



ZUSAMMENFASSUNG

51. Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy - ICAAC

Chicago, IL, USA

17.-20. September 2011

**von Pietro Vernazza und Philippe Rafeiner,
St. Gallen**

Disclaimer

Die hier wiedergegebene Zusammenfassung ist eine persönliche Notiz. Als solche hat sie weder den Anspruch auf Korrektheit, Vollständigkeit oder gar einer Behandlungsempfehlung. Vor dem Verschreiben der erwähnten Medikamente konsultieren Sie bitte die vollständige Fachinformation.

Wir freuen uns über Ihre Korrekturvorschläge an infektiologie@kssg.ch

© www.infekt.ch. 2011. Kopien unter Quellenangabe (www.infekt.ch) selbstverständlich erwünscht.

Inhaltsverzeichnis

Antibakterielle Resistenz	3
Bakterielle Resistenz: Die wahre Bedrohung für das 21. Jahrhundert?	3
Resistenzprobleme auch bei Gram-Positiven Bakterien	4
HIV	6
HIV-Testung: Noch längst nicht ausgeschöpft.....	6
HIV-Surveillance durch Sequenzanalysen: Die moderne Epidemiologie	6
CD4-Zellen: Immer noch ein wichtiger Marker der HIV-Immunschwäche	7
Prozent aussagekräftiger als absolute Zahl	7
CD4/8-Verhältnis immer noch prognostisch wichtig.....	7
Hepatitis und HCV-/HIV-Koinfektionen.....	8
Leberfibrose wird besser unter HCV-Therapie	8
TMC-435: Ein neuer Stern im HCV-Land?	8
Intelligentes Studiendesign	9
Interim-Analyse	9
Hot Topics in Cystic Fibrosis (CF).....	10
Epidemiologie.....	10
Rolle des Biofilms.....	11
Host responses to pseudomonas colonization.....	11
Nicht tuberkulöse Mykobakterien (NTMB), Kenneth N. Olivier	12
Antibiotische Inhalationstherapien.....	12
Reiserückkehrende mit Fieber	13
Diagnostik und Entscheidungsschritte.....	13
C. difficile: Labordiagnostik	15
Welche ist die beste Nachweismethode? (Karen Carroll, John Hopkins University)	15
Externe Statistik, in-house-Realität und die grosse Unbekannte.....	16
Revenue und Ausblick in die Entwicklung von Impfstoffen	16
„Platelets: the other white cell“	17

Antibakterielle Resistenz

Bakterielle Resistenz: Die wahre Bedrohung für das 21. Jahrhundert?

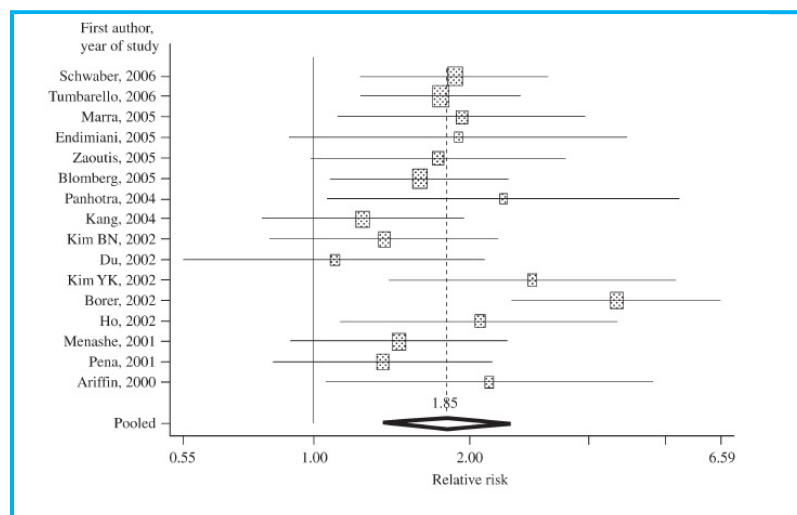
Im Vortrag wurden drei Probleme dargestellt:

- die Trends der Resistenzentwicklung (bei Gram-neg. Keimen)
- die genetische Flexibilität der Keime
- die demographischen Veränderungen weltweit

Der Autor hat zunächst die Situation geschildert, in der er am Anfang seiner Karriere vor 30 Jahren stand: Resistenzmutationen waren bekannt, aber wenn ein Bakterium ein Resistenzgen/-plasmid trug, dann immer nur eins. Kombinationen von Resistenzen gab es nicht. Carbapeneme waren in der letzten Entwicklungsphase, man erwartete ihren grossen Siegeszug gegen alle resistenten Gram-negativen Keime und auch Pseudomonas. Und drittens: China und Indien waren zwei Länder mit 2/3 der Weltpopulation ohne ökonomische Bedeutung mit wenig Einsatz von neuen Medikamenten.

Die Situation hat sich dramatisch verändert: Livermore hat anhand von E.coli (und wenig Beispielen mit Klebstellen)

gezeigt, dass die Bakterien heute eine Vielzahl von Resistenzmutationen genetisch erwerben. Auch hat er am Beispiel von ESBL deutlich gezeigt, dass diese, in den letzten Jahren zunehmende Resistenzgruppe mit einer deutlich höheren Sterberate einhergeht (1.9 x häufiger als nicht-resistente Keime, s. Abbildung, [Schwarber et al., JAC 2007](#))



Heute haben wir in ganz

Europa einzelne Cluster verschiedener Carbapenemasen und in Griechenland eine Prävalenz von Carbapenem-Resistenz von über 50%. Das ist immens! Noch vor 4 Jahren lag die Resistenzrate bei 25%. Es dürfte eine Frage der Zeit sein, dass sich diese Resistenzen in ganz Europa ausbreiten. Gut verständlich, dass das Europäische CDC letzte Woche eine Empfehlung verfasst hat, in der es die Weiterverbreitung von Carbapenemasen durch eine Kontrolle von Patiententransfers zwischen Europäischen Spitälern vorschlägt ([ECDC 13.Sept.11](#)). Doch Livermore hat auch darauf hingewiesen, dass man nicht nur Infektionen, sondern auch Kolonisationen mit resistenten Keimen beachten soll. Die Zahl kontaminierter Patienten ist noch um ein Vielfaches höher.

Eine wesentliche Voraussetzung der Bakterien für die Erweiterung ihrer Resistenzlage ist ihre Fähigkeit, genetische Mutationen über Plasmide auszutauschen. Diese genetische Fluidität, wie Livermore sie nannte, ist die Hauptursache für das Problem. Aber ein weiterer, bedeutender Faktor ist, und da weist Livermore auf den letzten Punkt hin, die massive Zunahme des Antibiotika-Einsatzes in Indien und China. Dort sind heute die häufigsten Resistenzprobleme zu erwarten, wie im vergangenen Jahr mit dem multiresistenten E.coli in England

zu sehen war, der praktisch nur bei Personen aufgetreten war, die in Pakistan oder Indien hospitalisiert waren ([BBC, 11.8.2010](#)). Tatsächlich findet man in Pakistan eine weite Verbreitung der verantwortlichen NDM-1 Resistenzmutation.

Livermore schloss mit der Schilderung der demographischen Probleme vor allem in China und Indien, wo noch eine massive Zunahme der älteren Bevölkerung bevorsteht. Der Menschen also, die am häufigsten unter Infektionen mit Gram-negativen Keimen leiden. Abschliessend hat er erwähnt, dass es immer schwieriger werde, neue Medikamente auf den Markt zu bringen, da die Hürden für eine Marktzulassung immer höher würden. Speziell die amerikanische Zulassungsbehörde FDA macht dies immer schwerer, um die Sicherheit für Patienten zu erhöhen. Doch letztendlich laufen wir hier in eine paradoxe Entwicklung, die er in einem Satz treffend umschrieb: Einfache Zulassungen für notwendige Medikamente sind nicht mehr möglich, denn: "**The goal is denied because the perfect is demanded**". In der Tat: ein Paradoxon!

Resistenzprobleme auch bei Gram-Positiven Bakterien

Livermore hat in seinem Vortrag den Fokus auf die Gram-negativen und vorwiegend auf E.coli gesetzt. Doch es fanden sich auch zahlreiche Arbeiten zur Resistenzentwicklung im Gram-positiven Bereich.

Ein weites Feld sind die Berichte über MRSA, wobei interessant ist, dass Prävalenzraten mit diesem Problemkeim weltweit eher rückläufig sind. Besonders hervorzuheben auch solche Studien (z.B. [Chinniah et al, K-256](#)), die zeigen, dass mit einem intensivierten Überwachungs- und Interventionsmodell die Rate von MRSA eindeutig reduziert werden kann. Was sich durchsetzt sind Massnahmen, welche die Händedesinfektion im Spital als wichtige und verantwortliche Massnahme ALLER Mitarbeitenden propagieren. Mit diesen Interventionen lässt sich tatsächlich sehr viel erreichen.

