

Aus der Medizinischen Klinik III der  
Universität zu Lübeck  
Direktor: Prof. Dr. med. P. Zabel

---

***Chlamydia pneumoniae* Infektionen des Respirationstraktes**

Erregerpersistenz und Triggerung  
inflammatorischer Atemwegserkrankungen

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde der Universität zu Lübeck

– Aus der medizinischen Fakultät –

Vorgelegt von

**Liv Gunilla Linnea Witte**

aus Bad Oldesloe

Lübeck 2009

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. K. Dalhoff

2. Berichterstatter: PD Dr. med. J. Rupp

Tag der mündlichen Prüfung: 03.11.2009

Zum Druck genehmigt: Lübeck, den 03.11.2009

Gez. Prof. Dr. med. Werner Solbach

-Dekan der Medizinischen Fakultät-

<b>1. EINLEITUNG.....</b>	<b>6</b>
<b>1.1 PNEUMONIE.....</b>	<b>6</b>
<b>1.2 CHLAMYDIA PNEUMONIAE.....</b>	<b>7</b>
Entwicklungszyklus .....	7
Assoziierte akute Atemwegsinfekte.....	9
Erregernachweis und Epidemiologie .....	9
Kardiovaskuläre Erkrankungen .....	11
Chronisch obstruktive Atemwegserkrankungen .....	12
Pathomechanismus der chlamydieninduzierten Entzündung .....	13
<b>1.3 ZIELSETZUNG .....</b>	<b>16</b>
<b>2. MATERIAL UND METHODEN.....</b>	<b>17</b>
<b>2.1 ALLGEMEINES .....</b>	<b>17</b>
Studienaufbau .....	17
Erhebung der klinischen Befunde.....	18
<b>2.2 SPUTUMPROBEN.....</b>	<b>19</b>
Gewinnung .....	19
Erstellung von Zytospins und Überstandgewinnung.....	19
<b>2.3 ERREGERNACHWEIS .....</b>	<b>20</b>
<b>2.4 ZYTOKINE .....</b>	<b>21</b>
Vorversuche IL-1 $\beta$ .....	21
<i>Wiederfindungsrate des hinzugefügten IL-1<math>\beta</math></i> .....	22
<i>Untersuchung des Einflusses von Dithiotreitol</i> .....	25
Messung IL-1 $\beta$ .....	27
IL-1RA .....	28

MMP-2, MMP-9, TIMP-1.....	28
IL-8 .....	28
<b>2.5 LUNGENFUNKTION .....</b>	<b>29</b>
<b>2.6 ETHIK .....</b>	<b>29</b>
<b>2.7 STATISTIK .....</b>	<b>29</b>
<b>3. ERGEBNISSE.....</b>	<b>30</b>
<b>3.1 KOLLEKTIVE.....</b>	<b>30</b>
<b>3.2. SYSTEMISCHE ENTZÜNDUNGSPARAMETER IM GRUPPENVERGLEICH.....</b>	<b>31</b>
<b>3.3 CHLAMYDIENNACHWEIS UND PERSISTENZ IM SPUTUM .....</b>	<b>32</b>
Chlamydienkollektiv.....	32
Kontrollgruppe .....	33
Vergleich der Gruppen .....	33
<b>3.4 CHLAMYDIENNACHWEIS UND PERSISTENZ IM EDTA-BLUT.....</b>	<b>34</b>
Chlamydienkollektiv.....	34
Kontrollgruppe .....	35
Vergleich der Gruppen .....	35
<b>3.5 PROTRAHIERTER VERSUS UNKOMPLIZIERTER VERLAUF .....</b>	<b>36</b>
<b>3.6 LUNGENFUNKTION .....</b>	<b>37</b>
Chlamydienkollektiv.....	37
Kontrollgruppe .....	39
Vergleich der Gruppen .....	40
<b>3.7 DIFFERENZIALZELLBILD IM SPUTUM .....</b>	<b>41</b>
<b>3.8 ZYTOKINE IM SPUTUMÜBERSTAND.....</b>	<b>42</b>
Interleukin-1 $\beta$ .....	42
Interleukin-1-Rezeptorantagonist .....	43

Interleukin-8.....	44
Matrix-Metalloprotease 2 und Matrix-Metalloprotease 9.....	45
Tissue inhibitor of metalloprotease 1 (TIMP-1).....	46
<b>4. DISKUSSION .....</b>	<b>47</b>
<b>4.1 SYSTEMISCHE ENTZÜNDUNGSPARAMETER.....</b>	<b>47</b>
<b>4.2 CHLAMYDIENNACHWEIS UND PERSISTENZ IM SPUTUM .....</b>	<b>48</b>
<b>4.3 CHLAMYDIENNACHWEIS UND PERSISTENZ IN PERIPHEREN MONOZYTEN .....</b>	<b>50</b>
<b>4.4 PROTRAHIERTER VERSUS UNKOMPLIZIERTER VERLAUF .....</b>	<b>52</b>
<b>4.5 UNTERSCHIEDE IN DER ANTIBIOTIKATHERAPIE BEI PROTRAHIERTEM UND UNKOMPLIZIERTEM VERLAUF .....</b>	<b>53</b>
<b>4.6 C. PNEUMONIAE ASSOZIIERTE ENTWICKLUNG EINER COPD .....</b>	<b>54</b>
<b>4.7 ZYTOKINE IM SPUTUMÜBERSTAND.....</b>	<b>56</b>
<b>4.8 AUSBLICK .....</b>	<b>58</b>
<b>5. ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>60</b>
<b>6. LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>61</b>
<b>7. ANHANG.....</b>	<b>71</b>
<b>7.1 ABKÜRZUNGEN.....</b>	<b>71</b>
<b>7.2 KLINISCHER DOKUMENTATIONSBOGEN.....</b>	<b>73</b>
<b>8. DANKSAGUNG .....</b>	<b>74</b>
<b>9. LEBENSLAUF .....</b>	<b>75</b>

# 1. Einleitung

## 1.1 Pneumonie

Die Pneumonie ist definiert als Infektion der unteren Atemwege, die zu einer Ansammlung von Sekret und Entzündungszellen in den Alveolen mit konsekutiver Gasaustauschstörung führt. Sie ist die siebthäufigste Todesursache in Deutschland (Statistisches Bundesamt, Todesursachen 2007). Es werden nosokomiale (Aufreten mindestens 48h nach stationärer Aufnahme oder innerhalb von zwei Wochen nach Entlassung aus dem Krankenhaus) von ambulant erworbenen Pneumonien unterschieden. Obwohl eine Vielzahl von Pathogenen eine Pneumonie auslösen kann, werden bei hospitalisierten Patienten mit ambulant erworbener Pneumonie am häufigsten Bakterien nachgewiesen. Klassischerweise wurde früher die typische Lobärpneumonie mit plötzlichem Krankheitsbeginn, hohem Fieber, produktivem Husten und Pneumokokken als Erreger von der atypischen Pneumonie mit grippeähnlichen Symptomen und Nachweis von Chlamydien, Mykoplasmen oder Legionellen unterschieden (Lim et al, 2001; Welte et al, 2003; Marrie et al, 2005).

Die 2005 erschienene S3-Leitlinie zu ambulant erworbenen tiefen Atemwegsinfekten (Höffken et al, 2005) empfiehlt zur Risikostratifizierung bei ambulant erworbener Pneumonie die Verwendung des CRB-65-Scores. Dieser besteht aus folgenden vier klinischen Variablen: Verwirrtheit (vorhanden=1 Punkt), Atemfrequenz ( $\geq 30=1$  Punkt), diastolischer Blutdruck ( $\leq 60\text{mmHg}=1$  Punkt) oder systolischer Blutdruck ( $<90\text{mmHg}=1$  Punkt) und dem Alter ( $\geq 65$  Jahre). Bei einem CRB-65-Wert  $>0$  sollte eine stationäre Aufnahme erwogen werden.

Für die initiale kalkulierte Antibiotikatherapie bei hospitalisierten Patienten ohne Pseudomonasrisiko (keine chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD) im Stadium IV, keine Bronchiektasen, keine Mukoviszidose, keine Glukokortikoidtherapie mit mehr als 10mg Prednisolonäquivalent, keine Aspiration, keine Vortherapie mit Breitspektrumantibiotika, keine Malnutrition) empfiehlt die S3-Leitlinie ein Betalaktamantibiotikum (Aminopenicillin-Betalaktamaseinhibitor-Kombinationen, Cephalosporine wie Ceftriaxon oder Carbapenem) mit oder ohne Kom-

bination mit einem Makrolid (wie Azithromycin, Clarithromycin) oder ein Fluorchinolon (wie Moxifloxacin, Levofloxacin) als Monotherapie. Eine verzögerte erste Antibiotikagabe, die später als vier Stunden nach stationärer Aufnahme erfolgt, führt nach Daten aus Kohortenstudien zu einer erhöhten Mortalität. Ob dabei ein kausaler Zusammenhang besteht oder die durch Komorbidität erschwerte Diagnostik mit konsekutiv verzögertem Therapiebeginn im Vordergrund steht, ist unklar (Waterer et al, 2006).

Die bronchoalveoläre Lavage (BAL) ist die klassische Methode zur Gewinnung von respiratorischem Material zur weiterführenden mikrobiologischen und zytologischen Untersuchung. Für wiederholte Messungen der Zellzusammensetzung hat sich bei obstruktiven Atemwegserkrankungen das induzierte Sputum als nichtinvasive Untersuchungsmethode bewährt (Pizzichini et al, 1996, Veen et al, 1996). Die Induktion erfolgt durch Inhalation einer hypertonen Kochsalzlösung.

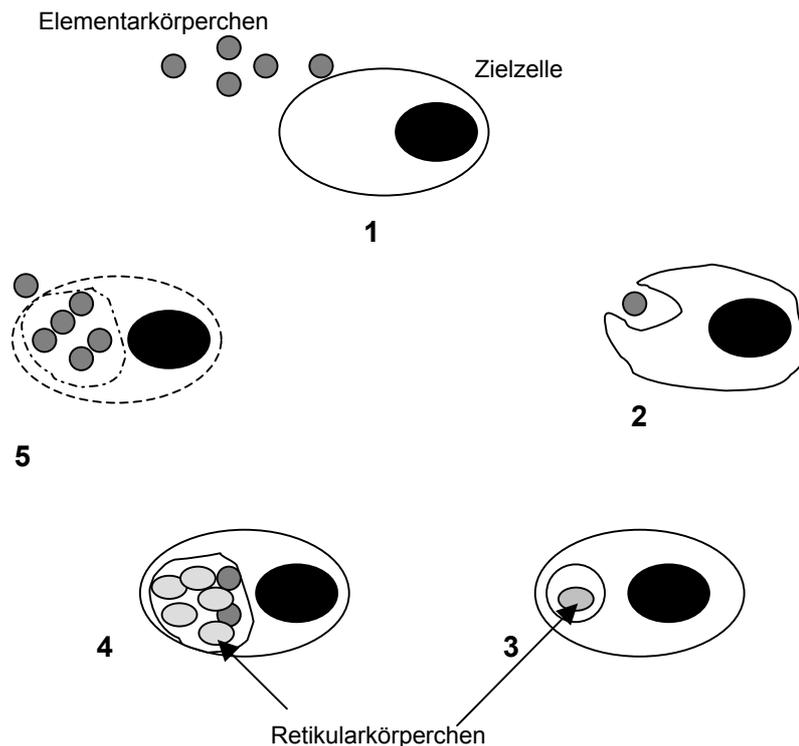
### 1.2 *Chlamydia pneumoniae*

#### Entwicklungszyklus

*Chlamydia pneumoniae* ist ein gramnegatives, obligat intrazelluläres Bakterium. Es handelt sich um einen Energieparasiten, der nicht in der Lage ist energiereiche Phosphate wie Adenosintriphosphat (ATP) zu synthetisieren und somit auf den Wertsstoffwechsel angewiesen ist (Ward, 1995; Hammerschlag, 2000).

Das Genom der Chlamydien ist nach den Mykoplasmen das kleinste eines Prokaryonten. Chlamydien heben sich durch einen speziellen biphasischen Entwicklungszyklus von anderen intrazellulären Bakterien ab. Sie weisen dabei zwei Zustandsformen auf: das infektiöse Elementarkörperchen und das intrazellulär vermehrungsfähige Retikularkörperchen. Die Elementarkörperchen sind ca. 0,3µm groß und typischerweise birnenförmig mit relativ starrer Zellwand. Nach Anlagerung an die Zielzelle wird das Elementarkörperchen endozytiert. Sechs bis neun Stunden nach der Ingestion hat sich das Elementarkörperchen innerhalb eines Endosoms in das Retikularkörperchen umgewandelt. Die Replikation des metabo-

lich aktiven ca. 1µm großen Retikularkörperchens erfolgt durch eine binäre Teilung innerhalb des Chlamydieneinschlusses. Die Dauer des kompletten Entwicklungszyklus beträgt 40-72 Stunden (Ward, 1995). Zielzellen sind neben respiratorischen Epithelzellen auch Alveolarmakrophagen, Fibroblasten, glatte Muskelzellen und Endothelzellen (Dalhoff et al, 2000; Grayston, 2000; Hammerschlag, 2000). Abb.1 stellt den Entwicklungszyklus von *C. pneumoniae* dar.



**Abb.1: Entwicklungszyklus von *C. pneumoniae*:** Elementarkörperchen lagern sich an die Zielzelle an (1). Nach 12 Stunden ist das Elementarkörperchen endozytiert (2) und innerhalb des Chlamydieneinschlusses zum Retikularkörperchen differenziert (3). Es erfolgt die Replikation des Retikularkörperchens durch binäre Teilung und nach insgesamt ca. 48h die Differenzierung zurück zum Elementarkörperchen (4). 72 Stunden nach Anlagerung werden die infektiösen Elementarkörperchen nach Lyse der Zielzelle freigesetzt (5). (Modifiziert nach Beatty et al, 1994)

Wird die infizierte Wirtszelle durch Zytokine wie z.B. Interferon-gamma einem immunologischen Stress ausgesetzt, so erfolgt keine Redifferenzierung vom Retikularkörperchen zum Elementarkörperchen. Folglich kommt es zu keiner Freisetzung mit Infektion neuer Zellen sondern zur Persistenz. Die so persistierenden Chlamydien sind nicht kulturell anzüchtbar, sind aber vital und exprimieren bakterientypische Stoffe

wie das Chlamydien-Hitzeschockprotein 60 (CHSP 60) und das Chlamydienlipopolysaccharid (CLPS) (Beatty et al, 1994; Gieffers et al, 2004).

### **Assoziierte akute Atemwegsinfekte**

Seroepidemiologische Studien zeigen, dass die meisten *C. pneumoniae* Infektionen asymptomatisch verlaufen (Miyashita et al, 2001). Zu den durch *C. pneumoniae* ausgelösten akuten Atemwegsinfekten gehören Sinusitiden, Pharyngitiden, Bronchitiden und Pneumonien. Kommt es zu einer Pneumonie, so verläuft diese meist relativ mild mit subfebrilen Temperaturen, unproduktivem Husten und herdförmigen, subsegmentalen Infiltraten im Röntgen Thorax (Grayston, 1989). Es sind jedoch auch schwere Krankheitsverläufe mit multilobären oder disseminierten interstitiellen Infiltraten beschrieben worden. Die durch *C. pneumoniae* hervorgerufenen Pneumonien zählen zu den so genannten atypischen Pneumonien. Im Labor zeigt sich ein Anstieg des systemischen Entzündungsparameters C-reaktives Protein (CRP), bei erhöhten oder normalen Leukozytenzahlen (File et al, 1999; Grayston, 2000; Miyashita et al, 2002).

### **Erregernachweis und Epidemiologie**

In den letzten 15 Jahren wurde in verschiedenen Studien bei 0-44% der Erwachsenen und Kinder mit unterer Atemwegsinfektion *C. pneumoniae* als Pathogen nachgewiesen (Kumar und Hammerschlag, 2006). Die stark voneinander abweichenden Ergebnisse zwischen den Studien erklären sich unter anderem durch die unterschiedlichen Nachweismethoden (Serologie, Polymerase chain reaction (PCR) und Kultur). Die Serologie ist aufgrund der hohen Durchseuchungsrate von asymptomatischen Patienten und der letztlich nur durch einen Titeranstieg möglichen Differenzierung zwischen akuter und chronischer Infektion keine geeignete Nachweismethode, wurde aber trotzdem bei einem Großteil der vorhandenen Studien zum Chlamydiennachweis verwendet. Dies gilt insbesondere im Erwachsenenalter, da Primärinfektionen mit positivem Immunglobulin M (IgM) Titer in dieser Altersgruppe selten sind (Hammerschlag, 2000). Zusätzliche Schwächen der Serologie sind die Abhängigkeit von der subjektiven Interpretation beim als Referenztest geltenden Mikroimmunfluoreszenztest, die Kreuzreaktivität mit anderen Chla-

mydienspezies sowie erhebliche Intra- und Interobservervariabilität (Bunk et al, 2008).

Die Chlamydienkultur ist aufgrund der schwierigen Anzucht und niedriger Sensitivität keine für den klinischen Alltag geeignete Nachweismethode.

Hinsichtlich des Chlamydiennachweises mittels PCR existiert bisher keine international validierte PCR. Trotzdem gilt die PCR zur Zeit als die sensitivste und spezifischste Methode (Maass et al, 1998; Dowell S et al, 2001; Kuoppa et al, 2002), mit der sich die Chlamydien auch im Sputum nachweisen lassen (Tong und Sillis, 1993). Eine positive PCR aus Nasopharynxabstrichen wird bei Lungengesunden in ca. 1-2% gefunden (Gaydos et al, 1994; Miyashita et al, 2001).

Bei 80% der älteren Männer und 70% der älteren Frauen konnten serologisch *C. pneumoniae* Antikörper nachgewiesen werden (Kuo et al, 1995). Die Ansteckung erfolgt über den Respirationstrakt. Der Mensch ist das einzige bekannte Erregerreservoir. Die Inkubationszeit beträgt etwa 21 Tage. Endemische und epidemische Häufungen von *C. pneumoniae* assoziierten Pneumonien sind beschrieben worden (Miyashita et al, 2001; Kumar und Hammerschlag, 2007). Epidemien kommen gelegentlich in Schulen, Altenheimen und unter Soldaten vor (Troy et al, 1997; Grayston, 2000; Miyashita et al, 2001).

Die Antikörper sind länger als fünf Jahre nach Erstinfektion nachweisbar. Häufig kommt es zu Reinfektionen oder zur Erregerpersistenz. Persistierende Chlamydien durchlaufen nicht den normalen Entwicklungszyklus. Die Einschlüsse sind kleiner, enthalten aber deutlich größere Retikularkörperchen. Die Persistenz ist dabei mit einer Änderung des Erregerstoffwechsels und der Expression von Oberflächenproteinen assoziiert, wodurch die Empfindlichkeit gegen Antiinfektiva reduziert wird (Gieffers et al, 2004a).

Gegen Elementarkörperchen sind Antibiotika primär aufgrund deren metabolischer Inaktivität wirkungslos. *C. pneumoniae* ist *in vitro* gegenüber Makroliden, Tetracyklinen, Fluorchinolonen und Rifampicin sensibel (Gieffers et al, 1998; Blasi, 2004). In einer 2004 von Gieffers, Rupp et al durchgeführten Untersuchung konnte

*in vitro* gezeigt werden, dass subinhibitorische Konzentrationen von Ciprofloxacin, Rifampicin, Doxycyclin und Erythromycin, wie sie zu Beginn der Therapie auftreten können, zu einer Persistenz der Chlamydien führten. Nach Beendigung der Antibiotikagabe kam es zu einer erneuten Bildung von infektiösen Elementarkörperchen, so dass eine insuffiziente Initialtherapie zu Therapieversagen führen könnte (Gieffers et al, 2004a).

### **Kardiovaskuläre Erkrankungen**

Seit der Erstbeschreibung durch Grayston et al. 1986 wurde *Chlamydia pneumoniae* mit verschiedenen chronischen pulmonalen und kardiovaskulären Erkrankungen in Zusammenhang gebracht (Gieffers et al, 2001). Die Pathogenese wurde auf die durch die Chlamydien hervorgerufene intrazelluläre Infektion mit konsekutiven chronischen Inflammationsprozessen zurückgeführt.

Hinsichtlich kardiovaskulärer Erkrankungen zeigte 1988 eine erste Studie, dass Patienten mit koronarer Herzerkrankung häufiger Antikörper gegen *C. pneumoniae* aufwiesen als die Kontrollgruppe (Saikku et al, 1988). Im weiteren Verlauf wurde *C. pneumoniae* elektronenmikroskopisch, kulturell und mittels PCR in artherosklerotischen Plaques nachgewiesen (Ieven und Hoymanns, 2005). Rupp et al konnten 2005 im Tierversuch zeigen, dass eine Injektion von *Chlamydia pneumoniae* infizierten Monozyten in die Blutbahn zu einer vermehrten Bildung des angiogenetischen Transkriptionsfaktors Egr-1 in den Arterien führt. Egr-1 induziert eine Proliferation der glatten Muskelzellen in der Gefäßwand (Rupp et al, 2005).

Ob wirklich ein kausaler Zusammenhang zwischen der koronaren Herzerkrankung und einer *C. pneumoniae* Infektion besteht, bleibt zweifelhaft (Bloemenkamp et al, 2003). Gesichert scheint jedoch, dass eine prophylaktische chlamydienwirksame Antibiotikatherapie das Auftreten von akuten kardialen Ischämien nicht reduziert (Muhlestein et al, 2000; O'Connor et al, 2003).

