

Prof. Dr. Alexander H. Dalpke¹, Prof. Dr. Marcus A. Mall²

¹Dept. f. Infektiologie, Med. Mikrobiologie und ²Sektion Pädiatrische Pneumologie&Allergologie und Mukoviszidose-Zentrum, Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin und Abteilung Translationale Pneumologie, Universitätsklinikum Heidelberg,

Kultur-unabhängige mikrobiologische Diagnostik von polymikrobiellen Infektionen bei Patienten mit Zystischer Fibrose mittels „Deep Sequencing“

Zusammenfassung

Trotz vielfältiger Fortschritte bei der Therapie von Patienten mit Cystischer Fibrose (CF) stellt die sich regelhaft entwickelnde chronische pulmonale Infektion immer noch als letztlich das Leben limitierende Komplikation dar. Chronische Atemwegsinfektionen entstehen auf dem Boden der gestörten mukoziliären Clearance. Über die letzten Jahre hat sich gezeigt, dass Infektionen bei CF Patienten polymikrobieller Natur sind, das heißt, es kommt zu einer chronischen Infektion und Dysbiose mit verschiedenen Erregern. Neuartige Verfahren zur Analyse mikrobieller Gemeinschaften bedienen sich der Sequenzierung bakterieller Nukleinsäuren anstelle der Verwendung kulturellen Verfahren.

In 2012 hatten die Antragsteller deshalb ein Projekt initiiert und durch Gilead gefördert bekommen, welches die Mikrobiom-Analyse in einer Kohorte von CF Kindern zum Ziel hatte. Seit 2012 wurde eine Kohorte aufgebaut und als Longitudinalstudie angelegt. Eingeschlossen wurden bis heute 139 Patienten (<1 bis 69 Jahre). Zunächst erfolgte der Aufbau einer Kohorte mit dem Schwerpunkt im Bereich der bisher wenig untersuchten Säuglinge und Kleinkinder mit CF. Der zügige Aufbau dieser in Deutschland einzigartigen Kohorte wird durch ein vom Heidelberger CF-Zentrum koordiniertes regionales Neugeborenen-Screening auf CF gewährleistet. Zusätzlich rekrutieren wir jetzt auch Erwachsene, um insbesondere altersabhängige Veränderungen zu beobachten. In der Kohorte wurden bislang mehr als 1000 mikrobiologische Abstriche gewonnen und in einer Biobank archiviert. Zusätzlich werden umfangreiche klinische Daten bei den Untersuchungen erhoben, die anthropometrische Daten, Lungenfunktion und, als weitere Besonderheit, auch Schnittbildgebung mittels Lungen-MRT vom Säuglingsalter an in allen Altersklassen umfassen.

Als Ziel der ersten Förderung wurden vor allem technische Aspekte zu Next Generation Sequencing (NGS) Verfahren bei Kindern bearbeitet. Es erfolgten Analysen zur Frage der Mikrobiomzusammensetzung verschiedener Proben (Nase, Rachen, Sputum). Mittels Hochdurchsatzsequenzierung können wir zeigen, dass das Mikrobiom in Nasenabstrichen deutlich differiert von Sputum und Rachenabstrichen, die letzteren beiden jedoch sind sehr ähnlich. Da gezeigt wurde, dass Sputum die Infektion der tiefen Atemwege gut widerspiegelt kann indirekt geschlossen werden, dass bei Säuglingen und Kleinkindern, welche noch kein Sputum produzieren können, auch Rachenabstriche ein geeignetes Material zur Untersuchung des Mikrobioms in den unteren Atemwegen darstellen und auf invasive Verfahren wie Bronchoskopie und Bronchoalveoläre Lavage verzichtet werden kann. Zusätzlich haben wir ein Verfahren etabliert, welches DNA aus toten Bakterien entfernt, eine wichtige Voraussetzung wenn Änderungen nach antibiotischer Therapie analysiert werden sollen.

Überraschenderweise konnten wir weiter beobachten, dass in kleinen Kindern, im Gegensatz zu den in der Literatur berichteten Befunden bei Erwachsenen, die Diversität von Mikrobiomen noch deutlich größer ist und „klassische“ CF Keime seltener anzutreffen sind. Aktuell erfolgen die ersten Untersuchungen an longitudinal erhobenen Proben, die Fragen zur (i) individuellen Stabilität und (ii) Veränderungen bei Infektexazerbation und Antibiotikabehandlung beantworten sollen. Die etablierte Kohorte bietet dafür ideale Voraussetzungen, da Proben sowohl in Phasen klinischer Stabilität (vierteljährlich) als auch bei Infektexazerbation, Hospitalisation und intravenöser Antibiose wiederkehrend gewonnen werden. Zusätzlich führen wir gerade Korrelationsanalysen zwischen klinischen Parametern und Mikrobiomdaten durch.