

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

Ätiologie, diagnostische Methoden und der Stellenwert von
Aspirationen
bei älteren Patienten
mit ambulant erworbener Pneumonie

Inauguraldissertation

zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
- Aus der Medizinischen Fakultät –

vorgelegt von
Annette Wulf
aus Lübeck

Lübeck 2008

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Klaus Dalhoff
2. Berichterstatter: Prof. dr. (MU Budapest) P. Bucsky

Tag der mündlichen Prüfung: 05.11.2008

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 05.11.2008

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	6
1.1 Pneumonie	6
1.1.1 Ätiologie und Pathogenese.....	7
1.1.2 Diagnose einer Pneumonie	8
1.2 Diagnostik aus respiratorischen Materialien	10
1.2.1 Methodische Aspekte	10
1.2.2 Sputum in der Pneumonie-Diagnostik	13
1.3 Fragestellung und Zielsetzung	14
2. Untersuchungskollektiv und Studiendesign	16
2.1 Kollektiv	16
2.1.1 Definition der ambulant erworbenen Pneumonie.....	16
2.1.2 Ein- und Ausschlusskriterien	16
2.1.3 Studienablauf	17
2.1.4 Risikobeurteilung nach dem modifizierten PSI-Score.....	17
2.1.5 Sputumgewinnung.....	19
2.1.6 Ethik	20
3. Material und Methoden	21
3.1 Geräte	21
3.2. Materialien und Chemikalien	21
3.3 Methoden	22
3.3.1 Sputumgewinnung.....	22
3.3.2 Sputumaufarbeitung	22

3.3.3 Gewinnung und Aufarbeitung von BAL	23
3.3.4 Gewinnung und Aufarbeitung von Tracheal aspirat.....	23
3.3.5 Pappenheim-Färbung und Auswertung.....	23
3.3.6 Gram-Färbung und Auswertung.....	24
3.3.7 Oil-Red-O-Färbung und Auswertung.....	28
3.3.8 Mikrobiologische Untersuchung	31
3.3.9 Statistische Auswertung	31
4. Ergebnisse	32
4.1 Klinische Daten in den beiden Altersgruppen.....	32
4.2 Diagnostische Materialien im Vergleich zwischen den Altersgruppen.....	32
4.3 Erregernachweis im Vergleich.....	35
4.4 Erreger im Materialvergleich.....	38
4.5 Sputum	38
4.6 Mischinfektionen.....	42
4.7 Erregerspektrum im Vergleich der unterschiedlichen Begleiterkrankungen / Gewohnheiten	45
4.8 Aspiration	45
4.9 Mortalität.....	50
5. Diskussion	51
6. Zusammenfassung.....	65
7. Literaturverzeichnis	67
8. Anhang	79
8.1 Ethikantrag	79
8.2 Danksagungen	80
8.3 Lebenslauf.....	81
8.4 Publikationsverzeichnis	82

Verzeichnis der Abkürzungen

BAL	Bronchoalveoläre Lavage
dest.	destilliert
DTE	Dithioerythritol
DTT	Dithiothreitol
IL-8	Interleukin -8
IL-10	Interleukin -10
i.v.	intravenös
KBR	Komplementbindungsreaktion
LDL	low-density lipoprotein
NaCl	Natriumchlorid
nd	nicht bestimmt (not determined)
ns	nicht signifikant
PBS	Phosphate Buffered Saline
PEG	perkutane endoskopische Gastrostomie
PSI	Pneumonia-Severity-Index
TNF-Alpha	Tumor Nekrose Faktor-Alpha

1. Einleitung

1.1 Pneumonie

Die Pneumonie ist eine durch Erreger verursachte akute oder chronische Entzündung des Alveolarraumes und seltener des Interstitiums der Lunge.

Aufgrund der Ausbreitung der Entzündung im Lungenparenchym werden Lobärpneumonien, Bronchopneumonien und interstitielle Pneumonien unterschieden. Desweiteren werden Pneumonien in ambulant erworbene Pneumonien und nosokomiale Pneumonien eingeteilt. Als nosokomial werden Pneumonien bezeichnet, die frühestens 48 Stunden nach Krankenhausaufnahme auftreten. Ambulant erworbenen Pneumonien grenzen sich von den nosokomialen Pneumonien in der Weise ab, dass die Infektion im privaten oder beruflichen Umfeld erworben wurde (Höffken et al., 2005).

Ambulant erworbene Pneumonien treten am häufigsten bei Kindern (0 - 4 Jahren mit 12 bis 18 pro 1000 Personen) und bei alten Menschen auf (Marrie, 1990). Marrie stellte fest, dass sich bei Patienten ≥ 75 Jahre die Rate ambulanter Pneumonien mit Aufnahme ins Krankenhaus um das 10 fache erhöht, also mit 11,6 pro 1000 Einwohnern im Vergleich zur Altersgruppe der 45 - 65 jährigen mit einer Rate von 0,6 - 1,35 pro 1000 Einwohner (Marrie, 1990).

Nach Marrie beträgt die Letalität bei stationär Behandlungspflichtigen Patienten aller Altersgruppen bis zu 22% und bis zu 38% in der Altersgruppe 81 bis 90 Jahre (Marrie, 1990). In einer Studie von *Meehan et al.* hatten Patienten ≥ 65 Jahre, die sich vor der Erkrankung an einer ambulant erworbenen Pneumonie noch zu Hause versorgten, eine geringere Mortalität im Krankenhaus als Patienten aus einer Seniorenresidenz (8% vs. 19%) (Meehan et al., 2000). Über die Jahrzehnte kam und kommt es zu einer zunehmenden Überalterung der Bevölkerung in Deutschland, so dass der Anteil an Patienten ≥ 65 Jahre stetig zunimmt. Im Jahr 2000 lag die Zahl der über 65 -jährigen Bürger in Deutschland bei 16,7%, nach Schätzungen des Statistischen Bundesamtes wird sie 2050 schon 30% erreichen (Hibbeler, 2005). Es erreichen auch Patienten mit chronischen Lungenerkrankungen wie z.B. Cystischer Fibrose oder Bronchiektasen ein immer höheres Alter (Cunha, 2001). Aus diesen Gründen gewinnt die ambulant erworbene Pneumonie bei älteren Menschen zunehmend an Bedeutung.

1.1.1 Ätiologie und Pathogenese

Pneumonien werden durch Organismen hervorgerufen, die auf unterschiedliche Weise die distalen Lungenabschnitte erreichen und dort die Abwehrmechanismen des Wirtes überwinden. Dies kann durch Inhalation von Erregern aus der Luft, durch Aspiration aus dem Naso- und Oropharynx, durch hämatogene Aussaat oder eine direkte Ausbreitung eines Infektionsherdes geschehen. Zu den entscheidenden Abwehrmechanismen des menschlichen Körpers gehören die mukoziliäre Clearance (Nelson und Summer, 1998).

Bereits *Sir William Osler* wies 1892 auf die Unterschiede der Pneumonieerkrankung beim älteren Menschen im Gegensatz zum jungen Menschen hin (Berk, 1984). Höheres Alter, Schluckbeschwerden mit Aspiration und die Unfähigkeit, Medikamente oral einzunehmen, sind Risikofaktoren für eine Erkrankung an einer Pneumonie (Riquelme et al., 1996; Loeb et al., 1999).

Im Verlauf des Alterungsprozesses kommt es zu einer Verlangsamung des mukoziliären Transportes, zu Veränderungen der T-Zell- und der Makrophagenfunktion und zu einer Abnahme der Lungenelastizität (Schäfer und Ewig, 2000; Feldman, 2001). Nach *Castle* entsteht mit dem Alter eine schlechtere *in vivo* Aktivierung während der frühen Entzündungsstadien und dies könnte zu einer größeren Empfänglichkeit gegenüber Infektionen beitragen (Castle, 2000). Bei älteren Patienten kommt es, vor allem bei Bewohnern einer Seniorenresidenz und bei Krankenhausaufenthalten, zu einer zunehmenden Besiedelung des Oropharyngealraumes mit aeroben gram-negativen Bakterien und mit *Staphylococcus aureus* (Feldman, 2001). Die Wahrscheinlichkeit einer Kolonisation ist bei allgemeiner Schwäche, Lungenerkrankungen, Abnahme der Speichelproduktion (z.B. bei Sicca-Syndrom, anticholinerge Medikation), Mangelernährung, Inkontinenz, Neoplasien und nach Einnahme von Breitspektrumantibiotika erhöht (Medina-Walpole und Katz, 1999). Diese Kolonisation erhöht wegen einer Häufigkeit an Aspirationen von 20 - 71% das Risiko von Pneumonien (Kikuchi et al., 1994; Riquelme et al., 1996). Ältere Patienten sind durch gastroösophagealen Reflux, durch einen weniger effektiven Hustenreflex, durch Bewusstseinsstörungen aufgrund von Erkrankungen des zentralen Nervensystems oder sedativer Medikation, durch Dysphagie z.B. bei Ösophaguscarcinomen, bei Protein-Mangelernährung, bei Hyperextension des Halses, bei Vorhandensein von Kontrakturen und bei Z.n. Anlage von

Ernährungs sonden prädisponiert für Aspirationspneumonien (Riquelme et al., 1997; Medina-Walpole und Katz, 1999; Feldman, 2001). Es scheint keinen Unterschied in der Pneumoniewahrscheinlichkeit zwischen nasogastralen Sonden und PEG-Sonden zu geben (Muder, 1998). Nach *Marrie et al.* gehört die Aspiration zu den wichtigsten klinischen Risikofaktoren für eine geringe Überlebenswahrscheinlichkeit in den ersten 10 Krankenhaustagen von Patienten < 55 Jahre (Marrie et al., 2003). Eine Abnahme der Magensäure z.B. durch Histamin2-Blocker, Protonenpumpen-Inhibitoren, Antazida oder durch chronische Gastritis könnte an einem vermehrten Auftreten von Pneumonien durch anaerobe Erreger beteiligt sein (Medina-Walpole und Katz, 1999).

Eine geschlossene Umgebung, wie z.B. in einer Seniorenresidenz, fördert regulär die Exposition zu Mikroorganismen. Die Ursache hierfür liegen im häufigen Kontakt zwischen den Bewohnern und dem Personal, in der limitierten Ventilation, Filtration und Austausch der zirkulierenden Luft, welche Pathogene enthalten kann und in der unbeschränkten Bewegungsfreiheit anderer Bewohner in dem Gebäude, welche infiziert sein können (Yoshikawa, 2000).

Nach einer Analyse von US Medicare Daten sind ein geringes Einkommen und eine geringere Anzahl an Schuljahren mit einer erhöhten Anzahl von Krankenhausaufnahmen auf Grund einer ambulant erworbenen Pneumonie bei Senioren assoziiert (Morris und Munasinghe, 1994). Lediger Familienstatus und Arbeitslosigkeit gelten auch als Risikofaktoren für eine Krankenhausaufnahme. Vielleicht wurden diese Patienten ins Krankenhaus aufgenommen, weil man davon ausging, dass sie sich zu Hause nicht gut selber versorgen könnten (Loeb, 2004).

1.1.2 Diagnose einer Pneumonie

Zu den häufig bestehenden klinischen Symptomen von Pneumonien in allen Altersgruppen gehören Husten, eitriger Auswurf, Fieber, pleuritischer Thoraxschmerz, Dyspnoe und Schüttelfrost. Darüber hinaus bestehen bei einigen Patienten Kopfschmerzen, Myalgien, Arthralgien, Übelkeit, Diarrhoen und abdominelle Schmerzen. An Befunden lassen sich Tachypnoe, Tachykardien und seltener Zyanose erheben, bei schweren Pneumonien kann es auch zu Bewusstseinsstörungen, Oligurie und HerzKreislaufversagen kommen. Vorgerücktes Alter und Vorerkrankungen sind wahrscheinlich verantwortlich für eine mögliche untypische Präsentation von Pneumonien bei älteren Menschen.

Sonst häufige Symptome wie Husten, Dyspnoe, Fieber, Schüttelfrost und pleuritische Schmerzen können fehlen (Muder, 1998; Feldmann, 2001; Loeb, 2003). Fieber kann in 40 - 60% der Fälle fehlen (Schäfer und Ewig, 2000). Stattdessen können Symptome wie Delirium, Verwirrtheit, Lethargie, allgemeine Schwäche, Anorexie, Stürze, Inkontinenz, Bauchschmerzen und Verschlechterung des Allgemeinzustandes vorhanden sein (Muder, 1998; Johnson et al., 2000; Schäfer und Ewig, 2000; Feldmann, 2001). Kognitive Veränderungen wie z.B. neu aufgetretenes Delirium können auf eine schwere Pneumonie mit Sepsis hindeuten (Schäfer und Ewig, 2000). Diese kognitiven Veränderungen sowie die untypische Präsentation können zu einer Verzögerung der Diagnosestellung und somit zu einer Verzögerung der initialen Antibiotikagabe führen (Waterer et al., 2006). Tachypnoe mit mehr als 26 Atemzügen pro Minute wird als guter Indikator für eine „lower respiratory tract infection“ angesehen (Schäfer und Ewig, 2000). Nach *Menéndez et al.* verlängern kognitive Veränderungen sowie Dyspnoe als Begleitsymptome die Aufenthaltsdauer im Krankenhaus (Menéndez et al., 2004). *Marrie et al.* stellten fest, dass Symptome wie Husten, Kurzatmigkeit und geringere Belastbarkeit von über 30% der Patienten auch sechs Wochen nach Abschluss einer Antibiotikatherapie noch beklagt werden (Marrie et al., 2000).

Relevant sind Begleiterkrankungen wie chronisch obstruktive Lungenerkrankungen (COPD), Nikotinabusus, Diabetes mellitus, chronische Nieren- und Herzinsuffizienz, Leberzirrhose, maligne Grunderkrankung, Alkoholismus, Mangelernährung, unzureichende Mundhygiene und Schluckstörungen (Torres et al., 1996; Riquelme et al., 1997; Jackson et al., 2004; Falguera et al., 2005; Quagliarello et al., 2005; Terpenning, 2005; de Roux et al., 2006). Komorbiditäten, welche im höheren Alter vermehrt auftreten, und Mangelernährung sind tendenziell mit einer Veränderung der Abwehr des Körpers gegen Organismen verbunden (Schäfer und Ewig, 2000).

Bei der Diagnosestellung einer Pneumonie bei einem älteren Menschen ist neben dem veränderten klinischen Auftreten zu bedenken, dass ein Röntgen-Thorax-Bild bei Dehydratation nicht unbedingt Infiltrate zeigt. Nach Rehydratation können dann plötzlich Infiltrate sichtbar sein (Schäfer und Ewig, 2000). Es sind bei älteren Patienten v.a. die Unterlappen betroffen.

Wie bei Patienten < 65 Jahre ist *Streptococcus pneumoniae* auch bei älteren Menschen der häufigste Erreger. Danach folgen *Haemophilus influenzae*,

Staphylococcus aureus und gram-negative Bakterien mit einem höheren Anteil bei Patienten ≥ 65 Jahre als bei Jüngeren. *Mycoplasma pneumoniae* ist sehr selten bei alten Patienten zu finden. Bei Immunsupprimierten und Patienten mit erworbener Immunschwäche lassen sich häufig opportunistische Keime nachweisen, jedoch können bei ihnen auch konventionelle Keime einen schweren und atypischen Verlauf verursachen.

Die Letalität von ambulant erworbenen Pneumonien bei älteren Patienten mit der Notwendigkeit einer Krankenhausaufnahme beträgt bis zu 50% (Murder, 1998), bei Patienten < 65 Jahre ist sie mit 7 - 15% viel geringer (Marrie, 1990). Marrie zeigte, dass die Mortalität mit dem Alter zunimmt bis einschließlich der Altersgruppe 81 bis 90 Jahre. In der Altersgruppe 91 bis 100 Jahre reduziert sich die Mortalität allerdings wieder (Marrie, 1990). Falguera et al. fanden bei Patienten mit Diabetes mellitus als Vorerkrankung eine signifikant erhöhte Mortalität mit 17% im Vergleich zum Kollektiv ohne Diabetes mellitus mit 8% (Falguera et al., 2005). Bei Patienten, welche in einer Seniorenresidenz leben, liegt die Letalität bei 5 - 44% (Muder, 1998; Medina-Walpole und Katz, 1999; Meehan et al., 2000). Dies liegt auch daran, dass Bettlägerigkeit, Mangelernährung und Schluckstörungen, genauso wie Inkontinenz, Fieber, systolische Hypotension und Hypoxämie mit einem erhöhten Risiko zu sterben einhergehen (Medina-Walpole und Katz, 1999). Es wurde festgestellt, dass Patienten ≥ 60 Jahre nach einer überstandenen Pneumonieerkrankung früher starben als Patienten ohne Pneumonie in der Anamnese (Schäfer und Ewig, 2000). Damit bleibt diese Erkrankung weiterhin „the old man`s friend“, wie sie schon von Osler bezeichnet wurde (Berk, 1984).

1.2 Diagnostik aus respiratorischen Materialien

1.2.1 Methodische Aspekte

In den letzten Jahrzehnten rückte die Untersuchung von Sputum zur Charakterisierung von Entzündungen in den Atemwegen immer mehr neben der Bronchoskopie in den Blickpunkt. Sputum kann auf zwei unterschiedliche Methoden gewonnen werden, entweder es wird spontan abgehustet oder es wird induziert. Im Rahmen einer Sputuminduktion inhaliert der Patient mit Hilfe eines Inhaliergerätes eine hypertone NaCl-Lösung. Es kann mit einer gleichbleibenden Konzentration inhaliert werden (3 - 4,5%) oder in aufsteigender Dosierung (3, 4

und 5%) (Kips et al., 1998; Paggiaro et al., 2002). Eine weitere Möglichkeit ist eine Inhalation der gleichen Konzentration von NaCl (4,5%) über zunehmende Zeitspannen (Kips et al., 1998). Es ist nicht bekannt, wie der Mechanismus der Atemwegssekretion genau funktioniert. Man glaubt, dass eine erhöhte Osmolarität der „airway lining fluid“ die vaskuläre Permeabilität in der bronchialen Mukosa und die Schleimproduktion der submukösen Drüsen erhöht (Paggiaro et al., 2002). Die unterschiedlichen NaCl-Konzentrationen scheinen sich nicht auf die Differentialzellbilder auszuwirken (Kips et al., 1998). Es wird aber berichtet, dass sich Differenzialzellbilder nach unterschiedlich langen Inhalationszeiträumen unterscheiden. Während Sputumproben zu einem früheren Zeitpunkt mehr neutrophile und eosinophile Granulozyten enthalten, nimmt in den nachfolgenden Proben die Anzahl an Makrophagen zu, während die Anzahl an Lymphozyten gleich bleibt (Holz et al., 1998; Gershman et al., 1999). Man geht davon aus, dass die früheren Proben mehr aus den großen, zentralen Atemwege stammen und die späteren Proben mehr aus den peripheren (Gershman et al., 1999; Paggiaro et al., 2002). Zur Sputuminduktion müssen die Patienten gut mitarbeiten (Paggiaro et al., 2002). Nach und während der Inhalation versuchen die Patienten Sputum abzuhusten. Die hypertone Kochsalzlösung kann bei Patienten mit Asthma und COPD zu einer schweren Bronchokonstriktion führen, deshalb werden in vielen Studien die Patienten vor der Inhalation mit kurzwirksamen Beta-2-Mimetika behandelt. Bei Patienten mit schwerem Asthma oder COPD kann auch eine Inhalation mit isotoner Kochsalzlösung (0,9%) durchgeführt werden. Der Nachteil der Sputumprovokation mit isotoner Lösung besteht in einem geringeren Erhalt von suffizientem Material (Kips et al., 1998). Vor einer Induktion von Sputum und zum Teil auch währenddessen ist eine Überprüfung der Lungenfunktion sinnvoll und wichtig. Eine weitere Nebenwirkung der Inhalation kann Übelkeit sein (Kayembe et al., 1997). Induziertes Sputum enthält im Gegensatz zu spontanem Sputum einen höheren Anteil von lebenden Zellen und einen geringeren Anteil von Plattenepithelien (Bhowmik et al., 1998). Je grünlicher die Farbe des abgehusteten Sputums ist, desto höher ist die Aktivität der enthaltenen Cytokine, z.B. IL-8, einer bronchialen Entzündung (Stockley et al., 2001). Im nächsten Schritt der Sputumaufarbeitung kann man entweder das gesamte Sputum verwerten (Nightingale et al., 1998; Gershman et al., 1999) oder die festen Anteile aus dem Speichel heraustrennen und diesen dann verwerfen (Keatings et al.,

1997; Holz et al., 1998). Die Aufbereitung von Proben bei denen der Speichel verworfen wurde dauert einige Minuten länger (Efthimiadis et al., 2002). Sie enthalten einen niedrigeren Anteil an Plattenepithelien, das Differentialzellbild wird nicht verändert (Kips et al., 1998). *Spanevello et al.* fanden einen höheren Anteil an neutrophilen Granulozyten im Sputum, wenn der Speichel nicht verworfen wurde (Spanevello et al., 1998). Um den Mukus im Sputum aufzulösen, benutzt man DTT (Dithiothreitol) oder sein optisches Isomer DTE (Dithioerythritol) (Louis et al., 1999). Diese Chemikalien spalten Disulfidbrücken in Glykoproteinen im Mucus und setzen damit Zellen frei. Die Aufarbeitung von Sputum mit DTE erhöht die Gesamtzellzahl um im Mittelwert 90% und die Anzahl der Nicht-Plattenepithel-Zellen im Mittelwert um 123% im Vergleich zur Sputumaufarbeitung nur mit PBS-Phosphatpuffer, ohne die Vitalität zu beeinflussen (Louis et al., 1999). *Efthimiadis et al.* fanden hingegen eine erniedrigte Vitalität bei Sputumzellen, die mit DTT aufgearbeitet wurden im Gegensatz zu mit PBS-Phosphatpuffer aufgearbeiteten Zellen (Efthimiadis et al., 1997).

Im Vergleich zur bronchoalveolären Lavage (BAL) hat die Sputum-Gewinnung den Vorteil, dass sie ein nicht-invasives und kostengünstiges Verfahren ist. Sputum enthält ca. 10 mal so viele Zellen pro Volumen wie eine bronchoalveoläre Lavage (Kayembe et al., 1997). Die Vitalität der Zellen ist bei beiden Methoden gleich (Lensmar et al., 1998), aber die Differenzialzellbilder unterscheiden sich. Während im Sputum der Anteil an neutrophilen und eosinophilen Granulozyten höher ist, ist in der BAL der Anteil an Makrophagen und Lymphozyten höher (Kayembe et al., 1997; Lensmar et al., 1998; Hargreave, 1999). Man geht davon aus, dass das Material des Sputums mehr aus den proximalen Atemwegen stammt, während die bronchoalveoläre Lavage mehr die distalen Anteile repräsentiert (Kayembe et al., 1997; Keatings et al., 1997). Sputum repräsentiert Vorgänge die sich innerhalb des Bronchiallumens abspielen, daher gibt es keine Korrelation zum Differenzialzellbild von Biopsie-Proben (Kips et al., 2002). Sputum ist nicht geeignet, um exakte pathophysiologische Vorgänge, die sich in den Atemwegswänden abspielen, zu untersuchen (Kips et al., 2002).