In vielen Ländern wird über das Auftreten sog. Community acquired MRSA berichtet (z.B. [Clusters in Spanien](#)). Doch eine Australische Arbeit hat die Kolonisation mit MRSA bei Haushaltskontakten untersucht ([Bennett et al, L-969](#)). Überraschenderweise sind die Keime, die sich bei Personen im gleichen Haushalt finden, nicht zwingend dieselben wie beim Indexpatienten. Bevor Massnahmen zur Eradikation solcher "community-based MRSA" getroffen werden, müssen wir offenbar zuerst die Verbreitung dieser Keime verstehen.

Die Therapiemöglichkeiten sind für MRSA limitiert, doch Daptomycin wird als eine wichtige Stütze für solche Infekte gehandelt. Es scheint, dass hier noch lange nicht das letzte Verdikt gefallen ist.

In einem Tiermodell mit MRSA Daptomycin und Vanco haben beide Substanzen mehr oder weniger gleich gut abgeschlossen ([Harada et al, B-1197](#)). In einem Fremdkörpermodell wurde - basierend auf positiven Erfahrungen bei Endokraditis - die synergistische Wirkung von Dapto mit Fosfomycin bei MRSA untersucht ([Garrigos et al, B-593](#)). Die synergistische Wirkung schien - zumindest in diesem Modell - auch für Fremdkörperinfektionen mit MRSA eine Option zu sein. Diese Resultate müssen natürlich vorerst in klinischen Studien verifiziert werden. Interessant dazu war sicher auch die Japanische, randomisierte Studie bei MRSA-Infektionen ([Aikawa et al, A2-020](#)). Die Studie hat frühere Resultate im Wesentlichen bestätigt. Patienten mit Haut- und Weichteilinfekten mit MRSA wurden randomisiert entweder mit Vancomycin (2g/d) oder mit Daptomycin (4mg/kg, bei endovaskulären Infekten 6mg/kg) behandelt. Die Resultate waren identisch (ca. 80% Heilungsrate) und die Nebenwirkungsraten

vergleichbar (etwas höher bei Vanco). Identisch waren auch die Resultate der Behandlung von MRSA-Bakteriämien mit Vanco und Dapto in einer Amerikanischen Studie ([Vo et al, K889](#)).

Besondere Sorge bereiten die Fälle von Dapto-Resistenz unter der Therapie von MRSA. Auch wenn der Keim zu Beginn der Therapie noch sensibel war, hat er sich in einer retrospektiven Analyse von 8 Patienten aus Philadelphia ([Fernandes et al, K-218](#)) zu einem resistenten Keim entwickelt. Die Autoren vermuten eine vorgängige Vanco-Therapie als möglichen Risikofaktor. Allerdings sei auch auf die spannende online Publikation im NEJM verwiesen, wo der Mechanismus der Dapto-Resistenz faszinierend beleuchtet wird. Die Bakterien scheinen sich unter der Therapie zu verändern, ihre Membran wird positiv geladen, was es dem Daptomycin unmöglich macht, in die Zelle einzudringen. Die Veränderung der Membran haben die Autoren dieses NEJM Artikels ([Aras et al, NEJM 8.9.11](#)) sehr schön im Elektronenmikroskop dargestellt.

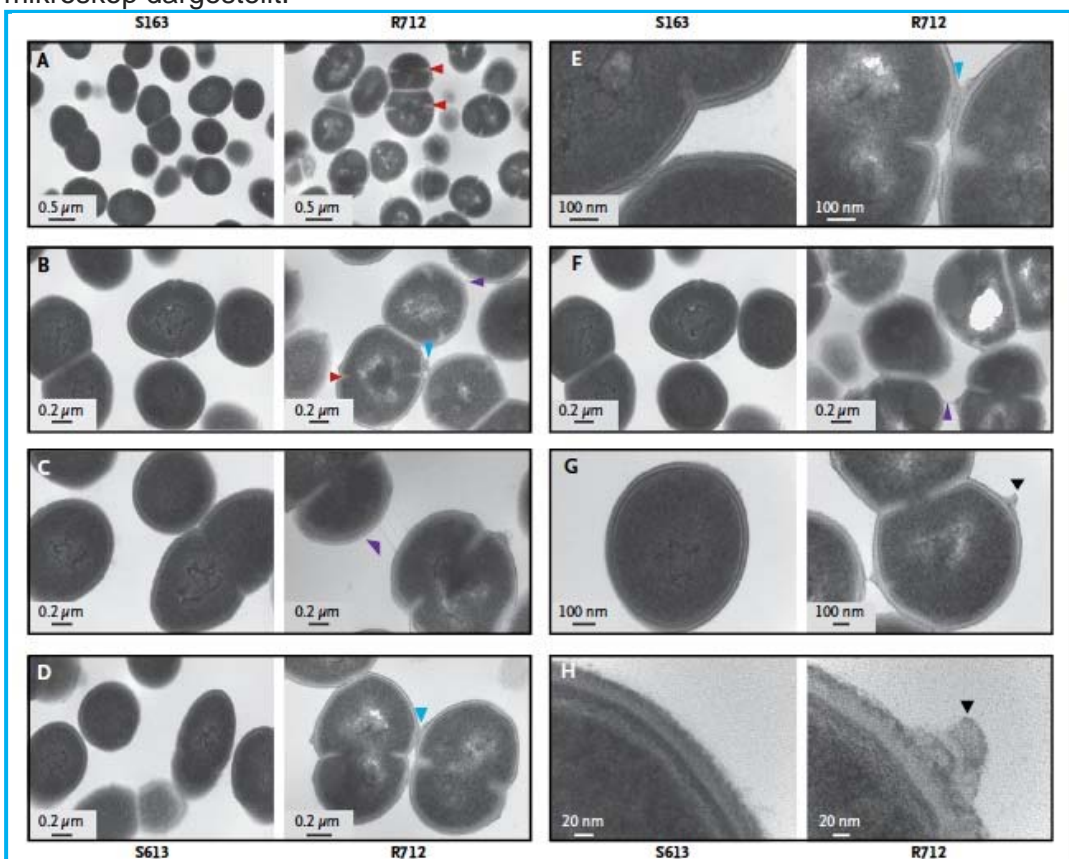


Figure 1. Transmission Electron Microscopy of the Cell Envelope of *Enterococcus faecalis* Isolates, One Susceptible to Daptomycin (S613) and the Other Resistant (R712).

At high magnification, cells in the S613 isolate have symmetric septa, with only a single septum observed between two cells, and cell separation is easily detected, with single cells visible (Panels A, B, and G). In contrast, multiple septal structures can be seen before complete cell separation in the R712 isolate (Panels A and B, red arrowheads). There are also prominent distortions in the cell envelopes of R712 cells. First, the envelopes appear to be altered at the point of cell contact (which is likely to be the point at which the cells separate) (Panels B, D, and E; blue arrowheads), and the surfaces of the R712 cells lack the smooth appearance of the S613 cells, even when they are in close proximity (a feature observed in all R712 cells analyzed) (Panel E). Second, several structures appear to be connecting the R712 cells (Panels B, C, and F; purple arrowheads); these connecting projections, which were not observed in S613 cells, appear to originate in the cell envelope and maintain the contact between adjacent cells even after the cells have separated. Third, localized protrusions of the cell envelope are a common feature of R712 cells (Panels G and H, black arrowheads). These protrusions were usually observed in proximity to a septal structure that appeared to originate from the cell envelope. On the other hand, the surface of S613 cells is smooth and symmetric, without any obvious projections or protrusions (more than 100 cells analyzed) (Panels G and H).

Womit wir bei Gram-positiven nicht wesentlich positiver schliessen können als bei Gram-negativen: Vermutlich müssen wir das Rennen gegen diese Resistenzentwicklung durch sorgfältigeren Einsatz von Antibiotika und mit anderen flankierenden Massnahmen (Hygiene, Impfungen) gewinnen.

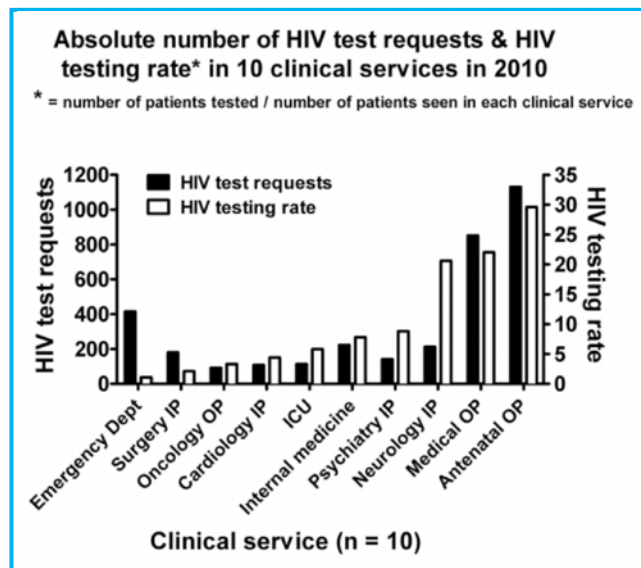
HIV

HIV-Testung: Noch längst nicht ausgeschöpft

Seit Jahren wissen wir, dass viele Personen mit einer HIV-Infektion zu spät, manchmal viel zu spät diagnostiziert werden. Dies ist eine wichtige Aufgabe für uns Ärztinnen und Ärzte. Nehmen wir sie ernst genug? Eine Untersuchung am Universitätsspital Lausanne (CHUV) ist dieser Frage nachgegangen und hat die Resultate in einem Poster zusammengefasst.

