

Near-universal prevalence of Pneumocystis and associated increase in mucus in the lungs of infants with sudden unexpected death.

Vargas, Sergio L, Carolina A Ponce, Miriam Gallo, Francisco Pérez, J-Felipe Astorga, Rebeca Bustamante, Magali Chabé, et al. Clin Infect Dis. (2013) 56 (2): 171-179. DOI: 10.1093/cid/cis870

Hintergrund

- Erstinfektion mit *Pneumocystis jirovecii* bereits im ersten Lebensjahr, meist asymptomatisch oder als leichter Respirationsinfekt
- Nachweis von *Pneumocystis* schwierig
 - keine Kultur, keine HE-Färbung, beim Immunkompetenten geringe Menge von *Pneumocystis jirovecii* nachweisbar
 - fokales Verteilungsmuster im Lungengewebe
- Häufigkeitsgipfel der Erstinfektion zwischen dem 2. und 5 Lebensmonat → ähnlich dem des plötzlichen Kindstodes
- Zusammenhang des plötzlichen Kindstodes und *Pneumocystis*-Infektion unklar
- Nagetiermodell: → *Pneumocystis* induziert starke Immunantwort im Sinne von einer Aktivierung von Calcium-Chloridkanälen in Becherzellen → Zunahme der Schleimsekretion
 - Mukoziliäre Reinigungsfunktion ist abhängig von Zusammensetzung der Mukus-Schichten und Zilienfunktion → Effizienz des Abtransports bei Dysbalance (zuviel Flüssigkeit) gestört → Okklusion von engen Bronchiolen
- **Ziel:** Charakterisierung (I) eines Zusammenhangs zwischen *Pneumocystis*-Erstinfektion und Mukusproduktion und (II) der Prävalenz von *P. jirovecii* bei am plötzlichen Kindstod verstorbenen Säuglingen

Methoden

- cross-sectional study, Mai 1999 bis July 2004
- Einschlusskriterien: SUID, keine Hospitalisierung, keine Immunsuppression
- gerichtsmedizinische Untersuchung (Toxikologie etc) mit Einteilung in 3 Gruppen
 - I SIDS (keine Todesursache gefunden)
 - II abnormale Autopsieergebnisse, die jedoch nicht als Todesursache angesehen wurden
 - III definitive Todesursache nachweisbar
- Probenmaterial: rechte Lunge (3 Lappen (n=111), 2 Lappen (n=3) und 1 Lappen (n=14))
- Diagnostik:
 - nested PCR (→ doppelte Untersuchung falls alle Proben negativ)
 - Immunfloreszenz-Mikroskopie (verblendet zum nPCR-Ergebnis, jeder Lungenlappen 2x untersucht)
 - zusätzlich bei den ersten 36 von 128 untersuchten Lungenlappen
 - Gomori-Grocott silver staining und Rapid Giemsa Färbung (verblendet)
 - quantitative PCR (humanes Beta-Globulin als Kontrolle und für Normalisierung), durchgeführt bei 39 *Pneumocystis*-positiven und 20 negativen (age-adjusted)
 - *Pneumocystis jirovecii* (msg gene)
 - MUC5AC (sekretorisches Muzin)
- Statistik (Chi-Quadrat-Test, ANOVA, Pearson-Korrelation)

Anmerkung:

SUID: sudden unexpected infant death: Def.: Tod eines Säuglings → Ursache vor der Obduktion nicht offensichtlich

SIDS: sudden infant death syndrome = plötzlicher Kindstod; Def.: plötzlicher und unvorhersehbarer Tod eines Säuglings im Schlaf. Keine adäquate Todesursache in der Obduktion nachweisbar.

Ergebnisse

- 669 rechtsmedizinische Autopsien in 5 Jahren (Alter: 3 Tage bis 12 Monate) durchgeführt, von denen 134 die Einschlusskriterien erfüllten (6 Leichen wegen vorausgegangener Hospitalisierung ausgeschlossen)
→ 128 Leichen berücksichtigt (medianes Alter 2 Monate und 29 Tage; 55% männlich)
- Nachweis von Pneumocystis-DNA in 82% (105/128) der verstorbenen Säuglinge (→ **Table 1**):
 - unerklärte Todesursache 83.5% (71/85)
 - unerklärte Todesursache mit geringen Veränderungen 85.7% (24/28)
 - eindeutige Todesursache 66.7% (10/15)
→ kein signifikanter Unterschied zw. eindeutiger und unerklärter Todesursache ($P=.28$)
- Sensitivität der Diagnostik (→ **Figure 1**):
 - nPCR: Pneumocystis jirovecii zu 100% positiv in den ersten 36 untersuchten Lungen
 - Immunfluoreszenz-Mikroskopie in 94% (34/36) positiv in denen zuvor mittels nPCR positiv getesteten Proben (→ **Figure 2**)
 - single PCR: 6% positiv (2/36)
 - Giemsa-Färbung: 50% positiv (18/36)
 - Methenamin-basierte Silberfärbungen nach Grocott: 31% positiv (11/36)
- Altersverteilung und Pneumocystis-Nachweis (→ **Figure 3**):
 - höchste Prävalenz von Pneumocystis-DNA im Alter zwischen 2 und 5 Monaten
- Pneumocystis-Konzentration (Quantifizierung) (→ **Figure 4**):
 - normalisierte Anzahl von major surface glycoprotein (MSG) Kopien zwischen 2 und 5 Monat am höchsten, aber nicht signifikant unterschiedlich in den Altersgruppen ($P=.76$)
- MUC5AC Bestimmung / Expression (→ **Figure 5**):
 - MUC5AC Konzentrationen signifikant erhöht beim Nachweis von Pneumocystis ($P=.0134$)
 - unabhängig von Pneumocystis-Konzentration (Pearson $r=0.09$, $P=.58$)

Diskussion

- Pneumocystis zeigt die höchste Prävalenz untersuchter Mikroorganismen in der Lunge verstorbener Säuglinge
- positive Assoziation zwischen Pneumocystis-Nachweis und erhöhter MUC5AC Expression
→ mukoziliäre Clearance aktiviert / angeborene Immunabwehr hoch reguliert
- fokales Verteilungsmuster von Pneumocystis beim Immunkompetenten dadurch unterstrichen, dass eine höhere Sensitivität erreicht wurde, wenn unterschiedliche Areale untersucht wurden
- Freisetzung von MUC5AC als Hauptbestandteil des festen Schleims, induziert durch Pneumocystis
→ könnte zu einer intraluminalen Verengung/ Verlegung und damit zum plötzlichen Kindstod beitragen
→ weitere Zusammenhänge mit anderen Erkrankungen wie COPD oder zystischer Fibrose
- Bronchiale Hyperreagibilität möglicherweise durch Pneumocystis beeinflusst
→ Sensibilisierung gegenüber anderen unspezifischen Antigenen
- Prävalenz von Pneumocystis bei Neugeborenen mit erklärter und nicht erklärter Todesursache nicht signifikant unterschiedlich → weitere Faktoren ausser Pneumocystis nötig, um einen plötzlichen Kindstod auszulösen
- Entzündungsreaktionen waren nicht vorhanden oder zu wenig ausgeprägt, um in der Obduktion nachgewiesen werden zu können