Sputuminduktion gilt als durchführbare und reproduzierbare Methode. Es gibt kontroverse Meinungen darüber, ob eine wiederholte Sputuminduktion reproduzierbare Differenzialzellbilder liefert. Während bei *Spanevello et al.* die Anzahl an Makrophagen, neutrophilen und eosinophilen Granulozyten nach einer

wiederholten Sputuminduktion nach ca. 7 Tagen reproduzierbar waren (Spanevello et al., 1997), berichten *Nightingale et al.* und *Holz et al.* von einer Erhöhung der neutrophilen Granulozyten und einer Erniedrigung von Makrophagen nach 24 Stunden (Holz et al., 1998; Nightingale et al., 1998). *Van der Vaart et al.* fanden in ihrer Studie einen Anstieg der Anzahl neutrophiler Granulozyten bei einer Wiederholung der Sputuminduktion nach 6 Stunden und einen Anstieg der eosinophilen Granulozyten im Zeitraum von 6 – 48 Stunden nach der ersten Sputuminduktion (van der Vaart et al., 2006).

In der Literatur fanden sich keine signifikanten Unterschiede beim Erregernachweis zwischen induziertem und spontan produziertem Sputum (Fishman et al., 1994; Metersky et al., 1998; Bandyopadhyay et al., 2000).

1.2.2 Sputum in der Pneumonie-Diagnostik

Sputum als schnelle diagnostische Methode zur Erregergewinnung bei Patienten mit ambulant erworbener Pneumonie wird seit etwa 30 Jahren in der Literatur sehr kontrovers diskutiert (Madison und Irwin, 2004). Sputumdiagnostik zur Bewertung der entzündlichen Veränderungen in den Atemwegen wird für die klinische Praxis zur Zeit in der Literatur nur für Asthma und die chronisch obstruktive Lungenerkrankung empfohlen (Brightling, 2006). In Studien über ambulant erworbene Pneumonien wird das Ergebnis der Sputumkulturen als konventionelle Methode mit ausgewertet (Ruiz et al., 1999; Ruiz-González et al., 1999; Lim et al., 2001; Arancibia et al., 2002) oder durchgeführt, aber als unzuverlässige Methode nicht in das Endergebnis mit einbezogen (Torres et al., 1996; Sočan et al., 1999). Die Empfehlungen der internationalen pneumologischen Gesellschaften sind unterschiedlich. Die 2001 herausgegebene, überarbeitete Version der „Guidelines for the Management of Adults with Community-acquired Pneumonia“ der *American Thoracic Society* empfahl eine Gewinnung und Auswertung von Sputum nur bei Verdacht auf antibiotikaresistente Keime oder bei Verdacht auf Keime, die bei der gewöhnlich eingesetzten ungezielten Antibiotikatherapie nicht abgedeckt würden (Niedermann et al., 2001). Die *British Thoracic Society* empfahl 2001 die Auswertung einer Sputumkultur bei Patienten, die mit nicht schwerer ambulant erworbener Pneumonie ins Krankenhaus kommen, wenn diese Sputum abhusten können und zuvor keine Antibiotika-Therapie erhalten haben. Des weiteren sollte nach ihren Empfehlungen eine Sputumkultur bei Patienten mit schwerer ambulant erworbener Pneumonie gewonnen werden, des gleichen bei Patienten, bei denen

es trotz Antibiotikatherapie zu keiner Besserung der Krankheitssymptome kommt (British Thoracic Society, 2001). Die *Canadian Infectious Diseases Society* und die *Canadian Thoracic Society* gaben in ihren „Canadian Guidelines for the Initial Management of Community-Acquired Pneumonia“ aus dem Jahr 2000 keine eindeutigen Empfehlungen zum Einsatz von Sputum in der Keimdiagnostik. Sie wiesen auf die Probleme der Sputumgewinnung bei älteren Patienten, auf die häufig schlechte Qualität des Materials sowie die Notwendigkeit des schnellen Transportes hin. Es darf bei schwieriger Materialgewinnung zu keinem Aufschub der ersten Antibiotikagabe kommen. Besonders ausgiebig setzten sie sich mit dem Problem der Auswertung der Gramfärbung auseinander. Sie wiesen auf unterschiedliche Ergebnisse bei unterschiedlichen Untersuchern hin und auf die Zunahme guter Ergebnisse, wenn der Untersucher mehr Erfahrung hat (Mandell et al., 2000). Die Leitlinien der *Infectious Diseases Society of America* empfahlen die Sputumuntersuchung als relativ einfache und billige Methode, aber sie wiesen auch auf die oben bereits genannten Probleme hin (Bartlett et al., 2000). Die *Deutsche Gesellschaft für Pneumologie* empfahl gemeinsam mit der *Deutschen Gesellschaft für Infektiologie* sowie der *Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie* eine mikrobiologische Sputumuntersuchung bei nicht antibakteriell vorbehandelten Patienten mit purulentem Sputum und Gewährleistung der notwendigen logistischen Voraussetzungen (Transport und Verarbeitung innerhalb von 2 bis 4 Stunden) (Höffken et al., 2005).

Bei *Cordero et al.* entsprach in 96% der Fälle das Ergebnis aus einer Kultur von Sputum guter Qualität dem Ergebnis einer Kultur von BAL, Blut oder Pleuraerguß von dem selben Patienten (Cordero et al., 2002).

Der Nachweis von *Streptococcus pneumoniae* im Sputum mit Hilfe der Gram-Färbung gelingt in der Literatur mit einer Sensitivität von 57 - 86% und einer Spezifität von 72 - 97%, von *Hämophilus influenzae* mit einer Sensitivität von 80 - 82% und einer Spezifität von 88 - 99% (Fine et al., 1991; Rosón et al., 2000).

1.3 Fragestellung und Zielsetzung

Daraus ergeben sich folgende Fragen :

- Welche Bedeutung hat die Sputumdiagnostik bei älteren Menschen mit ambulant erworbener Pneumonie? Ist sie beim älteren Menschen durchführbar? Ist der Nutzen größer als der Aufwand?

- Gibt es Unterschiede im Erregerspektrum zwischen älteren und jüngeren Patienten? Sollte man dementsprechende unterschiedliche Antibioseempfehlungen geben?
- Welche Rolle spielt die Aspiration als Risikofaktor bei Patienten mit ambulant erworbener Pneumonie?

2. Untersuchungskollektiv und Studiendesign

2.1 Kollektiv

Von den 488 Patienten mit ambulant erworbener Pneumonie, welche von März 2000 bis Februar 2002 in die Klinik aufgenommen wurden, erfüllten 116 Patienten die Einschlusskriterien (s.u.). Das Kollektiv wurde, wie in der Literatur definiert (Venkatesan et al., 1990; Rello et al., 1996; Riquelme et al., 1997; Conte et al., 1999; Dean et al., 2000; Johnson et al., 2000; Kaplan et al., 2002), in „ältere“ Patienten ≥ 65 Jahre ($n = 79$) und „jüngere“ Patienten < 65 Jahre ($n = 37$) eingeteilt.

2.1.1 Definition der ambulant erworbenen Pneumonie

Jede Pneumonie, bei der der auslösende Erreger außerhalb des Krankenhauses aufgenommen wurde, wird als ambulant erworbene Pneumonie bezeichnet. Die Diagnose einer Pneumonie wurde aufgrund der folgenden Befunde gestellt :

- ein neues oder progressives Infiltrat im Röntgenbild des Thorax
- pulmonale Symptome (produktiver Husten, klingende Rasselgeräusche, Dyspnoe, schlechte Oxygenation, pleuritische Thoraxschmerz)
- erhöhte Entzündungsparameter im Blut (Leukozytose, Linksverschiebung, CRP-Erhöhung)

2.1.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Einschlusskriterien

- Diagnose einer ambulant erworbenen Pneumonie
- keine Ausschlusskriterien (s.u.)
- Materialgewinnung aus den Atemwegen war möglich
- Aufnahme in die Klinik zu einem Zeitpunkt, zu dem eine Sputumgewinnung unter Supervision möglich war.

Ausschlusskriterien

- Krankenhausaufenthalt 10 Tage vor Aufnahme
- poststenotische Pneumonie
- Nachweis einer Tuberkulose

- HIV – Infektion
- Chemotherapie bei hämatologischen und soliden Neoplasien
- Alter < 18 Jahre
- Intubation vor Aufnahme ins Krankenhaus

2.1.3 Studienablauf

Die Patienten wurden nach Aufnahme ins Krankenhaus gebeten, so bald wie möglich Sputum abzu husten. Konnte kein Sputum spontan produziert werden, dann wurde eine Sputuminduktion mit 3,5% NaCl-Lösung durchgeführt. Bei Patienten, die nicht mehr die Kraft hatten, das Sputum selbständig abzu husten, wurde dieses mit Hilfe eines Katheters abgesaugt. Bei einigen Patienten wurde auf Grund ärztlicher Indikation eine Bronchoskopie durchgeführt und eine Mini-BAL gewonnen. Das gewonnene Material (Sputum, Trachealsekret oder Mini-BAL) wurde in Kulturen auf Bakterien und Pilze sowie mikroskopisch untersucht. Zusätzlich wurde eine *Chlamydia pneumoniae*-PCR durchgeführt. Blutkulturen wurden gewonnen und mikrobiologisch auf Bakterien untersucht. Serum wurde von Oktober bis März auf *Influenza A* und *B* und auf RSV untersucht (Flamaing et al., 2003). Die klinische Vorgeschichte und der Verlauf wurden dokumentiert. Die Patienten wurden nicht nach ihrer Infiltratverteilung unterschieden, da diese Formen (lobär, bronchial, interstitiell) bei Erwachsenen keine sichere Differenzierung der Ätiologie zulassen.

Bei Patienten ≥ 65 Jahren (n = 38) wurde die Langzeitmortalität nach einem Intervall von drei Jahren erfragt.

2.1.4 Risikobeurteilung nach dem modifizierten PSI-Score

Den in Tabelle 1 dargestellten PSI-Score (Pneumonia Severity Index-Score) entnahmen wir der Arbeit von *Fine et al.* (Fine et al., 1997). In dem Score werden Alter, Wohnen im Pflegeheim, Vorerkrankungen, klinische Parameter und Laborwerte zu einem Punktesystem zusammengefasst, nach welchem das Mortalitätsrisiko in einer Punktetabelle (Tabelle 2) beurteilt werden kann. Ab der Risikoklasse IV sollten die Patienten stationär behandelt werden. In der Studie befanden sich 34 Patienten in den Risikoklassen I – III und 82 Patienten in den Risikoklassen IV - V.

Tabelle 1: Kriterien zur Risikoklassifizierung ambulant erworbener Pneumonien
modifiziert nach M.J. Fine, 1997

Anamnese : Alter	Jahre (Männer)
	Jahre – 10 (Frauen)
Pflegeheim	+ 10
Vorerkrankungen :	
- Tumor	+ 30
- Leber	+ 20
- Herz	+ 10
- Gefäße	+ 10
- Niere	+ 10
Klinik : Verwirrtheit	+ 20
Atemfrequenz > 30/min	+ 20
Systolischer Blutdruck < 90 mm Hg	+ 20
Temperatur < 35 ⁰ C	+ 15
Temperatur ≥ 40 ⁰ C	+ 15
Herzfrequenz ≥ 125/min	+ 10
Laborwerte: pH < 7,35	+ 30
Kreatinin* > 133 µmol/l (Männer)	+ 20
> 110 µmol/l (Frauen)	
Natrium < 130 mmol/l	+ 20
Glukose > 250 mg/dl	+ 10
Hämatokrit < 30%	+ 10
PaO ₂ < 60 mm Hg	+ 10
Pleuraerguss	+ 10
Scoresumme :	??

*Im Original wird statt Kreatinin Harnstoff im Serum bewertet

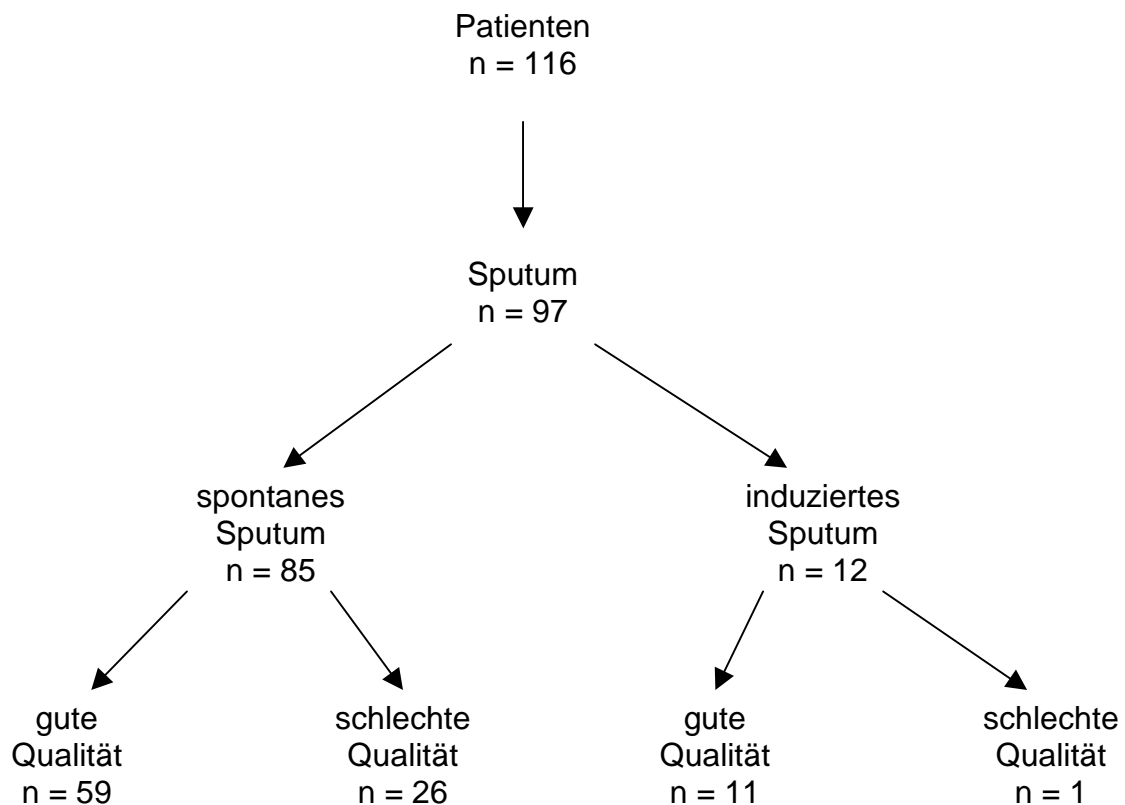
Tabelle 2: Risikoklassifizierung mittels PSI nach M.J. Fine, 1997

Risikoklasse	Scoresumme	Mortalität
I	Keine (Patient < 50 Jahre ohne Risikofaktoren)	0,4 %
II	≤ 70	0,8 %
III	71 - 90	2,8 %
IV	91 - 130	8,5 %
V	> 130	31,1 %

2.1.5 Sputumgewinnung

Von 97 der 116 Patienten (84%), die endgültig in die Studie eingeschlossen wurden, konnte eine Sputumprobe genommen werden (Diagramm 1). 74% (85 Patienten) konnten ein spontanes Sputum hervorbringen, die Sputumausbeute konnte durch Induktion um 10% (12 Patienten) gesteigert werden. Das spontane Sputum war in 69% der Fälle von guter Qualität, bei induziertem in 92%.

Diagramm 1: Sputumgewinnung



2.1.6 Ethik

Die Studie wurde von dem Ethikkomitee der Medizinischen Universität Lübeck gebilligt. Von den Patienten wurde nach ausführlicher Aufklärung eine Einverständniserklärung unterschrieben.

3. Material und Methoden

3.1 Geräte

Inhaliergerät Pari boy Typ 038 (PARI GmbH, Starnberg)
PARI LL Vernebler (PARI GmbH, Starnberg)
Flexibles Fiberglasbronchoskop IF 20 (Olympus, Hamburg)
Absauggerät (Dräger, Lübeck)
Pipetten (Eppendorf, Hamburg)
Sterile Werkbank Hera Safe (Heraeus Instruments, Hamburg)
Laborwaage Delta Range (Hassa, Lübeck)
Minishaker MS1 (Ika Works, Wilmington, USA)
Zentrifuge Omnifuge RS 2.0 (Heraeus Sepatech, Hannover)
Zentrifuge Zytospin-2 (Shandon, Frankfurt)
Axioskop (Zeiss, Jena)

3.2. Materialien und Chemikalien

Sterile Absaugkatheter (Dahlhausen, Köln)
Materialfalle (Dahlhausen, Köln)
Röhrchen (14 ml, 30 ml, 50 ml) (Greiner, Frickenhausen)
Eppendorfgefäße (Eppendorf, Hamburg)
Objektträger (Menzel, Braunschweig)
Deckgläschen (Menzel, Braunschweig)
Gauze (Mullkompressen, 12-fach, 10 x 10 cm. Maimed GmbH & Co. KG, Neukirchen)
Neubauer Zählkammer (Hassa, Lübeck)
Färbekasten nach Hellendahl (Hassa, Lübeck)
PBS-Phosphatpuffer (GIBCO, Karlsruhe)
NaCl (Braun, Hamburg)
Aqua dest. (Delta Select, Pfullingen)
Dithioerythritol (Sigma, Taufkirchen)
Trypanblau 0,4% (Sigma, Deisenhofen)
May-Grünwald-Färbung (Merck, Darmstadt)
Giemsa-Färbung (Merck, Darmstadt)

Gram-Färbung (Kristallviolett, Lugol, Aceton-Äthylalkohol, Carbonfuchsin) (bio Mérieux, Marcy l`Etoile, France)
Oil-Red-O (Sigma, Sternheim)
Isopropylalkohol (Apotheke der MUL, Lübeck)
Hämalaun nach Mayer (Waldeck GmbH & Co, Münster)
Eukit (Merck, Darmstadt)
Xylol (Merck, Darmstadt)
Aquatex (Merck, Darmstadt)

3.3 Methoden

3.3.1 Sputumgewinnung

Die Patienten wurden gebeten, Sputum spontan in ein steriles Gefäß so schnell wie möglich abzuhusten. Konnte kein Sputum spontan produziert werden, wurde eine Sputuminduktion durchgeführt. Die Patienten wurden gebeten, 10 - 15 min eine 3,5% NaCl-Lösung mit Hilfe eines Inhaliergerätes (PARI) zu inhalieren. Das Inhaliergerät besteht aus einem Kompressor, der Druckluft erzeugt und einem Vernebler (PARI LL Vernebler), in den die Inhalationslösung eingefüllt und dann vernebelt wird. Kompressor und Vernebler sind über einen Schlauch miteinander verbunden, der die Druckluft in den Vernebler leitet. Die Inhalationslösung wird in feinste Tröpfchen zerstäubt (Total Output: 480 mg/min, medianer Massendurchmesser: 3,6 µm). Über ein Mundstück oder eine Maske am Vernebler wird das Aerosol eingeatmet. Nach der Inhalation sollten die Patienten versuchen innerhalb einer Stunde ihr Sputum, wenn möglich, in ein steriles Gefäß abzuhusten. Das gewonnene Sputum wurde innerhalb von maximal drei Stunden in das Labor gebracht.

3.3.2 Sputumaufarbeitung

Für die Sputumaufarbeitung wurde das gesamte Sputum, bestehend aus festem und flüssigem Anteil, benutzt. Im Labor wurde das Sputum unter der sterilen Werkbank in zwei Portionen geteilt. Ein Teil wurde in der Medizinischen Mikrobiologie untersucht. Der andere Teil wurde mit dem gleichen Volumen (Efthimiadis et al., 2002) 0,2% (Jatakanon et al., 1999) DTE (Dithioerythritol) aufgearbeitet (Louis et al., 1999). Das DTE wurde in PBS-Phosphatpuffer vor Gebrauch gelöst und täglich frisch hergestellt. Die Probe wurde ca. 30 s mit Hilfe

des Vortexgerätes gemischt und 5 min bei Raumtemperatur stehen gelassen. Danach wurde die Probe wieder 30 s mit Hilfe des Vortexgerätes gemischt und dann 10 min bei 900 U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde abgenommen und in 300 µl Portionen in Eppendorfgefäße aliquotiert und bei -70°C eingefroren. Das Zellpellet wurde je nach Dicke in 1 - 5 ml PBS-Phosphatpuffer mit Hilfe des Vortexgerätes gelöst. Die Gesamtzellzahl wurde in einer Neubauer Zählkammer bestimmt. Mit Hilfe der Trypan-Blau-Färbung wurde die Vitalität festgestellt. Zur Herstellung von Zytospins wurden ca. 50000 Zellen in 100 µl durch die Cytospincentrifuge auf Objektträger zentrifugiert.

3.3.3 Gewinnung und Aufarbeitung von BAL

Bei 22 Patienten wurden auf Grund ärztlicher Indikation eine Bronchoskopie durchgeführt. Diese wurde nach den festgelegten Standardbedingungen durchgeführt (Dalhoff et al., 1990). 100 – 140 ml isotone Kochsalzlösung wurde in 20-ml-Portionen ins betroffene Lungenareal instilliert und vorsichtig aspiriert. Die Recovery betrug mehr als 50 ml. Dieses Material wurde als BAL bezeichnet. Ließ sich bei Patienten schon nach der ersten 20 ml-Portion NaCl genügend eitriges Material gewinnen, wurde auf eine weitere Spülung verzichtet. Dieses Material wurde als Mini-BAL bezeichnet. Die Mini-BAL wurde wie Sputum aufgearbeitet. Ein Teil der BAL wurde in der Medizinischen Mikrobiologie untersucht, der andere wurde unverdünnt durch Gauze filtriert und 10 min bei 900 U/min zentrifugiert. Das weitere Vorgehen entsprach der Sputum-Aufarbeitung.

3.3.4 Gewinnung und Aufarbeitung von Trachealspirat

Bei Patienten, die nicht mehr die Kraft hatten, ihr Sputum selber abzuhusten, wurde das Material mit Hilfe eines sterilen Katheters abgesaugt. Zwischen Katheter und Gerät wurde eine Materialfalle gesteckt. Das so gewonnene Trachealspirat wurde wie Sputum aufgearbeitet.