Die Autoren haben HIV-Testungen aus dem Jahr 2008 im CHUV mit denen aus 2010 verglichen. Die Resultate sind ernüchternd: Die Anzahl durchgeführter Tests hat sich im Zeitraum zwischen 2008 und 2010 (3'300 → 3'700) nicht wirklich erhöht. Besondere Aufmerksamkeit verdient aber die Tatsache, dass gerade die Abteilungen, wo man die höchste Testrate erwarten würde (z.B. Notfallstation, s. Abbildung) relativ geringe Testraten aufweisen.

Die Studie zeigt erneut auf, dass wir noch längst nicht dort sind wo wir sein sollten. Die Anzahl HIV-Testungen in der Schweiz ist mit gut 300'000 Tests pro Jahr zwar ausreichend, aber noch immer werden die falschen Personen getestet. Gerade dort, wo die höchsten Risiken bestehen, sollten wir vermehrt eine HIV-Testung durchführen. Nicht, dass all die Personen in diesen Einheiten HIV-infiziert sind, doch der Punkt ist, dass wir gerade in der Notfallstation viel häufiger HIV-Infektionen differentialdiagnostisch ausschliessen sollten.



Quelle: [Abstract H1-1405 Darling et al, ICAAC 2011](#)

HIV-Surveillance durch Sequenzanalysen: Die moderne Epidemiologie

Sabine Yerly hat mit ihrem Team und in Zusammenarbeit mit dem Kantonsarzt diese Analyse für die vergangenen 10 Jahre wiederholt. In dieser molekularen Analyse der frischen HIV-Infektionen der Region Genf wurden PatientInnen eingeschlossen, wenn sie aufgrund einer dokumentierten Serokonversion oder Nachweis von wenigen Antikörperbanden oder hoher Sequenzhomologie der HIV-Quasispezies eine relativ frische Infektion (<1Jahr) aufwiesen.

Die Autoren ([Ambrosioni et al. H1-1151](#)) haben in den Jahren 2008-10 insgesamt 142 PatientInnen mit neu diagnostizierter HIV-Infektion analysiert. Davon hatte die Hälfte (49%) eine frische Infektion (<1 J.). Bei diesen fand sich eine HIV-Resistenz in 10.6% (7% NRTI, 4% NNRTI, 5% PI, 4% 2 Klassen). 42% aller PatientInnen konnten einem Cluster zugeordnet

werden. Dabei konnten vorwiegend Männer, die Sex mit Männern haben (MSM), den gleichen Clustern zugewiesen werden. PatientInnen aus HIV-Endemiegebieten und denen mit Nicht-subtyp-B Infektion wurden viel seltener in Clustern erfasst, was zu erwarten war (Migration, chronische Infektion).

Diese Analyse beschränkt sich auf die Region Genf. Es wäre wünschenswert, wenn solche Analysen von Amtes wegen für die ganze Schweiz im Sinne einer molekularen Epidemiologie erstellt würden. Aus derart umfassenden Arbeiten liessen sich wichtige Schlüsse für die Präventionsarbeit ziehen.

CD4-Zellen: Immer noch ein wichtiger Marker der HIV-Immunschwäche

Das Kernproblem der HIV-Infektion ist noch immer die HIV-induzierte Immunschwäche. Wir messen diese durch die Verminderung der CD4-Zellen, auch wenn wir wissen, dass viele weitere Immunfunktionen durch die HIV-Infektion geschädigt werden.

In den letzten Jahren haben wir uns immer mehr auf die HIV-Suppression fokussiert und vielleicht die Erholung des Immunsystems zu wenig beachtet.

Am ICAAC wurden zwei Poster vorgestellt, welche sich wieder einmal um die Messung und Aussage dieses, etwas in Vergessenheit geratenen, einfachen Prognoseparameters kümmerten.

Prozent aussagekräftiger als absolute Zahl

Im ersten Poster ([Gordon et al, H1-1408](#)) wurde die Variabilität der CD4-Zellen untersucht. Wir wissen seit über 20 Jahren, dass für den Einzelnen die Messung der prozentualen CD4-Werte präziser sind. Eng damit verknüpft ist das CD4/CD8-Verhältnis, da die beiden prozentualen Anteile annähernd 100% sind. Bei der HIV-induzierten Immunschwäche fällt das Verhältnis unter 1. Die Australischen Autoren zeigten auch, dass unter der Therapie die Variabilität der CD4-Werte geringer ausfällt und die Variabilität bei HCV-Koinfektion deutlich grösser war. Doch bei Personen mit vollständiger Suppression der Viruslast über mehr als 3 Jahre bleibt die CD4-Variabilität sehr gering.

CD4/8-Verhältnis immer noch prognostisch wichtig

Im zweiten Poster einer Kanadischen Gruppe (Leung et al, H1-1409) untersuchten die Autoren, wie oft es bei einer HIV-Therapie zur Normalisierung der CD4/CD8-Ratio kam (>1.2) und inwiefern dieses Resultat das klinische Resultat verbesserte. Fast 4'500 PatientInnen (22% HCV-pos.) wurden knapp 3 Jahre lang beobachtet. Gerade 7% erreichten eine Normalisierung der CD4-Rate. Auch hier zeigte sich, dass die Normalisierung seltener eintrat, wenn die HIV-Therapie bei einem tiefen CD4-Wert (Nadir <200) eingesetzt wurde (HR 0.22; 1.16-0.31; <0.0001).

Der prognostische Aussagewert der Messgrösse zeigte sich auch in der Progressionsrate, doch nach Korrektur für andere prognostische Faktoren, verdünnte sich dieser Effekt. Letztendlich sind viele dieser Faktoren (Viruslast, Nadir CD4, Alter) miteinander verknüpft, so dass multivariate Analyse auch versagen. Doch es bleibt die immer wieder bestätigte Beobachtung: Wir müssen früher mit der Therapie beginnen!

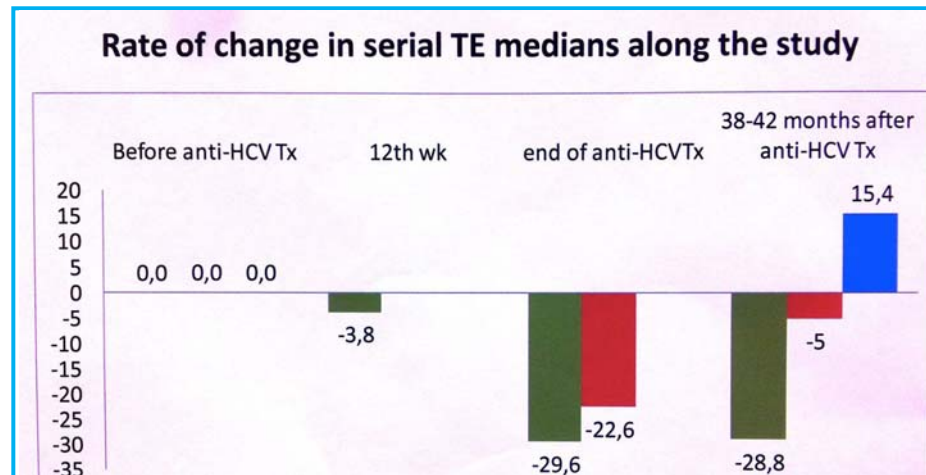
Hepatitis und HCV-/HIV-Koinfektionen

Leberfibrose wird besser unter HCV-Therapie

Meist wird eine Behandlung der HCV-Infektion erst dann eingeleitet, wenn die Leber bereits schon etwas geschädigt oder womöglich vor Übergang in eine Leberzirrhose ist. Lässt sich der Schaden durch die Therapie auch reduzieren?

Das ist in der Tat ein schwieriges Problem. Denn wir möchten Personen, deren Leber während einer HCV-Infektion ohne wesentlichen Schaden bleibt, auch nicht mit nebenwirkungsreichen Behandlungen belasten. Also beginnen wir mit der Behandlung meist dann, wenn bereits eine gewissen Schädigung stattgefunden hat. Den Schaden messen wir mit der Leberbiopsie, einer invasiven Methode. Seit einigen Jahren kann die Elastizität der Leber als Mass für deren Vernarbungsgrad (Fibrose) auch mit der Elastometrie (Fibroscan) gemessen werden.

