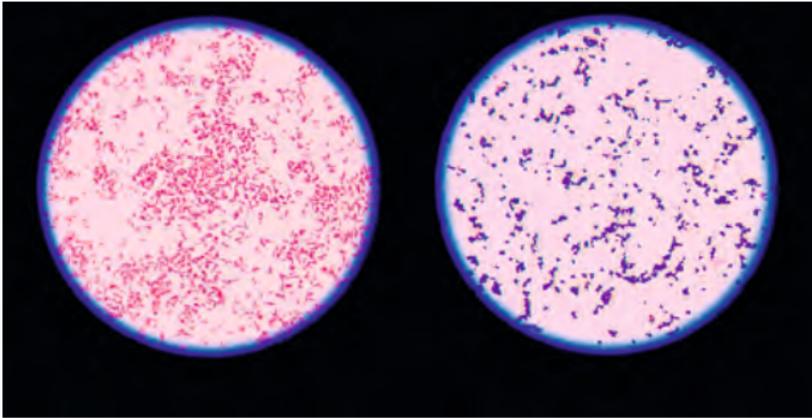
Dann werden die Bronchien mit einer Kochsalzlösung durchspült (Bronchiallavage, BAL) und ein Teil der abgesaugten Flüssigkeit zur Erregerdiagnostik ins Labor geschickt.

Deutsche Leitlinien empfehlen, junge CF-Patienten mindestens sechsmal im Jahr mikrobiologisch zu untersuchen. Davon sollen vier Proben beim Besuch in der CF-Spezialambulanz entnommen werden, der in der Regel alle drei Monate stattfindet. Für manche Patienten können auch häufigere Untersuchungen sinnvoll sein. Dann werden die Proben meist zuhause entnommen und zur Untersuchung ins Labor geschickt. Wenn aufgrund einer akuten Verschlechterung des Lungenzustands eine Aufnahme ins Krankenhaus erfolgt, wird ebenfalls nach Erregern gesucht.

3. Wie identifiziert man Krankheitserreger im Labor?

Experten haben die genauen Prozeduren zur Aufarbeitung der Proben festgelegt und in Qualitätsstandards zusammengefasst. Die Untersuchung sollte bevorzugt in Labors erfolgen, die in der CF-Diagnostik erfahren sind.

Ein Rachenabstrich oder Sputum wird häufig zunächst so aufbereitet, dass unter dem Mikroskop nach Krankheitserregern gesucht wird. Für die mikroskopische Untersuchung muss die Probe angefärbt werden (Gram-Färbung), damit die Bakterien unter dem Mikroskop besser zu erkennen sind. Man identifiziert zunächst die Gruppe, zu der das Bakterium gehört (z. B. Gram-negative Stäbchen) und schätzt die Zahl der Bakterien ab.



Gram-negative (links) und gram-positive (rechts) Bakterienkulturen

Wichtiger, da weitaus empfindlicher, ist jedoch die kulturelle Anzucht von Bakterien. Zum Anzüchten der Erreger streicht der Laborant das Untersuchungsmaterial in eine flache, runde Kunststoff-Schale mit übergreifendem Deckel aus (Petrischale, siehe Titelbild), die ein gelartiges Nährmedium (Agar) enthält. Das Medium versorgt die Bakterien mit Wasser und Nährstoffen, so dass die Erreger in der Schale unter optimalen Bedingungen wachsen und sich vermehren können. Für die gezielte Suche nach bestimmten Bakterien werden spezielle Nährmedien eingesetzt, von denen man weiß, welche Erreger auf ihnen besonders gut wachsen (Selektivnährmedien). Für Proben von Mukoviszidosepatienten werden zur Anzucht von Bakterien im Labor mehrere unterschiedliche Medien verwendet, um damit die häufigsten und wichtigsten Leitkeime zuverlässig zu erfassen.