3.3.5 Pappenheim-Färbung und Auswertung

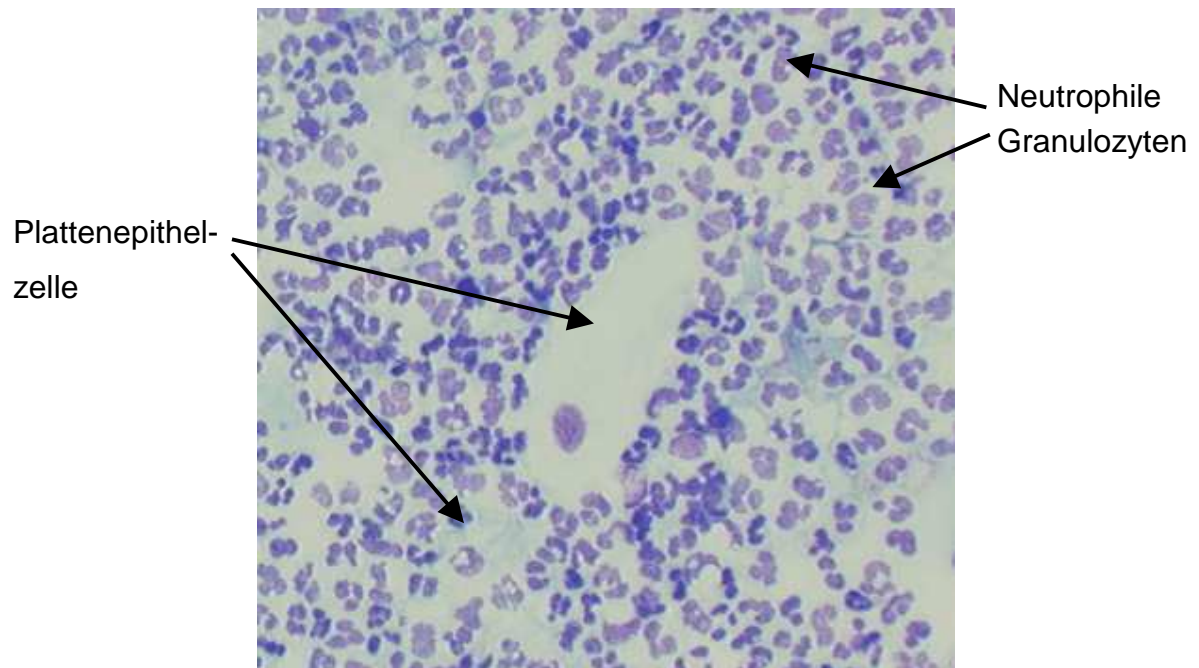
Es wurden zwei Objektträger nach Pappenheim gefärbt. Dazu wurden sie drei Minuten mit May-Grünwald gefärbt, mit Aqua dest. gespült und danach 15 min mit

Giemsa gefärbt, wieder mit Aqua dest. gespült und an der Luft getrocknet. Ein Objektträger wurde sofort mikroskopiert, der andere wurde eingedeckt. Unter dem Abzug wurde dieser Objektträger in eine Küvette mit Xylol getaucht, ein Tropfen Eukit wurde mit Hilfe eines Glasstabes auf ein Deckgläschen gegeben und dieses dann vorsichtig, damit keine Luftblasen entstehen, auf das Präparat gedrückt. Hiernach wurde der Objektträger einige Stunden unter dem Abzug zum Trocknen liegen gelassen. Zur Bestimmung des Differentialzellbildes wurden 400 Zellen (ohne Plattenepithelzellen) (Efthimiadis et al., 2002) unter der 100fachen Vergrößerung ausgezählt. Die Anteile von neutrophilen, eosinophilen und basophilen Granulozyten und Makrophagen wurden in Prozent angegeben. Das Sputum wurde in gute und unzureichende Qualitäten eingeteilt. Sputum guter Qualität enthielt < 10 Plattenepithelien und > 25 Leukozyten pro Blickfeld in 100facher Vergrößerung (Fine et al., 1991; Rosón et al., 2000) (Abbildung 1).

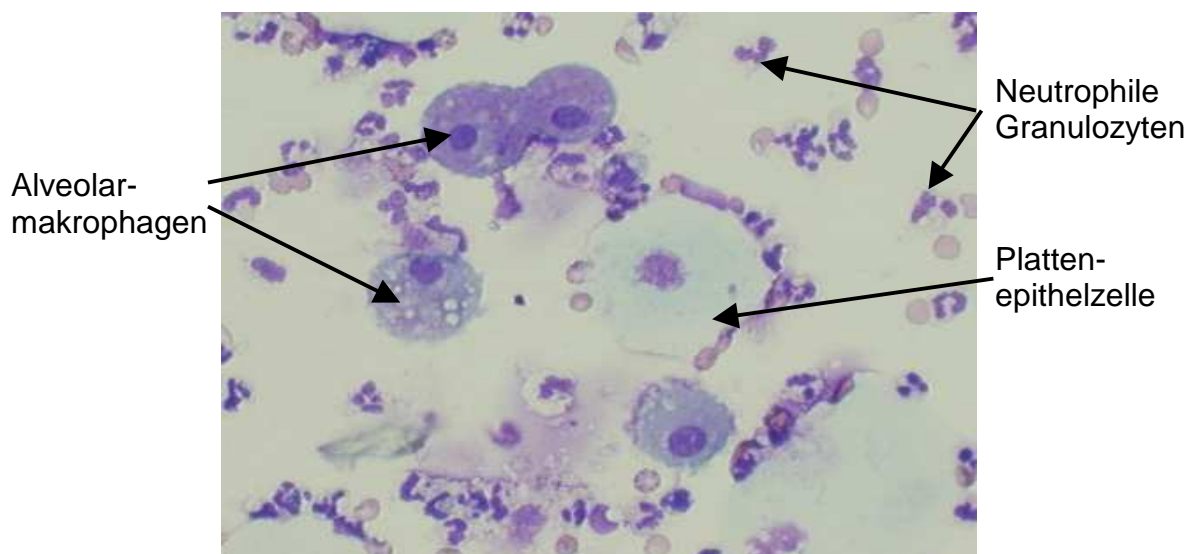
3.3.6 Gram-Färbung und Auswertung

Zwei weitere Objektträger wurden nach Gram gefärbt. Hierfür mussten die Objektträger an der Luft trocken und wurden danach 3x durch die Flamme einer Kerze gezogen. Die abgekühlten Präparate wurden eine Minute mit Kristallviolett beschichtet, mit Aqua dest. gespült, dann eine Minute mit Lugol überschichtet, mit Aqua dest. gespült, mit Aceton-Äthylalkohol entfärbt, mit Aqua dest. gespült, eine Minute mit Carbofuchsin gegengefärbt, mit Aqua dest. gespült und an der Luft getrocknet. Ein Objektträger wurde sofort mikroskopiert, der andere mit Eukit (s.o.) eingedeckt. Es wurden 200 neutrophile Granulozyten ausgezählt und der Anteil an Zellen mit intrazellulären Bakterien in Prozent angegeben und die dominierende Erregergruppe bestimmt. Lag der Anteil $\geq 5\%$ so galt der Ausstrich als positiv (Baselski et al., 1992) (Abbildung 2).

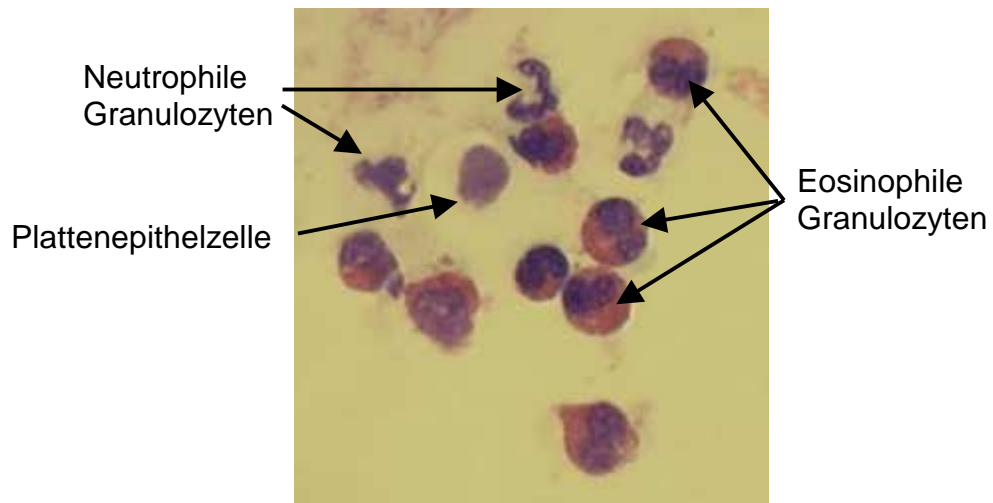
Abbildung 1: Sputum guter Qualität in der Pappenheim-Färbung



a) Pappenheim-Färbung Sputum Patient

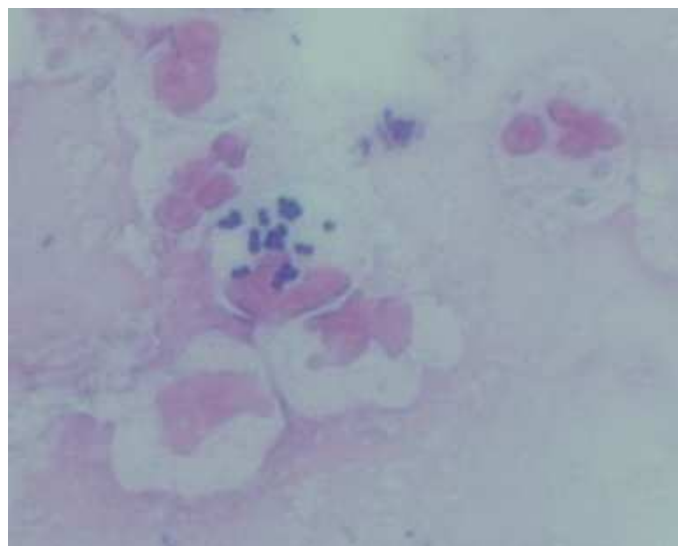


b) Pappenheim-Färbung Sputum Patient 108

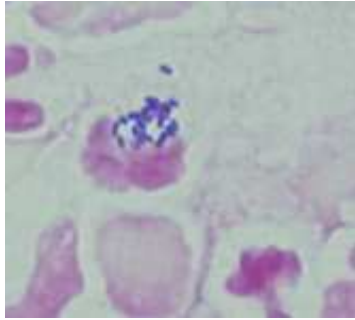


c) Pappenheim-Färbung Sputum Patient 48

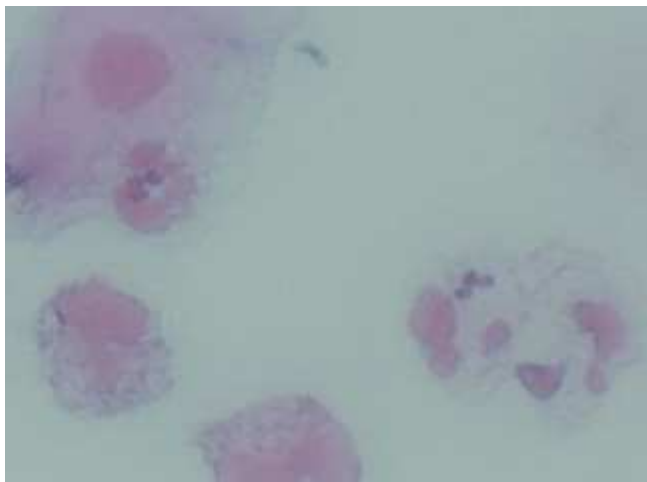
Abbildung 2: Sputum guter Qualität in der Gram-Färbung



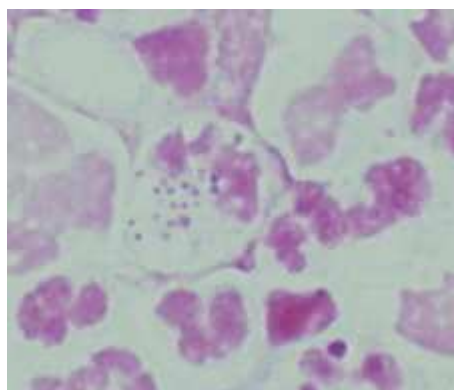
a) Gram-Färbung Sputum Patient 38:
gram-positive Diplokokken intrazellulär



b) Gram-Färbung Sputum Patient 87:
gram-positive Kokken intrazellulär



c) Gram-Färbung Sputum Patient 108:
gram-labile Diplokokken intrazellulär



d) Gram-Färbung Sputum Patient 87:
gram-negative Kokken intrazellulär

3.3.7 Oil-Red-O-Färbung und Auswertung

Oil-Red-O (Sudanrot 5B, $C_{26}H_{24}N_4O$) ist ein Lysochrom, mit dem man neutrale Fette (Triglyceride) färben kann. Zum Ansetzen einer Oil-Red-O-Färbung wurde 0,5 g Oil-Red-O in 100 ml 99% Isopropanol gelöst (= Stammlösung). 6ml Stammlösung wurden mit 4 ml Aqua dest. verdünnt und für 24 Stunden stehen gelassen. Diese Gebrauchslösung wurde unmittelbar vor der Färbung filtriert. Die Lösung füllte man in einen Färbekasten nach Hellendahl und färbte darin zwei Objektträger, pro Probe 30 min. Danach wurden die Objektträger mit Leitungswasser abgespült und die Zellkerne 10 min mit Hämalaun nach Mayer in einem Färbekasten nach Hellendahl gefärbt. Die Objektträger wurden dann 10 min in Leitungswasser gespült und danach mit Aquatex eingedeckt. Ein Tropfen Aquatex wurde auf das Deckgläschen gegeben und dieses vorsichtig auf das Präparat gedrückt, damit keine Luftblasen entstanden. Zur Kontrolle der Färbung wurde immer ein sicher positiver Objektträger mitgefärbt. Für die Auswertung wurden pro Objektträger 100 Makrophagen ausgezählt und nach einer Vier-Punkte Skala beurteilt (abgeändert nach Corwin und Irwin, 1985; Parameswaran et al., 2000) (Abbildung 3):

0: keine Fettvakuolen

1: wenig Fettvakuolen (1 - 12 Stück)

2: viele Fettvakuolen

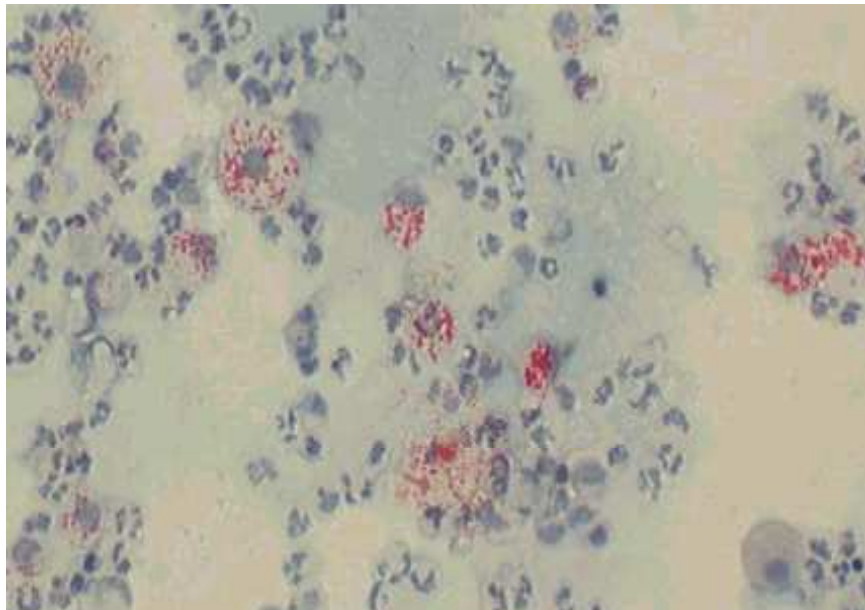
3: komplett mit Fettvakuolen gefüllte Zelle

Die Summe an Punkten ergab den „Lipid-Index“.

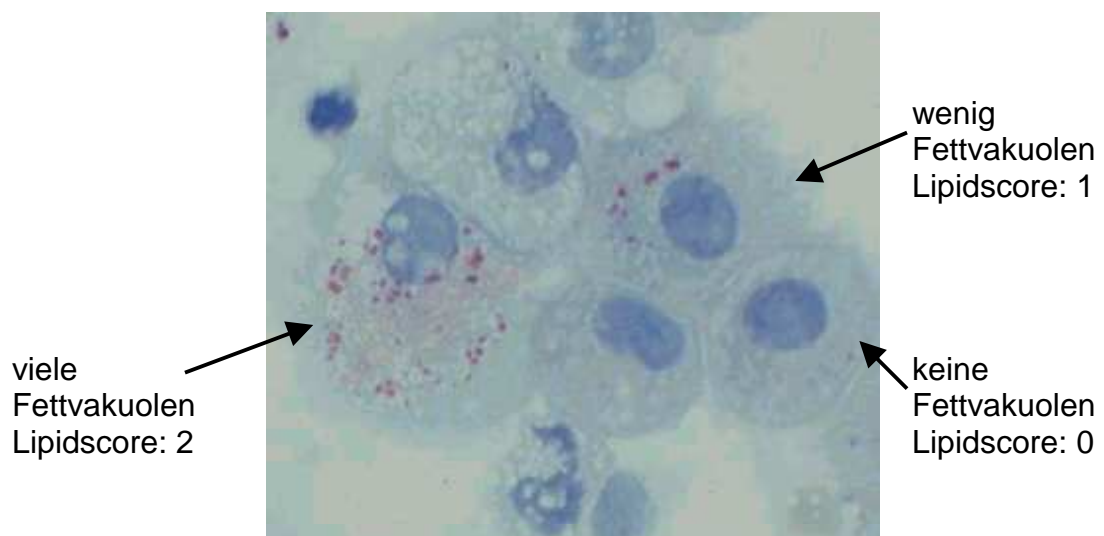
Es war wichtig zu wissen, ob der Patient geraucht hat, da sich die „Raucherpigmente“ ebenfalls rot anfärbten. Sie hatten aber im Vergleich zu Fetttropfen eher eine granuläre Struktur (Abbildung 4).

Der Anteil an Makrophagen mit Fettvakuolen wurde in Prozent ausgedrückt. War der Anteil $> 3\%$, so galt der Nachweis als positiv (abgeändert nach Parameswaran et al., 2000). Die Grenze $> 3\%$ wurde auf Grund von Ergebnissen aus Vorversuchen ($n = 5$) festgesetzt. Nach *Gleeson et al.* aspiriert die Hälfte aller Menschen im Schlaf, aber nicht in den Mengen, dass es zu einer Pneumonie kommt (Gleeson et al., 1997).

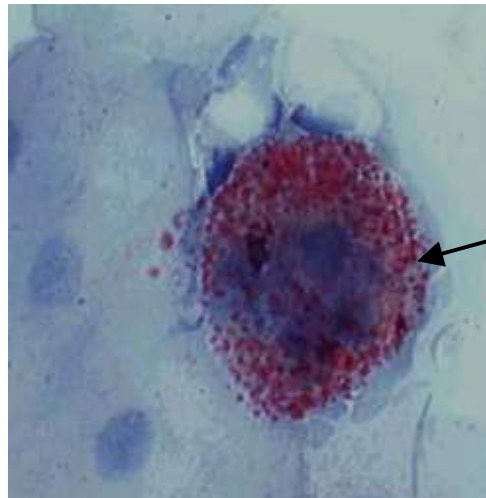
Abbildung 3: Oil-Red-O-Färbung



a) Oil-Red-O-Färbung Sputum Patient 88:
Übersicht
Lipid-Index: 78



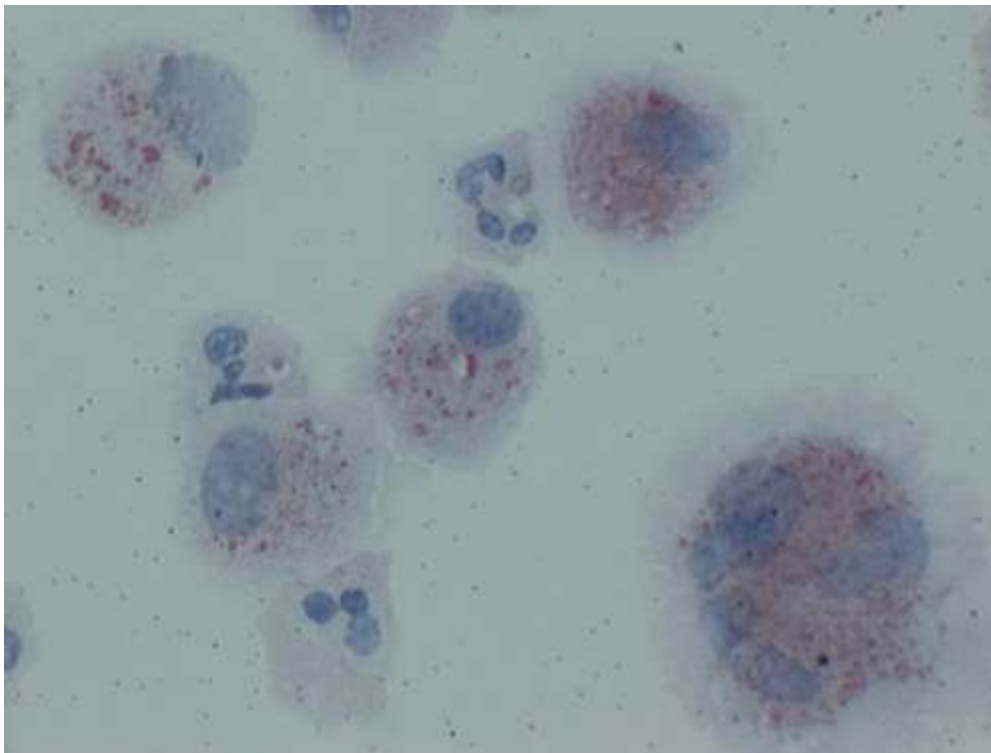
b) Oil-Red-O-Färbung BAL Patient 28



komplett mit
Fettvakuolen
gefüllte Zelle
Lipidscore: 3

c) Oil-Red-O-Färbung Sputum Patient 43

Abbildung 4: Raucherpigmente in der Oil-Red-O-Färbung



Oil-Red-O-Färbung BAL Patient 89:
Raucherpigmente

3.3.8 Mikrobiologische Untersuchung

Im Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene (Direktor: Prof. Dr. med. W. Solbach) wurde aus Sputum, BAL oder Trachealspirat Kulturen für Bakterien und Pilze angelegt. *Chlamydia pneumoniae* wurde mit Hilfe einer PCR nachgewiesen. Für eine Blutkultur und eine Serologie nahm man bei Patienten Blut ab. In der Serologie wurde das Blut auf *Mycoplasma pneumoniae* (n = 57) (positive KBR bei Titer > 1:80) und in der Winterzeit zwischen Oktober und März auf die Viren *Influenza A* (positive KBR bei Titer > 1:80), *Influenza B* (positive KBR bei Titer > 1:80) (n = 43) und RSV (positive KBR bei Titer > 1:40) (n = 35) untersucht. Zusätzlich wurde im Urin das *Legionella pneumophila* Antigen (n = 50) bestimmt.