Nun stellt sich die Frage, ob eine bereits fortgeschrittene Leberfibrose durch eine Therapie noch geheilt werden kann. Dieser Frage sind Autoren aus Spanien in einer longitudinalen, prospektiven Studie nachgegangen ([Carton et al, H3-812](#)). Sie haben HCV-/HIV-



koinfizierte PatientInnen vor und nach HCV-Therapie untersucht. Dabei fanden sie eine deutliche Abnahme der Lebersteifigkeit nach einer erfolgreich durchgeführten HCV-Therapie. PatientInnen, welche eine vollständige virologische Suppression auch 24 Wochen nach Therapie hatten, wiesen eine deutliche Reduktion der Fibroscan-Werte auf. In der Abbildung zeigt sich die Verbesserung der Fibroscan-Werte bei Therapieabschluss (zweites System von rechts) auch bei Patienten, welche später einen Relaps hatten (rot). Doch der anhaltende Effekt konnte nur gezeigt bei PatientInnen gezeigt werden, die eine anhaltende Virus-suppression hatten (grün, ganz rechts). Blau: KontrollpatientInnen ohne HCV-Therapie. Die Erholung der Fibrosewerte war bei HIV-koinfizierten deutlicher, wenn die CD4-Werte über 500 lagen.

Die Autoren fanden noch eine zweite gute Botschaft ([Carton et al, H3-813](#)): Patienten, welche nach initialem Therapieerfolg einen Relaps hatten (Responders-Replapsers), wiesen ebenfalls eine leichte Verbesserung der Fibroscan-Werte auf. Der Verlauf war signifikant besser als bei PatientInnen, die keine HCV-Therapie oder die kein primäres Ansprechen hatten.

TMC-435: Ein neuer Stern im HCV-Land?

Dieses Jahr ist ein grosses Jahr für die neuen HCV Medikamente. Protease-Hemmer, welche die HCV eigene Protease spezifisch hemmen, haben den Weg in den klinischen Alltag

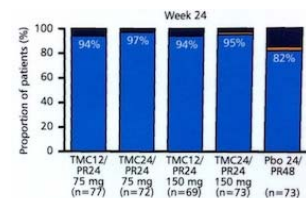
gefunden. Viele neue Substanzen stehen vor der Tür. Tibotec (Janssen) bringt einen neuen Protease-Hemmer, der Grosses verspricht.

Am ICAAC wurde von Fried et al, ([Abstract H3-815a](#)) ein Poster mit einer Interim-Analyse (Woche 24) des neuen Protease-Hemmers TMC-435 vorgestellt. Der Proteasehemmer vereint wirklich einige Eigenschaften, die wir von einem HCV-Medikament erwarten: Einmal tägliche Einnahme, unabhängig von der Nahrungsaufnahme, kein Boosting notwendig und - das dürfte am meisten verblüffen - Wirksamkeit gegen alle HCV Genotypen.

Intelligentes Studiendesign

Tibotec hat die Entwicklung mit einem interessanten Design der Phase 2 Studien vorangetrieben: Man hat versucht, gleich sehr viele Fragen präliminär zu klären: Als Dosisfindungsstudie wurden zwei Dosierungen (75/150mg) eingesetzt. Eine Studie (PILLAR) für zuvor un-

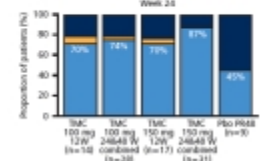
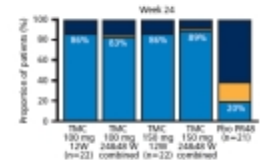
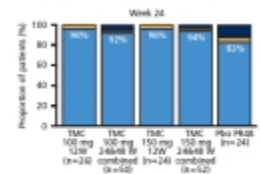
behandelte und die andere (ASPIRE) für Vorbehandelte (mit etwas höherer Dosis: 100mg/150mg). Aber auch verschiedene Behandlungszeiten wurden verglichen (12 vs. 24 Wo in PILLAR, 12/24/48 Wo in ASPIRE). Und in jeder Gruppe 60-80 Patienten ergibt dann schon eine recht grosse Phase-2 Erfahrung. Und um mit dem sich entwickelnden Markt vergleichbar zu sein, hat Tibotec in dieser Studie nur Patienten mit Genotyp 1 eingeschlossen. Selbstverständlich werden alle Behandlungen auf einem PEG-Interferon/Ribavirin-Hintergrund durchgeführt und die Behandlungsdauer mit Interferon bleibt unverändert.



Interim-Analyse

Am ICAAC wurde die Interim-Analyse beider Studien nach 24 Wochen gezeigt. Das heisst, dass alle Patienten noch unter einer PEG/RIBA Behandlung waren. Das erklärt auch die doch relativ hohe Suppressionsrate im Placebo-Arm der PILLAR-Studie (Unbehandelte, s. Abb. klick-Vergrösserung). Ein Ae Suppressionsrate von 82% unter Therapie ist für eine Standardbehandlung mit PEG-Interferon und Ribavirin bei Genotyp 1 schon beachtlich. Wir dürfen gespannt sein, wie die Behandlungsergebnisse aussehen, wenn die Therapie dann abgesetzt wird. Doch beeindruckend sind die guten Resultate (s. Abb.rechts) mit dem Protease-Hemmer, unabhängig von Dosis und Behandlungsdauer.

In der ASPIRE Studie (Vorbehandelt) wurde unterschieden nach der Art des früheren Therapieversagens:



Relapse: also Patienten mit guter Virussuppression unter Therapie aber Anstieg der Viruslast nach Therapie, partial responders (unvollständige Suppression der HCV-RNA) und Non-Responders (kein Effekt auf HCV-RNA).

Erwartungsgemäss hatte die letzte Gruppe im Placebo-Arm ebenfalls schlechte Resultate nach 24 Wochen (ca 40%) und bei den Relapsen (oberster Teil der Abb. links) war die Suppressionsrate wie bei der PILLAR Studie. Auch hier interessant erstens die gute Verträglichkeit über alle Dosierungen und eine hervorragende Wirksamkeit der Behandlung in allen vier Therapie-Armen, insbesondere ohne wesentlichen Dosiseffekt.

Tibotec hat aufgrund dieser Daten bereits die Phase 3 Studien geplant: In QUEST 1&2 werden zuvor Unbehandelte und in PROMISE Vorbehandelte eingeschlossen. Die tägliche Dosis wird aufgrund der guten Verträglichkeit 150mg während 12 Wochen betragen.

Das Poster ist auch als [PDF hier](#) abrufbar.

Hot Topics in Cystic Fibrosis (CF)



Aufgrund immer früherer Diagnostik mit multimodalem Therapieansatz (Physiotherapie, Optimierung der Ernährung, antibiotische Behandlung) zeigt sich ein kontinuierlicher Anstieg der Lebenserwartung auf bis nun 40 Jahre und darüber.

Die Pathogenese mit defektem Ionenkanal im Körper, basierend auf Mutationen des CFTR- (cystic fibrosis transductance receptor) exprimierenden Gens ist bekannt. Weniger bekannt ist aber nach wie vor der Grund für die Vielfalt des Phänotyps. Dazu gehört auch das Ausmass der Dysfunktion der Lunge. Eine sich im Verlauf verschlechternde Lungenfunktion und ein sich veränderndes Lungengerüst sind vom Ausmass her individuell unterschiedlich und mit zunehmender bakterieller Besiedlung verknüpft. Es scheint, dass hier entzündliche Prozesse eine zentrale Rolle spielen und zur Chronizität und Verschlechterung des Krankheitsprozesses beitragen. Verschiedene Referierende präsentierten in einer Session ihre Forschungsarbeiten und beleuchteten aus ihrem jeweiligen Blickpunkt die Problematik und versuchten, mögliche Antworten zu geben.

Epidemiologie

Die Epidemiologie der pulmonalen Besiedlungskeime änderte sich im Verlauf der Jahrzehnte: in den 50er Jahren herrschten Staph. aureus und Hämophilus vor. Ab den 60er Jahren kam Pseudomonas dazu, in den 80er Jahren B. cepacea und in den 90er Stenotrophomonas maltophilia und Achromobacter xylosoxidans. Schliesslich folgten noch MRSA und nicht-tuberkulöse Mykobakterien. Obwohl 75-80% der CF-Erwachsenen mit Pseudomonas kolonisiert und infiziert sind, geht in den industrialisierten Ländern die Prävalenz zurück. Bei Kindern unter 5 Jahren zeigt sich allerdings eine steigende Inzidenz, dies möglicherweise aufgrund einer aggressiveren Diagnostik.