### **Chronisch obstruktive Atemwegserkrankungen**

Bereits 1991 wurde erstmalig von Hahn et al bei vier Patienten die Entstehung eines Asthmas nach *C. pneumoniae* Infektion der unteren Atemwege und bei weiteren vier Patienten eine Exazerbation eines vorbestehenden Asthmas beschrieben. In einer daraufhin durchgeführten prospektiven Studie wurde bei Patienten mit neu aufgetretener obstruktiver Atemwegserkrankung im Vergleich zu einem lungengesunden Kontrollkollektiv ein signifikant erhöhtes IgA gegen *C. pneumoniae* nachgewiesen (Hahn et al, 1995).

Eine 2005 von Johnston und Martin veröffentlichte Metaanalyse der Studien zur Assoziation zwischen einer *C. pneumoniae* Infektion mit konsekutiver Entwicklung einer chronischen obstruktiven Atemwegserkrankung zeigte, dass von den insgesamt sechs veröffentlichten Studien drei für und drei gegen einen Zusammenhang sprechen. In allen durchgeführten Studien erfolgte die Chlamydiendiagnostik anhand der Serologie. Prospektive Studien zur Entwicklung einer obstruktiven Ventilationsstörung nach mittels PCR gesicherter *C. pneumoniae* Infektion fehlen.

Von Black, Scicchitano et al konnte eine inverse Korrelation zwischen der Höhe der IgG- und/oder IgA-Titer in der *C. pneumoniae* Serologie und dem forcierten expiratorischen Volumen in einer Sekunde (FEV-1) bei Asthmatikern dokumentiert werden (Black et al, 2000). Das Ausmaß der Reduktion der FEV-1 gilt als einer der Indikatoren für den Schweregrad einer obstruktiven Atemwegserkrankung (Pellegrino et al, 2005).

Eine sechswöchige chlamydienwirksame antibiotische Behandlung mit Roxithromycin führte in einer Placebo-kontrollierten Studie bei Asthmatikern mit serologischem *C. pneumoniae* Nachweis zu einer Verbesserung der asthmatischen Symptome während der Behandlung. Drei und sechs Monate nach Beendigung der Therapie konnte kein Benefit mehr durch die antibiotische Therapie dokumentiert werden (Black et al, 2001). Ob der ausgebliebene Langzeiteffekt mit einer fehlenden Eradikation der Chlamydien im Zusammenhang steht, wurde in dieser Studie nicht untersucht. 2006 wurde eine weitere Placebo-kontrollierte Studie mit zehntägiger Telithromycintherapie bei akuter Exazerbation des Asthma bronchiale

durchgeführt. Telithromycin gehört in die Antibiotikagruppe der Ketolide, die strukturell mit den Makroliden verwandt sind. Die Studie zeigte, dass die Telithromycinthherapie zu einer im Vergleich zur Placebogruppe signifikanten Besserung der Symptome und der Lungenfunktion führte. Die Verbesserung der Lungenfunktion in der Telithromycingruppe war unabhängig davon, ob *C. pneumoniae* im Rahmen der Exazerbation nachgewiesen wurde oder nicht (Johnston et al, 2006). Ähnliche Studienergebnisse wurden mit Clarithromycin erzielt (Kraft et al, 2002; Kostadima et al, 2004). Ob die antibiotische Wirkung die entscheidende Rolle bei der Verbesserung der Asthmasymptomatik bzw. der Lungenfunktion spielt oder ob die antiinflammatorische und immunmodulatorische Wirkung der Makrolide (Miyatake et al, 1991) z.B. durch Unterdrückung der Zytokin- und Sauerstoffradikalproduktion im Vordergrund steht, bleibt unklar.

### **Pathomechanismus der chlamydieninduzierten Entzündung**

Ein möglicher Pathomechanismus bei der Entstehung der obstruktiven Atemwegserkrankung durch eine Chlamydieninfektion könnte so ablaufen:

Durch die bakterielle Infektion der Bronchialepithelzellen und Alveolarmakrophagen werden von diesen proinflammatorische Zytokine als erster lokaler Abwehrmechanismus freigesetzt. Zu den Zytokinen, deren Sekretion durch *C. pneumoniae* induziert wird, gehören u.a. Interleukin-1 (IL-1), IL-6, IL-8, Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), TNF- $\beta$  und NF- $\kappa$ B (Nuclear factor-  $\kappa$ B) (Toews, 2001; Yang et al, 2003). *In vitro* konnte gezeigt werden, dass die Konzentration an freigesetztem IL-1 $\beta$  und IL-8 durch mit *C. pneumoniae* infizierte Alveolarmakrophagen mit der Anzahl der endozytierten Elementarkörperchen korreliert. Trotz der freigesetzten Zytokine konnte über mehrere Tage eine weitere Replikation der Chlamydien beobachtet werden (Redecke et al, 1998).

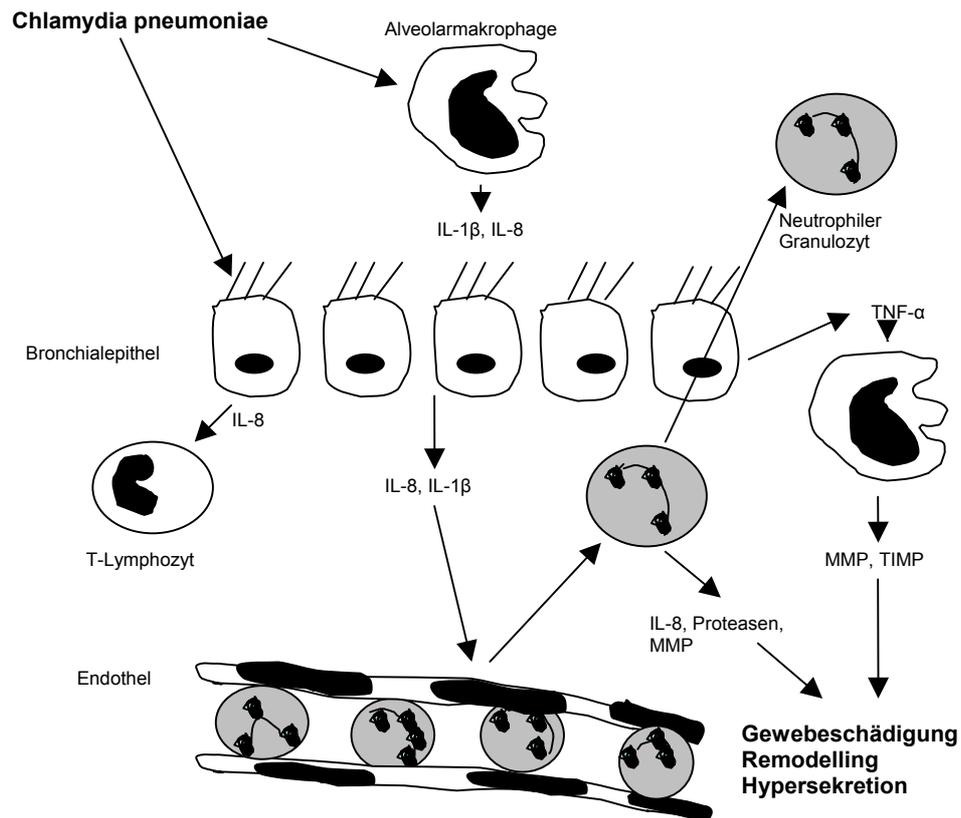
Grundsätzlich werden pro- und antiinflammatorische Zytokine unterschieden, deren Gleichgewicht zur Vermeidung überschießender Inflammationsreaktionen mit konsekutiver Gewebeschädigung beiträgt. IL-1 ist neben TNF- $\alpha$  eines der Schlüsselzytokine der frühen inflammatorischen Reaktion. Sie sind in der Lage nahezu alle Zellen des alveolokapillären Systems und der Atemwege in den Inflammationsprozess einzubeziehen. IL-1 $\beta$  wird unter anderem in Alveolarmakrophagen als

Sofortreaktion auf einen mikrobiologischen Stimulus gebildet (Toews, 2001). Es induziert die Bildung weiterer Zytokine (z.B. IL-8) und führt zu einer Rekrutierung von Neutrophilen und zu einer Leukozytose durch Freisetzung von Leukozyten aus dem Knochenmark. IL-1 $\beta$  wirkt pyrogen und induziert eine Fibroblastenproliferation sowie eine gesteigerte Kollagen- und Fibronectinsynthese. Der antiinflammatorische Interleukin-1-Rezeptorantagonist (IL-1RA) gilt als Gegenspieler des IL-1 $\beta$ , in dem er kompetitiv an den IL-1-Rezeptor bindet ohne ein zelluläres Signal auszulösen (Kolling et al, 2001). In mit *C. pneumoniae* infizierten Alveolar-makrophagen von COPD-Patienten konnte *in vitro* eine Imbalance zwischen IL-1 $\beta$  und IL-1RA zugunsten des proinflammatorischen Zytokins gezeigt werden (Rupp et al, 2003).

Die IL-8-Bildung in pulmonalen Fibroblasten, Bronchialepithelzellen, Endothelzellen und Pleuramesothelzellen wird unter anderem durch IL-1 $\beta$  induziert. Die wichtigste Eigenschaft des IL-8 besteht in der Rekrutierung und Aktivierung von Neutrophilen. Zusätzlich führt es zu einem Anstieg der zirkulierenden Neutrophilen durch eine Beschleunigung der Zellreifung und zu einer Chemotaxis von CD8-T-Lymphozyten (Chung, 2001). Im induzierten Sputum von COPD-Patienten konnten unter anderem erhöhte Konzentrationen von IL-1 $\beta$  und IL-8 nachgewiesen werden. Rauchen steigert die Konzentration dieser Zytokine (Chung, 2001).

Pulmonal rekrutierte Neutrophile und residente Immunzellen setzen im Rahmen des Entzündungsprozesses Matrixmetalloproteinasen (MMP) frei. Diese führen zu einem Abbau der Matrix im Interstitium und in den Alveolen und folglich zu einer Gewebeschädigung. MMP werden auch in Epithelzellen gebildet. Bei Asthma bronchiale werden sie für das Remodelling der glatten Muskulatur der Atemwege verantwortlich gemacht (Rödel et al, 2003).

Abb.2 stellt die Interaktion der Zytokine und der Zellen im Rahmen der *C. pneumoniae* Infektion dar.



**Abb.2: Interaktion der Zellen und der Zytokine (IL-1 $\beta$  und IL-8) und MMP** während der *Chlamydia pneumoniae* Infektion, die bei überschießender oder chronischer Inflammation zu Gewebeschädigung, Remodelling und Hypersekretion führen kann. Die antiinflammatorischen Zytokine sind nicht mit abgebildet (modifiziert nach Chung, 2001).

### 1.3 Zielsetzung

Ziel dieser Arbeit war es, Charakteristika der *Chlamydia pneumoniae* Pneumonie im Vergleich mit Pneumokokkenpneumonien zu evaluieren. Insbesondere wurde Wert darauf gelegt,

- Unterschiede hinsichtlich epidemiologischer Daten und Vorerkrankungen der Patienten zu ermitteln.
- zum Zeitpunkt der akuten Pneumonie die Gruppen bezüglich systemischer Entzündungsparameter zu vergleichen.
- die Persistenzrate der Chlamydien über 6 Monate nach akuter Pneumonie mit *Chlamydia pneumoniae* zu erfassen.
- Unterschiede hinsichtlich des klinischen Verlaufs über 6 Monate zu ermitteln.
- über einen Zeitraum von 6 Monaten die Lungenfunktionen longitudinal hinsichtlich der Entwicklung obstruktiver Lungenerkrankungen zwischen diesen Patientengruppen zu vergleichen.
- Longitudinal Unterschiede der bronchopulmonalen Inflammation anhand der Konzentration von Entzündungsmediatoren (IL-1 $\beta$ , IL-1RA, IL-8, MMP-2, MMP-9 und TIMP-1) im Sputumüberstand zu evaluieren. Hierzu waren Vorversuche notwendig, da die verwendeten kommerziellen Enzyme linked immuno sorbent assay (ELISA) hinsichtlich Reproduzierbarkeit, Präzision und Validität der Zytokinmessung im Sputum nicht etabliert waren.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Allgemeines

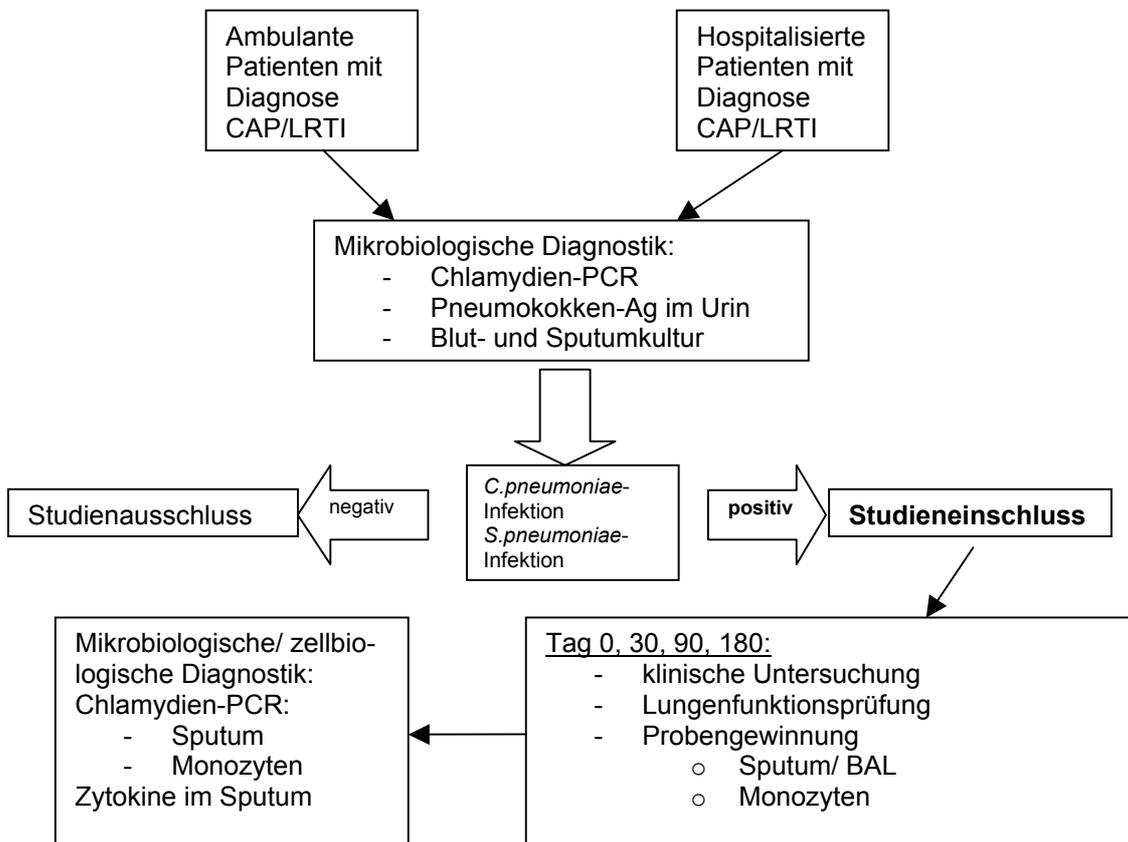
#### Studienaufbau

Diese Studie wurde als klinisches Teilprojekt im Rahmen des Kompetenznetzwerkes CAPNETZ, einer Kohorte zur Evaluation von Epidemiologie, Diagnostik und Therapie ambulant erworbener Pneumonien, durchgeführt. In diesem vom Bundesministerium für Bildung und Forschung geförderten Netzwerk werden seit 2001 deutschlandweit in zehn lokalen klinischen Zentren ambulante und stationäre Patienten mit ambulant erworbener Pneumonie rekrutiert, um zuverlässige nationale Daten zum Erregerspektrum, zur Resistenzsituation und zum Verlauf der Erkrankung zu erheben.

In unsere Studie wurden Patienten mit der Diagnose ambulant erworbene Pneumonie (CAP) oder Infektion der unteren Luftwege (LRTI) mit neu aufgetretenem Infiltrat im Thoraxröntgenbild und/oder eindeutiger Klinik (Husten, purulenter Auswurf, positiver Auskultationsbefund und Fieber) und positivem PCR-Nachweis von *C. pneumoniae* im Sputum, BAL oder Absaugung eingeschlossen. Als Vergleichskollektiv wurden während des gleichen Zeitraums Patienten mit ambulant erworbener Pneumokokkeninfektion rekrutiert. Als Ausschlusskriterien galten ein Alter <18 Jahren, ein stationärer Aufenthalt oder eine Chemotherapie innerhalb der vorangegangenen vier Wochen, sowie eine Immunsuppression, eine HIV-Infektion und eine floride Tuberkulose.

Neben der Anamnese, dem klinischen Untersuchungsbefund und systemischen Entzündungsparametern (Körpertemperatur, CRP und Leukozytenzahl im peripheren Blutbild) wurde ein Lungenfunktionstest durchgeführt. Zusätzlich wurde ein spontanes oder induziertes Sputum mikrobiologisch und immunologisch untersucht und zur weiteren Erregerdiagnostik eine Chlamydien-PCR aus den Monozyten im EDTA-Blut angefertigt. Falls aus medizinischer Sicht eine Bronchoskopie indiziert war, wurde alternativ zum Sputum eine BAL und/oder bronchiale Absaugung durchgeführt.

Der Studienplan sah bei allen Patienten an den Tagen 30, 90 und 180 nach akuter Infektion Kontrollen des klinischen Befundes, der Lungenfunktion, der PCR aus dem EDTA-Blut sowie der mikrobiologischen und immunologischen Untersuchungen aus dem Sputum vor (siehe Abb.3).



**Abb.3: Flussschema des Studienplans.** Ag=Antigen, BAL=Bronchoalveoläre Lavage, CAP=ambulant erworbene Pneumonie, LRTI=Infektion der unteren Atemwege, PCR=Polymerase Chain Reaction

### Erhebung der klinischen Befunde

Zu den Nachuntersuchungsterminen wurden die Patienten nach Fieber, Husten, Auswurf, Dyspnoe und Therapiewechsel bzw. erneuter Antibiotikatherapie seit der letzten Untersuchung befragt und der entsprechende Dokumentationsbogen (s. Anhang) ausgefüllt. Persistierender oder im Verlauf erneut aufgetretener Husten mit Auswurf bzw. Therapiewechsel oder im Verlauf erneut erforderliche Antibiotikatherapie wurden als Endpunkte für einen protrahierten Verlauf gewertet.

### 2.2 Sputumproben

#### Gewinnung

Die Sputumgewinnung erfolgte spontan oder falls dies nicht möglich war nach zehn-minütiger Inhalation mit 3%iger Natriumchlorid (NaCl)-Lösung. Die Patienten wurden angewiesen vor der Expektoration ihren Mund mit Wasser auszuspülen. Die erste Portion wurde wegen hoher Kontamination mit Rachenflora verworfen, das restliche Material in verschließbare Polypropylen-Röhrchen (Fa. Sarstedt, 50 ml) aufgenommen. Die Proben wurden bei +2 bis +8°C gelagert bis die weitere Verarbeitung innerhalb von maximal vier Stunden stattfand.

#### Erstellung von Zytospins und Überstandgewinnung

Das Sputum wurde 1:1 mit 0,1%igem DL-Dithiothreitol (DTT, Fa. Sigma, D-0632), das zuvor mit Phosphatpuffer (PBS, Fa. GIBCO, 14190-094) angesetzt wurde, verdünnt. Nach kurzem Mixen auf einem Vortex-Mixer (Fa. PHARMA, MS1 Mini-shaker) wurden die Proben bei 1100 Umdrehungen/Minute für 10 Minuten zentrifugiert (Fa. Kendro, Heraeus Sepatech). Anschließend wurde der Überstand abgenommen, erneut zentrifugiert und in 120µl-Portionen in Eppendorfgefäße gefüllt. Die Überstände wurden dann sofort bei -20° eingefroren und innerhalb von sieben Tagen bei -70°C ohne Unterbrechung der Gefrierkette weiter gelagert.

Das Zellpellet wurde zum Entfernen von DTT-Resten erneut zentrifugiert (1100 Umdrehungen/Minute, 10 Minuten) und auf 2-10ml mit PBS resuspendiert. Die Zellzahl wurde anhand einer Neubauer-Zählkammer ermittelt, so dass die Erstellung standardisierter Zytospins mit 50000 Zellen pro Objektträger möglich war. Die Zellen wurden auf die vorbereiteten Zytoträger (Fa. Menzel 8037/1), mithilfe von Zytofunnel (Fa. Shandon 5991040) und Filtercards (Fa. Shandon 190005) durch 5-minütiges Zentrifugieren (Fa. Shandon, Cytospin 3) bei 700 Umdrehungen/min. aufgetragen. Die Vitalität der Zellen wurde mit Trypan-Blau 0,4% (Fa. Sigma T8154) bestimmt, wobei das Zytoplasma und/oder der Zellkern avitaler Zellen angefärbt wird.

Nach Gram- und May-Grünwald-Färbung (Eosin-Methylenblau-Lösung, Fa. Merck, Azur-Eosin-Ethylenblau-Lösung, Fa. Merck) der Zytospins erfolgte eine Zelldifferenzierung mit Hilfe von Ölimmersion bei einer 630fachen mikroskopischen Vergrößerung (Fa. Zeiss). Ausgewertet wurden die Anzahl der Plattenepithelien, die prozentuale Zellverteilung (der Makrophagen, Neutrophilen, Lymphozyten, Basophilen, Eosinophilen) und der Kohlepigment-Gehalt sowie das Vorhandensein von grampositiven und gramnegativen Bakterien.

### 2.3 Erregernachweis

Die *C. pneumoniae* Detektion sowie alle weiteren mikrobiologischen Untersuchungen erfolgten im Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene des Universitätsklinikums Lübeck. Die Proben wurden nach der Entnahme umgehend in die Mikrobiologie transportiert.