3.3.9 Statistische Auswertung

Die Darstellung der Daten in den Abbildungen erfolgte als absolute Zahlen, in Prozentzahlen und als Mittelwert \pm einfacher Standardabweichung (SD). Die Signifikanzprüfung für nicht parametrische Stichproben erfolgte bei diskontinuierlichen Variablen mit dem χ^2 - und bei kontinuierlichen Variablen mit dem Mann-Whitney-U-Test. Korrelationen wurden mit der Rangkorrelation nach Spearman errechnet. Die Überlebenswahrscheinlichkeit wurde mit Hilfe eines Kaplan-Meier Diagramm dargestellt.

Als statistisch signifikant wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit < 5% ($p < 0,05$) angesehen. Die Daten wurden mit Hilfe des Statistikprogrammes Statistica für Windows, Version 5, 1997 ausgewertet.

4. Ergebnisse

4.1 Klinische Daten in den beiden Altersgruppen

64% der an der Studie teilnehmenden Patienten war männlichen Geschlechts. Patienten ≥ 65 Jahre hatten signifikant häufiger Vorerkrankungen ($p = 0,0004$) und waren signifikant häufiger Bewohner einer Seniorenresidenz ($p = 0,02$). Es starben nur Patienten, die ≥ 65 Jahre waren. Es fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Altersgruppen in der Häufigkeit der Vortherapie (Tabelle 3).

Im Vergleich der Entzündungszeichen im Blut und der Temperatur fanden sich bei Aufnahme zwischen den Altersgruppen keine signifikanten Unterschiede (Tabelle 4).

In der Patientengruppe < 65 Jahre war der Anteil an Rauchern signifikant höher ($p = 0,003$) als bei Patienten ≥ 65 Jahre. Die Gruppe der jüngeren Patienten hatte signifikant häufiger Lebererkrankungen (z.B. ethyltoxische Leberzirrhose, Hepatitis B, Leberparenchymschaden unklarer Genese) ($p = 0,01$). Patienten ≥ 65 Jahre litten signifikant häufiger unter Lungenerkrankungen (z.B. COPD, Lungenemphysem, Bronchiektasen, Lungenfibrose, Asthma bronchiale) ($p = 0,02$), unter kardialen Vorerkrankungen (z.B. KHK, Z.n. Myokardinfarkt, Herzinsuffizienz) ($p = 0,00$) und unter neurologischen Vorerkrankungen (z.B. Morbus Parkinson, Z.n. Schlaganfall) ($p = 0,03$) (Tabelle 5).

Zwischen den Altersgruppen gab es keine signifikanten Unterschiede in der Verteilung der Infiltrate (lobär, bronchial, interstitiell und denen, die man noch nicht sicher zuordnen konnte).

4.2 Diagnostische Materialien im Vergleich zwischen den Altersgruppen

In den beiden Altersgruppen wurde Sputum guter und unzureichender Qualität etwa gleich häufig gewonnen. Bei Patienten ≥ 65 Jahre wurde signifikant häufiger Trachealspirat ($p = 0,02$) und signifikant seltener bronchoskopisches Material ($p = 0,04$) sowie Serum und Urin ($p = 0,006$) gewonnen (Tabelle 6).

Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede bei dem Erregernachweis der einzelnen diagnostischen Materialien zwischen den Altersgruppen (Tabelle 7). Das Trachealspirat lieferte mit 90% die höchste Erregernachweisrate.

Tabelle 3: Klinische Daten in den beiden Altersgruppen

	< 65 Jahre n = 37	≥ 65 Jahre n = 79	
Alter	45,73 ± 13,77	76,05 ± 8,27	p < 0,0001
Männer/Frauen	22/15	52/27	ns
Raucher	21	22	p = 0,003
Vorerkrankungen *	22	70	p = 0,0004
Vorthherapie	14	25	ns
Heimbewohner	2	20	p = 0,02
Sterblichkeit	0	5	ns
PSI-Score	2,7 ± 1	4 ± 0,6	p < 0,0001

*ohne Rauchen. Darstellung von Alter und PSI-Score als Mittelwert ± Standardabweichung. Alle weiteren Parameter werden als Anzahl dargestellt

Tabelle 4: Vergleich der Entzündungszeichen zwischen den Altersgruppen

	< 65 Jahre n = 37	≥ 65 Jahre n = 79	
Temperatur	38,18 ± 1,32 °C	37,80 ± 1,05 °C	ns
Leukozyten	14,12 ± 6,68 /nl	13,53 ± 6,44 /nl	ns
CRP	162,97 ± 136,46 mg/l	149,40 ± 108,42 mg/l	ns
Fibrinogen	8,12 ± 3,12 g/l	7,85 ± 2,80 g/l	ns

Darstellung der Entzündungswerte als Mittelwert ± Standardabweichung sowie der Signifikanzen

Tabelle 5: Vorerkrankungen im Altersgruppenvergleich

	< 65 Jahre n = 37	≥ 65 Jahre n = 79	
Raucher	21	22	p = 0,003
Lungenerkrankungen	10	39	p = 0,02
Kardiale Erkrankungen	8	47	p = 0,0002
Diabetes mellitus	2	10	ns
Alkoholabusus	2	4	ns
Lebererkrankungen	3	0	p = 0,01
Niereninsuffizienz	5	8	ns
Tumorerkrankungen	4	14	ns
Neurologische Erkrankungen	3	20	p = 0,03
keine Vorerkrankungen	8	7	p = 0,056

Darstellung der Anzahl der Vorerkrankungen / Gewohnheiten in den beiden Altersgruppen sowie der Signifikanzen

Tabelle 6: Diagnostische Methoden im Vergleich zwischen den Altersgruppen

	< 65 Jahre n = 37	≥ 65 Jahre n = 79	
Sputum guter Qualität	22	48	ns
Sputum unzureichender Qualität	9	18	ns
bronchoskopisch gewonnenes Material	11	11	p = 0,04
Trachealspirat	0	10	p = 0,02
Blut-Kultur	29	50	ns
Serologie und Urin Antigen	31	46	p = 0,006

Darstellung der Anzahl der gewonnenen Materialien im Vergleich zwischen den Altersgruppen sowie der Signifikanzen

Tabelle 7: Positiver Erregernachweis in den einzelnen diagnostischen Materialien im Vergleich zwischen den beiden Altersgruppen

	< 65 Jahre	≥ 65 Jahre	
Sputum guter Qualität	8/22	20/48	ns
Sputum unzureichender Qualität	2/9	7/18	ns
bronchoskopisch gewonnenes Material	5/11	6/11	ns
Trachealspirat	0/0	9/10	nd
Blut-Kultur	2/29	3/50	ns
Serologie und Urin Antigen	4/31	4/46	ns

Darstellung der Anzahl des positiven Erregernachweises bezogen auf die Anzahl des jeweiligen Materials in der Altersgruppe sowie der Signifikanzen

4.3 Erregernachweis im Vergleich

Es wurden in 21% der Fälle gram-positive Erreger, in 28% gram-negative und in 20% obligat intrazelluläre Erreger und Viren nachgewiesen. Mit den gewählten Nachweismethoden konnten wir in 50% der Fälle einen Erreger nachweisen (Tabelle 8).

Im Vergleich zwischen den Altersgruppen fand sich *Mykoplasma pneumoniae* ausschließlich bei Patienten < 65 Jahre ($p = 0,003$). Sonst gab es im Vergleich zwischen den Altersgruppen keine signifikanten Erregerunterschiede. Bei den Patienten < 65 Jahre fand sich *Streptococcus pneumoniae* am häufigsten, gefolgt von *Mykoplasma pneumoniae*. Bei den Patienten ≥ 65 Jahre konnten wir am häufigsten *Enterobacteriaceae* nachweisen, gefolgt von *Streptococcus pneumoniae* und *Chlamydia pneumoniae* (Tabelle 8).

Bei Patienten ≥ 65 Jahre, die in einer Seniorenresidenz lebten, fanden wir eine signifikant größere Anzahl der einzelnen Erreger aus der Gruppe der *Enterobacteriaceae* ($p = 0,016$) (Tabelle 9).

Tabelle 8: Erregerspektrum in dem Gesamtkollektiv und im Altersgruppenvergleich

	Gesamtkollektiv n = 116	< 65 Jahre n = 37	≥ 65 Jahre n = 79	< vs. ≥ 65 Jahre
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	14	6	8	ns
β-Streptokokken der Serogruppe A	1	1	0	p = 0,14
β-Streptokokken der Serogruppe B	1	1	0	ns
<i>Streptococcus constellatus</i>	1	1	0	ns
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	2	5	ns
<i>Haemophilus influenzae</i>	8	2	6	ns
<i>Pasteurella multocida</i>	1	0	1	ns
<i>Moraxella catarrhalis</i>	3	0	3	ns
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1	1	0	ns
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	0	5	p = 0,12
<i>Enterobacteriaceae</i>	13	2	11	ns
- <i>Klebsiella pneumoniae</i>	- 1	- 0	- 1	
- <i>Klebsiella species</i>	- 1	- 1	- 0	
- <i>Klebsiella oxytoca</i>	- 2	- 0	- 2	
- <i>Proteus mirabilis</i>	- 1	- 0	- 1	
- <i>Proteus vulgaris</i>	- 1	- 0	- 1	
- <i>Proteus species</i>	- 1	- 0	- 1	
- <i>Citrobacter freundii</i>	- 1	- 0	- 1	
- <i>Enterobacter cloacae</i>	- 2	- 1	- 1	
- <i>E.coli</i>	- 3	- 0	- 3	
<i>Prevotella species</i>	1	1	0	ns
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	4	4	0	p = 0,003
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	11	3	8	ns
Coxsackieviren	1	1	0	ns
Influenza A	3	1	2	ns
Influenza B	1	0	1	ns
RSV	3	0	3	ns
Positives Ergebnis	58	19	39	ns
Kein Erregernachweis	58	18	40	

Darstellung der Anzahl der einzelnen Erreger des Gesamtkollektivs, in den beiden Altersgruppen sowie der Signifikanzen zwischen den beiden Altersgruppen. Auf Grund von Mischinfektionen stimmen Erregeranzahl und Personenanzahl nicht überein.

Tabelle 9: Erregerspektrum bei Patienten ≥ 65 Jahre im Vergleich der Wohnsituation

	≥ 65 Jahre Eigene Wohnung n = 59	≥ 65 Jahre Senioren- residenz n = 20	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	5	3	ns
β -Streptokokken der Serogruppe A	0	0	
β -Streptokokken der Serogruppe B	0	0	
<i>Streptococcus constellatus</i>	0	0	
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	2	ns
<i>Haemophilus influenzae</i>	6	0	p = 0,14
<i>Pasteurella multocida</i>	1	0	ns
<i>Moraxella catarrhalis</i>	2	1	ns
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	0	0	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	1	ns
<i>Enterobacteriaceae</i>	5	6	p = 0,016
- <i>Klebsiella pneumoniae</i>	- 1	- 0	
- <i>Klebsiella species</i>	- 0	- 0	
- <i>Klebsiella oxytoca</i>	- 0	- 2	
- <i>Proteus mirabilis</i>	- 0	- 1	
- <i>Proteus vulgaris</i>	- 1	- 0	
- <i>Proteus species</i>	- 1	- 0	
- <i>Citrobacter freundii</i>	- 1	- 0	
- <i>Enterobacter cloacae</i>	- 0	- 1	
- <i>E.coli</i>	- 1	- 2	
<i>Prevotella species</i>	0	0	
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0	0	
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	7	1	ns
<i>Coxsackieviren</i>	0	0	
<i>Influenza A</i>	2	0	ns
<i>Influenza B</i>	1	0	ns
RSV	2	1	ns
Positives Ergebnis	29	10	ns
Kein Erregernachweis	30	10	

Darstellung der Anzahl der einzelnen Erreger in den beiden Wohnortgruppen sowie der Signifikanzen zwischen den beiden Wohnortgruppen. Auf Grund von Mischinfektionen stimmen Erregeranzahl und Personenanzahl nicht überein.

4.4 Erreger im Materialvergleich

Im Trachialaspirat ließen sich insgesamt signifikant häufiger Erreger nachweisen als im Sputum ($p < 0,05$) und bronchoskopisch gewonnenem Material ($p < 0,05$). Es fanden sich signifikant häufiger *Moraxella catarrhalis* im Trachealaspirat als im Sputum ($p < 0,05$) oder bronchoskopisch gewonnenem Material ($p < 0,05$). *Staphylococcus aureus* und *Pseudomonas aeruginosa* fanden sich signifikant häufiger im Trachealaspirat als im Sputum ($p < 0,05$) (Tabelle 10).

4.5 Sputum

Von den 116 Patienten, die in die Studie eingeschlossen wurden, konnten 84% ein Sputum produzieren. Von denen konnten wiederum 88% ein spontanes Sputum produzieren, die Sputumausbeute konnte durch Induktion um 22% gesteigert werden. Das spontane Sputum war in 69% der Fälle von guter Qualität, bei induziertem Sputum in 92% und damit tendenziell häufiger gut ($p = 0,11$). Bei der Sputumgewinnung gab es keine Unterschiede zwischen den Altersgruppen (Tabelle 6).

Im Vergleich zwischen Sputum guter bzw. unzureichender Qualität zeigten sich keine signifikanten Unterschiede im Erregernachweis, aber im Sputum unzureichender Qualität ließen sich drei Mal so viele gram-negative wie gram-positive Erreger nachweisen, im Sputum guter Qualität waren es zwei Mal so viele (Diagramm 2).

Verglich man Kultur und Gram-Ausstrich aus Sputum guter Qualität, dann war die Kultur zu 1/3 positiv. In 2/3 der Fälle war auch der Gram-Ausstrich positiv. Die richtige Erregergruppe konnte mit Hilfe der Mikroskopie nur in der Hälfte der Fälle vor dem Erhalt des Kulturergebnisses identifiziert werden. Daraus ergaben sich eine Sensitivität von 52% und ein positiver prädiktiver Wert von 41% (Diagramm 3).

Im Vergleich zwischen den Altersgruppen konnten keine signifikanten Unterschiede im Sputum guter Qualität bei der Gesamtzellzahl, bei der Anzahl von neutrophilen Granulozyten/ml und beim prozentualen Anteil an eosinophilen Granulozyten nachgewiesen werden. Bei den Patienten ≥ 65 Jahre fand sich ein signifikant höherer prozentualer Anteil an neutrophilen Granulozyten. Bei den

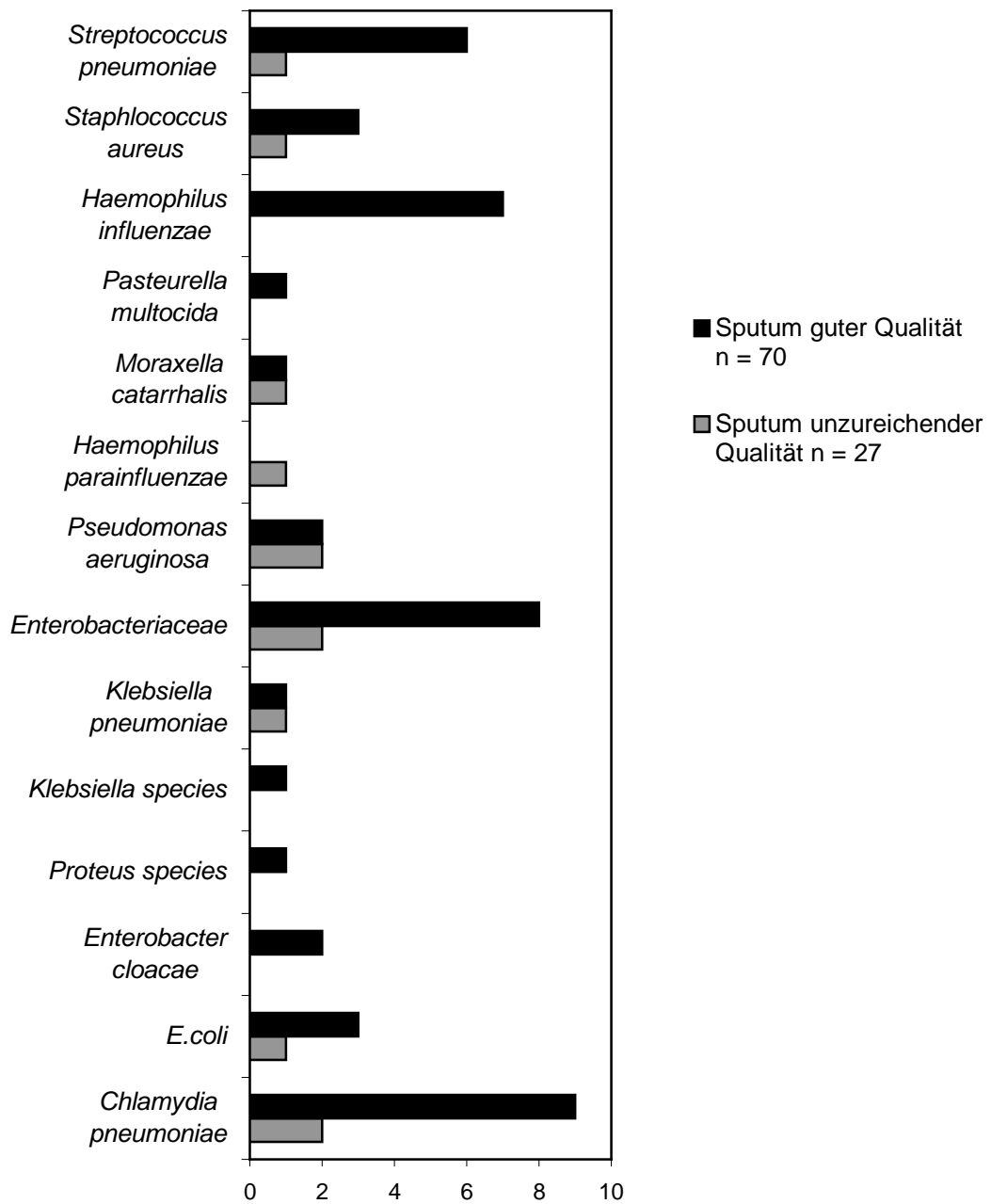
Patienten < 65 Jahre ließen sich ein signifikant höherer prozentualer Anteil an Alveolarmakrophagen und an Lymphozyten nachweisen (Tabelle 11).

Tabelle 10: Erregerspektrum im Materialvergleich

	Sputum guter Qualität n = 70	BAL / bronchoskopische Absaugung n = 21	Trachealaspirat n = 10	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6	3	1	
β-Streptokokken der Serogruppe A	1	0	0	
β-Streptokokken der Serogruppe B	0	1	0	
<i>Streptococcus constellatus</i>	0	0	0	
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	3	3	
<i>Haemophilus influenzae</i>	7	1	0	
<i>Pasteurella multocida</i>	1	0	0	
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1	0	2	
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	0	1	0	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	1	2	
<i>Enterobacteriaceae</i>	8	3	2	
- <i>Klebsiella pneumoniae</i>	- 1		- 0	- 0
- <i>Klebsiella species</i>	- 1		- 0	- 0
- <i>Klebsiella oxytoca</i>	- 0		- 1	- 1
- <i>Proteus mirabilis</i>	- 0		- 0	- 1
- <i>Proteus vulgaris</i>	- 0		- 1	- 0
- <i>Proteus species</i>	- 1		- 0	- 0
- <i>Citrobacter freundii</i>	- 0		- 1	- 0
- <i>Enterobacter cloacae</i>	- 2		- 0	- 0
- <i>E.coli</i>	- 3		- 0	- 0
<i>Prevotella species</i>	0	0	0	
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0	0	0	
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	11	0	0	
<i>Coxsackieviren</i>	0	0	0	
<i>Influenza A</i>	0	0	0	
<i>Influenza B</i>	0	0	0	
RSV	0	0	0	
Positives Ergebnis	28	10	9	
Kein Erregernachweis	42	11	1	

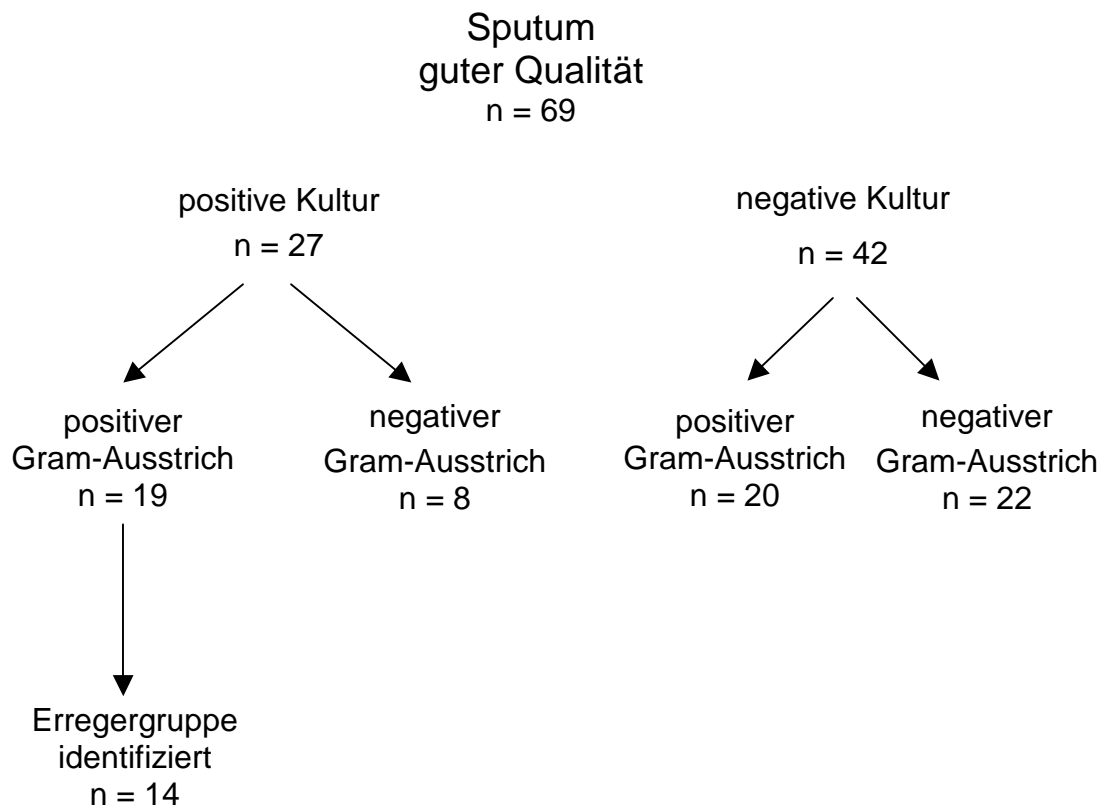
Darstellung der Anzahl der einzelnen Erreger in den unterschiedlichen Materialien.

Diagramm 2: Sputum im Qualitätsvergleich



Darstellung der Anzahl der einzelnen Erreger in den beiden Sputumqualitäten.