Weltweit zeigt sich eine unterschiedliche Verteilung einzelner Pseudomonasstämmen, wobei einige hiervon (wie z.B. liverpool strain) per se mit schlechterem Outcome verbunden sind ([Aron JAMA 304:2145. 2010](#)). Burkholderia nimmt mit zunehmendem Alter zu: von 3-4% im Kindesalter auf bis zu 8% bei Erwachsenen. Sie unterteilt sich aktuell in 17 verschiedene Spezies (z.B. B. cenocepacia, multivorans, gladiola,...). Auch innerhalb der Burkholderia gibt es Veränderungen in Abhängigkeit von der Zeit, so ist beispielsweise die Prävalenz in den USA von B. cenocepacia sinkend, währenddessen B. multivorans während der letzten 10 Jahren auf dem Vormarsch ist ([LiPuma Clin Microbiol Rev 2010;23](#)). Bekannt sind auch besonders gut übertragbare und virulente Burkholderia wie z.B. B. dolosa SLC6. Von 2001 auf 2008 stieg bei CF-Patienten in den USA die MRSA-Prävalenz von 7.3% auf 22.6% und in 2010 auf 26% an. Bei Stenotrophomonas stieg die Prävalenz von 4% im Jahre 1996 auf 13.8% im Jahre 2010 an, bei Achromobacter von 1.9% auf 6.5%.

Interessant ist aber, dass individuell eine dynamische Kolonisationsflora besteht, so nimmt i.d. Regel die Kolonisationsvielfalt im Laufe der Zeit ab. LiPuma erwähnte zudem die Schwierigkeit, zeitübergreifende epidemiologische Vergleiche zu ziehen, da sich die Nomenklatur ständig ändert und dies dann bei solchen Vergleichen nicht mehr berücksichtigt wird

(z.B. *Pseudomonas pickettii* -> *Burkholderia pickettii* -> *Ralstonia pickettii*, innerhalb des Genus *Ralstonia* Wechsel von *R. respiraculi* zu *Cupriavidus respiraculi* etc.). Des Weiteren ist die Speziesidentifizierung im Labor nicht immer einfach / eindeutig und auch die Art der Datenregistrierung ist unterschiedlich. LiPuma weist auch darauf hin, dass mit dem „human microbiome project“ (kultur-unabhängige 16SrRNA-Analysen) in Zukunft noch viel mehr Bakterienstämme hinzukommen werden.

Rolle des Biofilms

Es ist bekannt, dass eine chronifizierte pulmonale Besiedlung mit *Pseudomonas* i.d. Regel mit chronischer Sinusitis einhergeht. Gemäss N. Hoiby aus Kopenhagen besteht zuerst eine polyklonale Biofilmbildung durch *Pseudomonas* in den Sinus, dann durch nächtliche Mikroaspirationen sekundär eine fortschreitende, pulmonale Besiedlung. Hoiby konnte zeigen, dass zum Zeitpunkt der Ausbildung der Sinusitis eine signifikant vermehrte Sekretion von IgA aus lymphatischem Gewebe des Rachenrings (Peyer Plaques) stattfindet.

Obwohl in den Biofilmen verschleimende Varianten von *Pseudomonas* vorherrschen, unterscheiden sich die Art der Biofilme strukturell in Sinus und Lunge: Im Biofilm der Sinus finden sich im Gegensatz zu den pulmonalen praktisch keine Entzündungszellen. Weiter besteht pulmonal eine Vielfalt pseudomonaler Clone in Abhängigkeit der anatomischen Lokalisation (präferentiell adhärentere (verschleimende) Clone von *Pseudomonas* am resp. Epithel resp. nicht mukoide Varianten in „Übergangszonen“, sog. „conductive“ zones). Dementsprechend spricht offenbar die antibiotische Behandlung eines Biofilms im Sinus viel schlechter an als pulmonal (im Frühstadium der Pseudomonaskolonisation pulmonal kann im Gegensatz zum Sinusbefall offenbar noch eine Eradikation stattfinden).

Ziel ist es, möglichst rasch eine beginnende Biofilmbildung in den Lungen zu erkennen und zu verhindern: dies wird derzeit einerseits mittels frühzeitiger (intermittierender od. dauernder) Antibiotikumbgabe versucht (s.u.). Andererseits könnte eine Kieferhöhlenchirurgie, wie sie derzeit in Kopenhagen durchgeführt wird, die pulmonale Besiedlung hinauszögern. Im Falle eines schon vorhandenen pulmonalen Biofilms kann nebst einer suppressiven antibiotischen (Inhalations-) Therapie mittels einer Dauertherapie von Azithromycin die entzündliche Aktivität verringert werden, was in der anschließenden Diskussion zum Einwand führte, dieser Effekt sei an der Population von CF schwierig zu beweisen und führe bekanntlich zu Keimresistenzen (z.B. von *Haemophilus* und *Streptokokken*).

Host responses to pseudomonas colonization

Auch Barouk M. Assael aus Verona beschäftigt sich mit der Frage nach dem Grund für die Variabilität des Phänotyps. Mehrheitlich trifft zu, dass zumindest teilweise das Ausmass des Defekts des Cl-Ionenkanals mit dem Krankheitsload korreliert, aber eben nur teilweise. Es ist so, dass ein und dieselbe CFTR-Mutation mit einer grossen interindividuellen Variabilität von Lungenveränderungen einhergehen kann.

Weshalb hat 1/3 der in Verona betreuten CF-Patienten eine normale Lungenfunktion? Je früher *Pseudomonas* akquiriert wird, desto schlechter die Prognose. Faktoren, die die Akquirierung von *Pseudomonas* beeinflussen, sind die Art der CFTR-Mutation, der Ernährungsstatus, das Geschlecht, die Art der „host defense“ (z.B. Art der Zytokinantwort) und weitere genetische Faktoren. Als weiterer modulierender genetischer Faktor gilt beispielsweise die Codierung von Pentraxin (PTX3), einer Komponente des angeborenen Immunsystems. Pentraxin ist wichtig zur Erkennung und Bindung von *Aspergillus* und *Pseudomonas*. Pentraxin-

knock-out-Mäuse sterben nach pulmonaler Infektion mit *Pseudomonas* und überleben aber nach Gabe von PTX3 aufgrund einer verbesserten Rekrutierung von neutrophilen Leukozyten mit effektiverer Zytokinstimulation und letztendlich Verringerung des *Pseudomonas*loads ([Chiarini, Genes and Immunity 2010](#)). Ein weiteres Beispiel ist das ABCC1-Gen, dessen Proteinprodukt in der Toleranz von *Pseudomonas* verantwortlich zu sein scheint ([Mafficini, Amer J Cystic Fibrosis 2011](#)). Aus klinischer Sicht wird neben Azithromycin auch Ibuprofen mit anti-entzündlicher Aktivität erwähnt.

Nicht tuberkulöse Mykobakterien (NTMB), Kenneth N. Olivier

Nicht tuberkulöse Mykobakterien gelten als „emerging pathogen“. In den USA sind 10% der CF-Jugendlichen damit besiedelt, im Erwachsenenalter nimmt die Prävalenz bis auf ca. 40% zu ([Olivier AJRCCM 03](#)). Insgesamt gibt es ungefähr 150 Arten von NTMB. Bei CF-Patienten sind hiervon ca. 70% *M. avium* und rund 20% *M. abscessus* (bei Kleinkindern höherer Anteil von *M. abscessus*).

Bekanntlich ist der Nachweis atypischer Mykobakterien nicht gleichbedeutend mit Implikation einer Therapie. Derzeit gelten hier die Guidelines von ATS/IDSA (Therapie im Falle von Klinik, typhischen Infiltraten, Ausschluss anderer Ursachen, wiederholtem Nachweis), wobei im Setting von CF-Patienten der Ausschluss anderer Ursachen (strukturelle Veränderungen durch *Pseudomonas*) besonders schwierig ist. Wahrscheinlich lässt es sich mit diesem Bias auch erklären, dass die Prävalenz einer *Infektion* bei älteren Patienten mit 60% deutlich höher als bei Kindern liegt. Bezüglich Resistenzbildung durch Azithromycin besteht Besorgnis, eine induzierbare Resistenz (Gen *erm41*) bei *M. abscessus* ist bekannt (im Gegensatz beispielsweise zu *M. Massiliense*). Im Tierversuch fand unter Azithromycin eine verminderte Clearance von *M. abscessus* statt. Dementsprechend besteht die Sorge zunehmender Prävalenz und Pathogenität von *M. abscessus*.

Antibiotische Inhalationstherapien

Inhalative Antibiotika werden bei CF-Patienten intermittierend oder als Dauertherapie angewandt. Die Rationale für die frühe therapeutische (in der Literatur z.T. auch als prophylaktisch bezeichnete) Intervention ist, dass eine Biofilmbildung durch die Persistenz des Entzündungsprozesses mit fortwährender Lungenstrukturpathologie einhergeht, was möglichst verhindert werden soll (s.o.). Durch die Inhalation können hohe Konzentrationen am Ort der Pathologie erreicht werden, wobei kleine Atemweglumina und zäher Schleim dieses Ziel auch boykottieren können. Gegen zähen Schleim werden z.T. vorgängig auch mucolytische Substanzen inhaliert (z.B. DNA-se). Zugelassene antibiotische Inhalativa sind u.a. Tobramycin (als Pulver od. flüssig), Aztreonam und Colistin. In Entwicklung sind Fofomycin und Ciprofloxacin.

