

Optische und Elektronenmikroskopische Detektion – Erregerschnelldiagnostik, hochauflösende Lichtmikroskopie und Live-Cell-Imaging

BÖRRIES BRANDENBURG, MIRIAM V. BUJNY,
HANS R. GELDERBLOM

Visualisierung des intrazellulären Transports von Pathogenen

BÖRRIES BRANDENBURG, MIRIAM V. BUJNY

Einleitung

Die Kombination aus Zellbiologie und Mikrobiologie hat mit der Zellulären Mikrobiologie eine neue Disziplin geschaffen, deren primäres Ziel die Erforschung des Zusammenspiels von Wirt und Erregern auf der Ebene des Gewebes, der Zelle und letztlich von einzelnen Molekülen ist. Die Entschlüsselung dieser dynamischen Interaktionen erlaubt ein tiefgreifendes Verständnis von Infektionsmechanismen sowie zellulärer Logistik und bereitet damit den Weg für die Entwicklung wirkungsvoller Therapeutika.

Ob Influenzaviren, die Zellen der Atemwege infizieren, oder *Salmonella*-Bakterien, die in Epithelzellen des Dickdarms eindringen: Erreger nutzen und modifizieren im Laufe ihres Lebenszyklus körpereigene Transportwege und -mechanismen. Diese umfassen sowohl makroskopische Transportwege, wie den Blut- und Lymphkreislauf, als auch intrazelluläre Transportrouten innerhalb individueller Zellen. Als intrazellulärer Transport wird dabei die aktive und koordinierte Bewegung von Lasten zwischen zellulären Kompartimenten, den Organellen, bezeichnet. ► Abb. 1 veranschaulicht, wie Erreger mit Hilfe des Zytoskeletts entweder frei oder in Transportvesikeln eingeschlossen in die Zelle eindringen (Endozytose), sich in ihr replizieren und anschließend wieder aus der Zelle geschleust werden (Exozytose).

Das Studium dieser dynamischen Prozesse setzt Technologien voraus, die es erlauben, Infektionen in Raum und Zeit in größtmöglichem Detail darzustellen. Moderne fluoreszenzmikroskopische Methoden bieten die Möglichkeit, Lebenszyklen von Erregern in lebenden Wirtszellen mit hoher Präzision und in Echtzeit zu beobachten. Die technischen Grundlagen, Materialien und Anwendungen dieser Technologien sollen in diesem Essay erläutert werden.

Methodenübersicht

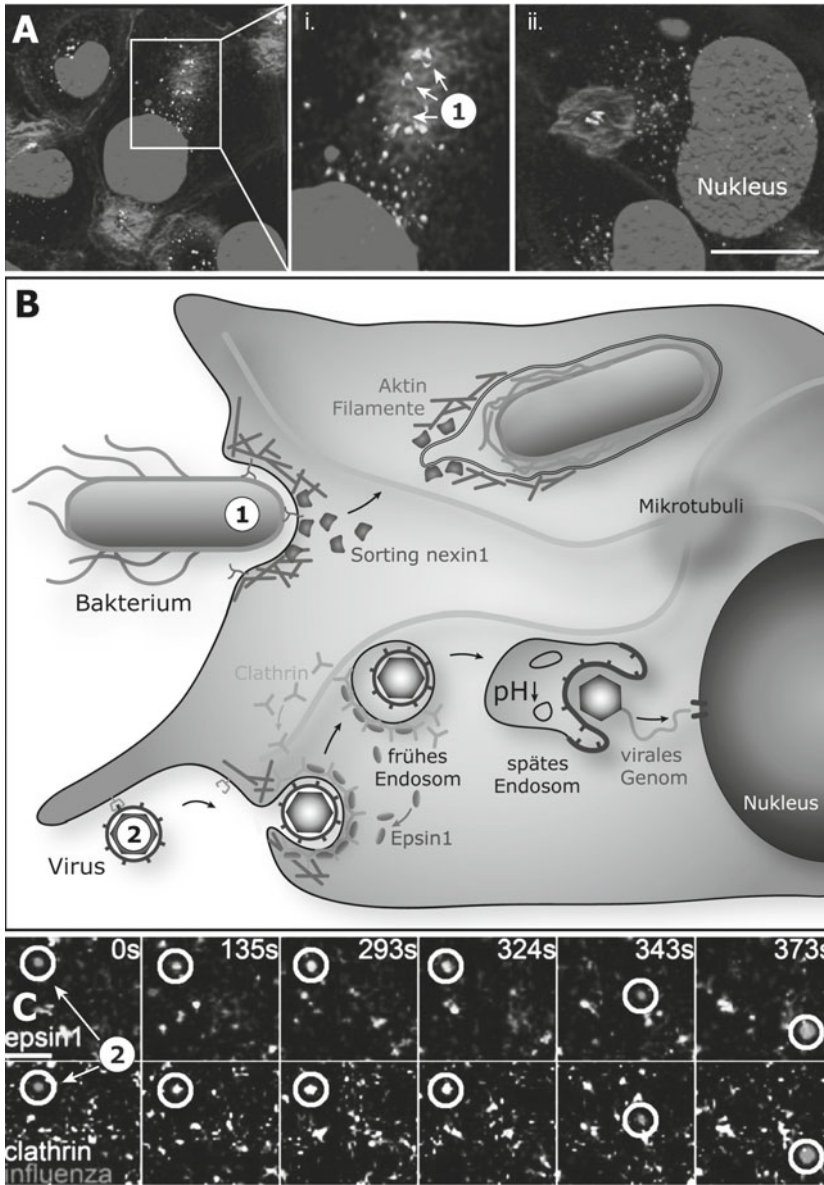
Zur Visualisierung der Wechselwirkung von Wirt und Erreger können je nach spezifischer Fragestellung sowohl Licht- als auch Elektronenmikroskopie (EM) eingesetzt werden. EM wird traditionell dort bevor-

zugt, wo hohes räumliches Auflösungsvermögen von wenigen Nanometern benötigt wird, um Strukturen sichtbar zu machen (► Elektronenmikroskopie). Die technischen Modalitäten (Wasserfreiheit und Vakuum), sowie die nötigen Fixierungsschritte des Präparats unterbinden prinzipiell jedoch eine dynamische Visualisierung. Lichtmikroskopie im Allgemeinen und Fluoreszenztechniken im Speziellen bieten hier die Möglichkeit der dynamischen, multifarbig- und minimal invasiven Visualisierung. So können in lebenden Zellen mit Hilfe von verschiedenfarbigen Fluorophoren mehrere Strukturen gleichzeitig sichtbar gemacht oder durch genetisch kodierte Fluoreszenzproteine Zielstrukturen mit hoher Spezifität markiert und verfolgt werden. Im Folgenden sollen zunächst die Eigenschaften verschiedener Fluoreszenzproben und deren Vor- und Nachteile besprochen werden. Weiterhin werden der technische Aufbau und spezielle Anwendungsbeispiele erläutert.

Fluorophore

Die Schlüssel zum Erfolg der Fluoreszenzmikroskopie sind neben hochwertigen optischen Instrumenten und komplexer Analysesoftware vor allem die Fluorophore, mit denen verschiedene molekulare Ziele parallel und in vier Dimensionen (Raum und Zeit) detektiert werden können. Wie aus ► Tab. 1 hervorgeht, sind mittlerweile Fluoreszenzproben für den gesamten Spektralbereich (350–800 nm) entwickelt worden. Sie werden in fluoreszierende Proteine, Fluoreszenzfarbstoffe und fluoreszierende Nanopartikel gruppiert. Ihnen gemeinsam ist der Funktionsmechanismus: die Fluoreszenzanregung erfolgt durch die Absorption von Photonen des Lichts einer bestimmten Wellenlänge, die das Molekül in einen angeregten Elektronenzustand versetzen; dieser Anregung folgt dann – durch den Übergang des Elektronensystems in einen Zustand niedrigerer Energie – die Emission von Licht längerer Wellenlänge.

Bei der Wahl des geeigneten Fluorophors spielen mehrere Faktoren eine Rolle: 1) Spektralbereich: die Absorptions- und Emissionswellenlängen sind nicht nur entscheidend für den technischen Aufbau des Experiments (Lichtquelle und optische Bauteile), sondern ermöglichen bei Vermeidung von spektraler Überlappung auch die Nutzung verschiedener Fluorophore in einem Mehrfarben-Experiment (► Abb. 1). 2) Intensität: die Helligkeit eines Fluorophors ist entscheidend für die erfolgreiche Detektion. Intensität ist das Produkt aus dem Absorptionsvermögen (Extinktionskoeffizient) und der Anzahl an Lichtquanten, die ein einzelnes Molekül nach Anregung abzugeben vermag. Je größer die Intensität, umso größer theoretisch der zu erzielende Kontrast. 3) Photostabilität: diese beschreibt die Anzahl der Anregungszyklen (als Intensitätsverlust über die Zeit), die ein Fluorophor unbeschadet durchlaufen kann und bestimmt somit die maximale



■ **Abb. 1.** Beispiele für den zellulären Transport von Pathogenen. A) *Salmonella*-Bakterien (1, Blau) rekrutieren beim Eindringen in die Zelle das GFP-markierte Zellprotein Sorting Nexin-1 (Grün) und induzieren die Veränderung des kortikalen Aktin-Zytoskeletts (Rot), Größenstandard = 10 µm. Quelle: Bujny et al. 2008; reproduziert mit Genehmigung des Journal of Cell Science. B) Schematische Darstellung einer eukaryotischen Zelle, die mit *Salmonella*-Bakterien (1) und Influenzaviren (2) infiziert ist. C) Einzelbilder eines Lebendzell-Infektionsfilms mit Influenzaviren (2, Rot). Mit fortschreitender Zeit (Sekunden) rekrutiert der eindringende Virus das mit Fluoreszenzprotein (FP) fusionierte Zellprotein Epsin-1 (Grün, obere Bildreihe) sowie das FP-markierte Clathrin (Cyan, untere Bildreihe); der Virus wird anschließend ins Innere der Zelle transportiert und löst sich dabei von der Clathrin- sowie Epsinhülle und fusioniert schließlich mit endosomalen Membranen im Zellinnern, was zu einer Verstärkung des Signals führt („*dequenching*“, letztes Bild). Größenstandard = 2.5 µm (Quelle: Chen und Zhuang 2008, mit freundlicher Genehmigung des Verlags. Eine farbige Version der Abbildung finden Sie auf der beiliegenden CD und im Web unter www.springer.de/978-3-642-17157-4).

Tab. 1. Eigenschaften ausgewählter Fluorophore

Name	Gruppe ¹	Abs/Em (nm) ²	Kommentar
DAPI	FF	345/455	DNA/RNA, Zellkernfärbung; oder Hoechst 33258 und 33342
Qdot 565	NP	405/565	Bei gleicher Absorption emittieren Qdots verschieden: je größer, um so mehr rot-verschoben (langwelliger); Hersteller: Life Technologies
Qdot 800	NP	405/800	Hersteller: Life Technologies
AmCyan1 (Zyan)	FP	433/475	Hersteller: Clontech
eGFP (Grün)	FP	488/507	Alternativ dazu Emerald oder AcGFP1 = heller und fotostabiler
Fluorescein	FF	494/521	pH-abhängige Absorption und Emission (pH5–9)
Alexa Fluor 488	FF	499/520	Hersteller: Life Technologies
Calcium Green-2	FF	503/536	100-fach intensiver, wenn Kalziumionen gebunden sind
eYFP (Gelb)	FP	514/527	Schwaches Dimer
Syto82	FF	540/560	Interkaliert spezifisch in RNA Sekundärstrukturen
Cy3B	FF	558/572	Hersteller: GE Healthcare
tdTomato (Rot)	FP	554/581	Tandem Dimer (td), sehr hell; Hersteller: Clontech
mCherry	FP	587/610	Monomer (m), reift sehr schnell; Hersteller: Clontech
DiD	FF	644/665	Lipophiles Carbocyanine für Membranfärbung
Atto 647N	FF	644/669	Hersteller: Atto-Tec
DyLight 800	FF	777/794	Hersteller: Thermo Fischer

¹ FP = fluoreszierendes Protein, FF = Fluoreszenzfarbstoffe, NP = Nanopartikel;

² Wellenlängen der Absorption und Emission; Quelle: <http://flowcyt.salk.edu/fluo.html>.

Dauer eines Experiments. Die Zerstörung eines Fluorophors, die oft durch die Reaktion mit Sauerstoffradikalen verursacht wird und den Verlust der Fluoreszenz zur Folge hat, wird als Fluoreszenzlöschung (*photobleaching*) bezeichnet.

Die Eigenschaften von Fluorophoren, wie beispielsweise die Absorptions- und Emissionswellenlänge, die Intensität und die Photostabilität, können durch die Nähe zu Proteinen oder anderen Fluorophoren, sowie die Konzentration von Protonen (pH-Wert), Ionen oder Sauerstoff beeinflusst werden. Die Lebenszeit von Fluorophoren kann dabei durch Reduktion von Sauerstoffradikalen mittels Sauerstoff-bindender Systeme (*oxygen scavenging systems*) drastisch erhöht werden. Die Sensitivität einzelner Fluorophore ihrer unmittelbaren Umgebung gegenüber kann zudem gezielt

ausgenutzt werden, um in lebenden Zellen den pH Wert (pH-sensitive Fluorophore) oder die Konzentration einzelner Ionen (z. B. Ca^{2+} , Cl^-) sichtbar zu machen. Auch die unmittelbare räumliche Nähe zu anderen Fluoreszenzmolekülen kann elegant in funktionellen Experimenten genutzt werden: zum einen kann die durch Nähe induzierte Fluoreszenzunterdrückung (*self-quenching*) zur Untersuchung viraler Fusion mit endosomalen Strukturen dienen (Chen und Zhuang 2008); zum anderen kann ein Energietransfer zwischen eng benachbarten Molekülen als Hinweis für die direkte Interaktion zweier Moleküle gedeutet werden (siehe auch Förster – Resonanzenergietransfer, FRET). Beispiele dazu werden im Folgenden erläutert.

1. Fluoreszierende Proteine

Die Entdeckung und Nutzung von fluoreszierenden Proteinen (FP) haben die Methoden und Erkenntnisse der Zellbiologie revolutioniert (Nobelpreis in Chemie 2008 für Shimomura, Chalfie and Tsien); sie haben ihren Ursprung im grün-fluoreszierenden Protein (GFP), welches 1962 aus der Qualle *Aequorea victoria* isoliert wurde. Seither wurden zahlreiche weitere Varianten aus verschiedenen Organismen beschrieben und die Palette des Weiteren durch gezielte Mutationen der ursprünglichen FP bereichert. Die Struktur des GFP-Molekül gleicht einem 3×4 nm großen Fass (~ 27 kDa) mit einer zentralen Helix, die den aus drei Aminosäuren bestehenden fluoreszierenden Chromophor enthält. FP können genetisch mit Proteinen der Wirtszelle oder eines Erregers kombiniert und in Zellen exprimiert werden. Die räumliche und zeitliche Verteilung von fluoreszenzmarkierten Proteinen kann so direkt in lebenden Zellen, Geweben oder Organismen beobachtet werden. Durch die Kombination von FP mit unterschiedlichen Absorptions- und Emissionsspektren können Kollokalisierungen von Wirtspoteinen und Erregern untersucht werden und molekulare Interaktionsstudien, zum Beispiel mittels FRET, durchgeführt werden. Die Palette der Anwendungen wird durch irreversible und reversibel photoaktivierbare und photokonvertierbare FP abgerundet (Huang et al. 2009). Durch Bestrahlung mit Licht einer bestimmten Wellenlänge können diese FP entweder zwischen einem fluoreszierenden und einem nicht-fluoreszierenden Zustand umgeschaltet werden, oder die Wellenlänge des emittierten Lichtes kann ins Rot verschoben werden. Experimentell kann mit Hilfe solcher FP beispielsweise die Dynamik einzelner Proteine untersucht werden: dabei kann eine Population von Proteinen in einem bestimmten Teil der lebenden Zelle entsprechend aktiviert oder konvertiert werden und anschließend spezifisch orts- und zeitaufgelöst verfolgt werden. Eine weitere Anwendung für diese Art der FP ist die hochauflösende Fluoreszenzmikroskopie jenseits der Abbe'schen Beugungsgrenze, die auch als „Nanoskopie“ bezeichnet wird (► Hochauflösende Fluoreszenzmikroskopie).

2. Fluoreszenzfarbstoffe

Im Allgemeinen sind organische Fluoreszenzfarbstoffe (FF) heterozyklische, planare und konjugierte Molekülsysteme, deren delokalisierte π -Elektronen abhängig von der Molekülstruktur und Umgebung durch Licht einer bestimmten Wellenlänge angeregt werden können. Verglichen mit FP sind organische Fluophore nicht nur kleiner (< 2 nm), sondern besitzen auch generell höhere Extinktionskoeffizienten, d. h. größere Helligkeit und Quantenausbeute. Sie eignen sich daher besonders, um Antikörper, Lipide oder Erreger direkt zu markieren. Eine Fülle von FFs unterschiedlichster Spezifikationen ist kommerziell erhält-

lich, und die Bandbreite erstreckt sich über den gesamten Spektralbereich (siehe ausgewählte Beispiele in ► Tab. 1. Da mit FF markierte Antikörper nicht zellpermeabel sind, ist die spezifische Anfärbung von Epitopen innerhalb von lebenden Zellen nicht trivial. Einen Ausweg stellt die Entwicklung zellpermeabler FF und ihre enzymatischen Kopplung an genetisch minimal veränderte Zielproteine dar (Fernández-Suárez et al. 2008).

3. Fluoreszierende Nanopartikel

Fluoreszierende Quantenpunkte (auch Halbleiter-Nanopartikel oder *quantum dots*, QD, genannt) bieten sich durch ihre einzigartigen photophysikalischen Eigenschaften als langlebige und hochempfindliche Markierungen in der Fluoreszenzmikroskopie an. Charakteristisch für QD sind hohe Quantenausbeuten, extrem hohe Photostabilität und ein größenabhängiges Emissionsspektrum. Letztere Eigenschaft ermöglicht es, QD mit unterschiedlicher Fluoreszenz aus demselben Material durch Variation des Durchmessers anzufertigen. Anders als bei FP und FF, deren Anregung in einem engen Spektralbereich erfolgen muss, zeichnen sich QD durch breite Absorptionsbanden aus. QD unterschiedlicher Größe lassen sich daher parallel mit einer gemeinsamen Wellenlänge anregen, können dann aber aufgrund unterschiedlicher Emissionswellenlängen spektral voneinander getrennt werden. Nachteilig wirken sich ihr vergleichsweise großer Durchmesser (> 10 nm) und die zelltoxischen Eigenschaften aus; letztere können durch das Umhüllen der QD mit biokompatiblen Oberflächen verhindert werden.

Strategien zur Fluoreszenzmarkierung von Erregern und zellulären Strukturen

1. Immunofluoreszenz

Zur Detektion von Erregern in fixierten Geweben und Zellen eignen sich die direkte und indirekte Immunfluoreszenz (IF). Bei direkter Detektion werden spezifische, fluoreszenzmarkierte primäre Antikörper, die virale oder bakterielle Proteine beziehungsweise zelluläre Strukturen erkennen, eingesetzt. Neben Antikörpern werden häufig auch fluoreszenzmarkierte Markermoleküle eingesetzt, die spezifisch für bestimmte biologische Strukturen sind: für Nukleinsäuren (wie z. B. in Zellkernen, aber auch Erregern) DAPI oder Hoechst-Farbstoffe (► Tab. 1); für aktinreiche Strukturen fluoreszenzmarkiertes Phalloidin; für Mitochondrien z. B. Rhodamine, TMR, MitoTracker[®]; für das Endoplasmatische Retikulum z. B. DiOC₆, Dapoxyl[™]-Farbstoffe oder Glibenclamid-BODIPY[™] und für Membranen z. B. die Carbocyanine DiI, DiO, DiD, DiR oder Octadecylrhodamine B (R18). Bei der indirekten Detektion werden dagegen unmarkierte primäre Antikörper eingesetzt, jedoch in einem zweiten Schritt fluoreszenzmarkierte sekundäre Antikörper

gegen den primären Antikörper verwendet. Da ein primärer Antikörper je nach Subtyp zwei oder mehrere sekundäre Antikörper binden kann, wird mit dieser Fluoreszenzmethode eine Signalverstärkung und größere experimentelle Flexibilität erreicht.

Im Rahmen der Immunmarkierung werden Gewebe oder Zellen in der Regel zunächst fixiert (z. B. durch Zugabe von Paraformaldehyd, Glutaraldehyd, Methanol oder Aceton). Dieser Schritt immobilisiert Proteine und führt zur Konservierung des Präparates. Da Antikörper nicht zellpermeabel sind, müssen für die Detektion von intrazellulären Epitopen die zellulären Membranen gegebenenfalls mittels Detergenzien (z. B. Triton X100, NP40, Tween 20) oder Methanol für wenige Minuten permeabilisiert werden. Um die spezifische Bindung von Antikörpern zu garantieren, werden anschließend unspezifische Bindungsstellen durch die Inkubation in tierischem Serum abgesättigt. Danach erfolgt die Inkubation mit primären und gegebenenfalls sekundären Antikörpern, der jeweils mehrere Waschstreps folgen. Die Fixierungsbedingungen, Detergenzwahl, Art des Serums und Länge der Antikörperinkubation sind hierbei die wichtigsten Optimierungsfaktoren für eine erfolgreiche Detektion. Für optimale Resultate ist es ratsam, dem Einbettungsmedium oder Puffer ein Anti-Verbleichungsmittel zuzusetzen (Glukose-Oxidase/Katalase-Systeme, Anti-Oxidanzien wie DABCO, etc.).

Mit Hilfe der Immunofluoreszenz lassen sich Erreger und zelluläre Strukturen gleichzeitig visualisieren und so Rückschlüsse auf ihre Funktion und potentielle Interaktion ziehen. Jedoch ist bei der Interpretation von Kolokalisationsdaten Vorsicht geboten, da das Auflösungsvermögen in der konventionellen Fluoreszenzmikroskopie auf etwa 250 nm in der lateralen bzw. 500 nm in der axialen Ebene begrenzt ist (► Auflösungsvermögen): wird beispielsweise die Kolokalisation von Viren mit Endozytosevesikeln beobachtet, so kann es bei der großen Anzahl von Vesikeln innerhalb der Zelle zu zufälligen Überlagerungen der verschiedenen Signale innerhalb des zu erreichenden Auflösungsvermögens kommen. Hier bieten sich die hochauflösende Fluoreszenzmikroskopie oder fluoreszenzbasierte Interaktionsstudien wie FRET oder bimolekulare fluoreszierende Komplementation an (► Nachweis molekularer Interaktionen). Neben der fluoreszenzmikroskopischen Untersuchung ist es weiterhin ratsam, biochemische Nachweise der direkten Interaktion von Erregern mit spezifischen zellulären Strukturen (z. B. durch Koimmunopräzipitation) zu erbringen.

2. Lebendzellmikroskopie

Transportprozesse in lebenden Zellen lassen sich bereits mittels Differenzialinterferenzkontrast (DIC) in der Durchlichtmikroskopie in Echtzeit beobachten – beispielsweise die zelluläre Aufnahme von Bakterien

durch Phagozytose. Dabei gibt der Bildkontrast des Präparates, der durch die lokale Änderung des Brechungsindex der Probe entsteht, in Aufsichtgeometrie die Änderungen der Oberflächenmorphologie wieder, während im Durchlicht Einzelheiten im Zellinneren erkennbar werden. Viele Fragestellungen erfordern jedoch eine höhere molekulare Sensitivität und Spezifität, um das dynamische Zusammenspiel von Erregern mit zellulären Strukturen, z. B. Endozytosevesikeln, oder gar einzelnen Molekülen sichtbar zu machen. Dabei spielen FP eine entscheidende Rolle: durch genetische Manipulation wird dabei die DNA des zellulären oder pathogenen Zielproteins mit der des Fluoreszenzproteins verknüpft. Ziel ist dabei, möglichst viele FP-markierte Proteine im Erreger oder der Zelle anstelle des nativen, unmarkierten Proteins zu exprimieren, ohne jedoch die jeweilige Funktion zu beeinträchtigen. So konnte beispielsweise Sorting Nexin-1 (SNX1), ein Wirtszellprotein, das an Phosphoinositide bindet und am endosomalen Transport beteiligt ist, mit GFP fusioniert werden und erstmals seine rapide und transiente Translokation zu den Bindungsstellen eindringender *Salmonella*-Bakterien in Echtzeit beobachtet werden (Bujny et al. 2008) (► Abb. 1).

Eine Alternative zu FP sind FF (Fluoreszenzfarbstoffe) oder NP (Nanopartikel), die eine Direktmarkierung erlauben. Organische FF werden dabei entweder unspezifisch an Aminosäurereste gekoppelt oder in Nucleinsäuren und Membranen eingebunden. Alexa Fluor[®]-, Cy- oder Atto-FF können über ihre reaktiven Seitengruppen an freie Aminogruppen oder Carboxylgruppen der Zielproteine gekoppelt werden. Auf diesem Wege wurden z. B. Kapside von Polioviren mit Cy5 markiert und beim Eindringen in die Zellen beobachtet (Vaughan et al. 2009). Weiterhin ermöglicht die „Click-Chemie“ die Kopplung von FF an freie Azidgruppen. Zellpermeable und nukleinsäureaffine FF, wie Syto82, können dagegen während der Virusreplikation den infizierten Zellen zugeführt werden und so in den später isolierten Viren das Genom spezifisch markieren (Brandenburg et al. 2007). Phospholipide in biologischen Membranen lassen sich ebenfalls mit organischen FF in lebenden Zellen markieren: Die lipophilen Carbocyanine DiI, DiO, DiD, DiR oder lipophile Kationen wie R18 sind in Wasser nur schwach fluoreszierend, jedoch erhöht sich ihre Fluoreszenz und Photostabilität nach Membranintegration drastisch. Eine hohe lokale Konzentration von Farbstoffmolekülen in der Lipidhülle von Viren führt jedoch zu wesentlich reduzierter Fluoreszenz (*self-quenching*). Dieser Effekt wird elegant beim Studium viraler Fusion mit zellulären Membranen oder Vesikeln genutzt (► Abb. 1) (Chen et al. 2008): führt der herabgesetzte pH in späten Endosomen zur Fusion mit Influenzaviren, so kann ein signifikanter Anstieg der Fluoreszenzintensität der nun frei in die Endosomenmembran diffundierenden DiD-Moleküle beobachtet werden.

Dieses *Quenching-dequenching*-Phänomen wird auch in Versuchen eingesetzt, in denen die hemmende Wirkung von Inhibitoren wie Antikörpern oder Peptiden auf die Fusionsmaschinerie von Viren untersucht wird.

Bei Lebendzellmikroskopie-Experimenten sind optimale physiologische Bedingungen und die damit zusammenhängende Systemstabilität entscheidend. Da der Umgebungssauerstoff eine Ansäuerung der Proben verursacht, werden gepufferte CO₂-unabhängige Medien oder bei längeren Inkubationen CO₂-begaste Kammern eingesetzt. Die optimale Temperaturregung ist nicht nur für Zelle und Erreger wichtig, sondern sorgt auch für minimale Objektdrift. In Aufbauten mit motorisierten Objektiven kann zudem ein automatisiertes *Focus-lock*-System eingebaut werden, um das Objekt im Fokus zu halten. Um die Lebenszeit der Fluorophore zu verlängern, sollten *oxygen quencher* (z. B. Glukose-Oxidase/Katalase-Systeme) in geringen Mengen (~ 1 %) zugesetzt werden.

Letztlich bleibt zu erwähnen, dass alle hier beschriebenen Experimente und technischen Aufbauten leistungsfähige Computersysteme mit großem Speichervolumen und integrierten Softwarelösungen verlangen. Die zur Bildbearbeitung und Bildanalyse verwendeten Algorithmen und Software haben in den letzten Jahren dramatisch an Komplexität, aber auch Anwenderfreundlichkeit gewonnen. Neben dem eigenständigen Programmieren stehen dem Anwender nun auch eine Reihe von *Open-Source*-Programmen (z. B. ImageJ, <http://rsbweb.nih.gov/ij>) und kommerzielle Lösungen (z. B. MetaMorph, <http://www.moleculardevices.com/pages/software/metamorph.html>) zur Verfügung.

3. Nachweis molekularer Interaktionen (FRET und FP-Komplementation)

Beim Förster-Resonanzenergietransfer (FRET) wird die Energie eines angeregten Farbstoffmoleküls (Donor, z. B. das blaugrün fluoreszierende Protein AcGFP1 gekoppelt an Zielprotein A) nicht als Emissionsstrahlung abgegeben, sondern auf ein benachbartes Molekül (Akzeptor, z. B. das rotfluoreszierende Protein mCherry gekoppelt an Zielprotein B) übertragen und dieses zur Emission angeregt. Um eine Energieübertragung zu ermöglichen, muss das Emissionsspektrum des Donors mit dem Absorptionsspektrum des Akzeptors überlappen. Da die Intensität stark vom Abstand von Donor und Akzeptor abhängt (< 10 nm), lassen sich mit FRET molekulare Interaktionen im Nanometerbereich untersuchen und direkte Wechselwirkungen nachweisen. Eine Alternative zu FRET ist der **bimolekulare fluoreszierende Komplementationsansatz**, bei dem ausgenutzt wird, dass sich FP genetisch in zwei nicht-fluoreszierende Fragmente zerteilen lassen. Werden diese Fragmente nun jeweils genetisch an ein Zielprotein X beziehungsweise Y gekoppelt, und kommen die Fragmente in Folge der Interak-

tion von X mit Y in räumliche Nähe, so kann daraus ein funktionsfähiger FP-Reporter regeneriert werden, dessen Fluoreszenzintensität als ein Maß der Interaktionsstärke und -dauer betrachtet werden kann.

Physikalische Grundlagen und technischer Aufbau

Auflösungsvermögen

Unter dem Begriff Auflösungsvermögen versteht man den kleinsten noch wahrnehmbaren Abstand zwischen zwei punktförmigen Objekten, bevor sie zu einem einzigen Punkt verschwimmen. Die in optischen Instrumenten erreichbare Auflösung ist zwar auch abhängig vom Aufbau und den Komponenten, beispielsweise der Qualität des Objektivs, sie ist jedoch primär begrenzt durch Lichtbeugung (an Objektiven und Spalten) und beträgt etwa eine halbe Wellenlänge des verwendeten Lichts (200–250 nm in X, Y und 500–800 nm in Z). Mathematisch wird das Auflösungsvermögen von Mikroskopen durch die Abbe'sche Sinusbedingung der Abbildung beschrieben: $d = \lambda/2n \times \sin\alpha$ oder $d_{\min} = \lambda/2NA$ (wobei λ = Wellenlänge des Lichts, n = Brechungsindex des Mediums, α = halber Öffnungswinkel des Objektivs, und NA = numerische Apertur, das Fokusvermögen des Objektivs). Das zu beobachtende Profil eines Lichtpunktes nach Beugung definiert die Punktspreizfunktion (*point spread function*, PSF) des Mikroskops und ist im Falle eines Fluoreszenzmoleküls durch eine Gauß-Funktion (Normalverteilung) beschreibbar. Die Breite der PSF an ihrem Halbmaximalpunkt entspricht der erreichbaren Auflösung des Systems. Je kleiner dieser Wert, desto besser ist die Auflösung eines Mikroskops. Zwei separate, fluoreszierende Moleküle mit überlappenden PSFs, die näher aneinander liegen als die Breite der PSF, sind schwer oder unmöglich als separat wahrnehmbar.

Technischer Aufbau eines Lichtmikroskops

Mit Hilfe eines Fluoreszenzmikroskops können Signale von Fluoreszenzmolekülen in einem bestimmten Probenvolumen räumlich und zeitlich erfasst und dargestellt werden. Je nach Art der Fokussierung des Anregungslichts in der Probe unterscheidet man Weitfeld-, Konfokal- und TIRF-Mikroskopie (► Abb. 2). Als Lichtquellen werden meist Metalldampflampen oder Laser eingesetzt. Erstere (z. B. Quecksilberdampflampen) emittieren Licht im gesamten sichtbaren Spektrum, aber auch im Ultraviolettbereich. Entsprechend der verwendeten Fluoreszenzfarbstoffe wird die Emissionswellenlänge dabei mit Hilfe von optischen Filtern auf wenige Nanometer beschränkt. Demgegenüber bieten Laser per Definition ein sehr enges Frequenzspektrum und weitere Vorteile wie die höhere Strahlungsenergie pro Flächeneinheit, die Kohärenzlänge und Parallelität der Strahlung. Das Anregungslicht wird von einem Strahlteiler reflektiert und durch das Objektiv in der Probe fokussiert. Die nach Fluor-

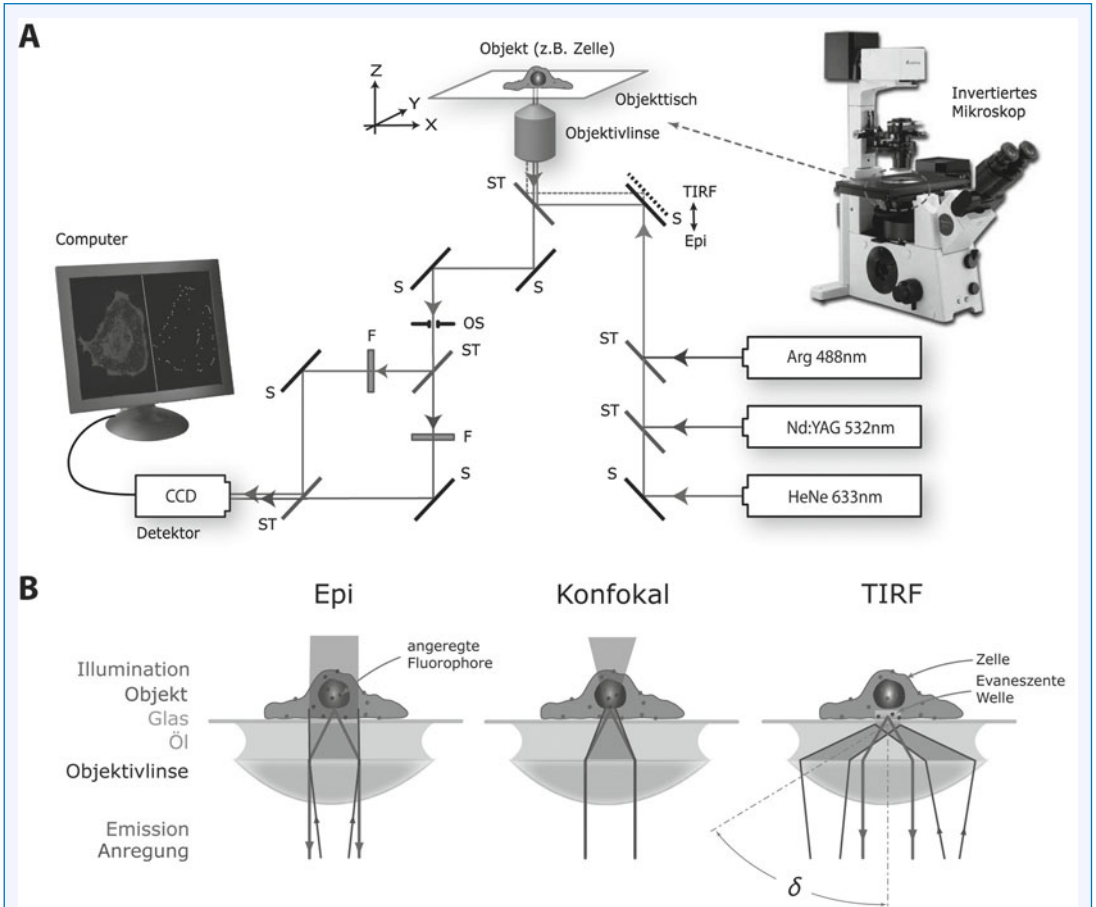


Abb. 2. Technischer Aufbau eines Lichtmikroskops. A) Schematischer Mikroskopaufbau. Laserlicht verschiedener Wellenlänge wird mittels Spiegeln (S) oder Strahlenteilern (ST) zum Objektiv geleitet. Das rotverschobene Fluoreszenzsignal der in der Probe (Zelle) angeregten Fluophore wird vom Objektiv wieder eingefangen und zum Detektor geleitet. Werden mehrere Signale gleichzeitig detektiert, so können diese durch Strahlenteiler und optische Filter (F) getrennt und auf unterschiedliche Hälften des Detektors projiziert werden. Die Verteilung der Fluoreszenzintensitäten wird vom Computer als Bilder wiedergegeben. B) Vergrößerte Detaildarstellung des Strahlengangs zum Präparat zwecks Illustration verschiedener Illuminationstechniken: Epifluoreszenz (Auflichtmikroskopie), konfokal, TIRF (Interne Totalreflexionsfluoreszenz). (Eine farbige Version der Abbildung finden Sie auf der beiliegenden CD und im Web unter www.springer.de/978-3-642-17157-4)

reszenzanregung der Probe gleichmäßig in alle Raumrichtungen abgegebene Strahlung kann zum Teil durch das Objektiv wieder eingefangen werden. Dabei gilt: je höher die numerische Apertur (NA) des Objektivs, desto größer der Teil des eingefangenen Lichts. Diese spektral verschobene Strahlung kann anschließend den Strahlteiler ungehindert passieren und gelangt so zum Detektor, der die Intensitäten an verschiedenen Orten in der Probe misst. Als Detektoren werden entweder empfindliche *charge-coupled device* (CCD) Kameras, die schnell Aufnahmen von großen Untersuchungsbereichen ermöglichen, oder Photoelektronen-

vervielfachungsröhren (*photomultiplier tubes*, PMTs) verwendet, die in einem breiteren Spektralbereich hochempfindliche Bildrekonstruktionen ermöglichen. Da PMTs als Punktdetektoren funktionieren, muss der Laser über die Probe gescannt werden; PMTs kommen vor allem in der konfokalen *Laser-Scanning-Mikroskopie* (CLSM) zur Anwendung. In allen Fällen werden die detektierten Fluoreszenzintensitäten letztlich im Bild durch verschiedene Graustufen dargestellt, denen anschließend zur Unterscheidung eine beliebige Farbe zugewiesen werden kann. Bei der **Weitfeldfluoreszenzmikroskopie** (auch Epi-

fluoreszenzmikroskopie) wird die Probe großflächig (10–100 μm Durchmesser) beleuchtet. Sie erlaubt, dynamische Prozesse mit geringer Fluoreszenzintensität vor allem in lebenden Zellen schnell und weiträumig zu erfassen. Da sich hierbei das Anregungslicht weiträumig über die Probe verteilt, wird die lokale Schädigung der Probe durch intensive Strahlung minimiert. Nachteilig wirkt sich die weiträumige Fluoreszenzanregung außerhalb der Fokusebene aus: Je höher der Fluoreszenzanteil aus Schichten über oder unter der Fokusebene, desto unschärfer wird das Bild. Die Weitfeldmikroskopie eignet sich daher besonders für dünne Proben oder diskret verteilte Fluorophore.

Verglichen mit der Weitfeldmikroskopie erreicht die **konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie (LSM)** eine höhere Auflösung besonders in z-Richtung (entlang der optischen Achse) bis zu etwa 450 nm. Diese Verbesserung wird vor allem durch Lochblenden oder Schlitze erreicht, die in einer Zwischenbildebene platziert werden und damit Signale der Ebenen über und unter der eigentlichen Bildebene ausschließen. Detektiert wird hier entweder mittels CCDs (Linien-Scanning), meist jedoch durch PMTs (Punkt-Scanning), wobei die Probe Punkt für Punkt mittels beweglicher Spiegel abgerastert und die Fluoreszenzintensität an jedem Punkt gemessen wird. Eine dritte Detektionsvariante findet in *spinning-disk* konfokalen Mikroskopen Anwendung: Hier wird das Laserlicht mittels sich drehender Scheiben, die mit Tausenden spiralförmig angeordneter Lochblenden und korrespondierenden Mikrolinsen besetzt ist, auf die Probe geleitet. Diese Methode zeichnet sich durch hohe Bildraten aus und ist daher besonders für die 3D-Lebendzell-Mikroskopie geeignet.

Die **Interne Totalreflexionsfluoreszenz-Mikroskopie (TIRF, total internal reflection fluorescence)** ist eine Weitfeldtechnik, bei der Strukturen untersucht werden können die nicht weiter als etwa 200 nm vom Objektträger (in der Regel Deckglas) entfernt sind (► Abb. 2). Durch das seitwärtige Verschieben des Strahlengangs beim Eingang in das Objektiv (gestrichelte Linie in ► Abb. 2A) tritt das Licht in einem flachen Winkel (δ) wieder aus und wird fast vollständig am Deckglas reflektiert. Nur ein geringer Teil der Anregungswellen dringt in die Probe ein, wird aber mit zunehmendem Weg immer stärker abgeschwächt (maximal etwa 200 nm, sog. evaneszente Welle). Da so nur wenige Moleküle zur Fluoreszenz angeregt werden, ergibt sich bei stark abgeschwächtem fluoreszierendem Hintergrund ein deutlich höherer Kontrast. TIRF-Mikroskopie wird vor allem zur Untersuchung von Prozessen an der Deckglas-zugewandten Unterseite adhärenter Zellen (z. B. Rezeptorinternalisierung) oder molekularen Interaktionen (z. B. FRET) eingesetzt.

Hochauflösende Fluoreszenzmikroskopie

Die konventionelle, linsenbasierte Lichtmikroskopie stößt durch die Gesetze der Physik an die Grenze des Auflösbaren, wenn zwei Signale oder Objekte dichter als etwa 200–250 nm aneinander liegen. In der Regel sind Infektionserreger und ihre beobachtenden intrazellulären Transportprozesse jedoch um ein Vielfaches kleiner; sie wurden in der Vergangenheit daher oftmals mittels EM visualisiert. Bei hervorragendem Auflösungsvermögen in drei Dimensionen und ihrem „offenem Blick“ (viele Strukturen gleichzeitig sichtbar) lässt die EM zwar statistische, jedoch keine dynamische Beobachtungen zu. In den letzten Jahren wurden mehrere lichtmikroskopische Methoden entwickelt, die mit ihrem Auflösungsvermögen etwa 100-fach unter der klassischen Abbe'schen Auflösungsgrenze liegen. Erwähnungswert sind zum einen **4Pi** und **STED** (*stimulated emission depletion*, oder stimulierte Emissionslöschung), zum anderen **STORM/(F)PALM** (*stochastic optical reconstruction microscopy*, oder stochastische lichtmikroskopische Rekonstruktionsmikroskopie und (*fluorescence*) *photoactivation localization microscopy*, oder Photolokalisationsmikroskopie) (Huang et al. 2009). Diese Methoden und ihr Potential sollen im Folgenden kurz erläutert werden.

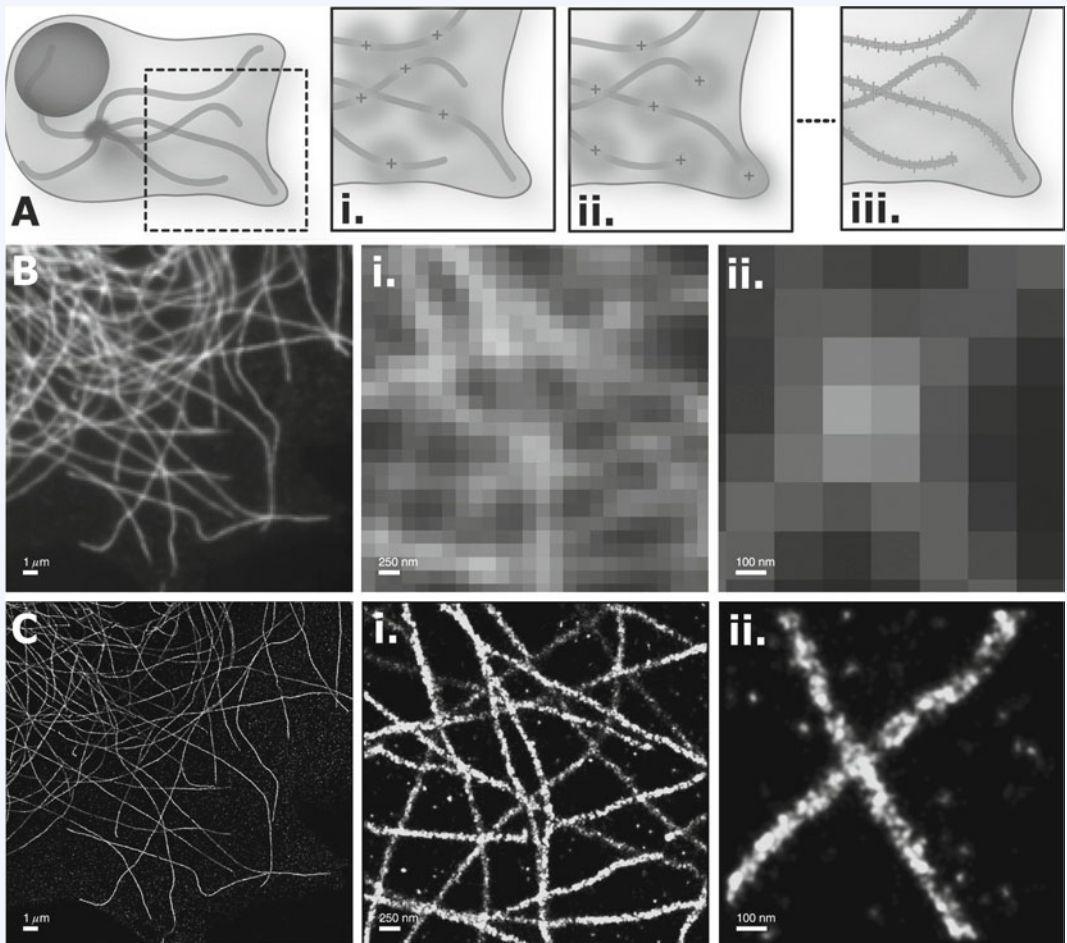
4Pi und STED Mikroskopie

Bei einem **4Pi-konfokalen Mikroskop** wird der auflösungsbeschränkende Effekt der Lichtbeugung reduziert, indem der Fokalebereich einzelner Bildpunkte (also die PSF) durch ein doppeltes Linsensystem verengt wird. In einem konventionellen Laser-Raster-Fluoreszenzmikroskop erscheint jeder Objektpunkt aufgrund von Beugung als ein verschwommener Lichtfleck. Wird jedoch von beiden Seiten des Objekts jeweils ein Objektiv auf denselben Lichtfleck gerichtet, sodass sich das Licht in einem gemeinsamen Fokus überschneidet, kann die Größe des Lichtflecks in der Längsachse, und damit die Auflösung, um das Dreibis Siebenfache in allen drei Dimensionen reduziert werden. Die Implementierung dieses 4Pi-Systems ist jedoch nicht trivial, da der Lichtweg in beiden Richtungen exakt gleich sein muss, und die relativ dünnen Proben zwischen zwei Deckgläsern eingeschlossen werden müssen. Die **STED-Fluoreszenzmikroskopie** hingegen basiert auf der Verkleinerung des Lichtflecks in seiner Querachse, also in der Ausbreitung des Lichtflecks in den lateralen Dimensionen (X, Y). Dabei wird mittels eines zweiten Lasers gezielt die verschwommene Lichtemission von fluoreszierenden Molekülen in der unmittelbaren Umgebung des Fokuspunkts des Lichtflecks ringförmig ausgelöscht, aber auch die PSF des Lichtflecks, also der einzelnen Emitter selbst verkleinert. Mit der signifikant reduzierten PSF lassen sich Bilder mit höherer Auflösung direkt und mit hoher Geschwindigkeit generieren.

STORM und (F)PALM

Die zweite Kategorie hochauflösender Fluoreszenzmikroskopie-Techniken, zu der STORM und (F)PALM gehören, folgt einem fundamental andersartigen Prinzip: hier werden die Positionen einzeln detektierter Fluoreszenzsignale nach Rechner-gestützter Analyse zu einem hochaufgelösten Bild zusammengesetzt (► Abb. 3). Grundlegend dafür ist die Tatsache, dass abhängig von der Anzahl detektierender Photonen die Position eines einzelnen Fluoreszenzmoleküls mit extrem hoher Genauigkeit ermittelt werden kann. Praktisch wurde so bereits eine Lokalisationsgenauigkeit

von etwa einem Nanometer für einen isolierten Emitter erreicht. Da fluoreszenzmarkierte biologische Strukturen (z. B. Vesikel oder Zytoskelett) jedoch im Regelfall viele Fluorophore innerhalb eines beugungs-begrenzten Bereich aufweisen, wird bei STORM/(F) PALM die Anzahl der aktiven Emitter pro beugungs-begrenztem Feld durch Photoaktivierung oder Photo-konversion drastisch reduziert (für Probenbeispiele siehe Huang et al. 2009). Beugungsbegrenzt-überlap-pende Signale werden so zeitlich voneinander getrennt und ihre Positionen können in aufeinander folgenden Aktivierungszyklen ermittelt werden. Das hochaufge-



► **Abb. 3.** Prinzip der hochauflösenden Fluoreszenzmikroskopie. A) STORM/(F)PALM-Prinzip. In aufeinander folgenden Bildern werden die Bildpositionen von einzelnen stochastisch angeregten Fluorophoren (hier an Mikrotubuli gebundene Fluoreszenz-markierte Antikörper) mit hoher Genauigkeit bestimmt (i, ii) und zu einem hochaufgelösten Bild zusammengesetzt (iii) B) Konventionelle Immunfluoreszenz von Mikrotubuli und Ausschnittsvergrößerungen (i, ii) C) STORM-Abbildung derselben Ausschnitte. (Quelle: Graham Dempsey, Harvard University. Eine farbige Version der Abbildung finden Sie auf der beiliegenden CD und im Web unter www.springer.de/978-3-642-17157-4)

löste Bild wird anschließend aus der Gesamtheit aller berechneten Fluorophorpositionen rekonstruiert (zurzeit etwa 10–20 nm in X und Y; 10–50 nm in Z).

Anwendungsbeispiele hochauflösender Fluoreszenzmikroskopie

Mit dieser Technik können die Vorteile hoher Auflösung mit molekularer Spezifität und Multi-Komponentendetektion in Mehrfarben-Experimenten kombiniert werden. So können virale Proteine, wie das Hämagglutinin (HA) des Influenzavirus und deren Verteilung auf der Oberfläche von intakten Viren unter „physiologischen“ Bedingung betrachtet werden (► Abb. 4). Sehr vielversprechend ist auch die Ausweitung zur Lebendzellmikroskopie. Die Anordnung von HA-Molekülen konnte dabei in Membranen lebender Influenzavirus-infizierter Fibroblasten visualisiert werden (Hess et al. 2007). Andere Studien zeigten individuelle tsO45 G-Proteine des Vesikulären Stomatitis Virus (VSV) und HIV-1-Gag-Proteine in der Plasmamembran von lebenden Zellen mit hoher Auflösung (Manley et al. 2008). Hier konnten mittels kombinierter hochauflösender Fluoreszenzmikroskopie und Einzelmolekül-Detektion (*single particle tracking* PALM, sptPALM) sowohl die Formation von virusähnlichen Partikeln aus Gag-Molekülen in lebenden Zellen beobachtet als auch deren Verlaufsbahn und

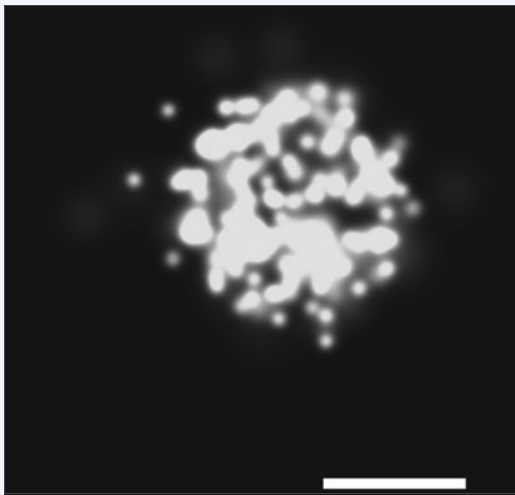
Dynamik ermittelt werden. Forschergruppen sind zudem an der Aufklärung zytoskelettähnlicher Strukturen in Bakterien interessiert und setzen dazu hochauflösende Fluoreszenzmikroskopie und FP-markiert Zielproteine ein. Diese Pionierstudien lassen erahnen, wie sich in naher Zukunft Wirt-Pathogen-Beziehungen auf der Ebene verschiedener Molekülkomplexe, ihrer räumlichen Verteilung und ihres dynamischen Verhaltens im Zellkontext charakterisieren lassen.

Zur Zukunft der Lichtmikroskopie

Seit den ersten lichtmikroskopischen Studien von Bakterien im 17. Jahrhundert durch Antoni van Leeuwenhoek spielt die Visualisierung eine wichtige Rolle in der Entwicklung von Pathogenese und Therapiekonzepten. Im „molekularen Zeitalter“ angekommen, haben wir in den letzten Jahrzehnten eine rasante Weiterentwicklung mikroskopischer Methoden beobachten können: von konfokaler Lichtmikroskopie, dynamischem *tracking* einzelner Bakterien und Viren in lebenden Zellen bis hin zur hochauflösenden Fluoreszenzmikroskopie. Die neuen Techniken ergänzen die etablierten licht- und elektronenmikroskopischen Verfahren hervorragend und ermöglichen tiefere Einblicke in die dynamischen Erreger-Wirt-Beziehungen. Generell lassen sich zwei Trends in der Lichtmikroskopie beobachten: zum einen die Vereinfachung und Automatisierung von komplexen Mikroskopieverfahren und zum anderen das Vordringen in den Nanometerbereich.

Vollautomatische, komplett verkleidete und computergesteuerte Mikroskope mit Temperaturregelung und Möglichkeiten zur Probeninjektion eignen sich dazu, Bilder und Filme von biologischen Prozessen im großen Maßstab automatisch zu akquirieren und gleichzeitig zu analysieren. Dieses *high content imaging* (HCI) wird bereits vielfach in der pharmazeutischen Industrie zum Hochdurchsatz-Screening von Inhibitoren genutzt (Lang et al. 2006). So können in lebenden Zellen die Aktivität oder auch negative Eigenschaften von Wirkstoffen zeitsparend und effektiv getestet werden. Automatisierte Mikroskopieverfahren spielen auch in der Grundlagenforschung eine Rolle: in einer Vielzahl von Studien wurden durch die Kombination von RNA-Interferenz und HCI zelluläre Faktoren bestimmt, die kritisch für den Lebenszyklus von Pathogen sind (Influenza, HIV, HCV, Vaccinia, HPV). Diese Ansätze bieten neue Angriffspunkte für zukünftige Therapeutika.

Die hochauflösende optische Mikroskopie wird von noch höherer Gerätestabilität, besseren Algorithmen und vor allem der konsequenten Weiterentwicklung von Fluoreszenzfarbstoffen profitieren und damit eine Echtzeitmikroskopie mit einem Auflösungsvermögen von wenigen Nanometern ermöglichen. Hellere und besonders fotostabile organische Farbstoffe werden dabei auch für die Weiterentwicklung der „konven-



■ **Abb. 4.** Hochauflösendes Fluoreszenzmikroskopie-Bild eines einzelnen Influenzavirus. Die einzelnen Farbpunkte entsprechen den Lokalisationen von gebundenen, Hämagglutinin-spezifischen Fluoreszenzmarkierten Antikörpern (und deren Lokalisationsgenauigkeiten). Größenstandard = 100 nm (Quelle: Miriam V. Bujny, Harvard University. Eine farbige Version der Abbildung finden Sie auf der beiliegenden CD und im Web unter www.springer.de/978-3-642-17157-4)

tionellen“ Lebendzellmikroskopie von Vorteil sein. Die Interaktion von Erregern mit einzelnen Rezeptoren und intrazellulären Faktoren und komplexe Vorgänge, wie die Fusion von viraler mit endosomaler Membran, werden sich so auf molekularer Ebene entschlüsseln lassen.

Die spezifischen Vorteile von Fluoreszenz- und Elektronenmikroskopie werden auch immer häufiger in korrelativen Ansätzen kombiniert (*Correlative Light Electron Microscopy*; Mironov et al. 2009). So können Erreger in lebenden Zellen beobachten werden und dann nach Schockgefrieren und weiterer elektronenmikroskopischer Probenaufbereitung hochaufgelöst und in 3D dargestellt werden. Mit zunehmender Komplexität der Mikroskopiemodalitäten nehmen auch die Datenfülle und besonders der Anspruch an die Analyse zu. Daher werden neben leistungsstarken Computern und Servern vor allem bessere Algorithmen und Programme für die Analyse und Interpretation der Daten nötig.

Das Studium des intrazellulären Transportes von Erregern wird sich in logischer Konsequenz in Zukunft auf den gesamten Organismus ausbreiten. So ist die Hoffnung berechtigt, bald die Erreger-Wirt-Interaktionen, die Reaktionen des Immunsystems, die Adaption von Erregern und die Wirkung von Therapeutika im lebenden Organismus studieren und visualisiert zu können (Rao et al. 2007).

Literatur

1. Brandenburg B, Lee L, Lakadamyali M, Rust MJ, Hogle JM, Zhuang X (2007) Imaging poliovirus entry in live cells. *PLoS Biology* 5(7):e183
2. Bujny MV, Ewels PA, Humphrey S, Attar N, Jepson MA, Cullen PJ (2008) Sorting nexin-1 defines an early phase of Salmonella-containing vacuole-remodeling during Salmonella infection. *J Cell Sci* 15;121(Pt 12):2027–2036
3. Chen C, Zhuang X (2008) Epsin 1 is a cargo-specific adaptor for the clathrin-mediated endocytosis of the influenza virus. *Proc Natl Acad Sci* 19;105(33):11790–11795
4. Fernández-Suárez M, Ting AY (2008) Fluorescent probes for super-resolution imaging in living cells. *Nat Rev Mol Cell Biol* 9(12):929–943
5. Hess ST, Gould TJ, Gudheti MV, Maas SA, Mills KD, Zimmerberg J (2007) Dynamic Clustered Distribution of Hemagglutinin Resolved at 40nm in Living Cell Membranes Discriminates Between Raft Theories. *Proc Natl Acad Sci USA* 104(44):17370–17375
6. Huang B, Bates M, Zhuang X (2009) Super-resolution fluorescence microscopy. *Annu Rev Biochem*. 78:993–1016
7. Lang P, Yeow K, Nichols A, Scheer A (2006) Cellular imaging in drug discovery. *Nature Review Drug Discovery*. 5(4):343–356
8. Manley S, Gillette JM, Patterson GH, Shroff H, Hess HF, Betzig E, Lippincott-Schwartz J (2008) High-density mapping of single-molecule trajectories with photoactivated localization microscopy. *Nature Methods* 5:155–157
9. Mironov AA, Beznoussenko GV (2009) Correlative mi-

croscopy: a potent tool for the study of rare or unique cellular and tissue events. *J Microsc* 235(3):308–321

10. Rao JH, Dragulescu-Andrasi A, Yao HQ (2007) Fluorescence imaging in vivo: recent advances. *Curr Opin Biotechnol*. 18(1):17–25
11. Vaughan JC, Brandenburg B, Hogle JM, Zhuang X (2009) Rapid Actin-Dependent Viral Motility in Live Cells. *Biophysical Journal* 97(6):1647–1656

Elektronenmikroskopie in der Erregerdiagnostik

HANS R. GELDERBLOM

Visualisierung als diagnostisches Prinzip

Mit der Studie „Die Ätiologie der Milzbrand-Krankheit, begründet auf die Entwicklungsgeschichte des Bacillus Anthracis“ legte Robert Koch (1843–1910) 1876 das Fundament für eine wissenschaftliche Infektiologie. Unter Anwendung der später als Koch'sche Postulate bezeichneten experimentellen Strategie erkannten und beschrieben er und seine Schüler in kurzer Folge Bakterien als die Erreger einer Reihe gefährlicherer Seuchen (Tuberkulose 1882; Diphtherie Loeffler 1883; Cholera 1884; Typhus Gaffky 1884; Tetanus Kitasato 1889). Die Ätiologie einer Infektion galt als gesichert, wenn ein morphologisch, durch Form und Anfärbbarkeit definierter Keim 1) konstant im erkrankten Gewebe, nicht aber im gesunden, nachgewiesen wurde, 2) wenn er in Reinkultur isoliert werden konnte und 3) wenn das Isolat im Versuchstier die ursprüngliche Krankheit wieder auslöste und wenn aus diesem auch wieder derselbe Keim isoliert werden konnte. Wesentliche Voraussetzung zur Begründung der ätiologischen Rolle von Bakterien war die Einführung von Nährböden für ihre Isolierung – kombiniert mit einer fortschrittlichen, über Ölimmersion, Mikrophotographie und Temperierkammer verfügenden Lichtmikroskopie und dem Einsatz von Laboratoriumstieren.

Das neue Wissen um die Ursache gefährlicherer Seuchen zeitigte ungeheuren Optimismus: Manchem Zeitgenossen schien das Ende gesundheitlicher Bedrohungen gekommen. Doch kaum drei Jahrzehnte später war erkannt, dass es neben den im Lichtmikroskop darstellbaren Bakterien noch viele andere Infektionserreger bei Mensch, Tier und Pflanze geben musste, die sich weder anzüchten noch im Lichtmikroskop darstellen ließen: Das infektiöse Prinzip, z. B. der Maul- und Klauenseuche und der Tabak-Mosaik-Krankheit, wurde auch nicht von bakteriendichten Filtern zurückgehalten. Diese „negativ“ charakterisierten Erreger mussten demnach sehr viel kleiner als die Bakterien sein. Wegen ihrer zunehmend erkannten Rolle als nicht fassbare Seuchenerreger wurden diese „Contagien“ unter dem Begriff Virus (virus, lat.: Gift) zusammengefasst (Überblick bei Krüger et al. 2000).

Elektronenmikroskopie und Virologie

Zur Bekämpfung von Viruskrankheiten fehlten anfänglich wichtige Kenndaten zur Partikelnatur der „submikroskopischen“ Erreger, ihrer Zellwechselwirkung, Vermehrung und Umweltstabilität. Sie ergaben sich mit der Einführung der Elektronenmikroskopie (EM) in die Infektionsforschung. Für die förderliche Zusammenarbeit dieser Gebiete gab es in den 30er Jahren des 20sten Jahrhunderts in Berlin hervorragende Voraussetzungen. Die EM wurde hier zunächst als reines Werkzeug der Physiker in drei konkurrierenden Arbeitsgruppen entwickelt (Ernst Brüche, AEG; Ernst Ruska und Bodo von Borries, Siemens; Manfred von Ardenne). Doch bald drängte die Medizin, die EM zur Suche nach den Erregern gefürchteter Seuchen, u. a. Influenza, Masern, Poliomyelitis, Pocken, Tollwut, einzusetzen. Der junge Mediziner Helmut Ruska (1908–1973), der Bruder von Ernst Ruska (1906–1988; Nobelpreis für Physik 1986), entwickelte dieses Feld (Krüger et al. 2000).