Diagramm 3: Prädiktiver Wert des Gram-Ausstrichs



Darstellung der Ergebnisse des Gram-Ausstrichs bezogen auf die Ergebnisse der mikrobiologischen Kultur als Flussdiagramm des Sputums guter Qualität

Tabelle 11: Sputum guter Qualität in der Zellzusammensetzung im Altersgruppenvergleich

	< 65 Jahre n = 37	≥ 65 Jahre n = 79	
Gesamtzellzahl	16,27 ± 13,72 x10 ⁶	26,92 ± 39,00 x10 ⁶	ns
Neutrophile Granulozyten/ml	8,98 ± 8,47 x10 ⁶ /ml	11,13 ± 11,39 x10 ⁶ /ml	ns
Neutrophile Granulozyten	82,85 ± 17,69%	89,64 ± 11,43%	p = 0,03
Alveolarmakrophagen	12,46 ± 15,13%	7,02 ± 8,51%	p = 0,05
Eosinophile Granulozyten	0,31 ± 0,47%	1,02 ± 4,55%	ns
Lymphozyten	3,50 ± 3,56%	1,93 ± 2,31%	p = 0,04

Darstellung der Mittelwerte sowie der Standardabweichung der beiden Altersgruppen und ihrer Signifikanzen

4.6 Mischinfektionen

Bei 35% der Patienten mit positivem Erregernachweis fanden sich Mischinfektionen. Eine Übersicht über alle Mischinfektionen gibt Tabelle 12. Es fanden sich v.a. Mischinfektionen mit *Enterobacteriaceae*, *Streptococcus pneumoniae* und *Chlamydia pneumoniae*. Bei den Mischinfektionen von *Streptococcus pneumoniae* und *Chlamydia pneumoniae* zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Altersgruppen.

Im Vergleich zwischen den Altersgruppen fanden sich keine signifikanten Unterschiede beim Nachweis der Anzahl einzelner Erreger aus der Gruppe der *Enterobacteriaceae*, die an Mischinfektionen beteiligt waren. Da sich innerhalb der Gruppe der *Enterobacteriaceae* Mischinfektionen nachweisen ließen, stimmt die Anzahl der gefundenen Erreger nicht mit der Patientenanzahl überein. Bezieht man sich nur auf die Patientenzahl, bei der *Enterobacteriaceae* nachgewiesen wurden, so fanden sich tendenziell ($p = 0,11$) mehr Patienten mit *Enterobacteriaceae* bei den älteren Patienten (Tabelle 13).

Bei Patienten aus einer Seniorenresidenz traten signifikant häufiger Mischinfektionen mit *Enterobacteriaceae* auf als bei Patienten, die in der eigenen Wohnung lebten ($p = 0,04$). Im Vergleich zwischen den Wohnsituationen fanden sich zwar bei den Patienten, welche in einer Seniorenresidenz lebten, eine signifikant größere Anzahl der einzelnen Erreger aus der Gruppe der *Enterobacteriaceae* in Misch- und Einzelinfektionen (Tabelle 9), aber es ließen sich auf Grund der Mischinfektionen in der eigenen Gruppe nicht bei einer signifikant größeren Anzahl von Patienten *Enterobacteriaceae* nachweisen ($p = 0,16$).

Tabelle 12: Mischinfektionen im Gesamtkollektiv sowie im Altersgruppenvergleich

	Gesamtkollektiv n = 116	< 65 Jahre n = 37	≥ 65 Jahre n = 79
<i>Streptococcus pneumoniae</i>			
+ β -Streptokokken A	1	1	0
+ <i>Staphylococcus aureus</i>	1	1	0
+ <i>Hämophilus influenzae</i>	1	1	0
+ <i>E. coli</i>	1	0	1
+ <i>Chlamydia pneumoniae</i>	2	1	1
+ RSV (1:320)	1	0	1
+ Influenza A (1:320)	1	1	0
<i>Staphylococcus aureus</i>			
+ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	0	1
<i>Proteus mirabilis</i>			
+ <i>Klebsiella oxytoca</i>	1	0	1
<i>Enterobacter cloacae</i>			
+ <i>Klebsiella species</i>	1	1	0
+ <i>E.coli</i>	1	0	1
<i>E. coli</i>			
+ <i>Chlamydia pneumoniae</i>	1	0	1
<i>Klebsiella oxytoca</i>			
+ <i>Chlamydia pneumoniae</i>	1	0	1
<i>Hämophilus para influenzae</i>			
+ <i>Streptococcus constellatus</i>	1	1	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			
+ <i>Citrobacter freundii</i>	1	0	1
<i>Chlamydia pneumoniae</i>			
+ <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1	1	0
Influenza A (1:160)			
+ Influenza B (1:160)	1	0	1
<i>Chlamydia pneumoniae</i>			
+Influenza A (1:80)+ RSV (1:80)	1	0	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			
+ <i>Proteus species</i> +	1	0	1
<i>Pasteurella multocida</i>			
Summe	20	8	12

Darstellung der Anzahl der einzelnen Erreger im Rahmen der Mischinfektionen

Tabelle 13: Mischinfektionen mit *Enterobacteriaceae* sowie Anzahl der Patienten mit *Enterobacteriaceae* im Altersgruppenvergleich

	< 65 Jahre	≥ 65 Jahre	
<i>Proteus mirabilis</i>			
+ <i>Klebsiella oxytoca</i>	0	1	
<i>Enterobacter cloacae</i>			
+ <i>Klebsiella species</i>	1	0	
+ <i>E.coli</i>	0	1	
<i>E.coli</i>			
+ <i>Streptococcus pneumoniae</i>	0	1	
+ <i>Chlamydia pneumoniae</i>	0	1	
<i>Klebsiella oxytoca</i>			
+ <i>Chlamydia pneumoniae</i>	0	1	
<i>Citrobacter freundii</i>			
+ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	1	
<i>Proteus species</i>			
+ <i>Pasteurella multocida</i> + <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	1	
Mischinfektionen mit <i>Enterobacteriaceae</i>	1	7	ns
Einzelinfektionen mit <i>Enterobacteriaceae</i>	0	2	ns
Patientenanzahl mit <i>Enterobacteriaceae</i>	1	9	p = 0,11

Darstellung der Anzahl der Mischinfektionen mit *Enterobacteriaceae* im Altersgruppenvergleich und der Anzahl der Patienten mit einer Infektion durch *Enterobacteriaceae* im Altersgruppenvergleich sowie der Signifikanzen

4.7 Erregerspektrum im Vergleich der unterschiedlichen Begleiterkrankungen / Gewohnheiten

Bei Patienten mit Herzerkrankungen fanden sich im Vergleich zu Patienten ohne Herzerkrankungen tendenziell seltener Pneumokokken ($p = 0,08$) und seltener ein Erregernachweis ($p = 0,056$). Bei Patienten mit Lungenerkrankungen fanden sich im Vergleich zu Patienten ohne Lungenerkrankungen tendenziell seltener *Staphylococcus aureus* ($p = 0,12$) und seltener ein Erregernachweis ($p = 0,13$) (Tabelle 14).

4.8 Aspiration

Im Vergleich zwischen den Altersgruppen ($<$ vs. ≥ 65 Jahre) fanden sich keine signifikanten Unterschiede in der Häufigkeit eines Nachweises von Aspirationen (Tabelle 15). Verschiebt man aber die Grenze der Altersgruppen auf $<$ vs. ≥ 80 Jahre, dann hatten signifikant häufiger Patienten ≥ 80 Jahre aspiriert ($p = 0,005$).

Im Vergleich zwischen den Altersgruppen ($<$ vs. ≥ 65 Jahre) zeigten sich keine signifikanten Unterschiede im Lipid-Index und bei den Makrophagen, die Lipidvakuolen enthielten (Tabelle 15). Verschiebt man die Grenze der Altersgruppen auf $<$ vs. ≥ 85 Jahre, dann hatten die Patienten ≥ 85 Jahre einen signifikant höheren Lipid-Index ($p = 0,021$) und signifikant mehr Makrophagen, die Lipidvakuolen enthielten ($p = 0,028$).

Es gab signifikante Korrelationen zwischen dem Alter und dem Lipid-Index ($p = 0,00013$) (Diagramm 4) und zwischen dem Alter und dem Anteil an Makrophagen mit Lipidvakuolen ($p = 0,000087$) (Diagramm 5).

Bei Patienten mit einer durch eine Oil-Red-O Färbung nachgewiesenen Aspiration wurde signifikant seltener ein positiver Erregernachweis erbracht als beim Kollektiv ohne Aspirationsnachweis (Tabelle 16).

Tabelle 14: Erregerspektrum im Vergleich bei unterschiedlichen Begleiterkrankungen / Gewohnheiten

	Raucher n = 43	Patienten mit Lungen- erkrankungen n = 49	Patienten mit Herzerkran- kungen n = 55	Gesamt- kollektiv n = 116
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	5	4	4	14
β-Streptokokken der Serogruppe A	1	0	1	1
β-Streptokokken der Serogruppe B	0	0	1	1
<i>Streptococcus constellatus</i>	0	0	0	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	1	2	7
<i>Haemophilus influenzae</i>	3	4	3	8
<i>Pasteurella multocida</i>	1	1	0	1
<i>Moraxella catarrhalis</i>	2	1	2	3
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1	1	0	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	3	1	5
<i>Enterobacteriaceae</i>	5	6	5	13
- <i>Klebsiella pneumoniae</i>	- 0	- 0	- 0	- 1
- <i>Klebsiella species</i>	- 1	- 1	- 0	- 1
- <i>Klebsiella oxytoca</i>	- 0	- 0	- 2	- 2
- <i>Proteus mirabilis</i>	- 0	- 0	- 1	- 1
- <i>Proteus vulgaris</i>	- 1	- 0	- 1	- 1
- <i>Proteus species</i>	- 1	- 1	- 0	- 1
- <i>Citrobacter freundii</i>	- 0	- 1	- 0	- 1
- <i>Enterobacter cloacae</i>	- 1	- 1	- 0	- 2
- <i>E.coli</i>	- 1	- 2	- 1	- 3
<i>Prevotella species</i>	0	0	1	1
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	2	0	0	4
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	4	4	6	11
Coxsackieviren	1	0	0	1
Influenza A	2	2	1	3
Influenza B	1	1	1	1
RSV	0	1	1	3
Positives Ergebnis	22	19	23	58
Kein Erregernachweis	21	30	32	58

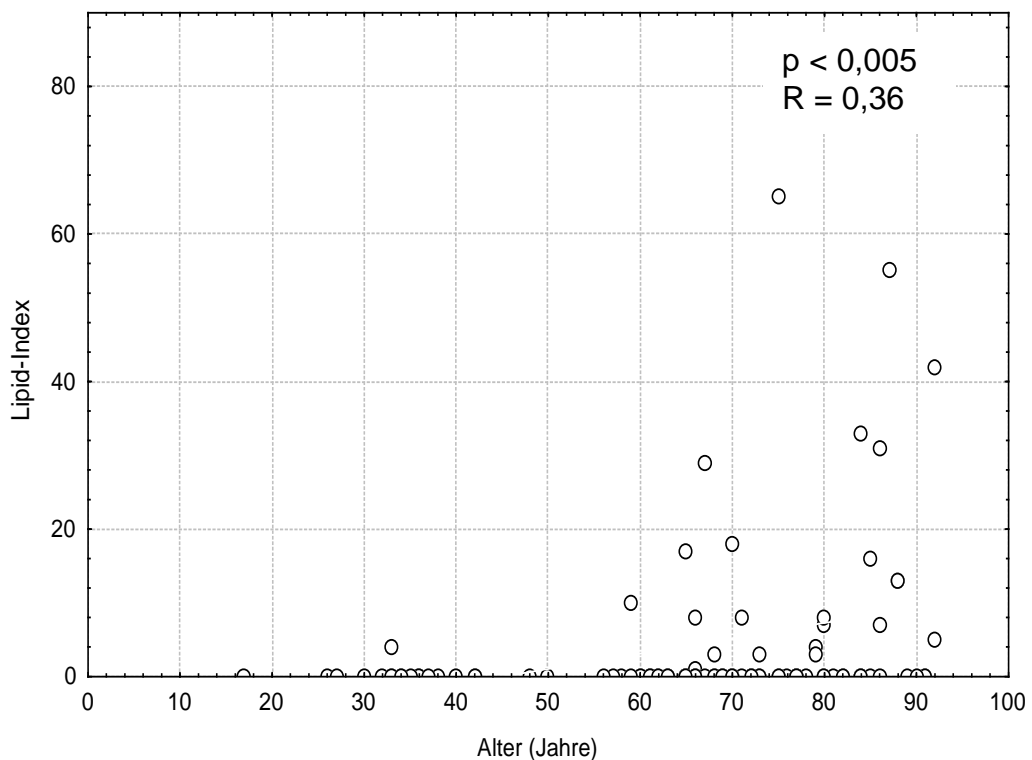
Darstellung der Anzahl der einzelnen Erreger bei den unterschiedlichen Begleiterkrankungen / Gewohnheiten. Auf Grund von Mischinfektionen stimmen Erregeranzahl und Personenanzahl nicht überein.

Tabelle 15: Aspiration im Altersgruppenvergleich

	< 65 Jahre n = 35	≥ 65 Jahre n = 74	
Aspiration positiv	5	18	ns
Makrophagen mit Lipidvakuolen	6,36 ± 8%	12,5 ± 14%	ns
Lipid-Index	9,71 ± 12,36	20,67 ± 21,06	ns

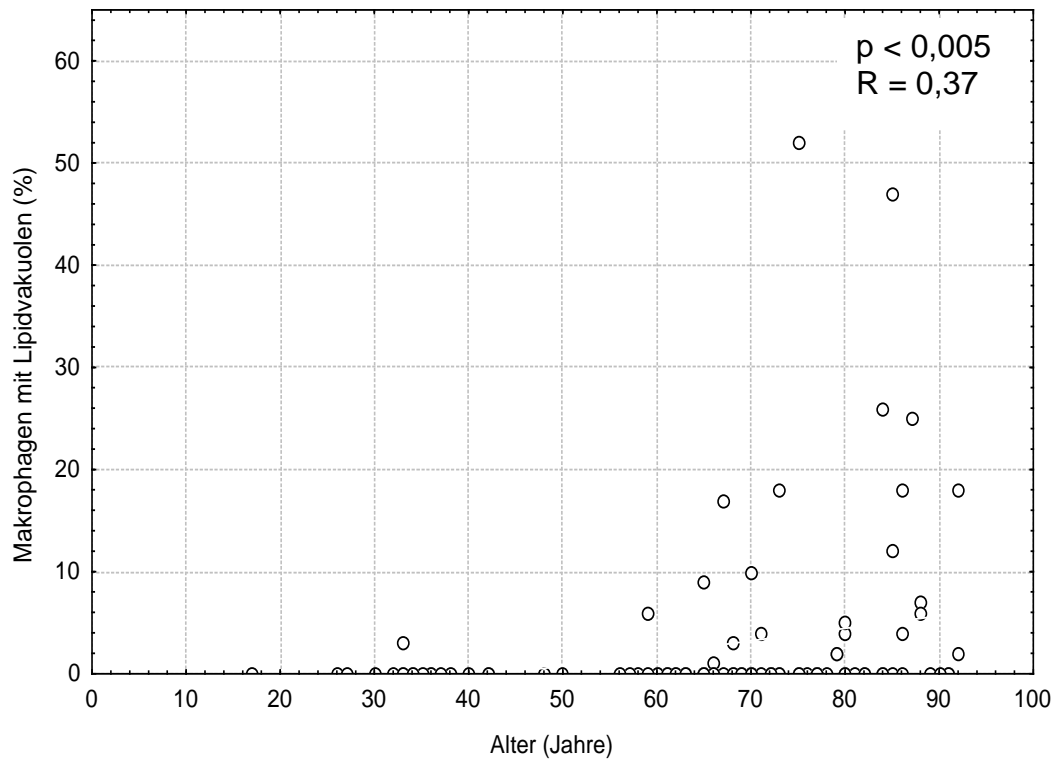
Darstellung der Anzahl der Aspirationen in den beiden Altersgruppen sowie der Makrophagen mit Lipidvakuolen in Prozent und des Lipid-Indexes in den beiden Altersgruppen als Mittelwert mit Standardabweichung und den Signifikanzen

Diagramm 4: Korrelation zwischen dem Alter und dem Lipid-Index



Darstellung der Korrelation zwischen Alter und Lipid-Index als Diagramm

Diagramm 5: Korrelation zwischen dem Alter und den Makrophagen mit Lipidvakuolen



Darstellung der Korrelation zwischen Alter und Makrophagen mit Lipidvakuolen in Prozent als Diagramm

Tabelle 16: Erregerspektrum im Vergleich von Patienten mit negativem und positivem Aspirationsnachweis

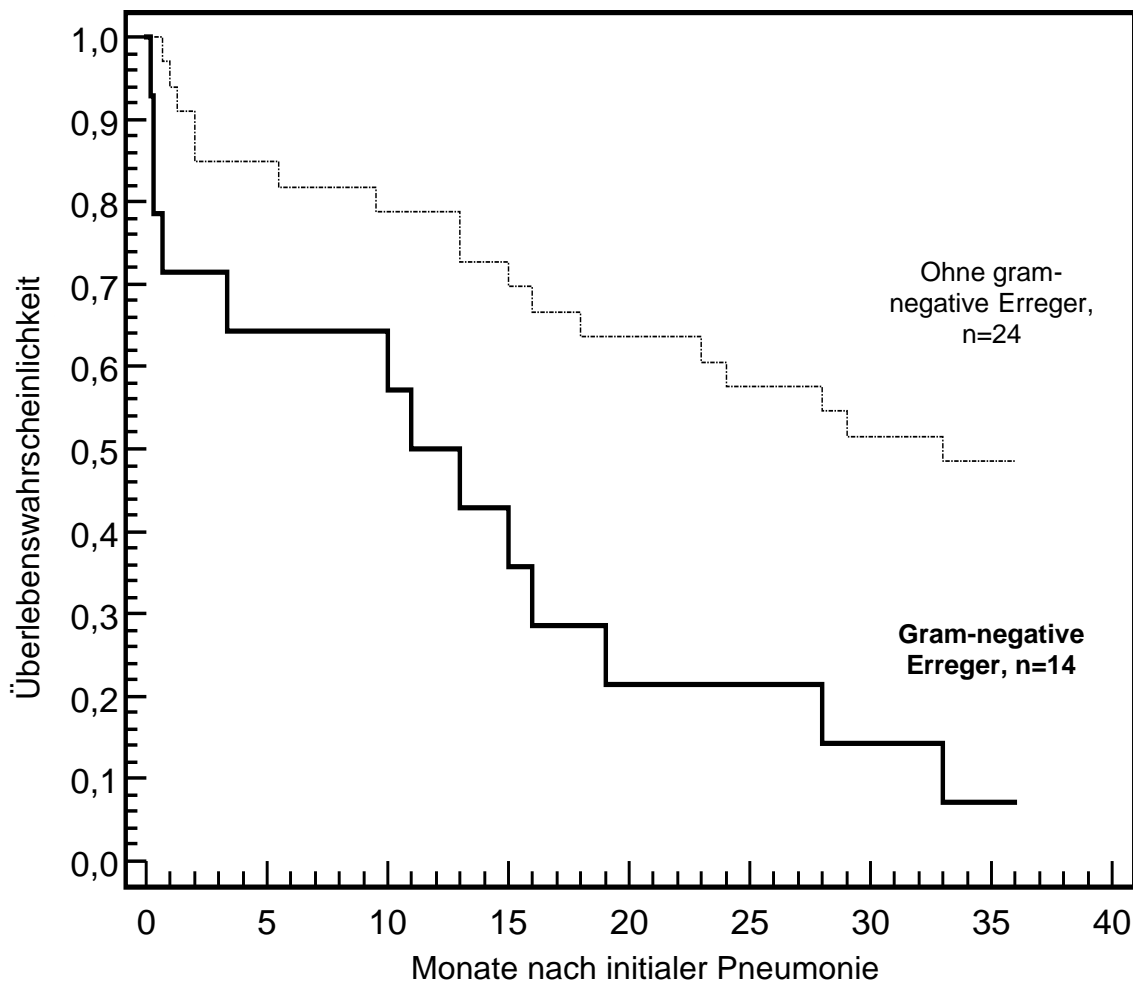
	Keine Aspiration n = 93	Aspiration n = 23	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	12	2	ns
β-Streptokokken der Serogruppe A	1	0	ns
β-Streptokokken der Serogruppe B	1	0	ns
<i>Streptococcus constellatus</i>	1	0	ns
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	0	ns
<i>Haemophilus influenzae</i>	8	0	p = 0,14
<i>Pasteurella multocida</i>	1	0	ns
<i>Moraxella catarrhalis</i>	2	1	ns
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1	0	ns
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	0	ns
<i>Enterobacteriaceae</i>	12	1	ns
- <i>Klebsiella pneumoniae</i>	- 1	- 0	
- <i>Klebsiella species</i>	- 1	- 0	
- <i>Klebsiella oxytoca</i>	- 2	- 0	
- <i>Proteus mirabilis</i>	- 1	- 0	
- <i>Proteus vulgaris</i>	- 0	- 1	
- <i>Proteus species</i>	- 1	- 0	
- <i>Citrobacter freundii</i>	- 1	- 0	
- <i>Enterobacter cloacae</i>	- 2	- 0	
- <i>E.coli</i>	- 3	- 0	
<i>Prevotella species</i>	1	0	ns
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	4	0	ns
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	10	1	ns
<i>Coxsackieviren</i>	1	0	ns
<i>Influenza A</i>	2	1	ns
<i>Influenza B</i>	1	0	ns
RSV	2	1	ns
Positives Ergebnis	52	5	p = 0,0033
Kein Erregernachweis	41	18	

Darstellung der Anzahl der einzelnen Erreger im Vergleich von Patienten mit nachgewiesener Aspiration sowie ohne Aspirationsnachweis sowie der Signifikanzen zwischen den beiden Gruppen. Auf Grund von Mischinfektionen stimmen Erregeranzahl und Personenanzahl nicht überein.

4.9 Mortalität

Patienten ≥ 65 Jahre, die an einer ambulant erworbenen Pneumonie durch *Enterobacteriaceae* oder *Pseudomonas aeruginosa* erkrankt waren, hatten im Verlauf von 3 Jahren eine signifikant höhere Wahrscheinlichkeit zu versterben ($p < 0,005$) (Diagramm 6).

Diagramm 6: Überlebenswahrscheinlichkeit nach ambulant erworbener Pneumonie im Verlauf von 3 Jahren



Die Überlebenswahrscheinlichkeit nach einer ambulant erworbenen Pneumonie in einem Zeitraum von 3 Jahren, Kaplan-Meier Diagramm

(--) = ohne gram-negative Erreger, (-) = gram-negative Erreger

5. Diskussion

Ziel der Studie war, die Sputumdiagnostik bei Patienten ≥ 65 Jahre mit ambulant erworbener Pneumonie zu evaluieren. Im weiteren sollten die Unterschiede im Erregerspektrum zwischen den Altersgruppen sowie die Rolle der Aspiration bei Patienten mit ambulant erworbener Pneumonie untersucht werden.