Die *C. pneumoniae* Diagnostik erfolgte mittels einer nested PCR aus dem Sputum und den Monozyten im EDTA-Blut (Maass und Dalhoff, 1994; Boman et al, 1999; Dowell et al, 2001). Bei der nested PCR wird die Amplifizierung in zwei Schritten mit zwei verschiedenen Primern nacheinander durchgeführt. Hierbei wurde die extrahierte DNA zunächst unter Verwendung eines HL-1/HR-1-Primers mit einer 438bp *C. pneumoniae*-Zielsequenz und anschließend unter Verwendung eines In-1 (5'- AGT TGA GCA TAT TCG TGA GG-3') und In-2 (5'-TTT ATT TCC GTG TCG TCC AG-3') mit einem 128bp-Produkt amplifiziert.

Das Pneumokokkenantigen im Urin wurde mit dem Binax NOW® Test durchgeführt, der als spezifischer Test zur Diagnostik einer Pneumokokkenpneumonie gilt (Marcos et al, 2003).

### 2.4 Zytokine

#### Vorversuche IL-1 $\beta$

Da die kommerziell erhältlichen ELISA nur für die quantitative Bestimmung von IL-1 $\beta$ -Konzentrationen in Zellkulturüberständen, Serum und Plasma zugelassen sind, musste zunächst geklärt werden, ob eine Messung in Sputumüberständen zu reproduzierbaren Ergebnissen führt. Hierzu wurde zunächst die IL-1 $\beta$ -Konzentration in zwei Versuchssputen in unterschiedlicher Verdünnung mit PBS gemessen (siehe Tab.1). In einem zweiten Schritt wurde zuerst PBS und anschließend dem Sputumüberstand eine definierte Menge an rekombinanten IL-1 $\beta$  (Fa. R&D, 201-LB) hinzugefügt und anschließend erneut die IL-1 $\beta$ -Konzentration gemessen, um die Wiederfindungsrate zu bestimmen.

Abschließend wurde untersucht, ob das bei der Aufarbeitung des Sputums verwendete 0,1%ige DTT die ELISA-Messungen beeinflusst. Hierzu wurde in einer Vorversuchsreihe PBS mit DTT versetzt und anschließend nach Hinzufügen einer definierten Menge an rekombinanten IL-1 $\beta$  die IL-1 $\beta$ -Konzentration gemessen. In einer zweiten Versuchsreihe wurden die Capture-Antikörper in den Wells für 30 min. mit 200 $\mu$ l 0,1%igen DTT inkubiert und anschließend nach Auswaschen des DTT die Konzentration in der mit rekombinanten IL-1 $\beta$  versetzten PBS-Lösung gemessen.

Die Vorversuche wurden parallel mit zwei verschiedenen ELISA (Quantikine, Fa. R&D Systems, DLB50 und Human IL-1 $\beta$ , Fa. Biosource, KHC 0011) durchgeführt, um diese hinsichtlich ihrer Ergebnisse vergleichen und den für Sputumüberstand besser geeigneten Test auswählen zu können.

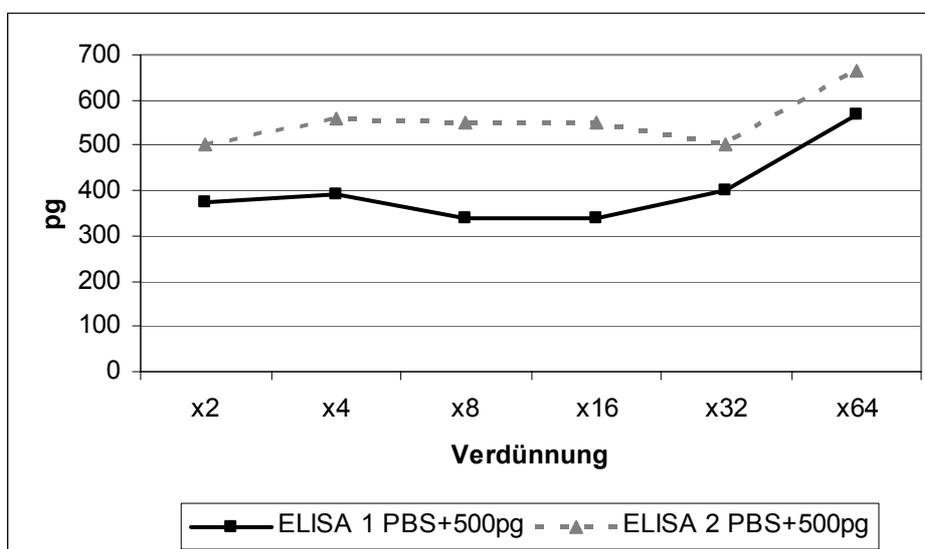
Im weiteren Verlauf wird der ELISA der Firma Biosource als ELISA 1 und der ELISA der Firma R&D als ELISA 2 bezeichnet.

**Tab.1: IL-1 $\beta$ -Konzentration in pg/ml im Sputumüberstand gemessen mit einem ELISA der Firma Biosource (ELISA 1) und einem ELISA der Firma R&D (ELISA 2) im Vergleich. Im Sputum 1 waren die Konzentrationswerte für IL-1 $\beta$  bei der Messung mit dem ELISA 2 oberhalb des Messbereichs. Die Ergebnisse wurden bei Abweichungen unter 10% als reproduzierbar angesehen.**

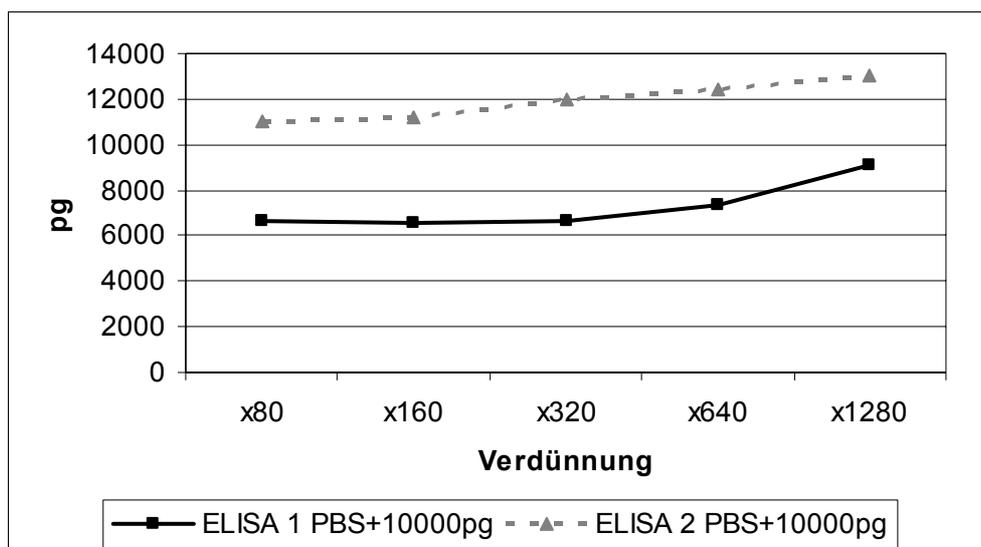
Verdünnung	ELISA 1 IL-1 $\beta$ in pg/ml Sputum 1	ELISA 1 IL-1 $\beta$ in pg/ml Sputum 2	ELISA 2 IL-1 $\beta$ in pg/ml Sputum 1	ELISA 2 IL-1 $\beta$ in pg/ml Sputum 2
x2		25		401
x4		34		401
x8	1586	50		432
x16	1380	90		442
x32	1257	151		439
x64	1235	307		523

### Wiederfindungsrate des hinzugefügten IL-1 $\beta$

Vor der Messung der Wiederfindungsrate des dem Sputum hinzugefügten rekombinanten IL-1 $\beta$  mußte zunächst untersucht werden, ob die beiden ELISA das verwendete IL-1 $\beta$  erkennen. Hierzu wurde PBS mit 500pg (siehe Abb.4), bzw. 10000pg (siehe Abb.5) versetzt und anschließend die IL-1 $\beta$ -Konzentration in verschiedenen Verdünnungen gemessen.



**Abb.4: Gemessene IL-1 $\beta$ -Konzentration in pg/ml des mit 500pg rekombinanten IL-1 $\beta$  versetzten PBS mit dem ELISA 1 und dem ELISA 2. Es wurde die jeweiligen Konzentrationen in einem Verdünnungsbereich von 1:2 bis 1:64 gemessen.**



**Abb.5: Gemessene IL-1 $\beta$ -Konzentration in pg/ml** des mit 10000pg rekombinanten IL-1 $\beta$  versetzten PBS mit dem ELISA 1 und dem ELISA 2. Aufgrund der hohen IL-1 $\beta$ -Konzentrationen nach Hinzufügen von 10000pg wurde ein Verdünnungsbereich von 1:80 bis 1:1280 gewählt.

Anschließend wurde den Sputumüberständen aus Tabelle 1 jeweils 500pg bzw. 10000pg des rekombinanten IL-1 $\beta$  hinzugefügt und dann die IL-1 $\beta$ -Konzentration (siehe Tab.2 und Tab.4) gemessen.

**Tab.2: IL-1 $\beta$ -Konzentration in pg/ml im Sputumüberstand** nach Zugabe von 500pg rekombinanten IL-1 $\beta$  in einer Verdünnungsreihe von 1:2 bis 1:64 mit dem ELISA 1 und dem ELISA 2 im Vergleich. Die IL-1 $\beta$ -Konzentration im Sputum 1 liegt gemessen mit dem R&D-ELISA oberhalb des Meßbereichs.

Verdünnung	ELISA 1	ELISA 1	ELISA 2	ELISA 2
	IL-1 $\beta$ in pg/ml Sputum 1+500pg	IL-1 $\beta$ in pg/ml Sputum 2+500pg	IL-1 $\beta$ in pg/ml Sputum 1+500pg	IL-1 $\beta$ in pg/ml Sputum 2+500pg
x2		272		
x4		341		828
x8	1690	368		787
x16	1773	405		886
x32		492		930
x64		785		1161

Rechnerisch ergeben sich die Gesamtkonzentrationen an IL-1 $\beta$  aus der Summe der hinzugefügten 500pg und dem ursprünglich im Sputum vorhandenem IL-1 $\beta$  (siehe Tab.3).

**Tab.3: Vergleich der errechneten und gemessenen IL-1 $\beta$ -Menge (Überstand+500pg IL-1 $\beta$ ) in pg/ml im mit 500pg IL-1 $\beta$  versetztem Sputumüberstand. Verwendet wurde jeweils der errechnete Mittelwert aus den Konzentrationen in den verschiedenen Verdünnungsbereichen. Für Sputum 1 mit ELISA 2 gemessen konnten keine Werte errechnet werden, da die IL-1 $\beta$ -Konzentration außerhalb des oberen Messbereichs lag. Die Abweichung der gemessenen Konzentration von der erwarteten errechneten Konzentration ist als absoluter Wert in pg/ml und in % angegeben.**

		<b>Errechnete IL-1<math>\beta</math> Konzentration in pg/ml</b>	<b>Gemessene IL-1<math>\beta</math> Konzentration in pg/ml</b>	<b>Differenz</b>
<b>ELISA 1</b>	Sputum 1	1865	1731,5	-133,5 pg/ml (7%)
<b>ELISA 1</b>	Sputum 2	609,5	443,8	-165,7 pg/ml (27%)
<b>ELISA 2</b>	Sputum 1			
<b>ELISA 2</b>	Sputum 2	939,7	918,4	-21,3 pg/ml (2%)

**Tab.4: IL-1 $\beta$ -Konzentration in pg/ml im Sputum nach Hinzufügen von 10000pg rekombinanten IL-1 $\beta$  in einer Verdünnungsreihe von 1:20 bis 1:1280. Die höhere Verdünnung musste aufgrund der hohen hinzugefügten IL-1 $\beta$ -Menge gewählt werden. Die hohen Konzentrationen im Sputum 1 mit ELISA 2 konnten aufgrund der höheren Verdünnungen bis 1:1280 gemessen werden.**

<b>Verdünnung</b>	<b>ELISA 1</b> IL-1 $\beta$ in pg/ml <b>Sputum 1</b> +10000pg	<b>ELISA 1</b> IL-1 $\beta$ in pg/ml <b>Sputum 2</b> +10000pg	<b>ELISA 2</b> IL-1 $\beta$ in pg/ml <b>Sputum 1</b> +10000pg	<b>ELISA 2</b> IL-1 $\beta$ in pg/ml <b>Sputum 2</b> +10000pg
x 20		4994		
x40	6542	5421		9349
x80	6900	6006		9871
x160	7171	6388	24473	10079
x320	8365	7778	24405	11111
x640	11847	10287	24758	10501
x1280	16656	16415	28973	12525

Die Differenz zwischen errechneter Gesamtkonzentration und gemessener Konzentration stellten sich wie in Tabelle 5 abgebildet dar.

**Tab.5: Vergleich der errechneten und gemessenen IL-1 $\beta$ -Konzentration (Überstand+10000pg IL-1 $\beta$ ) in pg/ml im mit 10000pg IL-1 $\beta$  versetztem Sputumüberstand. Verwendet wurde jeweils der errechnete Mittelwert aus den Konzentrationen in den verschiedenen Verdünnungsbereichen. Die Abweichung der gemessenen Konzentration von der erwarteten errechneten Konzentration ist als absoluter Wert in pg/ml und in % angegeben.**

		Errechnete IL-1 $\beta$ Konzentration in pg/ml	Gemessene IL-1 $\beta$ Konzentration in pg/ml	Differenz
ELISA 1	Sputum 1	11365	9580	-1785 pg/ml (16%)
ELISA 1	Sputum 2	10110	8184	-1926 pg/ml (19%)
ELISA 2	Sputum 1			
ELISA 2	Sputum 2	10439	10528	-89 pg/ml (0,9%)

### Untersuchung des Einflusses von Dithiotreitol

Neben den Wiederfindungsversuchen mussten zusätzliche Vorversuche durchgeführt werden, um den Einfluss des bei der Sputumaufbereitung verwendeten 0,1%igen DTT zu untersuchen. Hierzu wurde vor Durchführung der ELISA zum Standard 100 $\mu$ l DTT hinzugefügt und anschließend die Wiederfindungsrate des dem Standard hinzugefügten 250pg rekombinanten IL-1 $\beta$  gemessen (siehe Tab.6). Alle Versuche wurden mit bis zu sechs Verdünnungen parallel durchgeführt.

**Tab.6: Gemessene IL-1 $\beta$ -Konzentration in pg/ml im mit 250pg rekombinanten IL-1 $\beta$  versetzten Standard ohne\* und nach\*\* Hinzufügen von DTT. Gemessen wurde in einer Verdünnungsreihe von unverdünnt bis zu einer Verdünnung von 1:64. Die Abweichung der gemessenen IL-1 $\beta$ -Konzentrationen zwischen dem Standard und dem mit DTT versetzten Standard ist in % angegeben.**

Verdünnung	ELISA 1 250pg* IL-1 $\beta$ in pg/ml	ELISA 1 +DTT** IL-1 $\beta$ in pg/ml	Differenz in %	ELISA 2 250pg * IL-1 $\beta$ in pg/ml	ELISA 2 +DTT** IL-1 $\beta$ in pg/ml	Differenz in %
x1	255	123	51,8	255		
x2	239	137	42,7	249	218	12,4
x4	264	137	48	255	196	23,1
x8	251	154	38,6	261	112	57,1
x16	253	189	25,3	249	152	39,0
x32	246	263	6,9	254	195	23,2
x64	243	508	109	242		

Um außerdem eine mögliche Auswirkung des DTT auf die verwendeten Capture-Antikörper in den Wells der Mikrotiterplatte zu untersuchen, wurden diese für 30min. mit 200µl 0,1% DTT/Vertiefung inkubiert. Das DTT wurde vor Durchführung der ELISA wieder ausgewaschen. Anschließend wurde der Standard erneut mit 250pg rekombinanten IL-1β versetzt und die IL-1β-Konzentration gemessen (siehe Tab.7).

*Tab.7: Gemessene IL-1β-Konzentration in pg/ml im mit 250pg rekombinanten IL-1β versetzten Standard ohne\* und nach\*\* zeitweisen Hinzufügen von 200µl DTT zu den Capture-Antikörpern (=CaptAk) in den Wells. Gemessen wurde in einer Verdünnungsreihe von unverdünnt bis zu einer Verdünnung von 1:64. Der Versuch wurde mit dem ELISA 1 und dem ELISA 2 parallel ausgeführt. Die Abweichung der Konzentrationswerte nach Beschichtung der Capture-Antikörper mit DTT ist in % angegeben.*

Verdünnung	ELISA 1		Abweichung in %	ELISA 2		Abweichung in %
	CaptAK* IL-1β in pg/ml	+DTT** IL-1β in pg/ml		CaptAK* IL-1β in pg/ml	+DTT** IL-1β in pg/ml	
x1	255			255	205	19,6
x2	239	273	14,2	249	213	14,6
x4	264	308	16,7	255	201	21,2
x8	251	340	35,5	261	202	22,6
x16	253	397	56,9	249	227	8,8
x32	246	533	116,7	254	184	27,6
x64	243	881	262,6	242	252	4,1

Das DTT führte nach Hinzufügen zu den Capture-Antikörpern vor allem beim ELISA 1 zu sehr stark veränderten Ergebnissen, so dass unter Zusammenschau aller Ergebnisse für die Versuche der ELISA 2 verwendet wurde. Da das DTT für die Aufbereitung des Sputums benötigt wurde und es zu erwarten ist, dass die Auswirkung auf die Konzentrationswerte bei allen untersuchten Sputen gleichsinnig ist, wurde der Einfluss des DTT auf die Testergebnisse im Weiteren vernachlässigt.

### Messung IL-1 $\beta$

Die Auswertung der Vorversuche führte dazu, dass die IL-1 $\beta$ -Konzentration mit dem kommerziell erhältlichen Sandwich ELISA Quantikine der Firma R&D Systems (DLB50) bestimmt wurde.

Verwendete Reagenzien:

- IL-1 $\beta$ -Standard (Part 890041: 1,25ng of recombinant human IL-1 $\beta$  in a buffered protein base with preservative)
- IL-1 $\beta$ -Mikroplatte (Part 890039: 96 well polystyrene microplate coated with a murine monoclonal antibody against IL-1 $\beta$ )
- Waschpuffer (Part 895009: buffered surfactant with preservative)
- IL-1 $\beta$ -Konjugat (Part 890040: polyclonal antibody against IL-1 $\beta$  conjugated to horseradish peroxidase)
- Colour Reagent A (Part 895000: stabilized hydrogen peroxide)
- Colour Reagent B (Part 895001: stabilized chromogen)
- Substratlösung (1:1 Mischung aus Colour Reagent A und B)
- Stopplösung (Part 895032: 2N sulfuric acid)

Der Sputumüberstand wurde aufgrund der Ergebnisse der Vorversuche 1:4 mit PBS verdünnt. Es wurden 200 $\mu$ l des verdünnten Sputumüberstandes, bzw. 200 $\mu$ l IL-1 $\beta$ -Standard in die Wells auf einer mit monoklonalem Antikörper gegen IL-1 $\beta$  beschichtete Mikrotiterplatte pipettiert. Die abgedeckten Platten inkubierten anschließend für zwei Stunden bei Raumtemperatur. Nach dreimaligem Waschen mit Waschpuffer erfolgte die Zugabe von 200 $\mu$ l IL-1 $\beta$ -Konjugat in jedes Well mit anschließendem erneuten zweistündigen Inkubieren und folgenden Waschen. Es wurden dann 200 $\mu$ l der Substratlösung hinzugefügt. Die Inkubation erfolgte über 20 Minuten lichtgeschützt bei Raumtemperatur. Die Reaktion wurde dann mit 100 $\mu$ l Stopplösung beendet. Die Extinktion wurde innerhalb von zwei Stunden bei 450nm gemessen (Photometer Autolumat, Fa. Berthold, LB 935) und die Ergebnisse anhand der Standardkurve ermittelt. Für jeden Überstand wurden Doppelmessungen durchgeführt. Bei Ergebnissen, die um mehr als 10% voneinander abwichen, wurden Wiederholungsmessungen durchgeführt und bei weiterhin deutlich abweichenden Werten zunehmende Verdünnungen des Sputumüberstandes für die erneute Messung gewählt.

### **IL-1RA**

Auch die kommerziell erhältlichen IL-1RA-ELISA sind für die quantitative Bestimmung der IL-1RA-Konzentration im Sputumüberstand nicht zugelassen, so dass Vorversuche wie bei IL-1 $\beta$  vor der eigentlichen Messung notwendig waren. Die Vorversuche wurden mit zwei ELISA (Fa. Biosource, KAL-1181 und Fa. R&D, 280 RA) parallel durchgeführt. Es wurden analog zum oben geschilderten Vorgehen Versuche zur Messung der Wiederfindungsrate von 3ng und 300ng rekombinanten IL-1RA durchgeführt, sowie der Einfluss von DTT auf die ELISA untersucht. Bei Biosource waren keine Messungen nach Kontakt des Capture-Antikörpers mit DTT möglich. Nach Auswertung der Vorversuche wurden die Bestimmungen der IL-1RA-Konzentration im Sputumüberstand mit dem ELISA der Firma R&D entsprechend der IL-1 $\beta$  Anleitung durchgeführt. Die Überstände wurden 1:500 mit Phosphatpuffer verdünnt und für jedes Sputum Doppelwerte gemessen.

### **MMP-2, MMP-9, TIMP-1**

Für die quantitative Bestimmung dieser Mediatoren im Sputumüberstand gibt es ebenfalls keine kommerziell erhältlichen zugelassenen ELISA. Die ELISA wurden entsprechend der vorbeschriebenen Anleitung durchgeführt. Um die Reproduzierbarkeit der Messergebnisse überprüfen zu können, wurde jede Messung mit einer Verdünnungsreihe aus drei Verdünnungen des Sputumüberstandes durchgeführt. Ergebnisabweichungen innerhalb einer Verdünnungsreihe von unter 10% wurden toleriert.