Worauf gründete sich die Erwartung einer höheren Auflösung? Die Wellenlänge der in der EM zur Abbildung genutzten beschleunigten Elektronen (0,004 nm bei 80kV Beschleunigungsspannung) ist erheblich kürzer als die des sichtbaren Lichtes (400–780 nm) – genutzt im Lichtmikroskop. Andererseits ist durch Ernst Abbe und Hermann Helmholtz seit 1876 bekannt, dass die Auflösung eines Mikroskops (d_{\min}), die Fähigkeit zwei eng beieinander liegende Objektpunkte noch getrennt wahrzunehmen, wesentlich von der Wellenlänge (λ) der genutzten Energie- (Licht-)Quelle und dann auch von den Eigenschaften des Mikroskops ($n \times \sin \alpha =$ numerische Apertur) abhängt.

$$d_{\min} = \frac{\lambda}{n \times \sin \alpha}$$

Chancen und frühe Ergebnisse der EM in der Virologie

Das neue Instrument versprach also eine dramatische Verbesserung in der Auflösung. Heute wissen wir, dass sie durch allfällige Linsenfehler nicht 10^3 mal, sondern „nur“ etwa 1000mal höher liegt als beim Lichtmikroskop. In den Biowissenschaften ergaben sich sehr schnell Einblicke in bisher unbekannte Dimensionen und Zusammenhänge: Virologie und EM förderten sich wechselseitig. Als erstes animales Virus wurde 1938 das Ektromelievirus der Maus, ein Orthopockenvirus, am EM dargestellt (von Borries et al. 1938). Obwohl die „Präparation“ seinerzeit nur im Antrocknen der Partikelsuspension auf dem EM-Trägernetz und einer Osmium-„Räucherung“ bestand und damit keine besonders detail- und kontrastreiche Darstellung zuließ, war bald eine Reihe animaler, pflanzlicher und bakterieller Viren morphologisch charakterisiert. Seine Studien fasste Helmut Ruska 1943 zur ersten naturwissenschaftlich begründeten Virusklassifizierung zusammen (zitiert in Krüger et al. 2000).

Das wachsende Struktur-Funktions-Wissen wurde um eine biologisch wichtige Dimension erweitert, als von Ardenne et al. und Anderson und Stanley 1941 Gemische von Tabakmosaikvirus und virusspezifischen Antikörpern am EM untersuchten. Diese frühen Versuche sind die Vorläufer der heute methodisch sehr vielseitigen Immun-EM. Sie ermöglicht das Studium des „antigen Make-up“ biologischer Strukturen, z. B. von Viren und Ribosomen, aber auch die Lokalisierung antigener Determinanten in der Zelle – auch in ihrer räumlichen Anordnung. Diagnostisch hilft die Immun-EM heute zur leichteren Erkennbarkeit von Viren und zu ihrer Typisierung (Überblick bei Biel und Gelderblom 1999; Hyatt und Eaton 1993; Miller und Howell 1997).

Entwicklung der EM-Erregerdiagnostik

In der Seuchendiagnostik wurde die EM schon früh zur Differenzierung von Pocken und Windpocken eingesetzt (Überblick bei Hazelton und Gelderblom 2003; Long et al. 1970). Die Einführung der Negativ-Kontrast-Methode in den 1960er Jahren (Überblick bei Harris 1997; Hayat und Miller 1990) und die zunehmende Verbreitung nutzerfreundlicher Geräte förderten den Einsatz der EM in den Biowissenschaften und besonders in der Virologie – in den 1960er und 1970er Jahren wurden Adeno-, Orthomyxo-, Paramyxo-, Picorna-, Rhabdo- und Reoviren aus diagnostischen Zellkulturen als morphologisch distinkte Virusfamilien charakterisiert.

Bei manch anderer Krankheit, wie den Hepatitiden, ergaben sich zunächst keine Erkenntnisse, weil empfindliche Zellkulturen für die Erregeranzucht fehlten. Erst in den späten 1970ern erfolgte ein Durchbruch bei diesen „fastidious agents“, als man nämlich gelernt hatte, Plasma, Urin und Faezes, also „dirty samples“ mit dem „sauberen“ Instrument zu untersuchen. Die Erreger der Hepatitis B und A wurden aus Plasma, respektive Stuhlproben Erkrankter charakterisiert, Rotaviren als wichtigste Ursache der akut-epidemischen Gastroenteritis erkannt und schließlich mit den kleineren Astro- und Caliciviren noch weitere Gastroenteritis-Viren beschrieben (Überblick bei Gentile und Gelderblom 2005; Hazelton und Gelderblom 2003; Madeley 1994).

Zum Prinzip der Morpho-Diagnose

Das Internationale Komitee zur Virusklassifizierung listete 2005 nahe 2.000 Virusspezies bei insgesamt mehr als 30.000 Pflanzen-, Tier- und Bakterien-pathogenen Virusisolaten. Diese Fülle wurde nach genetischen Eigenschaften (RNA- oder DNA-Genom und Genomkonfiguration) in mindestens 4 Ordnungen und 73 verschiedene Familien gruppiert, wovon nur 31 vertebrierten- und 26 humanspezifisch sind (Fauquet et al. 2005). Die Mitglieder einer jeden Virusfamilie sind trotz spezialspezifischer Unterschiede durch

einheitlichen Genotyp, gemeinsame Antigene, Vermehrungsstrategie und einheitliche Morphe ausgezeichnet. Die einzelnen Familien aber unterscheiden sich nicht nur genetisch, sondern eindeutig auch in Größe, Form und Feinstruktur. D. h. jedes Virusteilchen kann nach Negativkontrastierung aufgrund seiner Morphe schnell und eindeutig einer bestimmten Familie zugeordnet werden. Nicht selten – wie bei Circo-, Pocken-, Reo- und Retroviren – ergibt sich dabei auch eine taxonomisch noch genauere Zuordnung zu einem bestimmten Genus innerhalb einer Virusfamilie (► Abb. 7 und 9).

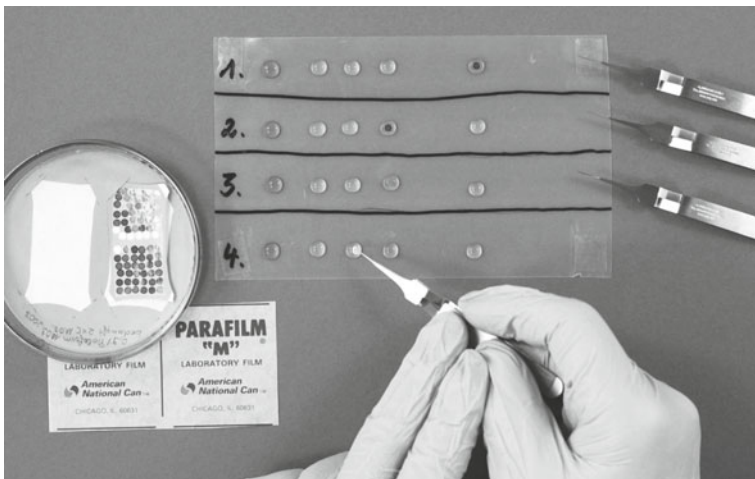
Virusfamilien unterscheiden sich auch in Bezug auf ihre Wirts- und Zellspezifität und die Wechselwirkung mit ihrer Wirtszelle. Um neben der Partikelmorphe auch Unterschiede in der Virus-Formierung und -Freisetzung zu erfassen, wird die Ultradünnschnitt-Methodik eingesetzt.

Vorteile der EM-Erregerdiagnostik

Die Probenvorbereitung für die morphologische Diagnostik erfolgt ohne den Einsatz teurer, erregerspezifischer Reagenzien überwiegend auf zwei Wegen. Bevorzugt wird die Negativ-Kontrastierung von Partikelsuspensionen (► Abb. 5) – technisch einfach und in der Tat die schnellste und kostengünstigste virologische Methode. Sie wird ergänzt durch die aufwändigere Ultradünnschnitt-EM, die insbesondere bei unklaren Negativ-Kontrast-Befunden diagnostisch weiterhelfen kann. Die in praxi erreichte Auflösung von

2–3 nm und der „offene Blick“ beider Verfahren ermöglichen, jeden auf dem EM-Trägernetz (► Abb. 5) befindlichen Erreger, auch kleinste Viren, auch Mehrfachinfektionen zu entdecken und morphologisch einer der bekannten Virusfamilien zuzuordnen – oder als gänzlich „neu“ zu bewerten (Hazelton und Gelderblom 2003; Goldsmith und Miller 2009). Auch ohne dass der Erreger zuvor typisiert worden wäre, gibt die EM-Diagnose („Orthopoxvirus“, „Rotavirus“, „Mitglied der Adenoviridae“) – zusammen mit der Patientenvorgeschichte – Hinweis auf die vorliegende Erkrankung und für die notwendigen Therapie- und/oder Quarantäne-Maßnahmen. Die Negativkontrast-EM-Diagnose ist schnell und sicher. Sie kann binnen 15 min nach dem Eintreffen der Probe im EM-Labor vorliegen – und sie ist sicher, weil die Feinstruktur des beobachteten Erregers zusammen mit den Patientendaten eine interne Qualitätssicherung ergibt: Sie kann auch „extern“ überprüft werden (Johnsen et al. 2006). Als Differenzialdiagnose (DD) kann sie den Verdacht auf eine klinisch schwerwiegende Infektion bestätigen, häufiger aber wird sie diese ausschließen. All dies macht die EM-Diagnostik für den öffentlichen Gesundheitsdienst, für den einzelnen Patienten und für die Labormedizin zu einer universell einzusetzenden Methode (► Tab. 2).

Die EM wird daher nicht nur bei virologischen, sondern auch bei bakteriellen und parasitären Fragen diagnostisch genutzt (Curry et al. 2006; Gelderblom 2003; Goldsmith und Miller 2009). Da die meisten



► **Abb. 5.** Drei-Schritt-Methode der Negativ-Kontrastierung. Die EM-Trägernetze (Grids) werden auf der Probe (links) schwimmend für 5–30 s zur Partikeladsorption gelagert, dann nach rechts zum Freiwaschen von störenden Salzen über A. bidest bis auf den Kontrastmitteltropfen geführt. Nach wenigen Sekunden wird das Grid abgenommen, mit einem Streifen Filterpapier von überschüssigem Stain befreit und nach kurzer Lufttrocknung am EM ausgewertet (nach Gelderblom 2003) (Eine farbige Version der Abbildung finden Sie auf der beiliegenden CD und im Web unter www.springer.de/978-3-642-17157-4)

vertebratenspezifischen Virusfamilien zugleich bei Mensch und Tier vorkommen, häufig auch als Zoonose, ist die gemeinsame Diagnostik von Human- und Veterinärproben organisatorisch mehr als sinnvoll.

Nachteile der EM-Erregerdiagnostik

Den Vorteilen der EM im Bereich der Labormedizin stehen spezifische „Schwächen“ gegenüber. Die Ausrüstung selbst ist häufig teuer, die Ergebnisse hängen sehr von Motivation und Erfahrung bei den Mitarbeitern ab, und die Diagnose führt, wie bereits erwähnt,

oft direkt nur auf die Erregerfamilie, nicht auf den vorliegenden Virustyp. Sie ist auch vergleichsweise wenig sensitiv; Partikelkonzentrationen unter 10⁶ Teilchen pro ml erfordern einen höheren Präparations- oder Zeitaufwand. So gilt für die Routine: um auch Proben mit niedrigerem Partikelgehalt und/oder Mehrfach-Infektionen zu erfassen, sollte ein Präparat 15 min (oder 10 „Felder“ auf dem 400 mesh Grid) abgesehen werden. Damit eignet sich die EM aber wenig für den Durchsatz großer Probenreihen und, anders als bei vielen alternativen Labormethoden, können Probenvorbereitung und Auswertung hier kaum automatisiert werden. Zum Glück stehen aber nicht nur Anreicherungsverfahren für die EM (Biel und Gelderblom 1999; Laue und Bannert 2010), sondern alternativ auch andere, kommerzielle Labormethoden mit hoher Sensitivität und Spezifität zur Verfügung. In der Tat haben heute Nukleinsäure-Amplifikations-Verfahren (klassische PCR, real-time-PCR) und Antigen-Assays (ELISA) die EM weitgehend aus der Routine verdrängt. Dieser Rückzug ermöglicht andererseits, die EM auf wirklich dringende Indikationen zu fokussieren. Die geringe Sensitivität von 10⁶ Partikeln pro ml muss auch nicht zum Nachteil werden, denn klinische Proben enthalten oft sehr viel höhere Konzentrationen. So liegen in den Hautläsionen bei fieberhaften vesikulären Erkrankungen, bei der DD Pocken-Windpocken, aber auch in Hirn- und Warzengewebe, in Stuhl, Urin und Serum oft Partikelkonzentrationen von über 10¹⁰ pro ml vor. Schließlich wird das „Limit“ von 10⁶ auch dadurch relativiert, dass die EM – im Gegensatz zur Anzucht – auch die in hohem Überschuss gebildeten nicht infektiösen Virusteilchen detektiert.

▣ **Tab. 2. Indikationen für den Einsatz der EM-Erregerdiagnostik**

Indikation	Beispiel
Notfall-Diagnostik als „Rapid Viral Diagnosis“: bei klinischem Verdacht, bei ungewohntem Krankheitsbild durchgeführt als „direkte EM“	In klinisch kritischen Situationen: z. B. bei Windpockenverdacht auf Säuglingsstation oder bei „re-emerging infections“ wegen Immunschwäche (Transplantation, HIV-Infektion): Proben-Gewinnung oft direkt aus der Läsion
Seuchen-Schnelldiagnostik bei Verdacht auf „emerging infections“ oder BT, auch als schnelle Differenzialdiagnose	In epidemiologisch kritischen Situationen und beim Fehlen erregerspezifischer Methoden. Differenzialdiagnose: Orthopocken versus Windpocken
„offener Blick“ für die schnelle Erregersuche bei einem möglicherweise breiten Erregerspektrum	„catch-all“-Methode bei Verdacht auf breites oder unbekanntes Erregerspektrum, z. B. bei Gastroenteritis, BT-Verdacht, Hautläsionen
Nach Kultivierung eines unbekanntes Agens: Abkürzung der klassisch-konventionellen Labordiagnostik	Zytopathischer Effekt in diagnostischen Zellkulturen: Erregersuche im Zellkulturüberstand und/oder nach Frieren/Tauen im Zellaufschluss
Qualitätssicherung in der Routinediagnostik und in der Produktion von biomedizinischen Produkten	Gefordert durch GLP-/GMP-Vorschriften zur Überprüfung von Methoden, zum Ausschluss von Kontaminanten, zur Charakterisierung von Impfstoffen, Antikörpern

Indikationen zur EM-Erregerdiagnostik

Auch PCR und ELISA haben ihre Schwächen. Für ihren Einsatz benötigen sie *a-priori*-Wissen, mindestens aber eine Idee über das wahrscheinliche Erregerspektrum. Bei verändertem antigenem Make-up versagen Antigenassays, weil sie den vermuteten Erreger nicht mehr erkennen, und die PCR entdeckt nur solche Sequenzen (und damit entsprechende Erreger), für die passende, nukleinsäurespezifische Primer bereitstehen. Die PCR-Reaktion kann auch durch Bestandteile in der Probe gehemmt werden und schließlich gibt es für eine Reihe seltener Keime noch keine kommerziell verfügbaren Reagenzien. Aus all dem ergibt sich, dass die Labordiagnostik sich nicht monoman auf eine einzelne Methode stützen darf. Richtig eingesetzt ergänzen sich PCR und EM, und wann immer eine schnelle und sichere Diagnose gefordert ist, sollte der „offene Blick“ der EM parallel mit anderen front-line Methoden genutzt werden (Gelderblom 2003; Hazelton und Gelderblom 2003; Johnsen et al. 2006).

Die Vorteile der EM wurden 2003 deutlich, als der Erreger des SARS aus einer diagnostischen Zellkultur mithilfe der EM als ein Coronavirus identifiziert wur-

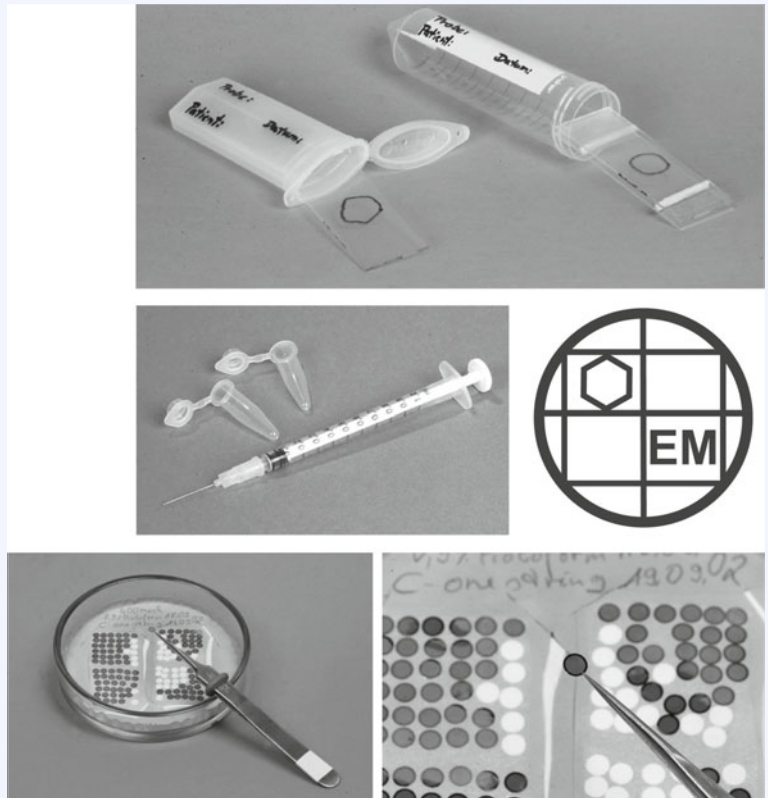


de. Diese Familiendiagnose beschleunigte die endgültige Charakterisierung des neuartigen Erregers (Ksiazek et al. 2003). Ähnlich bei einem Ausbruch von Affenpocken beim Menschen in den USA: Die unklare Infektion wurde nach 10 Tagen der Unsicherheit erst durch die EM als Orthopocken-Zoonose erkannt (Reed et al. 2003). Angesichts diagnostisch schwieriger „emerging“ oder „re-emerging infections“, angesichts ungewohnter Krankheitsverläufe bei immunsupprimierten Patienten und eines kaum zu kalkulierenden Bioterrorismus-(BT-)Risikos ist die EM für die Notfalldiagnostik essenziell (Gelderblom 2003; Hazelton und Gelderblom 2003; Madeley 2003). Als schnelle und sichere „catch-all“-Methode ist sie auch angezeigt, wenn mehrere Keime ätiologisch zur Debatte stehen, wie bei einem Gastroenteritis-Ausbruch, oder zur Abklärung eines zytopathischen Effekts in der Zellkulturdiagnostik. Schließlich wird die EM auch zur Qualitätssicherung im Viruslabor und bei der Herstellung von Bioprodukten (Impfstoffe, monoklonale Antikörper) eingesetzt (► Tab. 2). In der Tat ist die EM einzig geeignet, auch das Unerwartete für die Diagnostik zu visualisieren.

Probensammlung und -transport

Die Art der Probengewinnung, Transport und Präparation können den Untersuchungsgang und das Ergebnis erheblich beeinflussen. Für die EM sind die in der Labormedizin gern genutzten Watte- oder Papier tupfer nicht ideal, denn das hier eingetrocknete Material lässt sich nur unter großen Verlusten resuspendieren. Geeigneter sind das „Abklatschen“ von Vesikelflüssigkeit auf einen Objektträger oder die Entnahme mittels Kapillare oder kleinkalibriger Kanüle (► Abb. 6). Optimal erfolgt die Materialgewinnung bei der „direkten EM“: dabei wird das EM-Trägernetz (Grid) vorsichtig auf den Boden der Läsion getupft: hier, in der Epidermis, werden die differenzialdiagnostisch in Frage kommenden Herpes- und Pockenviren in großen Mengen produziert (Gelderblom 2003). Vor dem Transport in das EM-Labor – vorzugsweise noch am Krankenbett – werden die Proben inaktiviert (► Biologische Sicherheit).

Proben für die EM können gekühlt bei 4 °C oder – kurzzeitig – bei Umgebungstemperatur transportiert werden. Wiederholtes Frieren und Tauen zerstört die Feinstruktur labiler Viren und ist daher zu vermeiden. Der Probentransport erfolgt in verschlossenen Behältern mit Umverpackung, entsprechend den internatio-



■ **Abb. 6.** Gewinnung von Vesikelpollen für die EM-Erregerdiagnostik. Alle Methoden – vom konventionellen „Abklatschen“ auf Glasobjektträger (oben) bis zur „direkten EM“ können mit einer frühen Formaldehyd-Inaktivierung kombiniert werden (nach Gelderblom 2003) (Eine farbige Version der Abbildung finden Sie auf der beiliegenden CD und im Web unter www.springer.de/978-3-642-17157-4)

nal geltenden Versandbestimmungen für diagnostische Proben.

Prinzipien der Probenpräparation

Die EM-Erregerdiagnostik benötigt keine aufwändigen high-tec-Instrumente, keine Kryo-Tomographie, sondern ein konventionelles, simples Transmissions-EM (TEM), das Negativ-Kontrast-Präparate oder Ultradünnschnitte mit ihrer typischen Schichtdicke von 40 bis 80 nm bei der hier optimalen Beschleunigungsspannung von 60 bis 100 kV gut durchstrahlt. Bakterien und Viren bestehen, wie andere biologische Proben, wesentlich aus leichten Atomen – sie besitzen entsprechend wenig Massendichte. Aber erst eine hohe Dichte ergibt eine intensive Wechselwirkung der im TEM erzeugten Elektronen mit dem Objekt und erzeugt über Elektronenabsorption und -streuung ein detail- und kontrastreiches Bild. Die notwendige Massendicke wird in der Präparation durch Negativ- oder Positivkontrastierung erzeugt.

Negativ-Kontrastierung

Für die EM-Darstellung diagnostischer Suspensionen ist die Negativ-Kontrastierung die Methode der Wahl – sie zeigt jedes Virion schnell, kostengünstig und in hoher Auflösung (Biel und Gelderblom 1999; Gelderblom 2003; Goldsmith und Miller 2009; Hazelton und Gelderblom 2003). Auf Glas-Objektträgern ange trocknete Vesikelproben werden dafür in einem geringen Volumen destillierten Wassers resuspendiert, Pockenkrusten zunächst darin „vorgeweicht“. Stuhlproben werden als 10–30 %-Suspension in destilliertem Wasser homogenisiert, zentrifugiert, als Überstände negativ kontrastiert und am EM ausgewertet: Die hier – allein schon beim Menschen – nachweisbaren Viren sind nach ihrer Häufigkeit: Rota-, Noro-, Sappo-, Adeno-, Picorna-, Astro-, Corona-, Reo-, Entero-, Breda- und andere Viren. Nicht selten gelingt hier auch der Nachweis von Doppel- und Mehrfachinfektionen und neben Bakterien, die in der Norm bis zu einem Drittel der Stuhlmasse ausmachen, finden sich auch oft verschiedene Phagenformen.

Biopsie- oder Autopsiegewebe wird zunächst in Kuben von 1 mm Kantenlänge geschnitten und dann mechanisch im Mörser homogenisiert. Aus diagnostischen Zellkulturen kann Virus bei fortgeschrittenem Zellschaden oft schon direkt aus dem Überstand dargestellt werden. Intrazelluläres Virus wird zuvor durch wiederholtes Frieren/Tauen in einem kleinen Volumen destillierten Wassers freigesetzt.

Vor der Kontrastierung werden Suspensionen allgemein niedrigtourig zentrifugiert ($800\text{--}2.000 \times g$, 15–20 min), d. h. von groben Zelltrümmern, Bakterien und anderem Detritus „geklärt“ (Biel und Gelderblom 1999; Hazelton und Gelderblom 2003). Erweist sich eine verdächtige Probe nach 15 min Durchmusterung am EM als „partikelnegativ“, sollte sie zunächst ange-

reichert werden (► Partikelanreicherung). Serumproben enthalten oft große Mengen an (Lipo-)Protein, das die im Präparat enthaltenen Virusteilchen „verschleiern“ kann. Um den Anteil solcher und anderer „klein-molekularer Kontaminanten“ zu drücken, werden Seren vor der Ultrazentrifugation 3–5fach mit destilliertem Wasser verdünnt. Im Gegensatz zu Rachenspülwasser und Tränenflüssigkeit enthalten Liquorproben nur selten für die EM ausreichende Virusmengen. Sputum und andere visköse Proben können in PBS verdünnt und mit 20 % n-Acetyl-Cystein verflüssigt werden (Gentile und Gelderblom 2005).

Ultradünnschnitt-EM

Die Negativ-Kontrast-EM wird sehr vorteilhaft durch die Auswertung von Ultradünnschnitten ergänzt: Solide Gewebe, Zellkulturverbände oder (Ultra-)Zentrifugensedimente werden dafür als Blöckchen (< 1 mm) zunächst chemisch durch Aldehyde und Osmium vorfixiert, nach Einschluss in Agarose durch Schwermetallsalze wiederum chemisch, d. h. positiv kontrastiert und nach Entwässerung in Kunstharz eingebettet. Die polymerisierten Proben werden dann am Ultramikrotom geschnitten: 40–80 nm dicke Schnitte werden mit Blei- und Uransalzen nachkontrastiert und am EM ausgewertet. Der Schnitt visualisiert – anders als das Negativ-Kontrast-Präparat – auch das Innere von Zellen und Viren. Konventionell durchgeführt benötigt die Methode aber 4–5 Tage, doch ermöglichen moderne, schnelle Methoden (Überblick bei Schröder et al. 2006) inzwischen eine „same-day“-Diagnose bei immer noch vergleichsweise hohem Aufwand.

Raster-Elektronenmikroskopie (SEM)

Solide Materialien, auch Bakterien aus Kulturen und besonders die bei BT-Verdacht anfallenden „Umweltproben“ („weiße Pulver“ im Brief, Abstrich, Bodenprobe) können auch durch SEM analysiert werden. Zum Nachweis der gefürchteten Anthraxsporen wird die Probe zunächst durch Aldehyde inaktiviert, über Alkohol entwässert, am kritischen Punkt getrocknet und zur Erzeugung der Leitfähigkeit schließlich im Sputtercoater dünn mit Metall beschichtet. Zweifellos schneller als die Ultradünnschnitt-Methode zeigt die SEM aber nur Partikeloberflächen.

Essentials für die Negativ-Kontrastierung

Sie erfordert gut durchstrahlbare, d. h. dünne und dennoch stabile, hoch adhäsive, d. h. hydrophile Grids. Ohne feste Haftung wird das Gros der adsorbierten Teilchen bei der Kontrastierung gewegwaschen. Bewährt haben sich 400-mesh-Kupfergrids mit quadratischen, $30 \times 30 \mu\text{m}$ messenden „Fenstern“ (► Abb. 5 und 6). Sie sind mit einem transparenten Kunststofffilm (Pioloform[®], Formvar, Kolloidum) überspannt: Für sich allein thermisch wenig stabil, wird er zur besseren Wärmeableitung durch eine 2–10 nm dünne, im

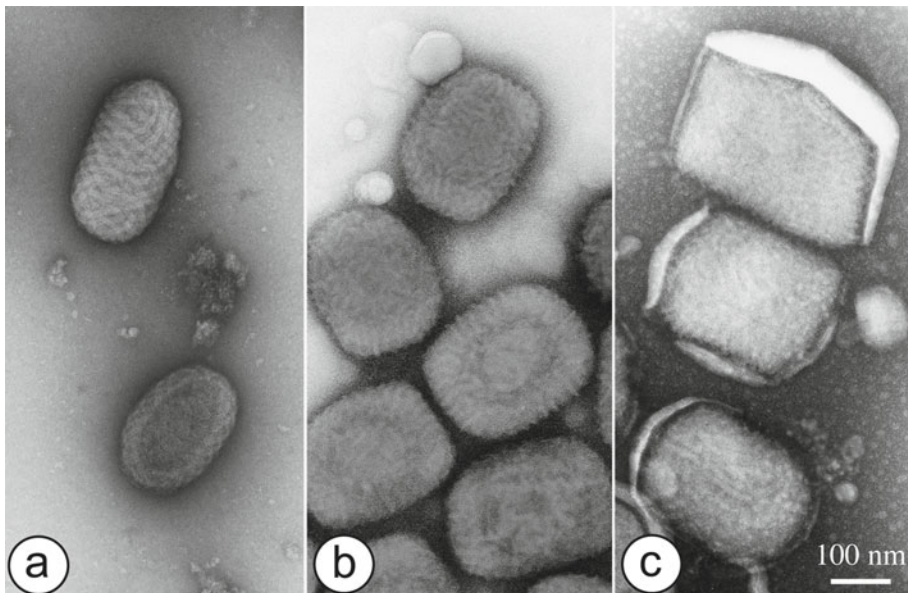
Vakuum aufgedampfte Kohleschicht verstärkt. Kohleschichten sind primär aber häufig sehr hydrophob – die starke Bindung von Virus am Grid erfordert aber eine Vielzahl von Ladungsgruppen. Diese lassen sich zuverlässig durch Glimmentladung in einer Vakuumapparatur erzeugen: hier ergibt die Spaltung von Kohlenwasserstoff-Kontaminanten aus dem Restvakuum der Apparatur die gewünschte starke Ionisierung. Alternativ kann diese auch durch eine Behandlung mit poly-L-Lysin, Alcian Blau, Bacitracin, UV-Licht u. a. erzeugt werden. Hoch adhäsive Grids sind essenziell, sie helfen „falsch-negative“ Befunde zu vermeiden (Hayat und Miller 1990; Hazelton und Gelderblom 2003; Laue und Bannert 2010). Befilmte, „konditionierte“ Grids sind im Handel verfügbar. Andererseits ist die Herstellung im EM-Labor nicht aufwändig – sie ermöglicht überdies auch eine bessere Kontrolle der Grid-Eigenschaften.

Außer den Grids werden für die Negativ-Kontrastierung ein Becher mit Brucheis zur Probenkühlung und eine niedertourige Laborzentrifuge benötigt, dazu spitze Pinzetten zum Transport der Grids, kalibrierbare Pipetten, Parafilm[®] zum Auslegen von Probe, Waschflüssigkeit (destilliertes Wasser), Kontrastmittel („Stains“

= Schwermetallsalzlösungen), schmale Streifen von Filterpapier zum Entfernen überflüssiger Flüssigkeit („blotten“) und schließlich mit Filterpapier ausgelegte Petrischalen oder kommerziell erhältliche „Gridboxen“ zur Aufbewahrung der Grids.

Methodik der Negativ-Kontrastierung

Der Prozess besteht aus den drei Schritten: adsorbieren, waschen, kontrastieren (► Abb. 5). Auf Parafilm[®] wird ein Tropfen der Probe aufgebracht, auf diesen werden ein oder mehrere Grids zur Adsorption für 5–30 s aufgelegt. Auch längere Adsorptionszeiten – in der feuchten Kammer, auch über Nacht – sind möglich und gelegentlich von Vorteil. Um störende Ionen zu entfernen, wird das Grid mit der adsorbierten Probe auf mehreren Tropfen A. bidest gewaschen (jeweils für 2–10 s) und dann für 2–10 s auf dem Kontrastmitteltropfen (Stain) abgelegt. Überschüssiger Stain wird mit Filterpapier entfernt. Das Präparat darf bis dahin nicht trockenfallen und kann dann, nach kurzer Lufttrocknung, am EM untersucht werden. Zur hier geschilderten Parafilm[®]-Methode gibt es auch zum Teil komplexere Alternativen (Präparation von Parti-



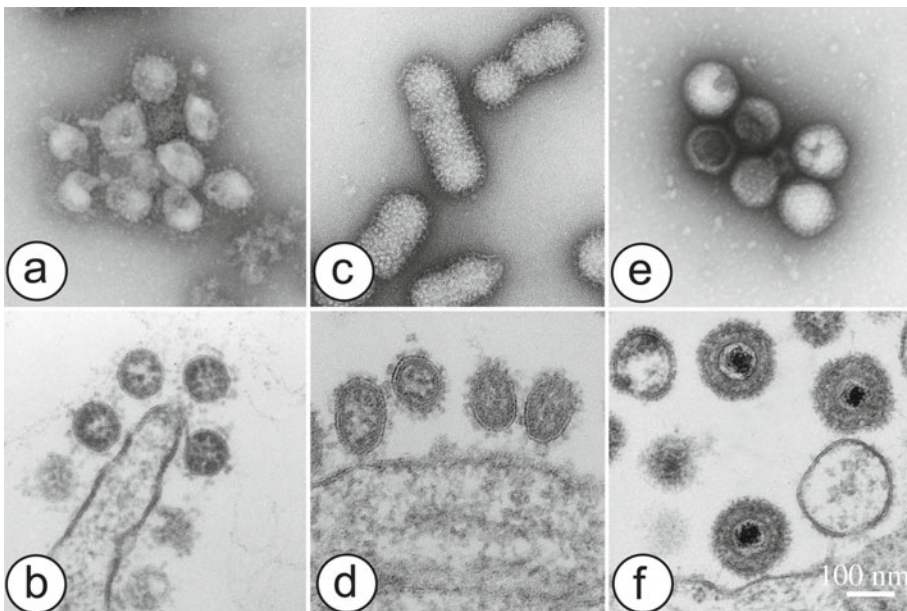
▣ **Abb. 7.** Drei Mitglieder der Pockenvirusfamilie, dargestellt nach Negativ-Kontrastierung mit 1 % Uranylacetat (UAC). (a) Paravacciniavirus des Rindes, ein Mitglied des Genus Parapoxvirus. Die beiden Teilchen zeigen ovalen Umriss, das obere darüber hinaus die typischen, das Virion parallel und komplett umlaufenden Oberflächendifferenzierungen. Das untere Virion ist zum Teil vom Kontrastmittel penetriert. (b) Wie alle Orthopockenviren ist das Vacciniavirus eher quaderförmig und zeigt nur kurze Oberflächengrater. (c) Kanarienvirus, Genus Avipoxen, sind nicht nur größer als (a) und (b), sondern tragen auch noch die Reste einer zusätzlichen Hülle. Vergrößerung a–c: 80.000-fach

kel-Stain-Gemischen, Spray-, und Pinzetten-Methode: siehe Hayat and Miller 1990; Laue and Bannert 2010). Kontrastiert wird mit wässrigen Schwermetallsalzlösungen, bevorzugt mit Phosphorwolframsäure (PTA, 1,0–4,0 % mit NaOH auf pH 6,5–8,5 eingestellt – gelegentlich auch weit höher) und Uranylacetat (UAc, 0,5–2 % ungepuffert, pH 2,5–3,0). PTA und UAc unterscheiden sich u. a. in ihrer Verteilung auf dem Grid, ihrer Korngröße (Auflösung), Empfindlichkeit gegenüber dem Elektronenstrahl und der Qualität der Membrandarstellung (▶ Abb. 7a–c; Abb. 8a, c, e; Abb. 9; Abb. 10). Abhängig von den Ladungseigenschaften von Probe und Grid verteilt sich häufig nur ein Stain optimal über Partikel und Gridoberfläche, während der andere hydrophob kristallisiert und verklumpen kann – bei unbekanntem Proben sollten daher beide parallel eingesetzt werden. Neben PTA und UAc gibt es weitere Stains, die aber nicht so universell einsetzbar sind (Harris 1997; Hayat und Miller 1990). Bei der

Negativ-Kontrastierung reagiert der Stain nicht mit den chemischen Gruppen des Objekts, er umhüllt nur das Virion lediglich mit einer elektronendichten, opaken Masse. Erst bei längerer Inkubation bindet insbesondere UAc chemisch an Nucleinsäure und Membrankomponenten. Auch Virusinnenbereiche können dargestellt werden, wenn der Stain über Defekte in der schützenden Hülle (▶ Abb. 7a und Abb. 8e) oder im Kapsid in das Virion eindringt. Das getrocknete Salz ist glashart, stabilisiert Viren und andere labile Strukturen und umhüllt sie als elektronendichte („dunkle“) und feinkörnige, nahezu strukturloser Masse mit hoher Auflösung.

Negativ-Kontrastierung und Artefakte

Die Kontrastierung ergibt durch das Waschen auf destilliertem Wasser und die Lufttrocknung eindeutige Schäden (▶ Abb. 9). Die Hülle membrangebundener Viren schwillt osmotisch auf, platzt und wird zum Teil



■ **Abb. 8.** Vergleich verschiedener Viren nach Negativ-Kontrastierung (oben) und im Ultradünnschnitt (unten). (a) SARS-Coronavirus mit typisch keulenförmigen Oberflächenfortsätzen (Peplomeren), direkt aus der diagnostischen Zellkultur inaktiviert und kontrastiert (Phosphorwolframsäure, PTA, 2 %). Im Ultradünnschnitt (b) zeigen die SARS-Virusteilchen ihr Ribonukleoprotein (RNP) schalenförmig unter der Lipidhülle und einen inkompletten Peplomeren-Besatz. (c) Influenzavirus Typ A, ein Orthomyxovirus, aus der Impfstoffproduktion mit dichtem Hämagglutinin-Besatz (1 % UAc), (d) Influenza Typ A an der Zelloberfläche: im Querschnitt sind direkt unterhalb der Virushülle das dichte Matrixprotein und im Innern ein Teil der RNP-Fragmente erkennbar. (e) Herpesviren, diagnostisches Präparat. Die schützende Lipidhülle ist komplett verschwunden, die sechs freiliegenden Kapside sind zum Teil vom UAc penetriert, bei anderen wird ihr Kapsomeren-Aufbau erkennbar. (f) Der Dünnschnitt zeigt drei intakte Herpesviren: Im Innern sieht man das vom UAc dunkel gefärbte DNA-Genom als Core, geschützt vom polygonalen Kapsid. Nach außen sind mäßig dunkel das Tegument und die dicht mit Oberflächenfortsätzen besetzte Virushülle sichtbar. Vergrößerung a–f: 65.000-fach

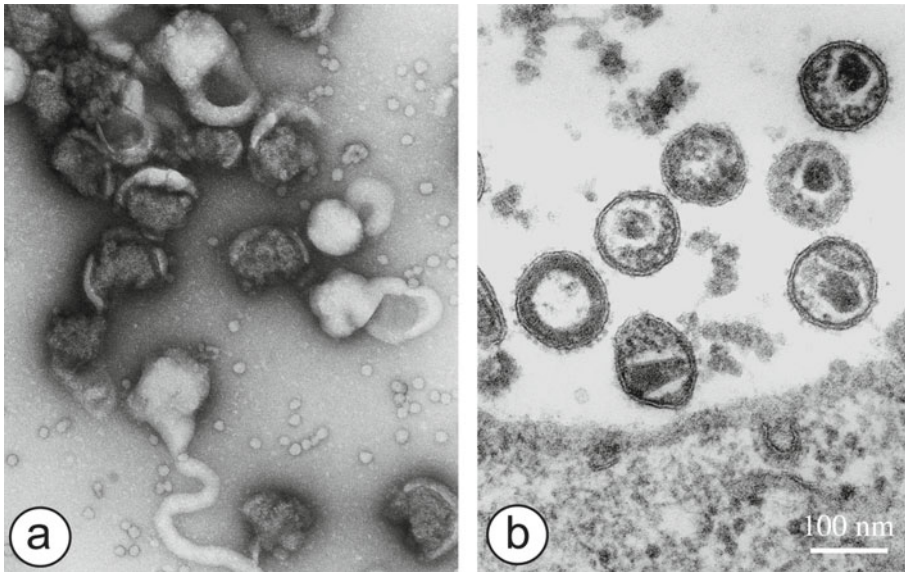


Abb. 9. Vergleich von Negativ-Kontrast- und Ultradünnschnitt-EM von HIV-2. (a) Aus der Zellkultur isolierte Virusteilchen: nach Kontrastierung mit 1 % UAC weitgehend zerstört mit Resten von Virusinnenkörper und Hülle (hell). (b) Im Ultradünnschnitt zeigen die reifen Viren ein konisches Core und Lateralkörper – typisch für die Subfamilie der *Lentivirinae*. Das unreife Virion (links) mit dem konzentrisch angeordneten Ribonukleoprotein ist dicht mit Glykoprotein-Knobs (gp120-Trimere) besetzt, während die reifen HIV-Teilchen die Mehrzahl ihrer Knobs ge-„shedded“ haben. Vergrößerung a–b: 100.000-fach

zerstört, die Kapside größerer Viren können kollabieren, Kapsidkomponenten gehen verloren und die adsorbierten Teilchen werden durch Ladungswechselwirkung abgeflacht. Solche Artefakte lassen sich nur durch eine aufwändige Gefrierpräparation vermeiden (Überblick zu modernen Präparationsmethoden bei Grünwald und Cyrklaff 2006). Andererseits können gerade Artefakte bei der EM-Diagnose helfen, wenn nämlich diagnostisch signifikante, aber normalerweise nicht zugängliche Innenstrukturen, wie das Kapsid von Herpes- oder das Ribonukleoprotein (RNP) von Paramyxoviren, durch die labilisierte Membran hindurch kontrastiert werden.

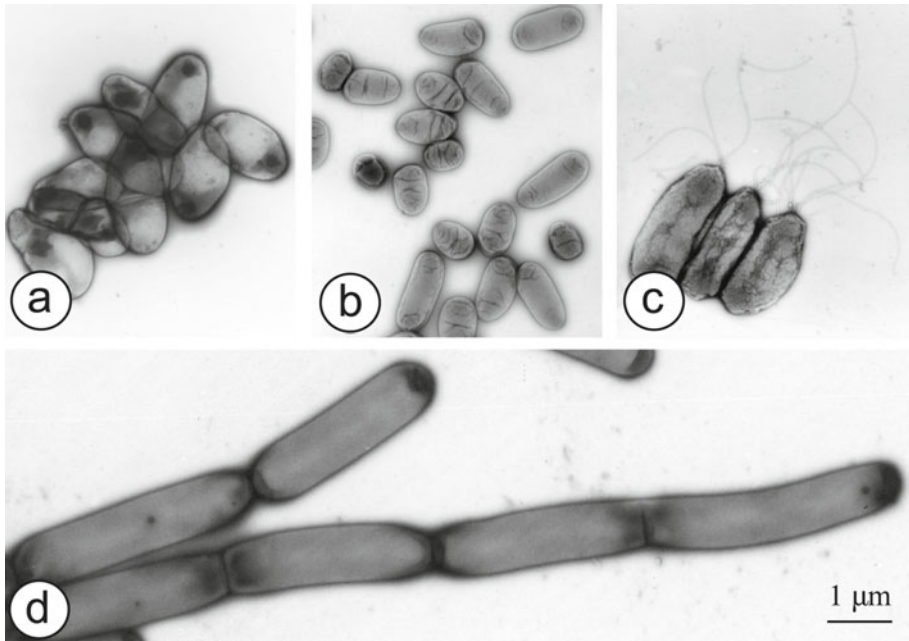
Die konventionelle Negativkontrastierung versagt jedoch bei der Darstellung osmotisch sehr labiler Viren. So können Retroviren (► Abb. 9) nur nach Gefrierpräparation oder im Ultradünnschnitt mit gutem Strukturerehalt abgebildet werden. Die im konventionellen Ultradünnschnitt erzielte Auflösung von 2–3 nm ermöglichte schon in den 1980er Jahren die Klassifizierung der Retroviren in auch genetisch einheitliche Subfamilien, die frühe Einordnung des HIV in die Subfamilie der Lentiviren, bei HIV die Ableitung von Pathomechanismen und auch schon die Darstellung seiner Glykoprotein-Trimere (Überblick bei Gelderblom 1991). Die Trimer-Struktur wurde erst

15 Jahre später durch Kryo-Tomographie bestätigt (zitiert in Grünwald und Cyrklaff 2006).

Messen und Zählen in der EM-Erregerdiagnostik

Bei unbekanntem Strukturen oder morphologisch nicht immer leicht zu differenzierenden Viren (Reovs. Rota-, Polyoma- vs. Papilloma-) kann die *prima-vista*-Diagnose durch Messungen gestützt werden. Bei der Bestimmung von Partikeldurchmessern ist jedoch zu beachten, dass biologische Strukturen bei Adsorption an das Grid mehr oder weniger abflachen – Messwerte können erheblich – auch > 50 % – über den realen Sollwerten liegen. Realistische Messungen ergeben sich, wenn nicht einzeln liegende Teilchen, sondern dichte Partikelpackungen – idealerweise sich selbst stabilisierende 2D-Kristalle von Viren – vermessen werden. Zur Orientierung über die Messgenauigkeit können auch in ihren Dimensionen definierte Objekte helfen, die der zu untersuchenden Suspension zugemischt und gemeinsam mit ihr ausgewertet werden. Als interne Größenmarker werden Katalasekristalle mit ihrer fixen 8,75-nm-Periode genutzt.

Konzentrationen werden mithilfe interner Mengenmarker bestimmt: Dazu werden Latexpartikel bekannter Konzentration in definiertem Volumen einem definierten Probenvolumen zugemischt. Nach Negativ-



■ **Abb. 10.** Pathogene Bakterien direkt aus der Kultur nach Negativ-Kontrastierung mit 0.5 % UAc. Die Keime zeigen morphologische Besonderheiten, die bei der EM-Diagnose helfen können. (a) *Corynebacterium diphtheriae*, keulenförmige Stäbchen, unbegeißelt mit endständigen Polkörperchen. (b) *Yersinia pestis*, der Erreger der Pest, ein kurzes Stäbchen, meistens durch den Biss eines Rattenflohes auf den Menschen übertragen. (c) *Burkholderia pseudomallei*, unipolar begeißeltes Stäbchen, infiziert in den Tropen als Melioidose den Menschen (Pneumonie, Sepsis, Hautinfektion). (d) *Bacillus anthracis*, der Erreger des Milzbrandes bei Mensch und vielen Huftieren ist ein langes, unbegeißeltes, in Ketten wachsendes Stäbchen. Vergrößerung a–d: 8.000-fach

kontrastierung oder im Ultradünnschnitt und nach Auszählung am EM ergibt sich die gesuchte Konzentration aus dem Zahlenverhältnis für den bekannten Mengenmarker und den zu bestimmenden Partikeln (Überblick bei Zheng et al. 1996).

Effiziente Diagnostik durch Partikelanreicherung

Ein konventionell präpariertes Grid trägt das Äquivalent von $< 1 \mu\text{l}$ der Probe. Die Auswertung partikelarmer Suspensionen erfordert daher – besonders bei kleinen Viren – einen nicht vertretbaren Zeitaufwand. Sie können aber zuvor durch Ultrazentrifugation oder Immuno-Affinitätsmethoden angereichert werden (Überblick bei Biel und Gelderblom 1999; Miller und Howell 1997). Dazu werden die Viren in der konventionellen Ultrazentrifuge ins Sediment gefahren (rotorabhängig, z. B. 60 min bei $100.000 \times g$). Die Sedimente werden in einem kleinen Volumen destillierten Wassers aufgenommen, „klär-zentrifugiert“ und dann als Überstände ausgewertet. Benötigt werden dabei nicht nur relativ große Probenmengen und > 2 Stunden an Präparation, sondern auch eine teure Investition. Die kleine, mit Druckluft getriebene Beckman

Coulter Airfuge[®] ermöglicht im Festwinkelrotor A-100/18 mit speziellen Adaptern eine sichere, direkte Partikelsedimentation auf das Grid – sie ergibt in der Routine nach 15–20 min Laufzeit eine 50–1.000fache Anreicherung (Hazelton und Gelderblom 2003; Laue und Bannert 2010). Agar-Diffusion und -Filtration sind dagegen einfache Methoden, die um den Faktor 5 anreichern und zusätzlich „saubere“ Präparate ergeben. Die Anreicherung kann auch erregerspezifisch mithilfe spezifischer Antikörper in der Solid Phase Immuno EM (SPIEM) und in der Serum-in-Agar-Methode erfolgen (Überblick bei Biel und Gelderblom 1999). Besonders vorteilhaft ist die Kombination von SPIEM und Airfuge-Sedimentation (Antonio Lavazza, Brescia, personal communication 2006).

Kriterien zur Erregeridentifizierung

Das visualisierte Teilchen wird über seine Feinstruktur identifiziert. Dabei dienen neben Größe und Form der Aufbau und die Symmetrie des Kapsids, die An- oder Abwesenheit einer Lipidhülle, eines Ribonukleoproteins, schließlich auch die Art der Virusoberflächen-Fortsätze (Spikes, Knobs, Fibern) als Kriterien:

Auf Erfahrung gegründetes „Pattern-Recognition“ ordnet die verdächtigen Partikeln rasch und direkt einer bestimmten Virusfamilie zu. Eine Typisierung, z. B. die Differenzierung der beobachteten Herpesviren in Varizella zoster, Herpes simplex Typ 1 oder 2 (heute: HHV-1/-2), kann dann – auch am EM – mithilfe typspezifischer Antikörper durch Immun-Aggregation oder -Dekoration erfolgen. Beide IEM-Methoden haben sich in der Vergangenheit bei der Identifizierung von nicht kultivierbaren Agenzien, wie Hepatitis-C-, Norwalk- und Parvovirus B19, bewährt (Überblick bei Gentile und Gelderblom 2005; Hazleton und Gelderblom 2003).

Biologische Sicherheit in der EM-Erregerdiagnostik

Neben dem Befolgen von Good Laboratory Practices (GLP-)Richtlinien ist auch stringente Laborsicherheit gefordert. Präpariert werden darf nur unter geeignetem Schutz (Handschuhe, Kittel, Schutzbrille, Laminar Flow Biosafety Kabine der Klasse 2), denn diagnostische Proben können bekannte und unbekannt Erreger mit einem Gefährdungspotenzial für das Laborpersonal, aber auch für die Umwelt, enthalten. Gute Strategie ist es, keine hoch-infektiösen Proben in das EM-Labor kommen zu lassen, d. h. potenziell in der Probe enthaltene Erreger möglichst schon vor dem Transport durch Aldehyd zu inaktivieren (Gelderblom et al. 2007). So ist bei Pockenalarm vorgesehen, separate Proben für PCR, Anzucht und EM aus Vesikeln oder Krusten zu entnehmen und dabei die EM-Probe mit gepuffertem, 4 % Formaldehyd (FA) Formaldehyd zu behandeln.

Diese chemische Erregerinaktivierung erhält die für die EM-Diagnostik wichtige Virusfeinstruktur – ist aber letztlich nur ein Kompromiss: Manche Viren werden schon durch 2 % FA inaktiviert, während andere nur eine Infektiositätsabreicherung zeigen. Milzbrandsporen werden dagegen erst durch 10 % FA und 0,05 % Glutaraldehyd (GA) inaktiviert. Hohe GA-Konzentrationen sind zu vermeiden – sie führen generell zu einer Vernetzung von Viren mit dem in der Probe enthaltenen Detritus, zur Partikelaggregation und zu Verlusten an Strukturdetail (diskutiert in Gelderblom et al. 2007). Pinzetten und andere Ausrüstung müssen gründlich gereinigt werden, um eine Verschleppung von Proben zu vermeiden. Auch Grids bergen ein Gefahrenpotential durch schwer oder gar nicht durch Aldehyd inaktivierbare Erreger wie Parvoviren und BSE: Entsprechend sollten bereits ausgewertete Grids in 1 % NaOH entsorgt werden. Biologische Sicherheit wird also auf zwei Wegen angestrebt: durch strikte Einhaltung der Sicherheits- und GLP-Regeln und durch Probeninaktivierung.

Qualitätssicherung in der EM-Erregerdiagnostik

Die Qualität der morphologischen Diagnostik wird

durch spezifische Fortbildung, regelmäßige Teilnahme an einschlägigen Ringversuchen (EQA-EMV; Gelderblom 2003) und zunehmend auch durch Akkreditierung gesichert. Laborkurse, Workshops und EQA werden weltweit und kostenfrei vom Konsiliarlabor für die EM-Erregerdiagnostik am Robert Koch-Institut in Berlin (Leitung Dr. Michael Laue, lauem@rki.de) angeboten. Am nunmehr 23. EQA nahmen 107 Laboratorien aus 31 Ländern teil.

Zur Organisation und Zukunft der EM-Erregerdiagnostik

In Deutschland wird die EM in über 40 Laboratorien auch zur Erregerdiagnostik eingesetzt – überwiegend an Universitäten, aber auch im öffentlichen Gesundheits- und Veterinärwesen, auch bei Industrie und Bundeswehr. Europa- und weltweit werden EM-diagnostische Laboratorien überwiegend an Universitäten und zentralen Gesundheitsbehörden betrieben, um so mindestens auch für die Leit-Institute und die Politik eine schnelle Notfalldiagnostik sicherzustellen. Insbesondere durch die BT-Problematik besteht ein gesteigertes Interesse an der EM-Diagnostik. Der Probenumsatz an Universitäten ist nicht immer hoch – er liegt im Bereich von oft nur einigen 100 Proben pro Jahr. Als Maximum hatte ein nationales Labor im Jahr 2002 mehr als 9.200 Stuhlproben ausgewertet.

Die Erregerdiagnostik muss nicht zur Hauptaufgabe eines EM-Labors werden. Bei guter Organisation ist sie auch im Verbund mit anderen Ultrastruktur-Aufgaben in Virologie, Pathologie, Dermatologie etc. und selbst ohne „eigenes“ Instrument und ohne EM-spezifisches Personal möglich, nämlich bei gemeinsamer Gerätenutzung im „Nachbar“-Institut. Allgemein gewinnt die EM-Erregerdiagnostik durch eine Einbindung in die biomedizinische Grundlagenforschung. Nur so wird sie über die Diagnostik hinaus „interessant“, auch wirksam, und kann ihre Qualität sichern und geeigneten Nachwuchs rekrutieren. Technische Grundlagen und erste Erfahrungen in der EM-Diagnostik lassen sich durch Laborkurse und Besuche in einem Expertenlabor erwerben. Eigene Expertise wird aber erst bei einem gewissen Probendurchsatz aufgebaut – angesichts der Wertigkeit der EM-Erregerdiagnostik sollte sie erfahrenen Laboratorien vorbehalten bleiben. Die Voraussetzungen für eine erfolgreiche EM-Erregerdiagnostik sind mithin vielfältig: Motivation, geeignete Organisation, Probendurchsatz, Netzwerkbildung und regelmäßige Weiterbildung sind notwendige Schritte zu diesem Ziel (Gelderblom 2003).

Im infektionsdiagnostischen Repertoire ist die EM als „catch-all“-Methode einzigartig durch Schnelligkeit und das Prinzip der visuellen Auswertung durch „pattern recognition“. Um diese Vorteile angemessen zu nutzen, muss die EM front-line, d. h. parallel zu PCR und Anzucht, eingesetzt werden (Gelderblom 2003;

Kurth und Nitsche 2007; Madeley 2003). Die „Familienzuordnung“ eines Erregers hilft der Klinik und fokussiert zugleich die weitere Labordiagnostik auf die Mitglieder einer einzelnen Virusfamilie. Dieses Prinzip wurde bei der Suche nach dem SARS-Erreger und der Aufklärung des Affenpockenausbruchs in den USA genutzt (Ksiazek et al. 2003; Reed et al. 2003), aber auch schon zuvor in Australien, als die EM-Untersuchung von diagnostischen Zellkulturen drei Tage vor anderen Laborergebnissen Paramyxovirus spezifische Strukturen nachwies – der erste Hinweis auf das „neue“ Hendra-Virus (Murray et al. 1995).

Den Wert einer orientierenden Schnell-Diagnostik bestätigen auch BT-Erfahrungen in den USA. Die unmittelbar nach 9/11 am 18. September und am 9. Oktober 2001 verschickten sechs Briefe enthielten bis zu 1,2 g an lungengängigen Anthraxsporen. Sie verursachten 22 klinische Infektionen und 5 Todesfälle. Untersucht wurden über 120.000 Proben, u. a. auch mithilfe von TEM und SEM. Die Zahl von 32.000 unter Antibiotikenschutz gestellten Personen lässt das Ausmaß der Verunsicherung in der Bevölkerung ahnen. Neben *B. anthracis* gibt es eine Reihe weiterer Bakterien, Viren und Toxine mit hohem Patho- und Panikpotenzial. Diese Agenzien der Kategorie A, ausgezeichnet durch leichte Ausbringbarkeit und Mensch-zu-Mensch-Übertragung und damit hochgeeignet für einen BT-Angriff, umfassen auch die „im Felde“ ausgerotteten Pocken, *Yersinia pestis*, *Francisella tularensis*, verschiedene Hämorrhagische Fiebertypen und das Botulinum-Toxin (Lane et al. 2000). Die drei Erstgenannten wurden im Biowaffenprogramm der früheren Sowjetunion produziert, und es wird diskutiert, dass Reste aus diesem Programm „überlebt“ haben und damit für BT-Angriffe verfügbar seien. Eine realistische Risikoabschätzung ist kaum möglich: Der Pockenerreger, das Variola-major-Virus, gilt „im Felde“ als ausgerottet – er hat auch kein tierisches Reservoir. Die weltweit letzten Vorräte in den zwei Referenzzentren an den CDC, Atlanta, USA und bei VECTOR in Koltsovo, Russland dienen zur Erprobung antiviraler Medikamente und Strategien. Auszuschließen ist aber nicht, dass Pockenvirus – weil übersehen oder weil mit Absicht zurückgehalten – auch noch in anderen Laboratorien vorhanden ist. Variola major mag auch durch genetische Manipulation aus apathogenen Orthopoxkernviren neu entstehen und darüber hinaus können Bakterien und Viren auch schon aus allgemein verfügbaren Grundstoffen konstruiert werden (Gibson et al. 2010). Zusammengefasst: Auch wenn das Risiko für das Auftreten einer „emerging infection“ oder eines BT-Angriffs kaum kalkulierbar ist, müssen die entsprechenden Dienste sich für den „worst case“ vorbereiten. Nur eine schnelle und eindeutige Diagnose – und dabei hilft die EM – kann die Konsequenzen für die Bevölkerung eingrenzen und öffentlicher Panik vorbeugen. Auf diesen „worst case“ darf die EM aber

nicht untätig warten – zur Wahrung von Leistung und Expertise, aber auch zur Darstellung und Anerkennung ihres Stellenwertes muss die EM auch andere infektiologische Problemfelder (► Tab. 2) intensiv und erfolgreich bearbeiten: Es ist kontraproduktiv, wenn „die EM nur für die Pocken“ vorgehalten wird, wie stellenweise zu hören ist.

Zusammenfassung

Die EM-Erregerdiagnostik hat sich in der klinischen Routine, in der Seuchen-Schnelldiagnostik der Pocken, bei neuartigen Infektionen und im BT-Fall vielfach durch Schnelligkeit und Sicherheit bewährt. Sie ist prinzipiell auch zur Qualitätssicherung in der Biomedizin und zur Diagnostik gentechnischer Konstrukte gerüstet. Auf Grund ihres „offenen Blicks“, der Unabhängigkeit von erregerspezifischen Reagenzien und der einfachen Präparation kann sie alle möglichen, auch ungewöhnlichen Proben und unerwartete Erreger visualisieren. Das Prinzip der Visualisierung, vor mehr als 130 Jahren von Robert Koch eingeführt, wurde vor 70 Jahren mit der 1000fach höheren Auflösung der EM erheblich erweitert (von Borries et al. 1938; Überblick bei Krueger et al. 2000). Die EM wird überdies heute durch moderne Methoden, durch Schnelleinbettung (Überblick bei Schroeder et al. 2006), Immun-EM und internetbasierte Telemikroskopie, ergänzt. Angesichts ihres Potenzials und ihrer Ergebnisse erscheint die EM auch in Zukunft für eine effiziente und rationale Infektionsdiagnostik (Biel und Gelderblom 1999; Curry et al. 2006; Goldsmith und Miller 2009; Hazelton und Gelderblom 2003; Madeley 2003) unverzichtbar.

