ZENTRUM FÜR
LABORMEDIZIN

Diagnostische und klinische
Kompetenz aus einer Hand®

Infektionen der Lunge – Klassische und moderne mikrobiologische Verfahren

Workshop MIKROBIOLOGIE

Oliver NOLTE

Kantonsspital St. Gallen

29. November 2018

PD Dr. Oliver NOLTE
Bereichsleiter HM, Mitglied der GL
Zentrum für Labormedizin St. Gallen
Frohbergstrasse 3
CH 9001 St. Gallen

Workshop Mikrobiologie

Teilnehmerumfrage 1: Welche Versorgungsstufe trifft am besten auf Ihre Tätigkeit zu?

- Universitäts- oder Kantonsspital
- Landspital, sonstige Spitäler
- Praxisgemeinschaft, Arztpraxis
- Labor
- nicht zutreffend, ich bin wegen des Aperó da.

Workshop Mikrobiologie

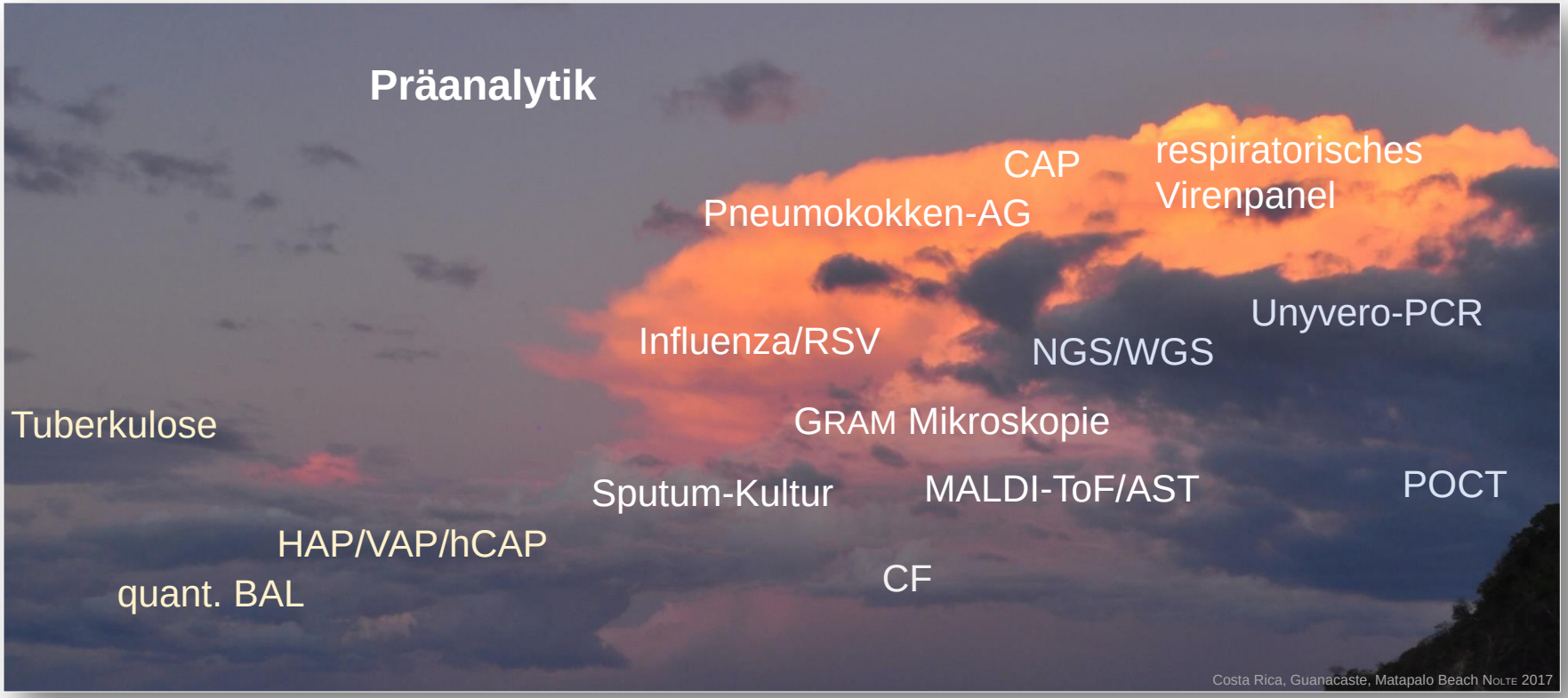
Teilnehmerumfrage 2: Welcher der folgenden Aussagen stimmen Sie am meisten zu (nur eine Auswahl)?