Ein [Cochrane Review von G. Ryan 2011](#) fasste 17 Trials zusammen, die unter eradizierender (Frühintervention) oder suppressiver (Spätintervention) Therapie den Outcome untersuchten und innerhalb 6-12-monatiger Anwendung eine verbesserte Lungenfunktion und verminderte Infektexazerbationen zur Folge hatten (beste Resultate für Tobramycin). Bei der Frühintervention erstaunt es nicht, dass das Ziel der Eradikation in 10-15% nicht erreicht wird ([Tramper 2010](#)). Ein Cochrane Review aus dem Jahre 2009 ([Langton Hewer](#)) ergab bei den inhalativen Antibiotika einen Nutzen i. Vgl. zu Placebo und keinen Vorteil eines bestimmten Antibiotikums, wobei neben den inhalativen auch Ciprofloxacin p.o. eingeschlossen war. Treggiari et al. ([Arch Pediatr Adolesc Med 2011 165\(9\)](#)) wiesen unter den Inhalativa auf den

vermehrten Nachweis (bis 20%) von *Stenotrophomonas maltophilia*, also einer Selektionsflora, hin.

In der inhalativen Pipeline sind Cephalosporine (z.B. Ceftobiprol), anti-mikrobielle Peptide und Proteine sowie Proteaseinhibitoren (Elafin). Des Weiteren könnte eine Induktion von Phagen ([Rolain 2011](#)) ein Therapieansatz sein. Eine *Pseudomonas*-Vakzine zeigte bisher keinen Erfolg. Aus Gründen pseudomonaler Resistenzbildung und der Selektionsgefahr multiresistenter Bakterien wäre es mehr als wünschenswert, eine gut wirksame, nicht antibiotische, antientzündliche Substanz zur Verfügung zu haben.

Reiserückkehrende mit Fieber

Diagnostik und Entscheidungsschritte

Frau V. D'Acremont vom Universitätsspital Lausanne, Schweiz, hielt einen exzellenten Vortrag über Diagnostik und Entscheidungsschritte bei V.a. Malaria. Wieder einmal wurde betont, dass bei fiebrigen Reiserückkehrenden aus einem Malaria-Endemiegebiet, unabhängig von der Symptomatik, Malaria in die Differentialdiagnose mit einbezogen werden muss.

Die Referentin erinnerte an die Aetiologien von Reiserückkehrenden mit Fieber, z.B. gemäss einer Studie durch Bottieau ([Arch Int Med 2006](#)) mit zu 45% tropischen Erkrankungen, insgesamt 31% Malaria und zeigte auch eigene Daten (Rossi 2011, eingereicht) mit zu 22% tropischen Erkrankungen, 10% Malaria, 4% „typhoid fever“, 4% Dengue, 3% Rickettsiosen. Ähnlich wie die grosse belgische, tropenmedizinische Datenbank „Kabisa“ bietet auch die Universität Lausanne eine elektronische Entscheidungshilfe betreffend möglicher Differentialdiagnosen bei Rückkehrenden aus den Tropen an. Beispielsweise ergibt sich schon nur anhand der Reisedaten und des Symptombeginns im Abgleich mit Inkubationszeiten verschiedener Erkrankungen eine erste Selektion möglicher Entitäten (www.fevertravel.ch, Fassung 2005, Neufassung in Bearbeitung).

Kommt aetiologisch eine *M. falciparum* in Frage, ist insbesondere bei Patienten ohne Teilimmunität (also Touristen ohne Migrationshintergrund oder Reisende mit Migrationshintergrund aus einem Endemiegebiet und schon längerem Aufenthalt ausserhalb eines Endemiegebiets) eine rasche Entscheidung darüber notwendig, wie wahrscheinlich eine Malaria vorliegen könnte, damit zeitgerechte therapeutische Schritte eingeleitet werden können. Damit sollen schwere, potentiell letale Verläufe möglichst früh abgewendet werden.

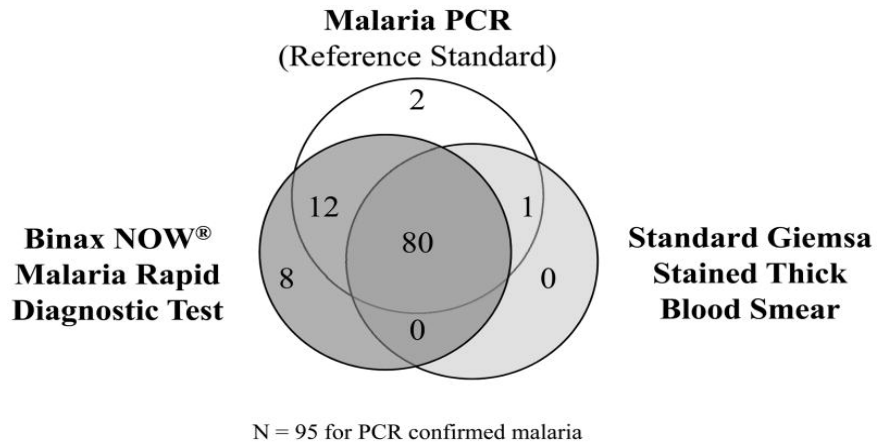
Bereits mit klinischen Prädiktoren wie z.B. inadäquate Einnahme einer Malariaprophylaxe, Höhe des Fiebers, fehlender Leukozytose kann eine Vortestwahrscheinlichkeit berechnet werden ([D'Acremont V., Am J Trop Med Hyg 2002;66\(5\)](#)).

TABLE 5
Test performance of the predictors of malaria*

Condition	Sensitivity, % (95% CI)	Specificity, % (95% CI)	Likelihood ratio for positive test (95% CI)	Likelihood ratio for negative test (95% CI)
Inadequate prophylaxis	84 (74-90)	47 (41-54)	1.6 (1.4-1.8)	0.35 (0.22-0.54)
Sweating	68 (58-77)	54 (47-60)	1.5 (1.2-1.8)	0.60 (0.43-0.80)
No abdominal pain	81 (72-88)	32 (26-39)	1.2 (1.0-1.4)	0.58 (0.36-0.89)
Temperature $\geq 38^{\circ}\text{C}$	57 (46-67)	75 (69-81)	2.3 (1.7-3.0)	0.58 (0.45-0.72)
Poor general health	30 (21-40)	92 (87-95)	3.6 (2.1-6.0)	0.77 (0.66-0.86)
Enlarged spleen	23 (15-33)	98 (96-99.5)	13.6 (5.0-36.8)	0.79 (0.69-0.86)
Hemoglobin < 12 g/dL	16 (9-25)	97 (93-98)	4.6 (2.1-10.3)	0.88 (0.79-0.94)
Leucocytes $\leq 10 \times 10^3/\mu\text{L}$	97 (91-99)	27 (22-33)	1.3 (1.2-1.5)	0.11 (0.04-0.33)
Platelets < $150 \times 10^3/\mu\text{L}$	60 (49-70)	95 (91-97)	11.0 (6.4-19.1)	0.43 (0.33-0.53)
Eosinophils < 5%	95 (88-98)	12 (8-17)	1.1 (1.0-1.2)	0.43 (0.17-1.02)

* 95% CI = 95% confidence interval.

Wie gut sind die aktuell verfügbaren, labor-diagnostischen Methoden? Wie gut ist der vermeintliche Goldstandard der Ausstrich-Mikroskopie (inkl. „dicker Tropfen“)? Sind die verfügbaren Schnelltests genügend sensitiv? Stauffer et al. ([CID 2009;49](#)) untersuchten multizentrisch prospektiv das Blut von 852 Reiserickekehrenden. Ausstrichdiagnostik und Schnelltest (RDT=rapid diagnostic test) wurden im Vergleich zu PCR-Untersuchungen gewertet. Hierbei ergab sich bei 11% der Rückkehrenden (n=95) ein positiver PCR-Befund. 80 Fälle wurden sowohl durch die Ausstrichdiagnostik wie durch den RDT detektiert. Der RDT vermochte zusätzlich 12 und der Ausstrich zusätzlich 1 pos. Resultat zu identifizieren. Zusätzlich dazu identifizierte die PCR-Methode 2 weitere Resultate. Der RDT detektierte 8 Proben als falsch-positiv (s. Abb. rechts). Somit resultierten für den RDT overall eine Sensitivität von 97% und für den Ausstrich 85%. Beide Methoden verpassten mehrheitlich Fälle von Nicht-Falciparum Malaria (Sensitivität RDT für *M. falciparum* 100%, Ausstrich 88%). Der negative prädiktive Wert für den RDT betrug 99.6% vs. 98.2% beim Ausstrich (p=0.003).



Die guten Resultate von RDT wurden auch durch andere Autoren bestätigt ([Ochola, Lancet Infect Dis 2006](#) und [Marx, Ann int Med 2005](#) (Metaanalyse), Lausanner Gruppe, Daten eingereicht), wobei die obengenannten Daten sich auf die Tests der neueren Generation (Antigen HRP2) beziehen (ältere Testgenerationen schneiden etwas schlechter ab).