Referenzzentren

- Konsiliarlaboratorium für schnelle EM-Erregerdiagnostik, Dr. Michael Laue, Robert Koch-Institut, Nordufer 20, D-13353 Berlin, E-Mail: lauem@rki.de
- Arbeitskreis für Elektronenmikroskopische Virusdiagnostik der Deutschen Gesellschaft für Elektronenmikroskopie (AK-EMED), Dr. Bärbel Hauröder, Zentral-Institut Sanitätswesen der Bundeswehr, D-56070 Koblenz, Andernacherstrasse 100, E-Mail: b.hauroeder@zinstkob.de
- Homepages / Webadressen mit weiterführender Information
- Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA 30333, USA: <http://www.bt.cdc.gov/labissues/index.asp> = Website der CDC, klick: Packaging Protocols for biological Agents/Diseases, Negative Staining Electron Microscopic Protocol for Rash Illness
- <http://www.bt.cdc.gov/agent/smallpox/lab-testing/> klick: Specimen Collection Guidelines
- Deutsche Gesellschaft für Elektronenmikroskopie (DGE) und Arbeitskreis für EM-Erregerdiagnostik der DGE (AK-EMED): <http://www.dge-homepage.de>
- Emerging Infectious Diseases: Website des Journals: <http://www.cdc.gov/eid>
- Konsiliarlabor für EM-Erregerdiagnostik, Robert Koch-Institut, Berlin www.rki.de/DE/Content/Infekt/NRZ/

Konsiliar_inhalt.html für Handouts und Veröffentlichungen; klick zu: Kurse – Unterlagen oder Publications – out of the Consultant Lab

- Microscopic Society of America (MSA) <http://www.microscopy.org>
- Society for Ultrastructural Pathology <http://sup.ultra-kohl.com>
- The Big Picture Book of Viruses: http://www.tulane.edu/~dmsander/Big_Virology/BVHomePage.html
- US Medical Research Institute of Infectious Diseases (USAMRIID) <http://www.usamrid.army.mil>
- Virus Ultrastructure <http://www.uct.ac.za/depts/mmi/stannard/linda.html>

Lehrbücher

1. Bozzola JJ, Russell LD (1999) *Electron Microscopy: Principles and Techniques for Biologists*, 2. Aufl. Jones and Bartlett Publishers, Boston, 670 Seiten, ISBN 0-7637-0192-0
2. Flegler SL, Heckman JW, Klomprens KL (1995) *Elektronenmikroskopie: Grundlagen, Methoden, Anwendungen*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg Berlin Oxford, 279 Seiten, ISBN 3-86025-341-7

Schlüsselliteratur

1. Biel SS, Gelderblom HR (1999) Electron microscopy of viruses. In: *Cell Culture – A Practical Approach* (Hrsg. Alan Cann) Oxford University Press, pp 111–147
2. Curry A, Appleton H, Dowsett B (2006) Application of transmission electron microscopy to the clinical study of viral and bacterial infections: present and future. *Micron* 37:91–106
3. Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U, Ball LA, (Hrsg) (2005) *Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses*. Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, Elsevier Academic Press, Amsterdam – Boston – Heidelberg
4. Gelderblom HR (1991) Assembly and morphology of HIV: potential effect of structure on viral function. *AIDS* 5:617–637
5. Gelderblom HR (2003) *Elektronenmikroskopie im Methodenspektrum der Bioterrorismus-Diagnostik*. Bundesgesundheitsbl-Gesundheitsforsch-Gesundheitsschutz 46:984–988
6. Gelderblom HR, Bannert N, Pauli G (2007) Arguments pro disinfection in diagnostic electron microscopy: A response to Madeley and Biel. *J Infect* 54:307–308
7. Gentile M, Gelderblom HR (2005) Rapid viral diagnosis: role of electron microscopy. *New Microbiol* 28:1–12
8. Gibson DG, Glass JI, Lartigue C, Noskov VN, Chuang RY, Algire MA, Benders GA, Montague MG, Ma L, Moodie MM, Merryman C, Vashee S, Krishnakumar R, Assad-Garcia N, Andrews-Pfannkoch C, Denisova EA, Young L, Qi ZQ, Segall-Shapiro TH, Calvey CH, Parmar PP, Hutchison III CA, Smith HO, Venter C (2010) Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome. *Science* 329:52–56
9. Goldsmith CS, Miller SE (2009) Modern uses of electron microscopy for detection of viruses. *Clin Microbiol Reviews* 22:552–563
10. Grünwald K, Cyrklaff M (2006) Structure of complex viruses and virus-infected cells by electron cryo tomography. *Curr Opin Microbiol* 9:437–442

11. Harris JR (1997) *Negative Staining and Cryo-Electron Microscopy: the Thin Film Techniques*. Bios Scientific Publishers, Oxford
12. Hayat MA, Miller SS (1990) *Negative Staining*. McGraw-Hill Publishing Company, New York
13. Hazelton PR, Gelderblom HR (2003) Electron microscopy for rapid diagnosis of infectious agents in emergent situations. *Emerg Infect Dis* 9:294–303
14. Hyatt AD, Eaton BT (1993) *Immunogold Electron Microscopy in Virus Diagnosis and Research*. CRC Press, Boca Raton, Ann Arbor – London – Tokyo
15. Johnsen CK, Böttiger B, Blom J (2006) Confirmation of electron microscopy results by direct testing of viruses adhered to grids using nucleic acid amplification techniques. *J Virol Methods* 134:92–98
16. Krüger DH, Schneck P, Gelderblom HR (2000) Helmut Ruska and the visualization of viruses. *Lancet* 355:1713–1717
17. Ksiazek TG, Erdman D, Goldsmith CS, Zaki SR, Peret T, Emery S et al. (2003) A novel coronavirus associated with a severe respiratory syndrome. *New Engl J Med* 348:1953–1966
18. Kurth A, Nitsche A (2007) Fast and reliable diagnostic methods for the detection of human poxvirus infections. *Future Medicine* 2:467–479
19. Lane HC, Montagne JL, Fauci AS ((2001) Bioterrorism: a clear and present danger. *Nature Med* 7:1271–1273
20. Laue, M, Bannert, N (2010) Detection limit of negative staining electron microscopy for the diagnosis of bioterrorism-related micro-organisms. *J Applied Microbiol* 109:1159–1186
21. Long GW, Noble J, Murphy FA, Herman KL, Lourie B (1970) Experience with electron microscopy in the differential diagnosis of smallpox. *Appl Microbiol* 20:497–504
22. Madeley CR (2003) Diagnosing smallpox in possible bioterrorist attack. *Lancet* 361:97–98
23. Madeley CR (1995) Viruses associated with acute diarrhoeal disease. In: *Principles and Practice of Clinical Virology* (3. Auflage, Hrsg. AJ Zuckerman, JE Banatvala, JR Pattison) John Wiley & Sons, Chichester – New York – Brisbane – Toronto -Singapore
24. Miller SE, Howell DN (1997) Concerted use of immunologic and ultrastructural analyses in diagnostic medicine: immunoelectron microscopy and correlative microscopy. *Immunol Invest* 26:29–38
25. Murray K, Selleck P, Hooper P, Hyatt A, Gould A et al (1995) A morbillivirus that caused fatal disease in horses and humans. *Science* 268:94–97
26. Reed KD, Melski JW, Graham MB, Regnery RL, Sotir MJ, Wegner MV et al (2004) The detection of monkeypox in humans in the Western hemisphere. *New Engl J Med* 350:342–350
27. Schröder JA, Gelderblom HR, Hauröder B, Schmetz C, Milios J, Hofstaedter F (2006) Microwave-assisted tissue processing for same day EM-diagnosis of potential bioterrorism and clinical samples. *Micron* 37:577–590
28. von Borries B, Ruska E, Ruska H (1938) Bakterien und Virus in übermikroskopischer Aufnahme. *Klin Wochenschrift* 17:921–925
29. Zheng YZ, Webb R, Greenfield PF, Reid S (1996) Improved method for counting virus and virus like particles. *J Virol Methods* 62:153–159

Orf

- ▶ Pockenviren, zoonotische

Orf-Virus

- ▶ Pockenviren, zoonotische

Oriboca-Virus

- ▶ Bunyaviren

Orientbeule

- ▶ Leishmanien

Ornithose

- ▶ Chlamydia

Oropouche-Fieber

- ▶ Bunyaviren

Oropouche-Virus

- ▶ Bunyaviren

Oroya-Fieber

- ▶ Bartonella

Orthomyxoviren

- ▶ Influenza-Virus

Orthopockenviren

- ▶ Variola- und Vacciniavirus

Ösophagitis

- ▶ Cytomegalievirus

Ossa-Virus

- ▶ Bunyaviren

Osteomyelitis

- ▶ Bacillus-Arten (fakultativ bzw. opportunistisch pathogen)
- ▶ Bacteroides
- ▶ Bartonella
- ▶ Bilophila
- ▶ Burkholderia, Ralstonia
- ▶ Candida
- ▶ Capnocytophaga
- ▶ Eikenella
- ▶ Fusarium
- ▶ Histoplasma capsulatum
- ▶ Kingella
- ▶ Moraxella catarrhalis
- ▶ Porphyromonas
- ▶ Propionibakterien
- ▶ Proteus mirabilis, Proteus vulgaris
- ▶ Pseudomonas
- ▶ Salmonella
- ▶ Scedosporium
- ▶ Serratia
- ▶ Shewanella
- ▶ Staphylococcus aureus
- ▶ Streptococcus agalactiae
- ▶ Yersinien

Otitis

- ▶ Aktinomyzeten mit fermentativem Kohlenhydratmetabolismus
- ▶ Citrobacter
- ▶ Haemophilus influenzae
- ▶ Scopulariopsis brevicaulis

Otitis externa

- ▶ Aspergillus
- ▶ Pseudomonas
- ▶ Scopulariopsis brevicaulis

Otitis media

- ▶ Bilophila
- ▶ Chlamydia
- ▶ Echoviren und Parechoviren
- ▶ Streptococcus pneumoniae

Oxyuren

- ▶ Enterobius vermicularis

Oxyuriasis

- ▶ *Enterobius vermicularis*

Ozaena („Stinknase“)

- ▶ *Klebsiella*

Pankreatitis

- ▶ *Ascaris lumbricoides*
- ▶ *Campylobacter*
- ▶ Coxsackieviren
- ▶ Leberegel - *Opisthorchis*, *Clonorchis*
- ▶ *Legionella*
- ▶ Leishmanien
- ▶ Mumpsvirus
- ▶ *Salmonella*

Papageienkrankheit

- ▶ *Chlamydia*

Papillom

- ▶ Humane Papillomviren (HPV)

Papillomavirus

- ▶ Humane Papillomviren (HPV)

Papular Purpuric Gloves and Socks Syndrome (PGSS)

- ▶ Parvoviren

Paracoccidioides brasiliensis

MARIANNE KRETSCHMAR, PAUL SCHNITZLER

Erreger

Synonym(e)

Zymonema brasiliense, *Mycoderma brasiliense*, *Monilia brasiliensis*, *Coccidioides brasiliensis*, *Blastomyces brasiliensis* etc.

Erregerspezies

Zur Gattung *Paracoccidioides* gehört eine Spezies: *P. brasiliensis*.

Taxonomie

Klasse: *Hyphomycetes*; Ordnung: *Onygenales*; Familie: *Onygenaceae*; Gattung: *Paracoccidioides*; teleomorph: nicht bekannt

Historie

Erstbeschreibung der Krankheit mit Erregerkultur aus oropharyngealen Läsionen Infizierter und Nachweis des Dimorphismus durch A. Lutz 1908 in Brasilien. Weitere Fallbeschreibungen durch A. Splendore 1910–1912. Almeida charakterisierte das Krankheitsbild und nannte den Erreger *Paracoccidioides brasiliensis*.

Morphologie

Wirtsgewebe: kugelige Hefezelle mit multipler Sprossung (Steuerradform): große Mutterzelle > 3 µm, Sprosszellen von variabler Größe: 2–2 µm im Durchmesser. In alten Läsionen Hefezellen ohne Sprossung. Temperaturabhängiger Dimorphismus: bei 37 °C Wachstum von kugeligen Hefezellen mit multipler Sprossung, bei 24 °C hyaline Hyphen, Arthrosporen und Chlamydo­sporen.

Genom

P. brasiliensis hat eine Genomgröße von ca. 45–60 Mbp, 5 Chromosomen, diploid.

Vermehrung

Vermehrung im Wirtsgewebe durch Sprossung, in der Umwelt durch Hyphenzellen und Arthrosporen. Ein sexueller Vermehrungszyklus ist nicht bekannt.

Pathogenität / Virulenz / Antigenvariabilität

Variabel exprimierte Oberflächenantigene vermitteln Adhäsion an epitheliale und Alveolarzellen. Adaptation an Bedingungen des Wirtsorganismus (temperaturabhängiger Dimorphismus). In nicht aktivierten Makrophagen kann der Erreger überleben. In fibrotischen und verkalkten Herden persistiert der Erreger lebenslang. Mit Virulenz assoziierbare Faktoren: lytische Enzyme (Serin-Proteinasen, Phospholipasen). Adhäsine: 43 kDa Glykoprotein (Rezeptor für Laminin, unterliegt Polymorphismus) und α-Glucan der Zellwand. Persistenz in Phagozyten: Melanin.

Erkrankung

Parakokzidioidomykose

Synonym(e)

Südamerikanische Blastomykose, Lutz-Splendore-Almeida-Krankheit, Brasilianische Blastomykose, Lutz'sche Mykose.

Inkubationszeit

Sehr variabel, Wochen bis mehrere Jahre.

Leitsymptome

Ulzerationen im Gesicht und Respirationstrakt, Hustenreiz, thorakale Schmerzen.

Symptome

Im Immungesunden verläuft die Primärinfektion meist inapparent. Manifestationen im Gesicht und im Respirationstrakt stehen im Vordergrund. Im Mund sowie Nasen-Rachenraum entwickeln sich schmerzhaft Ulzerationen mit konsekutiven Schluckbeschwerden. Teilweise beklagen die Patienten Luftnot, starken Hustenreiz, zum Teil mit blutigem Auswurf, sowie thorakale Schmerzen. Das Auftreten von kutanen, warzenartigen oder ulzerierenden Läsionen – insbesondere im Gesicht – ist charakteristisch. Häufig existieren simultan kutane und mukokutane Läsionen. Lymphknotenvergrößerungen wurden hauptsächlich zervikal, axillär und thorakal, teilweise mit drainierenden Fistelgängen, beobachtet. Relativ häufig kommt es terminal nach Dissemination zu einem nodulären Befall der Nebennieren mit Funktionseinbußen bis hin zum M. Addison.

Pathophysiologie

Die Parakoccidioidomykose ist eine chronisch progrediente Erkrankung, bei der zwischen der Erstinfektion und der klinischen Manifestation der Erkrankung oft Jahre bis Jahrzehnte vergehen. Bei immunsupprimierten Patienten gibt es subakute, schnell generalisierende, meist letale Verläufe.

Nach Inhalation der Hyphenzellen und Arthrosporen wandeln sich diese in den Alveolen in Hefezellen um (Gewebeform). Die Hefezellen vermehren sich in den Alveolen durch Sprossung. Nach Phagozytose durch Alveolarmakrophagen und andere Phagozyten intrazelluläre Erregerpersistenz. Später emphysematischer, fibröser Umbau von Lungengewebe. Insbesondere bei Insuffizienz zellulärer Immunmechanismen, bei erniedrigten T-Helferzellzahlen und dadurch beeinträchtigt Makrophagenaktivität kommt es zur Dissemination der Pilze aus der Lunge in andere Organsysteme, wobei zunächst Haut und Schleimhäute des Respirationstraktes befallen werden. Hier entstehen Ulzerationen und Granulome. Bei Reaktivierung Dissemination aus alten Herden in der Lunge, Haut und Schleimhaut in die Nebennieren, in das ZNS und andere Organsysteme.

Immunantwort

Die zelluläre Abwehr ist für den Verlauf der Infektion entscheidend. Polymorphnukleäre Leukozyten, Makrophagen und dendritische Zellen phagozytieren die Hefezellen und müssen aktiviert werden, um die Pilzzellen abtöten zu können. Dies geschieht üblicherweise durch T-Helferzellen und Zytokine. Das Glykoprotein von Paracoccidioides gp43 inhibiert die Funktion der phagozytischen Zellen, wodurch eine intrazelluläre Persistenz des Erregers möglich ist. Eine humorale

Immunantwort gegen das Glykoprotein gp43 und andere Antigene wird induziert.

Differenzialdiagnose

Tuberkulose (in 10–25 % koexistent). Histoplasmose, Leishmaniose, Lepra, Lues, Neoplasien, Lobo'sche Erkrankung.

Diagnostik**Untersuchungsmaterial**

Sputum, Bronchialsekret, BAL, Punktate, Exsudate, Biopsiematerial.

Diagnostische Verfahren

Lichtmikroskopischer Nachweis des Erregers aus dem Sputum, Exsudat oder Eiter. Bei ca. 85 % der Patienten können mittels KOH die typischen Hefezellen mit multipler Sprossung (Steuerradform) nachgewiesen werden. Die histologische Aufarbeitung von Biopsien (Grocott-Gomori-Färbung) erlaubt ebenfalls die Darstellung der Hefeformen.

Kultur: Der Erregernachweis kann mehrere Wochen dauern und spezielle Medien erfordern. PCR und Sequenzierung können den Erregernachweis beschleunigen.

Serologie: Nachweis präzipitierender Antikörper mittels Ouchterlony-Test; Western-Blot. Aufgrund von Kreuzreaktionen bei Infektionen durch andere Erreger von Systemmykosen sollte die Diagnosestellung immer auch durch einen direkten Erregernachweis erhärtet werden.

Befund / Interpretation

Der histologische Nachweis der typischen Hefezellen sowie der Nachweis erregerspezifischer Nukleinsäure in den Herden sind beweisend für eine Infektion.

Therapie**Therapeutische Maßnahmen**

Itraconazol ist Mittel der Wahl, möglich sind auch Ketokonazol und Miconazol. Bei fortgeschrittenen Fällen: Amphotericin B. Die Gabe von Sulfonamiden stellt eine deutlich kostengünstigere, jedoch weniger effektive Alternative dar, evtl. in Kombination mit Trimethoprim.

Resistenz

Unbekannt.

Epidemiologie**Verbreitung**

Das Verbreitungsgebiet ist begrenzt auf Mittel- und Südamerika, insbesondere Brasilien, Kolumbien, Venezuela.

Wirtsbereich / Reservoir

Das Erregereservoir konnte bisher nicht eindeutig identifiziert werden. Als Wirt kommt das in der betref-

fenden Region lebende Gürteltier (*Dasyurus novemcinctus*) in Frage. Erregernachweis gelingt vorwiegend aus Proben des Erdreichs.

Risikogruppen

In der Regel sind die Patienten 30–50 Jahre alt, Kinder bzw. Jugendliche sind selten betroffen. Männer, hauptsächlich Feldarbeiter, sind ca. 15-mal häufiger betroffen als Frauen. Eine Assoziation von Infektion und Schweregrad der Erkrankung mit HLA-A9, HLA-B13 und HLA-B40 Subtypen ist beschrieben, weiterhin eine Assoziation mit einer bestehenden HIV-Infektion, Tuberkulose und mit Alkoholkonsum.

Transmission / Vektoren

Die Übertragung aus der Umwelt auf den Menschen erfolgt durch Inhalation kontaminierten Staubs. Eine Übertragung von Mensch zu Mensch scheidet nahezu aus.

Prävention / Impfstoffe

Eine spezifische Prophylaxe ist nicht möglich. Expositionsprophylaxe für Immunsupprimierte.

Ausbruchsmangement

Nationale Surveillance-Programme erfassen Infektionen in Endemiegebieten.

Meldepflicht

Keine. *P. brasiliensis* gehört jedoch zur Risikogruppe 3!

Weiterführende Informationen

Referenzzentren / Expertenlaboratorien

- Konsiliarlabor: Robert-Koch-Institut, Nordufer 20, FG212, D-13353 Berlin
- National Centers for Disease Control, Mycotic Diseases Branch, Atlanta, GA 30333, USA

Web-Adressen

- <http://www.cdc.gov>
- <http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/coccidioidomycosis.htm>
- <http://www.astdhppe.org/infect/valley.html>,

Schlüsselliteratur

1. Arrial RT, Togawa RC, Brigido Mde M (2009) Screening non-coding RNAs in transcriptomes from neglected species using PORTRAIT: case study of the pathogenic fungus *Paracoccidioides brasiliensis*. *BMC Bioinformatics* 10:239
2. Brummer E, Castaneda E, Restrepo A (1993) *Paracoccidioidomycosis*: An update. *Clin Microbiol Rev* 6:89–117
3. Manns BJ, Baylis BW, Urbanski SJ, Gibb AP, Rabin HR (1996) *Paracoccidioidomycosis*: case report and review. *Clin Infect Dis* 23:1026–1032
4. Nogueira Cano MI et al. (1998) Electrophoretic Karyotypes and Genome Sizing of the Pathogenic Fungus *Paracoccidioides brasiliensis*. *J Clin Microbiol* 36:742–747

Paragonimiasis

- ▶ Paragonimus

Paragonimus

PANAGIOTIS KARANIS

Erreger

Synonym(e)

Lungenegel, Lungewurm.

Erregerspezies

Häufigste: *P. westermani*; weitere: *P. africanus*, *P. heterotremus*, *P. kellicotti*, *P. mexicanus*, *P. miyazakii*, *P. ohirai*, *P. skryabini*, *P. uterobilateralis*

Taxonomie

Phylum; Plathelminthes; Klasse: Digenea, Ordnung: Paragonimiida; Familie: Paragonimidae; Gattung: Paragonimus.

Historie

1877 entdeckte C. Kerbert erstmals *Paragonimus* in der Lunge eines Tigers und bezeichnete ihn als „*Distoma westermani*“. 1878 wurde der Parasit erstmals von B. S. Ringer in der Lunge eines Menschen entdeckt, 1880 fanden Baelz und Manson Wurmeier im Sputum von Patienten mit Hämoptysen.

Morphologie

Die Adulttiere werden 8–12 × 5 mm groß, sind dunkelfarbig und sitzen im Endwirt paarweise in einer derben Bindegewebshülle. Beim Menschen ist häufig nur ein Egel in der Zyste. Die ovalen Eier weisen eine Größe von 90 × 60 µm auf, sind goldbraun, gedeckelt, die Eischale ist am hinteren Pol verdickt.

Genom

Es wurden haploide, diploide, triploide und tetraploide Formen von *Paragonimus*-Spezies beschrieben. Die Anzahl der Chromosomen bei den haploiden Formen wurde in allen bisher untersuchten Spezies mit 11 angegeben. Gene der ribosomalen RNA sind in einzelnen Loci identifiziert. Andere Gene, die für bestimmte Polypeptide kodieren, wurden entdeckt und für immundiagnostische Zwecke evaluiert und eingesetzt. Das mitochondriale Genom von *Paragonimus*-Spezies hat eine Größe von 21.000 bp und ist in seiner Größe dem von *Schistosoma mansoni* und *Fasciola hepatica* vergleichbar. Insgesamt scheint eine starke genetische Diversität innerhalb der verschiedenen *Paragonimus*-Arten vorhanden zu sein.

Vermehrung

Im Wasser bilden sich Mirazidium-Larven in den Eiern, die nach dem Schlüpfen in Schnecken (erster Zwischenwirt) eindringen. Hier werden sie zu Sporozo-

zyten, erzeugen Redien, aus denen zahlreiche Zerkarien hervorgehen. Diese dringen in Süßwasserkrebse oder -krabben (zweiter Zwischenwirt) ein und werden zu Metazerkarien. Durch den Verzehr von rohen Krebsen gelangen sie in den Endwirt (Mensch). Hier entwickeln sich die Adulttiere, deren Eier durch Sputum oder Stuhl wieder ins Freie gelangen.

Pathogenität/ Virulenz/ Antigenvariabilität

Die Schwere der Erkrankung hängt von der Stärke des Parasitenbefalls und der Lokalisation des Parasiten ab.

Erkrankung

Paragonimiasis

Inkubationszeit

9–12 Wochen.

Leitsymptome

Hämoptyse, Pleuropneumonie, Bronchitis.

Symptome

Die Symptome sind abhängig von der Lokalisation der Adulttiere. Pulmonaler Befall: zäh-schleimiges, oft blutiges Sputum und chronischer Husten, Hämoptyse, Fieber, Pleuropneumonie mit stechenden Brustschmerzen, Dyspnoe, Bronchitis.

Zerebraler und spinaler Befall: Fieber, Zeichen eines ZNS-Tumors mit Sehstörungen, Lähmungen, Krämpfen, Hirndruckzeichen und Liquoreosinophilie.

Abdominaler Befall: Unspezifische Schmerzen in den betroffenen Organen, Lymphknotenschwellungen.

Selten sind Zysten in Pleura, Bauchwand, Peritonealhöhle, Leber und Milz, Zwerchfell, Herz, Darm und subkutanem Gewebe zu finden.

Pathophysiologie

Funktionsstörungen und Gewebsschädigung an den betroffenen Organen werden durch die Parasiten und die immunologische Reaktion auf sie hervorgerufen. Sie induzieren eine entzündliche eosinophile Reaktion und die Bildung von Zysten.

Immunantwort

Immunität kann nicht erworben werden.

Differenzialdiagnose

Es muss vor allem an Tuberkulose, Bronchitis oder andere nicht durch Helminthen verursachte Erkrankungen gedacht werden.

Diagnostik

Untersuchungsmaterial

Sputum oder Stuhl.

Diagnostische Verfahren

Mikroskopischer Nachweis von Eiern in Sputum oder Stuhl. Durch Röntgenuntersuchungen lassen sich Tie-

re oder Zysten als rundliche Schatten von bis zu 40 mm Durchmesser gut darstellen; evtl. Bronchoskopie zum Ausschluss maligner Veränderungen. Blutbild: Eosinophilie.

Therapie

Therapeutische Verfahren

Praziquantel 3×25 mg/kg KG für 3 Tage; alternativ: Triclabendazol 1×10 mg/kg KG.

Resistenz

Eine Resistenzentwicklung gegen die genannten Substanzen ist nicht bekannt.

Epidemiologie

Verbreitung

P. westermani: Asien (Indien, Pakistan, Nepal, Thailand, Philippinen, Indonesien, Papua Neuginea, Myanmar, Vietnam, Kambodscha, Laos, Korea, China, Japan, Taiwan, Ostrussland); *P. africanus*: Afrika (Kamerun, Nigeria, Äquatorial Guinea, Elfenbeinküste), *P. heterotremus*: China, Thailand, Laos, Vietnam; *P. kellicotti*: USA; *P. mexicanus*: Mittel- und Südamerika (Mexiko, Peru, Ecuador, Costa Rica, Panama, Guatemala); *P. miyazakii*: Japan; *P. ohirai*: Japan, China, Korea, Taiwan; *P. skrjabini*: China, Thailand, *P. uterobilateralis*: Afrika (Kamerun, Liberia, Nigeria, Gabun); es wird angenommen, dass weltweit ca. 30–40 Millionen Menschen infiziert sind (► Abb. 1).

Wirtsbereich/ Reservoir

Beim humanpathogenen Lungenegel können neben dem Menschen einige Säugetiere als Endwirt oder Reservoirwirt fungieren. 1. Zwischenwirt sind Schnecken (meist: Pomatiopsidae), 2. Zwischenwirt sind Süßwasserkrebse und Krabben (meist: Poramidae).

Risikogruppen

Ein erhöhtes Infektionsrisiko haben Einheimische und Reisende in Endemiegebiete, die auf den Genuss von rohem Fisch und Meeresfrüchten nicht verzichten wollen.

Transmission/ Vektoren

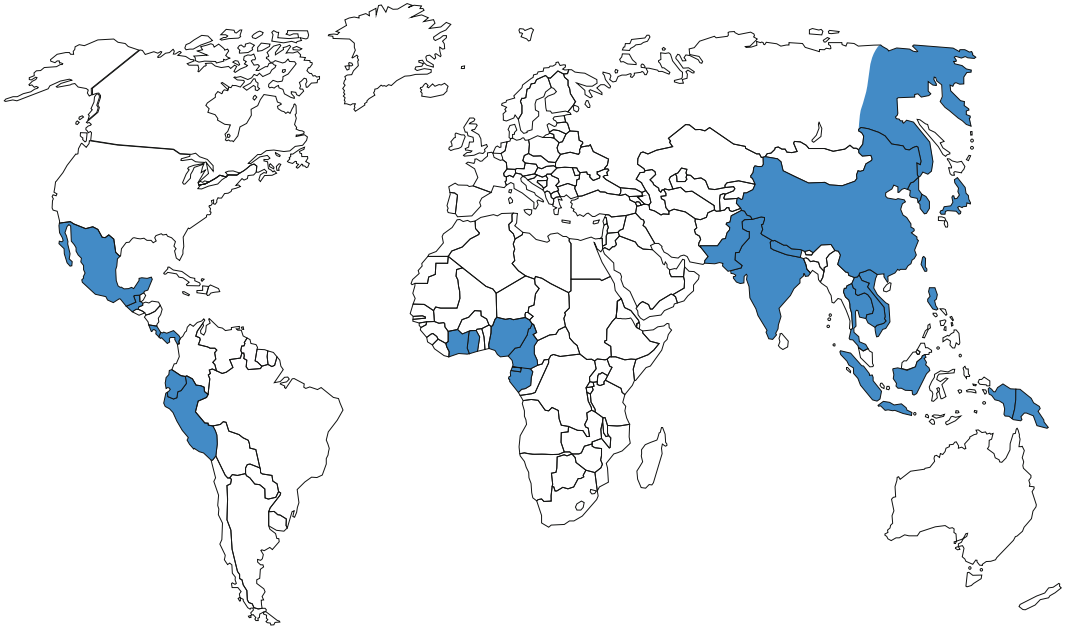
Der Mensch infiziert sich durch den Verzehr von rohem Fleisch von Süßwasserkrebsen, die von Metazerkarien befallen sind.

Prävention/ Impfstoffe

Paragonimiasis kann verhindert werden. Der Verzehr von roh oder unzureichend gekochten Süßwasserfischen und Meeresfrüchten in Endemiegebieten sollte unterlassen werden. Ein Impfstoff existiert derzeit nicht.

Ausbruchmanagement

Abkochen der Nahrung; Fäkalien von Infizierten sollten nicht in die Gewässer gelangen.



■ **Abb. 1.** Verbreitungsgebiet des Lungenegels

Meldepflicht

Es besteht keine Meldepflicht.

Weiterführende Informationen

Referenzzentren / Expertenlaboratorien

- Als fachlich qualifiziert anzusehen sind alle tropenmedizinischen und parasitologischen Institutionen.

Schlüsselliteratur

1. Haswell-Elkins MR, Elkins DB (1996) Food-borne trematodes. In: Cook GC (ed) *Manson's Tropical Diseases*. Section 5F. WB Saunders Company, London Philadelphia Toronto Sydney Tokyo, pp 1457–1477

Parainfluenzaviren

STEPHAN BECKER, HANS-DIETER KLENK

Erreger

Synonym(e)

Humanes Parainfluenzavirus.

Erregerspezies

Humanes Parainfluenzavirus 1, *humanes Parainfluenzavirus 3*, *humanes Parainfluenzavirus 2*, *humanes Parainfluenzavirus 4*

Taxonomie

Die menschlichen Parainfluenzaviren gehören zur Familie *Paramyxoviridae* und hier zur Subfamilie *Para-*

myxovirinae. Man unterscheidet vier Serotypen, die in zwei verschiedene Genera fallen. Die menschlichen Parainfluenzaviren 1 und 3 gehören zum Genus *Respirovirus*, die Serotypen 2, 4a und 4b zum Genus *Rubulavirus*.

Historie

Die menschlichen Parainfluenzaviren wurden Ende der 1950er Jahre, vor allem auf Grund ihrer hämadsorbierenden Fähigkeit entdeckt.

Morphologie

Viruspartikel sind pleomorph, sphärisch oder filamentös. Der Durchmesser beträgt 150–200 nm. Die Viren besitzen eine Lipidhülle mit Spikes (Länge ca. 10 nm) und ein helikales Nukleokapsid (Durchmesser ca. 15 nm, Länge bis zu 1.000 nm).

Genom

Das Virusgenom besteht aus unsegmentierter, linearer, einzelsträngiger RNS mit negativer Polarität. Es kodiert in der Reihenfolge der einzelnen Gene für das Nukleokapsidprotein NP, ein mit dem Nukleokapsid assoziiertes Phosphoprotein P, das an der Innenseite der Hülle liegende Matrix- oder Membranprotein M, das für Viruspenetration und Riesenzellbildung verantwortliche Fusions-Glykoprotein F, das für Rezeptorbindung und Rezeptorabspaltung verantwortliche Hämagglutinin-Neuraminidase-Glykoprotein HN sowie das Polymeraseprotein L. Durch transkriptionelles

Editieren werden weitere Produkte des P-Gens gebildet (entweder C oder V). Diese Proteine spielen eine Rolle bei der Hemmung der Interferoninduktion bzw. des Interferon-Signallings. Die Funktionsfähigkeit des F-Proteins hängt von proteolytischer Spaltung zellulärer Proteasen ab.

Vermehrung

Parainfluenzaviren können *in vitro* in Zellkulturen (Affennierenzellen) gezüchtet werden. *In vivo* vermehren sie sich hauptsächlich in den Epithelien des Respirationstrakts.

Pathogenität / Virulenz / Antigenvariabilität

Die humanen Parainfluenzaviren infizieren die Zellen der Nasen- und Rachenschleimhäute und breiten sich über den Kehlkopf in die Bronchien und in die unteren Luftwege aus. Die infizierten Gewebe zeigen ödematöse Schwellungen bei verstärkter Schleimproduktion. Die Virulenz geht vermutlich mit der proteolytischen Spaltung des F-Proteins durch zelluläre Proteasen einher.

Erkrankung

Parainfluenzavirusinfektion

Inkubationszeit

3–6 Tage.

Leitsymptome

Rhinitis, Laryngitis, Bronchitis, leichte interstitielle Pneumonie, schwere Verläufe mit Kruppsymptomatik.

Symptome

Infektionen mit Parainfluenzaviren kommen vor allem im Kleinkindesalter vor. Häufig ist der tiefere Respirationstrakt betroffen, sodass es zu fieberhafter Laryngotracheobronchitis, Bronchitis, Bronchiolitis oder Bronchopneumonie kommt. Bei schweren Verlaufsformen kann es im Kindesalter zur Ausbildung eines Pseudokrupps kommen, der möglicherweise eine allergische pathogenetische Komponente hat. Weitere Komplikationen sind Otitis media und bakterielle Superinfektionen mit Pneumokokken, Staphylokokken oder *Haemophilus influenzae*. Bei Patienten mit Systemerkrankungen kann eine Parainfluenzainfektion tödlich verlaufen.

Pathophysiologie

► oben.

Immunantwort

Im Infektionsverlauf werden IgM-, IgA- und IgG-Antikörper gegen die viralen Strukturproteine gebildet. Neutralisierend wirkende IgA- und IgG-Antikörper sind gegen die viralen HN- und F-Oberflächenproteine gerichtet. IgA-Antikörper vermitteln einen zeitlich begrenzten Immunschutz vor Reinfektion wohingegen

IgG-Antikörper zwar über einen längeren Zeitraum nachweisbar sind, nicht aber vor Reinfektion schützen.

Differenzialdiagnose

Infektionen mit menschlichen Parainfluenzaviren sind klinisch nur schwer von Infektionen mit Influenzaviren oder Respiratory Syncytial Virus zu unterscheiden.

Diagnostik

Untersuchungsmaterial

Nasen-/Rachenabstrich, Lavage.

Diagnostische Verfahren

Die Methode der Wahl ist die RT-PCR oder ein Antigen-ELISA. Der Nachweis infektiöser Viren erfolgt durch Isolierung aus Rachenabstrichen auf geeigneten Zellkulturen. Ebenfalls ist ein Antigennachweis in infizierten Zellen des Respirationstraktes mithilfe der Immunfluoreszenzmethode möglich. Die Serodiagnose erfolgt entweder mit KBR, ELISA oder Hämagglutinationshemmtest. Die serologische Diagnostik wird durch Kreuzreaktionen mit heterotypischen Antikörpern beeinträchtigt.

Befund / Interpretation

Generell ist der Virusnachweis vor dem Antikörpernachweis einzusetzen. Sputum ist für Virusnachweis ungeeignet. IgG-Antikörper sagen wenig über einen Schutz vor einer Reinfektion aus.

Therapie

Therapeutische Maßnahmen

Eine spezifische Therapie gibt es nicht. Bei schweren Verlaufsformen ist symptomatische Therapie zur Stützung der Lungen- und Kreislauffunktionen induziert.

Resistenz

Es sind keine Resistenzen bekannt.

Epidemiologie

Verbreitung

Alle Serotypen sind weit verbreitet, wobei der Serotyp 4 jedoch relativ selten beobachtet wird. Die Infektionen treten endemisch und epidemisch auf. Die Epidemien folgen bei ihrem Auftreten keinem klaren Periodizitätsmuster.

Wirtsbereich / Reservoir

Als natürlicher Wirt ist nur der Mensch bekannt.

Risikogruppen

Menschliche Parainfluenzaviren, besonders der Serotyp 3, sind gelegentlich die Ursache von Hospitalismusinfektionen, wobei schwere Verlaufsformen nicht selten sind.

Transmission / Vektoren

Die Übertragung erfolgt durch direkten Personenkontakt oder durch Tröpfcheninfektion. Die infektiöse Dosis ist relativ gering. Die Inkubationszeit beträgt 3–6 Tage. Reinfektionen mit dem gleichen Serotyp sind nicht selten, wobei deren Auftreten von der Höhe bereits bestehender sekretorischer IgA-Titer abhängt.

Prävention / Impfstoffe

Versuche mit inaktivierten Parainfluenzavakzinen gegen die Serotypen 1, 2 und 3 waren nicht erfolgreich, da sie trotz Induktion neutralisierender Serumantikörper keinen Immunschutz vermittelten. Dies ist vermutlich auf das Ausbleiben sekretorischer IgA-Antikörper zurückzuführen.

Ausbruchmanagement

Expositionsprophylaxe.

Meldepflicht

Es besteht keine Meldepflicht.

Weiterführende Informationen

Referenzzentren / Expertenlaboratorien

- Konsiliarlaboratorien für respiratorische Infektionen (viral), Dr. Dr. R. Heckler, Niedersächsisches Landesgesundheitsamt Hannover, Roesebeckstr. 4-6, D-30449 Hannover, Tel.: 0511/4505-201, Fax: 0511/4505-240, E-Mail: rolf.heckler@nlga.niedersachsen.de

Web-Adressen

- Deutsche Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten e.V. (<http://www.dvv-ev.de>)
- Gesellschaft für Virologie e.V. (<http://www.g-f-v.org>).

Schlüsselliteratur

1. Karron R, Collins P (2006) Parainfluenza viruses. Fields Virology, 5th edn. Lippincott-Raven, New York, pp 1497–1526
2. Tidona, CA, Darai G (eds) (2001) The Springer Index of Viruses. Springer Berlin, Heidelberg, New York

Parakokzidioidomykose

- ▶ Paracoccidioides brasiliensis

Parapockenvirus

- ▶ Pockenviren, zoonotische

Paratyphus

- ▶ Salmonella

Parendomyces asteroides

- ▶ Trichosporon

Parodontitis

- ▶ Aggregatibacter
- ▶ Aktinomyzeten mit fermentativem Kohlenhydratmetabolismus
- ▶ Capnocytophaga
- ▶ Eikenella
- ▶ Eubakterien
- ▶ Porphyromonas
- ▶ Prevotella
- ▶ Selenomonas
- ▶ Treponemen

Parvoviren

ROLAND KEHM, EDDA TOBIASCH

Erreger

Synonym(e)

Parvovirus B19, Erythrovirus B19, B19-Virus (B19V).

Erregerspezies

B19V

Taxonomie

Das Genus *Erythrovirus* ist in der Familie *Parvoviridae* der Subfamilie der *Parvovirinae* zugeordnet. Bis her wurden vier neue Typen beschrieben die sich in ihrer Sequenz zwischen 6 und 12 % von B19 unterscheiden. Parvovirus B19 entspricht dabei Genotyp 1, A6 und K71 werden als Genotyp 2 und Erythrovirus V9 als Prototyp des Genotyps 3 klassifiziert.

Historie

In der Familie der *Parvoviridae* findet man die kleinsten bekannten Viren: Diese wurden beim Menschen erstmals 1967 von Blacklow und Kollegen in Rachen- und Analabstrichen nachgewiesen. Es handelte sich bei diesen Viren um helferabhängige Parvoviren (Genus Dependoviren, AAV). Dependoviren gelten in der Regel als apathogen, aber ein Zusammenhang von AAV-2 mit frühen Spontanaborten wird diskutiert. Das Parvovirus B19 wurde 1975 von Yvonne Cossart in Seren asymptomatischer Blutspender gefunden. Das Kürzel B19 leitet sich vom Blutbankcode eines Blutspenders ab. Die transiente aplastische Krise war die erste Erkrankung, die B19 als verursachendes Agens zugeordnet wurde. Weitere klinische Symptome werden nachfolgend beschrieben.

Morphologie

Das Virion besteht aus einem ikosaedrischen Kapsid (22 nm) und beherbergt das virale Genom. Die 60

Kapsidproteine bestehen zu 95 % aus dem „major“ (58 kDa; VP2) und zu 5 % aus dem „minor“ Strukturprotein (83 kDa; VP1).

Genom

Parvoviren haben ein lineares, einzelsträngiges DNA-Molekül von etwa 5 Kilobasen Länge mit terminalen Palindromen am 5'- und 3'-Ende des Genoms. Bei B19 (5,6 kb, Accession-Nr. NC_000883) werden sowohl der positive als auch der negative Strang verpackt und repliziert. Die terminalen Palindrome von B19 sind 365 Nukleotide lang und in ihrer Sequenz identisch. Bei B19 werden alle 9 RNAs vom linksständigen Replikationsursprung transkribiert. Das Nichtstrukturprotein (NS-1, Accession-Nr. AAK00800) fungiert als Helikase, ATPase und Endonuklease bei der DNA-Transkription, -Replikation und -Verpackung. Es wird von einem nicht gespleißten RNA-Transkript der linken Seite des Genoms kodiert. Alle anderen RNA-Transkripte werden gespleißt. Die Transkripte der Strukturproteine (VP1 und VP2) kodieren auf der rechten Seite des Genoms und entstehen aus überlappenden RNAs desselben Leserahmens. Die unterschiedlichen Konzentrationen der Kapsidproteine VP1 (5 %, „minor“ Kapsidprotein, 781 aa, 84 kDa, Accession-Nr. AAG16690) und VP2 (95 %, „major“ Kapsidprotein, 554 aa, 58 kDa, Accession-Nr. NP_050021) werden durch multiple 5'-ständige AUG-Kodons reguliert. Zwei weitere kleine Polypeptide (11 kDa und 7,5 kDa) wurden identifiziert.

Vermehrung

Das B19-Virus konnte bisher nur in erythroiden Vorläuferzellen, kultivierten Knochenmarkzellen und einigen Leukämiezellen und -zelllinien kultiviert werden. Die Anwesenheit des erythroidspezifischen Hormons Erythropoietin ist dabei essentiell. Der virale Tropismus beruht auf der Expression des zellulären Rezeptors „Oberflächen-P-Antigen“ („globoside“), der nur in Erythrozyten, erythroiden Vorläuferzellen, Megakaryozyten, Endothelzellen der Plazenta, der fötalen Leber und dem Herzen exprimiert wird. Als Kozeptoren sind β -Integrine beschrieben worden. In der Zellkultur führen hypoxische Bedingungen zur Hochregulierung der B19-Expression, Replikation und der Produktion von infektiösen Virionen. In nicht permissiven Zellen kommt es zu einem intrazellulären Block der Transkription

Pathogenität / Virulenz / Antigenvariabilität

Die Pathogenität des Parvovirus B19 ist genetisch determiniert. Die Expression des Nichtstrukturproteins (NS-1), verursacht den Tod der Wirtszelle. NS-1 induziert Apoptose, sowohl als Transaktivator von Promotoren und mittels Transkriptionsfaktoren über die Synthese von TNF- α , als auch über Interleukin-6 durch Stimulation von Entzündungen. Auch Zellen, die lediglich das Nichtstrukturprotein exprimieren,

werden beeinflusst. Dies erklärt z. B. die Inhibition der Megakaryozytopoese bei Patienten mit B19-Infektionen. Das Strukturprotein VP1 reguliert Entzündungsmediatoren hoch. Die Ablagerung von Immunkomplexen ist Teil verschiedener B19-induzierter Erkrankungen. Die Virulenz von B19 ist hoch und führt vor allem in Kindergärten und Schulen zu epidemischen Ausbrüchen von Erythema infectiosum (E.I.), bei denen bis zu 60 % der Kinder infiziert werden. Die Antigenvariabilität ist gering. Die genetische Variabilität liegt unter 1 %, bezogen auf das gesamte Genom.

Erkrankungen

1. Erythema infectiosum (E.I.)

Synonym(e)

Ringelröteln, fünfte Krankheit („fifth disease“), Exanthema variegatum, Megalerythema epidemicum s. infectiosum.

Inkubationszeit

4–21 Tage. Die Virämie ist 7 Tage nach Infektion für 4–5 Tage nachweisbar. Symptome werden in der Regel erst 16–18 Tage nach Infektion beobachtet. Zu diesem Zeitpunkt ist das Virus bereits seit 1–5 Tagen im Serum nicht mehr nachweisbar.

Leitsymptome

Makulo-papulöses Exanthem der Wangen („slapped cheeks“).

Symptome

Es handelt sich um eine milde, akute, exanthematische Erkrankung, die mit Fieber, Malaise, Übelkeit, Kopfschmerzen und Myalgien einhergeht. Nach 5–7 Tagen erscheint ein hellroter Ausschlag, der zunächst auf den Wangen sichtbar ist und aufgrund der Aussparung der Nasen-Mund-Region einem Schmetterling gleicht („slapped cheeks“). Die Schleimhäute bleiben dabei frei. Das meist juckende Exanthem kann sich netzgirlandenförmig auf den Körper und vor allem auf die Streckseiten der Extremitäten bis zu den Handinnenflächen und Fußsohlen ausdehnen und mehrere Wochen lang nach Stress, Sonnenexposition oder plötzlichen Temperaturschwankungen wieder auftreten. E.I. betrifft als typische Kinderkrankheit am häufigsten Kinder im Alter zwischen 4 und 14 Jahren.

Bei Infektion erwachsener Frauen kommt es häufig, gleichzeitig mit dem Erscheinen des Exanthems, zu akuten Arthropathien (► Erkrankung 2).

Pathophysiologie

Die Prodromalphase geht mit grippeähnlichen Beschwerden einher. In einer zweiten Phase, parallel zum Erscheinen der Antikörper, manifestiert sich das makulo-papulöse Exanthem. Eine generalisierte Lymphadenitis besteht in der Regel nicht. Zwischen dem 10. und 17. Tag nach Infektion sinkt die Retikulozytenzahl im peripheren Blut drastisch ab. Die Zahl der

Thrombozyten und Neutrophilen kann ebenfalls vorübergehend abfallen. Die Erkrankung ist selbstlimitierend. Nach Abschluss der Virusvermehrung wird eine gesteigerte Erythropoese beobachtet. Als Komplikation kann es in seltenen Fällen zu Nekrosen im Knochenmark kommen.

Immunantwort

In der Regel erwerben Patienten eine lebenslange Immunität. Die Infektion wird durch das Auftreten neutralisierender Antikörper terminiert. Fehlen neutralisierende Antikörper, wie z. B. bei Immundefizienten oder nach Infektion des Fötus, persistiert die Infektion und resultiert in Erkrankungen wie chronische Anämie oder Arthritis.

IgM-Antikörper sind 4–7 Tage nach Auftreten der Symptome bzw. 20–21 Tage nach Infektion in 90 % der Patienten nachweisbar. Die höchste Konzentration an IgM-Antikörpern wird in der Regel nach 30 Tagen erreicht und kann bis zu vier Monate andauern. IgG-Antikörper treten 7–10 Tage nach Erscheinen der Symptome auf. Die höchste Konzentration wird nach einem Monat erreicht. Persistierende IgG-Antikörper erklären die lebenslange Immunität.

Differenzialdiagnose

E.I. wird leicht mit Röteln verwechselt. An andere virale Infektionen wie Masern und Roseola infantum, aber auch an Krankheitsbilder mit ähnlicher Symptomatik wie Wundrose („erysipelas“) und Scharlach sollte gedacht werden.

2. Arthropathie

Synonym(e)

Arthritis und Arthralgie.

Inkubationszeit

► Erythema infectiosum (Erkrankung 1). Die Arthropathien treten in der Regel nach der Entwicklung der B19-spezifischen Antikörper auf. Das Virus ist im Serum zu diesem Zeitpunkt nicht mehr nachweisbar.

Leitsymptome

Gelenkschmerzen.

Symptome

Akute, mild verlaufende Arthralgien werden sowohl bei Erythema infectiosum als auch bei stumm verlaufenden B19-Infektionen (ca. 30 % der Fälle) beobachtet. Es handelt sich in der Regel um eine symmetrische, periphere Polyarthropathie, die vor allem die kleinen Gelenke betrifft. Die Symptomatik besteht in Schwellungen und Schmerzen und klingt innerhalb von drei Wochen ohne bleibende Schäden ab.

Bei 20 % der Frauen persistieren die Symptome mehr als 2 Monate und können intermittierend bis zu mehreren Jahren fortbestehen.

Die juvenile chronische Polyarthrits beeinträchtigt

primär die größeren Gelenke, wie Knöchel und Knie und tritt asymmetrisch auf.

Pathophysiologie

Ein Zusammenhang zwischen Antikörpern gegen NS-1 und schweren Verlaufsformen der Arthritis wurde beschrieben. Die rheumatoide Arthritis nach B19-Infektion findet man vorwiegend bei Patienten, die den HLA-Typ DR4 besitzen. In diesen Fällen kann das Kapsidprotein VP1 in den synovialen Läsionen nachgewiesen werden. Die Inzidenz bei Erwachsenen liegt bei 80 % (Kinder 8 %) und ist bei Frauen (60–65 %) höher als bei Männern (30 %). Es gibt zudem Hinweise, dass die Persistenz von B19-DNA im Knochenmark, peripherem Blut und synovialen Gewebe mit chronischen Arthropathien in Zusammenhang steht. Im Gegensatz zur rheumatoiden Arthritis findet man bei der B19-induzierten Arthritis post infectionem keine permanente Schädigung von Knochen und Gelenken.

Immunantwort

► Erythema infectiosum (Erkrankung 1). Das Fehlen neutralisierender Antikörper, sowie Ablagerungen von Immunkomplexen bestimmen das Krankheitsbild.

Differenzialdiagnose

Die wichtigste Differenzialdiagnose der durch B19 verursachten Polyarthrits ist die seronegative Lyme-Arthritis.

3. Verschiedene Purpura-Erkrankungen

Synonym(e)

Einblutungsneigung in die Haut.

Inkubationszeit

► Erythema infectiosum (Erkrankung 1)

Leitsymptome

Vaskulitis.

Symptome

Die Symptomatik imponiert durch nicht nekrotisierende petechiale Purpura an den Extremitäten und am Stamm. Idiopathische, thrombozytopenische Purpura (Morbus Werlhof) und Purpura Schönlein-Henoch, systemischer Lupus erythematosus, leukozytoklastische Vaskulitis und Kawasaki Syndrom wurden bei gleichzeitigem Nachweis von B19 beschrieben. Der kausale Zusammenhang zwischen B19-Infektion und dem Auftreten der einzelnen Erkrankungen ist unklar.

Pathophysiologie

Es wird ein Tropismus des Virus für vaskuläre Endothelien vermutet, da B19-spezifische RNA im Endothel kutaner Kapillaren gefunden wurde. Die B19-DNA ist im peripheren Blut und in den betroffenen Geweben nachweisbar.

Immunantwort

► Erythema infectiosum (Erkrankung 1)

Differenzialdiagnose

Infektion mit anderen viralen Erregern wie CMV, VZV, persistierendes EBV, *Hepatitis-A-Virus*, HTLV1, *Hantaan-Virus*, HBV, HCV oder bakteriellen Erregern, insbesondere Streptokokken bei Purpura Schönlein-Henoch (*Purpura anaphylactoides*).

4. Erythroblastopenie**Synonym(e)**

„Pure red cell aplasia“, PRCA, Erythroblastophthise, normochrome aplastische Anämie.

Inkubationszeit

► Erythema infectiosum (Erkrankung 1)

Leitsymptome

Schwere Anämie, Riesen-Proerythroblasten im Knochenmark, Retikulozytopenie.

Symptome

Gesunde Erwachsene können eine milde Form der Anämie entwickeln; Immundefiziente oder Patienten mit hämatologischen Grunderkrankungen entwickeln eine schwere Form, die zur aplastischen Krise (TAC ► Erkrankung 9) führen kann. Dies kann mit Knochenmarkproblemen, seltener mit Herzversagen und Tod des Patienten einhergehen.

Pathophysiologie

Pathologisch handelt es sich um eine persistierende B19-Infektion. Es fehlen neutralisierende Antikörper und die durch den Immunkomplex verursachten Symptome der E.I. sowie Fieber und Polyarthrit. Nach Gabe von Ig tritt oft die typische Symptomatik von E.I. auf. Bei normaler Granulo- und Megakaryopoese, fehlen ausreifende hämoglobinhaltende Vorstufen der Erythropoese im Knochenmark. Die „pure red cell aplasia“ wurde in vier Patientenpopulationen dokumentiert: bei Personen mit dem Nezelof-Syndrom, bei Kindern mit lymphatischer Leukämie, anderen Krebserkrankungen, bzw. nach oder während einer Chemotherapie, sowie bei Patienten mit AIDS und nach Organtransplantation.

Immunantwort

► Erythema infectiosum (Erkrankung 1)

Differenzialdiagnose

Störung der Erythropoese durch immunologische Mechanismen (Thymom, lymphoproliferative Erkrankungen, Kollagenosen) und verschiedene Medikamente, myelodysplastisches Syndrom.

5. Hydrops fetalis**Synonym(e)**

Hydrops congenitus (universalis), Morbus haemolyticus fetalis, Hydrops universalis (fetalis), Wassersucht.

Inkubationszeit

► Erythema infectiosum (Erkrankung 1). Totgeburten treten 1–11 Wochen nach der mütterlichen Infektion auf. Nach acht Wochen nach der Infektion ist jedoch die Entwicklung eines Hydrops unwahrscheinlich.

Leitsymptome

Vermehrte Wasseransammlung und Herzprobleme beim Kind.

Symptome

Bei ca. 30 % der symptomatischen sowie der asymptomatischen B19-Infektionen während der Schwangerschaft kommt es zur transplazentaren Infektion des Föten. Das Virus infiziert die fötale Leber und somit das wichtigste Organ der Erythrozytenproduktion in der frühen Entwicklung. Dies kann, durch die kürzere Lebensdauer der fötalen Erythrozyten, zu schweren Anämien bis hin zur aplastischen Krise (TAC ► Erkrankung 9), zur Myokarditis (► Erkrankung 6) und zur chronischen fötalen Hepatitis führen. Die Folgen sind ein Hydrops fetalis, der in 5–9 % der Fälle zum intrauterinen Fruchttod führt. Das Risiko des spontanen Abortes ist am höchsten im zweiten Trimenon bis zur 20. Woche. In seltenen Fällen kommt es nach In-utero-Infektionen zu abnormen Veränderungen im ZNS mit Entwicklungsstörungen und chronischen Anämien.

Pathophysiologie

Histologische Untersuchungen zeigen Leukoerythroblastose, typische zytopathische Veränderungen der Erythroblasten in der Leber, Myokarditis, Myositis der Skelettmuskulatur und Hepatitis. Eine parvovirale Infektion des Föten kann nach der Geburt persistieren. Hydrops ist im Ultraschall diagnostizierbar. Ein erhöhter Gehalt an α -Fetoprotein im Blut der Mutter ist als physiologischer Hinweis zu sehen, für eine Infektion des Föten mit anschließendem Hydrops fetalis vor dem sonografischen Befund (Abklärung auf Kopfhaut- und Hautödeme, Pleuraergüsse, generalisierter Aszites, Polyhydramnion und eine erheblich vergrößerte Plazenta. Die Behandlung des Föten durch intrauterine Bluttransfusion ist möglich. B19 ist nicht teratogen.

Immunantwort

► Erythema infectiosum (Erkrankung 1)

Differenzialdiagnose

Immunologischer und nicht immunologischer Hydrops fetalis, andere Grunderkrankungen wie Herzfehler, Stoffwechselerkrankungen, Fehlbildungen der

Lunge oder des Urogenitaltraktes, Chromosomenaberrationen.

6. Myokarditis

Synonym(e)

Entzündliche Erkrankung des Herzmuskels.

Inkubationszeit

► Erythema infectiosum (Erkrankung 1)

Leitsymptome

Herzinsuffizienz, Leistungsabfall.

Symptome

Die mit einer B19-Infektion assoziierte Myokarditis ist selten (0,8 %), aber von klinischer Relevanz. Die Myokarditis wird gelegentlich nach Transplantationen beobachtet (3 %), als Begleitsymptom beim Krankheitsbild des Hydrops fetalis (► Erkrankung 5) und in chronischer Form in Kleinkindalter. Die B19-induzierte Myokarditis tritt häufig in Kombination mit einer Perikarditis auf.

Pathophysiologie

Histopathologisch findet man eine makrophagenreiche chronische Myokarditis ohne T-Zell-Reaktivität. Ruhe-EKG und Lungenfunktion sind meist unauffällig. Immunsuppression post Transplantation kann einen chronischen Verlauf der B19-Infektion bewirken und zur Abstoßung von Herztransplantaten führen. Der Zusammenhang von persistierender B19-Infektion und Abstoßung ist spezifisch für Herztransplantate; vermutlich durch die Expression des zellulären B19-Rezeptors „Oberflächen-P-Antigen“ in Myozyten.

Immunantwort

► Erythema infectiosum (Erkrankung 1)

Differenzialdiagnose

Infektion mit anderen viralen (Coxsackie-Virus, *Poliiovirus*, Echoviren) oder bakteriellen Erregern wie Borrelien, Streptokokken (autoimmune Reaktion), Differenzierung zur toxischen Myokarditis (*Corynebacterium diphtheriae*) und allergische Myokarditis (Medikamente).

7. Handschuh-Socken-Syndrom

Synonym(e)

Handschuh-Socken-Erythem, „papular purpuric gloves and socks syndrome“, PPGSS.

Inkubationszeit

8–10 Tage.

Leitsymptome

Erythematöses Exanthem der Hände und Füße mit klarer Abgrenzung an Handgelenken und Knöcheln.

Symptome

Kennzeichnend ist ein symmetrisches Erythem der Hände und Füße, das sich zu nicht akralen Stellen wie Gesicht, Rumpf, Extremitäten und Gesäß hin ausbreiten kann. Ödeme und Schmerzen mit Einblutungen unter der Haut (► Erkrankung 3) sind mit den betroffenen Arealen assoziiert. Man findet Läsionen der Mukosa von Lippen, Backen, Zunge und des Gaumens. Dem Hautausschlag folgen nach 2–4 Tagen Myalgie, Arthralgie, Lymphadenopathie, Anorexia, Fatigue und Fieber.

Das Handschuh-Socken-Syndrom tritt vor allem bei jungen Erwachsenen bevorzugt im Frühjahr und Sommer auf.

Pathophysiologie

Biopsien zeigen ein lymphatisches, perivaskuläres Infiltrat in der papillären Dermis. Eine Vaskulitis ist nicht beschrieben. Leukopenie und Thrombozytopenie, ein Abfall des Hämatokrits sowie eine Erythroblastopenie kommen vor. Man findet transient erhöhte Leberwerte. Im Gegensatz zur E.I entwickelt sich der Hautausschlag während der Virämie und vor der Entwicklung von Antikörpern und ist somit in diesem Stadium nur durch PCR nachweisbar. Die Patienten sind entsprechend während der klinischen Manifestation des Exanthems, ganz im Gegensatz zu E.I., infektiös.

Immunantwort

► Erythema infectiosum (Erkrankung 1)

Differenzialdiagnose

Andere virale Erreger wie *Masern-Virus*, EBV, CMV, HHV6, Coxsackie B6 und HBV oder eine Infektion mit Rickettsien sowie eine Medikamenten-Induktion (Trimethoprim-Sulfamethoxazol) sollten ausgeschlossen werden.

8. Aseptische Enzephalitis und Meningitis

Synonym(e)

Entzündung des Gehirns und der Hirnhäute.

Inkubationszeit

► Erythema infectiosum (Erkrankung 1)

Leitsymptome

Kopfschmerzen, Verwirrtheit, Fieber.

Symptome

Nicht eitrige entzündliche Prozesse im Zentralnervensystem. Die B19-induzierte Meningitis ist sehr selten.

Pathophysiologie

B19-DNA kann im Blut und im Liquor akut und bis zu neun Monate nach Infektion nachgewiesen werden. Es handelt sich um eine akute lymphozytäre, seröse Meningitis.

Immunantwort

► Erythema infectiosum (Erkrankung 1)

Differenzialdiagnose

Infektionen mit anderen viralen (HSV, FMSE-Virus, HAV, HBV, HCV, HIV) oder bakteriellen Erregern.

9. Transiente aplastische Krise**Synonym(e)**

TAC.

Inkubationszeit

4–14 Tage.

Leitsymptome

Abfall der Retikulozytenzahl im peripheren Blut.

Symptome

Bei immundefizienten Patienten und Patienten mit angeborenen oder erworbenen hämolytischen Anämien wie Sichelzellanämie, Thalassämie, Sphärozytose, Pyruvatkinase-Mangel oder autoimmunen hämolytischen Anämien führen akute B19-Infektionen zur klinischen Symptomatik der transienten aplastischen Krise. Typische Symptome sind Lethargie, Müdigkeit und Blässe. Ein Exanthem wird selten beobachtet.

Pathophysiologie

Zwischen dem 10. und 17. Tag nach Infektion sinkt die Retikulozytenzahl im peripheren Blut drastisch ab. Die Zahl der Thrombozyten und Neutrophilen kann ebenfalls vorübergehend abfallen. Der durch die Virusvermehrung bedingte, vorübergehende Abbruch der Erythrozyten-Reifung (Dauer 5–10 Tage) führt in immundefizienten Patienten sehr rasch zu einem drastischen Abfall des Hämatokrits und zu einer lebensbedrohenden akuten Anämie. Die transiente aplastische Krise ist, neben der akuten erythroiden Hypoplasie und der stark reduzierten Retikulozytenzahl, mit variablen Graden von Neutropenie und vor allem Thrombozytopenie assoziiert und durch die Bildung von spezifischen Antikörpern selbstlimitiert. Nach Abschluss der Virusvermehrung wird eine gesteigerte Erythropoese beobachtet. Als Komplikation kann es in seltenen Fällen zu Nekrosen im Knochenmark kommen.

Immunantwort

► Erythema infectiosum (Erkrankung 1). Während der aplastischen Krise sind die Patienten nicht mehr infektiös.

Differenzialdiagnose

Bei einer aplastischen Krise unbekannter Ätiologie könnte auch V9 verursachendes Agens sein.

Diagnostik**Untersuchungsmaterial**

Als Untersuchungsmaterial dient Serum für den Antikörpernachweis (IgG/IgM) bei E.I. und Infektion in der Schwangerschaft. Bei Primärinfektion in der Schwangerschaft, zum Virusgenom-Nachweis bei Aborten und bei chronischen Infektionen von immundefizienten Patienten wird für die quantitative PCR Nabelschnurblut, Fruchtwasser, Biopsiematerial, respiratorisches Sekret, Serum, Urin, Plasma und Liquor herangezogen. Gelenkpunktat ist bei Arthropathien als Untersuchungsmaterial sinnvoll.

Diagnostische Verfahren

Direkter Virusnachweis: Polymerasekettenreaktion (PCR) ist hier die Methode der Wahl. Elektronenmikroskopie, Virusisolierung über Zellkulturen.

Indirekter Virusnachweis: Nachweis von viruspezifischen Antikörpern der Klasse IgM, IgG durch RIA, (mu capture) ELISA, Western-Blot, IFA und EIA (die beiden Letzteren basieren auf der Expression der Kapsidproteine VP1 und VP2 durch ein Baculovirus Expressions System) aus dem Serum.

Chemische Laboruntersuchungen: Es sind keine spezifischen Testverfahren bekannt.

Befund / Interpretation

Bei Patienten mit hämolytischen Anämien ist die serologisch gestellte Diagnose meist ausreichend. Bei Schwangeren, nach Kontakt mit B19-Infizierten, empfiehlt sich auch in der klinisch uncharakteristischen Akutphase oder bei asymptomatischem Verlauf der Nachweis mittels PCR, da diese bereits vor dem Auftreten von IgM-Antikörpern einsetzbar ist. Bei immundefizienten Patienten sollte eine quantitative PCR durchgeführt werden. Der Anti-IgM RIA und EIA ist üblich. B19 kann beim Handschuh-Socken-Syndrom in Hautbiopsien und dem peripheren Blut mittels PCR nachgewiesen werden.

Therapie**Therapeutische Maßnahmen**

Die Behandlung von Parvovirus B19 erfolgt symptomatisch. Patienten mit transienter aplastischer Krise werden mit Bluttransfusion, immundefiziente Patienten mit intravenösen Infusionen von Immunglobulinen behandelt. Arthropathien sind mit nicht steroiden, entzündungshemmenden Medikamenten behandelbar. Intrauterine Bluttransfusionen wurden bei schweren Fällen von Hydrops fetalis durchgeführt. Eine spezifische antivirale Therapie ist nicht gegeben.

Resistenz

Parvoviren sind sehr resistent gegenüber organischen Lösungsmitteln (z. B. Äther, Alkohol), Detergenzien und Hitzeinaktivierung. Das Virion ist stabil bei einem pH-Wert zwischen 3 und 9. Es kann durch Formalin oder oxidierende Agenzien inaktiviert werden.

Epidemiologie

Verbreitung

Infektionen mit B19 sind generell ubiquitär, nicht geschlechtsspezifisch und treten weltweit und zu jeder Jahreszeit auf, trotzdem lassen sich Häufungen erkennen. Die Infektion erfolgt überwiegend im Kindesalter und bei Jugendlichen. Epidemische Ausbrüche findet man bevorzugt im Frühjahr in Kindergärten und Heimen. Das Muster der Epidemien folgt einem 3-bis 4-jährigen Rhythmus mit je zwei Jahren hoher, gefolgt von zwei Jahren mit niedriger Inzidenz. Im Erwachsenenalter sind 50–70 % der Bevölkerung seropositiv; mit zunehmendem Alter steigt die Rate auf über 90 %. Die Seroprävalenz B19-spezifischer Antikörper ist mit Ausnahme einiger brasilianischer und afrikanischer Stämme weltweit. Die jährliche Serokonversionsrate liegt bei 1,5 % für Frauen im gebärfähigen Alter, kann aber auf 13 % während Epidemien ansteigen.

Wirtsbereich / Reservoir

Das Wirtsspektrum des Virus B19 beschränkt sich unter natürlichen Bedingungen auf den Menschen. Für andere Parvoviren sind spontane Wirtswechsel durch Mutationen beschrieben.

Risikogruppen

Es ist keine Prävalenz für bestimmte ethnische Gruppen der Bevölkerung bekannt. Immundefiziente Personen und Patienten mit hämolytischen Anämien sind exponiert (▶ aplastische Krise (Erkrankung 9), ▶ „pure red cell aplasia“ (Erkrankung 4), ▶ Myokarditis (Erkrankung 6)). Bei akutem Organversagen sollte die Beteiligung einer potenziellen B19-Infektion abgeklärt werden. Bei akuten, auch asymptomatisch verlaufenden Infektionen von Schwangeren, vor (erstes und zweites Trimenon), ist der Fötus gefährdet (▶ Hydrops fetalis).