- Die Mikrobiologie ist für die Diagnostik von Lungeninfektionen zu langsam und daher nicht mehr zeitgemäss.
- Die klassische Kultur-basierte Mikrobiologie ist unverzichtbar im Management von Lungeninfektionen.
- Multiplex-PCR Systeme werden in wenigen Jahren die Standard-diagnostik sein.
- Neue Breitbandantibiotika werden das Management vereinfachen und einen Erregernachweis überflüssig machen.

Workshop Mikrobiologie

Infektionen der Lunge

- Mikrobiologische Diagnostik – ein Begriff, viele Faktoren



Workshop Mikrobiologie

Der klinische Fall

♀ (16 Jahre, Nikotin: <2 Packungsjahre)

- 08. Februar: Husten, Verschleimung, fraglich febril
  - Allgemeinarzt (Hausbesuch)
    - Auskultation normal
    - «grippaler Infekt»
    - Codein, Acetylcystein, Diclofenac

- mikrobiologische Diagnostik sinnvoll?
- wenn ja: welche?

Workshop Mikrobiologie

Der klinische Fall

♀ (16 Jahre, Nikotin: <2 Packungsjahre)

- 12. Februar: Atemnot, grünlicher Auswurf, schwitzt stark
  - Besuch beim Allgemeinarzt
    - 110/70 mm Hg
    - Atemfrequenz 17/min
    - pO2: 101%
    - Auskultation: o.B.

- mikrobiologische Diagnostik sinnvoll?
- wenn ja: welche?

Workshop Mikrobiologie

Der klinische Fall

♀ (16 Jahre, Nikotin: <2 Packungsjahre)

- 12. Februar (Mittagszeit): Symptome progredient, Husten mit Auswurf
  - Anruf (Mutter) beim Allgemeinarzt
    - blutige Schlieren im Auswurf («Äderchen geplatzt»)
    - fiebrig (keine Messung erfolgt)
    - ‘ängstlicher Zustand’

- mikrobiologische Diagnostik sinnvoll?
- wenn ja: welche?

Workshop Mikrobiologie

Der klinische Fall

♀ (16 Jahre, Nikotin: <2 Packungsjahre)

- 12. Februar (Abend): Besuch von Freunden/Innen
  - Nikotinverzicht
  - Teilhaben an Unterhaltung, jedoch liegend
- 13. Februar (Morgens): Kein Schulbesuch
  - kurzer Spaziergang
- mikrobiologische Diagnostik sinnvoll?
- wenn ja: welche?

Workshop Mikrobiologie

Der klinische Fall

♀ (16 Jahre, Nikotin: <2 Packungsjahre)

- 13. Februar (Abend): verschlechterter Allgemeinzustand
  - Beinschmerzen
  - starker Husten
  - Mutter: Zustand bedrohlich, Wunsch nach Hospitalisation
  - Allg.-arzt: Schmerzmittel

- mikrobiologische Diagnostik sinnvoll?
- wenn ja: welche?

Workshop Mikrobiologie

Der klinische Fall

♀ (16 Jahre, Nikotin: <2 Packungsjahre)

- 14. Februar (03:30): Exitus
  - Re-Animation durch Notarzt erfolglos

Aus mikrobiologisch diagnostischer Sicht:

- Was ist eine mögliche Ursache?
- Hätte eine andere Diagnostik den Verlauf beeinflusst?
- Wenn ja, welche Tests hätten eingesetzt werden können?