Die Petrischalen werden hierzu bei 36 °C in einem Wärmeschrank bebrütet. Nach 24 und 48 Stunden - oder je nach

Erreger auch später - werden die Bakterienkulturen angesehen und Art und Anzahl der Erreger beurteilt. An typischen Eigenschaften wie z. B. der Wachstumsform erkennt der Mikrobiologe, um welche Erreger es sich handeln könnte.



Betrachtung verschiedener Mikrokulturen unterm Lichtmikroskop

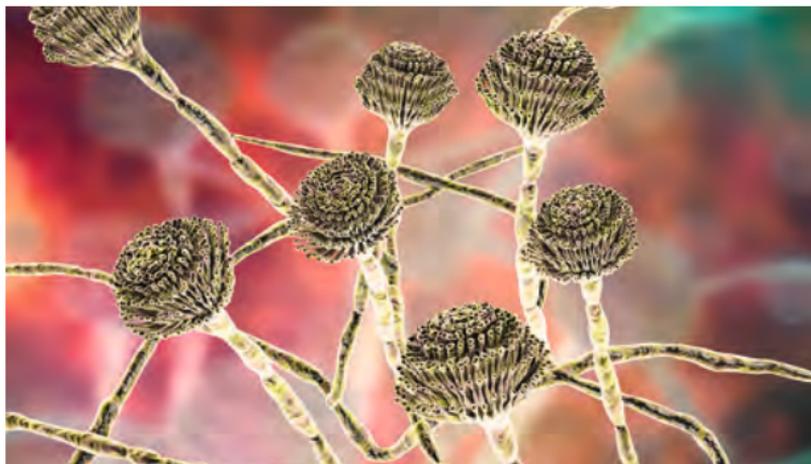
Meist sind zur genauen Identifizierung der Bakterien jedoch zusätzlich spezielle Tests notwendig (siehe auch Kap. 10).

4. Nach welchen Erregern wird bei CF gesucht?

Mit den üblichen Nährmedien werden in der Mikrobiologie sehr viele Bakterien gefunden, die die Atemwege kranker (oder auch gesunder) Personen besiedeln. Gesucht wird nach den häufigsten Krankheitserregern bei Mukoviszidose, den sogenannten „Leitkeimen“, also vor allem nach *Staphylococcus*

aureus, *Haemophilus influenzae* und *Pseudomonas aeruginosa*. Bei Pseudomonaden werden mukoide, „schleimige“ Stämme von nicht-mukoiden unterschieden. Auch bei Staphylokokken wird eine spezielle Gruppe gesondert ausgewiesen, die „Small colony variants“ (SCV), deren Kolonien besonders klein sind und die häufiger resistent gegen Antibiotika sind. Speziell bei CF ist es wichtig, auch seltenere Erreger wie *Burkholderia cepacia* nicht zu übersehen. Hier kann es erforderlich sein, die genaue Art (Spezies) innerhalb des *Burkholderia cepacia*-Komplexes exakt zu identifizieren (vgl. Teil 4 der Serie). Dazu sind einige spezielle Laboratorien besonders gut ausgerüstet.

Zur Mukoviszidose-Diagnostik gehört auch die Suche nach Pilzen wie *Candida* (Hefepilze) oder *Aspergillus* (Schimmelpilz).



Aspergillus (3D-Illustration)

Auf Viren wird normalerweise nicht untersucht.

5. Was ist ein Antibiogramm?

Das Antibiogramm informiert darüber, gegen welche Antibiotika die identifizierten Krankheitserreger empfindlich (*sensibel*) oder unempfindlich (*resistent*) sind. Man spricht auch von einer Resistenztestung oder von einem Resistogramm. Proben von Mukoviszidosepatienten werden auf ganz bestimmte Antibiotika getestet, beispielsweise Piperacillin, Ceftazidim, Meropenem, Tobramycin, Ciprofloxacin und Colistin. Auch dies ist in Qualitätsstandards festgelegt.