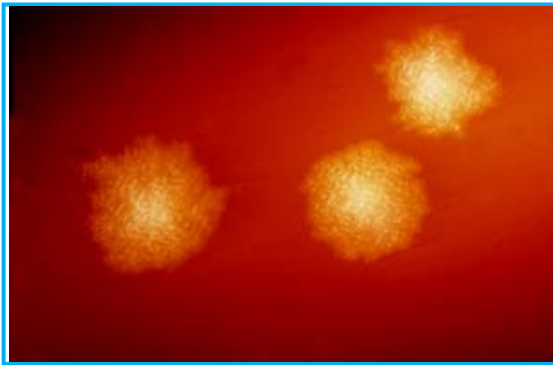
Es muss allerdings nachdrücklich erwähnt werden, dass die Resultate für ein Kollektiv von Reiserückkehrenden mit insgesamt eher tiefgradigen Parasitämien gilt (was auch die hohe falsch-negative Rate mittels mikroskopischer Beurteilung erklärt). Schnelltests der neueren Generation zeigen gemäss einer kürzlich publizierten Studie durch [Gillet Ph et al. \(Malaria J 2011;10\)](#) in einem Hochendemiegebiet mit Parasitämien >4% eine hohe Rate an falsch-negativen RDTs (6.7 - 38.2%). Dies ist aufgrund des bekannten (von der Referentin nicht erwähnten) „Prozone“-Effekts im Sinne eines deutlichen Ungleichgewichts von Antigen und Antikörper (Testresultat mit fehlender oder schwach ausgebildeter positiver Testmarke, unter 10-facher Verdünnung (mit NaCl) positiv werdend). Interessanterweise zeigte sich mittels RDT der älteren Generation (Antigen Pf-pLDH) kein einziges Prozone-Phänomen!

Die Referentin zeigte den im Universitätsspital Lausanne durchgeführten Algorithmus bei Reiserückkehrenden mit Fieber zum Zeitpunkt des nicht routinemässig vorhandenen Labors im Hause (nachts): Beurteilt werden Klinik (Prädiktoren, s.o.) und der RDT. Besteht eine niedrige Vortestwahrscheinlichkeit und fehlen Zeichen einer schwergradigen Malaria (sog. "danger signs") wie z.B. ein Verwirrheitszustand oder eine Thrombozytopenie <100G/l wird bei negativer RDT die Mikroskopie am folgenden Tag durchgeführt und der Patient nicht gegen Malaria behandelt. Falls aber das eine oder das andere Kriterium (RDT oder "danger signs") positiv ist, wird unmittelbar mit der Behandlung begonnen. Im Falle von „danger

signs“ wird innerhalb von 3 h eine notfallmässige Mikroskopie (mit Frage nach Ausmass der Parasitämie) durchgeführt. Mit einem solchen Algorithmus konnte retrospektiv eine Ersparnis bis zum Therapiebeginn von 2.1 h gezeigt werden (Rossi 2011, eingereicht). Abschliessend bemerkte die Referentin, dass es natürlich keinen global besten (Labor-) Test gibt, aber vermutlich der PCR zum Goldstandard avancieren wird.

C. difficile: Labordiagnostik

Welche ist die beste Nachweismethode? (Karen Carroll, John Hopkins University)



Was ist ein guter Test? Soll er die bestmögliche Sensitivität und Spezifität aufweisen? Oder ist der beste Test der, mit dem schnellsten Resultat, wenn es um pseudomembranöse Colitis geht? Die Referentin schickte voraus, dass der Zellkultur- / Cytotoxin- Neutralisationstest und die toxikogene Kultur aufgrund der langsamen (bis zu mehreren Arbeitstagen) Methode und modernerem zur Verfügung stehendem Arsenal (z.B. Molekulardiagnostik) nicht mehr zeitgemäss sind.

Es gibt derzeit 5 Testmethoden:

- *Zellkultur und Cytotoxin-Neutralisation (CCNA)*
- *EIA für Toxin Nachweis (A / B)*
- *Glutamat-Dehydrogenase-Test (+ ev. zusammen mit Toxin-Test)*
- *„toxicogenic culture“ (Kultur, Toxinnachweis A mit EIA)*
- *Molekulardiagnostik: NAAT = nucleic acid amplification test: Test mit Angriffspunkt der chromosomal lokalisierten Gene, die ein Toxin (meistens Toxin B tcdB) codieren*

Der Zellkultur- / Cytotoxin-Neutralisationstest gilt als der historische Goldstandard: Kultur von *C. difficile* auf selektiven Medien, dann Beimpfung der Kolonien auf Zellkulturen mit Frage nach zytopathischem Effekt. Zur Bestätigung des zytopathischen Effekts wird anschliessend ein Neutralisationstest mittels Toxin-Antikörpern durchgeführt.

Die Toxin-Testungen (EIA) alleine werden häufig eingesetzt, sind rasch verfügbar und günstiger als die herkömmliche Zellkultur mit Cytotoxin-Neutralisationstest, dafür ist aber die Sensitivitätsrate mit minimal bis zu 38% insgesamt schlecht ([Planche T, Lancet Infect Dis 2008;89\(3\):288-95](#): review von 6 verschiedenen Toxin A/B-Test mit Resultat einer Sensitivität von 60-81%, Spezifität um 91%; [Eastwood K, J Clin Microbiol 2009;47\(10\):3211-7](#)).

Die Glutamatdehydrogenasen-(GDH-)Testung ist ein Enzym-Immunoassay (EIA) und hat insgesamt einen sehr hohen negativen prädiktiven Wert. Die Sensitivität ist im Vergleich zum Goldstandard ebenfalls mit 96-98% sehr hoch. Alleine angewandt, findet sich allerdings eine tiefe Spezifitätsrate, da das Resultat Toxin-unabhängig erfolgt. In Kombination mit einem CCNA im Falle einer Positivität ([Ticehurst JR, J Clin Microbiol 2006; 44\(3\), 1145-49](#)) oder einem direkten Toxinnachweis ([Quinn CD J Clin Microbiol 2010;48\(2\):603-5](#)) kann die Spezifität sekundär wieder erhöht werden.

Die Methodik der toxigenischen Kulturen ist nicht standardisiert und dauert bis zu 5 Tagen. Verglichen mit EIA-Toxinnachweisen ergibt sich hierfür aber eine Sensitivitätsverbesserung von ca. 23%.

Mit der Molekulardiagnostik (Nachweis von DNA) steht das Resultat innert 2 h zur Verfügung. Als „target“ gilt das Gen, welches das Toxin A oder B codiert. Im Vergleich zum bisherigen Goldstandard zeigt sich eine Sensitivitätsrate von 77-100% ([Carroll KC, Bartlett JG, Annu Rev Microbiol 2011](#)). Allerdings ist der Preis mit 25-50 US Dollar/Untersuchung recht hoch. Die Referentin stellt einen möglichen Algorithmus vor: GDH-Test mit Toxinnachweis, falls negativ: zusätzlich PCR.

Externe Statistik, in-house-Realität und die grosse Unbekannte

Der zweite Referent aus England, M. Wilcox, wies auf einige wichtige statistische Grundregeln hin. Er präsentierte eine Tabelle mit völlig verschiedenen Prävalenzraten mehrerer Europäischer Länder mit *C. difficile*-Toxin-Nachweis. Die Bedeutung der Einschätzung der Positivität (PPV) eines Tests hängt direkt von der Prävalenz der auftretenden Erkrankung ab ($PPV = \frac{SEN \times PREV}{\{SEN \times PREV + (1 - SPEZ) \times (1 - PREV)\}}$). Daher hat die an einem Ort mit einer bestimmten Erkrankungs-Prävalenz ermittelte Sensitivität / Spezifität eines Tests eine andere Bedeutung als an einem Ort mit anderer Erkrankungs-Prävalenz. Hinzu kommt, dass es bei der pseudomembranösen Colitis aufgrund des Tests de facto unmöglich ist, Gesunde von Kranken zu unterscheiden (*C. diff.* Toxin wird noch während längerer Zeit auch nach Überwindung der Erkrankung ausgeschieden. Das heisst im Falle einer Durchfallerkrankung ohne pseudomembranösen Ursprung aber mit positiver Anamnese fällt der Test aus klinischer Sicht falsch positiv aus). Es ist letztlich so, dass aus klinischer Sicht die Rate der positiven Tests eher überbewertet ist, sowohl bei Durchfallerkrankungen wie auch bei fehlendem Durchfall. Ausserdem resultiert aus der bisher an kleineren Kollektiven untersuchten und validierten Tests naturgemäss ein jeweils grosses Konfidenzintervall .