[1] Pedal I, Nolte O (2010): Arch. Kriminol. 225(3-4):119-129

Workshop Mikrobiologie

Der klinische Fall

♀ (16 Jahre, Nikotin: <2 Packungsjahre)

- Obduktionsbefund und weitere Abklärungen
  - schwere nekrotisierende, abszedierende Pneumonie OL re, ML re und OL li
  - eitrige Pleuritis, rechtseitiges Pleuraempyem (350 ml)
  - Labor
    - Nachweis *Staphylococcus aureus* aus Lungenabstrich und Pleura (ohne AST da *post mortem*)
    - Influenza A IgA

- Hilft die vorhandene *post mortem* Diagnostik bei der Aufklärung der Todesursache?

[1] Pedal I, Nolte O (2010): Arch. Kriminol. 225(3-4):119-129

Workshop Mikrobiologie

Der klinische Fall

♀ (16 Jahre, Nikotin: <2 Packungsjahre)

- Epilog
  - Nachweis von *S. aureus* MRSA (kulturell und molekularbiologisch) aus 2 Jahre gelagertem Herzblut (+4 ˚C); keine DNA-Sequenzen anderer Erreger
  - Nachweis PVL-Gene (lukS-PV/lukF-PV) mittels PCR
  - nekrotisierende Pneumonie auf dem Boden einer kürzlich durchgemachten Influenza
  - →vermutlich der erste dokumentierte Fall einer durch einen PVL-MRSA ausgelösten nekrotisierenden Pneumonie in Deutschland (2001)

[1] Pedal I, Nolte O (2010): Arch. Kriminol. 225(3-4):119-129

Workshop Mikrobiologie

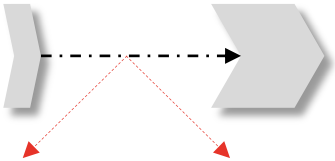
Take-home Messages

- Klassische und moderne Verfahren in der Mikrobiologie
  - GRAM Mikroskopie: schnelle Information, aber nur mässige Leistungsdaten
    direkter Fluoreszenznachweis: vielversprechend, Studien starten
  - Kultur: zeitaufwändig, aber Goldstandard (Resistenzprüfung!); nur sinnvoll, wenn keine sekundäre Keimvermehrung stattfinden kann
  - molekulare Diagnostik: sinnvolles Tool in ausgewählten Fällen
    Sensitivität? Spezifität? Kolonisierung vs. Infektion? Kosten?
  - Patienten-nahe Kartuschensysteme
    hochpreisig, unklare Leistungsdaten, kein POCT!

Pneumonia (HAP/VAP/hCAP)

As time goes by …

sampling — arrival @ CML



transportation time (~1 hr to >1 day)[1]

optimal time for sputum culture: 2 (- 4) hours

0 - 6 hrs	6 – 24 hrs	>24 hrs
optimal time for (change in) abx therapy[2]	change in abx therapy **could** improve outcome	usually **no** improvement with change in abx therapy
high medical need for fast diagnostic	high medical need for optimized processes	

[1] pneumatic tube system vs. centralized lab testing; assuming no delay between sampling and shipping!

[2] MILLOT G. *et al* (2017) Ann.Transl.Med. 5(22):451-460

Pneumonia (HAP/VAP/hCAP)