Es gibt verschiedene Untersuchungsmethoden, um die Antibiotika-Empfindlichkeit nachzuweisen. Häufig wird ein Hemmhof- oder Blättchentest durchgeführt. Dazu werden die Bakterienkolonien in einer Petrischale auf einem Nährboden ausgestrichen, der kleine Blättchen aus Filterpapier enthält, die wiederum mit Antibiotika getränkt wurden. Nach 24-stündiger Bebrütung wird nachgesehen, wie gut die Bakterien gewachsen sind.

Findet man um das Antibiotikum herum keine Erreger mehr, so dass ein sog. „Hemmhof“ erkennbar ist, hat das Medikament das Wachstum der Bakterien unterdrückt.

Der mikrobiologische Befund lautet, dass die Erreger sensibel gegen das Antibiotikum sind.

Bei bestimmten Fragestellungen werden auch kompliziertere Verfahren angewendet, mit denen die minimale Hemmkonzentration eines Antibiotikums (MHK) bestimmt werden kann. Damit wird die niedrigste Konzentration des Antibiotikums



Hemmhof-/Blättchentest als Antibiogramm zur Überprüfung der Sensibilität/Resistenzen auf unterschiedliche Antibiotika.

bezeichnet, bei der sich die Erreger gerade eben nicht mehr vermehren können.

Wenn im Labor Krankheitserreger angezchtet wurden und der Arzt das geeignete Antibiotikum auswählen möchte, richtet er sich meist nach dem Ergebnis des Antibiogramms. Er verordnet ein Antibiotikum, auf das die Bakterien sensibel reagiert haben.

6. Was bedeutet es, wenn Bakterien „resistent“ gegen Antibiotika sind?

Viele Bakterien sind gegenüber bestimmten Antibiotika sensibel und gegenüber anderen Antibiotika weniger gut oder gar nicht empfindlich (resistent). Diese „primäre Resistenz“ beruht auf dem Erbgut einer Bakterienart und beschreibt damit den „angeborenen Werkzeugkasten“ des Bakteriums, mit dem es den Wirkmechanismus bestimmter Antibiotika umgehen kann. Primäre Resistenzen sind bekannt. Man benötigt dazu keine Laboruntersuchungen.

Bakterien sind jedoch sehr anpassungsfähig und können Resistenzen gegenüber Antibiotika entwickeln, gegen die sie eigentlich *sensibel* reagieren. So kann es sein, dass *Pseudomonas*-Bakterien durch ein zunächst wirksames Antibiotikum, wie beispielsweise Tobramycin, plötzlich nicht mehr ausreichend im Wachstum gehemmt werden. Diese „sekundäre Resistenz“ muss daher im Labor speziell ausgetestet werden.

Gerade bei Mukoviszidose passiert es relativ oft, dass sowohl resistente als auch empfindliche Bakterien derselben Art gleichzeitig vorkommen. Die resistenten Bakterien sprechen meist nicht so gut auf eine Behandlung mit dem jeweiligen Antibiotikum an.

7. Wie lange dauert es, bis der Befund beim Arzt ankommt?

Normalerweise vergehen mehrere Tage, bis der Arzt den Befund der Erregerdiagnostik erhält. Das Untersuchungsmaterial muss zunächst ins Labor befördert werden. Das dauert häufig einen Tag, vor allem dann, wenn die Proben per Post verschickt werden müssen. Bis der Laborarzt das erste orientierende Ergebnis der kulturellen Anzuchtung ablesen kann, vergehen mindestens zwei weitere Tage.



Sowohl das Isolieren der Erreger als auch das Antibiogramm brauchen je einen Tag Zeit. Werden spezielle Untersuchungen durchgeführt, kann es sogar noch länger dauern. Diese Zeitverzögerung ist dann problematisch, wenn es einem Patienten akut schlecht geht. In solchen Fällen greift man für die Auswahl des Antibiotikums auf den letzten verfügbaren Befund zurück.

8. Wie hilft das Laborergebnis bei der Behandlung?

Bei der Verordnung des Antibiotikums berücksichtigt der Arzt das Ergebnis der Erregerdiagnostik. Meist spricht der Patient auch gut auf eine so begründete Behandlung an.