Transmission / Vektoren

Ausscheidung und Aufnahme des Virus erfolgt vor allem über den Respirationstrakt (Tröpfcheninfektion). Die Übertragung des Virus durch Blut, Blutprodukte, mittels Transplantation oder intrauterin auf den Embryo kommt vor. Nosokomiale Transmissionen sind möglich, aber selten. Personen, denen das Oberflächen P Antigen der erythroiden Vorläuferzellen fehlt (Phänotypen P1k und p), werden nicht infiziert.

Prävention / Impfstoffe

Bislang existiert kein Impfstoff gegen B19. Lediglich einem Impfstoff wurde der Vakzinestatus für Patienten mit Sichelzellanämie zuerkannt. Schwangere sollten B19-infizierte Personen meiden.

Ausbruchmanagement

Händewaschen ist zurzeit neben Kontaktvermeidung die einzige sinnvolle Maßnahme. Das Auftreten lokaler Epidemien kann dadurch nicht verhindert werden.

Die Isolation von Kindern nach dem Auftreten des Exanthems macht wenig Sinn, da sie meist zu diesem Zeitpunkt nicht mehr infektiös sind und die Erkrankung in der Regel mild und selbstlimitierend verläuft. Derartige Freistellungen von sozialen Einrichtungen verhindern nicht das Auftreten der typischen lokalen Epidemien.

Meldepflicht

Nach dem Infektionsschutzgesetz vom Juli 2000 sind B19-Infektionen nicht meldepflichtig. Die namentliche Meldung wird erforderlich, falls die örtliche und zeitliche Häufung auf eine schwerwiegende Gefahr für die Allgemeinheit hinweist. Die Meldung nach Satz 1 hat gemäß § 8 Abs. 1 Nr. 2, 3 und Abs. 4, § 9 Abs. 2, 3 Satz 1 oder 3 zu erfolgen.

Bocavirus (BoV)

Historie

Das Bocavirus wurde zum ersten Mal im Jahr 2005 in Nasopharynxaspiraten von Kindern mit Atemwegsinfekten beschrieben. Kürzlich wurde das Bocavirus auch in Blut und Stuhl von Patienten nachgewiesen. Die Assoziation von Infektionen mit Bocavirus und einem klinischen Bild sind noch nicht ganz geklärt, jedoch scheint eine Korrelation mit akuten Atemwegsinfekten bei Kindern zu bestehen. Da Bocavirus über lange Zeiträume in den Atemwegen persistiert, kann es dort häufig mit einer niedrigen Viruslast nachgewiesen werden. Bis heute steht nur die PCR oder die kommerziell erhältliche Real-time-PCR als Methode zum diagnostischen Nachweis der Infektion zur Verfügung. Die Entwicklung von weiteren Nachweismethoden ist für die Assoziation mit einem klinischen Krankheitsbild wichtige Voraussetzung.

Genom

Bisher ist nur die DNA-Sequenz von Bocavirus bekannt. Aufgrund seiner Genomorganisation und Sequenzhomologie wurde es zur Familie Parvoviren, Unterfamilie Parvovirinae, Genus Bocavirus klassifiziert und ist somit ein enger Verwandter von B19. Zum Genus Bocavirus zählen die bei Tieren vorkommenden Canine Minute Virus und Bovine Parvovirus 1, die bei jungen Tieren Atemwege den Gastrointestinaltrakt infizieren. Alle Parvoviren infizieren proliferierende Zellen, verursachen systemische Infektionen und können lebenslang persistieren.

Diagnostik

BoV wurde in Atemwegssekreten mit einer Viruslast bis zu 1010 Kopien/ml nachgewiesen. Allerdings kommen Bocaviren in den meisten Proben mit einer niedrigen Viruslast vor. Eine hohe Viruslast ist oft mit respiratorischen Symptomen assoziiert. Bei symptomatischen Kindern kann dieses Virus dann auch im Blut nachgewiesen werden. Die Detektion im Blut korreliert besser mit der klinischen Symptomatik, als der

alleinige Virusnachweis im Respirationstrakt. BoV ist bisher *in vitro* auf Zellkultur nicht anzüchtbar. Ein Tiermodell existiert nicht. Weiterhin fehlt bisher die Beschreibung von nachweisbaren Virusantigenen.

Epidemiologie

HBoV wurde weltweit nachgewiesen. Alle Prävalenzstudien wurden mit Sekreten der Atemwege bei Kindern durchgeführt. In diesen Studien werden Prävalenzen zwischen 1,5 % und 19 % berichtet. Eine klare Zuordnung zu einem bestimmten jahreszeitlichen Höhepunkt wurde bisher nicht beschrieben. HBoV wird üblicherweise bei Kindern unter zwei Jahren detektiert. Kinder unter 6 Monaten besitzen vermutlich einen Schutz durch maternale Antikörper. Diese hohen Prävalenzen weisen auf ein endemisches Vorkommen mit hoher Kontagiosität hin. Sehr wahrscheinlich erfolgt bei allen Menschen eine Infektion im frühen Kindesalter.

Pathogenität

Bocaviren treten meist mit anderen Atemwegserregern auf. Daher ist eine direkte Ableitung zur Pathogenität nicht möglich. Bei asymptomatischen Patienten ist der Nachweis von Bocaviren bisher selten gelungen. Bocavirus wurde zuerst in Aspiraten des Nasopharynx nachgewiesen und dadurch eine kausale Verknüpfung mit Atemwegsinfektionen postuliert. Einer akuten Infektion mit Bocaviren folgt häufig eine asymptomatische Phase mit Virusausscheidung. Neuere Studien konnten BoV auch in Stuhl und Blut nachweisen. Die meisten Studien beschreiben allerdings nur die Prävalenz dieser Viren. Der kausale Zusammenhang mit einem klinischen Korrelat ist klinisch noch nicht abgeklärt. Eine hohe Viruslast im Sekret und ein Nachweis einer Virämie sprechen für eine Primärinfektion. Animale Bocaviren können bei jungen Tieren eine Gastroenteritis hervorrufen. Humane Bocaviren können auch in Stuhlproben bei Patienten diagnostiziert werden. Auch hier ist ein kausaler Zusammenhang unklar.

Weiterführende Informationen

Referenzzentren / Expertenlaboratorien

- Konsiliarlaboratorium für Parvoviren: Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene, Universität Regensburg

Web-Adressen

- Parvovirus B 19; Centers for disease control and prevention: www.cdc.gov/ncidod/dvrd/revb/.../parvo_b19.htm
- Parvovirus B19 Infection (2006) by Dennis Cunningham: <http://www.emedicine.com/ped/topic192.htm>

Schlüsselliteratur

1. Allander T (2008) Human Bocavirus, J Clin Virol 41:29
2. Berns K and JParrish CR (2007) Parvoviridae. In: Knipe DM et al. Fields Virology, 5th edn. Raven Press, Ltd, New York, pp 2437–2478

3. Corcoran A, Doyle S (2004) Advances in the biology, diagnosis and host-pathogen interactions of parvovirus B19. J Med Microbiol 53:459–475
4. Milder E, Arnold JC (2009) Human Medapneumovirus and human bocavirus in Children. Pediatr Res 65:78R–83R
5. Schildgen O, Müller A, Allander T, Mackay IM, Völz S, Kupfer B, Simon A (2008) Human Bocavirus: passenger or pathogene in acute respiratory tract infections? Clin Microbiol Rev 21:291–304

Pasteurella multocida

TANIA WELZEL

Erreger

Erregerspezies

Pasteurella multocida

Taxonomie

Familie: Pasteurellaceae

Gattungen (Genus): Pasteurella

Spezies: Die wichtigste Spezies mit humanmedizinischer Bedeutung ist *Pasteurella multocida*. Diese kann in die Subspezies *P. multocida subsp. multocida*, *P. multocida subsp. septica* und *P. multocida subsp. gallicida* unterteilt werden. Weitere Spezies mit humanmedizinischer Bedeutung sind z. B. *P. dagmatis*, *P. stomatis*, *P. canis*, *Pasteurella Species B* und *P. volantium*.

Historie

Perroncito (1878) isolierte und beschrieb das Bakterium als Erreger der Geflügelcholera. Trevisan (1887) schlug für ähnliche Mikroben, die bei Rind, Schwein, Schaf u. a. hämorrhagische Septikämien verursachen, die Bezeichnung Pasteurella vor. Die Bezeichnung *Pasteurella multocida* wurde von Rosenbusch und Merchiand (1939) eingeführt.

Morphologie

Pasteurellen sind kleine (0,2–0,4 × 0,6–2,5 µm), plumpe, unbewegliche, sporenlose gramnegative Stäbchen. In der Regel ist eine Kapsel vorhanden.

Genom

Das Genom des avianen *Pasteurella-multocida*-Klones PM70 wurde 2001 beschrieben und stellt eine wichtige Grundlage für die weitere Charakterisierung der Pathogenität und Virulenz des Erregers dar. Das Pm70-Genom besteht aus einem einzigen zirkulären Chromosom mit einer Länge von 2.257.487 Basenpaaren, 2.014 offenen Leserahmen, 6 ribosomalen RNA-Operons und 57 tRNAs. Zwei bis dato unbekannte offene Leserahmen kodieren für Proteine mit hoher Homologie zu dem filamentösen Hämagglutinin von *Bordetella pertussis*.

Vermehrung

P. multocida vermehrt sich durch Zweiteilung.

Pathogenität / Virulenz / Antigenvariabilität

P. multocida ist ein fakultativ pathogenes Bakterium. Die Manifestation einer Infektion ist abhängig von der Keimzahl und den lokalen Gegebenheiten im Wundgebiet. Die molekularen Grundlagen der Pathogenität und Virulenz von *P. multocida* sind derzeit noch unvollständig charakterisiert. Bekannt ist, dass *P. multocida* eine Reihe von Virulenzfaktoren wie z. B. zellgebundene Neuraminidasen, Hyaluronidase (K-Serovar B), mannoseresistentes Hämagglutinin (K-Serovar A) und ein Exotoxin mit hämorrhagischen und dermonekrotischen Eigenschaften (K-Serovaren A und D) besitzt. *P. multocida* kann aufgrund der Feinstruktur des Kapselpolysaccharids in fünf (K-)Kapselserovare (A, B, D, E, F) und 11–16 somatische (O-)Serovare unterteilt werden. Infektionen des Menschen werden am häufigsten durch die Serovare A und D hervorgerufen.

Erkrankung

Pasteurellosen manifestieren sich als Wund-/Weichteilinfektionen, Knochen-/Gelenkinfektionen, respiratorische Infektionen sowie bakteriämische Infektionen.

Inkubationszeit

Die Inkubationszeit beträgt wenige Stunden bis 3 Tage.

Symptome und Pathophysiologie

Wund-/Weichteilinfektionen, Knochen-/Gelenkinfektionen: Nach Biss- und Kratzverletzungen treten die klassischen Zeichen der akuten Entzündung meistens wenige Stunden, seltener ein bis drei Tage nach der Verletzung auf. Die Infektion geht bei ca. 40 % der Patienten mit Eiterbildung einher, eine Lymphangitis und/oder regionäre Lymphadenitis findet sich bei ca. 20 % der Patienten. Eine Knochenbeteiligung wird oft erst verzögert nach initialer Wundbehandlung manifest und kann chronisch mit Defektheilung verlaufen. Auch Gelenkinfektionen entstehen zumeist durch Streuung des Erregers von der Eintrittsstelle.

Infektionen des Respirationstraktes: Diese entstehen in der Regel durch direkten, nicht traumatischen Tierkontakt auf dem Boden prädisponierender Grunderkrankungen (z. B. chronische Bronchitis, COPD) und imponieren als Pharyngitis, Sinusitis, Epiglottitis, Tracheobronchitis, Pneumonie, Empyem oder Lungenabszess. Durch Aszension der Erreger kann es zu Otitis, Sinusitis, Mastoiditis und intrakraniellen Infektionen kommen.

Bakteriämische Infektionen: Diese können von lokalisierten Weichteilherden oder respiratorischen Infekten ausgehen. Die generalisierten Infektionen äußern sich u. a. als Infektionen des ZNS (Meningitis, Hirnabszess, subdurales Empyem), des Gastrointestinaltraktes (Gastroenteritiden, Peritonitis, Abszesse), des Urogenitaltraktes (Nierenabszess, Zystitis, Epididymitis, Choriamnionitis etc.) oder der Augen (Konjunktivitis, Endophthalmitis).

Immunantwort

P. multocida ist ein extrazelluläres Bakterium, das sich zunächst an der Eintrittsstelle frei vermehren kann. Nach Opsonisierung und Phagozytose kann *P. multocida* von immunkompetenten Personen zumeist rasch eliminiert werden, nicht jedoch von Patienten mit Immundefekten.

Differenzialdiagnose

Wundinfektionen nach Tier- und Menschenbissen durch eine Vielzahl aerober und anaerober (Problem-) Keime (z. B. *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus epidermidis* und hämolysierende Streptokokken, Enterokokken, *Capnocytophaga canimorsus*, *Corynebakterium* spp., *Haemophilus* spp., *Neisseria canis*, *Neisseria weaveri*, *Porphyromonas salivosa*, *Porphyromonas asaccharolytica*, *Leptotrichia buccalis*, *Acinetobacter* spp., Peptostreptokokken etc.).

Diagnostik

Untersuchungsmaterial

In Abhängigkeit von der Infektionslokalisation kommen als Untersuchungsmaterial Wundsekret, respiratorisches Sekret, Blut, Liquor cerebrospinalis, Spülwasser der Nasennebenhöhlen, Punkatate und Biopsien in Frage. Die Proben sollten innerhalb von zwei bis drei Stunden nach Gewinnung im Labor verarbeitet werden. Bei längeren Transportzeiten sind Transportmedien zu verwenden.

Diagnostische Verfahren

Mikroskopie: Nachweis kleiner, gramnegativer Stäbchen (► Morphologie). Ältere Kulturen neigen zu Pleomorphie und zur Ausbildung filamentöser Formen. In der Regel ist eine Kapsel vorhanden.

Kultur: Eine sichere ätiologische Diagnose erfordert den kulturellen Nachweis des Erregers. Für die primäre Anzüchtung und für Subkulturen sind komplexe Medien auf Peptonagarbasis mit Zusatz von 5–8% Serum oder Blut geeignet. Das Temperaturoptimum liegt bei 35–37 °C. Die aeroben, fakultativ anaeroben Mikroben wachsen am besten unter mikroaerophilen Bedingungen, d. h. in einer sauerstoffarmen Kulturatmosphäre mit 5–10 Vol.% CO₂. Selektivmedien mit Antibiotikazusätzen (Bacitracin, Clindamycin, Gentamicin, Polymyxin) kommen für spezielle Fragestellungen in Betracht. Die Bebrütungsdauer sollte bei Blut und Liquor cerebrospinalis mindestens eine Woche betragen. Charakteristisch sind 0,1–1 (bis 3) mm große, flach konvexe, runde, glattrandige, tautropfenartig glänzende Kolonien ohne Hämolyse. **Biochemische Differenzierung:** Neben Gramreaktion und Beweglichkeitsprüfung werden charakteristische Stoffwechselleistungen für die taxonomische Einordnung verwendet.

Serologische Varietäten: Es lassen sich die kapsulären (K-)Serovare A, B, D, E, F und 11–16 somatische (O-) Serovare unterscheiden. Die K-Serovarietät A enthält

Hyaluronsäure, sodass sie bei Wachstum in der Nähe eines Hyaluronidase produzierenden Stammes von *Staphylococcus aureus* depolymerisiert wird. K-Serovar B wird durch Acriflavin agglutiniert.

Therapie

Therapeutische Maßnahmen

Penicillin G und V sind Antibiotikum der Wahl. Weiterhin gutes Ansprechen auf Aminopenicilline, Cephalosporine der 2. und 3. Generation, Tetrazykline und Chinolone. Bei Wundinfektionen ist ggf. auch eine chirurgische Intervention sinnvoll.

Resistenz

Vor Therapie sollte stets die antibiotische Empfindlichkeit mittels Antibiogramm bestimmt werden. Aminoglykoside, Cephalosporine der 1. Generation, Erythromycin, Clindamycin, und Vancomycin werden als nicht ausreichend wirksam beurteilt.

Epidemiologie

Verbreitung

Pasteurellosen des Menschen sind typische Zooanthroponosen. Da die Erreger praktisch nur nach traumatischer Inokulation oder bei abgeschwächter Infektabwehr zu manifesten Infektionen bei Menschen führen, sind sie als opportunistische Infektionen zu qualifizieren. Sie sind seltene Erkrankungen; ihre Inzidenz wird auf 0,5–25 Erkrankungsfälle/1 Mio. Einwohner/Jahr geschätzt. Gesunde Keimträger kommen in Berufsgruppen mit intensivem Tierkontakt (Veterinärmediziner, Tierhändler, Landwirte) in einer Häufigkeit von ca. 2 % vor. Eine Übertragung der Erreger von Mensch zu Mensch ist nicht ausgeschlossen, aber bislang nicht belegt.

Wirtsbereich / Reservoir

Erregerreservoirs sind domestizierte und wild lebende Säugetiere und Vögel. Sie beherbergen die Mikroben in der Regel als Kommensalen auf den Schleimhäuten der oberen Atemwege. Die Häufigkeit von Keimträgern variiert jedoch nach Tierart und epizootischer Situation: Katzen 50–70 %, Hunde 12–66 %, Schweine ca. 50 %, Ratten 14 %. Veterinärmedizinisch bedeutsam sind Pneumonie und hämorrhagische Septikämie bei Rindern, Schweinen und Schafen sowie die so genannte Geflügelcholera bei Hühnern, Truthühnern und Enten.

Risikogruppen

Betroffen sind vorzugsweise Tierhalter, Tierhändler, Tierzüchter, Landwirte und Schlachthauspersonal. Bei 5–15 % der *P. multocida*-Infektionen ist Tierkontakt jedoch nicht nachzuweisen. Prädisponierend für respiratorische und generalisierte Infektionen sind bronchopulmonale Grunderkrankungen, Immunsuppression, Leberzirrhose und maligne Erkrankungen.

Transmission / Vektoren

Die Übertragung des Erregers von Tieren auf den Menschen erfolgt über Biss- und Kratzwunden, durch häufigen direkten, nicht traumatischen Kontakt oder auf aerogenem Weg (Tröpfcheninfektion). In Blut, Schleim, Auswurf und Kot kann *P. multocida* bis zu 10 Tagen, in Wasser bis zu 14 Tagen und in eingetrocknetem Zustand bis zu 3 Tagen vermehrungsfähig bleiben.

Prävention / Impfstoffe

Für die Prophylaxe von Infektionen nach Biss- und Kratzverletzungen sind die sofortige Wunddesinfektion und gegebenenfalls die chirurgische Wundtoilette mit offener Wundversorgung entscheidend. Eine zusätzliche Chemoprophylaxe ist bei tiefen Wunden und bei Patienten mit Infektabwehrschwäche zu erwägen. Für die Prophylaxe nicht traumatischer Infektionen kommt allein eine Beschränkung des Kontaktes mit Tieren in Frage. Eine Indikation hierfür dürfte jedoch nur bei hochgradig immunsupprimierten Patienten bestehen. Aktive und passive Immunisierung gegen Pasteurellosen entfallen in der Humanmedizin.

Meldepflicht

Nach § 6, 8 und 9 des IfSG besteht keine Meldepflicht.

Weiterführende Informationen

Referenzzentren / Expertenlaboratorien

- Nationale Referenzzentren sowie Konsiliarlaboratorien sind in Deutschland nicht vorhanden.

Web-Adressen

- www.uptodate.com
- www.emedicine.com/med/topic1764.htm

Schlüsselliteratur

1. Ansoerg R (1994) Die Gattung Pasteurella, Pasteurellosen. In: Brandis H, Eggers HJ, Köhler W, Pulverer G (Hrsg) Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie, 7. Aufl. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, S450–454
2. Boyce JD, Adler B (2006) How does Pasteurella multocida respond to the host environment? Curr Opin Microbiol 9:117.2
3. Holmes B, Pickett MJ, Hollis DG (1999) Pasteurella. In: Murray (Hrsg) Manual of Clinical Microbiology, 7th edn. ASM Press, Washington DC, p 632
4. May BJ, Zhang Q, Li LL, Paustian ML, Whittam TS, Kapur V (2001) Complete genomic sequence of Pasteurella multocida, Pm70. PNAS 98(6):3460–3465
5. Smith GR, Phillips JE (1990) Pasteurella and actinobacillus. In: Parker MT, Duerden B I (Hrsg) Topley and Wilson's principles of bacteriology, virology and immunology. Edward Arnold, London, p 384–399

Pediculosis

- ▶ Läuse

Pediculus spp.

- ▶ Läuse

Peitschenwurm

- ▶ Trichuris trichiura

Peliosis hepatis

- ▶ Bartonella

Pemphigoid der Säuglinge

- ▶ Staphylococcus aureus

Pemphigus acutus neonatorum

- ▶ Staphylococcus aureus

Penicilliose

- ▶ Penicillium marneffeii

Penicillium marneffeii

DAGMAR RIMEK

Erreger

Synonym(e)

Asiatischer Pinselschimmel.

Erregerspezies

Penicillium marneffeii

Taxonomie

Abteilung: Ascomycota; Klasse: Eurotiomycetes; Ordnung: Eurotiales; Familie: Trichocomaceae; Gattung: Penicillium

Von den über 200 beschriebenen Penicillium-Arten spielt als Erreger von invasiven Mykosen nur *P. marneffeii* eine wichtige Rolle.

Historie

P. marneffeii wurde erstmalig 1956 in Südvietnam aus der Leber einer Bambusratte isoliert. Die erste menschliche Infektion wurde 1959 nach einer Nadelstichverletzung beim Arbeiten mit Labortieren von Segretain (Institut Pasteur, Paris) beschrieben. Die erste natürlich erworbene Infektion trat 1973 bei einem amerikanischen Patienten mit Morbus Hodgkin auf, der in Südostasien gereist war. 1988 erschienen die ersten Fallberichte von disseminierten *P.-marneffeii*-Infektio-

nen bei HIV-positiven Patienten aus Südostasien. Heute ist die Erkrankung nach Tuberkulose und Kryptokokkose die dritthäufigste opportunistische Infektion bei AIDS-Patienten in Nordthailand.

Morphologie

Mikroskopisch finden sich im Wirtsgewebe intrazellulär einzeln gelagerte, nicht sprossende, rund-ovale hefeähnliche Zellen von 2–5 µm Durchmesser. Extrazellulär sind zusätzlich längliche, wurstförmige Zellen bis 8 µm Länge nachweisbar. Einzelne Zellen (< 10 %) weisen typischerweise ein bei Querteilung entstandenes Septum auf.

In der Kultur zeigt *P. marneffeii* einen temperaturabhängigen Dimorphismus. Der Pilz wächst in 3–7 Tagen bei 37 °C in hefeähnlichen Kolonien, bei 28 °C werden flache Kolonien mit wenig weißlichem Luftmyzel und überwiegend submersem Myzel gebildet. In den Agar wird ein diffundierendes rotes Pigment abgegeben.

Der mikroskopische Aufbau der Pinsel-Nebenfruchtformen zeigt kriechende oder gebündelte Konidiphoren, 3–5 Metulae, 4–7 Phialiden und kurze, ungeordnete Ketten glattwandiger, elliptischer Konidiosporen.

Genom

P. marneffeii ist ein eukaryonter Organismus, über dessen genaue Chromosomenzahl noch keine Daten vorliegen. Die Genomgröße liegt im Bereich von 17,8–26,2 Mb. Bisher sind nur Teile des Genoms von *P. marneffeii* sequenziert und in die Datenbank aufgenommen, z. B. das 35 kb große mitochondriale Genom.

Vermehrung

Die bei 37 °C gebildeten Hefezellen vermehren sich im Gegensatz zu den Sprosspilzen durch Querteilung (Arthrokonidien). Bei 25 °C werden ausgehend von den Pinsel-Nebenfruchtformen kurze Ketten von glattwandigen runden Konidien gebildet. Ein Teleomorph (sexuelles Vermehrungsstadium) ist nicht bekannt.

Pathogenität / Virulenz / Antigenvariabilität

Als mögliche Virulenzfaktoren kommen phasenspezifische Gene in Frage, die für den Wechsel von der Schimmel- zur Hefephase verantwortlich sind. Für das intrazelluläre Überleben der Pilzzellen in Makrophagen wird die Produktion von Enzymen wie saure Phosphatase oder Katalase diskutiert.

Erkrankung

Penicilliose

Synonym(e)

Invasive *P.-marneffeii*-Infektion, Penicilliosis marneffeii.

Inkubationszeit

Die Inkubationszeit der Erkrankung ist unbekannt. Sie beträgt wahrscheinlich Tage bis wenige Wochen.



Leitsymptome

Fieber, Anämie, Gewichtsverlust, papulonekrotische Hautläsionen (dem Molluscum contagiosum ähnlich), generalisierte Lymphadenopathie, chronischer Husten.

Symptome

Die disseminierte Penicilliose manifestiert sich durch Organdysfunktionen bei hämatogener Absiedlung des Pilzes. Im Vordergrund steht der Befall von Haut, Lymphknoten, Lunge, Leber und Milz. Die typischen klinischen Manifestationen bestehen in Fieber, chronischem Husten, pulmonalen Infiltraten, generalisierter Lymphadenopathie, Anämie, Splenomegalie, Hepatomegalie, Gewichtsverlust, Durchfall und papulonekrotischen Hautläsionen.

Pathophysiologie

Die *P. marneffe*-Infektion beginnt primär in der Lunge, von wo aus der Pilz hämatogen in andere innere Organe, Lymphknoten und die Haut disseminiert. Die Schwere des Krankheitsbildes hängt vom Ausmaß der Immunsuppression ab. Bei HIV-positiven Patienten zeigt das Gewebe Nekrosen mit makrozytärer und histiozytärer Infiltration. Bei Immunkompetenten finden sich granulomatöse Prozesse mit zentraler Nekrose und multipler Abszessbildung.

Immunantwort

Das zelluläre Immunsystem spielt eine entscheidende Rolle, darunter besonders CD4⁺-T-Zellen und Makrophagen. Die Pilzzellen werden von mononukleären Zellen nach Aktivierung durch T-Zell-Zytokine phagozytiert und intrazellulär abgetötet. Im Zuge einer *P. marneffe*-Infektion werden spezifische, zirkulierende Anti-*P. marneffe*-Antikörper der Immunglobulinklassen G und M gebildet.

Differenzialdiagnose

Tuberkulose, Kryptokokkose, Histoplasmose, Leishmaniose, Toxoplasmose. Differenzialdiagnostisch erlaubt vor allem die Morphologie der extrazellulären Gewebsformen eine Abgrenzung gegenüber *Histoplasma capsulatum*, Leishmanien sowie *Toxoplasma gondii*.

Diagnostik**Untersuchungsmaterial**

Biopsiematerial der Läsionen von Haut, Lymphknoten oder Leber, Blutkulturen, Knochenmarkpunkate, Sputum, Bronchiallavage, Aspirate pulmonaler Abszesse, Pleurapunktat.

Diagnostische Verfahren

Mikroskopie: In histopathologischen Präparaten lassen sich die intrazellulär gelegenen Pilzzellen mittels Hämatoxylin-Eosin (HE), Methenamin-Silberfärbung nach Grocott-Gomori (GMS), oder Perjodsäureschiff (PAS) gut anfärben. Die typischen Septen, die

die Abgrenzung von Histoplasma ermöglichen, werden nur durch GMS oder PAS dargestellt. Auch die Calcofluorweiß-Färbung stellt die septierten Hefezellen dar.

Kultur: Die Kultur stellt eine sensitive Nachweismethode dar, insbesondere aus Knochenmarkpunkaten (100 %), Hautbiopsien (90 %) und Vollblut (in konventionellen Blutkulturflaschen, 76 %). Die Anzucht erfolgt auf Sabouraud-Glukose-Agar bei 28 °C und bei 37 °C. Die Kulturen müssen mindestens eine Woche lang bebrütet werden.

Der Pilz wächst in 3–7 Tagen bei 37 °C in hefeähnlichen Kolonien, bei 28 °C werden flache Kolonien mit wenig weißlichem Luftmyzel und überwiegend submerser Myzel gebildet. In den Agar wird ein diffundierendes rotes Pigment abgegeben. Die Identifizierung der Isolate erfolgt makroskopisch und mikromorphologisch (► Morphologie).

Antigen- und Antikörpernachweise: Tests zum spezifischen Antigennachweis von *P. marneffe* aus Serum oder Urin wurden beschrieben, sind aber nicht kommerziell erhältlich. Der Platelia[®]-Aspergillus-Antigen-Enzym-Immuno-Assay (BioRad, München) kreuzreagiert mit Penicillium-Antigen und kann zur Diagnostik und Therapieüberwachung herangezogen werden.

Spezifische Antikörperteste (Immudiffusion, Immunoblot, EIA) zeigen eine variable Sensitivität und sind nicht kommerziell verfügbar.

Befund / Interpretation

Die kulturelle Anzucht von *P. marneffe* aus Patientematerial ist pathognomonisch. Beim histologischen Nachweis intrazellulär gelegener Hefezellen grenzt das Vorliegen septierter Hefezellen andere Erreger ab. Zusätzlich sollte der kulturelle Nachweis zur Bestätigung der Diagnose durchgeführt werden.

Therapie**Therapeutische Maßnahmen**

Die initiale Standardtherapie besteht aus Amphotericin B 0,6 mg/kg/d i.v. über 2 Wochen, gefolgt von 400 mg/d oralem Itraconazol für 10 Wochen. Als sekundäre Prophylaxe ist 200 mg/d orales Itraconazol bei immunsupprimierten Patienten wahrscheinlich lebenslang notwendig.

Resistenz

P. marneffe ist *in vitro* sensibel gegen Itraconazol, Voriconazol, Terbinafin, 5-Fluorcytosin, mäßig gut sensibel gegen Amphotericin B, resistent gegen Flucanazol.

Epidemiologie**Verbreitung**

P. marneffe kommt endemisch vor in Südostasien, vor allem im Norden Thailands (Chiang-Mai-Provinz),

Süd-China (Guangxi-Provinz), Vietnam, Myanmar, Laos, Kambodscha, Malaysia, Singapur, Indonesien, Taiwan und Ostindien (Manipur). Die *P. marneffei*-Infektion stellt in Nordthailand nach Tuberkulose und Kryptokokkose die dritthäufigste opportunistische Infektion bei HIV-Patienten dar, ca. 20 % der HIV-Patienten sind betroffen. Sie zählt seit 1992 zu den AIDS-definierenden Erkrankungen.

Wirtsbereich / Reservoir

P. marneffei kommt – außer beim Menschen – in den inneren Organen und Exkrementen von Bambusratten (*Rhizomys* spp. und *Cannomys badius*) in Südostasien vor.

Risikogruppen

Immunsupprimierte Patienten, vor allem HIV-infizierte Patienten.

Transmission / Vektoren

Sehr wahrscheinlich erfolgt die Infektion durch Inhalation von Konidiosporen aus dem Staub. Als Risikofaktor gilt eine länger andauernde Exposition gegenüber Erde in der Regenzeit. Für eine direkte Übertragung von Bambusratten auf den Menschen wurden bislang keine Hinweise gefunden.

Prävention / Impfstoffe

Eine spezifische Prävention ist nicht möglich. Eine sekundäre Prophylaxe immunsupprimierter Patienten nach Erkrankung mit 200 mg/d Itraconazol oral ist wahrscheinlich lebenslang notwendig.

Ausbruchmanagement

Die Erkrankung ist nicht von Mensch zu Mensch übertragbar.

Meldepflicht

Nach dem Infektionsschutzgesetz besteht für die *P. marneffei*-Infektion in Deutschland keine Meldepflicht.

Weiterführende Informationen

Referenzzentren / Expertenlaboratorien

- Konsiliarlaboratorium für Erreger außereuropäischer Systemmykosen, Robert Koch Institut, Mykologie, Fr. Dr. Kathrin Tintelnot, Nordufer 20, 13353 Berlin

Web-Adressen

- DoctorFungus Corporation: <http://www.doctorfungus.org/thefungi/Penicillium.htm>
- Robert Koch Institut: http://www.rki.de/cln_160/nn_205426/DE/Content/InfAZ/P/Pilzinfektionen/Penicillium.html

Schlüsselliteratur

1. De Hoog GS, Guarro J, Gene J, Figuera MJ (2000) Atlas of Clinical Fungi, 2nd edn. Centraalbureau voor Schimmeltcultures, Utrecht, pp 833–835
2. Ustianowski AP, Sieu TP, Day JN (2008) *Penicillium marneffei* infection in HIV. *Curr Opin Infect Dis* 21:31–36

3. Vanittanakom N, Cooper Jr. CR, Fisher MC, Sirisanthana T (2006) *Penicillium marneffei* infection and recent advances in the epidemiology and molecular biology aspects. *Clin Microbiol Rev* 19:95–110
4. Verweij PE, Brandt ME (2007) *Aspergillus*, *Fusarium* and other opportunistic moniliaceous fungi. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (eds) *Manual of Clinical Microbiology*, vol 2, 9th edn. ASM Press, Washington DC, Chapter 121

Penile intraepitheliale Neoplasie (PIN)

- ▶ Humane Papillomviren (HPV)

Peniskarzinom

- ▶ Humane Papillomviren (HPV)

Pentastomiasis

- ▶ Pentastomiden

Pentastomiden

MARKUS M. HEIMESAAT

Erreger

Synonym(e)

Linguatulida, Zungenwürmer.

Erregerspezies

Linguatula serrata, *Armillifer armillatus* und weitere ca. 100 Spezies bei Reptilien und Säugetieren

Taxonomie

Metazoa; Phylum: Arthropoda; Familie: Linguatulidae; Klasse: Pentastomida. Nahe Verwandtschaft mit Brachiuren (Crustacea)

Morphologie

Pentastomida sind 2–15 cm lange getrenntgeschlechtliche segmentierte, wurmförmige Arthropoden von Annelidenhabitus. Der Vorderkörper der Zungenwürmer ist mit einer Mundöffnung und zwei Paar einschlagbarer Haken versehen. Eier haben eine Größe von 90 µm × 60–70 µm.

Vermehrung

Die Vermehrung ähnelt der der Cestoden. Der Endwirt (meist Reptilien) infiziert sich durch Aufnahme der eingekapselten Larve beim Verzehr des Zwischenwirtes.

Pathogenität/Virulenz/Antigenvariabilität

Der Mensch infiziert sich nur selten und ist im Entwicklungszyklus der Parasiten Fehlwirt.

Erkrankung

Pentastomiasis

Synonym(e)

„Halazoun“, „Marrara“ (nasopharyngeales Syndrom bei Infektion mit *Linguatula serrata*).

Inkubationszeit

Unbekannt.

Leitsymptome

Meist asymptomatisch.

Symptome

Die meisten Infektionen verlaufen asymptomatisch. Der Nachweis erfolgt zufällig bei Laparoskopie oder durch bildgebende Verfahren. Bei *Armillifer armillatus* kann es zu selbstlimitierender Nasopharyngitis kommen, auch Augenmanifestationen sind beschrieben.

Pathophysiologie

Pathologische Veränderungen können in der Leber, Milz, Lunge oder selten auch in anderen Organen des Menschen auftreten und zeichnen sich als Zysten und Granulome aus.

Differenzialdiagnose

Abdominelle Tumoren.

Diagnostik

Untersuchungsmaterial/Diagnostische Verfahren

Die Diagnose wird meist postmortal oder zufällig im Rahmen chirurgischer Eingriffe gestellt. Der Nachweis der Pentastomida erfolgt makroskopisch oder durch bildgebende Verfahren. Eier der Erreger können im Stuhl und Nasenschleim nachgewiesen werden.

Therapie

Chirurgische Entfernung der Nymphen.

Epidemiologie

Verbreitung

Pentastomida kommen vorwiegend in tropischen und subtropischen Regionen vor.

Wirtsbereich/Reservoir

Reptilien und Säuger sind Erregerreservoir.

Transmission/Vektoren

Die Übertragung auf den Menschen erfolgt durch Eier, die Wasser oder Nahrungsmittel kontaminiert haben. Direkte Übertragungen von Schlangen auf den Menschen sind beschrieben.

Prävention/Impfstoffe

Vermeidung der Aufnahme kontaminierten Wassers oder kontaminierter Nahrungsmittel.

Meldepflicht

Eine Meldepflicht besteht nicht.

Weiterführende Informationen

Schlüsselliteratur

1. Chen SH, Liu Q, Zhang YN, Chen JX, Li H, Chen Y, Steinmann P, Zhou XN (2010) Multi-host model-based identification of *Armillifer agkistrodantis* (Pentastomida), a new zoonotic parasite from China. *PLoS Negl Trop Dis* 4:e647. doi: 10.1371/journal.pntd.0000647
2. Drabick JJ (1987) Pentastomiasis. *Rev Infect Dis* 9:1087–1094
3. Lavrov DV, Brown WM, Boore JL (2004) Phylogenetic position of the Pentastomida and (pan)crustacean relationship. *Proc Biol Sci* 271:537–544
4. Riley J (1986) The biology of Pentastomida. *Adv Parasitol* 25:45–128
5. Storch V (1993) Pentastomida. In: Harrison FW, Rice ME (eds) *Microscopic anatomy of invertebrates*. Vol 12: Onychophora, Chilopoda, and lesser Protostomata, pp 115–142

Pentatrichomonas hominis

- ▶ Darmflagellaten

Perikarditis

- ▶ Candida
- ▶ Chlamydia
- ▶ Coxsackieviren
- ▶ Echoviren und Parechoviren
- ▶ Legionella
- ▶ *Mycoplasma pneumoniae*
- ▶ *Neisseria meningitidis*
- ▶ Parvoviren
- ▶ Rötelnvirus
- ▶ *Streptobacillus*
- ▶ Yersinien

Periodontitis

- ▶ Parodontitis

Peritonitis

- ▶ *Ascaris lumbricoides*
- ▶ *Bacillus*-Arten (fakultativ bzw. opportunistisch pathogen)
- ▶ *Bacteroides*
- ▶ *Balantidium coli*
- ▶ *Burkholderia*, *Ralstonia*
- ▶ *Campylobacter*
- ▶ Candida
- ▶ Chlamydia

- ▶ Clostridien der Gasbrandgruppe
- ▶ Echinokokken
- ▶ Escherichia coli
- ▶ Eubakterien
- ▶ Fusarium
- ▶ Legionella
- ▶ Micrococcus, Dermacoccus, Kocuria und Kytococcus
- ▶ Moraxella catarrhalis
- ▶ Neisseria gonorrhoeae
- ▶ Pasteurella multocida
- ▶ Porphyromonas
- ▶ Proteus mirabilis, Proteus vulgaris
- ▶ Prototheca wickerhamii
- ▶ Prototheca zopfii
- ▶ Providencia, Morganella
- ▶ Rothia mucilaginosa
- ▶ Serratia
- ▶ Shewanella
- ▶ Staphylococcus (koagulasen negativ)
- ▶ Stenotrophomonas

Peritonsillarabszess

- ▶ Fusobacterium

Pest

- ▶ Bioterrorismus, infektiologische Aspekte
- ▶ Yersinien

Pesterreger

- ▶ Yersinien

Pfeiffer'sches Drüsenfieber

- ▶ Epstein-Barr-Virus

Phaeohyphomycetes

REINHARD KAPPE, DAGMAR RIMEK

Erreger

Synonym(e)

Die Phaeohyphomyceten werden auch als Dematiaceae (= Schwärzepilze) bezeichnet.

Erregerspezies

Eine Auswahl der medizinisch relevanten Schwärzepilz-Spezies ist in ▶ Tab. 1 dargestellt.

Taxonomie

Die in ▶ Tab. 1 wiedergegebene taxonomische Ein-

ordnung der medizinisch relevanten Phaeohyphomyceten folgt einem Vorschlag von de Hoog et al. (2000).

Historie

Beurmann und Gougerot beschrieben 1907 einen Fall eines intramuskulären mykotischen Abszesses durch einen Pilz, der heute als *Exophiala-jeanselmei-Komplex* bezeichnet wird. Guido Banti publizierte 1911 in Italien den ersten Fall einer zerebralen Mykose durch einen Schwärzepilz, der nach der aktuellen Nomenklatur *Cladophialophora bantiana* heißt.

Morphologie

Wirtsgewebe: In mit Hämatoxylin und Eosin (H&E) gefärbten oder ungefärbten Paraffinschnitten sind hellbraune oder goldfarbene, eng septierte, gelegentlich verzweigte Myzelien nachweisbar. Die Hyphen sind an den engsten Stellen 2–3 µm stark, zwischen den Septen jedoch oft auf 4–9 µm angeschwollen, was insgesamt einen perlchnurartigen Eindruck erweckt und intercalare Chlamydosporen ähnelt. In Hirnabszessen finden sich oft reichlich dunkle Pilzmyzelien, in Nasennebenhöhlen sind die Myzelien eher hyalin, in subkutanem Gewebe sind sie oft nur spärlich nachweisbar.

Kultur: Innerhalb von 14 Tagen werden bei 28–37 °C auf Sabouraud-Glukose-Agar dunkel pigmentierte Kolonien von hefeartigem Glanz oder schimmelartiger Samtoberfläche ausgebildet.

Mikromorphologie: Da insgesamt mehr als 100 Spezies mit über 20 Gattungen aus mindestens 4 Ordnungen und 7 Familien als Erreger einer Phaeohyphomycose in Betracht kommen, wird auf mykologische Atlanten verwiesen.

Genom

Bei einer Reihe von Phaeohyphomyceten sind Sequenzen z. B. der ribosomalen Gene bekannt. Auf deren Basis kann eine molekulare Identifizierung erfolgen.

Vermehrung

Die Phaeohyphomyceten gehören zu den langsam wachsenden Pilzen, was eine Bebrütungsdauer von mindestens 14 Tagen bedingt.

Pathogenität / Virulenz / Antigenvariabilität

Einen entscheidenden Virulenzfaktor stellt das in die Zellwand eingelagerte Melanin dar, da es die Phagozytose der Phaeohyphomyceten durch Abwehrzellen des Menschen hemmt. Auch die Fähigkeit bei 37 °C und damit bei Körpertemperatur zu wachsen, ist ein wichtiger Pathogenitätsfaktor.

Erkrankungen

1. Phaeohyphomycose

Synonym(e)

Keine.

▣ **Tab. 1.** Taxonomische Einordnung ausgewählter medizinisch relevanter Phaeohyphomyzeten.

		Teleomorph	Anamorph
Division:	Ascomycota		
Klasse:	Euascomycetes		
Ordnung:	Chaetothyriales		
Familie:	Herpotrichiaceae		<i>Cladophialophora bantiana</i> <i>Cladophialophora carrionii</i> <i>Exophiala (Wangiella) dermatitidis</i> <i>Exophiala jeanselmii</i> <i>Exophiala oligosperma</i> <i>Exophiala phaeomuriformis</i> <i>Exophiala spinifera</i> <i>Fonsecaea pedrosoi</i> <i>Phialophora europaea</i> <i>Phialophora verrucosa</i> <i>Rhinochlaetia (Ramichloridium) mackenziei</i> <i>Rhinochlaetia atrovirens</i>
Ordnung:	Dothideales		
Familie:	Dothioraceae	<i>Discosphaerina fulvida</i>	<i>Aureobasidium pullulans</i> <i>Hortaea werneckii</i> <i>Natrasia mangiferae</i>
Familie:	Mycosphaerellaceae		<i>Cladosporium</i> sp.
Familie:	Piedraiaceae	<i>Piedraia hortai</i>	
Familie:	Lophiostomataceae		<i>Madurella grisea</i> <i>Madurella mycetomatis</i>
Ordnung:	Pleosporales		
Familie:	Leptosphaeriaceae		<i>Leptosphaeria senegalensis</i> <i>Leptosphaeria thompkinsii</i>
Familie:	Pleosporaceae	<i>Cochliobolus hawaiiensis</i> <i>Cochliobolus spiciferus</i> <i>Lewia infectoria</i> <i>Cochliobolus geniculatus</i> <i>Setosphaeria rostrata</i>	<i>Bipolaris hawaiiensis</i> <i>Bipolaris spicifera</i> <i>Alternaria alternata</i> <i>Alternaria infectoria</i> <i>Curvularia geniculata</i> <i>Drechslera biseptata</i> <i>Exserohilum longirostratum</i> <i>Exserohilum mcginnisii</i> <i>Exserohilum rostratum</i> <i>Phoma</i> sp. <i>Ulocladium botrytis</i> <i>Ulocladium chartarum</i>
Ordnung:	Sordariales		
Familie:	Lasiosphaeriaceae	<i>Arnium leporinum</i>	
Familie:	Chaetomiaceae	<i>Thielavia terrestris</i> <i>Achaetomium strumarium</i> <i>Chaetomium</i> sp.	<i>Acremonium alabamense</i>

Inkubationszeit

Die Phaeohyphomyzeten gehören zu den langsam wachsenden Pilzen, was eine sehr lange Inkubationszeit und einen langen Krankheitsverlauf von Monaten bis Jahren bedingt.

Leitsymptome

Entzündliche Veränderungen, Abszesse.

Symptome

Die Symptomatik ist je nach Lokalisation (z. B. zerebrale Phaeohyphomykose, Phaeohyphomykose der Nasennebenhöhlen, disseminierte Phaeohyphomykose, Organ-Phaeohyphomykose) unterschiedlich und nicht spezifisch für das Vorliegen einer Phaeohyphomykose. Zerebrale Phaeohyphomykose: Kopfschmerzen, neurologische Ausfälle oder epileptische Anfälle, intrazerebrale Abszesse, die sich im Verlauf der Infektion vergrößern und schließlich zum Tod des Patienten führen; meist hervorgerufen durch *Cladophiala bantiana*, *Ramichloridium mackenziei* und *Exophiala dermatitidis* (neurotrope Schwärzepilze).

Pathophysiologie

Hämatogene Aussaat inhalierter Konidiosporen.

Immunantwort

Im Gegensatz zu anderen Mykosen spielt das T-Zell-system bei der Beherrschung der Phaeohyphomykose nur eine untergeordnete Rolle. Da der Immunstatus des Wirts nur in den seltensten Fällen im Zusammenhang mit der Erkrankung steht, tritt die Phaeohyphomykose in erster Linie bei Personen ohne Grunderkrankung auf.

Differenzialdiagnose

Zerebrale Phaeohyphomykose: bakterieller Hirnabszess, mykotischer Hirnabszess durch andere Pilze, z. B. *Aspergillus* spp.

Phaeohyphomykose der Nasennebenhöhlen: Zygomycose, Conidiobolomykose. Disseminierte und Organ-Phaeohyphomykose: invasive Aspergillose, Fusariose, Zygomycose.

2. Subkutane Phaeohyphomykose

► Eumyzetom

Diagnostik

Untersuchungsmaterial

Gewebe-Biopsie. Blutkulturen bei disseminierten Phaeohyphomykosen.

Diagnostische Verfahren

Mikroskopische Direktuntersuchung: Das Vorliegen einer Phaeohyphomykose wird durch den Nachweis von gelb-braunen, regulären bis pseudomyzelartigen Hyphen mit oder ohne Sprosszellen im aspirierten Ei-

ter, aus einer Wunddrainage, aus Biopsiematerial oder Hautgeschabsel diagnostiziert.

Histopathologische Untersuchung von Biopsiematerial: Die dunklen Hyphen sind gut in ungefärbten und H&E-gefärbten Schnitten zu erkennen. PAS-Färbung und Grocott-Gomori-Versilberung können die dunkle Eigenfarbe der Myzelien verdecken.

Kultur: Im Gegensatz zur Cryptococcosis finden sich bei der zerebralen Phaeohyphomykose keine Erreger im Liquor. Auch die Kultur anderer Körperflüssigkeiten, inkl. Sputum, führt nicht zur Isolierung der Erreger. Eine Ausnahme bilden Blutkulturen, die bei disseminierten Phaeohyphomykosen in mehr als 50 % der Fälle positiv sind. Eiter, Biopsie- und Wunddrainagen-Material wird auf Sabouraud-Glukose-Agar bei 28 °C und bei 37 °C für 21 Tage inkubiert. Es entwickeln sich, je nach Spezies, hefeartige oder schimmelpilzartige, in jedem Falle jedoch dunkel pigmentierte, graue, dunkel olivgraue, dunkelbraune oder nahezu schwarze Kolonien. Die Identifizierung erfolgt mikromorphologisch oder molekulargenetisch.

Serologische Tests: Es wurden keine serologischen Tests entwickelt.

Befund / Interpretation

Isolate aus Biopsien und Blutkulturen sind pathogenomisch. Kontaminationen klinischer Materialien und auch von Labormedien durch Luft- und Umwelt-Schwärzepilze kommen vor.

Therapie

Therapeutische Maßnahmen

Zerebrale Phaeohyphomykose: Neurochirurgische Resektion des meist als Hirnabszess imponierenden Infektionsherdes *in toto*. Als Begleitmedikation: Posaconazol oder Voriconazol i.v.

Phaeohyphomykose der Nasennebenhöhlen: Radikale Ethmoidektomie. Hohe Rückfallrate nach Wochen bis Monaten. Initiale intravenöse antimykotische Begleittherapie mit Voriconazol, gefolgt von mehrwöchiger oraler Konsolidierungs- und Erhaltungstherapie mit Posaconazol, Voriconazol oder Itraconazol.

Subkutane Phaeohyphomykose: Die vollständige chirurgische Resektion der Läsionen ist im Allgemeinen kurativ. Im Falle einer antimykotischen Begleittherapie, z. B. zur Verhinderung einer Amputation, kann Posaconazol, Voriconazol, Itraconazol oder Terbinafin eingesetzt werden.

Disseminierte Phaeohyphomykose: Posaconazol, Voriconazol oder Itraconazol.

Organ-Phaeohyphomykose: Chirurgische Resektion, Posaconazol, Voriconazol oder Itraconazol.

Resistenz

Fluconazol ist unwirksam gegen die meisten Erreger von Phaeohyphomykosen. Amphotericin B ist in der Regel ungeeignet zur Behandlung von Phaeohyphomykosen.

Epidemiologie

Verbreitung

Die Phaeohyphomykose kommt weltweit vor. Die häufigste Form, die Verletzungsmykose der Haut, tritt vorwiegend in tropischen und subtropischen Klimazonen auf. In Deutschland gehört die Infektion durch Schwärzepilze zu den seltenen Mykosen.

Wirtsbereich / Reservoir

Circa 60 Arten von Schwärzepilzen, die als Erreger menschlicher Phaeohyphomykosen beschrieben wurden, kommen in der Umwelt vor. Es handelt sich zu meist um Bodenpilze, die als Saprophyten oder Pathogene mit Pflanzenmaterial assoziiert sind.

Risikogruppen

Subkutane Phaeohyphomykose: Landarbeiter, die täglich Erde, Dornen, Splintern oder anderen Verletzungen erzeugenden Gegenständen ausgesetzt sind.

Zerebrale Phaeohyphomykose: Betroffen waren überwiegend Personen zwischen 20 und 40 Jahren, Männer dreimal häufiger als Frauen. Es ist kein Muster von Grunderkrankungen oder beruflichen Prädispositionen zu erkennen.

Nebenhöhlen-Phaeohyphomykose: Landbevölkerung.

Transmission / Vektoren

Subkutane Phaeohyphomykose: Mikrotraumata der Haut durch kontaminierte Holzsplitter und Spreißel, die *in situ* verbleiben müssen, um eine Infektion angehen zu lassen.

Zerebrale Phaeohyphomykose: Hämatogene Aussaat bei subkutanen, oder selten pulmonalen Läsionen.

Nebenhöhlen-Phaeohyphomykose: Inhalation von Konidien.

Prävention / Impfstoffe

Vermeidung von Mikrotraumata durch Holzsplitter bzw. sofortiges Entfernen von Fremdkörpern und desinfizierende Reinigung von Wunden.

Ausbruchmanagement

Die Erkrankung ist nicht von Mensch zu Mensch übertragbar.

Meldepflicht

Nach dem Infektionsschutzgesetz besteht für die Phaeohyphomykose in Deutschland keine Meldepflicht.

Weiterführende Informationen

Referenzzentren / Expertenlaboratorien

- Centraalbureau voor Schimmelcultures, PO Box 85167, NL-3508 AD Utrecht, The Netherlands. Tel.: +31-30-2122600, Fax +31-30-2512097, E-Mail: info@cbs.knaw.nl
- Nationales Referenzzentrum für Systemische Mykosen, Prof. Dr. med. Uwe Groß, Institut für Medizinische Mikrobiologie, Universitätskliniken Göttingen, Kreuzberg-ring 57, 37075 Göttingen, Tel.: 0551-39 5801/7099, Fax: 0551-39 5861, E-Mail: ugross@gwdg.de

Web-Adressen

- DoctorFungus Corporation: <http://www.doctorfungus.org>
- Centraalbureau voor Schimmelcultures, Niederlande: <http://www.cbs.knaw.nl>
- Nationales Referenzzentrum für Systemische Mykosen: <http://www.nrz-mykosen.de/>

Schlüsselliteratur

1. De Hoog GS, Guarro J, Gene J, Figuera MJ (2000) Atlas of Clinical Fungi, 2nd edn. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht
2. De Hoog GS, Vitale RG (2007) Bipolaris, Exophiala, Scedosporium, Sporothrix, and other dematiaceous fungi. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (eds) Manual of Clinical Microbiology, vol 2, 9th edn. ASM Press, Washington DC, Chapter 125
3. Revankar SG (2007) Dematiaceous fungi. Mycoses 50:91–101
4. Tintelnot K (2009) Schwärzepilze. In: Neumeister B, Geiss HK, Braun RW, Kimmig P (Hrsg.) Mikrobiologische Diagnostik, 2. Aufl. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, S. 688–696

Phaeohyphomykose

- ▶ Eumyzetom (*Madurella mycetomatis* u.v.a.)
- ▶ *Nattrasia mangiferae*
- ▶ Phaeohyphomycetes

Pharyngitis

- ▶ Adenoviren
- ▶ Aktinomyzeten mit fermentativem Kohlenhydratmetabolismus
- ▶ Chlamydia
- ▶ *Corynebacterium*, sonstige Spezies
- ▶ Coxsackieviren
- ▶ *Moraxella catarrhalis*
- ▶ *Streptococcus pyogenes*

Pharyngokonjunktivfieber

- ▶ Adenoviren

Phormia spp.

- ▶ Myiasis-Erreger

Phthiriasis

- ▶ Läuse

Phthirus pubis

- ▶ Läuse

Piedra alba

- ▶ Trichosporon

Piedra nigra

- ▶ Piedraia hortae

Piedraia hortae

MARIANNE KRETSCHMAR, PAUL SCHNITZLER

Erreger

Synonym(e)

Piedraia malayi Green und Mankikar, 1950.

Erregerspezies

P. hortae (Brumpt) Fonseca und Arêa Leão, 1928 (außereuropäischer Pilz mit Ascosporen)

Taxonomie

Abteilung: Ascomycota; Klasse: Euascomycetes; Ordnung: Dothideales; Familie: Piedraiaceae; Gattung: Piedraia; Spezies: Anamorph: unbekannt, Teleomorph: *P. hortae* (vormals *Piedraia hortai*)

Historie

1911 wurde die Piedra nigra durch Horta in Brasilien als selbstständige Krankheit von der Weißen Piedra abgegrenzt. Brumpt hat den Erreger der Schwarzen Piedra 1913 als *Trichosporon hortai* beschrieben. 1928 bezeichneten Fonseca und Arêa Leão diesen Pilz als *Piedraia hortae*, nachdem sie die Zugehörigkeit zu den Ascomyzeten entdeckt hatten.

Morphologie

Kolonie: Oberseite grau-schwarz oder grün, später tiefschwarz, unregelmäßig, zunächst feucht, später mit grauem Luftmyzel bedeckt, Thallus steinhart. Unterseite: Dunkelbraunes bis schwarzes Pigment diffundiert weit in den Nährboden. Mikromorphologie der Kulturform: Es werden lediglich Hyphen in unterschiedlicher Breite gebildet, die in Arthrosporen zerfallen. Alle Pilzzellen sind dickwandig.

Genom

Nicht sequenziert.

Vermehrung

Die Vermehrung von *P. hortae* erfolgt über Ascosporen. Der gesamte Lebenszyklus – einschließlich der Bildung von Ascis und Ascosporen – vollzieht sich auf der Oberfläche des Haarschafts.

Pathogenität / Virulenz / Antigenvariabilität

P. hortae ist ein autochthoner Kommensale mit kerati-

nolytischen Fähigkeiten. Er befällt ausschließlich das Kopfhaar. Kein Befall von Epidermis oder Nagel.

Erkrankung

Schwarze Piedra

Synonym(e)

Piedra nigra, Schwarze Haarknötchenkrankheit.

Inkubationszeit

Unbekannt.

Leitsymptome

Dunkle Knötchen an Haarschaften.

Symptome

Die Infektion ist auf den Haarschaft begrenzt. Charakteristisch sind kleine festsitzende, harte Knötchen, die aus Pilzelementen bestehen und schwarzbraun gefärbt sind.

Pathophysiologie

Der Pilz haftet und vermehrt sich am Haarschaft. Dabei zerstört er langsam die Haarkutikula und kann tief in den Haarkortex invadieren. Das Haar bricht an dieser Stelle ab.

Immunantwort

P. hortae löst keine Immunreaktion aus.

Differenzialdiagnose

Abgrenzung von Weißer Piedra. Ferner Verwechslung mit Eiern der Kopflaus (*Pediculus capitis*).

Diagnostik

Untersuchungsmaterial

Haare mit sichtbarem Befall.

Diagnostische Verfahren

Die Diagnostik basiert auf dem mikroskopischen und kulturellen Pilznachweis.

Mikroskopische Untersuchung der befallenen Haare in einem Haarquetschpräparat mit KOH: Die Oberfläche der schwarzen Knötchen erscheint wie ein pflanzliches Gewebe aus mosaikartig zusammengefügt Zellen. Die Knoten bestehen aus einem dichten Hyphengeflecht, in das Ascusschläuche mit je acht spindelförmigen Ascosporen eingebettet sind.

Kulturelle Anzüchtung: Aus den Knoten entwickeln sich auf speziellen festen Nährböden langsam kleine Kolonien. Bebrütung bei 25 °C bis zu 3 Wochen. Differenzierung anhand der Kolonieform und der Mikromorphologie.

Befund / Interpretation

Der sichtbare Befund, mikroskopischer Nachweis der Pilze in den Knötchen sowie die typische Kultur sind beweisend für eine Infektion mit *P. hortae*.

Therapie

Therapeutische Maßnahmen

Haare abrasieren, Lokalbehandlung mit Terbinafin oder Azolderivaten. Zusätzlich Haarwäsche mit Povidon-Jod oder Selendisulfid.

Resistenz

Nicht bekannt.

Epidemiologie

Verbreitung

Die Schwarze Piedra kommt verbreitet unter den Bewohnern von feucht-warmen Klimazonen vor: in Süd- und Zentralamerika, West- und Ostindien, Südostasien und Afrika.

Wirtsbereich / Reservoir

P. hortae kommt wahrscheinlich nicht in der Umwelt vor. Primärer Standort ist der Mensch. In einigen Gegenden ist auch das Fell von Primaten befallen.

Risikogruppen

Menschen mit glattem Haar erkranken häufiger als Menschen mit krausem Haar.

Transmission / Vektoren

Die Kontamination mit *P. hortae* breitet sich vermutlich durch freigesetzte Ascosporen über kleinste Tröpfchen im Kopfhaar eines Menschen und darüber hinaus von Mensch zu Mensch aus.

Prävention / Impfstoffe

Für den Menschen sind Präventivmaßnahmen kaum möglich und erforderlich.

Meldepflicht

Keine.

Weiterführende Informationen

Referenzzentren / Expertenlaboratorien

- Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS), Padualaan 8, Utrecht, NL-3584 CT, The Netherlands
- Institut Pasteur, Unité de Mycologie, 25 Rue du Docteur Roux, F-75015 Paris, Frankreich

Web-Adressen

- <http://www.clinical-mycology.com/>
- <http://www.mycology.adelaide.edu.au>
- <http://www.cbs.knaw.nl>

Schlüsselliteratur

1. De Hoog GS, Guarro J, Gené J, Figueras MJ (2000) Atlas of clinical fungi, 2nd edn. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands/Universitat Rovira I Virgili, Reus, Spain
2. Kwon-Chung KJ, Bennett JE (1992) Medical Mycology, 2nd edn, chapter 9: Piedra, pp 183–190. Lea & Febiger, Philadelphia, London

3. Schwartz RA (2004) Superficial fungal infections. *Lancet* 364(9440):1173–1182
4. Venugopal PV, Venugopal TV (1992) Superficial mycoses in Saudi Arabia. *Australas J Dermatol* 33:45–48

Pig-Bel

- ▶ Clostridien der Gasbrand-Gruppe

Pinta

- ▶ Treponemen

Piry-Virus

- ▶ Vesiculovirus

Pityriasis folliculorum

- ▶ Haarbalgmilben

Pityriasis versicolor

- ▶ Malassezia

Pixuna-Virus

- ▶ Alphaviren

Plantarwarze

- ▶ Humane Papillomviren (HPV)

Plasmodien

MARIJA STOJKOVIC, THOMAS JUNGHANS

Erreger

Erregerspezies

P. falciparum, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, *P. knowlesi*

Taxonomie

Ordnung: Haemosporidida; Gattung: Plasmodium

Historie

Hippokrates gilt als der erste abendländische Autor, der eine klare Beschreibung des intermittierenden Fiebers der Malaria gegeben hat. Die Debatte um die Ursache dieses Fiebers bietet rückblickend ein buntes Bild. Noch im frühen 19. Jahrhundert sahen italienische Autoren in den Dämpfen der pontinischen

Sümpfe (mal aria = schlechte Luft) die Ursache für die Verbreitung der Malaria. Erst gegen Ende des vorletzten Jahrhunderts nahm die Charakterisierung der „Mal-aria“ als Infektionskrankheit im Rahmen der „Koch'schen Revolution“ ihren Lauf. Der Erreger der Malaria durchlief in diesen Jahren innerhalb kurzer Zeit eine Wandlung vom Bakterium (*Bacillus malariae*; Edwin Klebs und Corrado Tommasi-Crudelli) zum Parasiten (Charles Louis Alphonse Laveran). Gerhardt zeigte die Übertragbarkeit des Erregers und Ronald Ross, stimuliert durch Dr. (später Sir) Patrick Manson, brachte während seiner Tätigkeit in den „Indian Medical Services“ die Moskitos ins Spiel. Giemsa beschrieb 1906 die nach ihm benannte Färbung, die bis ins molekularbiologische Zeitalter zusammen mit dem Mikroskop unersetzlich geblieben ist. Der Lebenszyklus der Malaria erscheint bis heute äußerst robust. Auch die vehementesten Versuche, ihn nachhaltig zu unterbrechen, sind bisher gescheitert. Dem Vektor buchstäblich das Wasser abzugraben, war nur sehr fokal erfolgreich; den Vektor chemisch zu vernichten, endete in einem Fiasko der WHO (DDT-Resistenz). Die Entwicklung neuer Medikamente zur Therapie und Chemoprophylaxe droht den Wettlauf mit der Resistenzentwicklung der Malaria-Erreger zu verlieren. Die schon zuzeiten der Pharaonen beliebten Moskitonetze mit der Neuerung der Imprägnierung sind zur Hoffnung für die Ebnung des Weges der Kinder in die „Semi“-Immunität geworden. Dies umso mehr, als ein Impfstoff weiter auf sich warten lässt. In den letzten Jahren wurden mehrere internationale Initiativen, z. B. „Roll Back Malaria Partnership“ lanciert, um der Kontrolle dieser tropischen Infektionserkrankung neue Impulse zu geben.