Die Rolle des Sputums in der Diagnostik ambulant erworbener Pneumonien wird in der Literatur sehr kontrovers diskutiert. Von den 116 Patienten, die in die Studie eingeschlossen wurden, konnten 84% Sputum produzieren. In der Literatur liegen die Zahlen zwischen 14% und 54,6% (Watanakunakorn und Bailey, 1997; Luna et al., 2000; Ewig et al., 2002; Lagerström et al., 2003; Garcia-Vázquez et al., 2004). Damit lagen die Ergebnisse dieser Studie deutlich über den Ergebnissen in der Literatur. *Lawrence et al.* meinten, die Sputumergebnisse können durch geschultes Personal gebessert werden (Lawrence et al., 2002). Einschränkend muss allerdings darauf hingewiesen werden, dass nur Patienten, bei denen Materialgewinnung aus dem Respirationstrakt möglich (z.B. Sputum, Trachealsekret) bzw. indiziert (z.B. BAL) war, in die Studie aufgenommen wurden. Wären die Einschlusskriterien für diese Studie anders definiert gewesen, läge die Zahl der Patienten, die ein Sputum produzieren konnten, sicher niedriger.

Die Daten zeigten keine Unterschiede zwischen den beiden Altersgruppen in der Fähigkeit, Sputum guter Qualität produzieren zu können. In der Literatur wird die Sputumproduktion vor allem bei alten schwachen Menschen als schwierig angesehen (Loeb, 2003). *Ewig et al.* sahen sogar hohes Alter als den wichtigsten Vorhersagewert für die Unfähigkeit zur Sputumproduktion an (Ewig et al., 2002). Dies konnte hier nicht bestätigt werden. Es fanden sich aber nach Auswertung der Differentialzellbilder bei den jüngeren Patienten signifikant mehr Lymphozyten und tendenziell mehr Alveolarmakrophagen als bei den älteren Patienten. Deshalb wurde in dieser Studie davon ausgegangen, dass das Sputum aus tieferen Lungenarealen stammte und daher eine bessere Qualität hatte.

Ein Erregernachweis im Sputum guter Qualität gelang in 40% der Fälle. In der Literatur liegen die Ergebnisse zwischen 5 und 49,6% (Luna et al., 2000; Theerthakarai et al., 2001; Cordero et al., 2002; Ewig et al., 2002; Garcia-Vázquez et al., 2004). Die Ergebnisse entsprechen also denen in der Literatur. Es fanden sich keine signifikanten Unterschiede beim positiven Erregernachweis im Sputum guter Qualität zwischen den beiden Altersgruppen. Ältere Patienten konnten zwar genauso häufig Sputum abhusten, es konnte genauso häufig ein Erregernachweis erbracht werden, aber das Sputum der jüngeren Patienten hatte insgesamt eine bessere Qualität. Somit hat wahrscheinlich der Erregernachweis im Sputum < 65 Jahre auf Grund der Zellzusammensetzung, welche mehr auf eine Herkunft aus den distalen Atemwegen hindeutet, eine höhere Aussagekraft.

Es wurden ebenfalls keine signifikanten Unterschiede im Erregernachweis zwischen Sputum guter Qualität und unzureichender Qualität festgestellt. Im Sputum unzureichender Qualität ließen sich allerdings dreimal so viele gram-negative wie gram-positive Erreger nachweisen. Es ist wahrscheinlich, dass das Sputum unzureichender Qualität mit Rachenflora kontaminiert war und somit der nachgewiesene Erreger nicht sicher die Ursache der Pneumonie war. Diese mögliche Kontamination des Sputums mit Rachenflora ist einer der Gründe dafür, dass die Rolle des Sputums in der Diagnostik bei ambulant erworbener Pneumonie in der Literatur so kontrovers diskutiert wird und das Ergebnis der Sputumdiagnostik in Studien z.T. als unzuverlässig angesehen wurde (Torres et al., 1996; Sočan et al., 1999).

In dieser Studie hatten die Ausstriche von Sputum guter Qualität in der Gram-Färbung eine Sensitivität von 52% und einen positiven prädiktiven Wert von 41%. In der Literatur liegt die Sensitivität einer Gram-Färbung von Sputum bei einer ambulant erworbenen Pneumonie bei 57 - 86% (Fine et al., 1991; Rosón et al., 2000; Musher et al., 2004). Damit lag die Sensitivität unter der in der Literatur angegebenen.

Der Erreger z.B. einer ambulant erworbenen Pneumonie lässt sich im Sputum relativ einfach nachweisen. Die Identifikation des Erregers und seiner Resistenzen erlaubt eine gezieltere Antibiotikagabe und kann somit die Behandlungskosten

reduzieren und möglicherweise die Entwicklung von Resistenzen verringern. Das Wissen um genauere epidemiologische Daten erleichtert Empfehlungen für die empirische Therapie (Wunderink und Waterer, 2001). Allerdings kann man in der Gram-Färbung keine intrazellulären Bakterien wie *Chlamydia pneumoniae* und *Mykoplasma pneumoniae* darstellen. Diese können in Mischinfektionen mit z.B. *Streptococcus pneumoniae* vorkommen, so dass man, selbst wenn man nur gram-positive Diplokokken in der Gram-Färbung sieht, das Vorhandensein von intrazellulären Bakterien nicht ausschließen und somit die Antibiotikatherapie nicht nur auf die Therapie von z.B. *Streptococcus pneumoniae* beschränken kann (Garcia-Vázquez et al., 2004).

Der Wert der Sputumdiagnostik liegt im klinischen Alltag mehr in der Bestimmung der Resistenzlage der Erreger in der eigenen Klinik sowie im Erregernachweis, um bei fehlendem klinischen Ansprechen auf eine Antibiotikatherapie die Antibiotikagabe dem Erreger und seinen Resistenzen anpassen zu können, wie es auch die *American Thoracic Society* und die *British Thoracic Society* empfehlen (British Thoracic Society, 2001; Niedermann et al., 2001). Das Problem der Sputumdiagnostik liegt, neben der bereits oben erwähnten möglichen Kontamination durch Rachenflora, in dem logistischen und personellen Aufwand. Die Sputumprobe sollte nach dem Abhusten durch den Patienten möglichst schnell im Labor verarbeitet werden. Die Zeitobergrenze in dieser Studie lag bei maximal drei Stunden bei kühl gelagerter Probe. Dies setzt eine entsprechende Infrastruktur voraus. Für die Aufarbeitung und Mikroskopie des Sputums benötigt man geschultes Personal um verlässliche Auswertungen zu erhalten (Fine et al., 1991). Auf die Notwendigkeit dieser Voraussetzungen zum Erhalt zuverlässiger Sputumergebnisse weisen auch *Canadian Infectious Diseases Society* und die *Canadian Thoracic Society* in ihren gemeinsamen Leitlinien (Mandell et al., 2000), die *Infectious Diseases Society of America* (Bartlett et al., 2000) sowie die *Deutsche Gesellschaft für Pneumologie* gemeinsam mit der *Deutschen Gesellschaft für Infektiologie* (Höffken et al., 2005) in ihren Leitlinien hin. Diese Voraussetzungen schränken die Nutzung der Sputumdiagnostik und ihren Nutzen v.a. im ambulanten Bereich sowie an kleinen Krankenhäusern stark ein (Ewig et al., 2002).

Die Vorteile der Sputumdiagnostik sind die relativ einfache Durchführbarkeit und die Tatsache, dass es sich um ein nicht-invasives Verfahren handelt. Eine Sputumdiagnostik ist nach den Ergebnissen dieser Studie aber nur zu empfehlen, wenn die oben genannten logistischen Voraussetzungen dafür bestehen.

Die höchste Erregernachweisrate lieferte das Trachealaspirat mit 90%. Trachealaspirat wurde nur bei Patienten ≥ 65 Jahre gewonnen, die nicht mehr in der Lage waren, ihr Sputum selbständig abzuhusten. Es waren alle Patienten, die durch die Erkrankung schwer beeinträchtigt und betroffen waren. Bei sechs der zehn Patienten wurden gram-negative Erreger nachgewiesen, was auf die schlechte Langzeitprognose dieser Patienten hindeutet (s.u.). *Ruiz et al.* gewannen in ihrer Studie Tracheobronchialaspirat ausschließlich von beatmeten Patienten mit ambulant erworbener Pneumonie. Ein Erregernachweis gelang ihnen in 58% der Fälle (Ruiz et al., 1999). Damit lagen die hier gewonnenen Werte deutlich über denen von *Ruiz et al.*. Aufgrund des sehr reduzierten Allgemeinzustandes der Patienten wurde das Trachealaspirat direkt in der Aufnahmesituation vor der ersten Antibiotikagabe genommen, dies könnte das gute Ergebnis erklären.

Ein Erregernachweis war im bronchoskopisch gewonnenen Material in 55% der Patienten, bei denen die Untersuchung medizinisch indiziert war, möglich. Damit lag der Erregernachweis über dem von Sputum guter Qualität mit 40%. Die Bronchoskopie gilt in der Literatur als sehr zuverlässige Methode, um Erreger bei einer Pneumonie nachzuweisen (Torres et al., 1996; Ruiz et al., 1999; Luna et al., 2000). Aufgrund der Invasivität des Verfahrens wurde es hier nur bei medizinischer Indikation (z.B. zur Diagnosesicherung oder bei v.a. einer Stenose im Bereich der mit dem Bronchoskop einsehbaren Atemwege z.B. bei Bronchialkarzinom) und daher signifikant häufiger bei Patienten < 65 Jahren durchgeführt.

Im Erregerspektrum insgesamt fanden sich im Vergleich zwischen den beiden Altersgruppen keine signifikanten Unterschiede. Dies ist aus der Literatur bekannt (Ruiz et al., 1999; Cunha, 2001).

Streptococcus pneumoniae ist der häufigste Erreger von ambulant erworbenen Pneumonien in dieser Studie wie auch in der Literatur (Venkatesan et al., 1990; Rello et al., 1996; Torres et al., 1996; Riquelme et al., 1997; Muder, 1998; Ruiz et al., 1999; Ruiz-González et al., 1999; Sočan et al., 1999; Luna et al., 2000; Jokinen et al., 2001; Lim et al., 2001; Cordero et al., 2002; Lagerström et al., 2003; Loeb, 2003). Beim Nachweis von *Streptococcus pneumoniae* fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Altersgruppen. In der Literatur wurden immer wieder Ausbrüche von Pneumonien durch *Streptococcus pneumoniae* beschrieben. Nach Hoge et al. kam es 1989 in einem Gefängnis in Houston zu einer Epidemie mit *Streptococcus pneumoniae*. Als Ursache stellte sich eine Überfüllung des Gefängnisses heraus mit durchschnittlich nur 3,2 m² pro Person, inadäquate Belüftung der Räume und eine Anfälligkeit der Patienten für Erkrankungen durch z.B. i.v. Drogenabusus, chronischen Alkoholabusus, Asplenie und Zirrhose (Hoge et al., 1994). Nach Gleich et al. können ältere Patienten, v.a. Bewohner einer Seniorenresidenz, bis zu 15 mal häufiger unter einer Pneumonie durch *Streptococcus pneumoniae* leiden als jüngere (Gleich et al., 2000). Es könnten ähnliche Ursachen, wie durch Hoge et al. (s.o.) beschrieben, in Seniorenresidenzen eine Rolle spielen. Bei einer Anfälligkeit für diese Erkrankung spielen unter anderem pulmonale oder kardiale Begleiterkrankungen eine Rolle. In dieser Arbeit konnte ein gehäuftes Auftreten von *Streptococcus pneumoniae* bei Patienten aus Seniorenresidenzen nicht nachgewiesen werden.

In vier der insgesamt fünf positiven Blutkulturen fand sich *Streptococcus pneumoniae*. Dies zeigte sich auch in der Studie von Chalasani et al., 1995. Deshalb eignen sich die Blutkulturen nach Waterer et al. zum Nachweis von penicillinresistenten *Streptococcus pneumoniae* und somit für eine gezielte Antibiotikagabe (Waterer et al., 1999). In dieser Studie fand sich kein *Streptococcus pneumoniae*, der penicillinresistent war. Fünf von 79 (6%) der abgenommenen Blutkulturen waren positiv ohne signifikante Unterschiede zwischen den Altersgruppen. In der Literatur waren die Blutkulturen in 3 - 12% positiv (Marrie, 1990; Sočan et al., 1999; Luna et al., 2000; Meehan et al., 2000; Campell et al., 2003).

Bei 9% der Patienten konnte eine ambulant erworbene Pneumonie durch *Chlamydia pneumoniae* nachgewiesen werden. *Kauppinen et al.* fanden im Winter 1986 -1987 während einer Epidemie durch *Chlamydia pneumoniae* bei 43% der Patienten mit ambulant erworbener Pneumonie diesen Erreger (*Kauppinen et al.*, 1995). Hinweise auf eine Epidemie oder eine in der Literatur beschriebene Saisonalität (*Lim et al.*, 2001; *Miyashita et al.*, 2002) wurden hier nicht gefunden. In einer Studie von *Sočan et al.* waren 39% der Patienten, bei denen *Chlamydia pneumoniae* nachgewiesen wurde, Bewohner einer Seniorenresidenz (*Sočan et al.*, 2004). In dieser Studie fanden sich bei Bewohnern einer Seniorenresidenz keine Infektionen mit *Chlamydia pneumoniae*. *Chlamydia pneumoniae* war aber an 30% aller Mischinfektionen dieser Studie beteiligt. Dies lässt sich durch eine *in vitro* induzierte Ziliostase von Bronchialepithelzellen beim Menschen erklären (*Shemer-Avni und Liebermann*, 1995). *Chlamydia pneumoniae* gehörte zu den Erregern, der in beiden Altersgruppen mit am häufigsten nachgewiesen wurden. Auch wenn sich in der Gram-Färbung ein anderer Erreger darstellen lässt, sollten Chlamydien als Erreger einer möglichen Mischinfektion bei der Wahl der Antibiotikatherapie auf Grund einer ambulant erworbenen Pneumonie miteinbezogen werden, wie auch die *American Thoracic Society* empfiehlt (*Niedermann et al.*, 2001). In der Literatur wird dies kontrovers diskutiert, da in einer Metaanalyse von 24 Studien keine Verbesserung der Überlebenschance bei zusätzlicher antibiotischer Abdeckung von atypischen Erregern gefunden wurde (*Aujesky und Fine*, 2005).

Bei Patienten < 65 Jahre sollte man nach den Ergebnissen dieser Studie eine mögliche Infektion durch *Mycoplasma pneumoniae* berücksichtigen. *Mycoplasma pneumoniae* ließ sich in dieser Studie nur bei jüngeren Patienten nachweisen. Aus der Literatur ist bekannt, dass ambulant erworbene Pneumonien durch *Mycoplasma pneumoniae* bei jüngeren Patienten signifikant häufiger auftreten (*Jokinen et al.*, 2001). Bei Älteren kann sie vorkommen, wenn diese Patienten vorher Kontakt mit jüngeren Menschen mit respiratorischem Infekt hatten (*Cunha*, 2001).

In dieser Studie konnte keine ambulant erworbene Pneumonie durch *Legionella pneumophila* nachgewiesen werden, obwohl der durchgeführte Urin-Antigentest

hoch sensitiv und spezifisch für *L. pneumophila* Serogruppe 1 ist, welche 70 – 80% der Infektionen mit Legionellen ausmachen (Plouffe, 2000). In der Literatur liegen die Zahlen zwischen 3% bis 9% der Pneumoniefälle (Torres et al., 1999; Ruiz et al., 1999; Lim et al., 2001). Nach Höffken et al. weist das Auftreten von Legionellen erhebliche regionale Unterschiede auf (Höffken et al., 2005), dies könnte eine Erklärung dafür sein, dass die Patienten in dieser Studie im Zeitraum der Datenerhebung nicht davon betroffen waren.

In 3% der Fälle konnte ein Nachweis von *Influenza A* und *B* erbracht werden. Die Zahlen einer ambulant erworbenen Pneumonie durch eine Virusinfektion liegen in der Literatur bei 5 - 34% v.a. durch *Influenza spp.* (Roux et al., 2004; Créer et al., 2006). Wie bei Oliveira et al. hatten 60% der Patienten mit einer Influenza-Infektion Vorerkrankungen. Die Mortalität einer Pneumonie durch Influenza-Viren kann bis zu 30% betragen (Oliveira et al., 2001). Im hier untersuchten Kollektiv ließ sich bei keinem während des Krankenhausaufenthaltes verstorbenen Patienten eine Influenza-Infektion nachweisen.

Der *Respiratory syncytial Virus* ist einer der wichtigsten Erreger von schweren Atemwegserkrankungen bei Kindern. Bei immunkompetenten Erwachsenen löst er vornehmlich selbstlimitierende Infekte der oberen Luftwege aus. RSV kann aber auch Pneumonien bei erwachsenen Patienten auslösen, v.a. bei älteren Menschen oder bei Patienten mit immunsuppressiver Behandlung (Simoès, 1999). Alle drei Patienten mit Nachweis eines RS-Virus in dieser Studie waren ≥ 65 Jahre alt. Nur einer lebte in einer Seniorenresidenz, wo die Bewohner durch die Verbreitung im Rahmen von Tröpfcheninfektionen (Simoès, 1999) und durch Selbstinokulation von kontaminierten Oberflächen (Breese Hall, 2000) besonders gefährdet sind. Falsey et al. fanden bei Patienten mit akuten kardio-pulmonalen und Influenza-ähnlichen Erkrankungen in 10% der Fälle RSV und in 11% *Influenza A*. Die Mortalität lag bei den Patienten mit RSV bei 10% und mit *Influenza A* bei 6% (Falsey et al., 1995). Bei Bewohnern einer Seniorenresidenz können nach Dowell Ausbrüche von RSV-Infektionen in 5 - 55% der Fälle zu einer Pneumonie und in 2 - 22% zum Tod führen (Dowell, 1996). Während dieser Studie starb keiner der Patienten mit positivem RSV-Nachweis während des stationären Aufenthaltes.

Bei Patienten ≥ 65 Jahre fanden sich *Enterobacteriaceae* am häufigsten. Die *Enterobacteriaceae* traten bei den Patienten ≥ 65 Jahre, die in einer Seniorenresidenz lebten, signifikant häufiger als Mischinfektionen in der eigenen Gruppe auf. Daher konnte bei Patienten ≥ 65 Jahre, die in einer Seniorenresidenz lebten, eine signifikant größere Anzahl der einzelnen Erreger aus der Gruppe der *Enterobacteriaceae* nachgewiesen werden im Vergleich zu den Patienten, die sich noch selbständig zu Hause versorgten. Auf Grund der Mischinfektionen in der eigenen Gruppe gab es aber keine signifikanten Unterschiede in der Personenanzahl im Vergleich zu den Patienten, die noch zu Hause lebten. In der Literatur wird eine Pneumonie durch gram-negative Erreger bei Patienten, die in einer Seniorenresidenz leben, häufiger als bei zu Hause lebenden Patienten beschrieben (Muder, 1998; Schäfer und Ewig, 2000).

Nach *Mobbs et al.* werden bei gesunden Menschen normalerweise die opportunistischen gram-negativen Bakterien im Oropharyngealraum innerhalb etwa drei Stunden nach Inokulation eliminiert.

Dies ist auf Grund der folgenden angeborenen Funktionen möglich:

1. Eine intakte Mukosabarriere verhindert die Adhärenz.
2. Die Vermehrung der Bakterien wird durch den pH-Wert des Speichels und durch Laktoferrin begrenzt.
3. Es werden Bewegungen wie Kauen und Schlucken durchgeführt.
4. Im Rahmen des Zellumsatzes von Mukosazellen werden Zellen mit adherenten Mikroorganismen abgestoßen.
5. Die Anwesenheit von sekretorischem Immunglobulin A verhindert die Adhärenz von umhüllten gram-negativen Bakterien.
6. Durch Sekrete z.B. durch Speichelfluß kommt es zu einem „washing effect“ und zu einer Vermeidung einer Stase.
7. Die native Flora im Oropharyngealraum soll durch Konkurrenz um die Nahrung zur Kontrolle des Wachstums der gram-negativen Flora beitragen (Mobbs et al., 1999).

Sind diese Funktionen gestört, z.B. durch verminderten Speichelfluß bei Exsikkose oder eine Zerstörung der nativen Flora des Oropharyngealraums auf Grund einer vorangegangenen Antibiotikatherapie, kann es zu einer Besiedlung des Oropharyngealraumes mit opportunistischen gram-negativen Bakterien wie z.B.

Klebsiellen, *Enterobacter* und *Pseudomonas spp.* kommen. Diese können dann durch Aspiration in den Respirationstrakt gelangen, was wiederum die häufigen Mischinfektionen mit *Enterobacteriaceae* bei Patienten, die in einer Seniorenresidenz leben, erklären könnte. *Mobbs et al.* fanden 6,6% ihrer 120 gesunden Versuchspersonen als Träger von aeroben gram-negativen Bakterien im Oropharyngealraum (*Mobbs et al.*, 1999).

Mit Hilfe der Oil-Red-O-Färbung ließ sich bei 20% der Patienten in dieser Studie eine Aspiration nachweisen. Die Zahlen für Aspirationen bei Patienten mit ambulant erworbener Pneumonie in der Literatur liegen zwischen 10 – 71% (*Kikuchi et al.*, 1994; *Riquelme et al.*, 1996; *Leroy et al.*, 1997; *Ruiz et al.*, 1999; *Luna et al.*, 2000). Aspiration gilt als wichtiger Risikofaktor für Pneumonien. Nach *Marumo et al.* kam es bei Patienten nach totaler Gastrektomie zu laryngotrachealen Aspirationen bei gastroösophagealem Reflux. Dies war der wichtigste Risikofaktor für rezidivierende pulmonale Infektionen (*Marumo et al.*, 1995).