Es kann aber durchaus vorkommen, dass trotz optimal geplanter Antibiotikatherapie die Behandlung nicht zufriedenstellend wirkt. Bei *Pseudomonas*-Infektion besteht eine mögliche Ursache darin, dass die Bakterien sich in den Atemwegen in so genannten Biofilmen zusammenlagern. Dann sind zur Abtötung der Bakterien sehr viel höhere Antibiotika-Konzentrationen erforderlich als ohne Biofilm. Bei der üblichen Routinetestung wird das Wachstum in Biofilmen jedoch nicht berücksichtigt.

Bei manchen Patienten stellt sich erst einige Tage nach Behandlungsbeginn heraus, dass das verabreichte Antibiotikum laut Antibiogramm nicht optimal gegen die Krankheitserreger wirkt. Trotzdem kann es sein, dass der Patient bereits von der Behandlung profitiert hat. Antibiotika töten nämlich nicht nur Bakterien ab, sondern können auch deren Produktion von Giftstoffen (Toxinen) stören. So kommt es vor, dass die Dosierung eines Antibiotikums zwar zu gering ist, um das Bakterienwachstum zu hemmen (Antibiogramm „resistent“), aber hoch genug ist, um die Produktion schädlicher Giftstoffe zu unterdrücken oder die Bildung von Biofilmen zu verringern. Infolgedessen kann die Antibiotikabehandlung beim Patienten wirken, selbst wenn das Antibiogramm Resistenzen anzeigt.

9. Wie verlässlich sind die Testergebnisse?

Bei der Mehrzahl der Proben mit „üblichen“ Erregern bei Mukoviszidose sind die Testergebnisse verlässlich. Labore unterziehen sich ständig Qualitätsüberprüfungen, um sicherzustellen, dass ihre Arbeitsabläufe zu korrekten Ergebnissen führen (Ringversuche). Die Situation bei Mukoviszidose ist jedoch besonders komplex, da es hier um viele verschiedene, teilweise schwer zu identifizierende Krankheitserreger und Resistenzvarianten geht.



Dies stellt hohe Anforderungen an das mikrobiologische Labor. Speziell für Mukoviszidose-Bakteriologie wurde 2017 ein Konsiliarlabor an der Universitätsklinik in Frankfurt/ Main eingerichtet, das behandelnde Ärzte berät und in speziellen Fällen aufwändige Diagnostik durchführen kann.

10. Welche neuen Entwicklungen gibt es?

Mit den oben beschriebenen Methoden wie der Bakterienkultur entdeckt man im mikrobiologischen Labor wichtige Krankheitserreger. Dabei betrachtet man aber nur einen winzigen Ausschnitt der gesamten Situation, vergleichbar mit dem „Leuchten einer Taschenlampe in einem dunklen Zimmer“. Aktuelle Forschungsergebnisse zeigen, dass viel mehr und sehr unterschiedliche Mikroorganismen vorhanden sind, wenn man mit neuen Techniken danach sucht:

Der genetische Fingerabdruck

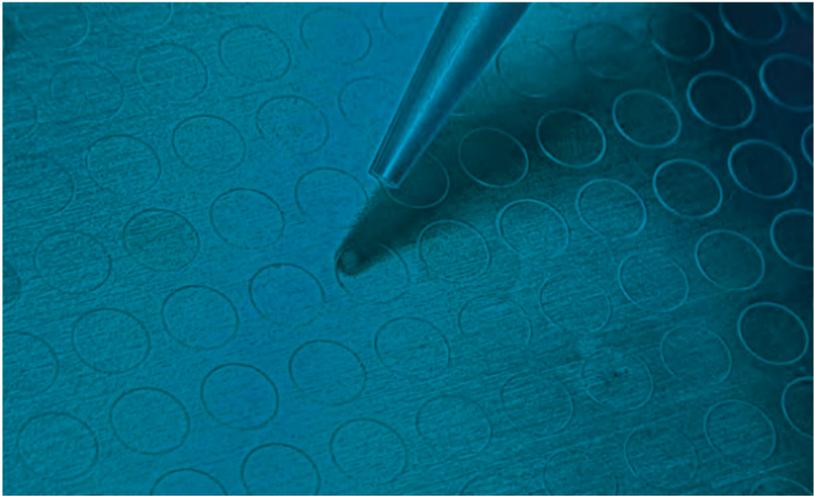
Methoden zur Analyse des „genetischen Fingerabdrucks“ sind sehr leistungsfähig. Mit ihnen „beleuchtet man“ gewissermaßen „den gesamten Raum“ und entdeckt dadurch viel mehr Kleinstlebewesen als mit der Bakterienkultur.

Das zugrundeliegende Prinzip ist, im Erbgut (DNA) der Bakterien nach bestimmten Bausteinen (Nukleinsäuren) zu suchen und ihre Reihenfolge (Sequenz) zu bestimmen. Denn jeder Organismus ist durch eine einzigartige Nukleinsäure-Sequenz charakterisiert. Durch den Vergleich der gefundenen Sequenzen mit Referenz-Sequenzen, die man in einer Gen-Datenbank hinterlegt hat, identifiziert man die Erreger.

Besonders häufig wird das Gen 16S-rDNA zur Analyse verwendet. Es beinhaltet den über eine spezifische Sequenz codierten „Bauplan“ für die „Eiweiß-Fabriken“ der Zelle, die Ribosomen.

Der molekulare Fingerabdruck

Ein neueres, leistungsfähiges Verfahren ist die MALDI-TOF Technik („Matrix-unterstützte Laser-Desorption-Ionisierung mit Flugzeitanalyse“). Sie analysiert nicht den genetischen, sondern den „molekularen Fingerabdruck“ der Erreger. Dabei sind es meist die Ribosomen, anhand derer man den jeweiligen Erreger durch einen Abgleich mit einer großen Datenbank überführen kann.



MALDI-TOF Probenvorbereitung

MALDI-TOF kommt mit winzigen Mengen von Bakterienkulturen aus. Nach dem Einbringen der Probe in das Analysegerät werden die Moleküle mit Hilfe von Laserstrahlen explosionsartig ionisiert und in elektrischen Feldern zum Fliegen gebracht. Aus den Flugzeiten im Flugrohr wird dann abgeleitet, um welche Mikroorganismen es sich handelt.

Faszinierend ist die Schnelligkeit der Analyse: pro Keim-Identifizierung dauert das Verfahren nur 2 Minuten. Daher liegt dem Arzt meist schon am Folgetag ein vollständiger mikrobiologischer Befund vor.

11. Was versteht man unter einem Mikrobiom?

Wenn man unterstützt durch immer leistungsfähigere Techniken sorgfältig sucht, findet man am und im Körper des Menschen unzählige Kleinstlebewesen wie Bakterien, Pilze oder auch Viren. Vor allem dort, wo der Körper mit der Außenwelt in Verbindung steht, profitiert der menschliche Organismus von solchen „Ökosystemen“.

Man schätzt, dass es 10mal mehr Mikroorganismen am



menschlichen Körper gibt als Körperzellen, und dass alle Mikroben zusammen genommen ein Gewicht von 1 bis 2 kg haben. Die Gesamtheit der nicht-menschlichen DNA (Erbsubstanz) und der Mikroben, die man in bestimmten Körperregionen findet, wird als Mikrobiom bezeichnet.

Schon seit Jahrzehnten bekannt sind die bakterielle Darmflora im Dickdarm oder die Mundflora, die für die Entstehung von Karies eine Rolle spielt. Inzwischen haben Forscher entdeckt, dass ehemals als „steril“ bezeichnete Körperstellen ebenfalls Mikrobiome beherbergen.