Fast-tr

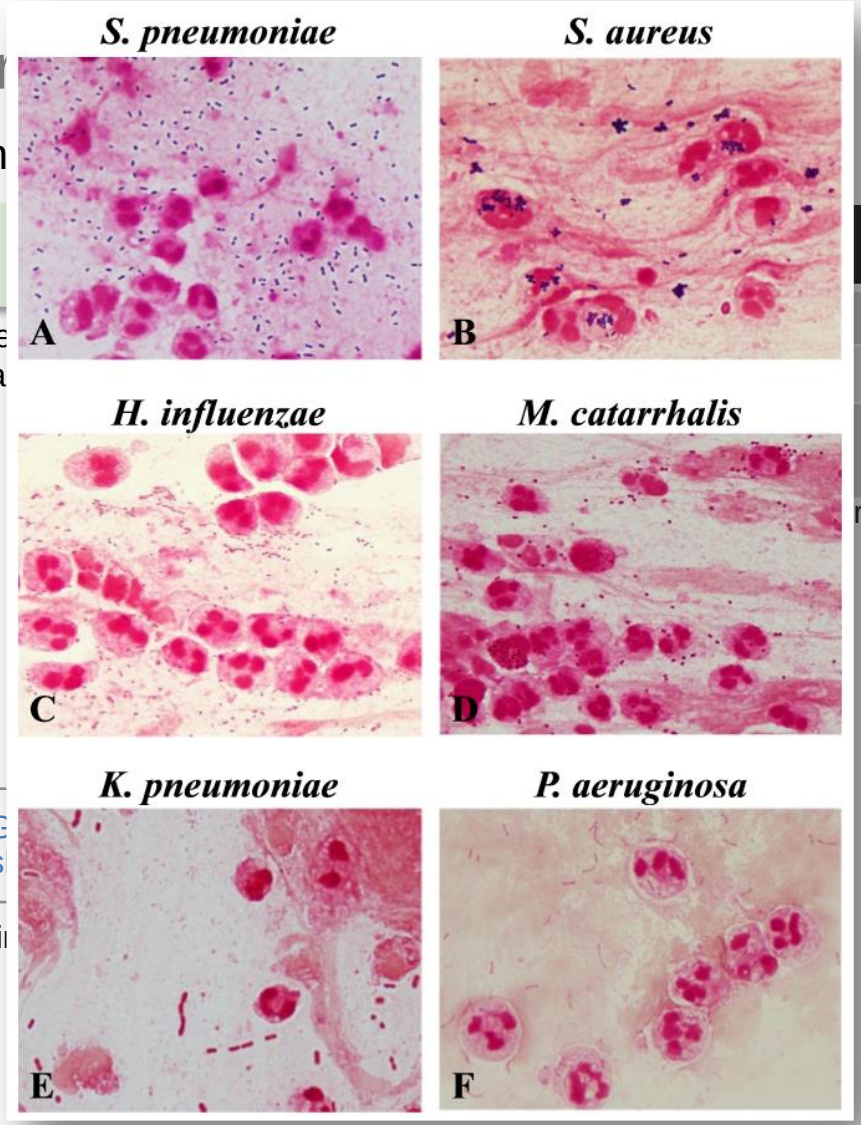
pneumon

0

optimal time
in) abx thera

G
s

incl. i



microbiology proven HAP
91%
64%
23/70 susp. episodes

rapy decision (or

/1 BLOT F *et al* (2000): Am.J.Respir.Crit.Care Med. 162:1731-1737
endotracheal aspirates

Pneumonia (HAP/VAP/hCAP)

Culture: As time goes by …

sampling | arrival @ CML | GRAM | classical culture

~1 hr | at least two days for monomicrobial infections

primary culture (~18 - 24 hrs)

assessment/ ID (~4 hrs)

resistance testing (~8 - 18 hrs)

transportation time (~1 hr to >1 day)[1]

optimal time for sputum culture: 2 (- 4) hours

0 - 6 hrs	6 – 24 hrs	>24 hrs
optimal time for (change in) abx therapy[2]	change in abx therapy **could** improve outcome	usually **no** improvement with change in abx therapy

high medical need for fast diagnostic

high medical need for optimized processes

[1] pneumatic tube system vs. centralized lab testing; assuming no delay between sampling and shipping!

[2] MILLOT G. *et al* (2017) Ann.Transl.Med. 5(22):451-460

Pneumonia (HAP/VAP/hCAP)

Fast-track

pneumonia (HA

0 - 6 hrs

optimal time for (ch
in) abx therapy

~300 Fr./test
(consumable
only) ∅POC

multiplex
PCR

GRAM
slide/2

incl. in tax lis

cells?