### **IL-8**

Die Vorversuche für die Bestimmung der IL-8-Konzentration im Sputumüberstand wurden parallel mit zwei ELISA (Fa. Bender und Fa. R&D, Dy 208) durchgeführt. Das für die Wiederfindungsversuche verwendete rekombinante IL-8 (Fa. R&D, 208-IL) ist sehr milieu- bzw. matrixabhängig und musste bis zu 1:40000 verdünnt werden, wodurch sich Ungenauigkeiten ergaben. Das PBS, der Standard und das Sputum wurden mit 2ng und 40ng rekombinanten IL-8 versetzt. Insgesamt waren die Wiederfindungsraten im Standardkurvenbereich vor allem im Sputum unbe-

friedigend. Die Messungen wurden deshalb mit individuellen Verdünnungsreihen mit bis zu sechs verschiedenen Verdünnungen für jeden Sputumüberstand durchgeführt. Ergebnisse, die in den verschiedenen Verdünnungen weniger als 10% abwichen, wurden als reproduzierbar angesehen.

### 2.5 Lungenfunktion

Die Lungenfunktionstests wurden im Lungenfunktionslabor der Universitätsklinik Lübeck gemäß der Richtlinien der American thoracic society (Clausen et al, 1997) mit einem Spirometer (Ganshorn Bodyscope, Niederlauer) in sitzender Position durchgeführt. Die FEV-1 und die Vitalkapazität wurden gemessen und als prozentualer Anteil der alters- und geschlechtsspezifischen Norm ermittelt. Als Parameter für eine obstruktive Ventilationsstörung wurde der Tiffeneau-Quotient (FEV-1/Vitalkapazität) verwendet. Ein Tiffeneau-Wert unter 70% wurde als Hinweis auf eine Obstruktion gewertet. Zusätzlich wurde eine kapilläre Blutgasanalyse aus dem Ohrläppchen zur Messung des Sauerstoffpartialdrucks ( $pO_2$ ) durchgeführt.

### 2.6 Ethik

Die vorliegende Studie wurde 2001 von der Ethikkommission positiv begutachtet (EK-Nr.:01-148). Eine Einverständniserklärung wurde von jedem Patienten nach einem Aufklärungsgespräch vor Studieneinschluss unterschrieben.

### 2.7 Statistik

Die statistische Auswertung wurde mit dem Computerprogramm SPSS Version 14 durchgeführt. Die Signifikanzüberprüfung der nominalskalierten Variablen erfolgte mittels des Chi-Quadrat-Tests. Für nicht gepaarte, parametrische Werte wurde der T-Test nach Student, für nicht gepaarte, nicht parametrische Daten der Mann-Whitney-U-Test verwendet. Werte von  $p < 0,05$  galten als statistisch signifikant.

## 3. Ergebnisse

### 3.1 Kollektive

Eingeschlossen wurden 16 stationäre Patienten mit ambulant erworbener Pneumonie, bei denen *Chlamydia pneumoniae* mittels PCR im Sputum (n=12), BAL (n=3) oder bronchialer Absaugung (n=1) gefunden wurde. Darüber hinaus wurden zwei Patienten mit schwerer Bronchitis und positivem Keimnachweis im Sputum aus dem Patientenkollektiv der pulmologischen Poliklinik der Universität Lübeck rekrutiert.

Das Vergleichskollektiv bestand aus 21 stationären Patienten mit Pneumokokkenpneumonie, bei denen im Sputum (n=4), BAL (n=2), Absaugung (n=1) oder Blutkultur (n=7) Pneumokokken, bzw. im Urin (n=7) Pneumokokken-Antigen nachgewiesen werden konnten.

Beide Kollektive waren hinsichtlich Geschlecht, Raucherstatus und Vorerkrankungen vergleichbar. Die Patienten in der Chlamydiengruppe waren signifikant jünger als Patienten mit Pneumokokkenpneumonie. In Tabelle 8 sind die demographischen Daten zusammengefasst.

**Tab.8: Demographische Daten** des Studienkollektivs mit nachgewiesener *C. pneumoniae* Infektion und des Kontrollkollektivs mit gesicherter Pneumokokkeninfektion (*S. pneumoniae*). Zusätzlich angegeben sind der Raucherstatus sowie das Vorhandensein einer COPD.

	<i>S. pneumoniae</i>	<i>C. pneumoniae</i>	p-Wert
n	21	18	
Alter (in Jahren) Mittelwert±Standardabweichung	62,1 ± 14,3	51,0 ± 17,5	0,036*
Männer/Frauen	12/9	12/6	0,542
Raucher/Nichtraucher	11/10	7/11	0,399
Bekannte COPD	6 (28,6%)	2 (11,1%)	0,178

Aus der Chlamydiengruppe erschienen 15 (83,3%) Patienten zu mindestens einer, 11 (61,1%) zu mindestens zwei und 7 (38,9%) zu allen drei Kontrolluntersuchungen. Die entsprechenden Daten für die Patienten mit Pneumokokkenpneumonie lauten 17 (81,0%), 12 (57,1%) und 7 (33,3%). Aufgrund der geringen Fall-

zahlen zum letzten Untersuchungszeitpunkt nach 180 Tagen wurde dieser in der weiteren Auswertung nicht berücksichtigt. Als Ursache ist am ehesten die nach sechs Monaten bestehende subjektive Beschwerdefreiheit und die damit verbundene geringere Motivation zur Teilnahme zu sehen.

### 3.2. Systemische Entzündungsparameter im Gruppenvergleich

Zum ersten Untersuchungszeitpunkt wurden die Körpertemperatur, die Leukozytenzahl im peripheren Blutbild und das CRP als systemische Entzündungsparameter erfasst. Die CRP-Werte und die Leukozytenzahl (siehe Tab.9) sind in der Kontrollgruppe mit Pneumokokkenpneumonie signifikant höher als in der Chlamydiengruppe ( $p < 0,01$ ), so dass eine erhöhte systemische Entzündungsreaktion in der Pneumokokkengruppe besteht. Diese Ergebnisse passen zu der erwarteten höheren Virulenz der Pneumokokken. Die Körpertemperatur unterscheidet sich in den beiden Kollektiven nicht signifikant.

**Tab.9: Körpertemperatur und systemische Entzündungsparameter in der Chlamydiengruppe und in der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt 1.**

	<b>Erreger</b>	<b>N</b>	<b>Mittelwert ± Standardabweichung</b>	<b>p-Wert</b>
Körpertemperatur in °C	Chlamydien	14	38,68 ± 0,98	0,230
	Pneumokokken	21	38,21 ± 1,17	
CRP in mg/l	Chlamydien	16	115,07 ± 94,40	0,001***
	Pneumokokken	20	254,47 ± 137,14	
Leukozytenzahl/nl	Chlamydien	16	11,79 ± 4,90	0,007**
	Pneumokokken	20	16,02 ± 3,91	

Führt man eine Risikostratifizierung anhand des CRB-65-Scores, in den der Bewußtseinszustand (C=Confusion), die Atemfrequenz (R=respiratorische Frequenz), der Blutdruck (B) und das Alter ( $\geq 65$  Jahre) einfließen, zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses bei akuter Pneumonie durch (siehe Tab.10), so ist das ermittelte Risiko in der Pneumokokkengruppe signifikant höher als in der Chlamydiengruppe ( $p < 0,01$ ).

**Tab.10: CRB-65-Score zum Zeitpunkt der akuten Pneumonie.**

	Chlamydiengruppe	Kontrollgruppe	p-Wert
CRB-65	0,25 ± 0,49	0,95 ± 0,51	0,005**

### 3.3 Chlamydiennachweis und Persistenz im Sputum

#### Chlamydienkollektiv

Von den 18 Patienten dieser Gruppe erschienen 15 (83,3%) zur ersten und 11 (61,1%) zu zwei Kontrolluntersuchungen. Nach 30 Tagen konnten 13 Sputen gewonnen werden, 3 (23%) waren in der Chlamydien-PCR positiv. Nach 90 Tagen waren 2 (20%) von 10 abgegebenen Sputen positiv (siehe Tab.11).

**Tab.11: Nachweis von *C. pneumoniae* mittels PCR im Sputum in der Chlamydiengruppe im akuten Infekt (Zeitpunkt 1), nach 30 Tagen (Zeitpunkt 2) und nach 90 Tagen (Zeitpunkt 3). Zum Zeitpunkt 1 sind definitionsgemäß alle Chlamydien-PCRs positiv. Die %-Angaben der nachuntersuchten Patienten beziehen sich auf die Gesamtpatientenzahl dieser Gruppe. Die %-Angabe der positiven PCR bezieht sich auf die Sputumproben, die zum jeweiligen Zeitpunkt untersucht wurden, da nicht alle Nachuntersuchten eine Sputumprobe abgeben konnten.**

Chlamydiengruppe	Zeitpunkt 1	Zeitpunkt 2	Zeitpunkt 3
Patientenanzahl	18	15 (83,3%)	11 (61,1%)
Gesamtprobenanzahl	18	13	10
Positive PCR	18	3 (23 %)	2 (20%)

Insgesamt ist bei 4 von 18 (22%) Patienten von einer Persistenz der Chlamydieninfektion auszugehen, da sie im Verlauf zu einem (n=3) oder beiden (n=1) Nachuntersuchungszeitpunkten positive Sputen abgaben. 12 Patienten (66,7%) der Chlamydiengruppe wurden initial mit chlamydienwirksamen Antibiotika (Makrolide, Tetracykline, Fluorchinolone oder Kombinationen) behandelt. Die vier Patienten mit im Verlauf weiter positiver Chlamydien-PCR erhielten alle initial eine chlamydienwirksame Therapie.

### Kontrollgruppe

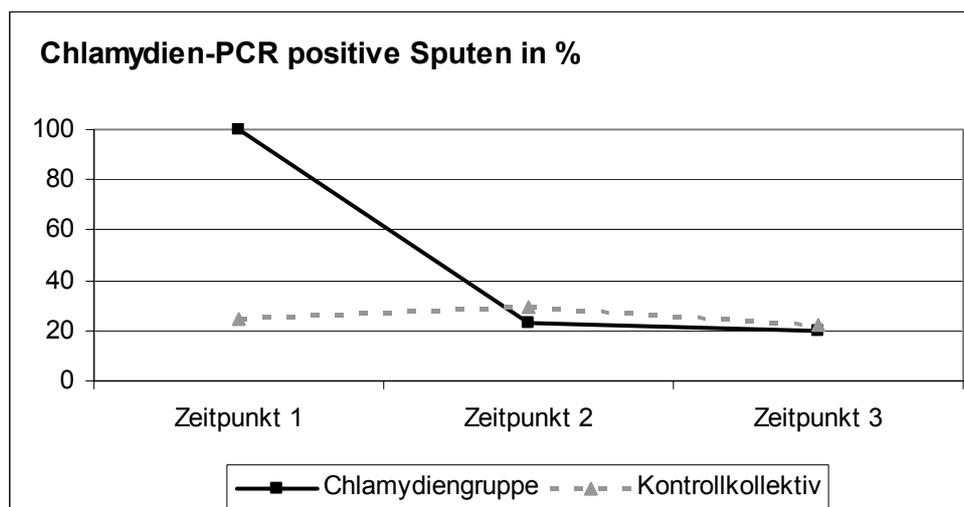
Das Kontrollkollektiv bestand aus 21 Patienten mit nachgewiesener Pneumokokkenpneumonie. In sieben Fällen (33%) wurden zusätzlich andere Erreger mit teils unklarer Pathogenität (*Bacillus spec.*, *Enterobacter amnigenus*, *Enterobacter spec*, *Hafnei alvei*, *Prevotella spec.*, *Staph. aureus* und *Sphingomonas*) nachgewiesen. Bei drei Patienten (14,3%) wurde retrospektiv eine Koinfektion mit Chlamydien gefunden. Bei fünf Patienten (23,8%) wurde die Chlamydien-PCR im Sputum im Verlauf positiv (s. Tab.12), alle fünf waren initial mit chlamydienwirksamen Antibiotika behandelt worden. Bei einem dieser Patienten (4,8%) war zu beiden Nachuntersuchungszeitpunkten die Chlamydien-PCR positiv. Bei den drei Patienten mit initialer Chlamydienkoinfektion war im Verlauf kein weiteres Sputum positiv.

**Tab. 12: Nachweis von *C. pneumoniae* mittels PCR im Sputum in der Kontrollgruppe im akuten Infekt (Zeitpunkt 1), nach 30 Tagen (Zeitpunkt 2) und nach 90 Tagen (Zeitpunkt 3). Die %-Angaben der nachuntersuchten Patienten beziehen sich auf die Gesamtpatientenzahl dieser Gruppe. Die %-Angabe der positiven PCR bezieht sich auf die Gesamtprobenzahl, da nicht alle Nachuntersuchten eine Sputumprobe abgeben konnten**

Kontrollgruppe	Zeitpunkt 1	Zeitpunkt 2	Zeitpunkt 3
Patientenanzahl	21	17 (81%)	12 (57,1%)
Gesamtprobenanzahl	12	14	9
Positive PCR	3 (25%)	4 (28,6%)	2 (22,2%)

### Vergleich der Gruppen

Zum ersten Untersuchungszeitpunkt sind in der Chlamydiengruppe definitionsgemäß 100% der durchgeführten Chlamydien-PCRs im Sputum positiv. 30 Tage nach akuter Pneumonie waren in der Chlamydiengruppe 23% der durchgeführten Chlamydien-PCRs und im Kontrollkollektiv 29% der durchgeführten Chlamydien-PCRs positiv. Nach 90 Tagen waren die entsprechenden Zahlen 20% und 22% (siehe Abb.6). 30 und 90 Tage nach akuter LRTI wurden also in beiden Gruppen vergleichbar häufig positive Chlamydien-PCRs nachgewiesen.



**Abb.6: Positive Chlamydien-PCR im Sputum in % der abgegebenen Sputen der Chlamydiengruppe und der Kontrollgruppe im Vergleich zu den verschiedenen Untersuchungszeitpunkten.** Zum Zeitpunkt 1 sind in der Chlamydiengruppe definitionsgemäß 100% der Chlamydien-PCRs positiv. Die Unterschiede zum Zeitpunkt 2 ( $p = 0,745$ ) und zum Zeitpunkt 3 ( $p = 0,906$ ) zwischen den Gruppen sind nicht signifikant.

### 3.4 Chlamydiennachweis und Persistenz im EDTA-Blut

Seit August 2003 wurde zusätzlich die *C. pneumoniae*-PCR in Monozyten im Blut bestimmt (siehe Tab.13 und Tab.14).

#### Chlamydienkollektiv

**Tab. 13: Nachweis von *C. pneumoniae* mittels PCR im EDTA-Blut in der Chlamydiengruppe im akuten Infekt (Zeitpunkt 1), nach 30 Tagen (Zeitpunkt 2) und nach 90 Tagen (Zeitpunkt 3).** Die %-Angaben der nachuntersuchten Patienten beziehen sich auf die Gesamtpatientenzahl dieser Gruppe. Die %-Angabe der positiven PCR bezieht sich auf die Gesamtprobenzahl, die zum jeweiligen Zeitpunkt in der Chlamydiengruppe untersucht wurde, da nicht von allen Nachuntersuchten eine EDTA-Blutprobe vorhanden war.

Chlamydiengruppe	Zeitpunkt 1	Zeitpunkt 2	Zeitpunkt 3
Patientenanzahl	18	15 (83%)	11 (61%)
Gesamtprobenanzahl	9	11	8
Positive PCR	4 (44,4%)	8 (72,7%)	2 (25%)

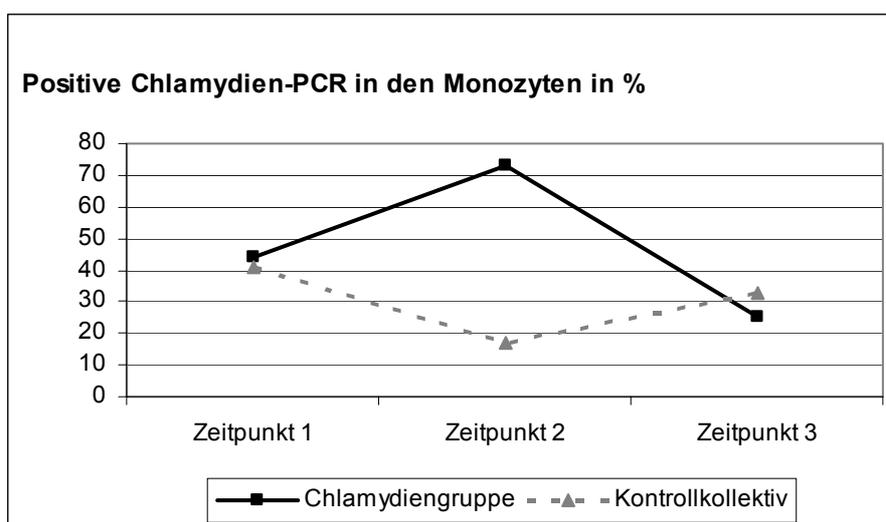
## Kontrollgruppe

**Tab.14: Nachweis von *C. pneumoniae* mittels PCR im EDTA-Blut in der Kontrollgruppe im akuten Infekt (Zeitpunkt 1), nach 30 Tagen (Zeitpunkt 2) und nach 90 Tagen (Zeitpunkt 3).** Die %-Angaben der nachuntersuchten Patienten beziehen sich auf die Gesamtpatientenzahl dieser Gruppe. Die %-Angabe der positiven PCR bezieht sich auf die Gesamtprobenzahl, die zum jeweiligen Zeitpunkt in der Kontrollgruppe untersucht wurden, da nicht von allen Nachuntersuchten eine EDTA-Blutprobe vorhanden war.

Kontrollgruppe	Zeitpunkt 1	Zeitpunkt 2	Zeitpunkt 3
Patientenanzahl	21	17 (85%)	12 (60%)
Gesamtprobenanzahl	17	12	9
Positive PCR	7 (41%)	2 (17%)	3 (33%)

## Vergleich der Gruppen

In der Chlamydiengruppe sind nach 30 Tagen 72,7% der durchgeführten Chlamydien-PCRs im EDTA-Blut positiv und damit signifikant ( $p^{**}=0,007$ ) häufiger positiv als in der Kontrollgruppe (siehe Abb.7). Nach 90 Tagen sinkt in der Chlamydiengruppe der prozentuale Anteil der positiven PCRs ab. In der Kontrollgruppe steigt der Anteil der positiven PCRs zum dritten Untersuchungszeitpunkt nicht signifikant an ( $p=0,336$ ).



**Abb.7: Positive Chlamydien-PCR in den Monozyten im EDTA-Blut in % der gewonnenen EDTA-Blutproben in der Chlamydiengruppe und der Kontrollgruppe.** Zum Zeitpunkt 2 sind in der Chlamydiengruppe signifikant mehr Chlamydien-PCRs im EDTA-Blut positiv als in der Kontrollgruppe ( $p^{**}=0,007$ ). Zum Zeitpunkt 1 ( $p=1,00$ ) und nach 90 Tagen zum Zeitpunkt 3 ( $p=0,707$ ) besteht kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen.

### 3.5 Protrahierter versus unkomplizierter Verlauf

Gaben die Patienten zum Zeitpunkt der ersten Nachuntersuchung weiter produktiven Husten (n=12) an und/oder musste die Antibiotikatherapie (n=5) im Verlauf umgestellt werden, so wurde der Verlauf als protrahiert gewertet. Unter Berücksichtigung dieser Kriterien zeigten 15 Patienten einen protrahierten und 24 Patienten einen unkomplizierten Verlauf.

In der Gruppe mit protrahiertem Verlauf fanden sich signifikant mehr Patienten ( $p^*=0,029$ ) mit Nachweis einer Chlamydieninfektion als in der Gruppe mit unkompliziertem Verlauf. Die Patienten mit unkompliziertem Verlauf waren signifikant älter als die Patienten mit protrahiertem Verlauf. Hinsichtlich Geschlecht, Raucherstatus und vorbestehender COPD waren die Gruppen vergleichbar (siehe Tab.15).

**Tab. 15: Epidemiologische Daten des Kollektivs mit protrahiertem Verlauf und des mit unkompliziertem Verlaufs.** Angegeben ist zusätzlich der positive Chlamydiennachweis im respiratorischen Sekret. Hinsichtlich des Alters ( $p^*=0,011$ ) und der positiven Chlamydien-PCR im Sputum ( $p=0,029$ ) unterscheiden sich die Gruppen signifikant.

	Protrahierter Verlauf	Unkomplizierter Verlauf	p-Wert
n	15	24	
Alter (in Jahren) Mittelwert± Standardabweichung	48,7 ± 17,3	62,17 ± 14,1	0,011*
Männer/Frauen	8/7	13/5	0,405
Raucher/Nichtraucher	7/8	11/13	0,959
Bekannte COPD	4	4	0,452
Chlamydiennachweis	11	9	0,029

In der Gruppe mit unkompliziertem Verlauf erhielten signifikant mehr Patienten initial eine kombinierte Antibiotikatherapie aus einem Zweit- oder Drittgenerations-Cephalosporin und einem Makrolid als in der Gruppe mit protrahiertem Verlauf (siehe Tab.16).

**Tab. 16: Initiale Antibiotikatherapie im Vergleich** zwischen der Gruppe mit protrahiertem und unkompliziertem Verlauf. In der Gruppe mit protrahiertem Verlauf erhielten 33% der Patienten eine Kombinationstherapie mit einem 2. oder 3. Generationscephalosporin und einem Makrolid in der Gruppe mit unkompliziertem Verlauf 79%. Die Signifikanz hinsichtlich dieser Antibiotikatherapie zwischen den Gruppen beträgt  $p^{**}=0,002$ .