12. Beherbergt auch die gesunde menschliche Lunge ein Mikrobiom?

Mit den neuen Methoden findet man auch in der Lunge gesunder Menschen Bakterien und Pilze. Überraschend waren die Arten (Spezies) der Bakterien, von denen man viele gar nicht in der Lunge vermutet hatte. Bei Lungenerkrankungen wie Mukoviszidose werden diese Bakterien durch andere Erreger verdrängt. Insgesamt ist das Mikrobiom der Lunge bei Erkrankten äußerst komplex und seine Erforschung methodisch anspruchsvoll.

13. Was bedeutet dies für die Befunde bei Mukoviszidose?

Obwohl auch gesunde Lungen ein Mikrobiom beherbergen, bestehen deutliche Unterschiede zu kranken Lungen: Bei lungenkranken Menschen sind viel mehr Erreger und auch ganz andere Bakteriengesellschaften zu finden als bei Gesunden. Zusätzlich können in verschiedenen Regionen der Lunge eines Patienten unterschiedliche Lebensgemeinschaften bestehen.

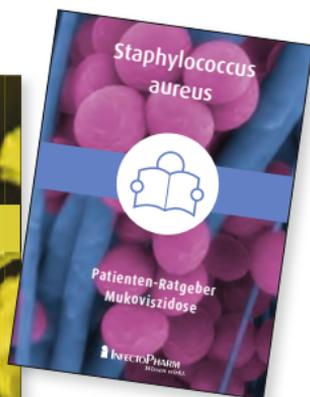
Oft unterscheidet sich auch die Artenvielfalt. So haben relativ gesunde Betroffene mit Mukoviszidose in der Lunge eine größere Artenvielfalt als schwerkranke Patienten. Mit zunehmendem Schweregrad der Erkrankung findet man häufiger anaerobe Bakterien, die ohne Sauerstoff wachsen können. Zudem beeinflussen sich die Bakterien gegenseitig, mit günstigen oder auch ungünstigen Folgen für den Wirt. So kann die Bakteriengesellschaft die chemische Zusammensetzung des Sputums beeinflussen und mit dem Immunsystem zusammenspielen. Diese und andere Mechanismen können die Wirksamkeit einer Antibiotikatherapie beeinflussen.

Jede Person mit Mukoviszidose trägt in ihrer Lunge ein individuelles Mikrobiom. Es bleibt über Monate stabil. Selbst nach kurzfristiger Antibiotikatherapie kehrt es meist in den vorigen Zustand zurück. Erst nach intensiver und lang andauernder Antibiotikatherapie wurde eine verringerte Artenvielfalt beobachtet. Bei einer akuten Verschlechterung der Lungenerkrankung fanden Forscher im Mikrobiom zwar einen größeren Anteil von anaerob wachsenden Bakterien, doch war die Veränderung des Mikrobioms insgesamt gering. Die Bakterienlast nahm nicht wesentlich zu, und auch die Artenvielfalt änderte sich kaum.

Derzeit wird intensiv erforscht, welche Konsequenzen sich aus diesen ersten Erkenntnissen für die betroffenen Patienten und deren Behandlung ergeben. In der CF-Routineversorgung spielt die Mikrobiom-Diagnostik bisher keine Rolle.

Weitere Ratgeber

Neben unserer Ratgeber-Reihe zu wichtigen Erregern der Mukoviszidose bieten wir Ihnen weitere Ratgeber zu den unterschiedlichsten Themenbereichen an. Fragen Sie Ihren Arzt oder Apotheker.



Mein Merktzettel



CF

7

Hinweis: Der Inhalt dieser Broschüre dient ausschließlich der Information und kann keinesfalls die ärztliche Beratung ersetzen. Bei speziellen Fragen suchen Sie bitte den Arzt auf.

InfectoPharm Arzneimittel und Consilium GmbH

Von-Humboldt-Str. 1 · 64646 Heppenheim · www.infectopharm.com

 **INFECTOPHARM**
Wissen wirkt.