Morphologie

Die der mikroskopischen Betrachtung leicht zugänglichen Formen des Parasiten sind die Entwicklungsstadien des erythrozytären Zyklus. Der Parasit präsentiert sich zunächst als Ringform („Siegelring“) in den Erythrozyten mit sich dunkel färbendem Chromatin im Nukleus, einem zirkulären Zytoplasmasaum und einer blassen zentralen Nahrungsvakuole. Bei den Plasmodienarten *P. vivax*, *P. ovale* und *P. malariae* kann man das Heranreifen der Plasmodien über jeden 48- bzw. 72-Stunden-Zyklus bis zur Schizogonie und den dabei freigesetzten Merozoiten verfolgen, bei *P. falciparum* dagegen in der Regel nur die Entwicklungsstufen bis zur ca. 26. Stunde, da danach die Parasiten in die tiefen Kapillaren sequestrieren, sofern es nicht bei sehr hohen Parasitendichten zum „Überlauf“ daraus kommt (prognostisch ungünstiges Zeichen). *P. knowlesi* ist morphologisch *P. malariae* ähnlich, kann jedoch aufgrund seines sehr kurzen 24-stündigen Vermehrungszyklus hohe Parasitendichten erlangen, Sequestration der parasitierten Erythrozyten kommt nicht vor. *P. knowlesi* ist erst jüngst als 5. hu-

manpathogener Malariaparasit beschrieben worden (Vorkommen in Süd-Ost-Asien-Malaysia).

Genom

Das Genom von *P. falciparum* und *P. vivax* ist sequenziert und wurde im Jahr 2002 publiziert.

Vermehrung

Lebenszyklus. Die Sporozoiten gelangen beim Stich der weiblichen Anophelesmücke in die Blutbahn des Menschen. Innerhalb kurzer Zeit verschwinden sie in den Hepatozyten. Hier entwickeln sich Schizonten. Nach der Teilung gelangen die frei werdenden Merozoiten in die Blutbahn, wo sie in Erythrozyten eindringen. Nur bei *P. vivax* und *P. ovale* bleibt bei einigen Sporozoiten die Entwicklung in der Leber für einige Zeit arretiert (Hypnozoiten). Sie sind in der Lage, nach Monaten bis Jahren einen Rückfall zu verursachen. Innerhalb der Erythrozyten entwickeln sich die Parasiten von der Ringform über Trophozoiten zu Schizonten, die rupturieren und Merozoiten freisetzen. Diese dringen wiederum in neue Erythrozyten ein, können sich jedoch auch zu Gametozyten entwickeln. Werden die Gametozyten von Moskitos aufgenommen, entwickeln sie sich dort erneut zu Sporozoiten. Damit ist der Zyklus geschlossen.

Pathogenität / Virulenz / Antigenvariabilität

P. falciparum ist die virulenteste Plasmodienart. Die Ursache dafür wird in der Art und Weise gesehen, in der *P. falciparum* die Erythrozytenoberfläche verändert. Hier wird die Verknüpfung von Virulenz und Pathogenität vermutet. Der Parasit etabliert während jedes asexuellen 48-Stunden-Zyklus Proteine auf den Erythrozytenoberflächen des Wirtes, die Voraussetzung für die Zytoadhärenz dieses Parasiten sind. Die Erythrozyten mit veränderter Oberfläche binden an Rezeptoren „aufgeregelter“ Endothelzellen. Auf diese Weise kommt es zur Sequestration parasitierter Erythrozyten in den Zielorganen und zusätzlich durch Adhäsion zwischen den Erythrozyten zur Erythrozyten-Rosettenbildung. Diese Phänomene werden als eine der Komponenten gesehen, die die pathologischen Prozesse beim Malaria-Infizierten vorantreiben. Die Fähigkeit des Parasiten, gerade im Bereich der für die Zytoadhäsion verantwortlich gemachten Liganden (PfEMP1) eine enorme Antigenvariabilität zu entwickeln (*var* Gene), ermöglicht ihm, der Immunantwort des Wirtes zu entkommen. Auf der anderen Seite reagiert jedoch auch der Wirt sehr variabel auf den Parasiten (Zytokinausschüttung, Polymorphismen der Endothelrezeptorgene, z. B. ICAM-1). Dieser Fluss der Ereignisse wird in zunehmendem Maß molekular erfasst mit einer rasant wachsenden Zahl beschriebener Rezeptoren, Liganden und zunehmender Kenntnisse über die genetische Variabilität des Parasiten und des Wirtes. Der Brückenschlag zur Pathophysiologie oder gar zur Klinik der schweren Malaria lässt jedoch hart-

näckig auf sich warten. Ergebnisse vorhergesagter Assoziationen, z. B. zwischen Adhäsionseigenschaften und Schweregrad der Erkrankung, enttäuschten und für die klinische Herausforderung gängiger Hypothesen (z. B. Adhäsion) fehlen bisher die testbaren Produkte (z. B. anti-adhäsive Therapeutika) sowie die klinischen Studien zu ihrer Erprobung.

Erkrankung

Malaria, mit den speziesbezogenen Untergruppen **Malaria tropica** (*P. falciparum*), **Malaria tertiana** (*P. vivax*, *P. ovale*), **Malaria quartana** (*P. malariae*).

Inkubationszeit

P. falciparum: Die meisten Patienten mit importierter Malaria erkranken innerhalb der ersten 3 Monate nach Rückkehr aus einem Malaria-Endemiegebiet, einige jedoch erst innerhalb eines Jahres und länger.

P. vivax und *P. ovale*: Nur ca. 30 % der importierten Malariainfektionen manifestieren sich klinisch innerhalb eines Monats nach Rückkehr, 5–10 % erst nach einem Jahr und länger. Aufgrund der Hypnozoiten kann ein Rückfall auch erst nach Jahren eintreten.

P. malariae: Obwohl keine Hypnozoiten gebildet werden, kann diese Malariaform noch Jahrzehnte nach Erstinfektion rezidivieren.

Leitsymptome

Fieber, Kopf- und Gliederschmerzen (unkomplizierte Malaria); Symptome aus (Multi-)Organversagen resultierend (komplizierte Malaria), insbesondere Bewusstlosigkeit (zerebrale Malaria), Blässe, Symptome des Kreislaufversagens (schwere Anämie).

Symptome

Es gibt keine typischen Symptome der Malaria. Für praktische klinische Zwecke ist jeder Patient, der ein Malaria-Endemiegebiet innerhalb der letzten Monate (bis Jahre) besucht hat, bei Fieber und „grippeartigen“ Symptomen (Kopf- und Gliederschmerzen) – auch Durchfall kommt vor – malariaverdächtig; und dies bei jeder derartigen Episode erneut.

Häufige körperliche Untersuchungsbefunde: Zeichen der Anämie, Ikterus, vergrößerte, druckschmerzhaft Milz und Leber.

Erkrankungseinteilung: Für die Praxis hat sich im Hinblick auf die Therapie folgende Unterteilung bewährt:

- die „gutartigen“ „Tertiana“- und die „Quartana“-Malaria-Erkrankungen (*P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*),
- die unkomplizierte *Malaria tropica* (*P. falciparum*),
- die komplizierte *Malaria tropica* (*P. falciparum*).

Die klinischen Manifestationen der komplizierten Malaria sind: Bewusstseinsveränderungen bis zum Koma (zerebrale Malaria), Dyspnoe (azidotische Atmung), Krampfanfälle, Kreislaufversagen, Lungen-

ödem, Blutungsneigung, Ikterus, Hämoglobinurie, schwere Anämie.

Pathophysiologie

Verschiedene Prozesse sind wirksam und in verschiedenen Patientengruppen (Kinder, Schwangere, Semi-Immune, nicht Semi-Immune) in unterschiedlichen Kombinationen mehr oder weniger bedeutsam: Sequestration parasitierter Erythrozyten (► oben), metabolische Störungen (Azidose, Hypoglykämie), direkte Zerstörung der Erythrozyten durch heranreifende Plasmodien, Knochenmarksuppression durch plasmodieninduzierte Störung des Zytokinprofils, Gewebsminderperfusion (Hypovolämie, Anämie).

Immunantwort

Man unterscheidet die angeborene Resistenz bzw. „Immunität“ und die durch einmalige oder wiederholte Konfrontation mit einem Erreger erworbene Immunität.

Angeborene Resistenz: Genetische Merkmale, die sich im Laufe der Zeit als vorteilhaft, z. B. gegenüber der Infektion durch Malaria-Erreger, erwiesen haben, sind Teil der angeborenen Resistenz gegenüber Malaria-Erregern. Hierzu zählen u. a. das Hämoglobin-S-Trägertum (Sichelzell-Krankheit), die Thalassämien, der G6PDH-Mangel oder das Fehlen der Duffy-Blutgruppe.

Erworbene Immunität: Trotz intensiver Forschung ist die Malaria-Immunität bis heute sehr unzureichend verstanden. In dem offensichtlich sehr komplexen Geschehen sind einige Segmente der Immunantwort gut beschrieben. Es kristallisieren sich bei einigen dieser Prozesse hohe Parasitenantigen-Spezifitäten heraus, die derzeit als Zielantigen bei der Entwicklung von Impfstoffkandidaten berücksichtigt werden.

Die Komponenten und Prozesse des tatsächlichen Schutzes, den ein Mensch erlangen kann, sind ebenso unvollständig verstanden und werden sehr kontrovers diskutiert. Einigkeit besteht darüber, dass der Mensch keine komplette „anti-infektiöse“ (sterilisierende) Immunität – vergleichbar der gegenüber Viren, wie z. B. Masern-Viren – erlangen kann. Ins Spiel gebracht wurde deshalb eine so genannte „anti-disease“-Immunität. Diese soll die Krankheitsmanifestationen modulieren, was zu der Beobachtung passt, dass Menschen, die in Endemiegebieten geboren werden und aufwachsen, mit der Zeit zwar weiterhin regelmäßig infiziert werden (was für die Aufrechterhaltung dieser Immunität offensichtlich auch erforderlich ist), jedoch keine oder nur noch milde Krankheitserscheinungen entwickeln. Es wird in diesem Zusammenhang auch von einer so genannten „Semi“-Immunität gesprochen. Es dauert Jahre, bis diese solide etabliert ist. Wie diese jedoch altersabhängig gewonnen wird, inwieweit sie verloren geht und wie schnell sie zurückgewonnen werden kann, ist unklar.

Differenzialdiagnose

Aufgrund der unspezifischen Klinik gibt es zahlreiche Differenzialdiagnosen, im Hinblick auf importierte Erkrankungen mit spezifischen Verbreitungsgebieten bzw. erhöhtem reisessoziiertem Risiko, insbesondere Dengue-Fieber, Typhus abdominalis, Rickettsiosen, virale Hepatitiden, Leptospirose, bakterielle Sepsis.

Diagnostik

Untersuchungsmaterial

Blut (EDTA-).

Diagnostische Verfahren

Spezifisch. EDTA-Blut → Dicker Tropfen (Suchtest) und Blutausschlag (Identifikation der Plasmodien-Spezies *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* und Bestimmung der Parasitämie).

Dicker Tropfen: Ein Blutropfen wird auf einem Objektträger verrührt, getrocknet, hämolysiert und nach Giemsa gefärbt. Der „Dicke Tropfen“ ist als Anreicherungsverfahren (6–10fach) wesentlich sensitiver als der Blutausschlag.

Blutausschlag: Dieser wird ebenfalls nach Giemsa gefärbt. Die Form der Parasiten ist aufgrund der Fixierung gut erhalten und die Erythrozyten sind gut beurteilbar. Damit sind die Voraussetzungen für die Malaria-Speziesbeurteilung und die Parasitämiebestimmung erfüllt.

Bei negativem Ergebnis und fortbestehendem Verdacht Wiederholung(en) der Untersuchung.

Weitere Nachweisverfahren:

QBC (quantitative-buffy-coat-Methode): Anreicherung der Parasiten im buffy coat durch Zentrifugieren in speziellen Kapillarröhrchen und Anfärbung der Parasiten-DNA mit Acridin-Orange. Sensitivität mit dem „Dicke Tropfen“ vergleichbar; das Ergebnis liegt innerhalb von Minuten vor, es ist jedoch eine teure Fluoreszenzeinrichtung und sehr viel Erfahrung erforderlich.

So genannte Malaria-Schnelltests sind immunochromatografische Nachweisverfahren von *P. falciparum* histidine rich protein 2 (PfHRP-2) oder parasitenspezifischer Laktatdehydrogenase (pLDH). Die Schnelltests haben sich für den Zweck der Selbstdiagnose der Reisenden nicht bewährt. Im Labor oder durch den Arzt sind sie einsetzbar, sofern die Limitationen beachtet werden. Das sind vor allem falsch-negative Ergebnisse, solange die Parasitämie noch niedrig ist, und aufgrund blockierender Phänomene bei sehr hohen Parasitämien.

Die Malaria-Serologie hat für die Diagnose der akuten Malaria keine Bedeutung. Sie ist für epidemiologische Untersuchungen und die retrospektive Diagnostik geeignet.

Molekularbiologische Methoden (PCR) erfüllen derzeit noch nicht die Anforderungen für die Malariadi-

agnostik, insbesondere hinsichtlich der Zeit, die erforderlich ist, bis das Ergebnis zur Verfügung steht.

Zusätzliche Laboruntersuchungen: Hämoglobin, Leukozyten, Thrombozyten, plasmatische Blutgerinnung, Bilirubin, Transaminasen, Kreatinin, Harnstoff, Blutzucker.

Für die weitere Differenzialdiagnose, insbesondere bei negativer Malariadiagnostik: Blutkulturen, Stuhlkulturen, Urinstatus und -kultur, Lumbalpunktion.

Therapie

Therapeutische Maßnahmen

Ein Malaria-Erkrankter muss bis zur Differenzierung der Spezies als medizinischer Notfall behandelt werden. Ergibt die Artdiagnose *P. vivax*, *P. ovale* oder *P. malariae*, entspannt sich die Situation. Der Verlauf ist in aller Regel „gutartig“. Die Malaria tropica (*P. falciparum*) dagegen stellt entweder von Anbeginn ein intensivmedizinisches Problem dar (komplizierte Malaria tropica) oder kann sich von einem auf den anderen Moment zu einem solchen Problem entwickeln (unkomplizierte Malaria tropica).

Die Therapie verfolgt zwei Ziele: die schnelle Eradikation des Parasiten (spezifische antiparasitäre Therapie) und die Behandlung von Komplikationen (symptomatische Therapie).

Die spezifische Therapie erfordert genaue Kenntnisse über die Resistenzlage der Malaria-Endemiegebiete. Resistenzbestimmungen sind nicht als Routine-Laborleistungen verfügbar und würden ohnehin zu lange dauern, um therapeutisch nützlich zu sein.

Therapie der „Tertiana“-Malaria (*P. vivax* und *P. ovale*) und der „Quartana“-Malaria (*P. malariae*)

In der Regel liegt keine Notfallsituation vor. Die Milzruptur ist praktisch die einzige, sehr seltene tödliche Komplikation.

Mittel der 1. Wahl für die Behandlung der Blutformen, sofern keine Resistenz vorliegt, ist Chloroquin. Bei chloroquinresistenten *P. vivax*-Infektionen erfolgt die Behandlung mit Atovaquon-Proguanil, Artemether-Lumefantrin oder Chinin (resistenzgerechte Therapie ▶ Resistenz).

Für die Eradikation der Leberformen (Hypnozoiten; *P. vivax* und *P. ovale*) wird Primaquin (Ausschluss des G6PDH-Mangels beachten!) eingesetzt. Bei *P. vivax*-Infektionen aus Gebieten mit mangelnder Ansprechbarkeit auf die Primaquin-Standarddosis erfolgt die Therapie mit höherer Dosis.

Therapie der unkomplizierten Malaria tropica (*P. falciparum*)

Die Therapie mit Chloroquin ist nur noch in sehr wenigen Gebieten der Welt möglich. Die meisten Infektionen müssen mit Atovaquon/Proguanil, Artemether/Lumefantrin oder Mefloquin behandelt werden. Chinin (oral) ist ebenfalls unter bestimmten Bedingungen eine Option. In Multiresistenzgebieten müssen auf je-

den Fall Artemisinin-Derivate verabreicht werden (resistenzgerechte Therapie ▶ Resistenz).

Therapie der komplizierten Malaria tropica (*P. falciparum*)

Mit Ausnahme von Infektionen aus Multiresistenzgebieten ist das Mittel der Wahl in Deutschland nach wie vor Chinin, das parenteral, beginnend mit einer Auf-sättigungsdosis („loading dose“), verabreicht wird. Dosierung und Dosierungsintervalle der Einzeldosen müssen sehr strikt eingehalten werden. Auf Nebenwirkungen muss streng geachtet werden: Hypoglykämie (chinininduzierte Hyperinsulinämie), Reizleitungsstörungen des Herzens (korrigierte QTc-Zeit), Hörstörung (wobei ein etwas „entferntes“ Hören und ein Tinnitus in aller Regel einen guten Wirkspiegel signalisieren, keine Gefahr darstellen und nach Therapieende verschwinden).

Je nach Resistenzlage wird zum Chinin Doxycyclin hinzugenommen, oder es müssen in den Multiresistenzgebieten Artemisinin-derivate zum Einsatz kommen.

Randomisierte klinische Studien in Südostasien, in denen Artesunat mit Chinin verglichen wurde, haben in jüngster Zeit gezeigt, dass die Letalität der komplizierten Malaria bei Erwachsenen mit Artesunat um 35 % gesenkt werden kann. Wegen der eindeutigen Datenlage, ist Artesunat in den aktuellen Malaria-Therapieempfehlungen der Weltgesundheits-Organisation für die Therapie der komplizierten Malaria tropica beim Erwachsenen Mittel der ersten Wahl. Ein Dilemma stellt dar, dass Artesunat derzeit nicht in einem Produkt zur Verfügung steht, das nach GMP- (good medical practice) Standard hergestellt ist.

Die Kunst der Behandlung der komplizierten Malaria liegt darin, die mannigfaltigen Komplikationen zu beherrschen. Vom Organversagen bedroht sind in erster Linie das ZNS (zerebrale Malaria), die Lunge (ARDS), die Niere (tubuläre Nekrose) und das Blut/Knochenmark (hämolytische Anämie/Hemmung). Die metabolische Azidose (Laktazidose) ist ein großes Problem. Auch unter optimalen intensivmedizinischen Bedingungen ist die Letalität der Malaria mit Multiorganversagen hoch.

Unter bestimmten Bedingungen hilfreiche Maßnahmen sind Austauschtransfusion (klinisch sehr schwierige Entscheidung; Evidenzlage problematisch) und antikonvulsive Behandlung (zerebrale Malaria).

Kontraindiziert sind bzw. nicht bewährt haben sich hoch dosierte Kortikosteroide, Mannitol, Heparin, Desferrioxamine, Azetylsalizylsäure, TNF-Antikörper, Pentoxifylline (TNF-Inhibitor).

Resistenz

P. falciparum: ist inzwischen gegenüber zahlreichen Medikamenten resistent. Chloroquinresistenz trat mehr oder weniger gleichzeitig in den frühen 1960er Jahren in Südostasien und Südamerika auf, ab den

1980er Jahren in Sub-Sahara-Afrika und hat sich inzwischen bis zur Unbrauchbarkeit dieses einst wertvollen Medikaments ausgebreitet. Resistenzen gegenüber Pyrimethamin-Sulfonamid-Kombinationen, Amodiaquin, Mefloquin, Halofantrin, Chinin, Chinin-Doxycyclin, Atovaquon und Artemisinin-Derivaten folgten. Multiresistenzen sind ein zunehmendes und gefürchtetes Problem. Sie werden seit Jahren insbesondere in den Regionen Thailand-Kambodscha und Thailand-Burma beobachtet.

Plasmodium vivax: Resistenzen gegenüber Chloroquin sind seit einigen Jahren nun auch bei *P. vivax* aufgetreten. Betroffen ist vor allem Ozeanien. Die Erstbeschreibung kam 1989 aus Papua-Neuguinea und wurde seitdem auch in Indonesien und Burma beobachtet und in Einzelfällen in Indien, den Salomon-Inseln, Thailand, Guyana und Brasilien. Zunehmend gibt es inzwischen auch eine verminderte Ansprechbarkeit gegenüber Primaquin in verschiedenen Regionen der Welt.

Epidemiologie

Verbreitung

40 % der Weltbevölkerung leben in Malaria-Endemiegebieten.

Die Malaria ist in den Tropen mit Ausnahme von Polynesien und Mikronesien verbreitet. *P. falciparum* ist die führende Art im subsaharischen Afrika, Neuguinea und Haiti, *P. vivax* in Zentralamerika, Nordafrika, Süd- und Westasien.

Die epidemiologische Situation variiert in weiten Grenzen. Am einen Ende der Skala befinden sich sehr viele Länder des subsaharischen Afrikas, in denen die meisten Menschen bereits kurz nach Geburt infiziert sind. Die Malaria-assoziierte Sterberate ist hoch in der frühen Kindheit, im Erwachsenenalter dagegen profitiert die Bevölkerung von einer erworbenen, so genannten „Semi“-Immunität (▶ Immunantwort). Am anderen Ende des Spektrums befinden sich Regionen mit sporadischer Malaria-Übertragung, z. B. Nordindien. Die Malaria tritt in Epidemien auf und trifft eine nicht immunologisch vorbereitete Bevölkerung. Die Sterberate ist während dieser Epidemien in allen Altersklassen hoch.

Die Inzidenz klinischer Malaria-Episoden pro Jahr wird auf 500 Millionen geschätzt, die Sterberate auf 1 Million Menschen pro Jahr. Schwere Erkrankungen, Tod und Folgeschäden werden praktisch ausschließlich von *P. falciparum* verursacht.

Reisende aus Nicht-Endemiegebieten sind ungeschützt in allen Altersgruppen sehr gefährdet und auf wirksame Präventionsmaßnahmen angewiesen (Repellentien, möglichst gut bedeckende Kleidung, Moskitonetze, Chemoprophylaxe, Stand-by-Therapie). In den letzten Jahren werden in Deutschland jährlich 600–700 importierte Malariafälle registriert. Davon sterben jedes Jahr mehrere an dieser gut verhüt- bzw. therapierbaren Erkrankung.

Wirtsbereich / Reservoir

Mensch.

Risikogruppen

Alle in Endemiegebieten lebenden Menschen gehören hierzu, wobei in Abhängigkeit von der Übertragungssituation Kinder besonders gefährdet sind. Ebenso alle Nicht-„Semi-Immunen“, d. h. Personen, die außerhalb von Endemiegebieten geboren und aufgewachsen sind. Aufgrund der Tatsache, dass Menschen aus Endemiegebieten, die außerhalb von diesen leben, oft (zu Unrecht) als „semi-immun“ geschützt angesehen werden, stellen auch sie eine Risikogruppe dar. Da nicht klar ist, wie schnell die „Semi-Immunität“ verloren geht bzw. wiederhergestellt ist, sollten diese Menschen – um auf der sicheren Seite zu sein – bzgl. einer Malariaprophylaxe und -therapie wie Nicht-Immune behandelt werden. Eine besondere Risikogruppe stellen Schwangere dar. In erhöhtem Maße gefährdet sind evtl. auch Personen ohne Milz.

Transmission / Vektoren

Die Malaria wird durch mehrere Anopheles-Arten übertragen. Die Übertragung findet bei Temperaturen unter 16 °C, über 33 °C und über einer Höhe von 2.000 m nicht statt. Die meisten Anophelinen stechen abends und nachts, unterscheiden sich jedoch darin, ob sie im oder außerhalb des Hauses stechen. Übertragung durch Blut- und Blutprodukte kommt vor, ebenso über Injektionsnadeln. Die kongenital übertragene Malaria ist sehr selten.

Kontrolle / Prävention / Impfstoffe

Strategien zur Krankheitsvorbeugung und Kontrolle in Malariaendemiegebieten

Folgende Strategien sind heute im Einsatz:

1. Frühdiagnose und prompte Therapie auf Haushalts-, Primärversorgungs- und Krankenhausebene,
2. persönlicher Schutz mit Insektizid-imprägnierten Moskitonetzen,
3. selektive und nachhaltige Sanierungsmaßnahmen und Sprayaktionen,
4. Frühwarnsysteme und Bekämpfung von Epidemien,
5. intermittierend präventive Therapie für Kleinkinder (IPT_i) und für Schwangere (IPT_p).

Individuelle Prävention bei Reisenden

Die Prävention der Malaria bzw. die Verhinderung von schwerer Erkrankung und Tod besteht aus einer Kombination von Einzelmaßnahmen:

1. Aufklärung über das Risiko,
2. Reduktion der Stichrate der Überträgermücke (Repellentien, Kleidung, Mückengitter, Moskitonetze),
3. Insektizide (auch zur Imprägnierung von Moskitonetzen; Pyrethroide, Permethrin),
4. Chemoprophylaxe,

5. Notfallmedikamente zur Selbstbehandlung,
6. Aufklärung darüber, dass eine Malaria trotz optimaler Prävention (Punkte 1–5) noch Monate nach der Rückkehr eintreten kann,
7. Sensibilisierung des Gesundheitssektors und Ausbildung des Personals.

Die Kombination der auf Reisen zum Einsatz kommenden Strategien (Punkte 1–5) hängt von zahlreichen Faktoren ab, u. a. vom Übertragungsrisiko und der Resistenzlage im bereisten Gebiet, von der Dauer der Reise und persönlichen Voraussetzungen des Reisenden.

Medikamente zur Chemoprophylaxe und Selbsttherapie sind heute regionenspezifisch in vielen europäischen Ländern durch Expertenkonsens abgestimmt. Wer Reisende berät, muss über den aktuellen Stand dieser Leitlinien informiert sein.

In der medikamentösen Malariaprävention werden abhängig vom Übertragungsrisiko folgende zwei Wege eingeschlagen: (1) die Chemoprophylaxe (in Regionen mit hohem Übertragungsrisiko) und (2) die Notfall-(Selbst-)Therapie (in Regionen mit niedrigem Übertragungsrisiko). Die Medikamentenwahl richtet sich nach der Resistenzlage in den einzelnen Gebieten. Die Karte der WHO/DTG fasst in ihrer regelmäßig aktualisierten Form diese Strategien zusammen. Chloroquin ist aus Resistenzgründen fast vollständig von der Landkarte verschwunden. Mefloquin und Atovaquon/Proguanil haben Chloroquin in der Prophylaxe und Selbsttherapie ersetzt; für die Hochresistenzgebiete steht für die Selbsttherapie zusätzlich ein Artemisinin-derivat (Artemether) kombiniert mit Lumefantrin zur Verfügung. Doxycyclin ist auch in Resistenzgebieten grundsätzlich eine Alternative in der Chemoprophylaxe. Diese Substanz ist jedoch von der deutschen Arzneimittelkommission nicht für diese Indikation zugelassen (► Abb. 1).

Impfstoffe

Die Entwicklung von Impfstoffen gegen *P. falciparum*, und auch *P. vivax*, ist im Gange, jedoch noch weit entfernt von einem ausreichend wirksamen und einsetzbaren Impfstoff.

Meldepflicht

Die Malaria ist eine nicht namentlich meldepflichtige Erkrankung nach § 7,3 des Infektionsschutzgesetzes.

Weiterführende Informationen**Referenzzentren / Expertenlaboratorien**

- Alle tropenmedizinischen Einrichtungen sind Ansprechpartner für die Diagnostik und Therapie (► Adressenliste der DTG, www.dtg.mwn.de).

Web-Adressen

- Deutsche Gesellschaft für Tropenmedizin und Internationale Gesundheit (DTG) e.V.: www.dtg.org

Malariaprophylaxe 2010

Einteilung in Zonen mit unterschiedlicher medikamentöser Chemoprophylaxe gemäß Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Tropenmedizin und Internationale Gesundheit (DTG) Stand: März 2010

- Gebiete, wo die Malaria nicht oder nicht mehr vorkommt
- Gebiete mit sehr beschränktem Malariarisiko; Malariäübertragung selten
- Gebiete mit Malariäübertragung

- | | |
|---|--|
| <p>P Mefloquin (Lariam®) oder Atovaquon/Proguanil (Malarone®) oder Doxycyclin* zur Chemoprophylaxe
<small>* für diese Indikation in Deutschland nicht zugelassen</small></p> <p>Alle Malaria-gebiete</p> <p>Mückenschutz empfohlen (minimales Risiko, siehe Länderliste)</p> | <p>- Keine Chemoprophylaxe empfohlen Artemether/Lumefantrin (Riamet®) oder zur Notfalltherapie</p> <p>- T Keine Chemoprophylaxe empfohlen Mefloquin (Lariam®) oder Atovaquon/Proguanil (Malarone®) oder Artemether/Lumefantrin (Riamet®) zur Notfalltherapie</p> <p>- CT Keine Chemoprophylaxe empfohlen Chloroquin zur Notfalltherapie</p> |
|---|--|

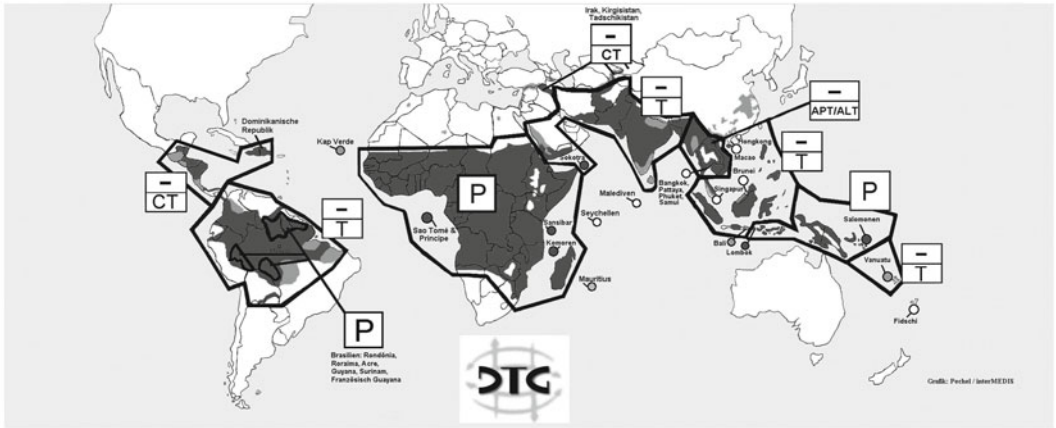


Abb. 1. Malariaprophylaxe 2010

- Roll Back Malaria Initiative: www.rbm.who.int
- Drugs for Neglected Disease Initiative: www.dndi.org/
- Medicines for Malaria Venture: www.mmv.org/papes/page_main.htm
- WHO Tropical Disease Research Programme: www.who.int/tdr/

Schlüsselliteratur

1. AWMF Diagnostik und Therapie der Malaria; Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Tropenmedizin und Internationale Gesundheit (DTG), www.uni-duesseldorf.de/awmf/II/042-001.htm
2. Bradley DJ, Newbold CI, Warrell DA (2000) Malaria. In: Ledingham JGG, Warrell DA (Hrsg) Concise Oxford Textbook of Medicine. Oxford University Press: Oxford, pp 1735–1750
3. Greenwood BM, Bojang K, Whitty CJM, Targett GAT (2005) Malaria. Lancet 365:1487–1498
4. Junghans T (2006) Diagnostik und Therapie der schweren Malaria. In: Van Aken, Reinhart, Zimpfer, Welte Intensivmedizin, 2. Aufl. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, S 808–814
5. Lang WL, Löscher T (Hrsg) (2010) Tropenmedizin in Klinik und Praxis, 4. Aufl. Georg Thieme Verlag, Stuttgart
6. White NJ (2009) Malaria. In: Cook GC (Hrsg) Manson's Tropical Diseases, 22. Aufl. W.G. Saunders Comp Ltd, London, pp 1201–1300
7. World Health Organization (2010) Guidelines for the treatment of malaria., 2nd edition WHO Press

Plattenepithelkarzinom

- ▶ Humane Papillomviren (HPV)

Plattenepithelkarzinom, kutanes

- ▶ Humane Papillomviren (HPV)

Plesiomonas

INGO FENGLER

Erreger

Synonym(e)

Pseudomonas shigelloides, *Aeromonas shigelloides*, *Vibrio shigelloides* (Überholte und heute ungebräuchliche Synonyme).

Erregerspezies

Plesiomonas shigelloides

Taxonomie

Familie *Enterobacteriaceae*, Gattung *Plesiomonas*; die derzeit einzige bekannte Spezies ist *P. shigelloides*. Aufgrund seiner phänotypischen Gemeinsamkeiten mit Keimen der Genera *Vibrio* und *Aeromonas* wurde

P. shigelloides zunächst der Familie *Vibrionaceae* zugeordnet. Phylogenetische Analysen mit molekularbiologischen Methoden zeigten jedoch eine engere Verwandtschaft zur Familie der *Enterobacteriaceae* als zur Familie der *Vibrionaceae*. Allerdings erfüllt *P. shigelloides* wichtige Kriterien, die bisher zur Definition der *Enterobacteriaceae* herangezogen wurden, nicht. So ist *P. shigelloides* z. B. Oxidase-positiv und es besteht eine Empfindlichkeit für das Vibriostatikum O/129.

Historie

Der erste Vertreter der Gattung *Plesiomonas* wurde 1954 von Bader als „*Pseudomonas shigelloides*“ beschrieben. Nach Vorschlägen von Habs und Schubert (1962) wurde das Bakterium dann in die Gattung *Plesiomonas* mit der Speziesbezeichnung *Plesiomonas shigelloides* überführt.

Morphologie

Plesiomonaden sind bewegliche, gerade geformte gramnegative Stäbchen mit 2 oder mehr Geißeln an einem der Pole. Sie sind mikroskopisch von Vibrionen und Aeromonaden in der Regel nicht zu unterscheiden. Auf Blutagar bilden sie anfangs kleine graue, durchsichtige Kolonien ohne Hämolysezone. Nach 24-stündiger Bebrütung sind die Kolonien etwa 1–2 mm groß. Sie erscheinen später weißlich glatt und sind in alten Kulturen polymorph.

Vermehrung

Das Bakterium lässt sich leicht bei 37 °C z. B. auf Blut- oder McConkey-Agar kultivieren. Sichtbare Kolonien sind bereit nach 24stündiger Inkubation nachweisbar.

Pathogenität / Virulenz / Antigenvariabilität

Die Pathogenität von *P. shigelloides* wird kontrovers diskutiert. Der Keim lässt sich aus der Darmflora von Gesunden in der Regel nicht isolieren, wurde aber gehäuft bei Patienten mit Diarrhoe nachgewiesen. Vermutlich ist eine hohe Infektionsdosis von über einer Million Keimen erforderlich.

Durch *P. shigelloides* verursachte extraintestinale Erkrankungen sind selten. Septikämien wurden vor allem bei immunsupprimierten Patienten und Neugeborenen beobachtet. Es wurden Fälle von Pyosalpingitis, Cellulitis, Polyarthrit, Endophthalmitis und Cholecystitis, bei denen *P. shigelloides* isoliert werden konnte, beschrieben. Der eindeutige Nachweis von Virulenzfaktoren sowie die Identifizierung des enteropathogenen Mechanismus von *P. shigelloides* sind bisher jedoch noch nicht gelungen.

Verschiedene *P. shigelloides*-Stämme lassen sich anhand ihrer Körper(O)- und Geißel(H)-Antigene differenzieren. Bisher wurden 102 Körper- und 51 Geißel-Antigene beschrieben.

Erkrankung

Diarrhoe

Inkubationszeit

Generell ist die Inkubationszeit abhängig von der Art der Infektion, der Anzahl der Erreger sowie der Immunitätslage des Patienten. Erste Symptome können 20 bis 24 h nach Genuss von kontaminiertem Trinkwasser oder Speisen auftreten.

Leitsymptome

Diarrhoe.

Symptome

Bauchschmerzen, Übelkeit, Erbrechen, Tenesmen, Fieber.

Pathophysiologie

Infektionen verlaufen zumeist als Diarrhoe vom sekretorischen Typ unter dem klinischen Bild von wässrigen Durchfällen. Das Infektionsgeschehen spielt sich hierbei primär im Bereich des oberen Dünndarms ab. Die Beschwerden können 3–4 Wochen anhalten.

Ein Teil der Infektionen kann jedoch auch unter dem Bild einer invasiven Diarrhoe mit blutigen Durchfällen verlaufen.

Differenzialdiagnose

Bakterielle Diarrhoen anderer Genese.

Diagnostik

Untersuchungsmaterial

Bei Diarrhoe Stuhlproben. Bei systemischen Infektionen Blutkulturen, bei lokalen Prozessen geeignetes Untersuchungsmaterial aus der entsprechenden Region (z. B. Abstriche, Punktate).

Diagnostische Verfahren

Kulturelle Anzucht mit biochemischer Identifizierung und Resistenztestung. Molekularbiologische Verfahren zum Erregernachweis und -Typisierung sind beschrieben, kommen in der Routinediagnostik im Allgemeinen jedoch nicht zur Anwendung.

Befund / Interpretation

Der kulturelle Nachweis in Verbindung mit einer entsprechenden klinischen Symptomatik spricht für eine Infektion mit dem Erreger.

Therapie

Therapeutische Maßnahmen

Bei einer durch *P. shigelloides* verursachten Diarrhoe handelt es sich um eine selbstlimitierende Erkrankung ohne Notwendigkeit für eine Antibiose. Im Allgemeinen ist hier eine Flüssigkeitssubstitution ausreichend. Bei schweren Verläufen kann eine Antibiose in Betracht gezogen werden.

Bei systemischen oder lokalen Infektionen kann eine

Antibiose nach Möglichkeit unter Berücksichtigung der Resultate der Resistenztestung erforderlich sein.

Resistenz

P. shigelloides bildet β -Laktamase und ist daher resistent gegenüber den meisten Penicillinen incl. den Uridopenicillinen (z. B. Piperacillin, Azlocillin, Mezlocillin). Kombinationen mit β -Laktamase-Inhibitoren sind jedoch zumeist wirksam. Es bestehen z. T. Resistenzen gegenüber Aminoglykosiden und Tetracyclinen. Eine Empfindlichkeit besteht im Allgemeinen gegenüber Cephalosporinen der 2. und 3. Generation (mit Ausnahme von Cefoperazon, Ceftazidim und Cefepim), Chinolonen, Co-trimoxazol, Carbapenemen und Chloramphenicol.

Epidemiologie

Verbreitung

Es handelt sich um einen weltweit verbreiteten Keim, der aus Süß- und Salzwasser isoliert werden kann. Bei Temperaturen über 8 °C ist der Keim beweglich und vermehrungsfähig. Daher wurde *P. shigelloides* bisher zu den thermophilen Bakterien gezählt. Allerdings konnte der Keim auch in Seen nördlich des Polarkreises nachgewiesen werden.

Wirtsbereich / Reservoir

Primär handelt es sich bei *P. shigelloides* um einen Wasserkeim. Als sekundäres Reservoir können jedoch auch im Wasser lebende Tiere in Frage kommen. Weiterhin konnte eine Kolonisation mit *P. shigelloides* bei einer Vielzahl von poikilo- und homeothermen Tieren nachgewiesen werden.

Risikogruppen

Immunsupprimierte Patienten und Neugeborene weisen ein erhöhtes Risiko für eine Septikämie mit dem Erreger auf.

Transmission / Vektoren

Infektion durch kontaminiertes Trinkwasser oder Lebensmittel.

Prävention / Impfstoffe

Genuss von entsprechend aufbereitetem Trinkwasser bzw. ausreichend gegarten Lebensmitteln.

Ausbruchmanagement

Es wurden nur vereinzelt Ausbruchsgeschehen aus dem asiatischen Raum berichtet. Ggf. Durchbrechung von Infektionsketten durch geeignete Isolations- und Desinfektionsmaßnahmen.

Meldepflicht

Eine Meldepflicht besteht namentlich nach Abschnitt 3, § 6 des Infektionsschutzgesetzes vom Juli 2000, bei Verdacht auf und Erkrankung an einer mikrobiell bedingten Lebensmittelvergiftung oder an einer akuten infektiösen Gastroenteritis, wenn a) eine

Person betroffen ist, die eine Tätigkeit im Sinne des § 42 Abs. 1 ausübt, b) zwei oder mehr gleichartige Erkrankungen auftreten, bei denen ein epidemischer Zusammenhang wahrscheinlich ist, oder vermutet wird. Dem Gesundheitsamt ist ferner unverzüglich das gehäufte Auftreten nosokomialer Infektionen, bei denen ein epidemischer Zusammenhang wahrscheinlich ist oder vermutet wird, als Ausbruch nichtnamentlich zu melden. Die Meldung nach Satz 1 hat gemäß § 8 Abs. 1 Nr. 1, 3 und 5, § 10 Abs. 1 Satz 3, Abs. 3 und 4 Satz 3 zu erfolgen.

Weiterführende Informationen

Referenzzentren / Expertenlaboratorien

- Konsiliarlaboratorium für gastrointestinale Infektionen: Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene, Klinikum der Universität Freiburg, Hermann-Herder-Str. 11, 79104 Freiburg. Ansprechpartner: Herr Prof. Dr. med. M. Kist, Telefon: 0761-203-6590; Telefax: 0761-203-6562; Email: manfred.kist@uniklinik-freiburg.de. Die Leistungen umfassen Beratungen zur Auswahl diagnostischer Verfahren, bei der Aufklärung von Ausbrüchen gastrointestinaler Infektionen und bei Fall-Kontroll-Studien zur Epidemiologie gastrointestinaler Infektionen.

Web-Adressen

- <http://diss-epsilon.slu.se/archive/00000307/>
- <http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/FoodborneIllness/FoodborneIllnessFoodbornePathogensNaturalToxins/BadBugBook/default.htm>
- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/>

Schlüsselliteratur

1. Abbott SL (2007) Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and Other Enterobacteriaceae. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (eds) Manual of Clinical Microbiology, 9th edition, Volume 1, ASM Press, Washington D.C.
2. González-Rey C (2003) Studies on Plesiomonas shigelloides isolated from different environments. Doctoral thesis Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala
3. Steinberg JP, Burd EM (2010) Other Gram-Negative and Gram-Variable Bacilli. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds) Mandell, Douglas and Benett's: Principles and Practice of Infectious Diseases, 7th edition, Volume 2, Elsevier Churchill Livingstone, Philadelphia

Pleurodynie

- ▶ Coxsackieviren

Pleuropneumonie

- ▶ Paragonimus

Pneumocystis carinii f. sp. hominis

- ▶ Pneumocystis jirovecii

Pneumocystis jirovecii

DAGMAR RIMEK

Erreger

Synonym(e)

Pneumocystis jirovecii, *Pneumocystis carinii* f. sp. Hominis.

Erregerspezies

Pneumocystis jirovecii

Taxonomie

Abteilung: Ascomycota; Klasse: Archiascomycetes; Ordnung: Pneumocystidales; Familie: Pneumocystidaceae; Gattung: Pneumocystis
Pneumocystis-Isolate tierischer und menschlicher Herkunft unterscheiden sich. Bei Tieren findet sich *P. carinii*, beim Menschen *P. jirovecii*.

Historie

P. jirovecii wurde erstmals 1909 von C. Chagas als Trypanosom beschrieben. Delanoë und Delanoë berichteten 3 Jahre später, dass es sich bei dem fraglichen Erreger nicht um ein Trypanosom handelt, und nannten ihn *Pneumocystis carinii*. In den 1920er bis 1950er Jahren wurden diverse Ausbrüche von interstitiellen, plasmazellulären Pneumonien in Heimen mit mangelernährten, auf engstem Raum untergebrachten Kindern berichtet. Vanek und Jirovec beschrieben 1952 *P. carinii* als Ursache dieser Pneumonie. Seit den 1980er Jahren wurde *P. carinii* als häufigster opportunistischer Erreger von Pneumonien bei AIDS-Patienten gesehen. Die Inzidenz der Pneumocystose ist mit Einführung von HAART (highly active antiretroviral therapy) seit 1996 zurückgegangen. Bis Ende der 1980er wurde der Erreger aufgrund seiner Morphologie als Protozoon betrachtet. Ribosomale RNA-Sequenzanalysen ergaben 1988, dass *P. carinii* als Pilz zu klassifizieren ist. Für die humanpathogene Art *P. carinii* f. sp. hominis wurde 1999 der Name *P. jirovecii* (korrekt: *P. jirovecii*) vorgeschlagen, die tierpathogenen Isolate behielten den Namen *P. carinii*.

Morphologie

Es gibt zwei bekannte Stadien des Lebenszyklus von *P. jirovecii*:

- 5–8 µm große Zysten mit bis zu acht Kernen und charakteristischen, intrazystischen, symmetrisch zueinander angeordneten, klammerartigen Strukturen und
- kleinere, 2–5 µm große, pleomorphe Trophozonten.

Genom

Pneumocystis ist ein eukaryonter Organismus, der seit 1988 nach Sequenzanalyse des 18S rRNA-Gens zu den Pilzen gerechnet wird. Die am besten untersuchte

Form, *P. carinii* f. sp. carinii, scheint haploid zu sein und enthält ca. 8 Millionen Basenpaare, entsprechend 8,5 fg DNA pro Zellkern. Das Genom verteilt sich auf 13–15 Chromosomen mit einer Länge von jeweils 300–700 Kilobasenpaaren. Die Genomsequenzen der einzelnen wirtsspezifischen Formae speciales unterscheiden sich deutlich voneinander, was zur Umbenennung von *P. carinii* f. sp. hominis in *P. jirovecii* führte. Bisher wurden ca. zwei Dutzend Gene sequenziert. An einem Projekt mit dem Ziel der Sequenzierung des kompletten Genoms von *P. carinii* wird gearbeitet.

Vermehrung

P. jirovecii durchläuft in der Trophozitenform eine asexuelle Vermehrung durch Querteilung. Daneben existiert ein sexueller Vermehrungszyklus mit der Ausbildung von Zysten, in denen acht intrazystische Körperchen heranreifen. Diese werden durch Platten der Zysten freigesetzt und entwickeln sich zu der Trophozitenform. Der zeitliche Ablauf der Vermehrung ist nicht bekannt.

Pathogenität / Virulenz / Antigenvariabilität

P. jirovecii ist ein Erreger mit niedriger Virulenz. Ein Hauptantigen ist das MSG (major surface glycoprotein), das sowohl konservierte als auch speziesspezifische Antigen determinanten aufweist. Das MSG ist ein wichtiger Adhärenzfaktor und ist durch antigenetische Variabilität gekennzeichnet. Durch die Veränderung dieses Oberflächenproteins entkommt der Erreger der Immunabwehr des Wirtes.

Erkrankung

Pneumocystis-Pneumonie

Synonym(e)

PCP, Pneumocystose, *Pneumocystis-carinii*-Pneumonie.

Inkubationszeit

Die genaue Inkubationszeit ist nicht bekannt. Die Krankheit beginnt schleichend. Patienten unter Kortikosteroid-Therapie zeigen typischerweise 1–2 Wochen lang Symptome bis zur Diagnosestellung, bei HIV-Patienten kann das Prodromalstadium Wochen bis Monate betragen.

Leitsymptome

Zunehmende Dyspnoe, trockener Husten, Fieber.

Symptome

Die Pneumocystose tritt als interstitielle, plasmazelluläre Säuglings-Pneumonie auf, als interstitielle Pneumonie schwer immunsupprimierter Patienten (v. a. AIDS-Patienten) und selten als extrapulmonale Form. Die Patienten klagen über zunehmende Dyspnoe, trockenen Husten ohne Auswurf und Fieber. Bei der klinischen Untersuchung fallen Tachypnoe und Tachy-

kardie auf. Die Auskultation der Lunge ist meist normal, evtl. findet sich ein verschärftes Atemgeräusch oder ein diskretes Knisterrasseln. Die Vitalkapazität ist vermindert. Im Röntgen-Thorax zeigen sich typischerweise bilaterale, diffuse, interstitielle Infiltrate, die von den perihilären Regionen ausgehen.

An auffälligen Laborwerten finden sich im Blut ein verminderter Sauerstoff-Partialdruck (pO_2), eine erhöhte Alveolo-arterielle Sauerstoffdifferenz und häufig eine erhöhte Laktat-Dehydrogenase (LDH) von > 500 mg/l.

Insbesondere bei AIDS-Patienten kann es gelegentlich zur Dissemination des Erregers mit extrapulmonaler Infektion kommen. Betroffene Organe können Lymphknoten, Milz, Leber, Knochenmark, Gastrointestinaltrakt, Auge, Schilddrüse, Nieren, Herz, Gehirn und Haut sein.

Pathophysiologie

Nach Inhalation gelangt *P. jirovecii* in die Lungenalveolen, wo sich die Trophozoiten an Typ-I-Alveolarzellen anlagern. Bei verminderter Immunabwehr vermehrt sich der Erreger und füllt langsam die Alveolarräume aus. Das histologische Bild zeigt ein schaumiges, eosinophiles Alveolarexsudat. Im späteren Stadium der Erkrankung bilden sich hyaline Membranen, eine interstitielle Fibrose und ein Ödem. In der Folge kommt es zu einer verminderten Diffusionskapazität der Lunge mit Hypoxämie und respiratorischer Alkalose. Das Bild ähnelt dem des ARDS (adult respiratory distress syndrome).

Immunantwort

Die Immunantwort auf eine Infektion mit *P. carinii* ist komplex und nicht genau verstanden. Die ersten Abwehrzellen nach Infektion mit *P. carinii* in der Lunge sind die Alveolarmakrophagen, die den Erreger phagozytieren, abtöten und dabei Zytokine freisetzen. Für die Überwindung der Infektion sind darüber hinaus $CD4^+$ -T-Zellen notwendig. Aber auch die humorale Abwehr spielt eine wichtige Rolle. Im Tiermodell wurde eine Schutzwirkung von Antikörpern gegen *P. carinii*, insbesondere von anti-MSG-Antikörpern gezeigt.

Differenzialdiagnose

Atypische Pneumonien durch bakterielle Erreger wie *Chlamydophila pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*; Viruspneumonien (z. B. CMV-Pneumonie); Tuberkulose.

Diagnostik

Untersuchungsmaterial

Als Untersuchungsmaterial am besten geeignet sind bronchoalveoläre Lavage-Flüssigkeit (BAL) und Lungenbiopate mit einer Sensitivität von > 90 %. Brauchbar als Screening-Material ist induziertes Sputum (nach Inhalation von hypertoner Kochsalzlösung und anschließend tiefem Abhusten), das eine geringere Sensitivität von 50–90 % aufweist.

Diagnostische Verfahren

Da *P. jirovecii* nicht kultivierbar ist, stehen für den Erregernachweis nur mikroskopische und molekularbiologische Methoden zur Verfügung:

- Silberfärbung nach Grocott-Gomori: Anfärbung der Zystenwand; Darstellung von Zysten und deren intrazystischen charakteristischen, symmetrisch zueinander angeordneten, klammerartigen Strukturen.
- Toluidinblau-Färbung: Einfache Alternative zur Silberfärbung, aber Färberegebnis weniger prägnant.
- Calcofluorweiß-Färbung: Chemo-Fluoreszenzfarbstoff, Darstellung der Zystenwand.
- Giemsa-Färbung: Darstellung von Trophozoiten und intrazystischen Körperchen, keine Anfärbung der Zystenwand.
- Spezifische Immunfluoreszenz-Färbungen auf der Basis monoklonaler Antikörper: Darstellung von Zysten human- und rattenpathogener Pneumocystis-Arten.
- Nukleinsäure-Amplifikationsmethoden (PCR): Seit 1990 wurden verschiedene Assays beschrieben, es gibt aber bisher keine kommerziell verfügbare Methode. Die PCR kann eine sinnvolle Ergänzung zu den Färbeverfahren darstellen.

Ein Antikörper-Nachweis ist aufgrund der hohen Durchseuchungsrate nicht sinnvoll.

Befund / Interpretation

Der mikroskopische Nachweis von *P. jirovecii* spricht für eine Erkrankung. Positive PCR-Befunde müssen im Zusammenhang mit dem klinischen Bild und dem Ergebnis der Mikroskopie bewertet werden. Aufgrund der hohen Empfindlichkeit der PCR werden auch klinisch inapparente Besiedlungen mit Pneumocystis erfasst.

Therapie

Therapeutische Maßnahmen

Als Therapie der 1. Wahl gilt Trimethoprim-Sulfamethoxazol (Cotrimoxazol), je nach Schweregrad ambulant und oral oder stationär und intravenös. Eingesetzt wird die vierfache Standarddosis: 15–20 mg Trimethoprim pro kg KG und 75–100 mg Sulfamethoxazol pro kg KG in 3–4 Einzeldosen pro Tag für die Dauer von 21 Tagen. Eine Anpassung an die Nierenfunktion ist erforderlich. In schweren Fällen ist die zusätzliche Gabe eines Glukokortikoids indiziert. 80–95 % der HIV-Patienten sprechen innerhalb von 4–8 Tagen an. Alternativen zur Standardtherapie sind Pentamidin i.v., Dapson + Trimethoprim, Clindamycin + Primaquin, Atovaquon, Trimetrexat + Leucovorin.

Resistenz

Cotrimoxazol resistente Isolate kommen bei bis zu 25 % der HIV-Patienten vor. Die Resistenz gegen Sul-

fonamide ist durch Punktmutationen im Dihydropteroat-Synthase-(DHSP-)Gen bedingt.

Epidemiologie

Verbreitung

Pneumocystis kommt bei Menschen und Tieren weltweit vor. Die primäre Exposition des Menschen gegenüber *P. jirovecii* findet frühzeitig statt: Im Alter von 3 Jahren haben die meisten Kinder Antikörper gebildet. Die Häufigkeit der Pneumocystis-Pneumonie bei AIDS-Patienten ist in den Industrienationen höher als in den Entwicklungsländern. Die Inzidenz hat in den letzten Jahren nach Einführung der antiretroviralen Therapie (HAART) abgenommen.

Wirtsbereich / Reservoir

P. jirovecii lebt als Saprophyt im unteren Respirationstrakt von Menschen, *P. carinii* in den Atemwegen von Tieren wie Ratten, Mäusen, Kaninchen, Frettchen, Schweinen, Pferden und Affen. Ein Reservoir in der unbelebten Natur wurde bislang nicht gefunden.

Risikogruppen

Frühgeborene, unterernährte Säuglinge, HIV-Patienten, Transplantationspatienten, hämatologische und onkologische Patienten unter Chemotherapie oder anderer immunsuppressiver Therapie, Patienten unter länger andauernder hoch dosierter Kortikosteroid-Therapie, Patienten mit schwerem Eiweißmangel.

Transmission / Vektoren

P. jirovecii wird aerogen übertragen, wahrscheinlich durch Übertragung von Mensch zu Mensch. So wird die Säuglingspneumonie auch als epidemische Pneumocystose bezeichnet. Darüber hinaus wurden Ausbrüche bei immunsupprimierten Patienten im Krankenhaus beschrieben. Aber auch für eine latente Infektion mit Reaktivierung bei verminderter Immunitätslage gibt es Hinweise. Eine Übertragung vom Tier auf den Menschen ist aufgrund der Wirtsspezifität des Erregers ausgeschlossen.

Prävention / Impfstoffe

Die Effektivität einer Chemoprophylaxe bei HIV-Patienten ist erwiesen; in den USA sind Richtlinien dafür aufgestellt worden. Indikationen:

1. weniger als 200 CD4⁺-T-Zellen pro μ l Blut,
2. oropharyngeale Candidose,
3. früher dokumentierte Pneumocystis-Pneumonie (Rückfallquote ca. 25 %),
4. Säuglinge HIV-infizierter Mütter ab dem 2. Lebensmonat bis zum Ausschluss einer HIV-Infektion bzw. bei HIV-Infektion auf jeden Fall während des 1. Lebensjahres.

Mittel der Wahl für die Chemoprophylaxe bei Erwachsenen ist Cotrimoxazol oral in einer Dosierung von 160 mg Trimethoprim und 800 mg Sulfamethoxazol

täglich oder dreimal pro Woche. Effektiv ist auch die tägliche Einnahme von 80 mg Trimethoprim und 400 mg Sulfamethoxazol. Die Cotrimoxazol-Prophylaxe ist auch gegen *Toxoplasma gondii* wirksam. Alternativen bei Unverträglichkeit sind Dapson, Dapson + Pyrimethamin oder die Inhalation von Pentamidin.

Die Prophylaxe ist lebenslang notwendig. Sie kann ausgesetzt werden, wenn unter HAART die Zahlen der CD4⁺-T-Zellen länger als 3 Monate auf Werte > 200 Zellen pro μ l Blut ansteigen.

Auch bei immunsupprimierten Nicht-HIV-Patienten sollte unter bestimmten Bedingungen eine Chemoprophylaxe erwogen werden, z. B. bei niedrigen CD4⁺-T-Zellzahlen, bei länger andauernder Kortikosteroid-Therapie, nach Knochenmark- oder Organtransplantation, bei Neutropenie nach Chemotherapie.

Ausbruchmanagement

Patienten mit Pneumocystis-Pneumonie sollten von anderen immunsupprimierten Patienten isoliert werden, um eine aerogene Übertragung von Mensch zu Mensch zu verhindern.

Meldepflicht

Nach dem Infektionsschutzgesetz besteht für die Pneumocystis-Pneumonie in Deutschland keine Meldepflicht.

Weiterführende Informationen

Referenzzentren / Expertenlaboratorien

- Expertenlabor: Prof. Dr. E. C. Reisinger, Abteilung für Tropenmedizin und Infektionskrankheiten, Klinik für Innere Medizin der Universität Rostock, Ernst Heydemann Str. 6, 18057 Rostock

Web-Adressen

- The *Pneumocystis* Genome Project. <http://pgp.cchmc.org>
- DoctorFungus Corporation: <http://www.doctorfungus.org/thefungi/pneumocystis.htm>
- AIDSinfo: <http://www.aidsinfo.nih.gov/Guidelines/>

Schlüsselliteratur

1. Cushion MT (2007) Pneumocystis. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA (eds) Manual of Clinical Microbiology, vol 2, 9th edn. ASM Press, Washington DC, Chapter 120
2. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (2000) Mandell, Douglas, and Bennett's Principle and Practice of Infectious Diseases, 5th edn. Churchill Livingstone, Philadelphia London, pp 2781–2795
3. Stille W (2005) Antibiotika-Therapie, 11. Aufl. Schattauer, Stuttgart New York, S 707–710
4. Rüchel R (2009) Pneumocystis jirovecii. In: Neumeister B, Geiss HK, Braun RW, Kimmig P (Hrsg.) Mikrobiologische Diagnostik, 2. Aufl. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, S 668–672

Pneumocystose

- Pneumocystis jirovecii

Pneumokokken

- ▶ *Streptococcus pneumoniae*

Pneumonie

- ▶ Acinetobacter
- ▶ Adenoviren
- ▶ Alcaligenes/Achromobacter
- ▶ Amöben, frei lebende (Naeglerien, Acanthamoeben, Balamuthia, Amöben als Vehikel pathogener Mikroorganismen)
- ▶ Arenaviren
- ▶ Aviäre Influenzaviren
- ▶ Bioterrorismus, infektiologische Aspekte
- ▶ Burkholderia, Ralstonia
- ▶ Chlamydia
- ▶ Coronavirus, humanpathogenes
- ▶ Corynebacterium, sonstige Spezies
- ▶ Coxsackieviren
- ▶ Cytomegalievirus
- ▶ Enterobacter
- ▶ Enteroviren 68-71 und andere Entroviren
- ▶ Escherichia coli
- ▶ Flavobacterium
- ▶ Haemophilus influenzae
- ▶ Hafnia
- ▶ Hakenwürmer
- ▶ Klebsiella
- ▶ Legionella
- ▶ Moraxella catarrhalis
- ▶ Mycoplasma pneumoniae
- ▶ Parainfluenzaviren
- ▶ Pneumocystis jirovecii
- ▶ Proteus mirabilis, Proteus vulgaris
- ▶ Providencia, Morganella
- ▶ Pseudomonas
- ▶ Rothia mucilaginosa
- ▶ SARS-Coronavirus (SARS-CoV)
- ▶ Scopulariopsis brevicaulis
- ▶ Serratia
- ▶ Streptococcus pneumonia

Pneumonie

TOBIAS WELTE

Definition

Wir unterscheiden drei hinsichtlich Erreger, Prognose und Verlauf verschiedene Formen der Pneumonie, die ambulant erworbene Pneumonie (englisch: Community Acquired Pneumonia, CAP), die nosokomiale Pneumonie (NP) mit der Sonderform der beatmungs-assoziierten Pneumonie (englisch: Ventilator-associated pneumonia, VAP) und die Pneumonie bei Immunsupprimierten.

Jede außerhalb des Krankenhauses oder während der ersten 48 Stunden nach Aufnahme ins Krankenhaus erworbene Pneumonie wird als CAP bezeichnet. Mehr als 48 Stunden nach Krankenhausaufnahme und in den ersten Tagen (bis zu mehreren Wochen, abhängig von der Länge des Krankenhausaufenthalts und der Menge eingenommener Antibiotika) nach Krankenhausentlassung erworbene Infektionen werden als nosokomiale Pneumonien bezeichnet.

In den letzten Jahren wurden intensiv diskutiert, ob die Pneumonie bei Bewohnern von Alten- und Pflegeheimen als eine besondere Krankheitsentität anzusehen sei, für Europa konnte jedoch nicht belegt werden, dass sich das Erregerspektrum – und damit die Auswahl der empfohlenen Antibiotika – von dem von Patienten mit klassischer ambulant erworbener Pneumonie unterscheidet

Die schnelle Weiterentwicklung der Transplantationsmedizin und der Hochdosis-Chemotherapie im hämatologisch-onkologischen Bereich führte dazu, dass pulmonale Infektionen mit opportunistischen Erregern wie dem Zytomegalievirus oder Aspergillus vermehrt auftraten, für die neue diagnostische und therapeutische Maßnahmen nötig wurden, die im Rahmen dieses Kapitels nicht diskutiert werden können.

Erregerspektrum

CAP (1)

Der am häufigsten identifizierte Erreger ist *S. pneumoniae* (in ca. 30–50 % aller Fälle), gefolgt von Mykoplasmen, *H. influenzae* (beide ca. 10 %) und Legionellen (ca. 3–5 %). *S. aureus* und gramnegative Erreger wie *E. coli* und *K. pneumoniae* spielen bei älteren und komorbiden Patienten eine Rolle. *P. aeruginosa* findet sich bei CAP nur bei Patienten mit struktureller Lungenerkrankung. Ob Viren für Pneumonien verantwortlich sind oder ob sie durch eine Schädigung des Atemwegsepithels lediglich die Entstehung bakterieller Infektionen begünstigen, ist unklar. Mischinfektionen mit mehreren Erregern kommen vor, sind aber eher selten.

In Deutschland werden zurzeit keine wesentlichen Resistenzen der wichtigsten Erreger der CAP gegenüber den gängigen Antibiotika berichtet, weltweit ist vor allem in Südeuropa und Asien die Makrolidresistenz von *S. pneumoniae* für die Therapieplanung bedeutsam.

NP/VAP (2)

S. aureus, *E. coli*, *K. pneumoniae* und *P. aeruginosa* sind die wesentlichen Erreger. Aufgrund der großen Zahl an chronisch kranken, vielfach vorbehandelten Patienten, wurde die Unterscheidung in frühe („early onset“) und späte („late onset“) Pneumonie weitgehend verlassen, da bei diesen Patienten frühzeitig resistente Erreger zu beobachten sind

Für alle Erreger der NP ist eine Zunahme von Resistenzen gegen Standardantibiotika zu beobachten. In

Einzelfällen ist der Erreger gegenüber keiner der bekannten Antibiotikagruppen sensibel.