8.3 hrs)

GROUP	PATHOGEN
Gram-positive bacteria	*Staphylococcus aureus*
	Streptococcus pneumoniae
Enterobacteriaceae	*Citrobacter freundii*
	Escherichia coli
	Enterobacter cloacae complex
	Enterobacter aerogenes
	Proteus spp.
	Klebsiella pneumoniae
	Klebsiella oxytoca
	Klebsiella variicola
	Serratia marcescens
	Morganella morganii
Non-fermenting bacteria	*Moraxella catarrhalis*
	Pseudomonas aeruginosa
	Acinetobacter baumannii complex
	Stenotrophomonas maltophilia
	Legionella pneumophila
Others / Fungi	*Pneumocystis jirovecii*
	Haemophilus influenzae
	Mycoplasma pneumoniae
	Chlamydophila pneumoniae

GENE	RESISTANCE AGAINST
ermB	Macrolide/Lincosamide
mecA	Oxacillin
mecC (LGA251)	Oxacillin
tem	Penicillin
shv	Penicillin
ctx-M	3rd generation Cephalosporins
kpc	Carbapenem
imp	Carbapenem
ndm	Carbapenem
oxa-23	Carbapenem
oxa-24/40	Carbapenem
oxa-48	Carbapenem
oxa-58	Carbapenem
vim	Carbapenem
sul1	Sulfonamide
*gyrA*83	Fluoroquinolone
*gyrA*87	Fluoroquinolone

www.unyvero.com/en/applications/hospitalized-pneumonia/panel.html

* to conventional culture

/1 Unyvero Pneumonia application, Curetis
(other systems or in-house solutions may be available)

Pneumonia (HAP/VAP/hCAP)

Fast-track diagnostics – Direct Multiplex Imaging

pneumonia (HAP/VAP/hCAP):

0 - 6 hrs

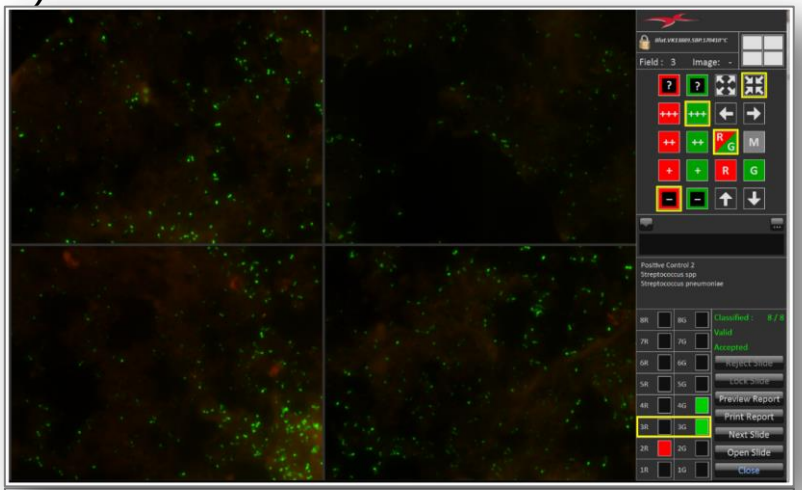
optimal time for (change in) abx therapy

~300 Fr./test (consumables only) ∅POCT!

multiplex PCR

GRAM slide[/2]

incl. in tax list



Field	Red Channel	Green Channel
1	Positive Control A	Negative Control A
2	Positive Control B	Negative Control B
3	Staphylococcus species	Streptococcus species
4	Staphylococcus aureus	Streptococcus pneumoniae
5	Enterococcus faecium	Enterococcus faecalis
6	Enterobacteriaceae	Pseudomonas aeruginosa
7	Escherichia coli	Proteus mirabilis
8	Klebsiella pneumoniae	Acinetobacter species

[/2] not yet available, pilot studies to start this year:
- sensitivity
- specificity
- time gain cpd. to GRAM

…

[/1] BLOT F *et al* (2000): Am.J.Respir.Crit.Care Med. 162:1731-1737 endotracheal aspirates

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit

Zentrum für Labormedizin
Ausbildungszentrum für FAMH, FMH, FVH und BMA

Frohbergstrasse 3, Postfach 1217, 9001 St. Gallen
T 071 494 39 39, F 071 494 39 00, info@zlmsg.ch
www.zlmsg.ch