Der Referent präsentierte eine laufende Studie aus England (unter seiner Federführung) mit 13'000-14'000 Patienten (Erfassung aktuell während 1/2 Jahr, es ist ein weiteres 1/2 Jahr geplant). Im Studiendesign werden alle 4 Testmethoden durchgeführt, um damit den Goldstandard (Cytotoxigene Kultur vs. Cytotoxin-Test) zu definieren und die Sensitivität / Spezifität für Kombinationen verschiedener Tests zu untersuchen. Es findet eine partielle Korrelation mit klinischen Daten im Sinne von vorhandenen Letalitätszahlen statt. Präliminäre Daten zeigen in Annahme des Goldstandards cytotoxigene Kultur eine Sensitivität des GDH alleine von 93.6%, in Kombination mit NAAT um 89.8%; in Annahme des Goldstandards Cytotoxin-Test für den GDH eine Sensitivität von 92.1% vs. kombiniert mit NAAT von 94.6%. Erwartungsgemäss weisen die eruierten Sensitivitäten und Spezifitäten ein kleines Konfidenzintervall auf.

Revenue und Ausblick in die Entwicklung von Impfstoffen

Rino Rappuoli ist ein Forscher, der bei Novartis angestellt ist und bereits seit 30 Jahren die Impfstoffentwicklung prägend mitbestimmt. Er fasste die Möglichkeiten und Grenzen der Impfstoffentwicklung zusammen.

Zu Zeiten Pasteurs wurden zur Vakzineherstellung die Erregerisolation - Inaktivierung und Injektion - notwendig. Inaktivierung eines Erregers bedeutet Abtötung, lebende Attenuierung oder Zerstückelung („subunit“). Als Beispiel eines lebend attenuierten Impfstoffs gilt bekanntlich die Polio-Schluckimpfung. Die heute zur Verfügung stehenden Technologien zur Vakzineherstellung sind: rekombinante DNA, Glykokonjugation, „reverse vaccinology“ Dement-

sprechend sind künftige Impfungen recombinante Hepatitis B, azelluläre Pertussis, Glyco Hib etc.

Aber nicht nur die Technik ändert sich. Auch das Zielpublikum wandelt sich: Bisherige Impfstrategien sind vorwiegend auf Kinder ausgerichtet. Die Altersstruktur zeigt aber in die andere Richtung: viele Erwachsene, sehr viele mit höherem Alter. (Z.T. künftig zu entwickelnde) Impfstoffe für Erwachsene könnte bedeuten, gegen CMV, Gruppe A Streptokokken, Candida, e. coli, Staph. aureus, C. diff. und Carzinome wie Brustkrebs, Colorectal und Prostata zu impfen. Danebst könnten auch Vakzine für gewisse Populationen entstehen (chronische Erkrankungen, unter der Armutsgrenze Lebende, Reisende...).

Rappuoli präsentierte noch einige konkrete Beispiele:

- Konjugatsvakzine: Die Technologie der Konjugierung kam erst in den 90er Jahren mit der Meningokokken-Impfung gegen die Typen A, C, W und Y auf. Allerdings kann mit dieser Technik bis heute kein Impfstoff gegen Typ B entwickelt werden, da die Kapsel von Men B gleiche Sequenzen wie eine Polysaccharidase des menschlichen Gewebes aufweist. In Entwicklung ist aber beispielsweise eine Konjugatimpfung gegen Salmonella typhi, die (da rel. kostengünstig) in nicht industrialisierten Ländern eingesetzt werden könnte.
- „Reverse vaccinology“: Mit dieser Art von Vakzine ist eine Impfung gegen Meningokokken Typ B entstanden. Beschreibung der Methode: das Genom des Erregers wird typisiert. Dann versucht man herauszufinden, welche Gene die grösste Antigenizität besitzen. Bisher wurden bei Men B 30 Gene mit hohem Antigen-Potential identifiziert. Es existiert nun bereits eine mit 3 Antigenen hergestellte Impfung, die im Jahre 2000 durch Pizza et al. ([Science 2000 Mar 10;287\(5459\):1816-20](#)) beschrieben und seither erfolgreich getestet wurde. Es ist damit zu rechnen, dass der Impfstoff nächstes Jahr die Zulassung erhält. Mit der „reverse vaccinology“ sind grundsätzlich auch Impfungen gegen Malaria, Yersinia, C. diff und Pseudomonas konzipierbar.
- Die Wirkungssteigerung eines Impfstoffes kann bekanntlich durch die Adjuventierung (MF 59) erreicht werden: hiermit ist die in den 90er Jahren entwickelte, dem Impfstoff beigegebene Emulsion aus Öl in Wasser gemeint, die als Bestandteile Squalen, Polysorbat und Sorbitantriolate enthält. MF 59 wird in gewissen H1N1-Impfstoffen eingesetzt. Durch die Adjuventierung wurde z.B. bei Fluvad® eine Steigerung des Impferfolgs von 36 auf 89% (über alle Altersgruppen) erreicht.

„Platelets: the other white cell“

Dieser spannende Vortrag war Teil einer Session über endovaskuläre Infektionen (die restlichen Vorträge brachten leider keine grossen Neuigkeiten).

Wirbellose kennen sogenannte Hemozyten, die je nach Bedarf unterschiedliche Funktionen ausüben: Hämostase oder Infektabwehr. Bei Säugern glaubte man lange an zellgebundene, getrennte Funktionen von Thrombozyten (Hämostase), Leukozyten (Entzündungsaktivität) und Lymphozyten (Immunabwehr). Dem ist aber natürlich nicht so! So stellt umgekehrt die Thrombopenie beispielsweise einen unabhängigen Risikofaktor für Infektanfälligkeit (Pneumonie, Bakteriämie, Fungämie) und für das Auftreten spezifischer Erkrankungen, wie die lymphozytäre Choriomeningitis dar!

Reife Thrombozyten unterscheiden sich morphologisch durch die Art zytoplasmatischer Granula: Delta-Granula weisen in hoher Konzentration Mediatoren zur Modulation des Vasoto-

nus auf (z.B. Serotonin), Alpha-Granula Proteine zur Hämostase und Adhäsion (z.B. Fibrinogen, von Willebrand Faktor) wie zur Reparatur von Endothelien und auch zur Microbicidität. Gamma-Granula enthalten Enzyme zur Auflösung von Thromben. Spezifische Agentien fördern spezifische Degranulationen (z.B. induziert ADP eine Delta- und Alpha-Degranulation).

Thrombozyten funktionieren modular („form follows function“) und sind also z.B. in die Koordination von Abwehrmechanismen integriert („immune syntax“). Thrombozyten können antigene Strukturen durch eigene TLR (toll like receptor) erkennen, was dann eine direkte antimikrobielle Kaskade zur Folge hat (z.B. Ausschüttung antimikrobieller Peptide). Werden Thrombozyten antimikrobiell aktiviert, kommt es auch zur Strukturänderung (Metamorphose) von primär discoidem zu amöboidem Zustand. Die Metabolik wird aktiviert und Rezeptoren werden exprimiert, die eine vermehrte Adhäsion zu verletztem oder infiziertem Gewebe aufweisen, zudem wird die gezielte Motilität zu entzündetem Gewebe hin gesteigert, Superoxide werden generiert und Pseudopodien werden verlängert, welche sowohl mit Mikroben wie mit körpereigenen Zellen interagieren können.

Thrombozyten sind auch Sensoren für Signale endothelialer Infektionen (sensing von strukturell veränderter Oberflächenproteinen) und sind die am raschesten mobilisierte und zahlenmäßig grösste Zellreihe, die am Ort einer vaskulären Infektion kumulieren.

Über TLR4 können Lipopolysaccharide (LPS) die thrombozytäre Ausschüttung von Zytokinen, antimikrobiellen Peptiden („platelet microbicidal proteins“ = PMPs) und Kinocidinen bewirken. Thrombozytäre TLR4 weisen zudem aber auch neuartige Mechanismen der Immunabwehr auf: nach einem Sensing antigener Strukturen wird (mittels Detektion körpereigener Liganden) eine Plättchenadhäsion induziert, was ein Andocken neutrophiler Leukozyten zur Folge hat. Dies wiederum führt zur Neutrophilen-Aktivierung mit konsekutiver Bildung neutrophiler extrazellulärer Fallgruben („traps“), sogenannte NETs ([Clark SL et al. 2007. Nat Med 13:463-9](#)). Solche NETs fangen bakterielle Antigene ab und finden sich vorzugsweise in fenestrierten Geweben wie z.B. in Lebersinusoiden und pulmonalen Kapillaren. Es ist somit vorstellbar, dass Thrombozyten durch die Interaktion mit Neutrophilen die bakterielle Clearance verstärken.

Die antimikrobielle Funktionalität von Thrombozyten ist untenstehend exemplarisch anhand der Interaktion mit staph. aureus dargestellt: auf zellulärer Ebene (A) bewirken Staphylokokken via spezifischer Rezeptoren eine metamorphotische Aktivierung von Thrombozyten mit Degranulation (Ausschüttung von PMP's und Kinocidinen (PK's), die in höheren Konzentrationen staphylocid wirken) und Sekretion von ADP/ATP, welche ihrerseits die Plättchenaktivierung fortsetzen. Auf molekularer Ebene (B) werden die spezifischen Rezeptoren P2Y und P2X ersichtlich, die die Ausschüttung von PMPs, PKs (aus Alpha-Granula) und ADP/ATP (aus Delta-Granula) induzieren.