Epidemiologie

Die Inzidenz der CAP in Deutschland beträgt, je nach verwendeter statistischer Methode, 3,7–10,1 pro 1000 Einwohner und liegt damit im europäischen Mittel. 200.000 der jährlich etwa 400.000 bis 680.000 CAP-Patienten werden stationär behandelt. Die Sterblichkeit im ambulanten Bereich ist niedrig, bei hospitalisierten Patienten mit knapp 14 % hoch, sie ist abhängig vom Alter des Patienten und seinen Komorbiditäten. Wesentliche, die Prognose der Pneumonie beeinflussende Begleiterkrankungen sind dabei die chronische Herzinsuffizienz, die chronische Niereninsuffizienz, die strukturelle Lungenerkrankung, die Leberzirrhose, eine neurologische Grunderkrankung und eine Tumorerkrankung.

Die Gesamtinzidenz der VAP beträgt im Bereich internistischer Intensivstationen 12,1 %, das entspricht 16,5 Fällen pro 1000 Patiententage. VAP ist prognose- und kostenrelevant, insgesamt muss man von einer zusätzlichen Sterblichkeit von 30 % ausgehen. Resistente Erreger sind für die Verschlechterung der Prognose mitverantwortlich.

Beschreibung des Krankheitsbilds

Typisch sind respiratorische Symptome (Husten, purulenter Auswurf, Dyspnoe), Fieber, Tachypnoe (beim Kleinkind Nasenflügeln als Zeichen der Dyspnoe), Zyanose, Pleuraschmerzen. Allgemeinsymptome wie Krankheitsgefühl, Schüttelfrost, Kopf- und Gliederschmerzen, Appetitlosigkeit. Extrapulmonale Symptome wie Durchfall oder eine neurologische Symptomatik (Verwirrtheit, Halluzinationen) können vor der pulmonalen Symptomatik auftreten. Zeichen einer viralen Erkrankung (Pharyngitis, Rhinitis, Otitis) können der Pneumonie vorausgegangen sein. Man findet nur selten alle klinischen Symptome gleichzeitig. Beim alten Menschen und bei Patienten auf der Intensivstation (VAP, NP) kann eine Pneumonie sehr symptomarm verlaufen. Bei der körperlichen Untersuchung findet man eine Klopferschalldämpfung, ein verschärftes Atemgeräusch und ohрнаhe Rasselgeräusche. Sensitivität und Spezifität des Auskultationsbefundes sind jedoch gering, so dass man sich nicht allein auf diese Befunde verlassen kann.

Pathophysiologie

Pathogene können über verschiedene Wege in die Lunge gelangen. Die Aspiration von Pathogenen aus der oropharyngealen Flora stellt den häufigsten Infektionsweg dar. Zu verschiedenen Zeiten im Jahr trägt auch der Gesunde vorübergehend potenziell lungentypische Mikroorganismen im Nasopharynxbereich. Im Alter, im Rahmen schwerer Grunderkrankungen oder medizinischer Maßnahmen (wie bei Intubation und Beatmung) und bei Immunsuppression steigt die

Häufigkeit der Besiedlung des Nasopharynx mit gramnegativen Keimen an. Ungefähr 50 % der gesunden Erwachsenen aspirieren während des Schlafs oropharyngeale Sekrete in den unteren Respirationstrakt. Tuberkulose und die meisten Virusinfektionen werden durch Deposition von inhalierten Partikeln im Respirationstrakt ausgelöst (Tröpfcheninfektion). Eine hämatogene Streuung (nach intravenös verabreichten Drogen, Patienten mit einer rechts- oder linksventrikulären bakteriellen Endokarditis oder Patienten mit intravenösen Katheterinfektionen) aus extrapulmonalen Herden kann eine Pneumonie erzeugen, ist aber selten.

Diagnostische Maßnahmen

Die Routinediagnostik der Pneumonie besteht in einer Thoraxröntgenaufnahme in zwei Ebenen, die allerdings keine hundertprozentige Sensitivität hat (vor allem in der Intensivmedizin). Die Computertomographie (CT) ist im Zweifelsfall besser. Nicht jede radiologische Veränderung ist durch eine Pneumonie erklärt. Wichtige Differenzialdiagnosen sind die pulmonale Stauung bei kardialer Erkrankung, der Lungeninfarkt nach Lungenembolie, Tumorerkrankungen und Infiltrate im Rahmen von Systemerkrankungen.

Der Anstieg des C-reaktiven Proteins oder des Procalcitonins sind wegweisend, wenn auch nicht Infektionsbeweisend. Bei bakteriellen Pneumonien liegt in der Regel eine Leukozytose mit Linksverschiebung vor. Eine Leukopenie kann Zeichen einer bereits septisch verlaufenden Infektion sein.

Eine mikrobiologische Diagnostik wird bei Patienten mit CAP nicht empfohlen, auch nicht wenn sie stationär aufgenommen werden, da kein Vorteil für eine anhand der mikrobiologischen Diagnostik gesteuerte Therapie (im Vergleich zu einer empirischen Therapie) gefunden wurde.

Die Frage, welches mikrobiologisch zu untersuchende Material für die Diagnostik der NP oder VAP am besten geeignet ist, ist umstritten. Infrage kommt die invasive bronchoskopische Diagnostik (mit bronchoalveolärer Lavage – BAL) oder das quantitativ ausgewertete Trachealsekret.

Blutkulturen (zwei mal zwei Flaschen von unterschiedlichen Lokalisationen im Abstand von wenigen Minuten) werden zwar nur in 10–20 % der Pneumoniepatienten positiv, sollten jedoch bei jeder schweren Infektion durchgeführt werden. Pleuraergüsse sollten – vor allem bei fehlender klinischer Besserung unter Antibiotikatherapie – punktiert werden. Ein pH-Wert < 7,2 im Erguss weist auf ein Pleuraempyem hin. Der Legionellen-Antigentest im Urin ist Standard in der Diagnostik von Patienten mit stationär behandelter CAP.

Serologische Untersuchungen spielen – mit wenigen Ausnahmen – in der Diagnostik von Pneumonien keine Rolle mehr.

Therapie

CAP wird Risiko-stratifiziert behandelt. Dazu wird der CRB-65 Score – C = Confusion, Bewußtseins Einschränkung, R = Atemfrequenz $\geq 30/\text{min}$, B = systolischer Blutdruck $< 90 \text{ mmHg}$, 65 = Alter ≥ 65 Jahre – eingesetzt.

Hat ein Patient keinen CRB-65-Punkt (Niedrig-Risiko-Patient), so kann bis auf Ausnahmen ambulant behandelt werden. Bei einem CRB-65 von 1 muss eine stationäre Aufnahme aufgrund von Komorbiditäten (siehe oben) erwogen werden. Bei Vorliegen von mehr als einem CRB-65-Zeichen sollte eine stationäre Behandlung eingeleitet werden. Der CRB-65-Score ist ein Hilfsmittel zur Risikoeinschätzung von Patienten. Im Einzelfall kann die Einschätzung des Behandlers jedoch von den Scorewerten abweichen. Die letzte Entscheidung über die Behandlungsstrategie muss beim Arzt verbleiben, ein Scoringssystem bleibt immer eine Orientierungshilfe.

Die Behandlungsstrategien können der gerade veröffentlichten neuen Version der deutschen Leitlinie entnommen werden [3, 4]. Vereinfacht dargestellt können Patienten mit niedrigem Sterblichkeitsrisiko mit Penicillinderivaten (Alternative: Makrolidantibiotika, Doxycyclin), stationäre Patienten mit höherem Risiko mit einer Ampicillin/Inhibitor Kombination (Alternative: parenterale Cephalosporine der 2./3. Generation, respiratorische Fluorchinolone – Levo- oder Moxifloxacin – oder das Carbapenem Ertapenem) behandelt werden. Bei Patienten mit schwerer Pneumonie auf der Intensiv- oder Überwachungsstation ist eine Kombination aus Beta-Laktam- und Makrolidantibiotikum zu wählen. Mit Ausnahme von Patienten mit Risiko für eine Pseudomonas-Infektion ist eine Therapiedauer von 5–7 Tagen sinnvoll. Für Pseudomonas-Infektionen wird eine Therapiedauer von 10 Tagen empfohlen, ohne dass dies durch Studien belegt wäre.

Die Prognose von Patienten mit VAP hängt von der initial richtigen Antibiotikatherapie ab. Inadäquate Therapie – wobei unter inadäquat sowohl eine falsche Substanz als auch eine unzureichende Dosierung zu verstehen ist – erhöht die Sterblichkeitswahrscheinlichkeit um bis zu 40 %. Hauptgrund für eine initiale Falschtherapie ist eine Infektion durch multiresistente Erreger, die durch eine zu eng gewählte Antibiotikastrategie nicht erreicht werden können. Risikofaktoren für multiresistente Erreger, besonders die Antibiotikavorthherapie und zurückliegende Hospitalisierungen müssen daher bei der Therapieplanung berücksichtigt werden. Es sollte bis auf Ausnahmen mit einem Antibiotikum behandelt werden, das in den letzten vier Wochen vor Therapiebeginn nicht eingesetzt wurde.

Die Therapie muss begonnen werden, sobald ein VAP-Verdacht besteht. Diagnostische Maßnahmen dürfen die Therapieeinleitung nicht verzögern. Primär muss man bei einem Infektionsverdacht immer mit einer breit wirksamen Antibiotikatherapie starten, die alle häufigen Erreger berücksichtigt. Primär kommen Pi-

peracillin (\pm Inhibitor), Pseudomonas-wirksame Cephalosporine (Ceftazidim, Cefepim) oder Carbapeneme (Imipenem, Meropenem, Doripenem) zum Einsatz [1]. Diese sollten ausreichend hoch – d. h. in der Intensivtherapie im obersten zugelassenen Dosisbereich – dosiert sein. Wegen der hohen Resistenzrate bei Ciprofloxacin wird keine Monotherapie mit dieser Substanz empfohlen.

Eine Überprüfung der Therapie am Tag 3 ist sinnvoll, um ein Therapieversagen frühzeitig zu diagnostizieren. Gegebenenfalls ist eine Erweiterung der Antibiotikatherapie oder ein Wechsel des Antibiotikums notwendig. Bei Unklarheiten über Infektionsart und -herd sollte eine ausgedehnte erweiterte Diagnostik unter Einschluss endoskopischer und radiologischer Verfahren erwogen werden.

Zeichnet sich am Tag 3 ein Therapieerfolg ab, sollte auch bei der NP/VAP die Therapie bis zum Tag 7 unverändert fortgesetzt werden. Ob bei multiresistenten Erregern länger als 7 Tage therapiert werden muss, ist unklar. Eine kürzlich publizierte Arbeit unterstreicht die Bedeutung des Procalcitonins als Marker zur Therapiesteuerung bei Pneumonien.

Ob eine Kombinationstherapie eines Betalaktamantibiotikums mit einem Aminoglykosid oder Fluorchinolone sinnvoll ist, ist umstritten. Wird eine Kombinationstherapie gewählt, sollte nach Erhalt der mikrobiologischen Befunde auf eine Monotherapie deeskaliert werden.

Glykopeptide (Vancomycin) gelten immer noch als Therapie der Wahl für die MRSA-Pneumonie, obwohl die Lungengängigkeit dieser Substanzen schlecht ist. Eine Kombination mit einem gewebeängigen Antibiotikum wie Rifampicin scheint effektiver, hat jedoch langfristig negative Auswirkungen auf die Resistenzentwicklung.

Das Oxazolidinon Linezolid ist eine Alternative zum Vancomycin. Es hat allerdings erhebliche neuro- und hämatotoxische Nebenwirkungen in der Langzeittherapie (> 4 Wochen). Keines der neueren MRSA-wirksamen Antibiotika wurde bisher für die Pneumoniebehandlung zugelassen.

In Anbetracht der hohen MRSA-Rate in den meisten deutschen Krankenhäusern muss daraufhin gewiesen werden, dass die Mehrzahl der Nachweise Atemwegskolonisationen und nicht „echte“ Infektionen anzeigen. Aufgrund der geringen Eradikations- und der hohen Relapse-Raten von MRSA ist eine Therapie der Kolonisation nicht indiziert. Vor Einleitung einer MRSA-Therapie sollte klinisch, radiologisch und mittels Biomarkern wie CRP oder PCT kritisch geprüft werden, ob tatsächlich eine Infektion vorliegt, die behandlungsbedürftig ist.

Bei Nachweis von ESBL sind Carbapeneme als Standardtherapeutikum anzusehen. Tigecyclin könnte hier in Zukunft eine Therapiealternative darstellen.

Zunehmend werden Pseudomonaden und andere Non-Fermenter gefunden, die nur noch gegen Poly-

myxin B sensibel sind. Zahlreiche Fallberichte belegen die Effektivität von Colistin bei vertretbarer Nephrotoxizität.

Prävention

Die Wirksamkeit der jährlichen Influenzaimpfung zur Reduktion der Morbidität und Letalität durch Pneumonie ist belegt. Die einzigen Kontraindikationen bestehen in einer Hühnereiweiß-Allergie und dem Vorliegen einer akuten Infektion.

Die Datenlage für die Pneumokokkenimpfung ist wesentlich schlechter als für die Influenzavakzinierung. Zudem bietet der bei Erwachsenen zurzeit eingesetzte 23-valente kapsuläre Polysaccharid-Impfstoff keinen lokalen Schutz vor Pneumokokkeninfektionen und -kolonisationen, er schützt nur vor der gefährlichen bakteriämischen Verlaufsform der Pneumokokkeninfektion. Er wird dennoch von der STIKO für ältere Patienten und chronisch Kranke empfohlen.

Bei Kindern (ein halbes bis zwei Jahre) wird ein 13-valenter Protein-Polysaccharid-Konjugat-Impfstoff empfohlen, der auch vor einer lokalen Kolonisation und Infektion schützt und zu einem dramatischen Rückgang schwerer Pneumokokken-Erkrankungen beigetragen hat.

Zur Prävention der VAP wurden im letzten Jahr eine Reihe neuer Daten publiziert. Neben dem klar belegten Nutzen der Händehygiene konnte gezeigt werden, dass der Mundhygiene eine wesentliche Bedeutung zukommt. Mechanisches Reinigen und antiseptische Behandlung mit Chlorhexidin (Englisch: selective oral decontamination, SOD [5]) scheinen dabei additiv effektiv.

Schlüsselliteratur

1. American Thoracic Society; Infectious Diseases Society of America (2005) Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 171(4):388–416
2. Gastmeier P, Sohr D, Geffers C, Rüden H, Vonberg RP, Welte T (2009) Early- and late-onset pneumonia: is this still a useful classification? *Antimicrob Agents Chemother* 53(7):2714–2718
3. Höffken G, Lorenz J, Kern W, Welte T, Bauer T, Dalhoff K, Dietrich E, Ewig S, Gastmeier P, Grabein B, Halle E, Kolditz M, Marre R, Sitter H; Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie; Deutschen Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin; Deutschen Gesellschaft für Infektiologie und vom Kompetenznetzwerk CAPNETZ (2009) 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. *Pneumologie* 63(10):e1–68
4. Höffken G, Lorenz J, Kern W, Welte T, Bauer T, Dalhoff K, Dietrich E, Ewig S, Gastmeier P, Grabein B, Halle E, Kolditz M, Marre R, Sitter H; Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie; Deutschen Gesellschaft für Pneumolo-

gie und Beatmungsmedizin; Deutschen Gesellschaft für Infektiologie und vom Kompetenznetzwerk CAPNETZ (2010) 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. *Pneumologie* 64(3):149–154

5. de Smet AM, Kluytmans JA, Cooper BS, Mascini EM, Benus RF, van der Werf TS, van der Hoeven JG, Pickkers P, Bogaers-Hofman D, van der Meer NJ, Bernards AT, Kuijper EJ, Joore JC, Leverstein-van Hall MA, Bindels AJ, Jansz AR, Wesselink RM, de Jongh BM, Dennesen PJ, van Asselt GJ, te Velde LF, Frenay IH, Kaasjager K, Bosch FH, van Ierson M, Thijsen SF, Kluge GH, Pauw W, de Vries JW, Kaan JA, Arends JP, Aarts LP, Sturm PD, Harinck HI, Voss A, Uijtendaal EV, Blok HE, Thieme Groen ES, Pouw ME, Kalkman CJ, Bonten MJ (2009) Decontamination of the digestive tract and oropharynx in ICU patients. *N Engl J Med* 360(1):20–31
6. Welte T, Köhnlein T (2009) Global and local epidemiology of community-acquired pneumonia: the experience of the CAPNETZ Network. *Semin Respir Crit Care Med* 30(2):127–135.

Wichtige Webseiten und Links

- AWMF-Leitlinien: <http://leitlinien.net/>
- Kompetenznetzwerk CAPNETZ: www.capnetz.de

Pneumonie, atypische

- ▶ Bacillus anthracis
- ▶ Chlamydia
- ▶ Coxiellen

Pneumonie bei zystischer Fibrose

- ▶ Burkholderia, Ralstonia

Pneumonie, eosinophile

- ▶ Ascaris lumbricoides
- ▶ Corynebacterium, sonstige Spezies

Pneumonie, interstitielle

- ▶ Cytomegalievirus
- ▶ Legionella

Pneumonie, primär atypische

- ▶ Mycoplasma pneumoniae

Pneumonitis

- ▶ Coxsackieviren
- ▶ Epstein-Barr-Virus

Pocken

- ▶ Bioterrorismus, infektiologische Aspekte
- ▶ Variola- und Vacciniavirus

Pockenviren, zoonotische

JOACHIM J. BUGERT

Erreger

Synonym(e)

Zoonotische Pockenviren.

Erregerspezies

Kuhpockenvirus (Orthopoxvirus), *Pseudokuhpockenvirus* (Parapoxvirus), *Orf-Virus* (Parapoxvirus), *Tanapockenvirus* (Yatapoxvirus)

Taxonomie

Gruppe (Baltimore Klassifikation): Gruppe I (dsDNA); Familie: *Poxviridae*; Unterfamilie: *Chordopoxvirinae* (Wirbeltierpocken); Genus: *Orthopoxvirus*, *Parapoxvirus* und *Yatapoxvirus*

Historie

Das Kuhpockenvirus ist seit Hunderten von Jahren als Verursacher ulzerierender Läsionen an den Zitzen infizierter Kühe bekannt. Melker, die sich mit *Kuhpockenvirus* infiziert hatten, waren gegen die durch Variola verursachten Pocken des Menschen immun. Diese Beobachtung führte zur Einführung der Vakzination durch Jenner. Orf ist ein altes angelsächsisches Wort und bedeutet Schorf. Die Läsionen von *Pseudokuhpockenvirus* wurden von Jenner als gelegentlich aberrante Form der Kuhpocken erkannt, die nicht zur Impfung gegen Variola taugen. Das *Orf-Virus* verursacht Hautläsionen bei Schafen und Ziegen und kann von dort auf den Menschen übertragen werden.

„Milkers Nodules“ entstehen durch Infektion des Menschen mit *Pseudokuhpockenvirus* an den Zitzen infizierter Kühe. *Tanapockenvirus* wurde zuerst als fiebrige Erkrankung mit pockenähnlichen, lokalisierten Hautläsionen in Patienten vom Stromland des Tana Flusses in Kenya beschrieben. Dasselbe Virus unter den Namen Yaba-ähnliche Erkrankung, Yaba-verwandte Erkrankung und Oregon-„1211“-Pockenvirus war der Erreger der Epizoonosen in Rhesus-Makaken in drei Primatenzentren der USA im Jahre 1966. Das *Yaba-Affen-Tumorvirus* wurde zuerst von subkutanen Tumoren in einer Kolonie von Rhesusaffen in Nigeria isoliert. Nach subkutaner Injektion verursacht

es Histiozytome der Haut bei Affen und Menschen. Infektionen von Menschen im freien Feld wurden nicht beobachtet.

Morphologie

▶ Wie *Vaccinia*- und *Variola-Virus*. Parapockenviruspartikel sind etwas kleiner als Orthopockenvirionen und zeigen anstelle eines irregulären Arrangements von Oberflächentubuli ein regelmäßiges fadenförmiges Muster.

Genom

Als Typeigenschaften besitzen alle *Poxviridae* komplexe, autolog mRNA synthetisierende Virionen, doppelsträngige DNA-Genome von 130 bis 300 Kilobasenpaaren Länge, mit einem Hairpinloop an beiden Enden.

Kuhpockenvirus hat das breiteste Genspektrum aller Pockenviren. Im Rahmen von Orf-Virus-Genomsequenzierungen wurde ein endothelspezifischer nicht-EGF verwandter Wachstumsfaktor gefunden, der für die *in vivo* beobachtete Endothelproliferation bei Orf-Virus-Infektionen verantwortlich zu machen ist.

▶ Tab. 1

Vermehrung

Orthopockenviren vermehren sich wie alle Pockenviren im Zytoplasma der infizierten Zellen. Zytoplasmatische Einschlusskörper werden bei allen Pockeninfektionen beobachtet.

Parapocken- und Yatapockenviren erzeugen keine Pocken auf der Chorioallantoismembran. Angehörige beider Virusgruppen wachsen gut in Zellkultur.

Pathogenität / Virulenz / Antigenvariabilität

Geringe Pathogenität und Virulenz.

Erkrankungen

1. Kuhpocken

Synonym(e)

WHO International Statistical Classification of Diseases (ICD): ICD-10; B 08: Other viral infections characterized by skin and mucous membrane lesions, not elsewhere classified; B08.0: Other orthopoxvirus infections; Cowpox.

Inkubationszeit

3–11 Tage.

Leitsymptome

Hautläsion mit Fieber.

Symptome

Kuhpockenvirus verursacht eine oder mehrere lokalisierte Läsionen an der Inokulationsstelle, Daumen, Zeigefinger Vorderarm oder Gesicht. Die Läsion ähnelt einer primären Vaccinia-Inokulation mit einem vesikulären, pustulären und einem Borkenstadium.

■ **Tab. 1. Genomanalyse Orthopoxvirus, Parapoxvirus, Yatapoxvirus.**

Virus (Eintragsdatum)	Genomgröße	Referenznummer/GenBank-Eintrag	Sequenzierzentrum
<i>Chordopoxvirinae Orthopoxvirus</i>			
Brighton Red (19.05.2003)	224.499 bp	NC_003663 AF482758	Molecular Genetics and Microbiology, Durham, USA
<i>Chordopoxvirinae Parapoxvirus</i>			
Orf virus OV-SA00 (21.01.2004)	139.962 bp	NC_005336 AY386264	U.S. Dept. Agriculture, Greenport, USA
<i>Chordopoxvirinae Yatapoxvirus</i>			
Yaba monkey tumor virus (08.11.2003)	134.721 bp	NC_005179 AY386371	The John P. Robarts Research Institute, Viral Immunology and Pathogenesis, London, Canada

Pathophysiologie

Lymphangitis, Lymphadenitis und Fieber persistieren für mehrere Tage. Bei Kindern ist das Erscheinungsbild manchmal schwerer mit starken lokalen Ödemen und Post-Kuhpocken-Enzephalitis

Immunantwort

Induziert humorale und zelluläre Immunität gegen Variola.

2. Pseudokuhpocken

Synonym(e)

WHO International Statistical Classification of Diseases (ICD): ICD-10; B08: Other viral infections characterized by skin and mucous membrane lesions, not elsewhere classified; B08.0: Other orthopoxvirus infections; Pseudocowpox (milker's node).

Inkubationszeit

4–14 Tage.

Leitsymptome

Hautläsion ohne Fieber mit lokaler Lymphadenopathie.

Symptome

Milkers Nodules sind kirschrote, halbrunde, feste Knoten von bis zu 2 cm Durchmesser und sind relativ schmerzlos. Juckreiz wird beschrieben, die Knoten sind gut vaskularisiert, aber ulzerieren nicht.

Pathophysiologie

Die Läsion besteht aus Granulationsgewebe, das über 3–4 Wochen resorbiert wird. Das einzige Zeichen von Generalisierung ist das Anschwellen regionaler Lymphknoten.

3. Orf

Synonym(e)

WHO International Statistical Classification of Diseases (ICD): ICD-10; B08: Other viral infections characterized by skin and mucous membrane lesions, not elsewhere classified; B08.0: Other orthopoxvirus infections; Orf virus disease.

Inkubationszeit

13–15 Tage.

Leitsymptome

Hautläsion, papulovesikuläre oder granulomatöse Dermatitis mit Fieber und Schwellungen der regionalen Lymphknoten, abkrustend.

Symptome

Orf-Infektion beim Menschen und Milkers Nodules sind Berufskrankheiten, erworben durch Kontakt mit infizierten Schafen oder Kühen. Die Infektion erfolgt durch Hautabrasionen. Orf-Läsionen sind großknotig und die umgebende Haut ist entzündet. Subfebrile Temperaturen gehen einher mit lokalen Ödemen und Schwellung der regionalen Lymphknoten. Die Läsionen sind schmerzhaft, entwickeln jedoch bald eine Borke und heilen über 4–6 Wochen narbenlos ab. Die Orf-Infektion der Augen kann zu permanenter Blindheit führen. Weitere Komplikationen sind Urtikaria, Erythema multiforme bullosum und bakterielle Superinfektion.

Pathophysiologie

Orf-Virusläsionen haben im Gegensatz zu Orthopoxvirus-Läsionen einen proliferativen Charakter. Dermale Infiltration mit Monozyten und Lymphzellen ist prominent um hyperämische Kapillaren und Venulen.

4. Tanapocken

Synonym(e)

WHO International Statistical Classification of Diseases (ICD): ICD-10; B 08.8: Other specified viral infections characterized by skin and mucous membrane lesions; Tanapox virus disease.

Leitsymptome

Langsam sich entwickelnde Hautläsionen, keine Verkrustung.

Symptome

Tanapockenvirusläsionen sind kleine zirkuläre Makulae, die sich zu Papeln und über 7 Tage zu 1 cm weite Areolen mit umgebender ödematöser Haut entwickeln. Lokale Lymphangitis geht einher mit subfebrilen Temperaturen, Kopfschmerz und einer ulzerierenden Nekrose der Läsionen, die üblicherweise Narben hinterlässt. Die Läsionen heilen über 6 Wochen vollständig ab. Yaba-Tumorpockenviren erzeugen subkutane Histiozytome in Affen. Verabreichung von infiziertem Material subkutan in menschliche Wirte führt auch hier zu Histiozytomen. Natürliche Yaba-Tumorpockeninfektionen beim Menschen sind nicht bekannt.

Differenzialdiagnose

Masern, Windpocken-Herpes Zoster (*Herpesvirus varicellae*), Herpes simplex, *Vaccinia generalisata*, andere Pockeninfektionen (Variola, Affenpocken, *Molluscum contagiosum*), Scharlach, Syphilis, Scabies, allergisches Exanthem, Dermatitis herpetiformis, Impetigo, Erythema multiforme, Pityriasis, Purpura haemorrhagica.

Diagnostik

Untersuchungsmaterial

Biopsiematerial.

Diagnostische Verfahren

Diagnosen der Pockenepezoonosen werden hauptsächlich durch klinische und epidemiologische Beobachtung gestellt. Eine Vorgeschichte von Kontakten mit infizierten Tieren kann durch die Demonstration pockentypischer Virionpartikel im Elektronenmikroskop bestätigt werden. PCR spielt nur eine Rolle insofern als Orthopockenvirusinfektionen ausgeschlossen, bzw. differenziert werden müssen.

Befund / Interpretation

Nur durch spezialisiertes Personal in Referenzzentren und Konsiliarlaboratorien.

Therapie

Therapeutische Maßnahmen

Symptomatische Pflege und Behandlung von Superinfektionen. Geeignete DNA-Polymerasehemmstoffe

sind bekannt, gut untersucht und zum Teil für andere Virusinfektionen klinisch zugelassen (z. B. Cidofovir™ gegen das humane Zytomegalovirus). Das einzige wirksame Chemotherapeutikum ist Cidofovir*.

Resistenz

Resistenzentwicklung bei Verabreichung von DNA-Polymerasehemmstoffen (z. B. Cidofovir™) ist möglich.

Epidemiologie

Verbreitung

Kuhpockenvirus infiziert sporadisch Zootiere. Katzen, Kühe und Menschen sind gelegentliche und zufällige Wirte. Parapockenviren sind endemisch in Schaf- und Kuhherden weltweit, Yatapockenviren kommen in afrikanischen Wildtieren, vor allem Affen vor.

Wirtsbereich / Reservoir

Diese Gruppe der Pockenviren verursacht Erkrankungen beim Menschen via animalischer Primärwirte (Zoonose). *Kuhpockenvirus* hat einen breiten Wirtsbereich, produziert häufig Endozoonosen unter Nagern, Katzen, Kühen und gelegentlich Epizoonosen beim Menschen. Größtes Tierreservoir sind wild lebende Nager (Okapis, Ratten). Domestizierte Katzen sind wichtige Überträger der Kuhpockeninfektion. Pseudokuhpockenviren existieren in Milchherden weltweit. Die Endozoonose ist saisonal im Frühling und Herbst und Immunität ist kurzlebig. Orf ist weit verbreitet in Schafen und Ziegen, wo es borkige Knoten an den Lippen der Tiere erzeugt. Immunität persistiert langfristig und in manchen Ländern wird eine Immunisierung der Tiere mit Orfborken durchgeführt. *Tana-* und *Yabapockenvirus* sind endemische Erkrankungen bei afrikanischen Wildtieren, vor allem Affen, und können gelegentlich vereinzelte oder Gruppen von Hautläsionen beim Menschen erzeugen.

Risikogruppen

Bewohner von Endemiegebieten und Zoopfleger.

Transmission / Vektoren

Tier zu Mensch und sehr selten Mensch zu Mensch durch direkten Kontakt.

Prävention / Impfstoffe

Keine.

Meldepflicht

Keine.

Weiterführende Informationen

Referenzzentren / Expertenlaboratorien

- Zentrum für Biologische Sicherheit, Robert Koch-Institut, Konsiliarlaboratorium für Pockenviren, Prof. Dr. Georg Pauli, Elektronenmikroskopie: Dr. Norbert Bannert, Nordufer 20, 13353 Berlin, Tel.: 030-4547-2549 / 2234; Fax: -2914)

- Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin BSL 4, Dr. Stephan Günther, 20359 Hamburg
- Institut für Virologie der Universität Marburg BSL 4, Prof. Dr. HD Klenk, 35037 Marburg

Web-Adressen

- National Center for Biology Information, Bethesda, MD, USA: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Viral Bioinformatics Resource Center: <http://www.biovirus.org>
- Poxvirus Bioinformatics Resource Center: <http://www.poxvirus.org/>
- Empfehlungen des Robert-Koch Instituts zum Seuchenschutz: http://www.rki.de/clin_011/nn_230070/DE/Content/Infekt/Biosicherheit/Seuchenalarm/Anhang/anhang_node.html__nnn=true

Schlüsselliteratur

1. Bugert JJ (2006) Pockenviren In: Neumeister, Braun, Kimming, Geiss (Hrsg) Burkhardt Mikrobiologische Diagnostik, 2. Aufl., Kap 7.4.1, WN 13193
2. Essbauer S, Pfeffer M, Wilhelm S, Meyer H (2004) Zoonotische Pockenviren Bundesgesundheitsblatt – Gesundheitsforschung – Gesundheitsschutz, Springer Berlin/Heidelberg 47:671–679
3. WHO: International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems 10th Revision, Version for 2006: <http://www.who.int/classifications/apps/icd/icd10online/?gb00.htm+b081>

Polioomyelitis

- Polioviren

Polioviren

HEINZ ZEICHHARDT, HANS-PETER GRUNERT

Erreger

Synonym(e)

Humanes Poliovirus 1, 2 und 3

Erregerspezies

Poliovirus Typ 1, Typ 2 und Typ 3

Taxonomie

Genus *Enterovirus* in der Familie der *Picornaviridae* mit den weiteren Genera: *Rhinovirus*, *Cardiovirus*, *Aphthovirus*, *Hepatovirus*, *Parechovirus*, *Erbovirus*, *Kobuvirus* und *Teschovirus*. Für eine kurze Übersicht zu Infektionen des Menschen durch Aphthoviren (Maul- und Klauenseuche-Virus) und Kobuviren (Aichivirus) ► Enterovirus 68–71 und andere Enteroviren.

Nach dem Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses (2005) bilden die Polioviren eine eigene Spezies mit 3 Serotypen im Genus *Enterovirus*. Durch serologische Typisierung und Homologievergleiche von RNA- und Proteinsequenzen werden die 3 *Poliovirus*-Serotypen unterschieden. Für

jeden Serotyp existieren verschiedene Wildtypstämme (Isolate von Patienten mit paralytischer Poliomyelitis, z. B. Poliovirus Typ 1: Brunhilde; Poliovirus Typ 2: Lansing; Poliovirus Typ 3: Leon). Für jeden Serotyp sind attenuierte Impfstammstämme nach Sabin etabliert.

picorna: von *pico* = piccolo, klein; *rna* = RNA, ribonucleic acid

entero: von griech. *enteron* = Darm, Eingeweide

*polio*myelitis: von griech. *polios* = grau; griech. *myelos* = Rückenmark

Historie

Die Poliomyelitis (Kinderlähmung) wurde als Krüppelkrankheit bereits im Altertum beschrieben. Das klinische Bild der Paralyse wurde erstmals 1840 durch Heine dargestellt und nach der Beschreibung einer Poliomyelitis-Epidemie durch Medin (1887) auch als Heine-Medinsche Krankheit bezeichnet. Landsteiner und Popper zeigten 1908, dass die Poliomyelitis eine virale Erkrankung ist (Übertragung von paralytischer Poliomyelitis mit gefilterter Stuhlaufschwemmung eines paralytischen Patienten auf Affen). Erst mit der Entwicklung der Zellkulturtechnik durch Enders und Mitarbeiter (1949) war die *in-vitro*-Propagierung von *Poliovirus* in einer Primaten-Zelllinie möglich (zur Differenzierung der Serotypen und Entwicklung von Vakzinen; Weiteres ► Prävention / Impfstoffe). Poliovirus Typ 1 und das verwandte humane Rhinovirus Typ 14 waren die ersten humanpathogenen Viren, deren dreidimensionale Struktur durch Röntgenstrukturanalyse von den Arbeitsgruppen um Hogle und Rossmann 1985 aufgeklärt wurde. 1991 gelang Wimmer und Mitarbeitern die *in vitro*-Synthese von infektiösem *Poliovirus* mit isolierter Poliovirus-RNA in einem zellfreien Zytoplasmaextrakt nicht infizierter Zellen.

Morphologie

Polioviren sind kleine, sphärische, unbehüllte RNA-Viren. Das Virion mit einem Molekulargewicht von $8,4 \times 10^6$ Da (156S, Dichte 1,34 g/ml in CsCl) besteht aus einem ikosaedrischen Kapsid (Durchmesser 30 nm) und einem einzelsträngigen RNA-Molekül (► Abb. 1). Das Kapsid enthält 60 Protomere, wovon jedes die vier nichtglykosylierten Viruskapsidproteine VP1 (33 kDa), VP2 (30 kDa), VP3 (26 kDa) und VP4 (7,5 kDa) aufweist. VP4 ist am N-Terminus myristyliert. VP1, VP2 und VP3, welche die Kapsidoberfläche bilden, sind im Kapsid pseudoäquivalent gepackt. VP1 und VP3 bilden um die fünffache Symmetrieachse des Kapsids eine Grube (Canyon, 3 nm tief und 3 nm breit), in die der virusspezifische Rezeptor bindet (Canyonhypothese). Die genomische RNA hat am 5'-Terminus ein kleines hydrophobes Protein (VPg = Virus Protein Genome Linked, 2,4 kDa) kovalent gebunden (► Abb. 2).

Poliovirus ist säurestabil (Voraussetzung für die Magen-Darmpassage bei < pH 3) und gegen eine Vielzahl

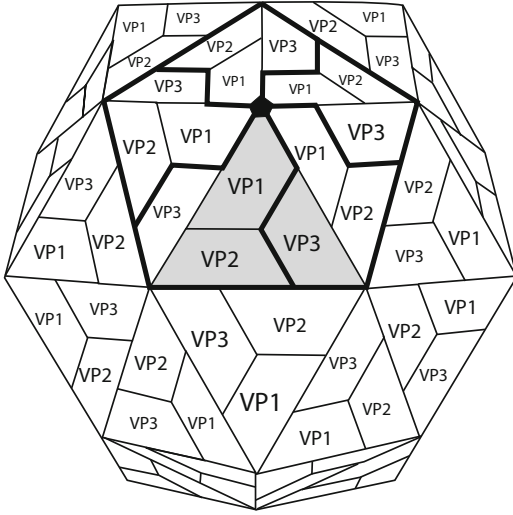


Abb. 1. Darstellung des Polioviruskapsids. Die Röntgenstrukturanalyse von Poliovirus Typ 1 durch Hogle und Mitarbeiter sowie vom verwandten humanen Rhinovirus Typ 14 durch Rossmann und Mitarbeiter (1985) zeigt die typische ikosaedrische Kapsidstruktur für die meisten Picornaviren (siehe Racaniello 2007). Die Kapsidoberfläche besteht aus 60 Protomeren, die sich jeweils aus VP1, VP2 und VP3 zusammensetzen. Das biologische Protomer (stark umrandet) ist nicht deckungsgleich mit dem kristallographisch bestimmten Protomer (graues Dreieck). An jeder der 12 fünffachen Symmetrieachsen des Kapsids befindet sich ein Pentamer aus 5 Protomeren. Im Inneren des Viruskapsids befinden sich das kleine Kapsidprotein VP4 und 1 Molekül der viralen RNA.

proteolytischer Enzyme resistent. Wegen der fehlenden Membranhülle (Envelope) ist das Virus resistent gegen lipidlösende Mittel (Äther, Chloroform und Detergenzien). Zur chemischen Inaktivierung eignen sich u. a. Formaldehyd (3 %), Salzsäure (0,1 M) und halogenabspaltende Mittel (s. aktuelle Desinfektionsmittel-Liste des Robert Koch-Instituts / www.rki.de und der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten / Dtsch Arztebl 2010; 107(14): A-669).

Genom

Die genomische virale Plus-Strang-RNA ($2,6 \times 10^6$ Da) besteht aus ca. 7.500 Nukleotiden (► Abb. 2) und kodiert in einem einzigen offenen Leserahmen (ORF) für die Strukturproteine (► Morphologie) und zusätzlich für eine Reihe funktioneller Proteine, u. a. mit RNA-Polymerase- und Protease-Aktivität(en). Die RNA dient gleichzeitig als polycistronische mRNA und hat 5'-terminal eine nicht translatierte Region (5'-NTR, 743 Nukleotide) und 3'-terminal eine Poly-Aden-

nosin-Region (Poly-A) mit variabler Länge (3'-NTR). In der 5'-NTR liegt mit einer ausgeprägten Sekundärstruktur der Initiationsort der Translation (Internal Ribosome Entry Site = IRES). Für Nukleinsäuresequenzen von einzelnen Enteroviren siehe GenBank, National Institute of Health: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=nucleotide>; Picornavirus Study Group: <http://www.picornastudypgroup.com/>.

Vermehrung

Poliovirus vermehrt sich in den Epithelien und lymphoiden Organen des Rachens und Darms sowie in allen Organen, in denen die Infektion zu Krankheitszeichen führt (► Erkrankung/Symptome).

Pathogenität / Virulenz / Antigenvariabilität

Der Pathogenitätsmechanismus ist vor allem über den Zelltropismus durch die Interaktion von Poliovirus mit seinem spezifischen Rezeptor auf der Oberfläche empfindlicher Zellen bedingt. Der Poliovirus-Rezeptor ist das Glykoprotein CD155 (verschiedene Isoformen; gehört zur Immunglobulin-Superfamilie; kommt vor u. a. auf Epithelzellen, Zellen des ZNS und lymphoiden Zellen). Zwei Nebenrezeptoren sind beschrieben. Bei der Virusadsorption erkennt CD155 den Canyon auf der Kapsidoberfläche, der eine Grube um die fünffache Symmetrieachse des Virus darstellt (► Morphologie). Nach Virusadsorption an den Rezeptor erfolgt die Virusaufnahme in die Wirtszelle (Penetration). Einer der nachgewiesenen Einschleusungswege ist die rezeptorvermittelte Endozytose mit pH-abhängiger Freisetzung der viralen RNA aus dem Viruskapsid (Uncoating). Bei der Viruseinschleusung wird die Konformation des Viruskapsids geändert. Das Kapsid verliert das interne Protein VP4, der N-Terminus von VP1 wird ausgestülpt, und das Virus ändert seine Antigenität (A-Partikelbildung). Danach beginnt die virale Protein- und RNA-Synthese unter Ausnutzung der parentalen Plus-Strang-RNA. Nach der Initiation der viralen Proteinsynthese in der IRES (Internal Ribosome Entry Site in der 5'-NTR) der polycistronischen viralen RNA wird ein Polyprotein gebildet. Das Initiationscodon AUG befindet sich in Nukleotidposition 743. Aus dem Polyprotein werden durch proteolytische Spaltung (teilweise autokatalytisch, z. B. durch Protease 2A; ► Abb. 2) über verschiedene Vorläufer-Proteine die Viruskapsidproteine, viruspezifische Proteasen und RNA-Polymerase gebildet. Die Replikation der viralen RNA läuft über Minus-Strang-Kopien. Reguliert wird die virale Transkription durch ein Zusammenwirken der viruspezifischen RNA-Polymerase 3D mit viralen und zellulären Faktoren, wobei für die Initiation ausgeprägte Sekundärstrukturen in den NTRs von Bedeutung sind. Bei der Virusreifung (Assembly) wird ein Plus-Strang-RNA-Molekül in das Prokapsid eingebaut. Ort der Virusproduktion sind glatte und raue Membranen des endoplasmatischen Retikulums. Vakuolen im Zyto-

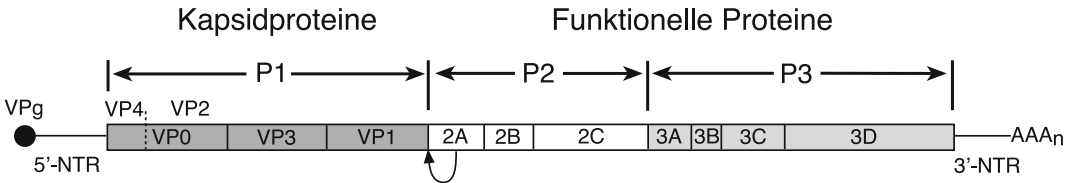


Abb. 2. Genomorganisation von Poliovirus. Die Genomkarte zeigt die einzelsträngige virale Plus-Strang-RNA (ca. 7.500 Nukleotide) mit den kodierenden Bereichen (Kästen) und den nichttranslatierten Regionen am 5'- und 3'-Terminus (5'-NTR und 3'-NTR) (Racaniello, 2007). An das 5'-terminale Uracil der RNA ist das kleine hydrophobe Protein VPg (Virus Protein Genome Linked, 2,4 kDa) kovalent gebunden. In der 5'-NTR (743 Nukleotide) befindet sich mit einer ausgeprägten Sekundärstruktur der Initiationsort der Translation (Internal Ribosome Entry Site = IRES). Die 3'-NTR ist polyadenyliert. Während der Proteinbiosynthese wird der kodierende Bereich der polycistronischen mRNA in ein Polyprotein übersetzt. Die Region P1 enthält die Kapsidproteine VP0 (Vorläufer von VP4 und VP2), VP3 und VP1. Die Regionen P2 und P3 enthalten funktionelle Proteine (u. a. 2A = Protease, 3B = VPg, 3C = Protease, 3D = RNA-Polymerase). Die Prozessierung der Proteine wird durch 3 Proteasen bewirkt. Protease 2A (Pfeil) setzt das Vorläuferprotein P1 für die Kapsidproteine frei. Die Protease 3C übernimmt die übrigen proteolytischen Spaltungen vor dem Zusammenbau des Virus (Assembly). Im Viruskapsid wird nach Aufnahme der viralen RNA das Vorläuferprotein VP0 in die Kapsidproteine VP2 und VP4 gespalten, wobei eine Beteiligung der RNA postuliert wird. Die weiteren Enteroviren (Coxsackieviren, Echoviren, Parechoviren und Enterovirus 68–71 und andere Enteroviren), die humanen Rhinoviren und die Cardioviren haben eine gleiche Genomorganisation, jedoch können die Längen der kodierenden und nichtkodierenden Bereiche der jeweiligen RNA voneinander abweichen. Cardioviren weisen im Polyprotein N-terminal zusätzlich eine Leader- (L-) Sequenz auf (► Cardioviren).

plasma der infizierten Zelle sowie Veränderungen des Zytoskeletts und der Zelloberflächenmembran treten ab 3 Stunden post infectionem (p.i.) auf. Anschließend kommt es im Zellkern zur Kondensation des Chromatins. Nach 6–8 Stunden (Ende des Reproduktionszyklus) führt dieser starke zytopathische Effekt (CPE) zur Zellyse und Freisetzung von bis zu 10^5 neusynthetisierten Viren pro Zelle. In den ersten beiden Stunden der Infektion werden zelluläre Funktionen wie Protein-, RNA- und DNA-Synthese durch das Virus abgeschaltet (Shutoff-Mechanismus). Für die Inhibition der zellulären Proteinsynthese ist die proteolytische Spaltung des zellulären Proteins p220 (eIF-4G) verantwortlich. p220 ist Bestandteil vom Cap-Binding Complex eIF-4F, der an der Initiation der zellulären Proteinsynthese beteiligt ist.

Die genetische Analyse von Virusisolaten von Patienten mit paralytischer Poliomyelitis und attenuierten Impfstämmen zeigt, dass die Neurovirulenz u. a. auf eine Punktmutation im Bereich der IRES zurückzuführen ist. Dadurch wird die Sekundärstruktur dieses RNA-Sequenzabschnitts mit Auswirkung auf die Initiation der viralen Proteinsynthese verändert. Darüber hinaus wird der Neurotropismus durch Punktmutationen im Bereich der Kapsidproteine und der RNA-Polymerase beeinflusst.

Erkrankung

Poliomyelitis; Postpolio-Syndrome

Synonym(e)

Kinderlähmung.

Inkubationszeit

Die mittlere Inkubationszeit der Poliomyelitis beträgt 6–20 Tage (3 Tage bis 1 Monat).

Leitsymptome

Nicht paralytische Poliomyelitis = aseptische Meningitis mit hohem Fieber, Nackensteifigkeit, Rückenschmerzen und Muskelspasmen, Paralytische Poliomyelitis = Major Krankheit mit Enzephalitis mit Parese, Paralyse und Enzephalitis (selten).

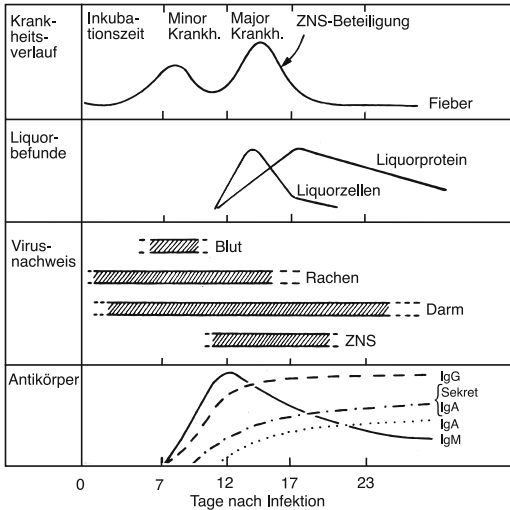
Symptome

Poliovirus hat anders als die meisten anderen Enteroviren einen begrenzten Tropismus. Für die Organmanifestation steht der Neurotropismus im Vordergrund. Nach fäkal-oraler Übertragung vermehrt sich *Poliovirus* primär in den Epithelien des Pharynx, in den lymphoiden Organen (Tonsillen und Peyer'sche Plaques) und im Darm. Die Mehrzahl der Infektionen (90–95 %) verlaufen asymptomatisch unter Ausbildung von neutralisierenden Antikörpern (stille Feiung). Nach der Vermehrung im Intestinaltrakt kann das Virus durch die abführenden Lymphbahnen in den Blutkreislauf gelangen und zu einer zyklischen Infektion mit Virämie sowie Ausbreitung auf die Zielorgane



führen. Die mittlere Inkubationszeit beträgt 6–20 Tage (3 Tage bis 1 Monat).

Folgende Krankheitsverläufe können auftreten (► Abb. 3):



▣ **Abb. 3.** Krankheitsverlauf nach Poliovirus-Infektion

Abortive Poliomyelitis (Minor Krankheit). Bei 4–8 % der Poliovirus-Infizierten kommt es 6–9 Tage nach der Infektion zu unspezifischen Symptomen wie Fieber, Abgeschlagenheit, Hals- und Kopfschmerz sowie Übelkeit (Minor Krankheit). Schreitet die Infektion nicht weiter voran, spricht man von der abortiven Poliomyelitis.

Nicht paralytische Poliomyelitis (aseptische Meningitis). Infiziert *Poliovirus* Zellen des ZNS, kommt es zu nicht paralytischen (1–2 %) oder paralytischen Poliomyelitis (0,1–1 %) mit Zunahme von Liquorzellen und -protein. 3–7 Tage nach der Minor Krankheit zeigen sich bei der nicht paralytischen Form Symptome einer aseptischen Meningitis mit hohem Fieber, Nackensteifigkeit, Rückenschmerzen und Muskelspasmen.

Paralytische Poliomyelitis (Major Krankheit). Schlafte, durch spinale und/oder bulbäre Schäden bedingte Lähmungen charakterisieren die paralytische Poliomyelitis (Major Krankheit). Die bulbäre Form (aufsteigende Infektion) ist seltener als die spinale Form und hat wegen der Schädigung von zerebralen bzw. vegetativen Nervenzentren eine schlechte Prognose. Bei der spinalen Krankheit werden bestimmte motorische Funktionen bis zu einem gewissen Grade nach mehreren Monaten wiedererlangt, eine verbleibende Paralyse ist jedoch permanent. In seltenen Fällen tritt eine enzephalitische Form der Poliomyelitis auf.

Bedingt durch den Neurotropismus werden vornehmlich die Vorderhornzellen der Spinalganglien, aber auch die dorsalen Wurzelganglien, bestimmte Hirn-

stammzentren, das Zerebellum und gelegentlich auch der zerebrale motorische Kortex befallen. Die pathologisch-anatomischen Veränderungen in der Umgebung der Vorderhornzellen zeigen sekundär eine Entzündungsreaktion mit Infiltration von polymorphkernigen und mononukleären Zellen. Die Kerne der Ganglienzellen zeigen folgende Veränderungen: Chromatolyse, Verklumpung des Chromatins, Schrumpfung des Kerns und Bildung von eosinophilen Körperchen. Nach Zerstörung der Vorderhornzellen kann es in diesem Bereich zu ödematösen Exsudaten kommen.

Postpolio-Syndrom (Progressive Postpoliomyelitische Muskelatrophie, PPMa). Für eine geringe Anzahl von Patienten mit paralytischer Poliomyelitis wurde nach Jahren bis Jahrzehnten ein Fortschreiten der Paralyse mit Muskelschwund beobachtet. Die Ursache des Postpolio-Syndroms ist noch nicht vollständig aufgeklärt, scheint jedoch vor allem durch physiologische Alterungsprozesse bei den paralytischen Patienten aufzutreten, die in hohem Maße neuromuskuläre Funktionen verloren haben. Für eine persistierende Poliovirus-Infektion gibt es keine Hinweise.

Pathophysiologie

► Vermehrung und ► Pathogenität.

Immunantwort

Die humorale Immunität wird durch serotypspezifische Antikörper der IgG-, IgM- und IgA-Klassen bedingt, wodurch die hämatogene Virusausbreitung zu den jeweiligen Zielorganen verhindert wird (► Abb. 3). 7–10 Tage nach Infektion erscheint viruspezifisches IgM und persistiert mindestens 4 Wochen (in 90 % der Fälle). Einige Tage verzögert werden typspezifisches IgG und IgA gebildet, wobei das IgG über Jahre nachweisbar ist und eine dauerhafte humorale Immunität bewirkt. Antikörperproduktion im ZNS ist für Infektionen mit ZNS-Beteiligung bekannt. Sekretorisches IgA wird 2–4 Wochen nach Infektion gebildet (im Pharynx und Dünndarm). Durch sekretorisches IgA wird die Virusausbreitung im Verdauungstrakt verhindert bzw. eingeschränkt. Die Beteiligung der zellulären Immunität ist bislang wenig verstanden. Wegen des Vorhandenseins diaplazentär übertragbarer Antikörper der IgG-Klasse sind Säuglinge seropositiver Mütter in den ersten Lebensmonaten gegen eine Poliovirus-Infektion geschützt (Nestschutz durch Leihantikörper).

Poliovirus kann in zwei antigenen Formen auftreten, als natives oder infektiöses Virus (N- = D-Antigen) und als hitzedenaturiertes oder nicht infektiöses Virus (H- = C-Antigen). Auf dem nativen Virus befinden sich vier immundominante Epitope für die Erkennung von neutralisierenden Antikörpern (► Diagnostik). Eine partielle immunologische Kreuzreaktion zeigt sich für Poliovirus Typ 1 und 2.

Differenzialdiagnose

Bei den Enteroviren können neben Polioviren nahezu

alle Coxsackieviren der Gruppen A und B, die meisten Echoviren, einige Parechoviren sowie die Enteroviren 70 und 71 eine Meningitis und seltener eine Paralyse bewirken. Zur Differenzialdiagnostik ▶ Coxsackieviren, ▶ Echoviren und Parechoviren sowie ▶ Enteroviren 68–71 und andere Enteroviren. Zur Differenzierung von Meningitis und Paralyse, für die andere Viren verantwortlich sein können, sind ▶ *Mumpsvirus*, Herpes-simplex-Viren und (seltener) andere Viren der Herpesvirusfamilie, Frühsommer-Meningoenzephalitis-Virus sowie das *Lymphozytäre Choriomeningitis-Virus* in Betracht zu ziehen.

Diagnostik

Untersuchungsmaterial

Zum Routinenachweis von Polioviren eignen sich am besten Rachenabstrich oder -spülwasser, Stuhl und Liquor (bei ZNS-Manifestation). Blut wird wegen der kurzen Virämie im Allgemeinen nicht zum Virusnachweis verwendet. Für den zeitlichen Verlauf der Virusvermehrung ▶ Abb. 3. Zum Nachweis der ZNS-Beteiligung können post mortem zusätzlich Proben von Hirnstamm (speziell Pons und Medulla oblongata) und Rückenmark verwendet werden.

Diagnostische Verfahren

Virusnachweis: Der Virusnachweis steht im Vordergrund. Als Screeningtest ist die RT-PCR geeignet (häufig Primer-Zielsequenzen in der 5'-NTR). 5'-NTR-Primer erlauben wegen der hohen Sequenzhomologie in diesem Bereich keine Differenzierung zwischen verschiedenen Serotypen. Weiterhin kann durch den Einsatz von 5'-NTR-Primern keine Differenzierung zwischen Wildtyp- und Impftyp von Polioviren vorgenommen werden (s. u.). Zur molekularen Typisierung durch Sequenzierung von PCR-Amplifikaten ist die Analyse der genomischen Bereiche für die Viruskapsidproteine (z. B. VP1) notwendig. Neben der konventionellen Sanger-Sequenzierung wird zunehmend auch das schnellere und kostengünstigere Pyrosequenzierungsverfahren eingesetzt. Zur Identifizierung und Charakterisierung neuer Virusisolate kann eine randomisierte Amplifikation mittels Partikel-assoziiierter Nukleinsäure-PCR (PAN-PCR) und anschließender Sequenzierung eingesetzt werden.

Zur Virusisolierung werden Monolayer-Zellkulturen vom Menschen und Affen verwendet. Beispiele für humane Zelllinien: primäre embryonale Haut- und Lungenfibroblasten, permanente Fibroblasten (z. B. MRC-5-Zellen), permanente Amnionzellen (z. B. FL-Zellen) und transformierte Zellen (z. B. KB-, HeLa-, HEp-2-Zellen). Beispiele für Affen-Zelllinien: primäre oder permanente Affennieren-Zelllinien, vor allem von Rhesusaffen und afrikanischen grünen Meerkatzen (z. B. BGM- und Verozellen).

Die Virusidentifizierung erfolgt im Neutralisationstest (NT) mit Antiseren bekannter Spezifität, z. B. mit 8 Hyperimmunserum-Pools nach Lim-Benyesch-Mel-

nick (LBM-Antiserum-Pools, erhältlich über Statens Serum Institut, Kopenhagen) oder RIVM/Bilthoven-Antiserum-Pools (Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Bilthoven, Niederlande) ▶ Referenzzentren.

Für den direkten Virusnachweis im Stuhl wird in Speziallaboratorien die Elektronenmikroskopie (Negativ-Kontrastierung), häufig kombiniert mit der Immun-Elektronenmikroskopie, angewendet.

Zum Nachweis von Wildtyp- und Impftyp-Polioviren sind folgende drei Methoden für die regionalen Referenzlaboratorien des Polio Laboratory Network der WHO zur Differenzierung zwischen Poliovirus-Wildtyp- und Sabin-Impfvirus-Stämmen empfohlen:

- ELISA, basierend auf kreuzadsorbierten Antisera (RIVM, Bilthoven),
- Hybridisierungstests mit spezifischen Sonden (CDC, Atlanta) und
- PCR zur intratypischen Differenzierung (CDC, Atlanta; dazu werden Pan-Enterovirus-Primer, Pan-Poliovirus-Primer und serotypspezifische Primer für Wildtypen und Impftypen verwendet).

Zwei weitere Methoden werden vom Polio Laboratory Network akzeptiert, aber nicht generell empfohlen:

- PCR kombiniert mit einer RFLP-Analyse (Pasteur Institute, Paris; National Institute for Infectious Diseases, Tokyo)
- ELISA, auf monoklonalen Antikörpern basierend (Pasteur Institute, Paris)

In Speziallaboratorien werden neben den von der WHO vorgeschlagenen Methoden zur Differenzierung von Polio-Wildtyp- und Sabin-Impfvirus-Stämmen auch Nukleinsäuresequenzierungen vorgenommen. Weiterhin werden zur Unterscheidung zwischen Wildtyp- und Impfstämmen eine intratypische Serodifferenzierung und eine Bestimmung genetischer Marker (rct-Marker, Reproduktionskapazität bei supraoptimaler Temperatur) vorgenommen.

Für die Differenzialdiagnostik ist das Nationale Referenzzentrum für Poliomyelitis und Enteroviren am RKI einzuschalten.

Antikörpernachweis: Zum serologischen Nachweis einer frischen Infektion ist entweder die Untersuchung eines Serumpaars (min. 4facher Titeranstieg im NT bei zwei Seren, die im Abstand von 7–14 Tagen gewonnen sind) oder die Bestimmung virusspezifischer IgM-Antikörper notwendig. Der Nachweis von virustypspezifischen Antikörpern kann nur im NT geführt werden (im NT werden ausschließlich Epitope der Virusoberfläche durch Antikörper erkannt). Wegen immunologischer Kreuzreaktion sind kommerzielle und selbsthergestellte Enzymimmunoassays dazu nicht geeignet (Antikörper erkennen auch kreuzreagierende Epitope aus dem Virusinneren, weil in den Tests denaturiertes Antigen verwendet wird).

Befund / Interpretation

Da Poliovirus-Infektionen in der Mehrzahl der Fälle klinisch inapparent oder als uncharakteristische fieberhafte Erkrankungen verlaufen und Virus zudem vor allem im Stuhl über Monate ausgeschieden werden kann, sollte die Diagnostik in engem ätiologischen Zusammenhang des Virusnachweises mit einem definierten Krankheitsbild erfolgen. Beweisend für eine Poliovirus-Infektion mit Meningitis ist der Virus-RNA-Nachweis bzw. die Virusanzucht aus dem Liquor. Der Virusnachweis im Stuhl ist dabei sehr nützlich. Der signifikante Titeranstieg neutralisierender Antikörper (\geq 4facher Titeranstieg; 10–14 Tage Abstand zwischen beiden Blutabnahmen) ist weiterhin beweisend für eine frische Poliovirus-Infektion.

Die Diagnostik der Vakzine-assoziierten paralytischen Poliomyelitis (VAPP) ist in Deutschland auch nach Ersatz der oralen Poliovakzine (OPV) durch die inaktivierte Poliovakzine (IPV) nicht zu vernachlässigen. Im Ausland mit OPV Geimpfte können durch Reisetätigkeit neurotrope Virusmutanten importieren (► Prävention / Impfstoffe). Die molekularbiologische Charakterisierung der Virusmutanten steht dabei im Vordergrund.

Grundsätzlich soll bei negativen Befunden, aber passendem klinischen Bild und entsprechender epidemiologischer Anamnese eine Kontrollprobe erneut untersucht werden (► Meldepflicht).

Therapie

Therapeutische Maßnahmen

Eine *in vivo*-Therapie mit antiviralen Substanzen ist nur begrenzt möglich. Die Substanz Pleconaril (in Deutschland nicht zugelassen) zeigte in randomisierten, doppelblind und Placebo kontrollierten Phase-3-Studien für Enterovirus bedingte Meningitis eine Reduzierung der mittleren Infektionsdauer. In einzelnen Fällen von Vakzine-assoziiierter paralytischer Poliomyelitis (VAPP) führte Pleconaril zu einer schnellen kompletten Eliminierung von Poliovirus aus dem Liquor. Pleconaril bewirkt wie andere hydrophobe Substanzen (z. B. WIN-Substanzen) eine Kapsidstabilisierung durch Interkalation im Kapsidprotein VP1 und dadurch eine Blockierung des viralen Uncoatings und/oder der Rezeptorerkennung.

Resistenz

Keine bekannt.

Epidemiologie

Verbreitung

Gegenwärtig sind Infektionen mit Wildtyp-Poliovirus noch endemisch in Indien, Pakistan, Nigeria und Afghanistan. Vor Einführung der Vakzination kamen Poliovirus-Infektionen weltweit vor (in den gemäßigten Zonen vornehmlich im Sommer, in wärmeren Ländern das ganze Jahr über). Nichtgeimpfte Klein-

kinder sind wegen des fehlenden Immunschutzes Hauptausscheider. Nosokomiale Infektionen sind selten (► Ausbruchmanagement). Ungünstige hygienische und sozioökonomische Bedingungen erhöhen das Infektionsrisiko. Poliovirus-Infektionen laufen häufig gleichzeitig mit anderen Enterovirus-Infektionen ab (z. B. Coxsackie- und Echoviren), wobei die Virusreproduktion eines der Viren durch Interferenz unterdrückt sein kann. Dieses Phänomen erklärt das in der ersten Hälfte des letzten Jahrhunderts beobachtete Paradoxon, dass vor Einführung der Polioimpfung mit Verbesserung der Hygiene klinisch manifeste Poliovirus-Infektionen verstärkt auftraten. Grund dafür war, dass Infektionen mit interferierenden Enteroviren bei verbesserten hygienischen Bedingungen seltener wurden. Vor Einführung der Polioimpfung traten Epidemien regelmäßig auf. 1988 wurden der WHO 35.251 Poliomyelitis-Fälle weltweit gemeldet. Durch die intensiven Impfprogramme der WHO, die eine globale Ausrottung der Poliomyelitis zu Beginn des 21. Jahrhunderts zum Ziel haben, konnte die Zahl der Poliomyelitis-Fälle weltweit stark reduziert werden. Ende 2009 wurden weltweit noch 1.604 Fälle gemeldet (bestätigte Poliovirus-Wildtyp-Infektionen). Durch die Impfprogramme stellt die Poliomyelitis in den westlichen Industrieländern kein Problem mehr dar, vorausgesetzt, es tritt keine Impfmüdigkeit auf und nicht immune Fernreisende schleppen kein *Poliovirus* ein (► Prävention / Impfstoffe). Im Juni 2002 wurde Europa durch die Weltgesundheitsorganisation als poliofreie Region deklariert. Vereinzelt Ausbrüche u. a. in den Niederlanden, Kanada und den USA traten vor 1993 in Enklaven religiöser Gruppen auf, die eine Vakzination ablehnen. Im Jahr 2009 wurde die Einschleppung der Poliomyelitis in 13 afrikanische Länder berichtet. Zehn Länder meldeten 82 Poliovirus Typ 1-Fälle und 3 Länder 15 Poliovirus-Typ 3-Fälle. Reisetätigkeit Ungeimpfter ist der Hauptgrund für die Einschleppung.