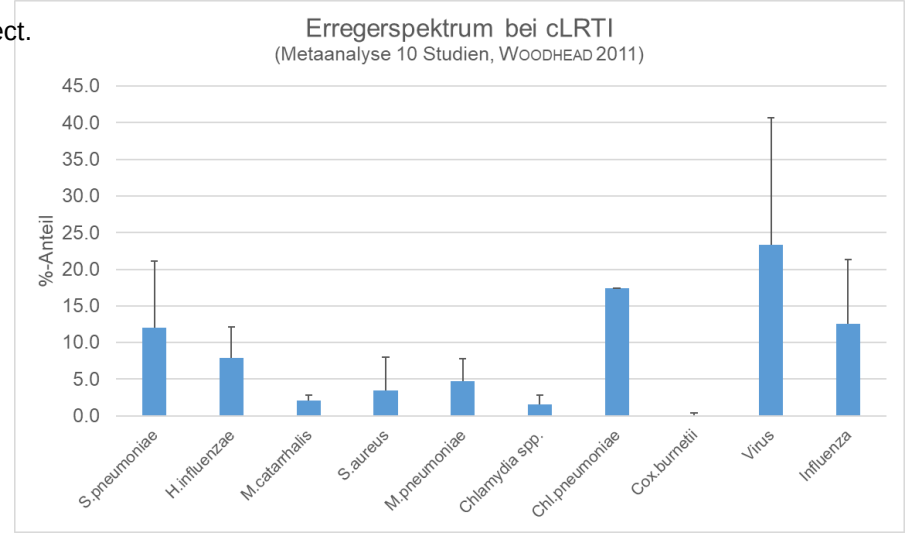
ZENTRUM FÜR LABORMEDIZIN

akkreditiert nach ISO/IEC17025 (STS 155)

backup

Erregerspektrum CAP vs. hCAP

WOODHEAD M et al (2011): Clin.Microbiol.Infect.



POLVERINO E & TORRES A (2009): Sem.Resp.Crit.Care.Med.

Table 2 Studies Published on the Microbial Etiology of Healthcare-Acquired Pneumonia

Author	Micek et al[a]	Kollef et al[a]	El-Solh et al	El-Solh et al	Carratala et al[b]	Polverino et al	Lim
Year	2007	2005	2002	2001	2007	2008	2001
Reference	66	8	67	41	15	16	13
No. of patients	431	988	52[c]	104[c]	126	156[c]	40[c]
MSSA, %[d]	14	21	0	36	3	7	0
MRSA, %[d]	31	27	33	10	1	2	0
Enterobact., %[d]	20	16	24	23	5	10	0
P. aeruginosa, %[d]	26	25	14	7	3	3	0
S. pneumoniae, %[d]	10	6	5	13	52	57	80
H. influenzae, %[d]	4	6	0	3	23	3	0
Atypical, %[d]	NR	NR	2	0	3	8	27
Legionella, %[d]	0.2%	NR	5	0	5	2	0
Others, %[d]	NR	12	9	8	5	3	27%