Antibiotikatherapie	protrahierter Verlauf	unkomplizierter Verlauf
Cephalosporin u. Makrolid	5	16
Fluorchinolon	0	3
Makrolid	2	1
Cephalosporin	4	3
Unacid	1	0
Unacid und Makrolid	2	1
Tetrazyklin u Cephalosporin	1	0
Gesamt	15	24

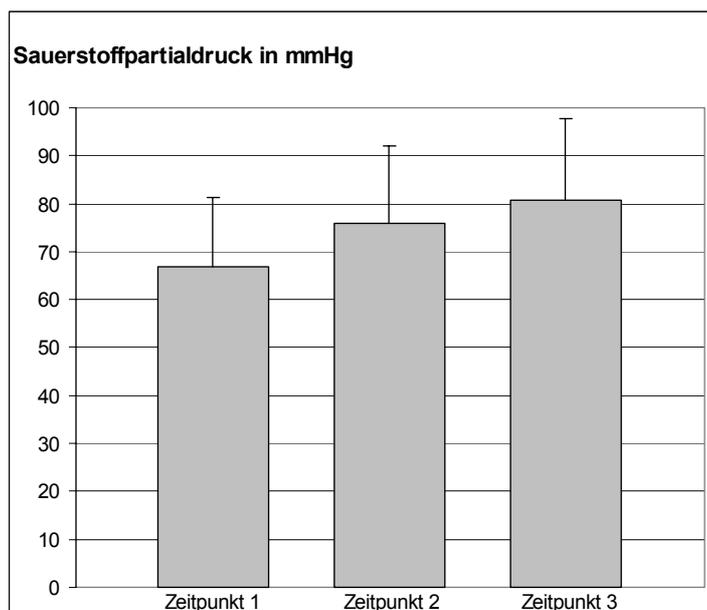
### 3.6 Lungenfunktion

Um zu klären, ob eine Chlamydieninfektion die Entwicklung einer obstruktiven Lungenerkrankung begünstigt, wurde an den vier Untersuchungszeitpunkten ein Lungenfunktionstest durchgeführt. Eine Obstruktion liegt definitionsgemäß bei einem Tiffeneauwert (Quotient aus der FEV1/IVC) von unter 70% vor.

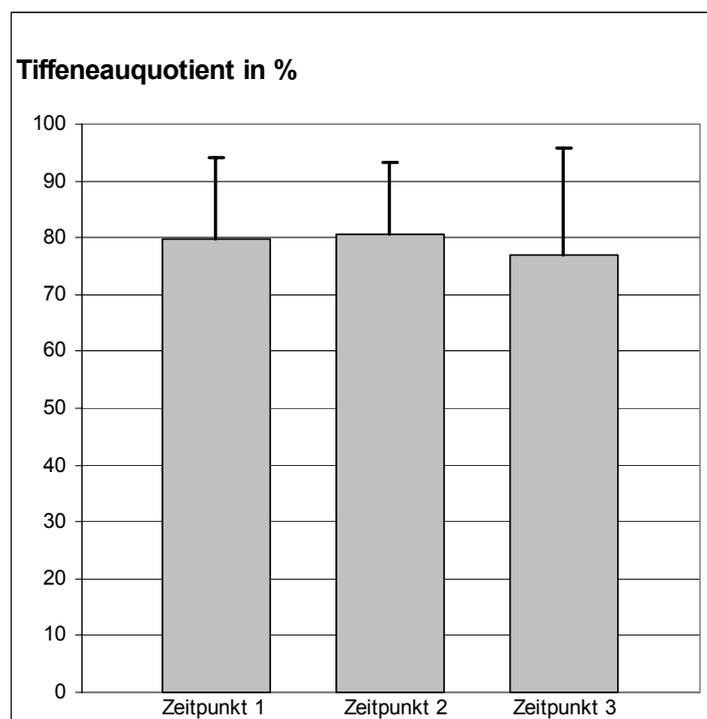
#### Chlamydienkollektiv

Im Chlamydienkollektiv liegen zum ersten Untersuchungszeitpunkt bei acht Patienten Lungenfunktionswerte vor, bei vier zusätzlichen Patienten die Ergebnisse einer Blutgasanalyse. Nach 30 Tagen wurde bei 14 Patienten dieser Gruppe eine Lungenfunktion durchgeführt und nach 90 Tagen bei 11 Patienten. Der Sauerstoffpartialdruck steigt im Mittelwert von 66,9mmHg während des akuten Infekts auf 80,7mmHg nach 90 Tagen (siehe Abb.8).

Die Mittelwerte des Tiffeneauquotienten (siehe Abb.9) steigen innerhalb der ersten 30 Tage in der Chlamydiengruppe von 79,9% auf 80,5% kaum an. Nach 90 Tagen sinkt der Mittelwert auf 76,9%. Insgesamt ergeben sich keine signifikanten Änderungen.



**Abb.8:** Mittelwerte mit Standardabweichung des Sauerstoffpartialdrucks im arterialisierten Kapillarblut gemessen in mmHg in der Chlamydiengruppe zum 1., 2. und 3. Untersuchungszeitpunkt.

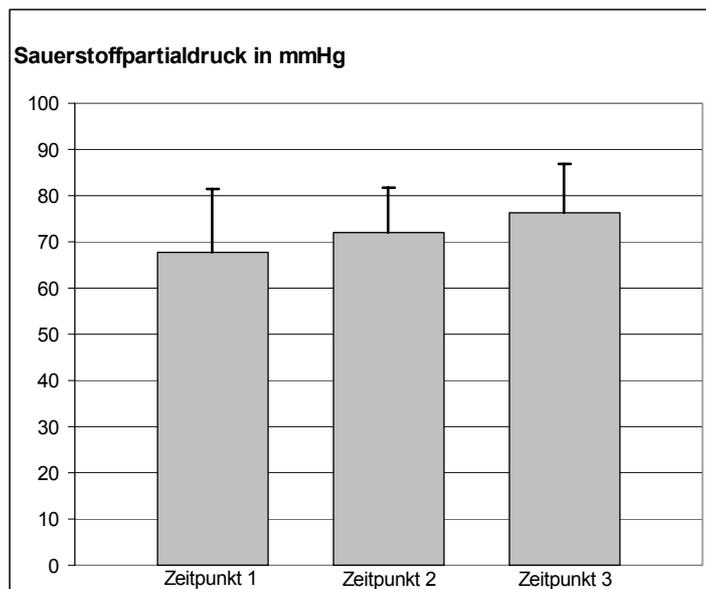


**Abb.9:** Mittelwerte mit Standardabweichung der Tiffeneauwerte in % unter Berücksichtigung der alters- und geschlechtsspezifischen Norm in der Chlamydiengruppe zu den ersten 3 Untersuchungszeitpunkten.

### Kontrollgruppe

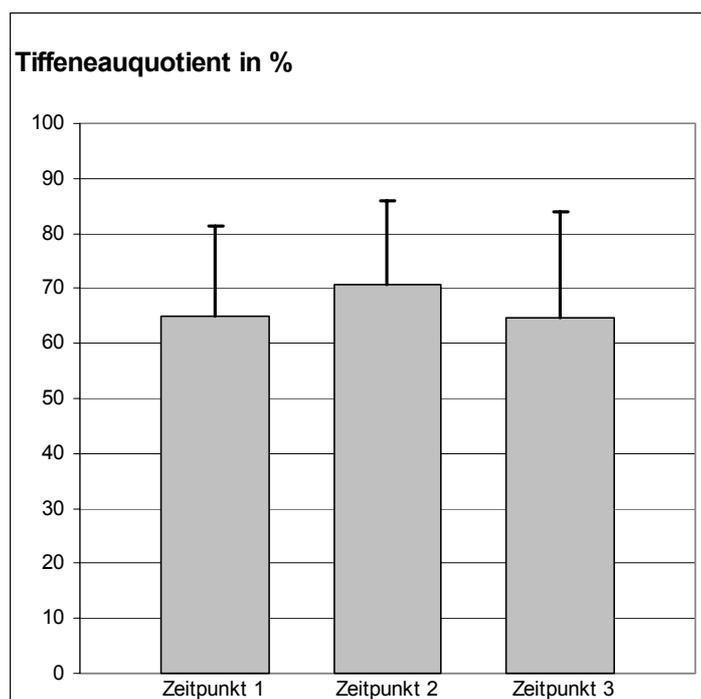
In der Kontrollgruppe mit positivem Pneumokokkennachweis wurden im Rahmen der akuten Infektion Daten von 15 Lungenfunktionen und zusätzlich von vier Blutgasanalysen ermittelt.

Der Sauerstoffpartialdruck liegt initial bei 67,6mmHg und steigt auf 78,2mmHg nach 180 Tagen an (siehe Abb.10).



**Abb.10: Mittelwerte mit Standardabweichung des Sauerstoffpartialdrucks im Kapillarblut gemessen in mmHg in der Kontrollgruppe zum 1., 2. und 3. Untersuchungszeitpunkt.**

Die Tiffeneauquotienten steigen in den ersten 30 Tagen nach akuter Infektion von 65,7% auf 70,7% und sinken dann nach 90 Tagen auf 64,7% (siehe Abb.11).



**Abb.11: Mittelwerte mit Standardabweichung der Tiffeneauwerte in % unter Berücksichtigung der alters- und geschlechtsspezifischen Norm in der Kontrollgruppe zu den ersten 3 Untersuchungszeitpunkten.**

### Vergleich der Gruppen

Vergleicht man die Mittelwerte der Sauerstoffpartialdrücke der Chlamydiengruppe mit denen der Kontrollgruppe zu den 3 Untersuchungszeitpunkten, so zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen (siehe Tab.17).

**Tab. 17: Mittelwerte und Standardabweichungen des Sauerstoffpartialdrucks in mmHg im Kapillarblut in der Chlamydiengruppe und in der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt 1-3.**

	<b>Erreger</b>	<b>N</b>	<b>Mittelwert ± Standardabweichung</b>	<b>p-Wert</b>
Sauerstoffpartialdruck Zeitpunkt 1 in mmHg	Chlamydien	12	66,94 ± 14,50	0,894
	Pneumokokken	19	67,64 ± 13,67	
Sauerstoffpartialdruck Zeitpunkt 2 in mmHg	Chlamydien	14	75,95 ± 16,14	0,407
	Pneumokokken	17	71,99 ± 9,87	
Sauerstoffpartialdruck Zeitpunkt 3 in mmHg	Chlamydien	11	80,67 ± 16,94	0,468
	Pneumokokken	12	76,38 ± 10,43	

Im Rahmen des akuten Infektes ist der Tiffeneauwert in der Kontrollgruppe signifikant niedriger als in der Chlamydiengruppe ( $p < 0,05$ ) und nach 30 Tagen tendenziell niedriger (siehe Tab.18). Hierbei sind die unterschiedlichen Gruppengrößen bei der Erstuntersuchung zu berücksichtigen. Zudem waren in der Kontrollgruppe tendenziell mehr Patienten mit vorbestehender Atemwegserkrankung vertreten.

**Tab.18: Mittelwerte und Standardabweichungen der Tiffeneauwerte in % unter Berücksichtigung der alters- und geschlechtsspezifischen Norm in der Chlamydiengruppe und in der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt 1-3.**

	<b>Erreger</b>	<b>N</b>	<b>Mittelwert ± Standardabweichung</b>	<b>p-Wert</b>
Tiffeneau Zeitpunkt 1 in %	Chlamydien	8	79,88 ± 14,13	0,042*
	Pneumokokken	15	65,07 ± 16,28	
Tiffeneau Zeitpunkt 2 in %	Chlamydien	14	80,50 ± 12,76	0,064
	Pneumokokken	17	70,78 ± 15,15	
Tiffeneau Zeitpunkt 3 in %	Chlamydien	11	76,91 ± 18,89	0,159
	Pneumokokken	10	64,70 ± 19,19	

### 3.7 Differenzialzellbild im Sputum

Tabelle 19 zeigt das Differenzialzellbild im Sputum. Zum ersten und zweiten Zeitpunkt sind im Sputum der Patienten der Chlamydiengruppe auffallend mehr Eosinophile und zum zweiten Zeitpunkt ebenfalls vermehrte Lymphozyten vorhanden ( $p = 0,325$ ). Eine weitere Auswertung erfolgte aufgrund der geringen Anzahl an untersuchten Sputumproben nicht.

**Tab.19: Differenzialzellbild im Sputum in % bezogen auf die Gesamtzellzahl zum Zeitpunkt 1-3.**  
 Angegeben sind jeweils die Mittelwerte mit Standardabweichung.

	Neutrophile in %	Makrophagen in %	Lymphozyten in %	Basophile in %	Eosinophile in %
<b>Zeitpunkt 1</b>					
Chlamydiengruppe (n=7)	86 ± 13	9,3 ± 8	0,8 ± 1,2	0,2 ± 0,5	3,1 ± 6,9
Kontrollgruppe (n=13)	79,9 ± 24,5	15,6 ± 25	2,1 ± 3,1	0,6 ± 1,8	1,0 ± 2,6
<b>Zeitpunkt 2</b>					
Chlamydiengruppe (n=6)	77,5 ± 19	10,4 ± 11,5	5,2 ± 10,6	0,1 ± 0,2	5,1 ± 11,1
Kontrollgruppe (n= 6)	85,6 ± 15,4	7,5 ± 13	0,6 ± 1	0	2,8 ± 4,3
<b>Zeitpunkt 3</b>					
Chlamydiengruppe (n=3)	84,2 ± 7,2	14,8 ± 6,6	0,3 ± 0,4	0,7 ± 0,9	0
Kontrollgruppe (n=5)	89 ± 7,2	6,9 ± 6,1	1,5 ± 2	0	0,2 ± 0,4

### 3.8 Zytokine im Sputumüberstand

#### Interleukin-1 $\beta$

Die gemessene Interleukin-1 $\beta$ -Konzentration zeigte zu keinem der Untersuchungszeitpunkte einen signifikanten Unterschied zwischen der Chlamydiengruppe und der Kontrollgruppe (siehe Tab.20). Die Kollektivgrößen sind teilweise gering, da zum Teil mehrere Verdünnungsreihen für valide Ergebnisse notwendig waren und nicht immer eine ausreichende Menge an Sputumüberstand vorhanden war.

**Tab. 20: Mittelwerte und Standardabweichungen der mittels ELISA im Sputumüberstand gemessenen Interleukin-1 $\beta$ -Konzentration in pg/ml der Chlamydiengruppe und der Kontrollgruppe mit Pneumokokkenpneumonie zum Untersuchungszeitpunkt 1-3.**

	Erreger	N	Mittelwert $\pm$ Standardabweichung	p-Wert
IL-1 $\beta$ Zeitpunkt 1 in pg/ml	Chlamydien	5	436,64 $\pm$ 289,47	0,690
	Pneumokokken	12	592,75 $\pm$ 824,65	
IL-1 $\beta$ Zeitpunkt 2 in pg/ml	Chlamydien	8	218,77 $\pm$ 160,90	0,916
	Pneumokokken	7	233,40 $\pm$ 347,37	
IL-1 $\beta$ Zeitpunkt 3 in pg/ml	Chlamydien	5	83,28 $\pm$ 68,22	0,422
	Pneumokokken	8	375,50 $\pm$ 768,27	

### Interleukin-1-Rezeptorantagonist

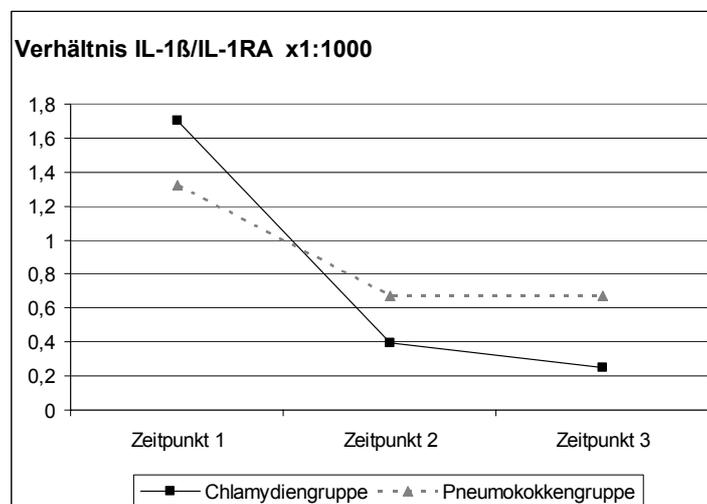
Eine ausgeglichene Sekretion von pro- und antiinflammatorischen Zytokinen in der Lunge ist notwendig, um die Entzündungsreaktion bei respiratorischen Infekten zu limitieren. Es konnten keine signifikanten Unterschiede in den Konzentrationen von Interleukin-1-Rezeptorantagonist zwischen den beiden untersuchten Kollektiven festgestellt werden (siehe Tab.21).

**Tab. 21: Mittelwerte und Standardabweichungen der mittels ELISA im Sputumüberstand gemessenen Interleukin-1-Rezeptorantagonist-Konzentration in ng/ml der Chlamydiengruppe und der Kontrollgruppe mit Pneumokokkenpneumonie zum Untersuchungszeitpunkt 1-3.**

	Erreger	N	Mittelwert $\pm$ Standardabweichung	p-Wert
IL-1RA Zeitpunkt 1 in ng/ml	Chlamydien	6	525,35 $\pm$ 503,66	0,450
	Pneumokokken	12	1486,40 $\pm$ 2977,46	
IL-1RA Zeitpunkt 2 in ng/ml	Chlamydien	8	366,85 $\pm$ 151,02	0,750
	Pneumokokken	7	389,97 $\pm$ 119,74	
IL-1RA Zeitpunkt 3 in ng/ml	Chlamydien	5	383,30 $\pm$ 169,71	0,900
	Pneumokokken	7	371,84 $\pm$ 112,02	

Abbildung 12 zeigt das Verhältnis zwischen proinflammatorischem IL-1 $\beta$  und dem antiinflammatorischen IL-1RA. Zwischen den Gruppen bestanden keine signifikanten Unterschiede, so dass anhand der untersuchten Proben kein Anhalt für eine

Imbalance zwischen pro- und antiinflammatorischen Zytokinen im Sputumüberstand in der Chlamydiengruppe besteht.



**Abb. 12: Mittelwerte der Verhältnisse von IL-1β/IL-1-Rezeptorantagonist in den jeweiligen Sputumüberständen in der Chlamydiengruppe und der Pneumokokkengruppe zum Zeitpunkt 1-3.** Der Interleukin-1-Rezeptorantagonist ist in einer Größenordnung von  $10^3$  höheren Konzentration im Sputumüberstand vorhanden als Interleukin-1β. Die Unterschiede zwischen den Gruppen sind nicht signifikant (Zeitpunkt 1  $p=0,126$ , Zeitpunkt 2  $p=0,647$  und Zeitpunkt 3  $p=0,488$ ).

### Interleukin-8

Für jeden Sputumüberstand musste eine individuelle Verdünnungsreihe angefertigt werden, so dass sechs verschiedene Verdünnungen des Sputumüberstandes angefertigt und anschließend die Interleukin-8-Konzentration gemessen wurden. Als valide Konzentrationswerte wurden Werte mit Abweichungen von unter 10% innerhalb einer Verdünnungsreihe akzeptiert. Aufgrund des durch die notwendigen Verdünnungsreihen erhöhten Sputumüberstandsbedarf sind die n-Zahlen für das Interleukin-8 geringer als für das Interleukin-1 und den Interleukin-1-Rezeptorantagonist. Auch für das Interleukin-8 zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden untersuchten Kollektiven (siehe Tab.22).

**Tab. 22: Mittelwerte und Standardabweichungen der mittels ELISA im Sputumüberstand gemessenen Interleukin-8-Konzentration in ng/ml der Chlamydiengruppe und der Kontrollgruppe mit Pneumokokkenpneumonie zum Untersuchungszeitpunkt 1-3.**

	<b>Erreger</b>	<b>N</b>	<b>Mittelwert ± Standardabweichung</b>	<b>p-Wert</b>
IL-8 Zeitpunkt 1 in ng/ml	Chlamydien	5	16103,40 ± 23760,48	0,357
	Pneumokokken	12	8344,54 ± 10761,10	
IL-8 Zeitpunkt 2 in ng/ml	Chlamydien	8	5378,88 ± 10032,60	0,261
	Pneumokokken	6	63543,42 ± 140793,84	
IL-8 Zeitpunkt 3 in ng/ml	Chlamydien	4	889,10 ± 704,13	0,393
	Pneumokokken	8	23568,48 ± 49617,60	

### **Matrix-Metalloprotease 2 und Matrix-Metalloprotease 9**

Zwischen den beiden untersuchten Gruppen zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der Konzentration der Matrix-Metalloprotease 2 (siehe Tab.23) und der Matrix-Metalloprotease 9 (siehe Tab.24) im Sputumüberstand.