Wirtsbereich / Reservoir

Reservoir für das *Poliovirus* ist ausschließlich der Mensch. Ansonsten ist *Poliovirus* nur für Affen pathogen (experimentelle Infektionen, asymptomatisch wie beim Menschen; schlaffe Lähmung nur durch direkte Virusinokulation ins Gehirn oder Rückenmark). Nur adaptiertes *Poliovirus* kann sich in Mäusen vermehren. *In vitro* lässt sich *Poliovirus* auf diversen Zelllinien vom Mensch und Affen propagieren (► Diagnostik).

Risikogruppen

Poliovirus-Infektionen sind typischerweise Infektionen von nicht immunen Kleinkindern, weshalb die Poliomyelitis auch als Kinderlähmung bezeichnet wird. Klinisch manifeste Poliovirus-Infektionen sind bei männlichen Patienten häufiger als bei weiblichen (Verhältnis männlich: weiblich = 1,5–2,5:1). Weiterhin ist eine Paralyse bei Erwachsenen häufiger als bei Kin-

dern. Verstärkende Faktoren sind u. a. sehr niedriges und hohes Alter, Tonsillektomie, Behandlung mit Kortikosteroiden, Röntgenbestrahlung, Erschöpfung, Hypoxie, gleichzeitige andere Infektionserkrankungen (z. B. Erkältung) und chronische Unterernährung. Für das erhöhte Risiko nach Tonsillektomie wird postuliert, dass das Virus im Oropharynx direkt Zugang zu Nerven hat, die nach dem operativen Eingriff verletzt sind, sodass eine direkte Virusausbreitung im Gehirn mit bulbärer Paralyse die Folge ist.

Transmission / Vektoren

Poliovirus wird hauptsächlich fäkal-oral übertragen (► Abb. 3). Schon kurz nach Infektionsbeginn kommt es zu massiver Virusreproduktion in den Darmepithelien (Ausscheidung von 10^6 – 10^9 infektiösen Viren pro Gramm Stuhl; mehrere Wochen bis Monate). Die Poliovirus-Ausscheidung bei Personen mit angeborener oder erworbener Immundefizienz kann über einen langen Zeitraum erfolgen. Deshalb sollen diese Personen keinesfalls mit OPV immunisiert werden. Fäkale Kontaminationen (Finger, Gegenstände, Lebensmittel) sind die Hauptursachen für die Virusverbreitung. Wegen der primären Virusvermehrung in den Rachenepithelien wird das Virus auch respiratorisch kurz nach Infektion übertragen. Poliovirus-Übertragungen sind in Ländern mit niedrigem sozioökonomischem Status über kontaminiertes Abwasser besonders häufig.

Prävention / Impfstoffe

Es stehen zwei Vakzinen zur aktiven Impfung gegen Poliovirus zur Verfügung: Der formaldehydinaktivierte, intramuskulär applizierte Impfstoff nach Salk (inaktivierte Polio-Vakzine, IPV, 1954 eingeführt) und der Oralimpfstoff mit lebend-attenuierten Viren nach Sabin (orale Polio-Vakzine, OPV, 1962 eingeführt). Beide Impfstoffe sind trivalent (enthalten die 3 Serotypen). Während die IPV ausschließlich humorale Immunität ausbildet, induziert die OPV durch eine subklinische Infektion zusätzlich sekretorisches IgA. In sehr seltenen Fällen kann die OPV im Menschen durch Mutation Neurovirulenz erlangen. Das Risiko für die OPV ist jedoch als sehr gering einzustufen: Für die USA wurde ca. 1 Impfwischenfall (Vakzine-assoziierte paralytische Poliomyelitis, VAPP) pro 1,2 Millionen Impfdosen berichtet. Neurovirulente Revertanten betreffen hauptsächlich die attenuierten Impfstämme der Poliovirus Typen 2 und 3. Das Risiko einer Impfkontakt-Poliomyelitis (Infektion einer nicht immunen Kontaktperson durch eine Impfvirusvariante) liegt bei ca. 1:5 Millionen Impfdosen OPV.

In Deutschland wird nach einer Empfehlung der Ständigen Impfkommission (STIKO) vom 21. Januar 1998 empfohlen, nur noch mit der IPV zu impfen. Bei einer dreimaligen IPV-Impfung wird empfohlen (Stand: Juli 2010): 1. Impfung im 2. Lebensmonat; 2. Impfung im 4. Lebensmonat; 3. Impfung im 11.–12. Lebensmonat.

Zwischen dem 9. und 17. Lebensjahr sollte eine Auffrischung mit einer IPV erfolgen, vorausgesetzt, die letzte Impfung mit IPV liegt länger als 10 Jahre zurück. Bei Polio-Ausbrüchen durch Wildviruseinschleppung wird eine Riegelungsimpfung mit OPV entsprechend den Anordnungen der Gesundheitsbehörden durchgeführt.

Zur Verhinderung einer Vakzine-assoziierten paralytischen Poliomyelitis (VAPP) gilt generell für alle Impfungen, die nicht eine Grundimmunisierung gegen Poliomyelitis erhalten haben, dass sie erst mit der IPV geimpft werden, bevor die OPV eingesetzt wird.

Ausbruchmanagement

Zur Vermeidung von nosokomialen Infektionen sollten Poliovirus-Infizierte von anderen Patienten räumlich getrennt werden. Obwohl Poliovirus-Infizierte nicht hochkontagiös sind, wird die räumliche Trennung wegen der Folgen einer apparenten Infektion empfohlen. Klinisches Personal sollte ausschließlich mit der IPV geimpft werden, um eine Übertragung von Impfviren durch Schmierinfektion zu verhindern. Die aktuellen Maßnahmen zur hygienischen Händedesinfektion sind unbedingt einzuhalten.

Meldepflicht

Nach dem Infektionsschutzgesetz (§ 6 IfSG) sind namentlich der Krankheitsverdacht, die Erkrankung sowie der Tod an Poliomyelitis zu melden (als Verdacht gilt jede akute schlaffe Lähmung, außer wenn traumatisch bedingt). Nach § 7 IfSG ist der direkte oder indirekte Poliovirusnachweis, soweit er auf eine akute Infektion hinweist, namentlich zu melden.

Weiterführende Informationen

Referenzzentren / Expertenlaboratorien

- Nationales Referenzzentrum für Poliomyelitis und Enteroviren und Regionales Referenzlabor der WHO/EURO für Poliomyelitis, Dr. Sabine Diedrich, Robert Koch-Institut, Nordufer 20, D-13353 Berlin, Tel.: +49-(0)30-18754 2378, Fax: +49-(0)30-18754 2617, E-Mail: DiedrichS@rki.de; www.rki.de
- Statens Serum Institut, 5, Artillerivej, DK-2300 Kopenhagen S, Dänemark; Dr. Mette B. Kern, Tel.: +45-4829-9178, Fax: +45-4829-9179, E-Mail: ivdorders@ssi.dk; www.ssi.dk
- National Institute for Public Health and the Environment, RIVM - Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, Dept. Virology, PO Box 1, NL 3720 BA Bilthoven, The Netherlands; www.rivm.nl

Web-Adressen

- Picornaviridae.com: www.picornaviridae.com
- Picornaviridae study group: www.picornastudygroup.com
- The big picture book of viruses: www.mirrorsservice.org/sites/www.virology.net/Big_Virology/BVHomePage.html
- Genbank, National Institute of Health: www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/index.html
- Global Polio Eradication Initiative: www.polioeradication.org

Schlüsselliteratur

1. Melnick JL (1996) Enteroviruses: Polioviruses, Coxsackieviruses, Echoviruses, and Newer Enteroviruses. In: Fields BN, et al., Fields Virology, 5th edn. Lippincott - Raven, Philadelphia, vol 1, pp 655–712
2. Mertens Th, Haller O, Klenk H-D (Hrsg) (2004) Diagnostik und Therapie von Viruskrankheiten - Leitlinien der Gesellschaft für Virologie, 2. Aufl. Urban & Fischer, S 57–64
3. Racaniello VR, Picornaviridae (2007) The Viruses and Their Replication. In: Knipe DM et al Fields Virology, , 5th edn. Wolters Kluwer | Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Vol 1, pp 795–838
4. Stanway G et al. (2005) Picornaviridae. In: Fauquet CM et al, Virus Taxonomy, Classification and Nomenclature of Viruses, Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier Academic Press, Amsterdam, 757–778
5. Zeichhardt H, Grunert, H-P (2003) Enteroviruses: polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses and enteroviruses 68–71. In: Cohen J, Powderly WG, Opal SM Infectious Diseases, 2nd edn. Elsevier Health Sciences, London, chapter 213, 1993–2006
6. Zeichhardt H, Grunert, H-P (2010) Picornaviren - Klinik, Diagnostik und Prävention. In: Doerr HW und Gerlich WH (Hrsg) Medizinische Virologie, 2. Aufl., Thieme Verlag, Stuttgart New York, Kapitel 42, S. 468-489

Polyarthritis, epidemische

- ▶ Alphaviren

Polycytella hominis

- ▶ Eumyzetom (*Madurella mycetomatis* u.v.a.)

Polyomaviren

JENS VERHEYEN, HERBERT PFISTER

Erreger

Erregerspezies

BK-, JC-, KI-, Merkelcell- und WU-Polyomavirus (BKPyV, JCPyV, KIPyV, MCPyV und WUPyV)

Taxonomie

Familie der *Polyomaviridae*, Genus Polyomavirus zugeordnet. Die humanpathogenen Polyomaviren zeigen etwa 75 % Sequenzhomologie und tragen typ- und genuspezifische Epitope. Die natürliche Immunantwort ist weitgehend typspezifisch. Polyomaviren sind bei Säugetieren weit verbreitet. Das Affenvirus SV40 diente als wichtiges Modell in der Tumorstudiologie.

Historie

Polyomaviren der Maus und des Affen wurden in der Mitte des letzten Jahrhunderts entdeckt. JC- und BK-PyV wurden erstmals 1971 aus dem Gehirn eines Pa-

tienten mit progressiver multifokaler Leukoenzephalopathie (PML) bzw. aus dem Urin eines Transplantatempfängers isoliert. KI-, MC- und WU-PyV wurden erst nach dem Jahr 2000 mittels molekularbiologischer Methoden identifiziert.

Morphologie

Die ikosaedrischen Kapside (Durchmesser 45 nm) bestehen aus drei viruskodierten Proteinen (VP1, VP2, VP3) und umhüllen ein doppelsträngiges DNA-Molekül, das mit den zellulären Histonen H2A, H2B, H3 und H4 einen chromatinähnlichen Komplex bildet. Die 72 pentameren Kapsomere bestehen jeweils aus fünf Molekülen VP1 und wahrscheinlich einem Molekül VP2 oder VP3.

Genom

Das ca. 4.700 bis 5.300 Basenpaare große Genom liegt zirkulär vor. Eine nicht kodierende Region (350–400 Nukleotide) enthält den Ursprungspunkt der bidirektionalen DNA-Replikation und Kontrollelemente der Transkription. Frühe und späte Gene werden auf unterschiedlichen DNA-Strängen kodiert und in der Kontrollregion beginnend in entgegengesetzter Richtung transkribiert. Unterschiedliches Spleißen der weitgehend überlappenden mRNA-Moleküle führt in der Frühphase des Replikationszyklus zu den Proteinen T und t, die wesentlich sind für die virale Replikation und Transkription sowie für die Zelltransformation. Die spät im Replikationszyklus transkribierten mRNAs kodieren für die Strukturproteine VP1–3 und das so genannte Agnoprotein, das eine Rolle bei der Virusreifung spielt. (Accession-Nummer JCPyV: J02226; BKPyV: J02038, KIPyV: EF127906, MCPyV: EU375803, WUPyV: EF444549).

Vermehrung

BKPyV repliziert in menschlichen Epithelzellen, wie embryonalen Nierenzellen, und humanen Fibroblasten. Zytopathogene Effekte treten oft erst nach einigen Wochen auf; der Nachweis von BKPyV T-Antigen erlaubt eine Diagnose in wenigen Tagen. JCPyV wächst am besten in Kulturen primärer fetaler menschlicher Gliazellen, die reich sind an Spongiblasten.

Pathogenität / Virulenz / Antigenvariabilität

BK- und JC-PyV dringen wahrscheinlich über den Respirationstrakt in den Körper ein, vermehren sich lokal und können nach der Ausbreitung über das Blut lebenslang persistieren (BKPyV: Niere; JCPyV: Niere, Knochenmark und ZNS). Im Falle von JCPyV werden Veränderungen in der Transkriptionskontrollregion der Genome und/oder des VP1 Proteins für den Gehirntropismus verantwortlich gemacht, der entscheidend sein könnte für die Entstehung einer PML. Es besteht aber keine exakte Korrelation zwischen viralen Mutationen und PML, sodass wahrscheinlich noch weitere Wirtsfaktoren hinzukommen. Der Nachweis

von MCPyV gelingt häufig in Hautabstrichen als Ausdruck einer asymptomatischen Persistenz. MCPyV wird auch in 80 % der seltenen Merkel-Zell-Karzinome gefunden. Die Fähigkeit der Polyomaviren bei abortiver Infektion Nagerzellen und bestimmte menschliche Zellen onkogen zu transformieren (MCPyV), könnte für die Induktion von Tumoren relevant sein. Eine ausbleibende Virusreplikation verhindert die Lyse der infizierten Zellen und die kontinuierliche Expression des T-Antigens könnte zur Zelltransformation beitragen, z. B. über die Interaktion mit den zellulären Tumorsuppressorproteinen p53 und pRb (Retinoblastom).

Erkrankungen

1. Akute BK-, JC-, KI- und WU-PyV-Infektion

Symptome

Primärinfektionen mit BKPyV und JCPyV verlaufen meist klinisch inapparent. Beide Infektionen können bei Kleinkindern zu milden Erkrankungen des oberen Respirationstraktes führen. KIPyV und WUPyV werden bei bis zu 5 % aller Kinder mit respiratorischen Symptomen nachgewiesen, jedoch häufig in Kombination mit anderen respiratorischen Viren (Adenoviren, Respiratory Syncytial Virus, Humanes Metapneumovirus), so dass die klinische Bedeutung der Infektion mit diesen Viren noch nicht abschließend geklärt ist. Vereinzelt konnten Fälle von Zystitiden bei anderweitig gesunden Kindern auf eine BKPyV-Primärinfektion zurückgeführt werden.

Pathophysiologie

Die zytolytische Virusreplikation in den Zielorganen ist ursächlich für die klinische Symptomatik verantwortlich.

Immunantwort

Infizierte Personen bilden spezifische Antikörper gegen Polyomaviren und erlangen eine T-Zell-vermittelte Immunität, so dass eine Reaktivierung bei immunkompetenten Personen verhindert wird.

Differenzialdiagnose

Andere Erkrankungen des oberen Respirationstraktes oder der Blase.

2. Progressive multifokale Leukenzephalopathie (PML)

Inkubationszeit

Keine, Reaktivierung.

Leitsymptome

Neurologische Symptome

Symptome

Klinisch zeigen sich früh Sprach- und Sehstörungen sowie geistiger Verfall. Die Erkrankung schreitet in der Regel rasch voran, wobei es zu sensorischen Störungen,

Inkontinenz, Erblindung und Lähmungen kommen kann. Die in der Regel innerhalb eines Jahres tödlich verlaufende Erkrankung wird bei HIV positiven Patienten durch die antiretrovirale Therapie und bei Medikamenten-assoziiierter PML durch die Elimination des auslösenden Agens günstig beeinflusst.

Pathophysiologie

Reaktivierung von JCPyV kann PML verursachen, eine subakut verlaufende, demyelinisierende Erkrankung des Zentralnervensystems. Makroskopisch erkennt man im PML-Gehirn subkortikal in der weißen Gehirnschicht Herde mit fortgeschrittener Entmarkung und zentralen Nekrosen, umgeben von Zellen mit zytopathischen Merkmalen wie vergrößerte Nucleolen mit basophilen Einschlusskörpern. Entmarkungsherde können auch im Kleinhirn und im Hirnstamm auftreten. Diese sind Ausdruck der Infektion und Lyse der Oligodendrozyten des ZNS.

Immunantwort

Die nach akuter Infektion persistierenden Viren können jederzeit wieder in ein replikatives Stadium übergehen. Eine erneute Virusvermehrung kann vor allem bei einer längerfristig stark gestörten zellulären Immunität auftreten, z. B. bei HIV-Patienten, Patienten nach Nieren- oder Knochenmarkstransplantation oder unter immunmodulierender Therapie bei Erkrankungen mit Autoimmunpathogenese (Natalizumab/Efalizumab).

Differentialdiagnose

Lymphome des ZNS, Toxoplasmose und HIV-Enzephalitis.

3. Polyomavirus-assoziierte Nephropathie (PVAN)

Synonym(e)

Polyoma-assoziierte Nierenerkrankung.

Inkubationszeit

Keine, Reaktivierung.

Leitsymptome

Renale Dysfunktion.

Symptome

Schon vor dem Auftreten von klinischen Symptomen kann häufig eine BKPy-Virurie oder Virämie nachgewiesen werden. Mit fortschreitender Entzündung und Virusreplikation in den/der Niere(n) kommt es schließlich auch zum Kreatininanstieg sowie weiteren Zeichen der Niereninsuffizienz. Insbesondere bei nierentransplantierten Patienten kann es in Folge einer Abstoßungsreaktion zum Verlust der Spenderniere kommen.

Pathophysiologie

Die zytolytische Vermehrung des reaktivierten BK-

PyV führt zu einem stetigen Untergang von Nierentubuluszellen. Als zytopathischer Effekt kann in infizierten Zellen ein vergrößerter Nukleus mit basophilen Einschlüssen beobachtet werden. Die Infektion betrifft die gesamte Niere und geht mit entzündlichen Veränderungen einher, die denen einer akuten Abstoßungsreaktion gleichen.

Immunantwort

► PML (Erkrankung 2).

Differentialdiagnose

Akute zelluläre Abstoßungsreaktion.

4. Hämorrhagische Zystitis

Synonym(e)

Blutige Blasenentzündung.

Inkubationszeit

Keine, Reaktivierung.

Leitsymptome

Hämorrhagische Zystitis.

Symptome

Vor allem bei Knochenmarkstransplantat-Empfängern tritt zwei bis zwölf Wochen nach Transplantation eine hämorrhagische Blasenentzündung auf, die mehr als 7 Tage andauern kann und oft mit einer BKPy-Virurie einhergeht. Im Urin können Decoy-Zellen mit basophilen Einschlüssen in den Nukleolen nachgewiesen werden.

Pathophysiologie

Die Virusreplikation findet in erster Linie in den Epithelzellen der Blase statt, die dabei zerstört werden. Zusätzlich kommt es zu inflammatorischen Veränderungen des umliegenden Gewebes.

Immunantwort

► PML (Erkrankung 2).

Differenzialdiagnose

Polyomavirus infizierte Zellen im Urin können als Cytomegalovirus infizierte Zellen oder Krebszellen fehlinterpretiert werden. Andere Ursachen für eine hämorrhagische Zystitis können Adenovirusinfektionen sowie Medikamententoxizität sein.

5. Merkel-Zell Karzinom

Synonym(e)

Primär kutaner neuroendokriner Tumor.

Inkubationszeit

Keine, Reaktivierung.

Leitsymptome

Hauttumor.

Symptome

Der uncharakteristische rötlich-violette Tumor tritt teilweise mit sekundären Ulzerationen auf.

Pathophysiologie

Häufige und intensive Sonnenexposition sowie eine bestehende Immunsuppression (HIV-Infektion, Organtransplantation) sind wichtige Risikofaktoren für die Entstehung des seltenen Hauttumors. Integrierte MCPyV-DNA kann mit charakteristischen Veränderungen im viralen T-Antigen in einem Großteil der Merkelzellkarzinome nachgewiesen werden, so dass in diesen Fällen eine aktive Rolle bei der Tumorentstehung vermutet wird.

Immunantwort

► PML (Erkrankung 2).

Differenzialdiagnose

Andere Hauttumoren.

Diagnostik

Untersuchungsmaterial

Als Untersuchungsmaterial dienen Serum, Urin, und Liquor sowie Biopsiematerial.

Diagnostische Verfahren

Direkter Virusnachweis: Als Standardverfahren zum direkten Virusnachweis von Polyomaviren haben sich molekularbiologische Methoden (z. B. PCR) bewährt. Die Virusisolierung ist als Routineverfahren zu aufwändig. Die elektronenmikroskopische Darstellung von Viruspartikeln im Urin und in den Kernen von Oligodendrozyten bei PML ist möglich.

Serologie: Der Nachweis von viruspezifischen Antikörpern der Klasse IgM und IgG ist ohne Bedeutung wegen der hohen Durchseuchung und fehlender Titerbewegungen im Krankheitsverlauf.

Befund / Interpretation

Die Bedeutung des Virusnachweis ist abhängig von der klinischen Symptomatik. MCPyV kann in Hautabstrichen mittels PCR bei großen Teilen der Bevölkerung nachgewiesen werden, unabhängig von einer klinischen Symptomatik. Ebenfalls mittels PCR werden KIPyV und WUPyV in Rachenabstrichen von Kindern mit respiratorischen Erkrankungen in unterschiedlicher Häufigkeit nachgewiesen.

JCPyV und BKPyV werden regelmäßig im Urin asymptomatischer Patienten aufgrund der viralen Persistenz nach Primärinfektion nachgewiesen. Bei Nierentransplantierten kann eine BKPyV-Virurie von $> 10^7$ Kopien/ml oder Virämie von 10^4 Kopien/ml auf eine beginnende PVAN hinweisen. Bei Knochenmarkstransplantierten Patienten kann eine Viruslast von 10^9 Kopien/ml im Urin auf eine beginnende hämorrhagische Zystitis hinweisen. Der JCPyV-PCR-Nachweis im Liquor ist bei sympto-

matischen immunsupprimierten Patienten hoch spezifisch für das Vorliegen einer PML, jedoch kann dieser teilweise erst bei fortgeschrittenem Krankheitsverlauf positiv werden.

Therapie

Therapeutische Maßnahmen

Bei Polyomavirus-induzierten Krankheitsbildern sollte, soweit möglich, eine immunsuppressive Therapie frühzeitig unterbrochen oder reduziert werden, da mit erfolgreicher Immunrestitution die Infektion wieder kontrolliert werden kann und sich Symptome zurückbilden können.

Eine allgemein anerkannte Chemotherapie bei Polyomavirusreaktivierung steht im Moment nicht zur Verfügung. Cidofovir, ein Nukleosidanalogen mit antiviraler Aktivität u. a. gegen Adenoviren und Herpesviren, hemmt in der Zellkultur die Replikation von Polyomaviren. Die ausgeprägte Nephrotoxizität ist jedoch häufig limitierend für den klinischen Einsatz. Kleine Studien konnten einen günstigen Einfluss einer angepassten Cidofovirtherapie auf den Verlauf einer PML, BKV-assoziierten Zystitis sowie PVAN demonstrieren.

Resistenz

Keine bekannt.

Epidemiologie

Verbreitung

Primärinfektionen mit Polyomaviren erfolgen häufig in der Kindheit. Die Durchseuchungsrate von Erwachsenen für BKPyV, JCPyV und MCPyV liegen weltweit bei 100 %, 70 % und 80 %.

Wirtsbereich / Reservoir

JCPyV, BKPyV, KIPyV, MCPyV und WUPyV infizieren natürlicherweise nur den Menschen. Experimentelle Infektionen von Nagetieren und Neuweltprimaten mit JCPyV und BKPyV führen zu verschiedenen Tumoren.

Risikogruppen

Ernste klinische Symptome treten praktisch ausschließlich bei Patienten mit Grunderkrankungen, insbesondere Defekten der zellvermittelten Immunität auf.

Transmission / Vektoren

Die weite Verbreitung der Polyomaviren in der Bevölkerung spricht für eine effiziente Übertragung, die wahrscheinlich über den Respirationstrakt erfolgt. Die Viren werden häufig im zweiten und dritten Trimester der Schwangerschaft klinisch inapparent reaktiviert und im Urin ausgeschieden. Polyomaviren sind resistent gegenüber Lipidlösungsmitteln und relativ resistent gegenüber Hitzeinaktivierung.

Prävention / Impfstoffe

Da Polyomavirusinfektionen bei immunkompetenten Menschen in der Regel inapparent oder zumindest harmlos verlaufen, wurden keine Präventionsstrategien entwickelt.

Ausbruchmanagement

Es wurden keine besonderen Strategien zur Krankheitsvorbeugung und Kontrolle entwickelt.

Meldepflicht

Infektionen mit JCPyV, BKPyV, KIPyV, MCPyV und WUPyV stellen keine meldepflichtige Erkrankung dar.

Weiterführende Informationen

Referenzzentren / Expertenlaboratorien

- Nationales Referenzzentrum für Papillomaviren und Polyomaviren: Herr Prof. Dr. Dr. h.c. H. J. Pfister; Institut für Virologie, Uniklinik Köln, Fürst-Pückler-Straße 56, 50935 Köln Tel.: 0221 / 478-3900, ; FAX: 0221 / 478-3902, E-Mail: herbert.pfister@uk-koeln.de

Web-Adressen

- Polyomavirus Seite der University of Tulane: <http://www.tulane.edu/~dmsander/WWW/335/Papovaviruses.html>
- National Center of Biotechnology Information: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- All the virology on the WWW: <http://www.virology.net>

Schlüsselliteratur

1. Imperiale MJ, Major EO (2007) Polyomaviruses. In: Knipe DM, Howley PM (eds) *Fields Virology*, 5th edn. Walters Kluwer Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia, Vol 2, pp 2263–2298
2. Jiang M, Abend JR, Johnson SF, Imperiale MJ (2009) The role of human polyomaviruses in human disease. *Virology* 384:266–273

Polyomavirus-assoziierte Nephropathie (PVAN)

- ▶ Polyomaviren

Pongola-Virus

- ▶ Bunyaviren

Pontiac-Fieber

- ▶ Legionella

Porphyria cutanea tarda

- ▶ Hepatitis C Virus (HCV)

Porphyromonas

HEINRICH K. GEISS, ARNE C. RODLOFF

Erreger

Synonym(e)

Bacteroides-melaninogenicus-Gruppe.

Erregerspezies

P. asaccharolytica, *P. catoniae*, *P. endodontalis*, *P. gingivalis*, *P. somerae*, *P. uenonis* Primär tierpathogen: *P. cangingivalis*, *P. canoris*, *P. cansulci*, *P. circumdentaria*, *P. crevioricanis*, *P. gingivicanis*, *P. gulae*, *P. levii*, *P. macacae*

Taxonomie

Phylum: Bacteroidetes; Ordnung: Bacteroidales; Familie: Porphyromonadaceae; Genus: Porphyromonas

Historie

Schwarz pigmentierte Bacteroides-ähnliche Bakterien, wurden erstmals von Oliver und Wherry 1921 beschrieben und aufgrund der Annahme, dass dieses auf Blutagar gebildete Pigment Melanin sei, *Bacteroides melaninogenicus* benannt. Obwohl über 50 Jahre zahlreiche biochemisch heterogene Varianten beschrieben wurden, blieb es bei der einen Spezies mit verschiedenen Subspezies. Die nicht fermentierenden Unterarten wurden 1974 als *B. melaninogenicus* ssp. *asaccharolyticus* in Bergey's Manual geführt, allerdings kurz darauf in Speziesrang erhoben und schließlich 1988 durch Shah und Collins mit 3 Spezies als Genus Porphyromonas vorgeschlagen. Die beim Menschen *P. levii*-like-organisms (PLO) bezeichneten Arten wurden 2005 als *P. somerae*, die *P. endodontalis*-like-organisms (PELO) 2004 als *P. uenonis* klassifiziert.

Morphologie

Gramnegative, obligat anaerobe, nicht sporenbildende, unbewegliche Stäbchen oder kokkoide Stäbchen mit einer Größe von 0,5–0,8 µm × 1–3,5 µm, gelegentlich bis zu 6 µm lang

Genom

P. asaccharolytica L16490, *P. catoniae* X82823, *P. endodontalis* L16491, *P. gingivalis* AB035459, *P. somerae* AY968205, *P. uenonis* AY570514.

Vermehrung

Eine Vermehrung von Prevotella spp. findet ausschließlich unter anaeroben Bedingungen statt. Entsprechende Bedingungen finden sich auf Schleimhäuten von Mensch und Tier. *In vitro* bietet ein Gasgemisch aus 80 % N₂, 15 % CO₂ und 5 % H₂ eine hinreichende Atmosphäre. Aufgrund der begrenzten Energieausbeute der anaeroben Glykolyse ist die Generationszeit z. B. gegenüber Enterobacteriaceae verlängert.

Pathogenität / Virulenz / Antigenvariabilität

Aufgrund der Tatsache, dass lediglich für *P. gingivalis* im Gegensatz zu *P. asaccharolytica* und *P. endodontalis* im Tierversuch generalisierte Infektionen mit hoher Letalität nachgewiesen werden konnten, beschränkten sich die Untersuchungen zu Virulenz- und Pathogenitätsfaktoren weitgehend auf diese Spezies. Bestimmte Fimbrien-Typen besitzen eine stärkere Fähigkeit zur Adhäsion an und Invasion in Epithelzellen, während die so genannten Minor-Fimbrien verantwortlich sind für die Induktion der Cytokin-Produktion. Untersuchungen liegen für *P. gingivalis* in Zusammenhang mit Periodontitis vor. Hierbei spielen proteolytische Enzyme (z. B. Dipeptidyl-Transferase IV) und Fimbrien (FimA Typ II) eine besondere Rolle.

Erkrankungen

1. Parodontitis

Synonym(e)

Periodontitis.

Inkubationszeit

Unspezifisch.

Symptome

Die Parodontitis ist gekennzeichnet durch die Ausbildung von entzündlichen Veränderungen des Zahnhalteapparates. Es kommt zur Taschenbildung, Gingivaregredienz und schließlich zur Zahnlockerung und zum Zahnverlust.

Pathophysiologie

Ursächlich für die Entzündungsreaktion ist die Ausbildung eines Zahn-adhärenenten Biofilms, der von einer Mischflora aus verschiedenen Bakterienspezies gebildet wird. Dabei spielen die Spezies des so genannten Roten Komplex (*Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* und *Tannerella forsythesis* und *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*) eine herausragende Rolle. Die getriggerte Entzündung führt zum Untergang von Weichgewebe und zur Aktivierung von Osteoklasten.

Immunantwort

Eine bleibende Immunität nach Infektion entsteht nicht.

2. Eitrige/septische Infektionen

P. asaccharolytica wurde bei einer Vielzahl von Infektionen aus Blut, Amnionflüssigkeit, Nabelschnurblut, Emyemen, peritonealen und pelvinen Abszessen, Endometritis und Wunden isoliert. Meistens handelte es sich hier allerdings um Mischinfektionen ähnlich wie bei den Bacteroides-Arten. *P. gingivalis* wurde auch verschiedentlich im Material von extraoralen Infektionen (Appendizitis und Peritonitis) nachgewiesen. Porphyromonas spp. tierischen Ursprunges können in Zusammenhang mit Tierbissverletzungen beim Menschen isoliert werden. *P. somerae* wurde bei chroni-

schen Haut-/Weichteilinfektionen bei Diabetikern, Osteomyelitis oder Hirnabszessen, *P. uenonis* aus intraabdominellen Abszessen isoliert.

Diagnostik

Untersuchungsmaterial

Porphyromonas spp können in Blutkulturen nachgewiesen werden. Untersuchungsmaterialien, die mit physiologischer Standortflora kontaminiert sind (z. B. Sputum, Vaginal-, CK-Abstrich) sind ungeeignet. Biopate und Aspirate müssen ggf. auf, während (weniger geeignete) Abstriche in Transportmedien ins Labor verbracht werden, um die toxische Wirkung des Luftsauerstoffs zu minimieren.

Diagnostische Verfahren

Die Anzucht und Isolierung aus menschlichem Material erfolgt unter strikt anaeroben Bedingungen. Feste Kulturmedien sollten für gute Wachstumsergebnisse bluthaltig (Kaninchen, Pferd, Schaf) und mit Hämin und Vitamin K₁ supplementiert sein (Brucella-Agar, Columbia-Agar, Schädler-Agar). Mit Glukose, Proteosepton, NaCl (0,5 %), Cystein, Hämin und Vitamin K angereicherte Flüssigmedien erlauben ebenfalls eine Anzucht von Porphyromonas spp. Die Kolonien auf Oberflächenkulturen sind glatt, gelegentlich rau, glänzend, konvex und nehmen nach Bebrütung von 6–10 Tagen vom Rande her eine schwarze Verfärbung an, die durch die Produktion von Protohämin hervorgerufen wird. Alle Arten – mit Ausnahme von *P. somerae* – sind indolpositiv, Nitrat wird nicht zu Nitrit reduziert, ebenso werden Stärke und Äskulin nicht hydrolysiert. Die Hauptfermentationsprodukte sind n-Butyrat und Azetat, in geringerem Umfang Propionat, Isobutyrat und Isovalerat. Das typische Enzymmuster entspricht dem von Prevotella, d. h. es sind sowohl Malat- und Glutamatdehydrogenase vorhanden, während Glukose-6-phosphat- und Phosphogluconatdehydrogenase fehlen. Geringe proteolytische Aktivität. Eine Identifizierung mittels MALDI-TOF ist möglich.

Befund / Interpretation

Der Nachweis von Porphyromonas spp. ist bei entsprechenden klinischen Infektzeichen als relevant zu bewerten.

Therapie

Therapeutische Maßnahmen

Die Antibiotikaempfindlichkeit ist vergleichbar mit der von Prevotella spp. mit guter Sensitivität gegenüber Metronidazol, Clindamycin, Penemen, Tigecyclin sowie allen β -Laktam/ β -Laktamase-Inhibitor-Kombinationen. Humane *P. gingivalis*-Isolate sind meist auch sensibel gegenüber Penicillin, während die von Tieren stammenden Arten in 20–25 % β -Laktamase-positiv sind.

Resistenz

Natürliche Resistenz gegenüber Aminoglykosiden und Colistin

Epidemiologie

Verbreitung

Ubiquitär.

Wirtsbereich / Reservoir

Porphyromonas-Arten werden, außer beim Menschen, bei einer Vielzahl von Tierspezies (Katzen, Hunde, Affen, Jaguare, Pferde, Schweine, Meerschweinchen und weiteren Herbivoren) nachgewiesen, wobei eine Reihe dieser Keimarten noch nicht genau taxonomisch eingeordnet sind. Während *P. endodontalis* und *P. gingivalis* fast ausschließlich bei Menschen mit Gingivitis bzw. Endodontitis im Subgingival- und Zahnwurzelbereich nachweisbar sind, kann *P. assacharolyticus* auch beim Gesunden in vielen anderen Körperregionen, wie Gehörgang, Gastrointestinaltrakt, Zervix und Genitale nachgewiesen werden. Das natürliche Reservoir von *P. somerae* und *P. uenonis* ist der Gastrointestinaltrakt. *P. endodontalis* und *P. gingivalis* kommen erst nach Ausbildung der permanenten Zähne in der Mundhöhle vor, wobei sie beim Gesunden aufgrund der sehr geringen Keimzahl selten nachweisbar sind.

Risikogruppen

Für Parodontitis:

- Schlechte Mundhygiene mit Zahnbelag (Plaque) und Zahnstein
- Genetische Prädisposition
- Tabakkonsum
- Diabetes mellitus
- Bruxismus (zumeist stressbedingtes Zähneknirschen)
- Ungünstig lokalisierte Piercings im Mundraum (Lippe, Lippenbändchen, Zunge)

Transmission / Vektoren

Die meisten Porphyromonas-assoziierten Infektionen im Oropharynx sind endogenen Ursprungs, wobei die Übertragung bestimmter pathogener Fimbrien-Typen bei Partnern beschrieben ist. Die beim Tier vorkommenden Arten können durch Bissverletzungen auf den Menschen übertragen werden und Abszesse verursachen

Prävention / Impfstoffe

Mund/Zahnhygiene.

Ausbruchmanagement

Nicht relevant.

Meldepflicht

Keine.

Weiterführende Informationen

Referenzzentren / Expertenlaboratorien

- Institut für Medizinische Mikrobiologie und Infektions-epidemiologie des Universitätsklinikums Leipzig, Liebigstr. 21, 04103 Leipzig, Tel. 0341 97 15 200

Schlüsselliteratur

1. Brook I (2008) Anaerobic Infections, Informa Healthcare, New York, London
2. Jousimies-Somer H, Summanen P (2002) Recent taxonomic changes and terminology update of clinically significant anaerobic gram-negative bacteria. Clin Infect Dis 35 (Suppl 1):17–21
3. Paster BJ, Dewhirst FE, Olsen I, Fraser GJ (1994) Phylogeny of Bacteroides, Prevotella, and Porphyromonas spp. and related bacteria. J Bacteriol 176:725–732
4. Shah HN (1991) The genus Bacteroides and related taxa. In: Balows A, Trüper HG, Dworkin M, Harder W, Schleifer K-H (Hrsg) The Prokaryotes, 2. Aufl. Springer Verlag, New York, Berlin, Heidelberg
5. Shah HN, Collins DM (1990) Prevotella, a new genus to include Bacteroides melaninogenicus and related species formerly classified in the genus Bacteroides. J Clin Microbiol 40:205–208

Posadas-Wernicke-Krankheit

- ▶ Coccidioides immitis

Postpolio-Syndrom

- ▶ Polioviren

Posttransfusionshepatitis

- ▶ Hepatitis C Virus (HCV)

Posttransplantationshepatitis

- ▶ Hepatitis C Virus (HCV)

Powassan-Virus (POW-V)

- ▶ Flaviviren, seltene humanpathogene

Praruschbrand-„Bazillus“

- ▶ Clostridien der Gasbrand-Gruppe

Prevotella

HEINRICH K. GEISS, ARNE C. RODLOFF

Erreger

Synonym(e)

Bacteroides-melaninogenicus-oralis-Gruppe.

Erregerspezies

P. baroniae, *P. bergensis*, *P. bivia*, *P. buccae*, *P. buccalis*, *P. corporis*, *P. dentalis*, *P. denticola*, *P. disiens*, *P. enoeca*, *P. heparinolytica*, *P. intermedia*, *P. loescheii*, *P. marshii*, *P. melaninogenica*, *P. multiformis*, *P. multisaccharivorax*, *P. nigrescens*, *P. oralis*, *P. oris*, *P. oulorum*, *P. pallens*, *P. salivae*, *P. shahii*, *P. tanneriae*, *P. veroralis*, *P. zoogloformans*

Nur tierpathogen: *P. albensis*, *P. brevis*, *P. bryantii*, *P. ruminicola*

Taxonomie

Phylum: Bacteroidetes; Ordnung: Bacteroidales; Familie: Prevotellaceae; Genus: Prevotella

Historie

Ursprünglich als Untergruppe *B. melaninogenicus-oralis* Teil der *Bacteroides*-Gruppe, wurden ein Teil der o. g. Spezies 1990 von Shah und Collins in die neue Gattung *Prevotella* überführt (vgl. Historie *Bacteroides*). In den letzten Jahren sind aufgrund der Weiterentwicklung molekularbiologischer Verfahren eine Reihe neuer Arten beschrieben worden und es ist damit zu rechnen, dass noch weitere Spezies hinzukommen werden. (Die Spezies *P. massiliensis*, die von einem Patienten mit lang andauernder Intensivtherapie nach Polytrauma in der Blutkultur isoliert worden war, ist noch nicht valide publiziert.)

Morphologie

Strikt anaerobe, gramnegative, nicht sporenbildende, unbewegliche, pleomorphe Stäbchen mit einer Größe von 0,5–0,7 µm × 1–5 µm, filamentöse Formen können eine Länge bis zu 15 µm erreichen.

Genom

GenBank/EMBL/DDBJ Accession-Nummern der 16S rRNA Gensequenzen: *P. marshii* AF481227, *P. baroniae* AY840553, *P. loescheii* AY836508, *P. oralis* AY323522, *P. denticola* AY323524, *P. melaninogenica* AY323525, *P. veroralis* AY836507, *P. bergensis* AY350613, *P. dentalis* X81876, *P. bivia* L16475, *P. buccae* L16478, *P. buccalis* L16476, *P. corporis* L16465, *P. disiens* L16483, *P. enoeca* AJ005635, *P. heparinolytica* L16487, *P. intermedia* L16468, *P. multiformis* AB182486, *P. multisaccharivorax* AB200414, *P. nigrescens* L16471, *P. oris* L16474, *P. oulorum* L16472, *P. pallens* Y13105, *P. salivae* AB108826, *P. shahii* AB108825, *P. tanneriae* AJ005634, *P. zoogloformans* L16488.

Vermehrung

Eine Vermehrung von *Prevotella* spp. findet ausschließlich unter anaeroben Bedingungen statt. Entsprechende Bedingungen finden sich auf Schleimhäuten von Mensch und Tier. In vitro bietet ein Gasgemisch aus 80 % N₂, 15 % CO₂ und 5 % H₂ eine hinreichende Atmosphäre. Aufgrund der begrenzten Energieausbeute der anaeroben Glykolyse ist die Generationszeit z. B. gegenüber Enterobacteriaceae verlängert.

Pathogenität / Virulenz / Antigenvariabilität

Bislang liegen zu spezifischen Virulenzfaktoren von *Prevotella* spp. nur sehr wenige Untersuchungen vor, sie dürften aber den bekannten Faktoren der Bacteroides-Gruppe, wie extrazelluläre Polysaccharidkapsel, outer membrane proteins (OMP) und Lipopolysaccharide mit Endotoxinaktivität entsprechen. Bei *P. buccae* ist als spezielle Adhäsionsstruktur bzw. als äußere Schutzschicht ein so genanntes S-Layer, das aus Proteinen und Glykoproteinen aufgebaut ist, beschrieben. Weiterhin ist bei verschiedenen *Prevotella*- und Porphyromonas-Arten eine IgA1-Protease, der eine Funktion bei der Invasion IgA-tragender Schleimhäute zugeordnet wird, nachgewiesen. Zusammen mit *F. nucleatum* scheint *P. intermedia* eine besondere pathophysiologische Bedeutung bei der Entstehung der akuten eitrigen A-Streptokokken bedingten Pharyngotonsillitis und der akuten eitrigen Tonsillitis im Kindesalter zu spielen.

Erkrankungen

1. Parodontitis

Synonym(e)

Periodontitis.

Inkubationszeit

Unspezifisch.

Symptome

Die Parodontitis ist gekennzeichnet durch die Ausbildung von entzündlichen Veränderungen des Zahnhalteapparates. Es kommt zur Taschenbildung, Gingivaregredienz und schließlich zur Zahnlockerung und zum Zahnverlust.

Pathophysiologie

Ursächlich für die Entzündungsreaktion ist die Ausbildung eines Zahn-adhärenten Biofilms, der von einer Mischflora aus verschiedenen Bakterienspezies gebildet wird. Dabei spielen die Spezies des so genannten Roten Komplex (*Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* und *Tannerella forsythensis* und *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*) eine herausragende Rolle. Die getriggerte Entzündung führt zum Untergang von Weichgewebe und zur Aktivierung von Osteoklasten.

Immunantwort

Eine bleibende Immunität nach Infektion entsteht nicht.

2. Aspirationspneumonie/Lungenabszess

Synonym(e)

Inkubationszeit

Unspezifisch.

Symptome

► Pneumonie

Pathophysiologie

Prevotella spp. gehören zur physiologischen Flora des Oropharynx und wird regelmäßig bei Aspirationspneumonien und Lungenabszessen als Teil des Erregerkonsortiums nachgewiesen.

Immunantwort

Eine bleibende Immunität nach Infektion entsteht nicht.

3. Endometritis/Adnexitis

Inkubationszeit

Unspezifisch.

► Adnexitis

Pathophysiologie

Die Kommensalen des weiblichen Urogenitaltraktes *P. bivia* und *P. disiens* sind mögliche alleinige oder Mitverursacher von Endometritis und Adnexitis.

Immunantwort

Eine bleibende Immunität nach Infektion entsteht nicht.

Differenzialdiagnose

Infektionen durch Gonokokken, Chlamydien, Ureaplasmen und andere Erreger

4. Eitrige/septische Infektionen

Verschiedene *Prevotella*-Arten sind weiterhin als Erreger von Sepsis, bei ödematöser nekrotisierender Faszitis sowie *P. intermedia* in Zusammenhang mit Katheter-assoziierten oberflächlichen, eitrigen Thrombophlebitiden beschrieben.

Diagnostik

Untersuchungsmaterial

Prevotella spp. können in Blutkulturen nachgewiesen werden. Untersuchungsmaterialien, die mit physiologischer Standortflora kontaminiert sind (z. B. Sputum, Vaginal-, CK-Abstrich) sind ungeeignet. Bioplate und Aspirate müssen ggf. auf, während (weniger geeignete) Abstriche in Transportmedien ins Labor verbracht werden, um die toxische Wirkung des Luftsauerstoffs zu minimieren.

Diagnostische Verfahren

Die Anzucht und Isolierung aus menschlichem Material erfolgt unter strikt anaeroben Bedingungen. Feste Kulturmedien sollten für gute Wachstumsergebnisse bluthaltig (Kaninchen, Pferd, Schaf) und mit Häm-in und Vitamin K₁ supplementiert sein (Brucella-Agar, Columbia-Agar, Schädler-Agar). Mit Glukose, Proteosepepton, NaCl (0,5 %), Cystein, Häm-in und Vitamin K angereicherte Flüssigmedien erlauben ebenfalls eine Anzucht von Prevotella spp. Die Differenzierung der einzelnen Spezies erfolgt durch Kombination biochemischer und chemischer Tests (Gaschromatographie der Säuremetaboliten). Eine ausreichend gute Speziesidentifizierung kann mit kommerziellen miniaturisierten Testsystemen erfolgen. Bacteroides spp. sind charakterisiert durch folgende Kriterien:

Biochemische Identifizierung: strikt saccharolytisch mit Produktion von Azetat, Propionat, Laktat und teilweise Succinat. Differenzierung anhand der Säurebildung aus unterschiedlichen Zuckern, Äskulin- und Gelatinehydrolyse, H₂S-Bildung und Nitratreduktion. Eine Identifizierung mittels MALDI-TOF ist möglich.

Befund / Interpretation

Der Nachweis von Prevotella spp. ist bei entsprechenden klinischen Infektzeichen als relevant zu bewerten.

Therapie

Therapeutische Maßnahmen

Die Antibiotika-Empfindlichkeit entspricht weitgehend der der Gattung Bacteroides. Wirksam sind meist Metronidazol, Penem, Clindamycin, Cefoxitin, Tigecyclin und alle β -Laktam/ β -Laktamase-Inhibitor-Kombinationen. Bei genaueren Untersuchungen stellte man fest, dass wahrscheinlich alle *P. melaninogenica*-Stämme β -Laktamase bilden, ohne dass der genaue Anteil an penicillinresistenten Stämmen bestimmt werden konnte. Bei den Makroliden zeichnen sich die neueren Substanzen gegenüber dem herkömmlichen Erythromycin durch eine etwas bessere Wirksamkeit aus. Fluorochinolone sind inklusive der modernen Substanzen (z. B. Moxifloxacin) in der Regel nur schlecht wirksam.

Interessant ist die gerade im zahnärztlichen Bereich bedeutsame Behandlung mit lokal wirksamen Substanzen. So zeigen bestimmte ätherische Öle (Teebaumöl, Pfefferminzöl) eine deutliche antibakterielle Aktivität gegen diese oralen Bakterien.

Resistenz

Natürlicher Resistenz gegen Aminoglykoside und Colistin.

Epidemiologie

Verbreitung

Ubiquitär.

Wirtsbereich / Reservoir

Mit Ausnahme von *P. ruminicola*, dessen natürlicher Standort der Intestinaltrakt von Wiederkäuern ist, sowie *P. bivia* und *P. disiens*, die im weiblichen Urogenitaltrakt nachgewiesen werden, sind die übrigen Prevotella-Arten bislang ausschließlich im Oropharyngealbereich des Menschen isoliert worden. Die Besiedelung findet bereits beim Neugeborenen statt und ist beim Gesunden lebenslang in weitgehend gleichbleibender Keimzahl vorhanden. Einige Beobachtungen scheinen darauf hinzuweisen, dass *P. nigrescens* eher in der Mundhöhle des Gesunden nachzuweisen ist, während *P. intermedia* überwiegend bei Patienten mit Periodontalerkrankungen vorkommt.

Risikogruppen

Für Parodontitis:

- Schlechte Mundhygiene mit Zahnbelag (Plaques) und Zahnstein
- Genetische Prädisposition
- Tabakkonsum
- Diabetes mellitus
- Bruxismus (zumeist stressbedingtes Zähneknirschen)
- Ungünstig lokalisierte Piercings im Mundraum (Lippe, Lippenbändchen, Zunge)

Transmission / Vektoren

Bei Parodontitis sind insbesondere familiäre Übertragungen bekannt.

Prävention / Impfstoffe

Mund/Zahnhygiene.

Ausbruchmanagement

Nicht relevant.

Meldepflicht

Keine.

Weiterführende Informationen

Referenzzentren / Expertenlaboratorien

- Institut für Medizinische Mikrobiologie und Infektions-epidemiologie des Universitätsklinikums Leipzig, Liebigstr. 21, 04103 Leipzig, Tel. 0341 97 15 200

Schlüsselliteratur

1. Brook I (2008) Anaerobic Infections, Informa Healthcare, New York, London
2. Jousimies-Somer H, Summanen P (2002) Recent taxonomic changes and terminology update of clinically significant anaerobic gram-negative bacteria. Clin Infect Dis 35 (Suppl 1):17–21
3. Paster BJ, Dewhirst FE, Olsen I, Fraser GJ (1994) Phylogeny of Bacteroides, Prevotella, and Porphyromonas spp. and related bacteria. J Bacteriol 176:725–732
4. Shah HN (1991) The genus Bacteroides and related taxa. In: Balows A, Trüper HG, Dworkin M, Harder W, Schleifer K-H (Hrsg) The Prokaryotes, 2. Aufl. Springer Verlag, New York, Berlin, Heidelberg

5. Shah HN, Collins DM (1990) *Prevotella*, a new genus to include *Bacteroides melaninogenicus* and related species formerly classified in the genus *Bacteroides*. *J Clin Microbiol* 40:205–208

Primäre Amöbenmeningoenzephalitis (PAM bzw. PAME)

- Amöben, frei lebende (Naeglerien, Acanthamöben, *Balamuthia*, Amöben als Vehikel pathogener Mikroorganismen)

Primäres Ergusslymphom

- Humanes Herpesvirus 8 (HHV-8)

Primary Effusion-Lymphom (PEL)

- Humanes Herpesvirus 8 (HHV-8)

Primaten Foamy Virus (PFV)

- Humanes Spumaretrovirus (HSRV)

Prione

SANDRA MÜLLER-KREBS

Erreger

Synonym(e)

Scrapie-Erreger (PrP^{Sc}), Erreger/Agens der transmissiblen spongiformen Enzephalopathien (TSE)

Erregerspezies

PrP^{Sc} kommt in fast allen Säugetier-Spezies, im Fisch und Hefen vor (experimentell und/oder natürlich).

Taxonomie

Eine Einteilung entsprechend einer klassischen Taxonomie ist bisher nicht vorgenommen worden. Bei den humanen TSE wird unterschieden zwischen:

- Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung (CJD) und Variante (vCJD)
- Gerstmann-Sträussler-Scheinker-Syndrom (GSS)
- Fatale familiäre Insomnie (FFI)
- Kuru

Die Bezeichnungen für animale TSE beziehen sich immer auf die Spezies, wie z. B. BSE (Bovine Spongiforme Enzephalopathie).

Historie

Im Jahr 1752 wurde erstmals eine Erkrankung des Schafes beschrieben, die aufgrund des ständigen Krat-

zens und Schabens der Tiere (engl.: to scrape) Scrapie genannt wurde. Weiterhin wurde eine Anzahl langsam verlaufender degenerativer Krankheiten des Zentralnervensystems des Menschen beschrieben, die große Ähnlichkeiten miteinander aufwiesen. Dazu gehören CJD, GSS, FFI und Kuru. Erstmals konnte 1932 die Übertragbarkeit von Scrapie von Schaf zu Schaf und 1957 die von Mensch zu Mensch (Kuru) nachgewiesen werden. In den 60er Jahren stellte man die Ähnlichkeit dieser Krankheiten fest. Daher wurden diese Krankheitsbilder als übertragbare, schwammartige Enzephalopathien (TSE) bezeichnet.

Mit der von Stanley Prusiner 1982 veröffentlichten „Prionhypothese“ wurde ein nukleinsäurefreies infektiöses Agens, was weitestgehend aus einem Protein besteht, als Ursache der TSE postuliert. 1986 wurde erstmals BSE beschrieben. Ursache war die Verfütterung von aufgearbeiteten Schlachtabfällen, in denen sich Überreste prionifizierter Tiere befanden. 1995/96 trat erstmals in Großbritannien vCJD auf, die in ursächlichen Zusammenhang mit der Übertragung von BSE gebracht werden konnte.

Morphologie

Die kleinste Form der infektiösen Einheit ist nicht bekannt. Nach experimenteller Aufreinigung von PrP^{Sc} aus infizierten Gehirnen ist eine Fibrillenform elektronenmikroskopisch darstellbar.

Genom

Der kausale Erreger sämtlicher TSE-Erkrankungen ist das PrP^{Sc}, welches auf einem wirtseigenen Vorläufer-Prion-Protein (PrP^C) beruht. Dieses Protein wird konstitutiv transkribiert und translatiert, ohne dass eine TSE auftritt; es besteht beim Menschen aus 253 Aminosäuren (AS) und wird durch das Prion-Protein-Gen (PRNP) kodiert. Es sind jeweils eine oder mehrere Mutationen bekannt, die zu familiärer CJD, GSS oder FFI führen. Am Codon 129 besteht ein Methionin/Valin-Polymorphismus, der für den Krankheitsausbruch und -verlauf mitentscheidend ist.

Gene Bank Zugangs-Nummern für verschiedene PrPs: Maus-PrP: M13685; Humanes PrP: M13899; Rinder-PrP: X55882; Schaf-PrP: D38179.

Vermehrung

Die Umfaltung von PrP^C nach PrP^{Sc} gilt als ursächlich für den Krankheitsverlauf. Es ist davon auszugehen, dass die Umwandlung der Konformation der entscheidende Mechanismus ist: α -helikales PrP^C wird in PrP^{Sc} umgewandelt, das vor allem eine β -Faltblatt-Konformation besitzt.

Pathogenität/Virulenz/Antigenvariabilität

PrP^{Sc} kommt ohne Nukleinsäure aus, gibt seine Infektiosität nur durch Proteine weiter und hat besondere biochemische Eigenschaften wie z. B. Unlöslichkeit, Aggregation bis hin zu Amyloid, Infektiosität und Resistenz gegen Proteasen. Die genetischen Formen

beim Menschen korrelieren mit definierten Mutationen im PrP^C Gen. Die Umwandlung der normalen, zellulären, α -helikalen PrP Isoform in die β -Faltblatt-Konformation von PrP^{Sc} erfolgt auf post-translationalem Weg und gilt als entscheidender Schritt der Krankheitsentstehung. Bei der infektiös erworbenen Form ist es der direkte Kontakt von PrP^{Sc} und PrP^C der Empfängerzelle, bei welchem PrP^C dann in Anwesenheit von Prionen in PrP^{Sc} autokaskadenartig umgewandelt wird.

Erkrankung

Transmissible Spongiforme Enzephalopathien (TSE)

Synonym(e)

Prion-Erkrankungen.

Inkubationszeit

Bei den humanen Formen der TSE ergeben sich unterschiedliche Inkubationszeiträume bzw. Altersmanifestationen (unten).

Leitsymptome

Zerebrale Ausfälle.

Symptome

Die humanen TSE-Erkrankungen können sowohl idiopathisch, erworben als auch hereditär sein. Damit stellen die TSE eine einzigartige Erkrankungsform dar. Zu den einzelnen Formen gehören:

- idiopathisch
 - sporadische CJD
- erworben
 - Kuru
 - iatrogene CJD
 - vCJD
- hereditär
- familiäre CJD
- GSS
- FFI

CJD (hereditäre, iatrogene und idiopathische Form)

Die Krankheit beginnt in der Regel zwischen dem 50. und 60. Lebensjahr. Von den ersten Erscheinungen bis zum tödlichen Ende vergehen im Allgemeinen nur wenige Monate, selten Jahre (genetische Formen). Zu den oft ersten Symptomen gehören psychische Auffälligkeit nach Art einer Wesensänderung mit Gereiztheit, Gleichgültigkeit, depressiver Verstimmung oder auch paranoiden Zügen; es folgen komplette Gedächtnis- und Merkfähigkeitsausfälle, ferner Kritiklosigkeit und schließlich Orientierungsstörungen. Eine Aphasie, Agnosie, Apraxie, sowie Tremor können das Leistungsniveau zusätzlich senken. Nahezu immer treten Myoklonien auf. Die terminale Phase ist durch tiefgreifende Demenz, Dezerebration, Bewegungsunfähigkeit und Einschränkung auf die vegetativen Funk-

tionen charakterisiert. Schließlich tritt bei den Patienten ein Greif- und Saugreflex auf.

Generell werden drei Hauptdifferenzierungen aufgrund der Symptomatik vorgenommen:

- Brownell-Oppenheimer-Variante (prominente zerebelläre Läsionsmale)
- Heidenhain-Variante (Sehstörungen und weitere Läsionszeichen der Hinterhauptlappen)
- Amyotrophische Variante (Pyramidenbahn- und Denervationszeichen)

GSS

Es handelt sich hierbei um eine seltene, hereditäre, autosomal-dominante spinozerebelläre Degeneration. Die Patienten entwickeln in der Lebensmitte Symptome einer progredienten zerebellären Dysfunktion, die durch Koordinationsstörungen und zunehmende Gangstörung deutlich wird. Im Unterschied zur CJD sind Demenz und Myoklonien nicht oder nur gering ausgeprägt. Molekulargenetische Untersuchungen der Familien mit GSS ergaben regelmäßig Mutationen des PrP-Gens.

FFI

FFI ist eine rasch progrediente autosomal-dominante Erkrankung mit einer Lebenserwartung von sechs bis 36 Monaten nach Diagnosestellung. Diese Erkrankung des mittleren oder späteren Lebensalters zeichnet sich durch nicht zu beeinflussende Insomnie aus. Störungen des motorischen Systems einschließlich Myoklonie, Tremor, Ataxie, Hyperreflexivität und Spastik sind charakteristisch. Die Demenz ist nicht vorherrschend. Im PrP-Gen findet sich eine N-zu-D-Mutation im Kodon 178 (mit V im gleichalleligen Kodon 129).

Kuru

Im Hochland von Papua-Neuguinea wurde beim Fore-Stamm eine als Kuru bezeichnete Nervenkrankheit angetroffen. Die Erkrankung beginnt mit zerebellären Koordinationsstörungen, vor allem mit Gangunsicherheit und Dysarthrie. Ein feiner Tremor, (Kuru = Zittern in der Fore-Sprache), extrapyramidale Hyperkinesien, sowie Aktionsmyoklonie sind neurologische Leitsymptome. Die Kranken sterben meistens schon gegen Ende des ersten Jahres nach Einsetzen der Symptome.

vCJD

Typischerweise stehen zu Beginn der Erkrankung ausgeprägte psychiatrische Symptome im Vordergrund. Es sind überwiegend jüngere Menschen betroffen, der klinische Verlauf ist deutlich prolongiert (1–2 Jahre); Ataxie und nicht Demenz steht im Vordergrund. Es findet sich ein genetischer Suszeptibilitäts-Faktor in Form von Homozygotität für Methionin am Kodon 129. Bei allen Patienten wurden typische floride Plaques gefunden, die bei klassischer CJD in der Regel fehlen.

Pathophysiologie

CJD: Im Gehirn finden sich bei der neuropathologischen Begutachtung spongiose Veränderungen, eine astrozytäre Gliose und unter Umständen bestimmte Ablagerungen wie Amyloid und floride Plaques.

GSS: Histopathologisch besteht die übliche spongiforme Degeneration der Neurone, mit einer ausgeprägten Fasergliose im Bereich des Kleinhirns, der Großhirnrinde und des Stammhirns; das Vorkommen von Amyloid-Plaques ist ein prominentes Merkmal.

FFI: Eine Vielzahl pathologischer endokriner Veränderungen können vorkommen, beispielsweise ein Verlust der zirkadianen Schwankungen der Melatonin-, Prolaktin- und Wachstumshormon-Sekretion, eine verminderte ACTH-Ausschüttung und eine erhöhte Kortisolsekretion. Histopathologisch sind eine Atrophie und Gliose spezifischer Thalamuskern, der Kleinhirnrinde und der unteren Olive typisch.

Kuru: Makroskopisch ist eine prominente Kleinhirnatrophie feststellbar. Mikroskopisch ist der Untergang der Purkinje- und Körnerzellen mit starker Proliferation der Bergmann-Glia auffällig. Es finden sich Kuru-Plaques mit Amyloidablagerungen im Zentrum, das von einem helleren granulären oder fibrillären Ring umgeben ist. Die Vakuolisierung in der Kleinhirnrinde ist nicht besonders ausgeprägt.

Immunantwort

Charakteristischerweise fehlen bei Prion-Erkrankungen entzündliche Veränderungen zellulärer oder humoraler Art vollständig. Das Immunsystem ist aber entscheidend an der Weiterleitung der Erkrankung im befallenen Organismus beteiligt.

Differenzialdiagnose

Folgende Differenzialdiagnosen werden bei CJD abgeklärt: Morbus Pick, Morbus Alzheimer, Chorea Huntington, Parkinson-Demenz-Komplex, Amytrophe Lateralsklerose, Chronische (Meningo) Enzephalitiden, AIDS-Demenz-Komplex, nonkonvulsiver Status epilepticus, hypoxämische Hirnschädigung, Wernicke-Korsakow-Syndrom, hepatische Enzephalopathie, Hypothyreose, diffuse zerebrale Sklerose.

Klinisch wahrscheinliche CJD-Diagnose:

- periodische Sharp-wave-Komplexe (PSWC) im EEG (obligat)
- progressive Demenz
- Verlauf kürzer als zwei Jahre (obligat)
- zwei von vier klinischen Symptomen
 - Myoklonien
 - visuelle oder zerebelläre Symptome
 - pyramidale oder extrapyramidale Symptome
 - Akinetischer Mutismus

Diagnostik

Untersuchungsmaterial

Nach den bisher geltenden Kriterien ist eine sichere Diagnose der CJD nur durch eine neuropathologische

Untersuchung möglich. Dies gilt auch für die neue Variante der CJD. Das Untersuchungsmaterial ist das Gehirn.

Diagnostische Verfahren

Die definitive Diagnose einer Prion-Erkrankung kann bisher nur durch Untersuchung von Hirngewebe mit Nachweis der charakteristischen histologischen Veränderungen, Spongiformität, Gliose und Nervenzellverlust sowie der pathologischen Prion-Proteinablagerungen mittels Immunhistochemie oder Western Blot gesichert werden. Bei vCJD gelang der Nachweis proteaseresistenten Prion-Proteins und von Infektiosität auch in lymphatischen Geweben.