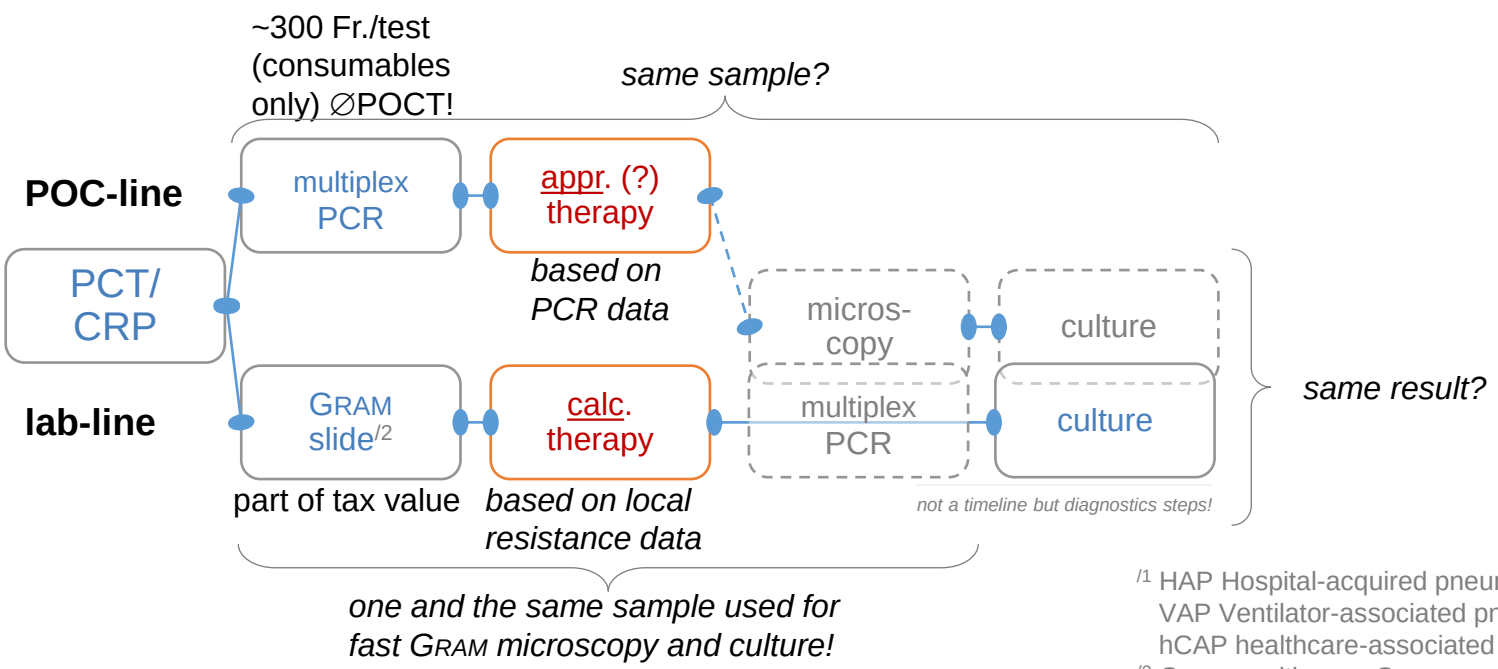
Does the technology matters?

Point-of-Care vs. Process optimization

pneumonia (HAP/VAP/hCAP[/1]):

0 - 6 hrs

optimal time for (change in) abx therapy



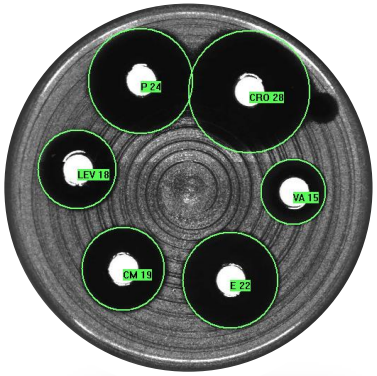
[/1] HAP Hospital-acquired pneumonia
VAP Ventilator-associated pneumonia
hCAP healthcare-associated pneumonia

[/2] GRAM-positive vs. GRAM-negative, rods vs. cocci, semi-quantitative (incl. leucocytes)

rapid AST

shortening the time for susceptibility testing

- Currently accepted and validated method
  - requires bacteria, grown for 18 – 24 hrs
  - requires incubation for another 18 – 24 hrs
- Results allow predicting clinical success
  - based on complex algorithm
  - translated to EUCAST breakpoints



/1 HOMBACH M. *et al* (2017) Int.J.Antimicrob.Agents. 49(5):631-637

POCT: Medical need

time gain through process optimization

sampling | arrival @ CML | ***FISH*** | classical culture

optimized culture processes
appr. 1½ day (monomicrobial)

transportation time (~1 hr to >1 day)/1

ID (<1 hr)

primary culture (~12 - 16 hrs)

assessment/ ID (~2 hrs)

rapid AST (6 - 12 hrs)

primary culture (~18 - 24 hrs)

assessment/ ID (~4 hrs)

resistance testing (~8 - 18 hrs)

pathogens' ID?
(multi-)resistance?

0 - 6 hrs	6 – 24 hrs	>24 hrs
optimal time for (change in) abx therapy	change in abx therapy **could** improve outcome	usually **no** improvement with change in abx therapy
high medical need for POCT (bedside)	high medical need for optimized processes (lab!)	

/1 pneumatic tube system vs. centralized lab testing; assuming no delay between sampling and shipping!