Nach *Gleeson et al.* aspiriert etwa die Hälfte aller gesunden Erwachsenen kleine Mengen von oropharyngealem Sekret während des Schlafes (*Gleeson et al.*, 1997). Auf Grund des geringeren Anteils virulenter Bakterien im normalen pharyngealen Sekret in Verbindung mit intakten Abwehrmechanismen, aktivem ziliarem Transport und normaler humoraler und zellulärer Immunantwort kommt es nicht zu einer Aspirationspneumonie (*Marik*, 2001). Sind diese Mechanismen gestört oder werden große Mengen von pharyngealem Sekret aspiriert, kann es zu einer Pneumonie kommen. Es bestand in dieser Studie kein Zusammenhang mit Begleiterkrankungen, die mit einer Schluckstörung einhergehen. In der Literatur wird ein vermehrter Zusammenhang zwischen Aspirationspneumonien und Erkrankungen des zentralen Nervensystems, die mit einer neurogenen Dysphagie einhergehen, beschrieben (*Ruiz et al.*, 1999). Hier wurden keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zwischen den beiden Altersgruppen (< vs. ≥ 65 Jahre) in der Anzahl der Patienten mit positivem Aspirationsnachweis gefunden. Verschiebt man die Altersgrenze auf < vs. ≥ 80 Jahre, dann ließen sich in der höheren Altersgruppe signifikant mehr Patienten mit Aspiration nachweisen. Eine signifikant höhere Anzahl an Makrophagen mit Lipidvakuolen sowie ein signifikanter Lipid-Index fanden sich erst nach Verschiebung der Grenze auf

< vs. \geq 85 Jahre bei den älteren Patienten. Aspirationen traten bei den Patienten in dieser Studie ab 80 – 85 Jahren vermehrt auf. *Parameswaran et al.* fanden einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Lipid-Index und der Anzahl der Refluxepisoden (Parameswaran et al., 2000). Auf Grund der signifikanten Korrelation mit dem Lipid-Index und der Anzahl an Makrophagen mit Lipidvakuolen, nahmen die Anzahl der Refluxepisoden und die Menge des aspirierten Materials in dieser Studie mit dem Alter zu.

Bei den Patienten mit nachgewiesener Aspiration konnte signifikant seltener ein Erreger in der Mikrobiologie angezüchtet werden, was damit zusammenhängen könnte, dass in der Sputumuntersuchung die Differenzierung pathogener Anaerobier schwierig ist. Sonst unterscheidet sich das Erregerspektrum nicht von den Patienten ohne Aspiration (Marik, 2001). Ein vermehrter Nachweis von gram-negativen Erregern, wie er in der Literatur beschrieben wird (Leroy et al., 1997; Arancibia et al., 2002), konnte nicht erbracht werden.

64% der an der Studie teilnehmenden Patienten war männlich. Bei den Patienten < 65 Jahre waren es 59%, bei den älteren Patienten waren es 65%. Dies entspricht der Mehrzahl der Studien bei ambulant erworbenen Pneumonien (Torres et al., 1996; Leroy et al., 1997; Ruiz et al., 1999; Ruiz-González et al., 1999; Bandyopadhyay et al., 2000; Marrie et al., 2000; Jokinen et al., 2001; Lim et al., 2001; Theerthakarai et al., 2001; Arancibia et al., 2002; Ewig et al., 2002). *Kaplan et al.* stellten fest, dass die Wahrscheinlichkeit, im Krankenhaus aufgenommen zu werden, bei Männern größer war, häufiger intensiv-medizinische Behandlungen nötig waren und die Mortalität höher war (Kaplan et al., 2002). Bei Frauen sind sowohl die humorale als auch die zellvermittelte Immunantwort aktiver als beim Mann (Grossman, 1989). *Schröder et al.* fanden in ihrem Vergleich von Männern und Frauen, die unter einer Sepsis litten, bei Frauen eine niedrigere Menge von dem proinflammatorischen Zytokin TNF- α und eine höhere Menge von dem anti-inflammatorischen Zytokin IL-10 (Schröder et al., 1998). Für Regulationsmechanismen bei der Kontrolle der zytokinproduzierenden Zellen könnte dieses anti-inflammatorische Zytokin eine wichtige Rolle spielen (Marchant, 1994). Es wirkt protektiv und erhöhte die Überlebenschance bei Ratten mit einer experimentell erzeugten Sepsis (Howard, 1993). Die erhöhte Menge an

IL-10 war in der Studie von *Schröder et al.* mit einer signifikant erhöhten Überlebenswahrscheinlichkeit von Frauen mit Sepsis verbunden (Schröder et al., 1998). Die gesteigerte Immunfunktion bei Frauen ist aber auch assoziiert mit einer erhöhten Prävalenz von Autoimmunkrankheiten (Roubinian, 1979). Die Mechanismen der Immunsuppression durch Androgene bzw. die genauen Zusammenhänge zwischen Androgenen und dem Immunsystem sind noch nicht vollständig verstanden (Wichmann et al., 1996).

57% der Patienten < 65 Jahre in dieser Studie waren Raucher. Rauchen war, wie in der Literatur (Rello et al., 1996; Johnson et al., 2000), bei den jüngeren Patienten signifikant häufiger zu erfragen als bei den Älteren. *Almirall et al.* fanden ein erhöhtes Risiko für ambulant erworbene Pneumonien bei Patienten, die rauchten. Das Risiko stieg mit der Anzahl der Zigaretten pro Tag und der Anzahl der Jahre, in denen geraucht wurde. Dies erklärten die Autoren durch den oxidativen Stress und durch eine veränderte Zellantwort der Entzündungszellen durch die physikalischen und chemischen Eigenschaften des Tabakrauches (Almirall et al., 1999). Rauchen verschlechtert zusätzlich die mukoziliäre Clearance und steigert die bakterielle Adhärenz (Nuorti et al., 2000). Raucher sind anfälliger für virale Infekte des Respirationstraktes als Nichtraucher. Erkrankungen des oberen Respirationstraktes und andere Vorerkrankungen können das Risiko, eine invasive Erkrankung durch *Streptococcus pneumoniae* zu erleiden, erhöhen (Nuorti et al., 2000). Nach *Jackson et al.* und nach *Talbot* und *Griffin* sind etwa ein Drittel der ambulant erworbenen Pneumonien bei älteren Patienten auf das Rauchen zurückzuführen (Jackson et al., 2004; Talbot und Griffin, 2004). Rauchen ist somit ein wichtiger Risikofaktor für Pneumonien in allen Altersgruppen.

Raucher produzierten tendenziell häufiger Sputum guter Qualität als unzureichender Qualität ($p = 0,05$). In einer Studie von *Ryttilä et al.* beklagten 48,2% der Raucher ohne bekannte Lungenerkrankung chronischen Husten und Sputumproduktion (Ryttilä et al., 2008).

Die Patienten ≥ 65 Jahre litten signifikant häufiger unter kardialen, pulmonalen und neurologischen Erkrankungen. Die in Deutschland bei kardio-vaskulären Erkrankungen sehr häufig festgestellten hohen LDL-Cholesterin-Werte im Serum gehen auf Grund einer Veränderung der Membranfluidität, welche ein ineffektives

„cell signaling“ beinhaltet, mit geringeren Abtötungsraten von Pathogenen in den neutrophilen Granulozyten einher (Castle, 2000). *Baik et al.* fanden bei Männern, die seit dem 21. Lebensjahr mehr als 18 kg zugenommen hatten, ein etwa doppelt so hohes Risiko, eine ambulant erworbene Pneumonie zu bekommen als bei Männern, welche ihr Gewicht gehalten hatten (Baik et al., 2000). Demnach stellt die Adipositas, unter der in unserer Wohlstandsgesellschaft immer mehr Menschen leiden, einen Risikofaktor für ambulant erworbene Pneumonien dar. Da viele Patienten in dieser Studie aufgrund ihres schlechten Allgemeinzustandes nicht gewogen wurden, konnte nur das Gewicht von 57 Patienten erfasst werden. Signifikante Unterschiede zwischen den Altersgruppen fanden sich bei diesen nicht. Nach *Luna et al.* prädisponieren pulmonale Vorerkrankungen für gram-negative Bakterien, wie *Pseudomonas aeruginosa* und *Branhamella catarrhalis* (Luna et al., 2000). Dieser Zusammenhang wurde in dieser Studie nicht gefunden. Es fiel auf, dass bei Patienten mit kardialen bzw. pulmonalen Vorerkrankungen tendenziell seltener ein Erreger nachgewiesen wurde. Es fanden sich keine Hinweise auf eine vermehrte Vormedikation mit Antibiotika oder auf eine häufigere Produktion von Sputum unzureichender Qualität.

Immer wieder wird ein hohes Alter als solches als Risikofaktor, eine Pneumonie zu erleiden, angesehen (Conte et al., 1999; Luna et al., 2000). Im Verlauf des Alterungsprozesses kommt es zu einer Verlangsamung des mukoziliären Transportes, zu immunologischen Veränderungen in der T-Zell- und in der Makrophagenfunktion und zu einer Abnahme der Lungenelastizität (Schäfer und Ewig, 2000; Feldman, 2001). In den frühen Entzündungsstadien findet im höheren Alter eine schwächere *in vivo* Aktivierung statt, dies könnte zu einer größeren Empfänglichkeit gegenüber Infektionen beitragen. Diese Abschwächung der Aktivierung entsteht v.a. durch eine Suppression von der Zytokinkaskade und ihrer Aktivierung durch bakterielle Produkte wie Lipopolysaccharide, welche die neutrophilen Granulozyten vor Apoptose schützen. Diese werden benötigt, um Superoxidanionen zu produzieren, welche eingeschlossene Bakterien abtöten (Castle 2000). Eine Beeinträchtigung der Funktion der B-Lymphozyten mit dem Alter prädisponiert für eine Infektion mit kapseltragenden Bakterien wie *Streptococcus pneumoniae* und *Hämophilus influenzae* (Cunha, 2001). Die hier erhobenen Daten zeigten keine vermehrte Infektionsrate mit diesen Bakterien bei

Patienten im Alter ≥ 65 Jahre. Es ist noch unklar, ob die Veränderungen des Immunsystems im Rahmen des Alterungsprozesses ausreichen, um die größere Empfänglichkeit alter Menschen gegenüber Infektionskrankheiten zu erklären, oder ob Begleiterkrankungen, die mit dem Alter häufiger auftreten und die Integrität der Infektionsabwehr des Patienten stören, wichtiger für diesen Prozess sind (Yoshikawa, 2000).

Während des stationären Aufenthaltes starben nur Patienten, die ≥ 65 Jahre waren. Die erhöhte Morbidität und Mortalität älterer Patienten kann durch zahlreiche Faktoren begründet werden, z.B. durch eine reduzierte physiologische Reservekapazität, chronische Erkrankungen, verzögerte Diagnose und Therapie, geringe Toleranz gegenüber invasiver diagnostischer und therapeutischer Prozeduren, verzögertes oder geringeres Ansprechen auf die antimikrobielle Therapie und durch ein erhöhtes Risiko von nosokomialen Infektionen (Yoshikawa, 2000). Es spielt auch der Mobilitätsgrad des Patienten vor Aufnahme ins Krankenhaus eine wichtige Rolle (Marrie und Wu, 2005).

Bei 38 von 79 Patienten ≥ 65 Jahre ließ sich im Verlauf von 3 Jahren die Mortalität erfragen. Dabei wurde eine signifikant geringere Überlebenschance für die Patienten festgestellt, bei denen eine ambulant erworbene Pneumonie durch *Enterobacteriaceae* oder *Pseudomonas aeruginosa* mikrobiologisch nachgewiesen werden konnte. Die Mortalität war in den ersten vier Wochen nach Aufnahme in Krankenhaus am höchsten 25% vs. 5,4%. Gram-negative Erreger als Ursache einer ambulanten Pneumonie gelten auch in der Literatur als ungünstiger Prognosefaktor mit einer geringeren Überlebenschance (Almirall et al., 1995; Ruiz et al., 1999; Sočan et al., 1999; Luna et al., 2000; Arancibia et al., 2002). Bei diesen Patienten könnte z.B. schon vor Erkrankungsbeginn eine Besiedelung mit gram-negativen opportunistischen Bakterien (s.o.) bestanden haben und somit die Abwehrfunktion schon eingeschränkt gewesen sein. Diese Besiedelung geht häufig mit dem Vorliegen anderer Vorerkrankungen (z.B. verminderter Speichelfluß als Medikamentennebenwirkung oder bei Exsikkose, vorangegangene Antibiotikatherapie) einher, welche die Mortalität erhöhen können. Insgesamt haben nach Literaturangaben Patienten mit einer ambulanten Pneumonie eine höhere Langzeitmortalität als Vergleichskollektive ohne eine

Pneumonie in der Vorgeschichte (Koivula et al., 1999; Kaplan et al., 2003; Mortensen et al., 2003). Auch Patienten mit einer ambulant erworbenen Pneumonie ohne Vorerkrankungen hatten im Verlauf eine erhöhte Mortalität im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv. Die Ursache war unklar (Mortensen et al., 2003). Ob erhöhte CRP-Werte mit einer erhöhten Mortalität z.B. kardiovaskulärer Ursache einhergehen, wurde von *Marrie* und *Michelakis* diskutiert (Marrie und Michelakis, 2003).

6. Zusammenfassung

Ambulant erworbene Pneumonien verbunden mit einer erhöhten Letalität sind eine häufige Erkrankung v.a. in der älteren Bevölkerung. Die Ätiologie der Erkrankung und der Nutzen diagnostischer Methoden sind noch immer nicht vollständig geklärt. Die Rolle der Sputum-Kultur und des Sputum-Gram-Ausstrichs als diagnostische Methoden werden in der Literatur sehr kontrovers diskutiert. Aspiration gilt als wichtiger Risikofaktor für Pneumonien v.a. bei älteren Patienten. In dieser Studie wurden prospektiv hospitalisierte Patienten mit ambulant erworbener Pneumonie untersucht, ihre klinische Vorgeschichte und ihr Verlauf dokumentiert und Kulturen von Sputum, bronchoskopisch gewonnenem Material, Tracheal aspirat, Blut und Urin angelegt. Diese Materialien wurden mikrobiologisch auf Bakterien sowie Pilze untersucht. In den Wintermonaten wurde außerdem eine Virusserologie auf *Influenza A*, *B* und RSV durchgeführt. Zusätzlich wurden aus dem Material Ausstriche für Cytologie, Gram-Färbung und für die Fettfärbung Oil-Red-O zum Nachweis einer Aspiration hergestellt.

Im Erregerspektrum aus allen gewonnenen respiratorischen Materialien gab es im Vergleich zwischen den Altersgruppen keine signifikanten Unterschiede. In dieser Studie fanden sich bei Patienten ≥ 65 Jahre am häufigsten *Enterobacteriaceae*, gefolgt von *Streptococcus pneumoniae* und *Chlamydia pneumoniae*. Bei Patienten < 65 Jahre ließen sich am häufigsten *Streptococcus pneumoniae* und *Chlamydia pneumoniae* nachweisen. Diese Unterschiede sollten bei der Antibiotikagabe bedacht werden.

Mit Hilfe der Oil-Red-O-Färbung ließ sich bei 20% der Patienten eine Aspiration nachweisen. Die Korrelation zwischen dem Alter und dem Lipid-Index ($p = 0,00013$) sowie dem Alter und der Anzahl der Makrophagen mit Lipidvakuolen ($p = 0,000087$) waren signifikant. Es nimmt daher die Häufigkeit von Aspirationen sowie die Menge des aspirierten Materials mit dem Alter zuzunehmen.

Patienten, bei denen eine ambulant erworbene Pneumonie durch *Enterobacteriaceae* oder *Pseudomonas aeruginosa* mikrobiologisch nachweisbar war, hatten eine signifikant geringere Überlebenschance ($p < 0,005$).

Der Anteil an erhaltenem Sputum sowohl guter als auch unzureichender Qualität war in den untersuchten Altersgruppen gleich. Es fanden sich aber nach

Auswertung der Differentialzellbilder bei den Patienten < 65 Jahre signifikant mehr Lymphozyten ($p = 0,04$) und tendenziell mehr Alveolarmakrophagen ($p = 0,05$), so dass das Sputum bei ihnen wohl aus tieferen Lungenarealen stammt und somit eine bessere Qualität aufweist. Daher haben die mikrobiologischen Ergebnisse eine höhere Aussagekraft. In dieser Studie wurden aber keine signifikanten Unterschiede im Erregernachweis im Sputum guter Qualität zwischen den Altersgruppen gefunden. In der Gram-Färbung hatte das Sputum guter Qualität in dieser Studie eine Sensitivität von 52% und einen positiven prädiktiven Wert von 41%. Die Sputumdiagnostik ist aber in der Routine nur eingeschränkt zu empfehlen, da Voraussetzungen wie schnelle Verarbeitung und geschultes Personal erfüllt werden müssen.

7. Literaturverzeichnis

1. Almirall J, González CA, Balanzó X, Bolívar I. Proportion of community-acquired pneumonia cases attributable to tobacco smoking. *Chest* 1999;116:375-379
2. Almirall J, Mesalles E, Klamburg J, Parra O, Agudo A. Prognostic factors of pneumonia requiring admission to the intensive care unit. *Chest* 1995;107:511-516
3. Arancibia F, Bauer TT, Ewig S, Mensa J, Gonzalez J, Niederman MS, Torres A. Community-acquired pneumonia due to gram-negative bacteria and *Pseudomonas aeruginosa*. *Arch Intern Med* 2002;162:1849-1858
4. Aujesky D, Fine MJ. Does guideline adherence for empiric antibiotic therapy reduce mortality in community-acquired pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;172:655-656
5. Baik I, Curhan GC, Rimm EB, Bendich A, Willett WC, Fawzi WW. A prospective study of age and lifestyle factors in relation to community-acquired pneumonia in US men and women. *Arch Intern Med* 2000;160:3082-3088
6. Bandyopadhyay T, Gerardi DA, Metersky ML. A comparison of induced and expectorated sputum for the microbiological diagnosis of community acquired pneumonia. *Respiration* 2000;67:173-176
7. Bartlett JG, Dowell SF, Mandell LA, File TM, Musher DM, Fine MJ. Practice guidelines for the management of community-acquired pneumonia in adults: guidelines from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2000;31:347-382
8. Baselski VS, El-Torky M, Coalson JJ, Griffin JP. The standardization of criteria for processing and interpreting laboratory specimens in patients with suspected ventilator-associated pneumonia. *Chest* 1992;102:571S-579S
9. Berk SL. Bacterial pneumonia in the elderly: The observations of Sir William Osler in Retrospect. *J Am Geriatr Soc* 1984;32:683-685
10. Bhowmik A, Seemungal TAR, Sapsford RJ, Devalia JL, Wedzicha JA. Comparison of spontaneous and induced sputum for investigation of airway inflammation in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1998;53:953-956

11. Breese Hall C. Nosocomial *Respiratory Syncytial Virus* infections: the “cold war” has not ended. *Clin Infect Dis* 2000;31:590-596
12. Brightling CE. Clinical applications of induced sputum. *Chest* 2006;129:1344-1348
13. British Thoracic Society. Guidelines for the management of community acquired pneumonia in adults admitted to the hospital. *Thorax* 2001;56(suppl IV):iv1-iv64
14. Campbell SG, Marrie TJ, Anstey R, Dickinson G, Ackroyd-Stolarz S. The contribution of blood cultures to clinical management of adult patients admitted to the hospital with community-acquired pneumonia. A prospective observational study. *Chest* 2003;123:1142-1150
15. Castle SC. Clinical relevance of age-related immune dysfunction. *Clin Infect Dis* 2000;31:578-585
16. Chalasani NP, Valdecanas MAL, Gopal AK, McGowan JE, Jurado RL. Clinical utility of blood cultures in adult patients with community-acquired pneumonia without defined underlying risks. *Chest* 1995;108:932-936
17. Conte HA, Chen YT, Mehal W, Scinto JD, Quagliarello VJ. A prognostic rule for elderly patients admitted with community-acquired pneumonia. *Am J Med* 1999;106:20-28
18. Cordero E, Pachón J, Rivero A, Girón-González JA, Gómez-Mateos J, Merino MD, Torres-Tortosa, González- Serrano M, Aliaga L, Collado A, Hernández-Quero J, Barrera A, Nuño E. Usefulness of sputum culture for diagnosis of bacterial pneumonia in HIV-infected patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002;21:362-367
19. Corwin RW, Irwin RS. The lipid-laden alveolar macrophage as a marker of aspiration in parenchymal lung disease. *Am Rev Respir Dis* 1985;132:576-581
20. Creer DD, Dilworth JP, Gillespie SH, Johnston AR, Johnston SL, Ling C, Patel S, Sanderson G, Wallace PG, McHugh TD. Aetiological role of viral and bacterial infections in acute adult lower respiratory tract infection (LRTI) in primary care. *Thorax* 2006;61:75-79
21. Cunha BA. Pneumonia in the elderly. *Clin Microbiol Infect* 2001;7:581-588

22. Dalhoff K, Braun J, Wiessmann KL, Hollandt H, Marre R. Bronchoscopic diagnosis of pneumonia with quantitative microbial count determination. *Dtsch Med Wochenschr* 115(39):1459-65,1990
23. Dean NC, Silver MP, Bateman KA. Frequency of subspecialty physician care for elderly patients with community-acquired pneumonia. *Chest* 2000;117:393-397
24. Dowell SF, Anderson LJ, Gary HE, Erdman DD, Plouffe JF, File TM, Marston BJ, Breiman RF. Respiratory syncytial virus is an important cause of community-acquired lower respiratory infection among hospitalized adults. *J Infect Dis* 1996;174:456-462
25. Efthimiadis A, Pizzichini MMM, Pizzichini E, Dolovich J, Hargreave FE. Induced sputum cell and fluid-phase indices of inflammation: comparison of treatment with dithiothreitol vs phosphate-buffered saline. *Eur Respir J* 1997;10:1336-1340
26. Efthimiadis A, Spanevello A, Hamid Q, Kelly MM, Linden M, Louis R, Pizzichini MMM, Pizzichini E, Ronchi C, Van Overveld F, Djukanović R. Methods of sputum processing for cell counts, immunocytochemistry and in situ hybridisation. *Eur Respir J* 2002;20:19s-23s
27. Ewig S, Schlochtermeyer M, Goke N, Niederman MS. Applying sputum as a diagnostic tool in pneumonia: limited yield, minimal impact on treatment decisions. *Chest* 2002;121:1486-1492
28. Falguera M, Pifarre R, Martin A, Sheikh A, Moreno A. Etiology and outcome of community-acquired pneumonia in patients with diabetes mellitus. *Chest* 2005;128:3233-3239
29. Falsey AR, Cunningham CK, Barker WH, Kouides RW, Yuen JB, Menegus M, Weiner LB, Bonville CA, Betts RF. *Respiratory Syncytial Virus and Influenza A* infections in the hospitalised elderly. *J Infect Dis* 1995;172:389-394
30. Feldman C. Pneumonia in the elderly. *Med Clin North Am* 2001;85:1441-1459
31. Fine MJ, Orloff JJ, Rihs JD, Vickers RM, Kominos S, Kapoor WN, Arena VC, Yu VL. Evaluation of housestaff physicians' preparation and interpretation of sputum gram stains for community-acquired pneumonia. *J Gen Intern Med* 1991;6:189-198