**Tab.23: Mittelwerte und Standardabweichungen der mittels ELISA im Sputumüberstand gemessenen Matrix-Metalloprotease 2-Konzentration in ng/ml der Chlamydiengruppe und der Kontrollgruppe mit Pneumokokkenpneumonie zum Untersuchungszeitpunkt 1-3.**

	<b>Erreger</b>	<b>N</b>	<b>Mittelwert ± Standardabweichung</b>	<b>p-Wert</b>
MMP-2 Zeitpunkt 1 in ng/ml	Chlamydien	6	113,46 ± 219,18	0,288
	Pneumokokken	12	37,45 ± 76,95	
MMP-2 Zeitpunkt 2 in ng/ml	Chlamydien	8	4,27 ± 1,85	0,231
	Pneumokokken	6	69,58 ± 148,47	
MMP-2 Zeitpunkt 3 in ng/ml	Chlamydien	4	4,68 ± 1,80	0,468
	Pneumokokken	8	3,83 ± 1,87	

**Tab.24: Mittelwerte und Standardabweichungen der mittels ELISA im Sputumüberstand gemessenen Matrix-Metalloprotease 9-Konzentration in ng/ml der Chlamydiengruppe und der Kontrollgruppe mit Pneumokokkenpneumonie zum Untersuchungszeitpunkt 1-3.**

	<b>Erreger</b>	<b>N</b>	<b>Mittelwert ± Standardabweichung</b>	<b>p-Wert</b>
MMP-9 Zeitpunkt 1 in ng/ml	Chlamydien	6	1603,60 ± 1214,97	0,541
	Pneumokokken	12	3542,75 ± 7439,26	
MMP-9 Zeitpunkt 2 in ng/ml	Chlamydien	8	821,99 ± 879,55	0,268
	Pneumokokken	6	3023,12 ± 5329,94	
MMP-9 Zeitpunkt 3 in ng/ml	Chlamydien	5	287,88 ± 169,74	0,277
	Pneumokokken	8	929,54 ± 1228,04	

### Tissue inhibitor of metalloprotease 1 (TIMP-1)

Zwischen den beiden Gruppen zeigen sich auch hinsichtlich der TIMP-1-Konzentrationen keine signifikanten Unterschiede (siehe Tab.25).

**Tab.25: Mittelwerte und Standardabweichungen der mittels ELISA im Sputumüberstand gemessenen TIMP-1-Konzentration in ng/ml der Chlamydiengruppe und der Kontrollgruppe mit Pneumokokkenpneumonie zum Untersuchungszeitpunkt 1-3.**

	<b>Erreger</b>	<b>N</b>	<b>Mittelwert ± Standardabweichung</b>	<b>p-Wert</b>
TIMP-1 Zeitpunkt 1 in ng/ml	Chlamydien	6	777,09 ± 898,13	0,952
	Pneumokokken	13	750,86 ± 853,56	
TIMP-1 Zeitpunkt 2 in ng/ml	Chlamydien	7	121,30 ± 111,15	0,064
	Pneumokokken	6	602,36 ± 610,71	
TIMP-1 Zeitpunkt 3 in ng/ml	Chlamydien	3	92,10 ± 45,22	0,533
	Pneumokokken	8	160,19 ± 174,41	

## 4. Diskussion

Mit den im Rahmen dieser Dissertation durchgeführten Untersuchungen sollte geklärt werden, ob Unterschiede im akuten Stadium und im longitudinalen Verlauf nach respiratorischen Pneumokokken- und Chlamydieninfektionen bestehen. Insbesondere sollte der Frage nachgegangen werden, ob eine akute *Chlamydia pneumoniae* Infektion mit der Entwicklung einer obstruktiven Atemwegserkrankung assoziiert und ob der Nachweis einer persistierenden Infektion klinisch relevant ist. Diese Frage ist hinsichtlich der Bewertung einer Eradikationstherapie von zentraler Bedeutung.

Zu diesem Zweck wurden epidemiologische Daten, Entzündungsparameter und die Antibiotikatherapie im Rahmen der Pneumonie dokumentiert. Im Verlauf wurden zu zwei Nachuntersuchungszeitpunkten nach einem und drei Monaten neben der klinischen Untersuchung jeweils Lungenfunktionsprüfungen, eine Chlamydien-diagnostik im Sputum und im EDTA-Blut sowie eine Zytokinbestimmung im Sputum durchgeführt. Die Ergebnisse der zunächst geplanten dritten Verlaufsuntersuchung nach sechs Monaten wurden aufgrund der geringen Fallzahl nicht berücksichtigt.

### 4.1 Systemische Entzündungsparameter

Die systemischen Entzündungsparameter CRP und Leukozytenzahl im peripheren Blutbild waren in der Kontrollgruppe mit nachgewiesener Pneumokokkenpneumonie signifikant höher als in der Gruppe mit Chlamydienpneumonie. In der 2004 veröffentlichten Studie von Almirall et al konnte gezeigt werden, dass die Höhe des CRPs mit der Schwere der Pneumonie korreliert (Almirall et al, 2004). Die Schwere der Pneumonie wurde dabei anhand der Klinik und der Notwendigkeit einer stationären bzw. intensivstationären Behandlung definiert. Patienten mit Pneumokokken- oder Legionellenpneumonie hatten besonders hohe CRP-Werte. Unter Berücksichtigung dieser Ergebnisse weisen unsere Daten also auf einen

schwereren Verlauf der Pneumokokkenpneumonie im Vergleich zur *C. pneumoniae* Pneumonie hin.

Neben den Entzündungsparametern wird diese Hypothese auch durch die Ergebnisse des CRB65-Scores zur Evaluierung des Mortalitätsrisikos bestätigt, der in der Pneumokokkengruppe signifikant höher als in der Chlamydiengruppe lag. Ähnliche Ergebnisse wurden 1999 von Riuz et al. veröffentlicht. In dieser Studie waren 395 Patienten mit ambulant erworbener Pneumonie untersucht worden. Patienten mit positivem Pneumokokkennachweis waren älter und wurden signifikant häufiger auf Intensivstation behandelt als Patienten mit atypischen Keimen. Im Gegensatz zu unserer Studie wurde der *C. pneumoniae* Nachweis von Riuz et al mittels Serologie und nicht als PCR aus respiratorischen Materialien, die der Serologie überlegen ist, durchgeführt (Riuz et al, 1999). Auch die während einer *C. pneumoniae* Epidemie in Finnland 1986/1987 gesammelten Daten von 125 Patienten zeigten in einer 1996 veröffentlichten Studie, dass die Chlamydienpneumonie milder und mit niedrigeren Entzündungsparametern verläuft als die Pneumokokkenpneumonie (Kauppinen et al, 1996). Longitudinale Daten über den postpneumonischen Verlauf wurden in dieser Studie nicht erhoben.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass unsere Ergebnisse im Einklang mit der vorhandenen Literatur zeigen, dass eine *C. pneumoniae* Pneumonie weniger schwer verläuft und mit einem geringeren Mortalitätsrisiko als eine Pneumokokkenpneumonie einhergeht.

### 4.2 Chlamydiennachweis und Persistenz im Sputum

In der Literatur wird immer wieder auf das Fehlen eines Gold-Standards zum Nachweis einer akuten Infektion mit *C. pneumoniae* hingewiesen (Kuoppa et al, 2002; Bunk et al, 2008). In den meisten bisher vorhandenen Studien beruhen die Ergebnisse auf einem serologischen Chlamydiennachweis, der eine zuverlässige Unterscheidung zwischen akuter und chronischer Infektion nicht zulässt (Hammerschlag, 2000). Zusätzlich werden die serologischen Ergebnisse unterschiedlich interpretiert.

In unserer Studie wurde der Erregernachweis mittels einer nested PCR durchgeführt. Vier Wochen und drei Monaten nach der akuten Infektion waren in 20-30% der von uns untersuchten Sputumproben *C. pneumoniae* mittels PCR nachweisbar, unabhängig davon ob die Patienten initial Chlamydien positiv waren oder nicht. Der positive Nachweis korrelierte dabei nicht mit einem protrahierten Verlauf (siehe 4.4).

Obwohl die PCR zur Zeit die spezifischste und sensitivste Nachweismethode einer akuten *C. pneumoniae* Infektion ist, fehlt auch ihr ein international validierter Standard (Dowell et al, 2001). Dies dürfte eine Ursache dafür sein, dass die umfangreiche Literatur, die mittlerweile über *C. pneumoniae* vorhanden ist, ein großes Spektrum an sich zum Teil deutlich widersprechenden Ergebnissen bietet. Eine 2007 von Kumar und Hammerschlag durchgeführte Metaanalyse zeigte, dass der prozentuale Anteil an *C. pneumoniae* Infektionen in Bezug auf die Gesamtzahl der unteren Atemwegsinfekte in den seit 2001 publizierten Studien zwischen 0% und 44% schwankt (Kumar und Hammerschlag, 2007). Aus den 2006 veröffentlichten CAPNETZ- Daten geht hervor, dass 0,9% der in das Netzwerk eingeschlossenen ambulant erworbenen Pneumonien mit einer positiven Chlamydien-PCR einhergingen. Im Rahmen von CAPNETZ wurde die Chlamydien-PCR als positiv gewertet, wenn in mindestens zwei der drei Referenzlabore die PCR positiv war (Wellinghausen et al, 2006). Kritisch ist hierzu anzumerken, dass zwischen den Laboren keine interne Standardisierung der Nachweismethoden gelang und die Rolle des Untersuchungsmaterials (in den meisten Fällen Sputum) nicht ausreichend geklärt werden konnte. Darüber hinaus muss auch ähnlich wie bei Mykoplasmeninfektionen mit Schwankungen der Inzidenz von *C. pneumoniae* Infektionen in mehrjährigen Zyklen gerechnet werden, die zu unterschiedlichen Studienergebnissen beitragen können (Kauppinen et al, 1995; Boman et al, 1997; Troy et al, 1997).

Asymptomatische *C. pneumoniae* Infektionen der oberen Luftwege wurden erstmalig 1991 von Gnarpe et al beschrieben. Die Autoren fanden bei 4,7% der 234 untersuchten gesunden Erwachsenen eine positive Chlamydienkultur (Gnarpe et al, 1991). Seitdem wurde in mehreren Studien das Vorkommen von asymptomatischen Trägern mittels Kultur und PCR aus Nasopharynx-Abstrichen bestätigt. Die

Prävalenz variiert zwischen den Studien zwischen 5% (Emre et al, 1994) und 1,2% (Gaydos et al, 1994). In einer 2006 veröffentlichten Studie wurde im Sputum bei 17% von 103 Patienten mit stabilem milden oder moderaten Asthma bronchiale mittels PCR *C. pneumoniae* nachgewiesen. Der positive Chlamydiennachweis ging im Vergleich zu den übrigen Asthmatikern mit einer signifikant erhöhten Obstruktion und einer kürzeren Asthma-Anamnese einher. Außerdem konnte bei 30% der 30 untersuchten gesunden Probanden in der Kontrollgruppe eine positive Chlamydien-PCR im induzierten Sputum nachgewiesen werden (Harju et al, 2006). Die in dieser Studie und in unserer Kontrollgruppe erfassten asymptomatischen Träger könnten als Erregerreservoir für die epi- und endemisch auftretenden Häufungen von *C. pneumoniae* Infektionen dienen.

### 4.3 Chlamydiennachweis und Persistenz in peripheren Monozyten

Interessanterweise waren in unserer Studie im EDTA-Blut im Gegensatz zum Sputum nach vier Wochen signifikant häufiger Chlamydien in der Chlamydien- als in der Kontrollgruppe nachweisbar.

*In vitro* konnte von van Zandbergen et al gezeigt werden, dass die neutrophilen Granulozyten Elementarkörperchen phagozytieren und dass ein kleiner Prozentsatz der phagozytierten Bakterien überlebt und vermehrungsfähig bleibt. Zusätzlich verzögerten die internalisierten Chlamydien über einen unbekanntem Mechanismus die spontane Apoptose der neutrophilen Granulozyten, so dass sich die durchschnittliche Überlebensdauer der Zellen von 6-10 Stunden auf bis zu 90 Stunden verlängerte (Van Zandbergen et al, 2004). Dies entspricht einer Zeitspanne, in der ein kompletter Entwicklungszyklus von *C. pneumoniae* stattfinden kann. Während des intrazellulären Wachstums von *C. pneumoniae* gewährleistet die Integrität der Wirtszelle einen Schutz vor antimikrobiellen Faktoren im Serum.

Im Tierversuch konnte außerdem gezeigt werden, dass mit *C. pneumoniae* infizierte Makrophagen durch die Mukosa transmigrieren und somit zu einer Ausbreitung der Chlamydien über die Blutbahn und das lymphatische System führen. Bis zu acht Wochen lang konnten die Chlamydien in den Makrophagen nachgewiesen

werden. Eine Ausbreitung über die Blutbahn durch freie Elementarkörperchen scheint nicht stattzufinden (Gieffers et al, 2004).

Die von uns vier Wochen nach der Pneumonie nachgewiesene positive Chlamydien-PCR im EDTA-Blut könnte somit ein Ausdruck für diese Transmigration mit konsekutiver disseminierter Ausbreitung sein.

2002 untersuchten Blasi et al bei Patienten mit milder bis moderater COPD Monozyten im peripheren Blut mittels PCR. Bei 43% der untersuchten 141 Patienten war die PCR positiv. Es zeigten sich zwischen den Patienten mit positiver und negativer PCR keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich Alter, Geschlecht, Raucherstatus und FEV<sub>1</sub>. In dem Beobachtungszeitraum von zwei Jahren kam es jedoch in der PCR-positiven Gruppe signifikant häufiger zu akuten Exazerbationen, so dass eine persistierende asymptomatische Chlamydieninfektion als Wegbereiter für andere pathogene Keime mit konsekutiver Infektexazerbation dienen könnte. Nach einer ebenfalls im Rahmen dieser Studie durchgeführten sechswöchigen Antibiotikatherapie mit Azithromycin war bei 59% der behandelten Patienten die Chlamydien-PCR der Monozyten im peripheren Blut negativ. Nach zwei Monaten war die PCR nur noch bei 29% der behandelten Patienten negativ, so dass die Antibiotikatherapie nicht zu einer systemischen Eradikation der Chlamydien geführt zu haben scheint und es somit zu wiederholter Freisetzung der Bakterien in die Blutbahn kommen konnte (Blasi et al, 2002).

Unsere Studienergebnisse mit wiederholt auftretender positiver PCR der Monozyten im EDTA-Blut stützen diese Hypothese, insbesondere da bei mehreren Patienten zwischen zwei positiven PCRs eine negative PCR vorlag, was letztlich nur durch eine wiederholte Freisetzung und somit eine persistierende Infektion erklärt werden kann. Eine asymptomatische Reinfektion, die zufällig kurz vor den Nachuntersuchungszeitpunkten aufgetreten sein könnte, erscheint eher unwahrscheinlich.

### 4.4 Protrahierter versus unkomplizierter Verlauf

Wie unter 4.2 beschrieben waren während der Akutphase der Pneumonie die Patienten mit Pneumokokkenpneumonie schwerer erkrankt als die Patienten in der Chlamydiengruppe. Vergleicht man jedoch den klinischen Verlauf über drei Monate hinsichtlich produktivem Husten und einer erneut erforderlichen Antibiotikatherapie, so waren signifikant mehr Patienten mit protrahiertem Verlauf initial an einer Chlamydienpneumonie erkrankt als an einer Pneumokokkenpneumonie. Die Patienten mit protrahiertem Verlauf waren entgegen der Erwartung signifikant jünger als die mit unkompliziertem Verlauf. Hinsichtlich Raucherstatus und Vorliegen einer COPD gab es keine signifikanten Unterschiede. Bei den Patienten mit protrahiertem Verlauf traten nach der Akutphase nicht vermehrt positive PCRs im Sputum oder EDTA-Blut auf (Daten nicht abgebildet).

1991 wurden erstmalig mittels Kultur und paralleler Serologie nachgewiesene persistierende *C. pneumoniae* Infektionen beschrieben. Bei drei Patienten konnte nach akuter Infektion trotz adäquater Antibiotikatherapie über elf Monate eine positive Kultur aus Nasopharynxabstrichen dokumentiert werden. Die persistierende Infektion ging in allen Fällen mit einer verzögerten Rekonvaleszenz einher. Obwohl es sich bei den drei beschriebenen Patienten um medizinisches Personal handelt, galt bei im Verlauf nicht ansteigenden mittels MIF nachgewiesenen IgG-Titern eine Reinfektion als ausgeschlossen (Hammerschlag et al, 1992). In der 2000 veröffentlichten Empfehlung des CDC (Center for disease control and prevention) wird die Diagnose einer persistierenden Infektion mittels MIF nicht mehr empfohlen (Dowell et al, 2000). Neue diagnostische Ansätze zur endgültigen Differenzierung zwischen akuter und persistierender Chlamydieninfektion wurden 2008 vorgestellt. Nach Identifizierung von 31 *C. pneumoniae* Antigenen konnte anhand der unterschiedlichen Antikörper- und Antigenkonstellationen im Serum eine Unterscheidung zwischen akuter und persistierender Infektion erfolgen (Bunk et al, 2008). Ob dieser neue diagnostische Ansatz sich in der Chlamydien-diagnostik bewähren wird, bleibt abzuwarten.

*In vitro* konnte eine Chlamydienpersistenz mit verändertem Entwicklungszyklus unter anderem durch Antibiotika, Interferon- $\gamma$  und Mangelernährung der unter-

suchten Zellkulturen ausgelöst werden (von Herten, 2002). Inwieweit die Persistenz eine klinische Bedeutung hat, ist und bleibt anhand der heutigen Studienlage unklar. Insbesondere da Miyashita et al in einer prospektiven Studie bei 1,4% der 1028 untersuchten asymptomatischen gesunden Probanden mittels PCR aus Nasopharynxabstrichen *C. pneumoniae* nachweisen konnten (Miyashita et al, 2001). Außerdem konnte im Lungengewebe von COPD-Patienten gezeigt werden, dass eine chronische *C. pneumoniae* Infektion im Gegensatz zur akuten Infektion nicht zu einer Aktivierung des Immunsystems führt (Droemann et al, 2007). Eine klinische Bedeutung der chronischen Chlamydienbesiedlung bei COPD-Patienten scheint jedoch in der erhöhten Exazerbationsneigung in diesem Kollektiv zu liegen, so dass die Chlamydien als Wegbereiter für andere Infektionserreger dienen könnten (Blasi et al, 2002).

Unsere Ergebnisse zeigen somit zum einen, dass bei Patienten mit Chlamydienpneumonie mit einer verzögerten Heilung zu rechnen ist und zum anderen bestätigen sie die in der Literatur beschriebenen asymptomatischen akuten und persistierenden Chlamydieninfektionen. Untermauert wird dies durch die zum zweiten Untersuchungszeitpunkt nachgewiesene stattgehabte Dissemination mit Erregerpersistenz nach akuter Infektion in der Chlamydiengruppe.

### **4.5 Unterschiede in der Antibiotikatherapie bei protrahiertem und unkompliziertem Verlauf**

Ein zusätzlicher Einflussfaktor für den unterschiedlichen Verlauf in unserer Studie könnte in der initialen Antibiotikatherapie liegen. Patienten mit protrahiertem Verlauf erhielten signifikant seltener eine antibiotische Kombinationstherapie aus einem Cephalosporin und Makrolid oder eine Fluorchinolon-Monotherapie wie sie von der S3-Leitlinie zur Therapie der CAP empfohlen wird (Höffken et al, 2005). Dieser Unterschied in der Wahl der Antibiotikatherapie ist möglicherweise darauf zurückzuführen, dass die Pneumonie initial als weniger schwer eingestuft wurde. Auch das jüngere Alter dieser Patienten hat vermutlich zu dieser Entscheidung beigetragen.

Unter inadäquater Antibiotikatherapie konnte *in vitro* eine Chlamydienpersistenz nachgewiesen werden (von Hertzen, 2002). Darüber hinaus beschrieben Miyashita et al, dass bei zwei von sieben Patienten mit *C. pneumoniae* Pneumonie nach chlamydienwirksamer Antibiotikatherapie und nach Sistieren der Symptome, nach drei und fünf Monaten *C. pneumoniae* kulturell nachgewiesen werden konnte (Miyashita et al, 2001). Eine mögliche Ursache für die Ineffizienz einer *in vitro* chlamydienwirksamen Therapie könnte darin liegen, dass die nach unseren Daten im Anschluss an eine Pneumonie in Monozyten zirkulierenden Erreger gegen chlamydienwirksame Antibiotika resistent sind (Gieffers et al, 2001).

Auch wenn unsere Daten keinen direkten Zusammenhang zwischen Persistenz der Chlamydien und einem protrahierten Verlauf nachweisen konnten, zeigen sie trotzdem, dass die Patienten in Bezug auf den postpneumonischen Verlauf von einer initial chlamydienwirksamen Therapie profitiert haben.

### **4.6 *C. pneumoniae* assoziierte Entwicklung einer COPD**

Nach den GOLD (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease) Kriterien wird die COPD anhand der Lungenfunktion (Tiffeneau und FEV<sub>1</sub>) und der Klinik (Husten, Auswurf, Lebensqualität) in vier Schweregrade eingeteilt (Rabe et al, 2007). Die COPD ist durch eine gesteigerte Inflammation charakterisiert, die sowohl das erworbene als auch das angeborene Immunsystem mit einbezieht und eine Reaktion auf inhalierte Partikel und Gase darstellt (MacNee, 2008). Hauptrisikofaktor ist das Tabakrauchen. Die inflammatorische Reaktion persistiert auch nach Nikotinkarenz, so dass insbesondere in den fortgeschrittenen COPD-Stadien die Inflammation durch eine chronische Infektion perpetuiert sein könnte.

Eine *C. pneumoniae* Infektion wurde mittels PCR bei 15% der COPD-Patienten (MacNee, 2008) und im induzierten Sputum bei 17% der stabilen Asthma-Patienten nachgewiesen (Harju et al, 2006).