Als Goldstandard dienen die histopathologischen Untersuchungen von Gewebeschnitten auf Vorliegen von pathologischem PrP (PrP^{Sc} in situ) und der Immunoblot für PrP^{Sc} aus Hirnhomogenaten. Dabei werden Bedingungen gewählt, bei denen nur PrP^{Sc} und nicht PrP^C nachweisbar ist (z. B. mittels Verdau mit Proteinase K). Die Sensitivität des Immunoblots lässt sich durch Anreicherungsverfahren erhöhen. Nur bei vCJD ist pathologisches PrP im lymphatischen Gewebe nachweisbar (z. B. Tonsillen, Lymphknoten, evtl. Appendix, Peyer'sche Plaques).

Befund / Interpretation

Prionen lassen sich mit den derzeit verfügbaren Methoden routinemäßig weder im Blut noch im Liquor nachweisen, auch wenn experimentell der Nachweis von PrP^{Sc} im Blut mittels der PCMA-Methode (protein misfolding cyclic amplification) gelungen ist. Typischerweise finden sich keine entzündlichen Veränderungen im Gehirn oder im Liquor, somit stehen auch keine nachweisbaren Antikörper zur Verfügung. Diagnostisch zeigen sich Unterschiede im EEG zwischen der sporadischen Form der CJD und vCJD. Die für die sporadische CJD typischen periodisch auftretenden „sharp-wave“-Komplexe finden sich bei vCJD nicht. Im Liquor lassen sich regelmäßig einige zelluläre Zerfallsprodukte nachweisen. Zur Bestimmung des Polymorphismus im Kodon 129 dient die Nukleinsäure-Diagnostik.

Da mit Ausnahme von vCJD ausschließlich das zentrale Nervensystem betroffen ist, ist die Untersuchung einer Hirn-Biopsie bzw. -autopsie zur Diagnosesicherung unerlässlich. An diesem Material werden die etablierten histologischen (z. B. Vakuolierung, Gliose) und histopathologischen (z. B. PrP-Plaques) Untersuchungen durchgeführt.

Therapie

Therapeutische Maßnahmen

Gegenwärtig gibt es keine Therapie gegen die menschlichen Prion-Erkrankungen. Die pathologischen Veränderungen im zentralen Nervensystem sind im klinischen Stadium bereits massiv. Deshalb kommt an dieser Stelle jede kausale Therapie zu spät.

Resistenz

Eine therapeutische Resistenz ist nicht vorhanden. Prionen sind eindeutig die weitaus resistentesten human- und tierpathogenen Erreger gegenüber üblichen antimikrobiellen Desinfektionsmethoden. Sehr effektiv wirkt die Laugenbehandlung (z. B. 1–2 N NaOH für mind. 30 min), sowie das Autoklavieren unter erhöhten Bedingungen (z. B. 136 °C für mind. 30 min bei 3 bar).

Epidemiologie

Verbreitung

Die Scrapie-Erkrankung ist endemisch in Europa, Asien und Nordamerika. Sporadisches CJD kommt weltweit konstant mit einer Inzidenz von etwa 1:1.000.000 vor, familiäre CJD/GSS/FFI in Clustern. Es sind mehrere Hunderte iatrogene CJD-Fälle (Wachstumshormon und Dura-Mater-Transplantate) bekannt. Die neue Variante der CJD ist weltweit mit 216 Fällen vertreten (Stand Oktober 2009).

Wirtsbereich / Reservoir

Pr^{PSc} kommen in Säugetieren, Fisch und Hefen vor (experimentell und/oder natürlich). Sie können innerhalb einer Art und zwischen Arten weitergegeben werden.

Risikogruppen

Die individuelle Empfänglichkeit hängt von der Aminosäure im Kodon 129 von Pr^P ab. Dabei findet sich entweder ein Valin (V) oder Methionin (M). Es gibt drei genetische Varianten: M/M, M/V und V/V. Bei Patienten, die an der spontanen Form der CJD erkrankt sind, liegt der M/M-Anteil bei ~ 80 %. Diese Befunde lassen vermuten, dass homozygote Merkmalsträger eher an CJD erkranken als Heterozygote. Klassische Risikogruppen für iatrogenes CJD stellen Patienten dar, die anamnestisch Wachstumshormone aus Hirnanhangsdrüsen-Präparationen oder Dura-Mater-Transplantate erhalten haben. Bei den familiären Prion-Erkrankungen wird allgemein von einer 100 %igen Penetranz ausgegangen.

Transmission / Vektoren

Scrapie und BSE: Es wird sowohl eine vertikale als auch horizontale Übertragung angenommen. Humane TSE: Ein sporadischer CJD-Patient ist infolge der Kompartimentierung der Infektiosität im zentralen Nervensystem im täglichen Umgang nicht ansteckend. Bei vCJD scheint eine Infektion über Blutprodukte gesichert. Iatrogene Übertragungsformen durch das Einbringen von kontaminierten Geweben in den Spenderorganismus sind belegt.

Bei der Weitergabe von Prionen zwischen Arten bestehen gewisse Gesetzmäßigkeiten, die als „Spezies-Barrieren“ bezeichnet werden. So ist die Inkubationszeit bei der ersten Passage verlängert, verkürzt sich aber

bei der weiteren Passage innerhalb der Art auf ein Minimum.

Prävention / Impfstoffe

Infolge der extrem langen Inkubationszeiten ist eigentlich ein immenses Zeitfenster für mögliche Interventionsstrategien gegeben. Aufgrund der Tatsache, dass Bluttransfusionen eine reale Infektionsquelle darstellen, sollten neben therapeutischen Möglichkeiten vor allem prophylaktische oder post-expositionelle Interventionsstrategien angestrebt werden.

Behördliche Maßnahmen: Spender, die sich im Zeitraum zwischen 1980 und 1996 insgesamt länger als 6 Monate im Vereinigten Königreich (UK) aufgehalten haben, wurden von der Blut- und Plasmaspende ausgeschlossen.

Weiterhin dürfen in Humanarzneimitteln kein Blut, Gewebe, Körpersekret oder Körperflüssigkeit von Spendern verwendet werden, die aus einem Ursprungsland stammen, also aus einem Land, in dem mehrere Fälle von vCJD aufgetreten sind.

Rekombinante Medikamente, Impfstoffe: Als potenzielle BSE-Kontaminanten kommt grundsätzlich fötales Kälberserum (FCS) in Frage. FCS darf daher ausschließlich aus den USA, Neuseeland und Australien stammen.

Ausbruchmanagement

Entsprechend den Richtlinien der Europäischen Union bzw. der Weltgesundheitsorganisation.

Meldepflicht

Nach Infektionsschutzgesetz der Krankheitsverdacht, die Erkrankung sowie der Tod an humaner spongiformer Enzephalopathie, außer familiär-hereditäre Formen, sind zu melden.

Weiterführende Informationen

Referenzzentren

- Zentrum für Neuropathologie und Prionforschung der LMU München, Feodor-Lynen-Str. 23, 81377 München, Prof. Dr. med. Dr. h. c. Hans A. Kretzschmar; Telefon +49 (0)89 / 2180-78000; Fax +49 (0)89 / 2180-78037; E-Mail: Hans.Kretzschmar@med.uni-muenchen.de.
- Nationales Referenzzentrum für tierische spongiforme Enzephalopathien (BSE, Scrapie): Friedrich-Loeffler-Institut, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit, Südufer 10, 17493 Greifswald-Insel Riems, Prof. Dr. med. vet. Martin H. Groschup; Tel.: 038351/7-0; Fax: 038351/7-219; E-Mail: martin.groschup(at)fli.bund.de .

Web-Adresse

- Bayerischer Forschungsverbund Prionen: www.abayfor.de/forprion

Schlüsselliteratur

1. Castilla J et al. (2005) Detection of prions in blood. *Nat Med* 9:982–985
2. Legname G et al. (2004) Synthetic mammalian prions. *Science* 305:673–676

- Llewelyn CA et al. (2004) Possible transmission of variant Creutzfeldt-Jakob disease by blood transfusion *Lancet* 7; 363:411–412
- Prusiner SB (1997) Prion diseases and the BSE crisis. *Science* 278:245–251
- Prusiner SB (1998) Prions. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:13363–13383
- Salta E et al. (2009) Evaluation of the possible transmission of BSE and scrapie to gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *PLoS One* 28;4(7):e6175
- Weissmann C et al. (2001) Prions and the lymphoreticular system. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 356:177–184
- Will RG et al. (1996) A new variant of Creutzfeldt-Jacob disease in the UK. *Lancet* 347:921–925
- Zeidler M et al. (1997). New variant Creutzfeldt-Jacob disease: neurological features and diagnostic tests. *Lancet* 350:903–907

Progressive multifokale Leukenzephalopathie (PML)

- ▶ Polyomaviren

Progressive Paralyse

- ▶ Treponemen

Progressive Postpoliomyelitische Muskelatrophie

- ▶ Polioviren

Proktitis

- ▶ Chlamydia
- ▶ Cytomegalievirus
- ▶ *Enterobius vermicularis*
- ▶ *Neisseria gonorrhoeae*

Propionibakterien

OLIVER NOLTE

Erreger

Synonym(e)

P. acnes: *Corynebacterium acnes*, *Corynebacterium parvum*, *Bacillus acnes*, *Propionibacterium acnes*
P. propionicum: *P. propionicus*

Erregerspezies

Gattung: *Propionibacterium*; Arten: *P. acidifaciens*, *P. acidipropionici*, *P. acnes*, *P. australiense*, *P. avidum*, *P. cyclohexanicum*, *P. freudenreichii* mit den ssp. *freudenreichii* und *shermanii*, *P. granulolum*, *P. jensenii*, *P. microaerophilum*, *P. propionicum*, *P. thoenii*

Taxonomie

Bacteria; Firmicutes; Phylum: Actinobacteria; Order: Actinomycetales; Suborder: Propionibacterineae, Familie: Propionibacteriaceae

Gattungen: *Propionibacterium*, *Propionimicrobium* mit *Pm. lymphophilum*, *Propioniferax* mit *Pf. innocua*.

Die nach ihrer auffälligen Propionsäurebildung benannte Gattung *Propionibacterium* besteht aus 14 Spezies und zwei Subspezies, deren relevante Vertreter sich in drei Gruppen unterteilen lassen:

- „klassische“ Propionibakterien: *P. acidipropionici*, *P. freudenreichii* mit den ssp. *freudenreichii* und *shermanii*, *P. jensenii*, *P. thoenii*,
- „kutane“ Propionibakterien: *P. acnes*, *P. avidum*, *P. granulolum*, *Pm lymphophilum*,
- P. propionicum*.

Historie

1906 beschrieben Freudenreich und Orla-Jensen und 1909 Orla-Jensen aus Käse und Milchprodukten isolierte Propionibakterien. *P. acnes*, als wichtigster Vertreter der kutanen Propionibakterien, wurde bereits 1897 von Sabouraud aus Acne-vulgaris-Läsionen isoliert. Gilchrist stellte 1900 an Serienuntersuchungen von Akneläsionen einen Zusammenhang zwischen der Akne und *P. acnes* her. Später wurden diese Bakterien unter den Bezeichnungen „anaerobe Coryneforme“ oder „anaerobe Corynebakterien“ subsumiert und erst seit Mitte dieses Jahrhunderts der Gattung *Propionibacterium* zugerechnet. Die ursprüngliche Gattung *Propionibacterium* wurde jüngst revidiert und einige Arten in neu geschaffene Gattungen überführt.

Morphologie

Meist relativ kurze, grampositive, diphtheroid gelagerte Stäbchen, gelegentlich auch kokkoid oder stark verzweigt und fädig. Natürliches Vorkommen auf Haut und Schleimhäuten.

Genom

Das Genom von *P. acnes*, Isolat KPA 171202 (Herkunft: Hautflora) wurde sequenziert (GenBank Ac-Nr. AE017283.1; Referenzsequenz NC-006085). Die Gesamtlänge des Genoms beträgt 2.560.000 bp bei einem GC-Anteil von 60,01 %. Der Sequenz wurden 2297 (teils putative) proteinkodierende Gene assoziiert. Zahlreiche partielle und komplette Sequenzen des 16S rRNA-Gens wurden in GenBank abgelegt, u. a. Ac-Nr. Y12288 (komplett, 1480 bp).

Vermehrung

Langsam wachsende, sporenlose, mesophile Anaerobier.

Pathogenität / Virulenz / Antigenvariabilität

Kutane Propionibakterien verfügen über starke lipolytische Aktivität; von *P. acnes* sind Proteinasen, Hämolyse

lysine, Hyaluronidasen, Neuraminidasen, Phospholipase C und Lipasen bekannt.

Erkrankung

Acne vulgaris

P. acnes ist mit verschiedenen Formen der Akne assoziiert. Eine ätiologische Bedeutung, möglicherweise gemeinsam mit *P. granulosum*, scheint gegeben (► Pathophysiologie). Daneben gelingt die Isolierung von *P. acnes* und anderen kutanen Propionibakterien aus vielen klinischen Materialien einschließlich Blutkulturen (meist Kontaminanten), selten auch nach Operationen, bei länger liegenden Kathetern und anderen Fremdkörpern, unter Immunsuppression als opportunistische Erreger von Kathetersepsis, Meningitis, Endokarditis, Bronchopneumonien, Osteomyelitis, Spondylodiscitis, Wundinfektionen, Otitiden und (Hirn-)Abszessen. Mit Ausnahme von *P. propionicum* (phys. Mundhöhlenflora) als Erreger der Canaliculitis lacrimalis spielen weitere Propionibakterien keine Rolle als Infektionserreger.

Inkubationszeit

Tage bis Monate.

Pathophysiologie

Die Akne ist keine Infektionskrankheit im klassischen Sinne. Durch genetisch prädisponierte Veränderungen in der Keratinisierung kommt es sekundär zur Blockade tiefer Regionen der *Glandula sebacea* mit Sebum. Durch erregerbedingte Lipolyse des sekretorisch erhöhten Sebums, Freisetzung weiterer Entzündungsmediatoren und Komplementaktivierung durch die Bakterien kommt *P. acnes* und wohl auch *P. granulosum* eine Rolle in der Genese der entzündlichen Formen der Akne zu.

Immunantwort

P. acnes hat adjuvantes Potential und aktiviert unspezifisch Makrophagen. Die Bildung von Antikörpern wird induziert. Auf Grund der bekannten Adjuvanzwirkung wurde *P. acnes* unter dem älteren Synonym *Corynebacterium parvum* in den 80er Jahren des 20. Jh. als Immunstimulator in der Krebstherapie evaluiert.

Diagnostik

Untersuchungsmaterial

► Gattung Actinomyces.

Diagnostische Verfahren

Mikroskopie: Im Gram-Präparat grampositive meist relativ kurze, ggf. kokkoide, unbewegliche, diphtheroid gelagerte Stäbchen, evtl. stark verzweigt und fädig. **Kultur:** Makrokolonien der kutanen Propionibakterien (nach 3–7 Tagen anaerober Bebrütung): rund, glattrandig, erhaben, undurchsichtig, weißlich/gräulich von weicher Konsistenz. Nach längerer Bebrütung

evtl. auch cremefarben bis bräunlich, rosa oder orangefarben. Mikro- und Makrokolonien von *P. propionicum* gleichen in ihrem Erscheinungsbild weitgehend den für *Actinomyces israelii* beschriebenen Wuchsformen.

Differenzierung: Bis auf *P. propionicum* nach Adaptation an Luftsauerstoff regelmäßig Katalase-positiv; Stoffwechselendprodukt hauptsächlich Propionsäure; Differenzierung bis zur Spezies anhand biochemischer Leistungen mittels konventioneller oder miniaturisierter (► Gattung Actinomyces) Verfahren; 16S-rDNA-Sequenzierung. Die Differenzierung mittels MALDI-TOF scheint bei Propionibakterien noch nicht von ausreichender Spezifität zu sein.

Serodiagnostik: Ohne praktische Bedeutung.

Therapie

Therapeutische Maßnahmen

Bei der leichten Form der Acne vulgaris ist eine antibiotische Therapie nicht angezeigt. Lokal wirksame antibakterielle Mittel umfassen bspw. Benzoylperoxid-Präparate. Für entzündliche Formen kommen systemische Antibiotika in Frage (Clindamycin, Tetracycline). Im Regelfall besteht Empfindlichkeit gegen β -Lactame.

Resistenz

Resistenzen gegen Makrolide sind beschrieben.

Epidemiologie

Verbreitung

Weltweite Verbreitung.

Wirtsbereich / Reservoir

Humanpathogene Bedeutung hat im Wesentlichen nur *P. acnes*. Kutane Propionibakterien wie *P. acnes* und *P. granulosum* sind Bewohner der menschlichen Haut mit reichlich Talgdrüsen (Stirn, Nasenflügel); *P. avidum* ist vor allem in feuchten Hautregionen (Achselhöhle, Perineum, Naseneingang) zu finden.

Risikogruppen

Sporadisches Auftreten, evtl. gehäuft unter Immunsuppression und an länger liegenden Fremdkörpern (Katheter, Endoprothesen u. a.). Praktisch jeder Jugendliche durchläuft eine der Formen der Akne.

Transmission / Vektoren

Nicht bekannt.

Prävention / Impfstoffe

Keine bekannt.

Meldepflicht

Keine.

Weiterführende Informationen

Referenzzentren / Expertenlaboratorien

- Prof. Dr. med. K.P. Schaal, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität, Institut für Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Parasitologie, Universitätsklinikum Bonn, Sigmund-Freud-Straße 25, 53105 Bonn, Tel. 0228- 287-110 29, Fax: 0228- 287-191 46, E-Mail: schaal@mibio3.med.uni-bonn.de

Web-Adressen

- Genomanalyse: <http://cmr.jcri.org>

Schlüsselliteratur

1. Neumeister B, Geiss HK, Braun RW, Kimmig . (Hrsg) (2009) Mikrobiologische Diagnostik 2. Auflage Thieme Verlag

Prospect-Hill-Virus

- ▶ Hantaviren

Prostatitis

- ▶ Neisseria gonorrhoeae
- ▶ Proteus mirabilis, Proteus vulgaris
- ▶ Trichomonas vaginalis
- ▶ Ureaplasma urealyticum

Proteus mirabilis, Proteus vulgaris

UWE ULLMANN

Erreger

Erregerspezies

Proteus mirabilis, *Proteus vulgaris*

Taxonomie

Familie: Enterobacteriaceae; Gattung: Proteus

Historie

Die Bezeichnung leitet sich ab von dem „Meergreis Proteus“, der auf der ägyptischen Insel Pharos heimisch ist und den die Odyssee als wechselgestaltig schildert. Mirabilis (wunderbar) vulgaris (gewöhnlich). *Proteus penneri*, benannt nach dem kanadischen Mikrobiologen J. L. Penner.

Die Erstbeschreibung erfolgte 1885 durch P. Hauser: Über Fäulnisbakterien und deren Beziehung zur Sepsitämie. Ein Beitrag zur Morphologie der Spaltpilze, Vogel, Leipzig.

Morphologie

Gramnegative Stäbchenbakterien, die bei demselben Stamm einmal kurz oder einmal lang sein können, auch der Durchmesser wechselt (▶ Historie). Beweglich durch peritriche Begeißelung (auf festen Nährböden: Schwärmphänomen).

Genom

Sequenzierung des Genoms in Vorbereitung, siehe auch www.ncbi.nlm.nih.gov.

Vermehrung

Wachstum fakultativ anaerob innerhalb von 24 Stunden.

Pathogenität / Virulenz / Antigenvariabilität

Endotoxin, durch Harnstoffspaltung kommt es zu einer starken Alkalisierung des Urins, die einer Infektion Vorschub leisten soll.

Erkrankungen

1. Lokalisierte Prozesse

Wundheilungsstörungen, Dekubitusinfektionen, Infektionen von Verbrennungswunden, Mediastinitis, Peritonitis, Pneumonie, Harnwegsinfektionen, Osteomyelitis, Prostatitis.

Inkubationszeit

Nicht bekannt.

Leitsymptome

Dem jeweiligen Krankheitsbild entsprechend.

Symptome

Dem jeweiligen Krankheitsbild entsprechend.

Pathophysiologie

- ▶ Enterobacter

Immunantwort

- ▶ Enterobacter

Differenzialdiagnose

Ausschluss anderer Infektionserreger.

2. Generalisierte Prozesse

Durch Übertritt in die Blutbahn kann es zur Sepsis und Endokarditis kommen.

Inkubationszeit

Nicht bekannt.

Leitsymptome

Fieber.

Symptome

Fieber.

Pathophysiologie

- ▶ Enterobacter

Immunantwort

- ▶ Enterobacter

Differenzialdiagnose

Ausschluss anderer Infektionserreger.

Diagnostik

Untersuchungsmaterial

► Enterobacter

Diagnostische Verfahren

Kulturelle Anzüchtung: siehe fakultativ pathogene *E. coli* (► *Escherichia coli*). Das Schwärmphänomen wird durch CLED-Agar unterdrückt.

Biochemische Differenzierung: *Proteus vulgaris* ist im Gegensatz zu *Proteus mirabilis* und *penneri* indolpositiv.

Serologische Differenzierung: 17 O-Antigene wurden bei *Proteus vulgaris* nachgewiesen, 27 bei *Proteus mirabilis*, 5 O-Antigene sind beiden Spezies gemeinsam, ferner werden 17 H-Antigene unterschieden.

Befund / Interpretation

Erregernachweis ausschlaggebend.

Therapie

Therapeutische Maßnahmen

Entsprechend Antibiogramm. Im ambulanten Bereich isolierte *Proteus-mirabilis*-Stämme sind meist empfindlich gegenüber Aminopenicillinen, Cephalosporinen, Aminoglykosiden, Cotrimoxazol, während im Krankenhaus isolierte *Proteus-vulgaris*- und *-mirabilis*-Stämme mitunter hoch resistent sind. Wirksam sind dann häufig noch Cefotaxim, Carbapeneme und Chinolone.

Resistenz

Betalaktamasen: *Proteus vulgaris* und *Proteus mirabilis* können eine induzierbare oder konstitutive Breitenspektrum-Betalaktamase bilden.

Epidemiologie

Verbreitung

Proteus mirabilis ist der häufigste Erreger von Harnwegsinfektionen bei Wickelkindern männlichen Geschlechts. Im späteren Lebensalter wird er häufiger bei Frauen beobachtet. Beide Arten sind für zahlreiche im Krankenhaus erworbene Infektionen verantwortlich.

Wirtsbereich / Reservoir

Beide Spezies kommen im Darm des Menschen und dem zahlreicher Tierarten vor. Sie finden sich als Fäulniskeime in Erdproben, in Mist, in Abwässern und gelegentlich auch in Lebensmitteln.

Risikogruppen

Risikogruppen für Proteusinfektionen sind Wickelkinder, abwehrgeschwächte Patienten, Dauerkatheträger, Patienten mit prädisponierenden Faktoren für Harnwegsinfektionen (► *Escherichia coli*).

Transmission / Vektoren

Die Übertragung erfolgt vorwiegend durch direkten

Kontakt über Hände bzw. als Schmierinfektion aber auch über kontaminierte Instrumente.

Prävention / Impfstoffe

Siehe fakultativ pathogene *E. coli* (► *Escherichia coli*)

Meldepflicht

§ 23 IfSG Abs. 1: Multiresistenz ist zu dokumentieren.

Weiterführende Informationen

Referenzzentren / Expertenlaboratorien

Keine.

Web-Adressen

– <http://www.cdc.gov/>

Schlüsselliteratur

1. Blaser MJ, Smith PD, Ravdin JI, Greenberg HB, Guerrant RL (eds) (1995) *Infections of the Gastrointestinal Tract*, Raven Press New York
2. Hahn H, Kaufmann SHE, Schulz TF, Suerbaum S (Hrsg) (2009) *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. 4. Auflage, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, Barcelona, Hongkong, London, Mailand, Paris, Singapur, Tokyo
3. Kist M, Bockemühl J, Aleksic S, Altwegg M, Autenrieth IB, Bär W, Beutin L, Gerten B, Heintschel von Heinegg E, Karch H, Lehmacher A, Mehnert F, Sonnenborn U, Tschäpe H, v. Eichel-Streiber C (2000) *Infektionen des Darms: MiQ 9*, Urban und Fischer, München, Jena
4. Konemann EW, Allen HD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn EC (eds) (1997) *Diagnostic Microbiology*, 5th Ed, Lippincott, Philadelphia, New York

Prototheca wickerhamii

MARIANNE KRETSCHMAR, PAUL SCHNITZLER

Erreger

Erregerspezies

Prototheca wickerhamii Tubaki und Soneda, 1959 (chlorophyllose, einzellige Alge)

Taxonomie

Obwohl die taxonomische Stellung der Prototheken nicht eindeutig determiniert ist, werden sie im Allgemeinen als chlorophyllose Algen angesehen. Die Gattung *Prototheca* wird der Familie Chlorophyceae (Grünalgen) zugeordnet. Sie umfasst farblose (chlorophyllose) einzellige, unbewegliche, heterotroph und aerob lebende Algen, die sich ausschließlich asexuell durch Bildung von Endosporen in freier Zellbildung vermehren. Es werden derzeit drei Spezies anerkannt:

- *P. zopfii* (Synonyme: *P. cijferri*, *P. segbwema*, *P. trisporea*, *P. portoricensis*, *P. moriformis*)
- *P. wickerhamii*
- *P. stagnora* Cooke, 1968. *P. stagnora* ist kein Krankheitserreger für Mensch und Tier.

Historie

Das Genus *Prototheca* wurde 1894 von Krüger etabliert. Er hatte erstmalig Prototheken aus dem Saftfluss von Laubbäumen isoliert. Ihre Zuordnung zu Pilzen oder Algen war lange umstritten. Für die Zugehörigkeit zu Algen sprechen die Ultrastruktur der Zellwände, plastidähnliche Granula im Plasma und der asexuelle Vermehrungsmodus durch Bildung von Endosporen.

Morphologie

P. wickerhamii lässt sich auf Pilznährböden kultivieren. Kolonie, Oberseite: hefeartige, halbkugelige Kolonie mit glattem Rand und glatter Oberfläche, beige bis ockerfarben. Unterseite: farblos. Mikromorphologie der Kulturform: runde Einzelzellen (Durchmesser 4–10 µm), die kleiner als bei *P. zopfii* sind. Daneben größere Zellen (Sporangien) mit runden Endosporen. Plastidähnliche Granula im Protoplasma. Keine Sprosszellen.

Genom

Nicht sequenziert.

Vermehrung

Vermehrung durch Endosporulation.

Pathogenität / Virulenz / Antigenvariabilität

P. wickerhamii ist ein fakultativ pathogener Erreger, der bei entsprechender Vorschädigung oder in Kombination mit Immunsuppression, z. B. bei HIV-Infektion oder Kortison-Therapie, Krankheiten auslösen kann. Sie verfügt über eine geringe Virulenz. Die Existenz von Toxinen als Virulenzfaktoren wird diskutiert. Ihre antigenetische Varianz ist ungeklärt.

Erkrankungen**1. Kutane Protothekose****Inkubationszeit**

Unbekannt.

Leitsymptome

Hautläsionen.

Symptome

Verruköse oder schuppige Hautläsionen, primäre Hautgranulome mit lymphogener Streuung und Tendenz zur Chronizität, akute Pyodermien, Ellenbogen-schleimbeutelentzündung, lokale Wundinfektionen, bevorzugt an den Extremitäten und im Gesicht sowie systemische Manifestationen. Nagelbefall möglich.

Pathophysiologie

Immunsuppression oder Trauma wirken disponierend. Nach Überwindung der Hautbarriere Persistenz des Erregers sowie Induktion einer granulomatösen Entzündungsreaktion.

Immunantwort

Induktion spezifischer Antikörper der Isotypen IgG und IgA, hohe Phagozytoseresistenz. Für *P. wickerhamii* ist Überleben und Vermehrung im Makrophagen und in PMNs möglich. *Prototheca* induziert Granulome, die Lymphozyten, Plasmazellen, Eosinophile, Neutrophile, Makrophagen, Epitheloidzellen und Riesenzellen enthalten können.

Differenzialdiagnose

Ausschluss bakterieller oder pilzbedingter Krankheitsbilder.

2. Disseminierte Protothekose**Inkubationszeit**

Nicht bekannt.

Leitsymptome

Fieber, Schüttelfrost, Meningismus.

Symptome

Unspezifisch. Systemische Infektionen mit Organbefall (Meningitis, Peritonitis, Milzbefall).

Pathophysiologie

Disponierend wirkt jede Art von Immunsuppression: immunsuppressive Therapie, AIDS, Unterernährung, Leber- und Nierenkrankheiten, Tumoren, Autoimmunkrankheiten.

Immunantwort

Keine Immunität nach Infektion.

Differenzialdiagnose

Infektionen durch andere Erreger.

Diagnostik**Untersuchungsmaterial**

Hautschuppen, Exzidate, Punktate.

Diagnostische Verfahren

Die mikrobiologische Diagnostik basiert auf dem mikroskopischen und kulturellen Erregernachweis. Mikroskopische Untersuchung von Materialproben aus Krankheitsherden: Nachweis von runden Zellen der Alge. Dafür geeignet sind die Färbungen nach Grocott-Gomori oder Grindley und die PAS-Färbung sowie die Immunfluoreszenz-Technik.

Kulturelle Anzüchtung: auf den üblichen festen Pilznährböden mit Thiamin, jedoch ohne Cycloheximid (Actidion) bei 25–37 °C in 2–7 Tagen. Differenzierung. Von *P. wickerhamii* anhand der Kolonieform, der Mikromorphologie und der Assimilation von Kohlenstoffverbindungen (Glukose, Galaktose, Trehalose und Glycerin werden assimiliert), KNO₃ wird nicht verwertet, Wachstum findet bei 37 °C statt. Prototheken bilden im Unterschied zu Hefepilzen keine Sprosszel-

len. Bei der Kultur- und Gewebeform treten Sporangien mit Endosporen auf.

Befund / Interpretation

Bei mikroskopischem Nachweis aus Materialien von der Körperoberfläche kann es sich um eine Kontaminante handeln. Bei histologischem Nachweis, entsprechender klinischer Symptomatik sowie Vorhandensein prädisponierender Faktoren ist eine Infektion mit *Prototheca* wahrscheinlich.

Therapie

Therapeutische Maßnahmen

Die Behandlung der Protothekosen ist außerordentlich schwierig und langwierig, oft erfolglos. Antibiotika, Sulfonamide und Zytostatika sind unwirksam. Von den Antimykotika zeigen Nystatin, Amphotericin B, Miconazol und Ketoconazol *in vitro* einen Hemmeffekt. Beim Menschen erwies sich Amphotericin B, intravenös langfristig in hohen Dosen verabreicht, als am wirksamsten. Erfolgreich auch mit Voriconazol und Itraconazol therapierbar. Chirurgische Sanierung kleiner Herde.

Resistenz

Resistent gegen Flucytosin, Griseofulvin, bei Azolen variabel.

Epidemiologie

Verbreitung

P. wickerhamii ist weltweit verbreitet.

Wirtsbereich / Reservoir

P. wickerhamii ist ein ubiquitärer Bewohner von ländlichen und städtischen Abwässern, an die sie in hohem Maße adaptiert ist. Bei Tieren: Isolierung von *P. wickerhamii* aus subkutanem Gewebe bei Katzen und von dermalen und lymphatischen Läsionen bei einem Reh.

Risikogruppen

Das häufige Vorkommen von *P. wickerhamii* in der Umwelt und die seltene Erkrankung des Menschen sprechen für eine geringe pathogene Potenz der Alge und eine geringe Empfänglichkeit des Menschen für eine Protothekeninfektion.

Es erkranken abwegeschwächte Menschen im Alter von 18 bis 75 Jahren. Prädisponierend wirken Traumen, Diabetes mellitus und Immundefekte. 1968 wurde der erste Fall einer Protothekose durch *P. wickerhamii* in den USA bei einer diabetischen Karzinom-Patientin beobachtet. 1974 wurde eine systemische Erkrankung durch die gleiche Alge bei einem jungen Mann mit zellulärem Immundefekt von Cox et al. beschrieben.

Transmission / Vektoren

Exogene Infektion. Keine direkte Übertragung von

Mensch zu Mensch. Infektion durch Umweltkontakte. Eintrittspforten für *P. wickerhamii* sind die Haut, die Mundschleimhaut und der Magen-Darm-Trakt. Die Alge ist gelegentlich als Kontaminante auf der Haut, auf Finger und Fußnägeln und im Stuhl anzutreffen.

Prävention / Impfstoffe

Für den Menschen sind Präventivmaßnahmen kaum möglich und erforderlich. Gegebenenfalls Monitoring immunsupprimierter Personen.

Meldepflicht

Keine.

Weiterführende Informationen

Web-Adressen

- <http://www.prototheca.com>
- <http://www.gwdg.de/~epsag/phykologia/epsag.html>
- Culture collection ATCC: <http://phage.atcc.org/searchengine/all.html>
- Culture collection UTEX: <http://www.bio.utexas.edu/research/utex/>

Schlüsselliteratur

1. Blaschke-Hellmessen R, Schuster H, Bergmann V (1985) Differenzierung von Varianten bei *Prototheca zopfi* Krüger 1894. Arch exper Vet med 39:387–397
2. Blaschke-Hellmessen R, Schuster H, Schuster K (1985) Chlorophyllose Algen der Gattung *Prototheca* (Krüger) – Saprophyten und Krankheitserreger bei Mensch und Tier. Z gesamt Hygiene 31:561–564
3. Kwon-Chung KJ, Bennett JE (1992) Medical Mycology, 2nd edn, chapter 29: Protothecoses. Lea & Febiger, Philadelphia, London, pp 183–190
4. Lass-Flörl C, Mayr A (2007) Human protothecosis. Clin Microbiol Rev 20 (2):230–242
5. Pfaller, MA, Diekema, DJ (2004) Rare and Emerging Opportunistic Fungal Pathogens: Concern for Resistance beyond *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*. J Clin Microbiol 42:4419–4431

Prototheca zopfi

MARIANNE KRETSCHMAR, PAUL SCHNITZLER

Erreger

Synonym(e)

P. chlorelloides Beijerinck (1904), *P. portoricensis* Ashford et al. (1930), *P. ciferri* Negroni und Blaisten (1941), *P. trispora* Ciferri et al. (1957), *P. segbwema* Davies et al. (1964), *P. salmonis* Gentles und Bond (1977).

Erregerspezies

P. zopfi Krüger, 1894 (chlorophyllose, einzellige Alge)

Taxonomie

Obwohl die taxonomische Stellung der Prototheken nicht eindeutig determiniert ist, werden sie allgemein

als chlorophylllose Algen angesehen. Die Gattung Prototheca wird der Familie Chlorophyceae (Grünalgen) zugeordnet. Sie umfasst farblose (chlorophylllose) einzellige, unbewegliche, heterotroph und aerob lebende Algen, die sich ausschließlich asexuell durch Bildung von Endosporen in freier Zellbildung vermehren. Es werden derzeit drei Spezies anerkannt:

- *P. zopfii*
- *P. wickerhamii*
- *P. stagnora* Cooke, 1968. *P. stagnora* ist kein Krankheitserreger für Mensch und Tier.

Historie

Das Genus Prototheca wurde 1894 von Krüger etabliert. Er hatte erstmalig Prototheken aus dem Saftfluss von Laubbäumen isoliert. Ihre Zuordnung zu Pilzen oder zu Algen war lange umstritten. Für die Zugehörigkeit zu Algen sprechen die Ultrastruktur der Zellwände, plastidähnliche Granula im Plasma und der asexuelle Vermehrungsmodus durch Bildung von Endosporen.

Morphologie

P. zopfii lässt sich auf Pilznährböden kultivieren. Kolonie, Oberseite: trockene, hefeartige, flache Kolonien mit zentralem Knopf, ausgebogtem Rand und gekörnter Oberfläche, weißlich-beige. Unterseite: farblos. Mikromorphologie der Kulturform: runde oder elliptische Einzelzellen (Durchmesser 9–11 µm), plastidähnliche Granula im Protoplasma. Besonders große Zellen (Sporangien, Durchmesser bis 30 µm) mit runden oder elliptischen Endosporen im Innern, daneben in Teilung befindliche Zwischenformen. Keine Abschnürung von Sprosszellen.

Genom

Nicht sequenziert.

Vermehrung

Vermehrung durch Endosporulation.

Pathogenität / Virulenz / Antigenvariabilität

P. zopfii ist ein fakultativ pathogener Erreger, der bei entsprechender Vorschädigung oder in Kombination mit Immunsuppression, z. B. bei HIV-Infektion oder Kortison-Therapie, Krankheiten auslösen kann. Sie verfügt über eine geringe Virulenz. Die Existenz von Toxinen als Virulenzfaktoren wird diskutiert. Es gibt deutliche Belege für die Existenz dreier Sero- und Biotypen von *P. zopfii*, von denen Serotyp II für die Protothekenmastitis des Rindes ursächlich zu sein scheint.

Erkrankungen

1. Protothekose

P. zopfii ruft kutane und systemische Erkrankungen bei Mensch und Tier hervor.

Inkubationszeit

Unbekannt.

Leitsymptome

Entzündliche Hautveränderungen.

Symptome

Geringe Entzündungserscheinungen bis hin zu schweren Nekrosen oder Mikroabszessen der Haut.

Pathophysiologie

P. zopfii ist ein fakultativ pathogener Erreger, der bei entsprechender Vorschädigung oder in Kombination mit Immunsuppression, z. B. bei HIV-Infektion oder Kortison-Therapie, Krankheiten auslösen kann. Sie verfügt über eine geringe Virulenz. Die Existenz von Toxinen als Virulenzfaktoren wird diskutiert. Ihre antigenetische Varianz ist ungeklärt. Abkapselung von *P. zopfii* im Gewebe.

Immunantwort

Induktion spezifischer Antikörper der Isotypen IgG und IgA, hohe Phagozytoseresistenz. Für *P. zopfii* ist Überleben und Vermehrung im Makrophagen und in PMNs möglich. Prototheca induziert Granulome, die Lymphozyten, Plasmazellen, Eosinophile, Neutrophile, Makrophagen, Epitheloidzellen und Riesenzellen enthalten können.

Differenzialdiagnose

Ausschluss bakteriell- oder pilzbedingter Krankheitsbilder.

2. Systemischen Infektionen

Mit Organbefall (Meningitis, Peritonitis, Milzbefall).

Synonym(e)

Disseminierte Protothekose.

Symptome

Unspezifisch: Fieber, Schüttelfrost, Meningismus.

Pathophysiologie

Disponierend wirkt jede Art von Immunsuppression: immunsuppressive Therapie, AIDS, Unterernährung, Leber- und Nierenkrankheiten, Tumoren, Autoimmunkrankheiten.

Diagnostik

Untersuchungsmaterial

Abstriche, Gewebeproben.

Diagnostische Verfahren

Die mikrobiologische Diagnostik basiert auf dem mikroskopischen und kulturellen Erregernachweis. Bei Protothekenmastitis des Rindes steht außerdem ein indirekter ELISA zum Nachweis von spezifischem IgG im Serum und von IgA und IgG1 im Milchserum zur Verfügung.

Mikroskopische Untersuchung von Materialproben aus Krankheitsherden: Nachweis von runden bis ova-

len Zellen (3–30 µm Durchmesser) mit oder ohne Endosporen in der Dermis, Epidermis und in Organen. Zur Darstellung der Prototheken-Zellen eignen sich die Färbungen nach Grocott-Gomori oder Grindley und die PAS-Färbung sowie die Immunfluoreszenztechnik.

Kulturelle Anzucht: auf den üblichen festen Pilznährböden mit Thiamin, jedoch ohne Cycloheximid (Actidion) bei 25–37 °C in 2–5 Tagen. Zur Isolierung aus stark kontaminierten Proben (Abwasser, Kot) eignet sich der Selektivagar von PORE mit Zusatz von Kaliumhydrogenphthalat und Flucytosin (Ancotil®).

Differenzierung: von *P. zopfi* anhand der Koloniform, der Mikromorphologie und der Assimilation von Kohlenstoffverbindungen (Glukose, Galaktose, Trehalose und Glycerin werden assimiliert), KNO₃ wird nicht verwertet, Wachstum findet bei 37 °C statt. Prototheken bilden im Unterschied zu Hefepilzen keine Sprosszellen. Bei der Kultur- und Gewebeform treten Sporangien mit Endosporen auf.

Befund / Interpretation

Bei mikroskopischem Nachweis aus Materialien von der Körperoberfläche kann es sich um eine Kontaminante handeln. Bei histologischem Nachweis, entsprechender klinischer Symptomatik sowie Vorhandensein prädisponierender Faktoren ist eine Infektion mit *Prototheca* wahrscheinlich.

Therapie

Therapeutische Maßnahmen

Die Behandlung der Protothekosen ist außerordentlich schwierig und langwierig, oft erfolglos. Antibiotika, Sulfonamide und Zytostatika sind unwirksam. Von den Antimykotika zeigen Nystatin, Amphoterin B, Miconazol und Ketoconazol *in vitro* einen Hemmeffekt. Beim Menschen erwies sich Amphoterin B, intravenös langfristig in hohen Dosen verabreicht, als am wirksamsten.

Resistenz

Resistent gegen Flucytosin, Griseofulvin, variabel bei Fluconazol, Itraconazol. Beschrieben wurde eine systemische Protothekose unter Langzeitprophylaxe mit Voriconazol.

Epidemiologie

Verbreitung

Über die Epidemiologie und Epizootiologie der Protothekosen liegt wenig gesichertes Wissen vor. *P. zopfi* ist weltweit verbreitet. Die Alge lebt als anspruchsloser Saprophyt in feuchten Umweltbereichen. Sie wird mit dem Kot von Rindern und Schweinen sowie mit der Milch mastitiskranker und asymptomatischer Kühe ausgeschieden. Durch protothekenhaltige Abwässer werden natürliche Wassersysteme sowie Nahrungs- und Futtermittel kontaminiert. Der Nachweis von

P. zopfi gelang aus Abwasser, Flüssen, stehenden Gewässern, marinem Wasser, Erdböden und Erdschlamm. Die Protothekenmastitis der Rinder ist eine äußerst kontagiöse Herdenerkrankung mit epidemischen Ausbrüchen.

Wirtsbereich / Reservoir

P. zopfi ist ein ubiquitärer Bewohner von ländlichen und städtischen Abwässern, an die sie in hohem Maße adaptiert ist. Vorkommen im Darmtrakt von Rindern, Hunden, Ratten und Bibern. Gelegentlicher Nachweis beim Menschen als Kontaminanten im Stuhl, Sputum, auf Haut- und Nagelmaterial. Infektionen bei Tieren.

Risikogruppen

Beim Menschen wirken Traumen und traumatische Implantationen in die Haut, Operationswunden, allgemeine Resistenzminderung und Immundefekte prädisponierend für eine Protothekose. 1964 erste gesicherte kutane Protothekose durch Davies et al.: verruköse Fußläsion mit nachfolgender Generalisierung bei einem afrikanischen Reisbauern durch *P. segbwema* (Synonym von *P. zopfi*). Auch bei Tieren ist mit dem Einfluss disponierender Faktoren im Sinne einer allgemeinen oder lokalen Resistenzänderung zu rechnen (z. B. bakteriell bedingte Euterinfektionen und langfristige Antibiotikatherapie als Vorläufer der Protothekenmastitis beim Rind).

Transmission / Vektoren

Exogene Infektion. Keine direkte Übertragung von einem Wirt auf den anderen. Bei Tieren: Übertragung durch kothaltiges Wasser und Abwasser, über Gülle, Melkutensilien, Stallausrüstungen und natürlich gedüngte Weideflächen. Intrazisternale und perkutane Aufnahme der Prototheken durch das Rind.

Beim Menschen: Infektion durch Umweltkontakte. Eintrittspforten für Prototheken sind die Haut, die Mundschleimhaut und der Magen-Darm-Trakt.

Prävention / Impfstoffe

Für den Menschen sind Präventivmaßnahmen kaum möglich und erforderlich. Gegebenenfalls Monitoring immunsupprimierter Personen. Eine andere Situation liegt bei Tierbeständen vor: Da mit dem Vorkommen von Prototheken in Rinderställen zu rechnen ist, sind wirksame Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen zur Aufrechterhaltung der Stall- und Melkhygiene erforderlich. Tiere mit Protothekenmastitis müssen mangels wirksamer Therapien getötet werden. Gesunde Tiere mit Ausscheidung von Prototheken in der Milch sind vom übrigen Tierbestand zu isolieren. Die Milch aller Tiere ist auf *P. zopfi* zu kontrollieren.

Meldepflicht

Keine.

Weiterführende Informationen

Referenzzentren / Expertenlaboratorien

- Expertenlabor ELISA zur Diagnostik der Protothekenmastitis: Institut für Tierhygiene und Öffentliches Veterinärwesen der Universität Leipzig, An den Tierkliniken 43, 04103 Leipzig

Web-Adressen

- <http://www.prototheca.com>
- Stammsammlung für Algenkulturen der Universität Göttingen: <http://www.gwdg.de/~epsag/phykologia/epsag.html>
- Culture collection ATCC: <http://phage.atcc.org/searchengine/all.html>
- Culture collection UTEX: <http://www.bio.utexas.edu/research/utex/>

Schlüsselliteratur

1. Blaschke-Hellmessen R, Schuster H, Bergmann V (1985) Differenzierung von Varianten bei Prototheca zopfii Krüger 1894. Arch exper Vet med 39:387–397
2. Blaschke-Hellmessen R, Schuster H, Schuster K (1985) Chlorophyllose Algen der Gattung Prototheca (Krüger) – Saprophyten und Krankheitserreger bei Mensch und Tier. Z gesamte Hygiene 31:561–564
3. Kwon-Chung KJ, Bennett JE (1992) Medical Mycology, 2nd edn, chapter 29: Protothecos. Lea & Febiger, Philadelphia, London, pp 183–190
4. Lass-Flörl C, Mayr A. (2007) Human protothecosis. Clin Microbiol Rev 20 (2):230–242
5. Pfaller, MA, Diekema, DJ (2004) Rare and Emerging Opportunistic Fungal Pathogens: Concern for Resistance beyond Candida albicans and Aspergillus fumigatus. J Clin Microbiol 42:4419–4431

Protothekose

- ▶ Prototheca wickerhamii
- ▶ Prototheca zopfii

Providencia, Morganella

UWE ULLMANN

Erreger

Erregerspezies

Providencia alcalifaciens, *Providencia stuartii*, *Providencia rettgeri*, *Morganella morganii*

Taxonomie

Familie: Enterobacteriaceae; Gattungen: *Providencia*, *Morganella*

Historie

Providencia ist benannt nach der Stadt Providence in USA (Ewing, W.H., 1962), *stuartii* nach dem amerikanischen Mikrobiologen C. A. Stuart (1943), *rettgeri* nach dem Erstbeschreiber L. F. Rettger (1909). *Morganella morganii* nach dem englischen Mikrobiologen H. de R. Morgan (1906).

Providencia und *Morganella* wurden aus dem Genus *Proteus* ausgegliedert

Morphologie

Gramnegative Stäbchenbakterien, *Providencia* und *Morganella*. Beweglich durch peritriche Begeißelung.

Genom

Die Genomsequenzierungen der Spezies *P. alcalifaciens*, *P. rettgeri* und *P. stuartii* sind in Vorbereitung, siehe auch www.ncbi.nlm.nih.gov.

Vermehrung

Wachstum fakultativ anaerob innerhalb von 24 Stunden.

Pathogenität / Virulenz / Antigenvariabilität

Providencia rettgeri und *Morganella morganii* sind mit Hilfe des Enzyms Urease in der Lage, Harnstoff in CO₂ und Ammoniak zu spalten. Dies scheint ein Virulenzfaktor für die Entstehung von Harnwegsinfektionen zu sein, da es durch Alkalisierung des Urins möglicherweise zu einer Schädigung des Nierenepithels kommt. Bei *Providencia*-Arten kommen induzierbare oder konstitutive chromosomalkodierte Betalaktamasen vor, die den Spezies eine Multiresistenz gegenüber Antibiotika verleihen können; Endotoxin.

Erkrankungen

1. Lokalisierte Prozesse

- ▶ *Proteus*

Inkubationszeit

- ▶ *Proteus*

Leitsymptome

- ▶ *Proteus*

Symptome

- ▶ *Proteus*

Pathophysiologie

- ▶ *Proteus*

Immunantwort

- ▶ *Proteus*

Differenzialdiagnose

Ausschluss anderer Infektionserreger.

2. Generalisierte Prozesse

- ▶ *Proteus*

Inkubationszeit

- ▶ *Proteus*

Leitsymptome

- ▶ *Proteus*

Symptome

- ▶ *Proteus*

Pathophysiologie

▶ Proteus

Immunantwort

▶ Proteus

Differenzialdiagnose

Ausschluss anderer Infektionserreger.

3. Typische Erreger nosokomialer Erkrankungen

▶ Proteus

Inkubationszeit

▶ Proteus

Leitsymptome

▶ Proteus

Symptome

▶ Proteus

Pathophysiologie

▶ Proteus

Immunantwort

▶ Proteus

Differenzialdiagnose

Ausschluss anderer Infektionserreger.

Diagnostik**Untersuchungsmaterial**

▶ Serratia

Diagnostische Verfahren

Kulturelle Anzüchtung: siehe fakultativ pathogene *E. coli* (▶ *Escherichia coli*), *Providencia* und *Morganella* zeigen kein Schwärmphänomen.

Serologische Differenzierung: Für *P. alcalifaciens* sind 46 O-Antigene und für *P. stuartii* 17 O-Antigentypen bekannt. Für *P. rettgeri* besteht ein Schema aus 34 O-Antigen- und 26 H-Antigentypen. Bei *Morganella* wurden 12 Phagentypen beschrieben und 42 Serotypen.

Befund / Interpretation

Erregernachweis ausschlaggebend.

Therapie**Therapeutische Maßnahmen**

Entsprechend Antibiogramm ▶ Proteus.

Resistenz

▶ Pathogenität

Epidemiologie**Verbreitung**

▶ Proteus

Wirtsbereich / Reservoir

Providencia species finden sich häufig im Darm von Mensch und Tieren, *Morganella* in den Faeces von Menschen, Hunden und anderen Säugetieren.

Risikogruppen

▶ Proteus

Transmission / Vektoren

▶ Proteus

Prävention / Impfstoffe▶ *Escherichia coli***Meldepflicht**

§ 23 IfSG Abs. 1: Multiresistenz ist zu dokumentieren.

Weiterführende Informationen**Web-Adressen**– <http://www.cdc.gov/>**Schlüsselliteratur**

1. Blaser MJ, Smith PD, Ravdin JI, Greenberg HB, Guerrant RL (eds) (1995) *Infections of the Gastrointestinal Tract*, Raven Press New York
2. Hahn H, Kaufmann SHE, Schulz TF, Suerbaum S (Hrsg) (2009) *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. 4. Auflage, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, Barcelona, Hongkong, London, Mailand, Paris, Singapur, Tokyo
3. Kist M, Bockemühl J, Aleksic S, Altwegg M, Autenrieth IB, Bär W, Beutin L, Gerten B, Heintschel von Heinegg E, Karch H, Lehmann A, Mehnert F, Sonnenborn U, Tschäpe H, v. Eichel-Streiber C (2000) *Infektionen des Darmes: MiQ 9*, Urban und Fischer, München, Jena
4. Konemann EW, Allen HD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn EC (eds) (1997) *Diagnostic Microbiology*, 5th Ed, Lippincott, Philadelphia, New York

Pseudallescheriose

▶ Scedosporium

Pseudokrätze▶ Krätzmilben (*Sarcoptes scabiei* und ähnliche)

Pseudokuhpocken

▶ Pockenviren, zoonotische

Pseudokuhpockenvirus

▶ Pockenviren, zoonotische

Pseudoküstenfieber

- Babesien

Pseudomembranöse Colitis

- Clostridium difficile

Pseudomonas

MICHAEL HOGARDT, ISABEL SPÄTH

Erreger

Erregerspezies

Die Gattung *Pseudomonas* umfasst mehr als 180 Spezies, von denen jedoch nur wenige eine humanpathogene Bedeutung besitzen, z. B. *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens* und *P. putida*

Taxonomie

Familie: Pseudomonadaceae; Gattung: *Pseudomonas*; Typspezies: *P. aeruginosa*

Historie

Die Bezeichnung *Pseudomonas* umfasste ursprünglich alle geraden, stäbchenförmigen Bakterien mit polaren Flagellen. Erst die Einteilung dieser Gruppe auf Basis der 16S-rDNA-Sequenz in die Homologiegruppen I–V ermöglichte 1973 eine präzise Gattungsbeschreibung, wobei die Gattung *Pseudomonas* auf die RNA-Homologiegruppe I entfiel. *P. aeruginosa* wurde erstmals 1872 von Schroeter beschrieben (Bacterium aeruginosum). Migula gab dem Erreger 1900 aufgrund der charakteristischen Pigmentierung den Namen *P. aeruginosa* („aerugo“, lat. = Grünspan).

Morphologie

Pseudomonaden sind schlanke, gramnegative, polar monotrich begeißelte, 0,5–1 x 1,5–5 µm große Stäbchenbakterien.

Genom

Das Genom von *P. aeruginosa* (5–7 Mb) besteht zu ca. 80 % aus einem konservierten Kerngenom und zu ca. 20 % aus einem variablen, akzessorischen Genom (Genominseln und Plasmide).

Pathogenität / Virulenz / Antigenvariabilität

P. aeruginosa ist die wichtigste humanpathogene Spezies und besitzt zahlreiche Virulenzfaktoren, z. B. eine Flagelle (Motilität), Typ-IV-Pili (Adhäsion), Elastase und alkalische Protease (Invasion), Pyoverdin (Siderophor), Lipopolysaccharid (Inflammation) und das Exopolysaccharid Alginate (Biofilmbildung). Das blaugrüne Pigment Pyocyanin schädigt Wirtszellen durch die Bildung von Sauerstoffradikalen. Für die Virulenz am wichtigsten sind Exotoxin A (ADP-Ribosyltransfe-

rase), das den Elongationsfaktor 2 und damit die Proteinsynthese hemmt sowie das vom Typ-III-Sekretionssystem abhängige Exotoxin S (ADP-Ribosyltransferase) bzw. Exotoxin U (Phospholipase A2). Ein Stamm trägt entweder das Gen für Exotoxin U oder S. Die Bildung von Exotoxin U ist mit schlechteren klinischen Verläufen assoziiert. Klinische Isolate sind, außer bei Konjunktivitis, häufiger Exotoxin-S-positiv.

Erkrankungen

1. Nosokomiale Infektionen

P. aeruginosa ist ein opportunistischer Krankheitserreger bei hospitalisierten Patienten auf Intensivstationen bzw. Patienten mit Prädisposition (maschinelle Beatmung, Wunden, Verbrennungen, Venen- oder Blasenkatheter).

Leitsymptome

Die klinische Symptomatik ist unspezifisch und abhängig von der Lokalisation der Infektion.

Symptome

Zu den häufigsten durch *P. aeruginosa* verursachten Infektionen zählen die beatmungsassoziierte Pneumonie, Harnwegsinfektionen, Wundinfektionen und Sepsis. Bei nosokomialer Pneumonie stehen Fieber, Leukozytose und ein eitriges Tracheobronchialsekret im Vordergrund. Beim Nachweis von *P. aeruginosa* aus Trachealsekret, muss anhand der klinischen Situation zwischen Besiedelung oder Infektion unterschieden werden. Die Mortalität der Erkrankung liegt bei 30–50 %. Die Infektion von Wunden (z. B. diabetisches Fußsyndrom) ist meist polymikrobiell und manifestiert sich als Wundheilungsstörung, selten als tiefe Weichteilentzündung oder Osteomyelitis. Infizierte Wunden sind oft an einer starken Eiterbildung ggf. mit grünlicher Farbe und einem putriden, süßlichen Geruch zu erkennen. Besonders schwerwiegend, da oft mit septischem Verlauf einhergehend, ist die Infektion großflächiger Verbrennungswunden. Eine Sepsis tritt v. a. bei Patienten mit hämato-onkologischen oder schweren internistischen Grunderkrankungen auf.

2. Ambulant erworbene Infektionen

Augen-, Ohrinfektionen, Pneumonie.

Leitsymptome

Keratitis, Konjunktivitis, Otitis externa, Pneumonie.

Symptome

Bei den durch *P. aeruginosa* hervorgerufenen Augeninfektionen handelt es sich meist um ulzerierende Keratitiden (v. a. bei Kontaktlinsenträgern). Die Otitis externa tritt häufig bei Personen auf, die Schwimm- oder Wassersport betreiben. Bei Diabetikern kann eine Otitis externa maligna auftreten, die mit einer nekrotisierenden Entzündung des äußeren Gehörgangs unter Einbeziehung von Knochen (Osteomyelitis) und

Hirnnerven einhergehen kann. Selten können bei Lungenverschädigung (z. B. Rauchen, COPD) ambulant erworbene Pneumonien auftreten.

3. Chronische Pneumonie bei Cystischer Fibrose

Leitsymptome

Pneumonie, Exazerbationen, Hämoptysen, Atelektasen, respiratorische Insuffizienz.

Symptome

CF-Patienten sind im Erwachsenenalter in bis zu 70–80 % mit *P. aeruginosa* infiziert. Der chronische Erkrankungsverlauf ist durch eine übermäßige Sputumproduktion und rezidivierende Exazerbationen gekennzeichnet. Die jahrelange Inflammation des Lungengewebes führt zum progredienten Verlust der Lungenfunktion. Die Infektion ist meist monoklonal, wobei durch intrapulmonale Selektion aus einem Pseudomonas-Klon verschiedene Morpho- und Resistenztypen hervorgehen. Das Auftreten schleimiger „mukoider“ Morphotypen, infolge einer Überproduktion von Alginat, korreliert mit einer klinischen Verschlechterung.

Differenzialdiagnose

Pneumonie durch andere nosokomiale bzw. CF-Erreger.

Diagnostik

Untersuchungsmaterial

Je nach Art der Infektion eignen sich respiratorische Sekrete (BAL, Trachealsekret, Sputum), Urin, Wundabstriche, Blutkulturen, Augen- oder Ohrabstriche.

Diagnostische Verfahren

Auf Agarmedien wächst der Erreger in typischen großen, flachen, Oxidase-positiven Kolonien, häufig mit metallischem Glanz (Blickdiagnose). Auf Blutagar ist eine Hämolyse und unter Phosphatrestriction (Müller-Hinton-Agar, Cetrimid-Agar) die Bildung der typischen blaugrünen Pigmentierung zu erkennen. Besonders charakteristisch ist die Bildung des Duftstoffes Aminoacetophenon, durch den Kulturen einen süßlich-aromatischen (lindenblütenartigen) Geruch aufweisen. Bei CF kommen untypische Morphotypen vor (unpigmentiert, schleimbildend, winzig sog. „Small colony variants“, rau etc.). Zur frühzeitigen Diagnose einer Erstbesiedelung bei CF wird mindestens jährlich eine serologische Untersuchung auf Antikörper gegen Elastase, alkalische Protease und Exotoxin A empfohlen.

Therapie

Therapeutische Maßnahmen

Systemische (Pneumonie) oder lokale (Otitis externa) antimicrobielle Therapie nach Resistenztestung. Die Therapie der chronischen CF-Pneumonie stützt sich

v. a. auf die im Intervall, meist vierteljährlich durchgeführte Gabe zweier i.v.-Antibiotika sowie die Inhalation von Tobramycin oder Polymyxin.

Resistenz

P. aeruginosa ist gegen zahlreiche Antibiotika intrinsisch resistent. Pseudomonas-wirksame Substanzen sind Piperacillin, Ceftazidim, Carbapeneme, Gyrasehemmer und Aminoglykoside. Polymyxin ist äußerst selten resistent und wird heute oft als Reserveantibiotikum bei Infektionen mit multiresistenten Pseudomonaden, obwohl für diese Indikation nicht zugelassen, angewandt.

Epidemiologie

Verbreitung

Weltweit.

Wirtsbereich / Reservoir

Pseudomonaden sind ubiquitäre Umweltkeime (Oberflächengewässer, Erdboden, Pflanzen) mit einer Vorliebe für Feuchthabitate. Sie können daher als Kontaminationen in (destilliertem) Wasser, Desinfektionsmitteln, intravenösen Lösungen etc. vorkommen. Bei Gesunden besiedelt *P. aeruginosa* in bis zu 30 % den Gastrointestinaltrakt.

Risikogruppen

Langfristig hospitalisierte Patienten, Intensivpatienten, immunsupprimierte Patienten, Verbrennungspatienten, Kontaktlinsenträger, Diabetiker, CF-Patienten

Transmission / Vektoren

Die Übertragung von *P. aeruginosa* kann im Krankenhaus über Desinfektionsmittel, Seifen, Spülflüssigkeiten, Augentropfen, Dialyse-, Beatmungs- und Waschflüssigkeiten erfolgen. Eine Übertragung von Mensch zu Mensch ist möglich. Außerhalb des Krankenhauses kann *P. aeruginosa* u. a. über Kontaktlinsenpflegemittel, Schwimmbekken-, Duschwasser und Kosmetika übertragen werden.

Prävention / Impfstoffe

P.-aeruginosa-Impfstoffe (LPS, Flagellin) wurden in den letzten Jahren v. a. bei CF-Patienten erprobt, jedoch ohne eindeutigen Erfolg. LPS-spezifische monoklonale Antikörper zur Behandlung der nosokomialen Pneumonie sind in der klinischen Erprobung.

Meldepflicht

Eine Meldepflicht nach IfSG besteht nur im Rahmen nosokomialer Häufungen (§ 6 Absatz 1, Nr. 2).

Weiterführende Informationen

Referenzzentren / Expertenlaboratorien

- Konsiliarlaboratorium für Mukoviszidose Bakteriologie
- Max von Pettenkofer-Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie der LMU München, Pettenkoferstr.

9a, 80336 München, Tel.: 089-5160-5201, Email: heesemann@mvp.uni-muenchen.de

- Institut für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene, Medizinische Hochschule Hannover, 30623 Hannover, Tel.: 0511-5326769, Email: suerbaum.sebastian@mh-hannover.de

Web-Adressen

- <http://www.pseudomonas.com>

Schlüsselliteratur

1. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds) (2009) Mandell, Douglas, and Benett's Principles and Practices of Infectious Diseases. Seventh edition, Elsevier Churchill Livingstone
2. Neumeister B, Geiss Heinrich K, Braun RW, Kimmig P (Hrsg) (2009) Mikrobiologische Diagnostik: „Nonfermenter: Pseudomonas spp. und verwandte Spezies“. Georg Thieme Verlag, Stuttgart New York

Pseudomonas putrefaciens

- ▶ Shewanella

Pseudosarcomatosis haemorrhagica pigmentosa

- ▶ Humanes Herpesvirus 8 (HHV-8)

Psedorskabies

- ▶ Krätzmilben (*Sarcoptes scabiei* und ähnliche)

Psittakose

- ▶ Chlamydia

Psychose

- ▶ Borna-Virus

Pulex irritans

- ▶ Ektoparasiten, sonstige (Stechmücken, Trombiculiden, Flöhe, Wanzen, Zecken)

Punta-Toro-Virus

- ▶ Bunyaviren

Pure Red Cell Aplasia (PRCA)

- ▶ Parvoviren

Purpura

- ▶ Parvoviren

Pustula maligna

- ▶ *Bacillus anthracis*

Pustolosis acuta varioliformis Juliusberg

- ▶ Herpes-simplex-Virus (HSV)

Puumala-Virus

- ▶ Hantaviren

Pyodermie

- ▶ Krätzmilben (*Sarcoptes scabiei* und ähnliche)
- ▶ *Prototheca wickerhamii*
- ▶ *Staphylococcus aureus*
- ▶ *Streptococcus pyogenes*

Q-Fieber

- ▶ Bioterrorismus, infektiologische Aspekte
- ▶ Coxiellen

Queensland-Fieber

- ▶ Coxiellen

Queensland tick typhus

- ▶ Rickettsien