32. Fine MJ, Auble TE, Yealy DM, Hanusa BH, Weissfeld LA, Singer DE, Coley CM, Marrie TJ, Kapoor WN. A prediction rule to identify low-risk patients with community-acquired pneumonia. *N Engl J Med* 1997;336:243-250
33. Fishman JA, Roth RS, Zanzot E, Enos EJ, Ferraro MJ. Use of induced sputum specimens for microbiologic diagnosis of infections due to organisms other than *Pneumocystis carinii*. *J Clin Microbiol* 1994;32:131-134
34. Flamaing J, Engelmann I, Joosten E, Van Ranst M, Verhaegen J, Peetermans WE. Viral lower respiratory tract infection in the elderly: a prospective in-hospital study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2003;22:720-725
35. García-Vázquez E, Marcos MA, Mensa J, de Roux A, Puig J, Font C, Francisco G, Torres A. Assessment of usefulness of sputum culture for diagnosis of community-acquired pneumonia using the PORT predictive scoring system. *Arch Intern Med* 2004;164:1807-1811
36. Gershman NH, Liu H, Wong HH, Liu JT, Fahy JV. Fractional analysis of sequential induced sputum samples during sputum induction: Evidence that different lung compartments are sampled at different time points. *J Allergy Clin Immunol* 1999;104:322-328
37. Gleeson K, Egli DF, Maxwell SL. Quantitative aspiration during sleep in normal subjects. *Chest* 1997;111:1266-1272
38. Gleich S, Morad Y, Echague R, Miller JR, Kornblum J, Sampson JS, Butler JC. *Streptococcus pneumoniae* Serotype 4 outbreak in a home for the aged: report and review of recent outbreaks. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2000;21:711-717
39. Grossman C. Possible underlying mechanisms of sexual dimorphism in the immune response, fact and hypothesis. *J Steroid Biochem* 1989;34:241-251
40. Hargreave FE. Induced sputum for the investigation of airway inflammation: Evidence for its clinical application. *Can Respir J* 1999;6(2):169-174
41. Hibbeler B. Für ein selbstbestimmtes Leben im Alter. *Deutsches Ärzteblatt* 2005;24:1452-1455
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-guideline on ambulant acquired pneumonia and deep airway infections. *Pneumologie* 2005;59(9):612-664

43. Hoge CW, Reichler MR, Dominguez EA, Bremer JC, Mastro TD, Hendricks KA, Musher DM, Elliott JA, Facklam RR, Breiman RF. An epidemic of pneumococcal disease in an overcrowded, inadequately ventilated jail. *N Engl J Med* 1994;331:643-648.
44. Holz O, Richter K, Jörres RA, Speckin P, Mücke M, Magnussen H. Changes in sputum composition between two inductions performed on consecutive days. *Thorax* 1998;53:83-86
45. Howard M, Muchamuel T, Andrade S, Menon S. Interleukin 10 protects mice from lethal endotoxemia. *J Exp Med* 1993;177:1205-1208
46. Jackson ML, Neuzil KM, Thompson WW, Shay DK, Yu O, Hanson CA, Jackson LA. The burden of community-acquired pneumonia in seniors: result of a population-based study. *Clin Infect Dis* 2004;39:1642-1650
47. Jatakanon A, Lalloo UG, Lim S, Chung KF, Barnes PJ. Increased neutrophils and cytokines, TNF- α and IL-8, in induced sputum of non-asthmatic patients with chronic dry cough. *Thorax* 1999;54:234-237
48. Johnson JC, Jayadevappa R, Baccash PD, Taylor L. Nonspecific presentation of pneumonia in hospitalised older people: age effect or dementia? *J Am Geriatr Soc* 2000;48:1316-1320
49. Jokinen C, Heiskanen L, Juvonen H, Kallinen S, Kleemola M, Koskela M, Leinonen M, Rönberg PR, Saikku P, Sten M, Tarkiainen A, Tukiainen H, Pyörälä K, Mäkelä PH. Microbial etiology of community-acquired pneumonia in the adult population of 4 municipalities in eastern Finland. *Clin Infect Dis* 2001;32:1141-1154
50. Kaplan V, Angus DC, Griffin MF, Clermont G, Watson S, Linde-Zwirble WT. Hospitalised community-acquired pneumonia in the elderly: Age- and sex-related patterns of care and outcome in the United States. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165:766-772
51. Kaplan V, Clermont G, Griffin MF, Kasal J, Watson RS, Linde-Zwirble WT, Angus DC. Pneumonia: still the old man's friend? *Arch Intern Med* 2003;163:317-323
52. Kauppinen MT, Herva E, Kujala P, Leinonen M, Saikku P, Syrjälä H. The etiology of community-acquired pneumonia among hospitalised patients during a *Chlamydia pneumoniae* epidemic in Finland. *J Infect Dis* 1995 ;172 :1330-1335

53. Kayembe JM, Louis R, Corhay JL, Bury T, Agnan R, Weber T, Duysinx B, Radermecker M. Usefulness of induced sputum analysis in pulmonary disease. *Acta Clin Belg* 1997;52-2:106-111
54. Keatings VM, Evans DJ, O'Connor BJ, Barnes PJ. Cellular profiles in asthmatic airways: a comparison of induced sputum, bronchial washings and bronchoalveolar lavage fluid. *Thorax* 1997;52:372-374
55. Kikuchi R, Watabe N, Konno T, Mishina N, Sekizawa K, Sasaki H. High incidence of silent aspiration in elderly patients with community-acquired pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;150:251-253
56. Kips JC, Peleman RA, Pauwels RA. Methods of examining induced sputum : do difference matter ? *Eur Respir J* 1998;11:529-533
57. Kips JC, Inman MD, Jayaram L, Bel EH, Parameswaran K, Pizzichini MMM, Pavord ID, Djukanović R, Hargreave FE, Sterk PJ. The use of induced sputum in clinical trials. *Eur Respir J* 2002;20:47s-50s
58. Koivula I, Stén M, Mäkelä PH. Prognosis after community-acquired pneumonia in the elderly: a population-based 12-year follow-up study. *Arch Intern Med* 1999;159:1550-1555
59. Lagerström F, Bader M, Foldevi M, Fredlund H, Nordin-Olsson, Holmberg H. Microbiological etiology in clinically diagnosed community-acquired pneumonia in primary care in Örebro, Sweden. *Clin Microbiol Infect* 2003;9:645-652
60. Lawrence SJ, Shadel BN, Leet TL, Hall JB, Mundy LM. An intervention to improve antibiotic delivery and sputum procurement in patients hospitalised with community-acquired pneumonia. *Chest* 2002;122:913-919
61. Lensmar C, Elmberger G, Sandgren P, Sköld CM, Eklund A. Leukocyte counts and macrophage phenotypes in induced sputum and bronchoalveolar lavage fluid from normal subjects. *Eur Respir J* 1998;12:595-600
62. Leroy O, Vandebussche C, Coffinier C, Bosquet C, Georges H, Guery B, Thevenin D, Beaucaire G. Community-acquired aspiration pneumonia in intensive care units. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:1922-1929
63. Lim WS, Macfarlane JT, Boswell TCJ, Harrison TG, Rose D, Leinonen M, Saikku P. Study of community acquired pneumonia aetiology (SCAPA) in adults admitted to hospital: implications for management guidelines. *Thorax* 2001;56:296-301

64. Loeb M, McGeer A, McArthur M, Walter S, Simor AE. Risk factors for pneumonia and other lower respiratory tract infections in elderly residents of long-term care facilities. *Arch Intern Med* 1999;159:2058-2064
65. Loeb M. Pneumonia in older persons. *Clin Infect Dis* 2003;37:1335-1339
66. Loeb MB. Use of broader determinants of health model for community-acquired pneumonia in seniors. *Clin Infect Dis* 2004;38:1293-1297
67. Louis R, Shute J, Goldring K, Perks B, Lau LCK, Radermecker M, Djukanovic R. The effect of processing of inflammatory markers in induced sputum. *Eur Respir J* 1999;13:660-667
68. Luna CM, Famiglietti A, Absi R, Videla AJ, Nogueira FJ, Fuenzalida AD, Gené RJ. Community-acquired pneumonia. Etiology, epidemiology and outcome at a teaching hospital in Argentina. *Chest* 2000;118:1344-1354
69. Madison JM, Irwin RS. Expecterated sputum for community-acquired pneumonia: a sacred cow. *Arch Intern Med* 2004;164:1725-1726
70. Mandell LA, Marrie TJ, Grossman RF, Chow AW, Hyland RH, and the Canadian Community-Acquired Pneumonia Working Group. Canadian guidelines for the initial of community-acquired pneumonia: an evidence-based update by the Canadian Infectious Diseases Society and the Canadian Thoracic Society. *Clin Infect Dis* 2000;31:383-421
71. Marchant A, Devière J, Baudouin B, De Groote D, Vincent JL, Goldman M. Interleukin-10 production during septicemia. *Lancet* 1994;343:707-708
72. Marik PE. Aspiration pneumonitis and aspiration pneumonia. *N Engl J Med* 2001;344:665-671
73. Marrie TJ. Epidemiology of community-acquired pneumonia in the elderly. *Sem Respir Infect* 1990;5:260-268
74. Marrie TJ, Lau CY, Wheeler SL, Wong CJ, Feagan BG. Predictors of symptom resolution in patients with community-acquired pneumonia. *Clin Infect Dis* 2000;31:1362-1367
75. Marrie TJ, Carriere KC, Jin Y, Johnson DH. Factors associated with death among adults <55 years of age hospitalized for community-acquired pneumonia. *Clin Infect Dis* 2003;36:413-421
76. Marrie TJ, Michelakis E. Increased long-term mortality after an episode of community-acquired pneumonia – time to move beyond descriptive studies. *Clin Infect Dis* 2003;37:1625-1628

77. Marrie TJ, Wu LL. Factors influencing in-hospital mortality in community-acquired pneumonia. A prospective study of patients not initially admitted to the ICU. *Chest* 2005;127:1260-1270
78. Marumo K, Homma S, Fukuchi Y. Postgasrectomy aspiration pneumonia. *Chest* 1995;107:453-456
79. Medina-Walpole AM, Katz PR. Nursing home-acquired pneumonia. *J Am Geriatr Soc* 1999;47:1005-1015
80. Meehan TP, Chua-Reyes JM, Tate J, Prestwood KM, Scinto JD, Petrillo MK, Metersky ML. Process of care performance, patient characteristics, and outcomes in elderly patients hospitalised with community-acquired or nursing home-acquired pneumonia. *Chest* 2000;117:1378-1385
81. Menéndez R, Torres A, de Castro FR, Zalacain R, Aspa J, Villasclaras JJM, Borderias L, Moya JMB, Ruiz-Manzano J, Blanquer J, Pérez D, Puzo C, Sánchez-Gascón F, Gallardo J, Álvarez CJ, Molinos L, for the Neumofail Group. Reaching stability in community-acquired pneumonia: the effects of the severity of disease, treatment, and the characteristics of patients. *Clin Infect Dis* 2004;39:1783-1790
82. Metersky ML, Aslenzadeh J, Stelmach P. A comparison of induced and expectorated sputum for the diagnosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Chest* 1998;113:1555-1559
83. Miyashita N, Fukano H, Okimoto N, Hara H, Yoshida K, Niki Y, Matsushima T. Clinical presentation of community-acquired *Chlamydia pneumoniae* pneumonia in adults. *Chest* 2002;121:1776-1781
84. Mobbs KJ, van Saene HKF, Sunderland D, Davies PDO. Oropharyngeal gram-negative bacillary carriage. A survey of 120 healthy individuals. *Chest* 1999;115:1570-1575
85. Morris RD, Munasinghe RL. Geographic variability in hospital admission rates for respiratory disease among in elderly in the United States. *Chest* 1994;106:1172-1181
86. Mortensen EM, Kapoor WN, Chang CCH, Fine MJ. Assessment of mortality after long-term follow-up of patients with community-acquired pneumonia. *Clin Infect Dis* 2003;37:1617-1624
87. Muder RR. Pneumonia in residents of long-term care facilities : epidemiology, etiology management and prevention. *Am J Med* 1998;105:319-330

88. Musher DM, Montoya R, Wanahita A. Diagnostic value of microscopic examination of gram-stained sputum and sputum cultures in patients with bacteremic pneumococcal pneumonia. *Clin Infect Dis* 2004;39:165-169
89. Nelson S, Summer WR. Innate immunity, cytokines, and pulmonary host defense. *Infect Dis Clin North Am* 1998;12:555-567
90. Niederman MS, Mandell LA, Anzueto A; American Thoracic Society. Guidelines for the management of adults with community-acquired pneumonia: diagnosis, assessment of severity, antimicrobial therapy, and prevention. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:1730-1754
91. Nightingale JA, Rogers DF, Barnes PJ. Effect of repeated sputum induction on cell counts in normal volunteers. *Thorax* 1998;53:87-90
92. Nuorti JC, Butler JC, Farley MM, Harrison LH, McGeer A, Kolczak MS, Breiman RF. Cigarette smoking and invasive pneumococcal disease. *N Engl J Med* 2000;342:681-689
93. Oliveira EC, Marik PE, Colice G. Influenza Pneumonia. A descriptive study. *Chest* 2001;119:1717-1723
94. Paggiaro PL, Chanez P, Holz O, Ind PW, Djukanović R, Maestrelli P, Sterk PJ. Sputum induction. *Eur Respir J* 2002;20:3s-8s
95. Parameswaran K, Anvari M, Efthimiadis A, Kamada D, Hargreave FE, Allen CJ. Lipid-laden macrophages in induced sputum are a marker of oropharyngeal reflux and possible gastric aspiration. *Eur Respir J* 2000;16:1119-1122
96. Plouffe JF. Importance of atypical pathogens of community-acquired pneumonia. *Clin Infect Dis* 2000;31(Suppl 2):S35-39
97. Quagliarello V, Ginter S, Han L, Van Ness P, Allore H, Tinetti M. Modifiable risk factors for nursing home-acquired pneumonia. *Clin Infect Dis* 2005;40:1-6
98. Rello J, Rodriguez R, Jubert P, Alvarez B, and the Study Group for Severe Community-Acquired Pneumonia. Severe community-acquired pneumonia in the elderly: epidemiology and prognosis. *Clin Infect Dis* 1996;23:723-728
99. Riquelme R, Torres A, El-Ebiary M, de la Bellacasa JP, Estruch R, Mensa J, Fernández-Solá J, Hernández C, Rodríguez-Roisin R. Community-acquired pneumonia in the elderly: a multivariate analysis of risk and prognostic factors. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:1450-1455

100. Riquelme R, Torres A, El-Ebiary M, Mensa J, Estruch R, Ruiz M, Angrill J, Soler N. Community-acquired pneumonia in the elderly: clinical and nutritional aspects. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:1908-1914
101. Roubinian JR, Tala N, Greenspan JS, Goodman JR, Siiteri PK. Delayed androgen treatment prolongs survival in murine lupus. *J Clin Invest* 1979;63:902-911
102. de Roux A, Marcos MA, Garcia E, Mensa J, Ewig S, Lode H, Torres A. Viral community-acquired pneumonia in nonimmunocompromised adults. *Chest* 2004 ;125:1343-1351
103. de Roux A, Cavalcanti M, Marcos MA, Garcia E, Ewig S, Mensa J, Torres A. Impact of alcohol abuse in the etiology and severity of community-acquired pneumonia. *Chest* 2006;129:1219-1225
104. Rosón B, Carratalà J, Verdaguer R, Dorca J, Manresa F, Gudiol F. Prospective Study of the usefulness of sputum gram stain in the initial approach to community-acquired pneumonia requiring hospitalization. *Clin Infect Dis* 2000;31:869-874
105. Ruiz 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* 1999;160:397-405
106. Ruiz-González A, Falguera M, Nogués A, Rubio-Caballero M. Is *Streptococcus pneumoniae* the leading cause of pneumonia of unknown etiology? A microbiologic study of lung aspirates in consecutive patients with community-acquired pneumonia. *Am J Med* 1999;106:385-390
107. Ryttilä P, Helin T, Kinnula V. The use of microspirometry in detecting lowered FEV1 values in current or former smokers. *Prim Care Respir J*. 2008;Oct 2. pii:pcrj-2008-04-0042
108. Schäfer H, Ewig S. Pneumonia in the elderly – what makes the difference? *Wien Klin Wochenschr* 2000;112/13:566-575
109. Schröder J, Kahlke V, Staubach KH, Zabel P, Stüber F. Gender differences in human sepsis. *Arch Surg* 1998;133:1200-1205
110. Shemer-Avni Y, Liebermann D. *Chlamydia pneumoniae* - induced ciliostasis in ciliated bronchial epithelial cells. *J Infect Dis* 1995;171:1274-1278
111. Simones EAF. *Respiratory Syncytial Virus* infection. *Lancet* 1999;354:847-852

112. Sočan M, Marinič-Fišer N, Kraigher A, Kotnik A, Logar M. Microbial aetiology of community-acquired pneumonia in hospitalised patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999;18:777-782
113. Sočan M, Košmelj K, Marinič-Fišer N, Vidmar L. A prediction model for community-acquired *Chlamydia pneumoniae* pneumonia in hospitalized patients. *Infection* 2004;32:204-209
114. Spanevello A, Migliori GB, Sharara A, Ballardini L, Bridge P, Pisati P, Neri M, Ind PW. Induced sputum to assess airway inflammation: a study of reproducibility. *Clin Exp Allergy* 1997;27:1138-1144
115. Spanevello A, Beghé B, Bianchi A, Migliori GB, Ambrosetti M, Neri M, Ind PW. Comparison of two methods of processing induced sputum: selected versus entire sputum. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:665-668
116. Stockley RA, Bayley D, Hill SL, Hill AT, Crooks S, Campbell EJ. Assessment of airway neutrophils by sputum colour: correlation with airways inflammation. *Thorax* 2001;56:366-372
117. Talbot TR, Griffin MR. Use of population-based cohort data to assess community-acquired pneumonia: a powerful approach. *Clin Infect Dis* 2004;39:1651-1653
118. Terpenning M. Prevention of aspiration pneumonia in nursing home patients. *Clin Infect Dis* 2005;40:7-8
119. Theerthakarai R, El-Halees W, Ismail M, Solis RA, Khan MA. Nonvalue of the initial microbiological studies in the management of nonsevere community-acquired pneumonia. *Chest* 2001;119:181-184
120. Torres A, Dorca J, Zalacain R, Bello S, El-Ebiary M, Molinos L, Arévalo M, Blanquer J, Celis R, Iriberry M, Prats E, Fernández R, Irigaray R, Serra J. Community-acquired pneumonia in chronic obstructive pulmonary disease. A Spanish multicenter Study. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:1456-1461
121. van der Vaart H, Postma DS, Timens W, Kauffman HF, Hylkema MN, ten Hacken NHT. Repeated sputum inductions induce a transient neutrophilic and eosinophilic response. *Chest* 2006;130:1157-1164
122. Venkatesan P, Gladman J, Macfarlane JT, Barer D, Berman P, Kinnear W, Finch RG. A hospital study of community acquired pneumonia in the elderly. *Thorax* 1990;45:254-258

123. Watanakunakorn C, Bailey TA. Adult bacteremic pneumococcal pneumonia in a community teaching hospital, 1992-1996. A detailed Analysis of 108 cases. *Arch Intern Med* 1997;157:1965-1971
124. Waterer GW, Jennings SG, Wunderink RG. The impact of blood cultures on antibiotic therapy in pneumococcal pneumonia. *Chest* 1999;116:1278-1281
125. Waterer GW, Kessler LA, Wunderink RG. Delayed administration of antibiotics and atypical presentation in community-acquired pneumonia. *Chest* 2006; 130:11-15
126. Wichmann MW, Zellweger R, DeMaso CM, Ayala A, Chaudry ICH. Mechanism of immunosuppression in males following trauma-hemorrhage. *Arch Surg* 1996;131:1186-1192
127. Wunderink RG, Waterer GW. Appropriate microbiological testing in community-acquired pneumonia. *Chest* 2001;119:5-7
128. Yoshikawa TT. Epidemiology and unique aspects of aging and infectious diseases. *Clin Infect Dis* 2000;30:931-933

8. Anhang

8.1 Ethikantrag

Der Ethikantrag wurde 1999 durch die Ethikkommission der Medizinischen Universität zu Lübeck positiv begutachtet (Aktenzeichen 9904).

8.2 Danksagungen

Ich möchte mich bei allen bedanken, deren Rat und Unterstützung mir die Durchführung dieser Arbeit ermöglicht haben:

Herrn Prof. Dr. med. Klaus Dalhoff für die Anregung zu dieser Arbeit, für seine kontinuierliche Betreuung, das Überlassen des Materials und eines Arbeitsplatzes, für die Vorstellung der Arbeit auf verschiedenen Kongressen.

Herrn Dr. med. Henning Kothe, Herrn Dr. med. Jan Rupp, Herrn Dr. med. Philipp Aries für ihre wertvollen Ratschläge zur Durchführung der Studie.

Frau Ute Wegner, Frau Barbara Gogol und Frau Vivian Sandberg für ihr fachkundige Hilfe im Labor

Die Ärzte der Medizinischen Kliniken für ihre Hilfe bei der Patientenrekrutierung.

Herrn Prof. Dr. med. W. Solbach, Herrn Prof. Dr. med. M. Maass und dem Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene für die mikrobiologische Untersuchung der Proben.

8.3 Lebenslauf

20.12.1976	in München
1983-1987	Grundschule „Klosterhofschule zu Lübeck“
1987-1993	Gymnasium „Ernestinenschule zu Lübeck“
1993-1996	Gymnasium „Katharineum zu Lübeck“
06/1996	Abitur
10/1996	Beginn des Medizinstudiums in Lübeck
10/1998	Physikum
09/1999	Erstes Staatsexamen
09/2002	Zweites Staatsexamen
10/2002 – 01/2003	Erster Abschnitt des praktischen Jahres: Innere Medizin (UK-SH, Campus Lübeck)
02/2003 – 05/2003	Zweiter Abschnitt des praktischen Jahres: Chirurgie (Sana Kliniken Lübeck GmbH)
06/2003 – 09/2003	Dritter Abschnitt des praktischen Jahres: Neurologie (National Hospital for Neurology and Neurosurgery, Queen Square, London und UK-SH, Campus Lübeck)
11/2003	Drittes Staatsexamen
01/2004 – 09/2004	Ärztin im Praktikum in der Klinik für Neurologie des UK- SH, Campus Lübeck
10/2004 – 12/2005	Assistenzärztin in der Klinik für Neurologie des UK-SH, Campus Lübeck
01/2006	Beginn als Assistenzärztin in der August-Bier-Klinik, Fachklinik für Neurologie, Neurotraumatologie und Rehabilitation, Bad Malente-Gremsmühlen

8.4 Publikationsverzeichnis

Abstracts

Wulf A, Straßburg A, Rupp J, Kothe H, Braun J, Maass M, Zabel P, Dalhoff K. Ätiologie und diagnostische Methoden bei älteren Patienten mit ambulant erworbener Pneumonie (CAP). 44. Kongreß der deutschen Gesellschaft für Pneumologie, München 2003; V312

Wulf A, Straßburg A, Rupp J, Kothe H, Braun J, Maass M, Dalhoff K. Community-acquired pneumonia (CAP) in the elderly: aetiology, role of aspiration and diagnostic procedures. Annual Congress of the European Respiratory Society, Stockholm 2002; P2674