Folgende Mechanismen unterstützen die Hypothese, dass *C. pneumoniae* in der Pathogenese der COPD, bzw. des Asthma bronchiale eine Rolle spielt: *C. pneumoniae* infiziert unter anderem Epithelzellen, Makrophagen, Endothelzellen und

glatten Muskelzellen und verursacht chronische Infektionen, die häufig asymptomatisch sind. Zusätzlich führt die Chlamydieninfektion zu einer Ziliostase in den Bronchien (Shemer-Avni und Liebermann, 1995) und zu einer vermehrten Produktion von proinflammatorischen Zytokinen (von Hertzen, 2002). Im humanen Lungengewebe konnten Drömann et al *ex vivo* bei 15% der untersuchten COPD-Patienten *C. pneumoniae* nachweisen, ohne dass sich histologisch und immunhistochemisch eine gesteigerte Aktivität der infizierten Zellen nachweisen ließ. Im Gegensatz dazu zeigte sich im Lungengewebe nach akuter *in vitro* Infektion mit *C. pneumoniae* eine gesteigerte Immunantwort der Zellen (Drömann et al, 2007). Die Rolle von *C. pneumoniae* bei akuter Infektion scheint sich somit von der bei der chronischen Infektion zu unterscheiden.

Hahn et al. waren 1991 die ersten, die einen Zusammenhang zwischen einer akuten *C. pneumoniae* Infektion und der Entwicklung eines Asthma bronchiale bzw. einer COPD beschrieben. 1999 wurde eine Studie veröffentlicht, die eine Korrelation zwischen der Höhe der Anti-*C. pneumoniae*-IgG-Titer und dem Schweregrad des Asthmas zeigte (Black et al, 1999). In einer im Folgejahr veröffentlichten Arbeit wurden bei 1773 Männern zwischen 45 und 59 Jahren eine Chlamydienserologie sowie eine Lungenfunktion durchgeführt. Nach fünf Jahren erfolgte eine erneute Messung der FEV<sub>1</sub>. Eine erhöhte Inzidenz von neu aufgetretenen obstruktiven Atemwegserkrankungen in der Gruppe mit positiver Serologie konnte nicht nachgewiesen werden (Strachan et al, 2000). Auch in der 2002 von Smieja et al vorgestellten Studie konnte keine Korrelation zwischen einer positiven Chlamydien-PCR im Sputum oder peripheren Blut und einem Rückgang der FEV<sub>1</sub> festgestellt werden (Smieja et al, 2002a).

In Übereinstimmung mit der Mehrzahl der bislang veröffentlichten Studien mit sehr unterschiedlichem Design konnten auch wir den von Hahn et al gefundenen Zusammenhang zwischen einer *C. pneumoniae* Infektion und der Entwicklung einer COPD oder eines Asthmas nicht bestätigen. Hierbei ist zu berücksichtigen, dass in unserer Studie in der Akutphase der Pneumonie der Tiffeneauwert in der Pneumokokkengruppe signifikant und bei den Verlaufsuntersuchungen tendenziell niedriger lag als in der Chlamydiengruppe. Eine mögliche Ursache könnte das höhere Alter in der Pneumokokkengruppe sein, da bei älteren Patienten häufiger ein re-

duzierter Tiffeneauquotient vorliegt (Pellegrino et al, 2005). Eine zusätzliche Erklärung könnte darin liegen, dass in der Kontrollgruppe (nicht signifikant) häufiger eine COPD vorbestand als in der Chlamydiengruppe.

Um einen möglichen Einfluss von *C. pneumoniae* auf den Verlauf einer COPD und das Auftreten von akuten Exazerbationen sicher zu beurteilen, wäre ein allgemein akzeptierter Standard in der Labordiagnostik insbesondere auch zur sicheren Differenzierung von akuten und chronischen Infektionen erforderlich.

### 4.7 Zytokine im Sputumüberstand

Als Marker für die lokale Inflammation in der Lunge wurden in unsere Studie longitudinal Zytokine im Sputumüberstand gemessen. Eine standardisierte Methode hierfür existiert nicht. Eine 2002 von Keatings et al veröffentlichte Metaanalyse über die Messung von Zytokinen im Sputumüberstand stellte folgende Bedingungen für reproduzierbare Ergebnisse in den Vordergrund:

1. *Die Produktion und Verarbeitung des Sputums kann die Konzentrationen der Zytokine beeinflussen.* In unserer Studie wurde das Sputum entweder spontan oder nach Inhalation mit Kochsalzlösung gewonnen. Die weitere Verarbeitung erfolgte bei allen Sputen gleich. Die unter 2.4 beschriebenen Vorversuche zeigten, dass das verwendete DTT zu einer geringeren Wiederfindungsrate der Zytokine führte. Da bei allen Sputumproben DTT verwendet wurde und da bisher keine Normwerte für Zytokine im Sputumüberstand festgelegt sind, ist eine Interpretation der Ergebnisse nur im Gruppenvergleich möglich.
2. *Unterschiedliche ELISA produzieren unterschiedliche Ergebnisse.* Auch dies bestätigte sich in unseren Vorversuchen, die parallel mit zwei verschiedenen ELISA durchgeführt wurden.
3. *Es sollten Spike-Versuche, bei denen Wiederfindungsraten von rekombinanten Zytokinen gemessen werden, durchgeführt werden (s. 2.4).*

*In vitro* konnte 1998 von Redecke et al eine erhöhte Freisetzung von unter anderem IL-1 $\beta$  und IL-8 aus Alveolarmakrophagen, die mit *C. pneumoniae* infiziert wa-

ren, gezeigt werden (Redecke et al, 1998). Im Sputum von COPD-Patienten konnten ebenfalls erhöhte IL-1 und IL-8-Konzentrationen nachgewiesen werden. Außerdem hatten Patienten, die an einem schwergradigem Asthma erkrankt sind, im Vergleich zu Patienten mit moderatem Asthma eine erhöhte IL-8-Expression im Bronchialepithel (Shannon et al, 2008). Im Rahmen von akuten Exazerbationen kam es bei COPD-Patienten zu einem weiteren Anstieg der IL-8-Konzentration (Chung, 2001). 2003 wurde von Rupp et al eine Imbalance in der Sekretion von proinflammatorischen IL-1 $\beta$  und antiinflammatorischen IL-1RA in mit *C. pneumoniae* infizierten Alveolarmakrophagen von COPD-Patienten nachgewiesen (Rupp et al, 2003). Fasst man diese Ergebnisse zusammen, so ergibt sich die Hypothese, dass über eine durch *C. pneumoniae* hervorgerufene Zytokinproduktion eine überschießende pulmonale Inflamationsreaktion mit nachfolgender Schädigung des Lungenparenchyms mit Entwicklung einer obstruktiven Atemwegserkrankung ausgelöst werden kann. In unserer Studie konnten jedoch weder zum Zeitpunkt der Pneumonie noch im Verlauf signifikante Unterschiede zwischen Chlamydien- und Pneumokokkenpneumonien in der IL-1- und IL-8-Konzentration nachgewiesen werden. Eine Imbalance zwischen pro- und antiinflammatorischen Zytokinen zeigte sich ebenfalls nicht. Somit scheint eine akute *C. pneumoniae* Infektion *in vivo* im Vergleich zu anderen Ätiologien nicht mit einer überschießenden Inflammation in den Atemwegen assoziiert zu sein.

Die Matrixmetalloproteinasen sind proteolytische zink- und kalziumabhängige Proteasen, die die meisten Komponenten der extrazellulären Matrix abbauen können. Unter pathologischen Bedingungen kann es zu einer veränderten Expression und Aktivität der Metalloproteinasen mit überschießender Inflammation und Gewebeschädigung kommen. Bei COPD-Patienten wurden erhöhte Konzentrationen von MMP-2 und MMP-9 in Alveolarmakrophagen gemessen. Eine gesteigerte MMP-2-Expression korrelierte dabei mit einem Abfall der FEV<sub>1</sub>. Die Matrixmetalloproteinasen scheinen somit bei der Entstehung des Lungenemphysems im Rahmen der COPD eine Rolle zu spielen (Baraldo et al, 2007). Darüber hinaus führt Nikotinkonsum zu einer akuten Erhöhung der MMP-9- und der IL-8-Konzentration (Lim et al, 2000).

*In vitro* konnte eine gesteigerte Matrixmetalloproteinase-2-Konzentration in Monozyten aus dem peripheren Blut nach *C. pneumoniae* Infektion nachgewiesen wer-

den (Kim et al, 2005). In atherosklerotischen Plaques zeigte sich eine Assoziation zwischen einer positiven *C. pneumoniae* PCR und einer gesteigerten MMP-9-Expression (Arno et al, 2005). Auch aus diesen Ergebnissen lag die Hypothese zur Entstehung einer obstruktiven Atemwegserkrankung nach *C. pneumoniae* Infektion nahe. In unserer Studie konnten allerdings keine signifikanten Unterschiede in der MMP-2- und MMP-9-Konzentration zwischen den Gruppen festgestellt werden.

Aufgrund der begrenzten Fallzahl in unserer Studie und der beschriebenen methodischen Limitationen in der Sputumdiagnostik kann anhand unserer Daten ein Unterschied der lokalen Inflammationsprozesse zwischen den Gruppen weder ausgeschlossen noch bestätigt werden. Das induzierte Sputum kann aufgrund des mit der Zytokinmessung einhergehenden Aufwands zum Entzündungsmonitoring nur mit Einschränkung empfohlen werden und ist in der klinischen Routine als Indikator oder Verlaufsparemeter für die pulmonale Inflammation bei Pneumonie keine realistische Option.

### 4.8 Ausblick

Für unsere Studie kann abschließend zusammengefasst werden, dass die Patienten mit *C. pneumoniae* Pneumonie jünger als Patienten mit Pneumokokkenpneumonie waren. Hinsichtlich Geschlecht, Raucherstatus und Vorerkrankungen bestanden keine relevanten Unterschiede. Im Akutstadium verläuft die Chlamydienpneumonie weniger schwer als die Pneumokokkenpneumonie und geht mit einer weniger ausgeprägten systemischen Entzündungsantwort einher. Allerdings zeigten die Patienten mit Chlamydienpneumonie im Längsschnitt häufiger eine verzögerte Rekonvaleszenz, insbesondere wenn die initiale Antibiotikatherapie nicht chlamydienwirksam war. Diese klinischen Befunde korrelierten nicht mit einem erneuten Chlamydiennachweis mittels PCR im Blut oder Sputum. Auffällig ist hingegen, dass die Prävalenz des Chlamydiennachweises in Blutmonozyten nach Ablauf der akuten Infektion in der Chlamydiengruppe signifikant erhöht ist. Welche Bedeutung dieser Befund für Erregerpersistenz und Folgeerkrankungen hat, sollte in weiteren Studien geklärt werden. Für die Entwicklung einer obstruktiven Atem-

wegserkrankung nach akuter Chlamydienpneumonie ergaben sich in unserer Studie keine Hinweise. Auch die Messung der lokalen Inflammation im induzierten Sputum sprach unter Berücksichtigung der oben genannten methodischen Limitationen nicht für eine persistierende entzündliche Reaktion nach akuter Chlamydienpneumonie.

Inwieweit eine antibiotische Eradikationstherapie bei *C. pneumoniae* Pneumonie sinnvoll ist, wird erst nach Einführung eines allgemein akzeptierten diagnostischen Goldstandards befriedigend zu klären sein. Auch wenn die *C. pneumoniae* Infektion nach derzeitigem Stand nicht kausal mit der Entstehung einer obstruktiven Atemwegserkrankung oder der Arteriosklerose in Zusammenhang gebracht werden kann, spricht der häufige Erregernachweis in den betroffenen Organen für eine Assoziation, deren klinische Bedeutung klärungsbedürftig bleibt. Zusätzlich bedürfen die Unterschiede, die bei akuten und persistierenden Infektionen gefunden wurden, weiterer Aufklärung.

### 5. Zusammenfassung

*Chlamydia pneumoniae* ist ein obligat intrazelluläres gramnegatives Bakterium, das Infektionen im oberen und unteren Respirationstrakt hervorruft. Bedingt durch ihren biphasischen Entwicklungszyklus neigen Chlamydien zur Persistenz. Eine chronische Chlamydieninfektion wurde mit verschiedenen Erkrankungen wie z. B. der COPD und der koronaren Herzerkrankung in Zusammenhang gebracht. Um zu klären, ob sich *C. pneumoniae* Pneumonien in der Symptomatik und/oder in der systemischen und lokalen Inflammation von anderen Pneumonien unterscheiden, wurden mikrobiologische, laborchemische und klinische Daten von Patienten mit Chlamydienpneumonie erhoben und mit denen eines Kontrollkollektivs mit Pneumokokkenpneumonie verglichen. Der Vorstellung folgend, dass es nach akuter *C. pneumoniae* Infektion zur Persistenz mit erhöhter pulmonaler Entzündungsaktivität und konsekutiv verzögerter Heilung mit Entwicklung einer obstruktiven Ventilationsstörung kommen kann, wurden über drei Monate mikrobiologische und klinische Verlaufsparemeter erhoben.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass die *C. pneumoniae* Pneumonie im Akutstadium milder verläuft als die Pneumokokkenpneumonie, aber häufiger zu einem protrahierten Verlauf führt. Der verzögerte Heilungsprozess korrelierte nicht mit einem mikrobiologischen Persistenznachweis, trat aber bei initial nicht chlamydienwirksamer Antibiotikatherapie signifikant häufiger auf. Ein gehäuftes Auftreten obstruktiver Ventilationsstörungen war nicht nachweisbar. Vier Wochen nach der Chlamydienpneumonie konnte vermehrt *C. pneumoniae* in Monozyten im peripheren Blut dokumentiert werden, was zu der *in vitro* gezeigten Transmigration von mit *C. pneumoniae* infizierten Zellen über die Mukosa in die Blutbahn passt. In Einklang mit der vorhandenen Literatur konnten auch wir bei im Verlauf asymptomatischen Patienten aus beiden Kollektiven *C. pneumoniae* sowohl im Sputum als auch in Blutmonozyten nachweisen, wobei der Krankheitswert sowohl der akuten als auch der chronischen *C. pneumoniae* Infektion unklar bleibt.

Obwohl unsere Ergebnisse zeigen, dass Patienten mit *C. pneumoniae* Pneumonie von einer chlamydienwirksamen antimikrobiellen Therapie profitieren, ist eine mikrobiologisch gesicherte Eradikation insbesondere aufgrund des erheblichen Anteils asymptomatischer Träger nicht notwendig.

## 6. Literaturverzeichnis

1. **Aldous** M, Grayston JT, Wang S, Foy H: Seroepidemiology of *Chlamydia pneumoniae* TWAR infection in Seattle families, 1966-1979. J Infect Dis 166: 646-649 (1992)
2. **Almirall** J, Bolibar I, Toran P, Pera G, Boquet X, Balanzo X, Sauca G: Contribution of C-Reactive protein to the diagnosis and assesment of severity of community-acquired pneumonia. Chest 125:1335-1342 (2004)
3. **Arno** G, Kaski JC, Smith DA, Akiyu JP, Hughes SE, Baboonian C: Matrix metalloproteinase-9 expression is associated with the presence of *Chlamydia pneumoniae* in human coronary atherosclerotic plaques. Heart 91: 521-525 (2005)
4. **Baraldo** S, Bazzan E, Zanin ME, Turato G, Garbisa S, Maestrelli P, Papi A, Miniati M, Fabbri L, Zuin R, Saetta M: Matrix Metalloproteinase -2 Protein in Lung Periphery is related to COPD Progression. Chest 132: 1733-1740 (2007)
5. **Beatty** WL, Morrison RP and Byrnes GI: Persistent Chlamydiae: from Cell Culture to a Paradigm for Chlamydial Pathogenesis. Microbiol Rev 58: 686-699 (1994).
6. **Birkebaek** NH, Jensen JS, Seefeldt T, Degn J, Huniche B, Andersen PL, Ostergard L: *Chlamydia pneumoniae* infection in adults with chronic cough compared with healthy blood donors. Eur Respir J 16: 108-111 (2000)
7. **Biscione** GL, Corne J, Chauhan AJ, Johnston SL: Increased frequency of detection of *Chlamydophila pneumoniae* in asthma. Eur Respir J 24: 745-49 (2004)
8. **Black** PN, Blasi F, Jenkins CR, Scicchitano R, Mills GD, Rubinfeld AR, Ruffin RE, Mullins PR, Dangain J, Cooper BC, David BD, Allegra L: trial of Roxithromycin in Subjects with Asthma and Serological Evidence of Infection with *Chlamydia pneumoniae*. Am j Respir Crit Care Med 164: 536-541 (2001)
9. **Black** PN, Scicchitano R, Jenkins CR, Blasi F, Allegra L, Wlodarczyk J, Cooper BC: Serological evidence of infection with *Chlamydia pneumoniae* is related to the severity of asthma. Eur Respir J 15:254-259 (2000)

10. **Blasi F**: Atypical pathogens and respiratory tract infections. *Eur Respir J* 24: 171-181 (2004)
11. **Blasi F**, Centanni S, Allegra L: *Chlamydia pneumoniae*. Crossing the barriers? *Eur Respir J* 23: 499-500 (2004)
12. **Blasi F**, Damato S, Cosentini R, Tarsia P, Raccanelli R, Centanni S, Allegra L: *Chlamydia pneumoniae* and chronic bronchitis: association with severity and bacterial clearance following treatment. *Thorax* 57:672-676 (2002)
13. **Bloemenkamp DG**, Mali WP, Visseren FL, van der Graaf Y: Meta-analysis of sero-epidemiologic studies of the relation between *Chlamydia pneumoniae* and atherosclerosis: Does study design influence results? *Am Heart J* 145:409-17 (2003)
14. **Boman J**, Allard A, Persson K, Lundborg M, Juto P, Wadell G: Rapid diagnosis of respiratory *Chlamydia pneumoniae* infection by nested touchdown polymerase chain reaction compared with culture and antigen detection by EIA. *JID* 175:1523-1526 (1997)
15. **Boman J**, Gaydos C and Quinn T: Molecular Diagnosis of *Chlamydia pneumoniae* Infection. *Journal of Clinical Microbiology* 37: 3791-99 (1999)
16. **Bunk S**, Susnea I, Rupp J, Summersgill JT, Maass M, Stegmann W, Schratzenholz A, Wendel A, Przybylski M, Hermann C: Immunoproteomic Identification and Serological Responses to Novel *Chlamydia pneumoniae* Antigens that are Associated with Persistent *C. pneumoniae* Infections. *The Journal of Immunology* 180: 5490-98 (2008)
17. **Chung KF**: Cytokines in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 18 Suppl. 34:50s-59s (2001)
18. **Cirino F**, Webley CW, West C, Croteau N, Andrzejewski C, Stuart E: Detection of *Chlamydia* in the peripheral blood cells of normal donors using in vitro culture, immunofluorescence microscopy and flow cytometric techniques. *BMC Infectious Diseases* 6:23-35 (2006)
19. **Clausen JL**, Coates AL, Quanjer PH: Measurement of lung volumes in humans: review and recommendations from ATS/ERS workshop. *Eur Respir J* 10: 1205-1206 (1997)
20. **Cook PJ**, Davies P, Tunnicliffe W, Ayres JG, Honeybourne D, Wise R: *Chlamydia pneumoniae* and asthma. *Thorax* 53: 254-59 (1998)

21. **Dalhoff** K, Kothe H, Maass M, Katus HA: Klinische Relevanz der *Chlamydia pneumoniae* Infektion. Pneumologie 54 :517-24 (2000)
22. **Dalhoff** K and Mass M: *Chlamydia pneumoniae* Pneumonia in Hospitalized Patients: Clinical Characteristics and Diagnostic Value of Polymerase Chain Reaction Detection in BAL. Chest 110: 351-55 (1996)
23. **Dechend** R, Maass M, Gieffers J, Dietz R, Scheidereit C, Leutz A, Gulba DC: *Chlamydia pneumoniae* infection of vascular smooth muscle and endothelial cells activates NF-  $\kappa$ B and induces tissue factor and PAI-1 expression: a potential link to accelerated arteriosclerosis. Circulation 100: 1369-73 (1999)
24. **Dowell** SF, Peeling R, Boman J, Carlone M, Fields B, Guarner J, Hammerschlag MR, Jackson L, Kuo C, Maass M, Mesamer T, Talkinton D, Tondella M, Zaki S: Standardizing *Chlamydia pneumoniae* Assays: Recommendations from the Centers for Disease Control and Prevention (USA) and the Laboratory Centre for Disease Control (Canada) (2001).
25. **Droemann** D, Rupp J, Goldmann T, Uhlig U, Branscheid D, Vollmer E, Kujath P, Zabel P, Dalhoff K: Disparate innate immune response to persistent and acute *Chlamydia pneumoniae* Infection in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Am J Crit Care Med 175: 791-797 (2007)
26. **Emre** U, Roblin PM, Gelling M: The association of *Chlamydia pneumoniae* infection and reactive airway disease in children. Arch Pediatr Adolesc Med 148: 727-731 (1994)
27. **File** T, Plouffe J, Breiman R, Skelton S: Clinical Characteristics of *Chlamydia pneumoniae* Infection as the sole cause of community-acquired pneumoniae. Clinical Infectious Diseases 29:426-8 (1999)
28. **Gaydos** CA, Roblin PM, Hammerschlag MR et al: Diagnostic utility of PCR-enzyme immunoassay, culture and serology for detection of *Chlamydia pneumoniae* in symptomatic and asymptomatic patients. J Clin Microbiol 32: 903-05 (1994)
29. **Gieffers** J, Füllgraf H, Jahn J, Klinger M, Dalhoff K, Katus H, Solbach W, Maass M: *Chlamydia pneumoniae* Infection in Circulating Human Monocytes is refractory to antibiotic treatment. Circulation 103:351-356 (2001)
30. **Gieffers** J, Rupp J, Gebert A, Solbach W, Klinger M: First-Choice Antibiotics at subinhibitory concentrations induce persistence of *Chlamydia pneu-*

- moniae*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 48 (4): 1402-1405 (2004a)
31. **Gieffers** J, Solbach W, Maass M: In vitro susceptibility of *Chlamydia pneumoniae* strains recovered from atherosclerotic coronary arteries. Antimicrob Agents Chemother 42: 2762-64 (1998)
32. **Gieffers** J, Zandbergen G, Rupp J, Sayk F, Krüger S, Ehlers S, Solbach W, Maass M: Phagocytes transmit *Chlamydia pneumoniae* from the lungs to the vasculature. Eur Respir J 23: 506-510 (2004)
33. **Gnarpe** J, Gnarpe H, Sundelof B: Epidemic prevalence of *Chlamydia pneumoniae* in subjectively healthy persons. Scand J Infect Dis 23: 387-388 (1991)
34. **Grayston** JT: Chlamydia pneumoniae, Strain TWAR. Chest 95:664-669 (1989)
35. **Grayston** JT: Background and Current Knowledge of *Chlamydia pneumoniae* and Atherosclerosis. JID 181 (Suppl 3):402-10 (2000)
36. **Hahn** DL, Anttila T, Saikku P: Association of Chlamydia IgA antibodies with recently symptomatic asthma. Epidemiol Infect 117:513-517 (1996)
37. **Hahn** DL, Dodge R, Golubjatnikov R: Association of *Chlamydia pneumoniae* (strain TWAR) infection with wheezing, asthmatic bronchitis and adult onset asthma. JAMA 266: 225-230 (1991)
38. **Hahn** DL and McDonald R: Can acute *Chlamydia pneumoniae* respiratory tract infection initiate chronic asthma? Ann Allergy Asthma Immunol 81:339-44 (1998)
39. **Hammerschlag** MR: *Chlamydia pneumoniae* and the lung. Eur Respir J 16: 1001-1007 (2000)
40. **Hammerschlag** MR, Chirgwin K, Roblin PM, Gelling M, Dumornay W, Mandel L, Smith P and Schachter J: Persistent Infection with *Chlamydia pneumoniae* following acute respiratory illness. CID 14: 178-182 (1992)
41. **Harju** TH, Leinonen M, Nokso-Koivisto J, Korhonen T, Rätty R, He Q, Hovi T, Mertsola J, Bloigu A, Ryttilä P, Saikku P: Pathogenic bacteria and viruses in induced sputum or pharyngeal secretions of adults with stable asthma. Thorax 61: 579-584 (2006)
42. **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: S3-

- Leitlinie zu Epidemiologie, Diagnostik, antimikrobielle Therapie und Management von erwachsenen Patienten mit ambulant erworbenen tiefen Atemwegsinfekten. *Pneumologie* 59: 612-64 (2005)
43. **leven** M, Hoymanns V: Involvement of *Chlamydia pneumoniae* in Artherosclerosis: More Evidence for lack of evidence. *J of Clin Microbiol* 43 (1): 19-24 (2005)
44. **Jahn** HU, Krüll M, Wuppermann FN, Klucken AC, Rosseau S, Seybold J, Hegemann JH, Jantos CA, Suttorp N: Infection and Activation of Airway Epithelial Cells by *Chlamydia pneumoniae*. *J Infect Dis* 182 : 1678-87 (2000)
45. **Johnston** SL, Blasi F, Black PN, Martin RJ, Farrell DJ, Niemann RB: The Effect of Telithromycin in Acute Exacerbations of Asthma. *NEJM* 345 (15):1589-1600 (2006)
46. **Johnston** SL and Martin RJ: *Chlamydia pneumoniae* and *Mycoplasma pneumoniae* – A role in Asthma Pathogenesis? *Am J respire Crit Care Med* 172: 1078-89 (2005)
47. **Kauppinen** M, Herva E, Kujala P, Leinonen M, Saikku P, Syrjälä: The etiology of community-acquired Pneumonia among hospitalized patients during a *Chlamydia pneumoniae* epidemic in Finland. *JID* 172:1330-1335 (1995)
48. **Kauppinen** M, Saikku P, Kujala P, Herva E, Syrjälä H: Clinical picture of community-acquired *Chlamydia pneumoniae* pneumonia requiring hospital treatment: a comparison between chlamydial and pneumococcal pneumonia. *Thorax* 51:185-189 (1996)
49. **Keatings** V, Leigh R, Peterson C, Shute J, Venge P, Djukanovic: Analysis of fluid-phase mediators. *Eur Respir J* 20: 24s-392 (2002)
50. **Kelly** MM, Keatings V, Leigh R, Peterson C, Shute J, Venge P, Djukanovic R: Analysis of fluid-phase mediators. *Eur Respir J* 20 Suppl.37:24s-39s (2002)
51. **Kim** MP, Gaydos C, Wood B, Hardick J, Zhang Y, Wahl L: *Chlamydia pneumoniae* enhances cytokine-stimulated human monocyte matrix metalloproteinases through a prostaglandin E<sub>2</sub>-dependent mechanism. *Infection and Immunity* 73: 632-634 (2005)

52. **Kim** WJ, Lee HY, Lee ME, Lee SJ: Serology of *Chlamydia pneumoniae* in patients with chronic cough. *Respirology* 11: 805-808 (2006)
53. **Kolling** UK, Hansen F, Braun J, Rink L, Katus HA, Dalhoff K: Leucocyte response and anti-inflammatory cytokines in community acquired pneumonia. *Thorax* 56: 121-125 (2001)
54. **Kostadima** E, Tsiodras A, Alexopoulos EI, Kaditis AG, Mavrou I, Georgatou N, Papamchalopoulos A: Clarithromycin reduces the severity of bronchial hyperresponsiveness in patients with asthma. *Eur Respir J* 23: 714-717 (2004)
55. **Kraft** M, Cassell GH, Pak J, Martin RJ: *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae* in Asthma: Effect of Clarithromycin. *Chest* 121: 1782-88 (2002)
56. **Kumar** S and Hammerschlag MR: Acute Respiratory Infection Due to *Chlamydia pneumoniae*: Current Status of Diagnostic Methods. *CID* 44:568-76 (2007)
57. **Kuo** CC, Jackson LA, Campbell LA, Grayston T: *Chlamydia pneumoniae* (TWAR) *Clinical Microbiol Rev* 8 (4): 451-461 (1995)
58. **Kuoppa** Y, Boman J, Scott L, Kumlin U, Eriksson I, Allard A: Quantitative Detection of Respiratory *Chlamydia pneumoniae* Infection by Real-Time PCR. *J Clin Microbiol* 40:2273-4 (2002)
59. **Laurila** A, Von Hertzen L, Saikku P: *Chlamydia pneumoniae* and Chronic Lung Diseases. *Scand J Infect Dis Suppl* 104: 34-36 (1997)
60. **Lim** WS, Macfarlane JT, Boswell TC et al: Study of community-acquired pneumonia aetiology in adults admitted to hospital: implications for management guidelines. *Thorax* 56: 296-301 (2001)
61. **Lim** S, Roche N, Oliver B, Mattos W, Barnes P, Chung K: Balance of Matrix Metalloproteas-9 and Tissue Inhibitor of Metalloprotease-1 from Alveolar Macrophages in Cigarette Smokers. *Am J respi Crit Care Med* 162 :1355-1360 (2000)
62. **Maass** M, Dalhoff K: Comparison of sample preparation methods for detection of *Chlamydia pneumoniae* in bronchoalveolar lavage fluid by PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 32 (10): 2616-2619 (1994)
63. **Maass** M, Gieffers J, Krause E, Engel P, Bartels C, Solbach W: Poor correlation between microimmunofluorescence serology and polymerase chain

- reaction for detection of vascular *Chlamydia pneumoniae* infection in coronary artery disease patients. *Med Microbiol Immunol* 187:103-106 (1998)
64. **MacNee** W: Update in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am J Crit Care Med* 177: 820-829 (2008)
65. **Marcos** MA, Jimenez de Anta MT, de la Bellacasa JP, Gonzalez J, Martinez Em Garcia E, Mensa J, de Roux A, Torres A: Rapid urinary antigen test for diagnosis of pneumococcal community-acquired pneumonia in adults. *Eur Respir J* 21: 209-214 (2003)
66. **Marrie** TJ, Poulin-Costello M, Beecroft MD, Herman-Gnijdic Z: Etiology of community-acquired pneumonia treated in an ambulatory setting. *Respir Med* 99: 60- 65 (2005)
67. **Mills** GD, Lindemann J, Fawcett P, Herbison P, Sears M: *Chlamydia pneumoniae* serological status is not associated with asthma in children or young adults. *International Journal of Epidemiology* 29: 280-84 (2000)
68. **Miyashita** N, Fukano H, Okimoto N, Hara H, Yoshida K, Yoshihito N and Matsushima T: Clinical Presentation of Community-Acquired *Chlamydia pneumoniae* Pneumonia in Adults. *Chest* 121:1776-81 (2002)
69. **Miyashita** N, Niki Y, Nakajima M, Fukano H and Matsushima T: Prevalence of Asymptomatic Infection with *Chlamydia pneumoniae* in Subjectively Healthy Adults. *Chest* 119: 1416-19 (2001)
70. **Miyatake** H, Tahi F, Taniguchi H, Suzuki R, Takagi K, Satake T: Erythromycin reduces the severity of the bronchial hyperresponsiveness in Asthma. *Chest* 99:670-673 (1991)
71. **Muhlestein** JB, Anderson JL, Carlquist JF: Randomized secondary prevention trial of azithromycin in patients with coronary disease. Primary clinical results of the ACADEMIC study. *Circulation* 102:1755-60 (2000)
72. **O'Connor** CM, Dunne MW, Pfeffer MA: Investigators in the WIZARD study: Azithromycin for the secondary prevention of coronary heart disease events. The WIZARD study: A randomized controlled trial. *JAMA* 290:1459.66 (2003)
73. **Patrick** DM, Karunakaran K, Levy AR, Gin K, Remple V, Chong M, Abbey H, Tarry L, Shen C, Brunham RC: Chlamydial bacteriophage: No role in acute coronary events? *Can J Dis Med Microbiol* 16:298-300 (2005)

74. **Pellegrino** R, Viegi G, Brusaco R, Capro R, Burgos F, Gustaffson P, Hankinson J: Interpretative strategies for lung function tests. *Eur Respir J* 26: 948-968 (2005)
75. **Pizzichini** E, Morris MM, Efthimiadis A: Indices of airway inflammation in induced sputum: reproducibility and validity of cell and fluid phase measurement. *Am J Respir Crit Care Med* 154: 308-17 (1996)
76. **Pizzichini** M, Pizzichini E, Efthimiadis A, Clelland L, Mahony J, Dolovich J, Hargreave F. Markers of inflammation in induced sputum in acute bronchitis caused by *Chlamydia pneumoniae*. *Thorax* 52:929-31 (1997)
77. **Rabe** KF, Hurd S, Anzueto A, Barnes PJ, Buist S, Calverley P, Fukuchi Y, Jenkins C, Rodriguez R, van Weel C, Zielinski J: Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 176: 532-555 (2007)
78. **Redecke** V, Dalhoff K, Bohnet S, Braun J, Maass M: Interaction of *Chlamydia pneumoniae* and human alveolar makrophages: Infection and Inflammatory response. *Am J Respir Cell Mol Biol* 19: 721-27 (1998)
79. **Riuz** M, Ewig S, Marcos MA, Martinez JA, Arancibia F, Mensa J, Torres A: Etiology of Community-Acquired Pneumonia: Impact of age, comorbidity and severity. *Am J Respir Crit Care Med* 160:397-405 (1999)
80. **Rödel** J, Prochnau D, Prager K, Pentcheva E, Hartmann M, Straube E: Increased production of matrix metalloproteinases 1 and 3 by smooth muscle cells upon infection with *Chlamydia pneumoniae*. *FEMS Immunol Med Microbiol* 32: 9-15 (2003)
81. **Rupp** J, Hellwig-Burgel T, Wobbe V, Seitzer U, Brandt E, Maass M: *Chlamydia pneumoniae* infection promotes a proliferative phenotype in the vasculature through Egr-1 activation in vitro and in vivo. *PNAS* 102 (9): 3447-3452 (2005)
82. **Rupp** J, Kothe H, Mueller A, Maass M, Dalhoff K: Imbalanced secretion of IL-1 $\beta$  and IL-1RA in *Chlamydia pneumoniae*-infected mononuclear cells from COPD patients. *Eur Respir J* 22:274-79 (2003)
83. **Saikku** S, Leinonen M, Mattila K, et al: Serologic evidence of an association of a novel Chlamydia, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction. *Lancet* 2:983-6 (1988)

84. **Shannon J**, Ernst P, Yamauchi Y, Olivenstein R, Lemiere C, Foley S, Ciccora L, Ludwig M, Hamid Q, Martin J: Differences in airway cytokine profile in severe asthma compared to moderate asthma. *Chest* 133: 420-426 (2008)
85. **Shemer-Avni Y**, Liebermann D: *Chlamydia pneumoniae*-induced ciliostasis in ciliated bronchial epithelial cells. *JID* 171:1274-1278 (1995)
86. **Sirmatel F**, Ustunsoy H, Sirmatel O, Akdemir I, Dikensoy O: The relationship between *Chlamydia pneumoniae* and peripheral vascular diseases, acute myocardial infarction and late-onset asthma. *Infection* 31: 367-68 (2003)
87. **Smieja M**, Leigh R, Petrich A, Chong S, Kamada D, Hargreave F, Goldsmith C, Chernesky M, Mahony J: Smoking, season, and detection of *Chlamydia pneumoniae* DNA in clinically stable COPD patients. *BMC Infectious Diseases* 2: 12-18 (2002)
88. **Smieja M**, Mahony J, Petrich A, Bomann J, Chernesky M: Association of circulating *Chlamydia pneumoniae* DNA with cardiovascular disease: a systematic review. *BMC Infectious diseases* 2: 21-30 (2002)
89. **Strachan DP**, Carrington D, Medall M, Butlanf BK, Yarnell J, Elwood P: *Chlamydia pneumoniae* Serology, Lung Function decline and Treatment for Respiratory Disease. *Am J Respir Crit Care Med* 161:493-497 (2000)
90. **Toews GB**: Cytokines and the lung. *Eur Respir J* 18 Suppl 34: 3s-17s (2001)
91. **Tong CYW**, Sillis M: Detection of *Chlamydia pneumoniae* and *Chlamydia psittaci* in sputum samples by PCR. *J. Clin Pathol* 46: 313-17 (1993)
92. **Troy CJ**, Peeling RW, Ellis AG, Hockin JC, Bennet D, Murphy M, Spika JS: *Chlamydia pneumoniae* as a new source of infectious outbreaks in nursing homes. *JAMA* 277: 1214-1218 (1997)
93. **Van Zandbergen G**, Gieffers J, Kothe H, Rupp J, Bollinger AL, Aga E, Klinger M, Brade H, Dalhoff K, Maass M, Solbach W, Laskay T: *Chlamydia pneumoniae* multiply in neutrophil granulocytes and delay their spontaneous apoptosis. *J Immunol* 172:1768-1776 (2004)
94. **Veen JCGM**, de Gouwe HWFM, Smits HH: Repeatability of cellular and soluble markers in induced sputum from patients with asthma. *Eur Respir J* 9: 2441-7 (1996)

95. **Von Herten** LC: Role of persistent infection in the control and severity of asthma: focus on *Chlamydia pneumoniae*. Eur Respir J 19: 546-556 (2002)
96. **Ward** M: The immunobiology and immunopathology of chlamydial infections. APMIS 103:769-96 (1995)
97. **Waterer** GW, Kessler LA, Wunderink RG: Delayed administration of antibiotics and atypical presentation in community-acquired pneumonia. Chest 130:11-15 (2006)
98. **Wellinghausen** N, Straube E, Freidank H, von Baum H, Marre R, Essig A: Low prevalence of *Chlamydia pneumoniae* in adults with community – acquired pneumonia. Int J Med Microbiol 296 (7):485-91 (2006)
99. **Welte** T, Marre R, Suttorp N: CAPNetz-Kompetenznetzwerk ambulant erworbene Pneumonie: Strukturen und Ziele. Pneumologie 57:34-41 (2003)
100. **Yang** J, Hooper C, Phillips D, Tondella M and Talkington D: Induction of proinflammatory cytokines in Human Lung Epithelial Cells during *Chlamydia pneumoniae* Infection. Infection and Immunity 71: 614-20 (2003)

### Elektronische Datenbanken

Statistisches Bundesamt

<http://www.destatis.de>

## 7. Anhang

### 7.1 Abkürzungen

ATP	Adenosintriphosphat
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
CAP	Community acquired pneumoniae
CAPNETZ	Kompetenznetz ambulant erworbene Pneumonie
CaptAk	Capture- Antikörper
CDC	Center for disease control and prevention
CHSP 60	Chlamydien-Hitzeschockprotein 60
CLPS	Chlamydienlipopolysaccharid
COPD	Chronic obstructive pulmonary disease
C. pneumoniae	Chlamydia pneumoniae
CRP	C-reaktives Protein
DTT	Dithiotreitol
EDTA	Ethylendiamin-Tetraessigsäure-Natrium-Salz
ELISA	Enzyme linked immuno sorbent assay
FEV-1	Forcierte Einsekundenkapazität
Ig	Immunglobulin
IL-8	Interleukin-8
IL-1 $\beta$	Interleukin-1 beta
IL-1RA	Interleukin-1 Rezeptor Antagonist
IVC	Vitalkapazität
LRTI	Lower respiratory tract infection
MIF	Mikroimmunfluoreszenz
MMP-2	Matrix-Metalloprotease-2
MMP-9	Matrix-Metalloprotease-9
NaCl	Natriumchlorid
NF	Nuclear factor
ng	nanogramm
PBS	Phosphat buffered saline
PCR	Polymerase chain reaction
pg	picogramm

pO <sub>2</sub>	Partieller Sauerstoffdruck
SGRQ	St. George's respiratory questionnaire
S. pneumoniae	Streptokokkus pneumoniae (Pneumokokken)
Staph. aureus	Staphylokokkus aureus
TIMP-1	Tissue inhibitor of metalloprotease-1
TNF	Tumornekrosefaktor
ZVD	Zentralvenöser Druck

## 7.2 Klinischer Dokumentationsbogen

### Teilprojekt A6

Patientennummer : \_\_\_\_\_

Erreger : \_\_\_\_\_

#### 1. Untersuchung

Datum: \_\_\_\_ . \_\_\_\_ . \_\_\_\_

#### Ergebnisse

- *Sputum / BAL / Abs* : s. Extrabogen
- *St. George's Questionnaire* : \_\_\_\_ Pkte./ 77 Pkten.
- *FEV1* : \_\_\_\_ %
- Klinik : *Fieber* : \_\_\_\_ °C

*Husten* : Ja    Nein

*Auswurf* : \_\_\_\_\_

- *Mikrobiologie* : Chlamydia pneumoniae                      Pneumokokken

Sonstige Erreger: \_\_\_\_\_

- *Bemerkungen* : \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

### 8. Danksagung

Die Durchführung dieser Dissertation wäre ohne die Unterstützung vieler Menschen nicht möglich gewesen, denen ich an dieser Stelle herzlich danken möchte.

Zunächst danke ich Herrn Prof. Dr. med. K. Dalhoff für die Bereitstellung des Themas sowie die hervorragende intensive und vor allem immer auch motivierende Betreuung in allen Phasen der Erstellung der Arbeit.

Großer Dank geht an Herrn PD Dr. med. Jan Rupp für die geduldige Beantwortung und die Unterstützung bei allen mikrobiologischen Fragen.

Ganz herzlich möchte ich mich auch bei Ute Knuppertz, Heike Richartz und Barbara Gogoll bedanken, die mit ihren weit reichenden Kenntnissen im Labor immer wieder bei der Durchführung der Versuche geholfen und mir zu jeder Zeit mit Rat und Tat bei Seite gestanden haben.

Außerdem danke ich Dunja Gadji für die Unterstützung bei der Betreuung der Patienten und allen Mitarbeiterinnen der Lungenfunktion, die für kurzfristig eingeschobene Studienpatienten immer Zeit fanden.

Frau Dr. med. Johanna Klement danke ich für die Hilfe bei der Überwindung diverser Computerprobleme zur Optimierung des Layouts.

Ein ganz herzlicher Dank geht auch an meine Familie, die mich mit vielen großen und kleinen Hilfeleistungen immer unterstützt hat, und es mir ermöglicht hat diesen Weg zu gehen. Ett hjärtligt tack!

## 9. Lebenslauf

### Persönliche Angaben:

Name: Liv Gunilla Linnea Witte  
Geburtsdatum: 07. Januar 1978  
Geburtsort: Bad Oldesloe

### Schulische Ausbildung:

1984-1988 Grundschule  
1988-1994 Gymnasium am Mühlenberg in Bad Schwartau  
1994-1995 Stipendium als Austauschschülerin (Parlamentarisches Patenschaftsprogramm in Flint, Michigan, USA)  
1995-1998 Oberstufe in Bad Schwartau - Abitur

### Hochschul-Ausbildung:

Herbst 1998 Beginn des Medizinstudiums (Universität zu Lübeck)  
Oktober 2000 Physikum  
August 2001 Erster Teil der ärztlichen Prüfung  
März 2004 Zweiter Teil der ärztlichen Prüfung  
Mai 2005 Dritter Teil der ärztlichen Prüfung  
Juni 2005 Erteilung der Approbation  
  
01/2003-04/2006 Klinischer und experimenteller Teil der  
Dissertation (Pulmologie der Universität Lübeck)  
03/2005 Vortrag beim Kongress der Deutschen Gesellschaft für  
Pneumologie in Berlin: *“Unterschiede bronchopulmonaler  
Inflammationsprozesse zwischen Patienten mit  
Chlamydien- und Pneumokokkenpneumonie“*

### Berufliche Tätigkeit:

09/2005-01/2006 PJ-Koordinatorin der Med. Kliniken am UKSH Lübeck  
Seit 01/2006 Assistenzärztin an der Med. Klinik III, UKSH Lübeck